



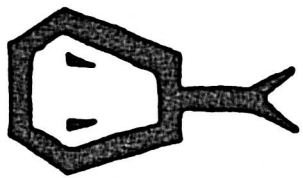
GESELLSCHAFT FÜR TOXIKOLOGISCHE UND FORENSISCHE CHEMIE

• **Toxichem**

+

• **Krimtech**





TOXICHEM + KRIMTECH

MITTEILUNGSBLATT DER
GESELLSCHAFT FÜR TOXIKOLOGISCHE UND FORENSISCHE CHEMIE

und der

ARBEITSGRUPPE FORENSISCHE UND TOXIKOLOGISCHE CHEMIE DER
FACHGRUPPE LEBENSMITTEL- UND GERICHTLICHE CHEMIE DER GDCH

In dieser Nummer:

Zusammenkunft in Frankfurt vom 6. Dezember 1984

Strukturaufklärung aus Massenspektren

Tödliche Aethernarkose (Selbstmord)

Th. Daldrup (Düsseldorf)

Ein Versuch einer Veranstaltungsstörung
mittels einer Reizstoffausbringung

E. Schlipf und E. Schneider (Stuttgart)

Ein Vergiftungsfall mit Endosulfan

U. Pommerenk und L. Zechlin (Mainz)

Identifizierung bisher nicht beschriebener
neuer Metaboliten durch GC/MS-Screening
bei Amitriptylin-Vergiftungen

C. Koepfel und J. Tenczer (Berlin)

Kombinationsvergiftung mit Chlormezanon,
Paracetamol und Acenocumarol

C. Koepfel, J. Tenczer und A. Wagemann (Berlin)

RUNDVERSUCHE

Wir haben bereits im letzten Toxichem darauf aufmerksam gemacht, dass wir die Fragen im Zusammenhang mit Rundversuchen gemeinsam diskutieren möchten.

Es geht vorerst um die Abklärung, für welche Substanzklassen ein Bedarf vorhanden ist. Ferner, welche Untersuchungsmaterialien (Pulvermischungen, Urine, Blut) verwendet werden sollen. Eine klare Festlegung der Bedingungen der Rundversuche ist nötig, damit nachher überhaupt Aussagen möglich sind.

Wir laden Sie daher alle ein, an dieser Besprechung teilzunehmen:

DONNERSTAG, DEN 6. DEZEMBER 1984

10.30 UHR

in einem Sitzungszimmer in den
Räumen der Gesellschaft Deutscher Chemiker

V A R R E N T R A P P S T R . 40 - 42

(Carl Bosch-Haus)

F R A N K F U R T a/M

STRUKTURAUFKLAERUNG AUS MASSENSPEKTREN

Die in Toxichem Nr. 32 abgebildeten Massenspektren stammen von folgenden Arzneistoffen:

Substanz Nr. 1/84: CYCLOBARBITAL

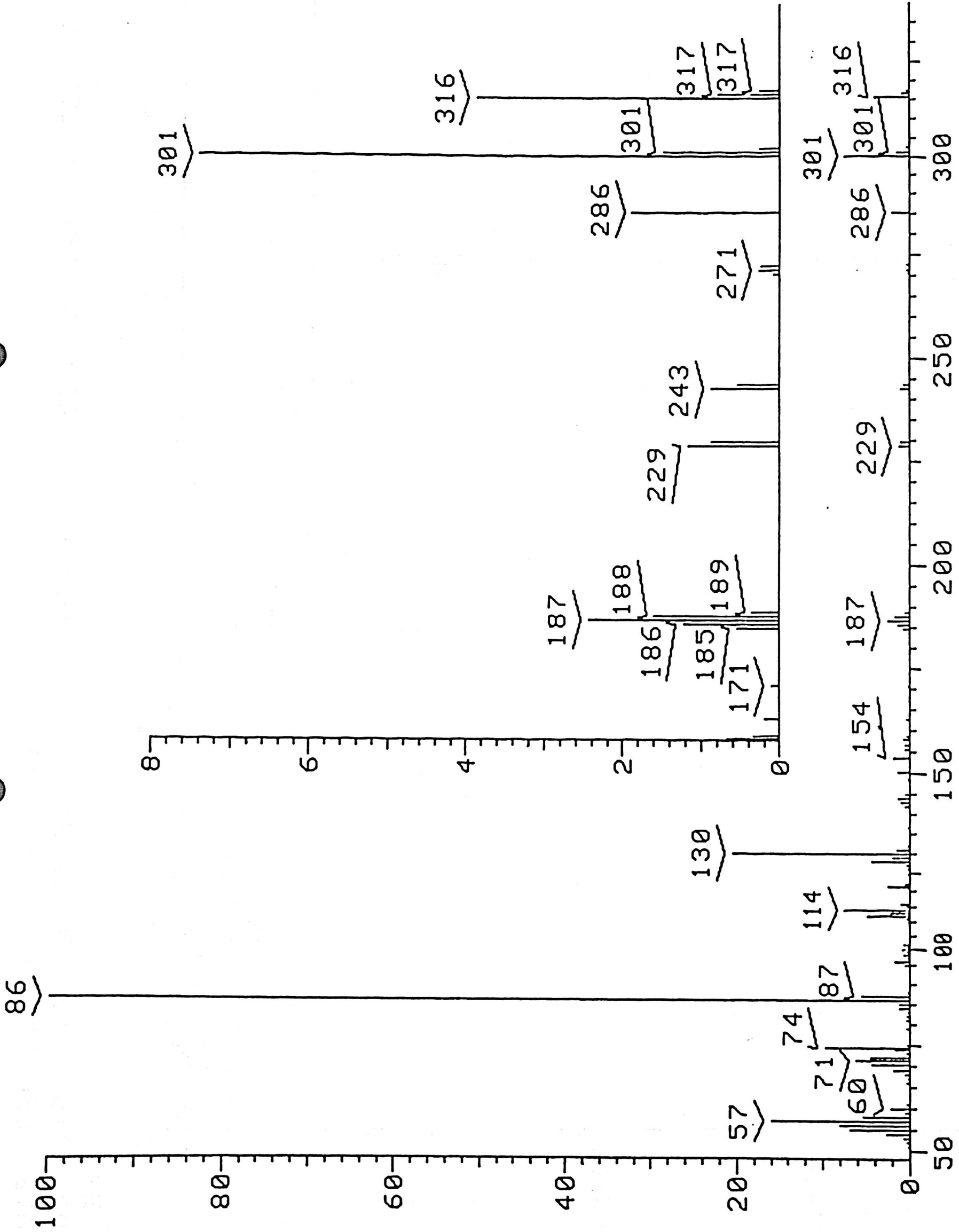
Substanz Nr. 2/84: PENTOXIFYLLIN

Nach Auskunft von Kollegen Schneider haben relativ viele die Spektren enträtseln können. Es scheinen offenbar einfache Beispiele gewesen zu sein.

Die beiden neuen Spektren 3 und 4/84 stammen ebenfalls von zwei Arzneistoffen, die uns in praktischen Fällen begegnet sind. Nr. 3/84 gehört einer Stoffklasse an, die zunehmend an Bedeutung gewinnt. Bei Nr. 4/84 handelt es sich schon eher um eine Rarität, aber nicht um einen sog. "Exoten". Wir fanden dieses Medikament in einer Dopinganalyse. Noch einen Hinweis: Beide Stoffe lassen sich in alkalischer Lösung mit organischen Lösungsmitteln extrahieren.

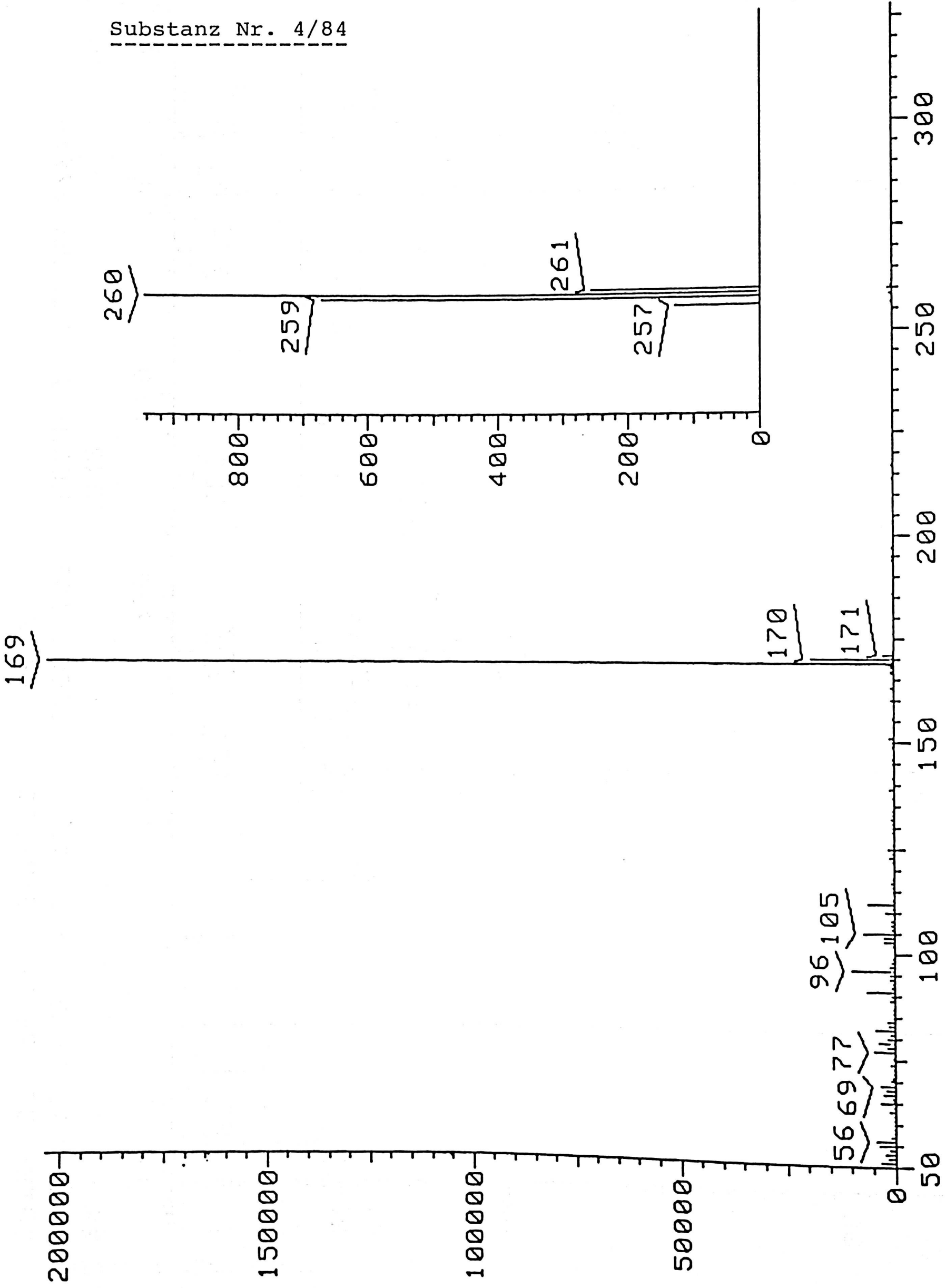
Diesmal können Sie Ihre Lösungsvorschläge an Herrn A. Jeger (Gerichtschem. Labor, Postfach 282, CH-4012 Basel) richten. Er wird Ihnen die richtige Antwort bestätigen.

Substanz Nr. 3/84



BS
 ANALYSIS NAME: TOX2.EXT;1
 DATE: SEP 28 84 15:34:53
 T0X2
 SPEC# 197
 NORM: B /SCALE: 77056
 V04:0

Substanz Nr. 4/84



BS
ANALYSIS NAME: TOXI1.EXT;1
DATE: SEP 25 84 14:32:51
SPEC# 247 NORM: A /SCALE: 203440
V04.0

A U S D E N L A B O R A T O R I E N
=====

Tödliche Aethernarkose (Selbstmord)

Thomas DALDRUP

(Institut für Rechtsmedizin, Düsseldorf)

Fallbeschreibung:

Ein 21-jähriger Mann wurde mit einer Plastiktüte über den Kopf gezogen tot aufgefunden. Unmittelbar neben der Leiche fand sich eine leere Flasche mit der Aufschrift Aether. Bei der Obduktion konnte insbesondere am Gehirn starker Aethergeruch festgestellt werden. Bei der routinemässig durchgeführten gaschromatographischen Blutalkoholgehaltsbestimmung wurde ein auffallend grosser sog. Vorpeak festgestellt, so dass auch ohne die klaren Tatortbefunde sofort der Verdacht einer Aetherintoxikation aufgekommen wäre.

Chemisch-toxikologische Untersuchung:

0,05 g Blut + 0,95 ml Wasser bzw. 0,1 g Gehirn + 0,95 ml Wasser wurden nach der Headspace-Technik gaschromatographisch untersucht. Es wurden folgende Diaethyläthergehalte aufgefunden:

Blut: 0,1 ppm, Gehirn 0,4 ppm.

Ein Versuch einer Veranstaltungsstörung
mittels einer Reizstoffausbringung

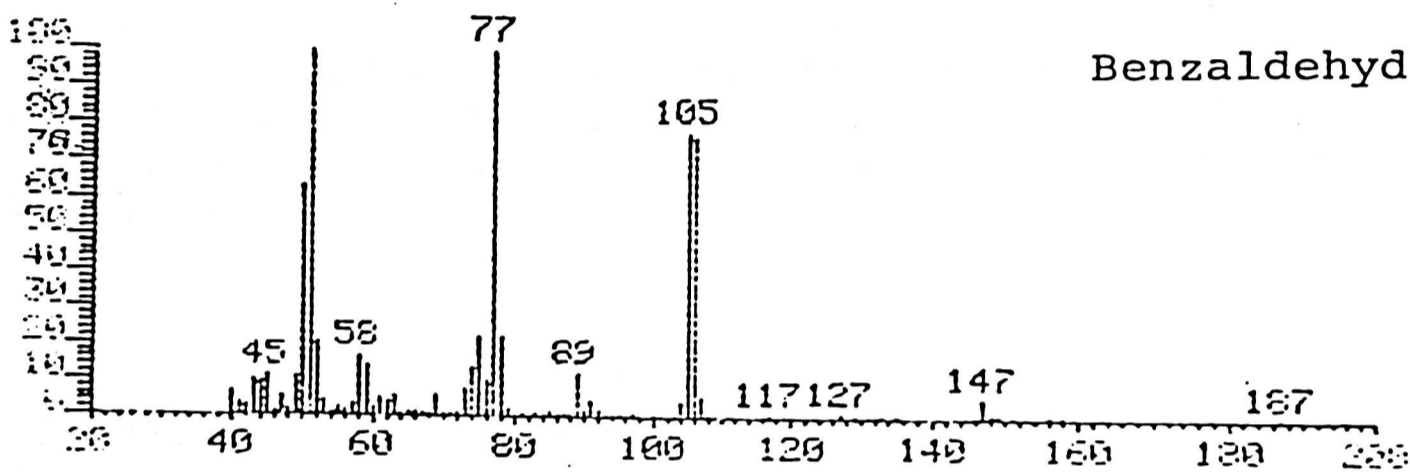
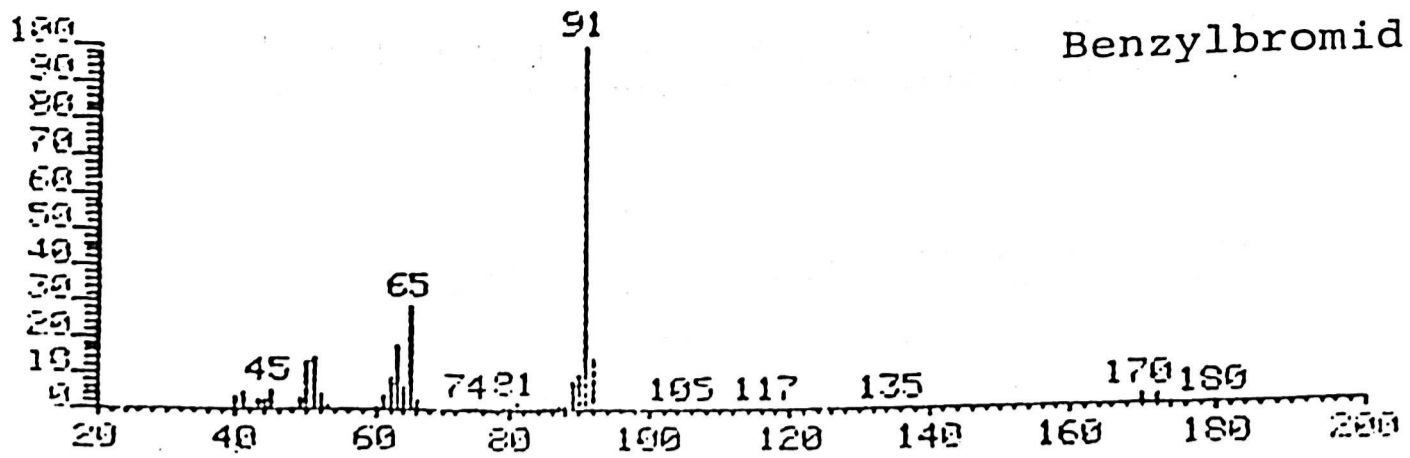
E. SCHLIPF und E. SCHNEIDER

(Kriminaltechnisches Institut des
Landeskriminalamtes Baden-Württemberg)

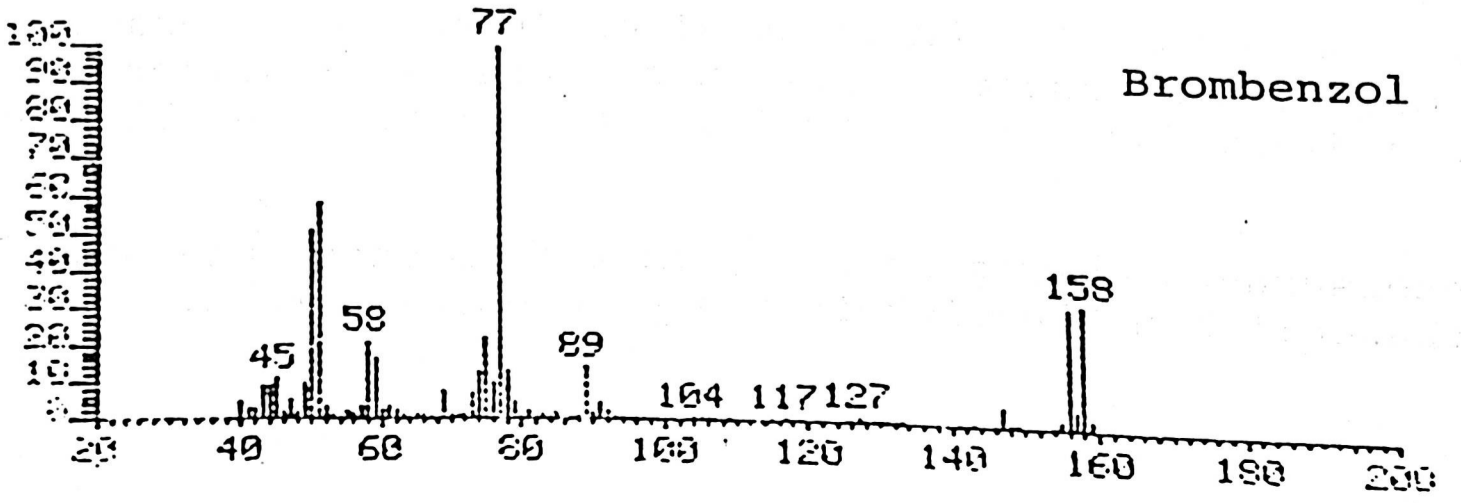
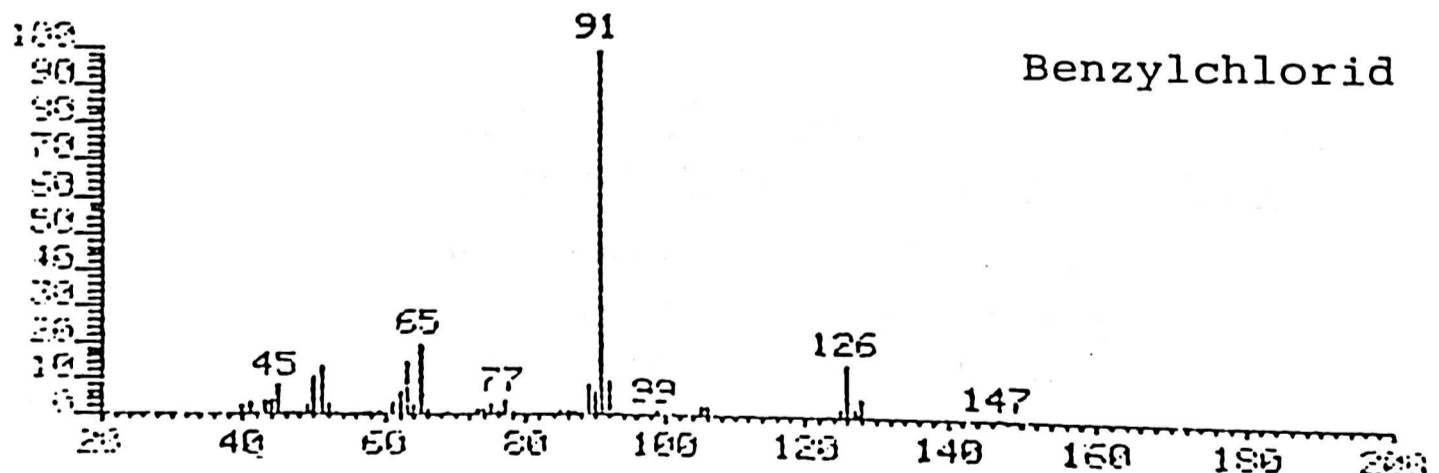
Im Mai dieses Jahres wurde versucht eine Veranstaltung der Deutsch-Südafrikanischen Gesellschaft durch Aufstellen geöffneter bzw. verschlossener, jedoch mit Knallkörpern versehener Reizstoffampullen zu beeinträchtigen.

Die geöffnete Ampulle führte zu einer Störung der Veranstaltung, die verschlossenen Ampullen hielten der Knallkörperexplosion stand, so dass ein Verspritzen der Ampulleninhalte unterblieb.

Zur Untersuchung gelangten 6 ml einer farblosen, klaren, leichtbeweglichen Flüssigkeit von stechendem Geruch.



7



Dieses Material wurde auf der Basis gaschromatographischer und massenspektrometrischer Untersuchungen als überwiegend aus Benzylbromid bestehend identifiziert.

Spurenhaltig war dieses mit Benzaldehyd, Benzylchlorid und Brombenzol vergesellschaftet (siehe abgebildete Massenspektren).

Benzylbromid, bekannt auch unter der Bezeichnung T-Stoff, ist eine stark augen- bzw. atemwegsreizende Substanz bis hin zur Bildung eines Lungenödems, dieses kann mitunter mit einer Verzögerung von bis zu zwei Tagen auftreten.

Ein Vergiftungsfall mit Endosulfan

U. POMMERENK und L. ZEHLIN

(Landeskriminalamt Rheinland-Pfalz, Mainz)

Einer 41-jährigen Portugiesin wurde von ihrem Ehemann Gift beigebracht, das er in eine Isolierkanne mit Kaffee gegeben hatte.

Folgende Asservate wurden von der Kriminalpolizei übergeben:

1. Eine Sprühflasche mit 350 ml trüber Flüssigkeit,
2. eine Isolierkanne mit 0,5 ml gelblicher Flüssigkeit.

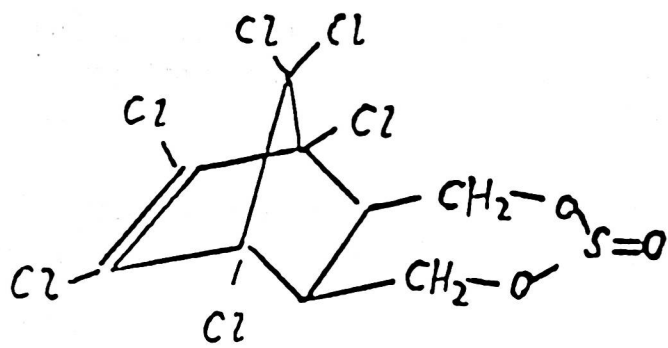
Von der Entgiftungsstation der Universitätsklinik wurden folgende Proben zur Verfügung gestellt:

3. 5 ml Blut der Geschädigten,
4. 20 ml Magensaft der Geschädigten.

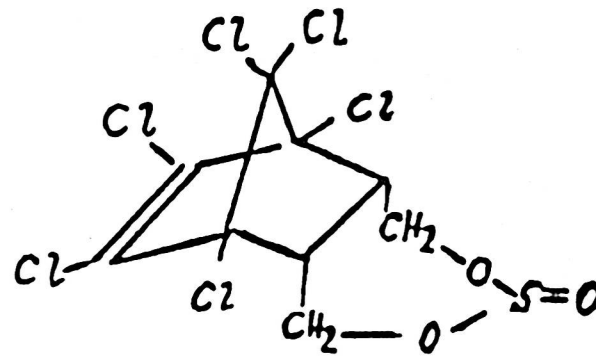
Analytik:

100 ml der Flüssigkeit Nr. 1 wurden mit Dichlormethan/Propanol-(2) 85 : 15 extrahiert. Im Extrakt liess sich gaschromatographisch-massenspektrometrisch ein Chlorkohlenwasserstoff nachweisen. Mit Hilfe einer IR-Spektrensammlung von ca. 220 Pestiziden konnte die Substanz als das Insektizid Endosulfan (Handelspräparate "Beosit" und "Thiodan") identifiziert werden.

Endosulfan tritt in zwei stereoisomeren Formen, α - und β -Endosulfan auf, die in Handelspräparaten als Gemisch vorliegen:



β - Endosulfan



α - Endosulfan

Gaschromatographisch sind α - und β -Endosulfan gut zu trennen.

Die EI-Massenspektren der beiden Isomeren liefern die gleichen Fragmente in ähnlichen Intensitäten:

m — e	Intensität	
	α -Endosulfan	β -Endosulfan
41	52	52
48	71	61
63	80	93
69	95	100
75	100	68
85	72	77
159	71	83
160	63	75
195	97	94
197	63	67
237/239/241	~ 47/47/54	~ 43/45/46
261/263/265/269	~ 16/27/25/21	~ 15/20/20/20
337/339/341/343	8/13/ 8/2	7/10/ 7/2

Die Retentionsindices wurden auf einer 2 m OV1-Säule bei 200 °C isotherm gemessen:

α -Endosulfan	2102	(Lit. 3: 2085)
β -Endosulfan	2190	(Lit. 3: 2175)

Bei der gaschromatographischen Bestimmung ergab sich für Flüssigkeit Nr. 1 ein Gehalt von 0,6 mg/ml und für Flüssigkeit Nr. 2 ein Gehalt von 0,2 mg/ml Endosulfan. Blut und Magensaft wurden bei pH 2 mit Diethylether über Extrelut-Säulen extrahiert.

Die gaschromatographische Bestimmung ergab 2 μ g/ml im Blut und 120 ng/ml im Magensaft. In Lit. 2 sind bei 3 Vergif-

tungsfällen mit suizidaler Einnahme 4 bis 8 µg/ml Endosulfan im Blut beschrieben worden.

Literatur zu Endosulfan:

1. A. Coutselinis, P. Kentarchon and D. Boukis:
Separation and identification of the insecticide "Endosulfan" from biological materials.
Science 8, 251-254 (1976)
2. Die gleichen Autoren:
Concentration levels of endosulfan in biological material (report of three cases).
Forensic Science 11, 75 (1978).
3. R. E. Ardrey and A. C. Moffat:
Gas-Liquid Chromatography Retentions-Indices of 1318 Substances of Toxicological Interest on SE-30 or OV-1 Stationary Phase.
HOCRE-Report Nr. 384, Aldermaston 1981.

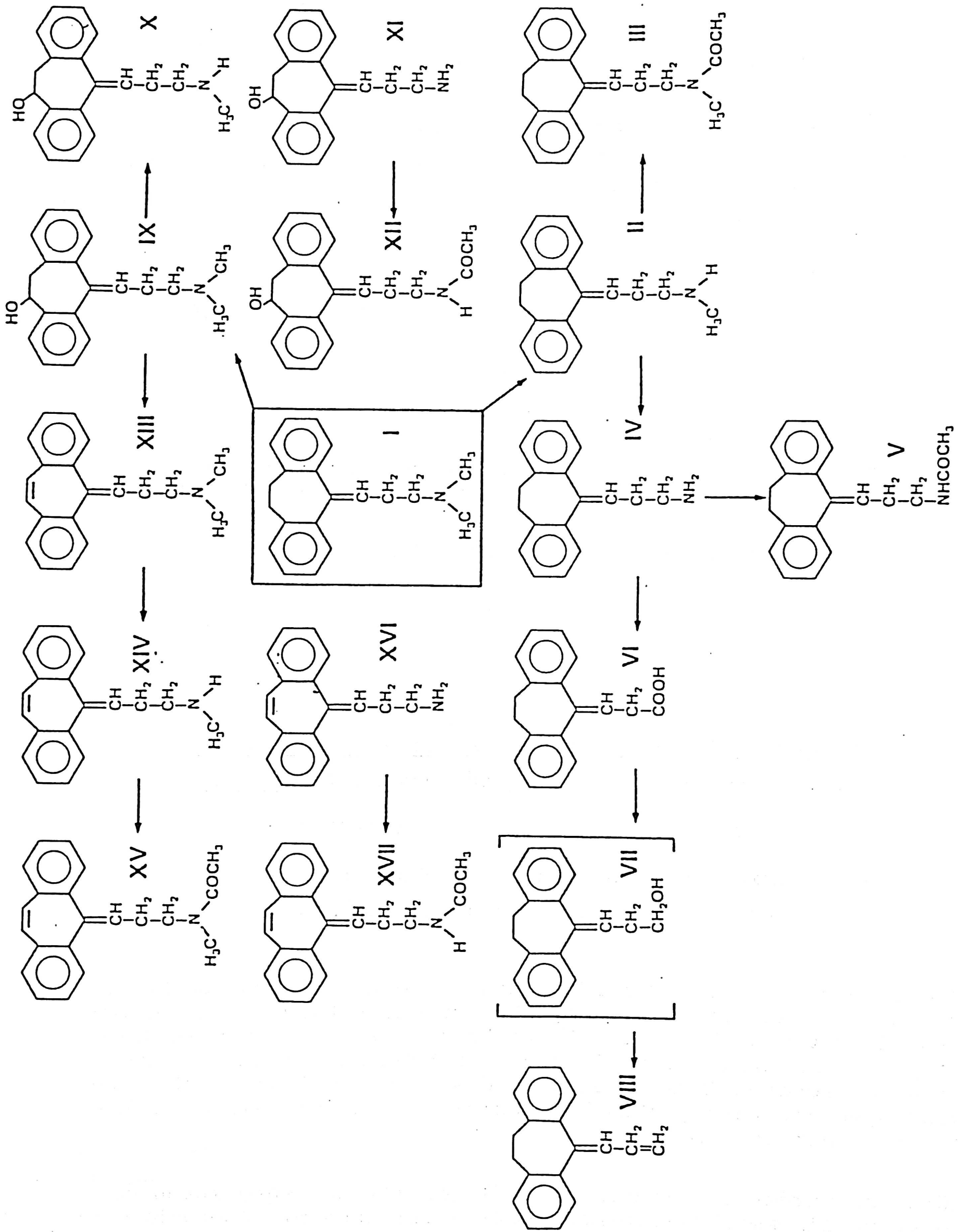
Identifizierung bisher nicht beschriebener neuer Metaboliten durch GC/MS-Screening bei Amitriptylin-Vergiftungen

Claus KOEPEL und Joachim TENCZER

(Abt. Toxikologie, Landesuntersuchungsinstitut für Lebensmittel, Arzneimittel und Tierseuchen, Berlin)

Die Untersuchung von Vergiftungsfällen mit Hilfe von GC/MS erweist sich sehr oft als Fundgrube für die Entdeckung neuer Metaboliten von altbekannten Pharmaka (1, 2). Amitriptylin (Laroxyl®, Limbatriil®) ist eines der in Deutschland am häufigsten verordneten Antidepressiva, dessen Metabolismus unter Bedingungen der therapeutischen Dosierung sehr gründlich untersucht worden ist (3).

Kürzlich wurden von Maurer und Pflieger (4) Massenspektren von Amitriptylin-Metaboliten nach Derivatisierung mit Acetanhy-



Schema 1 Metabolismus von Amitriptylin

drid, die bei der Untersuchung von Vergiftungen erhalten wurden, publiziert. Die Hauptmetabolisierungswege beim Amitriptylin sind oxidative Demethylierung, Hydroxylierung des Siebenringes mit Wasserabspaltung und N-Oxidation.

Zusätzlich wurden Metaboliten beobachtet, bei denen eine Kombination dieser Abbauege auftritt. Im folgenden beschreiben wir einige zusätzliche Metaboliten, die wir bei Amitriptylin-Vergiftungen identifizieren konnten.

Methoden

Die Aufarbeitung der Proben erfolgte durch Aetherextraktion nach vorangeschalteter enzymatischer Hydrolyse mit Glucuronidase/Sulfatase.

Das GC/MS-Screening wurde mit einem Finnigan 4021 GC/MS-Computersystem durchgeführt (Einspritzblock 300 ° C, DB 5 Kapillarsäule 25 m, 0,25 mm innerer Durchmesser, Temperaturprogramm 100 - 300 ° C, 15° C/Minute, Multiplier-Voltage 1200 V, Elektronenstossionisation und chemische Ionisation mit Methan).

Ergebnisse

Unter diesen Bedingungen konnten die in Schema 1 aufgeführten Metaboliten nachgewiesen werden.

Zusätzlich zu den in der Literatur beschriebenen Metaboliten wurden III-V, XII, XIV, XV und XVII identifiziert. VIII ist ein Artefakt, der aus dem nicht nachgewiesenen VII entsteht oder aber durch Hoffmann-Eliminierung aus Amitriptylin-N-Oxid gebildet wird.

Die Amitriptylinderivate mit einer Doppelbindung im Siebenring werden mutmasslich ebenfalls artefiziell durch eine Wasserelimination im Einspritzblock des Gaschromatographen gebildet.

Tabelle 2 gibt die Retentionszeiten und Massenspektren der bisher nicht in der Literatur beschriebenen Amitriptylinderivate an.

Unter den hier gewählten gaschromatographischen Bedingungen waren das Amitriptylin-N-Oxid sowie dihydroxylierte Amitriptylinderivate nicht nachweisbar.

Auffällig ist der Nachweis von N-acetylierten Metaboliten unter Bedingungen der Intoxikation, die bei therapeutischer Dosierung bisher nicht nachgewiesen wurden.

Tabelle 2

Massenspektren und Retentionszeiten
von Amitriptylinmetaboliten

	Ret. Zeit (sec.)	z/e (% Intensität)
III	875	M ⁺ 305 (8), <u>232</u> (100), 219 (23), 217 (22), 86 (30)
IV	640	M ⁺ 249 (9), <u>220</u> (100), 219 (67), 203 (40), 202 (41), 191 (19)
V	789	M ⁺ 291 (7), <u>232</u> (100), 217 (45), 202 (31), 191 (14), 43 (17)
XII	967	M ⁺ 307 (7), 289 (10), <u>230</u> (100), 217 (85), 215 (71), <u>202</u> (57), 72 (57)
XIV	515	M ⁺ 261 (13), <u>218</u> (100), 215 (86), 202 (63), 189 (17)
XV	702	M ⁺ 303 (11), <u>230</u> (100), 217 (53), 215 (72), 202 (32), 86 (19)
XVII	763	M ⁺ 289 (11), <u>230</u> (100), 217 (72), 215 (88), 202 (58), 189 (9)

Literaturverzeichnis

- 1) C. Köppel, J. Tenczer:
Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys. 48, 213 (1983)
- 2) C. Köppel, J. Tenczer:
Vortrag bei der Frühjahrstagung der Arbeitsgemeinschaft
Massenspektrometrie der GdCh, Berlin 1983
- 3) S. Pfeiffer:
"Biotransformation von Arzneimitteln"
Bd 1, 21 ff; Bd. 4, 347 ff, Verlag Chemie, Weinheim 1981
- 4) H. Maurer, K. Pflieger:
J. Chromatogr. 305, 309 (1984)

Kombinationsvergiftung mit Chlormezanon,
Paracetamol und Acenocumarol

Claus KOEPPPEL, Joachim TENCZER und Angelika WAGEMANN
(Abt. Toxikologie, Landesuntersuchungsinstitut für
Lebensmittel, Arzneimittel und Tierseuchen, Berlin)

Bei der Aufklärung von akuten Vergiftungen erweisen sich toxikologische Screening-Verfahren, die z.B. auf GC/MS, Dünnschichtchromatographie und Basenextraktion mit UV-Spektrometrie basieren, als ausserordentlich leistungsfähig. Leider entziehen sich einige Substanzklassen wie z.B. Coumarine diesen Routineverfahren, da sie wegen hoher Polarität schwer gaschromatographierbar sind und in vergleichsweise niedriger Konzentration vorliegen.

Zusätzliche Schwierigkeiten können sich auch ergeben, wenn von Arzneistoffen im Urin nur Metaboliten gefunden werden, deren Zuordnung zum ursprünglich eingenommenen Pharmakon schwierig ist. Zur Veranschaulichung dieser Problematik sei der folgende Fall mitgeteilt.

Kasuistik und Ergebnisse

Eine 50-jährige Patientin wurde 3 Tage, nachdem sie das letzte Mal gesehen worden war, im Koma Stadium 3 in die Klinik eingeliefert. Auffällig waren eine Exsiccose, stark erhöhte Transaminasen, stark verminderter Quick bei verlängerter PTT und PTZ. Aufgrund der ausgeprägten Gerinnungsstörungen mussten wiederholt Blutkonserven und Gerinnungsfaktoren gegeben werden.

Recherchen ergaben, dass die Patientin ihren Suizidversuch sehr sorgfältig vorbereitet und alle Spuren auf eventuell eingenommene Medikamente vernichtet hatte.

Unter dem Verdacht einer exogenen Intoxikation mit gerinnungshemmenden Substanzen wurden Magenspülung, Urin und Blut zur toxikologischen Untersuchung eingesandt. Durch ein Screening mit DC und Basenextraktion und UV-Spektrometrie nach Cronheim/Ware konnte lediglich Paracetamol im Urin nachgewiesen werden. Der Serumspiegel betrug 50 µg/ml. Nach Angaben der Literatur (1) muss bei Paracetamolserumspiegeln > 10 µg/ml (24 h nach Einnahme) mit schweren Leberschäden, die sekundär auch zu Gerinnungsstörungen führen, gerechnet werden.

Im hier beschriebenen Fall war bekannt, dass zwischen Einnahme und Krankenseinlieferung maximal 3 Tage verstrichen waren, so dass der Paracetamolserumspiegel mit der klinischen Symptomatik durchaus im Einklang stand.

Ein HPLC-Screening im Serum auf Coumarine führte zum Nachweis

von Acenocumarol (Sintrom®) in einer Konzentration von 230 ng/ml (ther. Spiegel 1 - 6 µg/ml). Das HPLC-Screening erfolgte nach Aetherextraktion von 1 ml Serum auf einer RP, C18, 10 µm Säule (25 x 0,4 cm) mit Vorsäule (5 x 0,4 cm) bei einer Wellenlänge (Wiederfindung 50 %). Die Retentionszeit betrug 300 sec. Das Eluens war ein Gemisch aus 55 % Acetonitril und 45 % einer 0,07%igen Phosphorsäure (flow 1,5 ml/min).

Darüberhinaus wurde Mäusen der Urinextrakt (nach Glucuronidspaltung) i.p. injiziert. Ca. 24 Stunden später verstarben die Versuchstiere mit ausgeprägten gastrointestinalen Blutungen.

Durch ein zusätzlich durchgeführtes GC/MS-Screening (2) aus Urin konnten neben Paracetamol 4-Chlorbenzaldehyd und 4-Chlorbenzoesäurederivate nachgewiesen werden. Die Zuordnung dieser Verbindungen zu einem Pharmakon bereitete ganz erhebliche Schwierigkeiten. Erst nach zeitaufwendiger Sichtung der Stoffliste wurde Chlormezanon, über dessen Metabolismus wenig bekannt ist, in Erwägung gezogen. Chlormezanon wird im Urin nur in Spuren ausgeschieden und ist nach unserer Erfahrung nicht unzersetzt gaschromatographierbar. Durch DC erfolgte der Nachweis von Chlormezanon im Urin der Patientin.

Ueber den Metabolismus und die Analytik von Chlormezanon berichten wir ausführlich a.a.O. (3). Es ist anzumerken, dass Chlormezanon in Kombination mit Paracetamol als Muskel-Trancopal® compositum im Handel ist.

Der weitere klinische Verlauf der Vergiftung wurde durch eine medikamentös nicht zu beherrschende Pneumonie kompliziert, an der die Patientin 3 Wochen später schliesslich verstarb. Autoptisch fand sich eine hämorrhagische Pneumonie.

Diskussion

Völlig problemlos ist in der Routine der Nachweis von Paracetamol. Sehr viel schwieriger ist allerdings die Identifizierung von Chlormezanon, das im Urin nur in Spuren unverändert erscheint. Seine Abbauprodukte sind strukturell so verschieden von dem Ausgangsprodukt, dass eine Zuordnung nicht einfach ist. Recht ungewöhnlich ist auch die suizidale Einnahme des Cumarinderivats Acenocumarol.

In dem vorliegenden Fall hätte eigentlich schon der Paracetamolserumspiegel von 50 µg/ml nach 3 Tagen ausgereicht, den Gerinnungsfaktorenmangel zu erklären. Obwohl Acenocumarol nahezu vollständig metabolisiert im Urin vorliegt, zeigen die Metaboliten ebenfalls eine gerinnungshemmende Wirkung, so dass sich der Mäusetest neben dem HPLC-Screening auf Cumarine als sehr hilfreich erwies.

Mutmasslich wurden in dem hier geschilderten Fall Muskel-Trancopal® compositum und Sintrom® eingenommen.

Literatur

1. G. Späth:
Vergiftungen und akute Arzneimittelüberdosierungen.
de Gruyter, Berlin 1982, S. 296
2. C. Köppel, J. Tenzcer:
Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys. 48, 213 (1983).
3. C. Köppel, J. Tenzcer, A. Wagemann:
Metabolism of Chlormetazone.
Arzneim.-Forsch., im Druck.

