

## 1-(2-Hydroxyacetyl)-pyrazol, eine neue, mit Gyromitrin verwandte Verbindung aus *Gyromitra fastigiata*

J. JURENITSCH, E. AURADA, W. KUBELKA

Institut für Pharmakognosie der Universität Wien,  
Währinger Straße 25, A-1090 Wien

W. ROBIEN

Institut für Organische Chemie der Universität Wien

H. VIERNSTEIN

Institut für Pharmazeutische Technologie der Universität Wien

Eingegangen am 6.6.1988

Jurenitsch, J., E. Aurada, W. Robien, H. Viernstein & W. Kubelka (1988): 1-(2-Hydroxyacetyl)-pyrazol, a new Gyromitrin related compound of *Gyromitra fastigiata* Z. Mykol. 54(2): 55-158.

**Keywords:** Gyromitrin, pyrazolderivates, fungal toxins, Gyromitra, Ascomycetes

**Abstract:** 1-(2-Hydroxyacetyl)-pyrazol (I) was isolated from *Gyromitra fastigiata*, its structure was confirmed by means of mass, IR, <sup>1</sup>H-NMR and <sup>13</sup>C-NMR spectroscopy of I and its acetate (II). The close structural relationship of I with the toxin gyromitrin could serve as additional tool for clarifying the correct systematic position of *Gyromitra fastigiata*. Although I showed much higher stability than gyromitrin during the isolation process, its in vivo toxicity remains ambiguous.

**Zusammenfassung:** Aus *Gyromitra fastigiata* wurde 1-(2-Hydroxyacetyl)-pyrazol (I) isoliert. Die Struktur konnte an Hand von massen-, IR-, <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-spektroskopischen Befunden von I und dessen Acetat (II) geklärt werden. Die nahe Strukturverwandtschaft mit dem Pilzgift Gyromitrin könnte als zusätzliches Merkmal zur Klärung der korrekten systematischen Stellung von *Gyromitra fastigiata* dienen. Obwohl sich I im Verlaufe der Untersuchungen als wesentlich stabiler als Gyromitrin erwies, kann dessen in vivo Toxizität nicht abgeschätzt werden.

Die korrekte botanisch-systematische Einordnung von *Gyromitra fastigiata* (Krombholz) Rehm (Synonyma: *Helvella fastigiata* Krombholz, *Neogyromitra caroliniana* (Bosc. ex Fr.) Imai, *Gyromitra brunnea* Underw., *Elvella underwoodii* Seaver, *Discina fastigiata* (Krombholz) Svrček & Moravec) wird in der Literatur immer wieder diskutiert (Krombholz 1831, Svrček & Moravec 1972, Seaver 1961); die vorliegende Arbeit könnte durchaus Anlaß zu einer neuen Bewertung geben. Im Rahmen von vergleichenden Untersuchungen über den Gyromitringehalt verschiedener Lorchelarten (Viernstein, Jurenitsch & Kubelka 1980) wurden auch gaschromatographische Analysen von Extrakten der Gipfellorchel (*Gyromitra fastigiata*) durchgeführt. Gyromitrin konnte in dieser Art zwar nicht nachgewiesen werden, in der konzentrierten Analysenlösung kristallisierte jedoch eine dem Gyromitrin (III) sehr ähnliche Substanz in Form von Nadeln (Fp:

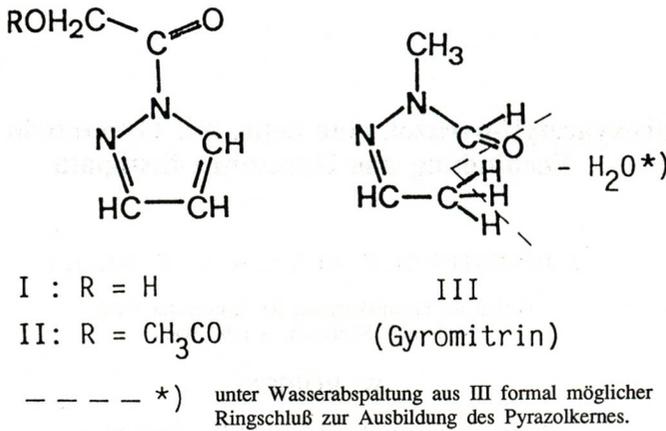


Abb. 1: Substanz I und Derivat II im Vergleich zu Gyromitrin (III)

83°C) aus. Ihre Struktur ließ sich nach chromatographischer Reinigung und Rekrystallisation mit Hilfe von Massen-, IR-, <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Spektroskopie klären (I-Abb. 1).

Im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum liegen die Signale der drei aromatischen Protonen bei  $\delta = 7,62$  (d,  $J = 1,7$  Hz),  $7,28$  (d,  $3,6$  Hz) und  $6,58$  ppm (dd,  $1,7$ ;  $3,6$  Hz), die Kopplungskonstanten entsprechen einer Pyrazolteilstruktur (Pretsch & al. 1986). Weiters wird das Vorliegen einer CH<sub>2</sub> OH-Gruppe durch die Signale bei  $4,74$  (s, CH<sub>2</sub>) und  $3,0$  ppm (bs, OH) bewiesen. Im Acetat (II-Abb. 1) ist das Singulett von  $4,74$  zu  $5,19$  ppm verschoben, die Protonen der Acetylgruppe kommen bei  $2,23$  ppm zur Resonanz. Das <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum zeigt die Signale des Pyrazolkernes bei  $\delta = 147,05$ ,  $117,84$  und  $112,58$  ppm und der CH<sub>2</sub> OH-Funktion bei  $65,14$  ppm. Das Signal des jeweiligen Carbonylkohlenstoffes konnte weder bei I noch bei II detektiert werden, das Vorliegen einer CO-Gruppe wird jedoch durch die intensive Bande bei  $1672$  cm<sup>-1</sup> im IR-Spektrum belegt. Auch das Fragmentierungsmuster im Massenspektrum entspricht der abgeleiteten Struktur. Das Molekülion liegt bei  $126$  m/z (21 % rel. Int.) und entspricht der Summenformel C<sub>5</sub> H<sub>6</sub> N<sub>2</sub> O<sub>2</sub>. Der Basispeak bei  $95$  m/z wird durch die Abspaltung des CH<sub>2</sub> OH-Restes erklärt, weiters ist der Peak bei  $67$  m/z (10 %) dem Pyrazolkern zuzuordnen.

Dieses nach unserer Kenntnis erstmals in der Natur aufgefundene Pyrazolderivat besitzt, wie aus Abb. 1 ersichtlich, eine enge strukturelle Verwandtschaft mit Gyromitrin (III), das in *Gyromitra gigas* (Krombholz) Cooke und zusammen mit anderen Analogen in *Gyromitra esculenta* (Persoon) Fries gefunden wurde (List & Luft 1968, Pyysalo 1975, Pyysalo & Niskanen 1977). Das Pyrazolderivat I erwies sich im Verlaufe der Untersuchungen deutlich stabiler als Gyromitrin, das leicht in das hochkanzerogene N-Formyl-N-methylhydrazin übergeht. Eine Aussage über die Toxizität von I bei Verwendung von *Gyromitra fastigiata* als Speisepilz kann allerdings auf Grund dieser Beobachtung nicht gemacht werden.

Die Isolierungsausbeute betrug  $13$  mg/kg Frischgewicht, unter Berücksichtigung der bei der Kristallisation und chromatographischen Reinigung auftretenden Verluste liegt somit der Gehalt von I in *Gyromitra fastigiata* in der gleichen Größenordnung wie die Gyromit-

rin-Konzentration in *Gyromitra esculenta* und *Gyromitra gigas* (vgl. Viernstein, Jurentisch & Kubelka 1980). Ob in *Gyromitra fastigiata* noch andere, strukturell ähnliche Verbindungen vorliegen, soll in weiteren Untersuchungen geklärt werden.

#### Material und Methoden:

Untersuchungsmaterial: Kleine Exemplare von *Gyromitra fastigiata* aus dem Leithagebirge nahe Mannersdorf/NÖ, gesammelt am 13. April 1979.

Gewinnung: Die Pilze wurden sofort nach dem Sammeln tiefgefroren und erst vor Beginn der GC-Untersuchung, die wir bereits früher beschrieben (Viernstein & al. 1980), aufgetaut. Aus den unter vermindertem Druck auf 4 ml eingeeengten Lösungen zur GC-Analyse kristallisierte bei der Aufbewahrung im Kühlschrank (4–6°C) I in Form von weißen Nadeln. Der braune Rückstand im Kölbchen wurde in Dichlormethan gelöst, in Anteilen auf drei Säulen (Kieselgel 60 MERCK 0,063–0,2 mm; 6 x 0,3 cm) aufgetragen und mit Dichlormethan eluiert. Die Umkristallisation der Kristalle und des Rückstandes der Eluate erfolgte gemeinsam aus Dichlormethan-Methanol (8 mg). Acetylierung von I: 4 mg I wurden in 1 ml Pyridin gelöst und mit 1 ml Essigsäureanhydrid versetzt über Nacht stehen gelassen. Die Entfernung des Lösungsmittels erfolgte unter vermindertem Druck unter Zusatz von Äthylmethylketon-n-Propanol (1+1). Die Reinigung von II gelang durch präparative Dünnschichtchromatographie. Dünnschichtchromatographie: Kieselgel F 254 Fertigplatten MERCK (0,25 mm); mobile Phasen: Dichlormethan (Rf I = 0,1, II = 0,2) und Dichlormethan-Methanol (9+1) (Rf I = 0,71, II = 0,85).

Spektroskopie: IR: 0,8 mg I in 290 mg KBr. MS: Finnigan Mat 8200 + Datensystem SS 300, Direkteinlaß 70 eV, Quelltemperatur 210°C, Proben temperatur: 20°C. <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR: Bruker WM-250, Lösungsmittel CDCl<sub>3</sub>; δ-Werte bezogen auf TMS. Meßdaten siehe Text.

Dank: Für die Aufnahme der Massenspektren wird Herrn Ing. J. Dolezal, Institut für Allgemeine Chemie der Technischen Universität Wien herzlich gedankt. Das verwendete Kernresonanzspektrometer Bruker WM-250 wurde vom Fonds zur Förderung der Wissenschaftlichen Forschung in Österreich (Projekt Nr. 4009) zur Verfügung gestellt.

#### Literatur

- KROMBHOLZ J. V. (1831) – Naturgetreue Abbildungen und Beschreibungen der eßbaren, schädlichen und verdächtigen Schwämme, 3, 21, J. G. Cave, Prag.
- LIST P. H. & P. LUFT (1968) – Gyromitrin, das Gift der Frühjahrsorchel. Arch. Pharm. 301, 294–305.
- PRETSCH E., TH. CLERC, J. SEIBL & W. SIMON (1986) – Tabellen zur Strukturaufklärung organischer Verbindungen mit spektroskopischen Methoden, 3. Auflage, Springer-Verlag Berlin – Heidelberg – New York – Tokyo.
- PYYSSALO H. (1975) – Some New Toxic Compounds in False Morels, *Gyromitra esculenta*. Naturwiss. 62, 395.
- & A. NISKANEN (1977) – On the Occurrence of N-Methyl-N-formylhydrazones in Fresh and Processed False Morel, *Gyromitra esculenta*. J. Agric. Food Chem., 25, 644–647.
- SEAYER F. J. (1961) – The North American Cup-fungi, Hafner Publ. Comp., New York.
- SVRČEK M. & J. MORAVEC (1972) – Über die *Helvella fastigiata* Krombholz, Česka Mykologie 26, 1–8.
- VIERNSTEIN H., J. JURENITSCH & W. KUBELKA (1980) – Vergleich des Giftgehaltes der Lorchelarten *Gyromitra gigas*, *Gyromitra fastigiata* und *Gyromitra esculenta*. Ernährung/Nutrition 4, 392–395.



Deutsche Gesellschaft für Mykologie e.V.  
German Mycological Society

Dieses Werk stammt aus einer Publikation der DGfM.

[www.dgfm-ev.de](http://www.dgfm-ev.de)

Über [Zobodat](#) werden Artikel aus den Heften der pilzkundlichen Fachgesellschaft kostenfrei als PDF-Dateien zugänglich gemacht:

- **Zeitschrift für Mykologie**  
Mykologische Fachartikel (2× jährlich)
- **Zeitschrift für Pilzkunde**  
(Name der Hefreihe bis 1977)
- **DGfM-Mitteilungen**  
Neues aus dem Vereinsleben (2× jährlich)
- **Beihefte der Zeitschrift für Mykologie**  
Artikel zu Themenschwerpunkten (unregelmäßig)

Dieses Werk steht unter der [Creative Commons Namensnennung - Keine Bearbeitungen 4.0 International Lizenz](#) (CC BY-ND 4.0).



- **Teilen:** Sie dürfen das Werk bzw. den Inhalt vervielfältigen, verbreiten und öffentlich zugänglich machen, sogar kommerziell.
- **Namensnennung:** Sie müssen die Namen der Autor/innen bzw. Rechteinhaber/innen in der von ihnen festgelegten Weise nennen.
- **Keine Bearbeitungen:** Das Werk bzw. dieser Inhalt darf nicht bearbeitet, abgewandelt oder in anderer Weise verändert werden.

Es gelten die [vollständigen Lizenzbedingungen](#), wovon eine [offizielle deutsche Übersetzung](#) existiert. Freigibiger lizenzierte Teile eines Werks (z.B. CC BY-SA) bleiben hiervon unberührt.

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Zeitschrift für Mykologie - Journal of the German Mycological Society](#)

Jahr/Year: 1988

Band/Volume: [54\\_1988](#)

Autor(en)/Author(s): Jurenitsch J., Aurada E., Kubelka Wolfgang, Robien W., Viernstein H.

Artikel/Article: [1-\(2-Hydroxyacetyl\)-pyrazol, eine neue, mit Gyromitrin verwandte Verbindung aus Gyromitra fastigiata 155-157](#)