

# Drug-facilitated crime – Unerwartete Vergiftung mit dem Rodentizid Alpha-Chloralose

**Frank Sporkert, Marc Augsburg, Bettina Schrag und Patrice Mangin**

## **Abstract**

A 36 year old man was taken to the institute for an autopsy. Before his death, the deceased had been hospitalized several times with epilepsy-like symptoms. Autopsy findings could not explain the cause of death.

Toxicological analysis resulted in the detection of alpha-chloralose, flunarizine and amitriptyline in urine, gastric content and peripheral blood. Alpha-chloralose (Glucochloral), 1,2-O-(2,2,2-trichloroethylidene)-alpha-D-glucofuranose, is used as rodenticide and as hypnotic in animal experiments.

Alpha-chloralose was quantified in postmortem blood, in plasma from one hospital, in urine, and gastric content after liquid-liquid extraction and GC-MS analysis in SIM mode. The following concentration were obtained: peripheral postmortem blood 20 mg/l, urine 410 mg/l, and gastric content 0.52 g (total amount). Flunarizine and amitriptyline were found in therapeutic concentrations. Finally, the cause of death was explained as a result of a chloralose administration.

In order to verify whether the epilepsy-like symptoms could be explained by repeated administration of alpha-chloralose, a GC-MS detection method for the determination of chloralose in hair analysis was developed. After hair extraction with a methanol/water mixture and derivatization with trifluoroacetic anhydride, chloralose was detected in SCAN- and SIM-mode using negative chemical ionization (NCI). Segmental hair analysis yielded alpha-chloralose concentrations of about 400 ng/mg for each segment suggesting a repetitive exposure to alpha-chloralose. The results of hair analysis supported the assumption of the police that the man was exposed to and poisoned by this rarely used rodenticide.

Alpha-chloralose was also confirmed in a white powder found several weeks later by police investigations in the house of the deceased.

The wife was found guilty and sentenced to 18 years imprisonment.

## **1. Einleitung**

Intoxikationen mit Pestiziden akzidenteller Natur bzw. nach Administration in suizidaler oder aber auch krimineller Absicht gehören nicht (mehr) unbedingt zu den am häufigsten vorkommenden Vergiftungsursachen in den Industrieländern, da die akute Humantoxizität der kommerziell frei verfügbaren Produkte im Abnehmen begriffen ist. Pestizide sollten aber weiterhin jederzeit als eine mögliche Todesursache oder als Quelle der Vergiftungssymptome betrachtet werden.

Alpha-Chloralose, 1,2-O-(2,2,2-trichloroethylidene)-alpha-D-glucofuranose, stellt ein Kondensationsprodukt von Glucofuranose und Chloral dar (Abb. 1). Es handelt sich um ein geschmack- und geruchsloses weißes Pulver, das 1889 erstmals beschrieben wurde [1]. Es kommt als Rodentizid aber auch als Hypnotikum und Anästhetikum in Tierversuchen, sowie zur Vogelabwehr zum Einsatz [9].

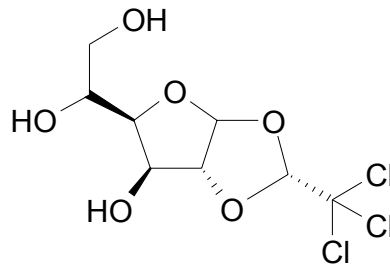


Abb. 1: Alpha-Chloralose

Die häufigsten Effekte beruhen auf einer depressiven Wirkung auf das Zentralnervensystems mit gleichzeitiger Stimulation spinaler Reflexe [9,10,14]. Die Folge sind Sedierung, Myoklonie, Konvulsion und Atemdepression. Vor allem bei Kleintieren kommt es zu einer Verminderung der Körpertemperatur [2]. Toxische Effekte bei Erwachsenen treten gemäss WHO bei Einnahme von mehr als einem Gramm auf (WHO, International Programme on Chemical Safety, Publications, Tanining and guidance – poisons information, prevention and management, monographs – analytical and toxicological data, 6.25). Intoxikationen bei Menschen sind eher selten. Überproportional viele Fälle wurden in Frankreich dokumentiert [3,4,5,7,8,10,12,17]. Von tödlichen Vergiftungen berichten Schmid und Iten [17], Kintz [8] und Tracqui [19] mit einer peripheren Blutkonzentration von 410 mg/L.

Chloralose wird unverändert oder in glucuronidierter Form ausgeschieden [3,4,18]. Nach Untersuchungen von Schmid [17] und Kintz [8] ist Trichloroethanol kein Chloralose-Metabolit, wie in früheren Untersuchungen vermutet wurde [9,10].

Der Nachweis von Chloralose erfolgte bisher im allgemeinen indirekt nach saurer Hydrolyse zu Chloralhydrat und Trichloroethanol und anschliessender Headspace-GC-Analyse basierend auf einer von Breimer 1974 veröffentlichten Methode [1]. Savin et al. bestimmten in Serum und Urin zweier Patienten nach Suizidversuch mittels GC-MS nach Acetylierung. In zwei weiteren Fällen wurde Chloralose mittels LC-MS im Electrospray-Modus in Tierorganen bzw. Körperflüssigkeiten nachgewiesen [6,19].

Bei dem hier vorgestellten Fall handelt es sich um eine wiederholte, letztlich fatale Chloralose-Intoxikation. Der Nachweis erfolgte mittels GC-MS im Electron Impact Modus, wobei für Identifikation und Quantifikation nicht ein

Hyrolyseprodukt der Chloralose, sondern diese selbst verwendet wurde. Mittels Haaranalyse konnte eine wiederholte Verabreichung von Chloralose aufgezeigt werden.

## **2. Material und Methoden**

### **Fallgeschichte:**

Ein 36 jähriger Mann in gutem Ernährungszustand wurde nach einem gemeinsamen Mittagessen gegen 20 Uhr von seiner Frau leblos im Bett aufgefunden. Der herbeigerufene Notarzt konnte nur noch seinen Tod feststellen. Er sowie die Polizei gingen von einer natürlichen Todesursache aus, kontaktierten aber wegen einer eher unklaren Vorgeschichte den zuständigen Bezirksarzt, der eine Autopsie empfahl.

Der Verstorbene hatte in den letzten vier Monaten vor seinem Tod mehrere Krampfanfälle mit Desorientiertheit und Atemproblemen, die eine Epilepsie vermuten ließen. Deswegen war er bereits sieben Mal hospitalisiert worden. Eine neurologische Erkrankung konnte trotz mehrerer ärztlicher Untersuchungen inkl. EEG, CT und MRT nicht diagnostiziert werden.

Seine letzte Heimmedikation bestand aus Flunarizin (einem Antimigränemittel) und Amitriptylin. Die veranlasste rechtsmedizinische Autopsie sowie die Ergebnisse der histologischen und neurologischen Untersuchungen konnten die Todesursache nicht klären. Daher wurden toxikologische Untersuchungen beantragt.

Die untersuchten Proben stammten zum einen von den während der Autopsie entnommenen Körperflüssigkeiten und -organen. Weiterhin konnten von der Polizei im Verlauf der Ermittlungen eine Serum- und eine Liquor-Probe aus einem Krankenhausaufenthalt in Monthey (Wallis) sowie eine Serumprobe aus der Universitätsklinik Genf organisiert werden.

### **Toxikologische Analysen:**

#### ***A) Das General Unknown Screening***

Die Untersuchung beruhte auf der in unserem Labor standardmäßig durchgeführten Systematischen Toxikologische Analyse [15]. Sie umfasste die Blutalkoholbestimmung (Headspace GC-FID an zwei Agilent 5890 GC), ein Screening auf volatile Substanzen, Urin-Immunoassay mittels Emit II plus am Dimension<sup>®</sup> (Dade Behring), Cyanid-Test (Cyantest-Streifen) und Fujiwara-Test auf halogenhaltige Verbindungen.

Für das GC-MS Screening wurden 1 ml Blut, 3 ml Urin bzw. 0.5 ml Mageninhalt mit 2 ml eines gesättigten Ammoniumchlorid-Puffers auf pH 9.5 eingestellt und mit 3 ml Chloroform/2-Propanol, 90:10 v/v, extrahiert. Die abgetrennte

organische Phase wurde anschließend eingedampft und der Rückstand mit Acetanhydrid/Pyridin (3:2) für 30 min bei 60°C derivatisiert. Die Messung erfolgte an einem Agilent 6890 GC mit einer Agilent XLB Kapillarsäule (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm), gekoppelt mit einem Agilent 5973 MSD. Die Identifikation der Spektren erfolgte mittels PMW-Spektrenbibliothek [11]. Eine zweite Blutprobe (1 ml) wurde nach LLE mit 4 ml Dichlormethan/Hexan/Ethylacetat (5:4:1) bei pH 9.5 mittels HPLC-DAD (Agilent 1100) untersucht. Die UV-Spektren wurden anhand der Pragtschen Spektrenbibliothek identifiziert [13].

### ***B) Chloralose-Quantifikation***

1.0, 0.5 und 0.1 ml Blut, 1.0, 0.1 und 0.01 ml Urin sowie 0.5, 0.1, 0.01 und 0.001 ml Mageninhalt wurden mit je 1 µg Ketamin (interner Standard), 2 ml eines gesättigten Ammoniumchlorid-Puffers (pH 9.5) und 3 ml Chloroform/2-Propanol, 90:10 v/v, versetzt und für 20 min auf einem Horizontalschüttler extrahiert. Der Rückstand der abgetrennten und eingedampften organischen Phase wurde wie in A). acetyliert. Für die GC-MS-Messung wurden die Ionen m/z 217, 272, 361 (Alpha-Chloralose) sowie m/z 180, 208, 216 (Ketamin) aufgezeichnet. Für die Kalibration wurde je 1 ml negatives Vollblut mit 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10, 20 und 50 µg Alpha-Chloralose (Riedel de Haen, Deutschland) sowie 1 µg Ketamin versetzt und w.o. extrahiert.

### ***C) Haaranalyse***

Die im späteren Verlauf der Ermittlungen beantragte Haaranalyse basierte auf einer Wasser/Methanol-Extraktion, 2:1 v/v, von 10 mg Haar bei 50°C über Nacht nach vorheriger Dekontaminierung der Haare durch zweimaliges Waschen mit Aceton für 5 min im Ultraschallbad. Nach Eindampfen des Extrakts wurde mit TFA/Ethylacetat (1:1) acetyliert. Als interner Standard diente Methyl-alpha-glucoopyranosid. Die Messung erfolgte an einem Agilent 6890 plus GC mit einer Agilent XLB Kapillarsäule (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm) und anschließender MS-Detektion an einem Agilent 5973 MSD bei negativ-chemischer Ionisation (Reaktandgas: Methan) im SIM-Modus (m/z Chloralose: 596, 598, 561, m/z Methyl-alpha-glucoopyranosid: 578, 464).

## **Ergebnisse und Diskussion:**

### ***A) General Unknown Screening***

In den Autopsieproben konnten neben den verordneten Flunarizin und Amitriptylin noch dessen Metabolit Nortriptylin, Chloralose (siehe Chromatogramm, Massenspektrum und Bibliotheksvorschlag in Abb. 2) sowie Cotinin, Koffein und Theobromin nachgewiesen werden. Einen Überblick über die wichtigsten nachgewiesenen Substanzen und deren Konzentration gibt Tab. 1.

Tab. 1: Identifizierte Substanzen und deren Konzentrationen in verschiedenen Körperflüssigkeiten.

Matrix	Identifizierte Substanz	Konzentration
Peripheres, fluoriertes Vollblut	Chloralose	20 mg/L
	Amitriptyline	< 50 µg/L
	Nortriptyline	50 µg/L
	Flunarizin	250 µg/L
	Ethanol	< 0.10 g/kg
Urin	Chloralose	410 mg/L
	Amitriptyline	50 µg/L
	Nortriptyline	80 µg/L
Mageninhalt	Chloralose	0.52 g / 475 ml

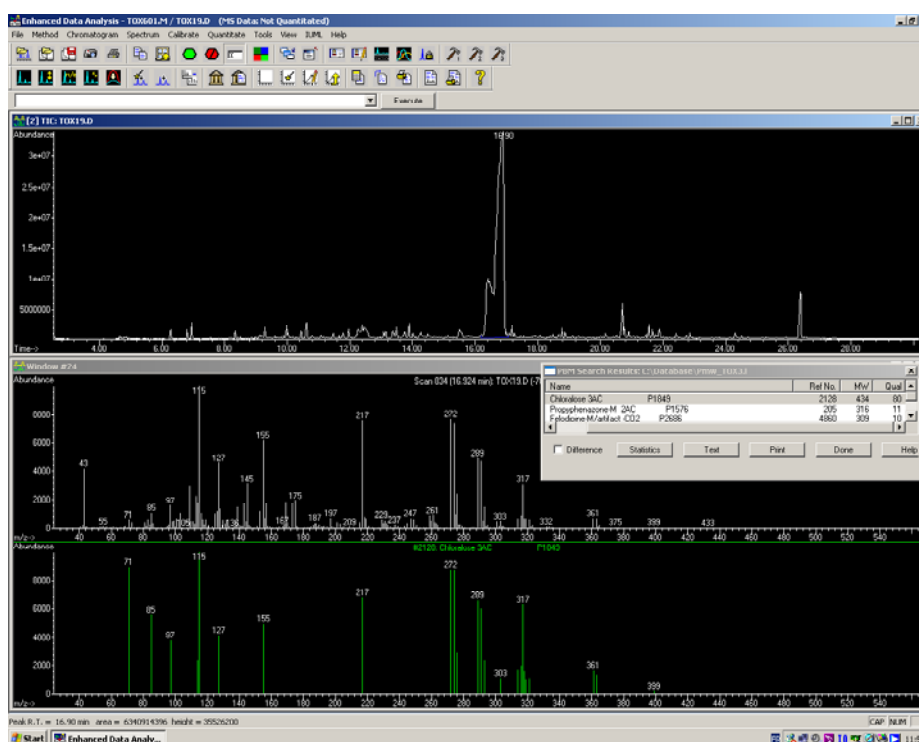


Abb. 2: Chromatogramm, MS-Spektrum sowie Bibliotheksvergleichsspektrum für Chloralose.

Die Quantifizierungen ergaben therapeutische Konzentrationen für Flunarizin, Amitriptylin und Nortriptylin im Blut sowie enorme Chloralose-Konzentrationen in Blut, Urin und Mageninhalt. Die hier in Blut und Urin bestimmten freien Chloralose-Konzentration liegen etwas unterhalb derer von Kintz (175.7 bzw. 287.6 mg/L) [7], Tracqui (150.6 mg/L bzw. 494 mg/L) [19] und Schmid

(410 bzw. 10400 mg/L) [17] gemessenen. Nimmt man die im gesamten Mageninhalt (475 ml) ermittelten 0.52 g und vergleicht diese mit den von der WHO als toxisch eingestuften 1 g, so kann unter Berücksichtigung von Resorptions-, Distributions- und Eliminationseffekten von einer weitaus höheren und damit hochtoxischen, oralen Chloralose-Administration ausgegangen werden. Unter Ausschluss anderer Todesursachen durch Autopsie und histologische Untersuchungen, wurde der Todeseintritt als Folge einer akuten Chloralose-Intoxikation interpretiert.

Die später von den Untersuchungsbehörden sichergestellten Klinikproben wurden gezielt auf Chloralose analysiert, um eine eventuelle Chloralose-Aufnahme bereits zu diesem Zeitpunkt zu eruieren. Die Ergebnisse dieser Analysen zeigt Tab. 2. In der Probe aus dem Krankenhaus Monthey, die kurz nach Aufnahme des Patienten auf Grund eines Krampfanfalls entnommen wurde, konnte Chloralose in Serum sowie Liquor nachgewiesen werden. In der in Genf am Ende eines zweiwöchigen Klinikaufenthalts entnommenen Blutprobe konnte hingegen keine Chloralose detektiert werden.

Tab. 2: Chloralose-Konzentrationen in später sichergestellten Klinikproben.

<b>Matrix</b>	<b>Ort und Zeitpunkt der Probennahme</b>	<b>Chloralose-Konzentration</b>
Serum	Krankenhausaufenthalt in Monthey (Wallis);	26 µg/L
Liquor	Probennahme bei Aufnahme	660 µg/L
Serum	Krankenhausaufenthalt in Genf (Uni-Klinik); Probennahme bei Entlassung	nicht nachweisbar

Zur Abklärung einer wiederholten Chloralose-Aufnahme wurde eine segmentweise Haaranalyse durchgeführt. Abb. 3 zeigt die Ionenspuren von Chloralose und dem internen Standard Methyl-alpha-glucoopyranosid. Der Doppelpeak für Chloralose kann durch das Vorhandensein eines  $\beta$ -Isomers im aufgenommenen Präparat wie von Hunter [6], Tracqui [19] und Savin [16] beschrieben, eventuell aber auch mit einer Racemisierung während der Derivatisierung erklärt werden. Die Chloralose-Konzentrationen in den einzelnen Segmenten sind in Tab. 3 angeführt. Die gefundenen, extrem hohen Konzentrationen deuten auf eine wiederholte Aufnahme von Chloralose in den Monaten vor dem Todeseintritt hin, was die wiederholten epilepsie-ähnlichen Anfälle des Verstorbenen erklären könnte.

Tab. 3: Chloralose-Konzentrationen in verschiedenen Haarsegmenten.

	<b>Chloralose-Konzentration im Haar in ng/mg</b>
Segment 1 (1 cm)	379
Segment 2 (1 cm)	382
Segment 3 (4 cm)	458

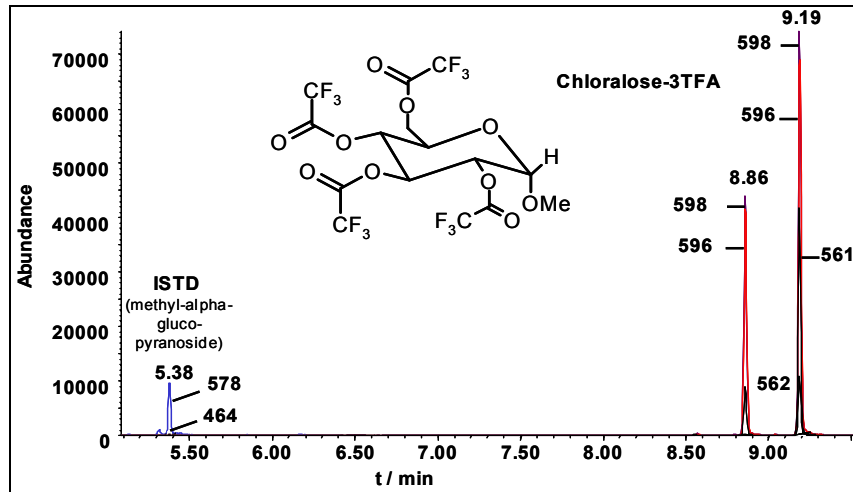


Abb. 3: Extracted Ion Chromatogram der Ionspuren von Chloralose und dem internen Standard.

Eine zur Abschätzung der Extraktionseffizienz durchgeführte zweite Haarextraktion ergab Konzentrationen von ungefähr 1 % der ursprünglich ermittelten Chloralose-Konzentrationen. Viermaliges Waschen der Haare für 5 min mit 15 ml Aceton im Ultraschallbad und anschließende Analyse der Waschflüssigkeiten erbrachte Konzentrationen von nur 3.2, 1.4, 1.7 bzw. 1.2 ng Chloralose/mg, was eine starke externe Kontamination der Haare durch Chloralose-Pulver ausschließt, da in diesem Fall deutlich höhere Konzentrationen zu erwarten wären. Vielmehr dürften die Chloralose-Funde in den Waschflüssigkeiten als Resultat einer Extraktion von < 1 % der im Haar eingelagerte Chloralose erklärt werden können.



Abb. 4: Verkaufsform des verwendeten Rattengifts.

Parallel zu den Laboranalysen führte die Polizei weitere Untersuchungen durch. Diese ergaben, dass die Frau des Verstorbenen auf einem nur ihr zugänglichen Computer im Internet nach Rattengiften recherchiert hatte. Es konnte in Erfahrung gebracht werden, dass sie in einer nahen Apotheke ein registrierungspflichtiges Produkt namens TOPEX<sup>®</sup> erworben hatte, welches Chloralose enthält.

Weiterhin hatte der Verstorbene kurz vor seinem Tod eine Lebensversicherung auf ihren Namen abgeschlossen. Seit einiger Zeit hatte die Frau auch eine außereheliche Beziehung.

Abb. 4 zeigt das von der Ehefrau erworbene Rattengift, welches neben 60% Chloralose nach Auskunft des Herstellers noch 40% Saccharose enthält.

#### **4. Zusammenfassung**

Die systematische toxikologische Analyse der Proben eines unter unklaren Umständen verstorbenen Mannes führte zum Nachweis toxischer Konzentrationen von Chloralose sowie von Amitriptylin, Nortriptylin und Flunarizin im therapeutischen Konzentrationsbereich. Unter Ausschluss anderer Todesursachen durch Autopsie und histologische Untersuchungen wurde der Todeseintritt als Folge einer akuten Chloralose-Intoxikation interpretiert.

Die Ergebnisse der segmentweisen Haaranalyse sowie die Untersuchung einer Serum- und einer Liquor-Probe von einem Krankenhausaufenthalt konnten den polizeilichen Verdacht untermauern, dass es sich um eine wiederholte Chloralose-Administration mit letztlich tödlichem Ausgang handelte.

Die Ehefrau des Verstorbenen wurde im November 2006 vom zuständigen Walliser Kantonsgericht des Mordes an ihrem Ehemann für schuldig befunden und zu 18 Jahren Gefängnis verurteilt.

#### **5. Literaturverzeichnis**

- [1] Breimer DD, Ketelaars HCJ, Van Rossum JM (1974) Gaschromatographic determination of chloral hydrate, trichlorethanol and trichloroacetic acid in blood and urine employing headspace analysis. *J.Chromatogr.* 88:55-63
- [2] Cornwell PB (1969) Alphakil: a new rodenticide for mouse control. *Pharmaceutical J.* 202:74-75
- [3] Fauran F, Pellissier C, Fabre S (1972) Metabolism of chloralose alpha. II. Kinetic study of urinary elimination of free and glucuroconjugated forms in rats. *Ann.Pharm.Fr.* 30:373-378
- [4] Fauran F, Pellissier C, Fabre S (1972) Metabolism of chloralose. I. Colorimetric determination of free and glucuroconjugated chloralose in urines. *Ann.Pharm.Fr.* 30:289-298
- [5] Gras G, Pellissier C, Fauran F (1975) Toxicologie analytique du chloralose. Application dans 3 cas d'intoxication aiguë. *Eur J Toxicol* 8:371-377
- [6] Hunter K, Taylor MJ, Sharp EA, Melton LM, Le BS (2004) Determination of chloralose residues in animal tissues by liquid chromatography-electrospray ionisation tandem mass spectrometry. *J.Chromatogr.B Analyt.Technol.Biomed.Life Sci.* 805:303-309
- [7] Kintz P, Doray S, Cirimele V, Ludes B (1999) Testing for alpha-chloralose by headspace-GC/MS. A case report. *Forensic Sci.Int.* 104:59-63
- [8] Kintz P, Jamey C, Mangin P (1996) Trichloroethanol is not a metabolite of alpha chloralose. *International Journal of Legal Medicine* 108:191-193



- [9] Lees P (1972) Pharmacology and toxicology of alpha chloralose: a review. *Vet.Rec.* 91:330-333
- [10.] Manzo L, Richelmi P, Crema A (1979) Electrocerebral changes in acute alpha-chloralose poisoning: a case report. *Vet.Hum.Toxicol* 21:245-247
- [11] Maurer HH, Pflieger K, Weber AA (2001) Mass Spectral and GC Data of Drugs, Poisons, Pesticides, Pollutants and Their Metabolites, Parts 1-4. WILEY-VCH Verlag GmbH & KGaA, Weinheim
- [12] Moene Y, Girard P, Cuche M, Trillet M, Motin J, Michel D (1968) Problemes diagnostiques poses par l'intoxication au chloralose. *Bulletin de Médecine Légale et de Toxicologie Médicale* 11:362-372
- [13] Pragst F, Herzler M, Herre S, Erxleben BT, Rothe M (2001) UV-Spectra of Toxic Compounds. Database of Photodiode Array UV Spectra of Illegal and Therapeutic Drugs, Pesticides, Ecotoxic Substances and Other Poisons. Verlag Dieter Helm, Heppenheim, Deutschland
- [14] Richelme C, Duval G, Gerard J, Corbin JC, Chuet C (1985) Voluntary chloralose poisoning. *Cah.Anesthesiol.* 33:589-592
- [15] Romain N, Giroud C, Michaud K, Augsburg M, Mangin P (1999) Fatal flecainide intoxication. *Forensic Sci.Int.* 106:115-123
- [16] Savin S, Cartigny B, Azaroual N, Humbert L, Imbenotte M, Tsouria D, Vermeersch G, Lhermitte M (2003) <sup>1</sup>H NMR spectroscopy and GC-MS analysis of alpha-chloralose. Application to two poisoning cases. *J.Anal.Toxicol.* 27:156-161
- [17] Schmid, M and Iten, P. A fatal poisoning involving alpha-chloralose. Spiehler, V. Proceedings of the 1994 Joint TIAFT/SOFT International Meeting , 140-141. 1994. Tampa, USA.
- [18] Thomas HM, Simpson D, Prescott LF (1988) The Toxic Effects of Alpha-Chloralose. *Human Toxicology* 7:285-287
- [19] Tracqui A, Doray S, Ludes B (1999) Dosage des formes libres et conjuguées de l'alpha-chloralose dans les milieux biologiques par HPLC/Ionspray-MS. Application à un cas d'intoxication mortelle par alpha-chloralose. *Toxicorama* XI:125-132

Dr. Frank Sporkert  
 Centre Universitaire Romand de Médecine Légale  
 Rue du Bugnon 21  
 CH-1005 Lausanne  
 Schweiz  
 E-Mail: frank.sporkert@chuv.ch