

Wissenschaftliche Beiträge

GYROMITRIN, DAS GIFT DER FRÜHJAHRSLORCHEL
HELVELLA (GYROMITRA) ESCULENTA PERS. ex FR.

Von P.H. List u. P. Luft

Aus dem Institut für Pharmazeutische Technologie
der Philipps-Universität Marburg/Lahn.

Seit der Veröffentlichung von R.Boehm und E.Kuelz (1) "Über den giftigen Bestandteil der essbaren Morchel (*Helwella esculenta*)" aus dem Jahre 1885 gilt die von den Autoren damals isolierte Helvellasäure als der Giftstoff der Frühjahrslorchel. In allen Pilzbüchern findet sich diese Angabe bis auf den heutigen Tag, und nirgends ist bislang der Versuch unternommen worden, das Gift erneut rein darzustellen, die von Boehm und Kuelz aufgestellte Summenformel $C_{12}H_{20}O_7$ zu überprüfen oder die Struktur der Helvellasäure aufzuklären. Dabei steht allein schon diese Bruttoformel im Widerspruch zu einigen Eigenschaften des Giftes, so daß eine Überprüfung schon deshalb erforderlich schien. In den Arbeiten von E.Pick (2) "Augen- und Schleimhauterkrankungen durch Morchelausdünstungen (gewerbliche Massenerkrankung)", 1927, von F. v. Teodorowicz (3), "Giftiger Einfluß der Lorchel, Steinpilze und Pfifferlinge bei deren fabrikmässiger Behandlung", 1931, und von K. Stuhlfauth und F. Jung (4) "Vergiftungen mit Lorcheln (*Helwella esculenta*)", 1952,* wird von Vergiftungsfällen berichtet, bei denen die Patienten mit Sicherheit nicht von den Lorcheln gegessen hatten und dennoch durch die Verarbeitung größerer Mengen des Pilzes zum Teil erhebliche Vergiftungen erlitten. Die Symptome waren teilweise die gleichen wie nach Einnahme einer unsachgemäß zubereiteten Pilzmahlzeit oder nach kurzfristiger Wiederholung eines Pilzessens. Demnach müßte das Gift einen relativ hohen Dampfdruck besitzen, was bei einer Verbindung $C_{12}H_{20}O_7$ nicht leicht vorstellbar ist.

Wir haben deshalb zunächst versucht, die "Helvellasäure" rein darzustellen, um ihre Konstitution aufzuklären. Dabei zeigte sich, daß diese Säure nicht existiert. Was Boehm und Kuelz in Händen hatten, muß ein mit dem Gift noch verunreinigtes Gemisch von Säuren, hauptsächlich Fumarsäure gewesen sein.

Durch Hydrolyse der exakt nach den beiden Autoren erhaltenen Endstufe fiel noch eine schon anderwärts in Pilzen gefundene Verbindung, die α,β -Aethylenoxidcarbonsäure, $\text{HOOC}-\text{CH}-\text{O}-\text{CH}-\text{COOH}$, an, die jedoch nicht das Gift der Frühjahrslorchel sein kann.

Nachdem Franke, Freimuth und List eine erneute Fraktionierung der Pilzhaltstoffe anhand ständiger Kontrolle der Giftigkeit im Tierversuch (Kaninchen und Meerschweinchen) vorgenommen und das Verhalten des Giftes kennengelernt hatten, wurde der inzwischen von uns als Gyromitrin bezeichnete Stoff von List und Luft (5) isoliert und seine Struktur aufgeklärt.

In drei verschiedenen, in Schema 1 dargestellten Trennungsgängen wurde Gyromitrin erhalten und jeweils durch Tieftemperaturdestillation gereinigt. Reines Gyromitrin stellt eine farblose, bei Zimmertemperatur flüssige Substanz dar. Sie hat etwa die Viskosität dünnflüssigen Speiseöls und kristallisiert bei guter Kühlung in tetragonalen, prismatischen, quaderförmigen Kristallen, die in der Ampulle unter Vakuum bei $19,5^{\circ}$ schmelzen. Der Siedepunkt des Giftstoffes konnte wegen seiner leichten Zersetzlichkeit nicht ermittelt werden. Bei Versuchen mit der Mikromethode nach Emich (6) färbte sich das Gyromitrin ab 60° braun und verharzte. Es ist bei Zimmertemperatur flüchtig und sublimiert im Feinvakuum.

Gyromitrin besitzt einen schwachen, eigentümlichen Geruch, der etwas an Schokolade erinnert. Es ist löslich in Wasser, Aether, Chloroform, Methylenchlorid, Tetrachlorkohlenstoff und Benzol.

Die Elementaranalyse ergab

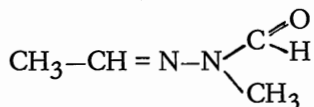
47,76% C, 8,03% H und 27,72% N.

Das Molekulargewicht ergab sich aus dem Massenspektrum zu 100. Daraus errechnet sich die Summenformel $\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_2\text{O}$.

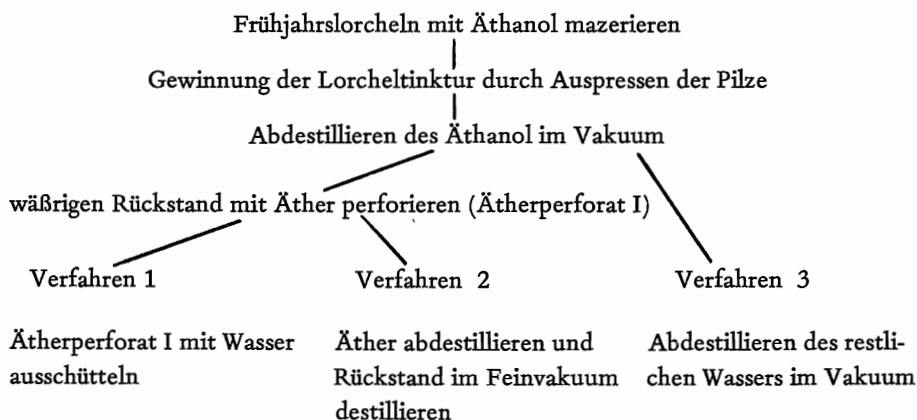
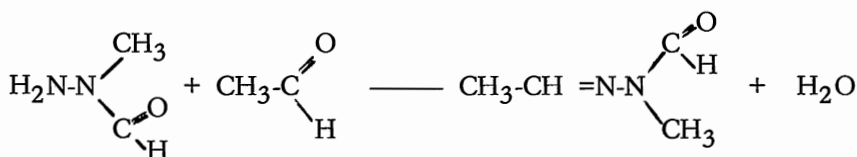
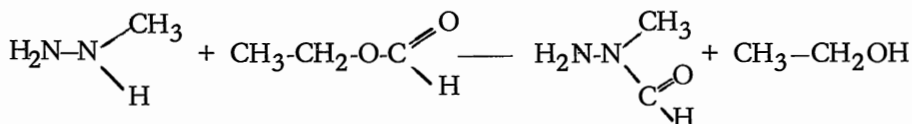
In wässriger Lösung, besonders aber bei Zusatz geringer Mengen an Säure, spaltet Gyromitrin Acetaldehyd ab, der als 2,4-Dinitrophenylhydrazon gefaßt und analysiert wurde. Im Hydrolysat wurde elektrophoretisch und durch Farbreaktionen mit Dimethylaminobenzaldehyd, mit Natriumpentacyanoferrat (II) und mit Glutaconaldehyd Methylhydrazin nachgewiesen.

* Zusammengefaßt mit sämtlichen in der Literatur von 1782 bis 1965 auffindbaren Lorchelvergiftungen in S. Franke, U. Freimuth u. P.H.List, Arch. Toxikol. 22, 293-332 (1967).

Die im IR-Spektrum des Gyromitrins auftretende starke Carbonylbande bei 1675 cm^{-1} ist einem tertiärem Amid zuzuordnen. Als Amid bildende Säure wurde im Hydrolysat Ameisensäure nachgewiesen. Somit ergaben sich Acetaldehyd, Methylhydrazin und Ameisensäure als Bausteine des Gyromitrins. Nach dem NMR-Spektrum handelt es sich um N-Methyl-N-formyl-acetaldehydhydrazon.



Diese Struktur wurde durch die Synthese nach folgendem Schema bestätigt.



wäßrige Phase mit Äther perforieren (Ätherperforat II)	Destillat an Kieselgelschicht chromatographieren und ausgeschabte Schicht mit Äther eluieren	Destillat mit Äther perforieren
Ätherperforat II an Kieselgel chromatographieren (Äthereluat)	Äther entfernen und Rückstand in Vakuumdestillationsanlage destillieren	Äther entfernen und Rückstand in Vakuumdestillationsanlage destillieren
Äther entfernen und Rückstand in Vakuumdestillationsanlage destillieren	GYROMITRIN	GYROMITRIN

GYROMITRIN

Schema ¹⁾ der Aufarbeitung der Frühjahrslorchel zur Gewinnung des Giftstoffes.

Das synthetische Gyromitrin stimmt mit dem natürlichen in allen Eigenschaften und analytischen Daten überein.

Der Gehalt an Gyromitrin wurde durch Bestimmung des Methylhydrazins nach Kolthoff (7) ermittelt. Die Werte aus 5 verschiedenen Sammelaufkommen des Jahres 1967 in der Gegend von Marburg sind in Tab. 1 wiedergegeben.

Charge Nr.	Frischpilzmenge (g)	Gehalt an Methylhydrazin (mg)	Berechnet als Gyromitrin (mg)	Gehalt an Methylhydrazin pro kg Frischpilz (mg)	Berechnet als Gyromitrin pro kg Frischpilz (mg)
1	41,5	23,6	51,8	577	1248
2	66,0	44,6	98,0	677	1484
3	51,7	31,8	69,8	615	1350
4	61,8	47,5	103,5	762	1676
5	41,0	23,5	51,8	576	1247

Tabelle ¹⁾: Ergebnisse der Analyse von Frischpilzen

Toxikologische Untersuchungen mit reinem Gyromitrin sind bislang noch nicht durchgeführt. Doch entsprechen alle bisher beschriebenen Vergiftungssymptome den von Methylhydrazin beschriebenen.

Jacobson und Mitarb. (8) beobachteten beim Hund nach Applikation von Methylhydrazin Erbrechen, starke Atembeschwerden, erhöhte Körpertemperatur, schwere tonisch-klonische Krämpfe und massive Hämolyse. Die gleichen Erscheinungen sah Bostroem (9) bei seinen Versuchen mit Frühjahrsorcheln an Hunden.

Die Konstitution des Gyromitrins befriedigt somit auch in pharmakologischer Hinsicht, da bei oraler Aufnahme im sauren Milieu des Magens Acetaldehyd und Ameisensäure abgespalten werden. Aber auch das intakte Gyromitrin muß erheblich toxisch sein, da es nach Inhalation bei einem Meerschweinchen unter gleichen Symptomen zum Tode führt.

Zur Frage der Entgiftung der Frühjahrsorchel ist vorläufig festzustellen, daß auch durch zweimaliges Abkochen und Weggiessen des Kochwassers nicht alles Gyromitrin aus den Pilzen entfernt wird. Da eine im Pilz verbleibende, scheinbar unschädliche Dosis jedoch offensichtlich einen latenten Leberschaden verursacht, kann eine kurze Zeit später nachfolgende gleiche Mahlzeit zu erheblichen Vergiftungen führen. Die meisten Todesfälle unter den Vergiftungen ereigneten sich bei Wiederholung einer Pilzmahlzeit, auch wenn sie entsprechend vorsichtig bereitet war.

Ob Gyromitrin oder seine Hydrolyseprodukte auch in Konserven noch nachweisbar sind, soll in diesem Jahr festgestellt werden.

Literatur

1. BOEHM, R. u. R.E. KUELZ: Über den giftigen Bestandteil der essbaren Morchel (*Helvella esculenta*). Näunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. 19, 403 (1885)
2. PICK, E.: Augen- und Schleimhauterkrankung durch Morchelausdünstungen (gewerbliche Massenerkrankung). Dtsch. med. Wschr. 53, 1563 (1927).
3. TEODOROWICZ, F.v.: Giftiger Einfluss der Lorchel, Steinpilze und Pfifferlinge. Z. Pilzk. 10, 66 (1931).
4. STUHLFAUTH, K. u. F. JUNG: Vergiftungen mit Lorcheln (*Helvella esculenta*). Samml. Vergiftungsf. Arch. Toxikol. A. 998, 14, 86 (1952).
5. LIST, P.H. u. P. LUFT: Gyromitrin, das Gift der Frühjahrsorchel Gyromitra (*Helvella esculenta* Fr. ex Pers. Tetrahedron Letters 20, 1893 (1967).

6. EMICH, F.: *Mh. Chem.* 38, 219 (1917).
7. KOLTHOFF, I.M. and R. BELCHER: *Volumetric Analysis Vol. III Interscience Publishers, New York 1957, S. 456.*
8. JACOBSON, K.M., J.M. CLEM, H.J. WHEELWRIGHT, W.E. RINEHART and N. MAYES: *Arch. Ind. Health*, 12, 609 (1955).
9. BOSTROEM, E.: *Dtsch. Arch. klin. Med.* 32, 209 (1883).