

Profilage des impuretés de l'amphétamine

Virginie Ladroue, Laurence Dujourdy et Fabrice Besacier

Résumé L'amphétamine est une drogue de synthèse produite et consommée en Europe. Pour contribuer à la lutte contre son trafic et sa production, certains laboratoires de police scientifique appliquent une méthodologie appelée profilage qui permet d'établir des liens entre différentes saisies. Une telle information peut se révéler éclairante pour les services opérationnels et sous-tendre le démantèlement de réseaux de trafic de stupéfiants. Des laboratoires européens ont établi un partenariat pour mettre au point une méthode d'analyse harmonisée permettant d'alimenter une base de données à l'échelle européenne et ainsi de lutter contre le trafic au niveau supranational. En France, seul l'Institut National de Police Scientifique (INPS) est membre de ce réseau. La méthode consiste en l'extraction liquide-liquide d'impuretés de fabrication, suivie d'une analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse. Les profils d'impuretés (abondance de chaque composé cible), qui constituent de véritables signatures chimiques de chaque lot de production, sont ensuite inscrits dans une base de données commune et comparés entre eux pour établir des rapprochements. Cet article présente le principe du profilage et revient sur les différentes étapes qui furent nécessaires au développement de la méthode européenne harmonisée de profilage de l'amphétamine.

Mots-clés Profilage, amphétamine, stimulants de type amphétamine, impuretés, lot, base de données.

Abstract

Impurity profiling of amphetamine

Amphetamine is an illicit synthetic drug produced and consumed in Europe. To contribute to fight against illicit trafficking and production of amphetamine, some forensic laboratories use a methodology called profiling which allows links between seizures. Such information can be helpful for operational services and support the dismantling of illicit drugs trafficking networks. A consortium of European forensic laboratories has been set to develop an harmonised analytical method in order to feed a database at European scale and therefore fight trafficking at a supranational level. In France, only the Institut National de Police Scientifique (INPS) makes part of this network. The method consists in liquid-liquid extraction of amphetamine impurities followed by gas chromatographic/mass spectrometric analysis. The impurity profiles (abundance of each target compound), that constitute a chemical signature of each production batch, are then registered in a common database and compared in order to link different seizures. This article aims at explaining the concept of profiling and illustrating the various steps required for the development of the European harmonised method for the profiling of amphetamine.

Keywords Profiling, amphetamine, amphetamine type stimulants, impurity, batch, database.

Parmi la grande diversité des substances classées comme stupéfiants synthétiques, c'est-à-dire intégralement synthétisées en laboratoire, les stimulants* dérivés de la phényléthylamine constituent un groupe très important en termes de production, trafic et consommation. Autrement appelé ATS en anglais, pour « amphetamine-type stimulants », ce groupe comprend notamment l'amphétamine proprement

dite, la méthamphétamine et la MDMA (3,4-méthylènedioxy-méthamphétamine) (*figure 1*). La dénomination ecstasy* renvoie quant à elle à une multitude de composés apparentés à la MDMA, si ce n'est la MDMA elle-même.

L'amphétamine* est un stimulant du système nerveux central qui existe sous la forme de deux énantiomères D(+) et L(-), le premier étant le psychoactif le plus puissant. Elle a

Glossaire

Les termes suivis d'un astérisque* dans le texte sont définis ci-dessous.

Amphétamines : groupe de drogues de synthèse comprenant l'amphétamine proprement dite, la méthamphétamine et les composés assimilés. Cet ensemble est distinct de la MDMA et des ecstasy.

Ecstasy : groupe de drogues de synthèse comprenant la MDMA et dérivés. Le terme peut aussi désigner la MDMA elle-même. L'amphétamine et la méthamphétamine en sont exclues.

MDMA : 3,4-méthylènedioxy-méthamphétamine.

Précurseur chimique de drogue : réactif qui entre dans le processus de fabrication (synthèse, extraction, purification) des drogues. Le commerce des précurseurs chimiques fait l'objet d'une réglementation internationale.

Prévalence annuelle : mesure du nombre/pourcentage d'individus qui ont consommé une drogue illicite une fois au moins au cours des douze mois précédant l'évaluation.

Stimulants de type amphétamine (STA) : ensemble des drogues de synthèse dérivées de la phényléthylamine. On distingue deux sous-ensembles : les amphétamines (amphétamine proprement dite, méthamphétamine et dérivés) et les ecstasy (MDMA et dérivés).

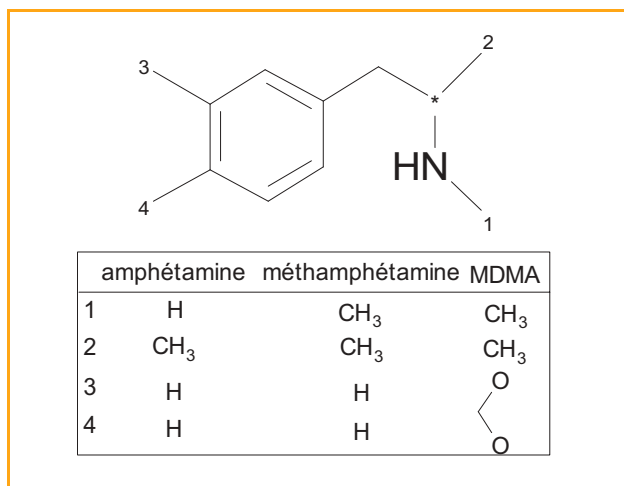


Figure 1 - Les principales phényléthylamines.

été synthétisée pour la première fois en 1887. Néanmoins, la synthèse qui fera vraiment date et sera suivie d'exploitation commerciale est celle de Gordon Alles en 1927 à l'Université de Californie à Los Angeles.

Initialement, l'amphétamine était indiquée dans le traitement de l'asthme (action bronchodilatatrice). Son essor date de la Seconde Guerre mondiale, au cours de laquelle elle fut distribuée aux soldats pour accroître leur endurance. Au sortir de la guerre, son usage dans la société civile se répand pour ses propriétés excitatrices (étudiants en révision, chauffeurs routiers, chevaux de course) et anorexigènes, d'abord au Japon, puis à partir des années 50 aux États-Unis, en Scandinavie et en Grande-Bretagne.

À la suite d'affaires spectaculaires, comme le décès sous amphétamines du coureur cycliste britannique Simpson dans la montée du Mont Ventoux lors du tour de France 1967, des mesures législatives ou réglementaires furent adoptées. Au niveau international, la convention des Nations unies de 1971 sur les substances psychotropes inscrit la molécule au tableau II des substances soumises à contrôle [1]. En France, après un premier classement différent pour les formes orales et injectables, un arrêté du 6 avril 1971 inscrit tous les médicaments à base d'amphétamine au tableau B de la pharmacopée (produits stupéfiants). La synthèse relativement aisée des amphétamines donnera cependant assez rapidement lieu à un commerce clandestin pour pallier l'interruption de l'approvisionnement légal [2-3].

Le marché de l'amphétamine

Production

Dans son rapport mondial sur les drogues 2008, l'Office des Nations unies contre les drogues et le crime (UNODC en anglais) estime que la production mondiale de STA (stimulants de type amphétamine*) a atteint 496 tonnes en 2007 [4]. Cette valeur, qui reste dans la fourchette des 450-500 tonnes connue depuis 2000, confirme la stabilisation globale observée sur le moyen terme (figure 2). Le léger déclin de production d'ecstasy (de 113 t en 2005 à 103 t en 2006) et de méthamphétamine (de 278 à 267 t) a été compensé par une augmentation de production d'amphétamine (de 88 à 126 t).

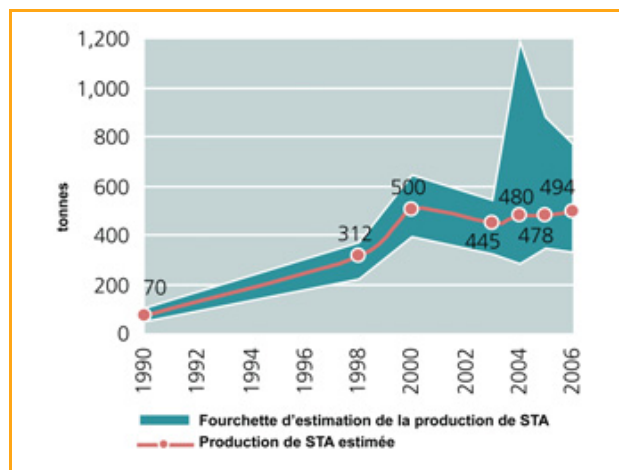


Figure 2 - Estimation de la production mondiale de stimulants de type amphétamine entre 1990 et 2006. Source : UNODC.

Après dix ans de croissance régulière, le nombre de laboratoires illicites d'amphétamine démantelés s'est stabilisé⁽¹⁾. Il a crû de 82 en 1996 à 649 en 2004 avant de s'établir à 513 en 2006⁽²⁾.

La synthèse de STA est régio-spécifique, fluctuant selon à la fois la demande et la disponibilité en précurseurs* (matières premières employées lors de la synthèse). Contrairement à ses coreligionnaires dont la production se situe principalement en Océanie et Amérique du Nord, l'amphétamine continue à être majoritairement produite en Europe⁽³⁾. Ainsi, parmi les 26 pays ayant rapporté des démantèlements de laboratoires d'amphétamine entre 2000 et 2006, 19 (73 %) se situaient en Europe. De fait, la quantité d'amphétamine saisie en Europe a plus que doublé entre ces mêmes années.

Trafic

Pour enrayer la production de drogues de synthèse, plusieurs axes de lutte sont employés : en amont, la réduction du trafic des précurseurs chimiques, et en aval, l'analyse des drogues saisies pour en retirer des informations sur l'organisation des réseaux criminels. Bien que le trafic de produits finaux de STA soit principalement intra-régional [4], certains éléments donnent à penser que le trafic inter-régional se développe. En 2006, les saisies mondiales de STA ont à nouveau augmenté pour atteindre 47,6 tonnes, soit un peu moins que le record atteint en 2000.

Le trafic de précurseurs reste quant à lui essentiellement inter-régional, la plupart d'entre eux étant acheminés depuis l'Asie du Sud, de l'Est et du Sud-Est. Face à cette réalité, les États se sont dotés d'une législation internationale et d'outils transnationaux (système en ligne PEN et projet PRISM de l'Organe international de contrôle des stupéfiants par exemple) visant à juguler le trafic de précurseurs chimiques. La convention des Nations unies contre le trafic illicite de stupéfiants et de substances psychotropes de 1988 fixe une liste de produits dont le commerce est surveillé [5]. Cette législation est reprise aux niveaux communautaire⁽⁴⁾ et national⁽⁵⁾. En France, c'est la MNCPC (Mission nationale de contrôle des précurseurs chimiques de drogues) qui est chargée de veiller au respect de cette réglementation. La législation française distingue ainsi trois catégories de précurseurs contrôlés répondant à différents régimes juridiques

Tableau I - Les précurseurs contrôlés au terme du décret 96-1060 du 5 décembre 1996 modifié en dernier par le décret 2004-150 du 13 février 2004.

Catégorie 1	Catégorie 2	Catégorie 3
Acide lysergique	Acide anthranilique	Acétone
Acide N-acétylanthranilique	Acide phénylacétique	Acide chlorhydrique
Éphédrine	Anhydride acétique	Acide sulfurique
Ergométrine	Permanganate de potassium	Éther éthylique
Ergotamine	Pipéridine	Méthyléthylcétone
Huile de sassafras		Toluène
Isosafrole		
3,4-méthylènedioxyphénylpropan-2-one (ou PMK en anglais)		
Noréphédrine		
Phényl-1-propanone-2 (ou BMK en anglais)		
Pipéronal		
Pseudoéphédrine		
Safrole		

(tableau I). Le contrôle des précurseurs, bien qu'efficace, a cependant ses limitations car les trafiquants réagissent aux dispositions normatives en modifiant les voies de synthèse et les voies d'acheminement. Des éléments portent à croire que des synthèses impliquant des précurseurs hors des contrôles internationaux, tels que des préparations pharmaceutiques, des extraits naturels d'éphédra et des produits chimiques actuellement non réglementés, se développent [4].

L'analyse des drogues saisies peut permettre de mettre en évidence ces changements. Les approches en amont et en aval sont donc toutes deux nécessaires et complémentaires.

Consommation

On estime que 24,7 millions de personnes à travers le monde, soit 0,6 % de la population âgée de 15 à 64 ans, ont consommé des amphétamines en 2006 (tableau II), ce qui fait des amphétamines (amphétamine, méthamphétamine et assimilés, hors ecstasy) le deuxième groupe de substances le plus consommé, loin derrière le cannabis. Le niveau de consommation des STA se révèle par ailleurs supérieur à celui de la cocaïne et de l'héroïne réunies.

L'Europe représente 10 % des utilisateurs d'amphétamines. Bien que l'amphétamine reste la plus populaire des drogues de ce groupe, la méthamphétamine fait son apparition de façon croissante en République Tchèque et en Slovaquie.

Voies de synthèse, impuretés et profilage

Le concept de profilage

Au sens de l'ENFSI (European Network of Forensic Science Institutes), l'activité de profilage consiste en

l'utilisation de méthodes analytiques pour déterminer les propriétés chimiques et/ou physiques d'une substance illicite dans le but de comparer les saisies entre elles. Cette comparaison peut servir des objectifs de renseignement (stratégique, tactique) ou avoir valeur de preuve. À l'instar du profil génétique, le profil chimique d'un échantillon est hautement spécifique et peut indiquer sa filiation. En effet, la composition en impuretés ne peut être reproduite d'un lot de fabrication à un autre. Il existe donc une signature chimique spécifique à chaque lot. Ainsi, lorsque deux échantillons possèdent des profils similaires, on peut en déduire une origine commune, c'est-à-dire que les deux saisies proviennent d'un même lot de fabrication, initialement plus grand, qui a été divisé au cours de la distribution. L'établissement de tels rapprochements est d'un grand intérêt pour les services opérationnels qui peuvent de la sorte combiner d'autres éléments d'enquête avec les résultats d'analyse et démanteler des réseaux de trafic de stupéfiants. De plus, la nature et l'abondance des impuretés est caractéristique d'une voie de synthèse. Il est par conséquent possible de déterminer quelle voie a été employée pour produire ledit lot. Cette seconde information est également intéressante pour les services d'enquête.

Le profilage chimique exploite le fait que les stupéfiants ne sont jamais purs. En effet, les drogues saisies sont quasi systématiquement adultérées par des produits de coupage. Quand bien même elles ne le seraient pas, les trafiquants qui fabriquent ces drogues de façon illicite ne disposent pas des mêmes ressources nécessaires pour purifier leur production que l'industrie pharmaceutique par exemple. Dans le cas des drogues d'origine naturelle (telles que la cocaïne et l'héroïne), de nombreux alcaloïdes naturellement présents dans la plante, mais aussi des produits de dégradation et des solvants résiduels du processus de fabrication, sont retrouvés dans le produit final. Il en va de même pour les drogues de synthèse, dans lesquelles des traces de produits secondaires de

Tableau II - Estimation de l'ampleur de l'usage de drogues (prévalence annuelle*) en 2006-2007 (ou dernière année disponible). Source : UNODC.

	Cannabis	Stimulants de type amphétamine		Cocaïne	Opiacés	dont héroïne
		Amphétamines	Ecstasy			
Nombre d'utilisateurs (par millions de personnes)	165,6	24,7	9	16	16,5	12
En pourcentage de la population mondiale âgée de 15 à 64 ans	3,9 %	0,6 %	0,2 %	0,4 %	0,4 %	0,3 %

réaction, de catalyseur ou de réactif sont trouvées dans le produit fini. Chacun de ces éléments (produit de coupage, alcaloïde naturel, impuretés de synthèse, produit de dégradation, solvants résiduels) peut constituer un paramètre sur la base duquel les échantillons sont comparés.

La sélection des paramètres à prendre en compte pour un profil est un long processus. Seuls ceux qui sont stables dans le temps (dont l'abondance ne varie pas en fonction de la durée de stockage ou les coupages successifs par exemple) et qui sont pertinents (si un composé est systématiquement présent dans les mêmes proportions, il ne présente pas d'intérêt car peu discriminant) seront choisis pour constituer l'empreinte chimique. Ces paramètres peuvent être qualitatifs (présence ou absence d'un composé) ou quantitatifs (abondance relative d'un composé).

La détermination analytique d'un profil chimique est assortie d'un traitement statistique qui permet de déterminer de façon fiable et avec un pourcentage de risque (incertitude) le degré de similitude de deux profils. Concrètement, à partir d'un certain seuil de similitude, deux échantillons seront déclarés liés (issus d'un même lot) ; en dessous d'un autre seuil, les échantillons seront déclarés non liés.

Le potentiel de cette méthodologie prend toute son ampleur lorsqu'il ne s'agit plus simplement de comparer deux cas isolément, mais lorsque tous les profils déterminés sont stockés dans une base de données. Chaque fois qu'un nouveau profil est mesuré, il est comparé aux précédents et des liens avec des affaires antérieures peuvent être établis. Ainsi, des échantillons de drogues saisis par des services différents, à des dates différentes, en des lieux différents, peuvent être identifiés comme provenant d'un même lot de fabrication sans que l'enquête ne le laisse soupçonner par ailleurs. La gestion combinée des informations relatives à la saisie et des résultats d'analyses est réalisée à l'aide d'un logiciel de cartographie sémantique utilisé notamment en analyse criminelle (I2[®]) (figure 3). Il s'agit d'un outil efficace de présentation et d'analyse de l'information pour communiquer et supporter la prise de décision. En effet, les réseaux peuvent devenir vite tentaculaires et une représentation sous forme de cartographie des liens chimiques fournit une vision globale du trafic et offre des informations complémentaires à l'enquête.

Les impuretés de l'amphétamine

Dans le cas d'une drogue de synthèse comme l'amphétamine, des composés minoritaires qui apparaissent dans le produit fini peuvent provenir des protocoles de synthèse employés dans le laboratoire, des impuretés contenues dans les produits chimiques de base, de réactions secondaires, mais aussi du traitement *a posteriori* que connaît la drogue : coupage, manipulation, stockage [6]. Nous nous concentrons ici sur les impuretés de synthèse liées à une purification insuffisante du produit brut.

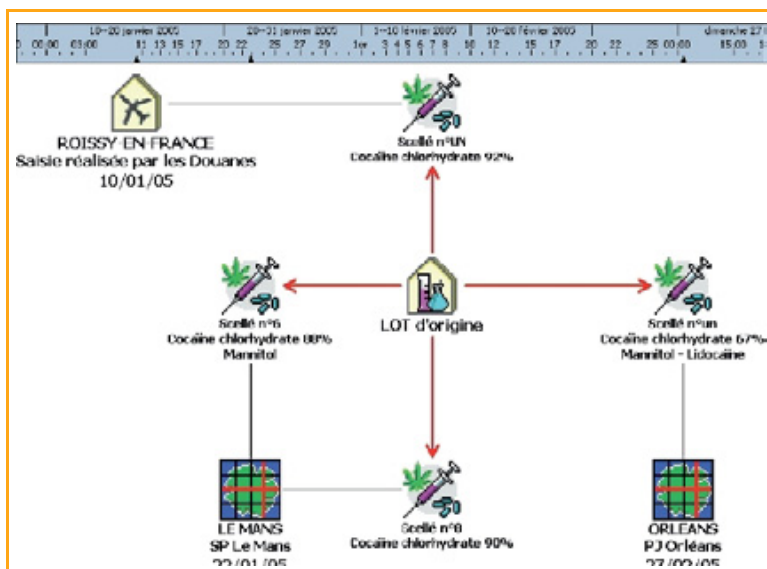


Figure 3 - Visualisation des liens chimiques mis en évidence dans un trafic de cocaïne à l'aide du logiciel I2[®].

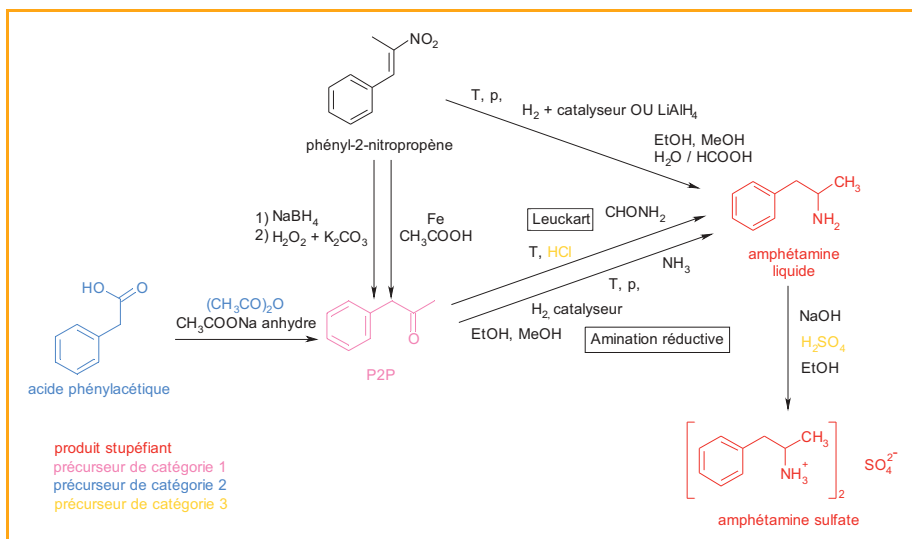


Figure 4 - Principales voies de synthèse de l'amphétamine.

On compte trois principales voies de synthèse d'amphétamine en Europe : la réaction de Leuckart sur la phényl-1-propanone-2 (P2P), aussi appelée benzylméthylcétone (« benzylmethylketone », BMK en anglais), l'amination réductrice de la P2P, et la voie du phényl-1-nitropropène [6-7] (figure 4). Chacune de ces voies a des impuretés de synthèse qui lui sont propres. Ainsi par exemple, la 4-benzylpyrimidine n'est présente que lors d'une synthèse *via* la voie de Leuckart (figure 5a), tandis que le N-(1-méthyl-2-phényléthyl)-2-phénylacétamide (figure 5b) est présent dans

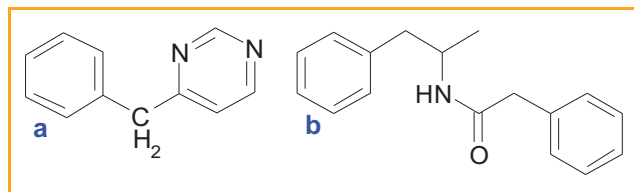


Figure 5 - 4-benzylpyrimidine (a) et N-(1-méthyl-2-phényléthyl)-2-phénylacétamide (b).

des synthèses par amination réductrice tandis qu'il n'apparaît qu'à l'état de traces pour Leuckart [8]. Il est ainsi possible, à partir du profil, de déterminer quelle voie de synthèse a été employée. Il s'agit d'informations précieuses pour les services d'enquête car cela peut révéler le niveau d'expertise des chimistes clandestins, mettre en évidence des changements d'approvisionnement en précurseurs, et plus généralement indiquer quel type de structure ils doivent rechercher (utilisation d'un réacteur sous pression par exemple).

Mise au point d'une méthode harmonisée de profilage d'impuretés

La méthode harmonisée

L'amphétamine, une problématique européenne

À l'heure d'une augmentation patente des échanges internationaux, les frontières deviennent plus perméables aux biens et aux individus, et les stupéfiants ne font pas exception en la matière. À la différence de la plupart des autres drogues (telles que cannabis, cocaïne, héroïne), l'amphétamine a la caractéristique d'être produite sur le territoire européen, principalement en Pologne et aux Pays-Bas [4], avant d'être distribuée dans d'autres pays à l'intérieur de l'espace européen. Ainsi, produite et consommée en Europe, l'amphétamine connaît une diffusion intra-européenne souvent vérifiée par la mise en évidence de réseaux transfrontaliers. Il existe donc un réel besoin pour une réponse répressive transnationale à l'échelle européenne de ces structures criminelles. Cette réponse a pris la forme d'une base de données de profils d'impuretés chimiques d'amphétamine. Les laboratoires de police scientifique de plusieurs pays se sont associés pour élaborer une base de données commune de profils d'amphétamines saisies dans leurs pays respectifs. Cette dernière rend possible l'établissement de rapprochements entre des échantillons saisis dans des pays différents. Charge revient ensuite aux services de police nationaux des pays concernés d'exploiter conjointement ces résultats.

Or, pour que les données enregistrées dans la base soient comparables et mènent à des rapprochements, il est primordial d'obtenir des résultats analytiques comparables ; cela passe dans ce cas par l'application d'une méthode analytique identique dans tous les laboratoires du réseau. Cette méthode harmonisée, qui a été mise au point par un consortium de laboratoires de police scientifique européens grâce à des financements communautaires et de l'Office Fédéral Suisse de l'Éducation et de la Science, est aujourd'hui mise en œuvre en Allemagne, Angleterre, Belgique, Danemark, Estonie, Finlande, France, Norvège, Pays-Bas, Pologne et Suède. Le Laboratoire de Police scientifique de Lyon (qui dépend de l'Institut National de Police Scientifique, INPS) avait contribué au développement de l'EHMPA (European harmonised method for the profiling of amphetamine) et est aujourd'hui le seul laboratoire en France à l'appliquer.

Extraction (figure 6)

200 ± 5 mg d'amphétamine sont pesés dans des tubes à essais. 4 mL de tampon TRIS (1 M, pH 8,10) sont ensuite ajoutés et le tout est agité 10 min. 200 µL de toluène contenant l'étalon interne (nonadécane à 10 µg/mL) sont ajoutés. On agite 10 min supplémentaires et on centrifuge à 3 000 tours/min pendant 3 min. La phase organique est prélevée et transférée dans un flacon muni d'un restricteur [9].

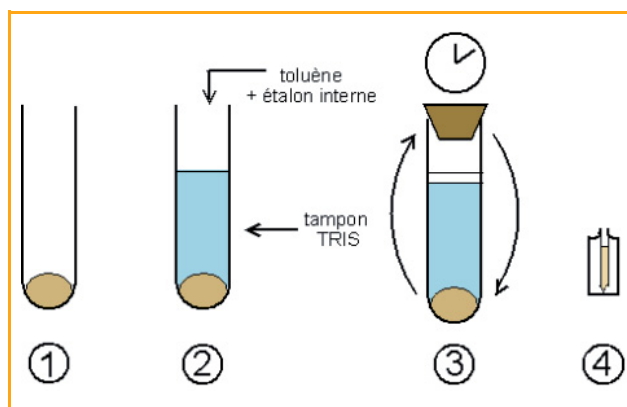


Figure 6 - Préparation d'échantillon par la méthode harmonisée de profilage.

Analyse par chromatographie en phase gazeuse (GC) couplée à un spectromètre de masse (MS)

L'appareil (Agilent HP6890 ou supérieur) est équipé d'une colonne DB-35MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) et d'une précolonne DB-35MS (2,5 m x 0,25 mm x 0,10 µm) liées par un raccord en quartz. Le chromatographe fonctionne sous flux d'hélium en mode débit constant. Le programme de température est le suivant : 1 min à 90 °C puis 8 °C/min jusqu'à 300 °C, on reste 10 min à 300 °C. 1 µL d'échantillon est injecté en mode splitless, la température de l'injecteur est de 250 °C. On utilise le système « retention time locking » (RTL) qui fixe le temps de rétention de l'étalon interne à 15 min [9].

Le spectromètre de masse (Agilent 5973 ou supérieur) fonctionne en mode full scan. Le délai de solvant est fixé à 4 min. Deux groupes de masses sont mesurés entre 4 et 30 min, puis à partir de 30 min. Les températures de la ligne de transfert, de la source et du quadropole sont respectivement de 310, 150 et 250 °C [10].

Il est à noter que tous les partenaires ont dû s'équiper du même matériel de chromatographie en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse afin d'assurer la meilleure reproductibilité possible.

Profil d'impuretés

Le courant d'ion total est intégré à la recherche d'impuretés dont la liste a été déterminée par l'étude. Les pics des composés cibles (figure 7) sont intégrés selon des règles communes à tous les laboratoires. Il en résulte un

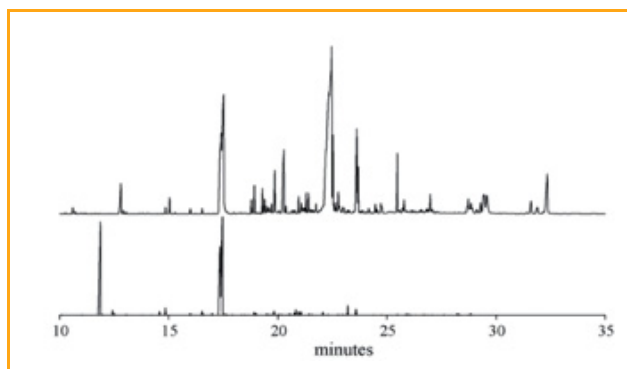


Figure 7 - Exemples de chromatogrammes (extraits) obtenus avec la méthode harmonisée de profilage. Le premier est issu d'une synthèse de Leuckart et le second d'une amination réductrice en une étape.

profil sous la forme d'une suite d'aires de pics. Si un pic est absent ou trop peu abondant, l'aire est marquée égale à 200 (soit la moitié de la limite de détection) [11]. De petits programmes ajoutés au logiciel de traitement des chromatogrammes Chemstation® sont employés pour automatiser les tâches simples et ainsi réduire au maximum l'impact humain sur les résultats.

Comparaison des profils dans la base de données

Les données d'analyse subissent d'abord un prétraitement consistant en la normalisation par la somme des aires suivie par l'application de la racine quatrième. Les profils sont ensuite exportés vers la base de données hébergée par un des partenaires. La comparaison des valeurs numériques se fait par le calcul de l'indice de corrélation de Pearson [11]. Les rapprochements fournis par la base sont vérifiés et validés par des opérateurs humains avant d'être transmis aux autorités policières.

Les investigations ayant conduit à la méthode harmonisée

Un long travail (environ sept ans) a été nécessaire pour parvenir à la méthode harmonisée de profilage telle qu'elle a été présentée sous sa forme finalisée au paragraphe précédent. S'assurer de la robustesse de la méthode notamment est incontournable vu la dimension inter-laboratoire de la méthode et constitue un challenge analytique de taille. Le choix des impuretés, les conditions d'extraction et d'analyse, les conditions de stockage, les critères de comparaison sont autant de paramètres dont il a fallu étudier l'influence et la maîtriser.

Synthèse de standards et compilation de données analytiques

Vingt et une impuretés fréquemment trouvées dans les échantillons d'amphétamine « de rue » et représentatives des trois voies de synthèse les plus fréquentes en Europe (figure 4) ont été synthétisées [12]. La structure des produits a été vérifiée par des méthodes d'analyse structurale (spectrométrie de masse précédée d'une chromatographie en phase gazeuse, spectroscopie infrarouge en phase solide et précédée d'une chromatographie en phase gazeuse, RMN du ^1H et du ^{13}C , et spectroscopie ultraviolette) et les données analytiques ont été compilées. Les matériaux de référence ainsi obtenus ont été employés pour optimiser la méthode analytique de profilage de l'amphétamine (méthode chromatographique et préparation d'échantillon) et tester sa robustesse.

Étude de la stabilité des impuretés

Pour obtenir des données de profilage fiables et reproductibles, les impuretés doivent être suffisamment stables dans le solvant dans lequel elles sont présentées au chromatographe en phase gazeuse. La stabilité de vingt-deux impuretés de l'amphétamine a donc été évaluée en GC-FID dans six solvants organiques (isooctane, toluène, éthanol, dichlorométhane, acétate d'éthyle et éther diéthylique), à différentes concentrations, et sur une période de stase dans le solvant de 0, 4, 12, 24, 48 et 96 heures [13]. Durant ce temps, les échantillons ont été conservés dans un bain-marie thermostaté à 25 °C. L'isooctane et le toluène ont fourni les conditions les plus inertes pour la plupart des impuretés. Certaines d'entre elles s'y sont révélées cependant insuffisamment stables, comme la N-(β -phénylisopropyl)benzyl

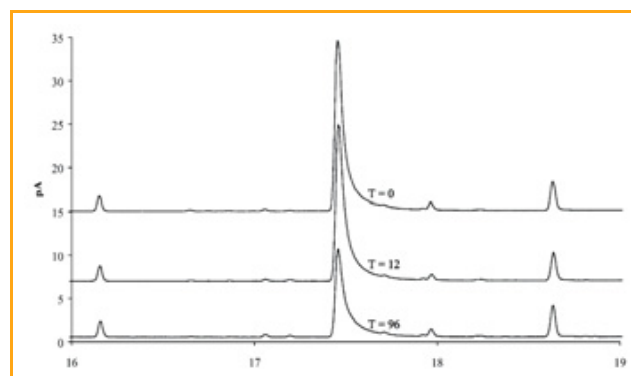


Figure 8 - Dégradation d'une des impuretés dans l'isooctane. Les trois chromatogrammes ont été enregistrés 0, 12 et 96 h après la préparation des solutions pour analyse.

méthyl kétimine (figure 8) qui a par conséquent été éliminée des possibles impuretés cibles.

Développement de la méthode analytique

Bien que quelques études aient été menées en chromatographie en phase liquide (HPLC) dans le domaine, les partenaires ont opté pour une séparation chromatographique en phase gazeuse [9]. La GC offre un pouvoir de résolution supérieur et une plus grande stabilité que l'HPLC. La technique est par ailleurs plus familière aux personnels et a été traditionnellement employée pour l'analyse d'amphétamine (identification, dosage, profilage).

Le type d'injection (« split, splitless, cool-on-column »), la température d'injection, la phase stationnaire de la colonne capillaire, le gradient de température de la colonne, le type de détection (FID, MS ou NPD, pour « nitrogen/phosphorus detector ») et les paramètres du détecteur ont fait l'objet d'une optimisation. Les paramètres offrant la meilleure reproductibilité inter-laboratoire, stabilité des résultats sur le long terme et facilité d'usage, ont été choisis pour parvenir à ceux présentés précédemment.

Optimisation de la préparation d'échantillon

L'extraction sur phase solide et l'extraction liquide-liquide ont été étudiées comme méthodes de préparation d'échantillon avant analyse en GC-MS [14]. Des plans d'expérience ont été conçus pour optimiser les paramètres de chaque technique (nature, pH, concentration et volume du tampon, nature et volume du solvant, nombre d'extractions pour l'extraction liquide-liquide, nature de la phase solide, nature du solvant d'élution et volume de tampon pour l'extraction sur phase solide), ainsi que pour évaluer l'effet matrice.

Bien que l'extraction sur phase solide ait fourni des résultats similaires voire supérieurs à la liquide-liquide, elle est apparue chronophage et par conséquent contre-indiquée pour une application en routine de la technique. L'extraction liquide-liquide telle qu'elle a été indiquée précédemment a donc été choisie.

Détermination de la variabilité de la méthode

Les variations intra-jour, inter-jour et entre laboratoires ont été étudiées [10]. Pour cela, douze lots d'amphétamine ont été synthétisés selon les principales voies de synthèse rencontrées en Europe (six selon la voie de Leuckart, trois aminations réductrices et trois à partir du phényl-1-

nitropropène). Chaque échantillon a été analysé au jour 0 puis 7, 14, 28, 42 et 56 jours plus tard.

La variation intra-jour était de l'ordre de 5 à 6 % et l'inter-jour de 8 à 12 %. Les résultats de l'étude ont mis en évidence le besoin de contrôles qualité certifiant l'intégrité du système analytique, sans quoi des déviations conséquentes sont à escompter. Des cartes de contrôle sont donc employées pour vérifier la justesse des valeurs mesurées pour les standards. Cette étude a aussi démontré l'importance d'une homogénéisation minutieuse des échantillons avant analyse et l'influence de la dilution sur les résultats.

Évaluation des modèles de comparaison des échantillons

Pour comparer les échantillons, les aires des pics sont entrées dans la base de données, et différents calculs y sont appliqués. Les données brutes subissent d'abord un prétraitement, puis des indices de corrélation sont calculés entre les échantillons. Plusieurs équations sont possibles ; c'est pourquoi on a évalué leur aptitude à discriminer des échantillons non liés et à corréler des échantillons liés pour déterminer laquelle est la plus indiquée dans le cas présent.

Trente-trois impuretés ont été profilées par la méthode optimisée précédemment sur des échantillons synthétisés par les soins des partenaires et sur 383 échantillons saisis [11]. Ces 33 composés cibles initiaux ont été choisis car ils remplissaient les conditions suivantes : trouvés dans les échantillons de rue, stables dans le toluène, fournissant des aires de pic reproductibles dans des analyses répétées sur le même extrait, et aisés à identifier sur un chromatogramme. Différents prétraitements des données ont été testés (pondération, normalisation, logarithme et racine quatrième) pour évaluer les similitudes entre échantillons. Cette phase est importante car elle a pour but de rendre des données analytiques très hétérogènes compatibles avec l'analyse statistique qui suit (figure 9, d'après [15]). Par exemple, la concentration en impuretés d'un échantillon peut être différente de celle d'un autre échantillon qui lui est pourtant lié, de prime abord les données brutes apparaissent alors fort différentes ; le prétraitement permet, entre autres, de s'affranchir de cet effet de dilution. Il faut cependant garder à l'esprit que ce faisant, les données sont modifiées. Une analyse de données multivariées ou analyse chimiométrique de type PLS-DA (« partial least squares discriminant analysis ») sur les données prétraitées a permis de déterminer quelle combinaison de prétraitements était la plus efficace et permettait de distinguer les voies de synthèse.

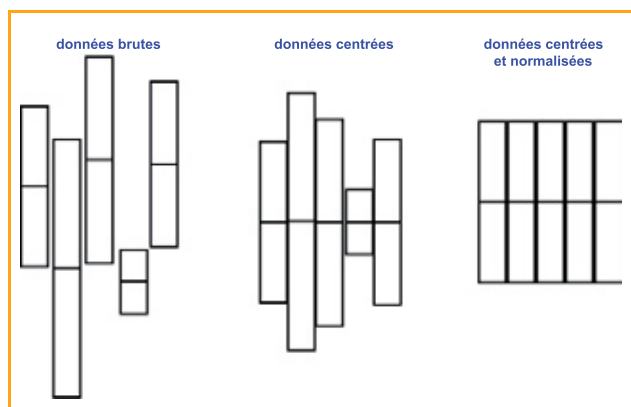


Figure 9 - Un exemple de prétraitement des données : le centrage, puis la normalisation des données brutes (d'après [15]).

Sept équations ont été testées pour le calcul des distances entre données prétraitées : distance de Manhattan, distance euclidienne, distance de Canberra, index de similitude, corrélation de Pearson, sinus carré et quotient. Comme les méthodes de Canberra et de l'index de similitude ne supportaient pas des aires égales à 0, il a été convenu de remplacer les aires des pics absents par 200 (soit la moitié de la limite de détection de la méthode). Aussi, lorsqu'une substance coélue avec une des impuretés cibles, et qu'elle contribue significativement à l'aire du pic, il a été convenu de considérer l'impureté cible comme absente. L'enjeu au niveau statistique est de parvenir à des rapprochements alors que certains pics sont considérés absents ou nuls dans l'un des profils.

L'analyse PLS-DA a encore été employée pour réduire à 26 le nombre de variables (impuretés cibles) à prendre en compte pour les 33 composés cibles initiaux. Il est avantageux de limiter ce nombre car cela a des implications en termes de temps de traitement des chromatogrammes par les opérateurs. La meilleure séparation entre échantillons liés et non liés a été obtenue avec la corrélation de Pearson et le sinus carré. La corrélation de Pearson a été choisie car elle est apparue moins sensible aux erreurs de manipulation des données analytiques.

Perspectives

La méthodologie décrite ici d'une collaboration inter-laboratoires impliquant la mise en œuvre d'une méthode analytique harmonisée pour l'alimentation d'une base de données internationale de profils de drogues a prouvé son efficacité avec l'amphétamine. Aujourd'hui, la transposition de ce modèle est à l'étude pour d'autres drogues de synthèse (MDMA et méthamphétamine), et est envisagée pour la cocaïne et l'héroïne. C'est l'objet du projet EDPS (European Drugs Profiling System) mené conjointement entre un consortium de laboratoires de police scientifique européens (dont l'INPS avec son laboratoire de Lyon) et les forces opérationnelles, avec un financement de l'Union européenne.

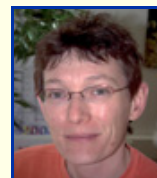
Notes et références

- (1) Ceci inclut les laboratoires produisant de l'amphétamine et des amphétamines non spécifiées, et des laboratoires produisant de multiples produits. Les laboratoires ne produisant que de la méthamphétamine ou de l'ecstasy sont exclus de ce décompte.
- (2) Ces chiffres peuvent inclure des laboratoires de méthamphétamine et d'ecstasy car ils proviennent en partie de pays qui ne sont pas en mesure de différencier les divers STA.
- (3) Fédération de Russie incluse.
- (4) Règlements (CE) N° 273/2004 du Parlement européen et du Conseil du 11 février 2004 relatif aux précurseurs de drogues à l'intérieur de l'Union européenne et N° 111/2005 du Conseil du 22 décembre 2004 fixant des règles de surveillance du commerce des précurseurs des drogues entre la Communauté et les pays tiers.
- (5) Loi 96-542 du 19 juin 1996 relative au contrôle de la fabrication et du commerce de certaines substances susceptibles d'être utilisées pour la fabrication illicite de stupéfiants ou de substances psychotropes, et décret 96-1060 du 5 décembre 1996 fixant la liste des précurseurs chimiques de stupéfiants ou de substances psychotropes soumis à contrôle.
- [1] www.unodc.org/pdf/convention_1971_fr.pdf consulté le 01/06/2010.
- [2] Pelt J.-M., *Drogues et Plantes magiques*, Fayard, 2000.
- [3] Pol D., *Dictionnaire encyclopédique des Drogues*, Ellipses, 2002.
- [4] United Nations Office on Drugs and Crime, *2008 World Drug Report*, United Nations publications, 2008.
- [5] www.unodc.org/pdf/convention_1988_fr.pdf consulté le 01/06/2010.
- [6] Krawczyk W., Kunda T., Impurity profiling/comparative analyses of samples of 1-phenyl-2-propanone, *Bulletin on Narcotics*, 2005, LVII, p. 33.
- [7] Sinnema A., Verweij A.M.A., Les impuretés dans l'amphétamine de fabrication illicite : une étude, *Bulletin des Stupéfiants*, 1981, XXXIII, p. 37.

- [8] Andersson K., Development of a method for comparing amphetamine samples, *Linköping Studies in Science and Technology Dissertations*, **2004**.
- [9] Andersson K., Jalava K., Development of a harmonised method for the profiling of amphetamines. III. Development of the gas chromatographic method, *Forensic Science International*, **2007**, 169, p. 50.
- [10] Lock E., Aalberg L., Development of a harmonised method for the profiling of amphetamines. V. Determination of the variability of the optimised method, *Forensic Science International*, **2007**, 169, p. 77.
- [11] Andersson K., Lock E., Development of a harmonised method for the profiling of amphetamines. VI. Evaluation of methods for comparison of amphetamine, *Forensic Science International*, **2007**, 169, p. 86.
- [12] Aalberg L., Andersson K., Development of a harmonised method for the profiling of amphetamines. I. Synthesis of standards and compilation of analytical data, *Forensic Science International*, **2005**, 149, p. 219.
- [13] Aalberg L., Andersson K., Development of a harmonised method for the profiling of amphetamines. II. Stability of impurities in organic solvents, *Forensic Science International*, **2005**, 149, p. 231.
- [14] Andersson K., Jalava K., Development of a harmonised method for the profiling of amphetamines. IV. Optimisation of sample preparation, *Forensic Science International*, **2007**, 169, p. 64.
- [15] Esbensen K.H., *Multivariate Data Analysis - in practice*, Camo, **2001**.



F. Besacier



L. Dujourdy



V. Ladroue

Fabrice Besacier est chef de la section stupéfiants du Laboratoire de police scientifique de Lyon*.

Laurence Dujourdy, anciennement son adjointe, est aujourd'hui responsable partenariats, prospective et développements de l'INPS, et **Virginie Ladroue** (*auteur correspondant*) est ingénieur dans la section stupéfiants.

* Institut National de Police Scientifique (INPS), Laboratoire de Police scientifique de Lyon, 31 avenue Franklin Roosevelt, F-69134 Écully Cedex.
Courriels : fabrice.besacier@interieur.gouv.fr,
laurence.dujourdy@interieur.gouv.fr,
virginie.ladroue@interieur.gouv.fr

« Made in Europe for the World »
Oui, mais avec vos contributions !

Analytical and Bioanalytical Chemistry
Springer
the language of science

L'Actualité Chimique
Société Chimique de France

Les journaux de ChemPubSoc*
* ChemPubSoc regroupe 14 sociétés de chimie européennes, dont la SCF

- Chemistry, a European Journal
- European Journal of Organic Chemistry
- European Journal of Inorganic Chemistry
- ChemBioChem
- ChemCatChem
- ChemMedChem
- ChemPhysChem
- ChemSusChem

WILEY-VCH ChemPubSoc Europe

Pour montrer la vitalité de la chimie française, toutes ces revues attendent vos communications.