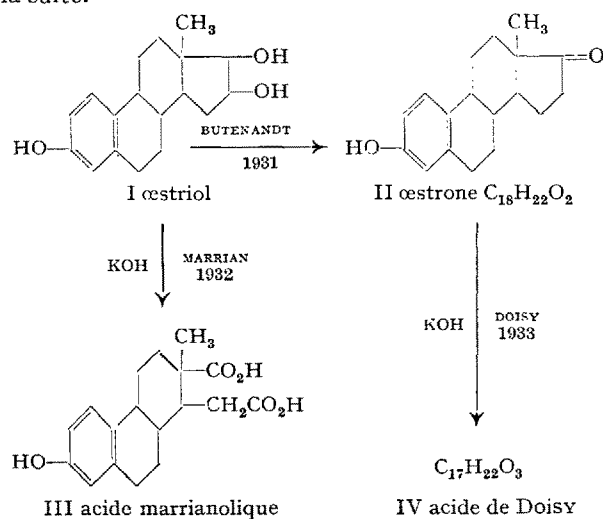


## Les hormones œstrogènes, de leur découverte à leur synthèse totale<sup>1</sup>

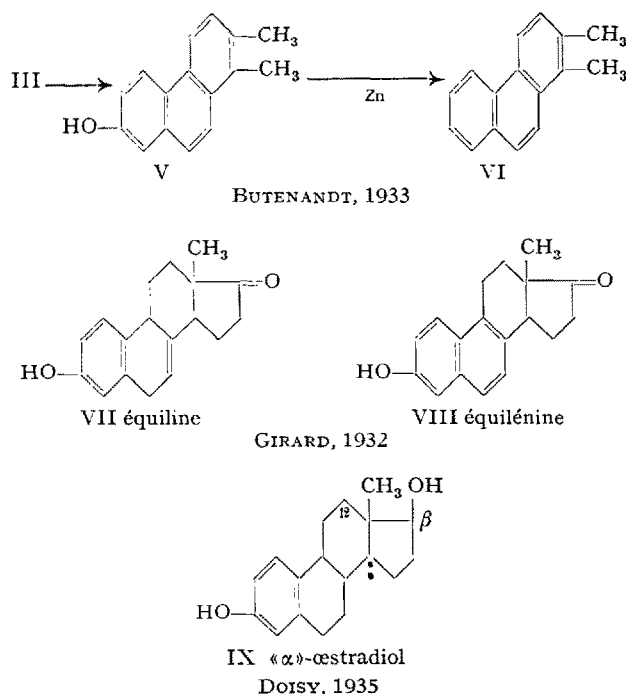
Par K. MIESCHER, Bâle

19 ans se sont écoulés depuis que DOISY<sup>2</sup> et BUTENANDT<sup>3</sup> retiraient presque simultanément de l'urine de femme enceinte la première des hormones sexuelles, l'œstrone (II), une cétone phénolique; peu après MARRIAN<sup>4</sup> relatait la découverte de l'œstriol (I), que COLLIP<sup>5</sup> l'année suivante trouvait aussi dans la placenta. Comme l'a montré BUTENANDT<sup>6</sup>, l'œstriol se transforme en œstrone par distillation sur du bisulfate de potassium, un groupement  $\alpha$ -glycolique donnant naissance à une cétone par séparation d'eau. Une année plus tard MARRIAN<sup>7</sup> rompt par fusion alcaline le cycle di-hydroxylé de l'œstradiol et obtenait un acide dicarboxylique (III), tandis que la fusion alcaline de l'œstrone conduisait DOISY<sup>8</sup> à un acide monocarboxylique (IV) auquel était assignée la formule  $C_{17}H_{22}O_3$ . Ce fait ne devait revêtir toute son importance que dans la suite.



En 1933, BUTENANDT<sup>1</sup> apportait la preuve décisive de la constitution de l'œstrone en déshydrogénant l'acide dicarboxylique III de MARRIAN, que nous avons appelé acide marrianolique, pour aboutir au diméthyl-phénanthrol (V), puis, après réduction à la poudre de zinc, au diméthyl-phénanthrène (VI) qu'il préparait également par synthèse. Du même coup, l'identité des squelettes des hormones œstrogènes et des stéroïdes était prouvée.

Dès 1932, GIRARD<sup>2</sup> découvrait dans l'urine de jument gravidé deux nouveaux dérivés de l'œstrone,



<sup>1</sup> Conférence présentée à la séance du 5 mars 1948 de l'Association des chimistes de Genève. Il est tenu compte ici des résultats acquis depuis cette date.

<sup>2</sup> E. A. DOISY, C. D. VELER et S. A. THAYER, *Amer. J. Physiol.* **90**, 329 (1929).

<sup>3</sup> A. BUTENANDT, *Naturw.* **17**, 879 (1929).

<sup>4</sup> G. F. MARRIAN, *Biochem. J.* **24**, 435 (1930).

<sup>5</sup> J. B. COLLIP, J. S. L. BROWNE et D. L. THOMSON, *J. Biol. Chem.* **97**, XVII (1932).

<sup>6</sup> A. BUTENANDT et F. HILDEBRANDT, *Z. physiol. Ch.* **199**, 243 (1931).

<sup>7</sup> G. F. MARRIAN et G. HASLEWOOD, *J. Soc. Chem. Ind.* **51**, 279 I (1932).

<sup>8</sup> J. W. MCCORQUODALE, L. LEVIN, S. A. THAYER et E. A. DOISY, *J. Biol. Chem.* **101**, 753 (1933); voir aussi brevet U.S.A. No 2.069.096 du 9. 8. 1933.

plus pauvres en hydrogène, l'équiline (VII) et l'équilénine (VIII) évidemment toutes deux des produits de transformation des hormones natives. Enfin, DOISY<sup>3</sup>, en 1935, trouvait dans les ovaires de truie l'«α»-

<sup>1</sup> A. BUTENANDT, H. A. WEIDLICH et H. THOMPSON, *Ber. Dtsch. chem. Ges.* **66**, 601 (1933).

<sup>2</sup> A. GIRARD, G. SANDULESCO, A. FRIDENSON, J. J. RUTGERS et C. GAUDELPOY, *C. r. Acad. Sci. Paris* **194**, 909, 1020; **195**, 981 (1932). - G. SANDULESCO, W. W. TSCHUNG et A. GIRARD, *C. r. Acad. Sci. Paris* **196**, 137 (1933).

<sup>3</sup> E. A. DOISY, J. W. MCCORQUODALE et S. A. THAYER, *Weekly Bull. St. Louis Med. Soc.* **29**, 435 (1935). - J. W. MCCORQUODALE, S. A. THAYER et E. A. DOISY, *Proc. Soc. Exper. Med.* **32**, 1182 (1935).

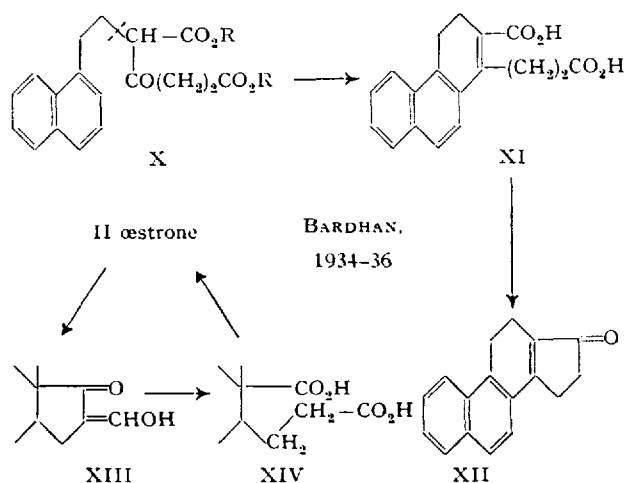
œstradiol (IX) que SCHWENK et HILDEBRANDT<sup>1</sup> avaient, deux ans plus tôt déjà, obtenu par hydrogénéation catalytique de l'œstrone et qui est l'œstrogène naturel le plus puissant. D'après des travaux récents de l'école zurichoise de RUZICKA<sup>2</sup> l'hydroxyle 17 se situe très probablement en  $\beta$  et par conséquent en position *cis* par rapport au groupe méthyle voisin. Cela peut paraître surprenant, étant données ses propriétés «transoïdes», mais s'accorde avec les vues que nous formulons en 1940<sup>3</sup>, aux termes desquelles un substituant cyclique ( $C_{12}$  par exemple) peut exercer, de par son poids plus grand, une influence plus forte que le groupe méthyle sur la réactivité de l'hydroxyle.

Dès 1933, sitôt établie la constitution des hormones œstrogènes, on s'attaquait à leur synthèse. Ce ne fut qu'après deux périodes d'à peu près sept à huit ans, que les efforts déployés devaient enfin aboutir à leur couronnement, la synthèse totale de l'œstrone.

## I. — Première période 1933—1940.

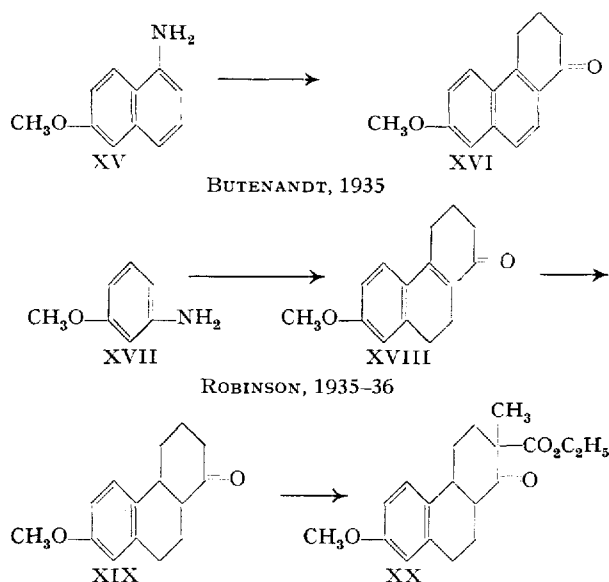
### A. — Premiers essais de synthèse

Dans le courant de la première période déjà, des travaux importants, dont nous ne mentionnerons que les plus intéressants, sortaient de nombreux laboratoires. En 1934, BARDHAN<sup>4</sup>, un Hindou, obtenait pour la première fois une cétone qui présentait le système cyclique des hormones œstrogènes, la nor-désoxy-déshydro-équilénine (XII), en condensant le  $\beta$ -bromo-éthyl-naphtalène-(1) avec l'ester  $\beta$ -céto-adipique. En cyclisant le nouveau céto-ester X il arrivait à un diacide phénanthrénique XI et fermait l'anneau pentagonal en chauffant avec de l'anhydride acétique. Il montrait aussi<sup>5</sup>, en 1936, qu'en oxydant le dérivé  $\alpha$ -oxyméthylénique (XIII) de l'œstrone (II), on obtient



un acide homo-marrianolique (XIV) qu'on peut également recycler en œstrone (II) par l'anhydride acétique.

En 1935, BUTENANDT<sup>1</sup> avec une cétone phénanthrolique tétrahydrogénée (XVI) préparée à partir de l'acide de CLÈVE (XV) et l'année suivante ROBINSON<sup>2</sup> avec des cétones hexa- et octahydrogénées (XVIII et XIX) et le céto-ester correspondant (XX), préparés à partir de la m-anisidine (XVII), jetaient les bases de synthèses nouvelles. C'est ainsi que ROBINSON<sup>3</sup> se servait en 1938, sans succès il est vrai, de ce céto-ester pour entreprendre pour la première fois la synthèse totale



de l'œstrone. Par contre, il décrivait la synthèse d'une x-nor-équilénine<sup>4</sup> et en 1939 celle d'une x-nor-œstrone<sup>5</sup>, deux corps dépourvus du groupe méthylé angulaire et de configuration inconnue.

### B. — Synthèse totale de l'équilénine

Avec la synthèse totale de l'équilénine (VIII), BACHMANN<sup>6</sup>, un savant américain d'origine suisse, accusait un premier grand succès. Commenant à la cétone de BUTENANDT (XVI) et suivant l'exemple de ROBINSON, il édifiait le cycle pentagonal porteur du groupe cétonique en une série d'étapes qui passaient par un acide bisdeshydro-marrianolique (XXI) et par l'homo-acide correspondant (XXII). L'équilénine possède 2 centres d'asymétrie, en  $C_{13}$  et  $C_{14}$ . BACHMANN prépara les 2 racémiques et les 4 isomères optiquement actifs prévus par la théorie. Un seul d'entre eux, iden-

<sup>1</sup> A. BUTENANDT et G. SCHRAMM, Ber. Dtsch. chem. Ges. 68, 2083 (1935).

<sup>2</sup> R. ROBINSON et J. WALKER, J. Chem. Soc. London 1936, 747.

<sup>3</sup> R. ROBINSON et J. WALKER, J. Chem. Soc. London 1938, 183.

<sup>4</sup> A. KOEBNER et R. ROBINSON, J. Chem. Soc. London 1938, 1994.

<sup>5</sup> R. ROBINSON et K. N. RYDON, J. Chem. Soc. London 1939, 1394.

<sup>6</sup> W. E. BACHMANN et ses collaborateurs, J. Amer. Chem. Soc. 61, 974 (1939); 62, 824 (1940).

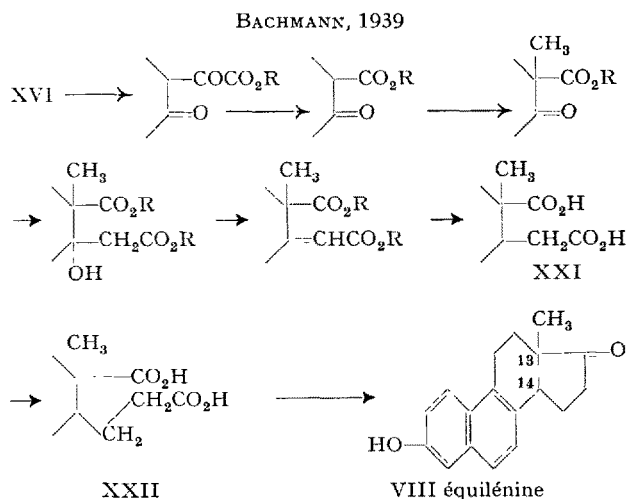
<sup>1</sup> E. SCHWENK et F. HILDEBRANDT, Naturw. 21, 177 (1933).

<sup>2</sup> M. W. GOLDBERG, J. SICÉ, H. ROBERT et PL. PLATTNER, Helv. chim. acta 30, 1441 (1947).

<sup>3</sup> K. MIESCHER et W. H. FISCHER, Helv. chim. acta 23, 401 (1940).

<sup>4</sup> J. C. BARDHAN, Nature 134, 217 (1934); J. Chem. Soc. London 1936, 1848.

<sup>5</sup> J. C. BARDHAN, J. Chem. Soc. London 1936, 1848.

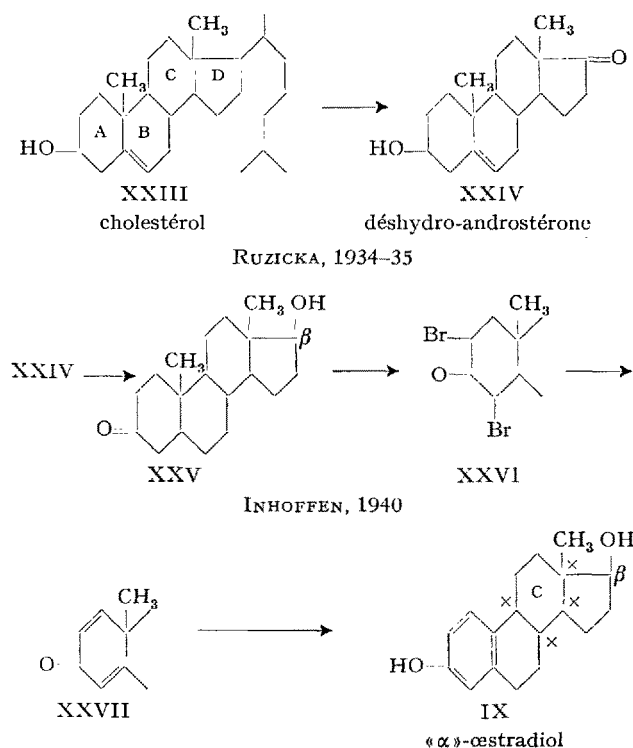


tique à l'hormone naturelle droite, fit preuve, avec un seuil de 30  $\gamma$ , d'une activité œstrogène appréciable sur le rat.

### C. — Synthèse partielle de l'œstradiol

Comme l'œstrone compte quatre centres d'asymétrie et l'œstradiol cinq, une synthèse partielle utilisant des produits naturels apparentés offrait évidemment le plus de chances de succès.

La déshydro-androstérone (XXIV) issue du cholestérol (XXIII) par dégradation chromique d'après la méthode classique de RUZICKA<sup>1</sup> était déjà devenue un produit de première importance industrielle pour la



<sup>1</sup> L. RUZICKA, M. W. GOLDBERG et H. BRÜNGGER, *Helv. chim. acta* 17, 1389 (1934). — L. RUZICKA et A. WETTSTEIN, *Helv. chim. acta* 18, 1264 (1935).

fabrication de la testostérone et de la progestérone et était tout indiquée pour aborder la synthèse partielle des hormones œstrogènes.

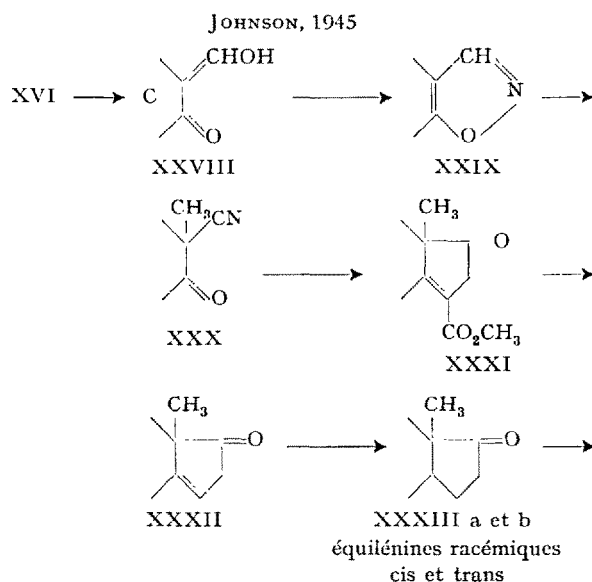
L'aromatisation de l'anneau A des stéroïdes fut élégamment résolue en 1940 par INHOFFEN<sup>1</sup>. Sa synthèse de l'œstradiol naturel passait de la déshydro-androstérone (XXIV) à l'androstanol-17 $\beta$ -one-3 (XXV) et, par le dibromure XXVI, à la  $\Delta^{1,4}$ -androstadiénolone (XXVII). La déméthylation de XXVII à haute température (500–600°) conduisait à l'hormone elle-même. Ceci prouvait en même temps que l'ordonnance stérique des quatre centres d'asymétrie de l'œstrone et de l'œstradiol groupés autour du noyau C concorde avec celle des stérols et des autres hormones stéroïdes.

Parmi les essais qui remontent à cette époque de synthèse partielle, mentionnons encore ceux de REMESOW<sup>2</sup> et de MARKER<sup>3</sup> qui partirent du néo-ergostérol et surtout celui de MARKER<sup>4</sup> qui veut avoir obtenu de l'œstrone ou de l'œstradiol en réduisant l'équilénine ou la dihydro-équilénine par le sodium dans l'alcool amylique, résultat que ne purent confirmer d'autres auteurs<sup>5</sup>.

## II. — Seconde période 1941–1948

### A. — Travaux divers

Dès lors, et nous entrons maintenant dans la seconde période de huit ans, on redoubla d'efforts dans le domaine de la synthèse.



<sup>1</sup> H. H. INHOFFEN, *Angew. Ch.* 53, 471 (1940). — H. H. INHOFFEN et G. ZÜHLSDORFF, *Ber. Dtsch. chem. Ges.* 74, 1991 (1941). — H. H. INHOFFEN, *Angew. Ch.* 59, 207 (1947).

<sup>2</sup> J. REMESOW, *Rec. Trav. chim. Pays-Bas* 55, 797 (1936); 56, 1093 (1936).

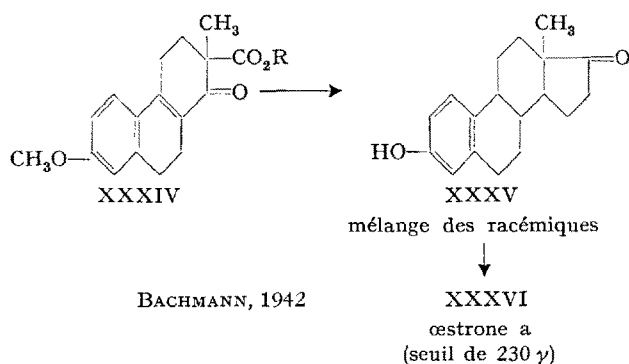
<sup>3</sup> R. E. MARKER, O. KAMM, TH. S. OAKWOOD et J. F. LANCUS, *J. Amer. Chem. Soc.* 58, 1503 (1936).

<sup>4</sup> R. E. MARKER, *J. Amer. Chem. Soc.* 60, 1897 (1938).

<sup>5</sup> A. WINDAUS et M. DEPPE, *Ber. Dtsch. chem. Ges.* 70, 76 (1937). — L. RUZICKA, P. MÜLLER et E. MÖRGELI, *Helv. chim. acta* 21, 1394 (1938).

De 1940 à 1942 BACHMANN<sup>1</sup> décrivait une série d'homologues et d'analogues de l'équilénine. En 1943, il refaisait par une voie différente<sup>2</sup> la synthèse de la nor-équilénine de ROBINSON. Ce dernier, l'année suivante, reprenant ses essais de 1941<sup>3</sup>, réussissait à introduire le groupe méthyle angulaire en bloquant momentanément le chaînon méthylénique voisin du carbonyl<sup>4</sup>. Il n'obtenait malheureusement que l'iso-équilénine inefficace. Un autre procédé de méthylation était décrit en 1945 par JOHNSON<sup>5</sup> qui la même année annonçait une deuxième et intéressante synthèse de l'équilénine<sup>6</sup>.

Tout comme BACHMANN, JOHNSON partait de la cétone XVI de BUTENANDT. De là il passait par le composé oxyméthylénique XXVIII et l'isoxazole XXIX à la cyano-cétone méthylée XXX qu'il condensait avec le succinate de méthyle (réaction de STOBBE) pour aboutir directement à l'ester cétonique



cyclique XXXI. Une hydrolyse suivie d'une décarboxylation lui donnait la cétone XXXII qu'une hydrogénation catalytique transformait en un mélange des deux équiléénines racémiques (XXXIII a et b) que l'on sépare facilement. La résolution du diastéréo-isomère trans se fait par l'ester menthoxy-acétique d'après BACHMANN.

En 1942 déjà, BACHMANN<sup>7</sup> semblait être bien près de la synthèse totale de l'œstrone elle-même. Partant du céto-ester hexahydrogéné XXXIV qu'il avait préparé à cet effet il obtenait, en procédant comme pour sa synthèse de l'équilénine, un mélange de racémiques XXXV de même constitution que l'œstrone. Il en séparait un isomère qu'il appela œstrone a (XXXVI), qui fondait à 214–215° (œstrone naturelle, F 254,5–256°) et qui avec une valeur-seuil de 230 γ sur le rat était

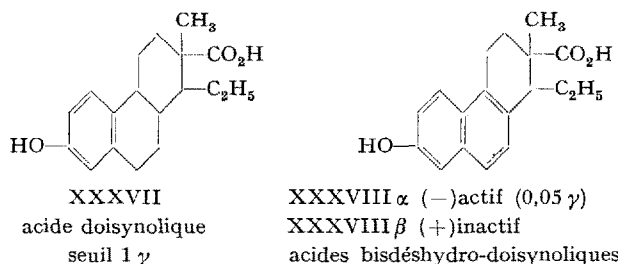
plus de 200 fois plus faible que l'hormone naturelle.

Ainsi, lorsqu'en 1943 nous entreprenions nos propres recherches, la synthèse totale avait échoué devant la complexité stérique de la molécule qu'on n'était pas parvenu à surmonter. En 1947 encore, VELLUZ<sup>1</sup> jugeait la situation avec pessimisme. Seul un détournement, qui ouvrit en même temps la voie à la découverte d'une nouvelle classe de combinaisons douées d'un pouvoir œstrogène particulièrement prononcé, les acides doisynoliques, nous conduisit au but, la synthèse totale des hormones natives elles-mêmes. Nos premiers résultats ont déjà été exposés dans cette revue<sup>2</sup>. Je me bornerai donc à résumer ici nos recherches ultérieures.

## B.—Les acides doisynoliques

### a) — Les acides de la série bisdés-hydro-doisynolique

Nous avons pu prouver en 1944<sup>3</sup> que l'acide IV de DOISY, dérivant de l'œstrone par fusion alcaline et qui témoignait d'une forte activité œstrogène sur le rat châtré, correspondait à la formule  $C_{18}H_{24}O_3$  (XXXVII). Nous l'avons nommé acide doisynolique. La fusion alcaline de l'équilénine mène à deux acides, les acides bisdés-hydro-doisynoliques (XXXVIII α et β), dont l'un, l'acide (–)α est fortement actif et l'autre, l'acide (+)β, inactif. Nous avons fait la synthèse des deux racémiques de l'acide bisdés-hydro-doisynolique qui correspondent aux deux équiléénines racémiques, par deux méthodes différentes<sup>4</sup>. JOHNSON<sup>5</sup> vient d'en décrire une troisième. L'antipode lévogyre du racémique α était en tous points identique à l'acide hautement actif provenant de l'équilénine<sup>6</sup>. Son éther



méthyle est employé en thérapeutique sous le nom de «Fénocycline».

### b) — Relations entre acides doisynoliques et cétones du type de l'œstrone

Nous avons tout d'abord pensé que l'acide bisdés-hydro-doisynolique α actif se rattachait, par sa confi-

<sup>1</sup> W. E. BACHMANN et ses collaborateurs, J. Amer. Chem. Soc. 62, 2084, 2750 (1940); 63, 595, 598, 2292 (1941); 64, 94, 536 (1942).

<sup>2</sup> W. E. BACHMANN, R. A. GREGG et E. F. PRATT, J. Amer. Chem. Soc. 65, 2314 (1943).

<sup>3</sup> A. KOEBNER et R. ROBINSON, J. Chem. Soc. London 1941, 566.

<sup>4</sup> A. U. BIRCH, R. JAEGER et R. ROBINSON, J. Chem. Soc. London 1945, 582.

<sup>5</sup> W. S. JOHNSON, J. W. PETERSON et C. D. GUTSCHE, J. Amer. Chem. Soc. 67, 2274 (1945).

<sup>6</sup> W. S. JOHNSON, J. W. PETERSON et C. D. GUTSCHE, J. Amer. Chem. Soc. 69, 2943 (1947).

<sup>7</sup> W. E. BACHMANN, S. KUSHNER et A. C. STEVENSON, J. Amer. Chem. Soc. 64, 974 (1942).

<sup>1</sup> C. VELLUZ, Bull. Soc. chim. France 1947, 569.

<sup>2</sup> K. MIESCHER, Exper. 2, 247 (1946).

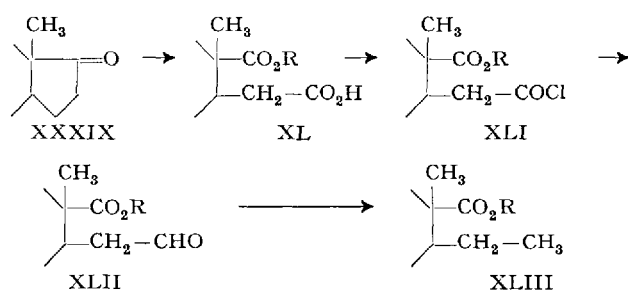
<sup>3</sup> K. MIESCHER, Helv. chim. acta 27, 1727 (1944). — J. HEER et K. MIESCHER, Helv. chim. acta 28, 156 (1945). — J. HEER, J. R. BILLETER et K. MIESCHER, Helv. chim. acta 28, 991 (1945).

<sup>4</sup> J. HEER, J. R. BILLETER et K. MIESCHER, Helv. chim. acta 28, 1342 (1945). — G. ANNER et K. MIESCHER, Helv. chim. acta 29, 586 (1946).

<sup>5</sup> W. S. JOHNSON et R. P. GRABER, J. Amer. Chem. Soc. 70, 2612 (1948).

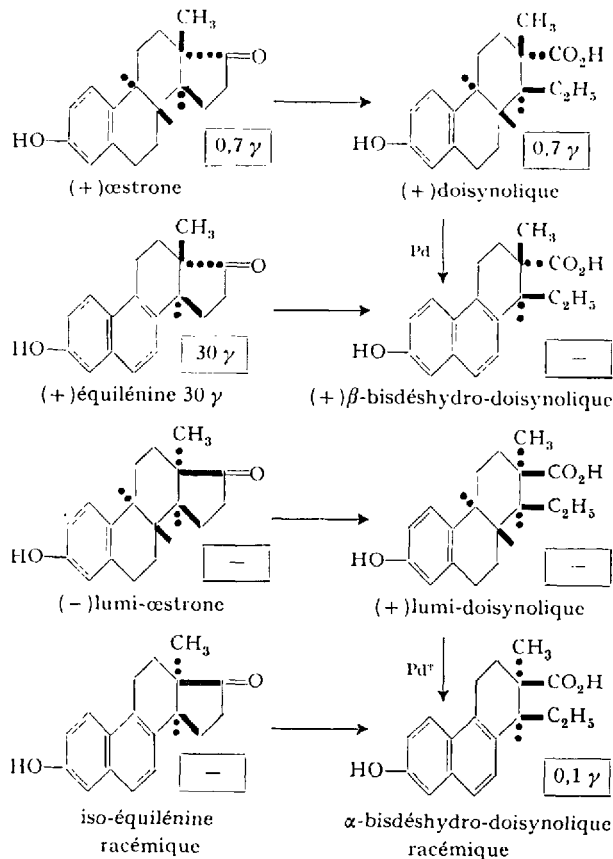
<sup>6</sup> R. ROMETSCH et K. MIESCHER, Helv. chim. acta 29, 1231 (1946).

guration, à l'équilénine et l'acide  $\beta$  inactif à l'iso-équilénine. Pour vérifier cette hypothèse nous avons cherché à établir une relation plus claire entre les cétones du type de l'œstrone ou de l'équilénine et les acides doisynoliques qui leur correspondent<sup>1</sup>. En oxydant les cétones par l'hypo-iodite de potassium, on obtient des acides dicarboxyliques tels que l'acide marrianolique III. Leur fonction carboxylique primaire peut être facilement convertie en groupe méthyl-lique par passage à l'ester acide, au chlorure d'acide, puis à l'aldéhyde, et finalement par réduction de l'aldéhyde d'après WOLFF-KISHNER (formules partielles XXXIX à XLIII).



cétones  
(XLIV-XLVII)

acides  
(XLVIII-LI)



\* La déshydrogénation donne l'antipode (+) inactif de l'acide  $\alpha$ .  
[ ] seuil d'activité œstrogène sur le rat châtré.

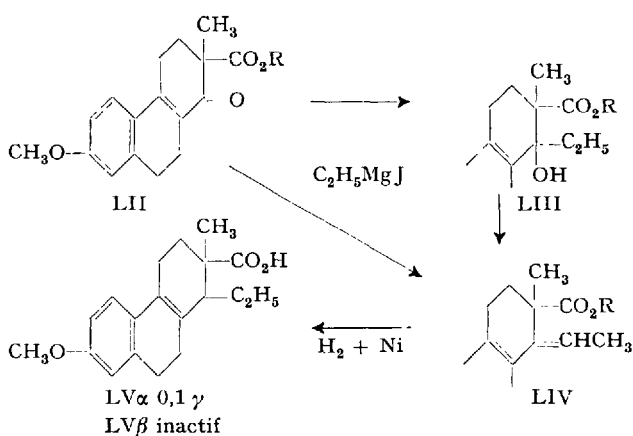
<sup>1</sup> J. HEER et K. MIESCHER, *Helv. chim. acta* 29, 1895 (1946); 31, 405 (1948).

Les formules XLIV à LI illustrent les relations que nous avons trouvées entre les cétones et les acides monocarboxyliques. Il en découle le fait remarquable que, à l'inverse de ce que nous avons supposé, l'acide  $\alpha$ -bisdéshydro-doisynolique actif se rattache, par sa configuration, à l'iso-équilénine inactive, de telle sorte qu'on était en droit de se demander si les cycles C et D de l'équilénine ne présentent pas, contrairement à ceux de l'œstrone, la configuration *cis*. Mais, comme vient de le montrer SHOPPEE<sup>1</sup>, il n'y a maintenant presque plus de doutes sur l'identité de configuration de ces deux œstrogènes.

Du reste, et ceci confirme nos données, nous avons pu ramener par déshydrogénation ménagée de leurs éther-esters<sup>2</sup> les acides (+)doisynolique (XLVIII) et (+)lumi-doisynolique (L) aux acides bisdéshydro-doisynoliques XLIX et LI correspondants. L'acide (+)lumi L dérive de la (-)lumi-œstrone XLVI, le produit d'irradiation de la (+)œstrone XLIV.

### c) - Acides de la série monodéshydro-doisynolique

La synthèse des acides doisynoliques et de leurs dérivés monodéshydrogénés revêtait, en vue de celle de l'œstrone, une importance particulière. Leur préparation a suivi celle des acides bisdéshydrogénés.



LIV se forme directement, à côté de LIII lorsqu'on fait agir l'iodure d'éthyl-magnésium sur l'ester de l'acide céto-1-méthyl-2-méthoxy-7-hexahydro-1,2,3,4,9,10-phénanthrène-carboxylique-(2) (LII) déjà décrit par BACHMANN<sup>3</sup>. L'hydrogénation de LIV nous a donné<sup>4</sup> les deux acides racémiques LV $\alpha$  et LV $\beta$ . L'un d'eux, le racémique  $\alpha$ , est aussi actif que l'acide  $\alpha$ -bisdéshydro-doisynolique lui-même, auquel il peut être ramené par déshydrogénation ménagée. L'acide  $\beta$  par contre est

<sup>1</sup> C. W. SHOPPEE, *Nature* 160, 64 (1947); 161, 207 (1948); *Steroids and Related Substances, Annual Reports on the Progress of Chemistry for 1947*, p. 170. Nos travaux sur les acides doisynoliques y sont résumés d'une façon particulièrement heureuse.

<sup>2</sup> J. HEER et K. MIESCHER, *Helv. chim. acta* 30, 550 (1947).

<sup>3</sup> W. E. BACHMANN, S. KUSHNER et A. C. STEVENSON, *J. Amer. Chem. Soc.* 64, 974 (1942).

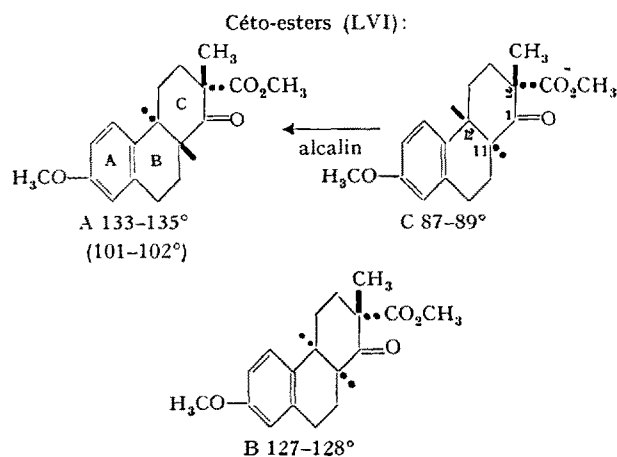
<sup>4</sup> G. ANNER et K. MIESCHER, *Exper.* 2, 409 (1946); *Helv. chim. acta* 29, 1889 (1946).

inactif. Nous avons encore obtenu<sup>1</sup>, en procédant comme pour LV $\alpha$ , un homologue inférieur, le dérivé méthyl-(1), que HOGG<sup>2</sup> vient de préparer par une méthode différente.

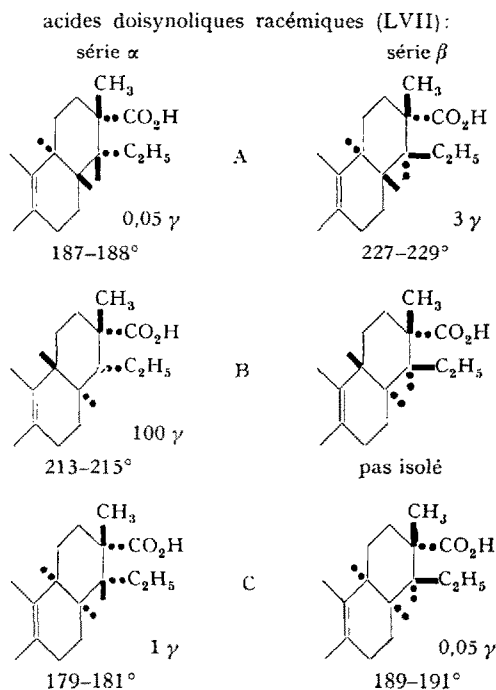
#### d) - Synthèse totale des acides doisynoliques

Nous avons tout récemment achevé la synthèse des acides doisynoliques de la série des octahydro-phénanthrènes<sup>3</sup>. La présence de quatre atomes de carbone asymétriques ordonnés autour du cycle C, ce qui fait huit acides racémiques, opposait un sérieux obstacle à leur préparation.

Nous sommes partis de l'ester de l'acide céto-1-méthyl-2-méthoxy-7-octahydro-phénanthrène-carboxylique-(2) (LVI) qui présente trois centres d'asymétrie. L'ester éthylique (XX), comme nous l'avons vu, avait été préparé par ROBINSON<sup>4</sup> en 1936 et l'ester méthyl-ique en 1943 par BACHMANN<sup>5</sup>, grâce à un procédé meilleur. Formés du mélange des racémiques, ces deux esters n'avaient été obtenus que sous forme d'huiles.



Nous avons, par cristallisation fractionnée, retiré de l'ester méthyl-ique huileux trois des quatre racémiques possibles, A, B et C. Le céto-ester C se transforme en céto-ester A sous l'effet des alcalins, ce qui résulte certainement d'une inversion en C<sub>11</sub>, en position  $\alpha$  par rapport au groupe cétonique. A chacun de ces céto-esters racémiques correspondent théoriquement deux acides doisynoliques diastéréo-isomères  $\alpha$  et  $\beta$  de synthèse (LVII). Les trois céto-esters A, B et C nous ont donné jusqu'à maintenant les cinq acides doisynoliques racémiques A $\alpha$ , A $\beta$ , B $\alpha$ , C $\alpha$  et C $\beta$ . Deux d'entre eux, A $\alpha$  et B $\alpha$  ont été également préparés par réduction au sodium et à l'alcool dans l'ammoniac liquide de l'acide  $\alpha$ -monodéshydro-doisyndolique actif (LV $\alpha$ ), pris sous forme de son éther-ester.



La déshydrogénation ménagée des éther-esters des acides de la série  $\alpha$  conduit à l'acide  $\alpha$ -bisdéshydro-doisyndolique hautement actif et celle des acides de la série  $\beta$  à l'acide  $\beta$ -bisdéshydro-doisyndolique inactif. L'acide A $\beta$  est le racémique de l'acide (+)doisyndolique dérivé de l'œstrone naturelle et l'acide B $\alpha$  probablement celui de l'acide (+)lumi-doisyndolique.

L'acide B $\alpha$  est presque inactif, tandis que dans les deux séries A et C, contrairement à ce que nous avons trouvé dans la série bisdéshydrogénée, les deux racémiques  $\alpha$  et  $\beta$  sont actifs. Dans la série A c'est le dérivé  $\alpha$ , dont les groupes carboxyle et éthyle sont en position cis qui surpasse, et de beaucoup, le dérivé «naturel» et l'œstrone elle-même en effet œstrogène, tandis que dans la série C, c'est le dérivé trans (C $\beta$ ) qui l'emporte sur le dérivé cis (C $\alpha$ ). Comme les relations de configuration entre les différents acides doisynoliques coïncident avec celles des différentes œstrones isomères, nous donnons dans le tableau suivant un schéma de toutes leurs formes possibles, en considérant les quatre centres d'asymétrie ordonnés autour du noyau C. Le groupe méthyle lié à C<sub>2</sub> (acides doisynoliques) ou C<sub>13</sub> (œstrone) et les atomes d'hydrogène liés à C<sub>1</sub>, C<sub>11</sub> et C<sub>12</sub> (acides doisynoliques) ou C<sub>14</sub>, C<sub>8</sub> et C<sub>9</sub> (œstrones) sont numérotés de I à IV. L'anneau C, projeté sur un plan perpendiculaire au sien, est représenté par une droite horizontale. Les substituants situés en position  $\beta$ , (au-dessus du plan de C) sont figurés par des lignes verticales pleines élevées sur la projection de C et les substituants situés en position  $\alpha$  (au-dessous du plan de C) par des lignes pointillées abaissées de cette même projection. Remarquons enfin que pour atteindre, dans la série des acides doisynoliques, à une activité appréciable, l'atome d'hydrogène lié en C<sub>12</sub>

<sup>1</sup> J. HEER et K. MIESCHER, *Helv. chim. acta* 31, 1289 (1948).

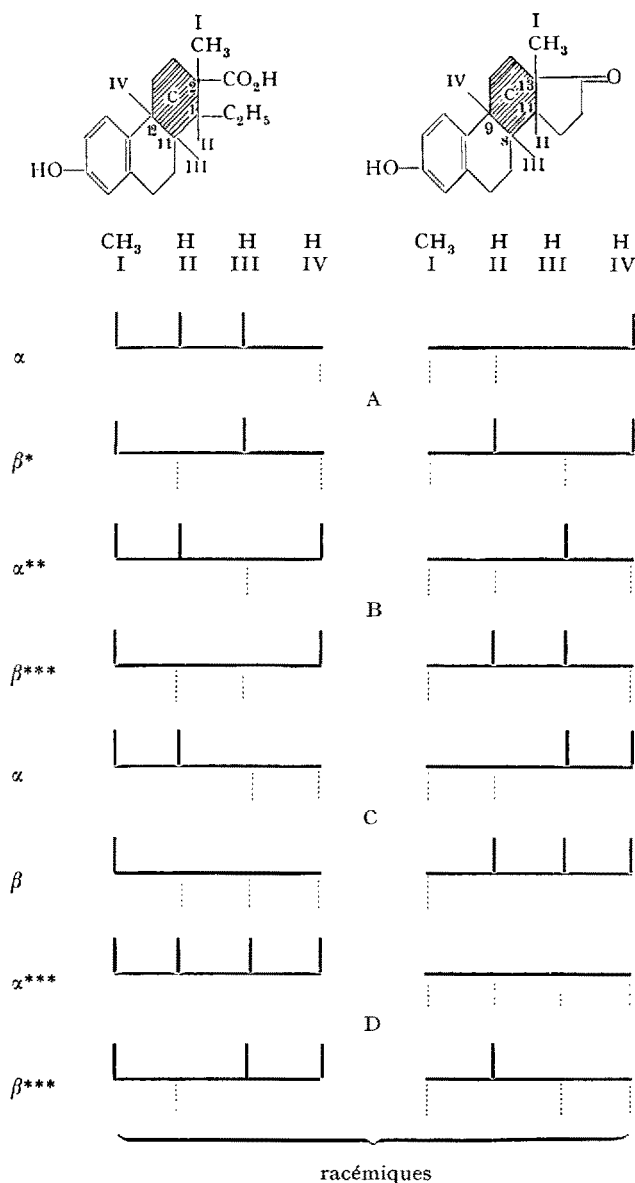
<sup>2</sup> J. A. HOGG, *J. Amer. Chem. Soc.* 70, 161 (1948).

<sup>3</sup> G. ANNER et K. MIESCHER, *Exper.* 3, 279 (1947); *Helv. chim. acta* 30, 1422 (1947).

<sup>4</sup> R. ROBINSON et J. WALKER, *J. Chem. Soc. London* 1936, 747.

<sup>5</sup> W. E. BACHMANN, S. KUSHNER et A. C. STEVENSON, *J. Amer. Chem. Soc.* 64, 974 (1942).

## Relations stériques entre acides doisynoliques et œstrones



\* Acide doisynolique et œstrone naturels.

\*\* Acide lumi-doisynolique et lumi-œstrone (?).

\*\*\* Acides doisynoliques inconnus.

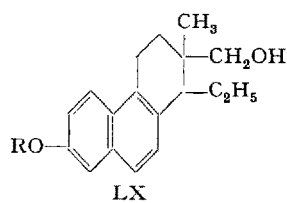
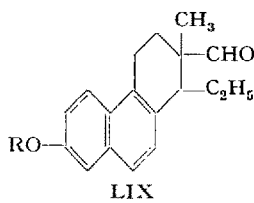
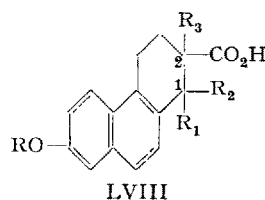
et le groupe méthyle lié en  $C_2$  doivent, comme dans l'œstrone, s'opposer en trans, mais que l'on ne parvient à l'activité maximale que lorsque les atomes d'hydrogène fixés en position 1 et 11 sont en cis. Les acides  $D\alpha$ ,  $D\beta$  et  $B\beta$  encore inconnus sont probablement inactifs ou peu actifs, comme l'acide  $B\alpha$ .

Notre schéma<sup>1</sup> est naturellement aussi valable pour illustrer la configuration des esters cétoniques où le centre d'asymétrie II est supprimé ainsi que celle des acides bisdés-hydro-doisynoliques ou des équilénines où les deux centres III et IV sont supprimés.

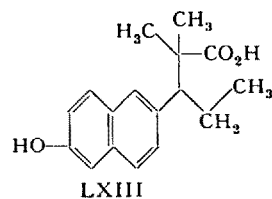
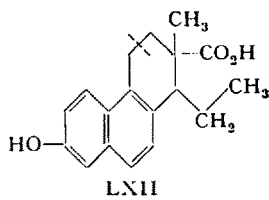
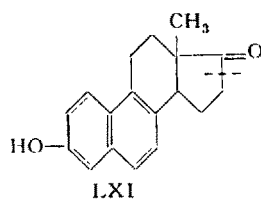
<sup>1</sup> Nous avons montré un schéma analogue au Congrès de chimie pure et appliquée à Londres en 1947.

## e) - Homologues et analogues

Au cours des études étendues que nous avons poursuivies pour préciser l'influence des substituants sur l'activité œstrogène, nous avons préparé et étudié de nombreux dérivés, analogues et homologues de l'acide  $\alpha$ -bis-dés-hydro-doisynolique (XXXVIII $\alpha$ ) surtout<sup>1</sup>. Je ne puis malheureusement pas entrer ici dans le détail de tous nos résultats. Relevons simplement que la présence simultanée de courtes chaînes alcoylées en  $C_1$  et  $C_2$  (LVIII) est déterminante pour l'efficacité de nos acides et que le groupe carboxyle de l'acide  $\alpha$ -bisdés-hydro-doisynolique peut être remplacé par une fonction aldéhyde (LIX) ou alcool (LX) sans qu'il y ait perte sensible de pouvoir<sup>2</sup> œstrogène.



On peut se figurer les acides doisynoliques (LXII) comme formés par rupture du cycle D des hormones œstrogènes (LXI). Tout récemment, A. HOREAU<sup>3</sup> à Paris, a préparé des acides hydroxy-6-naphtalène-

acide diméthyl- $\alpha$ , $\alpha$ -éthyl- $\beta$ -allénolique

A. HOREAU, 1946

<sup>1</sup> J. HEER et K. MIESCHER, *Helv. chim. acta* 28, 1506 (1945). - J. R. BILLETER et K. MIESCHER, *Helv. chim. acta* 29, 859 (1946). - G. ANNER, J. HEER et K. MIESCHER, *Helv. chim. acta* 29, 1071 (1946). - L. EHMANN et K. MIESCHER, *Helv. chim. acta* 30, 413 (1947). - G. ANNER et K. MIESCHER, *Helv. chim. acta* 30, 544 (1947). - J. HEER et K. MIESCHER, *Helv. chim. acta* 30, 786 (1947).

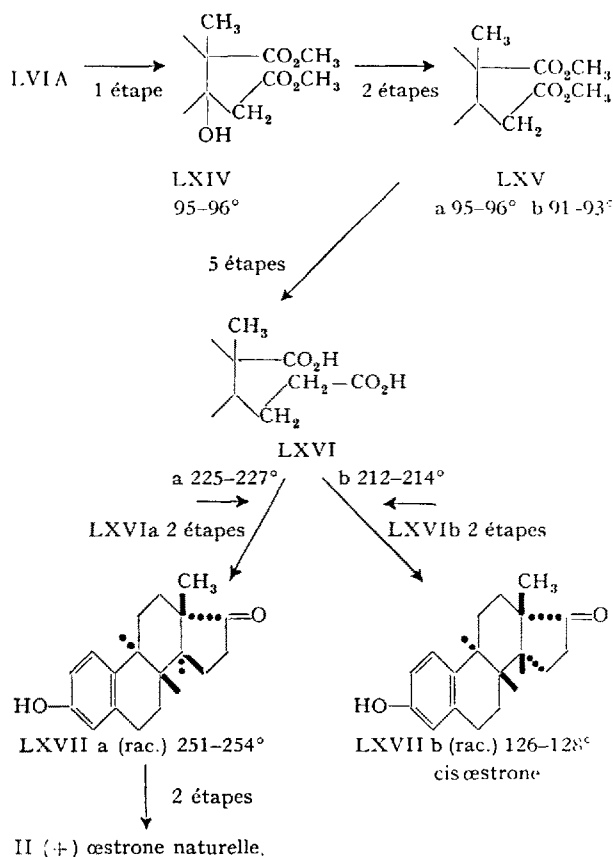
<sup>2</sup> J. HEER et K. MIESCHER, *Helv. chim. acta* 30, 778 (1947).

<sup>3</sup> A. HOREAU et J. JACQUES, *C. r. Acad. Sci. Paris* 222, 1113 (1946). - R. COURRIER, A. HOREAU et J. JACQUES, *C. r. Soc. Biol.* 141, 159 (1947). - J. JACQUES et A. HOREAU, *Bull. Soc. chim. France* 1948, 711.

propioniques-(2) dialcoylés en position  $\alpha$  et mono-alcoylés en position  $\beta$  par rapport au groupe carboxyle. Ces acides qu'il a dénommés acides  $\alpha,\alpha$ -dialcoyl- $\beta$ -alcoyl-allénoliques correspondent à un acide bis-déshydro-doïsynolique dont le noyau C aurait été ouvert. Ils ont une action considérable sur le rat, celle de leur meilleur représentant atteignant environ un septième de l'efficacité de l'acide  $\alpha$ -bis-déshydro-doïsynolique.

### C. — La synthèse totale de l'œstrone

La préparation de céto-esters octahydro-phénanthroliques stériquement définis était la condition première de la synthèse totale des acides doïsynoliques du type de l'acide doïsynolique «naturel». Mais elle ouvrait du même coup la voie à celle de l'œstrone naturelle elle-même. Un mémoire préliminaire a paru au mois de janvier 1948<sup>1</sup> et une communication plus complète tout dernièrement<sup>2</sup>. D'emblée le céto-ester méthylrique LVIA nous parut le plus prometteur. ROBINSON et WALKER<sup>3</sup> avaient déjà essayé, dans leurs tentatives d'édifier un cycle pentagonal, de condenser leur produit huileux avec l'ester bromacétique et le zinc, d'après REFORMATZKY, puis avaient saponifié le produit de condensation, l'avaient déshydraté mais n'avaient pas pu hydrogéner la double liaison ainsi formée.



Si l'on s'abstient de saponifier et part du céto-ester racémique LVIA stériquement homogène, on peut facilement obtenir par réaction de REFORMATZKY le diester hydroxylé (LXIV) à l'état pur. Une séparation d'eau suivie d'une hydrogénation nous donnait 2 esters marrianoliques (LXV) stériquement purs, dont l'un, l'ester a, à point de fusion légèrement plus élevé, correspondait au racémique du diester de l'acide dextrogyre (III) qui résulte de l'oxydation de l'œstrone. Par saponification partielle de LXVa, passage au chlorure d'acide et à la diazocétone, réaction d'ARNDT-EISTERT et saponification, nous arrivions à un acide homo-marrianolique racémique (LXVIa). Cyclisé par chauffage de son sel de plomb, il se transformait en éther méthyllique d'œstrone qui, par scission du groupe étheré, nous donnait l'œstrone racémique LXVIIa fondant à 251-254°. Dans le test de l'œstre sur le rat elle avait la moitié de l'activité de l'œstrone naturelle. Nous avons résolu le racémique par son ester *l*-menthoxy-acétique. La saponification de la forme droite, peu soluble dans le méthanol, nous livrait enfin la (+) œstrone elle-même, qui par son point de fusion, son point de fusion mélangé, son pouvoir rotatoire, son spectre infrarouge, l'aspect de ses cristaux et celui de ses dérivés et enfin par son activité œstrogène, s'identifiait complètement à l'hormone naturelle<sup>1</sup>.

Ainsi était réalisée la synthèse totale de l'œstrone, objet de tant de travaux, et avec elle celle de toutes les hormones œstrogènes natives, puisque l'œstradiol<sup>2</sup> et l'œstriol<sup>3</sup> ont été ramenés à l'œstrone par voie de synthèse.

Par ailleurs, nous avons obtenu de manière analogue à partir de l'ester marrianolique à point de fusion inférieur (LXVb) une œstrone racémique stéréo-isomère (LXVIIb) fondant à 126-128°, dont les anneaux C et D se trouvent, contrairement à ceux de l'hormone naturelle, en position *cis*. Elle était encore sans effet sur le rat femelle, à la dose de 100  $\gamma$ . Cela vaut du reste aussi pour la lumi-œstrone, qui fond à 268-269°. Mais tandis que notre *cis*-œstrone appartient à la série A, la lumi-œstrone se range probablement dans la série B de sorte que leur point de fusion mélangé accuse une dépression prononcée.

L'inactivité de la *cis*-œstrone est en opposition frappante avec les constatations que nous avons faites à propos des acides doïsynoliques, chez lesquels les 2 racémiques de la série A sont actifs, l'activité du composé *cis* (A $\alpha$ ) dépassant de loin celle du dérivé *trans* (A $\beta$ ).

### D. — Synthèses diéniques.

#### a) — Travaux antérieurs

La synthèse de l'œstrone part du céto-ester octahydro-phénanthrolique LXVIA dont la préparation

<sup>1</sup> G. ANNER, Communication présentée en octobre 1948 au VIII<sup>e</sup> Congrès de chimie biologique à Paris.

<sup>2</sup> E. SCHWENK et F. HILDEBRANDT, *Naturw.* 21, 177 (1933).

<sup>3</sup> A. BUTENANDT, *Z. Naturforschung* 1, 82 (1946). — M. N. HUFFMAN, *J. Biol. Chem.* 169, 167 (1947).

<sup>1</sup> G. ANNER et K. MIESCHER, *Exper.* 4, 25 (1948).

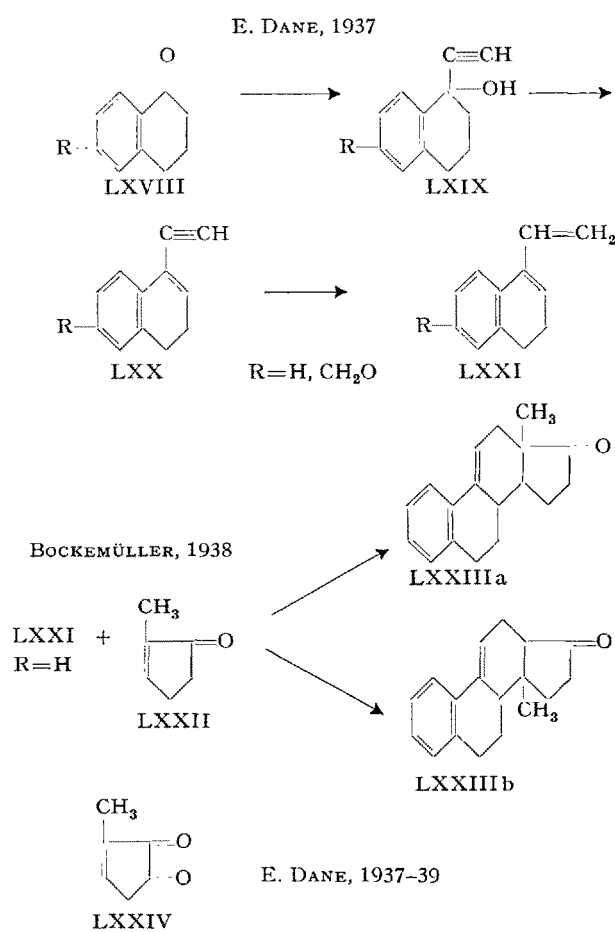
<sup>2</sup> G. ANNER et K. MIESCHER, *Helv. chim. acta* 31, 2173 (1948).

<sup>3</sup> R. ROBINSON et J. WALKER, *J. Chem. Soc. London* 1938, 183.



commence à la m-anisidine. On construit successivement les noyaux du naphthalène, du phénanthrène et enfin du cyclopenténo-phénanthrène. Des savants anglo-saxons<sup>1</sup> et allemands<sup>2</sup> avaient essayé tôt déjà d'atteindre plus directement au but en recourant à la synthèse diénique.

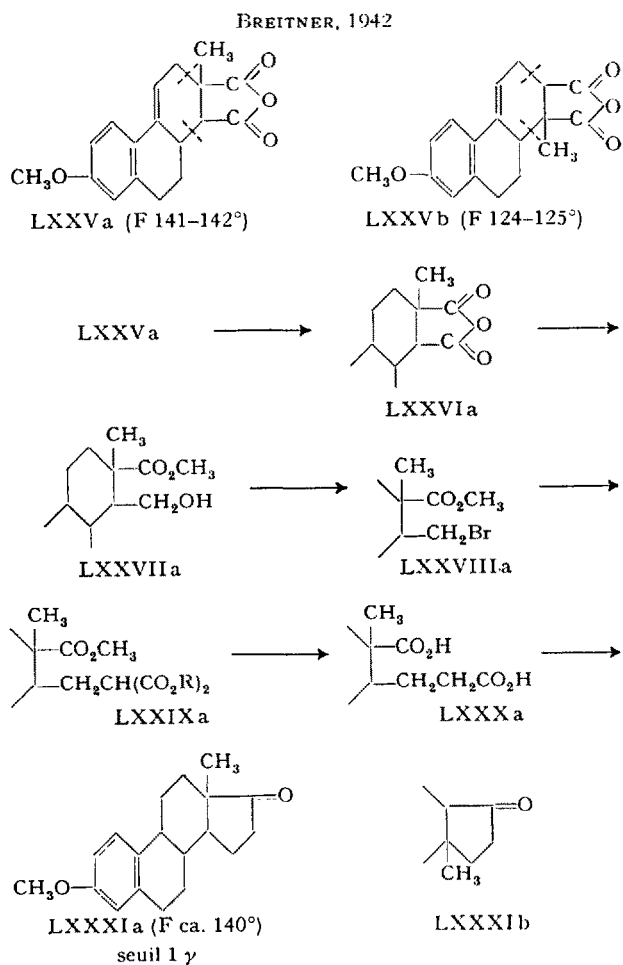
E. DANE<sup>3</sup> réussissait la première en 1937 à condenser l'acétylène, sous forme de son dérivé magnésien, avec les deux tétralones-1 (LXVIII), puis à préparer, par déshydratation des carbinols obtenus (LXIX), les deux éthylnyl-1-dihydro-3,4-naphthalènes (LXX) et, après hydrogénation partielle, les combinaisons vinyliques correspondantes (LXXI) dont elle reconnaissait aussitôt les aptitudes à la synthèse diénique.



L'addition de la méthyl-cyclopenténone LXXII à ces diènes était particulièrement tentante, car la dihydrogénation du produit de réaction pouvait conduire immédiatement à un composé du type de l'œstrone. BÖCKEMÜLLER<sup>4</sup>, dès 1938, signalait une condensation de cette cétone cyclique non saturée avec le vinyl-1-dihydro-

3,4-naphthalène (LXXI, R=H) qui aurait pu aboutir à des composés tels que LXXIIIa ou LXXIIIb, mais le cours de la réaction n'était pas clair. A en croire E. DANE<sup>1</sup>, la méthyl-cyclopentène-dione (LXXIV) réagissait mieux. Cette fois encore la structure du produit obtenu en partant du dérivé méthoxylé en position 6 (LXXI, R=CHO) restait obscure. Après hydrogénation des doubles liaisons, élimination de la fonction cétonique supplémentaire et scission du groupe étheré, elle obtenait un composé qui fondait 45° plus bas que l'œstrone, en différait certainement par la configuration et était dépourvu de tout effet.

En 1939, E. DANE<sup>2</sup> estimait très faibles les chances de parvenir à l'œstrone naturelle par la synthèse diénique. C'est pourquoi une communication d'un chimiste de l'I.G. Farben, BREITNER<sup>3</sup>, qui annonçait en 1942 la synthèse, par cette méthode, d'une cétone tétracyclique douée de la même activité que l'œstrone quoique fondant mal et 117° plus bas, ne manqua pas de soulever un certain intérêt. Il fixait l'anhydride citraconique sur le vinyl-1-méthoxy-6-dihydro-3,4-



<sup>1</sup> A. COHEN, *Nature* 136, 869 (1935). - A. COHEN et F. L. WARREN, *J. Chem. Soc. London* 1937, (1315).

<sup>2</sup> E. BERGMANN et F. BERGMANN, *J. Amer. Chem. Soc.* 59, 1443 (1937).

<sup>3</sup> E. DANE, A. W. BINDSEIL et J. SCHMITT, *Liebigs Ann. Ch.* 532, 39 (1937).

<sup>4</sup> W. BÖCKEMÜLLER, *Z. angew. Ch.* 51, 188 (1938).

<sup>1</sup> E. DANE et J. SCHMITT, *Liebigs Ann. Ch.* 536, 196 (1938).

<sup>2</sup> E. DANE et J. SCHMITT, *Liebigs Ann. Ch.* 537, 246 (1939).

<sup>3</sup> ST. BREITNER, *Medizin und Chemie* 4, 317 (1942); Report No 248, p. 20, Office of the Publication Board, Washington.

naphtalène (LXXI) et partant du composé LXXVa ou LXXVb (la position du groupe méthyle restait incertaine), puis procédant, comme le montre le tableau suivant, par les intermédiaires LXXVIa à LXXXa, aboutissait à une cétone LXXXIa ou LXXXIb dont la constitution n'était pas précisée. Le bromure LXXVIIIa était au reste très instable et formait facilement une lactone.

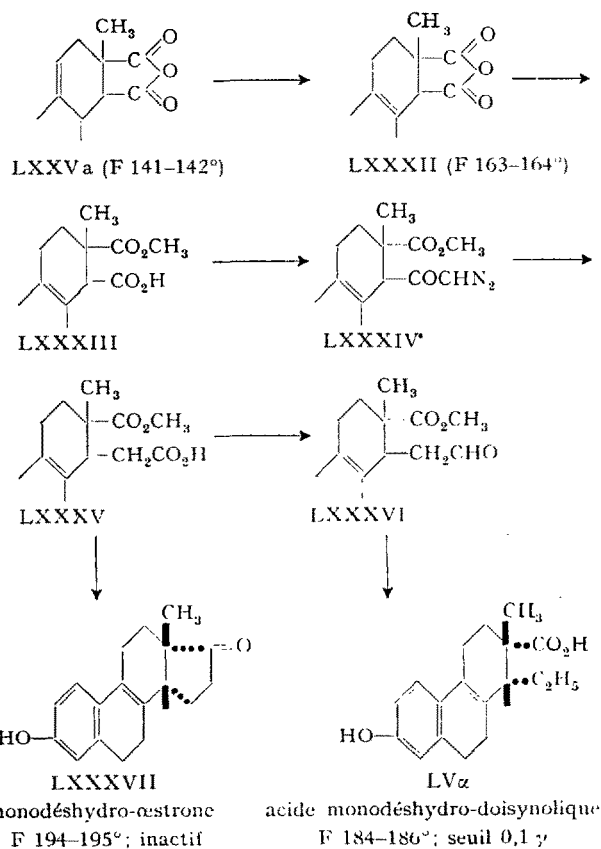
#### b) Nos essais

Nous avons étudié cette synthèse diénique de manière plus complète et montré que l'anhydride citraconique se fixe dans les deux sens possibles<sup>1</sup>. La dés-hydrogénation au charbon palladié qui aboutit aux méthyl-1- ou -2-phénanthrènes nous a permis d'établir que le composé à bas point de fusion a son groupe méthyle en 1, position indésirable, tandis que celui qui fond plus haut le porte en 2, la position correcte. Il semble donc que BREITNER<sup>2</sup> a poursuivi sa synthèse dans la série inverse, c'est-à-dire avec un groupe méthyle en 1 et son produit pourrait être identique à un composé synthétisé récemment par BACHMANN<sup>3</sup>. Le résultat biologique qu'il donne paraît ainsi douteux. A cela s'ajoute encore que les deux fonctions acides de l'anhydride citraconique se situent nécessairement en cis et non en trans, position requise pour la synthèse de l'œstrone. Cela ressort sans équivoque de nos expériences.

En partant du dérivé méthyl-2 (LXXVa) nous avons en effet réussi après déplacement de la double liaison (LXXXII) à ouvrir le groupe anhydride par le méthylate de sodium pour arriver à l'ester-acide voulu (LXXXIII) puis, en passant par la diazocétone LXXXIV et après transposition d'ARNDT-EISTERT, à l'acide  $\alpha$ -mono-déshydro-marrianolique (LXXXV) et enfin, par le semi-aldéhyde LXXXVI, à l'acide  $\alpha$ -mono-déshydro-doïsynolique (LVa) que nous avons déjà préparé par une méthode différente.

Les groupes carboxyle et éthyle de cet acide sont, comme on pouvait le prévoir, en position cis. Avec un seuil d'activité de 0,1  $\gamma$  sur le rat il appartient aux plus puissants dérivés de cette série. Nous nous sommes aussi servi de l'ester-acide monodéshydro-marrianolique (LXXXV) pour faire la synthèse de la monodéshydro-œstrone (LXXXVII) correspondante, fondant à 194–195°. Elle est restée sans effet.

L'addition de l'anhydride maléique, de l'acide fumarique et de leurs dérivés mono-méthylés au vinyl-1-naphtalène et à son dérivé méthoxylé et celle de l'anhydride citraconique au vinyl-1-méthoxy-6-dihydro-3,4-naphtalène viennent d'être étudiées par



BACHMANN<sup>1</sup>. Nos travaux, pour autant qu'ils se recouvrent, ont donné des résultats concordants<sup>2</sup>.

L'amélioration et la simplification de la synthèse de l'œstrone sont l'objet d'efforts constants. Rappelons ainsi les essais plus anciens de GOLDBERG<sup>3</sup> qui condensa le diacétyl-éthylène avec le diène LXXI et mentionnons simplement des travaux plus récents de BUCHTA<sup>4</sup> et de WOODWARD<sup>5</sup>.

#### E. — Le champ structural de l'activité œstrogène

J'ai proposé l'année dernière, à l'occasion d'une conférence tenue au Canada<sup>6</sup>, la notion de champ structural de l'activité<sup>7</sup>. J'entends par là l'extension d'une activité physiologique sur un groupe grand ou petit de combinaisons plus ou moins apparentées. J'ai montré comment dans le cadre des «sexogènes» le passage des «gestagènes», combinaisons qui présentent l'action de la progestérone, aux «androgènes» et finalement aux «œstrogènes» s'accompagne d'une

<sup>1</sup> J. HEER et K. MIESCHER, Exper. 3, 322 (1947); Helv. chim. acta 31, 219, 229 (1948).

<sup>2</sup> St. BREITNER, Medizin und Chemie 4, 317 (1942); Report No 248, p. 20, Office of the Publication Board, Washington.

<sup>3</sup> W. E. BACHMANN et J. M. CHERMIDA, J. Amer. Chem. Soc. 70, 1468 (1948).

<sup>1</sup> W. E. BACHMANN et L. B. SCOTT, J. Amer. Chem. Soc. 70, 1462 (1948). — W. E. BACHMANN et J. M. CHERMIDA, J. Amer. Chem. Soc. 70, 1468 (1948).

<sup>2</sup> Toutefois l'anhydride de BACHMANN fondant à 163° correspond à LXXXII et non à LXXVa, comme il le suppose.

<sup>3</sup> M. W. GOLDBERG et P. MÜLLER, Helv. chim. acta 23, 831 (1941).

<sup>4</sup> E. BUCHTA, Ber. Dtsch. chem. Ges. 81, 254 (1948).

<sup>5</sup> R. B. WOODWARD, communication personnelle.

<sup>6</sup> K. MIESCHER, Recent Progress in Hormone Research (Proc. of the Laurentian Hormone Conference), Academic Press, New York, Vol. 3, sous presse.

<sup>7</sup> En anglais «constitutive field of activity» et en allemand «konstitutives Wirkungsfeld».

extension constante du champ structural de l'activité, le nombre des combinaisons actives augmentant progressivement.

Nos recherches sur les acides doisynoliques montrent que dans cette série, le champ de l'activité œstrogène est relativement vaste. L'effet persiste malgré le passage du système tétracyclique aux systèmes tri- et bicycliques et même malgré le remplacement de la fonction acide par la fonction aldéhyde ou alcool. Elles montrent aussi combien il peut être limité par des conditions d'ordre spatial. Comme nous l'avons vu dans la série des œstrones, la configuration stérique semble y limiter davantage encore le champ structural. La différence pourrait provenir de la position fixe de la fonction cétonique qui s'oppose à la rotation libre du groupe carboxyle.

Mentionnons pour terminer que le champ structural dépend aussi du mode d'application et d'une façon décisive du sujet récepteur<sup>1</sup>, homme ou animal.

### Conclusion

Comme nous l'avons montré, la synthèse des œstrogènes stéroïdes s'est accomplie par étapes. Leur constitution une fois élucidée, on parvenait, après une première période de huit ans environ, à la synthèse totale d'un de leurs produits d'élimination, l'équilénine, et à une synthèse partielle de l'un d'entre eux, l'œstradiol.

Une seconde période de huit ans s'achevait avec la synthèse des hormones natives elles-mêmes.

Des recherches très complètes sur les acides doisynoliques, une nouvelle classe d'œstrogènes à l'activité puissante, aplanirent la route qui nous conduisit à la synthèse totale de l'œstrone. Comme l'œstradiol et l'œstriol avaient déjà été préparés à ses dépens, ce sont les trois hormones natives elles-mêmes qui sont dès maintenant accessibles à la synthèse totale.

L'équilénine compte deux centres d'asymétrie. Pour les hormones natives leur nombre s'élève de quatre à six et celui des stéréo-isomères optiques de seize (œstrone) à soixante-quatre (œstriol). Et déjà l'attaque se tourne vers la synthèse encore plus ardue

des stéroïdes purement hydroaromatiques où l'on dénombre six (testostérone), voire huit centres d'asymétrie (cholestérol), ce qui, pour ce dernier ne présente pas moins de deux cent cinquante-six stéréo-isomères optiques possibles. Le prix Nobel de chimie de 1947, Sir ROBERT ROBINSON<sup>1</sup> vient précisément de faire connaître ses derniers succès dans cette direction.

Il y a évidemment lieu de se demander si la synthèse de combinaisons à l'architecture spatiale si compliquée prendra jamais une importance pratique, alors que la nature, avec les stérols, nous dispense le squelette nécessaire tout fait. A quoi nous répondrons que la recherche doit se fixer ses buts hors de considérations semblables. La nature semble suivre sans peine la voie de la synthèse asymétrique, à nous de lui arracher ses secrets.

### Summary

After the discovery of the œstrogenic hormones in 1929 and subsequent years, and the determination of their constitution, their synthesis was performed in two stages.

Following many preliminary synthetic attempts (BARDHAN, BUTENANDT, ROBINSON and others), in 1940 equilénine was synthesized by BACHMANN and, at almost the same time, INHOFFEN succeeded in the partial synthesis of œstrone from cholesterol.

In 1942 the preparation of a nearly inactive isomer of œstrone was disclosed by BACHMANN. Of decisive importance, however, was the elucidation since 1944 of the doisynolic acids deriving from the œstrogenic ketones and showing themselves high œstrogenic effectiveness, as well as the discovery of important sterical relationships between ketones and acids.

The total synthesis of the doisynolic acids in 1947, which was conducted via sterically uniform ketoesters of the octahydrophenanthrene series, simultaneously cleared the way to the natural œstrone itself (1948). Now all genuine œstrogens (œstrone, œstradiol, œstriol) are accessible to total synthesis.

Attempts to obtain œstrone by means of a diene-synthesis have so far been unsuccessful. On the other hand, it was possible, by this method, to build up a sterically uniform but inactive monodehydro-œstrone and the corresponding highly active monodehydro-doisylnolic acid.

Attention is drawn to the new conception of the "constitutional field of activity".

<sup>1</sup> S. W. CORNFORTH et R. ROBINSON, *Nature* 160, 737 (1947).

<sup>1</sup> R. COURRIER, A. HOREAU et J. JACQUES, *C. r. Soc. biol.* 142, 146 (1948).

## Wirkstoffe der tierischen Befruchtung

Von HANS-JOACHIM BIELIG<sup>1</sup> und Graf FRED MEDEM<sup>2</sup>, Heidelberg

### Der Begriff Befruchtungstoffe

Bei den Metazoen, welche hier ausschließlich betrachtet werden sollen, besteht die Befruchtung in einer

Vereinigung von Spermium und Ei. Seit den klassischen Untersuchungen von O. und R. HERTWIG (1875 u. ff.) an Seeigeln weiß man, daß der Vorgang der Befruchtung in einer Reihe von Akten abläuft: u. a. Ansammlung der Spermien an der Eioberfläche, Eindringen eines Spermakopfes in das Eiinnere, Ausbildung

<sup>1</sup> Kaiser-Wilhelm-Institut für medizinische Forschung (Institut für Chemie), Heidelberg.

<sup>2</sup> Kaiser-Wilhelm-Inst. f. Biol. (Abt. M. HARTMANN), Hechingen.