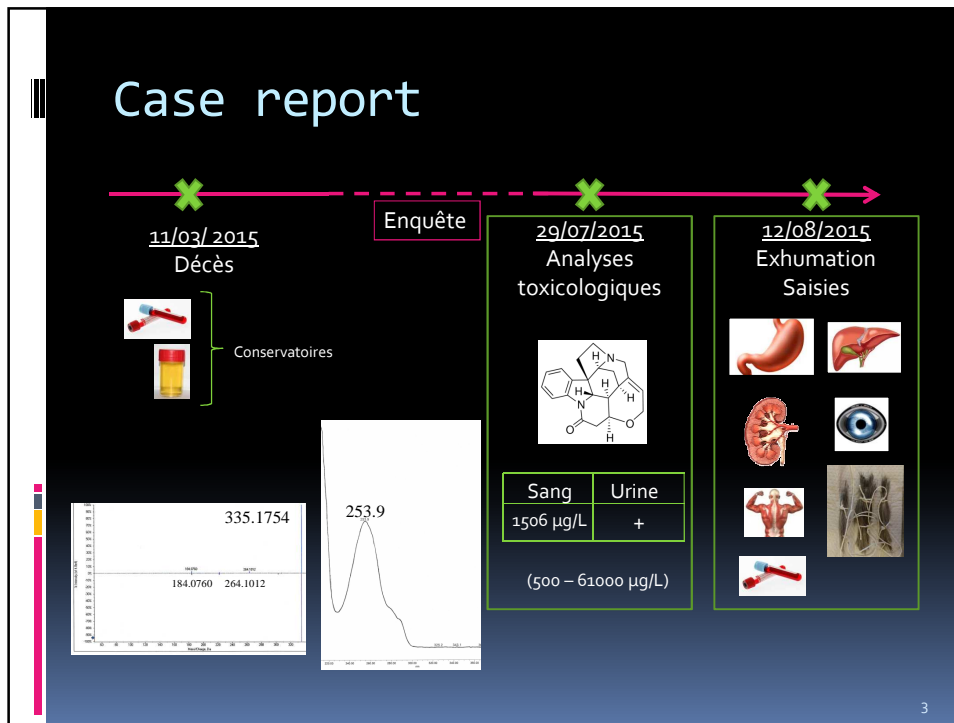


STRYCHNINE ET MORTS AUX RATS: RODENTICIDES, MAIS PAS UNIQUEMENT

M. Deville, Journal Club, 4 mars 2016

Plan

- Strychnine
- Rodenticides anticoagulants
- Thallium
- Autres:
 - Brométhaline
 - Fluoroacétate de Na / Fluoroacétamide
 - Phosphure de zinc
 - α -chloralose



Strychnine

- *Strychnos Nux Vomica* (Loganiaceae)
- Rodenticide / usage thérapeutique:
 - Stimulant de l'appétit, circulation, tonus musculaire
- Compétition avec la glycine
 - Rapidement: agitation, anxiété, rapidement surpris
 - Convulsions douloureuses (30s-2min) qui peuvent durer 12-24h en cas de survie, hypersensibles aux stimuli (bruit, toucher)
 - Rire sardonique - Opistotonos
 - Décès dans les 2-3 h (*rigor mortis*):
 - Dose létale: 200 µg/kg
 - Paralysie des muscles respiratoires





4

Résultats sanguins

Médicament	Dosage (µg/L)	Référence (µg/L)
Fentanyl	9,5	1-2 (t>2; l>20)
Citalopram	750	10-200 (t>600; l>5000)
Tramadol	821	100-750 (S, T>800; L>2000)
O-desméthyltramadol	51	-
N-desméthyltramadol	177	-
Diazépam	Traces	125-500
Nordiazépam	46	200-800
Oxazépam	Traces	100-2000

5

Analyse des prélèvements effectués après exhumation

Milieu	Strychnine (mg/L ou µg/g)	Baselt (15 décès)
Sang iliaque	31,750	20 [0,5-61]
Sang cardiaque	56,750	20 [0,5-61]
Contenu gastrique	172	113 [7.5-282]
Foie	39	116 [2-257]
Muscle	3,4	?
Rein	53	42 [3.2-106]
Humeur vitrée	En cours	?
Urine (décès)	0,215 (glu:0,439)	8,3 [1-33]

6

Métabolisme

Peu d'information chez l'homme

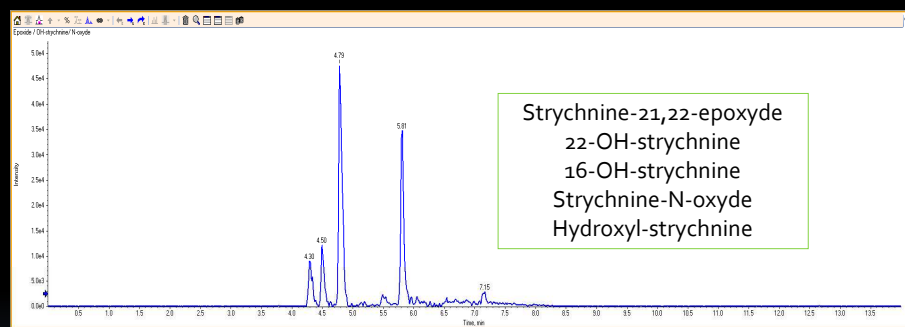
Research article
In vitro metabolism study of Strychnos alkaloids using high-performance liquid chromatography combined with hybrid ion trap/time-of-flight mass spectrometry
 Ji-Xin Tian^a, Can Peng^a, Lei Xu^a, Yuan Tian^a and Zun-Jian Zhang^{a,b*}

RSC Advances
 PAPER
 Identification of the toxic components in Semen Strychni and their metabolites in rat serum by high performance liquid chromatography coupled with a Q Exactive high-resolution benchtop quadrupole Orbitrap mass spectrometer?
 Shujuan Li^a, Meiyu Zhang^a, Pengfei Hou^a, Ruowen Zhang^a, Chenchi Hou^a, Raohun Bi^a and Naohui Chen^{a*}

No.	[M + H] ⁺ (m/z)	Molecular formula	Error (ppm)	RT (min)	Fragment ions (m/z) MS/MS	Identification
M1	333.15933	C ₂₁ H ₃₃ O ₂ N ₂	1.27	9.58	315.15097, 278.11768, 264.10150, 234.09155, 223.09140, 184.07574	11,12-Dehydrostrychnine
M2	333.16120	C ₂₁ H ₃₃ O ₂ N ₂	-4.34	10.80	287.14996, 255.06516, 241.14481, 228.13640, 212.10664, 184.11157	Dehydrostrychnine
M3	351.16989	C ₂₁ H ₃₃ O ₂ N ₂	1.22	8.50	333.15979, 322.14169, 305.13683, 263.12219, 238.08446, 222.09076, 200.07109	Strychnine-21,22-epoxide
M4	351.16989	C ₂₁ H ₃₃ O ₂ N ₂	1.22	8.96	272.10657, 262.12219, 234.09991, 220.07571, 184.07570	22-OH-strychnine
M5	351.16977	C ₂₁ H ₃₃ O ₂ N ₂	1.56	9.63	333.15983, 278.11685, 264.10184, 234.09070, 222.09126, 184.07553	16-OH-strychnine
M6	351.16977	C ₂₁ H ₃₃ O ₂ N ₂	1.56	9.62	334.16711, 319.14398, 306.13611, 277.10916, 261.11306, 220.07553	Strychnine-N-oxide
M7	351.16883	C ₂₁ H ₃₃ O ₂ N ₂	4.24	3.34	333.14426, 315.13196, 269.09128, 233.09664, 213.08664, 201.10234	Hydroxylstrychnine
M8	353.18552	C ₂₁ H ₃₃ O ₂ N ₂	1.27	8.90	298.11699, 272.10739, 248.1076, 234.09240, 184.07570	21-Hydroxy-22-hydroxystrychnine or 22-hydroxy-21-hydroxystrychnine
M9	367.16473	C ₂₁ H ₃₃ O ₂ N ₂	1.37	9.48	349.15421, 335.13553, 321.15903, 294.11151, 197.08273, 220.07530, 184.07573	21,22-Epoxyde-N-oxide
M10	367.16492	C ₂₁ H ₃₃ O ₂ N ₂	0.85	7.88	350.14163, 349.13831, 322.11148, 303.13336	Hydroxylstrychnine-N-oxide
M11	367.16425	C ₂₁ H ₃₃ O ₂ N ₂	2.68	8.89	350.14162, 349.14139, 322.11029, 303.13464	Hydroxylstrychnine-N-oxide
M12	367.16479	C ₂₁ H ₃₃ O ₂ N ₂	1.21	9.01	349.15543, 322.10687, 304.09506, 286.08521, 258.09116, 220.07545	Dihydroxystrychnine
M13	367.16483	C ₂₁ H ₃₃ O ₂ N ₂	1.10	9.27	349.15396, 322.11276, 291.50165, 279.14807, 220.07553	Dihydroxystrychnine
M14	369.18036	C ₂₁ H ₃₃ O ₂ N ₂	1.42	8.55	351.16983, 333.15921, 257.12451, 212.10698, 184.11209	21,22-Dihydroxy-22-hydroxystrychnine
M15	381.18066	C ₂₁ H ₃₃ O ₂ N ₂	0.59	9.06	353.14902, 336.11874, 310.10745, 268.09647, 230.08089	2-OH-β-methoxystrychnine or 3-OH-2-methoxystrychnine
M20	511.20670	C ₂₁ H ₃₃ O ₂ N ₂	1.55	8.82	493.24326, 335.17456	Glucuronide conjugate of strychnine
M21	527.20166	C ₂₁ H ₃₃ O ₂ N ₂	1.42	8.05	351.17891	Glucuronide conjugate of hydroxyl-strychnine

Hydroxylation
 Oxydation
 Epoxydation
 Méthylation

Métabolisme



Strychnine-21,22-epoxyde
 22-OH-strychnine
 16-OH-strychnine
 Strychnine-N-oxide
 Hydroxyl-strychnine

MasterView 160226_strychnine metab.XIClist

#	Name	Formula	Isotope	Error (ppm)	Mass (Da)	Abund.	Calcd.	Exptl.	Width (Da)	Width (ppm)	Expected RT (min)	RT (min)	Fragment Mass (Da)	Found at Mass (Da)	Isotope Ratio Difference (%)	Found at RT (min)	RT Delta (min)	RT % Error	Intensity	Known Concentr.	Calculated Concentr.	Area	S/N	Three peaks score
11	11,12-Dehydrostrychnine	C ₂₁ H ₃₃ O ₂ N ₂	0	-8.3	333.16120	+	134.16798	0.02	59.85	0	2		334.16848	16248.8	5.15	5.15	0	7036			572	1069	1	
12	Dehydrostrychnine	C ₂₁ H ₃₃ O ₂ N ₂	0	-94	351.17087	+	262.17814	0.02	96.789	0	2		362.17221	9.9	4.79	4.79	0	47074			3229	5667	1	
13	Hydroxylstrychnine	C ₂₁ H ₃₃ O ₂ N ₂	0	-16.3	351.16883	+	384.16739	0.02	54.469	0	2		356.16977	146.1	4.83	4.83	0	11821			729	1647	1	
14	21,22-Epoxyde-N-oxide	C ₂₁ H ₃₃ O ₂ N ₂	0	-14.3	367.16479	+	380.17336	0.02	54.022	0	2		368.16779	3.7	5.5	5.5	0	7507			545	937	1	
15	22-OH-strychnine	C ₂₁ H ₃₃ O ₂ N ₂	0	31.6	351.16989	+	370.16871	0.02	54.005	0	2		370.2064	InfInfy	6.69	6.69	0	5111			454	722	1	
16	16-OH-strychnine	C ₂₁ H ₃₃ O ₂ N ₂	0	-12.3	351.16977	+	382.16871	0.02	52.33	0	2		382.16399	5	4.41	4.41	0	2046			178	421	1	
17	Strychnine-N-oxide	C ₂₁ H ₃₃ O ₂ N ₂	0	571.0024	+	511.20670	0.02	39.846	0	2														1
18	Hydroxyl-strychnine	C ₂₁ H ₃₃ O ₂ N ₂	0	577.0026	+	530.21022	0.02	37.884	0	2														1

Analyse des cheveux



Tronçons	1	2	3	4	5	6	7
Strychnine (ng/mg)	12.2	13.5	14.4	13.4	17.1	13.3	21.4

Strychnine 60 mg/L dans du sang free drug

5 minutes

Retrait de 4 mèches du bain, rinçage avec 30 ml d'eau et séchage. Lavages selon protocole A, B, C et D Extraction (2 pesées par mèche)

A= ACN
B = ACN puis DCM
C = MeOH
D = SDS puis DCM

6 heures

	A (ng/mg)	B (ng/mg)	C (ng/mg)	D (ng/mg)
5 minutes	58	65	69	11
6 heures	276	279	247	167

7 jours

Retrait de 4 mèches du bain, rinçage à grande eau (1L) jusqu'à l'obtention d'une mèche propre, lavage selon les 4 protocoles

7 jours	437	380	351	323
---------	-----	-----	-----	-----

9

PAC saisies au domicile



4,7%



Difénacoum



3 µg/L



28 µg/L

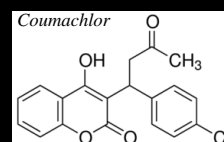
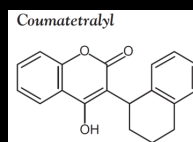
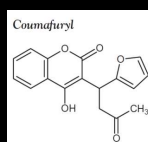
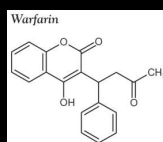
10

Rodenticides anticoagulants

11

Rodenticides anticoagulants

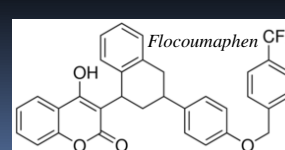
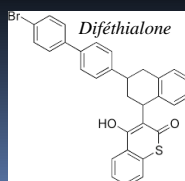
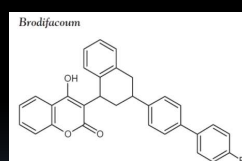
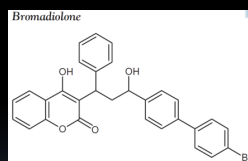
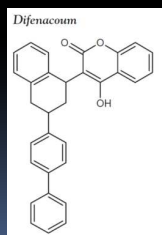
Hydroxycoumarines de 1^{ère} génération



Résistance

Hydroxycoumarines de 2^{ème} génération: plus puissantes et plus longue durée d'action

Superwarfarines

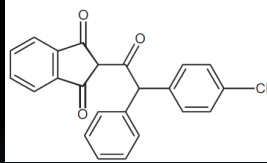


12

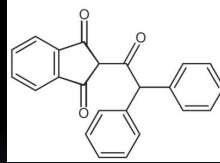
Rodenticides anticoagulants

Indanediones : mécanisme et toxicité identique aux 2^{ème} génération

Chlorophacinone



Diphacinone



13

Présentation



Céréales enrobées



Pellets

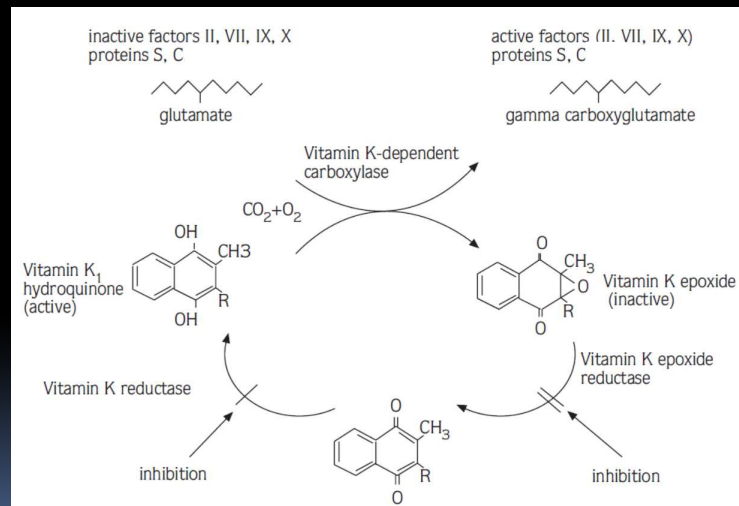


Blocs



14

Mécanisme: anti-vitamine K



15

Cinétique

- Lipophiles → facilement absorbés, rapide et complète
- Métabolisme
 - Difenacoum largement métabolisé
 - Brodifacoum, coumatetralyl inchangés
- Elimination biphasique (fèces)
 - Décroissance rapide de quelques heures
 - Phase terminale lente de plusieurs semaines
 - $T_{1/2}$ warfarine = 42h; brodifacoum = 56-120 j; difénacoum = 12-42j-120j; bromadiolone = 170j; diphacinone = 15-20j; chlorophacinone = 7-23j

16

Symptômes: saignements

- Epistaxis, muqueuses buccales;
- Ecchymoses, hématomes;
- Méno-métrorragies;
- Hémorragie gastro-intestinale, rétro-péritonéale → sang dans les selles;
- Hématurie;
- Hémorragie pulmonaire → hypoxie secondaire et insuffisance respiratoire;
- Hémothorax;
- Hémorragie intracrânienne, avec céphalées, confusion, ataxie, coma et convulsions;
- ⇨ Choc, décès.

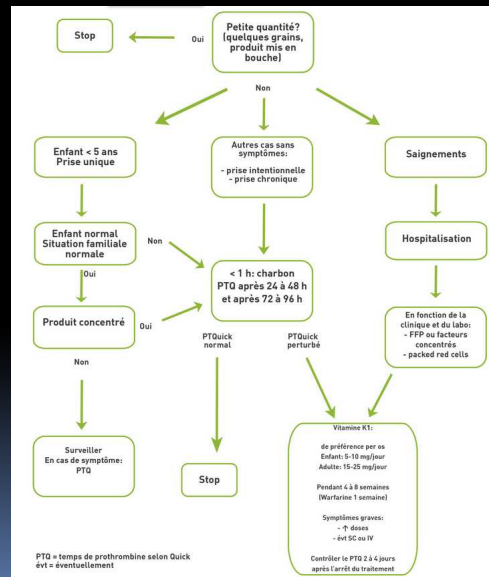
17

Statistiques

- CAP US en 25 ans
 - 315 951 expositions (300 appels/an en Be)
 - 96% accidentelles
 - 89% enfants (grains colorés)
 - Ingestion unique → asymptomatique
 - 5 cas graves publiés: Munchausen par procuration, pica, négligence (notion d'AVK inconnue à l'admission)
 - La plupart par ingestion
 - Brodifacoum (48%) > chlorophacinone
 - 30 décès (23 suicides/2meurtres)

18

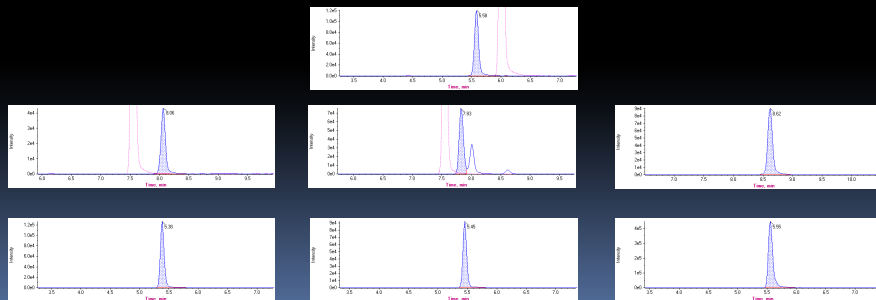
Traitement: Konakion®



19

Au laboratoire

- Acénocoumarol, warfarine, phenprocoumone:
 - HCl – Diéthyléther – LC-MS (ES-)
- + difénacoum, brodifacoum, coumatetralyl, bromadiolone:
 - HCl – ACN/Diéthyléther – TOF (ES-)



20

Le thallium

21

Thallium

- Usages:
 - Biocides: rodenticide, insecticide
 - Médicaux: syphilis, tuberculose, teigne, malaria, avortement illégal
 - Bijouterie, pigments, lentilles optiques, oxydation des oléfines, systèmes électroniques,...
- Accumulation (rein, os, SNC), $T_{1/2}=2-30j$ → urine < fèces, cheveux
- Mécanisme:
 - Compétition avec K^+ : Na/K-ATPase, pyruvate kinase, ADH
 - Liaison aux groupements SH

22

Thallium

- Plus toxique que Hg, Cd, Pb, Cu, Zn
 - Gastroentérite, polyneuropathie, alopecie, hypotension et bradycardie → hypertension et tachycardie; convulsions, délire, coma
- Chronique :
 - Anorexie, céphalées, douleurs abdominales/cuisse/haut des bras, cécité, alopecie, stries blanches sur les ongles
- Traitement:
 - Charbon activé
 - Diurétiques, dialyse
 - Bleu de Prusse (sels de K)

23

Autres rodenticides



*The WHO Recommended
Classification of
Pesticides by Hazard
and
Guidelines to Classification
2009*

24

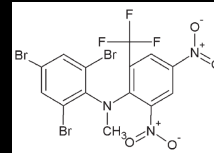


*The WHO Recommended
Classification of
Pesticides by Hazard
and
Guidelines to Classification
2009*

- Extrêmement dangereux
 - Brodifacoum, bromadiolone, brométhaline, chlorophacinone, difénacoum, diféthialone, diphacinone, flocoumafène, fluoroacétate de Na
- Hautement dangereux:
 - Coumatetralyl, fluoroacétamide, sulfate de thallium, cyanure de sodium, arsénite de sodium, strychnine, warfarine, phosphure de Zn
- Modérément dangereux:
 - Chloralose
- Légèrement dangereux/sans danger:
 - Pas de rodenticides

25

Brométhaline

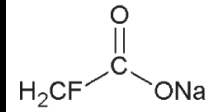


- Développée suite à la R aux anticoagulants (1985)
- Découplage des phosphorylations oxydatives
 - → ↓ production d'ATP
 - → Inhibition Na/K-ATPase
 - → œdème cérébral
 - → ↑ pression intracrânienne, inhibition transmission neuronale
 - → Paralysie, convulsions, décès dans les 1-3 jours
- Traitement symptomatique
- Echantillons congelés/obscurité

26

Fluoroacétate de sodium (composé 1080)

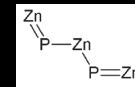
Fluoroacétamide (composé 1081)



- Poudre blanche, inodore, insipide, soluble dans l'eau
- Métabolisé en fluorocitrate
 - Inhibe le cycle de Krebs → ↓ production énergie
 - ↑ citrate → Chélation du calcium (cœur, neurones)
- Symptômes (délai de 30 min)
 - Vomissements
 - Fasciculations, agitation, convulsions, troubles de la conscience, coma
 - Hypotension, troubles du rythme
- Traitement symptomatique

27

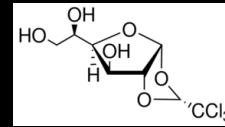
Phosphure de Zn



- Très forte odeur d'ail/poisson pourri
- Libération de PH₃ dans le tractus digestif
 - Inhibition des phosphorylations oxydatives
 - Réagit avec les métaux (hème, cofacteurs enzymatiques)
- Symptômes
 - Hémorragies digestives
 - Collapsus cardiovasculaire – arythmies, choc
 - Troubles neurologiques – délire, convulsions, coma
 - Dyspnée, toux, œdème pulmonaire - défaillance respiratoire et rénale en quelques heures
- Traitement symptomatique

28

α -Chloralose



- Usage médical: hypnotique et anesthésique → 1989
- Rodenticides: poudre ou appâts (10-100%)
- Mécanisme: dépresseur du SNC + excitateur des réflexes médullaires
- Symptômes:
 - Ebriété, trouble de la conscience, coma
 - Accès myocloniques spontanés ou déclenchés par la moindre stimulation (face-membres → généralisés)
 - Hypersécrétions bronchiques et salivaires
- Traitement symptomatique