

which the experiments were done, the block of the neuromuscular transmission occurred only after about 2 h (as compared to a few minutes in the rat preparation at 37°).

The resting potential of the muscle as studied by the microelectrode technique²⁵, appeared to be normal, even after complete blockade of neuromuscular transmission.

The lethal effect of the kokoi venom is caused by a multiplicity of events of which the irreversible block of neuromuscular transmission, probably at the neuromuscular junction, is the only property which it has in common with curare. In addition there must be a strong central action to judge from the powerful tonic convulsions observed in mice over a large dose range. At high intravenous dose levels death, which occurs within seconds, is accompanied by complete muscular rigidity. The toxic syndrome besides convulsions, involves powerful contractures over the entire body in line with the observations on the myotropic effects in the nerve-muscle preparations. Observations on cats (Table III) confirm these views.

A possible role of the venom in the transport of ions across the frog skin membrane (sodium pump action)²⁶ is only an interesting speculation at this stage.

The storage of the venom in a physiologically active form in the frog skin poses an interesting problem. It is possible that after death the venom is released into the tissue where it is destroyed by enzymes²⁷.

Zusammenfassung. Ein hochaktives Gift mit einer LD₅₀ von mindestens $2.7 \pm 0.2 \mu\text{g/kg}$ Maus wurde aus der Haut des columbischen Pfeilgiftfrosches *Phyll-*

bates bicolor isoliert. Nach 60facher Anreicherung erwies sich das Produkt in der Dünnschichtchromatographie als einheitlich. Es ist löslich in organischen Lösungsmitteln wie Chloroform und Methylenchlorid und lässt sich aus solchen Lösungen mit wässriger Säure extrahieren. Aus dem Verteilungsverhalten der Aktivität bei verschiedenen pH-Werten wurden pK-Werte von 7.1 und 8.0 ermittelt, die auf die Anwesenheit eines basischen Strukturelementes hinweisen. Das UV-Spektrum zeigt Endabsorption mit Schultern bei 220, 230 und 260 mμ. Eine ausgeprägte Absorptionsbande im IR-Spektrum (CHCl₃) bei 1690 cm⁻¹ deutet auf eine Amidcarbonylgruppe hin. Das Gift bewirkt im Nerv-Muskelpreparat zunächst eine irreversible Blockierung der Nervenendplatten; später folgen myotrope Effekte (Kontraktur). *In vivo* wird neben der Atemlähmung eine starke, wahrscheinlich zentral ausgelöste Krampfwirkung neben anderen Effekten beobachtet, die das Kokoigift deutlich vom Curare abhebt. Das Kokoigift ist das stärkste bis jetzt bekannte Gift animalischen Ursprungs.

²⁵ I. TASAKI and S. HAGIWARA, Amer. J. Physiol. 188, 423 (1957).

²⁶ H. H. USSING, *Biochemistry of the Central Nervous System*, Proceedings of the Fourth International Congress of Biochemistry, Vienna, September (1958), (Ed. by F. BRICHE, Pergamon Press, New York 1959), p. 1.

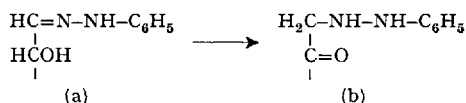
²⁷ *Acknowledgments.* We are greatly indebted to Dr. S. L. FRIESS, Naval Medical Research Institute, and to Dr. and Mrs. I. TASAKI for the toxicological, pharmacological and neurophysiological data. Mrs. M. LATHAM, Member of the National Academy of Sciences, has made this investigation possible by leading an expedition into the Chocó Jungle and by the skilful organization of the frog collection and processing under adverse conditions.

Brèves communications – Kurze Mitteilungen – Brevi comunicazioni – Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. – Für die kurzen Mitteilungen ist ausschliesslich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

Über den Mechanismus der Osazonreaktion

Die im Jahre 1884 von FISCHER¹ gefundene Osazonreaktion der Aldosen und Ketosen soll nach Untersuchungen von WEYGAND² und SIMON³ über die Amadoriumlagerung des primär gebildeten Phenylhydrazons (a) zu 1-Desoxy-1-phenylhydrazino-D-fructose (b) verlaufen.



Diese Deutung ist nicht befriedigend, da es bisher nicht gelang, eine Amadoriverbindung mit Phenylhydrazin als N-Komponente am C-1-Atom darzustellen. Im Rahmen unserer Untersuchungen über den Mechanismus der Amadoriumlagerung⁴ suchten wir die Frage zu klären, ob sich aus einer Aldose mit Phenylhydrazin die von WEYGAND

als Zwischenprodukt angenommene Amadoriverbindung bilden kann.

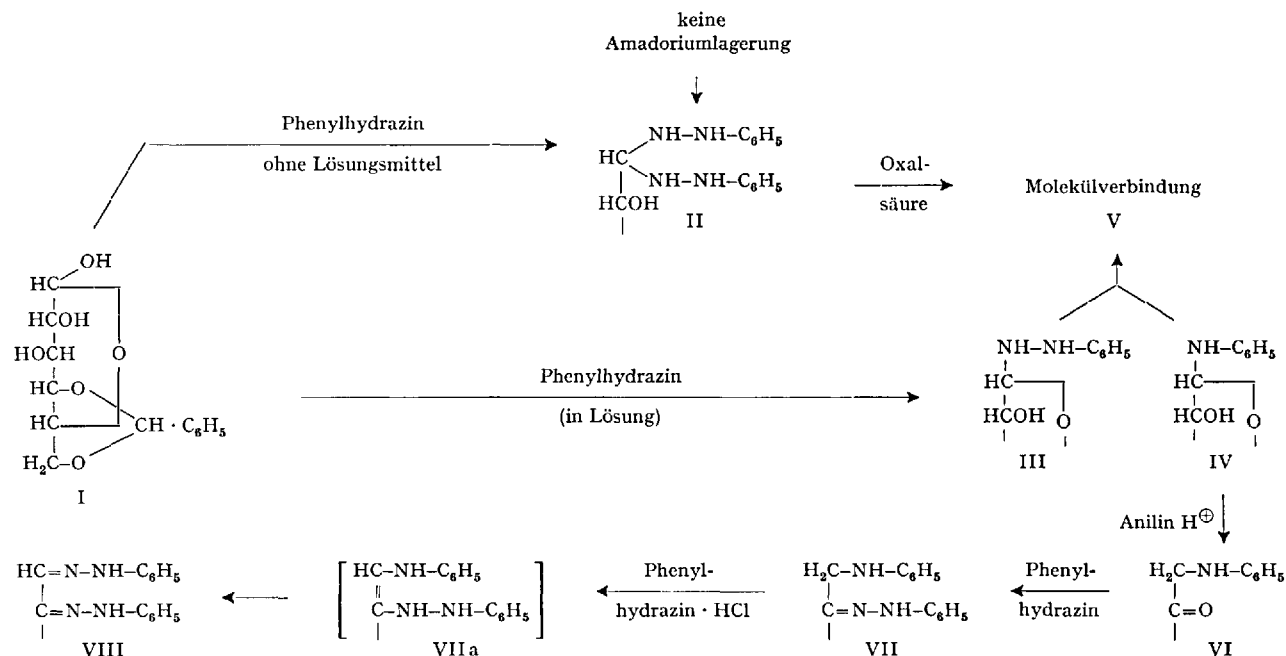
4,6-Benzal-D-glucose (I) gibt mit überschüssigem Phenylhydrazin in hoher Ausbeute 1,1-Bis-phenylhydrazino-4,6-benzal-D-glucose (II). 1,1-Bis-N-acetale von aliphatischen oder aromatischen Aminen sind, wie wir zeigen konnten, Zwischenprodukte beim Übergang in die Derivate der 1-Desoxy-1-amino-D-fructose⁴. Unterwirft man jedoch II den Bedingungen dieser Umlagerung, dann entsteht nicht das erwartete Amadoriprodukt (b). Dass der

¹ E. FISCHER, Ber. dtsch. chem. Ges. 17, 579 (1884); 20, 821 (1887).

² F. WEYGAND, Ber. dtsch. chem. Ges. 73, 1284 (1940). – F. WEYGAND, H. SIMON und J. F. KLEBE, Chem. Ber. 91, 1567 (1958).

³ H. SIMON, K. D. KEIL und F. WEYGAND, Chem. Ber. 95, 17 (1962).

⁴ F. MICHEEL und I. DIJONG, Tetrahedron Letters 1962, 21; Liebigs Ann. 658, 120 (1962).



Übergang der Bis-hydrazino-verbindung (II) zum Amadoriprodukt nicht erfolgt, dürfte auf die Bildung einer stabilen Wasserstoffbrücke zwischen N- und H-Atomen der beiden Phenylhydrazinreste zurückzuführen sein. Statt dessen bildet sich in schneller Reaktion neben 4,6-Benzal-D-glucose-phenylhydrazon (III) durch teilweisen Zerfall von Phenylhydrazin⁵⁻⁷ (in Anilin, Ammoniak, Benzol und Stickstoff) 1-Phenylamino-4,6-benzal-D-glucosid (IV), das mit III eine Molekülverbindung (V) bildet. Die Struktur von V wurde durch die Darstellung aus den Komponenten (III und IV) bewiesen. Nach Acetylierung von V kann das N-D-Glucosid (IV) als 1-[Acetyl-phenyl-amino]-2,3-diacetyl-4,6-benzal-D-glucosid abgetrennt werden. 4,6-Benzal-D-glucose (I) und Anilin oder das N-D-Glucosid (IV) gehen unter geeigneten Bedingungen (H⁺-Ionen-Katalyse) ausserordentlich schnell in 1-Desoxy-1-phenylamino-4,6-benzal-D-fructose (VI)⁸ über. Die Umlagerung, die offenbar über das 1,1-Bis-phenylamino-derivat verläuft⁴, wird bei VI durch Zugabe geringer Mengen von Anilin sehr stark beschleunigt. Die 1,1-Bis-arylamino-derivate der 4,6-Benzal-D-glucose konnten bisher nicht in reiner Form gewonnen werden. Sie sind stets mit N-D-Glucosid und schnell sich bildendem Amadoriprodukt verunreinigt. Die Amadoriverbindung (VI) reagiert mit Phenylhydrazin schnell und fast quantitativ zu 1-Desoxy-1-phenylamino-4,6-benzal-D-fructose-phenylhydrazon (VII), das unter sehr milden Bedingungen mit 2 Moll. Phenylhydrazin-hydrochlorid in hoher Ausbeute das Phenyllosazon (VIII) liefert.

Es ist nicht erforderlich, dass zur Bildung des N-D-Glucosids (IV) noch freie Glucose in der Reaktionslösung vorliegt. Das Phenylhydrazon (III) tauscht den Phenylhydrazinrest sehr leicht gegen Amin aus.

Die Osazonreaktion verläuft demnach über die Amadoriumlagerung einer 1-Desoxy-1-phenylamino-verbindung (VI), die sich primär aus dem Phenylhydrazon mit Anilin durch Umaminierung bildet. Letzteres verdankt seine Entstehung dem disproportionierenden Zerfall von überschüssigem Phenylhydrazin⁵⁻⁷. Die Dehydrierung des Phenylhydrazons (VII) verläuft wahrscheinlich über die stark reduzierende En-diamin-form⁹ (VIIa). Hierauf wurde bereits in einer früheren Mitteilung hingewiesen. Wasserstoffakzeptor ist vermutlich weiteres Phenylhydrazin.

Summary. For the osazone reaction of the reducing sugars, the following mechanism is suggested: the initially formed phenylhydrazone is converted with aniline into the N-glycoside. Aniline arises from disproportion decomposition of phenylhydrazine. The N-glycoside undergoes an Amadori-rearrangement to 1-deoxy-1-amino-2-ketose derivative. From this is formed the phenylhydrazone. The latter is converted by dehydrogenation and transamination into the phenyllosazone.

F. MICHEEL und I. DIJONG

Organisch-Chemisches Institut der Universität Münster (Westfalen, Deutschland), 22. März 1963.

⁵ R. WALTHER, J. prakt. Chem. 161, 441 (1896).

⁶ J. KENNER und E. C. KNIGHT, Ber. dtsch. chem. Ges. 69, 341 (1936).

⁷ B. GLASMANN und ROCHWARGER-WALBE, Ber. dtsch. chem. Ges. 61, 1444 (1928).

⁸ F. WEYGAND, H. SIMON und R. v. ARDENNE, Chem. Ber. 92, 3117 (1959).

⁹ F. MICHEEL, G. BODE und R. SIEBERT, Ber. dtsch. chem. Ges. 70, 1862 (1937).

Synthetic Peptides Related to Eledoisin (Part I)

After the structure of Eledoisin, a powerful vasodilating and hypertensive peptide isolated from the salivary glands of a mollusc¹, had been elucidated¹ and confirmed by synthesis², we have prepared a large number of analogues of this substance in order to investigate the influ-

ence of structural modifications on its biological properties. Those few analogues or partial sequences which have been found to possess high biological activity will be the subject of a later report. In the present communication, we are listing in a Table those analogues and partial

¹ V. ERSFAMER and A. ANASTASI, Exper. 18, 58 (1962).

² ED. SANDRIN and R. A. BOISSONNAS, Exper. 18, 59 (1962).