



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS**

**DESARROLLO DE DÍMEROS ESTEROIDALES: EXPLORACIÓN DEL
EFECTO DEL ESPACIADOR EN LA ORGANIZACIÓN
SUPRAMOLECULAR**

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA

M. en C. NANCY ALEJANDRA AGUILAR VALDEZ

TUTOR: Dr. JOSÉ NORBERTO FARFÁN GARCÍA

FACULTAD DE QUÍMICA

CIUDAD DE MÉXICO, MAYO DE 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

A Dios que me dio la fuerza cada vez que quería claudicar y cuando veía tan lejana la culminación de esta etapa. Es por TI y para TI.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por darme una formación integral como profesionista.

Al Dr. José Norberto Farfán García por darme el apoyo, tutoría y herramientas para poder realizar el presente proyecto de investigación.

A los miembros de mi comité tutor: Dr. Hiram Beltrán Conde y Dr. Luis D. Miranda Gutiérrez. Por sus valiosos consejos y enseñanzas.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada (No. de becario 576517).

A los proyectos PAPIIT: IN-216616, IN-222819; PAIP 5000-9056; y CONACYT A1-S-7642.

A los miembros del jurado, por su valioso tiempo en la revisión de esta tesis: Dr. Guillermo Enrique Negrón Silva, Dra. Lioudmila Fomina, Dr. René Miranda Ruvalcaba, Dr. Hiram Isaac Beltrán Conde, Dr. Braulio Víctor Rodríguez Molina.

A la maestra Margarita Romero Ávila, por guiarme con paciencia y hacerme sentir cada día como en casa. Te respeto y admiro.

Al Maestro Blas Flores Pérez, por recibirme y permitirme formar parte de la familia 201.

Al Dr. Rafael Arcos Ramos, por acompañarme durante toda mi vida académica. Por ser mi Maestro, pero ante todo mi amigo. Por apoyarme, animarme y exigirme a dar mi mayor esfuerzo.

A mi amiga y compañera Dra. Cristina Jiménez Curiel. Porque con mi mano puedo contar a las personales incondicionales en mi vida y tú eres una de ellas.

A mi amigo y compañero Dr. Oscar González Antonio. Por ayudarme a construir mis ideas y disipar mis dudas, por las horas de café y moléculas.

A mi esposo Yael Sánchez, por ser parte fundamental de este logro. Porque siempre has creído en mí, te dedico este logro con todo mi amor.

A mi hija Constanza. Mi princesa, me motivas y me das fuerza. Nunca olvides que mereces lo que sueñas y que puedes lograrlo todo.

A mi mamá porque sin tu amor no hubiera llegado hasta aquí. Lo hago para que estés orgullosa de mí y sepas que valoro tu dedicación en cuidarme. Mis logros son tuyos también.

A mis hermanos. Tenerlos a los 6, me ha permitido tener una vida feliz y cada uno de ustedes ha aportado algo a lo que soy el día de hoy.

A la coordinación del Posgrado en Ciencias Químicas, sobre todo a la maestra Josefina Tenopala y el Dr. Emilio Orgaz, por su apoyo en los procesos de obtención de grado en los tiempos tan atípicos y complejos que nos tocó vivir.

Cuando te llamé, me respondiste

y aumentaste mis fuerzas

Desarrollo de dímeros esteroidales: exploración del efecto del espaciador en la organización supramolecular

El presente trabajo se desarrolló en el laboratorio 201 de la Unidad de Posgrado en la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México bajo la asesoría del Dr. José Norberto Farfán García con apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)

Publicaciones:

- ∞ N. Aguilar-Valdez, M. Maldonado-Domínguez, R. Arcos-Ramos, M. Romero-Ávila, R. Santillan, N. Farfán. Synthesis of steroidal molecular compasses: exploration of the controlled assembly of solid organic materials. *CrystEngComm* 2017, **19**, 1771-1777.
- ∞ N. Aguilar-Valdez, N. Esturau-Escofet, O. González-Antonio, M. Romero-Ávila, B. Flores-Pérez, M.A. Leyva, D. Díaz, R. Santillan, N. Farfán. Synthesis, complete NMR assignment and structural study of a steroidal dimer of 17 α -ethynyl-5 α ,10 α -estran-17 β -ol with diethynylbenzene spacer. *Steroids* 2020, **157**, 108606.

Participaciones en congresos y reuniones:

- 5a Reunión de Resonancia Magnética Nuclear Experimental, Escuela Internacional de RMN. Cuernavaca, Morelos, 2019.

Desarrollo de dímeros esteroidales: exploración del efecto del espaciador en la organización supramolecular

Índice de contenido

1. Introducción	7
2. Abstract	9
3. Antecedentes	11
3.1. Esteroides	12
3.2. Dímeros esteroidales: características, propiedades y aplicaciones.	14
3.3. Rotores moleculares en estado sólido	15
3.3.1. Componentes	16
3.3.2. Propiedades y aplicaciones	19
3.4. Rotores moleculares esteroidales	21
3.4.1. Propiedades y características	22
3.4.2. Aplicaciones	24
3.5. Generalidades de sólidos porosos	28
4. Objetivo general	39
4.1. Objetivos particulares	39
5. Capítulo 1. Dímero esteroideal derivado de 17α-etinil-$5\alpha,10\alpha$-estran-17β-ol con espaciador de fenileno	41
6. Capítulo 2. Dímeros esteroidales derivados de etinilestradiol, mestranol, etisterona, noretisterona y 17α-etinil-5α-androst-2-en-17β-ol usando un espaciador de p-nitroanilina.	58
7. Capítulo 3. Dímeros esteroidales derivados de etinilestradiol con espaciadores de fenileno, fenileno-d_4 y 1,2-difluorofenileno.	77
8. Metodología experimental	
8.1. Capítulo 1. Dímero esteroideal derivado de 17α-etinil-$5\alpha,10\alpha$-estran-17β-ol con espaciador de fenileno.	98
8.2. Capítulo 2. Dímeros esteroidales derivados de etinilestradiol con espaciadores de fenileno, fenileno-d_4 y 1,2-difluorofenileno.	104
8.3. Capítulo 3. Dímeros esteroidales derivados de etinilestradiol, mestranol, etisterona, noretisterona y 17α-etinil-5α-androst-2-en-17β-ol usando un espaciador de p-nitroanilina.	126
9. Datos experimentales	136

GLOSARIO

1D	Unidimensional
2D	Bidimensional
ACN	Acetonitrilo
AcOEt	Acetato de etilo
ATR	<i>Attenuated Total Reflectance</i>
COSY	<i>Proton Carbon Homonuclear Correlated Spectroscopy</i>
DEPT 135	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer.using a 135 degree decoupler pulse</i>
DIPA	Diisopropilamina
ESI	<i>Electrospray Ionization</i>
FTIR	<i>Fourier Transform Infrared</i>
g	Gramos
H2BC	<i>Heteronuclear 2 Bond Correlation Spectroscopy</i>
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation Spectroscopy</i>
HRMS	<i>Higresolution Mass Spectrometry</i>
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Correlation Spectroscopy</i>
Hz	Hertz
M	Molar
min	Minutos
mL	Mililitros
mmol	Milimol
NOESY	<i>Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i>
ppm	Partes por millón
DRX	Difracción de rayos X
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
THF	Tetrahidrofurano
TOF	<i>Time Of Flight</i>

DESARROLLO DE DÍMEROS ESTEROIDALES: EXPLORACIÓN DEL EFECTO DEL ESPACIADOR EN LA ORGANIZACIÓN SUPRAMOLECULAR

1. INTRODUCCIÓN

El diseño de sistemas auto-ensamblados en estado sólido es una línea de investigación que recientemente ha cobrado auge, estimulada en gran medida por la posibilidad de desarrollar nuevos materiales complejos que presenten propiedades mecánicas y fisicoquímicas modulables para su aplicación en nuevas tecnologías. En nuestro grupo de investigación se ha estudiado el uso de esteroides como bloques de construcción de dispositivos moleculares en estado sólido que puedan dar lugar a sistemas anfidinámicos, compuestos con respuesta óptica no lineal y cristales con capacidad de reconocer moléculas pequeñas en estado sólido, entre otros. Teniendo en cuenta que la modificación estructural del esqueleto esteroideal provoca cambios significativos en su organización supramolecular, así como en sus propiedades físicas, químicas y biológicas, en la presente tesis se muestra la obtención de dímeros esteroideales utilizando espaciadores de fenileno y fenileno-sustituidos.

Los derivados esteroideales contienen diferentes funcionalidades en el anillo A, lo que permitió la exploración del efecto del espaciador en la organización supramolecular de los mismos. Por lo anterior, se desglosó la información en tres capítulos dependiendo del tipo de derivado esteroideal, donde se incluyó la síntesis, caracterización y análisis del efecto del espaciador en la organización supramolecular.

De manera general, a través del desarrollo del presente proyecto, se logró obtener una colección de derivados cuyas estructuras cristalinas mostraron características interesantes para el desarrollo de sistemas esteroidales auto-ensamblados. Particularmente, para el caso del derivado de androstano fue posible evidenciar el rol de las interacciones dispersivas en el arreglo supramolecular y establecer una caracterización completa por resonancia magnética nuclear. El estudio de los dímeros de etinilestradiol permitió establecer que el espaciador influye directamente en la estructura cristalina y propiedades de esta. Finalmente, se encontró que las estructuras cristalinas de dímeros esteroidales derivados de *p*-nitroanilina presentan la capacidad de reconocer moléculas pequeñas, además de poseer propiedades como respuesta óptica no lineal o semiconducción en estado sólido.

2. ABSTRACT

The design of self-assembled systems in solid state is a research topic that has recently taken importance and that is stimulated by the possibility of developing new complex materials that present mechanical and physicochemical properties for their application in new technologies. Our research group has studied the use of steroids as building blocks of solid-state molecular devices that can lead to amphidynamic systems, compounds with non-linear optical response and crystals with the ability to recognize small molecules in solid state, among others.

Considering that the structural modification of the steroidal skeleton promotes crystalline arrangements and different properties, the present work shows the obtaining of steroidal dimers with substituted-diethynylphenylene and diethynylphenylene spacers. Compounds with different functionalities in the steroidal A ring were prepared and the effect of the spacer on their supramolecular arrangement was evaluated. The synthesis, spectroscopic characterization and analysis of crystal structures are presented for each family of compounds. It was possible to obtain a collection of derivatives whose crystalline structures showed interesting characteristics for the development of self-assembled steroidal systems.

In the case of the androstane derivative, it was possible to demonstrate the role of dispersive interactions in the supramolecular arrangement and establish a complete characterization by nuclear magnetic resonance, which had not been previously described. The study of ethynyl estradiol dimers allowed establishing that the spacer directly influences the crystalline structure and its properties. Finally, it was found that the crystalline structures of steroidal dimers derived from

p-nitroaniline can recognize small molecules, in addition to having properties such as non-linear optical response or solid-state semiconduction.

3. ANTECEDENTES

Los esteroides son una familia de compuestos orgánicos ampliamente distribuidos en vegetales y animales, jugando un papel de gran relevancia en diversos sistemas biológicos. Estos compuestos presentan la característica de que pequeñas modificaciones estructurales sobre las funcionalidades unidas al esqueleto esteroideal producen cambios marcados en sus propiedades biológicas, químicas y físicas [1-2]. Durante la mayor parte de su historia científica, las aplicaciones en el área biomédica han sido las más ampliamente exploradas. Sin embargo, los derivados esteroidales han sido ocupados para la producción de cristales líquidos [3], así como para estudiar agregados hidrófobos como las membranas lipídicas [4]. En años recientes, el desarrollo de transportadores de aniones transmembrana (anionóforos) basados en derivados esteroidales, se ha sumado a la gama de aplicaciones biomédicas [5].

Existen diversas estrategias para la modificación estructural de esteroides, una de ellas es la dimerización. Mediante esta modificación es posible acceder a propiedades distintas a las de la entidad esteroideal de partida como son la obtención de sistemas anfidinámicos, sólidos porosos, entre otros. Mediante el estudio detallado de la relación estructura-función de estos sistemas diméricos, se espera poder tener acceso a derivados versátiles que pueden poseer una o más de estas aplicaciones potenciales.

3.1. Esteroides

El núcleo esteroidal es uno de los bloques de construcción más rígidos y de mayor extensión disponible, posee múltiples átomos quirales y la modificación estructural de sus funcionalidades conlleva a la modulación de sus propiedades físicas, químicas y biológicas [6]. Los esteroides son compuestos orgánicos que se encuentran distribuidos de forma abundante en la naturaleza; de forma general, poseen una estructura básica constituida por 17 átomos de carbono formando cuatro anillos fusionados (los cuales se denotan por las letras A, B, C, y D), denominada ciclopentanoperhidrofenantreno. (Figura 3.1) [7].

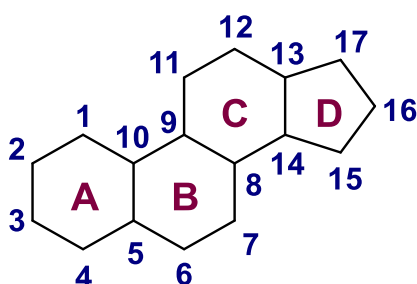
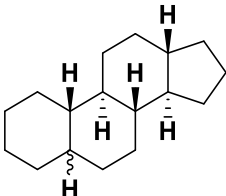
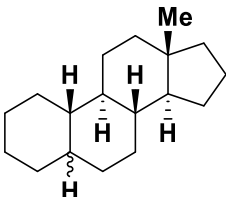
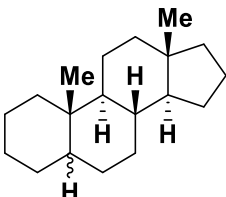
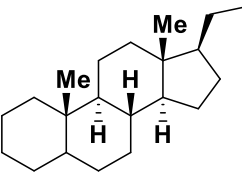
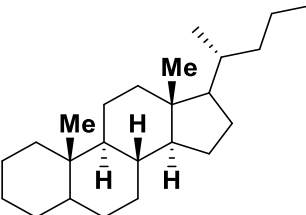
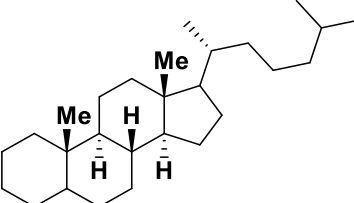
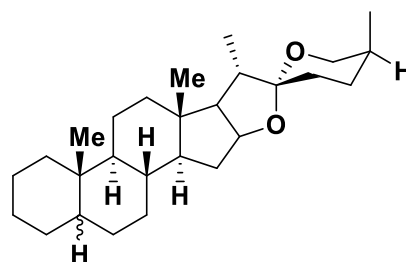


Figura 3.1. Estructura del núcleo esteroidal (ciclopentanoperhidrofenantreno) con numeración.

Debido a su amplia versatilidad estructural, es posible clasificar a estos compuestos con base en el tipo de cadena lateral presente en la posición C-17; de igual manera, dependiendo de la fusión entre los anillos A y B se pueden clasificar como serie 5β (fusión A/B *cis*) y serie 5α (fusión A/B *trans*). También, existen diversos esteroides con insaturaciones en los anillos A y B (C-4 Δ^4 y C-5 Δ^5), o incluso con el anillo A de naturaleza aromática. La forma más general para clasificar a este tipo de derivados se hace dependiendo del número de átomos de carbono que se presentan en su estructura (Tabla 3.1).

Tabla 3.1. Clasificación de derivados esteroidales con base en el número de átomos de carbono en su estructura.

Nombre	Número de átomos de carbono	Estructura
Gonanos	17	
Estranos	18	
Androstanos	19	
Pregnanos	21	
Colanos	24	
Colestanos	27	



3.2. Dímeros esteroidales: características, propiedades y aplicaciones.

Tomando en cuenta que cambios pequeños en la estructura de un esteroide, le confieren propiedades muy distintas, se ha puesto énfasis en la modificación estructural. Dentro de esta búsqueda es que se ha llegado a la obtención de dímeros esteroidales. Los dímeros esteroidales fueron primeramente sintetizados en forma de subproductos, posteriormente descubiertos como productos naturales [8-9]. Se clasifican con base en la conectividad que poseen con respecto a las dos entidades que lo conforman.

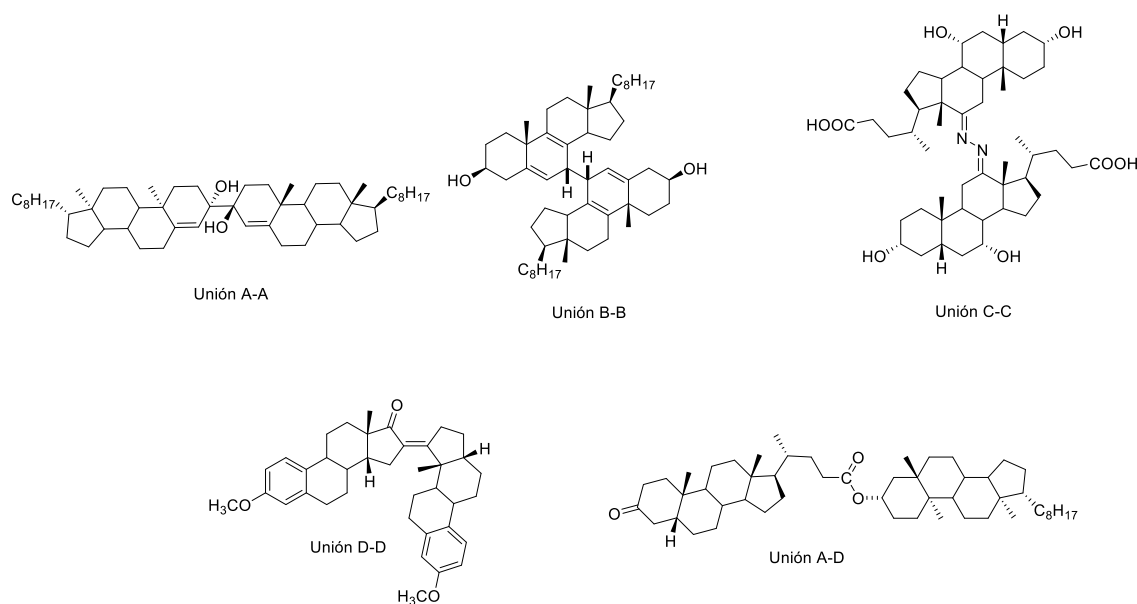


Figura 3.2. Ejemplos de dímeros esteroidales con uniones en los diferentes anillos.

Esta unión puede ser lineal o cíclica y directa o bien, a través de un fragmento adicional llamado espaciador. Además, la unión puede darse en cada uno de los anillos que conforman el esteroide, es decir, anillo A-anillo A, anillo B-anillo B, anillo C-anillo C, anillo D-anillo D y también mediante la cadena lateral. Puede darse también conexión cruzada, por ejemplo, anillo A-anillo D. Finalmente, los esteroides que conforman el dímero pueden ser el mismo o puede ser un heterodímero [10] (Figura 3.2).

Existe evidencia de que la dimerización del esqueleto esteroideal ofrece características únicas que son aplicables en diferentes áreas [11]. Se han obtenido dímeros esteroidales con propiedades como detergentes, formadores de micelas y generadores de cristales líquidos [12-14]. Se han empleado en catálisis [15] en formación de geles supramoleculares [16] y algunos de ellos poseen una importante actividad biológica. Recientemente se encontró que dímeros esteroidales derivados de etinilestradiol y testosterona poseen actividad citotóxica contra ciertas líneas celulares.

3.3. Rotores moleculares en estado sólido

Los rotores moleculares son sistemas en los cuales una parte de la molécula gira con respecto a otra parte de la molécula o con respecto a una entidad macroscópica como una superficie o un sólido [17]. A continuación, se detallarán los componentes de dichos rotores y sus características distintivas.

3.3.1. Componentes

Su estructura consta de tres componentes principales: rotador, eje y estator. El rotador es el fragmento encargado de ejecutar el movimiento rotacional, por su parte el estator es el componente encargado de crear el marco rígido para que el rotador pueda moverse, suele contener toda la información supramolecular que da lugar al auto-ensamble. El tercer fragmento es el eje que funciona como espaciador que además minimiza la energía necesaria para ejecutar el movimiento rotacional (Figura 3.3).

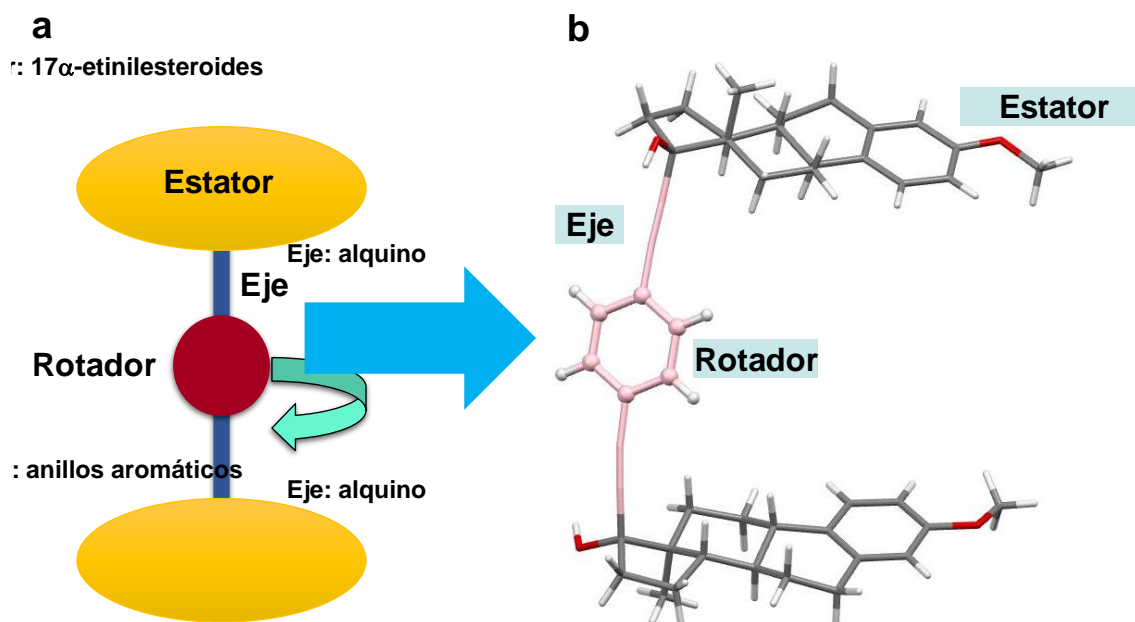


Figura 3.3. a) Representación esquemática de un rotor molecular b) Ejemplo de rotor molecular.

El estator suele ser un grupo voluminoso, tal que permita generar una porción de volumen libre dentro del cristal. Se ha estudiado la influencia del volumen libre dentro del arreglo cristalino en la frecuencia rotacional y se encontró que el

incremento del volumen del estator, en general, da lugar a arreglos cristalinos donde la frecuencia de rotación es elevada [18]. Este estudio se llevó a cabo analizando el factor de empaquetamiento (C_k) de distintos rotores, que es la relación entre el volumen que ocupan los átomos en la celda unitaria y el volumen total de la celda y por lo tanto es una medida indirecta del volumen libre. Existen casos en los que hay volumen libre, sin embargo, existen interacciones con el rotador que limitan la rotación dentro del ensamble [19]. El volumen libre alrededor del rotador es un factor que influencia dramáticamente la rotación en estado sólido, por esta razón es que se buscan sistemas donde el arreglo cristalino presente esta característica. (Figura 3.4).

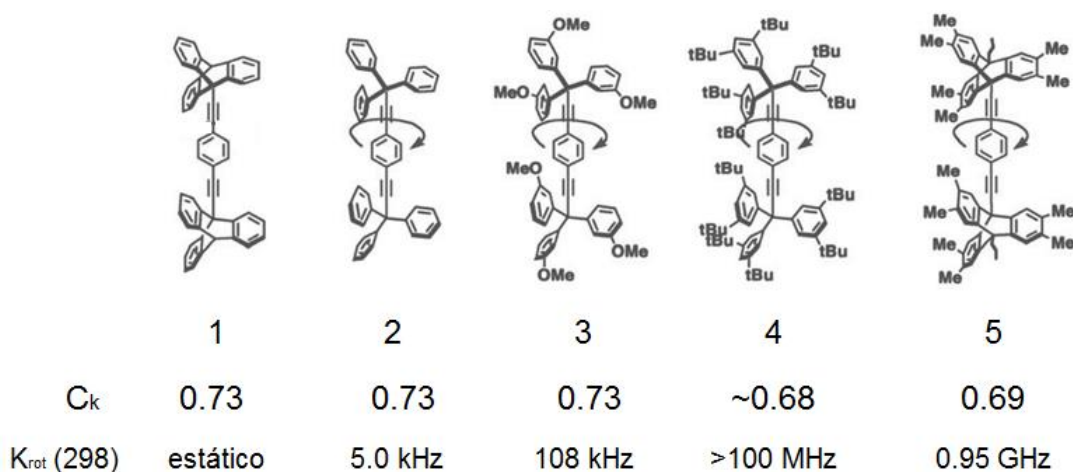


Figura 1.4. Rotores moleculares con variaciones en el volumen del estator, factor de empaquetamiento y efecto en la dinámica rotacional.

Con respecto al rotador, puede ser cualquier grupo axialmente simétrico cuyo centro de masa esté unido a un estator mediante el eje [20]. Se ha estudiado la influencia de la simetría de este componente en la frecuencia rotacional, encontrándose que, a un aumento de la simetría, incrementa también la frecuencia rotacional [18]. Sin embargo, ha resultado ser sintéticamente más

favorable, usar rotadores de fenileno y fenileno sustituido. En el campo de los rotores moleculares, se busca tener una dinámica rotacional en estado sólido que sea elevada pero que también se pueda modular. La inclusión de dipolos permanentes dentro de los rotadores abre una brecha para lograr este objetivo [21-22].

De forma ideal, un eje de rotación es aquel que no posee barreras rotacionales intrínsecas. Un bloque que, además de ser versátil desde el punto de vista sintético, cumple con los requerimientos antes mencionados es el grupo alquínico, ya que posee barreras rotacionales de enlaces simples formados entre carbonos $sp-sp^n$ de 0.1 kcal/mol o menos [23]. No sólo los alquinos pueden ser usados para este propósito, sin embargo, se han explorado algunos otros grupos en donde las barreras rotacionales resultan ser un obstáculo para la dinámica de la molécula en el estado sólido, por ejemplo, los ejes con enlaces tipo sigma [24]. Para explicar el movimiento esperado para estos sistemas, el grupo de García-Garibay propuso un diagrama cualitativo de orden de fase *versus* movimiento molecular (Figura 3.5) [22]. Mediante esta explicación se hace manifiesta la relación que existe entre la estructura molecular de las distintas fases de materia condensada y el movimiento dentro de las mismas. También se puede intuir que puede coexistir el movimiento con un sistema de moléculas altamente ordenadas en un cristal, a estos sistemas les denominó sistemas anfidinámicos.

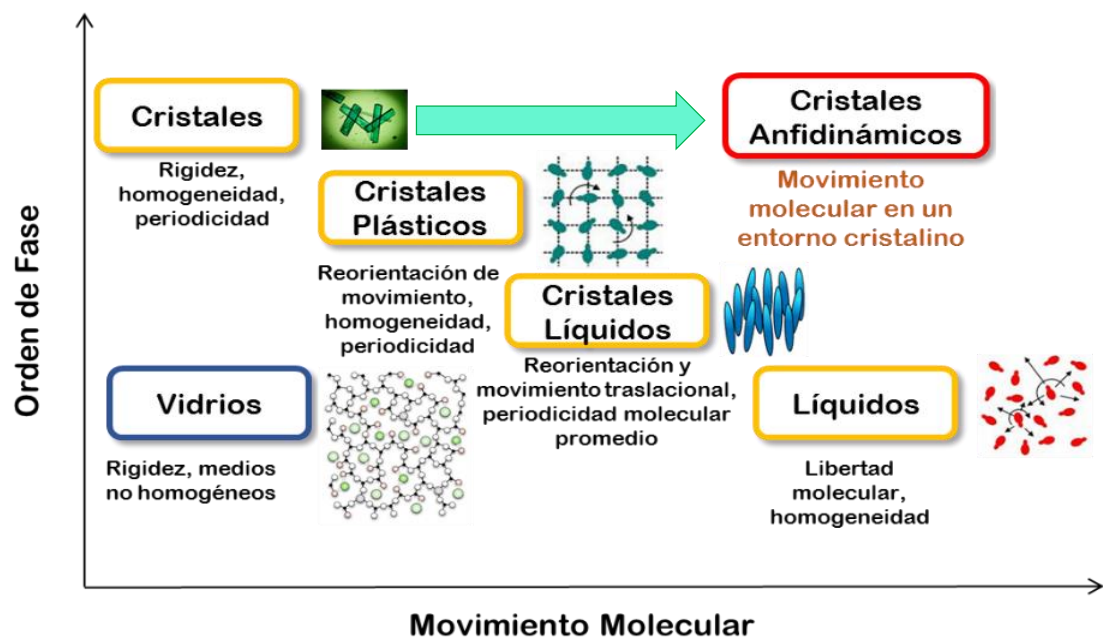


Figura 3.5. Orden de fase vs. movimiento molecular para las distintas fases de materia condensada.

3.3.2. Propiedades y aplicaciones

El primer ejemplo es el rotor molecular con un estator voluminoso de trifenilmetano que permitió alcanzar frecuencias de rotación en el intervalo de los MHz, con una energía de activación de 14.6 kcal/mol [25]. Más adelante se presentaron análogos del rotor anterior, con sustituyentes de mayor volumen como lo son el *ter*-butildifenilsililoxi [26] y *ter*-butilos [27] alcanzando frecuencias rotacionales hasta el intervalo de los GHz, para estos últimos. Se ha observado que un factor importante en la obtención de sistemas eficientes es la presencia de interacciones entre los estatores y rotadores de moléculas, a este proceso se le conoce como interdigitación, y restringe la movilidad en estado sólido [28]. En 2011 se publicó la síntesis de rotores moleculares con estatores de tritilo puenteados [29]. En este trabajo se buscaba obtener rotores con topologías más

cerradas, análogas a un giroscopio. Se encontró que los fragmentos diarilbenzofenona no son lo suficientemente voluminosos para prevenir la interdigitación o la inclusión de disolvente dentro de la estructura cristalina (Figura 3.6).

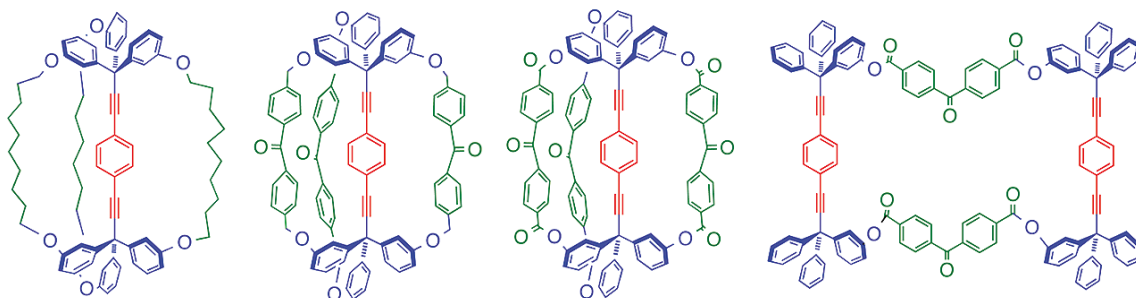


Figura 3.6. Rotores moleculares puenteados con cadenas éter, éster y benzofenona.

Se busca tener movimientos rotacionales correlacionados y que ese movimiento pueda dar lugar a una tarea más compleja, tal como sucede en las máquinas moleculares. En 2019 fue descrita la obtención de un rotor molecular derivado de carbazol como estator y rotador de 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octano (DABCO) [30]. Se trata de un rotor supramolecular que presenta una rotación de alta frecuencia en estado sólido y tiene efecto termosaltante o también conocido como “salto de cristal”. Esta propiedad es un movimiento observado en este tipo de estructuras debido a la liberación de tensión que ocurre cuando son sometidas a una transición de fase, es decir, a un cambio en el acomodo espacial de las moléculas en el sólido originado por variaciones de temperatura. Se demostró que a 316 K los cristales sufren una transición de fase con una reconfiguración estructural, lo cual provocó que cambien de forma y salten de una superficie caliente. Este es un ejemplo sobresaliente de como el movimiento

molecular correlacionado y colectivo, en respuesta a un estímulo externo, puede dar lugar a una propiedad macroscópica emergente (Figura 3.7).

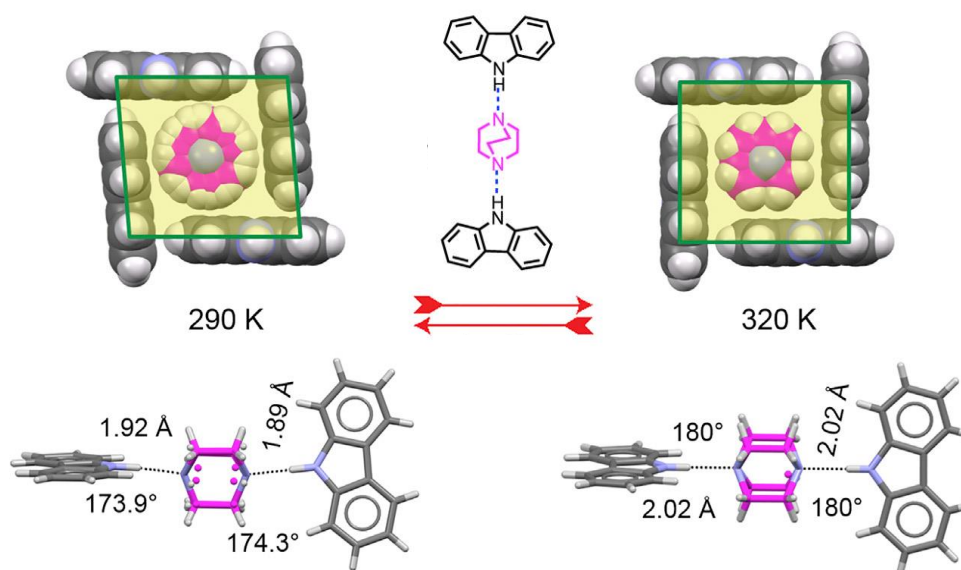


Figura 3.7. Rotor molecular derivado de carbazol y DABCO con efecto termosensible a 310 K.

3.4. Rotores moleculares esteroidales

En búsqueda de nuevos bloques de construcción que puedan fungir como estatores, en nuestro grupo de investigación se implementó el uso de esteroides como estatores. Los esteroides han sido ampliamente estudiados y utilizados por sus características y propiedades de interés biológico [31]. Sin embargo, recientemente se han empleado como bloques de construcción de materiales con aplicaciones en diversas áreas como reconocimiento molecular [32-33].

3.4.1. Propiedades y características

Existen diversas características que hacen de los esteroides buenos candidatos para ser empleados en el desarrollo de rotores moleculares, las cuales se enuncian a continuación. Una primera característica que permite que sean usados como estatores es que son moléculas voluminosas y rígidas. Se espera que esta característica permita generar arreglos cristalinos en donde las interacciones supramoleculares se dan primordialmente entre estatores y no interfieren en la rotación del fragmento central. Una segunda característica es que es posible modular las interacciones que pueden generarse en el autoensamble, al modular los grupos funcionales presentes en el esqueleto esteroideal, lo cual deriva en una amplia gama de posibilidades en cuanto a arreglos cristalinos [34].

Otra propiedad de los esteroides, que pudiera pensarse que es una desventaja, es que tienden a formar polimorfos (Figura 3.8) [35]. Esta característica solía verse como un inconveniente en el contexto de ingeniería de cristales, pero en la actualidad se ha cambiado esa perspectiva y se ha considerado como una ventana de oportunidad para modular las propiedades de los cristales [36].

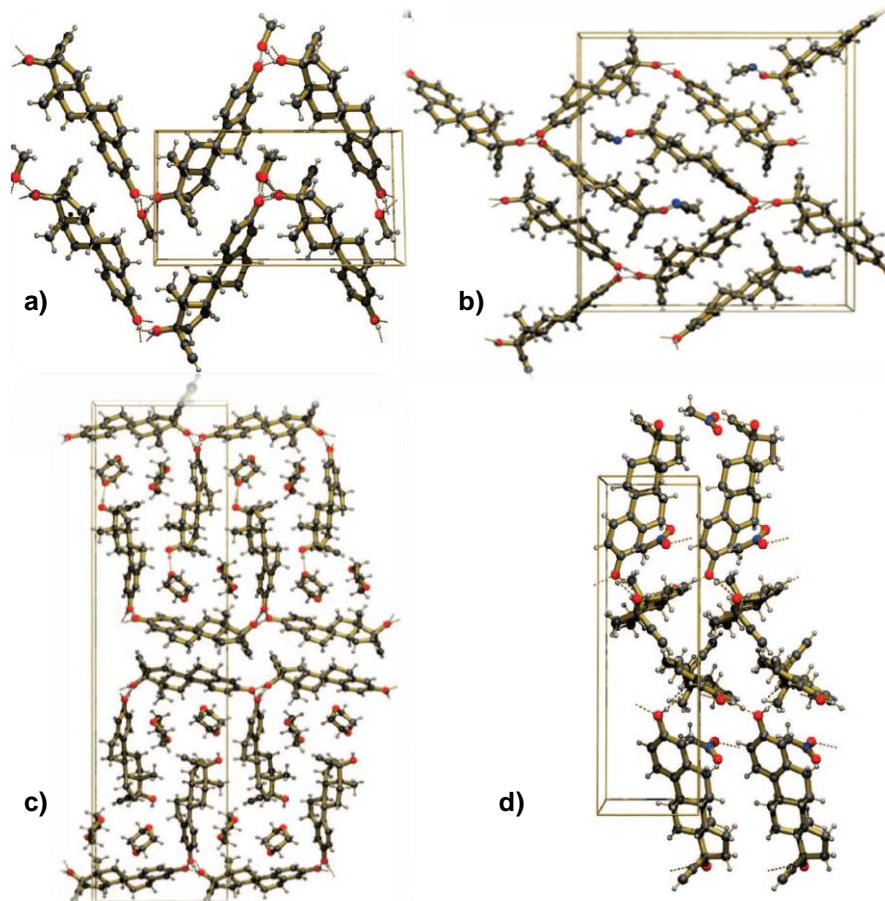


Figura 3.8. Solvatos de etinilestradiol en: a) metanol b) ACN c) dioxano y d) nitrometano. Vista a lo largo del eje cristalográfico *a*.

Una característica muy importante de los esteroides es la presencia de múltiples centros estereogénicos que dan lugar a compuestos que cristalizan en grupos espaciales no centrosimétricos y con ejes polares [37]. Esta propiedad se hace importante al pensar en las aplicaciones futuras de estos sistemas, ya que las moléculas que cristalizan en grupos espaciales no centrosimétricos pueden presentar propiedades como óptica no lineal [38-39]. Y los que cristalizan en grupos polares pueden generar fenómenos como la ferroelectricidad y piroelectricidad [40].

Las características estructurales antes mencionadas han permitido explorar el desempeño de los esteroides como bloques de construcción en la obtención de rotores moleculares. A continuación, se muestran algunos ejemplos en donde se han estudiado distintos esteroides y el efecto que su estructura molecular en el empaquetamiento cristalino, que a su vez tiene un impacto en las propiedades dinámicas de los compuestos obtenidos.

3.4.2. Aplicaciones

En 2010, se sintetizaron los primeros rotores moleculares usando etisterona y acetato de noretisterona como estatores, unidos a un rotador de fenileno y fenileno-d₄ mediante ejes alquino [41]. El compuesto cristalizó como solvato de cloroformo y se encontró que las interacciones predominantes en el empaquetamiento cristalino son entre el acetato en posición C-16 y el oxígeno en C-3, C16—H16...O3, ángulo de 163.5° y distancia de C16—O3 de 3.51 (Figura 3.9a). El desempeño del compuesto como sistema anfidinámico no fue bueno, ya que en la estructura cristalina se observó interdigitación (Figura 3.9b), y como consecuencia la rotación medida fue de 10 KHz a temperatura ambiente, lo cual es considerado como un sistema estático.

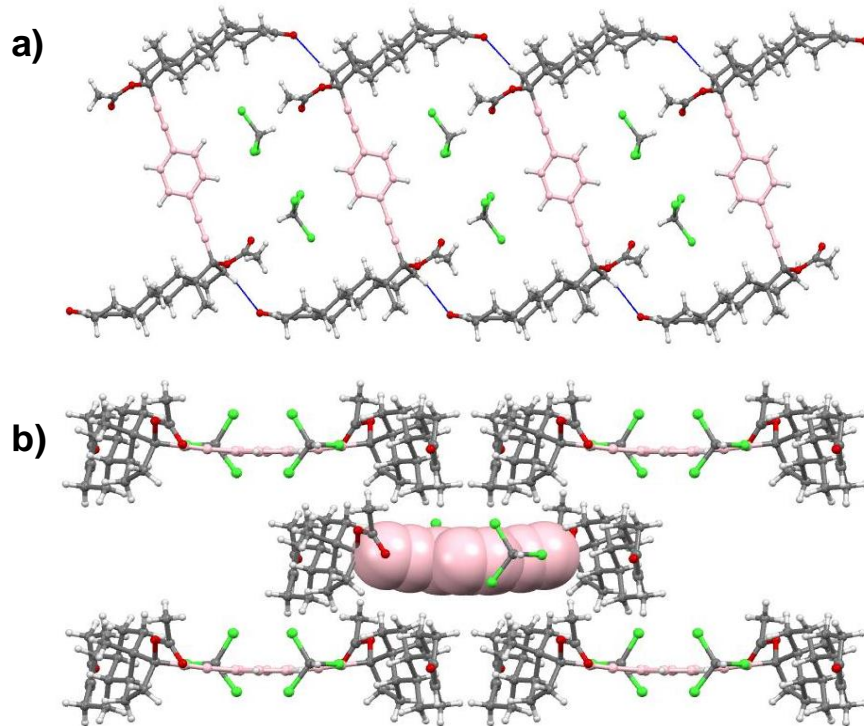


Figura 3.9. a) Enlaces de hidrógeno presentes en la estructura cristalina del rotor molecular derivado de acetato de noretisterona, vista a lo largo del eje cristalográfico *b.* b) Contactos cercanos de una sola molécula (en rosa), donde se observa la existencia de interdigitación.

Otro ejemplo, es el rotor derivado de mestranol como estator y rotador de fenileno-d₄ [42]. En este caso la estructura posee un anillo A aromático con un metoxilo en posición C-3. Se encontró que este sistema es un buen modelo para estudiar la correlación de movimiento en estado sólido ya que posee un empaquetamiento helicoidal donde todos los rotadores se sitúan al centro y la rotación de uno de ellos induce la rotación del rotador contiguo (Figura 3.10). Las interacciones sobresalientes que forman el arreglo supramolecular son las que establece el hidroxilo en posición C-17, que dona un enlace de hidrógeno al rotor

vecino. De este trabajo se logró obtener un sistema anfidinámico cuya dinámica rotacional consta de dos procesos dinámicos, uno de ellos de rotaciones de 180° con frecuencia mayor a los 100 MHz (dinámica alta), combinado con movimientos de 85° de frecuencia menor (2×10^4 a $1.5 \times 10^6 \text{ s}^{-1}$).

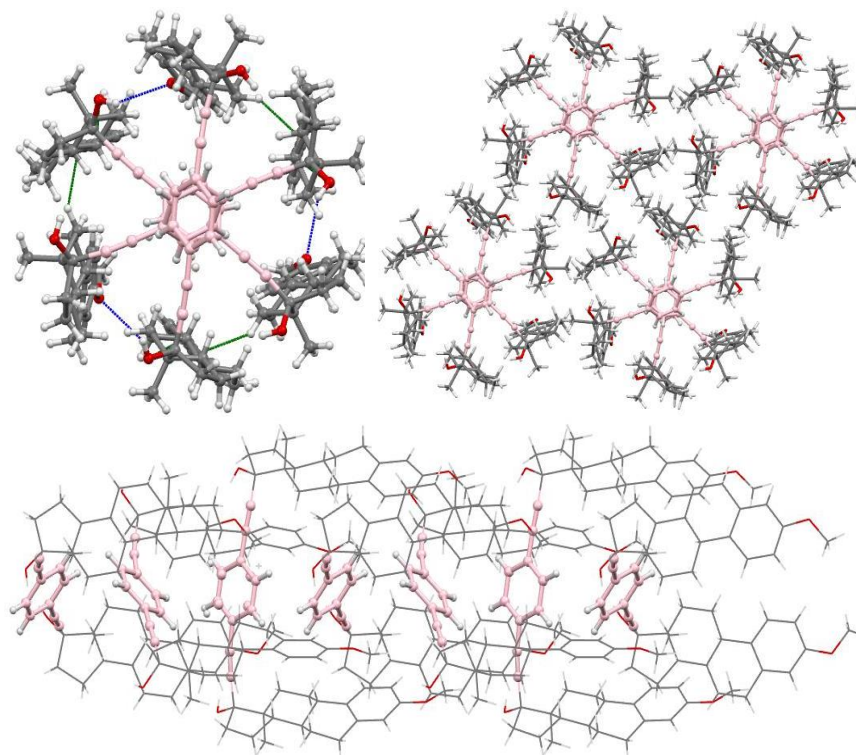


Figura 3.10. Arreglo supramolecular helicoidal del rotor derivado de mestranol y rotador de benceno.

Se ha observado que la principal limitante en estos sistemas es tener arreglos cristalinos que presentan interdigitación. Atendiendo a esta problemática, se han diseñado sistemas en donde el eje y rotador se encuentran en la parte central del esteroide buscando tenerlo más protegido (Figura 3.11a). En 2016 se sintetizaron rotores derivados de hecogenina [43], sin embargo, el cristal que

logró obtenerse no mostraba una estructura favorable para presentar dinámica rotacional (Figura 3.11b).

Con respecto a los rotores esteroidales con rotadores dipolares, se sintetizó el primer derivado con estas características en 2009. Se incorporó un rotador de piridina deuterada a dos estatores de tritilo. Se encontró que este sistema alcanza una frecuencia rotacional en estado sólido de 8 MHz a temperatura ambiente.

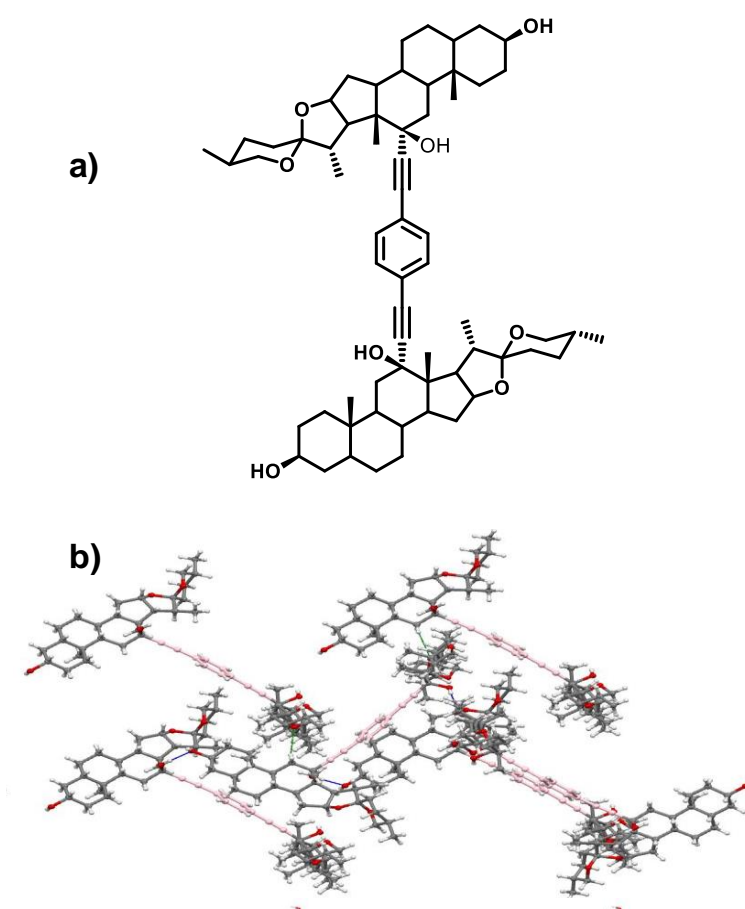


Figura 3.11. a) Estructura molecular de rotor derivado de hecogenina. b) Arreglo supramolecular interdigitado de rotor derivado de hecogenina con rotador de benceno.

3.5 Generalidades de sólidos porosos

El diseño racional de sólidos porosos es uno de los principales objetivos de la ingeniería de cristales [44], los sistemas cristalinos que contienen poros que van de 0.5-2.0 nm son especialmente interesantes, ya que esas dimensiones permiten la penetración de una amplia gama de huéspedes moleculares. Estas propiedades de absorción pueden dar lugar a aplicaciones que incluyen almacenamiento de gas [45], catálisis [46] o separaciones moleculares [47]. Por tanto, existe mucho interés en la preparación de cristales nanoporosos, especialmente cuando las propiedades se puedan adaptar para diferentes propósitos. Los mayores casos de éxito se encuentran representados por estructuras organometálicas, cavidades moleculares preformadas (moléculas intrínsecamente porosas) y estructuras orgánicas covalentes [48]. Sin embargo, la formación de poros mediante la cristalización de compuestos orgánicos no-macrocíclicos, porosidad extrínseca, sigue siendo uno de los desafíos más grandes dentro del campo. Existen pocos ejemplos donde es posible ajustar el tamaño de los poros y las propiedades del material [49], e incluso en esos casos, las posibles variaciones dentro del motivo de empaquetamiento son relativamente estrechas. Por esta razón, la comprensión de las interacciones no covalentes que dan lugar a arreglos supramoleculares porosos se vuelve relevante para desarrollar materiales funcionales o moléculas bioactivas basadas en esteroides. Los esfuerzos para controlar y mejorar el auto-reconocimiento entre moléculas necesario para la cristalización exigen la presencia de sustituyentes específicos, los cuales deben ser accesibles al modificar el núcleo esteroideal para favorecer así las interacciones inter- o intramoleculares capaces de modular el auto-ensamble [50].

Un ejemplo interesante de este tipo de sistemas son los compuestos derivados de ureas esteroidales. Como característica principal, estos sistemas tienen grupos en los extremos del esteroide que están dirigidos hacia dentro de los canales, lo cual permite que estos puedan ser modificados sin alterar la estructura cristalina.

Se trabajó con una colección de ureas esteroidales, estudiándose tanto la estructura como las propiedades de inclusión. Se encontró que los canales formados muestran variaciones tanto en tamaño, forma y naturaleza química.

El derivado de tris-(N-fenil)urea es capaz de reconocer moléculas pequeñas dentro de los canales, los cuales poseen funcionalidades que interactúan con los huéspedes. Este derivado reconoce moléculas simples como la anilina y el clorobenceno y también derivados más complejos como el escualeno.

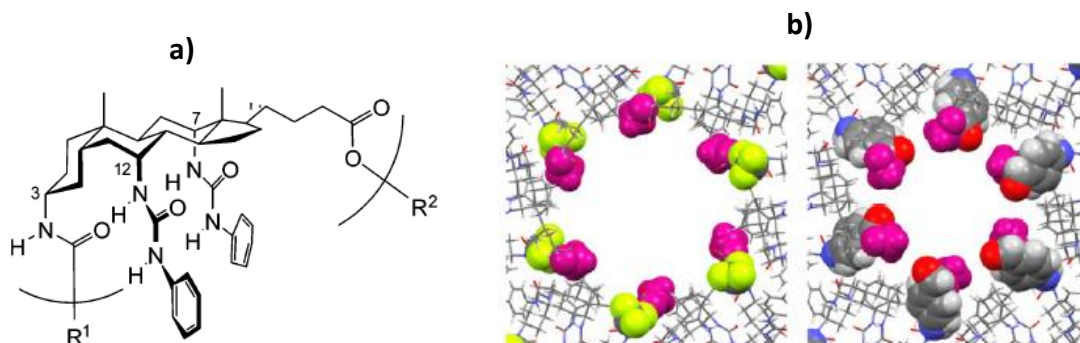


Figura 3.12. a) Estructura general de las tris-(N-fenil)ureas. Los grupos R_1 y R_2 controlan el tamaño y naturaleza del poro. b) Ejemplos de los canales derivados de las tris-(N-fenil)ureas con distintos sustituyentes.

Referencias: Antecedentes

[1] Y. Li, J.R. Dias, Dimeric and oligomeric steroids, *Chem. Rev.* 1997, **97**, 283-304.

[2] L.F. Fieser, M. Fieser, *Steroids*, 1959, Reinhold Publishing.

[3] (a) J.H. Fuhrhop, J. Mathieu, Routes to Functional Vesicle Membranes without Proteins, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1984, **23**, 100-113. (b) S. Shinkai, K. Murata, Cholesterol-based Functional Tectons as Versatile Building-blocks for Liquid Crystals, Organic Gels and Monolayers, *J. Mater. Chem.* 1998, **8**, 485-495.

[4] (a) J.C. Medina, I. Gay, Z. Chen, L. Echevoyen, G.W. Gokel, Redox-switched Molecular Aggregates: The First Example of Vesicle Formation from Hydrophobic Ferrocene Derivatives, *J. Am. Chem. Soc.* 1991, **113**, 365-366. (b) J.I. Kikuchi, Y. Murakami, Steroid Cyclophanes as Artificial Cell-surface Receptors. Molecular Recognition and its Consequence in Signal Transduction Behavior, *J Incl Phenom Macrocycl Chem*, 1998, **32**, 209-221. (c) J.T. Groves, R. Neumann, Regioselective Oxidation Catalysis in Synthetic Phospholipid Vesicles. Membrane-spanning Steroidal Metalloporphyrins, *J. Am. Chem. Soc.* 1989, **111**, 2900-2909.

[5] (a) H. Valkenier, A.P. Davis, Making a Match for Valinomycin: Steroidal Scaffolds in the Design of Electroneutral, Electrogenic Anion Carriers, *Acc. Chem. Res.* 2013, **46**, 2898-2909. (b) H. Li, H. Valkenir, L.W. Judd, P.R. Brotherhood, S. Hussain, J.A. Cooper, O. Jurcek, H.A. Sparkes, D.N. Sheppard, A.P. Davis, Efficient, Non-Toxic Anion Transport by Synthetic Carriers in Cells and Epithelia, *Nat. Chem.* 2016, **8**, 24-32. (c) X. Wu, L.W. Judd, E.N.W. Howe, A.M. Whitecombe, V. Soto-Cerrato, H. Li, N. Busschaert, H. Valkenier, R. Pérez-

Tómas, D.N. Sheppard, Y.B. Jiang, A.P. Davis, P.A. Gale, Nonprotonophoric Electrogenic Cl⁻Transport Mediated by Valinomycin-like Carriers, *Chem.* 2016, **1** 127-146.

[6] A.P. Davis, Cholaphanes *et al.*; Steroids as Structural Components in Molecular Engineering, *Chem. Soc. Rev.* 1993, **22**, 243-253.

[7] (a) Nomenclature of Steroids. *Pure & Appl. Chem.* 1989, **61**, 1783-1822. (b) D. Lednicer, Steroid Chemistry at Glance, 2011, John Wiley & Sons, Ltd.

[8] L. Nahar, S.D. Sarker, A.B. Turner, Facile Synthesis of New Oxalate Dimers of Naturally Occurring 3-hydroxysteroids, *Chem. Nat. Compd.* 2006, **42**, 549-552.

[9] P. Crabbe, J.A. Zderic, Steroides. Synthèse de Bis-Steroides Diacétyléniques, *Bull. Soc. Chim. Belg.* 1961, **70**, 403-409.

[10] Y. Li, J.R. Dias, Dimeric and Oligomeric Steroids, *Chem. Rev.* 1997, **97**, 283-304.

[11] L. Nahar, S.D. Sarker, A.B. Turner, A Review on Synthetic and Natural Steroid Dimers: 1997-2006, *Curr. Med. Chem.* 2007, **14**, 1349-1370.

[12] J. McKenna, J.M. McKenna, D.W. Thornthwait, Bis-Steroids as Potential Enzyme Models: Perylene Solubilisation and Dye Spectral Changes with Aqueous Solutions of Some Derivatives of Conessine and Cholic Acid, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1977, 809-811.

[13] S. Hoffmann, W.Z. Kumpf, *Chem.* 1986, **8**, 293-295.

[14] S. Matile, N. Berova, K. Nakanishi, J. Fleischhauer, R.W. Woody, Structural Studies by Exciton Coupled Circular Dichroism Over a Large Distance: Porphyrin

Derivatives of Steroids, Dimeric Steroids, and Brevetoxin B₁, *J. Am. Chem. Soc.* 1996, **118**, 5198-5206.

[15] J.P. Guthrie, J. Cossar, B.A. Darson, A Water Soluble Dimeric Steroid with Catalytic Properties. Rate Enhancements from Hydrophobic Binding, *Can. J. Chem.* 1986, **64**, 2456-2469.

[16] H. Svobodová, V. Noponen, E. Kolehmainen, E. Sievänen, Recent Advances in Steroidal Supramolecular Gels, *RSC Adv.* 2012, **2**, 4985–5007.

[17] G.S. Kottas, L.I. Clarke, D. Horinek, J. Michl, Artificial Molecular Rotors, *Chem. Rev.* 2005, **105**, 1281-1376.

[18] C.S. Vogelsberg, M.A. Garcia-Garibay, Crystalline Molecular Machines: Function, Phase Order, Dimensionality, and Composition, *Chem. Soc. Rev.* 2012, **41**, 1892–1910.

[19] C.E. Godinez, G. Zepeda, M.A. Garcia-Garibay, Molecular Compasses and Gyroscopes. II. Synthesis and Characterization of Molecular Rotors with Axially Substituted Bis[2-(9-triptycyl)ethynyl]arenes, *J. Am. Chem. Soc.* 2002, **124**, 4701-4707.

[20] S.D. Karlen, M.A. Garcia-Garibay, Amphidynamic Crystals: Structural Blueprints for Molecular Machines, *Top. Curr. Chem.* 2006, **262**, 179-228.

[21] T.A. Khuong, J.E. Nuñez, C.E. Godinez, M.A. Garcia-Garibay, Crystalline Molecular Machines: A Quest Toward Solid-State Dynamics and Function, *Acc. Chem. Res.* 2006, **39**, 413.

- [22] M.A. Garcia-Garibay, Crystalline molecular machines: Encoding Supramolecular Dynamics into Molecular Structure, *Proc. Nat. Acad. Sci.* 2005, **102**, 10771-10776.
- [23] V.A. Sipachev, L.S. Khaikin, O.E. Grikina, V.S. Nikitin, M. Traettberg, Structure, Spectra and Internal Rotation of bis(trimethylsilyl) acetylene: Spectral Analysis by Scaling Quantum-Chemical Force Fields and Two Methods for Calculating Vibrational Effects, *J. Mol. Struct.* 2000, **523**, 1–22.
- [24] S.L. Gould, D. Tranchemontagne, O.M. Yaghi, M.A. Garcia-Garibay, Amphidynamic Character of Crystalline MOF-5: Rotational Dynamics of Terephthalate Phenylenes in a Free-Volume, Sterically Unhindered Environment, *J. Am. Chem. Soc.* 2008, **130**, 3246-3247.
- [25] Z. Dominguez, H. Dang, M.J. Strouse, M.A. Garcia-Garibay, Molecular “Compasses” and “Gyroscopes”. I. Expedient Synthesis and Solid State Dynamics of an Open Rotor with a bis (triarylmethyl) Frame, *J. Am. Chem. Soc.* 2002, **124**, 2398–2399.
- [26] R. Arcos-Ramos, B. Rodriguez-Molina, M. Romero, J.M. Méndez-Stivalet, M.E. Ochoa, P.I. Ramírez-Montes, R. Santillan, M.A. Garcia-Garibay, N. Farfan, Synthesis and Evaluation of Molecular Rotors with Large and Bulky tert-Butyldiphenylsilyloxy-Substituted Trityl Stators, *J. Org. Chem.* 2012, **77**, 6887–6894.
- [27] T.A.V. Khuong, G. Zepeda, R. Ruiz, S.I. Kahn, M.A. Garcia-Garibay, Molecular Compasses and Gyroscopes: Engineering Molecular Crystals with Fast Internal Rotation, *Cryst. Growth Des.* 2004, **4**, 15-18.

- [28] S.D. Karlen, M.A. Garcia-Garibay, Amphidynamic Crystals: Structural Blueprints for Molecular Machines, *Top. Curr. Chem.* 2006, **262**, 179-228.
- [29] P. Commins, J.E. Nuñez, M.A. Garcia-Garibay, Synthesis of bridged molecular gyroscopes with closed topologies: Triple one-pot macrocyclization, *J. Org. Chem.* 2011, **76**, 8355–8363.
- [30] A. Colin-Molina, D.P. Karothu, M.J. Jellen, R.A. Toscano, M.A. Garcia-Garibay, P. Naumov, B. Rodriguez-Molina, Thermosalient Amphidynamic Molecular Machines: Motion at the Molecular and Macroscopic Scales, *Matter* 2019, **1**, 1033-1046.
- [31] A. Gupta, B.S. Kumar, A.S. Negi, Current Status on Development of Steroids as Anticancer Agents, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2013, **137**, 242–270.
- [32] T. Friščić, R.W. Lancaster, L. Fábían, P.G. Karamertzanis, Tunable recognition of the steroid α -face by adjacent π -electron density, *Proc. Nat. Acad. Sci.* 2010, **107**, 13216-13221.
- [33] K. Ardila-Fierro, V. André, D. Tan, M.T. Duarte, R.W. Lancaster, P.G. Karamertzanis, T. Friščić, Molecular Recognition of Steroid Hormones in the Solid State: Stark Differences in Cocrystallization of β -Estradiol and Estrone, *Cryst. Growth Des.* 2015, **15**, 1492–1501.
- [34] M. C. Mayorquín-Torres, R. Arcos-Ramos, M. Flores-Álamo, M. A. Iglesias-Arteaga, Crystalline Arrays of Side Chain Modified bile Acids Derivatives. Two Novel Self-Assemblies Based on π - π and Belly-to-Belly Interactions, *Steroids* 2016, **115**, 169–176.

- [35] C. Guguta, I. Eeuwijk, J.M.M. Smits, R. de Gelder, Structural Diversity of Ethinyl Estradiol Solvates, *Cryst. Growth Des.* 2008, **8**, 823–831.
- [36] A.J. Cruz-Cabeza, N. Feeder, R.J. Davey, Open Questions in Organic Crystal Polymorphism, *Chem. Commun.* 2020, **142**, 1-4.
- [37] IUCr Commission on Crystallographic Nomenclature. *A Little Dictionary of Crystallography*; A. Authier, G. Chapuis, Eds.; International Union of Crystallography: Chester, England, 2014.
- [38] G.I. Stegeman, R.A. Stegeman, *Nonlinear Optics: Phenomena, Materials and Devices*; John Wiley & Sons, 2012.
- [39] E. Pidcock, Achiral Molecules in Non-Centrosymmetric Space Groups, *Chem. Commun.* 2005, 3457–3459.
- [40] G.R. Desiraju, J.J. Vittal, A. Ramanan, *Crystal Engineering: A Textbook*; World Scientific, **2011**.
- [41] B. Rodríguez-Molina, A. Pozos, R. Cruz, M. Romero, B. Flores, N. Farfan, R. Santillan, M.A. Garcia-Garibay, Synthesis and Solid-State Characterization of Molecular Rotors with Steroidal Stators: Ethisterone and Norethisterone, *Org. Biomol. Chem.* 2010, **8**, 2993-3000.
- [42] B. Rodríguez-Molina, N. Farfán, M. Romero, J.M. Mendez-Stivalet, R. Santillan, M.A. Garcia-Garibay, Anisochronous Dynamics in a Crystalline Array of Steroidal Molecular Rotors: Evidence of Correlated Motion within 1D Helical Domains, *J. Am. Chem. Soc.* 2011, **133**, 7280-7283.
- [43] I. Jastrzebska, T. Pawlak, R. Arcos-Ramos, E. Florez-Lopez, N. Farfán, D. Czajkowska-Szczykowska, J. Maj, R. Santillan, J.W. Morzycki, M.J.

Potrzebowski, Synthesis, Structure, and Local Molecular Dynamics for Crystalline Rotors Based on Hecogenin/Botogenin Steroidal Frameworks, *Cryst. Growth Des.* 2016, **16**, 5698–5709.

[44] (a) M.J. Zaworotko, Nanoporous Structures by Design, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2000, **39**, 3052-3054. (b) N.B. McKeown, Nanoporous Molecular Crystals, *J. Mater. Chem.* 2010, **20**, 10588-10597. (c) D. Bradshaw, J.B. Claridge, E.J. Cussen, T.J. Prior, M.J. Rosseinsky, Design, Chirality, and Flexibility in Nanoporous Molecule-Based Materials, *Acc. Chem. Res.* 2005, **38**, 273-282.

[45] (a) H. Furukawa, K.E. Cordova, M. O’Keeffe, O.M. Yaghi, The Chemistry and Applications of Metal-Organic Frameworks, *Science* 2013, **341** 1230444. (b) A. Comotti, S. Bracco, G. Distefano, P. Sozzani, Methane, Carbon Dioxide and Hydrogen Storage in Nanoporous Dipeptide-Based Materials, *Chem. Commun.* 2009, 284-286.

[46] J.Y. Lee, O.K. Farha, J. Roberts, K.A. Scheidt, S.B.T. Nguyena, J.T. Hupp, Metal–Organic Framework Materials as Catalysts, *Chem. Soc. Rev.* 2009, **38**, 1450-1459.

[47] R.V. Afonso, J. Durao, A. Mendes, A.M. Damas, L. Gales, Dipeptide Crystals as Excellent Permselective Materials: Sequential Exclusion of Argon, Nitrogen, and Oxygen, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2010, **49**, 3034-3036.

[48] (a) J.R. Holst, A. Trewin, A.I. Cooper, Porous Organic Molecules, *Nat. Chem.* 2010, **2** 915-920. (b) J.R. Longa, O.M. Yaghi, The Pervasive Chemistry of Metal–Organic Frameworks, *Chem. Soc. Rev.* 2009, **38**, 1213-1214.

[49] D.V. Soldatov, I.L. Moudrakovski, J.A. Ripmeester, Dipeptides as Microporous Materials, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2004, **43**, 6308-6311.

[50] R. Natarajan, L. Bridgland, A. Sirikulkajorn, J.H. Lee, M.F. Haddow, G. MAgro, B. Ali, S. Narayanan, P. Strickland, J.P.H. Charmant, A.G. Orpen, N.B. McKeown, C.G. Bezzu, A.P. Davis, Tunable Porous Organic Crystals: Structural Scope and Adsorption Properties of Nanoporous Steroidal Ureas, *J. Am. Chem. Soc.* 2013, **135**, 16912-16925. Dedicated to PAG <3.

4. Justificación

Con base en lo estipulado en los antecedentes, en la presente tesis se presenta el estudio de dímeros esteroidales. Se plantean variaciones en el esteroide que se espera impacten significativamente el empaquetamiento cristalino y permitan tener sistemas con movimiento rotacional en estado sólido, que den lugar a sólidos capaces de reconocer moléculas pequeñas y sistemas modelo para el estudio de interacciones supramoleculares en estado sólido de derivados esteroidales. Se plantean variaciones estructurales en el espaciador fenileno en aras de poder modular el movimiento rotacional mediante la alineación y reorientación de dipolos en respuesta a un estímulo externo, y que además estos dipolos confieran propiedades aprovechables a los sistemas aquí estudiados. Mediante este estudio se sientan las bases de la obtención de sistemas versátiles con derivados esteroidales, en donde se explotan todas las características estructurales de los mismos, pero también de los arreglos supramoleculares que presentan y propiedades que de éstos se derivan.

5. OBJETIVO

Diseñar, sintetizar y caracterizar dímeros esteroidales con espaciadores de fenileno y fenilenos-sustituidos.

Objetivos particulares

- ❖ Explorar el efecto del espaciador en la organización supramolecular de dímeros esteroidales con arquitecturas tipo mancuerna.

Del Capítulo 1

- ❖ Sintetizar un dímero esteroideal derivado de 17α -etinil- 5α , 10α -estran- 17β -ol con espaciador de fenileno.
- ❖ Caracterizar de un dímero esteroideal derivado de 17α -etinil- 5α , 10α -estran- 17β -ol con espaciador de fenileno.
- ❖ Explorar el efecto combinado de la ausencia de funcionalidades en los anillos A, B y C del esqueleto esteroideal con la presencia de un espaciador de fenileno en la organización supramolecular.

Del Capítulo 2

- ❖ Sintetizar dímeros esteroidales derivados de etinilestradiol, mestranol, etisterona, noretisterona y 17α -etinil- 5α -androst-2-en- 17β -ol con un espaciador de *p*-nitroanilina.
- ❖ Caracterizar de dímeros esteroidales derivados de etinilestradiol, mestranol, etisterona, noretisterona y 17α -etinil- 5α -androst-2-en- 17β -ol con un espaciador de *p*-nitroanilina.
- ❖ Explorar el efecto combinado de utilizar un espaciador de *p*-nitroanilina con diferentes esqueletos esteroidales en la organización supramolecular de dímeros esteroidales.

Del Capítulo 3

- ❖ Sintetizar dímeros esteroidales derivados de etinilestradiol con espaciadores de fenileno, fenileno-d4 y 1,2-difluorofenileno.
- ❖ Caracterizar de dímeros esteroidales derivados de etinilestradiol con espaciadores de fenileno, fenileno-d4 y 1,2-difluorofenileno.
- ❖ Explorar el efecto combinado del esqueleto esteroideal con la presencia de diferentes espaciadores en la organización supramolecular de los dímeros esteroidales.

6. CAPÍTULO 1. Dímero esteroidal derivado de 17α -etinil- $5\alpha,10\alpha$ -estran- 17β -ol con espaciador de fenileno.

La necesidad de desarrollar nuevas moléculas capaces de responder a las diferentes aplicaciones en ciencia de materiales ha permitido que el uso de derivados esteroidales como bloques de construcción de sistemas complejos se haya incrementado en años recientes. Particularmente, a través de la explotación de las características estructurales de estos compuestos, ha sido posible desarrollar complejos huésped-anfitrión [1-3], complejos de inclusión [4-5] así como geles supramoleculares [6]. El hecho de que pequeñas modificaciones estructurales sobre el esqueleto esteroidal provoque cambios importantes tanto en su actividad biológica como en sus propiedades físicas y químicas [7], ha permitido el explorar correlaciones estructura-actividad a través del desarrollo de dímeros esteroidales; dichos compuestos muestran una amplia gama de estructuras naturales y sintéticas dependiendo del tipo de esteroide y de la conexión que existe entre estos [8-12].

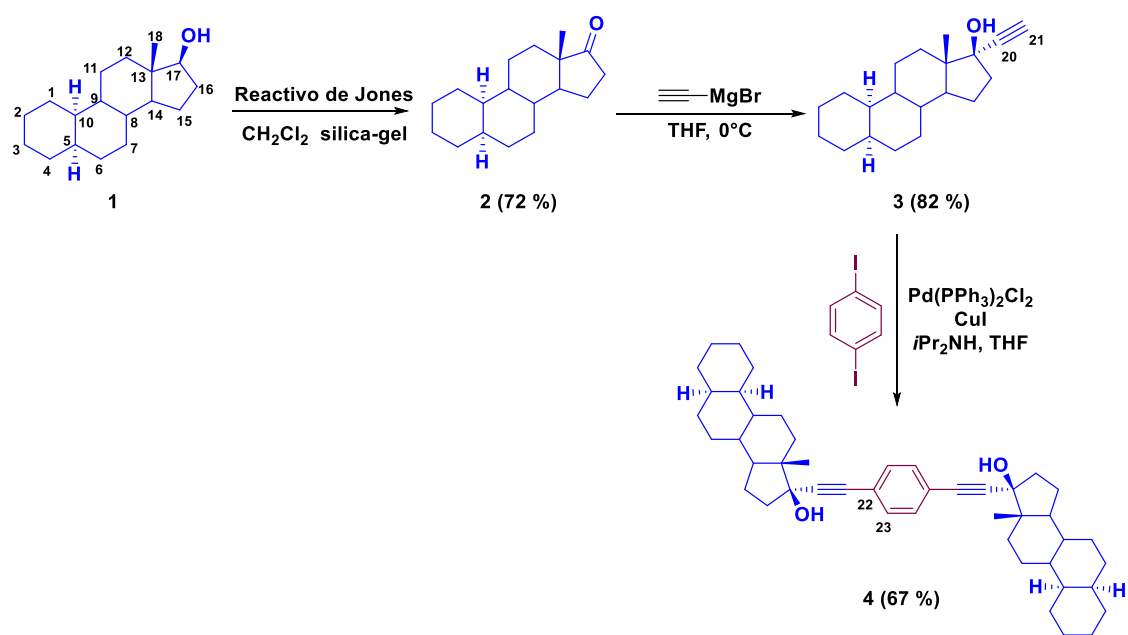
La dimerización de derivados esteroidales permite acceder a nuevas propiedades con aplicación en diferentes áreas, entre las que podemos resaltar la catálisis de reacciones de hidrólisis y su comportamiento como detergentes [13]. De igual manera, también son capaces de formación de micelas, así como de cristales líquidos [14], además de mostrar actividad citotóxica sobre líneas celulares cancerosas y propiedades antifúngicas [15-16]. En ciencia de materiales, el desarrollo de rotores moleculares basados en dímeros esteroidales simétricos ha demostrado que es posible implementar movimientos rotacionales de alta frecuencia en estado sólido [17-18]. La inclusión de

moléculas polares como espaciadores permite acceder a arreglos supramoleculares con respuesta óptica no línea, piezoelectricidad, así como complejos de inclusión [19-20]. La mayoría de los sistemas esteroidales, tanto simétricos como asimétricos, con espaciadores de fenileno contienen diferentes funcionalidades sobre los esqueletos esteroidales [21-23], sin que hasta el momento se haya evaluado la ausencia de funcionalidades sobre los anillos A, B, y C.

Por lo anterior, en este capítulo se muestra la obtención de un derivado esteroideal que no contiene grupos funcionales en los anillos A, B y C, pero que cuenta con una fusión *cis- α* de los anillos A-B, aspectos estructurales que no se han explorado hasta el momento. Se buscó primeramente obtener una caracterización completa, ya que ni el producto ni los precursores se encuentran previamente descritos. Además, de explorar el efecto del espaciador fenileno en el empaquetamiento. Se espera que la inclusión de un espaciador facilite la cristalización, ya que la ausencia de funcionalidades en los anillos A, B y C no ofrece posibilidad de formar interacciones supramoleculares fuertes que dirijan el empaquetamiento. Mediante el análisis de la estructura de este dímero esteroideal se busca poder tener un punto de comparación que permita establecer el efecto del espaciador en estructuras en donde no existe una variedad de grupos funcionales capaces de establecer interacciones intermoleculares fuertes.

5.1. Síntesis

La síntesis del derivado de 17α -etinil- $5\alpha,10\alpha$ -estran- 17β -ol con espaciador de fenileno se realizó de acuerdo al esquema 1. La oxidación del $5\alpha,10\alpha$ -estran- 17β -ol (**1**) se realizó utilizando el reactivo de Jones para producir la $5\alpha,10\alpha$ -estran- 17 -ona (**2**) en buenos rendimientos. Posteriormente, la adición de bromuro de etinilmagnesio sobre **2** produjo el 17α -etinil- $5\alpha,10\alpha$ -estran- 17β -ol (**3**) en 82 %. Finalmente, a través de una reacción de acoplamiento cruzado tipo Sonogashira entre el alquino **3** y el 1,4-diyodobenceno se obtuvo el derivado esteroidal simétrico **4** con rendimiento moderado.



Esquema 1. Ruta de síntesis del derivado de 17α -etinil- $5\alpha,10\alpha$ -estran- 17β -ol con espaciador de fenileno **4**.

5.2. Caracterización espectroscópica y espectrométrica

La obtención de la 5 α ,10 α -estran-17-ona se confirmó mediante espectrofotometría infrarroja (FTIR-ATR), donde se observó la banda correspondiente al estiramiento del enlace C=O en $\nu = 1714 \text{ cm}^{-1}$. De igual manera, en el espectro de RMN ^{13}C se encontró una señal en $\delta = 220.96 \text{ ppm}$ que se asignó a la cetona en posición C-17. La adición nucleofílica del bromuro de etinilmagnesio sobre la estranona **2** produjo el 17 α -etinil-5 α ,10 α -estran-17 β -ol **3**, su obtención se verificó mediante experimentos RMN ^1H y ^{13}C en disolución. En el espectro RMN ^1H se observó una señal simple en $\delta = 2.56 \text{ ppm}$ que se asignó al H-21 correspondiente al alquino terminal, lo cual se confirmó con las señales en $\delta = 87.85$ y 73.91 ppm en el espectro de RMN ^{13}C ; a través de experimentos 1D NOESY se llevó a cabo la excitación selectiva del H-16 β con el objetivo de analizar las correlaciones de largo alcance y su influencia sobre H-21, lo cual permitió confirmar la orientación alfa del alquino. Mediante experimentos de espectrometría de masas de alta resolución (ESI-TOF) se obtuvieron iones de m/z 221.9 y 287.2 que corresponden a los aductos $[\text{M}+\text{H}]^+$ esperados para **2** y **3**, respectivamente.

La reacción de acoplamiento cruzado tipo Sonogashira entre el 1,4-diyodobenceno y el alquino **3** produjo el derivado esteroideal simétrico **4** con rendimiento moderado. Su obtención se verificó mediante experimentos de RMN en una y dos dimensiones. Particularmente, la asignación de los anillos A, B y C constituyó un gran reto, debido a la naturaleza alifática de los hidrógenos y carbonos que aparecen en una región estrecha del espectro. Para lograr este objetivo, se utilizaron distintas técnicas de RMN. Inicialmente el experimento

DEPT 135 permitió establecer la saturación de cada carbono del esqueleto esteroidal y en combinación con la información derivada de los experimentos en 2D se logró la elucidación completa de los espectros del compuesto **4**. Información clave para la asignación inequívoca, es la que nos proporcionaron los experimentos HMBC y H2BC, que en combinación con el experimento HSQC-editado permitió establecer la conectividad de los átomos, tomando como punto de partida las señales del anillo D. (Figura 5.1). Las señales de los carbonos aromáticos y del alquino correspondientes al fragmento dietinilfenileno fueron asignados fácilmente, ya que se trata de señales características y no están en una zona congestionada del espectro.

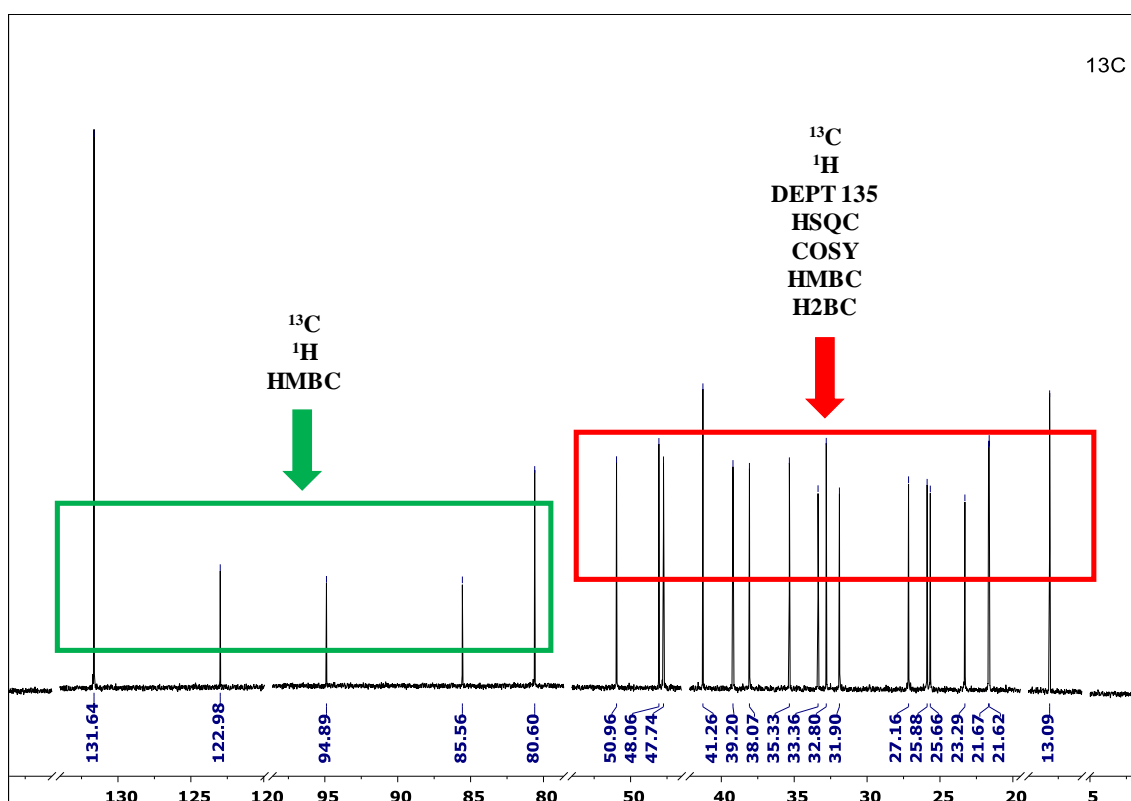


Figura 5.1. Experimentos de RMN empleados para la asignación completa del espectro de ^{13}C del compuesto **4**.

El espectro de HSQC-editado resulta efectivo para la asignación de estructuras con una gran cantidad de carbonos alifáticos en una región corta del espectro, como sucede en el compuesto **4**. Las señales del carbono C-16 (39.22 ppm) y sus correspondientes hidrógenos H-16, H-16' (2.04 y 2.35 ppm) fueron fácilmente identificables. Las señales (δ [ppm]) en color azul (se muestran las correlaciones) corresponden a los carbonos del tipo CH y CH₃, las cuales fueron asignadas a los carbonos C-5 (38.09), C-8 (41.28), C-9 (47.77), C-10 (35.36) y C-18 (13.09). Finalmente, los metilenos de los anillos A, B y C se encuentran representados con correlaciones de color rojo (Figura 5.2).

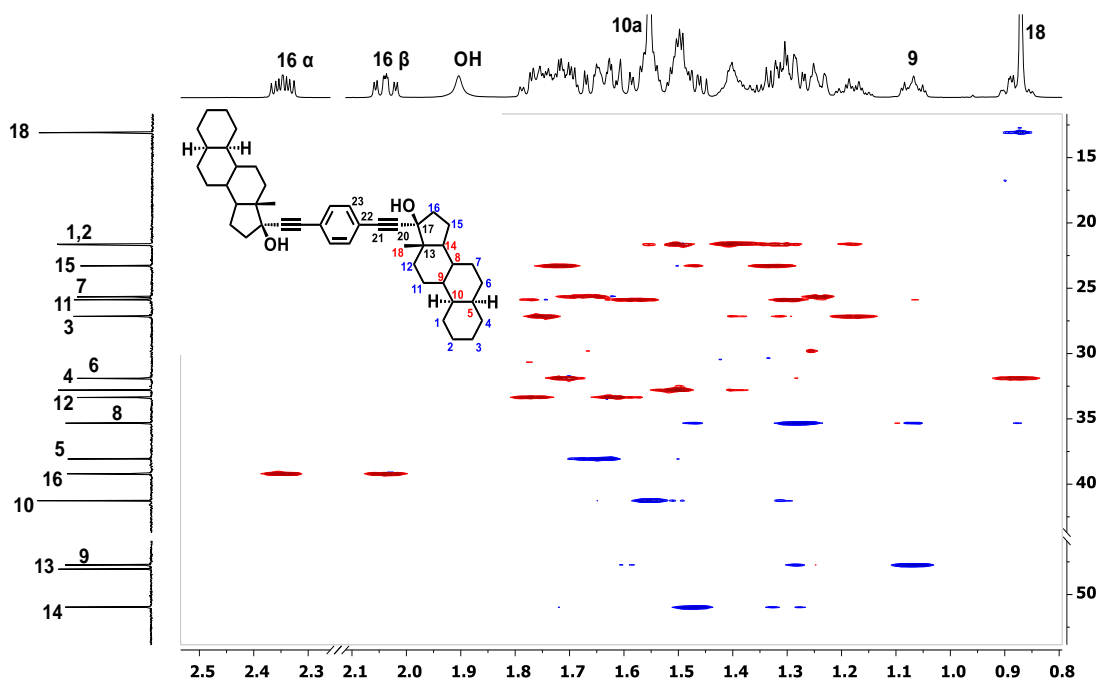


Figura 5.2. Espectro HSQC-editado del compuesto **4**.

La asignación de los anillos B, C y D se logró siguiendo las correlaciones de los experimentos bidimensionales, utilizando señales características del esqueleto esteroidal como C-16, C-18, C-17 y C-20. En cambio, la asignación de las

señales del anillo A representó el reto más desafiante; mediante la combinación de los experimentos HMBC, H2BC y HSQC fue posible lograr este objetivo. Las correlaciones observadas en el experimento HMBC confirman la asignación de los carbonos y con el experimento HSQC se correlaciona a cada carbono con su respectivo hidrógeno. Las correlaciones de δ_H 1.67 (H-7) y δ_H 1.70 (H-6) con δ_C 38.07 (C-5), confirman la asignación de H-5 α y C-5. La correlación de δ_H 1.65 (H-5 α) y δ_H 1.07 (H-9) con δ_C 41.26 (C-10) confirman la asignación de H-10 α y C-10. Las correlaciones de δ_H 1.65 (H-5 α) y δ_H 1.55 (H-10 α) con δ_C 21.67 (C-1) permiten asignar C-1 y H-1, así como las correlaciones de δ_H 1.55 (H-10 α), δ_H 1.49 (H-1) y δ_H 1.73 (H-3) con δ_C 21.62 (C-2) confirman la asignación de C-2 y H-2. Las correlaciones de δ_H 1.65 (H-5 α) con δ_C 32.80 (C-4), confirman la asignación de H-4 y C-4. Finalmente, las correlaciones de δ_H 1.49 (H-1), δ_H 1.50 (H-4) y δ_H 1.65 (H-5a) con δ_C 1.73 (C-3) confirmaron la asignación de H-3 y C-3. Todas las correlaciones clave para la asignación del anillo A están representadas en color negro (Figura 5.3), mientras que la asignación detallada de los espectros ^{13}C y 1H se encuentra en la sección experimental.

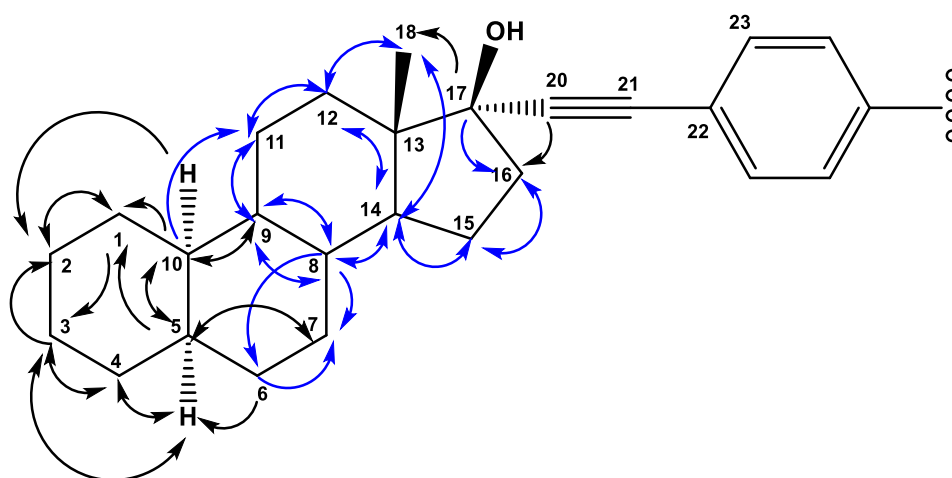


Figura 5.3. Correlaciones 1H - ^{13}C observadas en el espectro HMBC.

5.3. Caracterización en estado-sólido: exploración del auto-ensamble supramolecular.

El estrano **1** utilizado como material de partida presenta dos características estructurales poco comunes en esteroides previamente utilizados para el desarrollo de rotores moleculares, la fusión *cis* de los anillos A/B y la orientación alfa de los hidrógenos H-5 y H-10. Para corroborar lo anterior, se realizaron diversos experimentos para encontrar cristales adecuados para estudios de difracción de rayos-X de monocristal, tanto del compuesto de interés **4** como de sus precursores **1**, **2**, **3**. Mediante la evaporación lenta de una disolución de los compuestos en hexano/acetato de etilo fue posible obtener cristales adecuados para la estrona **2** y el compuesto **4**. Cabe mencionar que la obtención de cristales para el derivado **2** se logra en un tiempo bastante prolongado, ya que el compuesto retiene el disolvente por mucho tiempo. Además, se obtiene un aglomerado de cristales que fue necesario cortar posteriormente.

La estructura cristalina de la estrona **2** se resolvió en un sistema cristalino monoclinico $P2_1$ con dos moléculas por celda unitaria. Dicha estructura confirmó tanto la fusión *cis* de los anillos A/B así como la orientación alfa (α) de los hidrógenos H-5 y H-10 (Figura 5.4).

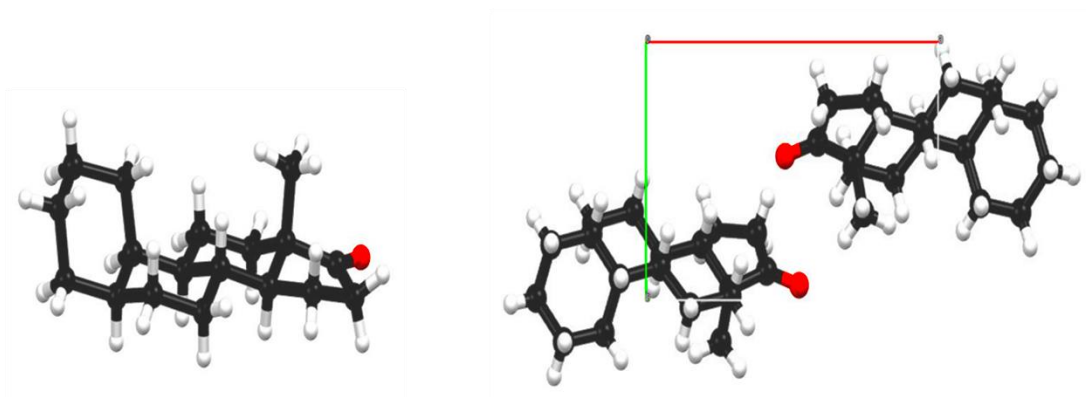


Figura 5.4. Estructura molecular de la estrona **2** y celda unitaria vista a lo largo de eje cristalográfico *c*.

Al analizar el empaquetamiento cristalino, las moléculas de la estrona se encuentran organizadas mediante interacciones entre el oxígeno del grupo carbonilo y los C-H en posiciones C-18 y C-12, [C18—H18...O=C17, 2.03 Å ($\angle 161.81^\circ$), C12—H12...O=C17, 2.62 Å ($\angle 159.94^\circ$)] (Figura 5.5).

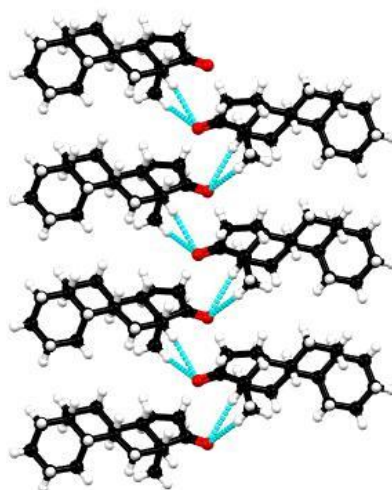


Figura 5.5. Interacciones presentes en el derivado **4**.

El derivado esteroideal **4** cristalizó en un sistema monoclinico $P2_1$ con dos moléculas por celda unitaria (Figura 5.6).

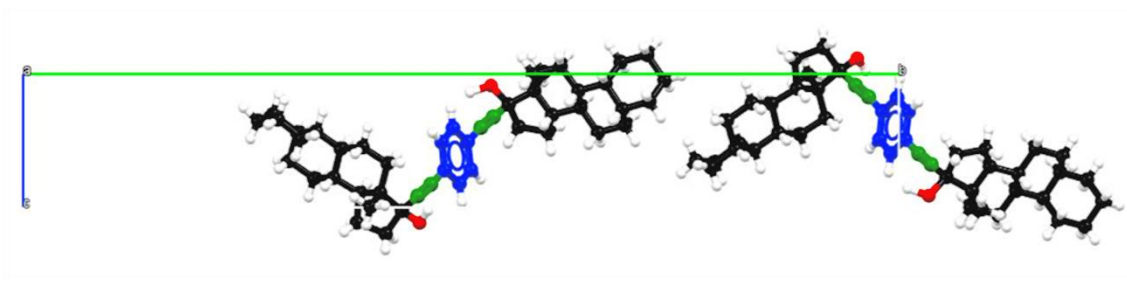


Figura 5.6. Celda unitaria del derivado **4** vista a través del eje cristalográfico *a*.

Con base en su estructura cristalina, los fragmentos esteroidales adoptaron una conformación *anti* con respecto al espaciador de 1,4-dietinilfenileno; contrario a lo encontrado en la estrona **2**, las fuerzas dispersivas entre las caras α y β entre esqueletos esteroidales, de naturaleza alifática, son las interacciones primarias que dirigen la organización supramolecular de las moléculas del derivado **4** (Figura 5.7), las cuales se complementan con interacciones entre el hidroxilo (OH) en posición C-17 y un C-H del espaciador aromático.

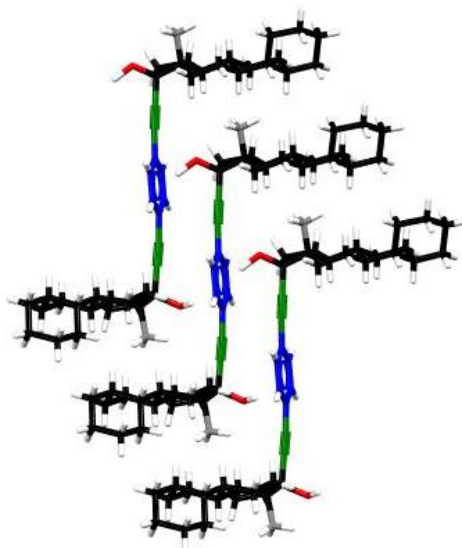


Figura 5.7. Interacciones entre las caras α y β de diferentes fragmentos esteroidales presentes en el empaquetamiento cristalino del derivado **4**.

Los contactos no covalentes que se encontraron tanto para el derivado **2** como en el derivado **4** se analizaron a través de mapas de potencial electrostático (Figura 5.8), los cuales muestran las regiones donde los enlaces $C_{17}=O\cdots H$ están complementados por interacciones hidrofóbicas provenientes del esqueleto esteroideal **2**. Así como las regiones de interacciones dispersivas complementadas por interacciones $CH\cdots O$ presentes en el compuesto **4**, entre el espaciador de fenileno de una molécula y el hidroxilo (OH) de otra molécula adyacente.

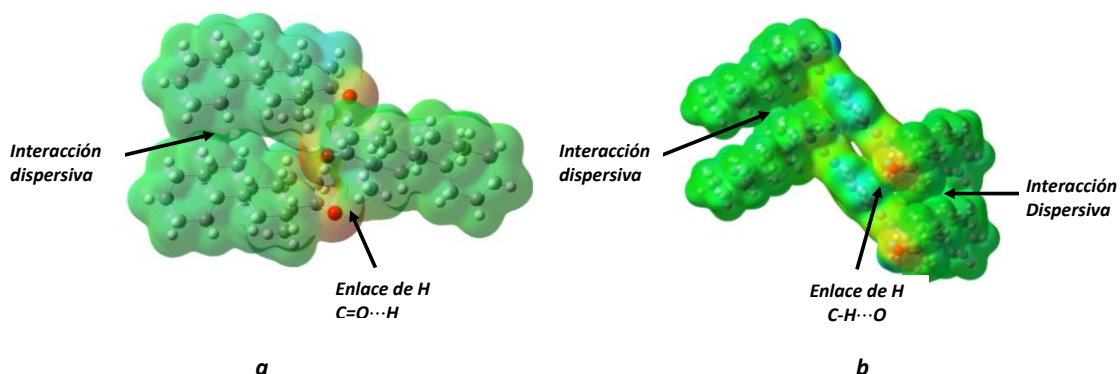


Figura 5.8. Mapas de potencial electrostático de los derivados **2** y **4**.

Al analizar el empaquetamiento cristalino se observa que el grupo metilo en C-18, el hidroxilo (OH) en C-17 y el anillo A están apuntando hacia la cara β de cada esteroide del dímero, mientras que en la cara α se encontraron únicamente hidrógenos y el grupo alquino. La distribución anterior, da lugar a una región con carácter hidrofóbico y otra con cierta hidrofiliidad, dentro de la misma molécula. Esta característica del derivado **4** favorece las interacciones intermoleculares en estado sólido que dan lugar a un ensamble multicapa donde cada capa está asociada mediante estas fuerzas dispersivas (Figura 5.9).

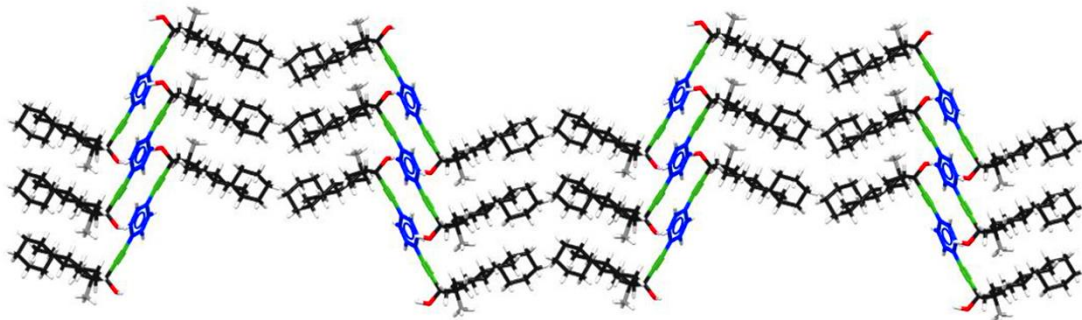


Figura 5.9. Ensamble supramolecular del compuesto **4**. Las capas están unidas a través de interacciones CH...O, mientras que la asociación con capas vecinas está gobernada por interacciones dispersivas esteroide-esteroide.

La diferente polaridad de las caras α y β del esteroide, representó un rol importante en el arreglo cristalino obtenido, aunque la diferencia de distribución de carga a lo largo de esqueleto esteroideal no es muy prominente, tal como se observó en el compuesto **4**. Por otro lado, la abundancia de interacciones dispersivas y su complementariedad fueron suficientes para dirigir la organización supramolecular, incluso por encima de interacciones de enlace de hidrógeno. El análisis de los factores que promueven estas interacciones puede guiar hacia aplicaciones interesantes de estos sistemas. Un ejemplo de esto es el estudio de derivados esteroidales con fusión *cis* en los anillos B y C, que ha llevado a la comprensión, desde el punto de vista termodinámico, del auto-ensamble de estas estructuras para su aplicación en el campo de los rotores moleculares [24].

Finalmente, es importante mencionar que la inclusión de un espaciador dietinilfenileno en este dímero esteroideal, permitió obtener cristales en un menor tiempo lo cual se explica al observar la estructura cristalina. El espaciador

dietinilfenileno permite maximizar las interacciones dispersivas entre los esteroides, gracias a la complementariedad entre las caras α y β . El resultado fue un arreglo supramolecular denso en donde el espaciador no forma interacciones, sin embargo, el espacio que aporta al dímero le permite acomodarse de una forma más eficiente y en un menor tiempo.

5.4. Conclusiones Capítulo 1

El análisis estructural del dímero derivado de 17α -etinil- $5\alpha,10\alpha$ -estran- 17β -ol, cuya estructura es mayormente de naturaleza alifática, muestra que las fuerzas de dispersión son lo suficientemente fuertes para dictar el empaquetamiento cristalino. Se encontró un arreglo denso y compacto que favorece la interacción máxima entre las caras α y β de los fragmentos esteroidales, dirigida por la fusión *cis* de los anillos A y B. En el empaquetamiento cristalino observado no existe una participación significativa del espaciador, lo cual abre una brecha para la exploración de sistemas con otros espaciadores que puedan conferir propiedades adicionales al sistema. Mediante una combinación de experimentos de resonancia magnética nuclear en una y dos dimensiones fue posible asignar inequívocamente las señales correspondientes en cada uno de los carbonos del dímero esteroideal, lo cual es una aportación relevante que no había sido previamente descrita.

Referencias: Capítulo 1.

- [1] P. Wallimann, T. Marti, A. Furer, F. Diederich, Steroids in Molecular Recognition. *Chem. Rev.* 1997, **97**, 1567–1608.
- [2] Al Lazar, F. Biedermann, KR Mustafina, KI Assaf, A. Hennig, WM Nau. Nanomolar Binding of Steroids to cucurbit[n]urils: Selectivity and Applications. *J. Am. Chem. Soc.* 2016, **138**, 13022-13029.
- [3] M. Miyata, N. Tohnai, I. Hisaki. Crystalline Host-Guest Assemblies of Steroidal and Related Molecules: Diversity, Hierarchy, and Supramolecular chirality. *Acc. Chem. Res.* 2007, **40**, 694–702.
- [4] T. Friščić, RW Lancaster, L. Fábíán, PG Karamertzanis. Tunable Recognition of the Steroid α -face by Adjacent π -electron Density. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 2010, **107**, 13216–13221.
- [5] KJ Ardila-Fierro, V. Andre, D. Tan, MT Duarte, RW Lancaster, PG Karamertzanis, T. Friščić. Molecular Recognition of Steroid Hormones in the Solid State: Stark Differences in Cocrystallization of β -estradiol and Estrone. *Cryst. Growth Des.* 2015, **15**, 1492–1501.
- [6] H. Svobodová, V. Noponen, E. Kolehmainen, E. Sievänen. Recent Advances in Steroidal Supramolecular Gels. *RSC Adv.* 2012, **2**, 4985–5007.
- [7] C. Neto, MC Oliveira, L. Gano, F. Marques, T. Yasuda, T. Thiemann, T. Kniess, I. Santos. Novel 7α -alkoxy- 17α -(4'-halophenylethynyl)estradiols as Potential SPECT/PET Imaging Agents for Estrogen Receptor Expressing Tumours: Synthesis and Binding Affinity Evaluation. *Steroids* 2012, **77**, 1123–1132.

- [8] L. Nahar, SD Sarker, AB Turner. Facile Synthesis of New Oxalate Dimers of Naturally Occurring 3-hydroxysteroids. *Chem. Nat. Compd.* 2006, **42**, 549–552.
- [9] P. Crabbe, JA Zderic. Steroides. Synthèse de Bis-Steroïdes Diacétyléniques. *Bull. Soc. Chim. Belg.* 2961, **70**, 403–409.
- [10] Y. Li, JR Dias. Dimeric and Oligomeric Steroids. *Chem. Rev.* 1997, **97**, 283–304.
- [11] L. Nahar, SD Sarker, AB Turner. A review on Synthetic and Natural Steroid Dimers: 1997–2006. *Curr. Med. Chem.* 2007, **14**, 1349–1370.
- [12] L. Nahar, SD Sarker. A Review on Steroid Dimers: 2011-2019. *Steroids* 2020, **164**, 108736.
- [13] J.P. Guthrie, J. Cossar, B.A. Dawson. A Water Soluble Dimeric Steroid with Catalytic Properties. Rate Enhancements from Hydrophobic Binding. *Can. J. Chem.* 1986, **64**, 2456–2469.
- [14] J. McKenna, J.M. McKenna, D.W. Thornthwait. Bis-steroids as Potential Enzyme Models: Perylene Solubilization and Dye Spectral Changes with Aqueous Solutions of Some Derivatives of Conessine and Cholic Acid. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1977, 809-811.
- [15] A.R. Vesper, J.C. Lacroix, R. Gaudreault, H.A. Tajmir-Rihai, G. Bérubé. Synthesis of Novel C2-symmetric Testosterone Dimers and Evaluation of Antiproliferative Activity on Androgen-Dependent and Independent Prostate Cancer Cell Lines. *Steroids* 2016, **115**, 98–104
- [16] M. Jurášek, M. Černohorská, J. Řehulka, V. Spiwok, T. Sulimenko, E. Dráberová, M. Darmostuk, S. Gurskácľvo, I. Frydrych, R. Buriánová, T. Ruml, M.

Hajdúch, P. Bartůněk, P. Dráber, P. Džubák, P.B. Drašar, D. Sedlák. Estradiol Dimer Inhibits Tubulin Polymerization and Microtubule Dynamics. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2018, **183**, 68-79.

[17] C.S. Vogelsberg, M.A. Garcia-Garibay. Crystalline Molecular Machines: Function, Phase Order, Dimensionality, and Composition. *Chem. Soc. Rev.* 2012, **41**, 1892–1910.

[18] B. Rodríguez-Molina, N. Farfán, M. Romero, J.M. Mendez-Stivalet, R. Santillan, M.A. Garcia-Garibay. Anisochronous Dynamics in a Crystalline Array of Steroidal Molecular Rotors: Evidence of Correlated Motion Within 1D Helical Domains. *J. Am. Chem. Soc.* 2011, **133**, 7280–7283.

[19] N. Aguilar-Valdez, M. Maldonado-Domínguez, R. Arcos-Ramos, M. Romero-Ávila, R. Santillan, N. Farfán. Synthesis of Steroidal Molecular Compasses: Exploration of the Controlled Assembly of Solid Organic Materials. *CrystEngComm* 2017, **19**, 1771–1777.

[20] B. Rodríguez-Molina, A. Pozos, R. Cruz, M. Romero, B. Flores, N. Farfán, R. Santillan, M. Garcia-Garibay. Synthesis and Solid State Characterization of Molecular Rotors with Steroidal Stators: Ethisterone and Norethisterone. *Org. Biomol. Chem.* 2010, **8**, 2993–3000.

[21] I. Jastrzebska, T. Pawlak, R. Arcos-Ramos, E. Florez-Lopez, N. Farfán, D. Czajkowska-Szczykowska, J. Maj, R. Santillan, J.W. Morzycki, M.J. Potrzebowski. Synthesis, Structure, and Local Molecular Dynamics for Crystalline Rotors Based on Hecogenin/Botogenin Steroidal Frameworks. *Cryst. Growth Des.* 2016, **16**, 5698–5709.

- [22] M.E. Ochoa, R. Arcos-Ramos, P.I. Ramírez-Montes, H. Höpfl, M.A. Leyva, N. Farfán, R. Santillan. Asymmetric Molecular Rotors Based on Steroidal Fragments. Organic Building Blocks Displaying Versatile Supramolecular Steroid-Stacking Interactions. *Cryst. Growth Des.* 2019, **19**, 6114-6126.
- [23] M.C. Mayorquín-Torres, A. Colín-Molina, S. Pérez-Estrada, A. Galano, B. Rodríguez-Molina, M.A. Iglesias-Arteaga. Synthesis, Characterization, and Solid State Dynamic Studies of a Hydrogen Bond-Hindered Steroidal Molecular Rotor with A Flexible Axis. *J. Org. Chem.* 2018, **83**, 3768- 3779.
- [24] S. Pérez-Estrada, B. Rodríguez-Molina, L. Xiao, R. Santillan, G. Jiménez-Osés, K. N. Houk, M. A. Garcia-Garibay. Thermodynamic Evaluation of Aromatic CH/ π Interactions and Rotational Entropy in a Molecular Rotor. *J. Am. Chem. Soc.* 2015, **137**, 2175-2178.

6. CAPÍTULO 2. Dímeros esteroidales derivados de etinilestradiol, mestranol, etisterona, noretisterona y 17 α -etinil-5 α -androst-2-en-17 β -ol usando un espaciador de *p*-nitroanilina.

Los esteroides son una familia importante de compuestos bioactivos con una gran variedad de aplicaciones en medicina, biología, síntesis orgánica, y ciencia de materiales, entre otras [1-17]. En la actualidad, se ha investigado el comportamiento en estado sólido de derivados esteroidales, con el objetivo de comprender y controlar su uso en fases condensadas. De manera particular, en estado cristalino, las estructuras orgánicas se encuentran gobernadas por fuerzas inter e intramoleculares débiles que organizan y orientan los arreglos moleculares resultantes [18]. Por esta razón, la comprensión de la estructura de matrices cristalinas y las interacciones no covalentes que las producen se vuelve relevante para desarrollar materiales funcionales o moléculas bioactivas basadas en esteroides. Los esfuerzos para controlar y mejorar el auto-reconocimiento entre moléculas necesario para la cristalización exigen la presencia de sustituyentes específicos [19], los cuales deben ser accesibles al modificar el núcleo esteroide para favorecer así las interacciones inter- o intramoleculares capaces de modular el auto-ensamble [20-22].

En este contexto, el desarrollo de sólidos orgánicos basados en compuestos esteroidales con propiedades físicas modulables, concretamente a través del diseño y caracterización de dímeros esteroidales que emulen la estructura y propiedades dinámicas de dispositivos macroscópicos, como giroscopios y brújulas [23-26]. Estos compuestos se han sintetizado usando 17 α -etinilesteroides con diferentes espaciadores de 1,4-fenileno y 1,4-fenileno sustituidos, donde las funcionalidades presentes sobre los núcleos esteroidales

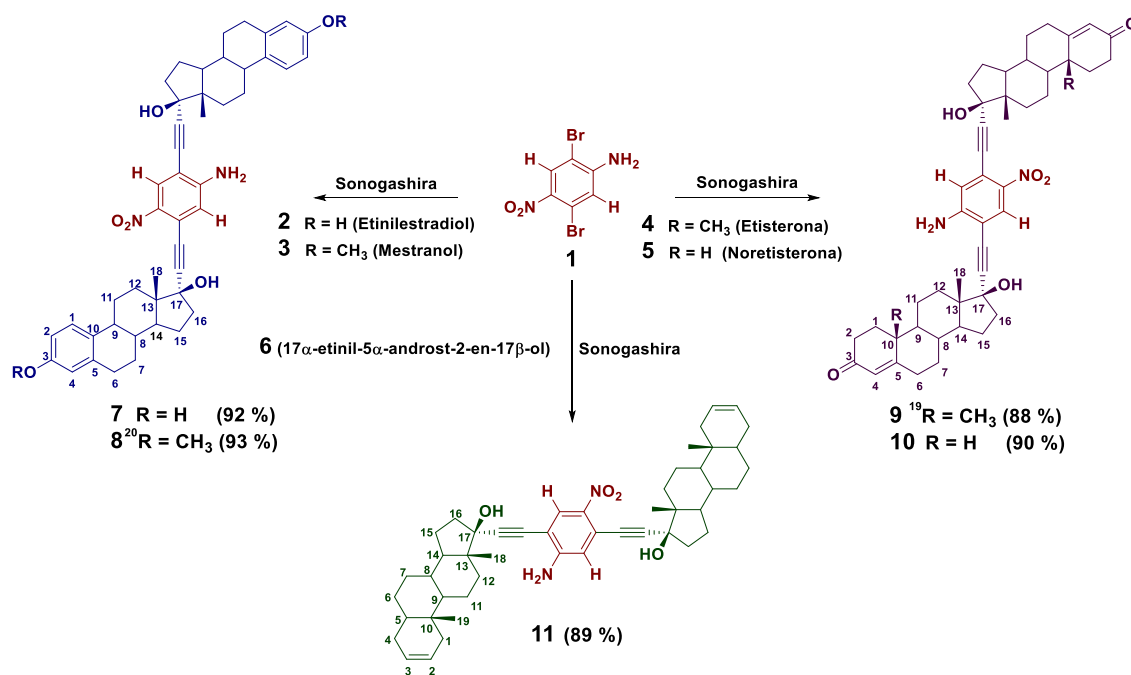
son las que dictan tanto las interacciones inter- o intramoleculares primarias y secundarias que dan paso a arreglos cristalinos ordenados. De acuerdo a los antecedentes, el uso de esteroides del tipo etinilestradiol, mestranol, etisterona y noretisterona, en la síntesis de estructuras diméricas ha producido empaquetamientos cristalinos dominados por varias interacciones de enlaces de hidrógeno (sin solvente o en forma de solvatos) que involucran al grupo hidroxilo en C-17. Principalmente, las diferencias entre las diversas disposiciones en estado sólido surgen por la combinación del grupo OH-17 con funcionalidades en el anillo A, por ejemplo, OH_{fenol} (etinilestradiol), OMe (mestranol), cetona α,β -insaturada (etisterona y noretisterona) y dobles enlaces no polares (derivado de androsteno).

Por otro lado, la *p*-nitroanilina se ha usado comúnmente como un bloque de construcción de sólidos con arreglos supramoleculares ordenados, ya que es capaz de establecer diferentes interacciones intermoleculares debido a su naturaleza polar. Al introducir dicho bloque de construcción en dímeros esteroidales se podrían producir arreglos cristalinos no-centrosimétricos, los cuales podrían ser útiles para el desarrollo de materiales con propiedades ópticas no-lineales o de piezoelectricidad [27-30].

Por lo tanto, una estrategia interesante propone mantener fijo el espaciador de *p*-nitroanilina e incorporarlo a diferentes esteroides con variaciones estructurales en el anillo A. Con lo anterior se busca evaluar si estos esteroides logran mantener su cristalinidad y propiedades al formar el dímero y además si el arreglo resultante puede presentar propiedades adicionales como las que posee la *p*-nitroanilina.

6.1. Síntesis de dímeros esteroidales.

Los dímeros esteroidales **7-11** con espaciador de *p*-nitroanilina se sintetizaron mediante reacciones dobles de acoplamiento cruzado tipo Sonogashira entre la 2,5-dibromo-4-nitroanilina **1** y los diferentes 17 α -etinilesteroides **2-5** (Esquema 6.1). Los dímeros esteroidales se obtuvieron con buenos rendimientos (89 % al 93 %); en todos los casos se aislaron los productos de homoacoplamiento (Glaser) y monoacoplamiento en muy bajos rendimientos.

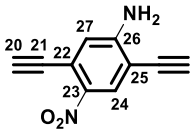
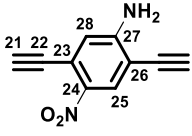
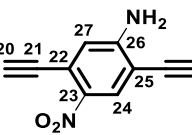


Esquema 6.1. Síntesis de derivados de etinilestradiol **7**, mestranol **8**, etisterona **9**, noretisterona **10**, y 17 α -etinil-5 α -androst-2-en-17 β -ol **11** con un espaciador de *p*-nitroanilina.

6.2. Caracterización espectroscópica y espectrométrica de dímeros esteroidales.

La caracterización de los compuestos **7-11** se realizó mediante espectrometría de masas de alta resolución (HRMS-ESI), donde se correlacionaron los resultados obtenidos, con el peso molecular para cada compuesto 709.3637 [M⁺-OH]⁺ para **7**, 737.3948 [M⁺-OH]⁺ para (**8**), 759.4371 [M⁺-OH]⁺ para **9**, 731.4057 [M⁺+H]⁺ para **10** y 713.4681 [M⁺+H₂O]⁺ para **11**.

De igual manera, se realizaron experimentos de resonancia magnética nuclear de ¹H y ¹³C en disolución. Las señales correspondientes al espaciador de *p*-nitroanilina fueron similares en los cinco derivados (tabla 7.1), no así las correspondientes a los esqueletos esteroidales.

Compuesto	(δ, ppm)				(δ, ppm)							
	H-24	H-25	H-27	H-28	C-22	C-23	C-24	C-25	C-26	C-27	C-28	
 7^a	8.05	****	6.95	****	138.4	153.8	130.4	121.3	107.3	118.6	****	
 8^b	****	8.28	****	6.86	****	139.3	148.6	130.4	119.8	106.7	118.5	
 9^b	8.09	****	6.74	****	138.7	151.9	130.2	120.5	106.9	118.1	****	

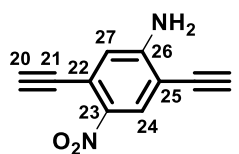
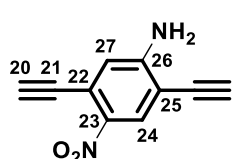
	8.11	****	6.57	****	139.0	151.6	130.3	120.5	106.9	118.1	****
10^b											
	8.15	****	6.79	****	139.3	151.2	130.1	120.5	107.0	118.0	****
11^b											

Tabla 6.1. Desplazamientos químicos para las señales de ^1H y ^{13}C RMN correspondientes al espaciador de *p*-nitroanilina de los dímeros esteroidales **7-11**. ^aAcetona- d_6 y ^b CDCl_3 .

Los dímeros sintetizados poseen diferentes funcionalidades en el anillo A del esqueleto esteroidal, por lo que el asignar dichas señales permitió identificar si la reacción se efectuó o no, algunas señales aromáticas como es el caso del mestranol y estradiol, cetona α,β -insaturada para el caso de etisterona y nor-etisterona, o de un enlace doble como el que posee el derivado de androstano. El espaciador de *p*-nitroanilina, propició que los esteroides que conforman el dímero no sean magnéticamente equivalentes y como resultado se observó un gran número de señales en cada espectro.

En el espectro del dímero **10** fue posible diferenciar las señales características de los hidrógenos del anillo A (doble enlace de la cetona α,β -insaturada) así como las correspondientes a los metilos de C-18 y C-18'. Se distinguen, además, las dos señales aromáticas del espaciador de *p*-nitroanilina, así como de los hidrógenos del grupo amino (Figura 6.1).

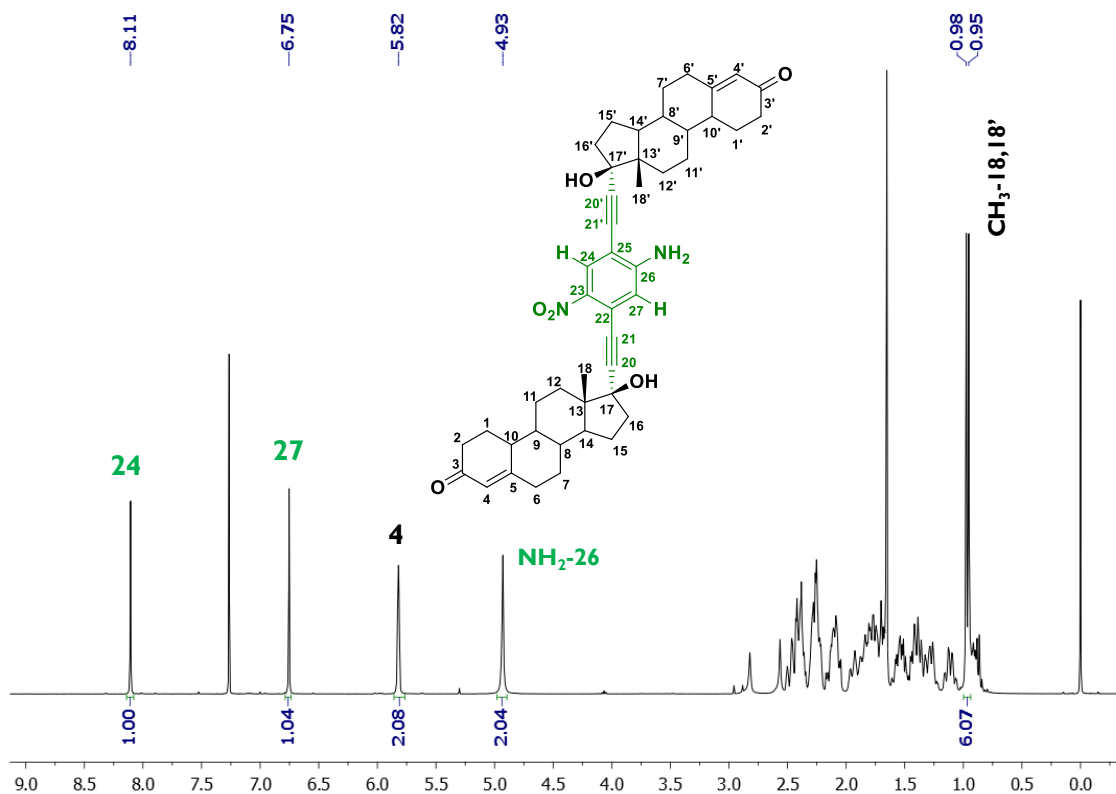


Figura 6.1. Espectro de RMN- ^1H del dímero esteroide **10** [400 MHz, CDCl_3].

En el espectro de RMN ^{13}C del derivado **10**, se observaron las señales de los carbonos tanto de los fragmentos de nor-etisterona (señales características de la cetona α,β -insaturada y esqueleto alifático), así como del espaciador de *p*-nitroanilina. La asimetría de la molécula permitió ver las señales de cada uno de los esteroides que conforman el dímero esteroide (Figura 6.2).

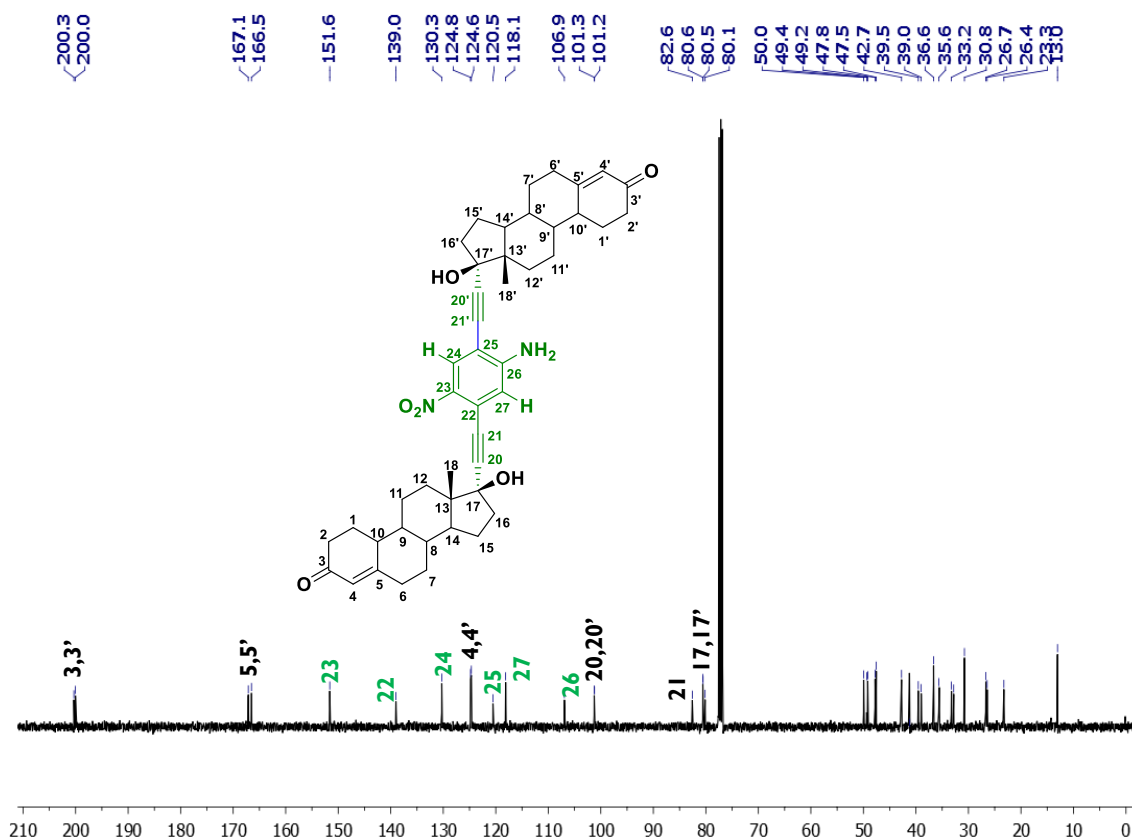


Figura 6.2. Espectro de RMN- ^{13}C del dímero esteroide **10** [100 MHz, CDCl_3].

6.3. Caracterización en estado sólido: análisis de la organización supramolecular.

Se obtuvieron cristales adecuados para difracción de rayos X de monocristal para los compuestos **8** y **11** a través de la evaporación lenta de disoluciones en metanol y hexano/ CH_2Cl_2 , respectivamente. Ambos compuestos cristalizaron en forma de agujas de color amarillo.

La estructura cristalina del compuesto **8** se resolvió en el sistema ortorrómbico $\text{P}2_12_12_1$, con una molécula por unidad asimétrica ($Z'=1$) como se muestra en la Figura 6.3. La estructura cristalina del dímero mostró una conformación *anti*, es decir, los fragmentos esteroidales se encuentran en posición contraria con

respecto al espaciador de *p*-nitronilina; esta disposición particular de los fragmentos esteroidales es muy común en rotores moleculares derivados de mestranol [23,25,31]. El ángulo de torsión [\angle C13-C17-C17'-C13', 145.48°] indicó la posición relativa de los esqueletos esteroidales, en este caso se confirmó que se trata de una conformación *anti*. Al medir el ángulo [\angle C17-centroide-C21', 3.76°] se puede comprobar que el fragmento 1,4-dietinilfenileno se encontró prácticamente lineal al tener un ángulo cercano a 0°. Adicionalmente el ángulo [\angle C17-centroide-C23, 61.52°] confirmó que el anillo de *p*-nitroanilina no se encuentra distorsionado.

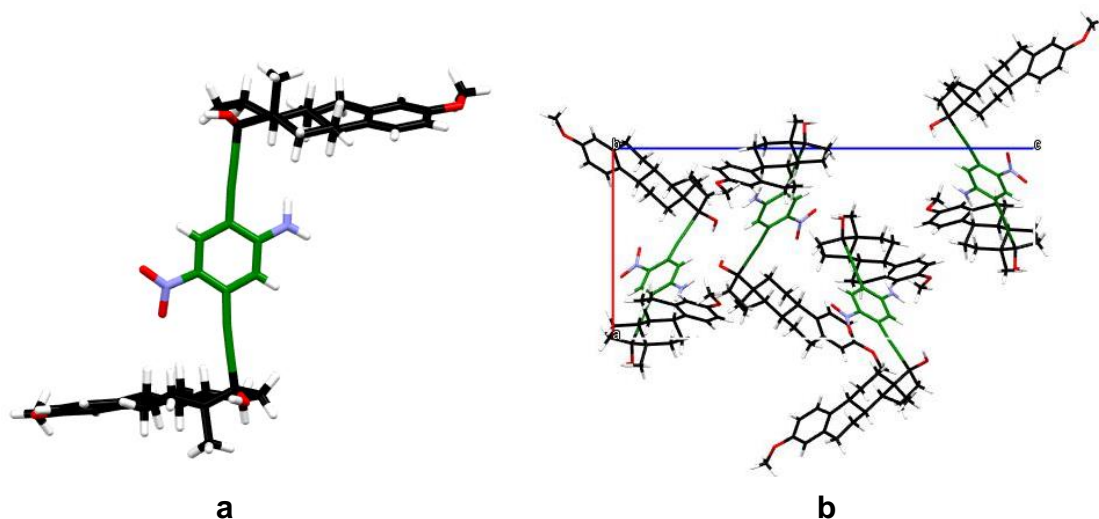


Figura 6.3. a) Estructura molecular del dímero esteroideal **8** con los fragmentos de mestranol en conformación *anti* con respecto al espaciador de *p*-nitroanilina. b) Celda unitaria del dímero esteroideal **8**, vista a lo largo del eje cristalográfico *b*.

El arreglo supramolecular del compuesto **8** está soportado por enlaces de hidrógeno fuertes entre los grupos nitro y amino con el grupo hidroxilo de C-17 [$\text{OH}\cdots\text{O}_{\text{nitro}}$, 2.00 Å y $\text{N-H}\cdots\text{O}_{\text{hidroxilo}}$, 2.03 Å]. Adicionalmente, todos los átomos

capaces de formar enlaces de hidrógeno (excepto el átomo O_{metoxi}) están involucrados en diferentes interacciones secundarias como [C7-H7···O_{nitro}, 2.61 Å, C20-H20···O_{hidroxilo}, 2.50 Å y C20-H20···centroide_{nitroanilina}, 3.17 Å]. Y también se encontró una interacción tipo apilamiento π-π entre el espaciador de *p*-nitroanilina y el anillo A de una molécula adyacente [centroide_{nitroanilina}···centroide_{anilloA}, 3.59 Å]. Estas interacciones en conjunto generaron un empaquetamiento cristalino donde las moléculas están en contacto cercano (C_K=0.63), este hecho permite inferir que muy probablemente la rotación en estado sólido no está presente. Otro factor que soporta la observación anterior es que no hay presencia de desorden en algún fragmento de la estructura cristalina que pudiera ser atribuible a un movimiento rotacional. (Figura 6.4).

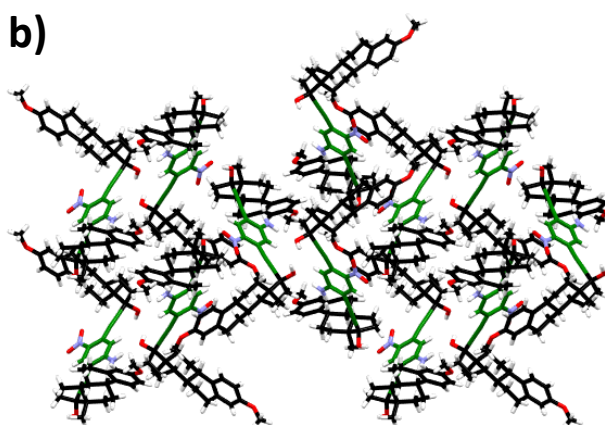


Figura 6.4. Empaquetamiento cristalino del dímero esteroide **8**.

Para el caso del compuesto **11**, la estructura cristalina se resolvió en el sistema monoclinico C2 con una molécula por unidad asimétrica ($Z' = 1$) tal como se muestra en la Figura 6.5. En contraste con el compuesto **8**, el ángulo de torsión [\angle C13-C17-C17'-C13', 45.54°] confirmó que los fragmentos esteroidales se encuentran en conformación *syn*. Con base en el ángulo [\angle C17-centroide-C21',

4.79°] se puede afirmar que el derivado **11** presentó una mayor desviación de la linealidad en el eje que soporta al espaciador de *p*-nitroanilina. De forma análoga al compuesto **8**, el anillo del espaciador de *p*-nitroanilina no se encuentra distorsionado, hecho que se confirmó con el ángulo [\angle C17-centroide-C23, 61.00°].

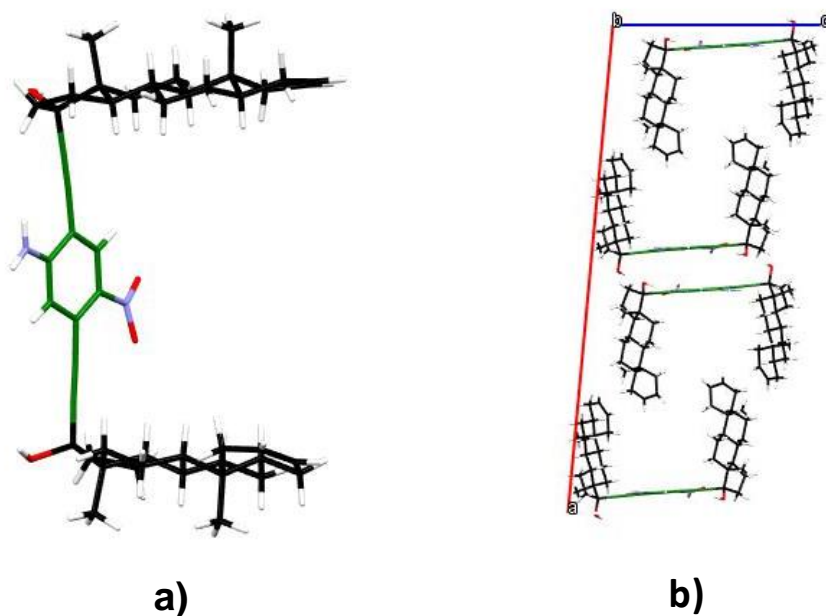


Figura 7.5. a) Estructura molecular del dímero esteroideal **11** con los fragmentos de mestranol en conformación anti con respecto al espaciador de *p*-nitroanilina. b) Celda unitaria del compuesto **11**, vista a lo largo del eje cristalográfico *b*.

El empaquetamiento cristalino del compuesto **11** se basó en interacciones de enlace de hidrógeno fuertes entre el grupo hidroxilo de C-17 con otro igual de una molécula adyacente, así como con el grupo nitro de la nitroanilina [$\text{OH}\cdots\text{O}_{\text{hidroxilo}}$, 2.07 Å y enlace bifurcado $\text{OH}\cdots\text{O}_{\text{nitro}}$, 2.36 y 2.20 Å]. Estas interacciones dieron lugar a un arreglo en forma de bicapas 2D dispuestas de

forma antiparalela a lo largo del plano cristalográfico *ac* como se muestra en la Figura 6.6. Estas bicapas se encuentran unidas por interacciones hidrofóbicas fuertes entre las caras de los fragmentos esteroidales vecinos, esto genera un ensamble supramolecular poroso (Figura 6.6). De forma cualitativa se puede observar que, aunque el arreglo cristalino presenta volumen libre ($C_k=0.55$), hay interacciones fuertes que pudieran limitar la rotación.

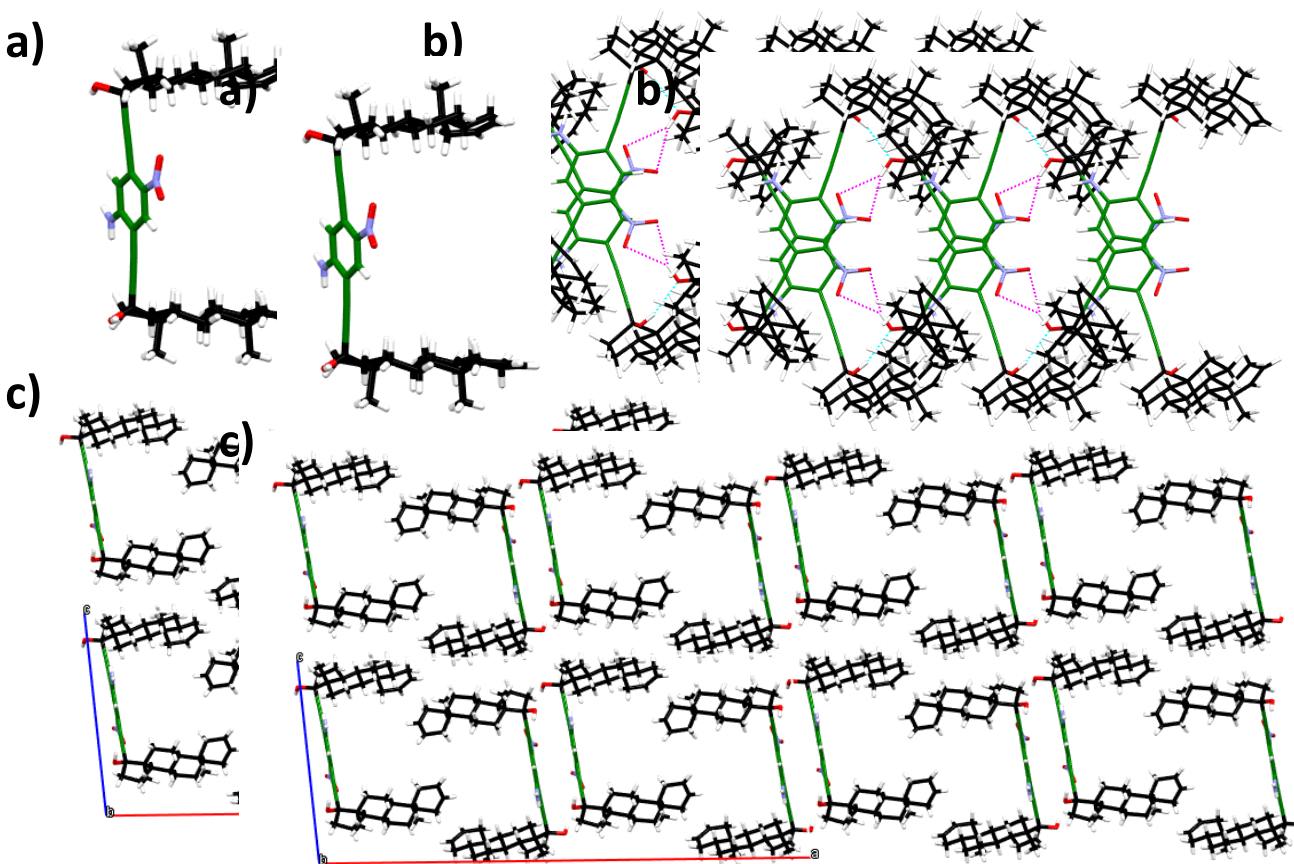


Figura 6.6. Interacciones de enlace de hidrógeno y arreglo supramolecular en forma de bicapas 2D encontrado para el dímero **11**. Los fragmentos esteroidales en negro y el espaciador de *p*-nitroanilina en verde.

6.4. Exploración de propiedades a través de cálculos teóricos.

Se realizaron cálculos teóricos para explorar propiedades de los sólidos cristalinos obtenidos. En primera instancia, se realizó un proceso de optimización de las estructuras de los dímeros, para posteriormente realizar cálculos de dinámica molecular para predecir propiedades ONL, de piezoelectricidad y adsorción de moléculas pequeñas.

El dímero derivado de mestranol **8** mostró interacciones de apilamiento- π a lo largo de múltiples ejes; la presencia de estas interacciones se ha relacionado a bandas de conducción-valencia más estrechas en comparación con materiales que poseen apilamiento monoaxial [32]. La brecha energética entre las bandas de conducción y valencia calculada para este sólido fue de 1.6 eV; aunque este valor es ligeramente mayor a la brecha correspondiente a un semiconductor orgánico como el rubreno (1.1 eV). Al obtenerse un cristal no-centrosimétrico, y considerando que existe un dipolo permanente en la molécula, es posible que este dímero pueda presentar una respuesta ONL y/o piezoelectricidad. Sin embargo, al analizar la estructura cristalina se observó la cancelación de dipolos (arreglos antiparalelos) dentro del cristal lo cual restringió la posibilidad de tener un material con dichas propiedades.

Con respecto al compuesto **11**, este derivado posee una estructura notablemente distinta al derivado anterior. Dado que los fragmentos esteroidales son de naturaleza no polar y están anclados a un fragmento que contiene un dipolo, este dímero pudiera ser clasificado como un sistema anfifílico, análogo a los surfactantes tipo geminis [33]. Esta característica se ve reflejada en el empaquetamiento cristalino observado, ya que la organización supramolecular

resultó similar al de una bicapa lipídica. Los esteroides se asocian formando dominios hidrofóbicos, mientras que los espaciadores de *p*-nitroanilina se involucran en apilamientos- π y enlaces de hidrógeno, como se mostró previamente. El auto-ensamble de este derivado presentó características interesantes, en contraste con el derivado de mestranol, este sólido si posee una polarización neta, ya que los dipolos no se cancelan entre sí. Esta característica estructural puede ser de interés para la evaluación de este sistema como material piezoeléctrico o que pueda presentar respuesta ONL.

El segundo aspecto estructural que resultó interesante es la presencia de canales unidimensionales, donde moléculas pequeñas pueden ser reconocidas o capturadas. Como una primera aproximación para poder saber si podía lograrse esta aplicación, el cristal fue sometido a atmósferas virtuales de gases de moléculas pequeñas como monóxido de carbono (CO), dióxido de carbono (CO₂), sulfuro de carbonilo (COS), metano (CH₄), etano (C₂H₆), etileno (C₂H₄), acetileno (C₂H₂) y benceno (C₆H₆), a 298 K (Figura 7.7) Estas moléculas son relativamente rígidas y sirven para poder probar la afinidad de las cavidades al tamaño de molécula, la forma, polaridad y grado de insaturación. Se encontró que los canales poseen la mayor afinidad por el sulfuro de carbonilo y por sistemas aromáticos, ya que son susceptibles a apilarse y es por esto que la saturación se alcanza incluso a baja presión. Con respecto a los hidrocarburos, el aumento de insaturación conduce a una mayor adsorción. Estos resultados sientan la base de estudios experimentales posteriores, así como para el desarrollo de futuras aplicaciones.

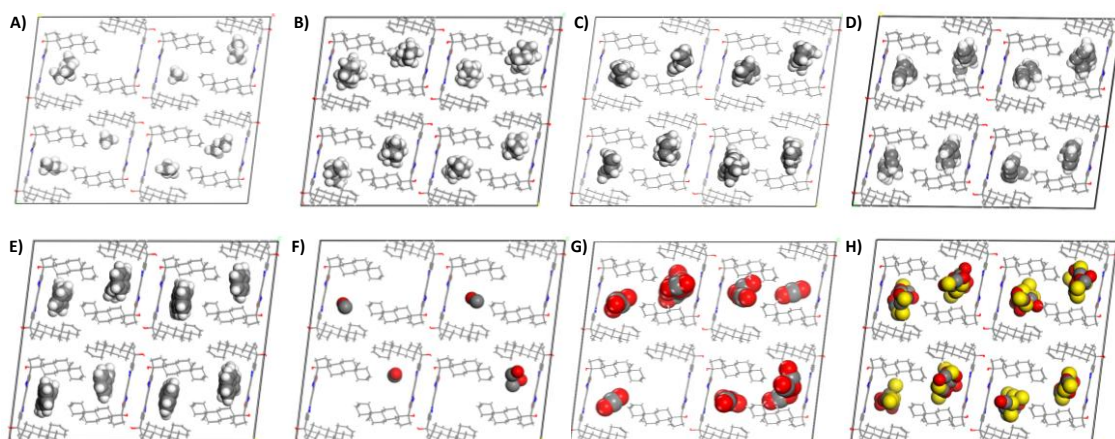


Figura 7.7. Vista frontal de los canales presentes en el compuesto **11** expuestos a A) CH₄, B) C₂H₆, C) C₂H₄, D) C₂H₂, E) C₆H₆, F) CO, G) CO₂, Y H) COS a 10 kPa y 298 K.

6.5. Conclusiones capítulo 2

Mediante la inclusión de un espaciador de *p*-nitroanilina a dímeros esteroidales con distintas funcionalidades en el anillo A, se encontró que mestranol y 17 α -etinil-5 α -androst-2-en-17 β -ol dan lugar a sólidos cristalinos mientras que etinilestradiol, etisterona y noretisterona producen sólidos amorfos, al menos en las condiciones experimentales del presente proyecto. El empaquetamiento del derivado de mestranol posee apilamientos de las unidades aromáticas a lo largo de múltiples ejes lo cual permite que este compuesto pueda ser probado en el diseño de un semiconductor orgánico autoensamblado. El cristal obtenido a partir de 17 α -ethynyl-5 α -androst-2-en-17 β -ol presenta una estructura cristalina tipo bicapa lipídica cuyo empaquetamiento asimétrico puede ser estudiado en el contexto de materiales piezoeléctricos y materiales con respuesta ONL. Además, este autoensamble tiene canales que poseen afinidad por moléculas pequeñas

de gases, encontrándose una mayor afinidad por benceno, hidrocarburos aromáticos y sulfuro de carbonilo.

Referencias: Capítulo 2

- [1] B. Sathish, D. Singh Raghuvanshi, M. Hasanain, S. Alam, J. Sarkar, K. Mitra, F. Khan. A.S. Negi. Recent Advances in Chemistry and Pharmacology of 2-methoxyestradiol: An Anticancer Investigational Drug. *Steroids* 2010, **110**, 9-34.
- [2] A.S. Mihailidou, A.W. Asthon. Cardiac Effects of Aldosterone: Does Gender Matter? *Steroids* 2014, **91**, 32-37.
- [3] A.T. Slominski, P.R. Manna, R.C. Tuckey. On the Role of Skin in the Regulation of Local and Systemic Steroidogenic Activities. *Steroids* 2015, **103**, 72-88.
- [4] J.O.H. Perez-Diaz, L. Rarova, J.P. Muñoz Ocampo, N.E. Magaña-Vergara, N. Farfán, M. Strand, R. Santillan. Synthesis and Biological Activity of 23-ethylidene-26-hydroxy-22-oxocholestane Derivatives from Spirostanic Sapogenins. *Eur.J. Med. Chem.* 2012, **51**, 67-78.
- [5] I. Podolak, A. Galanty, D. Sobolewska. Saponins as Cytotoxic Agents: A Review. *Phytochem. Rev.* 2010, **9**, 425-474.
- [6] M. Cabeza, A. Posada, A. Sanchez-Marquez, Y. Heuze, I. Moreno, J. Soriano, M. Garrido, F. Cortes, E. Bratoeff. Biological Activity of Pyrazole and Imidazole-dehydroepiandrosterone Derivatives on the Activity of 17 β -hydroxysteroid Dehydrogenase. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 2016, **31**, 53-62.

- [7] C. Alarcón-Manjarrez, R. Arcos-Ramos, M. Flores-Alamo, M.A. Iglesias-Arteaga. Synthesis, NMR and Crystal Characterization of Dimeric Terephthalates Derived from epimeric 4,5-seco-cholest-3-yn-5-ols. *Steroids* 2016, **109**, 66-72.
- [8] R.O. Arcos-Ramos, M.A. Iglesias-Arteaga. One-step Axial Acetoxylation at C-23. A New Method for the Functionalization of the Side Chain of Steroid Sapogenins. *Tetrahedron Lett.* 2006, **47**, 8029-8031.
- [9] R.O. Arcos-Ramos, M.A. Iglesias-Arteaga, J.M. Mendez-Stivalet. The Unexpected Course of the Reaction of Steroid sapogenins with diacetoxyiodobenzene and $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ in Formic Acid. *Tetrahedron Lett.* 2007, **48**, 7485-7488.
- [10] A. Corona Díaz, J.P. García-Merinos, Y. López, J.B. González-Campos, R. E. del Río, R. Santillan, N. Farfán and J.W. Morzycki. Regio- and Stereoselective Cleavage of Steroidal 22-oxo-23-spiroketals Catalyzed by $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$. *Steroids* 2015, **100**, 36-43.
- [11] Y.L. Zhang, Y.F. Li, J.W. Wang, B. Yu, Y.K. Shi, H.M. Liu. Multicomponent Assembly of Novel Antiproliferative Steroidal Dihydropyridinyl Spirooxindoles. *Steroids* 2016, **109**, 22-28.
- [12] C. Jiménez-García, R. Arcos-Ramos, J.M. Mendez-Stivalet, R. Santillan, N. Farfán. Synthesis and Characterization of Dissymmetric Molecular Rotors Based on 1,4-diethynylphenylene Rotators and Steroidal/Triptyl Type Stators. *Monatsh. Chem.* 2015, **146**, 1005-1013.
- [13] D. Czajkowska-Szczykowska, A. Aguilar-Granda, J. Maj, A.Z. Wilczwska, S. Witrowski, R. Santillan, N. Farfán, J.W. Morzycki, B. Rodriguez-Molina. Solid State Characterization of Bridged Steroidal Molecular Rotors: Effect of the

Rotator Fluorination on Their Crystallization. *Cryst. Growth Des.* 2016, **16**, 1599-1605.

[14] N.L. Babak, O.V. Shishkin, S.V. Shishkina, I.M. Gella, V.I. Musatov, N.B. Novikova, V.V. Lipson. Synthesis and Spatial Structure of New Chiral Dopants from Allobetuline Series for Cholesteric Liquid-Crystal Compositions. *Struct. Chem.* 2016, **27**, 294-303.

[15] C. Wu. Synthesis and Characterization of a Series of Cholesterol-Based Liquid Crystalline Dimers with a Chiral (-)- Menthyl Terminal Group. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* 2015, **609**, 31-39.

[16] P.R. Brotherhood, A. P. Davis. Steroid-based Anion Receptors and Transporters. *Chem. Soc. Rev.* 2010, **39**, 3633–3647.

[17] R. Natarajan, L. Bridgland, A. Sirikulkajorn, J.H. Lee, M.F. Haddow, G. Magro, B. Ali, S. Narayanan, P. Strickland, J.P.H. Charmant, A.G. Orpen, N.B. McKeown, C.G. Bezzu, A. P. Davis. Tunable Porous Organic Crystals: Structural Scope and Adsorption Properties of Nanoporous Steroidal Ureas. *J. Am. Chem. Soc.* 2013, **135**, 16912-16925.

[18] K. Müller-Dethlefs, P. Hobza. Noncovalent Interactions: A Challenge for Experiment and Theory. *Chem. Rev.* 2000, **100**, 143-167.

[19] A. Mukherjee. Building upon Supramolecular Synthons: Some Aspects of Crystal Engineering. *Cryst. Growth Des.* 2015, **15**, 3076-3085.

[20] J.A.R.P. Sarma, G.R. Desiraju. The Supramolecular Synthon Approach to Crystal Structure Prediction. *Cryst. Growth Des.* 2002, **2**, 93-100.

[21] J.D. Dunitz, A. Gavezotti. Supramolecular Synthons: Validation and Ranking of Intermolecular Interaction Energies. *Cryst. Growth Des.* 2012, **12**, 5873-5877.

- [22] C. Neto, M.C. Oliveira, L. Gano, F. Marques, T. Yasuda, T. Thiemann, T. Kniess, I. Santos. Novel 7 α -alkoxy-17 α -(4'-halophenylethynyl)estradiols as Potential SPECT/PET Imaging Agents for Estrogen Receptor Expressing Tumours: Synthesis and Binding Affinity Evaluation. *Steroids* 2012, **77**, 1123-1132.
- [23] M.E. Ochoa, R. Arcos-Ramos, P.I. Ramírez-Montes, H. Höpfl, M.A. Leyva, N. Farfán, R. Santillan. Asymmetric Molecular Rotors Based on Steroidal Fragments. Organic Building Blocks Displaying Versatile Supramolecular Steroid-Stacking Interactions. *Cryst. Growth Des.* 2019, **19**, 6114-6126.
- [24] I. Jastrzebska, T. Pawlak, R. Arcos-Ramos, E. Florez-López, N. Farfán, D. Czajkowska-Szczykowska, J. Maj, R. Santillan, J.W. Morzycki and M.J. Potrzebowski. Synthesis, Structure, and Local Molecular Dynamics for Crystalline Rotors Based on Hecogenin/Botogenin Steroidal Frameworks. *Cryst. Growth Des.* 2016, **16**, 5698-5709.
- [25] B. Rodriguez-Molina, M. E. Ochoa, M. Romero, S. I. Khan, N. Farfán, R. Santillan, M.A. Garcia-Garibay. Conformational Polymorphism and Isomorphism of Molecular Rotors with Fluoroaromatic Rotators and Mestranol Stators. *Cryst. Growth Des.* 2013, **13**, 5107-5115.
- [26] B. Rodriguez-Molina, A. Pozos, R. Cruz, M. Romero, B. Flores, N. Farfán, R. Santillan, M.A. Garcia-Garibay. Synthesis and Solid State Characterization of Molecular Rotors with Steroidal Stators: Ethisterone and Norethisterone. *Org. Biomol. Chem.* 2010, **8**, 2993-3000.

- [27] T. Panunto, Z. Urbanczyk-Lipkowska, R. Johnson, M. Etter. Hydrogen-bond Formation in Nitroanilines: The First Step in Designing Acentric Materials. *J. Am. Chem. Soc.* 1987, **109**, 7786-7797.
- [28] J. Ellena, A. Goeta, J. Howard, C. Wilson, J. Autino, G. Punte. Experimental Evidence for the Amino-Group Non-Planarity in Nitroanilines: Neutron Diffraction Study of 2-methyl-5-nitroaniline at 100 K. *Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci.* 1999, **55**, 209-215.
- [29] J. Ellena, A. Goeta, J. Howard, G. Punte. Role of the Hydrogen Bonds in Nitroanilines Aggregation: Charge Density Study of 2-Methyl-5-nitroaniline. *J. Phys. Chem. A* 2001, **105**, 8696-8708.
- [30] A. Tayi, A. Kaeser, M. Matsumoto, T. Aida, S. Stupp. Supramolecular Ferroelectrics. *Nat. Chem.* 2015, **7**, 281-294.
- [31] B. Rodríguez-Molina, N. Farfán, M. Romero, J.M. Mendez-Stivalet, R. Santillan, M.A. Garcia-Garibay. Anisochronous Dynamics in a Crystalline Array of Steroidal Molecular Rotors: Evidence of Correlated Motion within 1D Helical Domains. *J. Am. Chem. Soc.* 2011, **133**, 7280-7283.
- [32] R. Arcos-Ramos, M. Maldonado-Domínguez, J. Ordóñez-Hernández, M. Romero-Ávila, N. Farfán, M.P. Carreón-Castro. 3-Substituted-7-(diethylamino)coumarins as Molecular Scaffolds for the Bottom-up Self-Assembly of Solids with Extensive π -stacking. *J. Mol. Struct.* 2017, **1130**, 914-921.
- [33] F. M. Menger, C. A. Littau. Gemini Surfactants: A New Class of Self-Assembling Molecules. *J. Am. Chem. Soc.* 1993, **115**, 10083-10090.

7. CAPÍTULO 3. *Dímeros esteroidales derivados de etinilestradiol con espaciadores de fenileno, fenileno-d₄ y 1,2-difluorofenileno.*

El diseño e ingeniería de materiales sólidos cristalinos ha permitido el desarrollo de componentes moleculares capaces de controlar su auto-ensamble en estado sólido, emulando así a dispositivos macroscópicos a nivel molecular [1-4]. Ejemplos de este tipo de sistemas moleculares o macromoleculares incluyen a catenanos, rotaxanos, motores moleculares, redes metal-orgánicas (MOFs) y rotores moleculares [5-8].

En este contexto, los esteroides han surgido como componentes moleculares de materiales supramoleculares como gelantes [9-11], ureas nanoporosas [12-13], receptores de aniones [14], así como giroscopios moleculares [15-18]. Este tipo de compuestos orgánicos presentan características estructurales como rigidez, volumen, quiralidad, así como la posibilidad de funcionalizar prácticamente todas las posiciones del esqueleto esteroideal ha permitido el desarrollo de sintones supramoleculares multifuncionales capaces de auto-ensamblarse en estado sólido [19-21]. Este tipo de compuestos se rigen mediante interacciones intra- e intermoleculares no covalentes que permiten organizar y acomodar las moléculas en arreglos supramoleculares auto-ensamblados. Por lo que el control preciso sobre las interacciones no covalentes, y sobre las subsiguientes matrices cristalinas, se vuelve relevante para diseñar materiales sólidos orgánicos funcionales basados en esteroides.

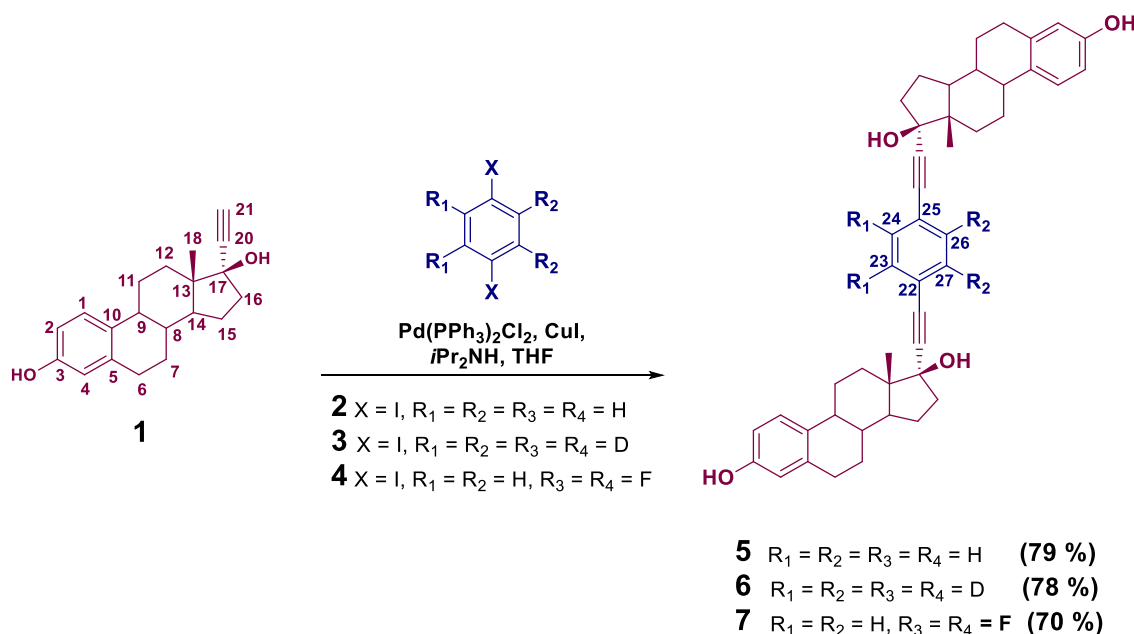
De manera general, las funcionalidades presentes sobre el núcleo esteroideal son las encargadas de establecer las interacciones no covalentes primarias que dan lugar a las matrices cristalinas. Al explorar y comprender la información

contenida sobre los fragmentos esteroidales, es posible construir materiales cristalinos multifuncionales [22-26].

En este capítulo se muestran los resultados de la obtención de dímeros esteroidales derivados de etinilestradiol con espaciadores fenileno, fenileno-d₄ y 1,2-difluorofenileno. Se sabe que el etinilestradiol forma polimorfos lo cual permitiría tener distintos arreglos cristalinos anisotrópicos para dar lugar a un material versátil. Además, la incorporación de diferentes espaciadores con y sin dipolo permitió evaluar el efecto de este en el empaquetamiento y estudiar distintas propiedades como la dinámica rotacional en estado sólido, reconocimiento molecular, ferroelectricidad o respuesta óptica no lineal. Se espera que la inclusión del espaciador fenileno sustituido con dos átomos de fluor aporte un dipolo ($\mu \approx 3 \text{ D}$) [27] que pueda responder a un estímulo externo o bien que permita tener un material con polarización macroscópica modulable [28-29]. Otro factor importante en la introducción del espaciador de 1,2-difluorofenileno es que se prevé que la red cristalina no sea perturbada, ya que los radios de van der Waals de los átomos de hidrógeno ($\sim 1.20 \text{ \AA}$) y fluor (1.47 \AA) son valores cercanos, al igual que las distancias C-F y C-H que son de 1.34 y 1.09 \AA respectivamente. [30-32] Además, se trata de un átomo que confiere un dipolo, pero sin la necesidad de sumar un grupo de átomos más voluminoso que modifique drásticamente el empaquetamiento como pudiera suceder con derivados de oxígeno que también posee distancia similar a la distancia C-H.

7.1. Síntesis

La obtención de los dímeros esteroidales derivados de etinilestradiol se llevó a cabo de acuerdo con el esquema 7.1. La reacción de doble acoplamiento cruzado tipo Sonogashira entre el 17 α -etinilestradiol **1** con 1,4-diyodobenceno **2**, 1,4-diyodobenceno-d₄ **3**, y 2,3-difluoro-1,4-diyodobenceno **4** produjo los correspondientes dímeros esteroidales **5-7** en buenos rendimientos; en todos los casos se obtuvieron los productos de homoacoplamiento y monoacoplamiento con bajos rendimientos.

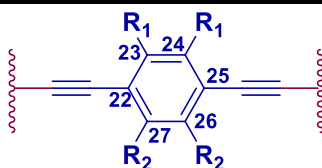


Esquema 7.1. Síntesis de dímeros esteroidales **5-7** con espaciadores de fenileno, fenileno-d₄ y 1,2-difluorofenileno.

7.2. Caracterización espectroscópica y espectrométrica

La obtención de los dímeros esteroidales derivados de etinilestradiol se confirmó a través de varios métodos espectroscópicos. Mediante RMN ¹H y ¹³C en

disolución, tanto los átomos de hidrógeno como de carbono del etinilestradiol tuvieron desplazamientos químicos muy similares entre los tres derivados. Las diferencias más significativas se encontraron en la región aromática, siendo posible diferenciar y asignar las señales correspondientes de los espaciadores de fenileno de las señales que provienen del anillo A del etinilestradiol, los datos se encuentran resumidos en la Tabla 7.1.



Compuesto	^1H (δ , ppm)	^{13}C (δ , ppm)
(5) $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{H}$	H-23: 7.41 (S, 2H)	C-22: 124.1 C-23: 131.9
(6) $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{D}$		C-22: 123.8 C-23: 131.9 (t, $J_{\text{C-D}} = 27$ Hz)
(7) $\text{R}_1 = \text{H}, \text{R}_2 = \text{F}$	H-26: 7.25 (m, 1H)	C-22: 114.7 (dd, $J_{\text{C-F}} = 8.7, 5.8$ Hz) C-23: 151.5 (dd, $J_{\text{C-F}} = 254.5, 14.6$ Hz) C-27: 128.8 (t, $J_{\text{C-F}} = 2.5$ Hz)

Tabla 7.1. Desplazamientos químicos RMN ^1H y ^{13}C de los espaciadores de fenileno (δ , ppm) presentes en los dímeros esteroidales **5-7**.

El resto de la caracterización en disolución: espectrometría de masas de alta resolución, espectrofotometría infrarroja, así como la lista completa de señales de RMN, se encuentran en la sección experimental de la presente tesis.

7.3. Caracterización en estado sólido.

Con el objetivo de explorar la organización supramolecular de los dímeros esteroidales **5-7** en estado sólido se realizaron diversos experimentos para encontrar cristales adecuados para estudios de difracción de rayos-X de monocristal. A través de la evaporación lenta de disoluciones a temperatura ambiente se logró obtener monocristales de los compuestos **5** de CHCl_3 , **6**, **7a** a partir de acetona, y el compuesto **7** de acetonitrilo. Los datos cristalográficos y detalles experimentales de la determinación y refinación de las estructuras se encuentran condensados en la sección experimental de esta tesis.

Los derivados de etinilestradiol con espaciadores de fenilo **5** y fenilo- d_4 **6** cristalizaron en un sistema tetragonal $P4_12_12_1$ con cinco moléculas por celda unitaria ($Z = 5$), presentando pequeñas diferencias entre los parámetros de celda. Los valores de ángulos de torsión [$\angle\text{C13-C17-C17}'\text{-C13}'$] 82.48° para el compuesto **5** y 80.96° para **6** demostraron que los fragmentos esteroidales adoptan una conformación *syn* con respecto al eje de 1,4-dietinilfenileno (figura 7.1), el cual a su vez se encontró ligeramente desviado de la linealidad de cuerdo a los valores encontrados para el ángulo [$\text{C17-centroide fenileno-C21}'$] 5.45° **5** y 4.46° **6**.

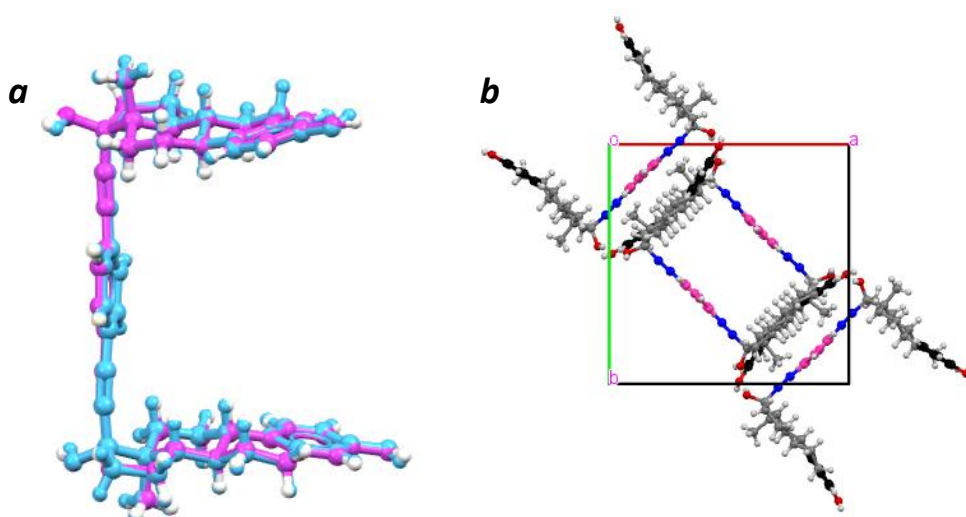


Figura 7.1. Estructuras superpuestas de los dímeros del compuesto **5** en rosa y **6** en azul, celda unitaria vista a lo largo del eje cristalográfico *c*.

Analizando el empaquetamiento cristalino de los compuestos (**5**) y (**6**) se encontró que este se encuentra soportado por enlaces de hidrógeno entre el grupo hidroxilo de C-17 y el fenol del anillo A, [C17-OH...OPh, 1.94 Å, ángulo 166.6°] para (**5**) y [C17-OH...OPh, 1.88 Å, ángulo 163.42° y C17-OH...OPh, 1.80 Å, ángulo 172.59°] para el compuesto **6**, las cuales son responsables de la conformación *syn* de los fragmentos de etinilestradiol (Figura 7.2).

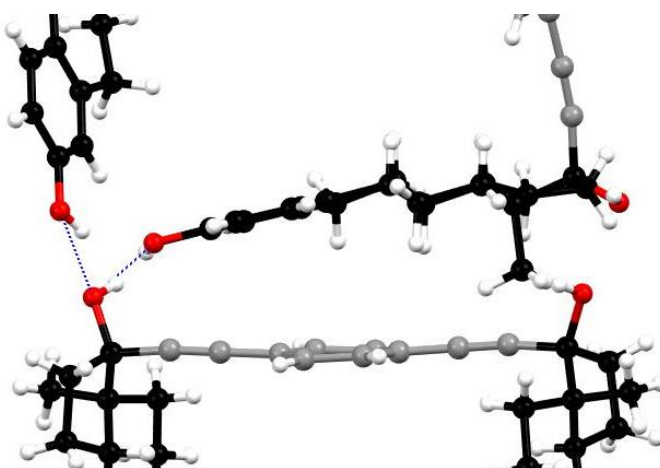


Figura 7.2. Interacciones primarias de enlaces de hidrógeno presentes en los derivados **5** y **6**.

El motivo que se repite en la estructura cristalina es del tipo C(4) y se extiende a lo largo del eje cristalográfico *b*; estas cadenas de enlaces de hidrógeno, entre los grupos hidroxilos del anillo aromático A y de C-17, se auto-ensamblan de tal forma que producen una organización supramolecular en forma acanalada (Figura 7.3).

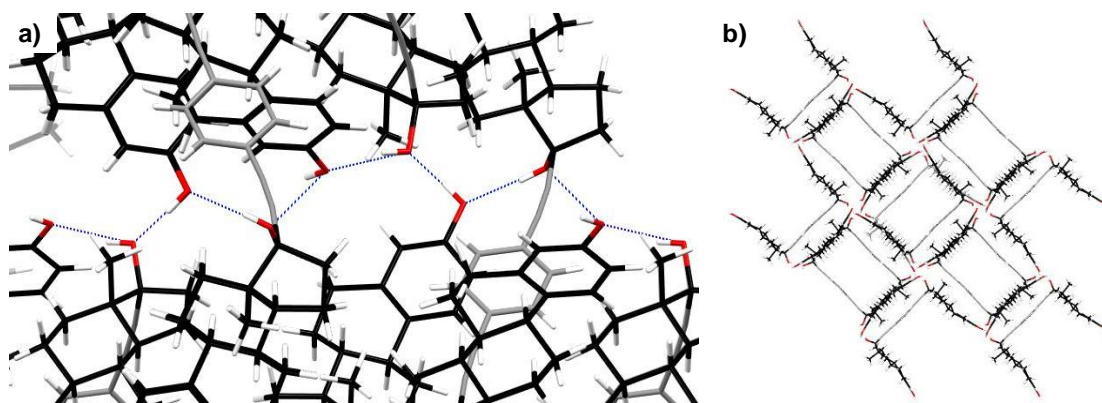


Figura 7.3. Cadenas de enlaces de hidrógeno (vistas a lo largo del eje cristalográfico *b*), y organización supramolecular en forma de canales (vista a lo largo del eje cristalográfico *c*) presentes en los compuestos **5** y **6**.

Los arreglos cristalinos observados para este sistema son relativamente densos con un C_k de 0.47 para ambos derivados. Si bien, el arreglo no es tan denso, este valor de factor de empaquetamiento refleja la porción de espacio ocupado y no da más información del acomodo de las moléculas. Por esta razón, aunque se tiene volumen libre, la disposición de las moléculas en estado sólido y la ausencia de desorden en la estructura, reflejan que la posibilidad de tener dinámica rotacional en estado sólido está limitada.

En el caso del derivado con espaciador de 1,2-difluorofenileno **7**, la estructura cristalina se resolvió en el sistema monoclinico $P2_1$ con seis moléculas por celda unitaria ($Z = 6$) y tres moléculas por unidad asimétrica (Figura 7.4). En dos de estas moléculas, los fragmentos esteroidales adoptaron una conformación *anti* de acuerdo con los valores de ángulo de torsión encontrados [$\angle C13-C17-C17'-C13'$, 179.55° y 179.13°]. Mientras que la tercera molécula presentó una conformación *syn* entre los residuos esteroidales [$\angle C13-C17-C17'-C13'$, 2.36°]. En las moléculas de conformación *anti*, el eje de 1,4-dietinil-2,3-difluorofenileno se encontró más desviado de la linealidad [$\angle C17$ -centroide fenileno- $C21'$, 9.89° y 6.15°] con respecto a la molécula con conformación *syn* [$\angle C17$ -centroide fenileno- $C21'$, 1.74°].

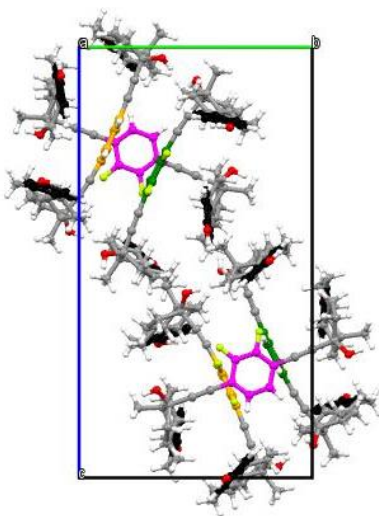


Figura 7.4. Celda unitaria del compuesto **7** vista a lo largo del eje cristalográfico *a*. Espaciadores en conformación *syn* (rosa) y espaciadores en conformación *anti* (verde y amarillo).

Para el compuesto **7**, la presencia del espaciador de difluorofenileno produjo una organización supramolecular diferente a la mostrada para los derivados con fenileno y fenileno- d_4 . Las moléculas del compuesto **7** con conformación *anti* se

conectaron a través de enlaces de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de C-17 [C17-OH...OH-C17', 1.90 Å, ángulo 161.83 °; y 1.92 Å, ángulo 159.41 °], ésta unión es complementada con una interacción de apilamiento- π entre espaciadores de difluorofenileno la cual es favorecida debido a la presencia de los átomos de flúor [centroide...centroide, 3.48 Å]. (Figura 7.5)

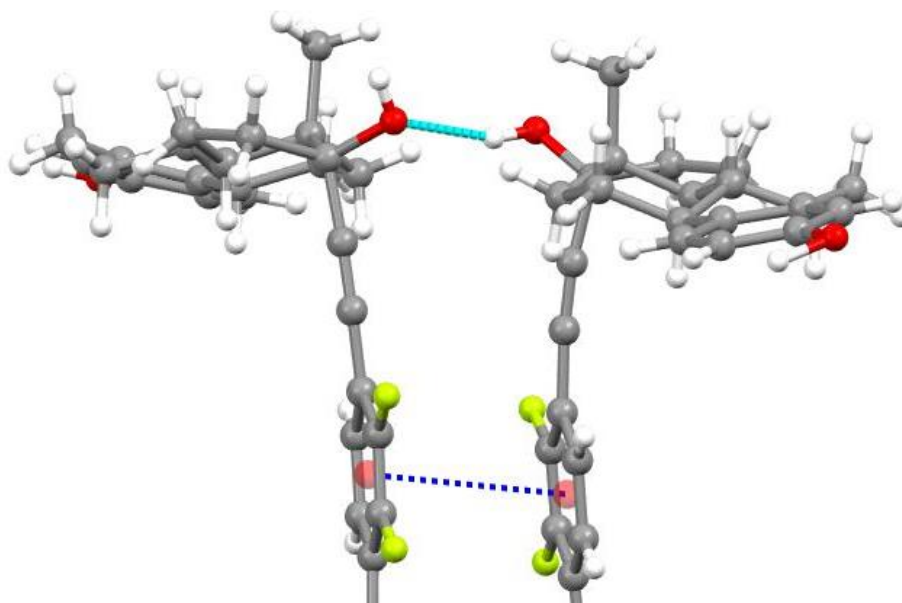


Figura 7.5. Interacciones entre las moléculas de conformación *anti* en el derivado 7.

Otra interacción primaria importante es la formación de enlaces de hidrógeno entre la molécula de conformación *syn* y una molécula de conformación *anti*, estos enlaces se dan entre el hidroxilo de C-17 y el fenol del anillo A [C17-OH...OPh, 2.03 Å, ángulo 162.12°; C17-HO...OH-Ph, 2.02 Å, ángulo 152.49°] (figura 7.6).

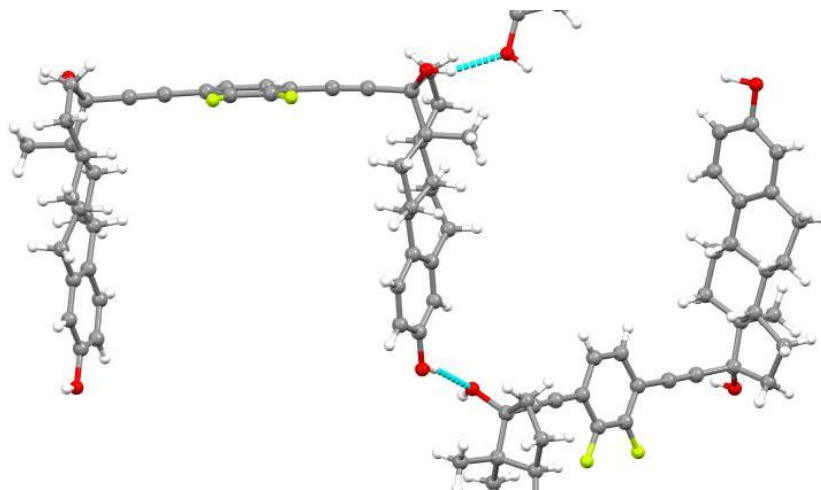


Figura 7.6. Interacciones de apilamiento- π entre espaciadores de difluorofenileno presentes en la organización supramolecular del compuesto 7.

Lo anterior produce un empaquetamiento cristalino muy denso donde se hizo evidente la interacción que existe entre los espaciadores, como se muestra en la Figura 7.7 (en color negro), además de que los espaciadores de las moléculas de conformación *anti* están muy cercanos a los fragmentos esteroidales (en color azul).

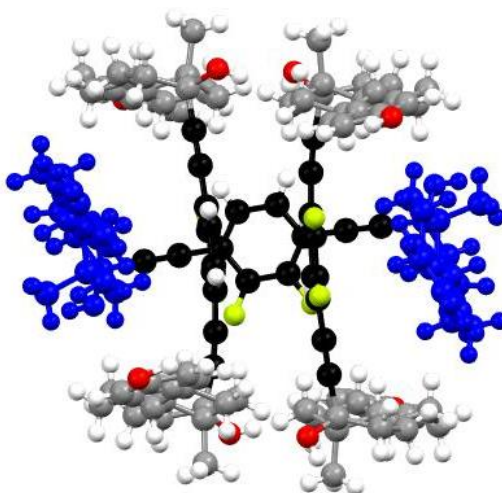


Figura 7.7. Representación de la interdigitación en la estructura cristalina del dímero 7.

A diferencia de los derivados **5** y **6**, fue posible aislar y cristalizar el producto de monoacoplamiento del derivado **7**. La estructura cristalina del producto monoacoplado **7a** se resolvió en el sistema ortorrómbico $P2_12_12_1$ con cuatro moléculas por celda unitaria y $Z' = 1$ (Figura 7.8). El ángulo [\angle C17-centroide-I, 5.03°] confirmó que el eje que soporta al espaciador de difluorofenileno es prácticamente lineal.

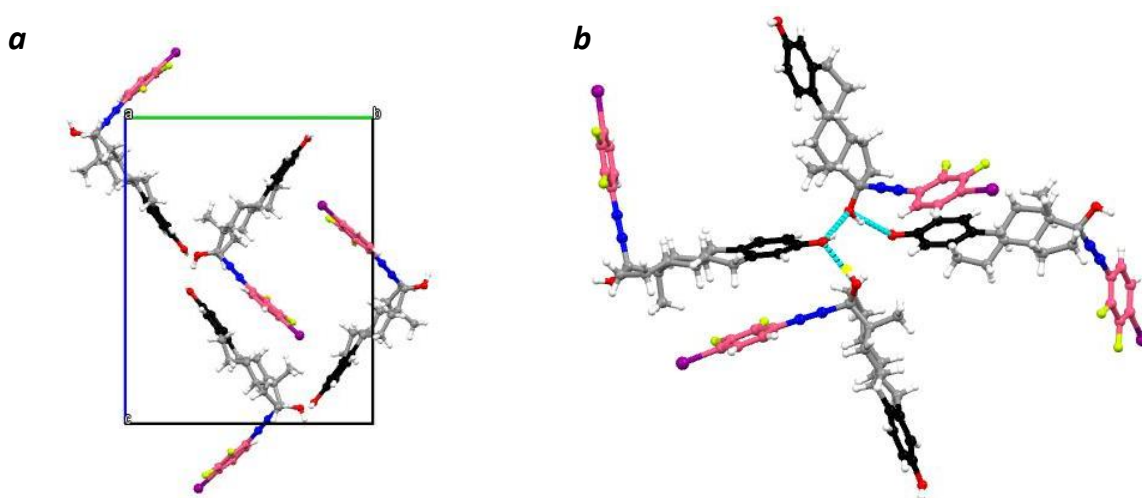


Figura 7.8. Celda unitaria e interacciones de enlaces de hidrógeno más importantes encontradas en el compuesto **7a**.

La organización supramolecular del compuesto **7a** se basó en interacciones de enlaces de hidrógeno entre el grupo hidroxilo de C-17 y el fenol del anillo A. El grupo hidroxilo de C-17 funcionó como donador de enlace de hidrógeno a un fenol adyacente, así como aceptor de enlace de hidrógeno de un fenol de otra molécula vecina (Figura 7.9). La combinación de estas diferentes interacciones de enlaces de hidrógeno produjo motivos C(6) a lo largo del eje cristalográfico *a*. Una segunda contribución al empaquetamiento cristalino se debió a la presencia de las interacciones entre los átomos de yodo y el anillo aromático A

[$\text{C}6 \cdots \text{C}6$ centroide, 3.69 Å, ángulo 79.71°], produciendo un arreglo supramolecular en forma de L. El resultado de la combinación de estas diferentes interacciones no covalentes produjo un ensamblaje supramolecular con forma de canales.

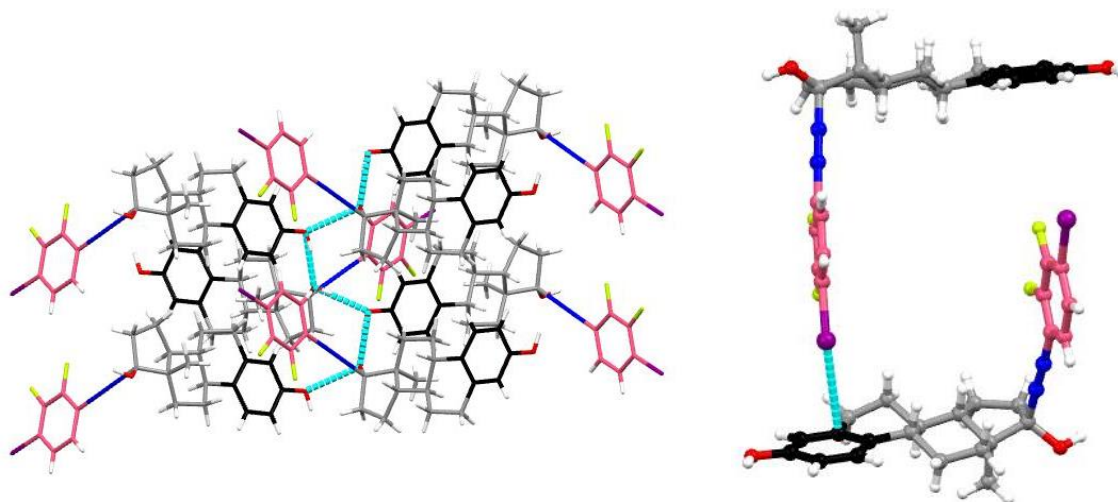


Figura 7.9. Interacciones de enlaces de hidrógeno en forma de cadena C(6) y I- π presentes en el compuesto **7a**.

Los factores de empaquetamiento para los derivados fluorados **7** y **7a** es de 0.56 y 0.57 respectivamente lo cual refleja que los arreglos son de densidad media, sin embargo, se observan contactos cercanos entre las moléculas. A diferencia de los derivados sin fluor, en estas estructuras es posible observar deformación de los elipsoides (anisotropic displacement parameters) en el anillo fluorado, estos alargamientos dan una idea cualitativa de que en esa zona puede existir movilidad en estado sólido. Estudios de posteriores de RMN en estado sólido podrían confirmar con certeza si en estos sistemas la rotación está presente.

Analizando el efecto de los espaciadores incorporados en los dímeros de etinilestradiol, se observó que para benceno y benceno- d_6 no existe un impacto en el arreglo al hacer esta variación estructural, aunque los compuestos fueron cristalizados en disolventes di<stintos, la estructura fue la misma. Cuando se

emplean estos espaciadores, no hay participación de ellos en la estructura cristalina, ya que las interacciones primarias las forman los grupos OH del fenol en el anillo A y en C-17.

Con respecto a la inclusión del espaciador de 1,2-difluorofenileno, sucedió algo muy diferente a lo esperado, ya que este espaciador tiene una participación importante en el empaquetamiento cristalino. Las interacciones que forman los esteroides nuevamente son entre los hidroxilos C-17 y C-3 como ya se había observado, pero las interacciones π entre los espaciadores generan un arreglo supramolecular muy diferente comparado con los otros dos dímeros de esta serie de compuestos.

De estas observaciones se puede resaltar que hay cambios estructurales que, aunque se espera que no sean muy significativos en el arreglo supramolecular tienen un impacto importante. Existen sistemas análogos en donde sí se logró mantener la estructura cristalina con un espaciador fluorado. Tal es el caso de los derivados de mestranol que es un esteroide análogo al etinilestradiol, con la variación de tener un grupo metoxi en la posición C-3 en lugar de tener un OH. Se prepararon compuestos con benceno y 1,2-difluorofenileno y se encontró que era posible tener soluciones sólidas de ambos derivados sin que hubiera un cambio significativo en el arreglo y que además este compuesto facilitaba la rotación en estado sólido del espaciador.

A través del estudio de los arreglos de estas estructuras análogas es posible ir estableciendo ciertos criterios para el diseño de ensamblajes supramoleculares. En este sentido, las estructuras diméricas derivadas de etinilestradiol son sensibles a las variaciones en el espaciador, lo cual quiere decir que no es

únicamente el esteroide el que dicta el empaquetamiento. Además, en el caso de espaciadores fenileno sin sustituyentes, se obtienen sólidos con canales libres dentro de ellos.

7.4. Análisis de cavidades

En los arreglos supramoleculares de los compuestos **5**, **6** y **7a**, una vez efectuado el tratamiento squeeze para suprimir las moléculas de disolvente, se observaron estructuras acanaladas. Para explorar las cavidades existentes se realizó un análisis cualitativo de vacíos dentro de las estructuras cristalinas (Figura 7.10). Se calculó el volumen de las cavidades con un radio de sonda de 1.5 Å para producir un resultado significativo [15]. Para los compuestos **5** y **6**, el volumen de la cavidad encontrado fue de 1725.46 Å³ que correspondía a un 33.8 % de volumen libre dentro de la celda. Mientras que el compuesto **7a** mostró una cavidad menor en comparación con los compuestos **5** y **6**, con un volumen de cavidad de 426.62 Å³ correspondiente a un 16.2 % del volumen libre.

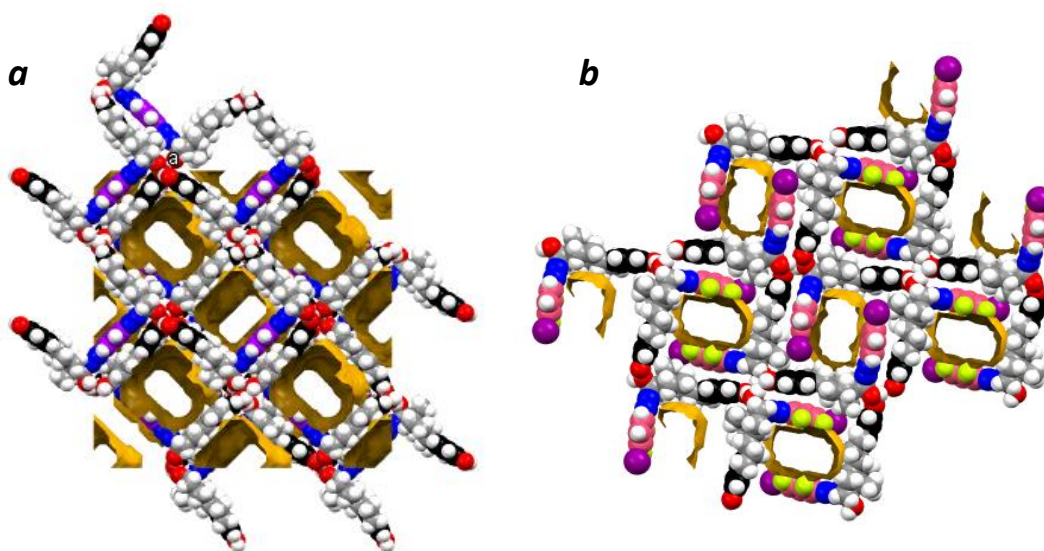


Figura 7.10. Empaquetamientos cristalinos de los compuestos **6** y **7a**, las cavidades se muestran como superficies de contacto amarillas.

Con el objetivo de tener una comparación de los dímeros **5**, **6** y **7a** con el dímero derivado de 17 α -etinil-5 α -androst-2-en-17 β -ol y espaciador de *p*-nitroanilina presentado en el capítulo 2, se calculó el volumen libre dentro de la estructura, así como el tamaño de las cavidades. Se encontraron canales de 899.7 Å³ que corresponden a un 18.3% de volumen libre (Figura 7.11).

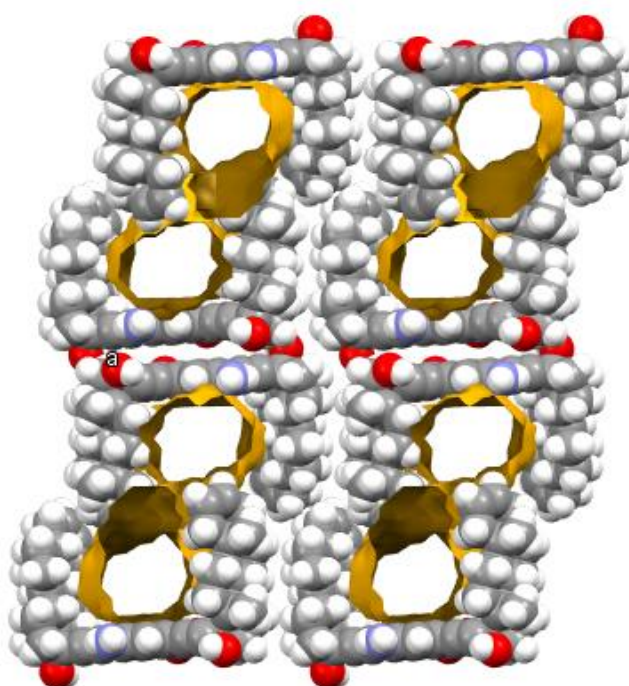


Figura 7.11 Empaquetamiento cristalino del dímero derivado de 17 α -etinil-5 α -androst-2-en-17 β -ol y espaciador *p*-nitroanilina, las cavidades se muestran como superficies de contacto amarillas. Radio de sonda de 1.5 Å, vista a lo largo del eje cristalográfico *b*.

Comparando estos resultados se observa que los derivados de etinilestradiol con espaciador fenileno, generan canales de mayor tamaño, mientras que el

compuesto **7a** genera canales más pequeños que los derivados de *p*-nitroanilina. Este análisis representa un punto de partida que resulta alentador para un estudio posterior del desempeño de estos compuestos como anfitriones de moléculas pequeñas.

7.5. Conclusiones capítulo 3

Mediante el análisis estructural de dímeros derivados de etinilestradiol se encontró que la inclusión de espaciadores fenileno, fenileno-d₄ y 1,2-difluorofenileno no produce arreglos isomórficos en los tres casos. Lo anterior es evidencia de que el autoensamble no está dirigido por el fragmento esteroideal como suele esperarse en este tipo de sistemas, sino que es una conjunción de interacciones donde interviene directamente el espaciador. Además, se encontró que hay una fuerte tendencia a formar arreglos acanalados, siempre y cuando no exista una interacción entre espaciadores dentro de la estructura.

Referencias: Capítulo 3.

- [1] G. Du, E. Moulin, N. Jouault, E. Buhler, N. Giuseppone. Muscle-like Supramolecular Polymers: Integrated Motion from Thousands of Molecular Machines. *Angew. Chem. Ed. Int.* 2012, **51**, 12504-12508.
- [2] L. Kobr, K. Zhao, Y. Shen, A. Comotti, S. Bracco, R.K. Shoemaler, P. Sozzani, N.A. Clark, J.C. Price, C.T. Rogers, J. Michl. Inclusion Compound Based Approach to Arrays of Artificial Dipolar Molecular Rotors. A Surface Inclusion. *J. Am. Chem. Soc.* 2012, **134**, 10122-10131.
- [3] S. Erbas-Cakmak, D.A. Leigh, C.T. McTernan, A.L. Nussbaumer. Artificial Molecular Machines. *Chem. Rev.* 2015, **115**, 10081-10206.
- [4] I. Aprahamian. The Future of Molecular Machines. *ACS Cent. Sci.* 2020, **6**, 347-358.
- [5] S. Kassem, T. van Leeuwen, A.S. Lubbe, M.R. Wilson, B.L. Feringa, D.A. Leigh. Artificial Molecular Motors. *Chem. Soc. Rev.* 2017, **46**, 2592-2621.
- [6] S. Krause, B.L. Feringa. Towards Artificial Molecular Factories from Framework-Embedded Molecular Machines. *Nat. Rev. Chem.* 2020, **4**, 550-562.
- [7] P. Silva, S.M.F. Vilela, J.P.C. Tomé, F.A. Almedia Paz. Multifunctional Metal–Organic Frameworks: From Academia to Industrial Applications. *Chem. Soc. Rev.* 2015, **44**, 6774-6803.
- [8] I. Roy, J.F. Stoddart. Amphidynamic Crystals Key to Artificial Molecular Machines. *Cell* 2019, **1**, 627-629.

- [9] L.C. Schmidt, V.C. Edelsztein, C.C. Spagnuolo, P.H. Di Chenna, R.E. Galian. Light-Responsive Hybrid Material Based on Luminescent Core–Shell Quantum Dots and Steroidal Organogel. *J. Mater. Chem. C* 2016, **4**, 7035-7042.
- [10] H.K. Yang, X.X. Wang, H. Xiao, Z.N. Ma. Steroid-Based A(LS)₃-type Gelators: Probing the Design criteria in creating soft materials. *J. Mater. Sci.* 2016, **51**, 8529-8542.
- [11] D. Asthana, S.K. Keshri, G. Hundal, G. Sharma, P. Mukhopadhyay. Self-Assembly Patterns of Steroid-Based All-Organic Ferroelectrics: Valuable Insights from the Single-Crystals Derived from an Organogel and Solution. *CrystEngComm* 2014, **16**, 4681-4866.
- [12] L. Travaglini, L.N. Bridgland, A.P. Davis. Cholanamide Components for Organic Alloys; Expanding the Scope of Nanoporous Steroidal Ureas. *Chem. Commun.* 2014, **50**, 4803-4805.
- [13] P.R. Brotherhood, A.P. Davis. Steroid-Based Anion Receptors and Transporters. *Chem. Soc. Rev.* 2010, **39**, 3633-3647.
- [14] S.J. Edwards, H. Valkenier, N. Busschaert, P.A. Gale, A.P. Davis. High-Affinity Anion Binding by Steroidal Squaramide Receptors. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2015, **54**, 4592-4596.
- [15] M.E. Ochoa, R. Arcos-Ramos, P.I. Ramírez-Montes, H. Höpfl, M.A. Leyva, N. Farfán, R. Santillan. Asymmetric Molecular Rotors Based on Steroidal Fragments. Organic Building Blocks Displaying Versatile Supramolecular Steroid-Stacking Interactions. *Cryst. Growth Des.* 2019, **19**, 6114-6126.

- [16] I. Jastrzebska, T. Pawlak, R. Arcos-Ramos, E. Florez-López, N. Farfán, D. Czajkowska-Szczykowska, J. Maj, R. Santillan, J.W. Morzycki and M.J. Potrzebowski. Synthesis, Structure, and Local Molecular Dynamics for Crystalline Rotors Based on Hecogenin/Botogenin Steroidal Frameworks. *Cryst. Growth Des.* 2016, **16**, 5698-5709.
- [17] D. Czajkowska-Szczykowska, B. Rodriguez-Molina, N.E. Magaña-Vergara, R. Santillan, J. Morzycki and M.A. Garcia-Garibay. Macrocyclic Molecular Rotors with Bridged Steroidal Frameworks. *J. Org. Chem.* 2012, **77**, 9970-9978
- [18] D. Czajkowska-Szczykowska, A. Aguilar-Granda, J. Maj, A.Z. Wilczewska, S. Witkowski, R. Santillan, M.A. Garcia-Garibay, J.W. Morzycki and B. Rodríguez-Molina. Solid State Characterization of Bridged Steroidal Molecular Rotors: Effect of the Rotator Fluorination on Their Crystallization. *Cryst. Growth Des.* 2016, **16**, 1599-1605.
- [19] J. Tamminen, E. Kolehmainen. Bile Acids as Building Blocks of Supramolecular Hosts. *Molecules* 2001, **6**, 21-46.
- [20] A.P. Davis. Bile Acid Scaffolds in Supramolecular Chemistry: The Interplay of Design and Synthesis. *Molecules* 2007, **12**, 2106-2122.
- [21] Nonappa and U. Mitra. Unlocking the Potential of Bile Acids in Synthesis, Supramolecular/Materials Chemistry and Nanoscience. *Org. Biomol. Chem.* 2008, **6**, 657-669.
- [22] M. Miyata, N. Tohnai, I. Hisaki. Crystalline Host–Guest Assemblies of Steroidal and Related Molecules: Diversity, Hierarchy, and Supramolecular Chirality. *Acc. Chem. Res.* 2007, **40**, 694-702.

- [23] T. Pawlak, D. Czajkowska-Szczykowska, I. Jastrzebska, R. Santillan, B. Seroka, J. Maj, J.W. Morzycki, N. Farfán, G.D. Bujacz, M.J. Potrzebowski. Influence of Hydrogen/Fluorine Substitution on Structure, Thermal Phase Transitions, and Internal Molecular Motion of Aromatic Residues in the Crystal Lattice of Steroidal Rotors. *Cryst. Growth Des.* 2020, **20**, 2202–2216.
- [24] R. Kuosmanen, K. Rissanen, E. Sievänen. Steroidal Supramolecular Metallogels. *Chem. Soc. Rev.* 2020, **49**, 1977-1998.
- [25] K. Olszewska, I. Jastrzebska, A. Łapiński, M. Górecki, R. Santillan, N. Farfán, T. Runka. Steroidal Molecular Rotors with 1,4-Diethynylphenylene Rotators: Experimental and Theoretical Investigations Toward Seeking Efficient Properties. *J. Phys. Chem. B* 2020, **124**, 9625–9635.
- [26] J.H. Jung, T. Shimizu, S. Shinkai. Self-Assembling Structures of Steroidal Derivatives in Organic Solvents and their Sol–Gel Transcription into Double-Walled Transition-Metal Oxide Nanotubes. *J. Mater. Chem.* 2005, **15**, 3979-3986.
- [27] Horansky, R. D.; Clarke, L. I.; Winston, E. B.; Price, J. C.; Karlen, S. D.; Jarowski, P. D.; Santillan, R.; Garcia-Garibay, M. A. Dipolar Rotor-Rotor Interactions in a Difluorobenzene Molecular Rotor Crystal. *Phys. Rev. B: Condens. Matter Mater. Phys.* 2006, **74**, No. 054306.
- [28] Ostroverkhova, O. Organic Optoelectronic Materials: Mechanisms and Applications. *Chem. Rev.* 2016, **116**, 13279–13412.
- [29] Jiang, X.; Zhao, S.; Lin, Z.; Luo, J.; Bristowe, P. D.; Guan, X.; Chen, C. The Role of Dipole Moment in Determining the Nonlinear Optical Behavior of Materials: Ab Initio Studies on Quaternary Molybdenum Tellurite Crystals. *J. Mater. Chem. C* 2014, **2**, 530–537.

[30] (a) O'Hagan, D. Understanding Organofluorine Chemistry. An Introduction to the C–F Bond. *Chem. Soc. Rev.* 2008, **37**, 308–319.

[31] Bondi, A. Van der Waals Volumes and Radii. *J. Phys. Chem.* 1964, **68**, 441–451.

[32] Mantina, M.; Chamberlin, A. C.; Valero, R.; Cramer, C. J.; Truhlar, D. G. Consistent Van der Waals Radii for the Whole Main Group. *J. Phys. Chem. A* 2009, **113**, 5806–5812.

8. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

8.1. **Capítulo 1.** *Dímero esteroideal derivado de 17 α -etinil-5 α ,10 α -estran-17 β -ol con espaciador de fenileno.*

Materiales y equipos

Todos los disolventes tanto para la síntesis y caracterización se destilaron antes de ser utilizados. El estrano de partida fue donado por Syntex México y previamente purificado por cromatografía en columna utilizando gel de sílice como fase estacionaria y hexano/AcOEt (9:1) como fase móvil. Los reactivos: 1,4-diyodobenceno, Pd(PPh₃)₂Cl₂, CuI, *i*Pr₂NH y tetrahidrofurano anhidro se adquirieron en Merck y se utilizaron tal cual se recibieron. El seguimiento de las reacciones se realizó mediante cromatografía en capa fina sobre placas de gel de sílice ALUGRAM SIL G/UV254 utilizando una solución de vainillina al 0.5 % en HClO₄ al 30 % que al calentarse funcionó como revelador de color. La purificación mediante cromatografía en columna se realizó utilizando gel de sílice (malla 230-400) como fase estacionaria.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Electrothermal 9100 y no se corrigieron. Los experimentos de espectrofotometría infrarroja (FTIR) se registraron en un equipo Cary 600 de Agilent Technologies usando muestras sólidas utilizando reflectancia total atenuada (ATR), las unidades se encuentran expresadas en cm⁻¹. Los estudios de espectrometría de masas de alta resolución se obtuvieron en un espectrómetro Agilent UHPLC (1290 Infinity)-MS (6530 Accurate-Mass QTPF) usando ionización por electrospray y detector de tiempo

de vuelo. Los experimentos de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) en disolución (^1H , ^{13}C) se realizaron en un espectrómetro Bruker Avance III HD 700 equipado con una criosonda TCI de gradiente de eje z de 5 mm. Las muestras se disolvieron en CDCl_3 a temperatura ambiente. Los experimentos COSY (espectroscopía de correlación homonuclear), HSQC (espectroscopía de correlación cuántica simple heteronuclear), H2BC (espectroscopía de correlación de dos enlaces heteronucleares), HMBC (espectroscopía de correlación de enlaces múltiples heteronucleares), DEPT 135 (mejora sin distorsiones por transferencia de polarización usando un pulso desacoplado de 135°) y NOESY (espectroscopía de efecto nuclear Overhauser nuclear) se adquirieron usando la secuencia de pulsos estándar del software Bruker. Los desplazamientos químicos (δ) se expresaron en ppm con respecto a la resonancia del disolvente como patrón interno [CDCl_3 : $\delta_{\text{H}} = 7.26$ ppm, $\delta_{\text{C}} = 77.16$ ppm]. Todos los espectros se procesaron empleando el software de RMN de MestreNova.

Métodos de síntesis

∞ Preparación de $5\alpha,10\alpha$ -estran-17-ona **2**

Para la síntesis de la cetona esteroideal, se siguió un procedimiento previamente descrito en la literatura [1] utilizando el alcohol esteroideal **1** (1.073 g, 4.09 mmol) disuelto en CH_2Cl_2 (80 mL) y reactivo de Jones soportado en gel de sílice [el cual se preparó a partir de reactivo de Jones (4.7 mL) y gel de sílice (9.2 g)]. La cetona esteroideal **2** se obtuvo como un sólido cristalino color blanco (0.76 g, 72 %). Punto de fusión: $57.5 - 58.9$ °C. FTIR-ATR (ν , cm^{-1}): 2947, 1714, 1248, 1211, 1135, 1014, 980, 914, 835. RMN- ^1H [400 MHz, CDCl_3] (δ , ppm): 2.32 (m, 2H, H-

16), 1.96 (m, 2H, H-15), 0.96 (s, 3H, H-18). RMN-¹³C [100 MHz, CDCl₃] (δ, ppm): 220.96 (C-17), 51.44 (C-14), 48.09 (C-13), 47.96 (C-9), 40.96 (C-10), 37.79 (C-16), 35.73 (C-5), 33.91 (C-8), 32.48 (C-12), 31.67 (C-4), 30.96 (C-6), 26.86 (C-3), 25.24 (C-11), 24.14 (C-7), 21.61 (C-15), 21.68 (C-1), 21.36 (C-2), 13.62 (C-18). EMAR (ESI-TOF), calculado para C₁₈H₂₉O *m/z* 261.2218; encontrado para C₁₈H₂₉O *m/z* 261.2215 [M+H]⁺. Error: -1.48 ppm.

∞ Preparación de 17α-etinil-5α,10α-estran-17β-ol 3

A una disolución de la estrona **2** (0.76 g, 2.91 mmol) en THF anhidro (10 mL) en atmósfera de nitrógeno se enfrió a 0 °C durante 10 minutos; posteriormente se adicionó bromuro de etinilmagnesio 0.5 M (46.5 mL, 23.25 mmol) por goteo durante un período de 10 minutos. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 14 h hasta el consumo total del material de partida. La reacción se detuvo al diluir con acetato de etilo (50 mL), la cual se lavó con una disolución saturada de NH₄Cl (2 x 15 mL), H₂O (2 x 10 mL) y NaCl (2 x 10 mL). La fase orgánica resultante se secó sobre Na₂SO₄ y se evaporó hasta sequedad. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en columna usando hexano:AcOEt (8:2) como eluyente. El 17α-etinil-5α,10α-estran-17β-ol **3** se obtuvo como un sólido blanco (0.265 g, 32 %). Punto de fusión: 158.9 – 161 °C. FTIR-ATR (ν, cm⁻¹): 3265, 2916, 2845, 1736, 1446, 1053, 702. RMN-¹H [700 MHz, CDCl₃] (δ, ppm): 2.56 (s, 1H, H-21), 2.26 (ddd, *J* = 13.8, 9.7, 5.7 Hz, 1H, H-16α), 1.96 (ddd, *J* = 13.8, 12.0, 4.0 Hz, 1H, H-16β), 1.86 (1H, OH-17), 1.77–1.13 (m, 21H, H-1 to H-5, H-6, H-7, H-7', H-8, H-10, H-11 a H-15), 1.06 (m, 1H, H-9), 0.86 (m, 1H, H-6), 0.82 (s, 3H, H-18). RMN-¹³C [176 MHz, CDCl₃] (δ, ppm): 87.85 (C-20), 80.10 (C-17), 73.91 (C-21), 50.59 (C-14), 47.63 (C-9), 47.46 (C-13), 41.24

(C- 10), 39.09 (C-16), 38.07 (C-5), 35.25 (C-8), 32.99 (C-12), 32.79 (C-4), 31.87 (C-6), 27.15 (C-3), 25.80 (C-11), 25.65 (C-7), 23.14 (C-15), 21.64 (C-1), 21.62 (C-2), 12.88 (C-18). EMAR (ESI-TOF), calculado para $C_{20}H_{31}O$ m/z 287.2375; encontrado para $C_{20}H_{31}O_3$ m/z 287.2374 $[M+H]^+$. Error: -0.33 ppm.

∞ Preparación de 1,4-bis[5 α ,z10 α -estran-17 β -ol-17 α -etinil]benceno 4

En un matraz de fondo redondo bajo atmósfera de nitrógeno, se preparó una disolución de 1,4-diyodobenceno (0.120 g, 0.35 mmol), 17 α -etinil-5 α ,10 α -estran-17 β -ol **3** (0.20 g, 0.7 mmol), Pd(PPh₃)₂Cl₂ (0.03 g, 0.035 mmol) y CuI (0.015 g, 0.07 mmol) en THF anhidro (20 ml). Luego, se añadió lentamente *i*Pr₂NH (1.0 ml), la mezcla de reacción se agitó y llevo a temperatura de reflujo hasta el consumo total de los materiales de partida. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y el disolvente se evaporó al vacío. El crudo se disolvió en AcOEt (30 ml) y se lavó con una solución saturada de NH₄Cl_{sat} (3 x 10 mL). La fracción orgánica se deshidrató con Na₂SO₄ anhidro y el disolvente se evaporó. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en columna usando gel de sílice y hexano:acetato de etilo (9: 1) como eluyente. El dímero esteroideal 1,4-bis[5 α ,10 α -estran-17 β -ol-17 α -etinil]benceno **4** se obtuvo como un sólido cristalino color blanco (0.30 g, 67 %). Punto de fusión: 238.5 – 240 °C. FTIR-ATR (ν , cm⁻¹): 3560, 2916, 2854, 1965, 1506, 1444, 1047, 862. RMN-¹H [700 MHz, CDCl₃] (δ , ppm): 7.36 (s, 2H, H-23, H-27), 2.35 (ddd, J = 14.0, 9.7, 5.6 Hz, 1H, H-16 α), 2.04 (ddd, J = 13.9, 12.1, 3.9 Hz, 1H, H-16 β), 1.90 (1H, OH-17), 1.80–1.58 (H-3', H-5a, H-6, H-7, H-11, H-12, H-12', H-15), 1.56 (m, 1H, H-10a), 1.52–1.14 (H-1, H-1', H-2, H-2', H-3, H-4, H-4', H-7, H-8, H-11', H-14, H-15'), 1.07 (m, 1H, H-9), 0.89 (m, 1H, H-18), 0.87 (s, 3H, H-18). RMN-¹³C [176 MHz, CDCl₃] (δ ,

ppm): 131.64 (C-23), 122.98 (C-22), 94.89 (C-20), 85.56 (C-21), 80.60 (C-17), 50.96 (C-14), 48.06 (C-13), 47.74 (C-9), 41.26 (C-10), 39.20 (C-16), 38.07 (C-5), 35.33 (C-8), 33.36 (C-12), 32.80 (C-4), 31.90 (C-6), 27.16 (C-3), 25.88 (C-11), 25.66 (C-7), 23.29 (C-15), 21.67 (C-1), 21.62 (C-2), 13.09 (C-18). EMAR (ESI-TOF), calculado para $C_{46}H_{62}O_2$ m/z 646.4749; encontrado para $C_{46}H_{62}O_2$ m/z 646.4764 [M+H]⁺. Error: -1.48 ppm.

Difracción de rayos-X de monocristal

La colección de datos de difracción de rayos-X de monocristal de los compuestos **2** y **4** se realizaron en un equipo Bruker D8 Venture CMOS a 143K **4** y 293 K para **2**. Los cristales fueron montados en MicroLoops™ convencionales. Todos los átomos pesados fueron encontrados mediante mapas de diferencias de Fourier y refinados anisotrópicamente. Todo el conjunto de datos de reflexión fue corregido por efectos de polarización y de Lorentz. La primera solución de las estructuras se obtuvo utilizando el programa SHELXS-2017, mientras que para el refinamiento de las mismas se realizó aplicando el programa SHELXL-2017 [2]. Todas las manipulaciones del software se realizaron a través del programa ShelXle [3] El software Mercury [4] se utilizó para preparar las imágenes utilizadas. Los datos cristalográficos de resolución y refinamiento se encuentran condensados en la Tabla 8.1.

Tabla 8.1. Datos cristalográficos de los compuestos **2** y **4**.

Compuesto	2	4
Apariencia física	Placa incolora	Placa, Incolora
Fórmula química	C ₁₈ H ₂₈ O	C ₄₆ H ₆₂ O ₂
Peso molecular	260.4	646.95
Grupo especial	<i>P2</i> ₁	<i>P2</i> ₁
Sistema cristalino	Monoclínico	Monoclinic
a (Å)	11.473(6)	6.4837(13)
b (Å)	6.531(3)	43.708(9)
c (Å)	11.755(7)	6.8925(14)
α (°)	90	90
β (°)	117.689(13)	105.43(3)
γ (°)	90	90
Volumen (Å ³)	779.9(7)	1882.9(7)
Z	2	2
Tamaño del cristal (mm ³)	0.31 x 0.15 x 0.09	0.43 x 0.13 x 0.1
Temperatura (K)	295(2)	130(2)
D _x (mg/m ³)	1.109	1.141
Coefficiente de absorción (mm ⁻¹)	0.066	0.508
F (000)	288.0	708
θ rango de colección de datos (°)	3.39-28.20	4.03-41.12
Índices	-15 ≤ h ≤ 15 -8 ≤ k ≤ 8 -15 ≤ l ≤ 15	0 ≤ h ≤ 5 0 ≤ k ≤ 37 -39 ≤ l ≤ 39
Reflexiones colectadas	45889	2968
Método de refinamiento	Refinado como un gemelo de inversión	
Goodness-of-fit on F ²	1.052	1.102
Datos/Restricciones/Parámetros	3814/1/174	2968/3/445
Índices R finales [<i>I</i> > 2σ(<i>I</i>)]	0.0697, 0.1473	0.1746, 0.1889
Índices R (todos los datos)	0.1110, 0.1309	0.073, 0.104

8.2. Capítulo 2. *Dímeros esteroidales derivados de etinilestradiol, mestranol, etisterona, noretisterona y 17 α -etinil-5 α -androst-2-en-17 β -ol usando un espaciador de p-nitroanilina.*

Materiales y equipos

Los disolventes grado reactivo utilizados en la síntesis y caracterización de los dímeros esteroidales se destilaron de manera fraccionada antes de ser utilizados. El tetrahidrofurano se destiló a partir de benzofenona y sodio. El CH₂Cl₂ se secó sobre hidruro de calcio previo a su uso. El seguimiento de la reacción se realizó mediante cromatografía en capa fina (TLC) sobre placas de gel de sílice (ALUGRAM SIL G / UV254) reveladas por exposición a una lámpara UV254. Las placas cromatográficas se rociaron con una solución al 1 % de vainillina en HClO₄ al 50 % y se calentaron hasta que se desarrolló el color. La purificación mediante cromatografía en columna se realizó utilizando gel de sílice (malla 230-400) como fase estacionaria.

Los esteroides: etinilestradiol **2** (17 α -etinil-estra-1,3,5-(10)-trien-3-17 β -diol), mestranol **3** (17 α -etinil-estra-1,3,5-(10) -trien-17 β -ol-3- metil éter), etisterona **4** (17 α -etinil-testosterona), noretisterona **5** (19-nor-17 α -etinil-testosterona) y 17 α -etinil-5 α -androst-2-en-17 β -ol **6** fueron donados por PROQUINA (Productos Químicos Naturales, México). Pd(PPh₃)₂Cl₂, CuI y *i*Pr₂NH se adquirieron de Sigma-Aldrich. El espaciador de 2,5-dibromo-4-nitroanilina **1** se sintetizó a través de una metodología de tres pasos informada previamente [4].

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Electrothermal 9100 y no se corrigieron. Los experimentos de infrarrojo (FTIR) se registraron en un equipo Perkin Elmer Spectrum 400 empleando muestras sólidas manejando reflectancia total atenuada (ATR), las unidades se encuentran expresadas en cm^{-1} . Los estudios de espectrometría de masas de alta resolución se obtuvieron en un espectrómetro Agilent G1969A usando ionización por electrospray y detector de tiempo de vuelo. Los experimentos de RMN en solución se registraron en CDCl_3 y acetona- d_6 en espectrómetros Varian Unity INOVA 300, MR-400 y JEOL ECA 500; los desplazamientos químicos (δ) se expresan en ppm con respecto al TMS utilizando solventes residuales como referencias (CDCl_3 y acetona- d_6). Las constantes de acoplamiento (J) se expresaron en Hz. Las multiplicidades de señales se informaron como: ancho (br), señal simple (s), señal doble (d), señal doble de dobles (dd) y señal triple (t).

Métodos de síntesis

Procedimiento general para las reacciones de doble acoplamiento cruzado tipo Sonogashira.

A una solución de 2,5-dibromo-4-nitroanilina **1** (2.0 mmol), 17 α -etnil esteroides **2-6** (1.0 mmol), $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ (0.07 g, 0,1 mmol) y CuI (0.04 g, 0.2 mmol) en THF anhidro (60 ml) se añadió $i\text{Pr}_2\text{NH}$ (3.0 ml) en un baño ultrasónico bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó y se calentó a reflujo hasta el consumo total de los materiales de partida. Luego, la reacción se enfrió a temperatura ambiente y el disolvente evaporó a sequedad al vacío. El residuo que se obtuvo se disolvió en CH_2Cl_2 o AcOEt (100 ml) y se lavó con una solución

saturada de NH_4Cl (3 x 25 ml) y salmuera (3 x 25 ml). La porción orgánica se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se evaporó hasta sequedad al vacío. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice usando mezclas de hexano:AcOEt como eluyentes.

∞ **2,5-Bis(17 α -etinil-estra-1,3,5-(10)-trien-3-17 β -diol)-4-nitroanilina (7)**

Sólido cristalino amarillo (0.67 g, 92 %). Punto de fusión (de AcOEt): descompone a partir de 192 °C. R_f (hexano:AcOEt, 1:1): 0.13. FTIR-ATR (ν , cm^{-1}): 3330, 2224, 1620, 1510, 1310, 1238. RMN- ^1H [500 MHz, acetona- d_6] (δ , ppm): 8.05 (s, 1H, H-24), 7.93 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H, HO-3, HO-3'), 7.10 (dd, $J = 8.4$, 3.5 Hz, 2H, H-1, H-1'), 6.95 (s, 1H, H-27), 6.59 (dd, $J = 8.4$, 1.6 Hz, 2H, H-2, H-2'), 6.52 (t, $J = 2.7$ Hz, 2H, H-4, H-4'), 6.09 (br, 2H, NH_2 -26), 4.71 (br, 1H, HO-17), 4.55 (br, 1H, HO-17'), 0.95 (d, $J = 3.4$ Hz, 6H, CH_3 -18). RMN- ^{13}C [125 MHz, acetona- d_6] (δ , ppm): 155.9 (C-3), 153.8 (C-23), 138.4 (C-22), 131.9 (C-10), 131.8 (C-10'), 130.4 (C-24), 127.1 (C-1), 121.3 (C-25), 118.6 (C-27), 115.9 (C-4), 113.6 (C-2), 107.3 (C-26), 102.7 (C-20), 82.2 (C-21), 80.5 (C-17), 80.2 (C-21'), 50.4 (C-14), 50.2 (C-14'), 48.6 (C-13), 48.4 (C-13'), 44.6 (C-9), 44.5 (C-9'), 40.6 (C-8), 40.0 (C-16), 39.9 (C-16'), 34.2 (C-12), 33.8 (C-12'), 30.6 (C-6), 30.3 (C-6'), 28.2 (C-7), 28.1 (C-7), 27.4 (C-11), 23.6 (C-15), 13.4 (CH_3 -18). EMAR (ESI-TOF), calculado para $\text{C}_{46}\text{H}_{49}\text{N}_2\text{O}_5$ m/z 709.3636; encontrado para $\text{C}_{46}\text{H}_{49}\text{N}_2\text{O}_5$ m/z 709.3637 [$\text{M}^+ - \text{OH}$] $^+$, error: 0.14 ppm.

∞ **2,5-Bis(17 α -etnil-estra-1,3,5-(10)-trien-17 β -ol-3-metileter)-4-nitroanilina (8)**

Sólido cristalino amarillo (0.70 g, 93 %). Punto de fusión (de AcOEt): descompone a partir de 195 °C. Rf (hexano:AcOEt, 1:1): 0.25. FTIR-ATR (ν , cm^{-1}): 3471, 3362, 2223, 1614, 1498, 1303, 1250. RMN- ^1H [400 MHz, CDCl_3] (δ , ppm): 8.28 (s, 1H, H-25), 7.18 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, H-1, H-1'), 6.86 (s, 1H, H-28), 6.69 (dd, $J = 8.6, 2.7$ Hz, 2H, H-2, H-2'), 6.61 (d, $J = 2.7$ Hz, 2H, H-4, H-4'), 4.81 (br, 2H, NH_2 -27), 3.77 (s, 6H, CH_3O -20, CH_3O -20'), 0.93 (s, 6H, CH_3 -18, CH_3 -18'). RMN- ^{13}C [100 MHz, CDCl_3] (δ , ppm): 157.4 (C-3), 148.6 (C-24), 139.3 (C-23), 137.9 (C-5), 132.6 (C-10), 130.4 (C-25), 126.3 (C-1), 119.8 (C-26), 118.5 (C-28), 113.4 (C-4), 111.4 (C-2), 106.7 (C-27), 100.7 (C-21), 81.9 (C-22), 80.7 (C-17), 55.2 (CH_3O -20), 49.6 (C-14), 47.9 (C-13), 43.4 (C-9), 39.5 (C-8), 39.0 (C-16), 32.9 (C-12), 29.8 (C-6), 27.3 (C-7), 26.5 (C-11), 23.0 (C-15), 12.9 (CH_3 -18). EMAR (ESI-TOF), calculado para $\text{C}_{48}\text{H}_{53}\text{N}_2\text{O}_5$ m/z 737.3949; encontrado para $\text{C}_{48}\text{H}_{52}\text{N}_2\text{O}_4$ m/z 737.3948 [M^+ -OH], error: -0.13 ppm.

∞ **2,5-Bis(17 α -etnil-17 β -hidroxi-testosterona)-4-nitroanilina 9**

Sólido cristalino amarillo (0.67 g, 88 %). Punto de fusión: descompone a partir de 215 °C. Rf (hexano:AcOEt, 1:1): 0.06. FTIR-ATR (ν , cm^{-1}): 3460, 3334, 2222, 1618, 1505, 1310. RMN- ^1H [400 MHz, CDCl_3] (δ , ppm): 8.09 (s, 1H, H-24), 6.74 (s, 1H, H-27), 5.70 (d, $J = 3.7$ Hz, 2H, H-4, H-4'), 5.06 (br, 2H, NH_2 -26), 3.36 (br, 1H, OH-17), 2.94 (br, 1H, OH-17'), 1.18 (d, $J = 7.6$ Hz, 6H, CH_3 -19, CH_3 -19'), 0.94 (d, $J = 9.5$ Hz, 6H, CH_3 -18, CH_3 -18'). RMN- ^{13}C [100 MHz, CDCl_3] (δ , ppm): 200.1 (C-3), 199.7 (C-3'), 172.0 (C-5), 171.3 (C-5'), 151.9 (C-23), 138.7 (C-22),

130.2 (C-24), 124.0 (C-4), 123.8 (C-4'), 120.5 (C-25), 118.1 (C-27), 106.9 (C-26), 101.3 (C-20), 101.2 (C-20'), 82.5 (C-21), 80.4 (C-17), 80.3 (C-17'), 80.0 (C-21'), 53.4 (C-9), 53.3 (C-9'), 50.6 (C-14), 50.0 (C-14'), 47.6 (C-13), 47.3 (C-13'), 39.5 (C-16), 39.0 (C-16'), 38.8 (C-10), 38.7 (C-10'), 36.4 (C-8), 35.7 (C-1), 34.0 (C-2), 33.2 (C-6), 32.9 (C-12), 31.6 (C-7), 23.4 (C-15), 20.9 (C-11), 17.5 (CH₃-19), 13.0 (CH₃-18). EMAR (ESI-TOF), calculado para C₄₈H₅₇N₂O₅ *m/z* 759.4368; encontrado para C₄₈H₅₇N₂O₅ *m/z* 759.4371 [M⁺-OH]⁺, error: 0.39 ppm.

∞ **2,5-Bis(19-nor-17 α -etinil-17 β -hidroxi-testosterona)-4-nitroanilina 10**

Sólido cristalino amarillo (0.66 g, 90 %). Punto de fusión: descompona a partir de 210 °C. R_f (hexano:AcOEt, 1:1): 0.07. FTIR-ATR (ν , cm⁻¹): 3458, 3447, 2220, 1657, 1511, 1312. RMN-¹H [400 MHz, CDCl₃] (δ , ppm): 8.11 (s, 1H, H-24), 6.57 (s, 1H, H-27), 5.82 (s, 2H, H-4, H-4'), 4.93 (br, 2H, NH₂-26), 0.96 (d, *J* = 8.5 Hz, 6H, CH₃-18, CH₃-18'). RMN-¹³C [100 MHz, CDCl₃] (δ , ppm): 200.3 (C-3), 200.0 (C-3'), 167.1 (C-5) 166.5 (C-5'), 151.6 (C-23), 139.0 (C-22), 130.3 (C-24), 124.8 (C-4), 124.6 (C-4'), 120.5 (C-25), 118.1 (C-27), 106.9 (C-26), 101.3 (C-20), 101.2 (C-20'), 82.6 (C-21), 80.6 (C-17), 80.5 (C-17'), 80.1 (C-21'), 50.0 (C-9), 49.4 (C-9'), 49.2 (C-14), 49.1 (C-14'), 47.8 (C-13), 47.5 (C-13'), 42.7 (C-8), 41.2 (C-10), 39.5 (C-16), 39.0 (C-16'), 36.6 (C-2), 35.6 (C-6), 33.2 (C-12), 32.8 (C-12'), 30.8 (C-7), 26.7 (C-1), 26.6 (C-1'), 26.4 (C-11), 26.3 (C-11'), 23.3 (C-15), 23.2 (C-15'), 13.0 (CH₃-18). EMAR (ESI-TOF), calculado para C₄₆H₅₅N₂O₆ *m/z* 731.4055; encontrado para C₄₆H₅₄N₂O₆ *m/z* 731.4057 [M⁺-H]⁺, error: 0.27 ppm.

∞ **2,5-Bis(17 α -etnil-5 α -androst-2-en-17 β -ol)-4-nitroanilina (11)**

Sólido cristalino amarillo (0.65 g, 70 %). Punto de fusión (de AcOEt): descompone a partir de 210 °C. Rf (hexano:AcOEt, 1:1): 0.38. FTIR-ATR (ν , cm^{-1}): 3486, 3392, 3025, 2216, 1615, 1510, 1305. RMN- ^1H [400 MHz, CDCl_3] (δ , ppm): 8.15 (s, 1H, H-24), 6.79 (s, 1H, H-27), 5.59 (m, 4H, H-2, H-2', H-3, H-3'), 4.82 (br, 2H, NH_2 -26), 0.91 (d, $J = 4.0$ Hz, 6H, CH_3 -19, CH_3 -19'), 0.78 (d, $J = 2.8$ Hz, 6H, CH_3 -18, CH_3 -18'). RMN- ^{13}C [100 MHz, CDCl_3] (δ , ppm): 151.2 (C-23), 139.3 (C-22), 130.1 (C-24), 125.9 (C-2, C-2'), 125.8 (C-3, C-3'), 120.5 (C-25), 118.0 (C-27), 107.0 (C-26), 101.4 (C-20), 101.3 (C-20'), 82.3 (C-21), 80.8 (C-17), 79.9 (C-21'), 53.6 (C-9), 53.5 (C-9'), 51.1 (C-14), 50.6 (C-14'), 47.6 (C-13), 47.3 (C-13'), 41.4 (C-5), 39.8 (C-16), 39.7 (C-16'), 39.0 (C-10), 36.3 (C-8), 34.7 (C-1), 33.4 (C-12), 33.0 (C-12'), 31.9 (C-7), 31.4 (C-7'), 30.3 (C-6), 28.6 (C-4), 23.3 (C-15), 20.6 (C-11), 12.9 (CH_3 -19, CH_3 -19'), 11.7 (CH_3 -18, CH_3 -18'). EMAR (ESI-TOF), calculado para $\text{C}_{48}\text{H}_{60}\text{N}_2\text{O}_5$ m/z 713.4677; encontrado para $\text{C}_{48}\text{H}_{60}\text{N}_2\text{O}_5$ m/z 713.4681 $[\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}]^+$, error: 0.56 ppm.

Difracción de rayos-X de monocristal

La colección de datos de difracción de rayos-X de monocristal de los dímeros **8** y **11** se realizaron en un equipo Enraf Nonius Kappa-CCD [$\lambda_{\text{MoK}\alpha} = 0.71073$ Å, monocromador de grafito, T = 298 K CCD) a 173K (**8**) y 293 K (**11**). La primera solución de las estructuras se obtuvo utilizando el programa SHELXS [6], mientras que para el refinamiento de las mismas se realizó aplicando el programa SHELXL [6]. Posterior a la resolución y refinamiento de las estructuras, se encontró que un alto porcentaje en el volumen total de celda estaba lleno de moléculas de disolvente desordenadas usando el programa PLATON [7]. Lo

anterior es un fenómeno común encontrado en solvatos esteroidales debido a la significativa movilidad molecular, lo cual impide encontrar cada molécula de disolvente dentro de la celda unitaria. El refinamiento de las moléculas de disolvente se resolvió usando el módulo PLATON-SQUEEZE [8] para eliminar la contribución de la densidad electrónica de los disolventes en los datos de intensidad, dicho modelo libre de disolvente se utilizó para el refinamiento final, donde los átomos pesados se refinaron anisotrópicamente. El software Mercury [9] se utilizó para preparar las imágenes utilizadas. Los datos cristalográficos de resolución y refinamiento se encuentran condensados en las tablas 8.2 y 8.3.

Compuesto	8	11
Apariencia física	Agujas amarillas	Agujas amarillas
Fórmula química	C ₄₈ H ₅₄ N ₂ O ₆	C ₄₈ H ₆₂ N ₂ O ₄
Peso molecular	754.93	731.00
Grupo espacial	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	C2
Sistema cristalino	Ortorrómbico	Monoclínico
a (Å)	11.8249 (2)	39.1690 (8)
b (Å)	13.9462 (3)	7.5511 (15)
c (Å)	26.1937 (5)	16.7020 (3)
β (°)	90	95.27 (3)
Volumen (Å ³)	4319.37 (14)	4918.9 (17)
Z	4	8
Tamaño del cristal (mm ³)	0.28x0.20x0.15	0.38x0.25x0.18
Temperatura (K)	173 (2)	293 (2)
δ _x (mg/m ³)	1.161	0.987
Coefficiente de absorción (mm ⁻¹)	0.076	0.062
F (000)	1616	1584
θ rango de colección de datos (°)	2.921 a 27.457	4.615 a 27.641
Índices	-15 ≤ h ≤ 12 -18 ≤ k ≤ 18 -35 ≤ l ≤ 33	-50 ≤ h ≤ 44 -9 ≤ k ≤ 9 -20 ≤ l ≤ 21
Reflexiones colectadas	9642	10522
Método de refinamiento	Full-matrix least-squares on F ²	
Goodness-of-fit on F ²	1.030	1.012
Datos/Restricciones/Parámetros	9642/2/574	10522/77/497
Índices R finales [I>2σ(I)]	R ₁ = 0.0547	R ₁ = 0.0873

Índices R (todos los datos)	$wR_2 = 0.1386$	$wR_2 = 0.2242$
	$R_1 = 0.0843$	$R_1 = 0.1544$
	$wR_2 = 0.1544$	$wR_2 = 0.2703$

Tabla 8.2 Datos cristalográficos de los compuestos **8** y **11**.

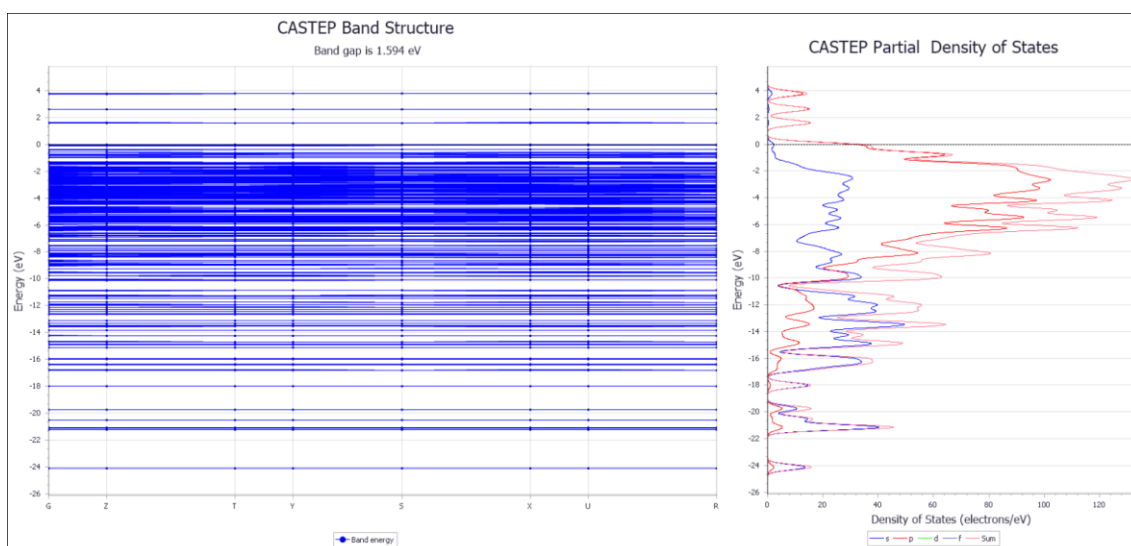
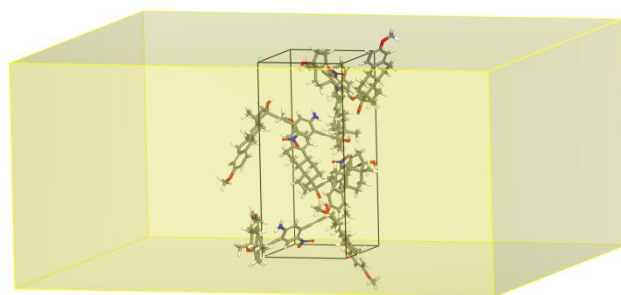
Tabla 8.3 Transformaciones de simetría utilizadas para generar átomos equivalentes: #1 $-x+1, y+1, -z+1$ #2 $x, y-1, z$

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
O(1)-H(1A)...O(2)#1	0.82	2.07	2.868(5)	166.1
O(2)-H(2B)...N(2)#2	0.871(14)	2.623(18)	3.490(9)	174(5)
O(2)-H(2B)...O(3)#2	0.871(14)	2.37(3)	3.134(10)	147(5)
O(2)-H(2B)...O(4)#2	0.871(14)	2.21(3)	3.032(10)	158(5)
O(1)-H(1A)...O(2)#1	0.82	2.07	2.868(5)	166.1
O(2)-H(2B)...N(2)#2	0.871(14)	2.623(18)	3.490(9)	174(5)
O(2)-H(2B)...O(3)#2	0.871(14)	2.37(3)	3.134(10)	147(5)
O(2)-H(2B)...O(4)#2	0.871(14)	2.21(3)	3.032(10)	158(5)

Cálculos teóricos

Los contenidos de las celdas unitarias de los compuestos **8** y **11** se optimizaron mediante DFT usando el código DMol³ [10-11] con el funcional PBE y la base numérica doble-zeta polarizada DNP+, incluyendo funciones difusas. Las dimensiones de las celdas se mantuvieron de acuerdo a lo que se obtuvo experimentalmente. Se aplicó la corrección de dispersión de Tkatchenko y Scheffler (TS) para lograr una descripción adecuada de los contactos no covalentes [12]. Los cálculos DTF plane-wave se realizaron utilizando el módulo CASTEP [13] con el funcional PBE con correcciones de dispersión de TS y pseudopotenciales de norma conservada. El corte de energía se fijó 750.0 eV. Para modelar el reconocimiento de moléculas pequeñas se utilizó el código de

sorción con el campo de fuerza COMPASS, aplicando el método de suma de Ewald-Group y el algoritmo Metropolis para la simulación Monte Carlo del proceso de absorción. Se cubrieron 10 pasos de fugacidad de 0,01 a 10 kPa; Se emplearon 1 000 000 de pasos de equilibrio y 10 000 000 de pasos de producción para cada paso de fugacidad, lo que garantiza un muestreo completo de los modos de sorción disponibles. La fugacidad se muestreó en pasos espaciados logarítmicamente, por lo que se captura un detalle más fino en las primeras etapas de los procesos de sorción. Todos los programas están incluidos en la suite Materials Studio 8.



Estructura teórica de bandas y densidad de estados para sólidos auto-ensamblados derivados del compuesto **8**.

- ***Modelado del reconocimiento de moléculas pequeñas en un cristal a partir de la derivada 11***

El programa Sorption, incluido en MS8, se utilizó para simular la adsorción de pequeñas moléculas orgánicas (metano, etano, etileno, acetileno, monóxido de carbono, dióxido de carbono, sulfuro de carbonilo y benceno) en la red porosa. En esta tarea se utilizó el campo de fuerza COMPASS, con su propio conjunto de cargas atómicas, utilizando el método de suma de Ewald & Group y el algoritmo Metropolis para la simulación Monte Carlo del proceso de adsorción. Se cubrieron 10 pasos de fugacidad durante esta búsqueda, para cada molécula pequeña de 0.01 a 10 kPa; Se emplearon 1.000.000 de pasos de equilibrio y 10.000.000 de pasos de producción para cada paso de fugacidad, lo que garantiza un muestreo completo de los modos de adsorción disponibles. La fugacidad se muestreó en pasos espaciados logarítmicamente, por lo que se captura un detalle más fino en las primeras etapas de los procesos de adsorción.

- ***Reconocimiento de hidrocarburos pequeños***

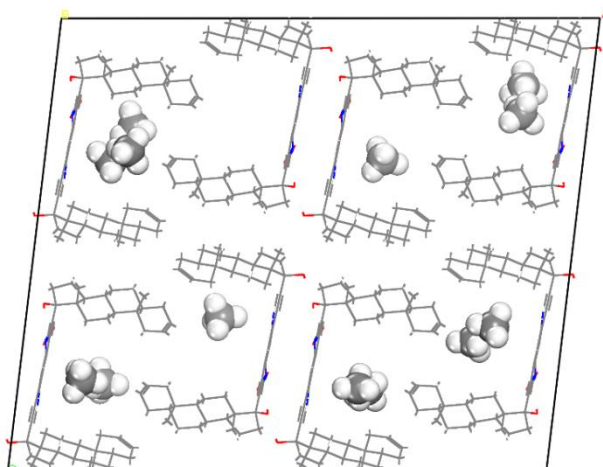
Se predijo una baja afinidad del sólido por la adsorción de metano y se capturo en la baja densidad de moléculas tras la simulación, y en la correspondiente isoterma de adsorción, donde no se puede idear saturación dentro del intervalo de fugacidad muestreado. El etano (C_2H_6) muestra un aumento de la adsorción en los canales de la estructura esteroidea auto-ensamblada, y esto se vuelve más pronunciado cuando se introducen insaturaciones. Por lo tanto, la simulación predice una unión más fuerte para etileno y acetileno. El benceno es un sistema excepcional como se observó en el estudio de Monte Carlo, donde se predice una alta afinidad de unión (alrededor de -20 kcal / mol). Su naturaleza

hidrofóbica facilita el ingreso a las cavidades, cuyo tamaño y forma son lo suficientemente grandes para ubicar este anillo aromático. Además, el apilamiento plano entre los anillos de benceno y los restos de 4-nitroanilina contribuye a estabilizar aún más el estado cargado. Por tanto, se predice que este sólido reconocerá selectivamente anillos aromáticos de una mezcla de hidrocarburos.

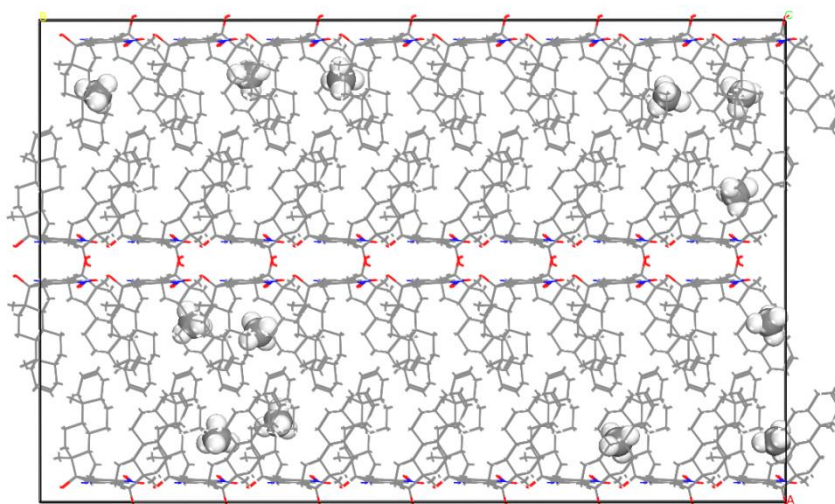
- ***Adsorción de calcogenuros de carbono***

El monóxido de carbono y el dióxido de carbono son moléculas cuyo reconocimiento y atrapamiento son áreas de creciente interés. La toxicidad del CO hace que sea necesario eliminarlo de los escapes de los motores, mientras que el CO₂ es un gas de efecto invernadero importante, que tiene el potencial de ser utilizado para la producción de productos químicos. El sólido auto-ensamblado del compuesto **11** muestra, sin embargo, una pequeña afinidad por estos compuestos. Para el sulfuro de carbonilo relacionado (COS), la afinidad estimada es muy alta; la saturación de los huecos se alcanza a valores de fugacidad bajos. El reconocimiento selectivo del sulfuro de carbonilo es deseable en la edulcoración del gas natural.

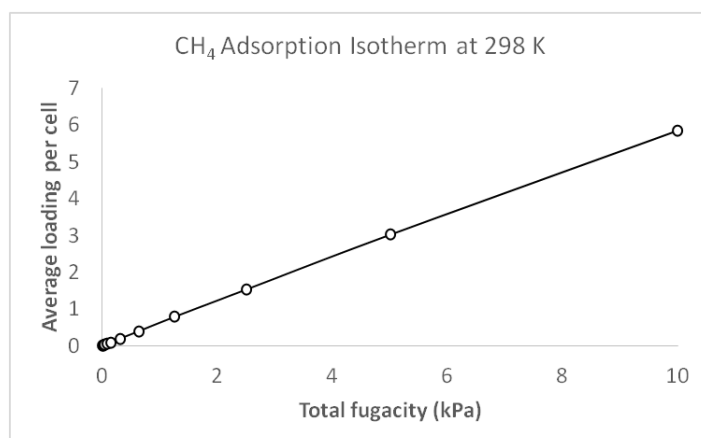
Adsorción de metano:

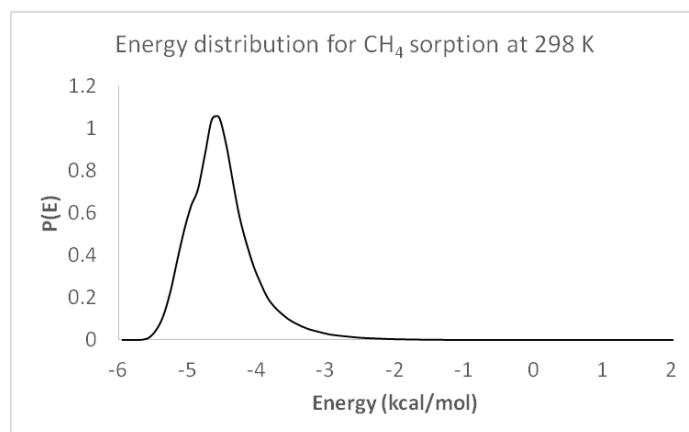


Vista frontal de los canales presentes en el cristal del compuesto **11** cargados con CH₄

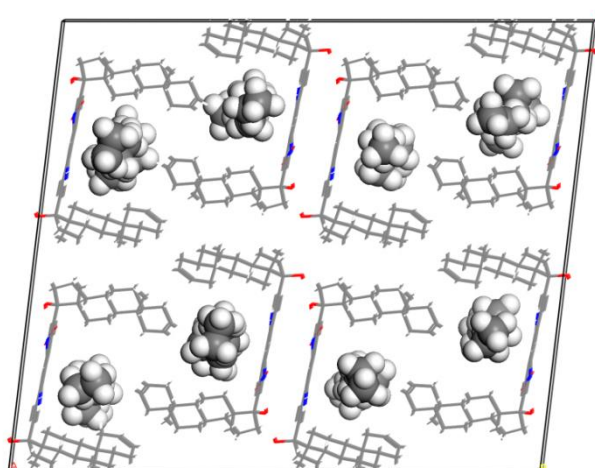


Vista superior de los canales presentes en el cristal del compuesto **11** cargados con CH₄

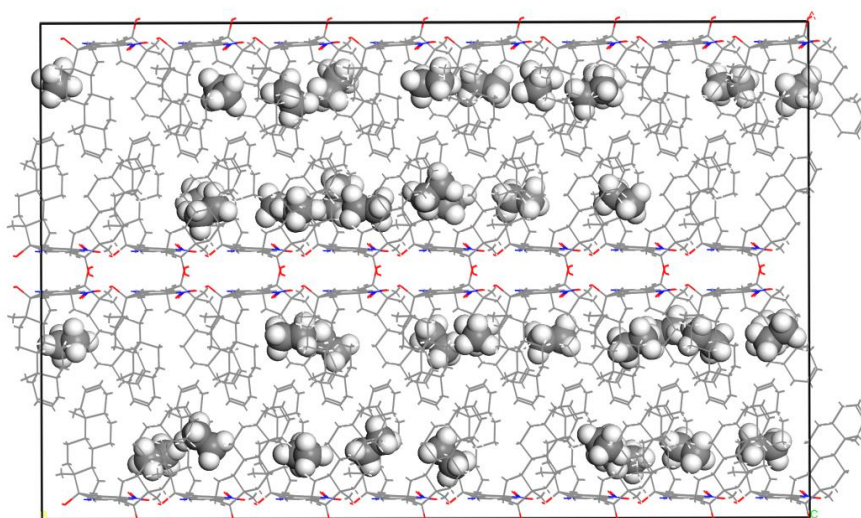




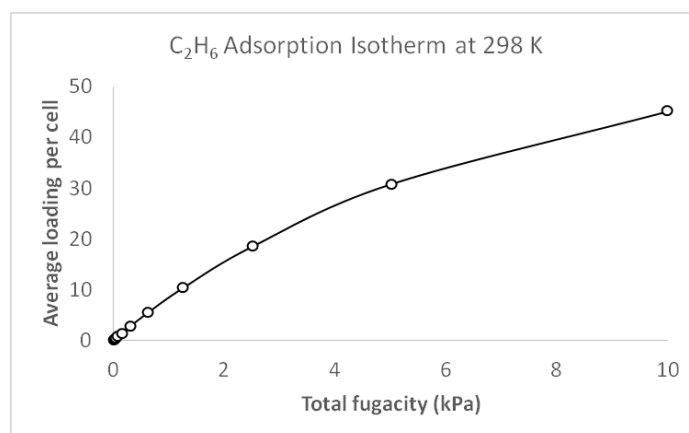
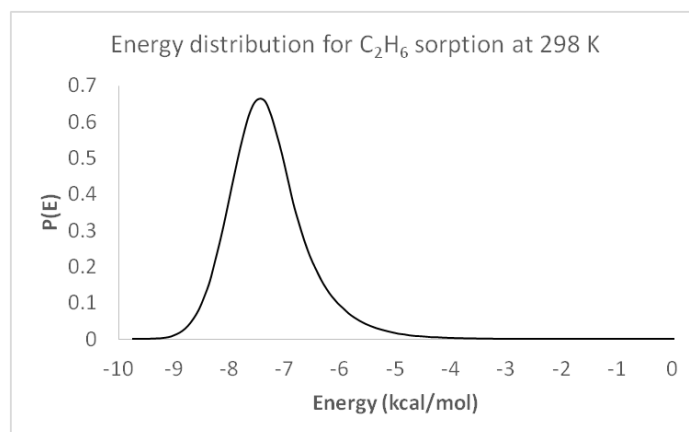
Adsorción de etano:



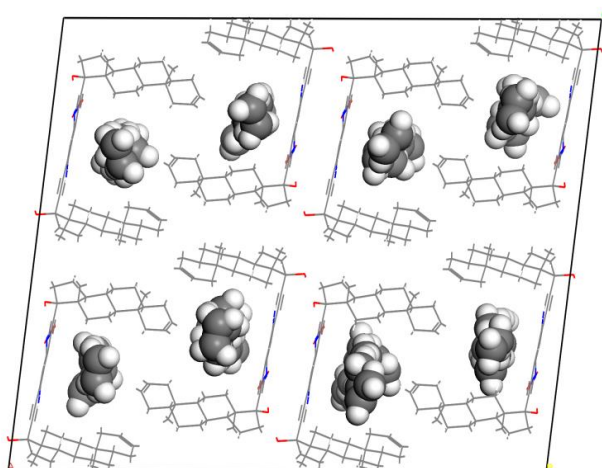
Vista frontal de los canales presentes en el cristal del compuesto **11** cargados con C₂H₆



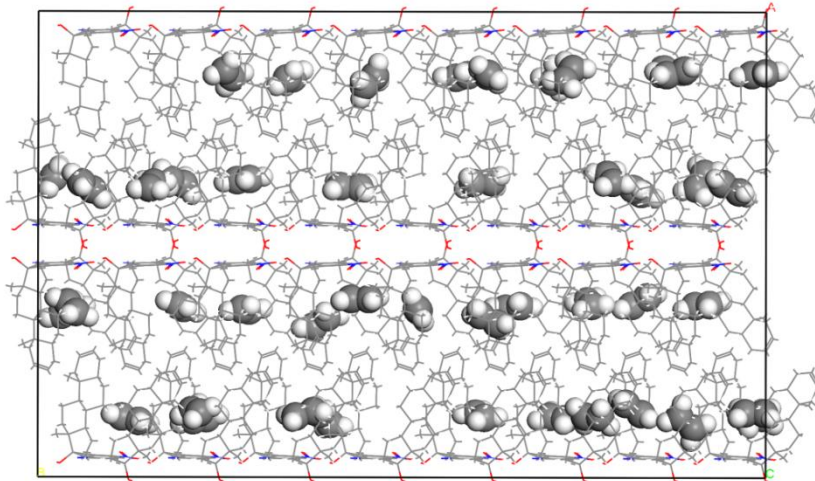
Vista superior de los canales presentes en el cristal del compuesto **11** cargados con C₂H₆



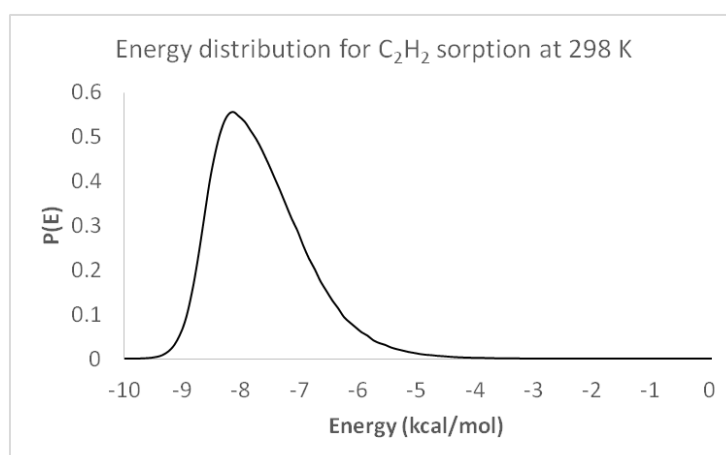
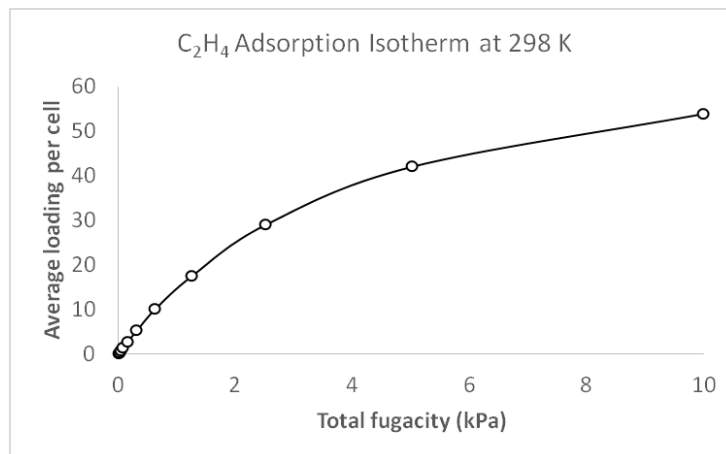
Adsorción de etileno:



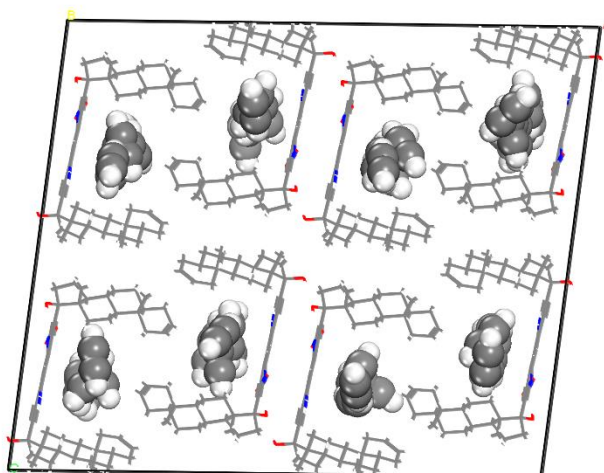
Vista frontal de los canales presentes en el cristal del compuesto **11** cargados con C_2H_4



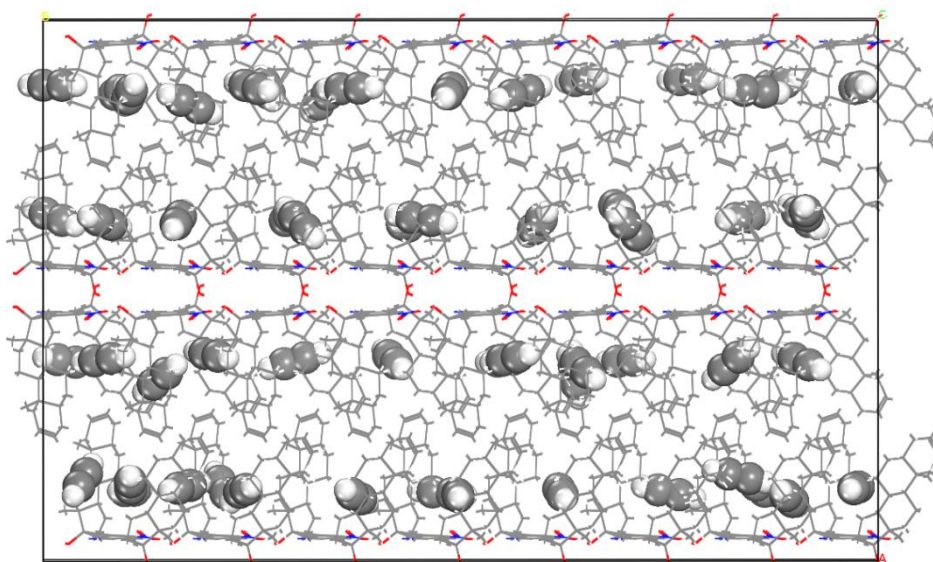
Vista superior de los canales presentes en el cristal del compuesto **11** cargados con C_2H_4



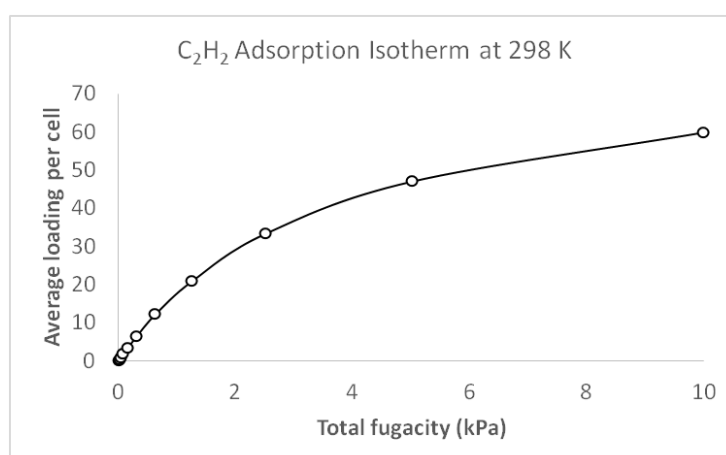
Adsorción de acetileno:

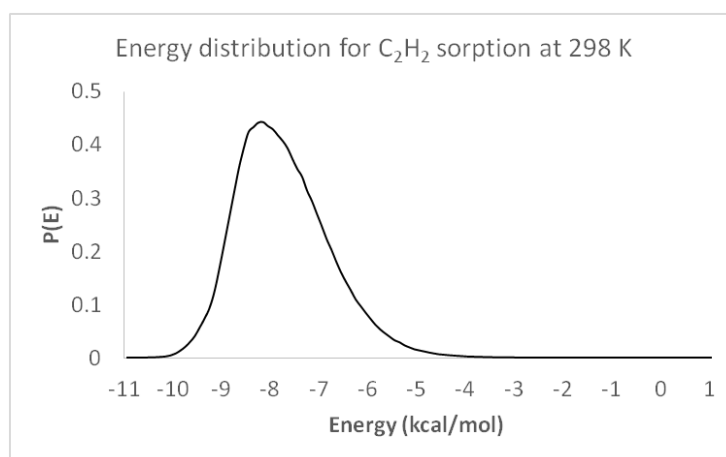


Vista frontal de los canales presentes en el cristal del compuesto **11** cargados con C₂H₂

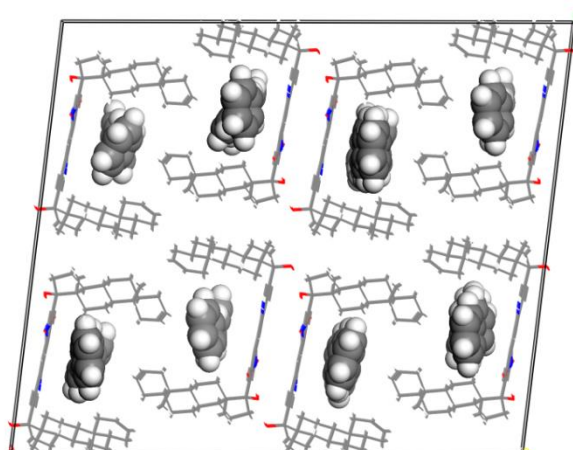


Vista superior de los canales presentes en el cristal del compuesto **11** cargados con C₂H₂

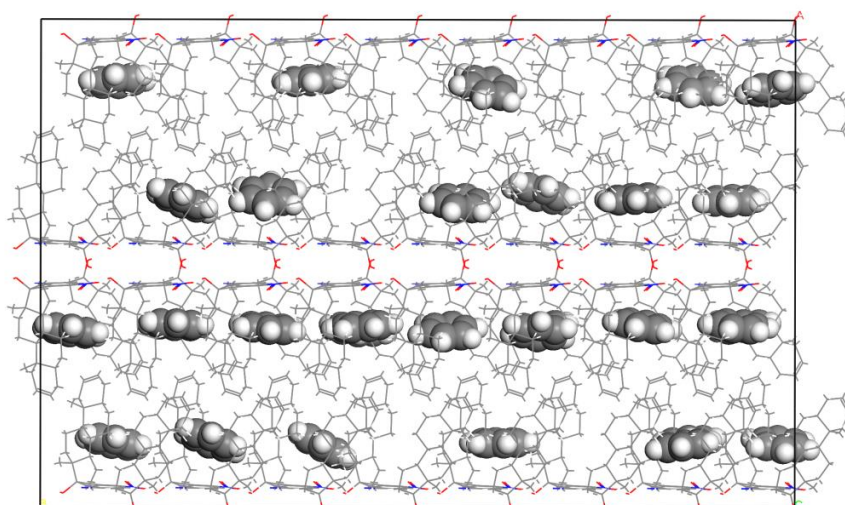




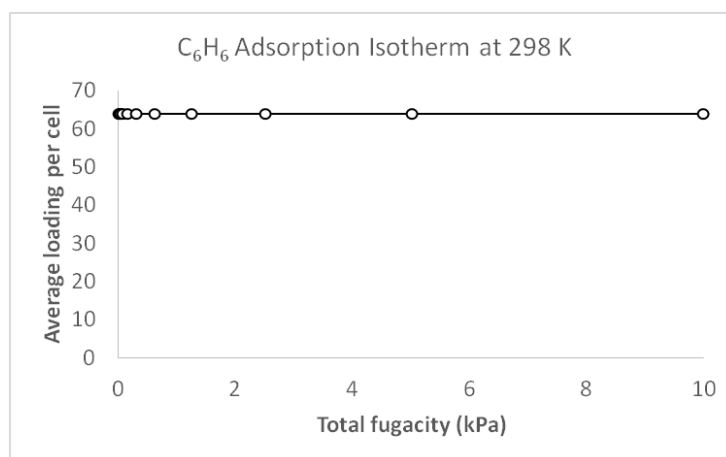
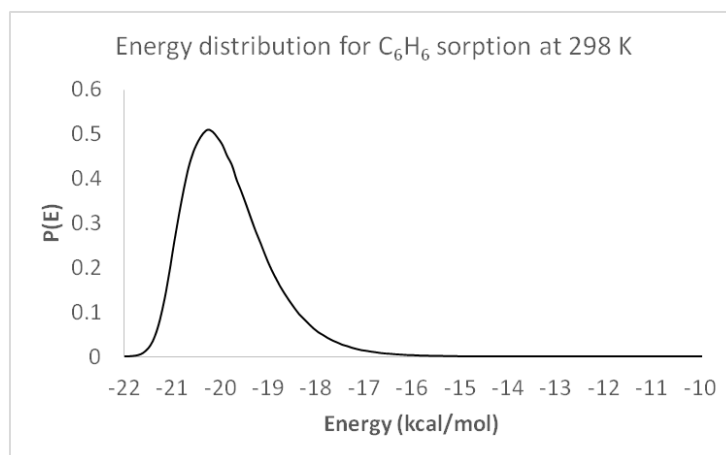
Adsorción de benceno:



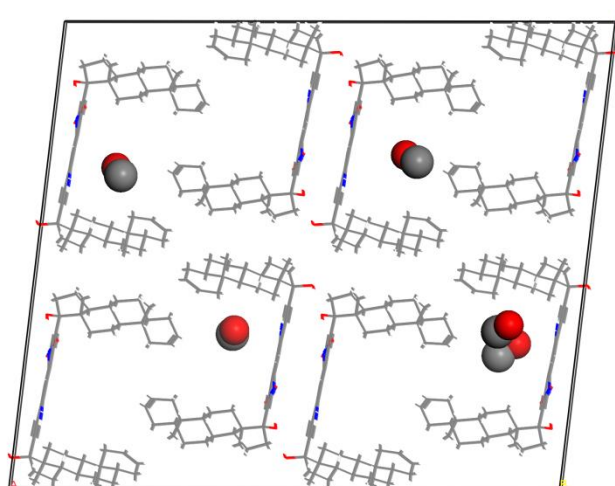
Vista frontal de los canales presentes en el cristal del compuesto **11** cargados con C₆H₆



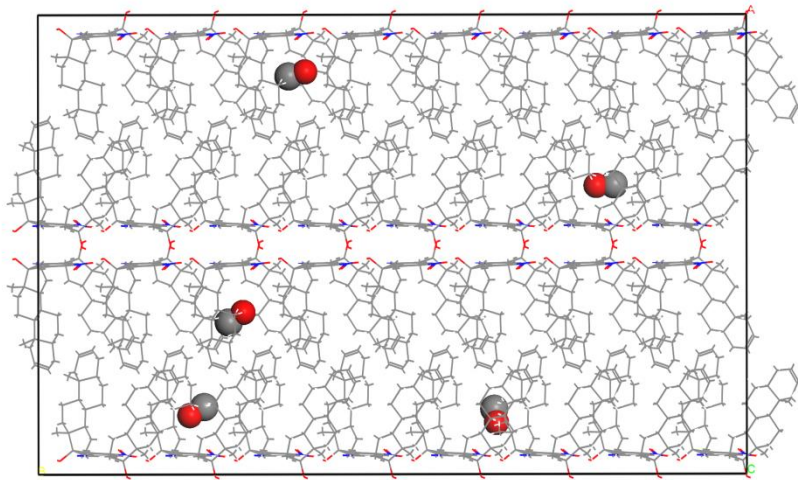
Vista superior de los canales presentes en el cristal del compuesto **11** cargados con C₆H₆



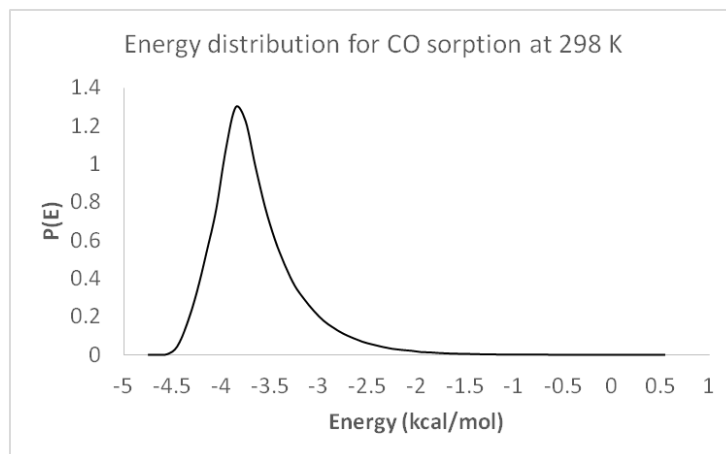
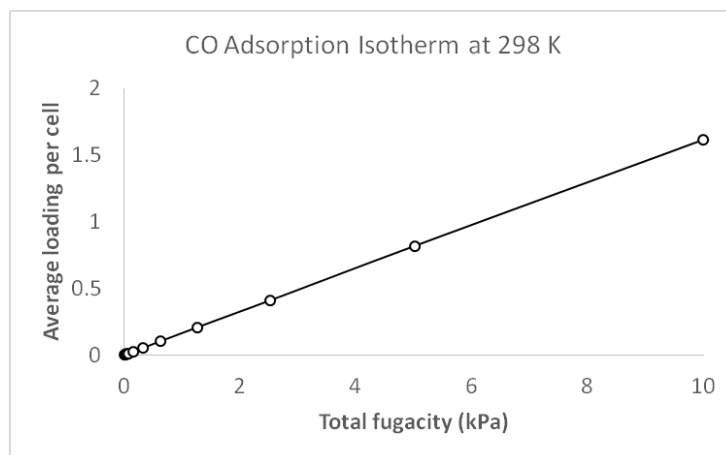
Adsorción de monóxido de carbono:



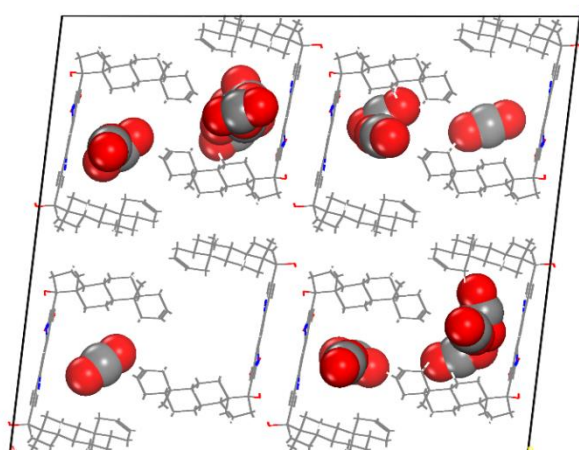
Vista frontal de los canales presentes en el cristal del compuesto **11** cargados con CO



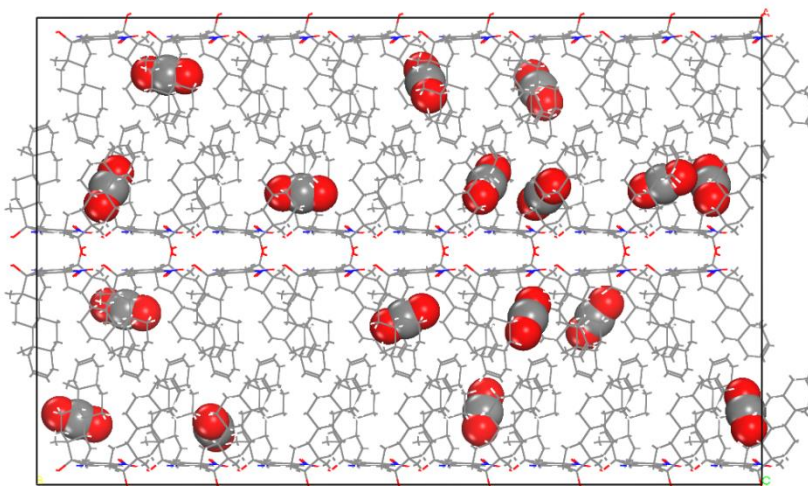
Vista superior de los canales presentes en el cristal del compuesto **11** cargados con CO



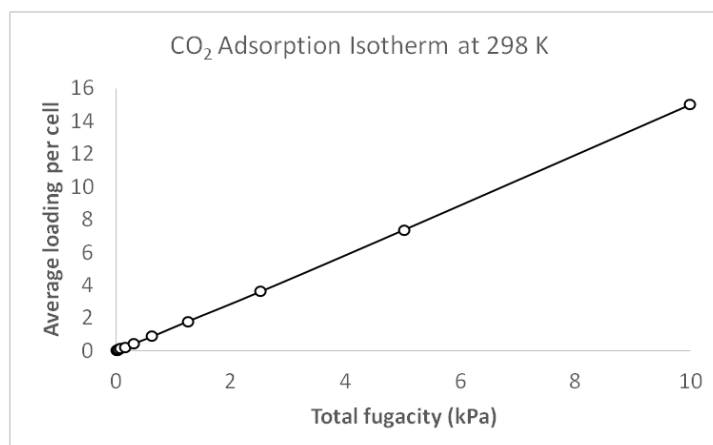
Adsorción de dióxido de carbono:

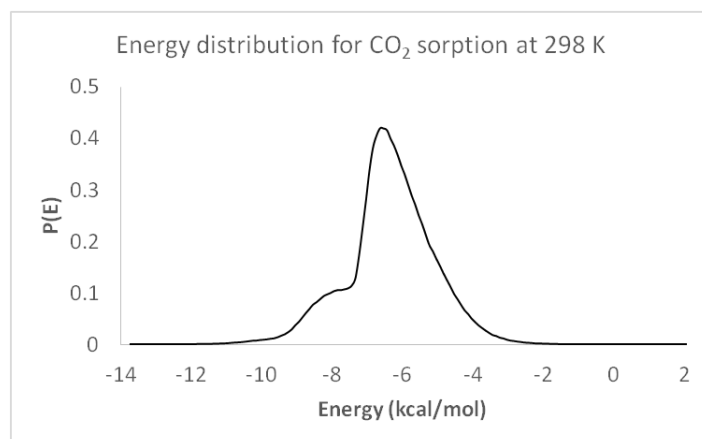


Vista frontal de los canales presentes en el cristal del compuesto **11** cargados con CO₂

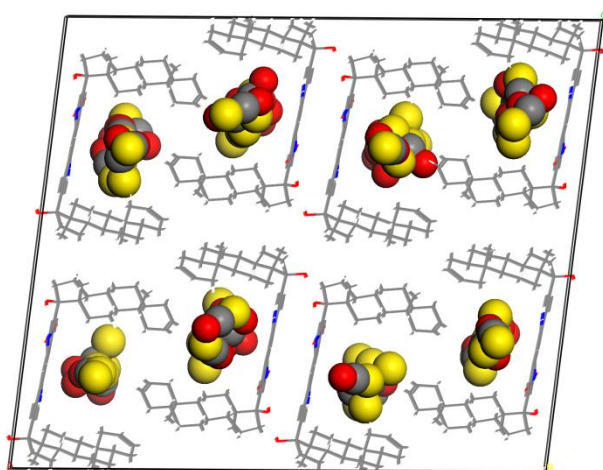


Vista superior de los canales presentes en el cristal del compuesto **11** cargados con CO₂

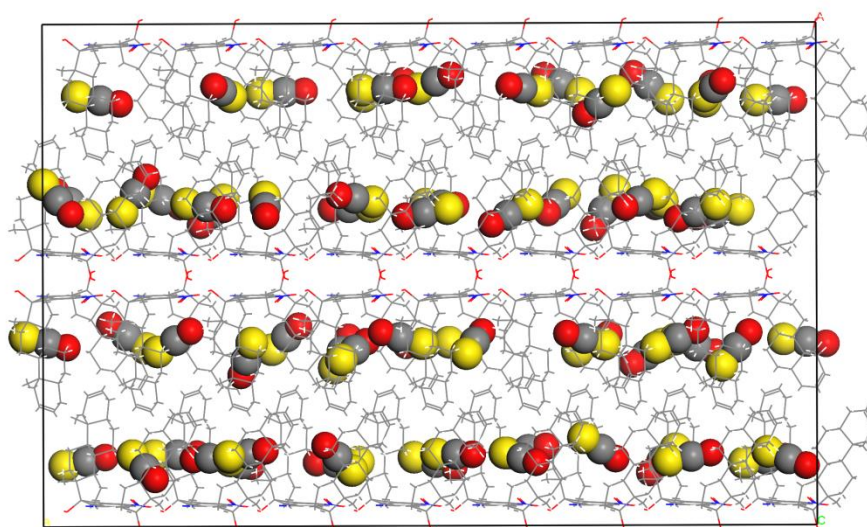




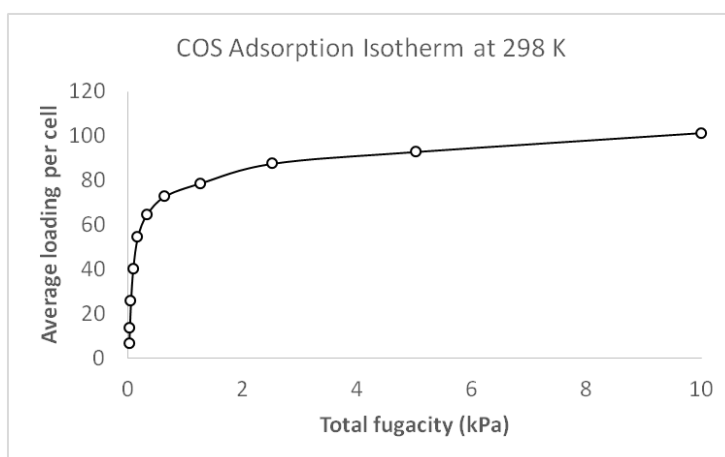
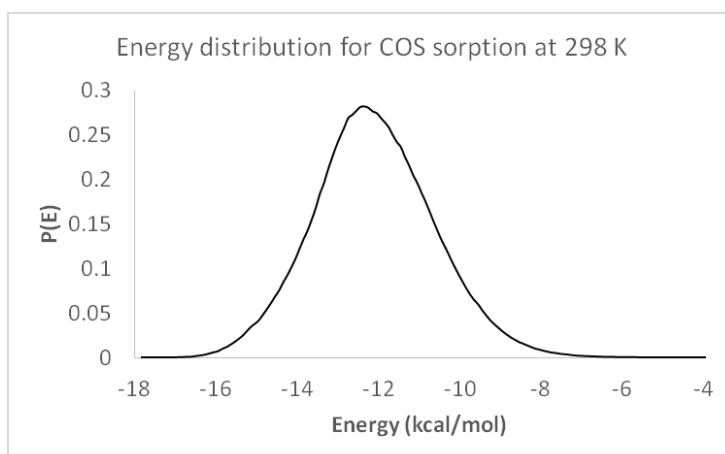
Adsorción de sulfuro de carbonilo:



Vista frontal de los canales presentes en el cristal del compuesto **11** cargados con COS



Vista superior de los canales presentes en el cristal del compuesto **11** cargados con COS



8.3. Capítulo 3. Dímeros esteroidales derivados de etinilestradiol con espaciadores de fenileno, fenileno-d⁴ y 1,2-difluorofenileno.

Materiales y equipos

Todos los disolventes empleados tanto para síntesis como caracterización se destilaron antes de ser utilizados. El tetrahidrofurano anhidro (THF) empleado fue adquirido en Merck-Aldrich. El seguimiento de las reacciones se realizó mediante cromatografía en capa fina sobre placas de gel de sílice ALUGRAM SIL G/UV254 utilizando una solución de vainillina al 0.5 % en HClO₄ al 30 % que al calentarse funcionó como revelador de color. La purificación mediante cromatografía en columna se realizó utilizando gel de sílice (malla 230-400) como fase estacionaria.

El etinilestradiol empleado (17 α -etinil-estra-1,3,5-(10)-trien-3-17 β -diol) fue donado por PROQUINA, el cual se recristalizó de acetona y cloruro de metileno (CH₂Cl₂) antes de ser utilizado. Los reactivos: Pd(PPh₃)₂Cl₂, CuI, *i*Pr₂NH y tetrahidrofurano anhidro se adquirieron en Merck y se utilizaron tal cual se recibieron. Los espaciadores de 1,4-diiodobenceno, 1,4-diiodobenceno-d₆, 2,3-difluoro-1,4-diiodobenceno fueron sintetizados de acuerdo con el procedimiento previamente descrito en la literatura [14].

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Electrothermal 9100 y no se corrigieron. Los experimentos de infrarrojo (FTIR) se registraron en un equipo Perkin Elmer Spectrum 400 empleando muestras sólidas manejando reflectancia total atenuada (ATR), las unidades se encuentran expresadas en cm⁻¹. Los

estudios de espectrometría de masas de alta resolución se obtuvieron en un espectrómetro Agilent G1969A usando ionización de electrospray y detector de tiempo de vuelo. Los experimentos de RMN en solución se registraron en CDCl_3 y acetona- d_6 en espectrómetros Varian Unity INOVA 300, MR-400 y JEOL ECA 500; los desplazamientos químicos (δ) se expresan en ppm con respecto al TMS utilizando solventes residuales como referencias (CDCl_3 y acetona- d_6). Las constantes de acoplamiento (J) se expresaron en Hz. Las multiplicidades de señales se informaron como: señal ancha (br), señal simple (s), señal doble (d), señal doble de dobles (dd) y señal triple (t).

Métodos de síntesis

Procedimiento general para las reacciones de doble acoplamiento cruzado de Sonogashira

A una disolución del derivado halogenado (1 mmol), etinilestradiol (2 mmol), $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ (0.07 g, 0.1 mmol) y CuI (0.04 g, 0.2 mmol) en THF anhidro (60 mL) bajo atmósfera de N_2 , se adicionó $i\text{Pr}_2\text{NH}$ (3.0 mL) gota a gota. Después de terminada la adición, la mezcla de reacción se agitó y calentó a temperatura de reflujo hasta consumo total de materias primas. Cuando se observó la total desaparición de materias primas, la reacción se detuvo enfriando a temperatura ambiente y evaporando el disolvente a sequedad. El residuo que se obtuvo se disolvió en CHCl_2 y se lavó con disolución saturada de NH_4Cl (2 x 25 mL). La fase orgánica se dejó anhidra con Na_2SO_4 y se evaporó a sequedad. El crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna usando sílica gel como fase estacionaria y mezclas hexano/acetona como eluyente.

2,5-bis[3-hidroxi-estra-1,3,5-(10)-trien-17 α -etnil]benceno 5

Sólido blanco cristalino (0.53 g, 79 %). Punto de fusión: Descompone a 183 °C. Rf (hexano:acetona 1:1): 0.40 FTIR-ATR (ν , cm^{-1}): 3529, 29828, 2874, 2165, 2033, 1975, 1733, 1608, 1576, 1498, 1465, 1335, 1279, 1252, 1141, 1043, 898, 836, 812. RMN- ^1H [400 MHz, acetona- d_6] (δ , ppm): 7.90 (s, 1H, OH-3), 7.41 (s, 2H, H-22, H-26), 7.11 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, H-1), 6.59 (dd, $J = 8.4, 2.7$ Hz, 1H, H-2), 6.52 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H, H-4), 4.48 (s, 1H, OH-17), 0.94 (s, 3H, H-18). RMN- ^{13}C [100 MHz, acetona- d_6] (δ , ppm): 156.0 (C-3), 136.4 (C-5), 132.3 (C-10), 131.9 (C-22), 127.1 (C-1), 124.1 (C-21), 116.0 (C-4), 113.6 (C-2), 97.0 (C-19), 85.2 (C-20), 80.2 (C-17), 50.7 (C-14), 48.5 (C-13), 44.7 (C-9), 40.7 (C-8), 40.0 (C-16), 30.4 (C-6), 34.1 (C-12), 28.2 (C-7), 27.4 (C-11), 23.6 (C-15), 13.4 (C-18). EMAR (ESI-TOF), calculado para $\text{C}_{46}\text{H}_{49}\text{O}_3$ m/z 649.3674; encontrado para $\text{C}_{46}\text{H}_{49}\text{O}_3$ m/z 649.3676 $[\text{M}^+-\text{OH}]^+$. Error: 0.36 ppm.

2,5-bis[3-hidroxi-estra-1,3,5-(10)-trien-17 α -etnil]benceno- d_4 6

Sólido blanco cristalino (0.52 g, 78 %). Punto de fusión: Descompone a 257 °C. Rf (hexano:acetona 1:1): 0.36 FTIR-ATR (ν , cm^{-1}): 3528, 2928, 2874, 2034, 2006, 1975, 1608, 1575, 1498, 1424, 1280, 1251, 1139, 1117, 1041, 897, 812, 781, 725. RMN- ^1H [400 MHz, acetona- d_6] (δ , ppm): 7.91 (s, 1H, OH-3), 7.1 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, H-1), 6.60 (dd, $J = 8.4, 2.3$ Hz, 1H, H-2), 6.53 (s, 1H, H-4), 4.48 (s, 1H, OH-17), 0.94 (s, 3H, H-18). RMN- ^{13}C [100 MHz, acetona- d_6] (δ , ppm): 155.9 (C-3), 138.4 (C-5), 131.9 (C-10), 131.9 (t, $J = 21.6$ Hz, C-22, C-26), 127.1 (C-1), 123.8 (C-21), 116.0 (C-4), 113.6 (C-2), 97.0 (C-19), 85.1 (C-20), 80.3 (C-17), 50.7 (C-14), 48.5 (C-13), 44.7 (C-9), 40.7 (C-8), 40.0 (C-16), 34.1 (C-12), 30.4 (C-6),

28.2 (C-7), 27.4 (C-11), 23.6 (C-15), 13.4 (C-18). EMAR (ESI-TOF), calculado para $C_{46}H_{53}O_3$ m/z 653.3922; encontrado para $C_{46}H_{53}O_3$ m/z 653.3923 $[M^+-OH]^+$. Error: 0.28 ppm.

1,4-bis[3-hidroxi-estra-1,3,5-(10)-trien-17 α -etinil]-2,3-difluorobenceno 7

Sólido blanco cristalino (0.49 g, 70 %). Punto de fusión: Descompone a 188-190 °C. Rf (hexano:acetona 1:1): 0.43. FTIR-ATR (ν , cm^{-1}): 3298, 2925, 2865, 2360, 1610, 1496, 1465, 1286, 1228, 1047, 815, 669. RMN- 1H [300 MHz, acetona- d_6] (δ , ppm): 7.90 (s, 1H, OH-3), 7.25 (m, 1H, H-23), 7.10 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, H-1), 6.59 (dd, $J = 8.3, 2.5$ Hz, 1H, H-2), 6.53 (s, 1H, H-4), 4.66 (s, 1H, OH-17), 0.96 (s, 3H, H-18). RMN- ^{13}C [75 MHz, acetona- d_6] (δ , ppm): 156.0 (C-3), 151.5 (dd, $J_{C-F} = 254.5, 14.6$ Hz, C-22), 138.5 (C-5), 131.8 (C-10), 128.8 (t, $J_{C-F} = 2.5$ Hz, C-23), 127.1 (C-1), 116.0 (C-4) 114.7 (dd, $J_{C-F} = 8.7, 5.8$ Hz, C-21), 113.6 (C-2), 103.6 (C-19), 80.5 (C-17), 77.6 (C-20), 50.8 (C-14), 48.9 (C-13), 44.7 (C-9), 40.7 (C-8), 40.0 (C-16), 34.0 (C-12), 28.2 (C-7), 27.4 (C-11), 23.6 (C-15), 13.4 (C-18). RMN- ^{19}F [282.5 MHz, acetona- d_6] (δ , ppm): -137.0. EMAR (ESI-TOF), calculado para $C_{46}H_{47}O_3F_2$ m/z 685.3485; encontrado para $C_{46}H_{47}O_3F_2$ m/z 685.3488 $[M^+-OH]$. Error: 0.38 ppm.

1-[3-hidroxi-estra-1,3,5-(10)-trien-17 α -etinil]-4-iodo-2,3-difluorobenceno 7a

Sólido blanco cristalino (0.16 g, 28 %) Punto de fusión: 233-234. °C. Rf (hexano:acetona 1:1): 0.43. FTIR-ATR (ν , cm^{-1}): 3261, 2923, 2861, 2358, 1587, 1496, 1473, 1452, 1286, 1251, 1018, 869, 811, 790. RMN- 1H [400 MHz, acetona-

d_6] (δ , ppm): 7.92 (s, 1H, OH-3), 7.62 (dt, $J = 7.6, 4.6$ Hz, 1H, H-25), 7.34-7.14 (m, 1H, H-26), 7.11 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, H-1), 6.60 (dd, $J = 8.5, 2.6$ Hz, 1H, H-2), 6.53 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H, H-4), 4.67 (s, 1H, OH-17), 0.96 (s, 3H, CH₃-18). RMN-¹³C [100 MHz, acetona- d_6] (δ , ppm): 156.0 (C-3), 152.4 (dd, $J_{C-F} = 57.7, 14.6$ Hz, C-23), 149.9 (dd, $J_{C-F} = 68.6, 14.3$ Hz, C-22), 138.4 (C-5), 134.8 (d, $J_{C-F} = 3.4$ Hz, C-25), 131.8 (C-10), 130.4 (d, $J_{C-F} = 3.8$ Hz, C-26), 127.1 (C-1), 119.9 (d, $J_{C-F} = 23.6$ Hz, C-21), 113.6 (C-2), 116.0 (C-4), 80.5 (C-17), 77.2 (d, $J_{C-F} = 3.9$ Hz, C-24), 50.8 (C-14), 48.6 (C-13), 44.7 (C-9), 40.6 (C-8), 39.9 (C-16), 34.0 (C-12), 30.3 (C-6), 28.2 (C-7), 27.4 (C-11), 23.6 (C-15), 13.3 (C-18). RMN-¹⁹F [282.5 MHz, acetona- d_6] (δ , ppm): -118.7 (ddd, $J = 22.0, 5.7, 1.6$ Hz), -133.9 (ddd, $J = 22.0, 6.4, 1.6$). EMAR (ESI-TOF), calculado para C₂₆H₂₄OF₂l m/z 517.0840; encontrado para C₂₆H₂₄OF₂l m/z 517.0835 [M⁺-OH]⁺. Error: 1.08 ppm.

Difracción de rayos-X de monocristal

La colección de datos de difracción de rayos-X de monocristal de los compuestos **5** y **6** se realizaron en un equipo Bruker D8 Venture CMOS a 293 K, **7** a 293 K y **7a** a 123K. Los cristales fueron montados en un MicroLoops™ convencional. Todos los átomos pesados fueron encontrados mediante mapas de diferencias de Fourier refinados anisotrópicamente. Todo el conjunto de datos de reflexión fue corregido por efectos de polarización y de Lorentz. La primera solución de las estructuras se obtuvo utilizando el programa SHELXS-2017, mientras que para el refinamiento de las mismas se realizó aplicando el programa SHELXL-2017 [2]. Todas las manipulaciones del software se realizaron a través del programa ShelXle [3] El software Mercury [4] se utilizó para preparar las

imágenes utilizadas. Los datos cristalográficos y detalles experimentales de la determinación de estructura se encuentran condensados en las Tablas 8.4 y 8.5

Tabla 8.4 Datos cristalográficos de los compuestos **5** y **6**.

Compuesto	5	6
Apariencia física	Prisma incoloro	Placa incolora
Fórmula química	C ₄₆ H ₅₀ O ₄	C ₄₆ H ₄₆ D ₄ O ₄
Peso molecular	666.86	670.88
Grupo espacial	P4 ₁ 2 ₁ 2	P4 ₁ 2 ₁ 2
Sistema cristalino	Tetragonal	Tetragonal
a (Å)	17.463 (3)	17.475 (5)
b (Å)	16.753 (3)	16.545 (8)
c (Å)	16.753 (3)	16.545 (8)
$\alpha=\beta=\gamma$ (°)	90	90
Volumen (Å ³)	5109 (2)	5052 (4)
Z	4	4
Tamaño del cristal (mm ³)	0.45x0.2x0.15	0.26x0.19x0.05
Temperatura (K)	293	293
δ_x (mg/m ³)	0.867	0.882
Coefficiente de absorción (mm ⁻¹)	0.05	0.06
F (000)	1432	1432
θ rango de colección de datos (°)	1.0-27.5°	2.3-26.6°
	-22 ≤ h ≤ 16	-22 ≤ h ≤ 21
Indices	-18 ≤ k ≤ 21	-22 ≤ k ≤ 21
	-21 ≤ h ≤ 17	-20 ≤ h ≤ 20
Reflexiones colectadas	5640	5365
Método de refinamiento	Gemelo de inversion	
Goodness-of-fit on F ²	0.96	1.01
Datos/Restricciones/Parametros	5614/0/230	5365/0/234
Índices R finales [$I > 2\sigma(I)$]	R ₁ = 0.0755 wR ₂ = 0.1267	R ₁ = 0.0512 wR ₂ = 0.0794
Índices R (todos los datos)	R ₁ = 0.1976 wR ₂ = 0.2296	R ₁ = 0.1189 wR ₂ = 0.1344

Tabla 8.5 Datos cristalográficos de los compuestos **7** y **7a**.

Compuesto	7	7a
Apariencia física	Bloque incoloro	Prisma incoloro
Fórmula química	C ₄₆ H ₄₈ F ₂ O ₄	C ₄₆ H ₄₈ F ₂ IO ₄
Peso molecular	702.84	534.36
Grupo espacial	P2 ₁	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
Sistema cristalino	Monoclínico	Ortorrómbico
a (Å)	16.6593 (5)	7.373 (2)
b (Å)	14.5663 (4)	16.976 (5)
c (Å)	26.9087 (8)	21.041 (7)
α (°)	90	90
β (°)	90.993 (2)	90
γ (°)	90	90
Volumen (Å ³)	6528.8 (3)	2633.6 (14)
Z	6	4
Tamaño del cristal (mm ³)	0.35x0.31x0.29	0.22x0.18x0.08
Temperatura (K)	297	123
δ _x (mg/m ³)	1.091	1.348
Coeficiente de absorción (mm ⁻¹)	0.59	1.25
F (000)	2244	1072
θ rango de colección de datos (°)	1.0-14.0°	1.0-14.0°
	-19 ≤ h ≤ 19	-10 ≤ h ≤ 9
Indices	-17 ≤ k ≤ 17	-19 ≤ k ≤ 23
	-31 ≤ l ≤ 31	-22 ≤ l ≤ 29
Reflexiones colectadas	22047	7264
Método de refinamiento	Gemelo de inversión	
Goodness-of-fit on F ²	1.04	1.03
Datos/Restricciones/Parametros	22047/7/1433	7264/2/289
Índices R finales [I > 2σ(I)]	R ₁ = 0.0817 wR ₂ = 0.0896	R ₁ = 0.0435 wR ₂ = 0.0641
Índices R (todos los datos)	R ₁ = 0.2231 wR ₂ = 0.2368	R ₁ = 0.0983 wR ₂ = 0.1083

Tabla 8.6. Geometría enlaces de hidrógeno (Å) para el compuesto **7**.

D—H...A	D—H	H...A	D...A	D—H...A
O4—H4...O7 ⁱ	0.82	1.98	2.799 (7)	177
O7—H7...O3	0.82	1.9	2.696 (6)	162
O9—H9...O3 ⁱⁱ	0.82	2.07	2.817 (6)	151
O10—H10N...O8 ⁱⁱⁱ	0.82	2.07	2.831 (7)	155
O11—H11...O1 ^{iv}	0.82	2.04	2.820 (6)	158
O12—H12...O6 ^v	0.82	2.02	2.769 (6)	153
O5—H05...O2 ^{vi}	0.71 (9)	2.09 (9)	2.785 (7)	164 (10)
O3—H03...O9 ^{vii}	0.81 (1)	2.03 (2)	2.817 (6)	162 (4)
O4—H4...O7 ⁱ	0.82	1.98	2.799 (7)	177
O7—H7...O3	0.82	1.9	2.696 (6)	162
O9—H9...O3 ⁱⁱ	0.82	2.07	2.817 (6)	151
O10—H10N...O8 ⁱⁱⁱ	0.82	2.07	2.831 (7)	155
O11—H11...O1 ^{iv}	0.82	2.04	2.820 (6)	158
O12—H12...O6 ^v	0.82	2.02	2.769 (6)	153
O5—H05...O2 ^{vi}	0.71 (9)	2.09 (9)	2.785 (7)	164 (10)
O3—H03...O9 ^{vii}	0.81 (1)	2.03 (2)	2.817 (6)	162 (4)

Códigos de simetría: (i) $-x+2, y+1/2, -z+1$; (ii) $-x+1, y+1/2, -Z+1$; (iii) $x+1, y+1, z$;

(iv) $x+1, y-1, z$; (v) $-x+1, y-1/2, -z$; (vi) $-x+2, y-1/2, -z$; (vii) $-x+1, y-1/2, -z+1$.

Tabla 8.7. Geometría enlaces de hidrógeno (Å) para el compuesto **7a**

D—H...A	D—H	H...A	D...A	D—H...A
C5A—H5...F2 ⁱ	0.95	2.53	3.403 (6)	153
O1—H01...O2 ⁱⁱ	0.89 (1)	1.89 (3)	2.747 (4)	163 (8)
O2H02...O1 ⁱⁱⁱ	0.88 (2)	1.94 (3)	2.798 (8)	166 (5)

Códigos de simetría: (i) $x-1, y, z$; (ii) $-x+1, y+1/2, -z+1/2$; (iii) $-x+3/2, -y+1, z+1/2$.

Referencias

- [1] M.A. Iglesias-Arteaga, E.M. Simuta-Lopez, S. Xochihua-Moreno, O. Viñas-Bravo, S. Montiel Smith, S. Meza Reyes, J. Sandoval-Ramírez, A Convenient Procedure for the Synthesis of 3 β -hydroxy-6-oxo-5 α -steroids. Application to the Synthesis of Laxogenin. *J. Braz. Chem. Soc.* 2005, **16**, 381-385.
- [2] G. Sheldrick, *Acta Crystallographica Section A*. 2008, **64**, 112-122.
- [3] C. B. Hubschle, G. M. Sheldrick, B. Dittrich, *Journal of Applied Crystallography*. 2011, **44**, 1281-1284.
- [4] Z. Dominguez, T. A. V. Khuong, H. Dang, C. R. Sanrame, J. E. Nuñez and M. A. Garcia-Garibay. Molecular Compasses and Gyroscopes with Polar Rotors: Synthesis and Characterization of Crystalline Forms *J. Am. Chem. Soc.* 2003, **125**, 8827-8837
- [5] a) C. F. Macrae, P. R. Edgington, P. McCabe, E. Pidcock, G. P. Shields, R. Taylor, M. Towler, J. van de Streek, *Journal of Applied Crystallography*. 2006, **39**, 453-457; b) L. Farrugia, *Journal of Applied Crystallography*. 1997, **30**, 565.
- [6] G.M. Sheldrick. Crystal structure refinement with SHELXL. *Acta Crystallogr. Sect. C: Struct. Chem.* 2015, **71**, 3-8.
- [7] A.L. Spek. Structure validation in chemical crystallography. *Acta Crystallogr. Sect. D: Biol. Crystallogr.* 2009, **65**, 148–155.
- [8] A.L. Spek. PLATON SQUEEZE: A Tool for the Calculation of the Disordered Solvent Contribution to the Calculated Structure Factors. *Acta Crystallogr. Sect. C: Struct. Chem.* 2015, **71**, 9–18.
- [9] C.F. Macrae, I. Sovago, S.J. Cottrell, P.T.A. Galek, P. McCabe, E. Pidcock, M. Platings, G.P. Shields, J.S. Stevens, M. Towler, P.A. Wood. Mercury 4.0: From

Visualization to Analysis, Design and Prediction. *J. Appl. Cryst.* 2020, **53**, 226-235.

[10] B. Delley. An all-electron numerical method for solving the local density functional for polyatomic molecules. *J. Chem. Phys.* 1990, **92**, 508–517.

[11] B. Delley. From molecules to solids with the DMol³ Approach. *J. Chem. Phys.* 2000, **113**, 7756–7764.

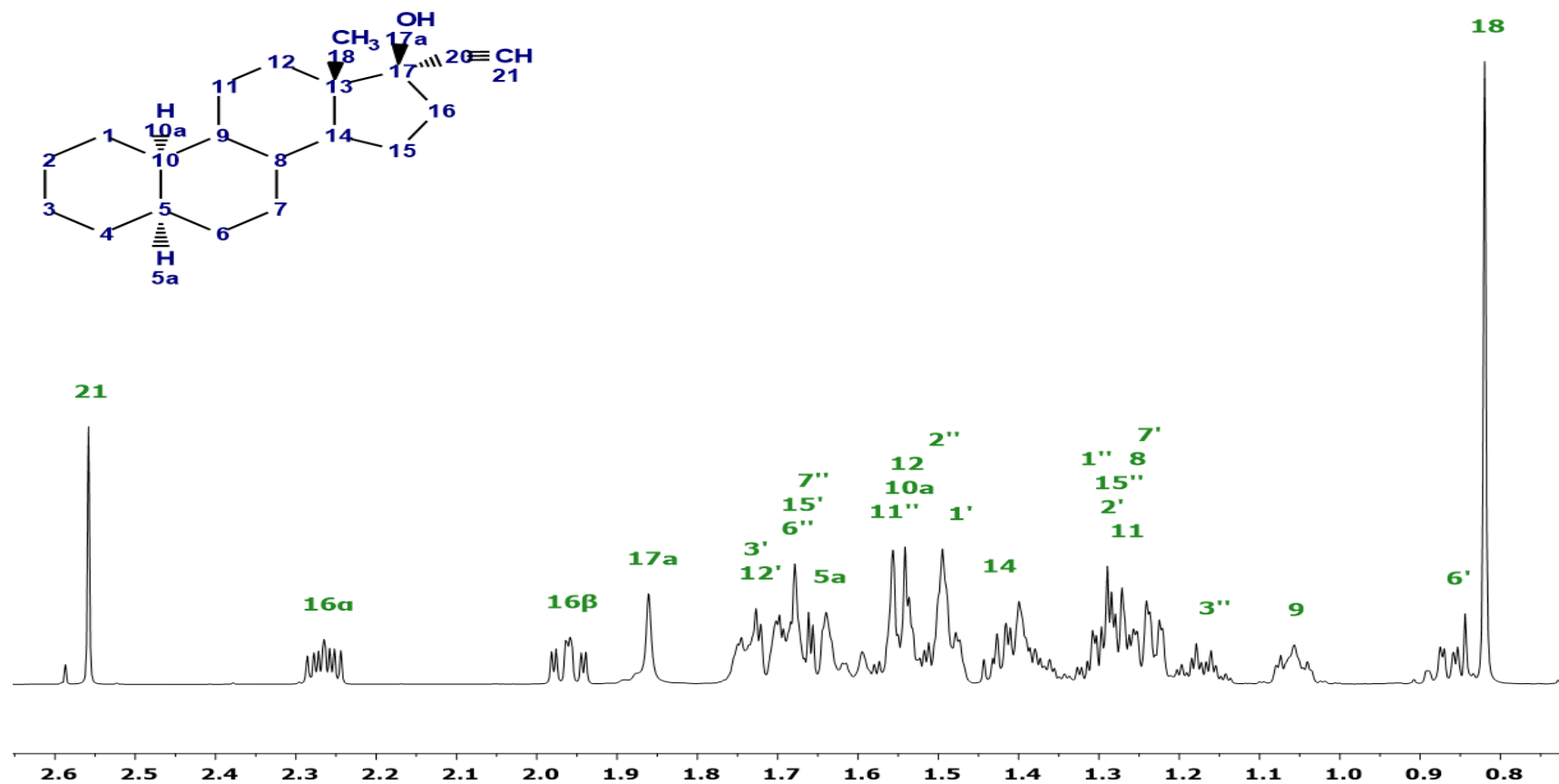
[12] A. Tkatchenko and M. Scheffler. Accurate Molecular Van Der Waals Interactions from Ground-State Electron Density and Free-Atom Reference Data. *Phys. Rev. Lett.* 2009, **102**, 073005.

[13] S.J. Clark, M.D. Segall, C.J. Pickard, P.J. Hasnip, M.J. Probert, K. Refson, M.C. Payne. First Principles Methods Using CASTEP. *Z. Kristallogr. – New Cryst. Struct.* 2005, **220**, 567–570.

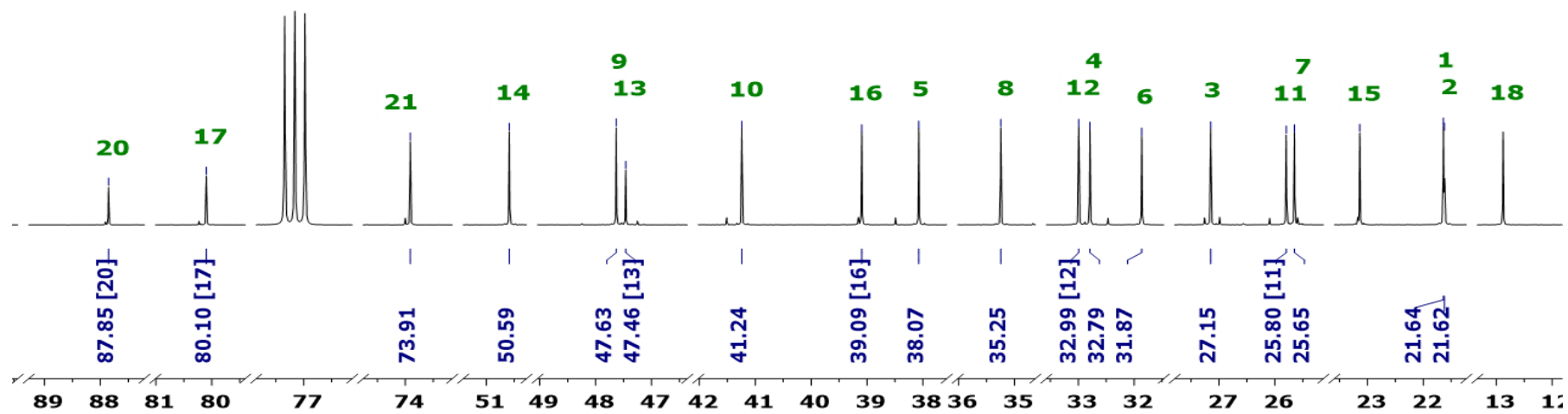
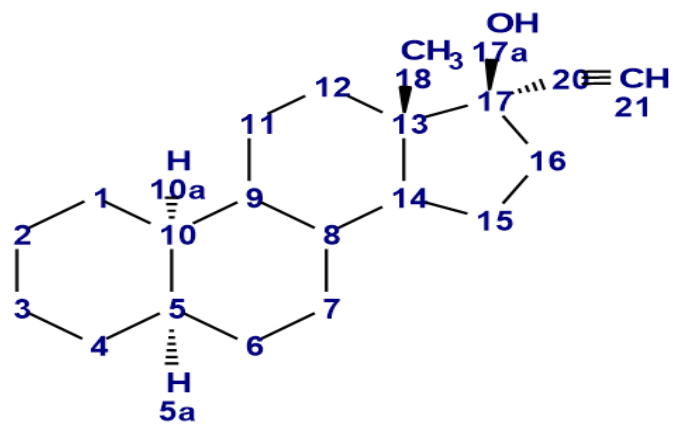
[14] T. Rausis, M. Schlosser. The Basicity Gradient-Driven Migration of Iodine: Conferring Regioflexibility on the Substitution of Fluoroarenes. *Eur. J. Org. Chem.* 2002, **19**, 3351-3358.

9. DATOS EXPERIMENTALES

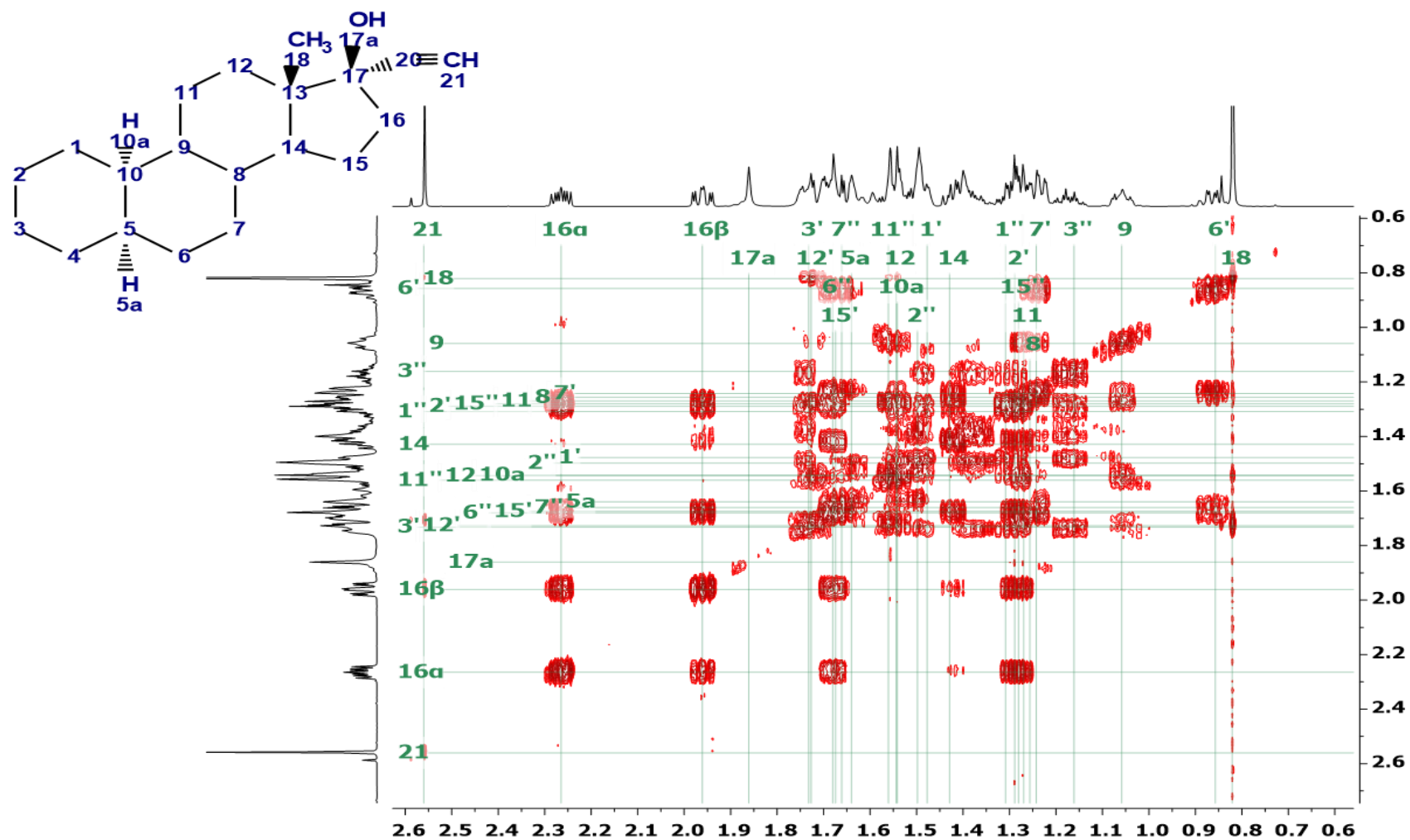
9.1. *Capítulo 1. Dímero esteroidal derivado de 17 α -etnil-5 α ,10 α -estran-17 β -ol con espaciador de fenileno.*



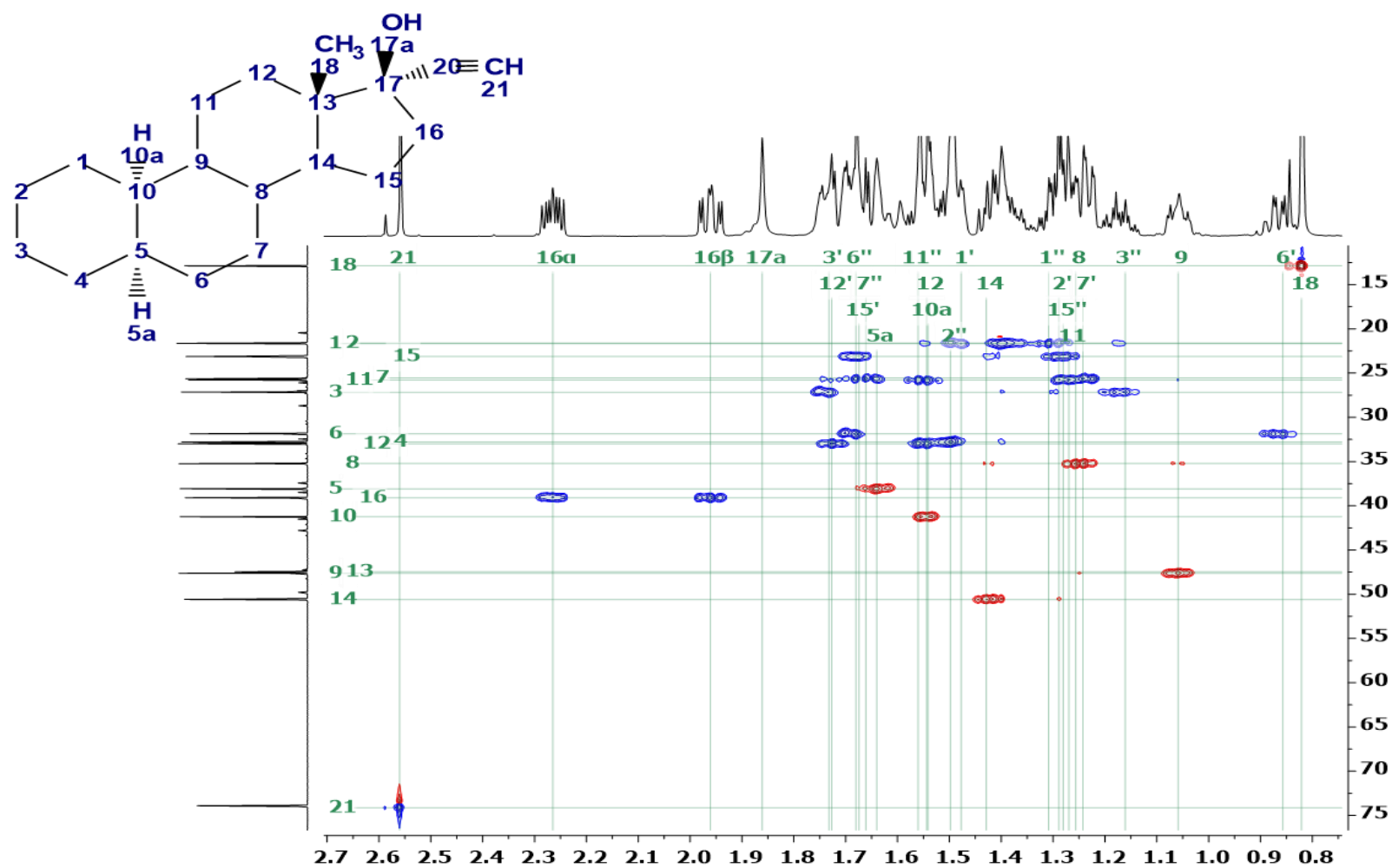
Espectro RMN-¹H de 17 α -etnil-5 α ,10 α -estran-17 β -ol **3** [700 MHz, CDCl₃]



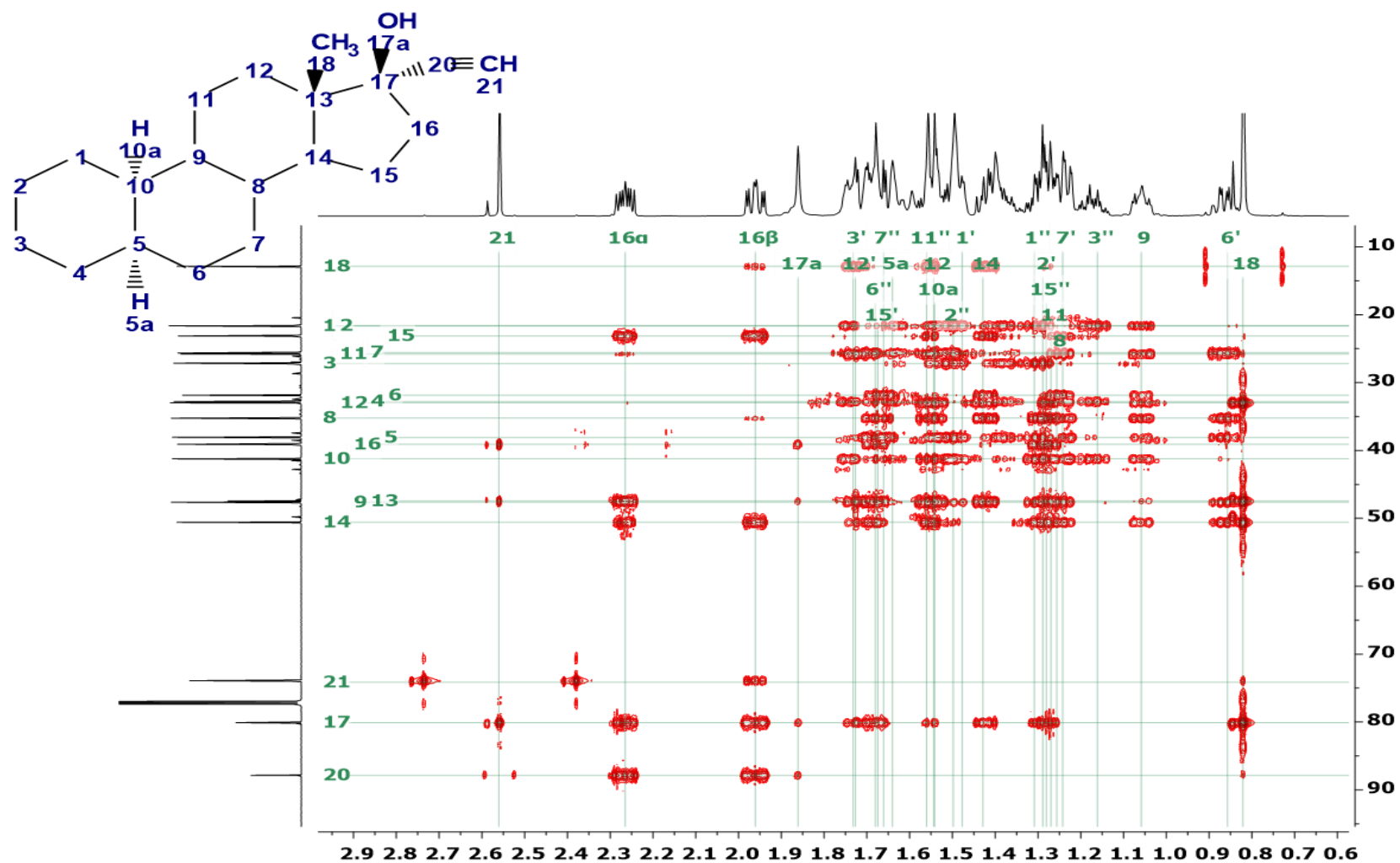
Espectro RMN-¹³C 17α-etinil-5α,10α-estran-17β-ol 3 [176 MHz, CDCl₃]



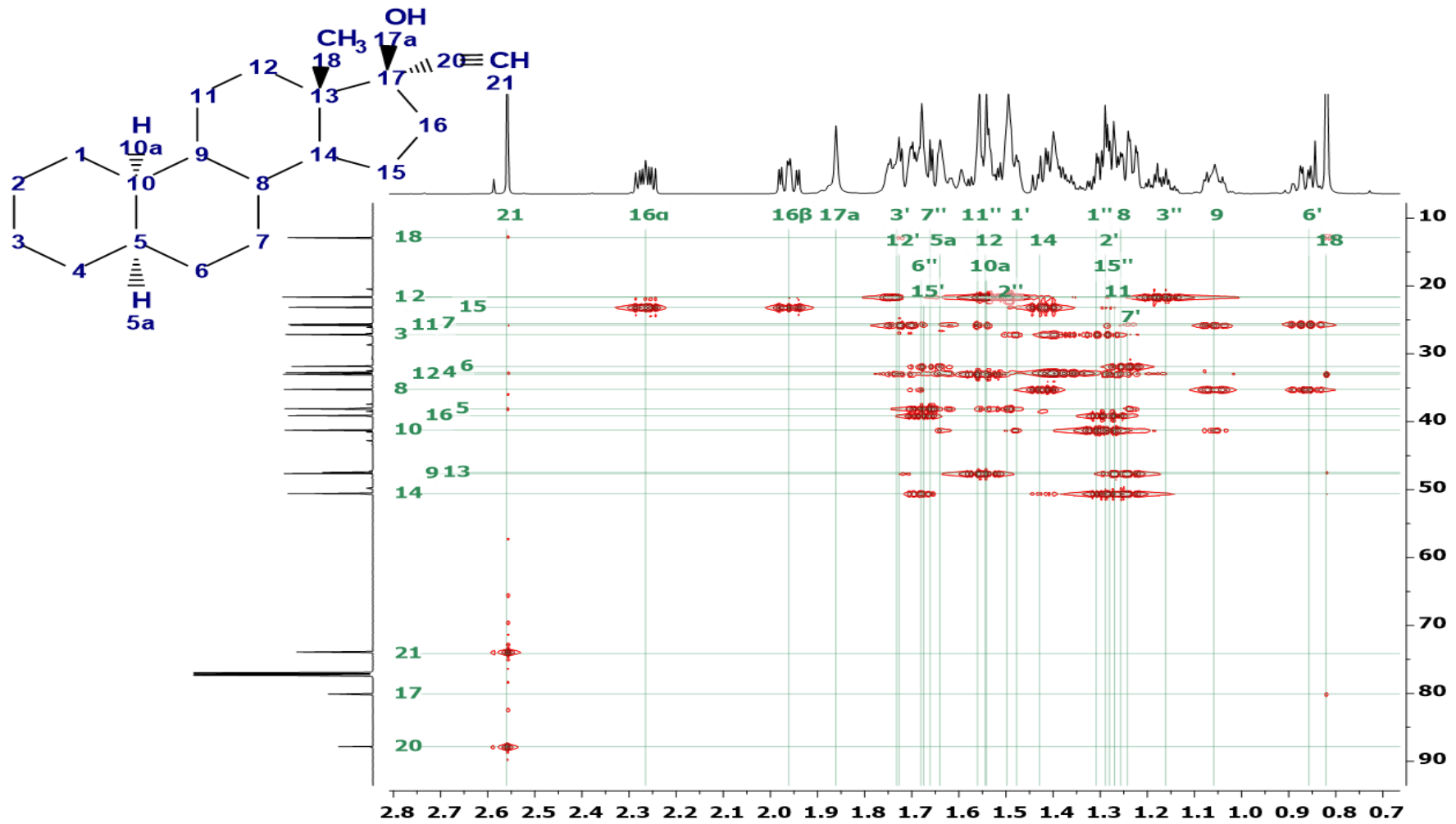
Espectro COSY de 17 α -etinil-5 α ,10 α -estran-17 β -ol **3** [700 MHz, CDCl_3]



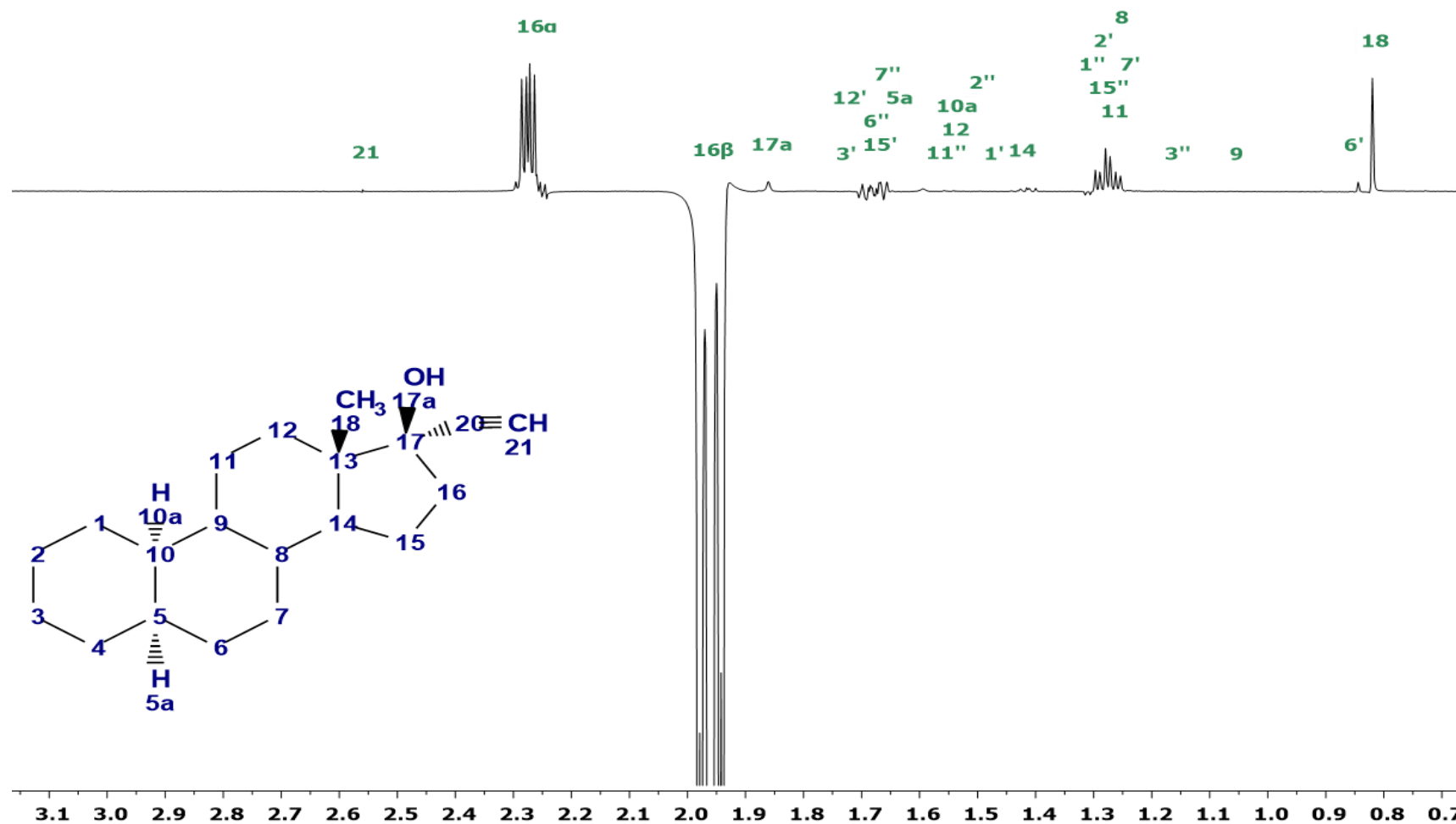
Espectro HSQC-editado de 17 α -etnil-5 α ,10 α -estran-17 β -ol **3** [700, 176 MHz, CDCl₃]



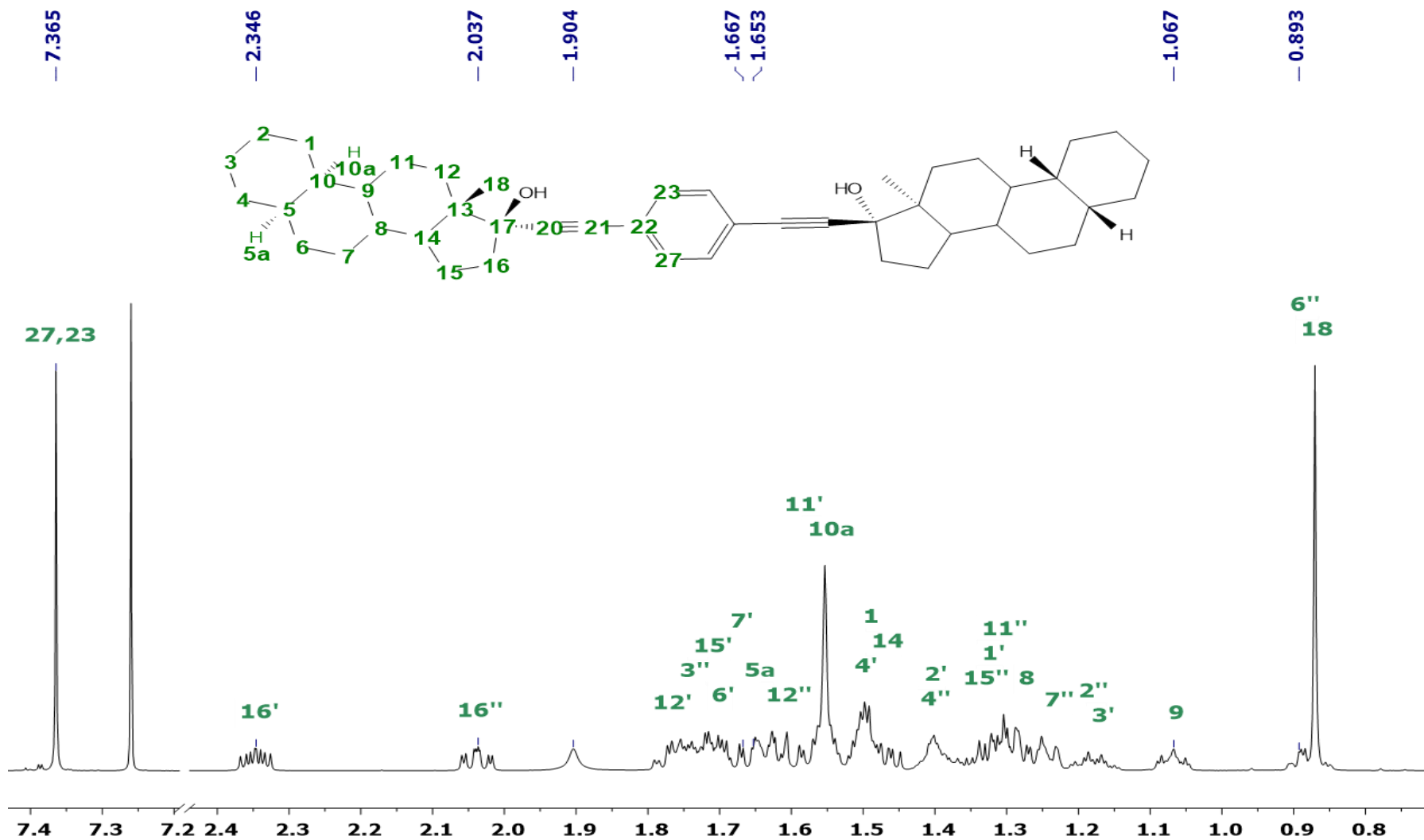
Espectro HMBC de 17 α -etinil-5 α ,10 α -estran-17 β -ol **3** [700, 176 MHz, CDCl₃]



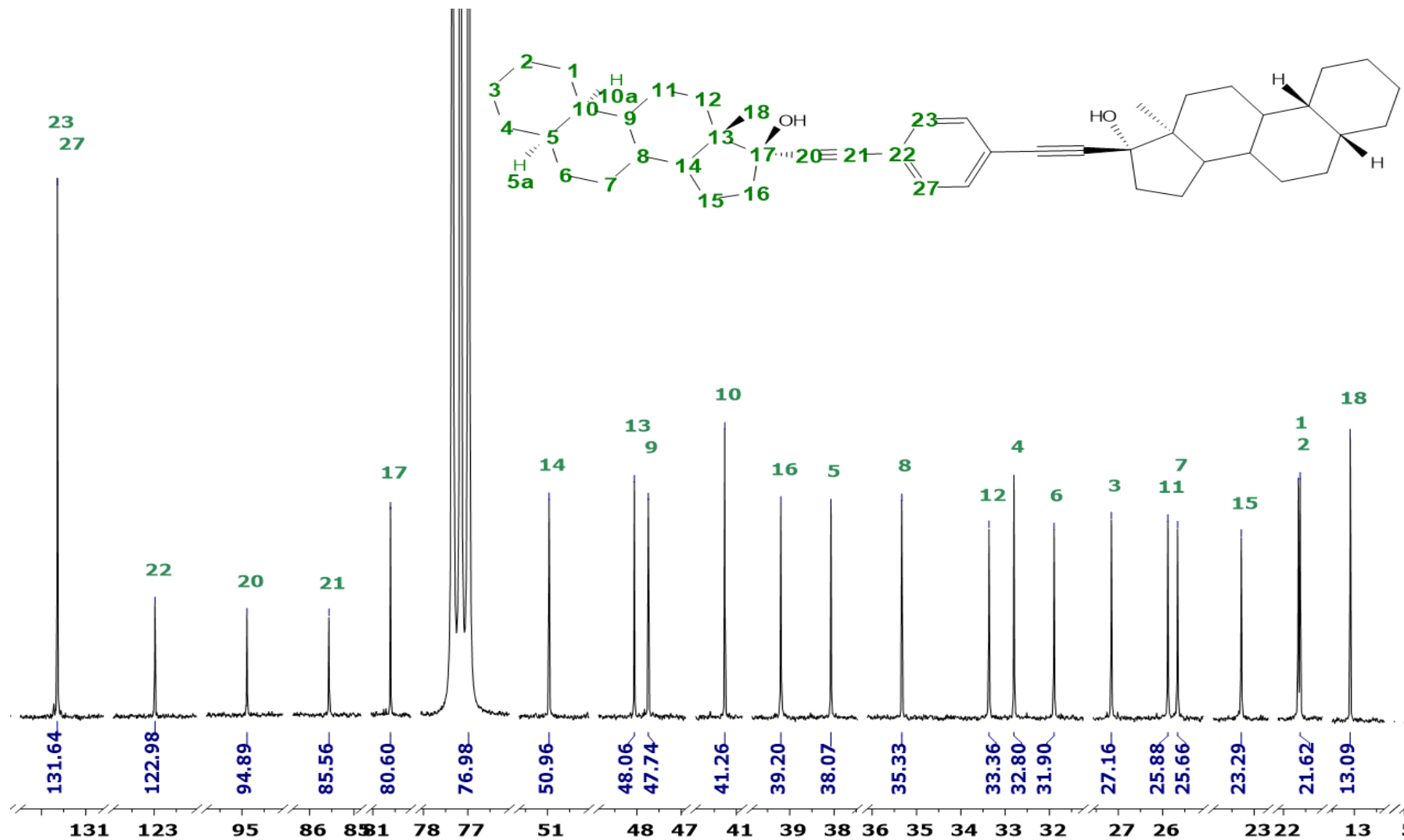
Espectro H2BC de 17 α -etinil-5 α ,10 α -estran-17 β -ol **3** [700, 176 MHz, CDCl₃]



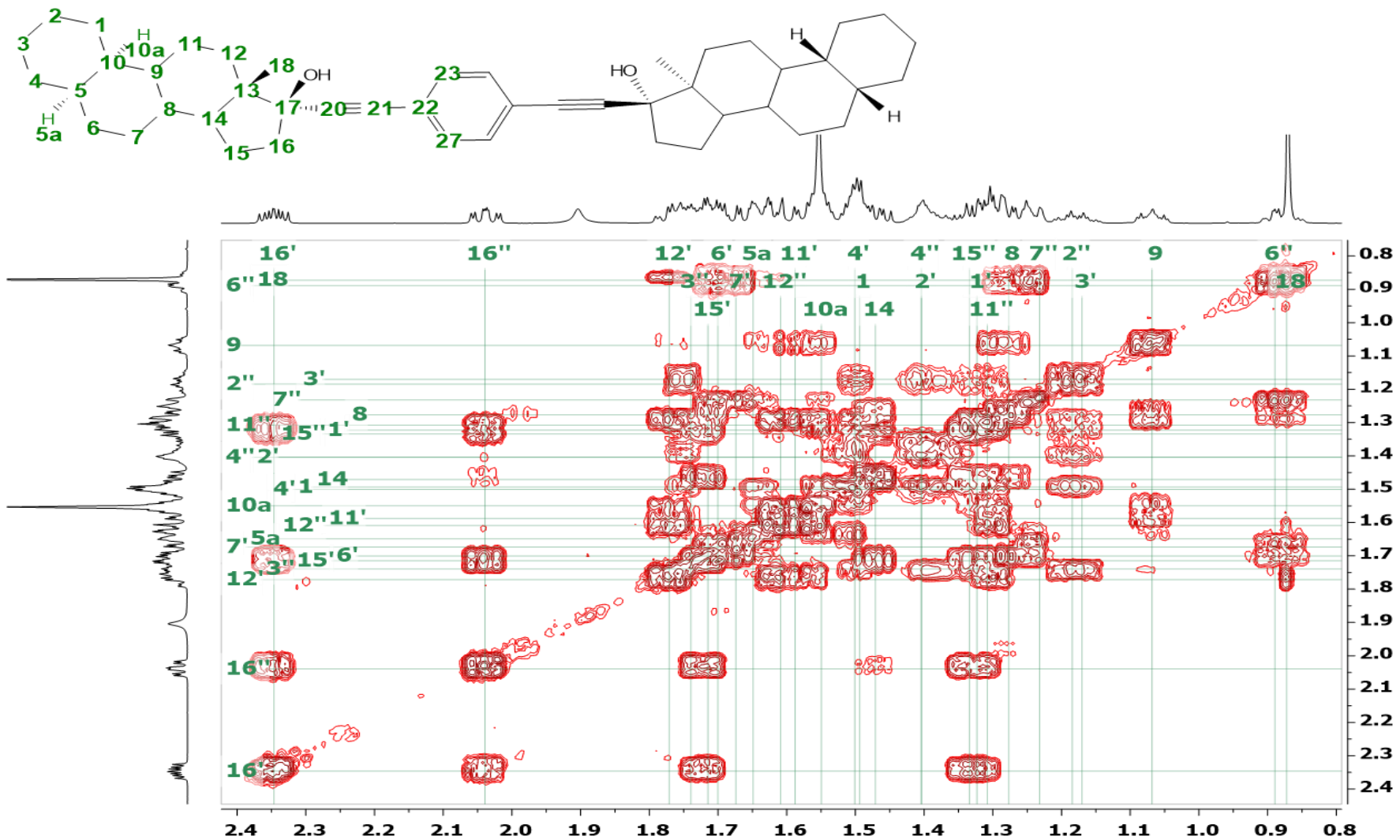
Espectro NOESY-1D de 17 α -etnil-5 α ,10 α -estran-17 β -ol **3** [700, 176 MHz, CDCl₃]



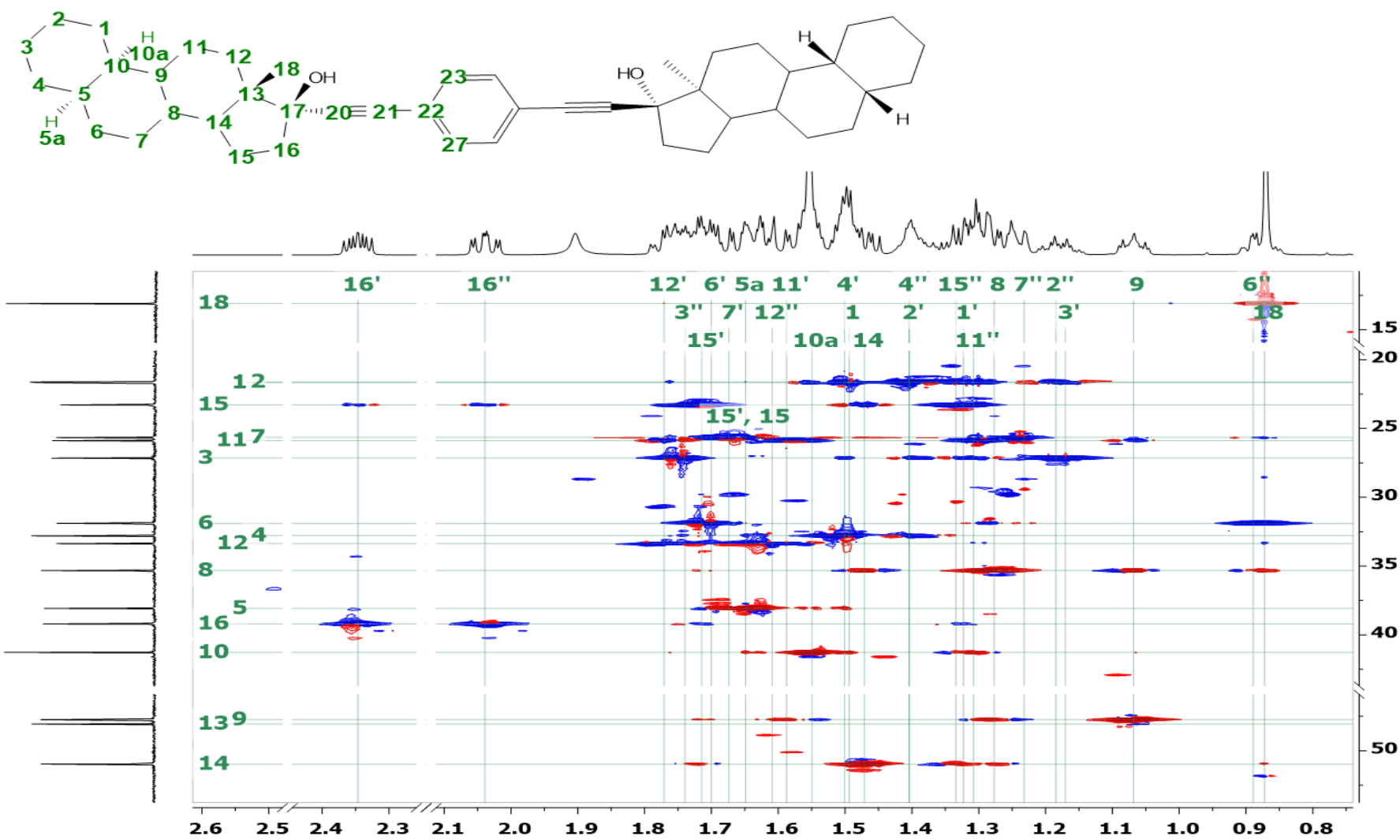
Espectro RMN-¹H de 1,4-bis(5α,10α-estran-17β-ol-17α-etinil)benzeno **4** [700 MHz, CDCl₃]



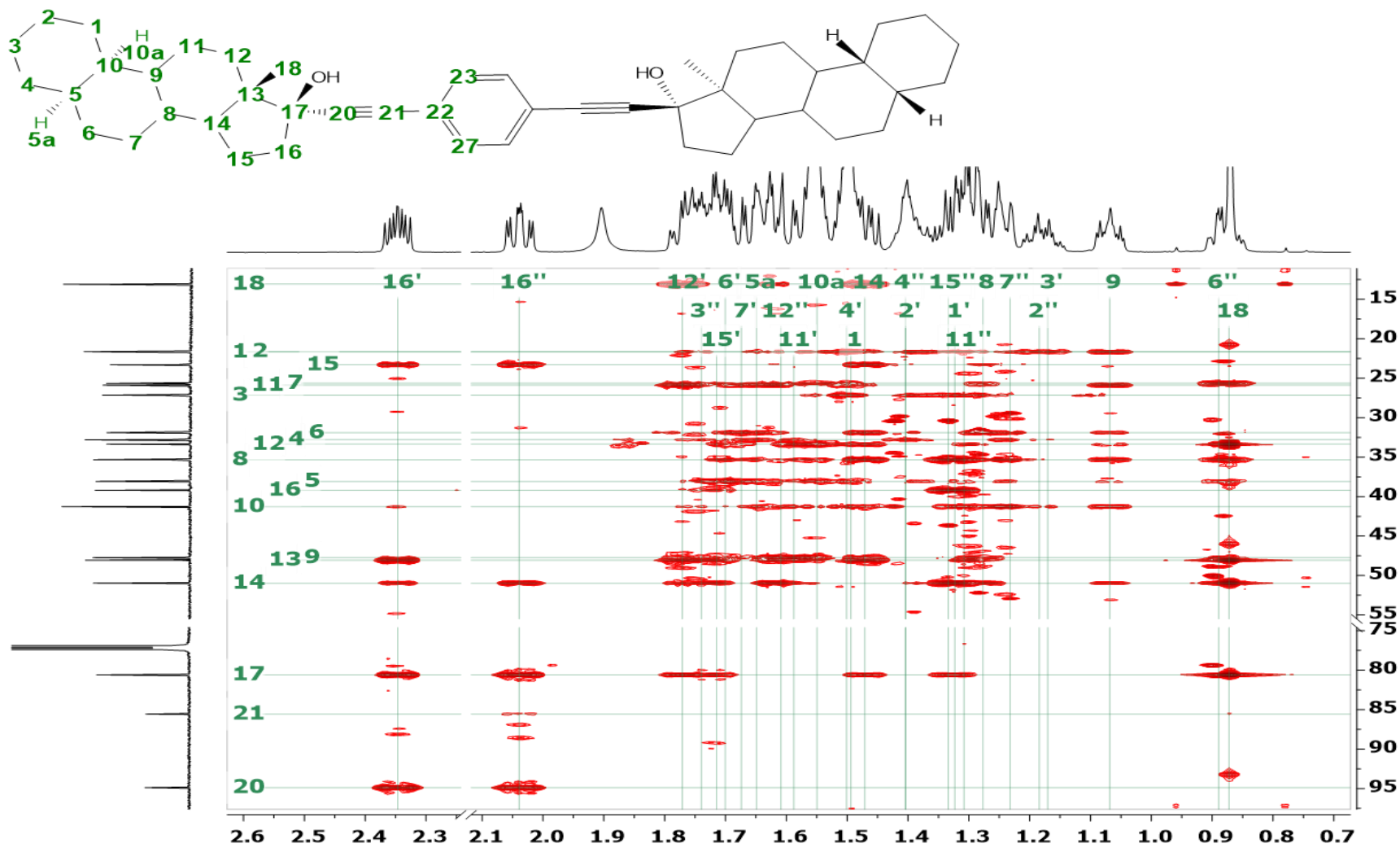
Espectro RMN-¹³C de 1,4-bis(5α,10α-estrane-17β-ol-17α-etil)benzeno 4 [176 MHz, CDCl₃]



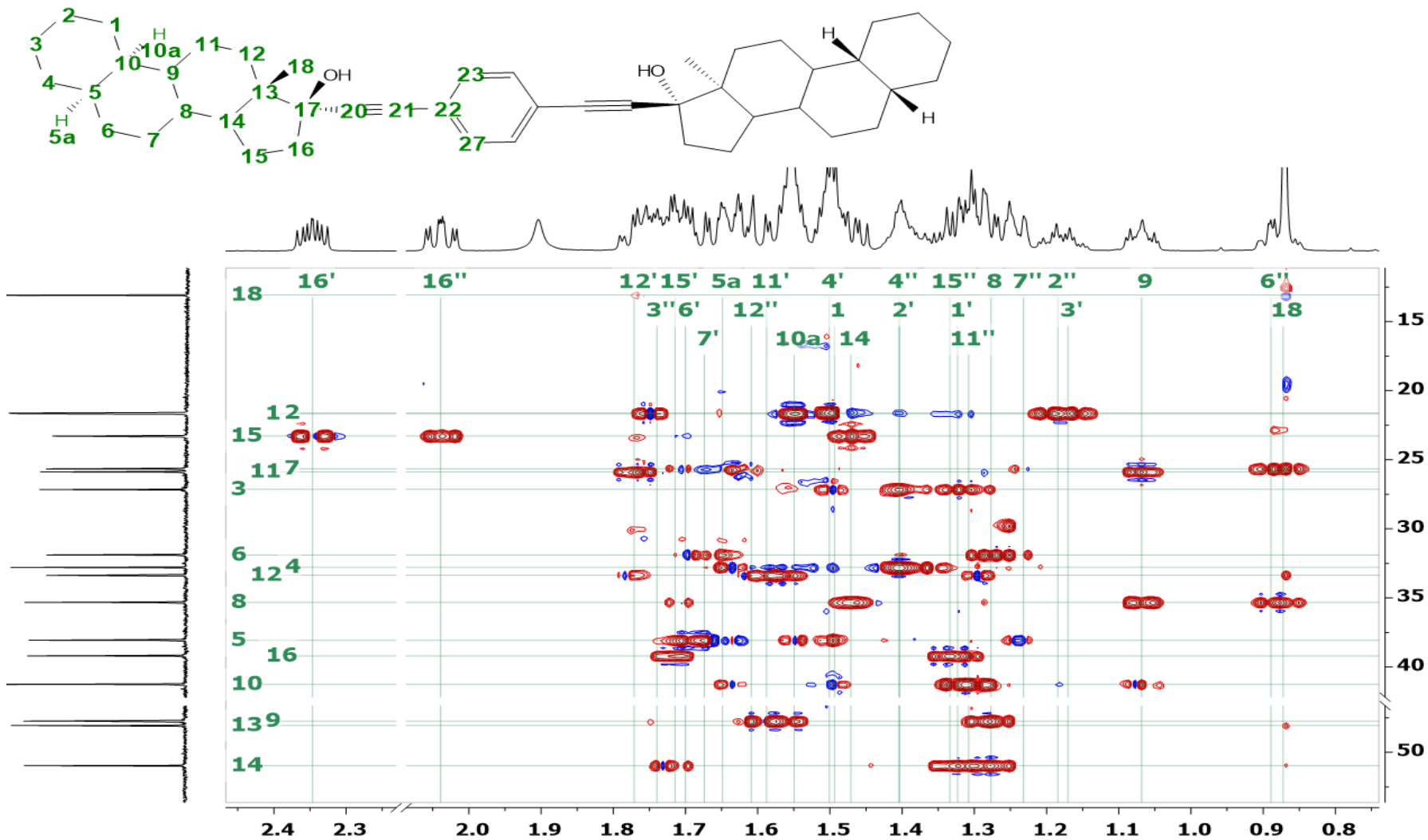
Espectro COSY de 1,4-bis(5 α ,10 α -estrane-17 β -ol-17 α -etinil)benzene 4 [700 MHz, CDCl₃]



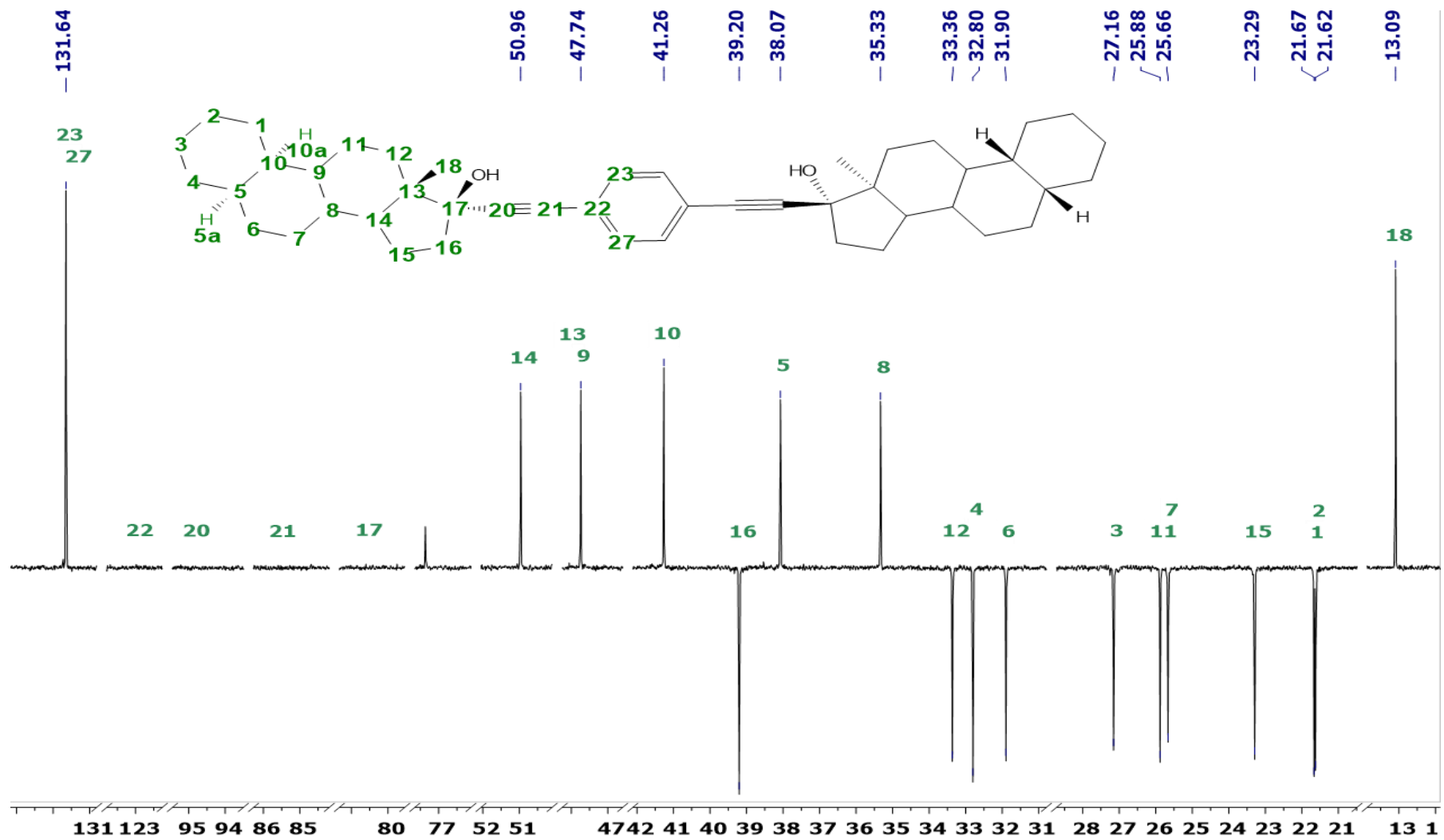
Espectro HSQC-editado de 1,4-bis(5 α ,10 α -estran-17 β -ol-17 α -etinil)benceno 4 [700 MHz, 176 MHz, CDCl₃]



Espectro HMBC de 1,4-bis(5 α ,10 α -estrane-17 β -ol-17 α -etinil)benceno 4 [700 MHz, 176 MHz, CDCl₃]

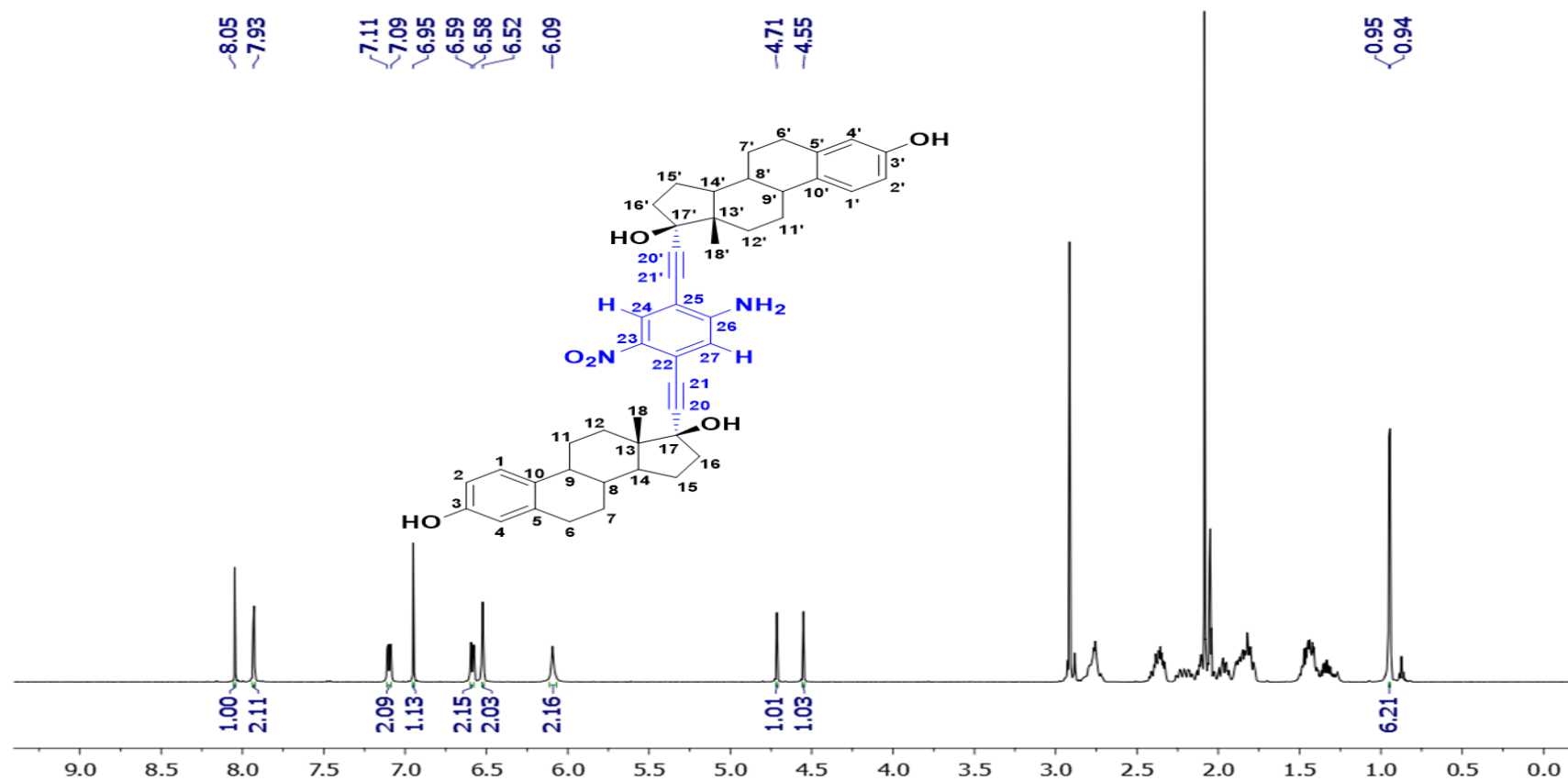


Espectro H2BC de 1,4-bis(5 α ,10 α -estrane-17 β -ol-17 α -etinil)benzene 4 [700 MHz, 176 MHz CDCl₃]

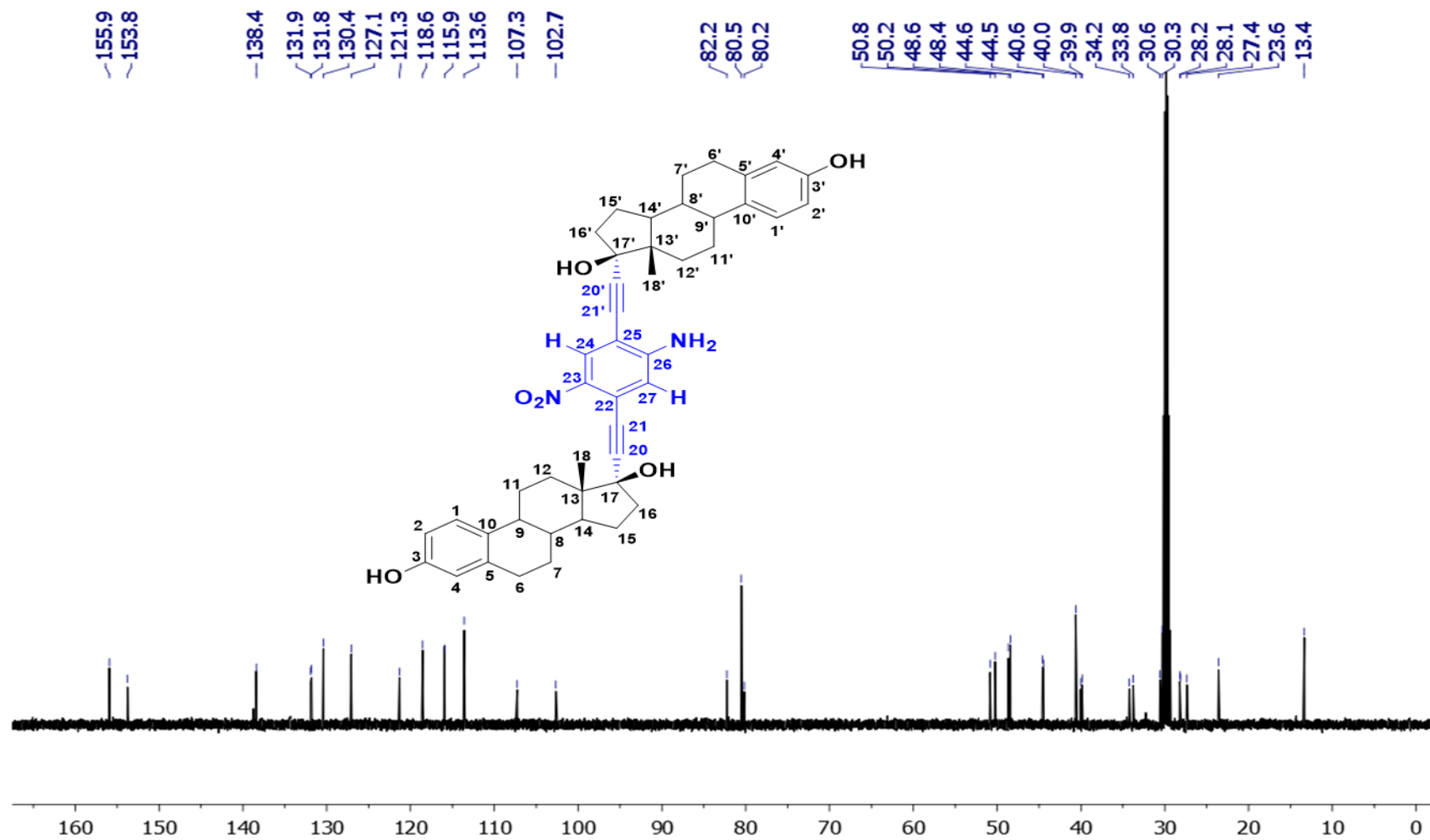


Espectro DEPT-135 de 1,4-bis(5 α ,10 α -estran-17 β -ol-17 α -etinil)benzene 4 [176 MHz, CDCl₃]

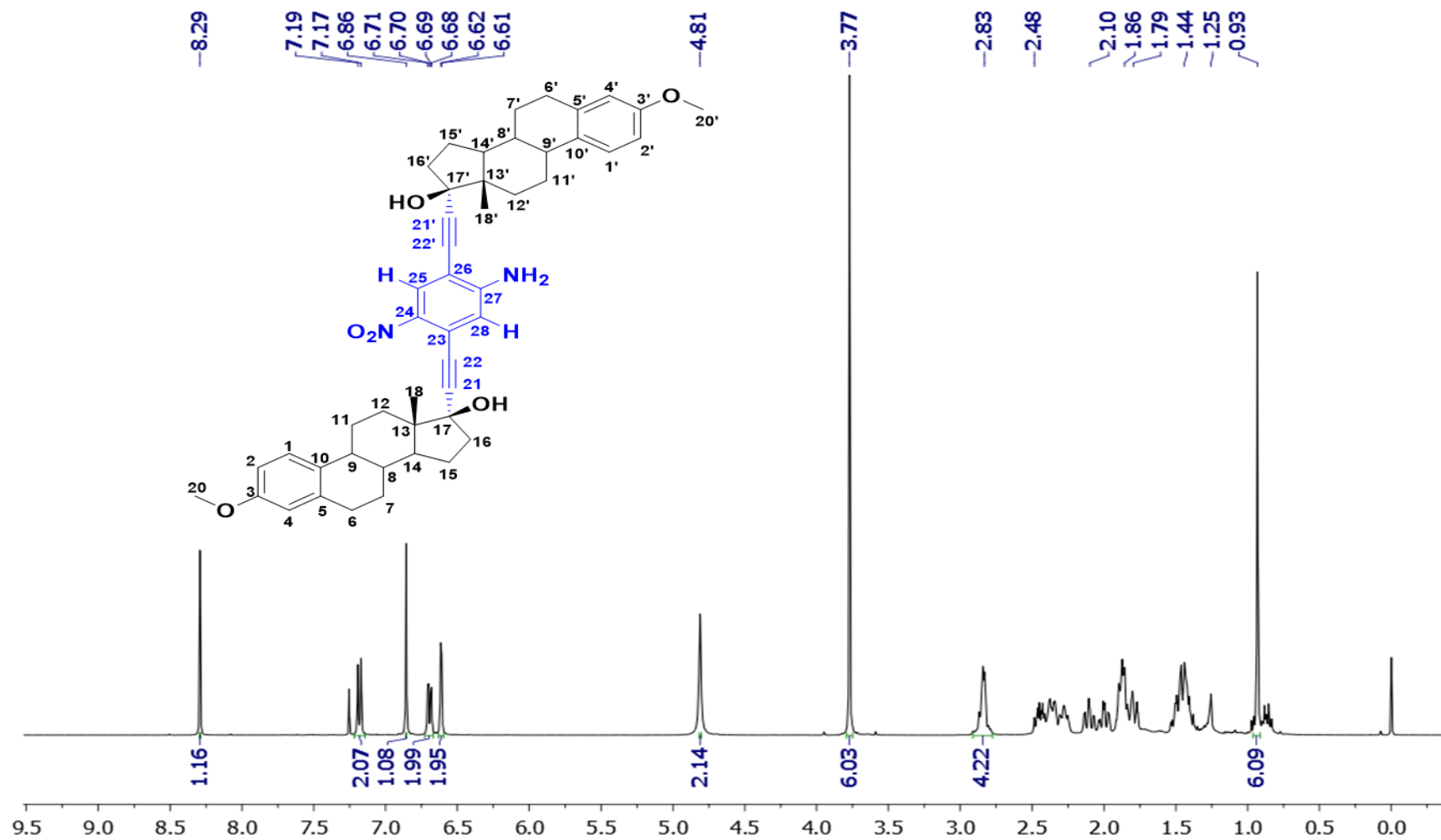
9.2. **Capítulo 2.** Dímeros esteroideos derivados de etinilestradiol, mestranol, etisterona, noretisterona y 17 α -etinil-5 α -androst-2-en-17 β -ol usando un espaciador de p-nitroanilina.



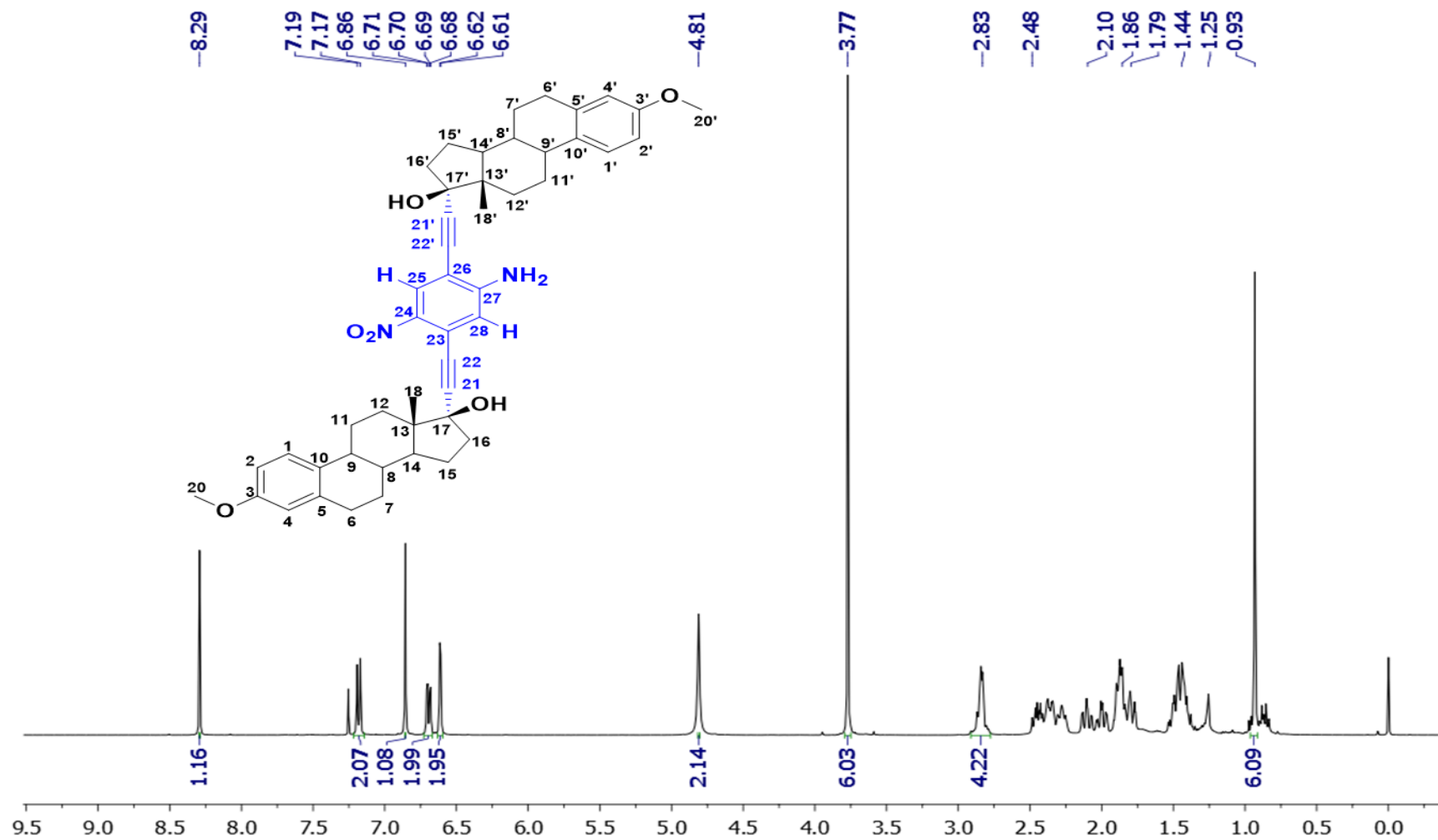
Espectro RMN-¹H de 2,5-Bis(17 α -etinil-estra-1,3,5-(10)-trien-3-17 β -diol)-4-nitroanilina **7** [500 MHz, acetona-d₆]



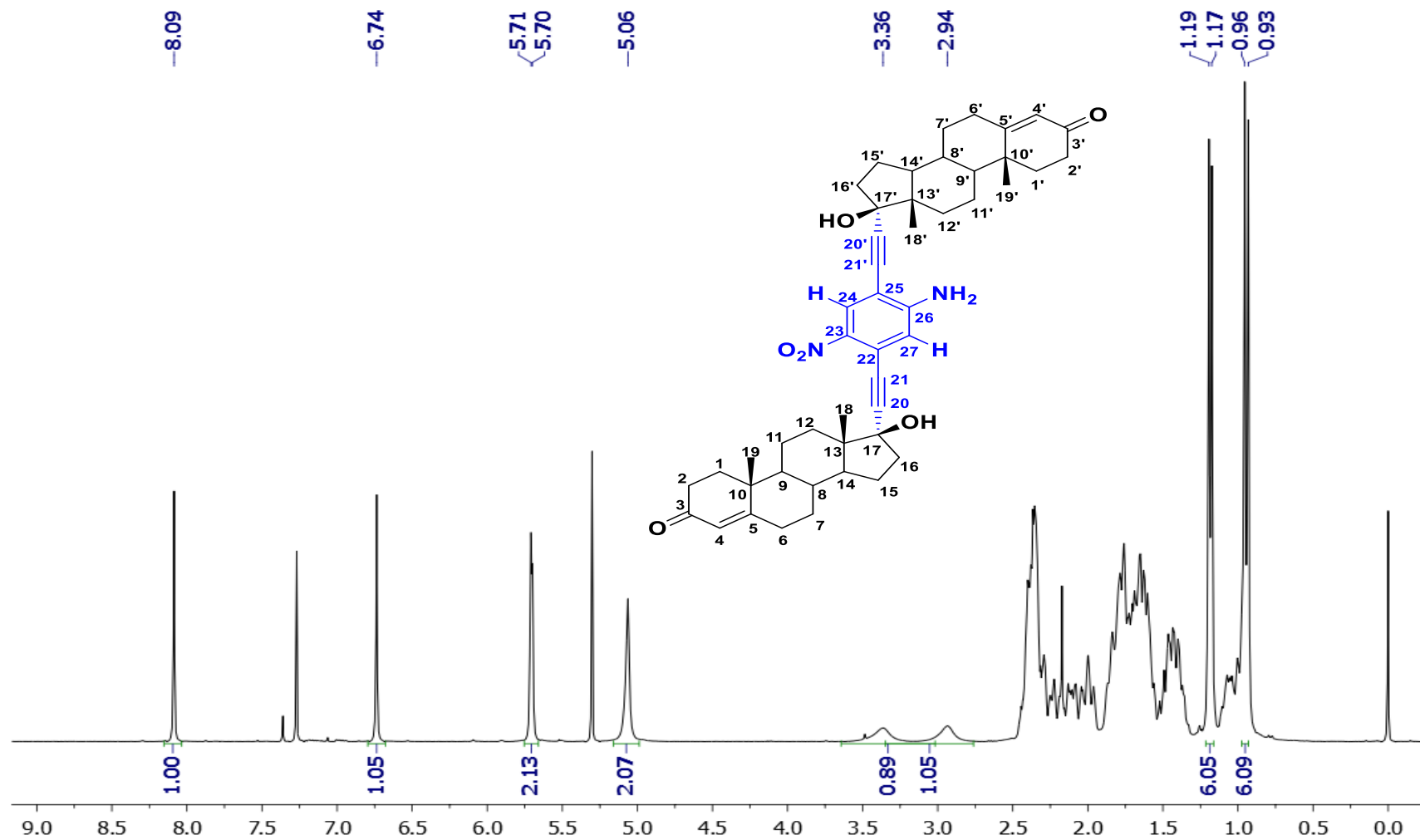
Espectro RMN- ^{13}C de 2,5-Bis(17 α -etnil-estra-1,3,5-(10)-trien-3-17 β -diol)-4-nitroanilina **7** [125 MHz, acetona- d_6]



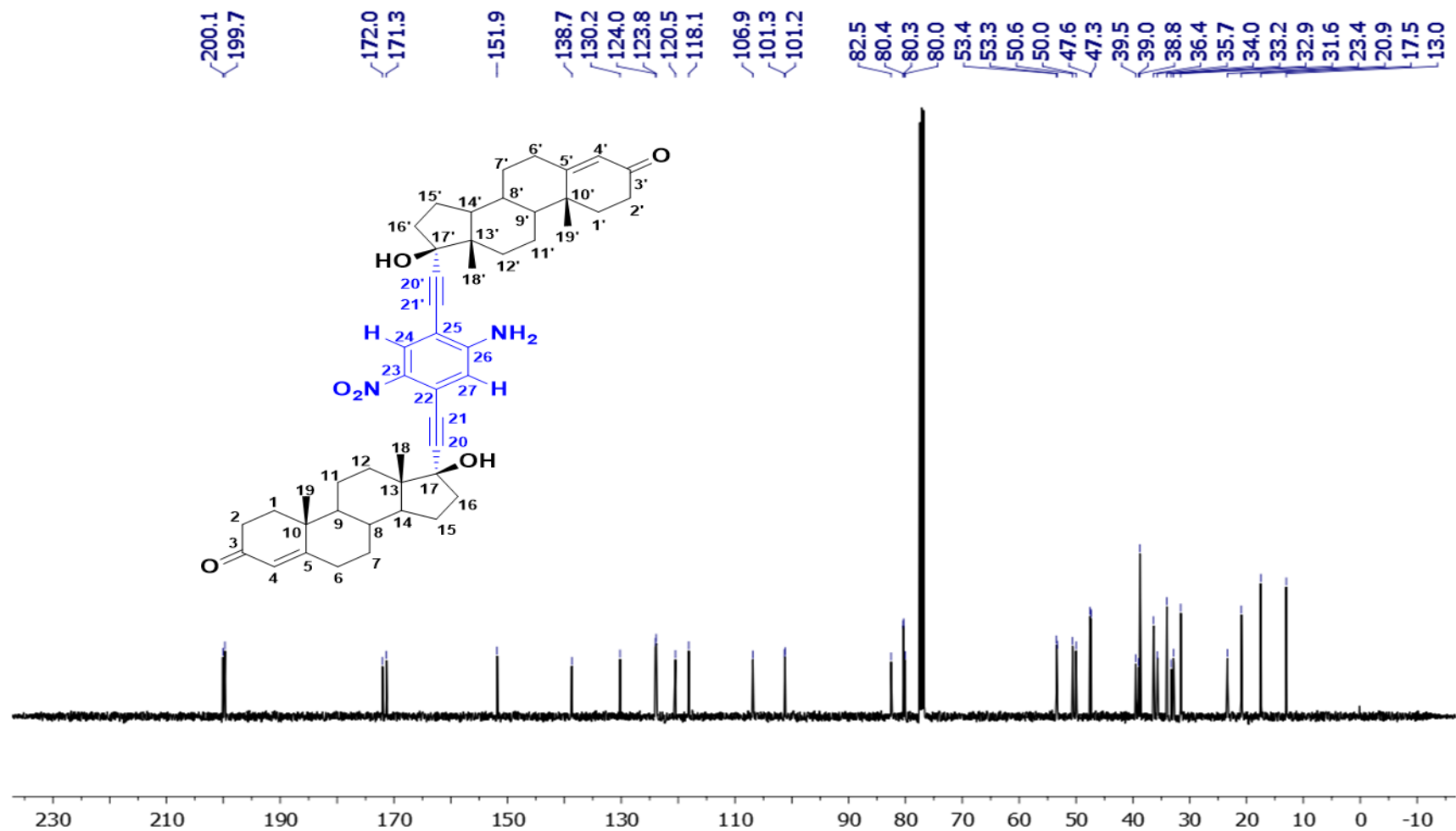
Espectro RMN-¹H de 2,5-Bis(17 α -etnil-estra-1,3,5-(10)-trien-17 β -ol-3-metileter)-4-nitroanilina **8** [400 MHz, CDCl₃]



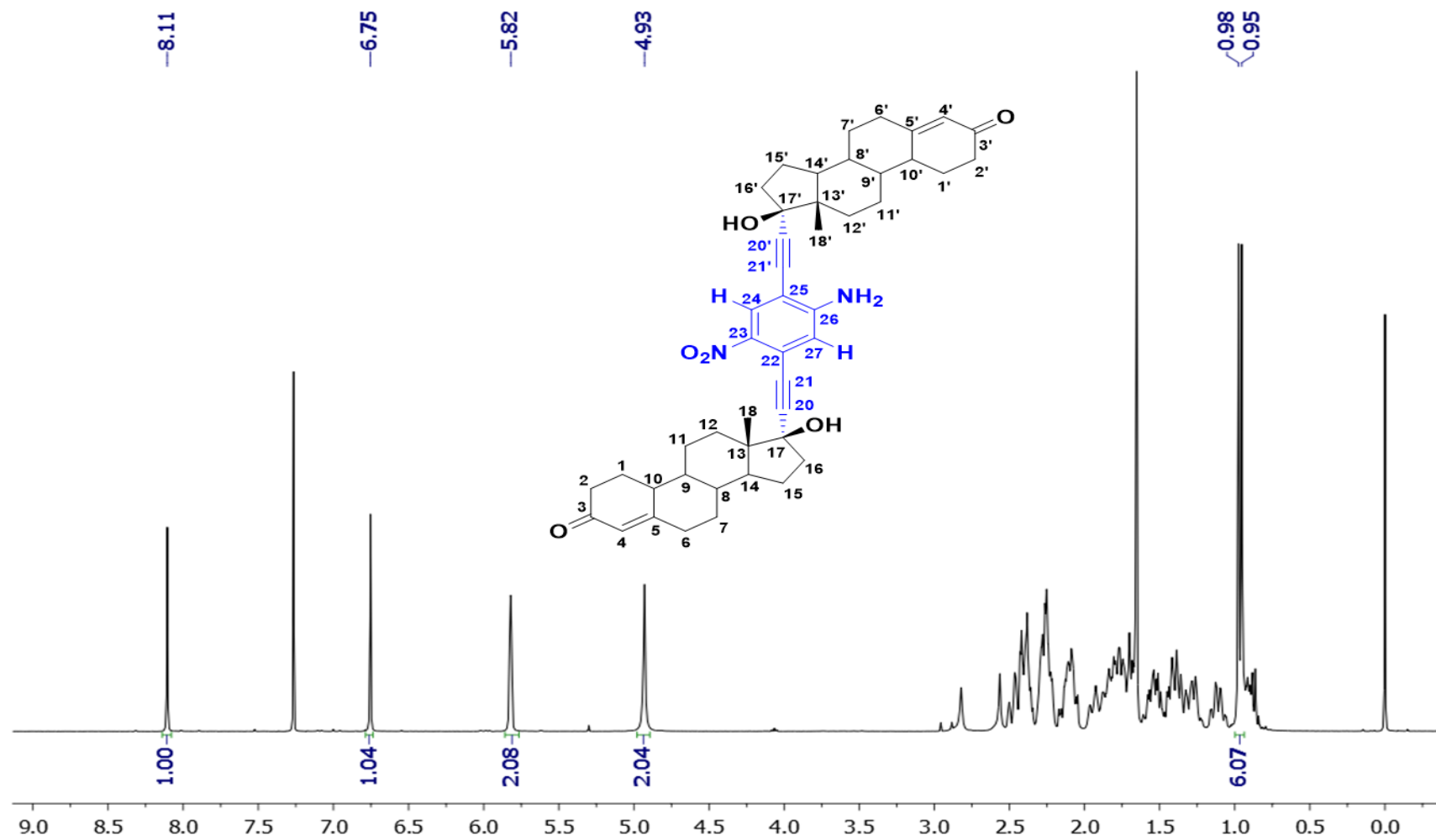
Espectro RMN-¹³C de 2,5-Bis(17 α -etnil-estra-1,3,5-(10)-trien-17 β -ol-3-metileter)-4-nitroanilina **8** [100 MHz, CDCl₃]



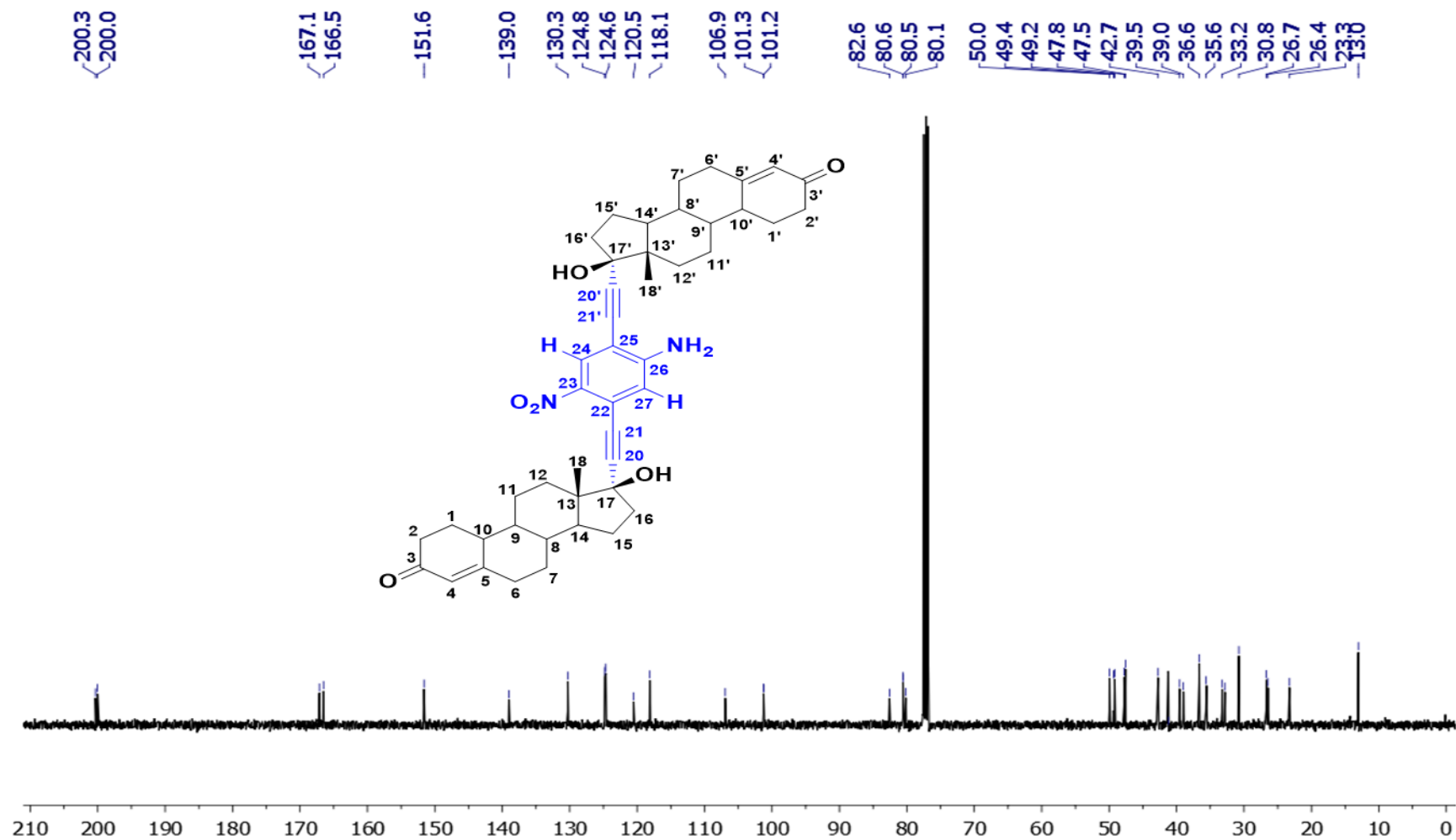
Espectro RMN-¹H de 2,5-Bis(17 α -ethynyl-17 β -hidroxi-testosterona)-4-nitroanilina **9** [400 MHz, CDCl₃]



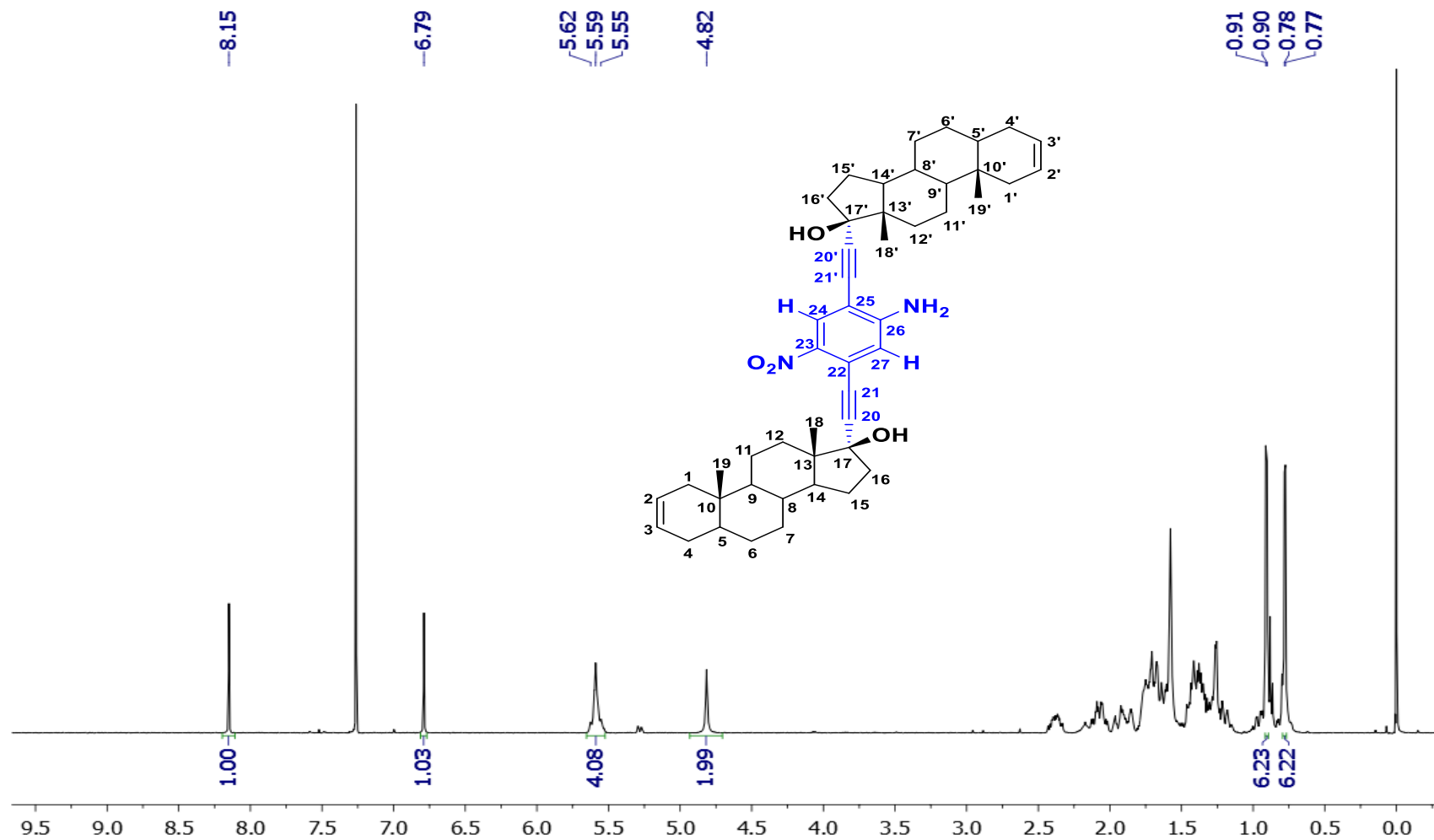
Espectro RMN- ^{13}C de 2,5-Bis(17 α -ethynyl-17 β -hidroxi-testosterona)-4-nitroanilina **9** [100 MHz, CDCl_3]



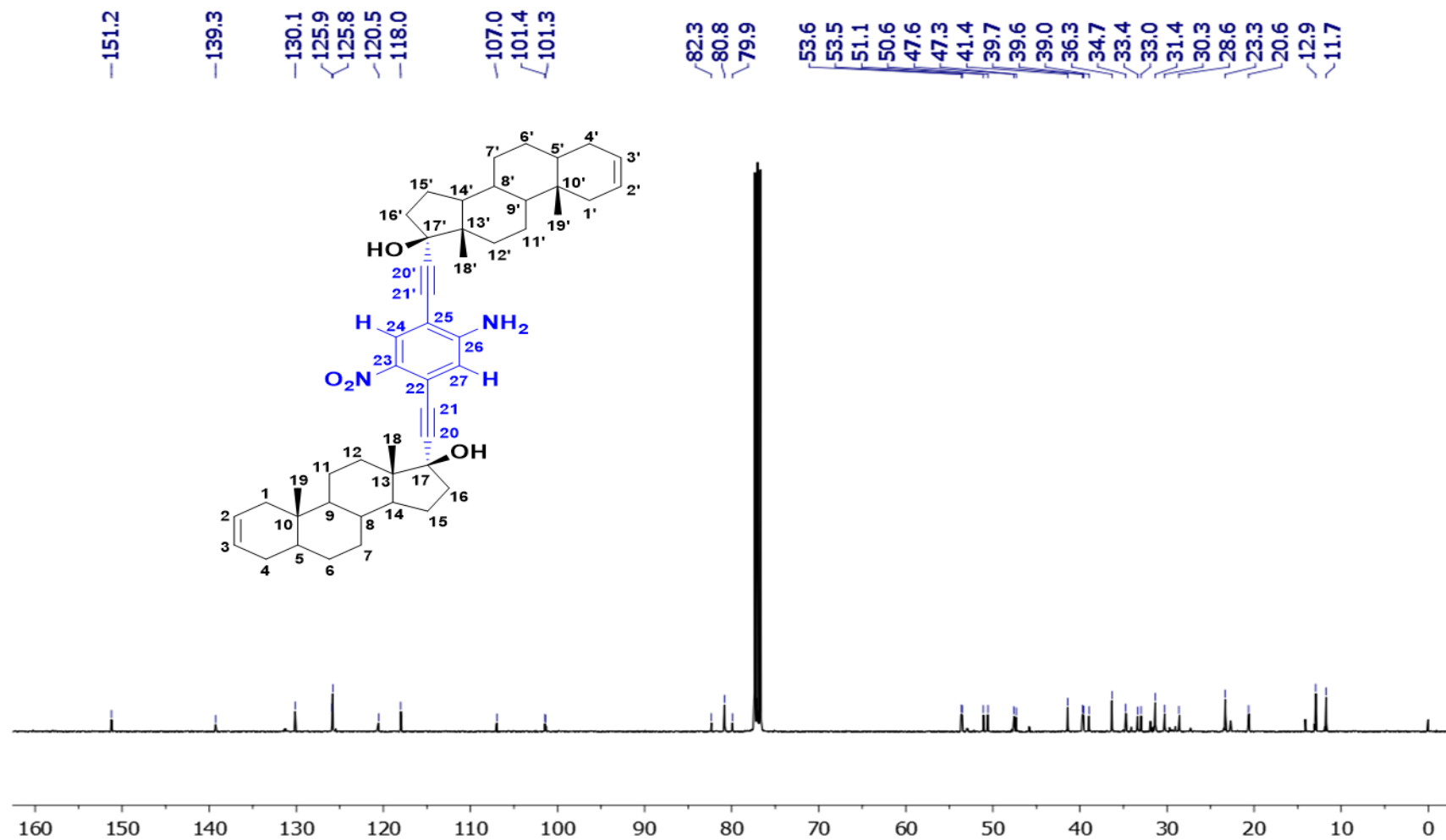
Espectro RMN-¹H de 2,5-Bis(19-nor-17 α -etnil-17 β -hidroxi-testosterona)-4-nitroanilina **10** [400 MHz, CDCl₃]



Espectro RMN-¹³C de 2,5-Bis(19-nor-17 α -etilil-17 β -hidroxi-testosterona)-4-nitroanilina **10** [100 MHz, CDCl₃]

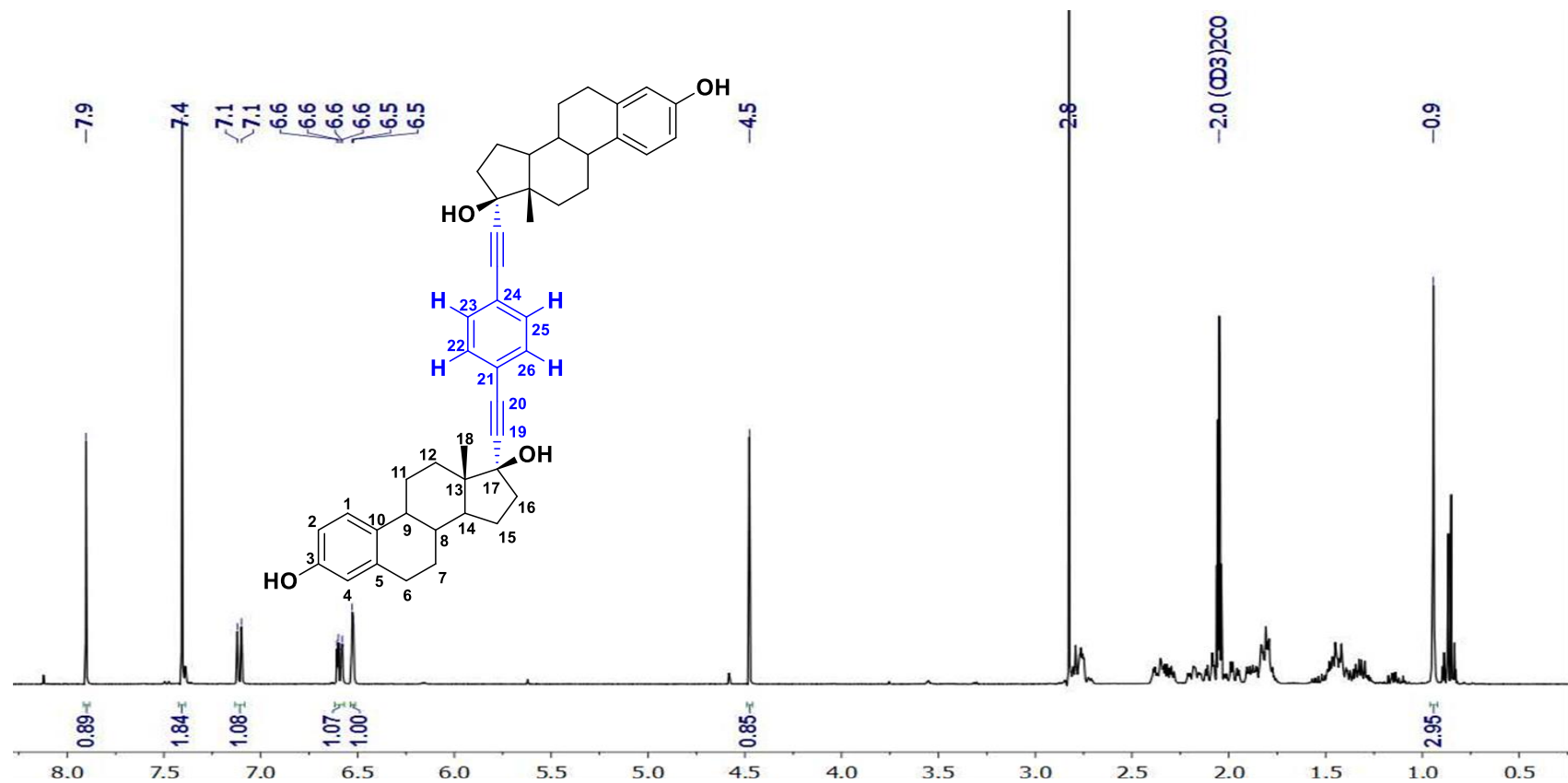


Espectro RMN-¹H de 2,5-Bis(17 α -etinil-5 α -androst-2-en-17 β -ol)-4-nitroanilina **11** [400 MHz, CDCl₃]

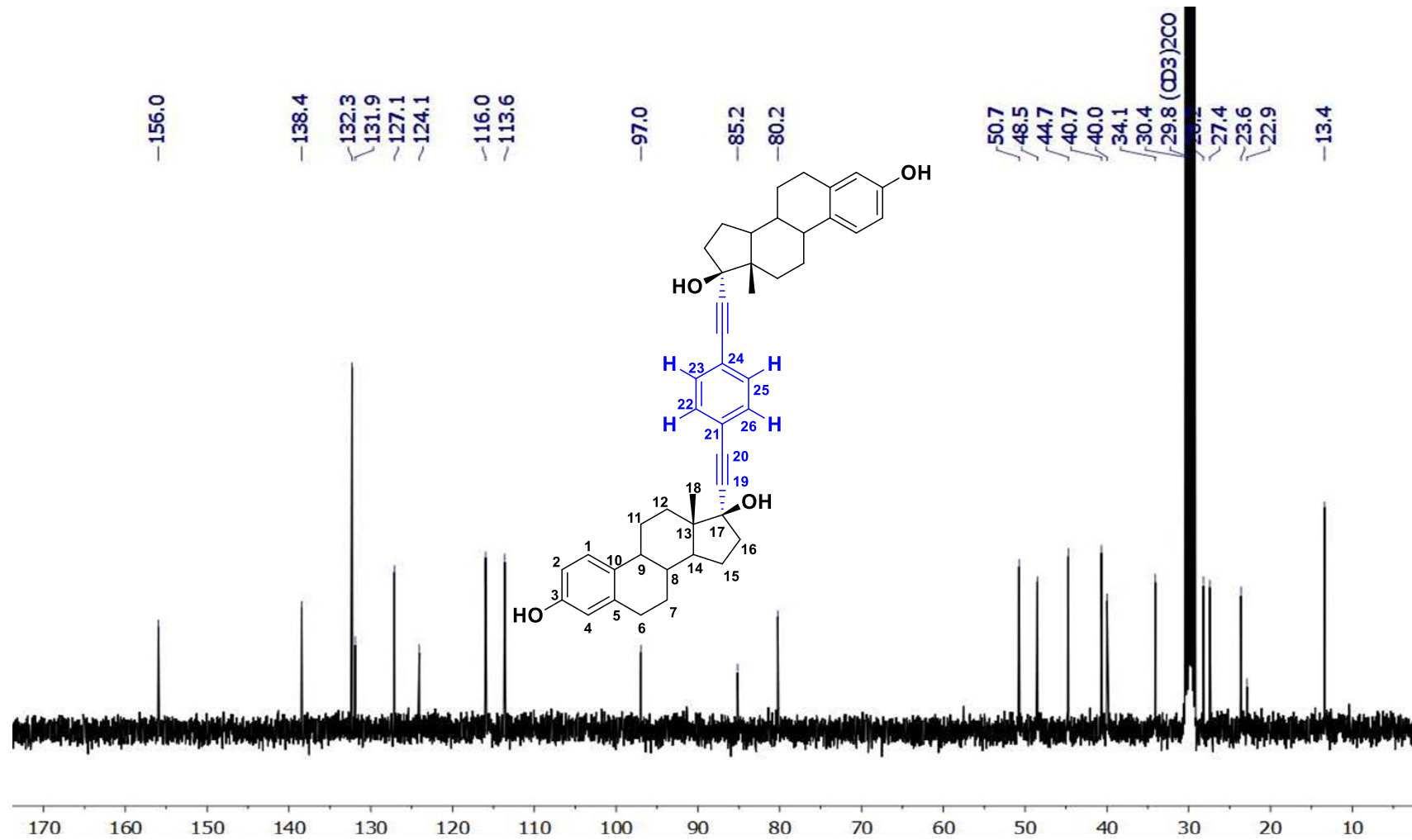


Espectro RMN-¹³C de 2,5-Bis(17 α -etnil-5 α -androst-2-en-17 β -ol)-4-nitroanilina 11 [100 MHz, CDCl₃]

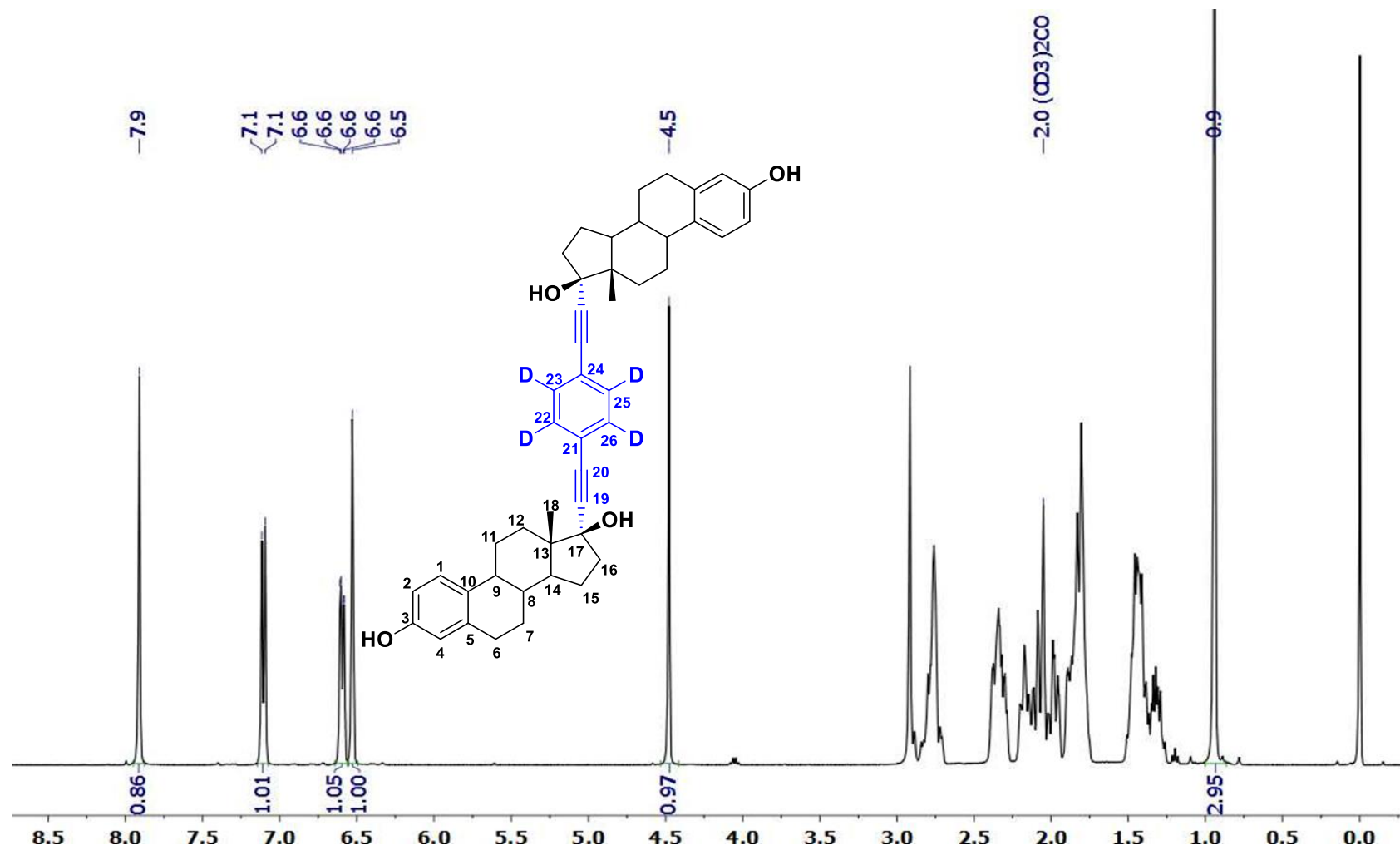
9.3. **Capítulo 3.** Dímeros esteroidales derivados de etinilestradiol con espaciadores de fenileno, fenileno- d^4 y 1,2-difluorofenileno.



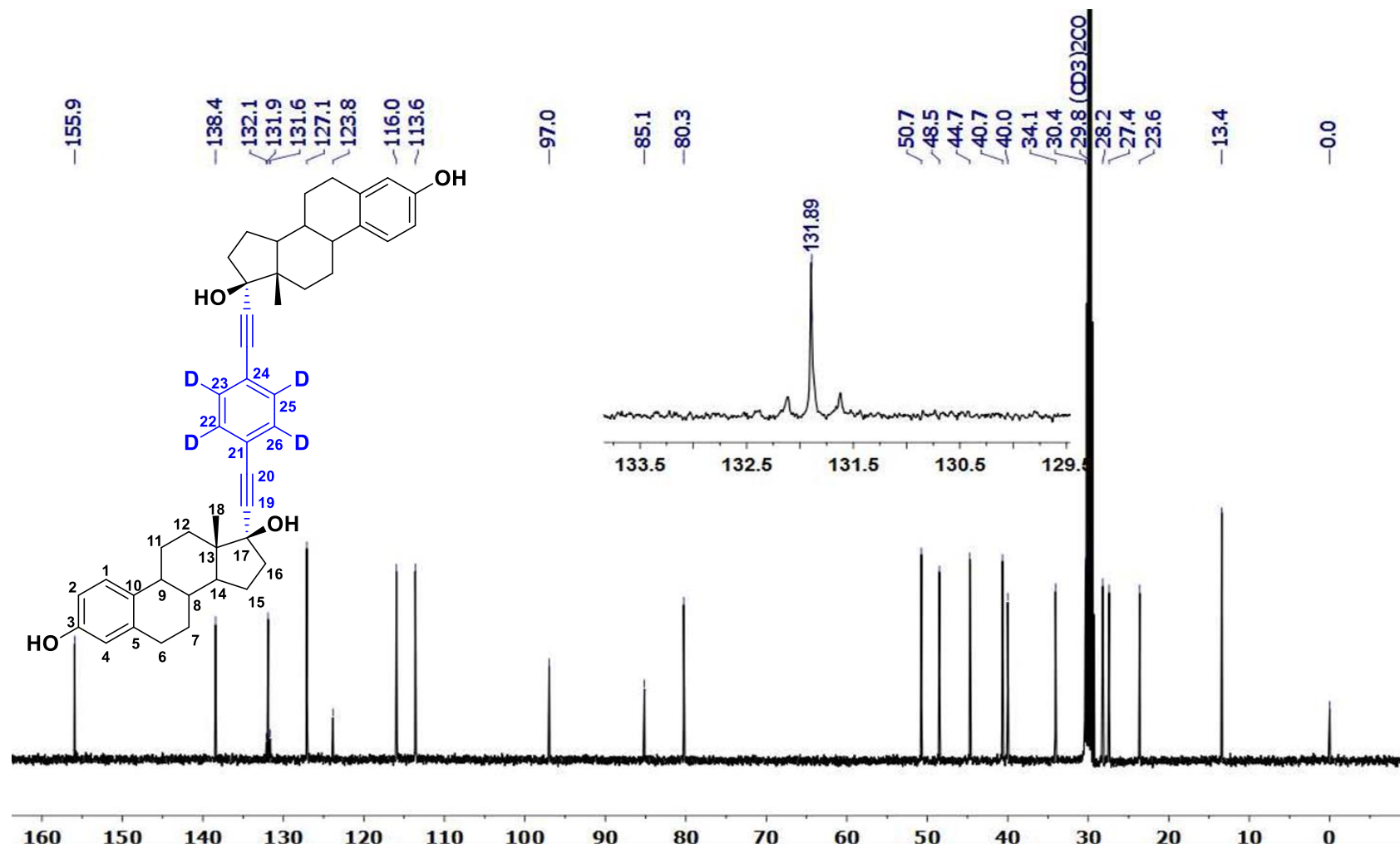
Espectro RMN- ^1H de 2,5-bis[3-hidroxi-estra-1,3,5-(10)-trien-17 α -etinil]benceno **5** [400 MHz, acetona- d_6]



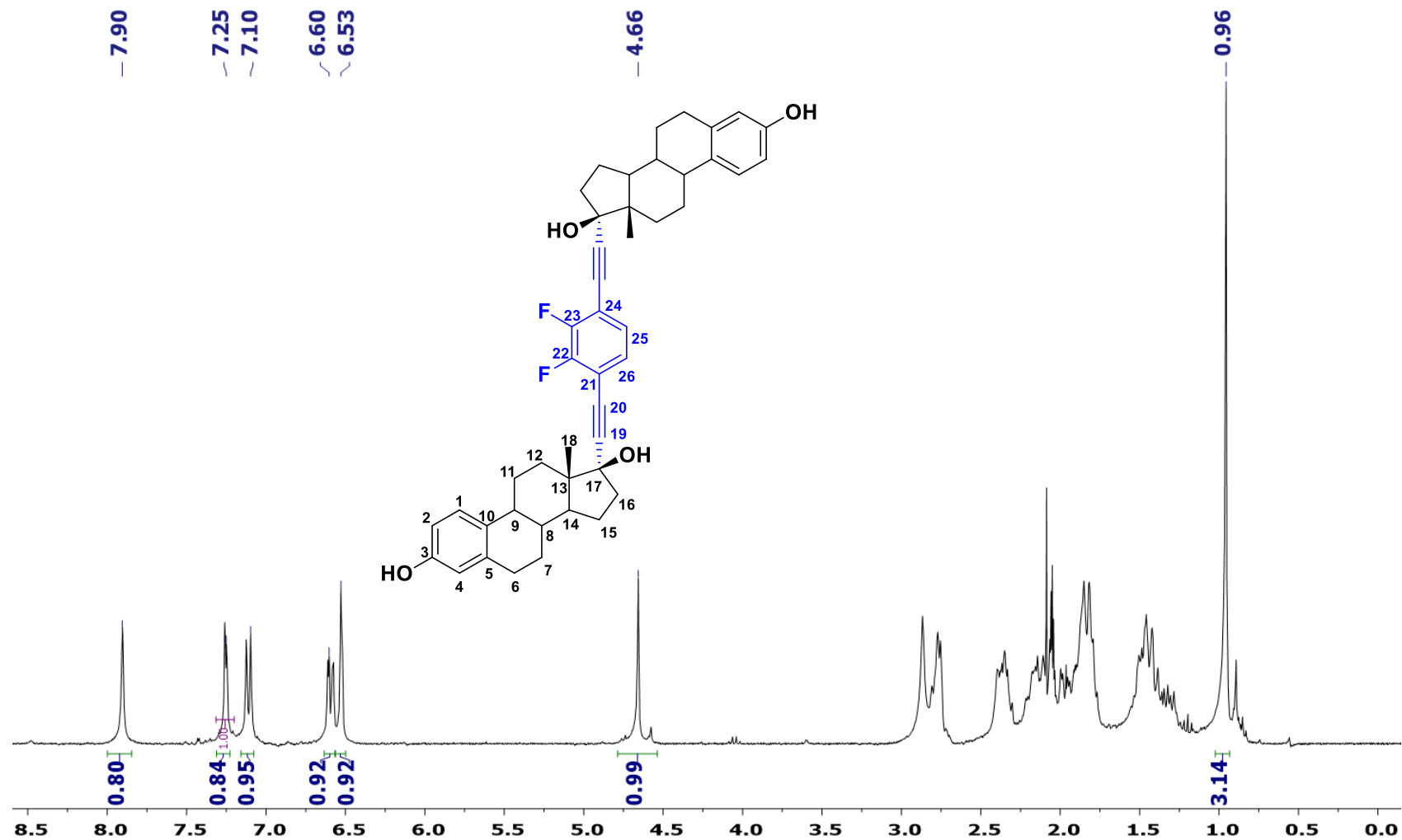
Espectro RMN-¹³C de 2,5-bis[3-hidroxi-estra-1,3,5-(10)-trien-17 α -etinil]benceno **5** [100 MHz, acetona-d₆]



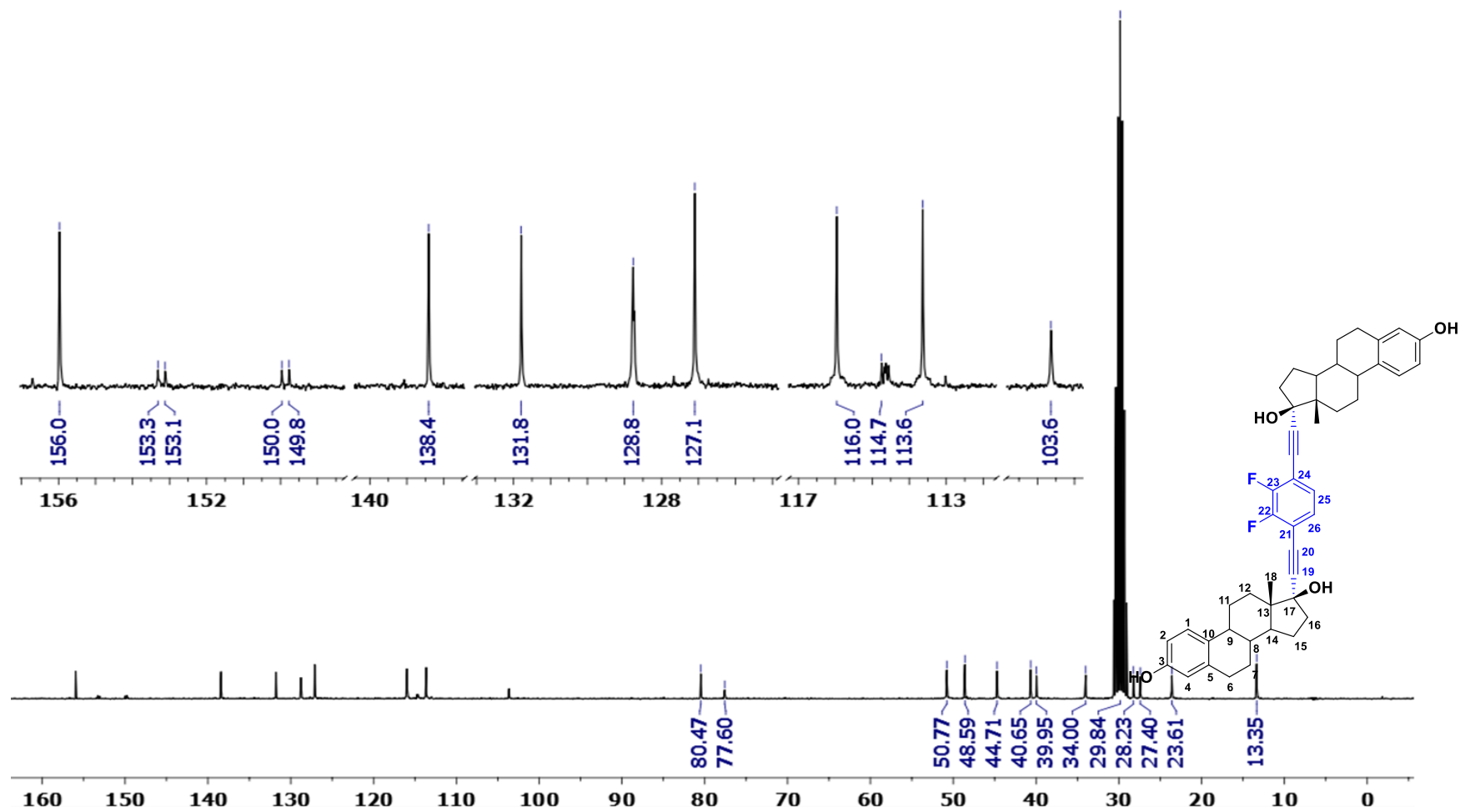
Espectro RMN- ^1H de 2,5-bis[3-hidroxi-estra-1,3,5-(10)-trien-17 α -etil]benzeno- d_4 **6** [400 MHz, acetona- d_6]



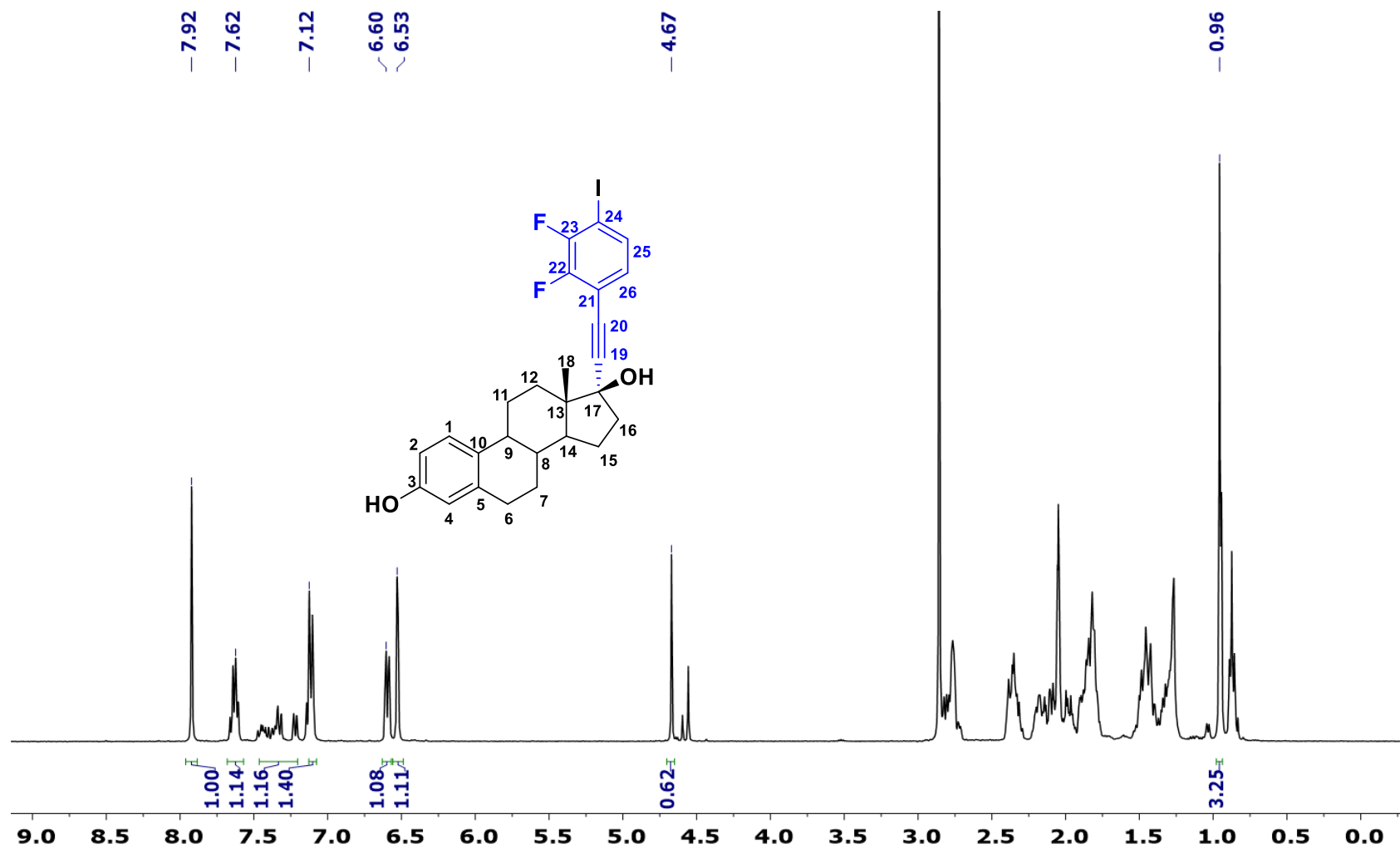
Espectro RMN- ^{13}C de 2,5-bis[3-hidroxi-estra-1,3,5-(10)-trien-17 α -etinil]benceno- d_4 **6** [100 MHz, acetona- d_6]



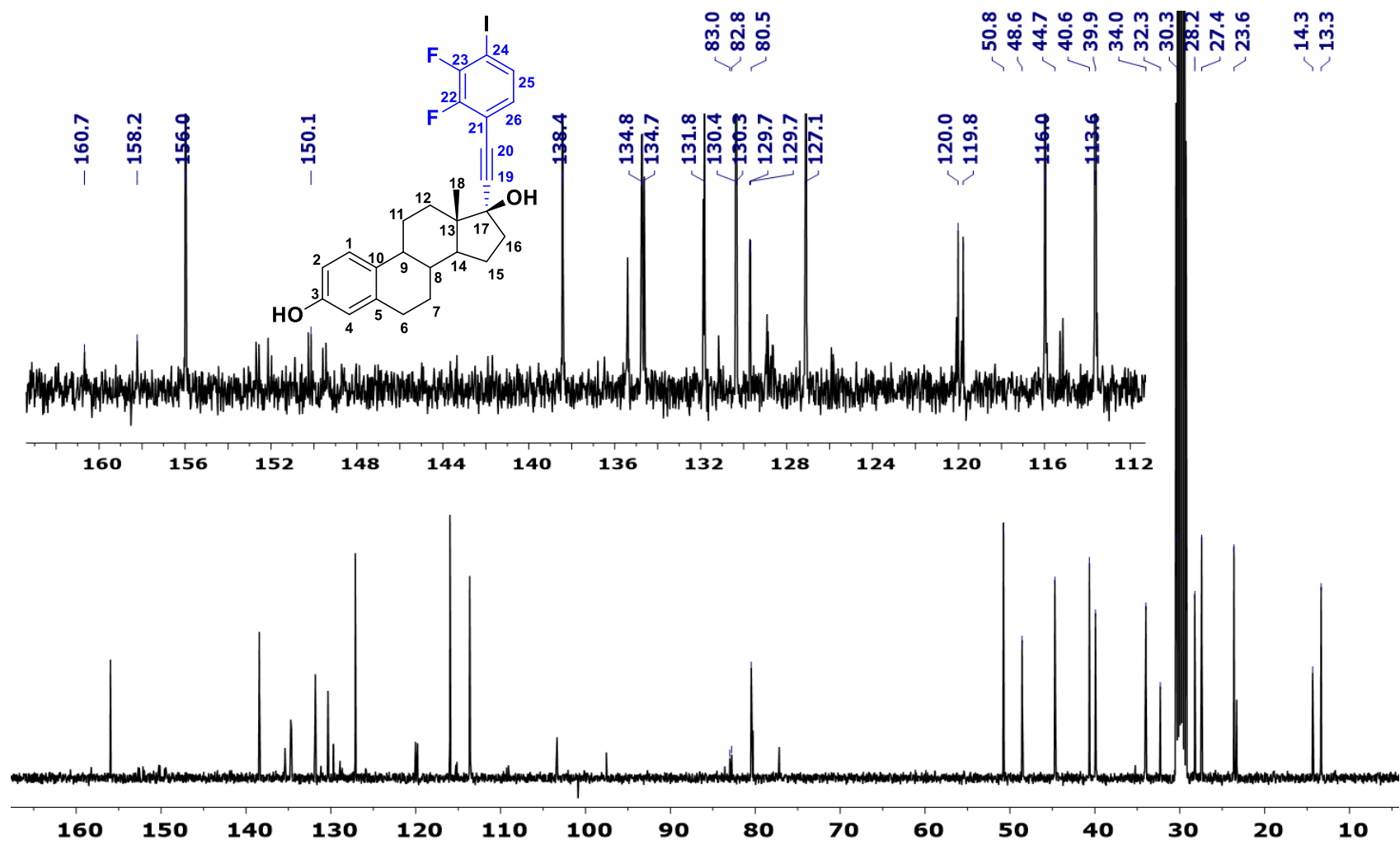
Espectro RMN-¹H de 2,5-bis[3-hidroxi-estra-1,3,5-(10)-trien-17 α -etini]benceno-d₄ 7 [300 MHz, acetona-d₆]



Espectro RMN-¹³C de 2,5-bis[3-hidroxi-estra-1,3,5-(10)-trien-17 α -etilil]benzeno-d₄ 7 [75 MHz, acetona-d₆]



Espectro RMN-¹H de 2,5-bis[3-hidroxi-estra-1,3,5-(10)-trien-17 α -etinil]benceno-d₄ **7a** [400 MHz, acetona-d₆]



Espectro RMN-¹³C de 2,5-bis[3-hidroxi-estra-1,3,5-(10)-trien-17 α -etilil]benceno-d₄ 7a [100 MHz, acetona-d₆]


 Cite this: *CrystEngComm*, 2017, 19, 1771

Synthesis of steroidal molecular compasses: exploration of the controlled assembly of solid organic materials†

 Nancy Aguilar-Valdez,^a Mauricio Maldonado-Domínguez,^a Rafael Arcos-Ramos,^{*b} Margarita Romero-Ávila,^a Rosa Santillan^c and Norberto Farfán^{*a}

In this work, five steroid-flanked derivatives of *p*-nitroaniline were studied to assess the influence of these rigid, chiral frameworks on the solid-state patterning of a dipolar dye, striving to drive the self-assembly of noncentrosymmetric crystals, which is of interest in the development of organic materials for nonlinear optics and piezoelectricity. The featured compounds were prepared using Sonogashira cross-coupling reaction with 17 α -ethynyl steroids as a single key step. The structures of these new steroidal derivatives were established using one and two dimensional NMR ¹H and ¹³C experiments. Single X-ray diffraction analysis unequivocally confirmed the presence of the steroidal molecular compasses **8** and **11**, whose potential applicability for organic materials is preliminarily assessed *via* computational modeling, finding candidates for nonlinear optics, organic electronic materials and molecular recognition.

 Received 20th January 2017,
Accepted 1st March 2017

DOI: 10.1039/c7ce00157f

rsc.li/crystengcomm

Introduction

Steroids are a significant family of bioactive compounds with a wide variety of applications in medicine,^{1–3} biology,^{4–6} organic synthesis^{7–9} and materials science,^{10–12} among others. Nowadays, this kind of naturally occurring compound has been explored in the solid state to understand and control its behavior in condensed phases. Particularly, in the crystalline state, these organic structures are governed by weak inter- and intra-molecular forces that organize and orient the plausible molecular arrangements.¹³ For this reason, comprehension of crystalline arrays and non-covalent interactions becomes relevant to develop functional materials or bioactive molecules based on steroids. Current efforts to control and improve the self-recognition necessary to crystallization demand the presence of specific substituents,¹⁴ accessible upon

modification of the steroidal core, striving to establish inter- or intra-molecular interactions to modulate self-assembly.^{15,16}

Our group has been focused on the development of organic solids based on steroidal compounds with tunable physical properties, particularly in the design and characterization of steroidal molecular rotor architectures that emulate the structure and dynamic properties of macroscopic gyroscopes and compasses.^{17–20} These molecular rotor scaffolds are constructed through linkers between the D-ring of the cyclopentanoperhydrophenanthrene skeleton and a 1,4-phenylene rotator, by using 17 α -ethynyl steroids; the different functionalities on the A, B or C rings dictate the primary and secondary inter- and intra-molecular interactions that create the rigid frameworks in the crystalline state.

As we previously described, the use of steroidal derivatives (ethynylestradiol, mestranol, ethisterone and norethisterone) in the synthesis of dimeric structures produces crystal packings dominated by several hydrogen-bonding interactions (solvent-free or solvates) involving the hydroxyl groups at C-17. The differences in the solid state arrangements arise by the combination of the OH-17 group with functionalities on the steroidal A-ring, for instance, HO_{aromatic} (ethynylestradiol), OME (mestranol), polar α,β -unsaturated ketone (ethisterone and norethisterone), and non-polar double bonds (androstene derivative).

The *p*-nitroaniline building block is commonly used to obtain ordered solids through supramolecular arrays, since it may establish multiple strong, non-covalent interactions; additionally, it has a high dipole moment, which can be engineered towards solid materials with desirable physical

^a Facultad de Química, Departamento de Química Orgánica, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, Ciudad de México, Mexico.

E-mail: norberto.farfán@gmail.com

^b Departamento de Química de Radiaciones y Radioquímica, Instituto de Ciencias Nucleares, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, Ciudad de México, Mexico. E-mail: rafaelarcos84@gmail.com

^c Departamento de Química, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Ciudad de México, Apdo. Postal 14-740, 07000, Mexico

† Electronic supplementary information (ESI) available: Synthetic procedures, ¹H and ¹³C spectral data, theoretical band structure and density of states of **8**, and modeling recognition of small molecules for **11**. Crystallographic data for the structures in this paper has been deposited with the Cambridge Crystallographic Data Centre as supplementary publication no. CCDC 1525777 (**8**) and 1525776 (**11**). For ESI and crystallographic data in CIF or other electronic format see DOI: 10.1039/c7ce00157f

properties. By introducing a *p*-nitroaniline fragment in the steroidal dimers herein studied, we sought non-centrosymmetric crystalline polar arrays, and thus a solid-state material with properties such as second-order nonlinear optical response (NLO) or piezoelectricity.^{21–24}

Herein we describe the synthesis, characterization and SXRD studies of five steroidal molecular compasses 7–11 derived from ethynylestradiol, mestranol, ethisterone, norethisterone and 17 α -ethynyl-5 α -androst-2-en-17 β -ol, using a cross coupling Sonogashira reaction as a key step.^{25,26} The steroidal derivatives include hydroxyl (aromatic), methyl ether (aromatic), oxo (α,β -unsaturated ketone) and double bond moieties at the A-ring; this set of contrasting features is expected to afford different supramolecular arrays and aggregation modes, whose influence on the solid state packing of PNA units is discussed within the context of self-assembled organic materials, with the aid of computational molecular modelling and simulation tools.

Experimental

Materials and synthesis

Reagent-grade solvents were fractionally distilled prior to use. Tetrahydrofuran (THF) was distilled from sodium-benzophenone in a continuous still under a nitrogen atmosphere. CH₂Cl₂ was dried over calcium hydride prior to use. Reactions were monitored by analytical thin layer chromatography (TLC) on pre-coated silica gel plates (ALUGRAM SIL G/UV₂₅₄) revealed by exposure to a UV₂₅₄ lamp. Chromatographic plates were sprayed with 1% solution of vanillin in 50% HClO₄ and heated until color developed. Flash column chromatography was performed using silica gel (230–400 mesh) as the stationary phase.

Ethynylestradiol (2) (17 α -ethynyl-estra-1,3,5-(10)-trien-3-17 β -diol), mestranol (3) (17 α -ethynyl-estra-1,3,5-(10)-trien-17 β -ol-3-methyl ether), ethisterone (4) (17 α -ethynyl-testosterone), norethisterone (5) (19-nor-17 α -ethynyl-testosterone), and 17 α -ethynyl-5 α -androst-2-en-17 β -ol (6) were donated by PROQUINA (Productos Químicos Naturales, México) and were used without further purification. Pd(PPh₃)₂Cl₂, CuI and iPr₂NH are commercially available. 2,5-Dibromo-4-nitroaniline (1) was synthesized following a previously reported three-step methodology starting from 2,5-dibromoaniline.²⁷

Melting points were measured on a Barnstead Electrothermal 9300 apparatus and are uncorrected. FTIR experiments were recorded on a Perkin-Elmer Spectrum 400 FT-IR/FT-FIR with solid samples using attenuated total reflectance, and the units are stated as cm⁻¹. High resolution mass spectra were obtained on an Agilent G1969A spectrometer. Solution NMR experiments were recorded in CDCl₃ and acetone-d₆ on Varian Unity INOVA 300, MR-400 and JEOL ECA 500 spectrometers; chemical shifts (δ) are reported in ppm with respect to TMS using residual solvents as references (CDCl₃ and acetone-d₆). Couplings constants (*J*) are reported in Hz. Multiplicities of signals are reported as: broad (br), singlet (s), doublet (d), doublet-doublet (dd) and triplet (t).

Single X-ray diffraction studies

Single crystal X-ray diffraction analysis for 8 and 11 were performed on an Enraf Nonius Kappa-CCD (λ MoK α = 0.71073 Å, graphite monochromator, *T* = 298 K CCD) at 293(2) K for 8, and 173(2) K for 11. The first structure solution was obtained using the SHELXS²⁸ program and then SHELXL²⁸ program was applied for refinement and output data. After completing the structure, it was found using PLATON²⁹ that a high percentage in the total cell volume was filled with disordered solvent molecules. This is a common phenomenon for steroidal solvates due to significant molecular mobility, making it difficult to find each solvent molecule within the unit cell. This problem was solved by refining the solvent region using the PLATON module SQUEEZE³⁰ to remove the contribution of the electron density in the solvent region from the intensity data, and the solvent-free model was employed for refinement. The heavy atoms were refined anisotropically. Mercury³¹ was used to prepare artwork illustrations. Relevant crystallographic data are listed in Table S1.†

General procedure for Sonogashira cross-coupling reactions

To a previously degassed solution of 2,5-dibromo-4-nitroaniline 1 (2.0 mmol), 17 α -ethynyl steroid 2–6 (1.0 mmol), Pd(PPh₃)₂Cl₂ (0.07 g, 0.1 mmol) and CuI (0.04 g, 0.2 mmol) in dry THF (60 mL), iPr₂NH (3.0 mL) was added in an ultrasonic bath under a nitrogen atmosphere. The reaction mixture was stirred and heated to reflux until consumption of the starting materials. Then, the reaction was cooled down to room temperature and the solvent was removed under vacuum. The residue was dissolved in CH₂Cl₂ or AcOEt (100 mL) and washed with saturated solution of NH₄Cl (3 \times 25 mL) and brine (3 \times 25 mL). The organic portion was dried over anhydrous Na₂SO₄ and evaporated to dryness under vacuum. The crude product was purified by column chromatography over silica gel using [hexane : AcOEt] as the eluent.

2,5-Bis(17 α -ethynyl-estra-1,3,5-(10)-trien-3-17 β -diol)-4-nitroaniline (7)

Yellow crystalline solid (0.67 g, 92%). Melting point (from AcOEt): decomposes at 192 °C. Rf (from hexane : AcOEt 1 : 1): 0.13. FTIR-ATR (ν , cm⁻¹): 3330, 2224, 1620, 1510, 1310, 1238. ¹H-NMR [500 MHz, acetone-d₆] (δ , ppm): 8.05 (s, 1H, H-24), 7.93 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H, HO-3, HO-3'), 7.10 (dd, *J* = 8.4, 3.5 Hz, 2H, H-1, H-1'), 6.95 (s, 1H, H-27), 6.59 (dd, *J* = 8.4, 1.6 Hz, 2H, H-2, H-2'), 6.52 (t, *J* = 2.7 Hz, 2H, H-4, H-4'), 6.09 (br, 2H, NH₂-26), 4.71 (br, 1H, HO-17), 4.55 (br, 1H, HO-17'), 0.95 (d, *J* = 3.4 Hz, 6H, CH₃-18). ¹³C-NMR [125 MHz, acetone-d₆] (δ , ppm): 155.9 (C-3), 153.8 (C-23), 138.4 (C-22), 131.9 (C-10), 131.8 (C-10'), 130.4 (C-24), 127.1 (C-1), 121.3 (C-25), 118.6 (C-27), 115.9 (C-4), 113.6 (C-2), 107.3 (C-26), 102.7 (C-20), 82.2 (C-21), 80.5 (C-17), 80.2 (C-21'), 50.4 (C-14), 50.2 (C-14'), 48.6 (C-13), 48.4 (C-13'), 44.6 (C-9), 44.5 (C-9'), 40.6 (C-8), 40.0 (C-16), 39.9 (C-16'), 34.2 (C-12), 33.8 (C-12'), 30.6 (C-6), 30.3 (C-

6'), 28.2 (C-7), 28.1 (C-7'), 27.4 (C-11), 23.6 (C-15), 13.4 (CH₃-18). HRMS calculated for C₄₆H₄₉N₂O₅, 709.3636. Found 709.3637 [M⁺ - OH].

2,5-Bis(17 α -ethynyl-estra-1,3,5-(10)-trien-17 β -ol-3-methyl ether)-4-nitroaniline (8)

Yellow crystalline solid (0.70 g, 93%). Melting point (from AcOEt): decomposes at 195 °C. Rf (from hexane:AcOEt 1:1): 0.25. FTIR-ATR (ν , cm⁻¹): 3471, 3362, 2223, 1614, 1498, 1303, 1250. ¹H-NMR [400 MHz, CDCl₃] (δ , ppm): 8.28 (s, 1H, H-25), 7.18 (d, J = 8.6 Hz, 2H, H-1, H-1'), 6.86 (s, 1H, H-28), 6.69 (dd, J = 8.6, 2.7 Hz, 2H, H-2, H-2'), 6.61 (d, J = 2.7 Hz, 2H, H-4, H-4'), 4.81 (br, 2H, NH₂-27), 3.77 (s, 6H, CH₃O-20, CH₃O-20'), 0.93 (s, 6H, CH₃-18, CH₃-18'). ¹³C-NMR [100 MHz, CDCl₃] (δ , ppm): 157.4 (C-3), 148.6 (C-24), 139.3 (C-23), 137.9 (C-5), 132.6 (C-10), 130.4 (C-25), 126.3 (C-1), 119.8 (C-26), 118.5 (C-28), 113.4 (C-4), 111.4 (C-2), 106.7 (C-27), 100.7 (C-21), 81.9 (C-22), 80.7 (C-17), 55.2 (CH₃O-20), 49.6 (C-14), 47.9 (C-13), 43.4 (C-9), 39.5 (C-8), 39.0 (C-16), 32.9 (C-12), 29.8 (C-6), 27.3 (C-7), 26.5 (C-11), 23.0 (C-15), 12.9 (CH₃-18). HRMS calculated for C₄₈H₅₃N₂O₅, 737.3949. Found 737.3948 [M⁺ - OH].

2,5-Bis(17 α -ethynyl-17 β -hydroxy-testosterone)-4-nitroaniline (9)

Yellow crystalline solid (0.67 g, 88%). Melting point (from AcOEt): decomposes at 215 °C. Rf (from hexane:AcOEt 1:1): 0.06. FTIR-ATR (ν , cm⁻¹): 3460, 3334, 2222, 1618, 1505, 1310. ¹H-NMR [400 MHz, CDCl₃] (δ , ppm): 8.09 (s, 1H, H-24), 6.74 (s, 1H, H-27), 5.70 (d, J = 3.7 Hz, 2H, H-4, H-4'), 5.06 (br, 2H, NH₂-26), 3.36 (br, 1H, OH-17), 2.94 (br, 1H, OH-17'), 1.18 (d, J = 7.6 Hz, 6H, CH₃-19, CH₃-19'), 0.94 (d, J = 9.5 Hz, 6H, CH₃-18, CH₃-18'). ¹³C-NMR [100 MHz, CDCl₃] (δ , ppm): 200.1 (C-3), 199.7 (C-3'), 172.0 (C-5), 171.3 (C-5'), 151.9 (C-23), 138.7 (C-22), 130.2 (C-24), 124.0 (C-4), 123.8 (C-4'), 120.5 (C-25), 118.1 (C-27), 106.9 (C-26), 101.3 (C-20), 101.2 (C-20'), 82.5 (C-21), 80.4 (C-17), 80.3 (C-17'), 80.0 (C-21'), 53.4 (C-9), 53.3 (C-9'), 50.6 (C-14), 50.0 (C-14'), 47.6 (C-13), 47.3 (C-13'), 39.5 (C-16), 39.0 (C-16'), 38.8 (C-10), 38.7 (C-10'), 36.4 (C-8), 35.7 (C-1), 34.0 (C-2), 33.2 (C-6), 32.9 (C-12), 31.6 (C-7), 23.4 (C-15), 20.9 (C-11), 17.5 (CH₃-19), 13.0 (CH₃-18). HRMS calculated for C₄₈H₅₇N₂O₅, 759.4368. Found 759.4371 [M⁺ - OH].

2,5-Bis(19-nor-17 α -ethynyl-17 β -hydroxy-testosterone)-4-nitroaniline (10)

Yellow crystalline solid (0.66 g, 90%). Melting point (from AcOEt): decomposes at 210 °C. Rf (from hexane:AcOEt 1:1): 0.07. FTIR-ATR (ν , cm⁻¹): 3458, 3447, 2220, 1657, 1511, 1312. ¹H-NMR [400 MHz, CDCl₃] (δ , ppm): 8.11 (s, 1H, H-24), 6.57 (s, 1H, H-27), 5.82 (s, 2H, H-4, H-4'), 4.93 (br, 2H, NH₂-26), 0.96 (d, J = 8.5 Hz, 6H, CH₃-18, CH₃-18'). ¹³C-NMR [100 MHz, CDCl₃] (δ , ppm): 200.3 (C-3), 200.0 (C-3'), 167.1 (C-5), 166.5 (C-5'), 151.6 (C-23), 139.0 (C-22), 130.3 (C-24), 124.8 (C-4), 124.6 (C-4'), 120.5 (C-25), 118.1 (C-27), 106.9 (C-26), 101.3 (C-20), 101.2 (C-20'), 82.6 (C-21), 80.6 (C-17), 80.5 (C-17'), 80.1 (C-21'), 50.0 (C-9), 49.4 (C-9'), 49.2 (C-14), 49.1 (C-14'), 47.8 (C-

13), 47.5 (C-13'), 42.7 (C-8), 41.2 (C-10), 39.5 (C-16), 39.0 (C-16'), 36.6 (C-2), 35.6 (C-6), 33.2 (C-12), 32.8 (C-12'), 30.8 (C-7), 26.7 (C-1), 26.6 (C-1'), 26.4 (C-11), 26.3 (C-11'), 23.3 (C-15), 23.2 (C-15'), 13.0 (CH₃-18). HRMS calculated for C₄₆H₅₅N₂O₆, 731.4055. Found 731.4057 [M⁺ - H⁺].

2,5-Bis(17 α -ethynyl-5 α -androst-2-en-17 β -ol)-4-nitroaniline (11)

Yellow crystalline solid (0.65 g, 70%). Melting point (from AcOEt): decomposes at 210 °C. Rf (from hexane:AcOEt 1:1): 0.38. FTIR-ATR (ν , cm⁻¹): 3486, 3392, 3025, 2216, 1615, 1510, 1305. ¹H-NMR [400 MHz, CDCl₃] (δ , ppm): 8.15 (s, 1H, H-24), 6.79 (s, 1H, H-27), 5.59 (m, 4H, H-2, H-2', H-3, H-3'), 4.82/br, 2H, NH₂-26), 0.91 (d, J = 4.0 Hz, 6H, CH₃-19, CH₃-19'), 0.78 (d, J = 2.8 Hz, 6H, CH₃-18, CH₃-18'). ¹³C-NMR [100 MHz, CDCl₃] (δ , ppm): 151.2 (C-23), 139.3 (C-22), 130.1 (C-24), 125.9 (C-2, C-2'), 125.8 (C-3, C-3'), 120.5 (C-25), 118.0 (C-27), 107.0 (C-26), 101.4 (C-20), 101.3 (C-20'), 82.3 (C-21), 80.8 (C-17), 79.9 (C-21'), 53.6 (C-9), 53.5 (C-9'), 51.1 (C-14), 50.6 (C-14'), 47.6 (C-13), 47.3 (C-13'), 41.4 (C-5), 39.8 (C-16), 39.7 (C-16'), 39.0 (C-10), 36.3 (C-8), 34.7 (C-1), 33.4 (C-12), 33.0 (C-12'), 31.9 (C-7), 31.4 (C-7'), 30.3 (C-6), 28.6 (C-4), 23.3 (C-15), 20.6 (C-11), 12.9 (CH₃-19, CH₃-19'), 11.7 (CH₃-18, CH₃-18'). HRMS calculated for C₄₈H₆₀N₂O₅, 713.4677. Found 713.4681 [M⁺ - H₂O].

Theoretical methods

The contents of the unit cells obtained from **8** and **11** were optimized at the DFT level using the Dmol3 code,³² with the PBE functional and the double-zeta polarized numerical basis DNP+, including diffuse functions. Cell dimensions were kept as experimentally obtained. Dispersion correction by Tkatchenko and Scheffler (TS) was applied to achieve an adequate description of non-covalent contacts.³³ Plane-wave DFT computations on solids were carried out using the CASTEP module,³⁴ with the PBE functional with TS dispersion corrections and norm-conserving pseudopotentials. The plane-wave energy cutoff was set to 750.0 eV.

To model the recognition of small molecules, the Sorption code was employed, with the COMPASS force field, using the Ewald & Group summation method and the Metropolis algorithm for Monte Carlo simulation of the absorption process. 10 fugacity steps were covered from 0.01 to 10 kPa; 1 000 000 equilibration steps and 10 000 000 production steps were employed for each fugacity step, ensuring a thorough sampling of the available sorption modes. Fugacity was sampled in logarithmically spaced steps, so a finer detail is captured at the early stages of the sorption processes. All programs are bundled within the Materials Studio 8 suite.³⁵

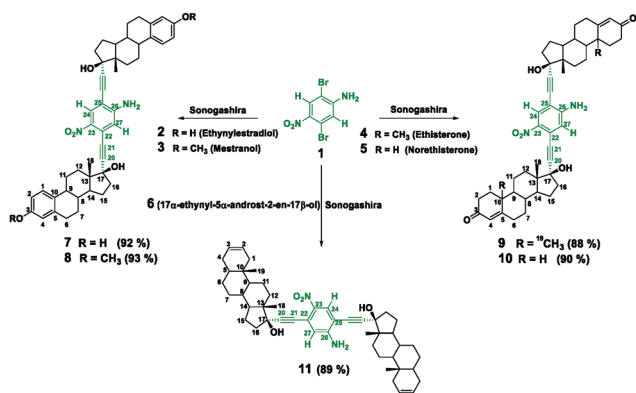
Results and discussion

Synthesis and characterization

The steroidal molecular compasses **7–11** were synthesized *via* double Sonogashira cross-coupling reactions between the corresponding 17 α -ethynyl steroids **2–6** and 2,5-dibromo-4-

nitroaniline **1** with Pd(PPh₃)₂Cl₂ and CuI as the catalysts, and using iPr₂NH as base under nitrogen atmosphere (Scheme 1).

Characterization and assignment of steroidal molecular compasses **7–11** were carried out by using solution NMR. Relevant chemical shifts of the hydrogen and carbon atoms that constitute the PNA fragment are compiled in Table S3.† Notably, in all steroidal derivatives, the presence of the NO₂ and NH₂ substituents render the two halves of the molecule non-equivalent; for this reason, in the ¹H and ¹³C NMR spectra a large number of resolved signals are present. High resolution mass spectrometry (HRMS-ESI-TOF) confirmed the expected molecular weight



Scheme 1 Synthesis of steroidal molecular compasses **7–11** with atom numbering (for mestranol derivative **8**, see the ESI†).

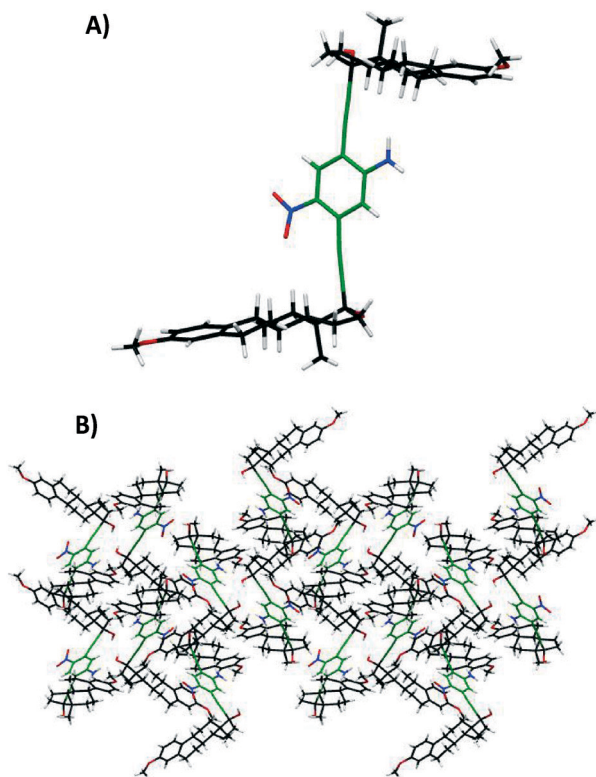


Fig. 1 A) Molecular structure of **8** with an *anti*-conformation. B) Highly dense crystal packing found in compound **8**, viewed along the crystallographic *b* axis. The stators are in black, and the 1,4-diethynylphenylene rotator is in green.

of the corresponding compounds, 709.3637 [M⁺ – OH] for **7**, 737.3948 [M⁺ – OH] for **8**, 759.4371 [M⁺ – OH] for **9**, 731.4057 [M⁺ + H⁺] for **10** and 713.4681 [M⁺ + H₂O] for **11**.

Structural analyses: SXRD studies

Suitable crystals for X-ray analysis of compounds **8** and **11** were obtained during slow evaporation or diffusion of methanol and methylene chloride : hexane at room temperature, respectively; both compounds crystallized as yellowish needles. The solvent-free crystal structure of **8** (Fig. 1A) was solved in the orthorhombic *P*₂₁₂₁₂₁ space group, with one molecule per asymmetric unit (*Z'* = 1). This crystalline form is quite common in mestranol based molecular rotors with an *anti*-conformation.^{18,20} Therefore, the torsion angle value (∠C13–C17–C17′–C13′, 145.48°) indicates the relative position of the steroidal frames, which in our case confirms the *anti*-conformation. In addition, a measure of the deviation from the linearity of the diethynylphenylene fragment is the angle (∠C17–centroid–C21′, 3.76°), which resulted in a value close to the ideal value of 0°. In a similar manner, the angle (∠C17–centroid–C23, 61.52°) confirmed that the arrangement of the central phenyl ring is not distorted. The supramolecular organization of compound **8** implicates strong hydrogen bonding interactions between NO₂/NH₂ substituents and the hydroxyl group at C-17 [O–H⋯O_{nitro}, 2.00 Å (angle of 171.9°) and N–H⋯O_{hydroxyl}, 2.03 Å (angle of 161.4°)]. Furthermore, all the hydrogen-bonding functionalities (except the O_{methoxy} atom) are involved in different secondary interactions such as [C7–H7⋯O_{nitro} (angle of 150°), 2.61 Å, C20–H20⋯O_{hydroxyl}, 2.50 Å (angle of 169.7°), and C20–H20⋯π_{centroid-nitroaniline}, 3.19 Å (angle of 84.9°)], which resulted in a highly dense crystal packing (Fig. 1B).

In the case of compound **11**, with a double bond in the A-ring, it crystallized in the monoclinic space group *C*₂ with one molecule per asymmetric unit (*Z'* = 1) (Fig. 2A). Compared with compound **8**, the torsion angle value (∠C13–C17–C17′–C13′, 45.54°) measured for **11** demonstrates the *syn*-conformation of the steroidal fragments. In this compound was found an angle value (∠C17–centroid–C21′, 4.79°) which indicates a larger deviation from linearity for the diethynylphenylene fragment. In a similar manner to **8**, the angle value (∠C17–centroid–C23, 62.00°) measured in **11** confirmed that the central phenyl ring is not distorted. Analyzing the crystal packing, strong hydrogen-bonding interactions are present between hydroxyl groups of adjacent molecules, and also with the NO₂ substituent of the PNA ring [O–H⋯O_{hydroxyl}, 2.07 Å (angle of 166.1°) and bifurcated O–H⋯O_{nitro}, 2.36 and 2.20 Å (angles of 158.4° and 147.2°)]; these interactions promote an *anti*-parallel bilayered arrangement along the crystallographic *ac* plane as depicted in Fig. 2B. These bilayered units are held by strong facial hydrophobic interactions between the β-faces of neighboring steroidal fragments, producing a channeled supramolecular self-assembly (Fig. 2C). Interestingly, the amino group did not participate in hydrogen-bonding interactions.

Computational modelling

Mestranol derivative **8** includes π -stackable units constrained to a nearly orthogonal configuration with respect to PNA, and, as seen in the crystal structure, the resulting solid displays stacking along multiple axes. This has been linked to

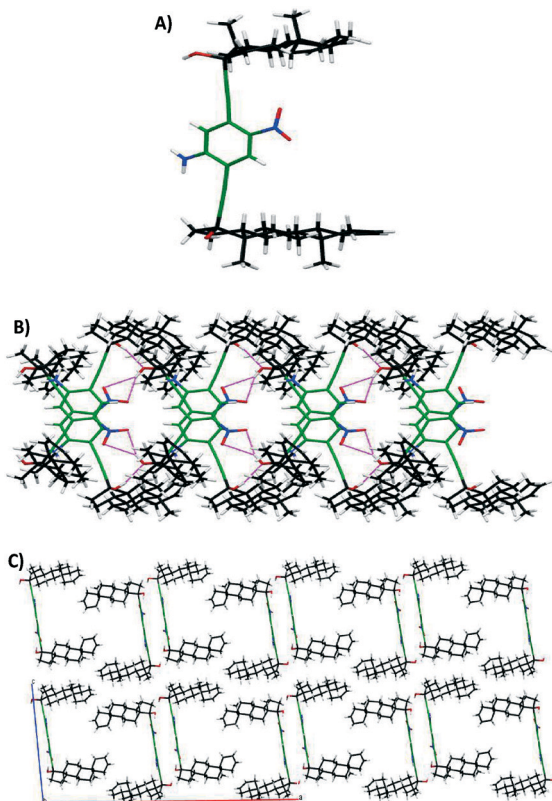


Fig. 2 A) Molecular structure of **11** with an *anti*-conformation. B) Anti-parallel bilayered arrangement due to strong hydrogen-bonding interactions (viewed along the *a* axis), and C) supramolecular self-assembly found in **11** (viewed along the *b* axis). The steroidal stators are in black and the 1,4-diethynylphenylene rotators are in green.

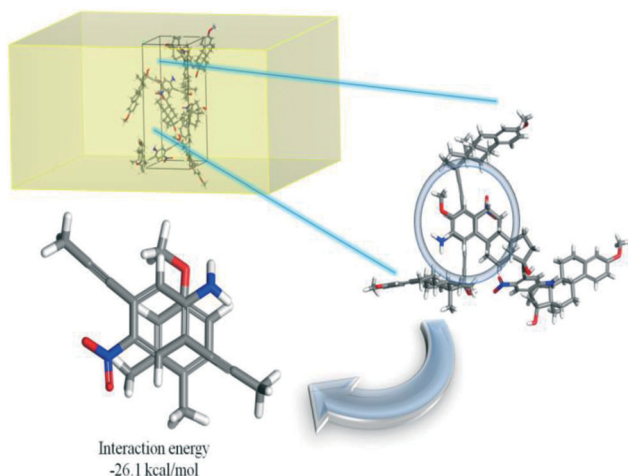


Fig. 3 Model system of the stacked units present in the crystal of **8**. The subsystem was extracted from the lattice and refined at the M06-L/DNP+ level *in vacuo*.

narrow valence–conduction band gaps in organic crystals, when compared with uniaxial stacking; yet this spontaneous self-assembly is still difficult to control with typical planar chromophores.³⁶

The theoretical valence–conduction band gap for this crystal predicts a 1.6 eV. Although larger than the corresponding gap for rubrene (1.1 eV) at the same level, this value is promising since the density of stackable units in the system is relatively low; hence further refinement can lead to systems whose solid-state array may be programmed at the molecular level, for the self-assembly of organic semiconductors.

Concerning the dominant MeOPh-PNA stacked motif in this crystalline solid, a model system was extracted from the crystal and refined using the *meta*-GGA functional M06-L, estimating a $-26.1 \text{ kcal mol}^{-1}$ energy associated with this interaction, which is key in the crystal assemblage observed (Fig. 3). Although a non-centrosymmetric crystal was obtained, given the natural asymmetry of steroidal frameworks, the gyroscope-like nature of the molecules allowed for internal dipole cancelling of PNA units, disfavoring the appearance of second-order NLO or piezoelectric response in the solid phase. However, the theoretical band structure and density of states of this solid suggest that it may serve as a starting point for the design of organic semiconductors.

Regarding the crystal obtained from **11**, this derivative possesses a unique structure among the explored set of molecules. With non-polar steroidal fragments and a dipolar locus at the PNA core, this molecule can be classified as an amphiphilic system, analogous to *gemini* surfactants.³⁷ This feature is captured in its crystal packing, where lipid bilayer-like arrangements are formed. Steroid skeletons pack closely in hydrophobic domains, while PNA nuclei are involved in π -stacking and extensive hydrogen bonding, as already illustrated. This self-assembled solid has two distinctive structural features, which render it an interesting candidate for further studies. First, in contrast to the mestranol-derived crystal **8**, here the solid has a net polarization since dipoles do not cancel, but add together periodically. This structural feature may be of interest not only for NLO testing, but also for piezoelectric evaluation. The second relevant feature of this solid is the presence of one-dimensional channels, where small molecules can be recognized or trapped.

As a preliminary means of assessing the latter application, the solid was subjected, *in silico*, to atmospheres of small molecules: carbon monoxide (CO), carbon dioxide (CO₂), carbonyl sulfide (COS), methane (CH₄), ethane (C₂H₆), ethylene (C₂H₄), acetylene (C₂H₂) and benzene (C₆H₆), at 298 K (Fig. 4). These molecules are relatively rigid and serve the purpose of probing the affinity of the cavities to the molecular size, shape, polarity, and unsaturation degree. Average sorption energies and molecule loads per cell are included in Table 1.

As can be seen, the cavities present in the layered crystal of **11** showed the highest affinity for aromatic systems amenable to planar stacking, where saturation is immediately reached even at low fugacity (see the ESI†), and for polar gases such as carbonyl sulfide, which is of interest for natural

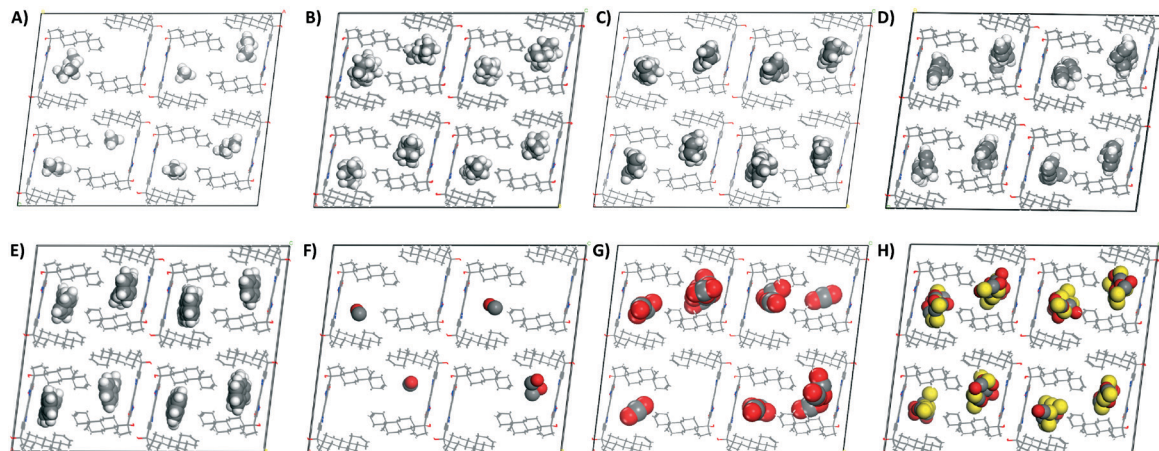


Fig. 4 Front views of the channels present in the crystal from **11**, loaded with A) CH₄, B) C₂H₆, C) C₂H₄, D) C₂H₂, E) C₆H₆, F) CO, G) CO₂, and H) COS at 10 kPa fugacity and 298 K.

Table 1 Average loadings and isosteric heats of adsorption for small molecules in the crystal of **11**. Values computed at 298 K with the COM-PASS force field and 10 kPa fugacity

	Average loading per cell	$\Delta E_{\text{adsorption}}$ (kcal mol ⁻¹)
CH ₄	5.8	-5.0
C ₂ H ₆	45.2	-7.8
C ₂ H ₄	53.9	-8.2
C ₂ H ₂	59.9	-8.3
C ₆ H ₆	64.0	-20.4
CO	1.6	-4.2
CO ₂	15.0	-6.9
COS	101.4	-12.7

gas sweetening. As for hydrocarbons, increasing the degree of unsaturation leads to higher average sorption. These features will be further explored for molecular recognition experiments in the upcoming work. The adsorption isotherms at 298 K and energy distributions for all the sorbates are included in the ESI.†

Conclusions

A family of 5 steroid-flanked derivatives of *p*-nitroaniline was synthesized, characterized and described. The influence of different functionalities over the A-ring of steroidal frameworks on the solid-state behavior was assessed, revealing that ethynylestradiol, ethisterone and norethisterone led primarily to poorly crystalline solids, while mestranol and 17 α -ethynyl-5 α -androst-2-en-17 β -ol led to crystalline solids, whose structures were solved and discussed *via* SXRD. The solid-state patterning provided by mestranol involves planar stacking among aromatic units, along several axes of stacking, a feature that can be exploited for the design of self-assembled organic semiconductors. The crystal obtained from 17 α -ethynyl-5 α -androst-2-en-17 β -ol features a *gemin*i lipid bilayer-like structure, whose asymmetric packing deserves further studies of piezoelectric and second-order NLO response. This assemblage presents one-dimensional channels where small mole-

cules were probed *in silico* for molecular recognition, showing a high affinity for aromatic small molecules, unsaturated hydrocarbons and carbonyl sulfide, an undesired molecule in natural gas, whose selective adsorption in solids can be explored for oil sweetening purposes.

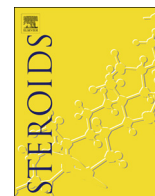
Acknowledgements

Thanks are due to DGAPA-ICN for the postdoctoral fellowship granted to R. Arcos-Ramos. We also gratefully acknowledge CONACYT for the scholarship granted to N. A. V. (576517). N. Farfán acknowledges DGAPA-PAPIIT IN-216616. The authors thank M. E. Ochoa for NMR spectra and G. Cuellar for HRMS. The authors would like to express their gratitude to Marco A. Leyva-Ramírez (CINVESTAV-IPN) for X-Ray diffraction experiments as well as crystal structure solution and refinement.

Notes and references

- B. Sathish, D. Singh Raghuvanshi, M. Hasanain, S. Alam, J. Sarkar, K. Mitra, F. Khan and A. S. Negi, *Steroids*, 2010, **110**, 9–34.
- A. S. Mihailidou and A. W. Asthon, *Steroids*, 2014, **91**, 32–37.
- A. T. Slominski, P. R. Manna and R. C. Tuckey, *Steroids*, 2015, **103**, 72–88.
- J. O. H. Perez-Diaz, L. Rarova, J. P. Muñoz Ocampo, N. E. Magaña-Vergara, N. Farfán, M. Strand and R. Santillan, *Eur. J. Med. Chem.*, 2012, **51**, 67–78.
- I. Podolak, A. Galanty and D. Sobolewska, *Phytochem. Rev.*, 2010, **9**, 425–474.
- M. Cabeza, A. Posada, A. Sanchez-Marquez, Y. Heuze, I. Moreno, J. Soriano, M. Garrido, F. Cortes and E. Bratoeff, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 2016, **31**, 53–62.
- C. Alarcón-Manjarrez, R. Arcos-Ramos, M. Flores-Alamo and M. A. Iglesias-Arteaga, *Steroids*, 2016, **109**, 66–72; R. O. Arcos-Ramos and M. A. Iglesias-Arteaga, *Tetrahedron Lett.*, 2006, **47**, 8029–8031; R. O. Arcos-Ramos, M. A. Iglesias-Arteaga and J. M. Mendez-Stivalet, *Tetrahedron Lett.*, 2007, **48**, 485–488.

- 8 A. Corona Díaz, J. P. García-Merinos, Y. López, J. B. González Campos, R. E. del Río, R. Santillan, N. Farfán and J. W. Morzycki, *Steroids*, 2015, **100**, 36–43.
- 9 Y. L. Zhang, Y. F. Li, J. W. Wang, B. Yu, Y. K. Shi and H. M. Liu, *Steroids*, 2016, **109**, 22–28.
- 10 C. Jiménez-García, R. Arcos-Ramos, J. M. Mendez-Stivalet, R. Santillan and N. Farfán, *Monatsh. Chem.*, 2015, **146**, 1005–1013; D. Czajkowska-Szczykowska, A. Aguilar-Granda, J. Maj, A. Z. Wilczwska, S. Witrowski, R. Santillan, N. Farfán, J. W. Morzycki and B. Rodriguez-Molina, *Cryst. Growth Des.*, 2016, **16**, 1599–1605.
- 11 N. L. Babak, O. V. Shishkin, S. V. Shishkina, I. M. Gella, V. I. Musatov, N. B. Novikova and V. V. Lipson, *Struct. Chem.*, 2016, **27**, 294–303; C. Wu, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, 2015, **609**, 31–39.
- 12 P. R. Brotherhood and A. P. Davis, *Chem. Soc. Rev.*, 2010, **39**, 3633–3647; R. Natarajan, L. Bridgland, A. Sirikulkajorn, J. H. Lee, M. F. Haddow, G. Magro, B. Ali, S. Narayanan, P. Strickland, J. P. H. Charmant, A. G. Orpen, N. B. McKeown, C. G. Bezzu and A. P. Davis, *J. Am. Chem. Soc.*, 2013, **135**, 16912–16925.
- 13 K. Müller-Dethlefs and P. Hobza, *Chem. Rev.*, 2000, **100**, 143–167.
- 14 A. Mukherjee, *Cryst. Growth Des.*, 2015, **15**, 3076–3085; J. A. R. P. Sarma and G. R. Desiraju, *Cryst. Growth Des.*, 2002, **2**, 93–100.
- 15 J. D. Dunitz and A. Gavezotti, *Cryst. Growth Des.*, 2012, **12**, 5873–5877.
- 16 C. Neto, M. C. Oliveira, L. Gano, F. Marques, T. Yasuda, T. Thiemann, T. Kniess and I. Santos, *Steroids*, 2012, **77**, 1123–1132.
- 17 I. Jastrzebska, T. Pawlak, R. Arcos-Ramos, E. Florez-Lopez, N. Farfán, D. Czajkowska-Szczykowska, J. Maj, R. Santillan, J. W. Morzycki and M. J. Potrzebowski, *Cryst. Growth Des.*, 2016, **16**, 5698–5709.
- 18 B. Rodriguez-Molina, A. Pozos, R. Cruz, M. Romero, B. Flores, N. Farfán, R. Santillan and M. A. Garcia-Garibay, *Org. Biomol. Chem.*, 2010, **8**, 2993–3000; B. Rodriguez-Molina, N. Farfán, M. Romero, J. M. Mendez-Stivalet, R. Santillan and M. A. Garcia-Garibay, *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, **133**, 7280–7283.
- 19 D. Czajkowska-Szczykowska, B. Rodriguez-Molina, N. E. Magaña-Vergara, R. Santillan, J. W. Morzycki and M. A. Garcia-Garibay, *J. Org. Chem.*, 2012, **77**, 9970–9978.
- 20 B. Rodriguez-Molina, M. E. Ochoa, M. Romero, S. I. Khan, N. Farfán, R. Santillan and M. A. Garcia-Garibay, *Cryst. Growth Des.*, 2013, **13**, 5107–5115.
- 21 T. Panunto, Z. Urbanczyk-Lipkowska, R. Johnson and M. Etter, *J. Am. Chem. Soc.*, 1987, **109**, 7786–7797.
- 22 J. Ellena, A. Goeta, J. Howard, C. Wilson, J. Autino and G. Punte, *Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci.*, 1999, **55**, 209–215.
- 23 J. Ellena, A. Goeta, J. Howard and G. Punte, *J. Phys. Chem. A*, 2001, **105**, 8696–8708.
- 24 A. Tayi, A. Kaeser, M. Matsumoto, T. Aida and S. Stupp, *Nat. Chem.*, 2015, **7**, 281–294.
- 25 R. Chinchilla and C. Nájera, *Chem. Soc. Rev.*, 2011, **40**, 5084–5121.
- 26 R. Chinchilla and C. Nájera, *Chem. Rev.*, 2007, **107**, 874–922.
- 27 Z. Dominguez, T. A. V. Khuong, H. Dang, C. R. Sanrame, J. E. Nuñez and M. A. Garcia-Garibay, *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, **125**, 8827–8837.
- 28 G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr., Sect. C: Struct. Chem.*, 2015, **71**, 3–8.
- 29 A. L. Spek, *Acta Crystallogr., Sect. D: Biol. Crystallogr.*, 2009, **65**, 148–155.
- 30 A. L. Spek, *Acta Crystallogr., Sect. C: Struct. Chem.*, 2015, **71**, 9–18.
- 31 C. F. Macrae, P. R. Edington, P. McCabe, E. Pidcock, G. P. Shields, R. Taylor, M. Towler and K. J. van de Streek, *J. Appl. Crystallogr.*, 2006, **39**, 453–457.
- 32 B. Delley, *J. Chem. Phys.*, 1990, **92**, 508–517; B. Delley, *J. Chem. Phys.*, 2000, **113**, 7756–7764.
- 33 A. Tkatchenko and M. Scheffler, *Phys. Rev. Lett.*, 2009, **102**, 073005.
- 34 S. J. Clark, M. D. Segall, C. J. Pickard, P. J. Hasnip, M. J. Probert, K. Refson and M. C. Payne, *Z. Kristallogr. - New Cryst. Struct.*, 2005, **220**, 567–570.
- 35 Computational results are obtained using software programs from Dassault Systemes Biovia Corp. Graphical displays are generated with Materials Studio.
- 36 R. Arcos-Ramos, M. Maldonado-Domínguez, J. Ordóñez-Hernández, M. Romero-Ávila, N. Farfán and M. P. Carreón-Castro, *J. Mol. Struct.*, 2017, **1130**, 914–921; J. E. de la Cerda-Pedro, R. Arcos-Ramos, M. Maldonado-Domínguez, S. Rojas-Lima, M. Romero-Ávila, M. P. Carreón-Castro, R. Santillan, N. Farfán and H. López-Ruiz, *CrystEngComm*, 2016, **18**, 5562–5571.
- 37 F. M. Menger and C. A. Littau, *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, **115**, 10083–10090.



Synthesis, complete NMR assignment and structural study of a steroidal dimer of 17 α -ethynyl-5 α ,10 α -estran-17 β -ol with diethynylbenzene spacer



Nancy Aguilar-Valdez^a, Nuria Esturau-Escofet^b, Oscar González-Antonio^a, Margarita Romero-Ávila^a, Blas Flores-Pérez^a, Marco A. Leyva^c, David Díaz^d, Rosa Santillan^c, Norberto Farfán^{a,*}

^a Facultad de Química, Departamento de Química Orgánica, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510 Ciudad de México, Mexico

^b Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510 Ciudad de México, Mexico

^c Departamento de Química, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Ciudad de México, Apdo. Postal 14-740, 07000, Mexico

^d Facultad de Química, Departamento de Química Inorgánica y Nuclear, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510 Ciudad de México, Mexico

ARTICLE INFO

Keywords:

Steroidal dimer
Cis-fused steroid
Hydrophobic-induced self-assembly
NMR

ABSTRACT

A phenylene-bridged steroidal dimer derived from 17 α -ethynyl-5 α ,10 α -estran-17 β -ol with molecular rotor-like architecture was synthesized to investigate the supramolecular interactions directing the crystallization of these systems. Structures with varying importance in complementarity between H-bonding and hydrophobic interactions can be observed directing the packing of the obtained crystals, depending on the synthetic stage, though conserving the same space group for both systems. Such behavior clearly shows the versatility achievable using steroids as crystal packing directors. Alongside this structural study, the complete NMR assignment is presented for the dimer, and precursors, in which the steroids present an unconventional and noteworthy A-B ring fusion.

1. Introduction

In the pursuit of molecules with application in materials science, the use of steroidal derivatives as building blocks of more complex systems has received increasing attention. Exploration of the structural properties of these species has resulted in applications in molecular recognition [1], both in solution [2,3] and solid state [4,5] and even in the development of supramolecular gels [6].

The fact that small changes in the functionalities attached to the steroid skeleton can lead to important changes in their biological activity and physicochemical properties [7], has prompted synthetic chemists to carry out structural modifications of steroids that also include preparation of steroid dimers.

Dimeric steroids were first synthesized [8,9] and then they were discovered as natural products. From then on, a broad range of dimeric steroidal structures have been obtained with different direct connections between steroid units and with or without spacer groups [10,11]. Dimerization of steroid skeletons offers some unique characteristics that are applicable in different areas.

Among the first properties of steroid dimers explored are their applications in catalysis, particularly in hydrolysis reactions [12]. These dimeric systems also display detergency, micellar and liquid crystal behavior [13]. More recently, steroidal dimers derived from

testosterone and estradiol dimers showed cytotoxic activity in cancer cell lines and antimycotic properties [14,15].

Another way to approach these structures is in the context of crystalline molecular materials. The use of steroidal dimers as molecular rotors has shown that these systems could present internal rotational motion of high frequency in the crystalline state [16,17]. Also, molecules with a dipole moment in the central phenylene (mobile component), such as a *p*-nitroaniline fragment, could allow to access supramolecular assemblies with non-linear optic response, piezoelectricity and host crystals that recognize small molecules in solid state [18].

Several systems have been developed with phenylene used as spacer and steroidal fragments that have different functionalities in the steroidal skeleton, both symmetric and asymmetric molecules [19–21], but until now, molecules without functional groups in the A, B and C rings have not been evaluated.

In this work, the synthesis, complete NMR characterization and structural study of a steroidal dimer with a molecular rotor-like architecture is presented. The steroidal fragment that was used to build the dimer has not been previously synthesized. A noteworthy characteristic of this system is the absence of functional groups in the A, B, and C rings as well as a *cis*- α A-B ring fusion, that is not common in steroids, making it an interesting precursor. We envisioned to establish a first approximation of some simple statements about the supramolecular

* Corresponding author.

interactions that originate the observed crystalline packing through the analysis of the self-assembly.

2. Experimental section

2.1. Materials and synthesis

All the solvents were distilled prior to use. The steroidal starting material was donated by Syntex México and previously purified by column chromatography using hexane/AcOEt (9:1) as eluent. Pd (PPh₃)₂Cl₂, CuI, iPr₂NH, 1,4-diodobenzene, and anhydrous tetrahydrofuran (THF) were purchased from Merck.

Reactions were monitored by analytical thin layer chromatography (TLC) on pre-coated silica gel plates (ALUGRAM SIL G/UV₂₅₄). To observe properly the separation in the plates, they were sprayed with 0.5% solution of vanillin in 30% HClO₄ and heated until color developed. Flash column chromatography was performed using silica gel (230–400 mesh) as the stationary phase.

Melting points were measured on an Electrothermal 9100 apparatus and are uncorrected. FTIR experiments were recorded on an Agilent Technologies Cary 600 series with solid samples using attenuated total reflectance, and the units are stated as cm⁻¹. High resolution mass spectra were obtained on an Agilent UHPLC (1290 Infinity)-MS (6530 Accurate-Mass QTPF) spectrometer.

Solution NMR experiments were recorded on a Bruker Avance III HD 700 spectrometer (operating at proton nominal frequency of 699.95 MHz) equipped with a 5-mm z-axis gradient TCI cryoprobe. The samples were dissolved in CDCl₃ at 25 °C. Proton, carbon, homonuclear correlated spectroscopy (COSY), heteronuclear single-quantum correlation spectroscopy (HSQC), edited-HSQC, heteronuclear 2 bond correlation (H2BC), heteronuclear multiple-bond correlation spectroscopy (HMBC), distortionless enhancement by Polarization transfer using a 135 degree decoupler pulse. (DEPT 135) and nuclear overhauser effect spectroscopy (NOESY) experiments were acquired using the standard pulse sequence taken from the Bruker software library. The chemical shifts (δ) are reported in ppm relative to the solvent resonance as the internal standard (CDCl₃: δ_H = 7.26, δ_C = 77.16). All NMR spectra were processed employing the MestreNova NMR processing program.

2.1.1. Jones oxidation of compound (1). Preparation of 5α,10α-estran-17-one (2)

For the synthesis of compound **2** we followed the experimental technique previously described by Iglesias-Arteaga [22] using steroidal alcohol **1** (4.09 mmol, 1.073 g) dissolved in 80 mL of CH₂Cl₂ and a mixture of silica gel-supported Jones Reagent (prepared from 4.7 mL of Jones reagent and 9.2 g of silica gel). White crystalline solid (760 mg, 72%). Melting point: 57.5–58.9 °C. ¹H NMR [400 MHz, CDCl₃] (δ, ppm): 2.32 (m, 2H, H-16), 1.96 (m, 2H, H-15), 0.96 (s, 3H, H-18). ¹³C NMR [101 MHz, CDCl₃] (δ, ppm): 220.96 (C-17), 51.44 (C-14), 48.09 (C-13), 47.96 (C-9), 40.96 (C-10), 37.79 (C-16), 35.73 (C-5), 33.91 (C-8), 32.48 (C-12), 31.67 (C-4), 30.96 (C-6), 26.86 (C-3), 25.24 (C-11), 24.14 (C-7), 21.61 (C-15), 21.68 (C-1), 21.36 (C-2), 13.62 (C-18). FTIR-ATR (ν, cm⁻¹): 2947, 1714, 1248, 1211, 1135, 1014, 980, 914, 835. HRMS-ESI-TOF: Calculated for: C₁₈H₂₉O *m/z* 261.2218; Found: C₁₈H₂₉O *m/z* 261.2215. Error: -1.48 ppm; [M + H]⁺.

2.1.2. Preparation of 17α-ethynyl-5α,10α-estran-17β-ol (3)

A solution of ketone **2** (2.91 mmol, 760 mg) in dried THF (10 mL) under nitrogen atmosphere, was cooled to 0 °C for 10 min, then ethynylmagnesium bromide 0.5 M (23.25 mmol, 46.5 mL) was added dropwise during 10 min. After the addition, the reaction mixture was stirred at room temperature for 14 h until consumption of the starting material. The reaction mixture was diluted with ethyl acetate (50 mL) and the organic solution was washed with NH₄Cl_{sat} (2x 15 mL), water (2x10 mL) and NaCl brine. The organic portion was dried over Na₂SO₄ and evaporated to dryness. The solid was purified by column

chromatography using hexane:ethyl acetate (8:2) as eluent. White powder (265 mg, 32%). Melting point: 158.9–161 °C. ¹H NMR [700 MHz, CDCl₃] (δ, ppm): 2.56 (s, 1H, H-21), 2.26 (ddd, *J* = 13.8, 9.7, 5.7 Hz, 1H, H-16α), 1.96 (ddd, *J* = 13.8, 12.0, 4.0 Hz, 1H, H-16β), 1.86 (1H, OH-17), 1.77–1.13 (m, 21H, H-1 to H-5, H-6, H-7, H-7', H-8, H-10, H-11 to H-15) 1.06 (m, 1H, H-9), 0.86 (m, 1H, H-6), 0.82 (s, 3H, H-18). ¹³C NMR [176 MHz, CDCl₃] (δ, ppm): 87.85 (C-20), 80.10 (C-17), 73.91 (C-21), 50.59 (C-14), 47.63 (C-9), 47.46 (C-13), 41.24 (C-10), 39.09 (C-16), 38.07 (C-5), 35.25 (C-8), 32.99 (C-12), 32.79 (C-4), 31.87 (C-6), 27.15 (C-3), 25.80 (C-11), 25.65 (C-7), 23.14 (C-15), 21.64 (C-1), 21.62 (C-2), 12.88 (C-18). FTIR-ATR (ν, cm⁻¹): 3265, 2916, 2845, 1736, 1446, 1053, 702. HRMS-ESI-TOF: Calculated for: C₂₀H₃₁O *m/z* 287.2375; Found: C₂₀H₃₁O₃ *m/z* 287.2374. Error: -0.33 ppm; [M + H]⁺.

2.1.3. Preparation of 1,4-bis[5α,10α-estran-17β-ol-17α-ethynyl]benzene (4)

In a dried round-bottom flask under nitrogen atmosphere, 1,4-diiodobenzene (0.35 mmol, 116 mg), alkyne **3** (0.7 mmol, 200 mg), Pd (PPh₃)₂Cl₂ (0.035 mmol, 26 mg) and CuI (0.07 mmol, 14 mg) were dissolved in anhydrous THF (20 mL). Then, iPr₂NH (1.0 mL) was slowly added and, the reaction mixture was stirred and heated to reflux until consumption of the starting materials. The reaction mixture was cooled to room temperature and the solvent evaporated under vacuum. The crude was dissolved in ethyl acetate (30 mL) and washed with saturated solution of NH₄Cl_{sat} (3 × 10 mL). The organic fraction was dried with anhydrous Na₂SO₄ and the solvent was evaporated. The crude product was purified by column chromatography using silica gel and hexane:ethyl acetate (9:1) as eluent. White crystalline solid (300 mg, 67%). Melting point: 238.5–240 °C. ¹H NMR [700 MHz, CDCl₃] (δ, ppm): 7.36 (s, 2H, H-23, H-27), 2.35 (ddd, *J* = 14.0, 9.7, 5.6 Hz, 1H, H-16α), 2.04 (ddd, *J* = 13.9, 12.1, 3.9 Hz, 1H, H-16β), 1.90 (1H, OH-17), 1.80–1.58 (H-3', H-5a, H-6, H-7, H-11, H-12, H-12', H-15), 1.56 (m, 1H, H-10a), 1.52–1.14 (H-1, H-1', H-2, H-2', H-3, H-4, H-4', H-7, H-8, H-11', H-14, H-15'), 1.07 (m, 1H, H-9), 0.89 (m, 1H, H-18), 0.87 (s, 3H, H-18). ¹³C NMR [176 MHz, CDCl₃] (δ, ppm): 131.64 (C-23), 122.98 (C-22), 94.89 (C-20), 85.56 (C-21), 80.60 (C-17), 50.96 (C-14), 48.06 (C-13), 47.74 (C-9), 41.26 (C-10), 39.20 (C-16), 38.07 (C-5), 35.33 (C-8), 33.36 (C-12), 32.80 (C-4), 31.90 (C-6), 27.16 (C-3), 25.88 (C-11), 25.66 (C-7), 23.29 (C-15), 21.67 (C-1), 21.62 (C-2), 13.09 (C-18). FTIR-ATR (ν, cm⁻¹): 3560, 2916, 2854, 1965, 1506, 1444, 1047, 862. HRMS-ESI-TOF: Calculated for: C₄₆H₆₂O₂ *m/z* 646.4749; Found: C₄₆H₆₂O₂ *m/z* 646.4764 Error: -1.48 ppm; [M - H]⁻.

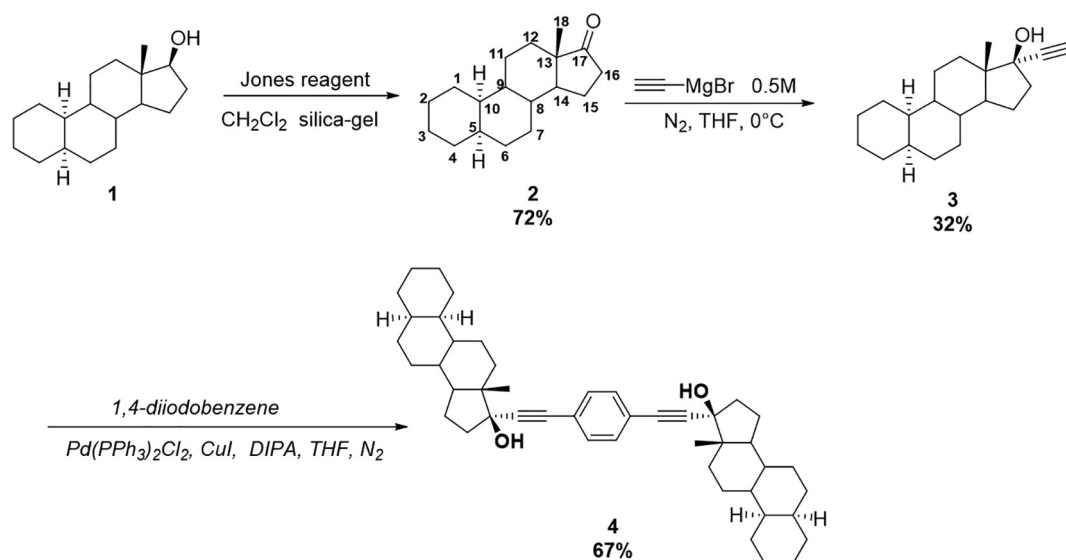
3. Results and discussion

5α,10α-Estran-17-one (**2**) was prepared in good yield by oxidation of alcohol **1**. The formation of the oxidized product **2** was confirmed by infrared spectroscopy, observing the band corresponding to the stretching of the C=O bond in 1714 cm⁻¹, also the ¹³C NMR spectrum shows a signal in 220.96 ppm for the ketone in C17 (Scheme 1).

The estrane derivative used as starting material showed two interesting features which are uncommon in these derivatives: the *cis* fusion of the A, B rings, and the alpha configuration of H-5 and H-10, for this reason, efforts were made to obtain adequate crystals for an X-ray analysis. Fig. 1 shows the crystal structure of **2** which confirmed the *cis* fusion of A and B rings and H-5, H-10 at the α-face (Fig. 1).

Comparison of the simulated diffractogram from the single crystal diffraction data and the experimentally determined powder X-ray structure further confirmed homogeneity of the sample before NMR studies (Fig. 2).

Grignard reaction of ketone **2** using ethynyl magnesium bromide provided 17α-alkyne **3** in moderate yield, as confirmed by 1D NOESY experiment. A selective excitation of the 16β hydrogen was carried out and a NOE effect was searched. The analysis of such long-range correlations and their influence on H-21 (SI, p. 8), help to confirm that the



Scheme 1. Synthesis of 1,4-bis[5 α ,10 α -estrane-17 β -ol-17 α -ethynyl]benzene (4).

alkyne group is in alpha position.

The steroidal dimer was obtained in 67% yield by Sonogashira cross coupling reaction of 3 and 1,4-diiodobenzene alongside with the monocoupled and homocoupled by-products [23].

3.1. Structural analysis

Suitable crystals of compounds 2 and 4 were obtained by slow evaporation of a solution of the compound in a hexane/ethyl acetate (9:1) mixture. Crystal data and experimental details of the structure determination are listed in Table 1.

Compound 2 crystallized in the $P2_1$ space group with two molecules per asymmetric unit. The supramolecular structure is supported by hydrogen bonds between the oxygen in C-17 and the CH in C-18 and C-12, [$\text{C18}\cdots\text{H18}\cdots\text{O} = \text{C17}$, 2.03 Å ($\angle 161.81^\circ$), $\text{C12}\cdots\text{H12}\cdots\text{O} = \text{C17}$, 2.62 Å ($\angle 159.94^\circ$)] (Fig. 3a).

The compound 4 crystallized in the $P2_1$ space group with two molecules per asymmetric unit (Fig. 3). The steroidal substructures adopt an *anti*-conformation (Fig. 4). In this derivative, the dispersive forces between the steroidal aliphatic backbone are the primary interactions in the supramolecular self-assembly (Fig. 5). These are complemented by hydrogen bond type secondary contacts between the OH group in C17 and the CH of the aromatic spacer. This behaviour is different to the crystal packing in precursor 2 where the primary interaction is hydrogen bonding, complemented by hydrophobic interactions.

The fact that dispersive forces govern the crystal packing is relevant because in this system they are strong enough to give rise to a crystalline supramolecular arrangement of large molecules such as dimer 4.

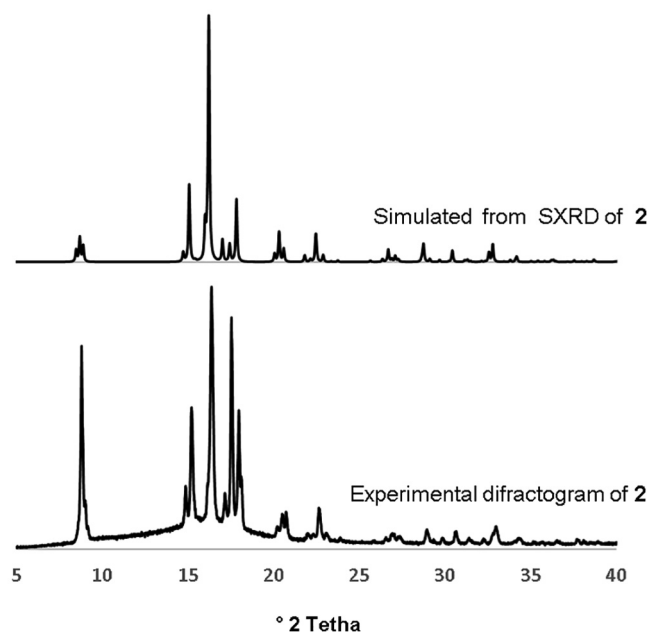


Fig. 2. Powder X-Ray diffraction of compound 2. Simulated from single crystal (top) and experimental diffractogram (bottom).

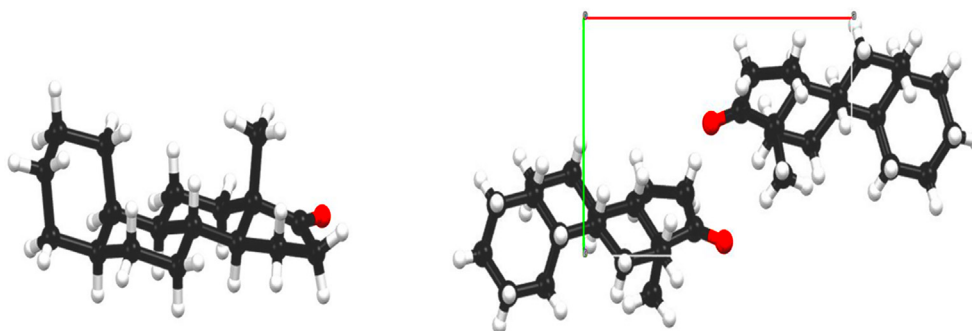


Fig. 1. a) Molecular structure of ketone 2, with H-5 and H-10 in α -configuration b) Unit cell of 2 viewed along the crystallographic c axis.

Table 1
Crystal data and structure refinement for compounds **2** and **4**.

Compound	2	4
Physical appearance	Plate, colourless	Plate, colourless
Chemical formula	C ₁₈ H ₂₈ O	C ₄₆ H ₆₂ O ₂
Formula weight	260.4	646.95
Space group	P2 ₁	P2 ₁
Crystal system	Monoclinic	Monoclinic
a (Å)	11.473(6)	6.4837(13)
b (Å)	6.531(3)	43.708(9)
c (Å)	11.755(7)	6.8925(14)
α (°)	90	90
β (°)	117.689(13)	105.43(3)
γ (°)	90	90
Volume (Å ³)	779.9(7)	1882.9(7)
Z	2	2
Crystal size (mm ³)	0.31 × 0.15 × 0.09	0.43 × 0.13 × 0.1
Temperature (K)	295(2)	130(2)
D _x (mg/m ³)	1.109	1.141
Absorption coefficient (mm ⁻¹)	0.066	0.508
F (0 0 0)	288.0	708
θ range for data collection (°)	3.39–28.20	4.03–41.12
Index ranges	−15 ≤ h ≤ 15−8 ≤ k ≤ 8−15 ≤ l ≤ 15	0 ≤ h ≤ 5 0 ≤ k ≤ 37−39 ≤ l ≤ 39
Reflections collected	45,889	2968
Refinement method	Refined as an inversion twin	Refined as an inversion twin
Goodness-of-fit on F ²	1.052	1.102
Data/Restraints/Parameters	3814/1/174	2968/3/445
Final R indices [I > 2σ(I)]	0.0697, 0.1473	0.1746, 0.1889
R indices (all data)	0.1110, 0.1309	0.073, 0.104

The non-covalent contacts evidenced in the crystal packing of ketone **2** and dimer **4**, were analyzed in detail with the aid of electrostatic potential (ESP) maps (Fig. 3b and 5b) which show regions where C₁₇ = O··H bonding are complemented by hydrophobic interactions from the steroid backbone (ketone **2**) and regions of dispersive interactions complemented by CH··O interactions in dimer **4**, stemming from the phenylene portion of one dimer and the OH group of another.

Detailed analysis of the crystal packing shows that the C-18 methyl group, the OH-17 and the A-ring are in the β-face of each steroid of the dimer while in the α-face there are hydrogens and the alkyne, thereby creating regions with hydrophobic character and certain loci with somewhat hydrophilic characteristics. This feature of the steroidal fragments favors their interactions in solid state and lead to a layered assembly, where each layer of dimers is associated with another by these dispersive forces. Given the close packing of the molecules, the most likely outcome for solid state rotational dynamics would be a restriction or even being cancelled (see Fig. 6).

Analysis of the crystal packing in these steroidal derivatives allows to point out features related to the tendency of crystallization of this type of systems. On one hand, facial polar or non-polar behavior plays

an important role in the crystal packing of steroidal derivatives, even though the difference in charge distribution along the steroidal backbone was not as prominent, as in compound **4**. On the other hand, the abundance of dispersive interactions and their complementarity were enough to direct the self-assembly, over common directors like H-bonding. Further investigation of the factors directing this dispersive interactions could lead to interesting applications of these systems like those related to the effect of *cis*-fused B and C rings in steroid backbones [24] that have led to thermodynamic understanding of such structures in conforming self-assembled systems for their application in molecular rotors. *Cis*-fused systems can play a decisive role by influencing the main parameters controlling the rotation of the molecular mobile moieties. Another potential application could reside in co-crystallization of nonpolar molecules alongside the steroidal moieties. An approach to this kind of goal has been previously reported for polymers assisted co-crystallization using solid state shear milling [25].

3.2. NMR assignment

The complete NMR characterization of the resultant dimer **4** as well

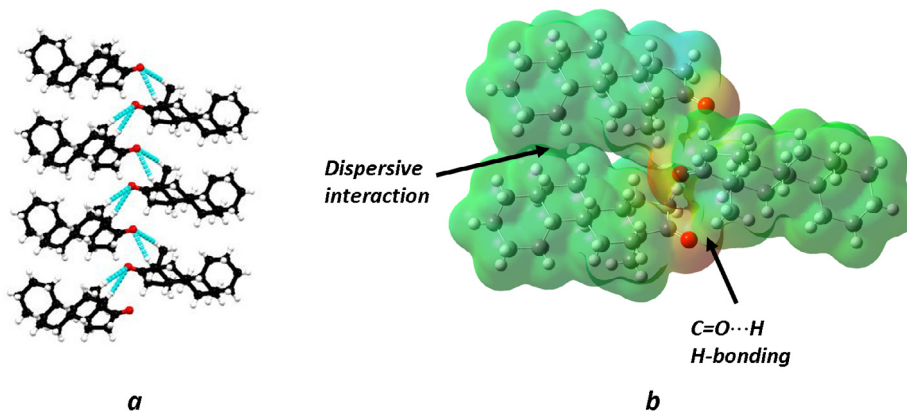


Fig. 3. a) Hydrogen bond interactions in compound **2**. b) ESP maps calculated using the DFT approach with the hybrid B3LYP functional at the def2-SVP theory level using SMD solvation method.

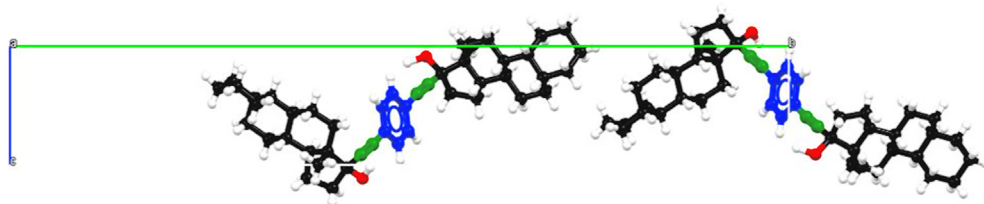


Fig. 4. Unit cell of compound 4, viewed along the crystallographic *a* axis.

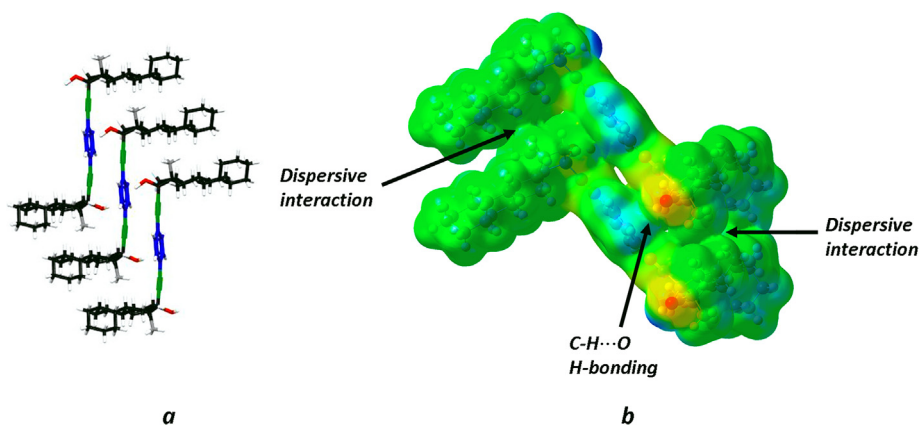


Fig. 5. Interactions between α and β faces of the steroidal fragments in dimer 4. b) ESP maps calculated using the DFT approach with the hybrid B3LYP functional at the def2-SVP theory level using SMD solvation method.

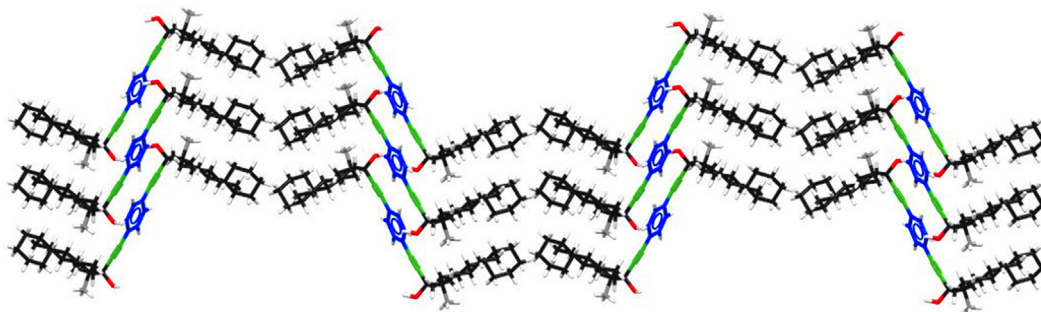


Fig. 6. Supramolecular layered assembly of dimer 4. The layers are formed by $\text{CH}\cdots\text{O}$ interactions and the association with subsequent layers are governed by steroid-steroid dispersive interactions.

as its precursors, was achieved with a combination of 1D and 2D NMR experiments. The assignment of the A, B and C rings constitutes a great challenge, due to the aliphatic nature of the protons and carbons that appear in a narrow region of the spectrum. To accomplish this goal, different NMR techniques were used. Initially, the DEPT 135 experimental allowed to establish the saturation of each carbon of the steroidal skeleton which combined with the information derived from two-dimensional NMR experiments permitted complete elucidation of the spectra of 4. A key to the unambiguous assignment was the information derived from HMBC and H2BC experiments, which in combination with the edited-HSQC experiment allows to establish the connectivity of atoms based on the signals of the D ring (Fig. 7). The signals from the aromatic and alkyne carbons corresponding to the diethynyl phenylene spacer were easily assigned.

The edited-HSQC experiment offers an advantage in the assignment of structures with many aliphatic carbons in a narrow region of the spectra as in compound 4. The signals of C-16 (39.22 ppm) and its diastereotopic hydrogens are separated from the rest of protons and accessible to identify (2.04 and 2.35 ppm). Signals in blue are the CH and CH_3 carbons, corresponding to C-5 (38.09 ppm), C-8 (41.28 ppm), C-9 (47.77 ppm), C-10 (35.36 ppm), and C-18 (13.09 ppm). Finally, all the methylenes of the A, B and C rings are colored in red (Fig. 8).

The assignment of the B, C and D, rings were accomplished following the correlations in 2D experiments, starting from characteristic signals such as those of C-16, C-18, C-17 and C-20 (see Fig. 9).

The assignment of ring A was the main challenge, the combination of HMBC, H2BC and HSQC experiments allowed to achieve this goal. The correlations observed in the HMBC experiment confirmed the assignment of the carbons and HSQC experiment which can be correlated with the corresponding hydrogens. The correlations from δ_{H} 1.67 (H-7) and δ_{H} 1.70 (H-6) with δ_{C} 38.07 (C-5), confirmed the assignment of H-5 α and C-5. The correlations from δ_{H} 1.65 (H-5 α) and δ_{H} 1.07 (H-9) with δ_{C} 41.26 (C-10) confirmed the assignment of H-10 α and C-10. The correlations from δ_{H} 1.65 (H-5 α) and δ_{H} 1.55 (H-10 α) to δ_{C} 21.67 (C-1) led us to the assignment of C-1 and H-1, as well as, the correlations from δ_{H} 1.55 (H-10 α), δ_{H} 1.49 (H-1) and δ_{H} 1.73 (H-3) with δ_{C} 21.62 (C-2) confirmed the assignment of C-2 and H-2. The correlation from δ_{H} 1.65 (H-5 α) to δ_{C} 32.80 (C-4), confirmed the assignment of H-4 and C-4 and the correlations from δ_{H} 1.49 (H-1), δ_{H} 1.50 (H-4) and δ_{H} 1.65 (H-5 α) to δ_{C} 1.73 (C-3) confirm the assignment of H-3 and C-3. All the key correlations for the assignment of ring A are colored in black (Fig. 8) and the complete ^{13}C and ^1H assignment is given in the experimental section.

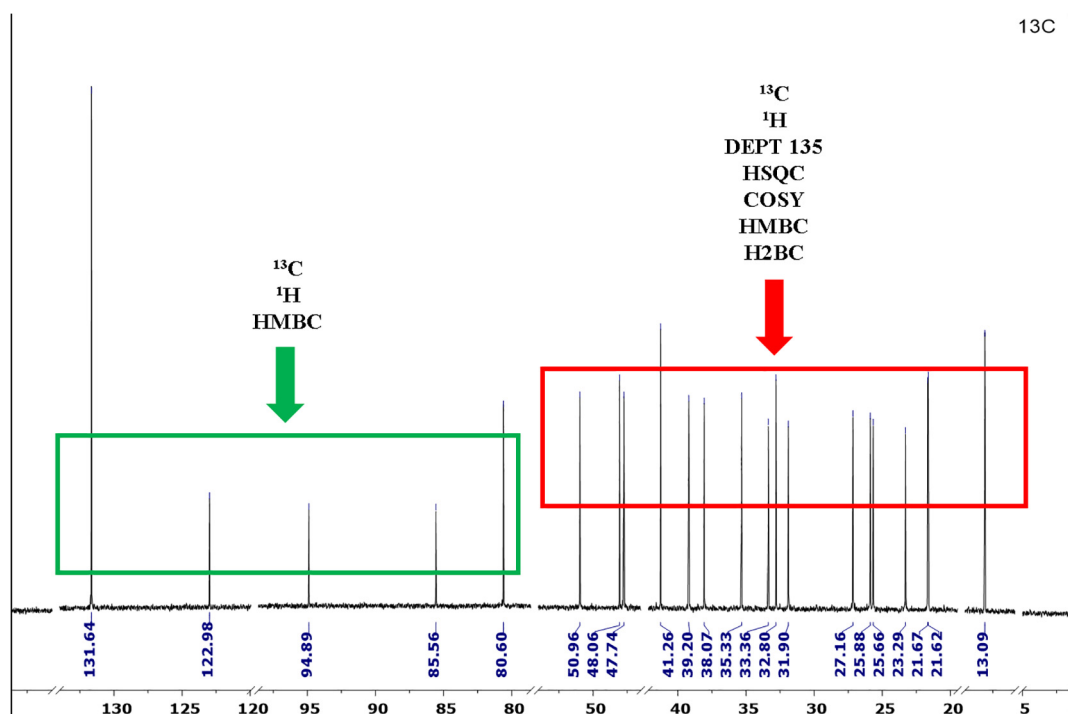


Fig. 7. ^{13}C NMR spectrum of dimer 4 (175 MHz, CDCl_3 , 298 K). Key NMR techniques for the complete NMR assignment of the steroidal dimer and its precursors.

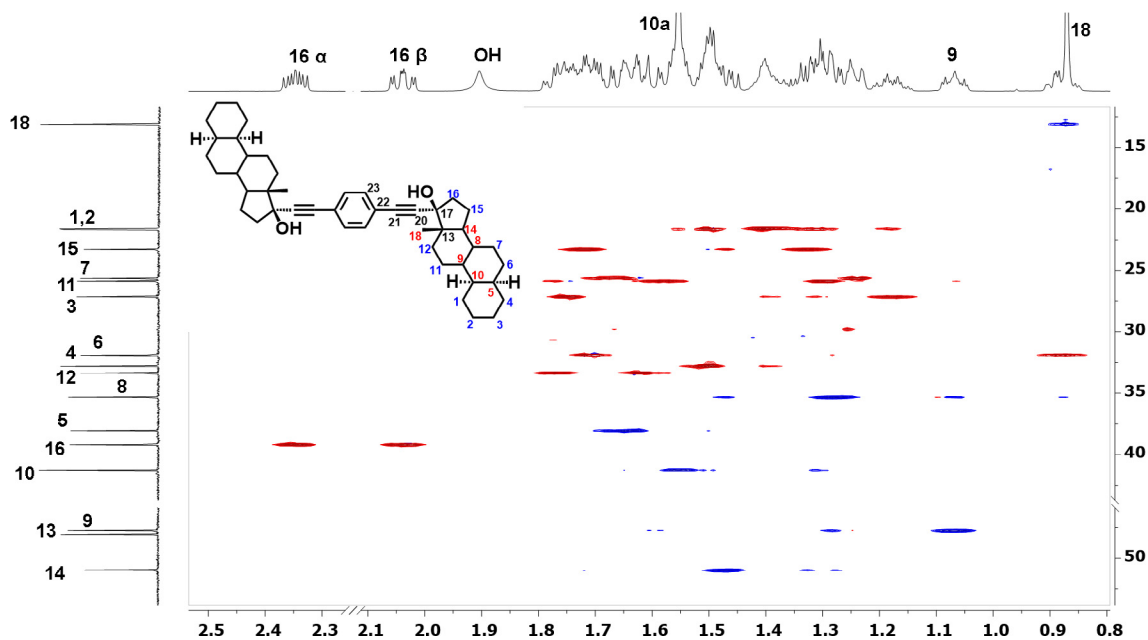


Fig. 8. Edited-HSQC spectrum of 4 (700 MHz, CDCl_3 , 298 K).

4. Conclusions

A steroidal dimer with molecular rotor-like architecture was synthesized using a 17α - 5α , 10α -estrane-ethynyl- 17β -ol derivative and diethynylbenzene spacer and characterized by NMR and X-ray diffraction analysis. The previously undescribed complete NMR spectral assignment was achieved using a combination of 1D and 2D experiments. The structural analysis shows that dispersion forces are strong enough to dictate the crystal packing which resulted in a dense and compact arrangement that favors maximum interaction between α and β faces of the steroidal fragments, directed by the unconventional *cis* ring fusion, which could restrict the possibility of having internal rotation in the

solid state.

5. Accession codes

CCDC 1973702 (compound 2) 1973703 (compound 4) contain the supplementary crystallographic data for this paper. These data can be obtained free of charge via www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif, or by emailing data_request@ccdc.cam.ac.uk, or by contacting The Cambridge Crystallographic Data Centre, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK; fax: +44 1223 336033.

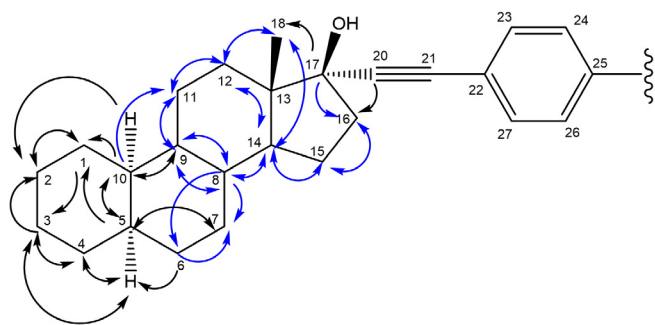


Fig. 9. Key ^1H - ^{13}C HMBC correlations of **4**.

Acknowledgements

The authors acknowledge the support from PAIP and PAPIIT (IN-222819). N.A-V thanks CONACYT México for the grant (576517) supporting his doctoral studies. This study made use of UNAMs NMR lab: LURMN at IQ-UNAM, which is funded by CONACYT Mexico (Project: 0224747), and UNAM.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2020.108606>.

References

- [1] P. Wallimann, T. Marti, A. Fürer, F. Diederich, Steroids in molecular recognition, *Chem. Rev.* 97 (1997) 1567–1608, <https://doi.org/10.1021/cr960373b>.
- [2] A.I. Lazar, F. Biedermann, K.R. Mustafina, K.I. Assaf, A. Hennig, W.M. Nau, Nanomolar binding of steroids to cucurbit[n]urils: selectivity and applications, *J. Am. Chem. Soc.* 138 (2016) 13022–13029, <https://doi.org/10.1021/jacs.6b07655>.
- [3] M. Miyata, N. Tohnai, I. Hisaki, Crystalline host-guest assemblies of steroidal and related molecules: diversity, hierarchy, and supramolecular chirality, *Acc. Chem. Res.* 40 (2007) 694–702, <https://doi.org/10.1021/ar700017a>.
- [4] T. Friščić, R.W. Lancaster, L. Fábíán, P.G. Karamertzanis, Tunable recognition of the steroid α -face by adjacent π -electron density, *PNAS* 107 (2010) 13216–13221, <https://doi.org/10.1073/pnas.0915142107>.
- [5] K.J. Ardila-Fierro, V. Andre, D. Tan, M.T. Duarte, R.W. Lancaster, P.G. Karamertzanis, T. Friščić, Molecular recognition of steroid hormones in the solid state: stark differences in cocrystallization of β -estradiol and estrone, *Cryst. Growth Des.* 15 (2015) 1492–1501, <https://doi.org/10.1021/cg501865h>.
- [6] H. Svobodová, V. Noponen, E. Kolehmainen, E. Sievänen, Recent advances in steroidal supramolecular gels, *RSC Adv.* 2 (2012) 4985–5007, <https://doi.org/10.1039/C2RA01343F>.
- [7] C. Neto, M.C. Oliveira, L. Gano, F. Marques, T. Yasuda, T. Thiemann, T. Knies, I. Santos, Novel 7α -alkoxy- 17α -(4'-halophenylethynyl)estradiols as potential SPECT/PET imaging agents for estrogen receptor expressing tumours: synthesis and binding affinity evaluation, *Steroids* 77 (2012) 1123–1132, <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2012.05.004>.
- [8] L. Nahar, S.D. Sarker, A.B. Turner, Facile synthesis of new oxalate dimers of naturally occurring 3-hydroxysteroids, *Chem. Nat. Compd.* 42 (2006) 549–552, <https://doi.org/10.1007/s10600-006-0211-6>.
- [9] P. Crabbe, J.A. Zderic, Steroides. Synthèse de bis-steroides diacétyléniques. *Bull. Soc. Chim. Belg.* 70 (1961), 403–409. doi: 10.1002/bscb.19610700706.
- [10] Y. Li, J.R. Dias, Dimeric and oligomeric steroids, *Chem. Rev.* 97 (1997) 283–304, <https://doi.org/10.1021/cr9600565>.
- [11] L. Nahar, S.D. Sarker, A.B. Turner, A review on synthetic and natural steroid dimers: 1997–2006, *Curr. Med. Chem.* 14 (2007) 1349–1370, <https://doi.org/10.2174/092986707780597880>.
- [12] J.P. Guthrie, J. Cossar, B.A. Dawson, A water soluble dimeric steroid with catalytic properties. Rate enhancements from hydrophobic binding, *Can. J. Chem.* 64 (1986) 2456–2469, <https://doi.org/10.1139/v86-406>.
- [13] J. McKenna, J.M. McKenna, D.W. Thornthwaite, Bis-steroids as potential enzyme models: Perylene solubilisation and dye spectral changes with aqueous solutions of some derivatives of coenzyme and cholic acid. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* (1977) 809–811. doi: 10.1039/C39770000809.
- [14] A.R. Vesper, J.C. Lacroix, R. Gaudreault, H.A. Tajmir-Rihai, G. Bérubé, Synthesis of novel C2-symmetric testosterone dimers and evaluation of antiproliferative activity on androgen-dependent and independent prostate cancer cell lines, *Steroids* (2016) 98–104, <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2016.08.012>.
- [15] M. Juráček, M. Černošková, J. Řehulka, V. Spiwok, T. Sulimenko, E. Dráberová, M. Darmostuk, S. Gurskácivo, I. Frydrych, R. Buriánová, T. Ruml, M. Hajdúch, P. Bartůnek, P. Dráber, P. Džubák, P.B. Drašar, D. Sedlák, Estradiol dimer inhibits tubulin polymerization and microtubule dynamics, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* (2018) 68–79, <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2018.05.008>.
- [16] C.S. Vogelsberg, M.A. García-Garibay, Crystalline molecular machines: function, phase order, dimensionality, and composition, *Chem. Soc. Rev.* 41 (2012) 1892–1910, <https://doi.org/10.1039/c1cs15197e>.
- [17] B. Rodríguez-Molina, N. Farfán, M. Romero, J.M. Méndez-Stivalet, R. Santillan, M.A. García-Garibay, Anisochronous dynamics in a crystalline array of steroidal molecular rotors: evidence of correlated motion within 1D helical domains, *J. Am. Chem. Soc.* 133 (2011) 7280–7283, <https://doi.org/10.1021/ja2006274>.
- [18] N. Aguilar-Valdez, M. Maldonado-Domínguez, R. Arcos-Ramos, M. Romero-Ávila, R. Santillan, N. Farfán, Synthesis of steroidal molecular compasses: exploration of the controlled assembly of solid organic materials, *CrystEngComm.* 19 (2017) 1771–1777, <https://doi.org/10.1039/C7CE00157F>.
- [19] B. Rodríguez-Molina, A. Pozos, R. Cruz, M. Romero, B. Flores, N. Farfán, R. Santillan, M. García-Garibay, Synthesis and solid state characterization of molecular rotors with steroidal stators: ethisterone and norethisterone, *Org. Biomol. Chem.* 8 (2010) 2993–3000, <https://doi.org/10.1039/C003778H>.
- [20] I. Jastrzebska, T. Pawlak, R. Arcos-Ramos, E. Florez-Lopez, N. Farfán, D. Czajkowska-Szczykowska, J. Maj, R. Santillan, J.W. Morzycki, M.J. Potrzebowski, Synthesis, structure, and local molecular dynamics for crystalline rotors based on hecogenin/botogenin steroidal frameworks, *Cryst. Growth Des.* 16 (2016) 5698–5709, <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.6b00726>.
- [21] M.E. Ochoa, R. Arcos-Ramos, P.I. Ramírez-Montes, H. Höpfl, M.A. Leyva, N. Farfán, R. Santillan, Asymmetric molecular rotors based on steroidal fragments. Organic building blocks displaying versatile supramolecular steroid-stacking interactions, *Cryst. Growth Des.* (2019), <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.9b00238>.
- [22] M.A. Iglesias-Arteaga, E.M. Símula-Lopez, S. Xochihua-Moreno, O. Viñas-Bravo, S. Montiel Smith, S. Meza Reyes, J. Sandoval-Ramírez, A convenient procedure for the synthesis of 3β -hydroxy- 6α -oxo- 5α -steroids. Application to the synthesis synthesis of laxogenin, *J. Braz. Chem. Soc.* 16 (3a) (2005) 381–385, <https://doi.org/10.1590/S0103-50532005000300011>.
- [23] R. Arcos-Ramos, B. Rodríguez-Molina, M. Romero, J.M. Méndez-Stivalet, M.E. Ochoa, P.I. Ramírez-Montes, R. Santillan, M.A. García-Garibay, N. Farfán, Synthesis and evaluation of molecular rotors with large and bulky tert-butylidiphenylsilyloxy-substituted trityl stators, *J. Org. Chem.* 77 (2012) 6887–6894, <https://doi.org/10.1021/jo301078a>.
- [24] S. Pérez-Estrada, B. Rodríguez-Molina, L. Xiao, R. Santillan, G. Jiménez-Osés, K.N. Houk, M.A. García-Garibay, Thermodynamic evaluation of aromatic CH/ π interactions and rotational entropy in a molecular rotor, *J. Am. Chem. Soc.* 137 (2015) 2175–2178, <https://doi.org/10.1021/ja512053t>.
- [25] S. Korde, S. Pagire, H. Pan, C. Seaton, A. Kelly, Y. Chen, Q. Wang, P. Coates, A. Paradkar, Continuous manufacturing of cocrystals using solid state shear milling technology, *Crystal Growth Des.* 184 (2018) 2297–2304, <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.7b01733>.