# *Horizontaler Naturstoff-Transfer: Neue Erkenntnisse über potentielle Kontaminationspfade in Kräuter und Gewürze*

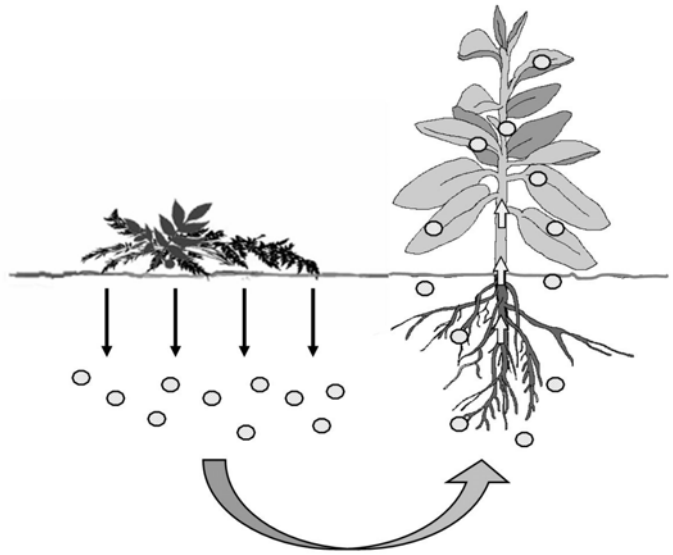
**Prof. Dr. Dirk Selmar**

**Institut für Pflanzenbiologie,**

**TU Braunschweig**

Zusammenfassung unserer Arbeiten der letzten Jahre.

# Horizontal Natural Product Transfer



**SELMAR, RADWAN, NOWAK** (2015) Horizontal Natural Product Transfer: A So Far Unconsidered Source of Contamination of Plant Derived Commodities. *Journal of Environmental & Analytical Toxicology* 5**:**4

**Agronomy for Sustainable Development - 2015**
**35: 1185 – 1190 DOI 10.1007/s13593-015-0298-x**

RESEARCH ARTICLE

## Nicotine uptake by peppermint plants as a possible source of nicotine in plant-derived products

Dirk Selmar · Ulrich H. Engelhardt · Sophie Hänsel ·
Claudia Thräne · Melanie Nowak · Maik Kleinwächter

**Umfangreiche Feldversuche haben inzwischen die Praxisrelevanz des Naturstofftransfers bestätigt:**
**Die problematischen Nikotin-Kontaminationen**

**Die problematischen Nikotin-Kontaminationen sind zumindest zum großen Teil auf weggeworfenen Zigarettenkippen zurückzuführen:**

**Dabei reicht eine Kippe pro $m^2$, um die Grenzwerte der EFSA um das zehnfache zu übersteigen.**

Environmental Pollution 238 (2018) 972–976

Contents lists available at ScienceDirect

Environmental Pollution

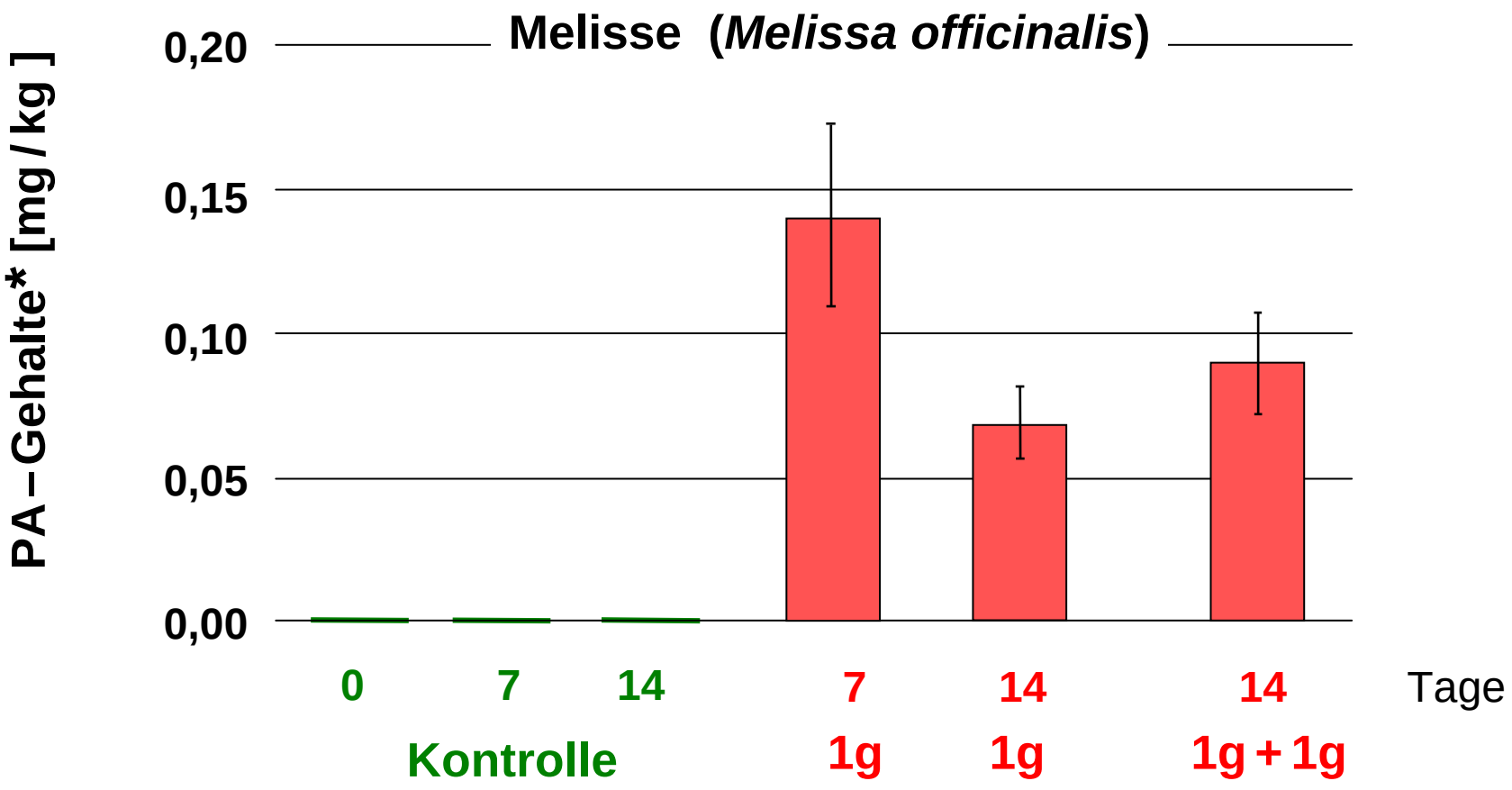
journal homepage: www.elsevier.com/locate/envpol

Uptake of nicotine from discarded cigarette butts — A so far unconsidered path of contamination of plant-derived commodities☆

Dirk Selmar [a,*], Alzahraa Radwan [a,b], Neama Abdalla [c], Hussein Taha [c], Carina Wittke [a], Ahmed El-Henawy [d], Tarek Alshaal [d], Megahed Amer [e], Maik Kleinwächter [a], Melanie Nowak [a], Hassan El-Ramady [d]

Es stellte sich zwangsläufig die Frage, ob auch im Fall der PA-Kontaminationen außer der "Mit-Ernte" PA-haltiger Unkräuter noch weitere Kontaminationspfade gibt?

Können auch PAs aus verrottenden Unkräutern in andere Pflanzen übertragen werden ?




* Seneciphyllin-N-Oxid, Seneciphyllin, Senecionin, Jacobin, Erucifolin, Erucifolin-N-Oxid

* **PAs werden aus dem Boden aufgenommen (*Pfefferminze, Kamille, Melisse, Petersilie, Gerste*)**

* **PAs werden innerhalb der Pflanze in die Blätterverlagert**

Food Chemistry 213 (2016) 163–168

Contents lists available at ScienceDirect

Food Chemistry

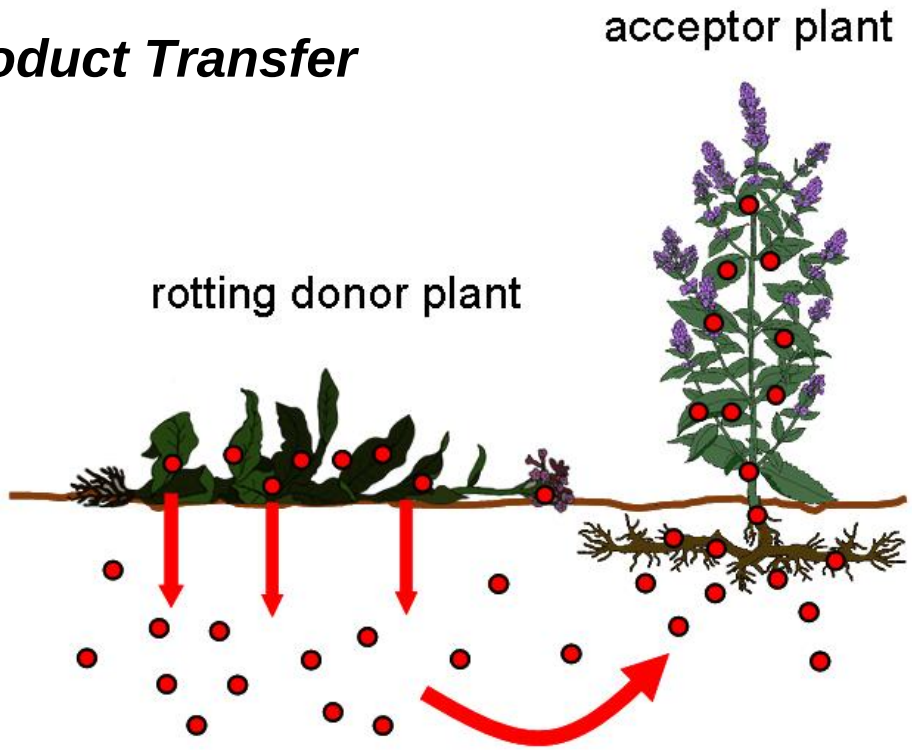
journal homepage: www.elsevier.com/locate/foodchem

# Interspecific transfer of pyrrolizidine alkaloids: An unconsidered source of contaminations of phytopharmaceuticals and plant derived commodities

Melanie Nowak[a], Carina Wittke[a], Ines Lederer[b], Bernhard Klier[b], Maik Kleinwächter[c], Dirk Selmar[a,*]

[a] Institut für Pflanzenbiologie, Technische Universität Braunschweig, Mendelssohnstraße 4, D-38106 Braunschweig, Germany
[b] Phytolab, Dutendorferstr. 5-7, D-91487 Vestenbergsgreuth, Germany
[c] Repha, Alt-Godshorn 87, D-30855 Langenhagen, Germany

## *Horizontal Natural Product Transfer*




**Nowak, Yahyazadeh, Lewerenz, Selmar** (2018) Horizontal Natural Product Transfer: A so far unconsidered source of contamination of medicinal. *In*: *Environmental Challenges and Medicinal Plants*. Eds: Ghorbanpour, M., Varma, A. Springer International Publishing: 215-226

***Bei starker Verkrautung mit Senecio sollten die herausgerissenen Senecio-Pflanzen auf keinen Fall im Feld belassen werden, sondern sie müssen vollständig aus der Anbaufläche entfernt werden, um den Transfer von PAs in die Akzeptor-Pflanzen zu verhindern.***

## Aufnahme von Alkaloiden aus dem Boden

| | Aufnahme | Typ | logP / p$K_{OW}$ | Literatur |
|---|---|---|---|---|
| Noscapin | ja | tertiär | 2.5 | Balalami et al., 2016 |
| Strychnin | ja | tertiär | 1.5 | Balalami et al., 2016 |
| Nikotin | ja | tertiär | 1.1 | Selmar et al., 2015 |
| Seneciphyllin | ja | tertiär | 1.0 | Nowak et al., 2016 |
| Theophyllin | ja | tertiär | - 0.02 | Balalami et al., 2016 |
| Koffein | ja | tertiär | - 0.07 | Balalami et al., 2016 |
| Jacobin | ja | tertiär | ~ 0 | Nowak et al., 2016 |
| Theobromin | ja | tertiär | - 0.7 | Balalami et al., 2016 |
| Berberin | nein | quaternär | - 1.0 | Balalami et al., 2016 |
| Coptisin | nein | quaternär | - 1.1 | Balalami et al., 2016 |
| Palmatin | nein | quaternär | - 1.2 | Balalami et al., 2016 |


**Selmar, Engelhardt, Hänsel, Thräne, Nowak, Kleinwächter** (2015) Nicotine uptake by peppermint plants. ***Agronomy for Sustainable Development*** **35**:1185-1190

**Nowak, Wittke, Lederer, Klier, Kleinwächter, Selmar** (2016) Interspecific transfer of pyrrolizidine alkaloids. ***Food Chemistry*** **213:** 163–168

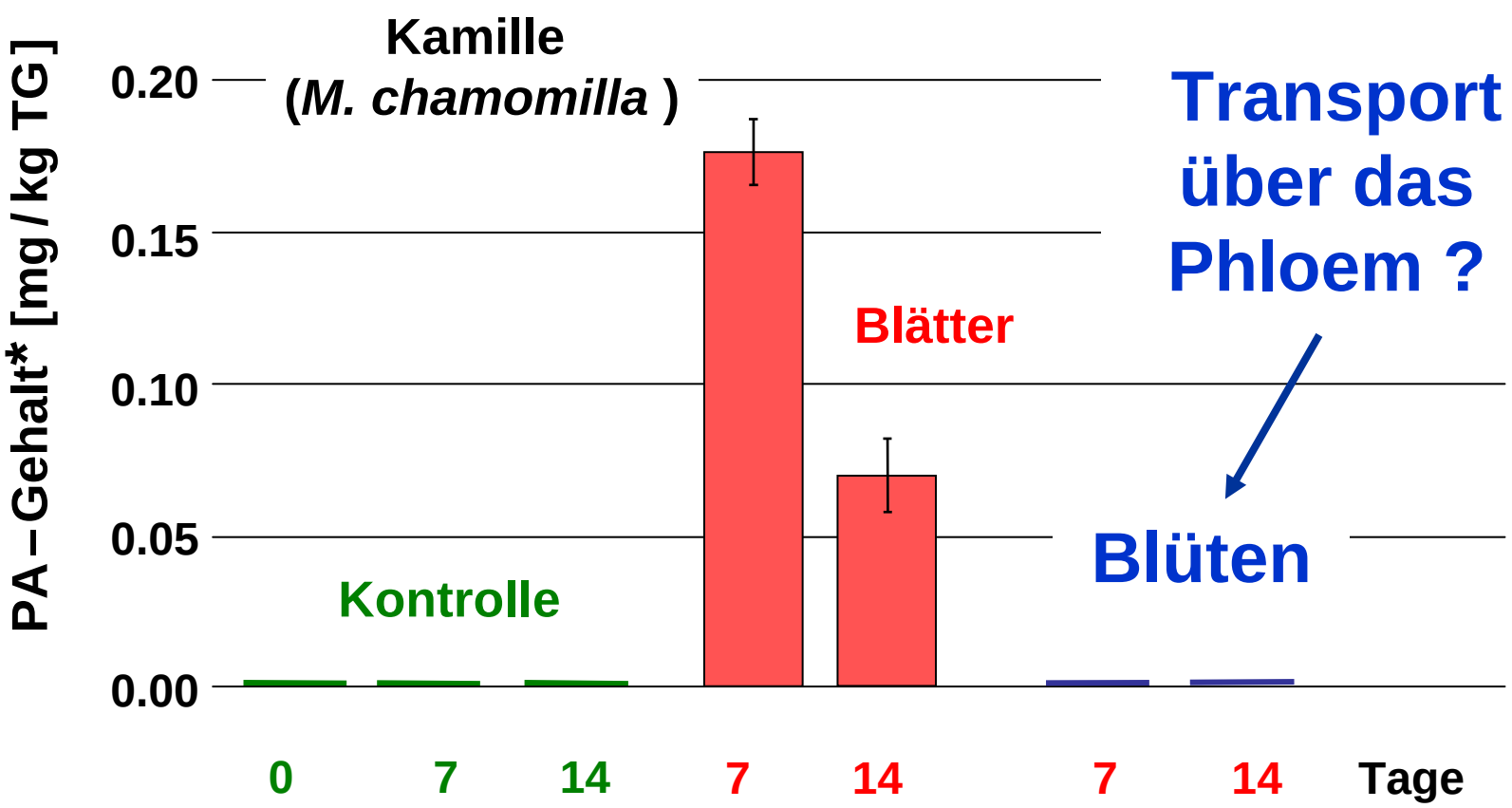
**Yahyazadeh, Kima, Nowak, Selmar** (2016): Horizontal natural product transfer. ***Phytomedicine*** **34**: *21-25*

* **Die meisten Alkaloide (z.B. Koffein, Nikotin, PAs) passieren problemlos Biomembranen.**

* **Die Aufnahme über die Wurzel erfordert keine Transporter oder Carrier.**

Der Horizontale Naturstoff-Transfer öffnet viele neue Türen für Grundlagenforschung und Anwendung.

# Aufnahme von PAs aus dem Boden




* Summe aus Seneciphyllin-*N*-Oxid, Seneciphyllin, Jacobin, Erucifolin, Erucifolin-*N*-Oxid

**Nowak, Wittke, Lederer, Klier, Kleinwächter, Selmar (2016):** Interspecific transfer of pyrrolizidine alkaloids: An unconsidered source of contaminations. ***Food Chemistry* 213**: 163–168

**Die Analysen der Guttationstropfen von Gerste-Keimlingen, die mit *Senecio* Material gemulcht waren…**

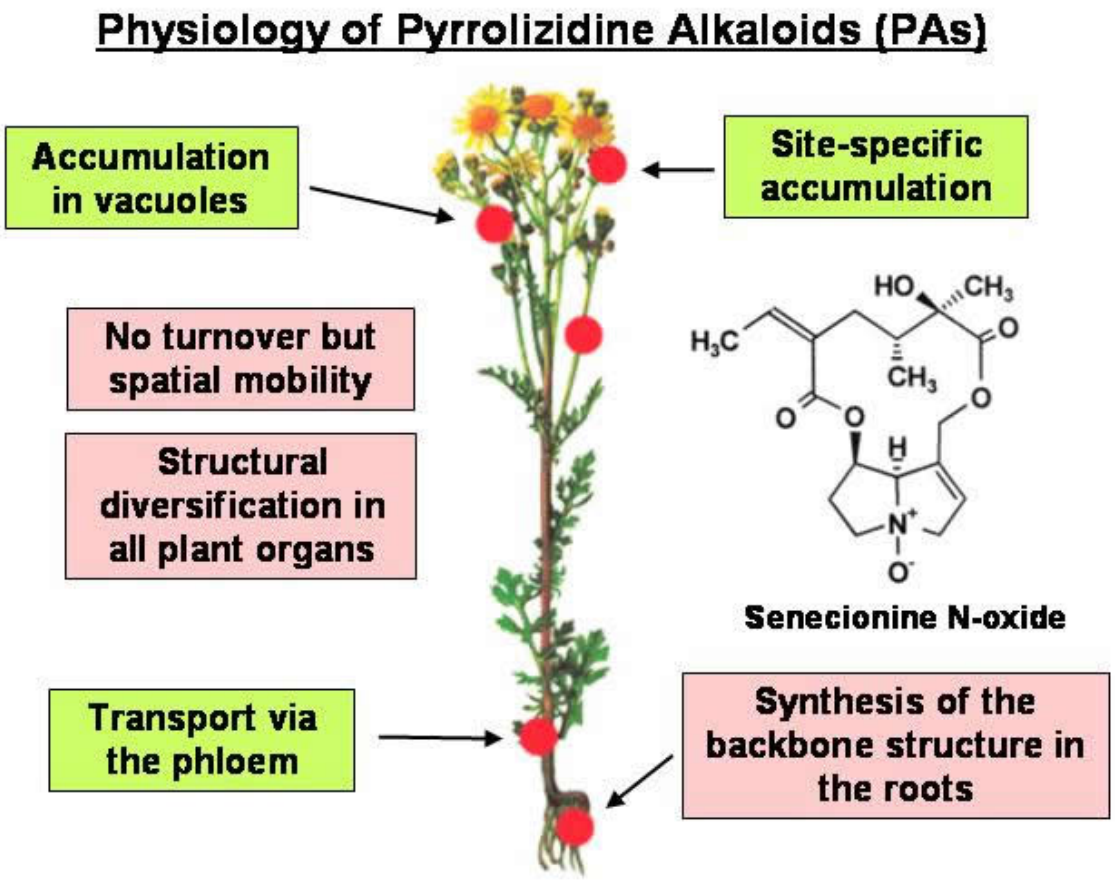
**…zeigten erhebliche Mengen an PAs im Xylemsaft.**

* **PAs werden aus dem Boden aufgenommen (*Pfefferminze, Kamille, Melisse, Petersilie, Gerste*)**

* **PAs werden innerhalb der Pflanze in die Blätterverlagert**

* **Die Verlagerung erfolgt über das Xylem**

* **Keine Akkumulation der PAs in physiologischen Senken – keine *source-sink*-Verlagerung.**





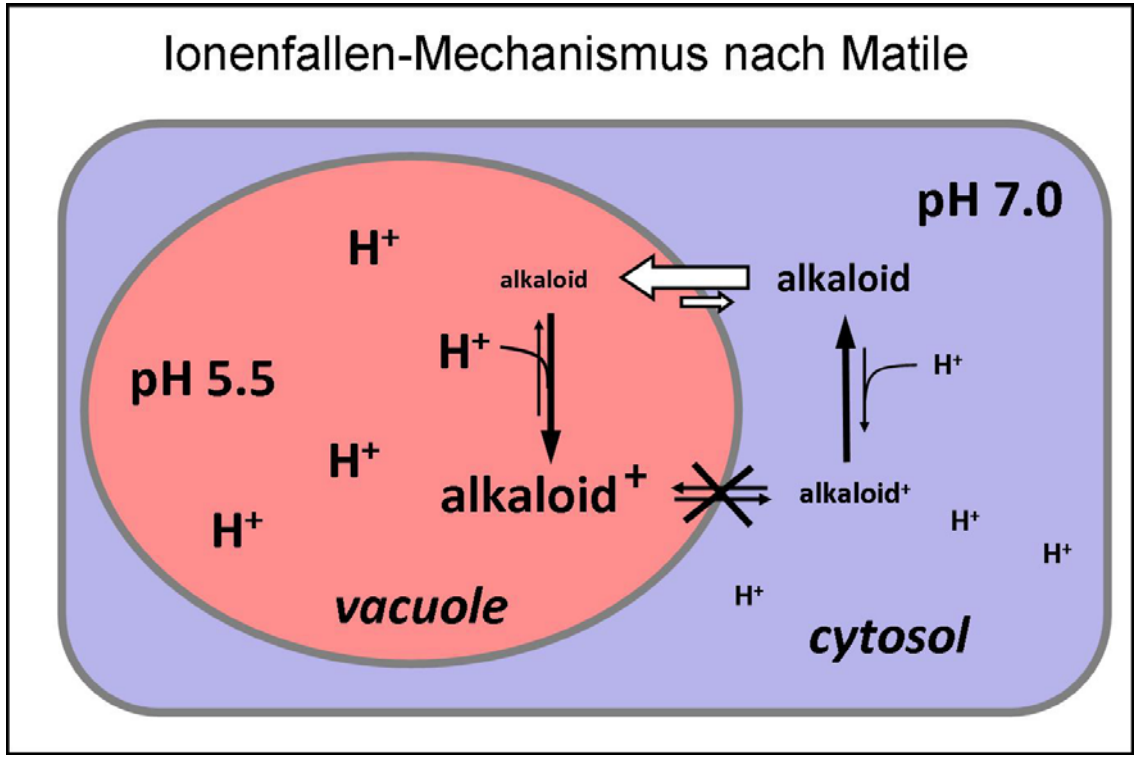
Ehmke A., von Borstel K., Hartmann T. (1988) Alkaloid *N*-oxides as transport and vacuolar storage compounds of pyrrolizidine alkaloids in *Senecio vulgaris* L. *Planta*, **176**, 83-90.

Hartmann T., Ehmke A., Eilert U., von Borstel K., Theuring C. (1989) Sites of synthesis, translocation and accumulation of pyrrolizidine alkaloid *N*-oxides in *Senecio vulgaris* L. *Planta*, **177**, 98-107.

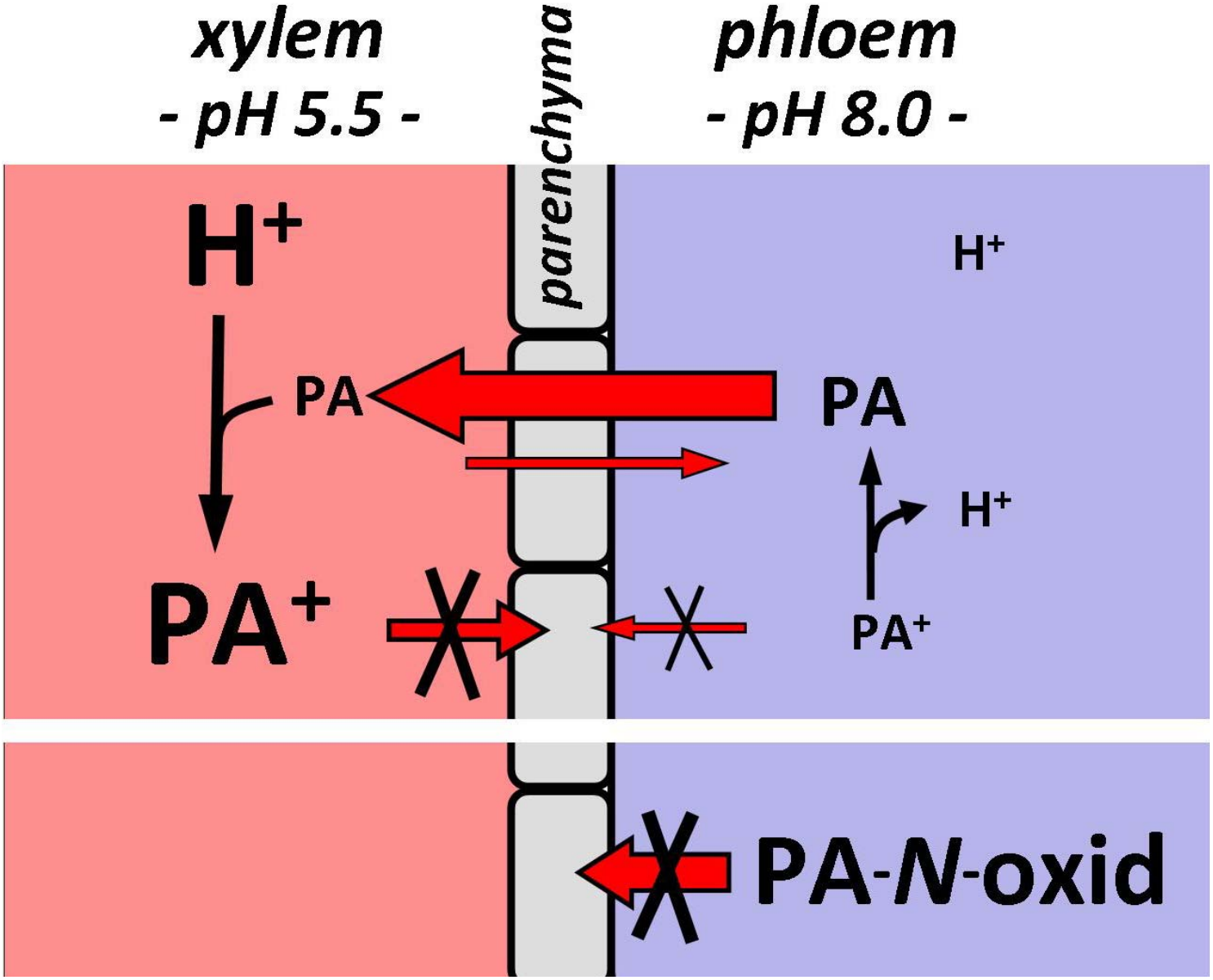
Witte L, Ehmke A, Hartmann T (1990) Interspecific flow of pyrrolizidine alkaloids: from plants via aphids to ladybirds. *Naturwissenschaften*, **77**, 540-543.

Unsere Arbeiten zum *horizontalen Naturstoff-Transfer* haben gezeigt, dass die aus dem Boden aufgenommenen PAs in den Akzeptorpflanzen über Xylem in die Blätter verlagert werden.

Wie ist diese scheinbare Diskrepanz zu erklären ?

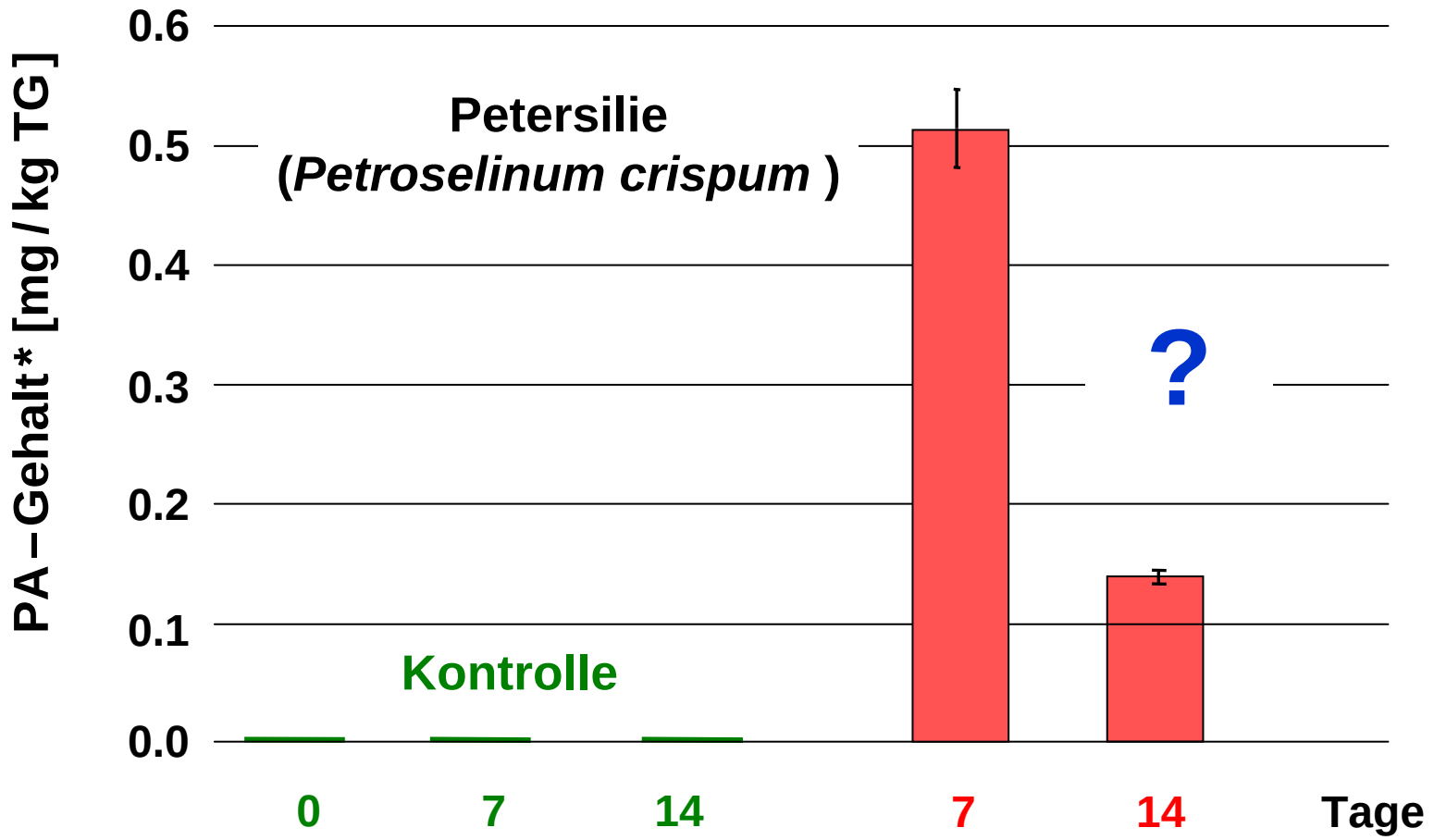



Matile P. (1976) Localization of alkaloids and mechanism of their accumulation in vacuoles of *Chelidonium majus* laticifers. *Nova Acta Leopold* **7**, 139–156.



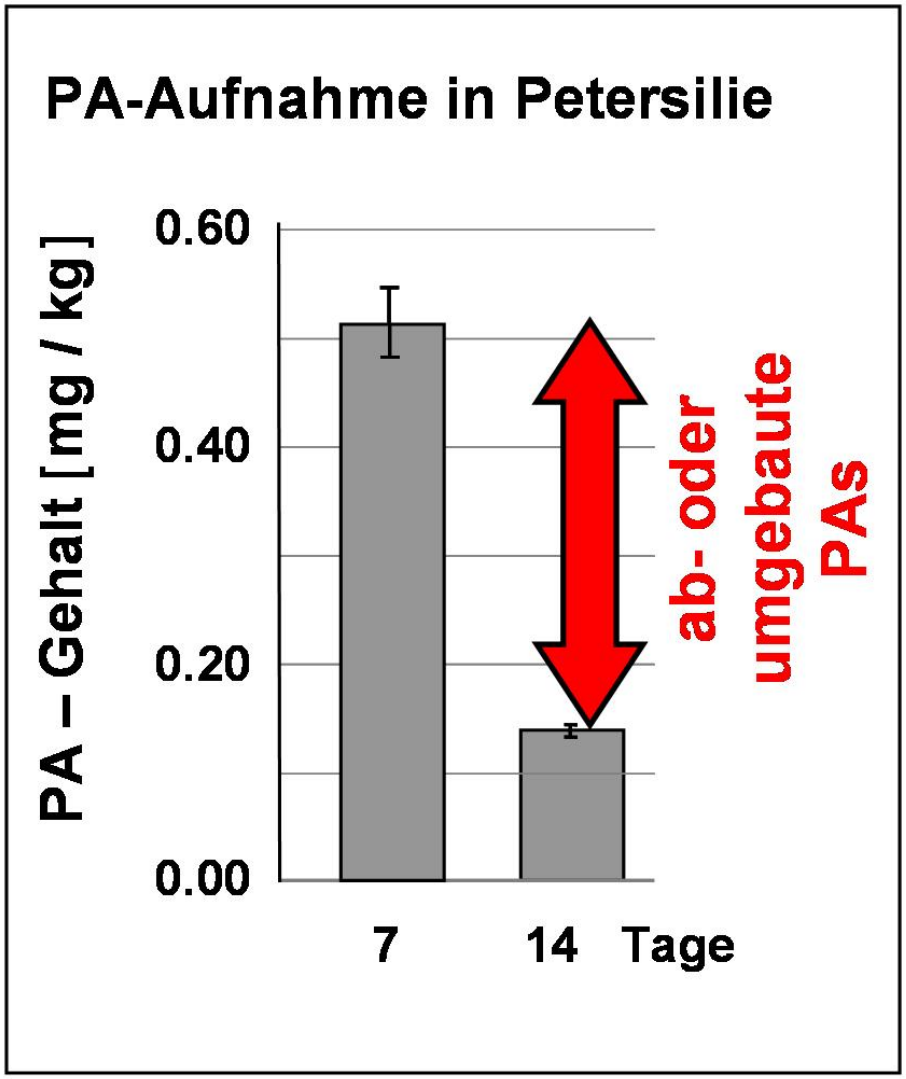

**Nowak & Selmar** (2016) Cellular distribution of alkaloids and their translocation via phloem and xylem: the importance of compartment pH. ***Plant Biology*** **18**: 879-882

# Aufnahme von PAs aus dem Boden



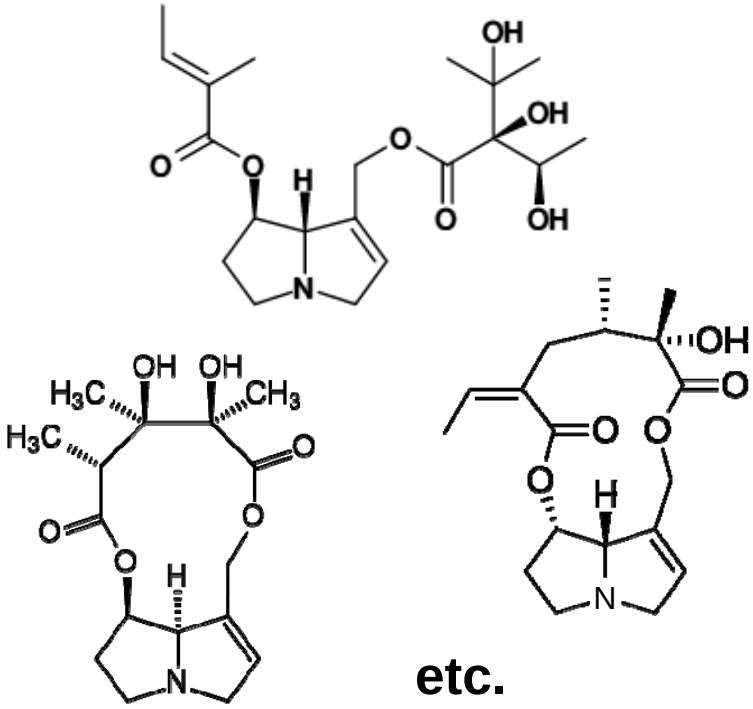

* Summe aus Seneciphyllin-*N*-Oxid, Seneciphyllin, Senecionin, Jacobin, Erucifolin, Erucifolin-*N*-Oxid

**Nowak, Wittke, Lederer, Klier, Kleinwächter, Selmar (2016):** Interspecific transfer of pyrrolizidine alkaloids: An unconsidered source of contaminations. ***Food Chemistry* 213**: 163–168

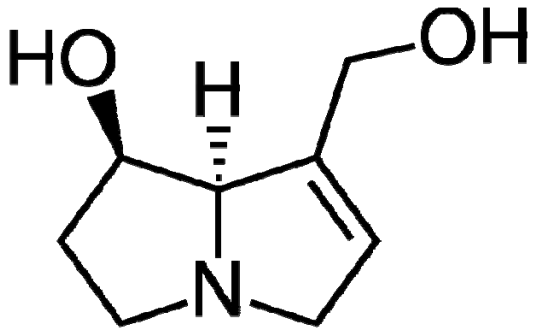



***Da ein vollständiger Abbau (zu $CO_2$) sehr unwahrscheinlich ist, müssten sich entsprechende Metabolite nachweisen lassen.***

**Im Gegensatz zu dieser Standard-Analytik der PAs gibt es noch eine Alternative, die sogenannte *Summenparameter-Methode* *, die alle Verbindungen erfasst, die eine Necinbase aufweisen.**



**etc.**



**Retronecine**

* Cramer et al.; 2013 – *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **61**: 11382–11391

***Analysen:***

***Summe der einzelnen authentischen PAs***

***(Analysen von Phytolab, Dr. Klier)***

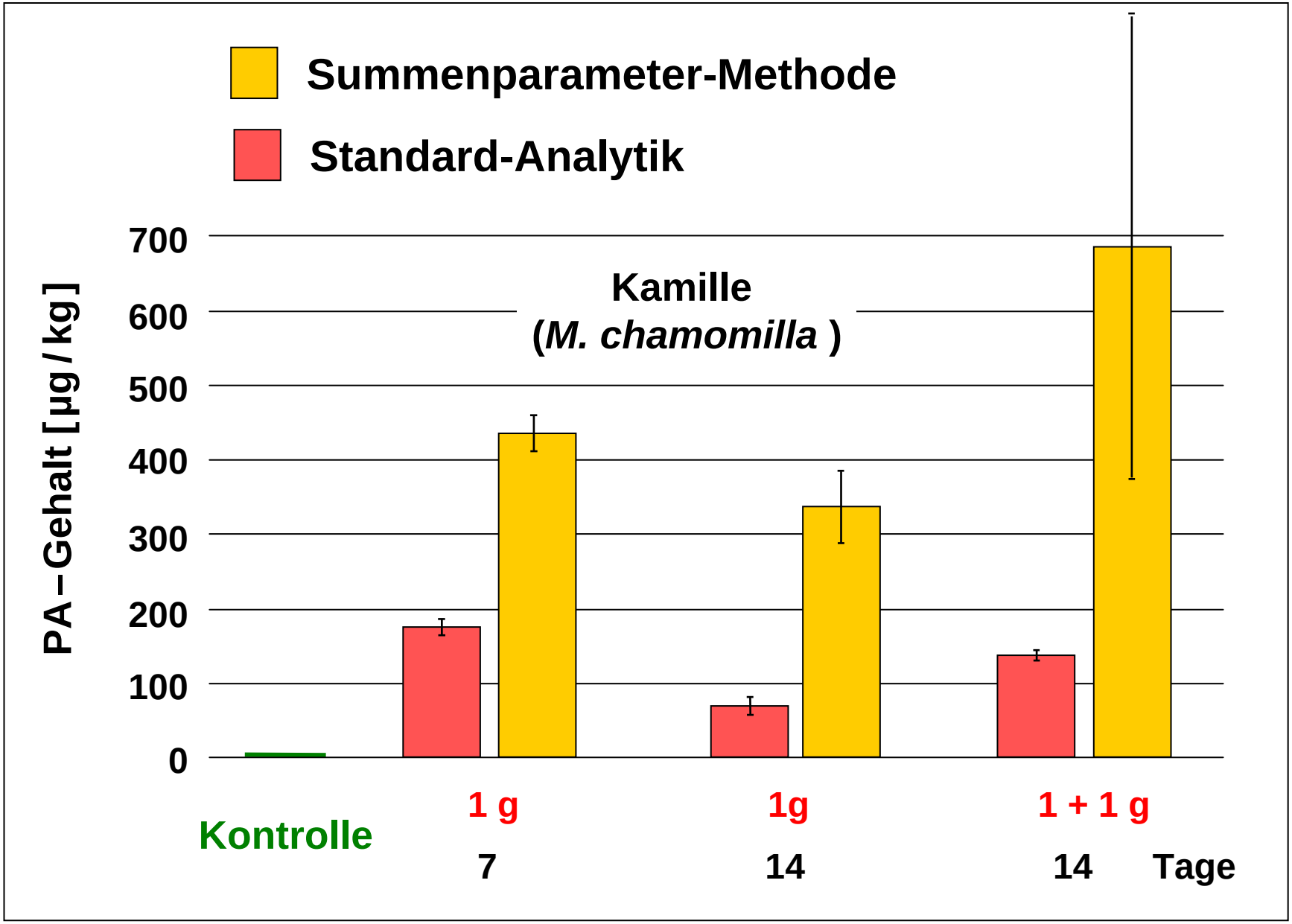
***Summe aller PA-Gerüste***

***- Summenparameter-Methode -***

***(Analysen von Dr. Till Beuerle)***

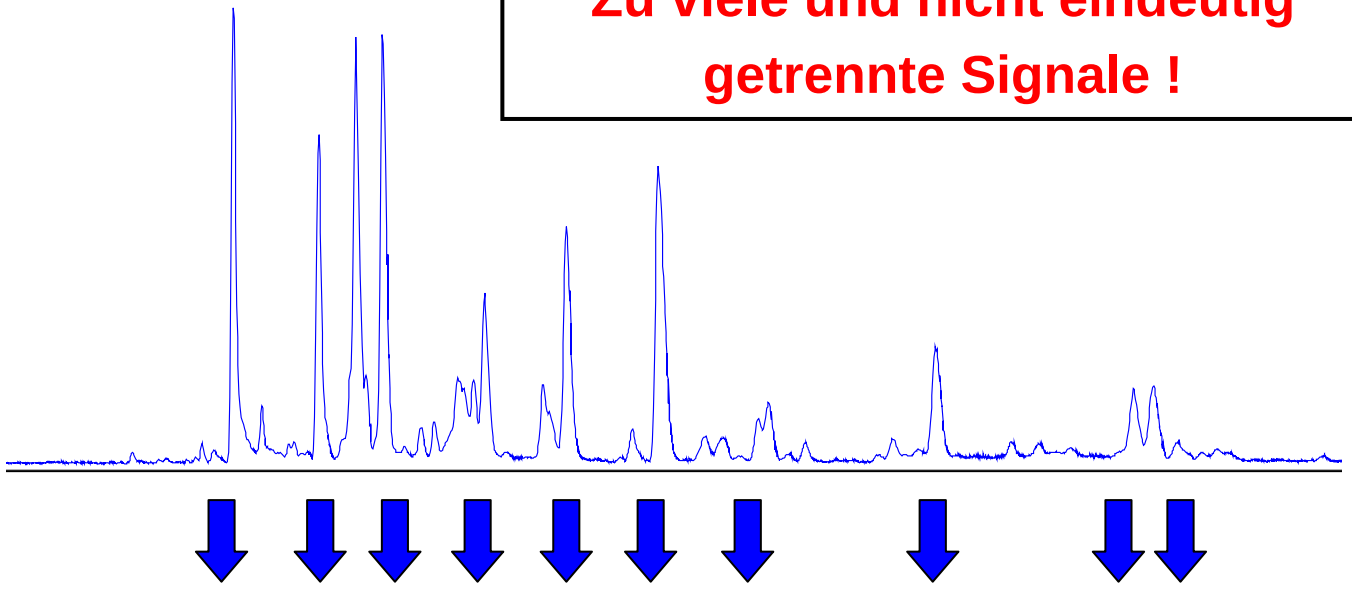
***Der Vergleich der PA-Mengen, die über die Standard-Analytik ermittelt wurden mit denen, die mittels Summen-parameter-Methode erzielt wurden, war erstaunlich:***

# Metabolisierung



**Nach zwei Wochen liegen bis zu 85 % der aufgenommenen PAs als bislang unbekannte Derivate vor, über deren toxikologische Eigenschaften keine Informationen vorliegen.**

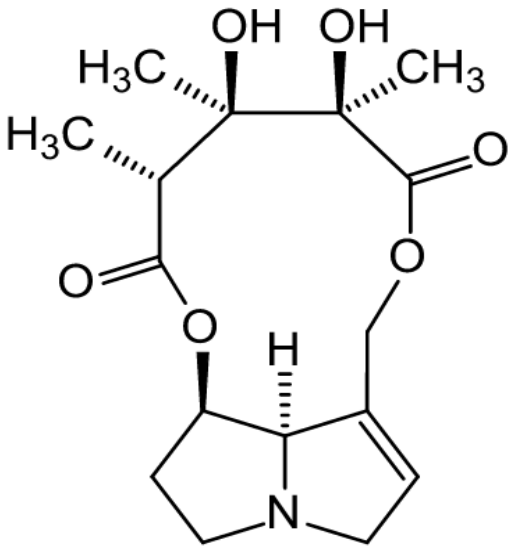
**Identifizierung dieser Substanzen:**




Analyse der unterschiedlichen Fraktionen mittels Summenparametermethode in Kooperation mit Dr. Till Beuerle

**Lewerenz (2018):** Horizontaler Naturstofftransfer: Metabolisierung von Pyrrolizidinalkaloiden in Akzeptorpflanzen. ***Masterarbeit – TU Braunschweig***

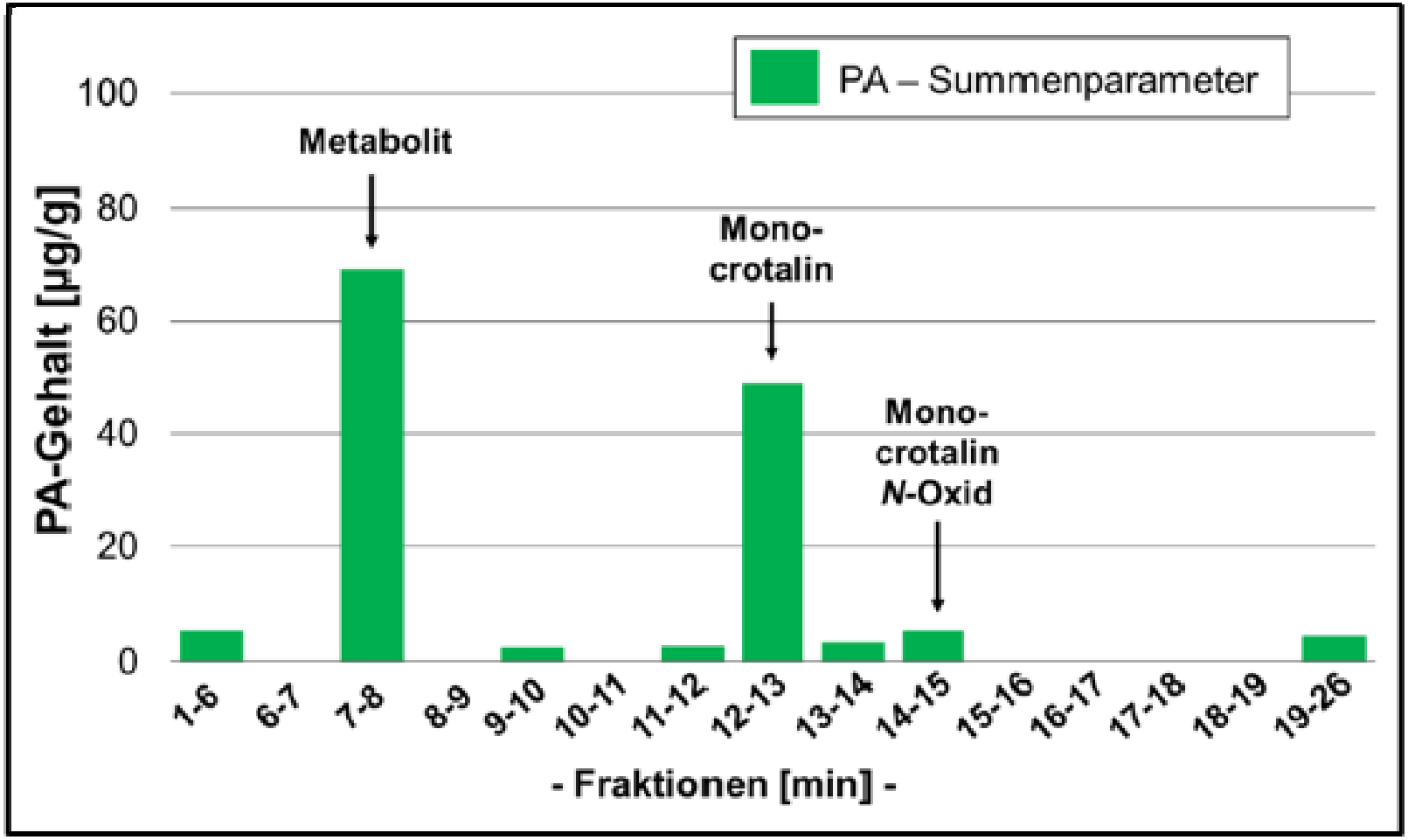
## *Änderung der Strategie:*
## *Applikation von lediglich einem genuinen PA.*



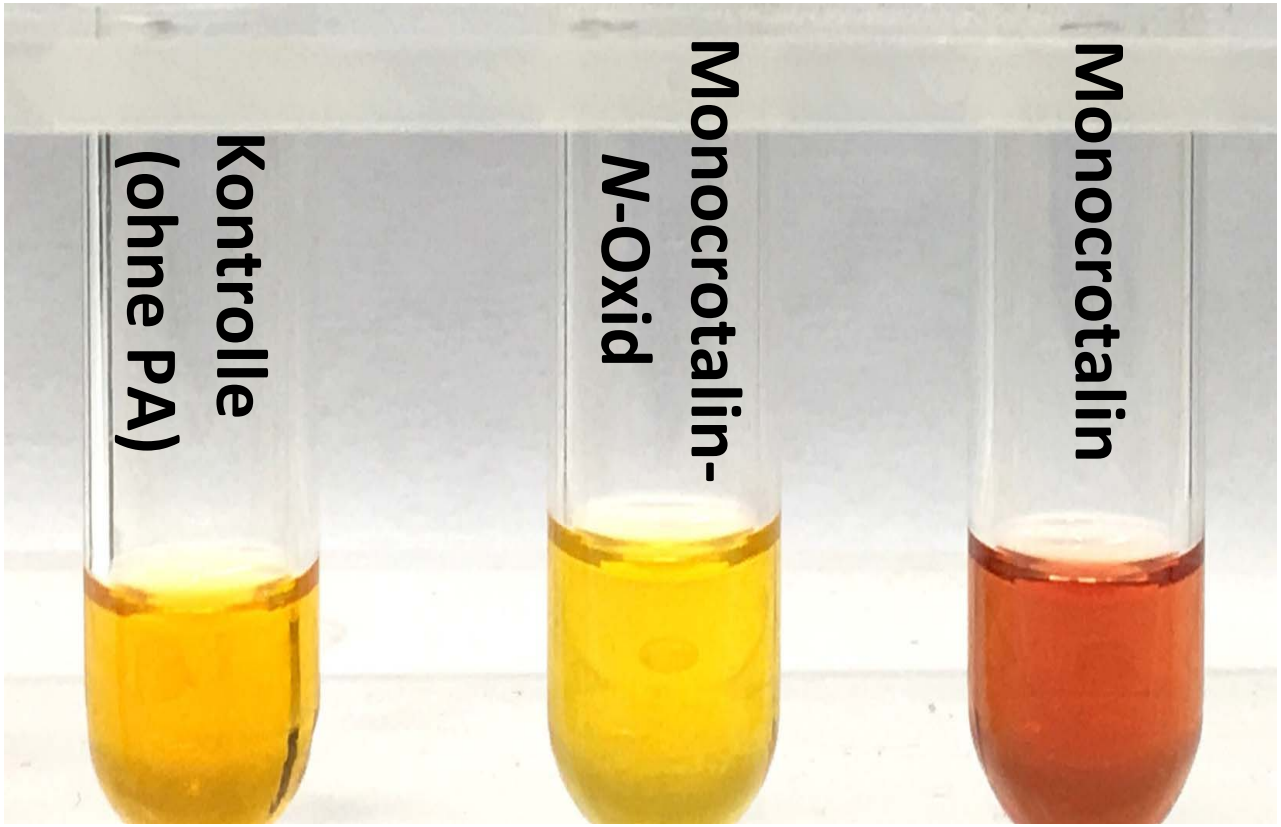

**Monocrotalin**

**Lewerenz (2018):** Horizontaler Naturstofftransfer: Metabolisierung von Pyrrolizidinalkaloiden in Akzeptorpflanzen. ***Masterarbeit – TU Braunschweig***

# Identifizierung potentieller PA-Metabolite

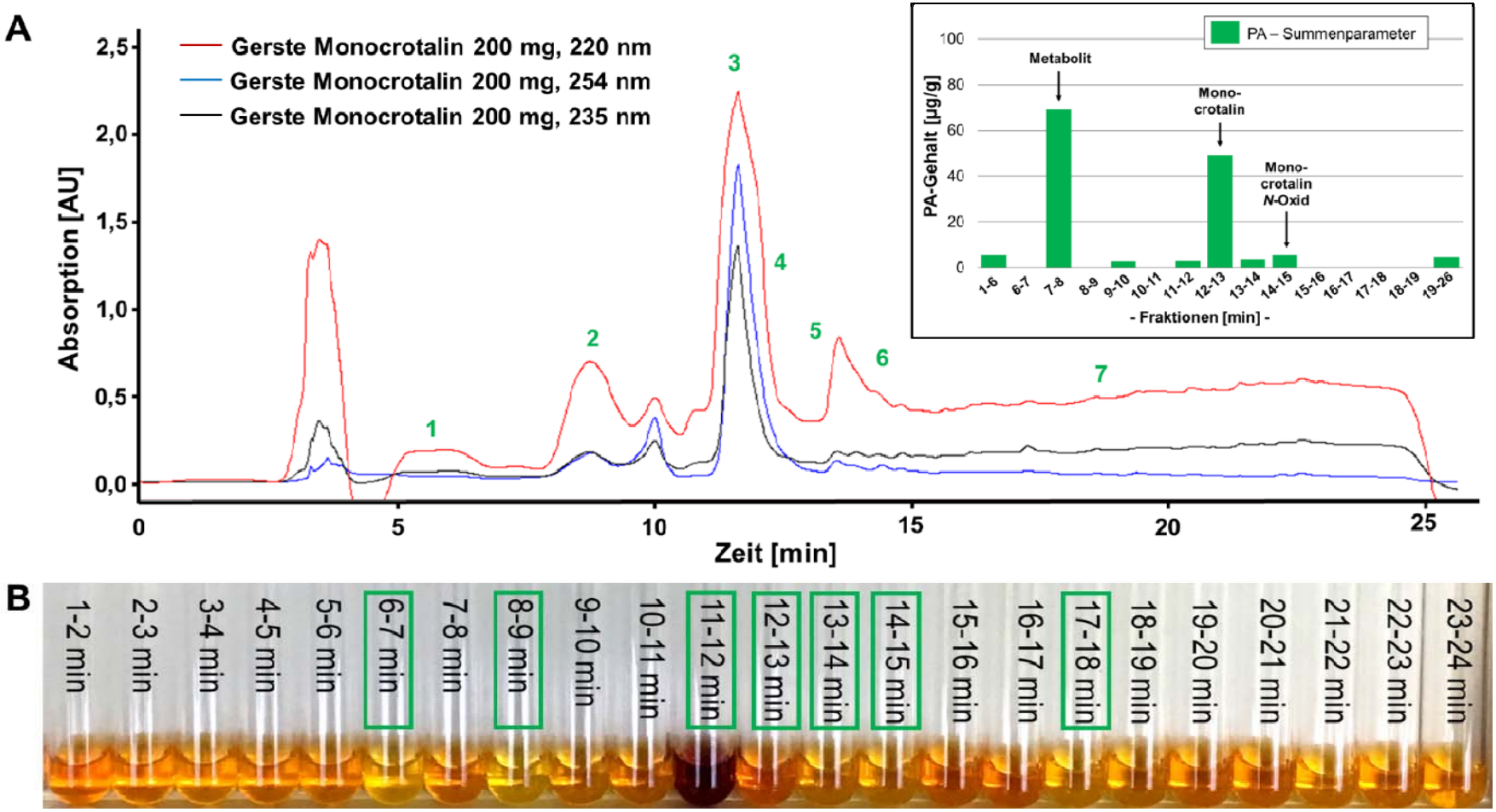


# Nachweis von PAs mittels Ehrlich-Reagenz



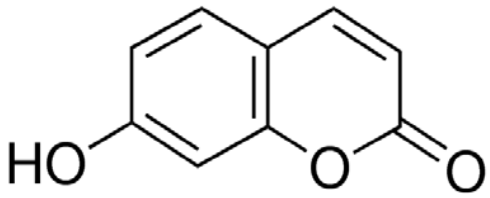

**Lewerenz (2018):** Horizontaler Naturstofftransfer: Metabolisierung von Pyrrolizidinalkaloiden in Akzeptorpflanzen. ***Masterarbeit – TU Braunschweig***

# Identifizierung potentieller PA-Metabolite



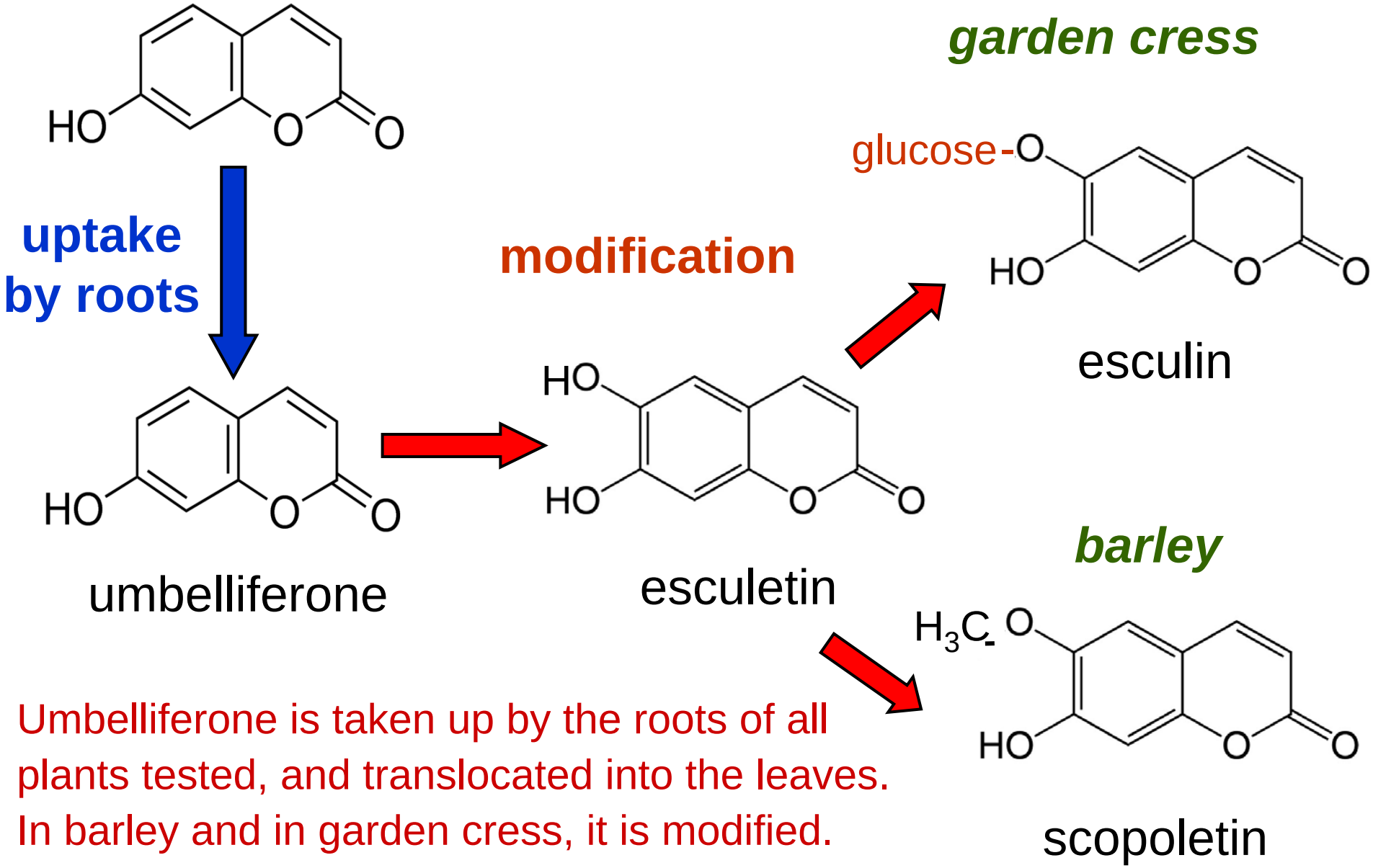
## Identifizierung potentieller Metabolite in den Akzeptorpflanzen

**Einsatz fluoreszierender Sunstanzen, um auch potentielle Derivate nachweisen zu können. Im Fall der Stilbene and Coumarine liegen bezüglich der Derivate bereits erste Ergebnisse vor:**




**Umbelliferon**

**Hijazin, Radwan, Abouzeid, Dräger, Selmar** (2019) Uptake and modification of umbelliferone by various seedlings *Phytochemistry* 157: 194-199

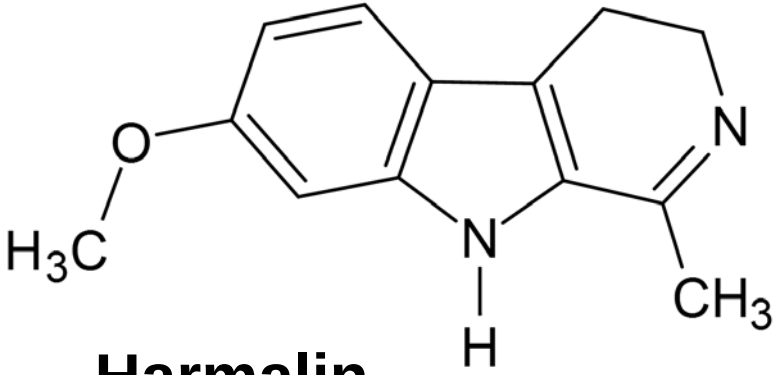



Umbelliferone is taken up by the roots of all plants tested, and translocated into the leaves. In barley and in garden cress, it is modified.

**Hijazin, Radwan, Abouzeid, Dräger, Selmar** (2019) Uptake and modification of umbelliferone by various seedlings ***Phytochemistry*** **157**: 194-199

# Identifizierung potentieller Metabolite in den Akzeptorpflanzen

**Einige Indol-Alkaloide fluoreszieren ebenfalls**

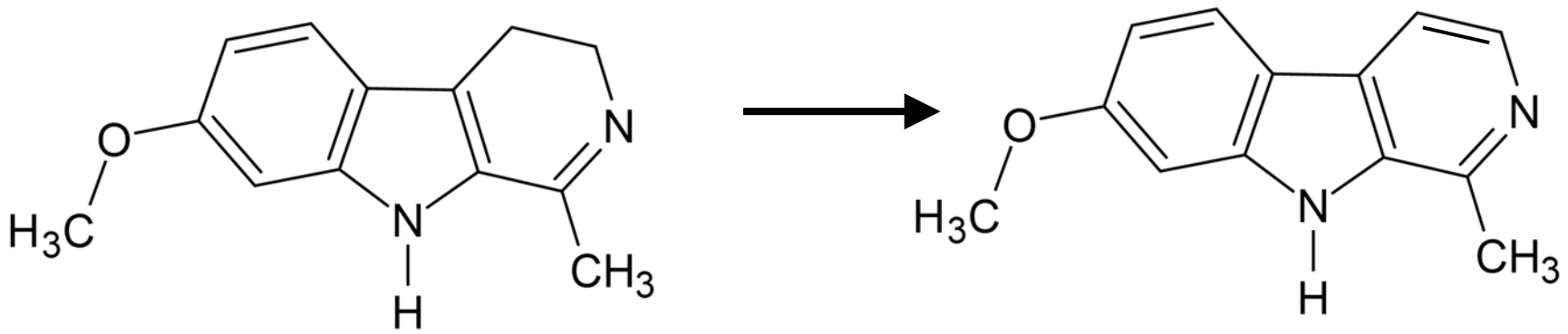



**Harmalin**

**Harmalin**

**Analyse mittels HPLC**
**Mit Fluoreszenz-Detektor**

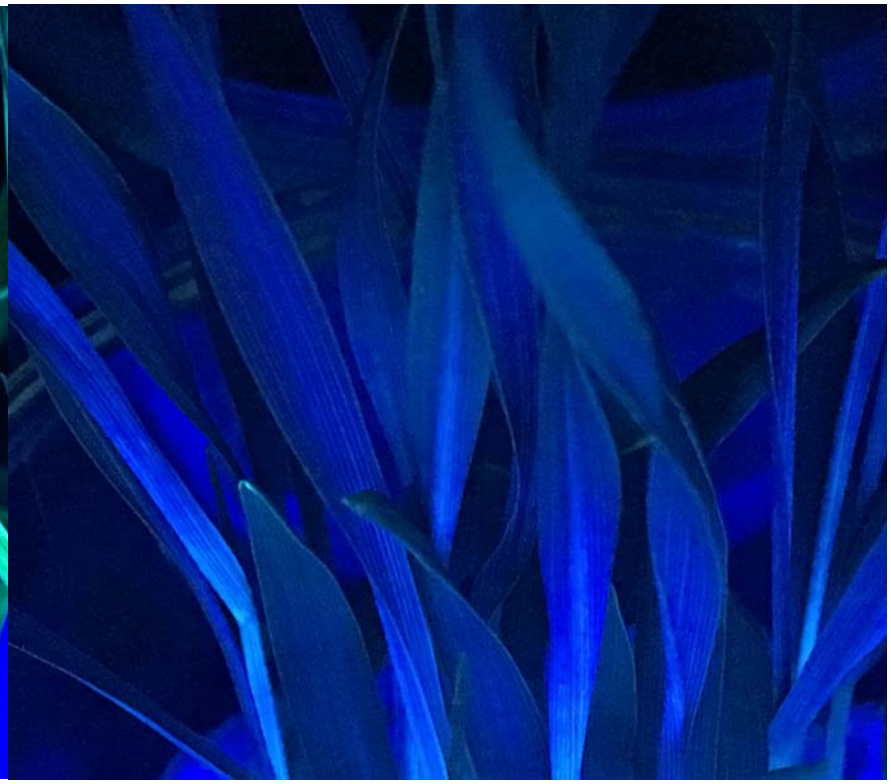
# Identifizierung potentieller Metabolite in den Akzeptorpflanzen




**Harmalin** **Harmin**

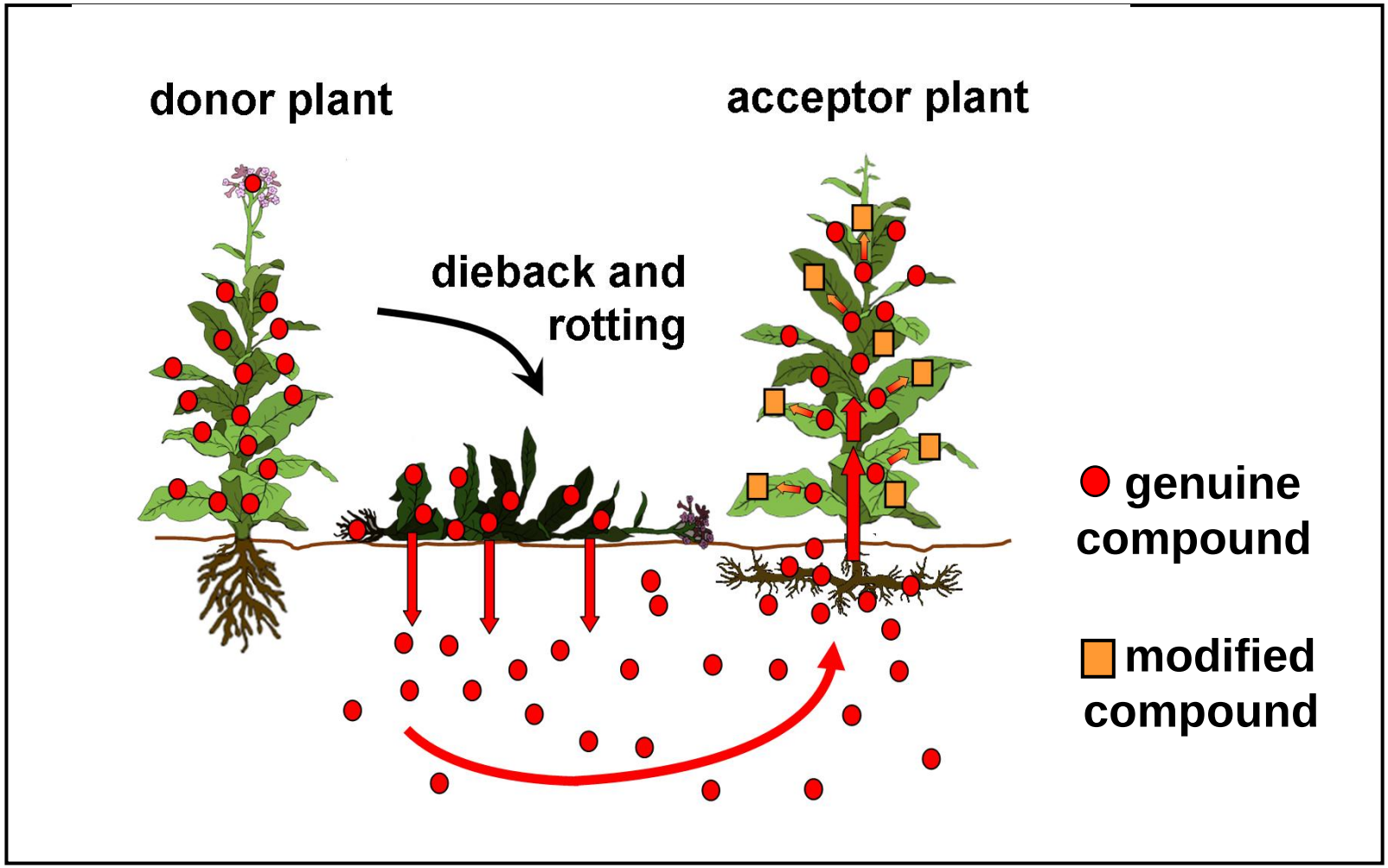
# Identifizierung potentieller Metabolite in den Akzeptorpflanzen

**Aufnahme von Harmalin (nach 2 Tagen)**



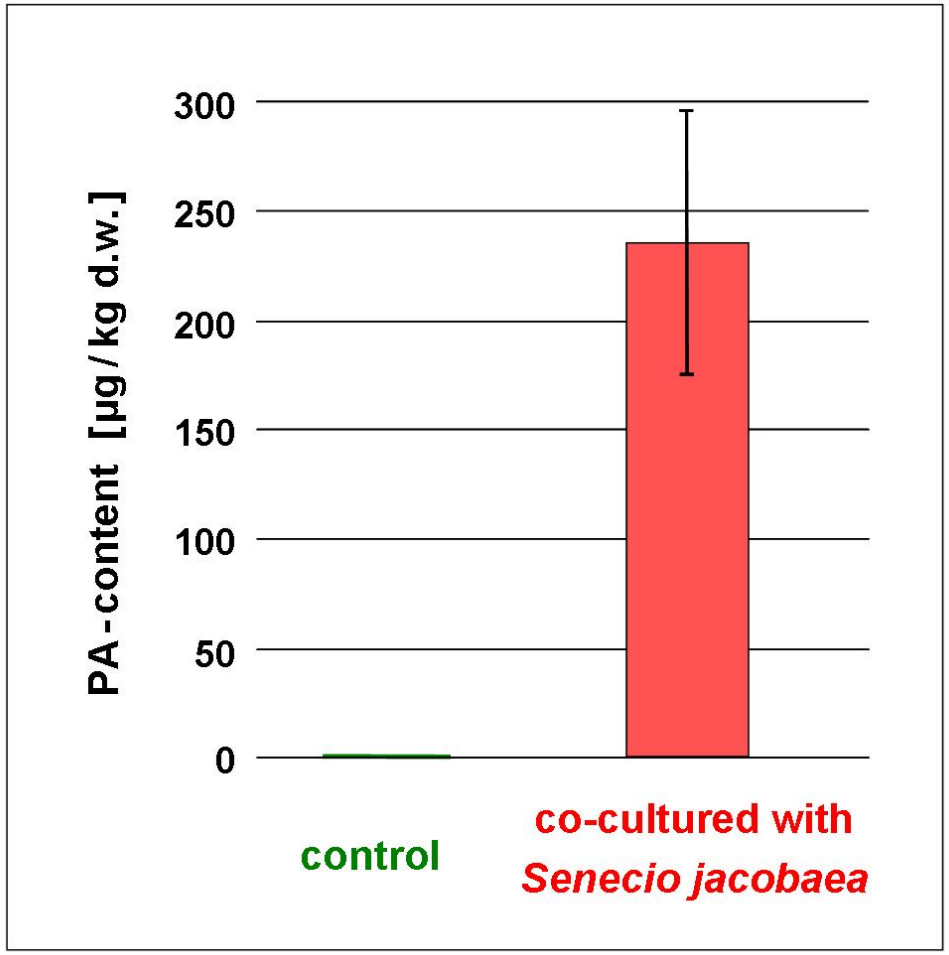
**Bildung von Harmin in den Akzeptorpflanzen (nach einer Woche)**

# Erweitertes Konzept des horizontalen Naturstoff-Transfers:



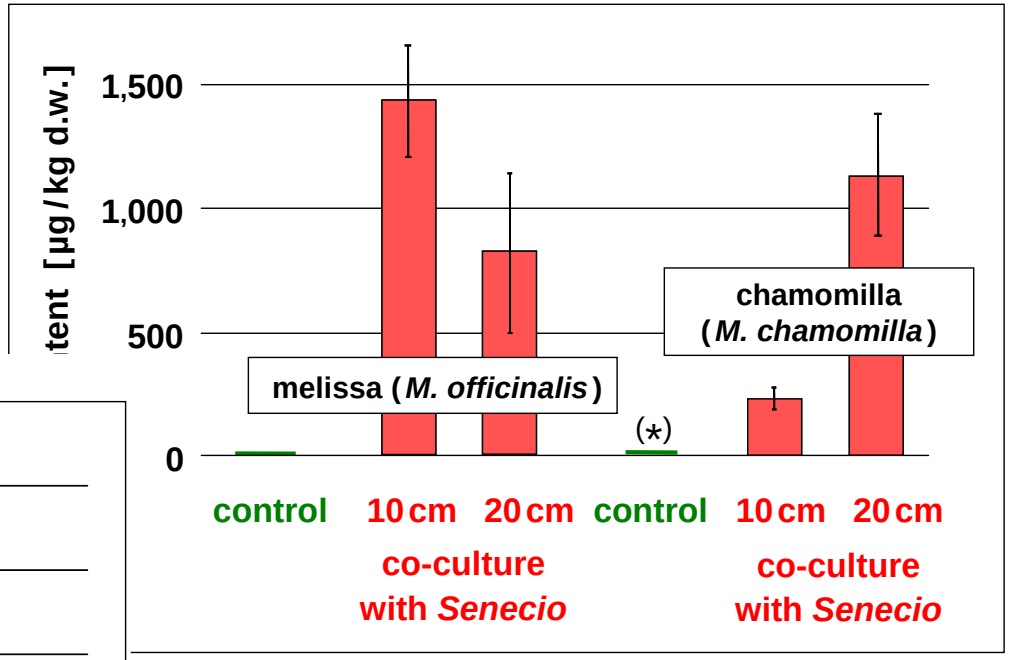
**Basierend auf den umfangreichen Daten zur Aufnahme pflanzlicher Naturstoffe aus verrottendem Pflanzenmaterial ergibt sich zwangsläufig die Frage, ob ein derartiger Transfer auch zwischen lebendem bzw. vitalen Pflanzen stattfindet.**

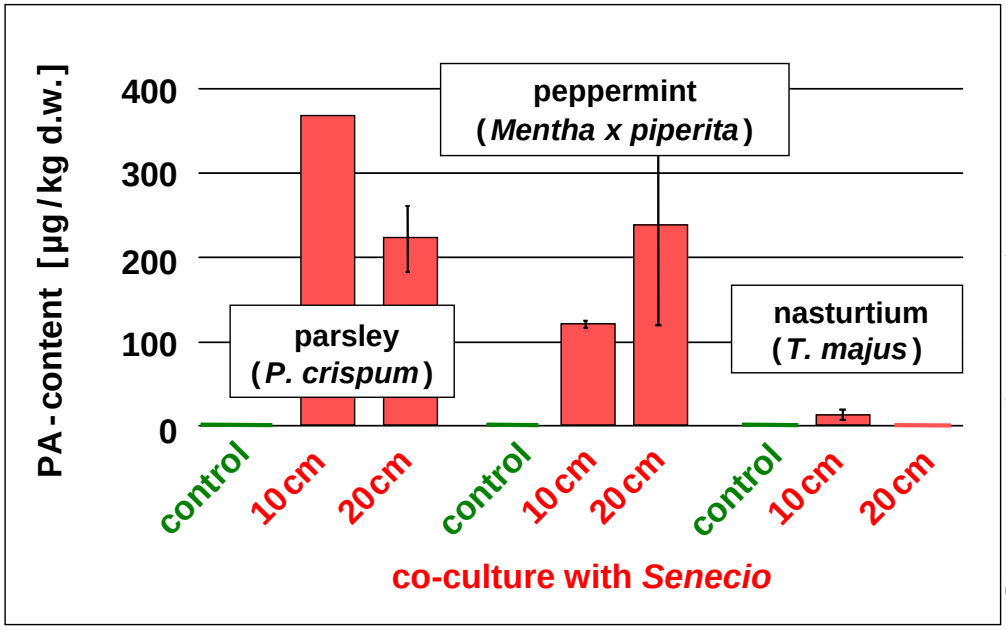
**Co-Kultur von Petersilie- und *Senecio*-Pflanzen.**



# Feld-Experimente:

**PAs werden tatsächlich von vitalen Donor- pflanzen in Akzeptorpflanzen verlagert.**




Environmental Pollution 248 (2019) 456–461

Contents lists available at ScienceDirect

Environmental Pollution

journal homepage: www.elsevier.com/locate/envpol

## Transfer of pyrrolizidine alkaloids between living plants: A disregarded source of contaminations☆

Dirk Selmar [a, *], Carina Wittke [a], Iris Beck-von Wolffersdorff [b], Bernhard Klier [b], Laura Lewerenz [a], Maik Kleinwächter [c], Melanie Nowak [a]

[a] Institut für Pflanzenbiologie, Technische Universität Braunschweig, Mendelssohnstraße 4, D-38106, Braunschweig, Germany
[b] Phytolab, Dutendorferstr. 5-7, D-91487, Vestenbergsgreuth, Germany
[c] Repha GmbH, 30832, Langenhagen, Germany

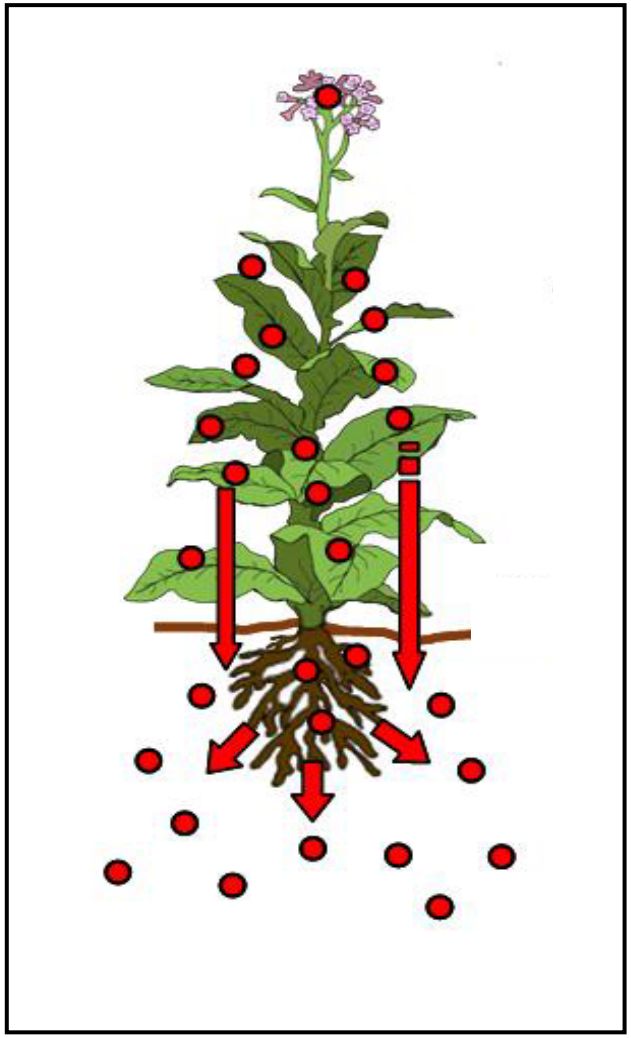
## Grundsätzlich gibt es mehrere Erklärungen für dieses Phänomen:

* Die PAs werden aus Blättern ausgewaschen, die zuvor abgeworfen wurden.

* Die PAs wurden aus kleineren Verletzungen lebender Blätter ausgewaschen.

* Die PAs resultieren aus kleineren Verletzungen der Wurzel.

* Die PAs wurden aktiv von Wurzeln oder Blättern exsudiert.



Environmental Pollution 248 (2019) 456–461

Contents lists available at ScienceDirect

Environmental Pollution

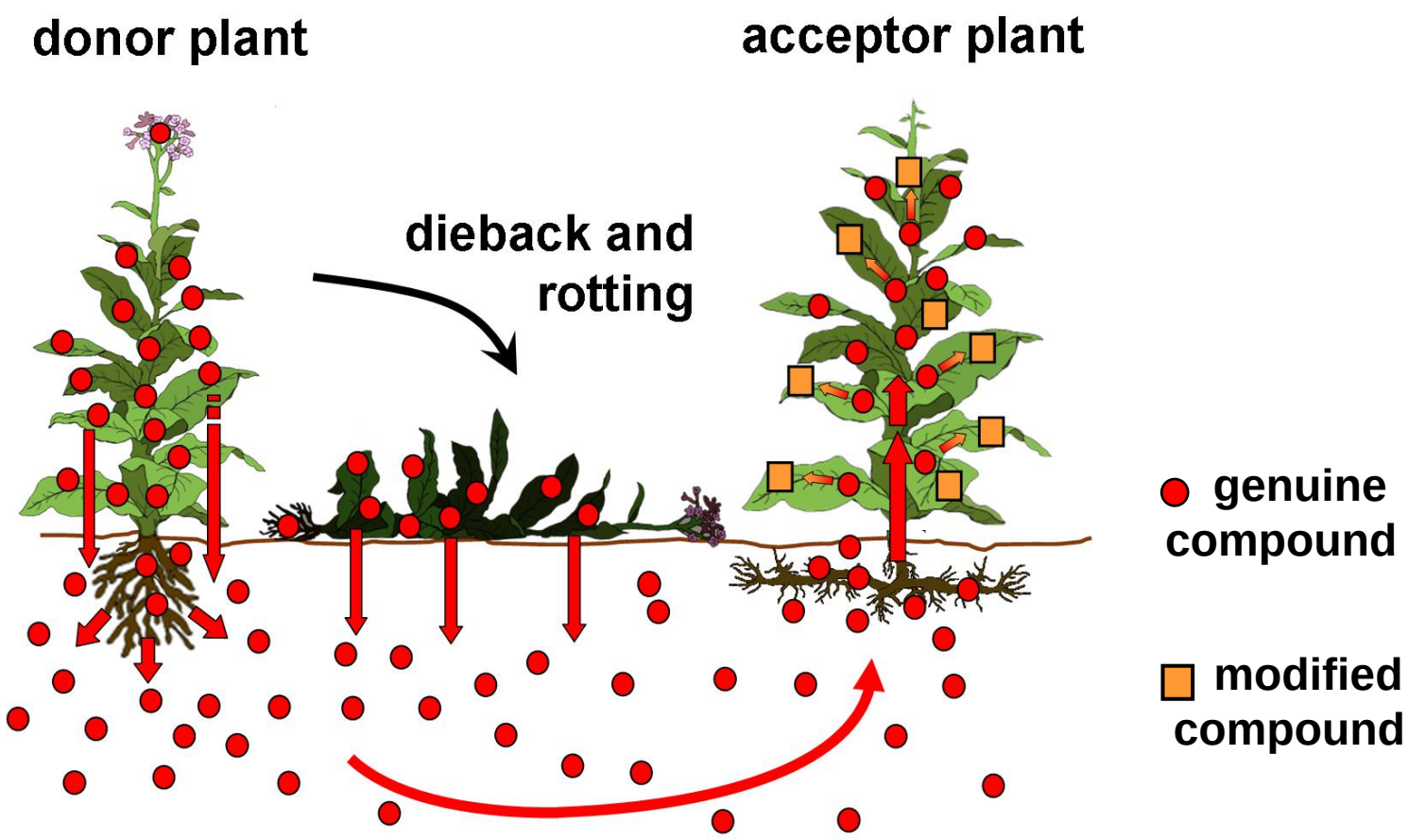
journal homepage: www.elsevier.com/locate/envpol

# Transfer of pyrrolizidine alkaloids between living plants: A disregarded source of contaminations☆

Dirk Selmar [a, *], Carina Wittke [a], Iris Beck-von Wolffersdorff [b], Bernhard Klier [b], Laura Lewerenz [a], Maik Kleinwächter [c], Melanie Nowak [a]

[a] Institut für Pflanzenbiologie, Technische Universität Braunschweig, Mendelssohnstraße 4, D-38106, Braunschweig, Germany
[b] Phytolab, Dutendorferstr. 5-7, D-91487, Vestenbergsgreuth, Germany
[c] Repha GmbH, 30832, Langenhagen, Germany

# Horizontaler Naturstoff-Transfer:




**Selmar, Wittke, Beck-von Wolfersdorff, Klier, Lewerenz, Kleinwächter, Nowak** (2019) Transfer of pyrrolizidine alkaloids between living plants: A disregarded source of contaminations. ***Environmental Pollution*** 248: 456-461

## Resümee:

* Die PAs und andere Alkaloide (Nikotin) werden aus Blättern abgestorbener Beikräuter ausgewaschen, von der Wurzeln anderer Pflanzen aufgenommen und in die Blätter verlagert.

* Die aufgenommenen Alkaloid-Mengen können beträchtlich sein und für die beobachteten Kontaminationen verantwortlich zeichnen.

* Der Import erfordert keine Carrier und alle Naturstoffe (und Xenobiotica) mit log*P*-Werten zwischen -1 und 3 werden aufgenommen.

* Alkaloide werden auch aus lebenden Pflanzen über den Boden in Akzeptorpflanzen verlagert, z.B. über eine Exsudation von Wurzeln.

* In den Akzeptorpflanzen werden die importierten Naturstoffe modifiziert, so dass ein großer Teil der Kontaminationen bislang noch gar nicht detektiert wurde.

* Der horizontale Naturstoff-Transfer ist viel stärker verbreitet als zunächst angenommen und repräsentiert ein neues, sehr faszinierendes Forschungsfeld.

***…vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit !***

***Prof. Dr. Dirk Selmar***

***Institut für Pflanzenbiologie,***

***TU Braunschweig***