

## 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,  $^1\text{H-NMR}$  and  $^{13}\text{C-NMR}$  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-,  $^1\text{H-}$  und  $^{13}\text{C-NMR}$ -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 Gyromitrin Gehalt 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:

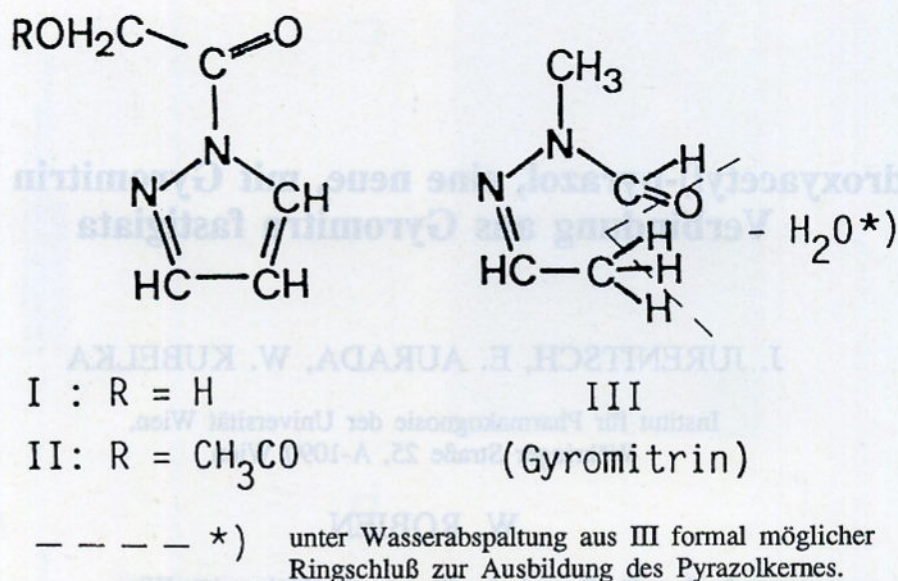


Abb. 1: Substanz I und Derivat II im Vergleich zu Gyromitrin (III)

83°C) aus. Ihre Struktur ließ sich nach chromatographischer Reinigung und Rekristallisation 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-

