Hepatotoxische Pyrrolizidinalkaloide in Senecio alpinus L. und deren Nachweis in Futtermitteln = Hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids in Senecio alpinus and their determination in feeding stuffs

Autor(en): **Lüthy, J. / Zweifel, U. / Schlatter, Ch.**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **72 (1981)**

Heft 1

PDF erstellt am: **28.05.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-984601

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.
Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.
Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **72**, 55–61 (1981)

J. Lüthy, U. Zweifel und *Ch. Schlatter,* Institut für Toxikologie der ETH und Universität Zürich, Schwerzenbach

Hepatotoxische Pyrrolizidinalkaloide in Senecio alpinus L. und deren Nachweis in Futtermitteln

Hepatotoxic Pyrrolizidine Alkaloids in Senecio alpinus and their Determination in Feeding Stuffs

Einleitung

Aus der Geschichte der Pyrrolizidinalkaloide können drei Ereignisse herausgegriffen werden, die für die Toxikologie dieser Pflanzeninhaltsstoffe von Interesse sind:

1. Im Jahre 1903 ist von *Gilruth* (1, 2) in Neuseeland erstmals erkannt und auch experimentell bewiesen worden, daß die Pflanze Senecio jacobaea bei Verfütterung an Rinder tödliche Vergiftungen verursachen kann.
2. 1920 beschrieben *Willmot* et al. (3) die klinischen Symptome einer Senecio-Vergiftung von Menschen in Südafrika, zurückzuführen auf mit Senecio burchelli und Senecio ilicifolius verunkrautetes Brotgetreide.
3. 1954 ist von *Schöntal* et al. (4) an Ratten gezeigt worden, daß die Alkaloide in Senecio jacobaea sowie Retrorsin und dessen N-Oxid Isatidin, in einer Dosierung von 30–50 ppm im Trinkwasser verabreicht, leberkarzinogen sind.

Diese drei Ereignisse stehen auch stellvertretend für die toxikologische Bedeutung dieser Stoffklasse:

1. In der Veterinärmedizin spielen Vergiftungen vor allem von Rindern und Pferden mit Senecio-haltigen Futtermitteln eine beachtenswerte Rolle.
2. Vor allem in Entwicklungsländern besteht die Möglichkeit von akuten Intoxikationen des Menschen durch diese Alkaloide.
3. Diese Stoffklasse ist heute zusammen mit anderen bekannten Umweltkarzinogenen wie Aflatoxinen, Nitrosaminen, polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen usw. ein bevorzugtes Thema der experimentellen Krebsforschung, und zwar letztlich mit dem Ziel, den Stellenwert dieser Stoffe bei der Entstehung von bösartigen Tumoren beim Menschen abzuklären.

Tabelle 1 enthält eine allerdings bei weitem nicht vollständige Zusammenstellung von Nutztiervergiftungen der letzten 80 Jahre, die auf Pflanzen der Gattung Senecio zurückzuführen sind. Mindestens ebenso zahlreich sind Vergiftungen mit Crotalaria, Amsinckia und Heliotropium. Die Problemgebiete liegen hauptsäch-

Tabelle 1. Nutztiervergiftungen durch Pyrrolizidinalkaloide verschiedener Senecio-Arten

Land	Betroffene Tiere	Verursachende Pflanzen	Autoren
New Zealand	Rinder, Pferde	Senecio jacobaea	Gilruth, 1903 (1)
Kanada	Rinder, Pferde	Senecio jacobaea	Pethick, 1905 (2, 4)
Südafrika	Rinder, Pferde	Senecio burchelli Senecio latifolius	Chase, 1904 (2, 5)
Großbritannien	Rinder, Pferde	Senecio jacobaea Senecio aquaticus	Bull et al. (6) Evans et al. 1949 (7)
USA (Nebraska)	Pferde	Senecio integerrimus Senecio ridellii	Van Es et al. (8)
USA (Texas)	Rinder	Senecio longilobus Senecio ridellii	Mathews, 1933 (9)
Deutschland	Pferde	Senecio vernalis	Köhler, 1950 (10) Hupka, 1955 (11)
Tschechoslowakei	Pferde	Senecio erraticus	Vanek, 1958 (12)
Norwegen	Rinder	Senecio aquaticus	Dybing et al. 1958 (13)

lich in überseeischen Ländern. Häufig sind es aber aus Europa eingeschleppte Pflanzen wie Senecio jacobaea oder Heliotropium europaeum, die dort Schwierigkeiten machen. Alle diese Pflanzen enthalten als gemeinsames Merkmal Pyrrolizidinalkaloide, die aber bezüglich chemischer Struktur und Toxizität erhebliche Unterschiede aufweisen können (6).

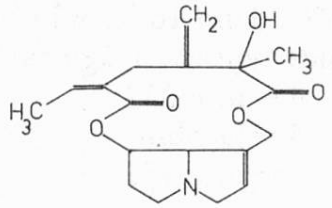
Aetiologische Befunde

Wir haben zusammen mit *J. Pohlenz* vom Institut für Veterinärpathologie der Universität Zürich in den letzten zwei Jahren Daten zusammengetragen und experimentelle Arbeiten durchgeführt, die belegen, daß Senecio-Vergiftungen bei Rindern auch in der Schweiz vorkommen. In zwei Bauernbetrieben, in den Kantonen Schwyz (Betrieb A) und Graubünden (Betrieb B) gelegen, waren in den letzten Jahren gehäuft Fälle von Notschlachtungen notwendig. So waren im Betrieb A innerhalb der letzten 5 Jahre 25 Notschlachtungen zu verzeichnen, wobei in 16 Fällen eine Leberzirrhose als Abgangsursache festgestellt wurde. Im Betrieb B zählte man total 12 Notschlachtungen, in allen Fällen mit schwerer Leberschädigung als Ursache. Die klinische Untersuchung einiger dieser Tiere und das Krankheitsbild ist kürzlich ausführlich beschrieben worden (14). Aufgrund dieser Pulikation hat sich dann noch ein Tierarzt aus dem Kanton Bern gemeldet, der dasselbe Krankheitsbild bei 7 Jungrindern (Betrieb C) beobachtet hatte, ohne die Ursache zu kennen.

Alle klinischen Befunde stimmen gut überein mit früheren Berichten über Pyrrolizidinalkaloidvergiftungen an Rindern namentlich in den USA, Australien und England mit Senecio jacobaea (6, 15). Die Besichtigung der drei erwähnten Betriebe A, B und C ergab dann tatsächlich, daß Weiden und Wiesen stark mit einer Senecio-Art durchsetzt war: Es handelt sich um Senecio alpinus L., das Alpenkreuzkraut, eine zwischen 800 und 2000 m über Meer in der Schweiz häufig vorkommende Pflanze. Auffällig ist, daß die Rinder auf der Weide diese Pflanzen nicht verzehren. In den Betrieben A und B wurde jedoch Heu, in den Betrieben A und C Silage aus solchen Gebieten verfüttert.

Chemische Untersuchungen

Die chemische Untersuchung von Senecio alpinus ergab einen hohen Anteil an Alkaloiden, der bei den verschiedenen Proben im Bereich von 0,3—0,45% des Trockengewichtes lag. Die Alkaloide ließen sich gut dünnschichtchromatographisch auftrennen und mit dem für diese Stoffklasse spezifischen Mattocks-Reagens (16) nachweisen. Die Hauptkomponente hatte in verschiedenen Laufmittelsystemen dieselben RF-Werte wie authentisches Seneciphyllin (Abb. 1). Diese Verbindung ist schon früher von *Klasek* et al. (17) aus Senecio alpinus isoliert und mit instrumental-analytischen Methoden identifiziert worden.



SENECIPHYLLIN

Abb. 1. Struktur von Seneciphyllin

Noch bessere Auftrennung bzw. Identifizierung der Alkaloide erreichte man mit Kapillargaschromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie. In allen untersuchten Proben von Senecio alpinus verschiedener Herkunft ergab sich ein gleiches oder ähnliches Bild wie in Abbildung 2. Aufgrund der Massenspektren ließen sich total 9 Pyrrolizidinalkaloide nachweisen. Typisch im EI-MS sind drei Dreiergruppen von Fragmenten, nämlich m/e 93—95, 119—121 und 136—138, die auf einen Aminoalkohol vom Typ des Retronecins hinweisen (Abb. 3a). Chemische Ionisation mit Methan ergibt Spektren mit viel geringerer Fragmentierung und ausgeprägten $M^+ + 1$-Ionen (Abb. 3b). Hilfreich für die Identifizierung war außerdem ein Set von authentischen Referenzsubstanzen, die uns freundlicherweise von *C. C. J. Culvenor,* Australien, und *M. H. Benn,* Kanada, zur Verfügung gestellt wurden. Drei dieser Substanzen erwiesen sich bezüglich Retentionszeiten

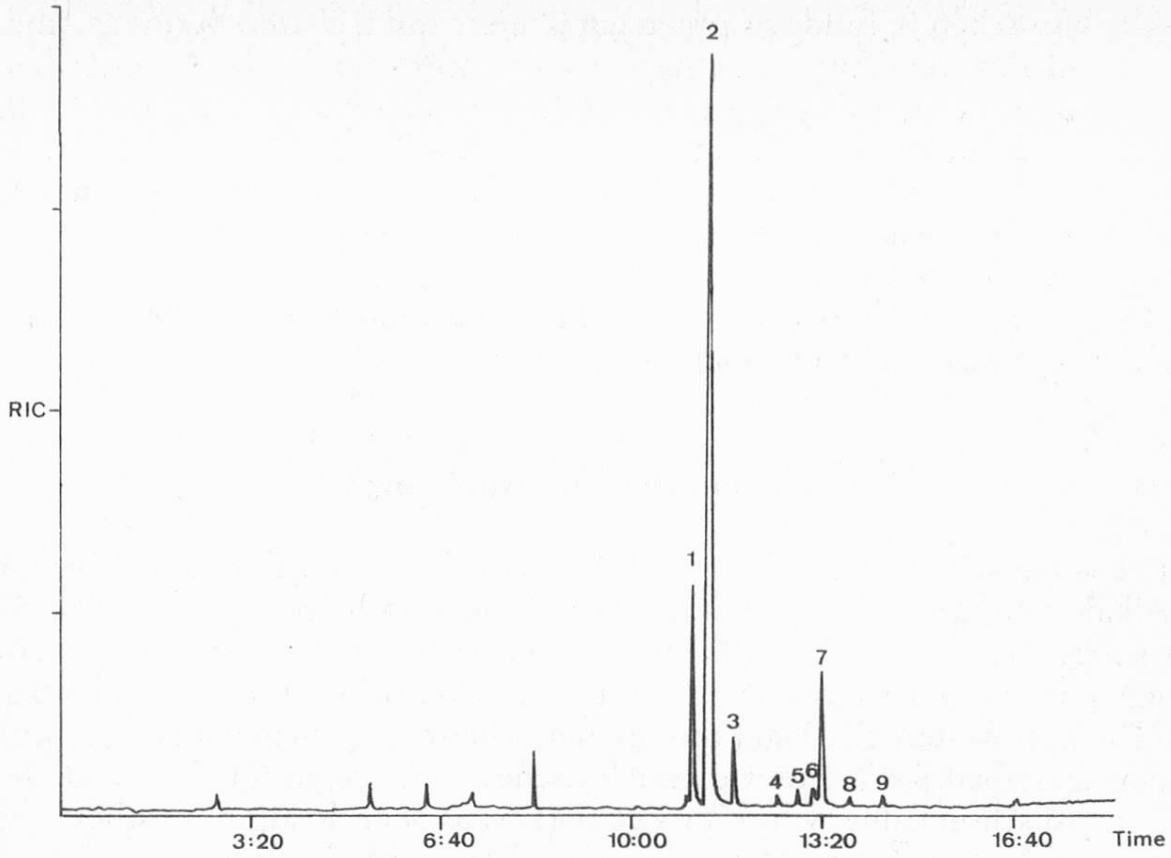


Abb. 2. GC-MS-Analyse der basischen Fraktionen von Senecio alpinus L. Verwendet wurde eine 20 Meter lange Kapillarsäule SE 54 mit folgendem Temperaturprogramm: 1 min 100 °C, dann 10 °C/min bis 220 °C. Die Peaks 1—9 zeigten die für Pyrrolizidinalkaloide typische Fragmentierung im Massenspektrum

1 = Senecionin	4 = m/e 337	7 = Jacozin
2 = Seneciphyllin	5 = Jacobin	8 = Jaconin
3 = Integerrimin	6 = m/e 375	9 = m/e 385

und MS mit den Peaks Nr. 1, 2 und 3 (Abb. 2) identisch: Es handelt sich um die Stoffe Senecionin, Seneciphyllin und Integerrimin. Wir haben außerdem betriebseigene, aus der Winterfütterungsperiode 1978/79 stammende Futtermittel vom Betrieb A analysiert. Sowohl in Heu wie in Silageproben ließen sich mittels GC-MS und dünnschichtchromatographisch dieselben Pyrrolizidinalkaloide wie in Senecio alpinus nachweisen. Die gemessenen Gehalte lagen im Bereich 10—20 mg/kg Heu bzw. 2—4 mg/kg Silage. Diese Menge entspricht ca. 0,5% Senecio alpinus im Futtermittel. Unter diesen Voraussetzungen darf angenommen werden, daß im Betrieb A die tägliche Aufnahme im Bereich von etwa 100 g Senecio alpinus/Rind gelegen hat. Diese Menge, während mehrerer Monate verabreicht, dürfte ausreichen, um die erwähnten Leberschädigungen zu erklären. Bei einem früher in den USA durchgeführten Fütterugsversuch an Rindern erwiesen sich 200 g der Pflanze Senecio jacobaea/Tag als genügend, um bereits innert weniger Wochen ähnliche Leberschäden zu erzeugen, die schließlich zum Tod der Tiere führten (18). Das Alkaloidmuster von Senecio jacobaea (19) ist demjenigen von Senecio alpinus (20)

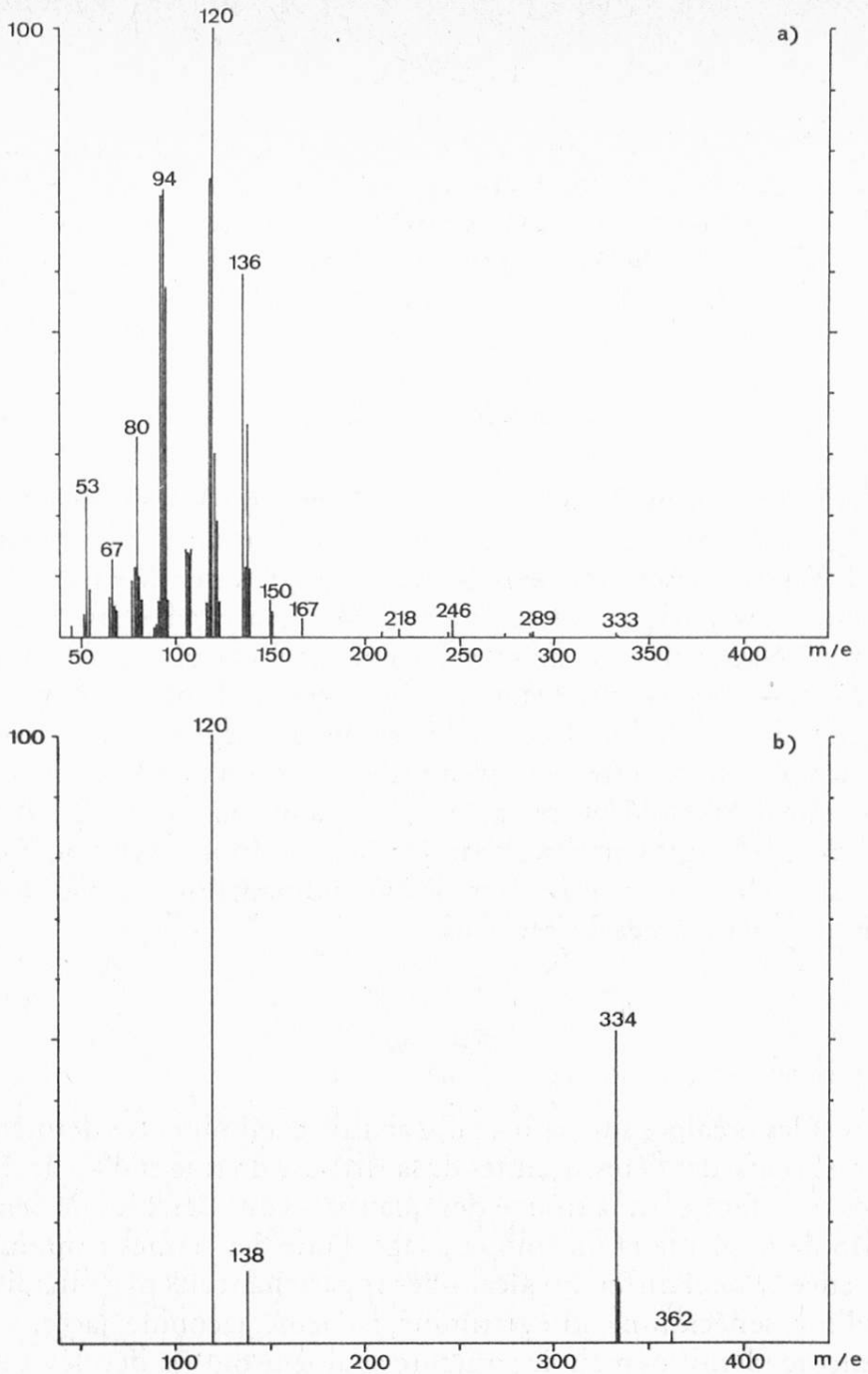


Abb. 3. EI- (a) und CI-Massenspektrum mit Methan als Reaktandgas (b) des Hauptalkaloids von Senecio alpinus L., Seneciphyllin (Peak Nr. 2 der Abb. 2)

recht ähnlich, die toxische Wirkung der beiden Pflanzen deshalb sicher vergleichbar.

Von speziellem Interesse für den Konsumenten ist der Metabolismus und die Kinetik dieser Alkaloide im Nutztier. In verschiedenen Urinproben von Kühen aus dem Betrieb A ließen sich dünnschichtchromatographisch mit der Mattocks-Reaktion (16) Pyrrolizidinalkaloidmetaboliten nachweisen. Abklärungen über die chemischen und toxikologischen Eigenschaften dieser Stoffe und ihr Vorkommen in Milch sind derzeit im Gange.

Dank

Herrn *B. Karlhuber,* Firma Finnigan AG, Basel, danken wir für die Aufnahme der GC-MS-Spektren auch an dieser Stelle bestens. Herrn Prof. *C. C. J. Culvenor,* Parkville, Australien, und Herrn Prof. *M. H. Benn,* Calgary, Kanada, verdanken wir eine Reihe von authentischen Pyrrolizidinalkaloiden. Herr Dr. *A. Bettschart,* Einsiedeln, half uns beim Sammeln einer größeren Menge von Senecio alpinus und bei deren botanischen Identifizierung.

Zusammenfassung

In drei Rinderbeständen im schweizerischen Alpen- und Voralpengebiet sind während der letzten Jahre gehäuft Fälle von Leberzirrhose als Abgangsursache festgestellt worden. In den Weiden und Wiesen dieser drei Betriebe wurde in größeren Mengen die Pflanze Senecio alpinus (Alpenkreuzkraut) gefunden. Eine GC-MS-Analyse der basichen Fraktion dieser Pflanze führte zum Nachweis von neun verschiedenen Pyrrolizidinalkaloiden. Folgende Stoffe konnten durch Vergleich mit Referenzsubstanzen und aufgrund der Massenspektren identifiziert werden: Seneciphyllin, Jacozin, Senecionin, Integerrimin, Jaconin, Jacobin und drei noch nicht sicher identifizierte, verwandte Alkaloide mit den Molekulargewichten 337, 375 und 385. Dieselben Alkaloide waren auch in Heu und Silage des einen Betriebes in Mengen von 10—20 bzw. 2—4 mg/kg nachweisbar. In einigen Urinproben von Kühen aus einem der betroffenen Betriebe waren außerdem Pyrrolizidinalkaloidmetaboliten nachweisbar, deren Identifizierung derzeit bearbeitet wird.

Résumé

Dans les alpes et les préalpes suisses il a fallu abattre et éliminer ces dernières années, dans trois troupeaux de bœufs, des bêtes atteintes de la cirrhose du foie et d'ascite. Dans les pâturages et les prés des trois fermes on a trouvé des quantités considérables de Senecio alpinus L. L'analyse GC-MS de la plante et du foin et silage d'une des fermes contenant S. alpinus a démontré la présence de neuf différents alcaloïdes appartenant aux pyrrolizidines hépatotoxiques: Sénéciphylline, sénécionine, intégerrimine, jacozine, jacobine, jaconine et trois autres composés non encore identifiés mais de structure analogue ont été décelés. Le composé principal était la sénéciphylline. Dans des échantillons d'urine de bœufs d'une des fermes il a été décelé des métabolites d'alcaloïdes pyrrolizidiniques.

Summary

In three herds of cattle in the alpine and subalpine region of Switzerland several cows had to be slaughtered in recent years because of cirrhosis of the liver and ascites. In the meadows of these three farms relatively large amounts of the plant Senecio alpinus L. were found. A GC-MS analysis of this plant and of hay and silage containing S. alpinus revealed the presence of nine different hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids with seneciphylline as the main constituent and senecionine, integerrimine, jacozine, jacobine, jaconine and three structurally related compounds as minor constituents. In urine samples taken from cows from one of the farms pyrrolizidine alkaloid metabolites were detectable.

Literatur

1. *Gilruth, J. A.:* In: Eleventh Rep. Dept. Agric. N. Z., Appendix V, pp. 228–278 (1903); zitiert nach (6).
2. *Cushny, A. R.:* On the action of Seneco alkaloids and the causation of the hepatic cirrhosis of cattle (Pictou, Molteno, or Winton disease). J. Pharmacol. Exp. Therapeut. **2**, 531–548 (1910–1911).
3. *Willmot, F. C., Brux, M. D., Dub, D. P. H.* and *Robertson, G. W.:* Senecio disease or cirrhosis of the liver due to Senecio poisoning. Lancet 848–849 (1920).
4. *Pethick, W. H.:* In: Rept. Vet. Director General Dep. Agr. for 1905, 90–100; zitiert nach (6).
5. *Chase. W. H.:* In: Agric. J. Cape Good Hope **25**, 675 (1904); zitiert nach (6).
6. *Bull, L. B., Culvenor, C. C. J.* and *Dick, A. T.:* The pyrrolizidine alkaloids. North-Holland, Amsterdam 1968.
7. *Evans, W. C.* and *Evans, E. T. R.:* Poisoning of farm animals by the Marsh Ragwort (Senecio aquaticus Huds.). Nature **164**, 30–31 (1949).
8. *Van Es, L., Cantwell, L. R., Martin, H. M.* and *Kramer, J.:* Agr. Exptl. Station-Res. Bull. **43**, College Agr., Univ. Nebraska, USA; zitiert nach (6).
9. *Mathews, F. P.:* In: Texas Agr. Exp. Sta. Bull. No. 481 (1933); zitiert nach (6).
10. *Köhler, H.:* Über ungewöhnlich große Leberzellen beim Leberkoller des Pferdes (Schweinsberger Krankheit). Zentr. allgem. Pathol. pathol. Anat. **86**, 282–285 (1950).
11. *Hupka, E.:* Ist die Verfütterung von Senecio (Kreuzkraut) als Ursache der Leberverhärtung des Pferdes anzusehen? Deut. tierärztl. Wochschr. **62**, 1–3 (1955).
12. *Vanek, J.:* Zur Frage der produktiven Endophlebitis der Lebervenen bei Vergiftung durch Pyrrolizidinalkaloide. Zentr. allgem. Pathol. pathol. Anat. **98**, 389–393 (1958).
13. *Dybing, O.* and *Hjelle, A.:* The toxic effect of Senecio aquaticus. Nord. Veterinarmed. **10**, 719 (1958).
14. *Pohlenz, J., Lüthy, J., Minder, H. P.* und *Bivetti, A.:* Enzootische Leberzirrhose beim Rind, verursacht durch Pyrrolizidinalkaloide nach Aufnahme von Senecio alpinus (Alpenkreuzkraut). Schweiz. Arch. Tierheilk. **122**, 183–193 (1980).
15. *Hooper, P. T.:* Pyrrolizidine alkaloid poisoning. Pathology with particular reference to differences in animal and plant species. In: Effects of poisonous plants on livestock. R. F. Keeler, K. R. van Kempen, and L. F. James (Ed.) Academic Press, London 1978.
16. *Mattocks, A. R.:* Detection of pyrrolizidine alkaloids on thinlayerchromatograms. J. Chromatogr. **27**, 505–508 (1967).
17. *Klasek, A., Reichstein, T.* und *Santavy, F.:* Die Pyrrolizidinalkaloide aus Senecio alpinus (L.) Scop., S. subalpinus Koch und S. incanus L. subsp. carniolicus (Wild) Br.-Bl. Helv. Chim. Acta **51**, 1088–1096 (1968).
18. *Thorpe., E.* and *Ford, E. J. H.:* Development of hepatic lesions in calfes fed with ragwort (Senecio jacobaea). J. Comp. Path. **78**, 195–205 (1968).
19. *Segall, H. J.:* Pyrrolizidine alkaloids derived from Senecio jacobaea . Toxicol Letters **1**, 279–284 (1978).
20. *Lüthy, J., Zweifel, U., Karlhuber, B.* and *Schlatter, Ch.:* Pyrrolizidine alkaloids of Senecio alpinus L. and their detection in feedingstuffs. J. Agr. Food. Chem. **28**, (1981) (im Druck).

Dr. J. Lüthy, U. Zweifel, Prof. Dr. Ch. Schlatter
Institut für Toxikologie der ETH
und der Universität Zürich
Schorenstraße 16
CH-8603 Schwerzenbach