

Birgit Dammeier\*) und Walter Hoppe

## Die Kristall- und Molekülstrukturanalyse des Insektenhäutungshormons 20-Hydroxy-ecdyson (Ecdysteron)

Aus der Abteilung für Röntgenstrukturforschung am Max-Planck-Institut für Eiweiß- und Lederforschung, München, und der Abteilung für Strukturforschung am Physikalisch-Chemischen Institut der Technischen Universität München

(Eingegangen am 16. Februar 1971)

Die vollständige Struktur des Insektenhäutungshormons 20-Hydroxy-ecdyson wird durch eine Röntgenstrukturanalyse der natürlichen Verbindung ermittelt.

### The Crystal and Molecular Structure Analysis of the Insectmoulting Hormone 20-Hydroxy-ecdysone (Ecdysterone)

The complete structure of natural 20-hydroxy-ecdysone has been determined by a three-dimensional X-ray analysis using the convolution molecule method.

Das Insektenhäutungshormon 20-Hydroxy-ecdyson unterscheidet sich vom Insektenhäutungshormon Ecdyson, dessen Kristallstruktur bereits 1965 ermittelt wurde<sup>1, 2)</sup>, nur durch eine zusätzliche OH-Gruppe, die nach chemischen und spektroskopischen Befunden in der Seitenkette an C20 lokalisiert ist. Die Ähnlichkeit des chemischen Verhaltens und der Spektren der beiden Hormone macht gleiche Ringverknüpfungen sowie die gleiche sterische Anordnung der OH-Gruppen an C2, C3 und C14 wahrscheinlich. Unsere Röntgenstrukturanalyse konnte alle diese Annahmen bestätigen. Ganz besonders wertvoll war für uns, daß die Abstände und Winkel im Steroidskelett sich wegen der diffraktometrischen Messungen wesentlich genauer ergaben als beim photographisch vermessenen Ecdyson.

### Experimentelles

Der Schmelzpunkt des untersuchten Einkristalls beträgt  $\sim 247^\circ$ . Weissenberg- und Präzisionsaufnahmen dienten zur Raumgruppen- und Gitterkonstantenbestimmung:

Raumgruppe  $P2_12_12_1$ ,  $a = 32.979 \pm 0.007 \text{ \AA}$ ,  $b = 10.631 \pm 0.003 \text{ \AA}$ ,  $c = 7.698 \pm 0.003 \text{ \AA}$ ,  $V = 2697.17 \text{ \AA}^3$ ; 4 Moleküle pro Zelle; röntgenographische Dichte  $1.18 \text{ g/cm}^3$ ; linearer Absorptionskoeffizient für  $\text{CuK}_\alpha$ -Strahlung  $6.9 \text{ cm}^{-1}$ .

Die Intensitätsmessungen (1629 unabhängige Reflexe,  $\vartheta_{\text{max}} = 50^\circ$ ) führten wir auf einem Siemens-AED-Einkristalldiffraktometer durch. Der hierzu verwendete Kristall<sup>3)</sup> hatte eine Größe von etwa  $0.28 \times 0.16 \times 0.16 \text{ mm}^3$ .

\*) Auszug aus der Dissertation, Technische Univ. München, 1970.

1) W. Hoppe und R. Huber, Chem. Ber. 98, 2353 (1965).

2) R. Huber und W. Hoppe, Chem. Ber. 98, 2403 (1965).

3) Die Kristalle stellte freundlicherweise D. H. S. Horn, Chemical Research Laboratories, Melbourne, zur Verfügung.

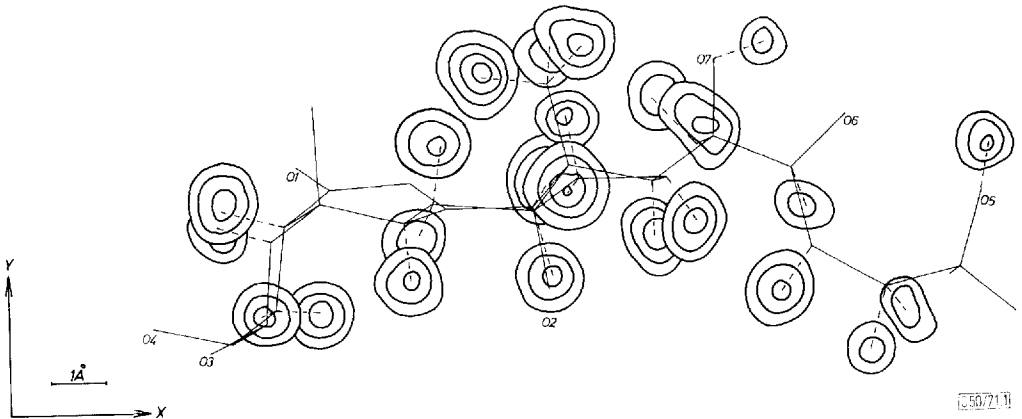
## Strukturanalyse

Die Strukturanalyse mit Hilfe der „automatisierten Faltmolekülmethode“<sup>4,5)</sup> verlief ohne Schwierigkeiten.

Als Molekülmodell wählten wir das Steroidgrundgerüst (C1 bis C19, O1 bis O4) des in seiner Kristallstruktur bekannten Ecdysons. Denn es wurde angenommen, daß die beiden Steroidhormone Ecdyson und 20-Hydroxy-ecdyson zumindest bis zu Atom C19 gleich gebaut sind.

In unserer Auswertung benutzten wir zur Orientierungsbestimmung des Modells das translationsunabhängige, gleichindizierte Faltmolekül  $\widehat{\rho}_{1\rho}^*1$ , zur Translationsbestimmung die drei gemischtindizierten Faltmoleküle  $\widehat{\rho}_{1\rho}^*2$ ,  $\widehat{\rho}_{1\rho}^*3$ ,  $\widehat{\rho}_{1\rho}^*4$ . Die letzteren hängen aus Symmetriegründen von den Koordinaten  $x, y; y, z; x, z$  ab, so daß man je zwei unabhängige Bestimmungen eines jeden Translationsparameters erhält.

Im nächsten Schritt wurden die beobachteten Strukturfaktoren mit den aus der nun bekannten Teilmolekülstruktur errechneten Phasen versehen. Mit drei sukzessiven Fouriersynthesen konnten alle C- und O-Atome eindeutig in ihren Lagen bestimmt werden. In diesem Stadium betrug der  $R$ -Faktor 28%. Nach drei isotropen und zwei anisotropen Verfeinerungszyklen sank der Wert auf  $R = 9,6\%$ . Zwei Differenz-Fouriersynthesen erlaubten nun die Bestimmung von 24 H-Atomen. Zwei weitere Verfeinerungszyklen — C und O anisotrop, H isotrop — ergaben dann einen  $R$ -Faktor von 7,6%. Eine dritte und letzte Differenz-Fouriersynthese brachte keine weiteren H-Atome. Von insgesamt 44 H-Atomen sind also 24 in ihren Lagen bekannt, davon je eines an O5 und O7 (Abbild. 1). Als endgültiger  $R$ -Faktor ergab sich der Wert 6,7%.



Abbild. 1. Dreidimensionale Differenz-Fouriersynthese, (001)-Projektion (erste Linie  $0.1 \text{ e}/\text{\AA}^3$ , jede weitere  $0.1 \text{ e}/\text{\AA}^3$ )

## Diskussion

In Tab. 1 und Tab. 2 sind die Lageparameter und ihre mittleren Fehler bzw. die anisotropen Temperaturfaktoren der O- und C-Atome und die isotropen Temperaturfaktoren der H-Atome aufgeführt.

<sup>4)</sup> W. Hoppe, Z. Elektrochem., Ber. Bunsenges. physik. Chem. **61**, 1076 (1957).

<sup>5)</sup> R. Huber, Acta crystallogr. [Copenhagen] **19**, 353 (1965).

Tab. 1. Lageparameter und ihre mittleren Fehler  $\sigma$  ( $\times 10^5$ )

Atom	x	$\sigma$ (x)	y	$\sigma$ (y)	z	$\sigma$ (z)
O1	0.32503	19	0.69211	66	0.99747	84
O2	0.46193	17	0.51126	51	0.66681	76
O3	0.28586	19	0.37645	70	0.28245	84
O4	0.25332	18	0.43310	63	0.60430	85
O5	0.68669	20	0.71667	67	0.47730	111
HO5	0.70049	281	0.76671	952	0.36047	1355
O6	0.61594	19	0.82299	61	0.40940	99
O7	0.54367	22	0.90278	60	0.49724	99
HO7	0.56364	230	0.92502	864	0.48981	1362
C1	0.31582	28	0.56989	98	0.39164	119
H1	0.28500	259	0.60145	789	0.38384	1022
C2	0.31183	29	0.42792	101	0.41504	121
C3	0.29361	30	0.38996	101	0.59173	129
C4	0.31871	34	0.45556	98	0.73844	131
H4	0.34708	222	0.42861	723	0.73957	973
H41	0.30459	247	0.43280	849	0.83410	1128
C5	0.32033	28	0.60042	90	0.71475	109
H5	0.28366	320	0.62721	1046	0.71297	1379
C6	0.34314	31	0.65997	96	0.86307	131
C7	0.38651	25	0.67579	91	0.84743	108
C8	0.40662	25	0.65107	86	0.69680	105
C9	0.38481	26	0.60578	99	0.53204	111
H9	0.38867	220	0.50572	771	0.54049	1098
C10	0.33819	22	0.64096	83	0.53819	114
C11	0.40479	29	0.64895	134	0.36012	128
H11	0.39918	255	0.74046	855	0.34723	1254
H111	0.39251	222	0.60131	773	0.25388	1049
C12	0.45113	29	0.64528	106	0.36008	111
H12	0.46584	215	0.53453	737	0.33983	970
H121	0.45945	205	0.67943	688	0.25203	992
C13	0.46935	23	0.71275	76	0.51939	106

Tab. 1. Fortsetzung

Atom	x	$\sigma$ (x)	y	$\sigma$ (y)	z	$\sigma$ (z)
C14	0.45221	27	0.64369	79	0.68477	106
C15	0.47815	29	0.69892	106	0.82905	125
H15	0.46579	194	0.79549	696	0.82607	892
H151	0.47436	231	0.65340	763	0.91948	1090
C16	0.52101	30	0.70310	111	0.75354	131
H16	0.53967	266	0.64660	828	0.79540	1228
H161	0.53320	228	0.78236	753	0.77195	1019
C17	0.51515	23	0.69318	77	0.55082	104
H17	0.52347	190	0.59656	677	0.51416	972
C18	0.45655	34	0.85229	95	0.52790	155
H18	0.42056	217	0.85453	661	0.54759	950
H181	0.46182	350	0.89030	1148	0.42542	1533
H182	0.47412	220	0.90709	764	0.61772	1006
C19	0.33209	56	0.78337	78	0.51985	109
C20	0.54660	27	0.77134	79	0.44447	115
C21	0.53953	30	0.76069	103	0.24495	121
H21	0.52159	210	0.81485	743	0.21160	1095
C22	0.58983	29	0.73044	95	0.48879	161
H22	0.59886	321	0.72440	1144	0.61268	1540
C23	0.60214	38	0.59640	116	0.41855	238
H23	0.59318	317	0.54474	1001	0.47221	1579
C24	0.64155	38	0.54898	133	0.50489	390
H24	0.64296	295	0.44838	968	0.46084	1474
H241	0.65792	248	0.53303	833	0.65804	1034
C25	0.68090	37	0.58301	106	0.42723	256
C26	0.67858	59	0.57837	181	0.22122	275
C27	0.71558	33	0.51157	138	0.49901	375

Es fällt auf, daß die thermischen Schwingungen der Seitenkettenatome wesentlich stärker sind als die der Ringatome. Während die Ringatome im Mittel gleich stark schwingen, nehmen die Schwingungen der Seitenkettenatome zum Ende der Kette hin zu. Am stärksten schwingen die äußeren C26- und C27-Methylgruppen. Die Temperaturschwingung ist entlang der kurzen Molekülachse am größten, entlang der langen Molekülachse am kleinsten.

Tab. 2. Temperaturkoeffizienten, definiert nach

$$T = \exp \left[ -\frac{1}{4} (B_{11} a^{*2} h^2 + B_{22} b^{*2} k^2 + B_{33} c^{*2} l^2 + 2B_{12} a^* b^* h k + 2B_{13} a^* c^* h l + 2B_{23} b^* c^* k l) \right] \text{ für anisotrop,}$$

$$T = \exp \left[ -B (\sin \theta / \lambda)^2 \right] \text{ für isotrop}$$

Atom	B or B11	B22	B33	B12	B13	B23
O1	6.03130	8.63490	4.31160	0.68400	1.27560	-0.40900
O2	4.87550	3.54740	4.74260	-0.32950	-0.27580	0.16230
O3	5.67640	7.83080	5.78800	-0.71630	-0.56500	-1.84200
O4	4.66120	7.95740	6.20800	-0.67800	1.17960	-0.87640
O5	6.89570	6.59810	8.83040	-1.00870	-0.17560	0.04190
HO5	5.99360					
O6	5.84280	5.74190	9.18510	-1.49110	1.19120	0.16100
O7	5.31180	4.26810	5.66100	-1.20670	1.06260	-0.21330
HO7	1.58560					
C1	3.75880	7.04040	4.27850	-0.66980	-0.52920	0.91900
H1	3.60150					
C2	4.85280	6.32110	4.52550	0.57920	0.26590	0.09740
C3	6.01470	6.23990	5.74090	-0.50200	0.83100	-0.61450
C4	5.94890	5.74980	3.55270	0.37790	0.65550	1.11450
H4	0.68200					
H41	2.21670					
C5	4.65860	5.21850	3.63300	0.10750	0.19890	0.69730
H5	7.39140					
C6	6.79880	4.95950	5.02470	0.97060	0.65510	0.30230
C7	4.33220	6.05210	3.58490	0.60270	1.05290	0.29000
C8	4.60490	4.27720	3.59020	-0.29780	-0.17810	0.84050
C9	4.80630	5.85880	3.19780	-0.11080	-0.57720	0.90120
H9	2.32550					
C10	3.62168	6.41660	4.21106	0.18455	-0.04348	0.85572
C11	4.35010	8.22540	3.24600	-1.24600	0.18750	0.72110
H11	3.49930					
H111	1.49540					

Tab. 2. Fortsetzung

Atom	B or B11	B22	B33	B12	B13	B23
C12	6.05950	7.07680	2.19970	-0.77030	0.49720	-0.04900
H12	1.44390					
H121	1.26560					
C13	4.19540	3.75770	3.35220	-0.41240	0.04050	0.25100
C14	4.96800	3.55980	3.18600	-0.66240	-0.01190	-0.16990
C15	5.78940	5.79190	3.45700	-0.58290	-0.57100	0.67120
H15	1.41380					
H151	1.49750					
C16	4.43840	4.84820	4.63730	-1.64410	-0.47230	-0.46930
H16	4.12230					
H161	1.70320					
C17	4.79170	3.72000	3.44320	-0.50050	0.37590	-0.37930
H17	1.51550					
C18	6.45230	4.58100	4.81480	-0.31120	0.61380	0.78930
H18	1.31800					
H181	6.30170					
H182	1.76330					
C19	6.37923	6.03921	6.76026	0.80585	0.17092	2.16933
C20	5.52310	3.75950	4.98850	-0.33370	-0.27710	-0.46970
C21	5.60190	6.81940	3.99430	0.22020	0.88940	0.36240
H21	1.73440					
C22	5.39660	5.29900	6.86170	-0.97100	0.27220	-0.61410
H22	8.85470					
C23	6.18580	4.67860	15.76160	-0.45620	1.95300	0.50410
H23	3.15900					
C24	5.41040	6.16580	32.35790	-0.01550	-0.84280	3.34170
H24	3.74870					
H241	4.14290					
C25	6.23740	4.86330	19.42220	-0.75720	1.86730	0.25980
C26	18.39150	14.82920	19.72250	-8.02040	12.39630	11.19750
C27	4.66390	10.74660	40.74970	0.55070	-2.61930	7.62170

Tab. 3. Inermolekulare Bindungslängen und ihre mittleren Fehler  $\sigma \times 10^3$ 

Bindung	Bindungs- längen (Å)	$\sigma$ (Å) $\times 10^3$	Bindung	Bindungs- längen (Å)	$\sigma$ (Å) $\times 10^3$
C1 - C10	1.526	13	O1 - C6	1.242	12
C1 - C2	1.526	15	O2 - C14	1.450	10
C2 - C3	1.540	14	O3 - C2	1.440	12
C3 - C4	1.564	14	O4 - C3	1.409	12
C4 - C5	1.552	14	O5 - C25	1.485	14
C5 - C6	1.506	13	O6 - C22	1.443	12
C5 - C10	1.543	12	O7 - C20	1.458	11
C6 - C7	1.445	13	C1 - H1	1.072	86
C7 - C8	1.361	12	C4 - H4	0.979	74
C8 - C9	1.535	12	- H41	0.904	86
C8 - C14	1.508	12	C5 - H5	1.242	106
C9 - C10	1.579	11	C9 - H9	1.073	82
C9 - C11	1.547	13	C11- H11	0.995	92
C10- C19	1.534	12	- H111	1.044	81
C11- C12	1.529	13	C12- H12	1.284	78
C12- C13	1.541	12	- H121	0.947	76
C13- C18	1.544	13	C15- H15	1.105	73
C13- C14	1.574	12	- H151	0.857	83
C13- C17	1.544	11	C16- H16	0.918	89
C14- C15	1.519	13	- H161	0.944	80
C15- C16	1.529	14	C17- H17	1.100	72
C16- C17	1.575	12	C18- H18	1.197	72
C17- C20	1.561	12	- H181	0.903	119
C20- C21	1.557	13	- H182	1.074	78
C20- C22	1.529	13	C21- H21	0.868	75
C22- C23	1.577	17	C22- H22	1.001	118
C23- C24	1.544	22	C23- H23	0.748	112
C24- C25	1.474	21	C24- H24	1.123	105
C25- C26	1.587	29	- H241	1.307	847
C25- C27	1.480	20	O5 - HO5	1.139	102
			O7 - HO7	0.702	78

Tab. 4. Innermolekulare Bindungswinkel (mittleres Atom = Scheitelatom).  
 Der mittlere Fehler der Bindungswinkel beträgt etwa  $0,7^\circ$

C10 - C1 - C2	115,4 <sup>0</sup>	C16 - C17 - C20	113,7 <sup>0</sup>
C1 - C2 - C3	113,4 <sup>0</sup>	C13 - C17 - C20	119,8 <sup>0</sup>
C2 - C3 - C4	108,3 <sup>0</sup>	C17 - C20 - C22	110,6 <sup>0</sup>
C3 - C4 - C5	112,1 <sup>0</sup>	C17 - C20 - C21	112,2 <sup>0</sup>
C4 - C5 - C10	112,3 <sup>0</sup>	C21 - C20 - C22	109,8 <sup>0</sup>
C4 - C5 - C6	110,2 <sup>0</sup>	C20 - C22 - C23	114,9 <sup>0</sup>
C19 - C10 - C1	110,3 <sup>0</sup>	C22 - C23 - C24	111,4 <sup>0</sup>
C19 - C10 - C5	108,0 <sup>0</sup>	C23 - C24 - C25	119,1 <sup>0</sup>
C19 - C10 - C9	110,6 <sup>0</sup>	C26 - C25 - C27	113,2 <sup>0</sup>
C5 - C10 - C9	109,5 <sup>0</sup>	C26 - C25 - C24	110,8 <sup>0</sup>
C10 - C5 - C6	111,7 <sup>0</sup>	C27 - C25 - C24	113,8 <sup>0</sup>
C5 - C6 - C7	118,7 <sup>0</sup>	O1 - C6 - C7	120,9 <sup>0</sup>
C6 - C7 - C8	122,1 <sup>0</sup>	O1 - C6 - C5	120,4 <sup>0</sup>
C7 - C8 - C14	123,2 <sup>0</sup>	O2 - C14 - C13	107,2 <sup>0</sup>
C8 - C14 - C13	112,5 <sup>0</sup>	O2 - C14 - C15	108,7 <sup>0</sup>
C7 - C8 - C9	122,4 <sup>0</sup>	O2 - C14 - C8	106,1 <sup>0</sup>
C9 - C8 - C14	113,6 <sup>0</sup>	O3 - C2 - C1	110,1 <sup>0</sup>
C8 - C9 - C11	114,4 <sup>0</sup>	O3 - C2 - C3	107,1 <sup>0</sup>
C10 - C9 - C8	111,5 <sup>0</sup>	O4 - C3 - C2	110,1 <sup>0</sup>
C9 - C11 - C12	114,8 <sup>0</sup>	O4 - C3 - C4	107,7 <sup>0</sup>
C10 - C9 - C11	111,7 <sup>0</sup>	O5 - C25 - C27	107,2 <sup>0</sup>
C11 - C12 - C13	112,2 <sup>0</sup>	O5 - C25 - C26	107,2 <sup>0</sup>
C12 - C13 - C14	106,4 <sup>0</sup>	O5 - C25 - C24	104,1 <sup>0</sup>
C12 - C13 - C18	111,9 <sup>0</sup>	O6 - C22 - C23	108,5 <sup>0</sup>
C18 - C13 - C17	113,0 <sup>0</sup>	O6 - C22 - C20	105,5 <sup>0</sup>
C18 - C13 - C14	108,4 <sup>0</sup>	O7 - C20 - C17	108,7 <sup>0</sup>
C14 - C13 - C17	99,3 <sup>0</sup>	O7 - C20 - C21	109,5 <sup>0</sup>
C13 - C14 - C15	102,0 <sup>0</sup>	O7 - C20 - C22	105,8 <sup>0</sup>
C14 - C15 - C16	104,7 <sup>0</sup>		
C15 - C16 - C17	105,1 <sup>0</sup>		
C16 - C17 - C13	105,4 <sup>0</sup>		



Die innermolekularen Bindungslängen und -winkel sind der vorstehenden Tab. 3 und Tab. 4 zu entnehmen.

Die Kristallstruktur wird durch inner- und zwischenmolekulare Wasserstoffbrücken gefestigt (Abbild. 2 und Abbild. 3).

Wie die Abbildungen sehr schön zeigen, sind besonders die starren Molekülgerüste wie beim Ecdyson durch ein Netz von H-Brücken — besonders entlang der 2-zähligen Schraubenachse in Richtung der z-Achse — miteinander verbunden. Damit ist wahrscheinlich auch der niedrige Temperaturfaktor des starren Gerüsts zu erklären. Der Verlauf der Wasserstoffbrücken konnte aus der deutlichen Verkürzung der O—O-Abstände bestimmt werden. Mit Ausnahme des Ketosauerstoffs O1 an C6 und des Sauerstoffs O2 an C14, die nur ein O-Atom im Abstand von 3.02 bzw. 2.83 Å haben, sind alle Sauerstoffatome im Kristallverband zu zwei anderen Sauerstoffatomen benachbart.

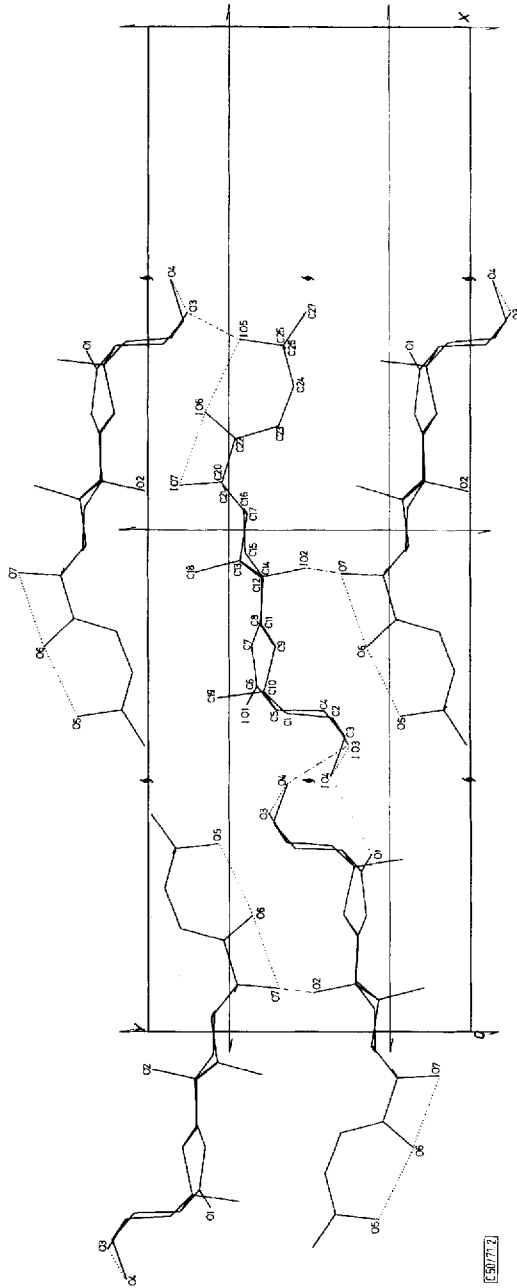
Ein Vergleich der Struktur von 20-Hydroxy-ecdyson mit der Struktur von Ecdyson führt nun zu folgenden Ergebnissen:

	20-Hydroxy-ecdyson	Ecdyson
$\rho_r$	1.18 g/cm <sup>3</sup>	1.13 g/cm <sup>3</sup>
$\mu$	6.9 cm <sup>-1</sup>	6.34 cm <sup>-1</sup>
Raumgruppe	P2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub>	P2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub>
Moleküle/Zelle	4	4
Gitterkonstanten <i>a</i>	32.979 Å	35.56 Å
<i>b</i>	10.631 Å	9.92 Å
<i>c</i>	7.698 Å	7.73 Å

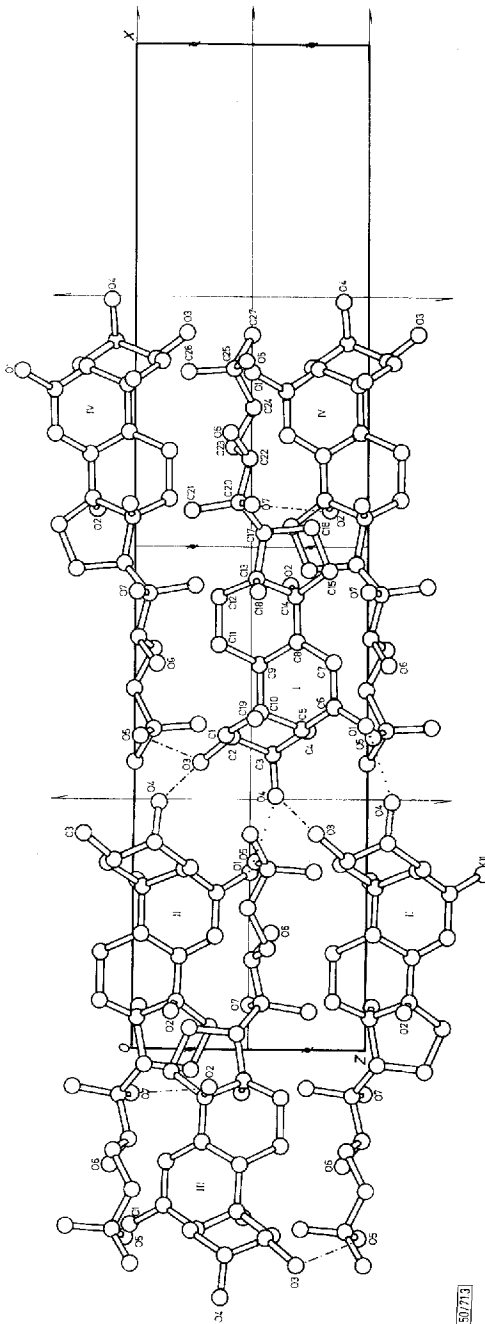
Die Struktur der Moleküle der beiden Hormone ist gleich unter Vernachlässigung der zusätzlichen OH-Gruppe beim 20-Hydroxy-ecdyson.

Die gleichen Ringverknüpfungen sowie die gleiche sterische Anordnung der OH-Gruppen an C2, C3, C14, C22 und C25 erklären die Ähnlichkeit des chemischen Verhaltens der Spektren beider Hormone. Der Eintritt der OH-Gruppe an C20, wie ihn das Protonenresonanzspektrum fordert, hat sich durch die Kristallstrukturanalyse ebenfalls bestätigt.

20-Hydroxy-ecdyson kristallisiert nicht nur in derselben Raumgruppe wie Ecdyson, sondern hat auch ähnliche Gitterkonstanten. Wahrscheinlich ist diese Analogie auf das schon erwähnte Wasserstoffbindungsnetz zurückzuführen. Während die Gitterkonstante *c* innerhalb der Fehlergrenzen unverändert geblieben ist, zeigt *a* eine deutliche Verkürzung um etwa 2.5 Å auf 32.98 Å und *b* eine deutliche Verlängerung um etwa 0.7 Å auf 10.63 Å. Dies spiegelt sich dann auch in der Anordnung der Moleküle im Kristall wider: Während beim Ecdyson eine zwischenmolekulare Wasserstoffbrücke zwischen O6/O2 besteht, wird beim 20-Hydroxy-ecdyson eine zwischenmolekulare Wasserstoffbrücke zwischen O7/O2 wirksam, die ein Übereinanderschieben von zwei entsprechenden Molekülen entlang der x-Achse bewirkt (Abbild. 3). Weiter bildet sich eine neue zwischenmolekulare Wasserstoffbrücke zwischen O3/O5 aus.



Abbild. 2. Parallelprojektion (001) der Elementarzelle



Abbild. 3. Parallelprojektion (010) der Elementarzelle

ES 713





