ONUDC
Office des Nations Unies
contre la drogue et le crime

Méthodes recommandées pour **l'identification et l'analyse des agonistes synthétiques des récepteurs cannabinoïdes contenus dans des substances saisies**

MANUEL À L'USAGE DES LABORATOIRES NATIONAUX D'ANALYSE DES DROGUES

Crédits photos:
Clinique universitaire de Freiburg (Allemagne)
Section scientifique et du laboratoire de l'ONUDC

Section scientifique et du laboratoire
OFFICE DES NATIONS UNIES CONTRE LA DROGUE ET LE CRIME
Vienne

Méthodes recommandées pour l'identification et l'analyse des agonistes synthétiques des récepteurs cannabinoïdes contenus dans des substances saisies

MANUEL À L'USAGE DES LABORATOIRES NATIONAUX D'ANALYSE DES DROGUES

NATIONS UNIES
New York, 2014

Note

Les conditions de mise en œuvre et d'expérimentation sont reproduites à partir des textes de référence d'origine, y compris des méthodes non publiées, et sont validées et utilisées dans certains laboratoires nationaux signalés dans la liste de références. Des modifications de certaines conditions et le remplacement de produits commercialisés cités peuvent souvent donner des résultats comparables, mais il importe de faire valider toute modification avant de l'intégrer aux procédures de routine des laboratoires.

La mention de noms de sociétés et de produits commercialisés n'implique en aucun cas l'aval des Nations Unies.

ST/NAR/48

Langue d'origine: anglais

© Nations Unies, mars 2014. Tous droits réservés pour tous pays.

Les appellations employées dans la présente publication et la présentation des données qui y figurent n'impliquent, de la part du Secrétariat de l'Organisation des Nations Unies, aucune prise de position quant au statut juridique des pays, territoires, villes ou zones ou de leurs autorités, ni quant au tracé de leurs frontières ou limites.

La présente publication n'a pas fait l'objet d'une mise au point rédactionnelle.

Production éditoriale: Section des publications, de la bibliothèque et des services en anglais, Office des Nations Unies à Vienne.

Remerciements

La Section scientifique et du laboratoire de l'ONUDC, dirigée par M. Justice Tettey, tient à remercier chaleureusement M. Volker Auwärter, du Centre médical universitaire de Fribourg (Allemagne), et M. Michael Pütz, de l'Office fédéral allemand de police criminelle (BKA), d'avoir établi la version finale du présent *Manuel*.

La Section tient également à remercier les experts suivants d'avoir présenté les méthodes d'analyse de leurs laboratoires respectifs:

MM. Jan Schäper et Marc Wende, de l'Office bavarois de police criminelle (BLKA), MM. Christoph Härtel et Thorsten Rössler, de l'Office fédéral allemand de police criminelle (BKA), MM. Björn Moosmann et Stefan Kneisel, du Centre médical universitaire de Fribourg (Allemagne), ainsi que M. Veniero Gambaro et Mme Gabriella Roda, de l'Université de Milan (Italie).

Ont été vivement appréciés les précieux commentaires et contributions qu'ont fournis, aux fins de l'examen par les pairs, les experts suivants: Mme Laurence Dujourdy, de l'Institut national français de police scientifique, Mme Jenny Rosengren Holmberg, du Laboratoire national suédois de police scientifique, Mme Ulla-Maija Laakkonen, du Bureau national d'enquête finlandais, Mme Emma Tiainen, du Laboratoire des douanes finlandaises, M. Folker Westphal, de l'Office de police criminelle (LKA) du Schleswig-Holstein (Allemagne), et M. Dariusz Zuba, de l'Institut polonais de criminalistique.

L'élaboration du présent *Manuel* a été coordonnée par Mme Yen Ling Wong, de la Section scientifique et du laboratoire. La contribution d'autres fonctionnaires de l'ONUDC est également vivement appréciée.

Table des matières

Pages

Remerciements . . . . . *iii*

1. Introduction 1
   1.1. Contexte 1
   1.2. Objet et utilisation du *Manuel* 2

2. Aspects généraux 5
   2.1. Définition des cannabinoïdes synthétiques 5
   2.2. Classification chimique 5
   2.3. Produits et modes d'administration 6

3. Description des composés purs 9
   3.1. Cannabinoïdes classiques 9
   3.2. Cannabinoïdes non classiques 10
   3.3. Cannabinoïdes hybrides 10
   3.4. Aminoalkylindoles 11
   3.5. Eicosanoïdes 16
   3.6. Autres 17

4. Production et détournement 19
   4.1. Synthèse des composés purs 19
   4.2. Production de préparations végétales 20
   4.3. Précurseurs et sources 20
   4.4. Substances généralement saisies 21
   4.5. Adultérants/agents masquants 21

5. Analyse qualitative et quantitative des substances contenant des cannabinoïdes synthétiques 23
   5.1. Aspects généraux 23
   5.2. Échantillonnage 25
   5.3. Extraction et préparation des échantillons 26
   5.4. Analyse des cannabinoïdes synthétiques 26
      5.4.1. Tests présomptifs 26
      5.4.2. Chromatographie sur couche mince (CCM) 27
      5.4.3. Spectrométrie de mobilité ionique (SMI) 31
      5.4.4. Chromatographie en phase gazeuse avec spectrométrie de masse (CPG/SM) 34
      5.4.5. Chromatographie en phase gazeuse (CPG) avec détection par ionisation de flamme (CPG/FID) 37
      5.4.6. Chromatographie en phase liquide ultra haute performance (CLUHP) 40
      5.4.7. Chromatographie en phase liquide avec spectrométrie de masse en tandem (CPL-SM/SM) 44

Pages

6. Techniques d'analyse supplémentaires pour l'analyse des cannabinoïdes synthétiques 51
   6.1. Spectroscopie infrarouge (ATR-IR et FTIR) 51
   6.2. Chromatographie en phase gazeuse à détection infrarouge (CPG/IR) 51
   6.3. Spectrométrie de masse à ionisation ambiante 52
   6.4. Spectrométrie de masse à haute résolution (SMHR) 52
   6.5. Spectrométrie de masse à désorption-ionisation laser assistée par matrice et temps de vol (SM-MALDI-TOF) 52
   6.6. Spectroscopie à résonance magnétique nucléaire (RMN) 53

7. Isolation et caractérisation chimique de nouveaux cannabinoïdes synthétiques 55

8. Références 59

1. Introduction

1.1. Contexte

En 2008, plusieurs agonistes synthétiques des récepteurs cannabinoïdes (appelés “cannabinoïdes synthétiques” dans le reste du présent document) ont été détectés dans des mélanges d’herbes à fumer vendus sur Internet et dans des magasins spécialisés sous divers noms tels que “Spice Silver”, “Spice Gold”, “Spice Diamond”, “Yucatan Fire” et “Smoke” [1, 2]. Ces paquets de produits végétaux, colorés et conçus par des professionnels, contiennent habituellement 0,5 à 3 grammes de substance végétale finement coupée à laquelle ont été ajoutés un ou plusieurs cannabinoïdes synthétiques [3, 4]. En règle générale, ces produits ne contiennent pas de cannabis, mais produisent des effets similaires. En outre, ils sont généralement fumés, soit sous forme de joint, soit dans une pipe à eau.

Avant 2008, l’utilisation de ces produits végétaux semblait être limitée à un petit nombre d’utilisateurs expérimentaux. En 2008, cependant, ces produits sont devenus immensément populaires en Allemagne et dans d’autres pays européens du fait de l’Internet et d’articles parus ultérieurement dans les médias, où ils ont été qualifiés d’“alternatives légales” au cannabis, ce qui a involontairement favorisé l’utilisation de ces drogues. Depuis, des centaines de nouveaux produits végétaux ont été commercialisés sous différents noms. Les additifs de synthèse présents dans ces produits pouvaient varier considérablement par la quantité et les types de cannabinoïdes synthétiques utilisés [2, 3, 5 à 19].

Bien qu’à ce jour on en sache relativement peu au sujet de la pharmacologie et de la toxicologie des divers (ils changent fréquemment) cannabinoïdes synthétiques ajoutés aux produits susmentionnés, il se peut que plusieurs de ces substances aient, du fait d’un développement plus rapide de la tolérance, un potentiel de dépendance supérieur à celui du cannabis et une toxicité aiguë et à long terme plus élevée.

Actuellement, aucun des cannabinoïdes synthétiques présents dans ces produits végétaux n’est contrôlé au niveau international par la Convention unique de 1961 sur les stupéfiants ou par la Convention de 1971 sur les substances psychotropes. De surcroît, le statut de ces composés diffère considérablement d’un pays à l’autre. La plupart des pays sont dépassés par le grand nombre de cannabinoïdes synthétiques qui apparaissent constamment, ce qui signifie que les mesures de contrôle applicables à certains composés peuvent facilement être contournées. À la date de publication

du présent *Manuel*, certains États, comme l'Autriche, l'Irlande, le Luxembourg, le Royaume-Uni de Grande-Bretagne et d'Irlande du Nord et la Suisse, avaient adopté, pour contrôler les cannabinoïdes synthétiques de structures similaires, une approche plus générique. Cependant, il se pourrait que la mise en œuvre de ces mesures soit entravée par l'absence de données d'analyse et d'étalons de référence.

1.2. Objet et utilisation du *Manuel*

Le présent *Manuel* fait partie d'une série de publications similaires qui traitent de l'identification et de l'analyse de divers types de drogues placées sous contrôle. Ces manuels sont le résultat d'un programme que l'ONUDC met en œuvre depuis le début des années 1980 pour harmoniser les méthodes recommandées aux laboratoires nationaux d'analyse des drogues et en concevoir de nouvelles.

Conformément à l'objectif global de la série, le présent *Manuel* se propose d'aider les analystes à choisir les méthodes appropriées à l'échantillon examiné et à obtenir les données recherchées, les autorisant, pour ce faire, à adapter leurs procédures au degré de perfectionnement des laboratoires et aux besoins juridiques. Dans leur majorité, ces méthodes sont validées et ont été utilisées dans des laboratoires de renom. Le lecteur doit savoir, cependant, qu'il en existe un certain nombre d'autres, y compris celles publiées dans les textes de criminalistique, qui peuvent également produire des résultats acceptables. **Toute nouvelle méthode sur le point d'être utilisée dans le laboratoire du lecteur doit être validée et/ou vérifiée avant d'être appliquée de manière systématique.**

En outre, il existe un certain nombre de méthodes plus élaborées, qui ne sont cependant pas indispensables dans les opérations de routine. Aussi les méthodes décrites ici doivent-elles être comprises comme étant indicatives, des modifications mineures apportées pour tenir compte des circonstances locales ne devant normalement pas modifier la validité des résultats. Le choix de la méthode d'analyse et la décision d'utiliser ou non des méthodes supplémentaires reviennent à l'analyste et pourront également dépendre de l'existence d'instruments appropriés et du niveau de preuve légalement acceptable dans le pays concerné.

L'attention est également appelée sur l'impérieuse nécessité, pour les analystes, de disposer de substances et de textes de référence sur les drogues dont il est fait abus et les techniques d'analyse. En outre, l'analyste doit se tenir au fait de l'évolution de l'analyse des drogues en étudiant constamment les textes qui traitent de ce sujet et de criminalistique.

La Section scientifique et du laboratoire de l'ONUDC souhaiterait recevoir des observations sur le contenu et l'utilité du présent *Manuel*. Les commentaires et suggestions peuvent être adressés à:

Section scientifique et du laboratoire
Office des Nations Unies contre la drogue et le crime
Centre international de Vienne
B.P. 500
1400 Vienne
Autriche

Télécopie: (+43-1) 26060-5967
Courriel: lab@unodc.org

Tous les manuels, directives et autres publications scientifiques et techniques peuvent être demandés à l'adresse ci-dessus.

2. Aspects généraux

2.1. Définition des cannabinoïdes synthétiques

On appelle cannabinoïdes synthétiques des substances dont la structure permet la liaison à l'un des récepteurs cannabinoïdes connus, à savoir CB_1 ou CB_2, présents dans les cellules humaines. Le récepteur CB_1 se situe principalement dans le cerveau et la moelle épinière et est responsable des effets physiologiques et, en particulier, psychotropes caractéristiques du cannabis, tandis que le récepteur CB_2 se situe principalement dans la rate et les cellules du système immunitaire et peut être un facteur de médiation des effets immunomodulateurs.

À l'exception des endocannabinoïdes, les cannabinoïdes naturels se limitent aux constituants chimiques du cannabis comme le *delta*-9-tétrahydrocannabinol et le cannabidiol. En revanche, les cannabinoïdes synthétiques, tels que définis ci-dessus, peuvent englober une grande variété de composés structurellement différents et potentiellement évolutifs (analogues et dérivés) susceptibles de présenter également une affinité pour l'un des récepteurs cannabinoïdes.

La liaison de cannabinoïdes synthétiques aux récepteurs cannabinoïdes peut produire des effets agonistes, agonistes inverses ou antagonistes (partiels). Les cannabinoïdes synthétiques qui présentent un intérêt en criminalistique sont principalement des composés qui présentent une affinité suffisante pour le récepteur CB_1 et ont une activité agoniste ou agoniste partielle, la médiation des effets psychotropes typiques du cannabis s'exerçant généralement par une stimulation agoniste de ce type de récepteur.

2.2. Classification chimique

Les agonistes des récepteurs cannabinoïdes peuvent être classés, en fonction de leur structure chimique, dans les principaux groupes suivants [20]:

1. *Cannabinoïdes classiques*
   Tétrahydrocannabinol, autres constituants chimiques du cannabis et leurs analogues synthétiques structurellement apparentés (AM-411, AM-906, HU-210, O-1184, par exemple)

2. *Cannabinoïdes non classiques*
   Cyclohexylphénols ou 3-arylcyclohexanols (CP-55,244, CP-55,940, CP-47,497 et homologues du C6-9, par exemple)

3. *Cannabinoïdes hybrides*
   Combinaisons d'éléments structurels des cannabinoïdes classiques et non classiques (AM-4030, par exemple)

4. *Aminoalkylindoles*, que l'on peut subdiviser comme suit:
   a) *Naphthoylindoles* (JWH-015, JWH-018, JWH-073, JWH-081, JWH-122, JWH-200, JWH-210, JWH-398, par exemple)
   b) *Phénylacétylindoles* (JWH-250, JWH-251, par exemple)
   c) *Benzoylindoles* (pravadoline, AM-694, RSC-4, par exemple)
   d) *Naphthylméthylindoles* (JWH-184, par exemple)
   e) *Cyclopropoylindoles* (UR-144, XLR-11, par exemple)
   f) *Adamantoylindoles* (AB-001, AM-1248, par exemple)
   g) *Carboxamides d'indole* (APICA, STS-135, par exemple)

5. *Eicosanoïdes*
   Endocannabinoïdes tels que l'anandamide (AEA) et leurs analogues synthétiques (méthanandamide (AM-356), par exemple)

6. *Autres*
   Autres types de structures telles que les diarylpyrazoles (Rimonabant®, par exemple), les naphthoylpyrroles (JWH-307 [21, 22], par exemple), les naphthylméthylindènes (JWH-176, par exemple) et les carboxamides d'indazole (APINACA [23], par exemple).

De nombreux dérivés et analogues, dans les classes de composés ci-dessus, peuvent être synthétisés par addition d'un halogène, d'un alkyle, d'un alcoxyle ou d'autres substituants de l'un des systèmes de cycles aromatiques. Il peut également être apporté d'autres petits changements tels qu'une variation de la longueur et de la configuration de la chaîne alkyle. Les aminoalkylindoles sont de loin la catégorie la plus répandue de cannabinoïdes synthétiques présents dans les produits végétaux, car ils sont plus faciles à synthétiser que les autres classes de composés.

2.3. Produits et modes d'administration

Quelques cannabinoïdes synthétiques (CP-55,940 et WIN-55,212-2, par exemple) étaient disponibles en petites quantités dans le commerce à des fins scientifiques plusieurs années avant leur apparition dans des produits "prêts à fumer". Ils étaient utilisés presque exclusivement dans la recherche pharmacologique.

Les premiers produits contenant des cannabinoïdes synthétiques sont apparus vers 2004. Ils étaient ajoutés à des substances végétales, par exemple des feuilles ou des bandes de feuilles broyées, par trempage ou pulvérisation d'une solution d'un ou de plusieurs cannabinoïdes dilués dans un solvant organique évaporé ensuite. Parfois, il était utilisé des cannabinoïdes solides (poudre cristalline), ce qui se traduisait par une répartition inhomogène de la substance active dans la matière végétale. Certains, peu nombreux, de ces produits ressemblent, par leur couleur et leur texture, à du haschich. Ils sont utilisés comme le haschisch, mélangés à du tabac dans un joint ou fumés purs dans une pipe.

Ces dernières années, un nombre croissant de boutiques et de négociants en ligne ont commencé à proposer comme "produits de recherche" des cannabinoïdes synthétiques en quantités variables allant du milligramme au kilogramme. Ces substances sont achetées non seulement par des fabricants industriels de produits végétaux, mais aussi par des utilisateurs finaux qui concoctent leurs propres mélanges. Certaines de ces substances sont très pures [24], tandis que d'autres sont contaminées par des sous-produits de synthèse ou par des artefacts dus à un nettoyage insuffisant [18].

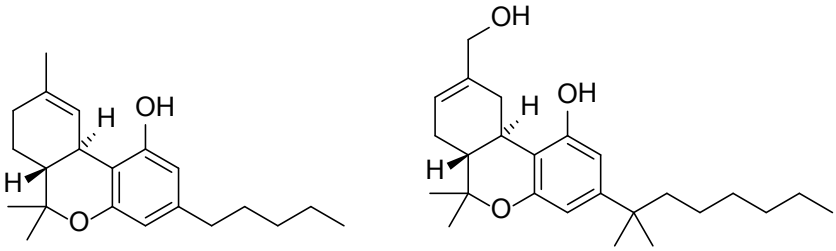
Quand ils ne sont pas fumés, ces produits sont parfois consommés avec des aliments ou en infusion. D'autres modes d'administration tels que l'injection intraveineuse ou le reniflage ne semblent pas jouer un rôle important.

3. Description des composés purs

Les composés purs se présentent, pour la plupart, sous la forme de poudres cristallines fines de couleurs allant du blanc à une teinte grise, brunâtre ou jaunâtre. Ils sont, pour la plupart, hautement lipophiles et bien solubles dans les solvants peu polaires (iso-octane, par exemple) ainsi que dans le méthanol, l'éthanol, l'acétonitrile, l'acétate d'éthyle, l'acétone et d'autres solvants organiques de polarité moyenne. En règle générale, les cannabinoïdes synthétiques utilisés dans les produits végétaux sont faiblement solubles dans l'eau.

La liste qui suit comprend des composés actifs trouvés dans des produits végétaux ou saisis sous forme de poudres en vrac dans les classes respectives définies à la section 2.2.

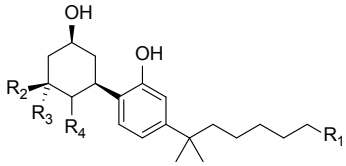
3.1. Cannabinoïdes classiques



THC **HU-210**

Nom	*Nom chimique*	*N° CAS*	*Formule moléculaire*
THC *Synonyme:* *delta*-9-tétrahydrocannabinol	(6a*R*,10a*R*)-6a,7,8,10a-tétrahydro-6,6,9-triméthyl-3-pentyl-6*H*-dibenzo[*b,d*]pyran-1-ol	1972-08-3	$C_{21}H_{30}O_2$
HU-210 *Synonyme:* 11-hydroxy-*delta*-8-THC-DMH	(6a*R*,10a*R*)-6a,7,10,10a-tétrahydro-6,6-diméthyl-9-(hydroxyméthyl)-3-(2-méthyloctan-2-yl)-6*H*-dibenzo[*b,d*]pyran-1-ol	112830-95-2	$C_{25}H_{38}O_3$

3.2. Cannabinoïdes non classiques



CP-47,497 (R_2=R_3=R_4=H, R_1=méthyle)

CP-47,497-C6 (R_1=R_2=R_3=R_4=H)

CP-47,497-C8 (R_2=R_3=R_4=H, R_1=éthyle)

CP-47,497-C9 (R_2=R_3=R_4=H, R_1=propyle)

CP-55,940 (R_2=R_3=H, R_1=CH_3, R_4=3-hydroxypropyle)

CP-47,497-C8 diméthyle (R_2=R_3=CH_3, R_4=H, R_1=éthyle)

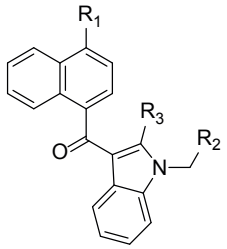
Nom	*Nom chimique*	*N° CAS*	*Formule moléculaire*
CP-47,497	*rel*-2[(1*S*,3*R*)-3-hydroxycyclohexyl]-5-(2-méthyloctan-2-yl)phénol	70434-82-1	$C_{21}H_{34}O_2$
CP-47,497-C6	*rel*-2[(1*S*,3*R*)-3-hydroxycyclohexyl]-5-(2-méthylheptan-2-yl)phénol	Non disponible	$C_{20}H_{32}O_2$
CP-47,497-C8 *Synonyme:* Cannabicyclohexanol	*rel*-2-[(1*S*,3*R*)-3-hydroxycyclohexyl]-5-(2-méthylnonan-2-yl)phénol	70434-92-3	$C_{22}H_{36}O_2$
CP-47,497-C9	*rel*-2[(1*S*,3*R*)-3-hydroxycyclohexyl]-5-(2-méthyldecan-2-yl)phénol	Non disponible	$C_{23}H_{38}O_2$
CP-55,940	*rel*-2-[(1*R*,2*R*,5*R*)-5-hydroxy-2-(3-hydroxypropyl)cyclohexyl]-5-(2-méthyloctan-2-yl)phénol	83003-12-7	$C_{24}H_{40}O_3$
CP-47,497-C8 (diméthyle)	*rel*-2-[(1*S*,3*R*)-3-hydroxy-5,5-diméthylcyclohexyl]-5-(2-méthylnonan-2-yl)phénol	Non disponible	$C_{24}H_{40}O_2$

3.3. Cannabinoïdes hybrides

Il n'a encore été saisi aucun composé de cette catégorie.

3.4. Aminoalkylindoles

a) Naphthoylindoles



R_1=R_3=H

AM-1220 (R_2=1-méthylpipéridine-2-yl)
AM-2201 (R_2=4-fluorobutyle)
AM-2232 (R_2=butanenitrile)
JWH-018 (R_2=butyle)
JWH-019 (R_2=pentyle)
JWH-020 (R_2=hexyle)
JWH-022 (R_2=3-butène-1-yl)
JWH-072 (R_2=éthyle)
JWH-073 (R_2=propyle)
JWH-200 (R_2=4-morpholinylméthyle)

R_2=butyle, R_3=H

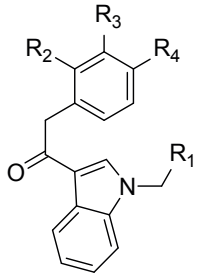
JWH-081 (R_1=méthoxy)
JWH-122 (R_1=méthyle)
JWH-210 (R_1=éthyle)
JWH-387 (R_1=Br)
JWH-398 (R_1=Cl)
JWH-412 (R_1=F)

JWH-007 (R_1=H, R_2=butyle, R_3=méthyle)
JWH-015 (R_1=H, R_2=éthyle, R_3=méthyle)
JWH-073 4-méthylnaphthyle (R_1=méthyle, R_2=propyle, R_3=H)
MAM-2201 (R_1=méthyle, R_2=4-fluorobutyle, R_3=H)

Nom	*Nom chimique*	*N° CAS*	*Formule moléculaire*
AM-1220	(naphthalène-1-yl)[1-[(1-méthylpipéridine-2-yl)méthyl]-1*H*-indole-3-yl] méthanone	137642-54-7	$C_{26}H_{26}N_2O$
AM-1220 (isomère d'azépane)	(naphthalène-1-yl)[1-(1-méthylazépane-3-yl)-1*H*-indole-3-yl]méthanone	Non disponible	$C_{26}H_{26}N_2O$
AM-2201	(naphthalène-1-yl)[1-(5-fluoropentyl)-1*H*-indole-3-yl]méthanone	335161-24-5	$C_{24}H_{22}FNO$
AM-2232	5-(3-(1-naphthoyl)-1*H*-indole-1-yl) pentanenitrile	335161-19-8	$C_{24}H_{20}N_2O$
JWH-007	(naphthalène-1-yl)(2-méthyl-1-pentyl-1*H*-indole-3-yl)méthanone	155471-10-6	$C_{25}H_{25}NO$
JWH-015	(naphthalène-1-yl)(2-méthyl-1-propyl-1*H*-indole-3-yl)méthanone	155471-08-2	$C_{23}H_{21}NO$
JWH-018 *Synonyme:* AM678	(naphthalène-1-yl)(1-pentyl-1*H*-indole-3-yl)méthanone	209414-07-3	$C_{24}H_{23}NO$
JWH-019	(naphthalène-1-yl)(1-hexyl-1*H*-indole-3-yl)méthanone	209414-08-4	$C_{25}H_{25}NO$
JWH-020	(naphthalène-1-yl)(1-heptyl-1*H*-indole-3-yl)méthanone	209414-09-5	$C_{26}H_{27}NO$

Nom	*Nom chimique*	*N° CAS*	*Formule moléculaire*
JWH-022	(naphthalène-1-yl)[1-(pent-4-en-1-yl)-1*H*-indole-3-yl]méthanone	209414-16-4	$C_{24}H_{21}NO$
JWH-072	(naphthalène-1-yl)(1-propyl-1*H*-indole-3-yl)méthanone	209414-06-2	$C_{22}H_{19}NO$
JWH-073	(naphthalène-1-yl)(1-butyl-1*H*-indole-3-yl)méthanone	208987-48-8	$C_{23}H_{21}NO$
JWH-073 (4-méthylnaphthyle) *Synonyme:* JWH-122 (analogue de N-butyle)	(4-méthylnaphthalène-1-yl)(1-butyl-1*H*-indole-3-yl)méthanone	1354631-21-2	$C_{24}H_{23}NO$
JWH-081	(4-méthoxynaphthalène-1-yl)(1-pentyl-1*H*-indole-3-yl)méthanone	210179-46-7	$C_{25}H_{25}NO_2$
JWH-122 [5]	(4-méthylnaphthalène-1-yl)(1-pentyl-1*H*-indole-3-yl)méthanone	619294-47-2	$C_{25}H_{25}NO$
JWH-200 *Synonyme:* WIN 55,225	(naphthalène-1-yl)[1-[2-(morpholine-4-yl)éthyl]-1*H*-indole-3-yl]méthanone	103610-04-4	$C_{25}H_{24}N_2O_2$
JWH-210	(4-éthylnaphthalène-1-yl)(1-pentyl-1*H*-indole-3-yl)méthanone	824959-81-1	$C_{26}H_{27}NO$
JWH-387	(4-bromonaphthalène-1-yl)(1-pentyl-1*H*-indole-3-yl)méthanone	207227-49-4	$C_{24}H_{22}BrNO$
JWH-398	(4-chloronaphthalène-1-yl)(1-pentyl-1*H*-indole-3-yl)méthanone	1292765-18-4	$C_{24}H_{22}ClNO$
JWH-412	(4-fluoronaphthalène-1-yl)(1-pentyl-1*H*-indole-3-yl)méthanone	1364933-59-4	$C_{24}H_{22}FNO$
MAM-2201 *Synonymes:* JWH-122 (5-fluoropentyle); AM-2201 (analogue de 4-méthylnaphthyle)	(4-méthylnaphthalène-1-yl)[1-(5-fluoropentyle)-1*H*-indole-3-yl]méthanone	1354631-24-5	$C_{25}H_{24}FNO$

b) Phénylacétylindoles



R_3=R_4=H

Cannabipipéridiéthanone (R_1=1-méthylpipéridine-2-yl, R_2=méthoxy)

JWH-203 (R_1=butyle, R_2=Cl)

JWH-250 (R_1=butyle, R_2=méthoxy)

JWH-251 (R_1=butyle, R_2=méthyle)

RCS-8 (R_1=cyclohexylméthyle, R_2=méthoxy)

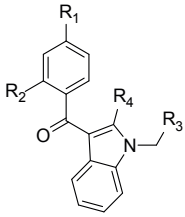
R_1=butyle, R_2=H

JWH-201 (R_3=H, R_4=méthoxy)

JWH-302 (R_3=méthoxy, R_4=H)

Nom	*Nom chimique*	*N° CAS*	*Formule moléculaire*
Cannabipipéridiéthanone *Synonyme:* JWH-250 dérivé de 1-(2-méthylène-*N*-méthyl-pipéridyl)	2-(2-méthoxyphényl)-1-[1-[(1-méthylpipéridine-2-yl)méthyl]-1*H*-indole-3-yl] éthanone	1345970-43-5	$C_{24}H_{28}N_2O_2$
JWH-201 *Synonyme:* *Para*-JWH-250	2-(4-méthoxyphényl)-1-(1-pentyl-1*H*-indole-3-yl) éthanone	864445-47-6	$C_{22}H_{25}NO_2$
JWH-203	2-(2-chlorophényl)-1-(1-pentyl-1*H*-indole-3-yl) éthanone	864445-54-5	$C_{21}H_{22}ClNO$
JWH-250	2-(2-méthoxyphényl)-1-(1-pentyl-1*H*-indole-3-yl) éthanone	864445-43-2	$C_{22}H_{25}NO_2$
JWH-251	2-(2-méthylphényl)-1-(1-pentyl-1*H*-indole-3-yl) éthanone	864445-39-6	$C_{22}H_{25}NO$
JWH-302 *Synonyme:* *Méta*-JWH-250	2-(3-méthoxyphényle)-1-(1-pentyle-1*H*-indole-3-yl) éthanone	864445-45-4	$C_{22}H_{25}NO_2$
RCS-8 *Synonymes:* SR-18; BTM-8	2-(2-méthoxyphényl)-1-(1-(2-cyclohexyléthyl)-1*H*-indole-3-yl)éthanone	1345970-42-4	$C_{25}H_{29}NO_2$

c) Benzoylindoles



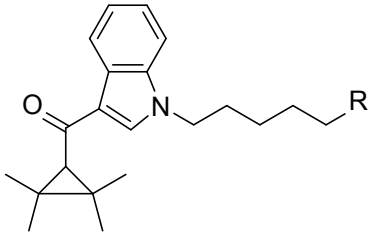
AM-694 (R_1=R_4=H, R_2=I, R_3=4-fluorobutyle)
AM-694 dérivé chloré (R_1=R_4=H, R_2=I, R_3=4-chlorobutyle)
AM-2233 (R_1=R_4=H, R_2=I, R_3=1-méthylpipéridine-2-yl)
RCS-4 (R_1=méthoxy, R_2=R_4=H, R_3=butyle)
RCS-4 ortho-isomère (R_1=R_4=H, R_2=méthoxy, R_3=butyle)
RCS-4 homologue de butyle (R_1=méthoxy, R_2=R_4=H, R_3=propyle)
WIN 48,098 (R_1=méthoxy, R_2=H, R_3=4-morpholinylméthyle, R_4=méthyle)

Nom	*Nom chimique*	*N° CAS*	*Formule moléculaire*
AM-694	(2-iodophényl)[1-(5-fluoropentyl)-1*H*-indole-3-yl]méthanone	335161-03-0	$C_{20}H_{19}FINO$
AM-694 (dérivé chloré)	(2-iodophényl)[1-(5-chloropentyl)-1*H*-indole-3-yl]méthanone	Non disponible	$C_{20}H_{19}ClINO$
AM-2233	(2-iodophényl)[1-[(1-méthylpipéridine-2-yl)méthyle]-1*H*-indole-3-yl] méthanone	444912-75-8	$C_{22}H_{23}IN_2O$
RCS-4 *Synonymes:* SR-19; OBT-199; BTM-4; E-4	(4-méthoxyphényl)(1-pentyl-1*H*-indole-3-yl)méthanone	1345966-78-0	$C_{21}H_{23}NO_2$
RCS-4 (ortho-isomère) *Synonyme:* RCS-4 (isomère de 2-méthoxyle)	(2-méthoxyphényl)(1-pentyl-1*H*-indole-3-yl)méthanone	Non disponible	$C_{21}H_{23}NO_2$
RCS-4 (homologue de butyle)	(4-méthoxyphényl)(1-butyl-1*H*-indole-3-yl)méthanone	Non disponible	$C_{20}H_{21}NO_2$
WIN 48,098 *Synonyme:* Pravadoline	(4-méthoxyphényl)[(2-méthyl)-1-[2-(morpholine-4-yl)éthyl]-1*H*-indole-3-yl]méthanone	92623-83-1	$C_{23}H_{26}N_2O_3$

d) Naphthylméthylindoles

Il n'a encore été saisi aucun composé de cette catégorie.

e) Cyclopropoylindoles



R=H

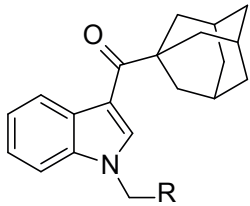
UR-144

R=F

XLR-11

Nom	*Nom chimique*	*N° CAS*	*Formule moléculaire*
UR-144 *Synonyme:* KM-X1	(2,2,3,3-tétraméthylcyclopropyl)(1-pentyl-1*H*-indole-3-yl)méthanone	1199943-44-6	$C_{21}H_{29}NO$
XLR-11 *Synonymes:* 5-FUR-144, 5-fluoro UR-144	(2,2,3,3-tétraméthylcyclopropyl)(1-(5-fluoropentyl)-1*H*-indole-3-yl)méthanone	1364933-54-9	$C_{21}H_{28}FNO$

f) Adamantoylindoles



R=butyle

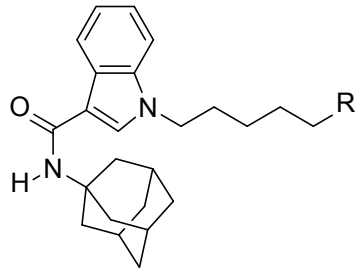
AB-001

R=1-méthylpipéridine-2-yl

AM-1248

Nom	*Nom chimique*	*N° CAS*	*Formule moléculaire*
AB-001 *Synonyme:* JWH-018 (adamantyle)	(1-adamantyl)(1-pentyl-1*H*-indole-3-yl)méthanone	1345973-49-0	$C_{24}H_{31}NO$
AM-1248	(1-adamantyl)[1-[(1-méthylpipéridine-2-yl)méthyl]-1*H*-indole-3-yl]méthanone	335160-66-2	$C_{26}H_{34}N_2O$

g) Carboxamides d'indole

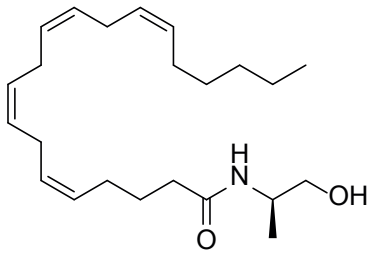


R=H
APICA

R=F
STS-135

Nom	*Nom chimique*	*N° CAS*	*Formule moléculaire*
APICA *Synonymes:* 2NE1; JWH-018 (carboxamide d'adamantyle)	*N*-(1-adamantyl)-1-pentyl-1*H*-indole-3-carboxamide	1345973-50-3	$C_{24}H_{32}N_2O$
STS-135 *Synonyme:* 5-fluoro APICA	*N*-(1-adamantyl)-1-(5-fluoropentyl)-1*H*-indole-3-carboxamide	1354631-26-7	$C_{24}H_{31}FN_2O$

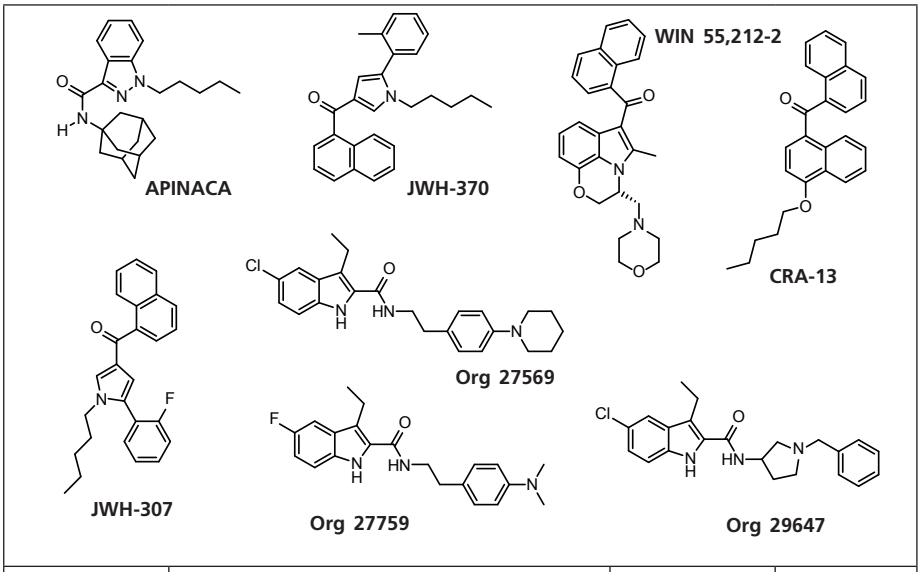
3.5. Eicosanoïdes



AM-356

Nom	*Nom chimique*	*N° CAS*	*Formule moléculaire*
AM-356 *Synonyme:* Méthanandamide	*N*-(2-hydroxy-1*R*-méthyléthyl)-5*Z*,8*Z*,11*Z*,14*Z*-eicosatétraénamide	157182-49-5	$C_{23}H_{39}NO_2$

3.6. Autres



Nom	*Nom chimique*	*N° CAS*	*Formule moléculaire*
APINACA *Synonyme:* AKB48	*N*-(1-adamantyl)-1-pentyl-1*H*-indazole-3-carboxamide	1345973-53-6	$C_{23}H_{31}N_3O$
CRA-13 *Synonymes:* CB-13; SAB-378	(naphthalène-1-yl)(4-pentyloxynaphthalène-1-yl)méthanone	432047-72-8	$C_{26}H_{24}O_2$
JWH-307	(naphthalène-1-yl)(5-(2-fluorophényl)-1-pentyl-1*H*-pyrrol-3-yl)méthanone	914458-26-7	$C_{26}H_{24}FNO$
JWH-370	(naphthalène-1-yl)[5-(2-méthylphényl)-1-pentyl-1*H*-pyrrol-3-yl]méthanone	914458-22-3	$C_{27}H_{27}NO$
Org 27569	5-chloro-3-éthyl-1*H*-indole-2-acide carboxylique[2-(4-pipéridine-1-ylphényl) éthyl]amide	868273-06-7	$C_{24}H_{28}ClN_3O$
Org 27759	5-fluoro-3-éthyl-1*H*-indole-2-acide carboxylique[2-(4-diméthylaminophényl) éthyl]amide	868273-09-0	$C_{21}H_{24}FN_3O$
Org 29647	5-chloro-3-éthyl-1*H*-indole-2-acide carboxylique(1-benzylpyrrolidine-3-yl)amide	Non disponible	$C_{22}H_{24}ClN_3O$
WIN-55,212-2	(naphthalène-1-yl)[(3*R*)-2,3-dihydro-5-méthyl-3-(4-morpholinylméthyl) pyrrolo[1,2,3-de]-1,4-benzoxazine-6-yl] méthanone	131543-23-2	$C_{27}H_{26}N_2O_3$

4. Production et détournement

4.1. Synthèse des composés purs

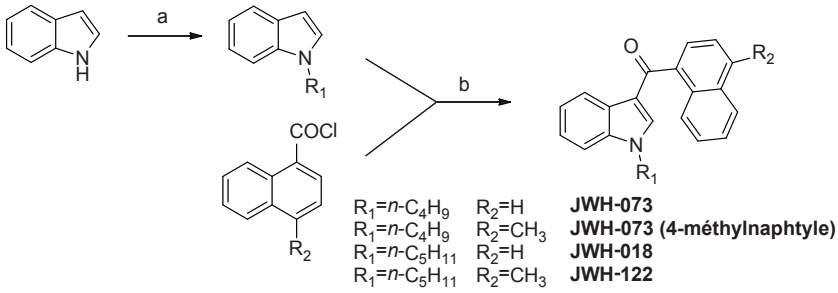
Les aminoalkylindoles sont de loin les composés que l'on trouve le plus souvent dans les produits végétaux qui contiennent des cannabinoïdes synthétiques. Cela est dû au fait que leur synthèse est moins élaborée et complexe que celle des cannabinoïdes classiques, non classiques ou hybrides. En général, on peut les synthétiser sans matériel de laboratoire sophistiqué en utilisant des réactifs et des produits peu onéreux. Il existe, toutefois, quelques exceptions, certains composés contenant des substituants rares tels que l'adamantyle, le tétraméthylcyclopropyle et des dérivés de méthylpipéridine qui peuvent être plus difficiles à synthétiser et à purifier.

Les précurseurs couramment utilisés pour synthétiser les aminoalkylindoles, ce qui s'effectue habituellement par acylation de Friedel-Crafts à C3 suivie de l'alkylation N d'un indole (substitué) ou vice-versa, sont les suivants:

1. 1-alkylindoles et 1-alkyl-2-méthylindoles (alkyle: butyle, pentyle, hexyle ou autre, halogéné s'il y a lieu)
2. chlorures d'1-naphthoyl (substitués à C4, par exemple).

Il est donné ci-après un exemple de voie de synthèse pour des naphthoylindoles tels que les JWH-073, JWH-073 (4-méthylnaphtyle), JWH-018 et JWH-122 [25]:

Figure I. Exemple de voie de synthèse pour certains naphthoylindoles



a: *Tert*-butoxyde de potassium, iodure de butyle ou bromure de pentyle,THF, RT.
b: $AlCl_3$, DCM, 0 °C.

Pour synthétiser les cyclohexylphénols de type CP-47,497, on a besoin de précurseurs faciles à obtenir tels que le (3-benzyloxyphényl)-acétonitrile et le cyclohex-2-en-1-one. Il est à noter qu'il est possible d'utiliser d'autres méthodes.

4.2. Production de préparations végétales

Bien que les cannabinoïdes synthétiques puissent généralement être administrés sous forme pure, les produits finis sont habituellement conçus pour être fumés. La plupart de ces produits se composent d'une substance végétale qui renferme un ou plusieurs cannabinoïdes synthétiques et arômes naturels/artificiels.

Pour mélanger la substance végétale et les cannabinoïdes, on peut placer la substance dans un malaxeur et ajouter, pour l'imprégner, une solution de cannabinoïdes dilués dans un solvant organique (acétone, par exemple). Après séchage, les cannabinoïdes sont répartis de manière plus ou moins homogène dans la substance végétale. Souvent, on peut détecter, dans les produits finis, des traces de cannabinoïdes synthétiques à côté des principaux composés. Cela peut se produire lorsque la cuve de mélange n'est pas nettoyée à fond après chaque cycle de production, ce qui entraîne une contamination croisée. Parfois, on peut voir, au fond des paquets, de la poudre cristalline, ce qui peut provenir du fait que la substance végétale a simplement été mélangée aux drogues en poudre, ce qui a donné un mélange inhomogène.

4.3. Précurseurs et sources

Certains des cannabinoïdes synthétiques présents dans ces produits peuvent être achetés auprès d'entreprises spécialisées, mais le prix de ces produits très purs peut se révéler trop élevé pour des préparations végétales. De nombreuses entreprises souvent situées en Asie et, selon certaines sources, parfois en Europe proposent des alternatives moins onéreuses.

La qualité de ces composés, en général, ne répond pas aux normes pharmaceutiques, et ils sont souvent contaminés par des sous-produits et des dérivés synthétiques qui résultent de procédés de synthèse inefficaces [26]. Parfois, cependant, il a été saisi plusieurs kilogrammes de drogues jugées très pures, mais aussi des quantités plus faibles [24]. Pour tromper les autorités douanières, ces produits sont généralement expédiés en faisant de fausses déclarations, par exemple "polyphosphate", "acide maléique", "azurant", "éthylvanilline", "coton", "échantillon de papier", "TiO_2" (dioxyde de titane) ou "nettoyant pour aquarium".

4.4. Substances généralement saisies

Les formes les plus répandues de produits saisis sont des mélanges prêts à fumer de substance végétale contenant des additifs cannabinoïdes synthétiques. Ils contiennent souvent plusieurs composés actifs, jusqu'à six dans le même produit. Suivent des produits qui contiennent des substances pures sous forme de poudre. Ces produits sont généralement utilisés pour la production à grande échelle de préparations végétales ou par les utilisateurs finaux qui concoctent leur propre mélange. On ne rencontre pas très souvent de produits qui ressemblent à du haschich.

4.5. Adultérants/agents masquants

Dans la première génération de produits végétaux, il était fréquemment ajouté des adultérants tels que des tocophérols ou de l'oléamide [1]. On ne sait toujours pas si le but était de masquer les ingrédients actifs ou s'ils étaient ajoutés comme conservateurs. Le tocophérol agit comme antioxydant et on le trouvait principalement dans les produits qui contenaient du CP-47,497-C8. L'oléamide, quant à lui, provoque des réponses comportementales comparables à celles du cannabis lorsqu'il est ingéré et peut avoir été ajouté pour modifier les effets psychotropes. Ces additifs ne sont plus présents dans les produits actuels. Cependant, de nombreux produits contiennent encore des arômes naturels/artificiels tels que l'éthylvanilline, l'eugénol ou d'autres terpénoïdes [27]. Il est peu probable que ces composés influent de manière significative sur l'activité pharmacologique des produits.

5. Analyse qualitative et quantitative des substances contenant des cannabinoïdes synthétiques

En règle générale, pour tenter d'établir l'identité d'une drogue placée sous contrôle dans une substance suspecte, il faut, par l'analyse (IR, SM ou méthodes tandem telles que la CPG-SM, par exemple), déterminer au moins deux paramètres non corrélés, dont l'un devra renseigner sur la structure chimique de l'analyte.

Il est admis que pour choisir ces paramètres, il faut tenir compte de la drogue étudiée et des ressources de laboratoire dont dispose l'analyste. Il est également admis que les exigences propres aux différentes juridictions pourront dicter les pratiques suivies par chaque laboratoire.

5.1. Aspects généraux

Les cannabinoïdes synthétiques étant souvent trouvés comme additifs à des mélanges végétaux, la stratégie d'analyse différera dans une certaine mesure de l'analyse de drogues végétales classiques comme le cannabis ou de drogues qui se présentent sous d'autres formes telles que l'héroïne, la cocaïne et les amphétamines de type stimulant. Sont résumés ci-après certains aspects importants de l'analyse qui devront être pris en considération.

Tableau 1. Aspects importants de l'analyse à prendre en considération

Aspects de l'analyse	*Considérations*
Échantillonnage	• Les produits végétaux peuvent être groupés par nom de marque et type d'emballage. Dans un même groupe, cependant, il est également possible d'avoir des contenus différents. • Les paquets devront être ouverts pour inspection visuelle de la substance végétale.

Tableau 1. Aspects importants de l'analyse à prendre en considération (*suite*)

Aspects de l'analyse	*Considérations*
Homogénéité	• Une distribution inhomogène est possible en fonction de la méthode d'application des cannabinoïdes synthétiques sur la substance végétale. • Pour l'analyse quantitative, il faut homogénéiser la substance ou définir une stratégie d'échantillonnage.
Extraction	• Pour l'analyse chromatographique, on peut utiliser des procédures d'extraction simples, les substances actives se trouvant généralement à la surface de la substance végétale • Aucune extraction n'est requise pour des techniques de spectrométrie de mobilité ionique (SMI) ou de spectrométrie de masse (SM) à température ambiante telles que la spectrométrie de masse à analyse directe en temps réel (SM-ADTR) et la spectrométrie de masse à ionisation par électrospray de désorption (SM-IESD).
Sensibilité	• Il faut utiliser des méthodes sensibles car les cannabinoïdes synthétiques sont présents en faibles concentrations (typiquement 1 à 30 mg/g) et des interférences de la matrice sont possibles. • Des tests présomptifs tels que les tests colorimétriques ne conviendront pas.
Variété des cannabinoïdes synthétiques	• Le nombre et le type de substances varient considérablement d'un échantillon à l'autre. • Les bibliothèques de spectres de référence devront être constamment mises à jour pour faire face à la grande variété de substances disponibles. • L'existence d'échantillons de référence posera un problème car on ne peut pas acheter tous les types de cannabinoïdes synthétiques. • Quand on rencontre un nouveau composé inconnu, on peut utiliser la méthode générale d'isolation et de caractérisation chimique du nouveau composé décrite à la section 7.

L'analyse qualitative peut s'effectuer par CCM, SMI, IR, CPG/FID, CPG/IR ou CPG/SM. La CPG/SM peut être considérée comme l'étalon-or, car non seulement elle offre une excellente résolution chromatographique, mais permet aussi, en général, d'identifier des principes actifs par leurs spectres SM-IE. La CPG/SM, cependant, peut avoir ses limites pour ce qui est d'analyser les régioisomères. Pour distinguer ces derniers, il faut effectuer des mesures complémentaires avec d'autres techniques d'analyse (IR ou CPG/IR, par exemple) afin d'identifier sans équivoque le bon régioisomère.

La CCM est une technique peu coûteuse et rapide qui permet de traiter de grands nombres d'échantillons et peut donc contribuer à réduire considérablement le nombre d'analyses CPG/SM requises. En la couplant avec des techniques de spectrométrie de masse à température ambiante telles que la SM-IESD, on peut identifier un large éventail d'analytes. Quant à la SMI, elle peut être considérée comme une méthode de dépistage sensible, car d'autres tests présomptifs tels que les tests colorimétriques et les réactions microcristallines ne conviennent pas pour analyser les produits végétaux.

Avec les matières solides qui contiennent des substances pures, on peut utiliser les techniques infrarouge. Les systèmes FTIR mobiles sont également utiles pour dépister rapidement des substances saisies sur le terrain que l'on suspecte de contenir des cannabinoïdes synthétiques purs sous forme de poudre. S'il n'y a qu'un seul cannabinoïde synthétique dans l'échantillon saisi, on peut également identifier ce composé par IR avec des extraits de mélanges végétaux après évaporation du solvant sur la cellule à diamants ATR.

Pour les analyses quantitatives, on peut utiliser la CPG/FID, la CLHP (ou CLUHP) et la CPL-SM (ou CPL-SM/SM). La chromatographie en phase liquide peut être plus indiquée que celle en phase gazeuse en présence d'importantes quantités de dérivés d'acides gras, ce qui peut, dans cette dernière, provoquer des interférences.

Les directives minimales qu'il est recommandé d'appliquer pour choisir la méthode ont été formulées par le Scientific Working Group on Drugs (SWGDRUG) et peuvent être consultées en ligne à l'adresse: www.swgdrug.org/.

5.2. Échantillonnage

La principale justification d'une procédure d'échantillonnage est de permettre une analyse chimique précise et significative. Comme la plupart des méthodes — qualitatives et quantitatives — utilisées dans les laboratoires d'analyse criminalistique des drogues exigent d'infimes fractions de matière, il est essentiel que ces fractions soient représentatives de l'ensemble dont elles ont été tirées. L'échantillonnage doit se conformer aux principes de la chimie analytique énoncés, par exemple, dans les pharmacopées nationales ou par des organisations régionales ou internationales. Pour les aspects généraux d'un échantillonnage représentatif de lots multiples de drogues, voir le site www.unodc.org/unodc/en/scientists/publications_manuals.html. Pour les substances saisies dont les caractéristiques externes sont évidentes, on pourra préférer une méthode d'échantillonnage fondée sur le modèle de Bayes à l'approche hypergéométrique.

L'utilisation d'un système d'échantillonnage approuvé aide également à préserver des ressources et un temps précieux en réduisant le nombre de déterminations nécessaires. Il est admis qu'il peut exister des situations où, pour des raisons

juridiques, les règles normales d'échantillonnage et d'homogénéisation ne peuvent être respectées.

Avec les mélanges végétaux, il peut être nécessaire d'adopter des stratégies d'échantillonnage modifiées, en particulier lorsqu'on rencontre, dans une même saisie, une grande variété de marques différentes. Il convient de noter que le contenu d'une marque particulière de produit pourra également changer dans le temps. S'il est saisi un grand nombre de produits identiques ou des substances en vrac, on pourra appliquer les stratégies d'échantillonnage couramment utilisées.

5.3. Extraction et préparation des échantillons

Analyse qualitative

Ajouter 1 ml de solvants de polarité moyenne ou apolaires tels que le méthanol, l'éthanol, l'acétonitrile, l'acétate d'éthyle, l'acétone ou l'iso-octane à une petite partie de l'échantillon (100 mg de substance végétale ou 1 à 2 mg de matière solide, par exemple). Soniquer l'extrait et filtrer ou centrifuger, au besoin, avant l'analyse.

Analyse quantitative

Pulvériser et homogénéiser les matières végétales/solides avant de prendre des échantillons à analyser. L'homogénéisation peut également s'effectuer dans un broyeur électrique ou par congélation avec de l'azote liquide dans un mortier. Il faut éviter de n'homogénéiser qu'une fraction de l'échantillon, car les cannabinoïdes ont tendance à se déposer au fond de celui-ci. À partir de l'homogénat, il faudra produire au moins deux échantillons individuels en fonction de l'homogénéité et de la masse de la substance d'origine.

Extraire les échantillons en utilisant des solvants de polarité moyenne ou apolaires tels que le méthanol, l'éthanol, l'acétonitrile, l'acétate d'éthyle, l'acétone ou l'iso-octane. Soniquer le mélange pour une extraction plus efficace et filtrer avant l'analyse. Pour une récupération plus efficace, on pourra accroître le nombre d'extractions. On pourra également utiliser l'extraction de Soxleth, bien que cela puisse être trop élaboré pour une utilisation de routine dans des laboratoires de criminalistique.

5.4. Analyse des cannabinoïdes synthétiques

5.4.1. Tests présomptifs

Des tests présomptifs tels que les tests colorimétriques et les réactions microcristallines ne conviendront pas en raison des faibles concentrations des analytes dans les mélanges végétaux et des interférences possibles de la matrice de l'échantillon. Bien

qu'il existe dans le commerce des tests présomptifs pour quelques cannabinoïdes synthétiques spécifiques, il n'en existe actuellement pas qui couvrent toute la gamme des cannabinoïdes synthétiques.

5.4.2. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La CCM est une technique couramment utilisée pour séparer et détecter des drogues fabriquées illicitement. Elle est peu coûteuse, rapide et souple pour ce qui est de choisir la phase stationnaire ou mobile et se prête à une grande variété de substances, basiques et salées, des plus polaires aux non polaires. Les plaques de CCM étant jetées après l'analyse, les problèmes dus à la contamination de la phase stationnaire par des composés de la matrice (dérivés d'acides gras, par exemple), fréquemment observés avec les colonnes de CLHP, ne se poseront pas.

Les cannabinoïdes classiques ou non (HU-210 et CP-47,497-C8, par exemple) peuvent être détectés de manière sélective et sensible par la lumière UV, le réactif Fast Blue RR, l'iode et l'iodoplatinate, tandis que les aminoalkylindoles (JWH-018, JWH-081, JWH-210, par exemple) peuvent l'être par la lumière UV, l'iode ou l'iodoplatinate.

Plaques de CCM (phase stationnaire)

Couche: gel de silice G avec une épaisseur de couche de 0,25 mm et contenant un indicateur inerte, qui entre en fluorescence sous une lumière UV de longueur d'onde 254 nm (gel de silice GF254).

Taille habituelle des plaques: 20×20 cm; 20×10 cm; 10×5 cm (ces dernières doivent être utilisées avec le côté de 10 cm vertical par rapport à la cuve de CCM).

Les plaques préparées par l'analyste doivent être activées avant utilisation en les plaçant dans une étuve à 120 °C pendant au moins 10 à 30 minutes. Les plaques sont ensuite entreposées dans un dessiccateur sans graisse sur gel de silice orange*. Aucune activation thermique n'est requise pour les plaques enduites disponibles dans le commerce.

Méthodes

Systèmes de solvants de développement

Préparer les systèmes de solvants de développement (Système A, B ou C, comme indiqué dans le tableau ci-dessous) aussi précisément que possible en utilisant des pipettes, des dispensettes et des éprouvettes graduées. Laisser le système solvant dans la cuve suffisamment longtemps pour que la saturation de la phase vapeur soit

* *On peut également utiliser du gel de silice bleu. Cependant, des précautions doivent être prises car le gel de silice bleu contient du chlorure de cobalt (II) qui peut être cancérogène pour l'homme.*

achevée avant d'effectuer l'analyse (avec des cuves doublées de papier adsorbant, cela prend environ cinq minutes).

Tableau 2. Préparation de systèmes de solvants pour la CCM

Système	*Solvants*	*Proportions de solvant (en volume)*
Système A	*n*-Hexane	2
	Éther diéthylique	1
Système B [28]	Toluène	9
	Diéthylamine	1
Système C [28]	Acétate d'éthyle	18,5
	Chlorure de méthylène	18
	Méthanol	3
	NH_4OH concentré	1

Préparation des solutions à tester

Comme la finalité de la CCM de produits végétaux est qualitative, il n'est pas nécessaire d'homogénéiser la matière analysée. Prendre une quantité appropriée d'un mélange végétal, par exemple 100 mg, extraire avec environ 10 fois cette quantité de solvant sous ultrasons pendant au moins 10 minutes, puis centrifuger le mélange. Les solvants appropriés sont l'acétonitrile (touches d'échantillon bien définies observées) ou le méthanol (meilleur solvant pour les cannabinoïdes synthétiques, mais touches d'échantillon moins bien définies observées).

Préparation des solutions étalons

Les solutions étalons sont préparées à une concentration de 0,5 mg/ml dans un solvant approprié.

Dépôt et développement

Déposer des touches distinctes de 1 µl et de 5 µl d'aliquotes de la solution à examiner, de 2 µl des solutions étalons et de 2 µl de solvant (à titre de contrôle négatif) sur la plaque de CCM. Le dépôt doit être effectué avec soin afin de ne pas endommager la surface de la plaque.

Notes d'analyse

- Le point de départ de la migration, c'est-à-dire la "ligne de dépôt", doit être situé à 2 cm du bord inférieur de la plaque.
- La distance entre les applications de l'échantillon (touches) doit être d'au moins 1 cm et les dépôts ne doivent pas être effectués à moins de 1,5 cm des bords latéraux de la plaque.
- Pour éviter l'apparition de taches diffuses au cours du développement, les touches d'échantillon doivent être aussi petites que possible (2 mm). À cette fin, déposer la solution sous forme d'aliquotes plutôt qu'en la déversant en une seule fois.
- Laisser sécher les dépôts et placer la plaque dans la cuve saturée de solvant (la saturation de la phase vapeur est obtenue grâce à des tampons saturés de solvant ou à du papier filtre qui double les parois de la cuve).
- Retirer la plaque de la cuve de développement dès que le solvant atteint la ligne de développement (située à 10 cm de la ligne de dépôt) tracée au préalable; sinon, des taches diffuses apparaîtront.

Révélation/détection

Les plaques doivent être séchées avant révélation. Cela peut se faire à température ambiante ou en utilisant un séchoir, une étuve ou de l'air chaud. Dans ces derniers cas, il faut s'assurer qu'aucun composé intéressant n'est thermolabile.

Méthodes de révélation/détection

a) Lumière UV à 254 nm

On observe des taches sombres sur fond vert. Marquer les taches et, au besoin, prendre un cliché numérique.

b) Réactif Fast Blue RR fraîchement préparé

Dissoudre 0,10 g de Fast Blue RR dans 10 ml d'eau distillée et ajouter 4 ml d'hydroxyde de sodium en solution aqueuse à 20 %. Les cannabinoïdes classiques ou non apparaissent comme des taches orange rougeâtre lorsqu'on pulvérise la plaque avec le réactif. Au besoin, photographier la plaque après séchage à des fins de documentation.

c) Iode

Placer la plaque séchée dans une chambre de CCM contenant des cristaux d'iode solide. Les cannabinoïdes synthétiques apparaissent sous forme de taches jaunes à brunes. Au besoin, photographier la plaque à des fins de documentation.

d) Iodoplatinate

Dissoudre 5 g d'acide chloroplatinique hexahydraté et 35 g d'iodure de potassium dans 1650 ml d'eau distillée. Ajouter ensuite 49,5 ml d'acide chlorhydrique concentré. Les cannabinoïdes synthétiques apparaissent comme des taches vert-jaune, blanc-rose ou violettes. Au besoin, photographier la plaque après séchage à des fins de documentation.

Interprétation

Après révélation, marquer la position des taches (au crayon, par exemple) et calculer les valeurs du rapport frontal (R_f).

$$R_f = \frac{\text{Distance de migration: de l'origine au centre de la tache}}{\text{Distance de développement: de l'origine au front du solvant}}$$

Résultats

En utilisant les méthodes ci-dessus, on obtient, pour certains cannabinoïdes synthétiques, les valeurs de R_f suivantes:

Tableau 3. Valeurs de R_f en CCM pour certains cannabinoïdes synthétiques avec divers systèmes de développement

		Valeurs de R_f	
Composé	*Système A*	*Système B*	*Système C*
Org 29647	0,00	—	—
AM-1220	0,00	—	—
AM-2233	0,00	—	—
Org 27759	0,01	—	—
Org 27569	0,01	—	—
JWH-200	0,02	0,60	0,85
HU-210	0,05	0,34	0,78
RCS-4 ortho-isomère	0,16	—	—
RCS-4	0,18	0,67	0,87
AM-2201	0,18	0,75	0,82
AM-694	0,18	—	—
JWH-015	0,22	0,73	0,91
JWH-018	0,25	0,76	0,91
JWH-250	0,26	0,74	0,91
JWH-072	0,31	—	—

		Valeurs de R_f	
Composé	*Système A*	*Système B*	*Système C*
JWH-007	0,31	—	—
JWH-307	0,35	—	—
JWH-073	0,36	0,75	0,91
JWH-251	0,36	0,71	0,88
JWH-203	0,40	—	—
JWH-081	0,41	0,71	0,88
JWH-122	0,41	—	—
JWH-019	0,42	0,76	0,91
JWH-020	0,44	—	—
JWH-412	0,44	—	—
JWH-210	0,45	0,75	0,85
JWH-398	—	0,71	0,88
CP-47,497	—	0,31	0,77
CP-47,497-C8	—	0,31	0,77
CP-55,940	—	0,14	0,52
RCS-8	—	0,70	0,88
WIN-55,212-2	—	0,58	0,86

En raison de la similitude des valeurs de R_f obtenues pour certains composés, il est recommandé d'utiliser, pour confirmer ces substances, une autre méthode ayant un pouvoir distinctif supérieur (CPG/SM, CPG/IR, par exemple).

Notes d'analyse

- Les valeurs du R_f ne sont pas toujours reproductibles en raison de petites différences dans la composition et dans l'activation des plaques, dans les systèmes solvants, dans la saturation de la cuve ou dans la distance de développement. Par conséquent, les valeurs du R_f fournies ne constituent qu'une indication du comportement chromatographique des substances considérées.
- Il est indispensable que les étalons de référence soient appliqués simultanément sur la même plaque.
- Pour les besoins de l'identification, il faut toujours tenir compte à la fois de la valeur du R_f et de la couleur des taches après vaporisation des révélateurs adéquats.

5.4.3. Spectrométrie de mobilité ionique (SMI)

La SMI est une technique rapide et sensible qui est appropriée pour détecter des traces organiques dans des conditions de pression atmosphérique. Elle peut être

utilisée comme technique de dépistage rapide pour de nombreuses drogues dont il est fait abus, y compris les cannabinoïdes synthétiques. Elle permet d'échantillonner et de manipuler facilement le mélange végétal en touchant sa surface avec une tige en bois et en transférant les particules qui y adhèrent sur un filtre en Téflon pour analyse. Des systèmes portables étant disponibles dans le commerce, elle peut être utilisée comme technique de détection rapide sur le terrain (enquêtes sur le lieu de crimes, par exemple).

La SMI peut s'effectuer en modes ions positifs et négatifs. Les aminoalkylindoles peuvent être détectés en mode ions positifs, alors que les cannabinoïdes non classiques (CP-47,497-C8, par exemple) peuvent l'être en mode ions négatifs. Les matrices et les composants aromatiques typiques des mélanges végétaux n'interfèrent pas avec les signaux SMI des substances actives présentes.

Bien que la SMI ait une sélectivité limitée, un nouvel aminoalkylindole donnera un signal dans la fenêtre typique de détection des aminoalkylindoles du plasmagramme, ce qui obligera, par conséquent, à effectuer une analyse de confirmation ultérieure avec des instruments plus perfectionnés.

Avec les systèmes portables de SMI, il pourra être appliqué la méthode suivante, testée sur le terrain et adaptée à l'usage prévu:

Conditions de fonctionnement de la SMI (mode ions positifs)

Source d'ionisation:	Source émetteur bêta ^{63}Ni ou tube à rayons X
Temp. de désorption:	290 °C
Temp. d'entrée:	285 °C
Temp. tube de glissement:	235 °C
Flux de dérive:	300 ml/mn
Flux échantillon:	200 ml/mn
Flux stand-by:	51 ml/mn
Gaz de dérive:	air séché et purifié
Gaz vecteur:	air séché et purifié
Étalon/réactif:	nicotinamide
Temp. étalon:	80 °C
Largeur de grille:	200 µs
Temps de désorption:	8,0 s
Période de balayage:	20 ms
Nombre de balayages:	20
Long. tube de glissement:	6,9 cm
Seuil:	50 u.d. (pour JWH-018)
LTMH:	400 µs (pour JWH-018)

Note: Les conditions ci-dessus peuvent être modifiées tant qu'il est effectué une validation appropriée.

Comme il existe une prévalence plus élevée des aminoalkylindoles dans les produits végétaux, la SMI est généralement utilisée en mode ions positifs. Pour passer en mode ions négatifs, il faut modifier certains des paramètres (temp. de désorption: 222 °C, temp. d'injection: 238 °C, temp. tube de glissement: 105 °C, par exemple).

Procédures

Pour analyser les mélanges végétaux, toucher la surface de l'échantillon avec une tige en bois. S'assurer qu'aucune particule visible de matière végétale n'est présente sur la tige après le prélèvement. Balayer la pointe de la tige plusieurs fois sur le filtre Téflon placé dans le système de SMI et commencer l'analyse. Pour tenir compte de l'inhomogénéité, il est recommandé de prélever plusieurs échantillons avec la tige en bois.

Résultats

Les aminoalkylindoles donnent des signaux nets en mode ions positifs dans une fenêtre de détection caractéristique à des temps de dérive élevés et peuvent être rapportés à des substances de référence par leur mobilité ionique réduite (K_0). Les cannabinoïdes non classiques (CP-47,497 et ses homologues, par exemple) peuvent être détectés avec une sensibilité plus faible, mais suffisante en mode ions négatifs dans une fenêtre de détection caractéristique distante de celle des explosifs. Les valeurs K_0 de certains cannabinoïdes synthétiques obtenues par la méthode ci-dessus sont les suivantes:

Tableau 4. Valeurs K_0 en SMI pour certains cannabinoïdes synthétiques

Composé	*Valeurs K_0 (mode ions positifs) [$cm^2/(V*s)$]*	*Valeurs K_0 (mode ions négatifs) [$cm^2/(V*s)$]*
JWH-210	0,9596	—
JWH-081	0,9720	—
AM-1220	0,9878	—
JWH-019	0,9915	—
JWH-200	0,9926	—
JWH-122	0,9950	—
AM-2201	1,0163	—
JWH-250	1,0263	—
JWH-018	1,0288	—
AM-694	1,0348	—
JWH-203	1,0455	—
JWH-251	1,0483	—

Tableau 4. ***(suite)***

Composé	*Valeurs K_0 (mode ions positifs) [cm²/(V*s)]*	*Valeurs K_0 (mode ions négatifs) [cm²/(V*s)]*
JWH-073	1,0658	—
RCS-4	1,0659	—
CP-55,940	—	0,9045
CP-47,497-C8	—	0,9185
CP-47,497	—	0,9354

En règle générale, les substances qui présentent, dans leurs valeurs K_0, des différences < 0,025 (JWH-019/JWH-200 ou JWH-073/RCS-4, par exemple) ne peuvent pas être distinguées par la SMI. Comme cette méthode ne convient que pour le dépistage rapide, il est recommandé d'utiliser, pour confirmer ces substances, une autre méthode ayant un pouvoir distinctif supérieur (CPG/SM, CPG/IR, par exemple).

Notes d'analyse

- Il faut laisser le système de SMI chauffer pendant au moins 30 minutes avant l'analyse pour obtenir des temps de dérive stables.
- Pour vérifier le système, il faut analyser un mélange étalon de référence (généralement fourni par le fabricant de l'instrument) couvrant la majeure partie de l'échelle de temps de dérive et créer des alarmes appropriées en regard des données de référence de la bibliothèque.
- Avant toute analyse d'échantillon, il faut soumettre le filtre Téflon à une mesure à blanc afin d'exclure toute contamination.
- Il faut analyser des échantillons purs de tous les aminoalkylindoles qui présentent un intérêt et consigner dans la bibliothèque les mobilités d'ions réduites qui en résultent.
- Si le signal de l'étalon interne disparaît complètement, il faut répéter l'analyse avec une quantité d'échantillon moindre.
- En suivant l'intensité du signal pendant le temps de désorption, on peut en outre davantage éviter les faux positifs.

5.4.4. Chromatographie en phase gazeuse avec spectrométrie de masse (CPG/SM)

La CPG/SM est l'une des techniques les plus couramment utilisées pour identifier des échantillons de drogues. Trait d'union technique, elle allie la puissance de

séparation et la sensibilité d'une CPG et la spécificité d'analyte d'une technique spectroscopique. Elle peut fournir des données spectrales hautement spécifiques sur certains composés d'un mélange complexe sans isolation préalable.

Préparation des échantillons et procédure d'extraction

Ajouter 1 ml de solvants de polarité moyenne ou non polaires tels que le méthanol, l'éthanol, l'acétonitrile, l'acétate d'éthyle, l'acétone ou l'iso-octane à une petite partie de l'échantillon (100 mg de substance végétale ou 1 à 2 mg de matière solide, par exemple). Soniquer l'extrait et filtrer avant l'analyse.

Préparation d'une solution étalon interne (pour le verrouillage de la rétention, si nécessaire)

Dissoudre du *N*,*N*-dibenzyl-2-chlorobenzamide dans du méthanol pour obtenir une concentration de 20 µg/ml. Ajouter une fraction de l'étalon interne à la solution à tester/étalon s'il faut verrouiller le temps de rétention.

Préparation des solutions étalons

Préparer une solution étalon de cannabinoïde synthétique à une concentration de 1 mg/ml avec un solvant approprié (méthanol, éthanol, acétonitrile, acétate d'éthyle, acétone ou iso-octane, par exemple).

Conditions de fonctionnement de la CPG/SM

Four:	Température de la colonne fixée initialement à 240 °C, maintenue constante pendant une minute après l'injection, portée progressivement à 330 °C à la vitesse de 6 °C/mn et maintenue à la température finale pendant 4 minutes.
Colonne:	TG-SQC, TG-5MS, DB-5MS ou équivalent, 30 m x 0,25 mm, épaisseur de film 0,25 µm
Injection:	Mode: avec division (débit de purge 30 ml/mn à 0,3 mn);
	Temp.: 250 °C;
	Gaz vecteur: hélium, 1 ml/mn, débit constant;
	Volume d'injection: 1 µl

Détecteur:	Mode d'ionisation: électronique, 70 eV; Temp. ligne de transfert: 280 °C; Temp. source d'ionisation: 225 °C
Paramètres de la SM:	Délai solvant: 3 min; Mode balayage; Gamme balayage: 30-600 uma à 2,17 bal./s

Note: Les conditions ci-dessus peuvent être modifiées tant qu'il est effectué une validation appropriée.

Résultats

Les temps de rétention (TR) obtenus en CPG pour certains cannabinoïdes synthétiques en appliquant les conditions ci-dessus sont les suivants:

Tableau 5. Temps de rétention en CPG et principaux ions utilisés en CPG/SM pour certains cannabinoïdes synthétiques

Composé	*TR en CPG (mn)*	*Principaux ions utilisés en CPG/SM (m/z)*
UR-144	6,05	214, 144, 296, 311M$^+$
XLR-11	6,70	232, 144, 314, 329M$^+$
CP-47,497	6,80	215, 233, 318M$^+$, 300
CP-47,497-C8 (1S/3S ou 1R/3R)	7,40	215, 233, 332M$^+$, 314
CP-47,497-C8 (1S/3R ou 1R/3S)	7,65	215, 233, 332M$^+$, 314
Étalon interne	8,10	139, 141, 244, 335M$^+$
RCS-4 ortho-isomère	8,75	321M$^+$, 264, 304, 144
JWH-251	9,20	214, 144, 116, 319M$^+$
JWH-203	10,00	214, 144, 116, 339M$^+$
JWH-250	10,15	214, 144, 116, 335M$^+$
RCS-4	10,65	321M$^+$, 264, 135, 214
JWH-015	11,35	327M$^+$, 326, 310, 270
JWH-073	11,78	327M$^+$, 200, 284, 310
AM-694	11,82	232, 435M$^+$, 220, 360
APINACA	11,90	215, 145, 294, 365M$^+$
JWH-412	12,15	359M$^+$, 302, 145, 173
Org 27759	12,50	147, 134, 118, 353M$^+$

Composé	*TR en CPG (mn)*	*Principaux ions utilisés en CPG/SM (m/z)*
JWH-018	12,60	341M$^+$, 284, 324, 214
JWH-007	13,00	355M$^+$, 354, 340, 298
JWH-307	13,15	385M$^+$, 155, 188, 314
JWH-019	13,45	355M$^+$, 284, 228, 338
AM-2201	13,70	359M$^+$, 232, 284, 342
JWH-122	13,90	355M$^+$, 298, 338, 214
JWH-210	14,50	369M$^+$, 312, 352, 214
MAM-2201	14,80	373M$^+$, 298, 356, 232
Org 29647	15,05	159, 91, 143, 381M$^+$
JWH-081	15,30	371M$^+$, 314, 354, 214
AM-1248	15,60	98, 70, 99, 390M$^+$
AM-2232	16,20	225, 352M$^+$, 127, 284
AM-1220	16,30	98, 127, 155, 382M$^+$
JWH-200	16,75	100, 127, 155, 384M$^+$
Org 27569	19,30	187, 174, 253, 409M$^+$

Note: M$^+$ renvoie à l'ion moléculaire.

L'identification s'effectue en comparant le temps de rétention et le spectre de masse de l'analyte à ceux d'un étalon de référence. Idéalement, il faut comparer tous les composés identifiés par la CPG/SM à un spectre de masse actuel de l'étalon de référence approprié, obtenu de préférence par le même instrument utilisé dans les mêmes conditions. Compte tenu de la difficulté d'obtenir des échantillons de référence de cannabinoïdes synthétiques, des précautions doivent être prises dans l'utilisation de spectres de référence obtenus d'autres sources telles que des bibliothèques commerciales ou de spectres générés par des utilisateurs.

Pour identifier correctement les régioisomères, il pourra être nécessaire d'utiliser d'autres techniques telles que l'IR, la CPG/IR ou la SM^n.

5.4.5. Chromatographie en phase gazeuse (CPG) avec détection par ionisation de flamme (CPG/FID) [25]

La CPG/FID peut être utilisée pour les déterminations qualitatives et quantitatives. La méthode d'analyse quantitative par CPG/FID de quelques cannabinoïdes synthétiques est décrite ici pour être utilisée comme guide pour les adaptations et modifications qui seraient requises pour d'autres cannabinoïdes synthétiques présentant un intérêt. Il est bon de noter que pour les échantillons qui présentent de très faibles concentrations, il serait plus judicieux d'employer, pour les déterminations quantitatives, une technique plus sensible, comme la CPL-SM ou la CPL-SM/SM.

Préparation de la solution étalon interne

Dissoudre l'oléate de méthyle dans du méthanol pour obtenir une concentration de 0,8 mg/ml.

Préparation des solutions étalons de cannabinoïdes synthétiques

Préparer avec minutie des solutions étalons de cannabinoïdes synthétiques ciblés dans une gamme de concentrations de travail appropriée. Cette méthode pourra être validée pour la plage de concentrations 0,02-2,00 mg/ml dans du méthanol. Généralement, il faut préparer au moins cinq solutions étalons pour une bonne courbe d'étalonnage linéaire. Ajouter ensuite 500 µl de la solution étalon interne à 500 µl de chaque solution étalon et mélanger. Injecter 1 µl du mélange dans le chromatographe.

Préparation des solutions à tester ("mélange végétal" inconnu)

Obtenir un échantillon représentatif de la substance saisie. Homogénéiser et peser avec précision 50 mg de cette substance dans un tube de centrifugation et ajouter 5 ml de méthanol. Soniquer et centrifuger le mélange pendant 5 minutes à 2500 t/mn. Ajouter ensuite 500 µl de la solution étalon interne à 500 µl de la solution surnageante et mélanger. Injecter 1 µl du mélange dans le chromatographe. Effectuer au moins une double analyse.

Conditions de fonctionnement de la CPG

Détecteur:	FID
Colonne:	Factor Four VF-5ms, 5 % phényle méthylpolysiloxane ou équivalent, 30 m x 0,25 mm, épaisseur de film 0,25 µm
Gaz vecteur:	Hélium 1,2 ml/mn
Gaz détecteur:	Hydrogène 35 ml/mn, air 350 ml/mn
Temp. injection:	250 °C
Temp. détecteur:	280 °C
Temp. four:	Température de la colonne fixée initialement à 70 °C, portée progressivement à 180 °C à la vitesse de 40 °C/mn, puis portée progressivement à 300 °C à la vitesse de 10 °C/mn
Volume d'injection:	1 µl
Rapport de division:	30:1

Note: Les conditions ci-dessus peuvent être modifiées tant qu'il est effectué une validation appropriée.

Résultats

L'ordre d'élution et le temps de rétention correspondant sont les suivants:

Tableau 6. Ordre d'élution et temps de rétention correspondant en CPG/FID pour certains cannabinoïdes synthétiques

Composé	*Temps de rétention (mn)*
Étalon interne	9,3
JWH-073	18,3
JWH-018	19,4
JWH-073 (4-méthylnaphthyle)	20,1
JWH-122	22,8

Calculs

Le pourcentage de cannabinoïde synthétique ciblé dans l'échantillon est alors calculé en commençant par tracer une courbe d'étalonnage linéaire du facteur de réponse observé des étalons (aire de pic du cannabinoïde/aire de pic de l'étalon interne) en regard de la concentration d'étalon cannabinoïde utilisée (mg/ml). À partir de la réponse de la solution inconnue à tester et de la valeur correspondante de la courbe d'étalonnage, on peut obtenir le pourcentage de cannabinoïde synthétique présent dans l'échantillon en utilisant la formule ci-après:

$$\%\ \text{cannabinoïde synthétique} = 100 \times \frac{V \times \frac{(R_S - b)}{a}}{W_S}$$

Où

V: Volume de solvant d'extraction utilisé (ml)

R_S: Facteur de réponse observé de l'échantillon (aire de pic du cannabinoïde/aire de pic de l'étalon interne)

a: Gradient/pente de la courbe d'étalonnage

b: Point d'intersection de la courbe d'étalonnage

W_S: Poids de l'échantillon (mg)

En général, avec les instruments et logiciels de CPG modernes, il n'est pas nécessaire de calculer la pureté manuellement. D'ordinaire, après l'entrée, par l'opérateur, des concentrations des différents étalons et de la solution inconnue à tester, la courbe d'étalonnage s'établit et les calculs s'effectuent automatiquement, à la fin de l'analyse, pour tout point situé sur la courbe. Généralement, le résultat est alors exprimé

en tant que pourcentage de la drogue inconnue présente dans l'échantillon, c'est-à-dire en tant que pureté de ce dernier (poids de l'analyte par rapport à celui de l'échantillon).

5.4.6. Chromatographie en phase liquide ultra haute performance (CLUHP)

Les systèmes de CLUHP ont accru les capacités de la chromatographie liquide à haute performance (CLHP) traditionnelle, car les pressions de fonctionnement sont plus élevées et les colonnes remplies de particules de moins de 2 µm qui confèrent une efficacité de séparation accrue. La vitesse de séparation de la CLUHP est également nettement supérieure, ce qui permet de traiter plus rapidement les échantillons. En outre, la CLUHP est plus respectueuse de l'environnement, consommant moins de solvants et produisant moins de déchets.

Comme l'analyste dispose d'une grande variété de phases stationnaires et mobiles, il est décrit ci-dessous une méthode d'analyse quantitative que l'on pourra modifier pour de meilleurs résultats. Cette méthode a été testée sur le terrain dans un cadre criminalistique et est jugée adaptée à l'usage prévu. Sous réserve d'une vérification et d'une validation appropriées, cette même méthode peut également être étendue à d'autres cannabinoïdes synthétiques.

Préparation de la solution étalon interne

Peser 20 mg d'acide 1-pyrènebutyrique dans un ballon de 10 ml et diluer avec du méthanol pour obtenir une concentration de 2,0 mg/ml.

Préparation des solutions étalons de cannabinoïdes synthétiques

Peser exactement 5 mg d'analyte dans un ballon de 5 ml et diluer avec du méthanol pour obtenir une solution mère ayant une concentration de 1,0 mg/ml. Pour certains analytes (JWH-018, JWH-019 et JWH-073, par exemple), des solutions ayant des concentrations de 1,0 mg/ml sont disponibles dans le commerce. Réfrigérée, la solution mère peut se conserver au moins un an.

Préparer avec minutie une gamme de concentrations de travail appropriée. Généralement, il faut préparer au moins cinq solutions étalons pour une bonne courbe d'étalonnage linéaire. Il est donné ci-après un exemple de préparation d'une courbe d'étalonnage en 6 points:

Tableau 7. Exemple de préparation d'une courbe d'étalonnage en six points

Niveau d'étalonnage	*Volume de solution mère étalon ajouté (µl)*	*Volume de solution étalon interne ajouté (µl)*	*Volume total après dilution avec du méthanol (ml)*	*Concentration finale d'étalon interne (µg/ml)*	*Concentration finale de cannabinoïdes (µg/ml)*
Niveau 1	10	40	10	8	1
Niveau 2	10	8	2	8	5
Niveau 3	25	4	1	8	25
Niveau 4	50	4	1	8	50
Niveau 5	37,5	2	0,5	8	75
Niveau 6	50	2	0,5	8	100

Préparation des solutions à tester ("mélange végétal" inconnu)

Obtenir un échantillon représentatif de la substance saisie et homogénéiser soigneusement. Peser exactement 200 mg d'échantillon dans un ballon et ajouter 2 ml de méthanol. Extraire sous ultrasons pendant 15 minutes, retourner le ballon au moins 10 fois et centrifuger 2 minutes à 5000 t/mn, ou laisser reposer. Transférer ensuite le liquide dans un autre ballon et répéter l'extraction deux fois avec des portions de 2 ml de méthanol. Prélever environ 2 ml des extraits combinés et filtrer à l'aide d'un filtre à seringue (≤ 0,45 µm). Piper ensuite exactement 50 µl du filtrat et 8 µl de solution étalon interne dans un ballon de 2 ml et diluer avec la phase mobile A. Injecter 5 µl de la solution à tester dans le CLUHP. Effectuer au moins une double analyse.

Conditions de fonctionnement de la CLUHP

Colonne:	Acquity UPLC BEH Phenyl, 100 mm x 2,1 mm, taille des particules 1,7 µm
Phase mobile:	A: 95 % acétonitrile, 4,9 % eau, 0,1 % acide formique B: 95 % eau, 4,9 % acétonitrile, 0,1 % acide formique
Gradient:	0,0 – 12,5 mn 41 % A 12,5 – 20,0 mn 50 % A 20,0 – 23,0 mn 60 % A 23,0 – 27,5 mn 41 % A
Débit:	0,4 ml/mn
Pression:	512 bar
Temp.:	30 °C
Détection:	Réseau de photodiodes, longueurs d'ondes de détection (voir ci-dessous)
Volume d'injection:	5 µl

Note: Les conditions ci-dessus peuvent être modifiées tant qu'il est effectué une validation.

Résultats

L'identification s'effectue en comparant le temps de rétention de l'analyte à celui d'un étalon de référence. L'étalon interne permet d'utiliser l'indice de rétention comme critère d'identification supplémentaire. En outre, il faut comparer le spectre UV de l'analyte à celui d'une solution étalon de référence.

Tableau 8. Temps de rétention et longueurs d'onde de détection en CLUHP pour certains cannabinoïdes synthétiques

Composés	*Temps de rétention (mn)*	*Longueur d'onde de détection (nm)*
JWH-200	1,9	217
AM-1220	2,3	217
Étalon interne	5,7	198/242
AM-694	11,8	209
RCS-4	12,8	209
CP-47,497	13,7	198
JWH-250	15,5	209
JWH-073	16,3	217
CP-47,497-C8	16,6	198
JWH-251	17,0	209
JWH-203	17,6	209
JWH-018	19,2	217
JWH-007	20,0	217
JWH-081	20,6	209
JWH-122	21,9	217
JWH-019	22,5	217
JWH-210	24,0	217

Analyse quantitative

En raison d'interactions possibles de la matrice, il est fortement conseillé de procéder à un étalonnage interne. Il est recommandé, pour l'analyse quantitative, d'utiliser l'aire de pic parce que l'on peut atténuer les effets négatifs de son élargissement. Comme contrôles de précision, on peut utiliser des "mélanges végétaux" caractérisés précédemment.

Notes d'analyse

- La méthode ci-dessus convient aux "mélanges végétaux" qui ont une teneur en cannabinoïdes allant jusqu'à 100 mg/g, ce qui donne des solutions à tester qui ont des concentrations allant jusqu'à 100 µg/ml. Si la teneur est supérieure à 100 mg/g, il faut diluer davantage ou répéter l'analyse avec des échantillons de teneur moindre.
- Cette méthode peut également être utilisée pour les analyses qualitatives, mais n'est pas nécessaire pour la double analyse. Il suffit d'analyser un échantillon unique par homogénat avec extraction ponctuelle directe.

Calculs

Le pourcentage de cannabinoïde synthétique ciblé dans l'échantillon est alors calculé en commençant par tracer une courbe d'étalonnage linéaire du facteur de réponse observé des étalons (aire de pic du cannabinoïde/aire de pic de l'étalon interne) en regard de la concentration d'étalon cannabinoïde utilisée (mg/ml). À partir de la réponse de la solution inconnue à tester et de la valeur correspondante de la courbe d'étalonnage, on peut obtenir le pourcentage de cannabinoïde synthétique présent dans l'échantillon en utilisant la formule ci-après:

$$\%\ \text{cannabinoïde synthétique} = 100 \times \frac{V \times \dfrac{(R_S - b)}{a}}{W_S}$$

Où

V: Volume de solvant d'extraction utilisé (ml)

R_S: Facteur de réponse observé de l'échantillon (aire de pic du cannabinoïde/aire de pic de l'étalon interne)

a: Gradient/pente de la courbe d'étalonnage

b: Point d'intersection de la courbe d'étalonnage

W_S: Poids de l'échantillon (mg)

En général, avec les instruments et logiciels de CPL modernes, il n'est pas nécessaire de calculer la pureté manuellement. D'ordinaire, après l'entrée, par l'opérateur, des concentrations des différents étalons et de la solution inconnue à tester, la courbe d'étalonnage s'établit et les calculs s'effectuent automatiquement, à la fin de l'analyse, pour tout point situé sur la courbe. Généralement, le résultat est alors exprimé en tant que pourcentage de la drogue inconnue présente dans l'échantillon, c'est-à-dire en tant que pureté de ce dernier (poids de l'analyte par rapport à celui de l'échantillon).

5.4.7. Chromatographie en phase liquide avec spectrométrie de masse en tandem (CPL-SM/SM)

La CPL-SM/SM est une technique puissante qui combine les caractéristiques de séparation de la CLHP traditionnelle ou de la CLUHP avec les capacités de détection d'un spectromètre de masse en tandem, ce qui accroît considérablement la sélectivité et réduit les interférences entre les ingrédients actifs et la matrice. Ses faibles limites de détection permettent d'analyser des traces et des échantillons biologiques tels que le sang et les cheveux. Grâce à ses sensibilité et sélectivité élevées, la CPL-SM/SM convient à l'analyse tant qualitative que quantitative de cannabinoïdes synthétiques de faibles concentrations dans des mélanges végétaux complexes.

Il est décrit ci-dessous une méthode d'analyse quantitative que l'on pourra modifier pour de meilleurs résultats. Cette méthode a été testée sur le terrain dans un cadre criminalistique et est jugée adaptée à l'usage prévu. Sous réserve d'une vérification et d'une validation appropriées, cette même méthode peut également être étendue à d'autres cannabinoïdes synthétiques.

Préparation de la solution étalon interne

Peser 200 mg de diphénylamine (DPA) dans un ballon de 2 litres et diluer avec de l'éthanol pour obtenir une concentration de 100 mg/l.

Préparation de la solution mère étalon de cannabinoïdes synthétiques

Préparer une solution mère étalon contenant tous les analytes à quantifier (JWH-018, JWH-019 et JWH-073, par exemple) à des concentrations de 1,0 mg/l et la diphénylamine étalon interne à une concentration de 100 µg/l comme suit:

Piper exactement 100 µl de solution étalon interne à 100 mg/l et 100 µl de solution à 1 g/l de chaque analyte (des concentrations de 1 mg/ml sont disponibles dans le commerce) dans un ballon de 100 ml et diluer avec de l'éthanol. Réfrigérée, la solution mère peut se conserver au moins un an.

Préparation d'une solution étalon de travail de cannabinoïdes synthétiques

Pour préparer les solutions étalons de travail, il faut d'abord diluer 1 000 fois la solution étalon interne de 100 mg/l pour obtenir une concentration de 100 µg/l (solution étalon interne diluée). Cette solution est utilisée pour diluer la solution mère étalon à la concentration désirée.

Préparer avec minutie une gamme de concentrations de travail appropriée. Généralement, il faut préparer au moins cinq solutions étalons pour une bonne courbe d'étalonnage linéaire. Il est donné ci-après un exemple de préparation d'une courbe d'étalonnage en 5 points:

Tableau 9. Exemple de préparation d'une courbe d'étalonnage en cinq points

Niveau d'étalonnage	*Volume de solution mère étalon ajouté (µl)*	*Volume de ballon utilisé pour diluer avec la solution étalon interne diluée (ml)*	*Concentration finale d'étalon interne (µg/l)*	*Concentration finale de cannabinoïdes (µg/l)*
Niveau 1	30	10	100	3
Niveau 2	100	10	100	10
Niveau 3	300	10	100	30
Niveau 4	1 000	10	100	100
Niveau 5	2 000	10	100	200

Préparation des solutions à tester ("mélange végétal" inconnu)

Obtenir un échantillon représentatif de la substance saisie et homogénéiser soigneusement. Peser exactement 100 mg d'échantillon dans un ballon de 50 ml et remplir jusqu'à la marque de solution étalon interne (100 mg/l). Extraire sous ultrasons pendant 5 minutes, retourner le ballon au moins 10 fois et centrifuger 2 minutes à 5 000 t/mn, ou laisser reposer. Prélever une aliquote d'environ 2 ml et filtrer à l'aide d'un filtre à seringue (≤ 0,45 µm). Piper ensuite exactement 50 µl du filtrat dans un ballon de 50 ml et diluer avec de l'éthanol. Injecter 5 µl de la solution à tester dans le CPL-SM/SM. Effectuer au moins une double analyse.

Conditions de fonctionnement de la CPL-SM/SM

CPL:

Colonne:	Colonne d'analyse C18 (100 mm × 2,1 mm, 3,5 µm, par exemple), colonne de protection C18 (100 mm × 2,1 mm, 3,5 µm)
Phase mobile:	0,1% acide formique (A):eau (B):méthanol (C)
Gradient:	Initial A:B:C = 10:70:20, linéaire à 10:5:85 en 10 mn, isocratique 10 mn, retour aux conditions initiales en 1 mn, saturation 4 mn (temps total d'exécution 25 mn)
Débit:	0,2 ml/mn
Temp. colonne:	30 °C
Volume d'injection:	5 µl

SM/SM:

Mode de détection:	Multiple Reaction Monitoring (MRM)
Mode d'ionisation:	Ionisation simultanée par électrospray positif et négatif (ESI^+ et ESI^-)

Tension capillaire:	3,5 kV
Temp. source d'ions:	120 °C
Temp. désolvatation:	350 °C
Gaz cône:	Azote, débit 60 l/h
Gaz de désolvatation:	Azote, débit 650 l/h
Gaz de collision:	Argon

Note: Les conditions ci-dessus peuvent être modifiées tant qu'il est effectué une validation appropriée.

Le tableau suivant montre les données et paramètres de spectrométrie de masse pour certains cannabinoïdes synthétiques et l'étalon interne (DPA):

Tableau 10. Données et paramètres de spectrométrie de masse en CPL-SM/SM pour certains cannabinoïdes synthétiques

Analyte	*Mode d'ionisation*	*Ion précurseur (m/z)*	*Ions produits (m/z)*	*Tension cône (V)*	*Énergie de collision (eV)*
DPA (étalon interne)	ESI^+	170,17	93,26	31	28
JWH-018	ESI^+	342,20	154,99	30	25
			145,07		42
JWH-019	ESI^+	356,15	154,99	34	25
			126,99		44
JWH-073	ESI^+	328,10	155,12	33	22
			126,85		50
JWH-081	ESI^+	372,10	185,25	33	25
			214,29		25
JWH-122	ESI^+	356,35	169,43	29	25
			214,21		25
JWH-200	ESI^+	385,15	154,99	25	20
			114,25		25
JWH-210	ESI^+	370,25	183,46	33	26
			214,40		26
JWH-250	ESI^+	336,20	120,95	25	20
			188,19		16

Analyte	*Mode d'ionisation*	*Ion précurseur (m/z)*	*Ions produits (m/z)*	*Tension cône (V)*	*Énergie de collision (eV)*
AM-2201	ESI^+	360,10	155,37	30	25
			145,14		40
RCS-4	ESI^+	322,20	135,03	25	24
			76,74		50
CP-47,497	ESI^-	317,2	299,08	45	26
			159,59		55

Note: Les ions précurseurs sont détectés comme $[M+H]^+$ en mode ESI^+ ou $[M-H]^-$ en mode ESI^-.

Résultats

L'identification s'effectue en comparant le temps de rétention de l'analyte à celui d'une solution étalon de référence. L'étalon interne permet d'utiliser l'indice de rétention comme critère d'identification supplémentaire. En outre, il faut comparer le rapport des intensités des deux transitions de masse (précurseur→ion produit 1/ précurseur→ion produit 2) d'un analyte à celui d'une solution étalon de référence. Il faut sélectionner des transitions de masse appropriées pour éviter les interférences entre différents analytes, notamment dans les isomères (JWH-019 et JWH-122, par exemple). Partant, même les composés co-éluants peuvent être distingués. Dans certains cas, il peut être nécessaire, pour obtenir une identification non ambiguë, d'enregistrer le spectre de produits d'un précurseur particulier (balayage secondaire). Il faut faire preuve de prudence lorsqu'on identifie des composés régioisomères.

Tableau 11. Temps de rétention en CPL-SM/SM pour certains cannabinoïdes synthétiques

Composés	*Temps de rétention (mn)*
JWH-200	11,7
Diphénylamine (étalon interne)	15,0
AM-2201	16,2
RCS-4	17,0
JWH-250	17,1
JWH-073	17,2
JWH-018	18,1
JWH-081	18,5
JWH-019	18,9
JWH-122	19,0
CP-47,497 (mode ESI^-)	19,2
JWH-210	19,9

Analyse quantitative

En raison de possibles interactions de la matrice et des fonctionnalités propres aux spectromètres de masse, il est fortement conseillé de procéder à un étalonnage interne et il faut étudier les effets de la matrice. Il est recommandé, pour l'analyse quantitative, d'utiliser l'aire de pic parce que l'on peut atténuer les effets négatifs de son élargissement. En général, on utilise habituellement, pour l'analyse quantitative, les transitions de masse les plus intenses (trace primaire, ions produits supérieurs dans le tableau 10), tandis que l'on peut privilégier les transitions de masse moins intenses (trace secondaire, ions produits inférieurs dans le tableau 10) lorsqu'il existe des interférences. Avec cette méthode, on peut également quantifier simultanément des analytes co-éluants. Comme contrôles de précision, on peut utiliser des "mélanges végétaux" caractérisés précédemment.

Calculs

Le pourcentage de cannabinoïde synthétique ciblé dans l'échantillon est alors calculé en commençant par tracer une courbe d'étalonnage linéaire du facteur de réponse observé des étalons (aire de pic du cannabinoïde/aire de pic de l'étalon interne) en regard de la concentration d'étalon cannabinoïde utilisée (mg/ml). À partir de la réponse de la solution inconnue à tester et de la valeur correspondante de la courbe d'étalonnage, on peut obtenir le pourcentage de cannabinoïde synthétique présent dans l'échantillon en utilisant la formule ci-après:

$$\%\ \text{cannabinoïde synthétique} = 100 \times \frac{V \times \dfrac{(R_S - b)}{a}}{W_S}$$

Où

V: Volume de solvant d'extraction utilisé (ml)

R_S: Facteur de réponse observé de l'échantillon (aire de pic du cannabinoïde/aire de pic de l'étalon interne)

a: Gradient/pente de la courbe d'étalonnage

b: Point d'intersection de la courbe d'étalonnage

W_S: Poids de l'échantillon (mg)

En général, avec les instruments et logiciels de CPL modernes, il n'est pas nécessaire de calculer la pureté manuellement. D'ordinaire, après l'entrée, par l'opérateur, des concentrations des différents étalons et de la solution inconnue à tester, la courbe d'étalonnage s'établit et les calculs s'effectuent automatiquement, à la fin de l'analyse, pour tout point situé sur la courbe. Généralement, le résultat est alors exprimé en tant que pourcentage de la drogue inconnue présente dans l'échantillon, c'est-à-dire en tant que pureté de ce dernier (poids de l'analyte par rapport à celui de l'échantillon).

Notes d'analyse

- La méthode ci-dessus convient aux "mélanges végétaux" qui ont une teneur en cannabinoïdes allant jusqu'à 100 mg/g, ce qui donne des solutions à tester qui ont des concentrations allant jusqu'à 200 µg/ml. Si la teneur est supérieure à 100 mg/g, il faut diluer davantage ou répéter l'analyse avec des échantillons de teneur moindre.
- Cette méthode peut également être utilisée pour les analyses qualitatives, mais n'est pas nécessaire pour la double analyse. Il suffit d'analyser un échantillon unique par homogénat avec extraction ponctuelle directe. Cette méthode ne convient pas à l'analyse non ciblée.
- Avec la méthode décrite, on peut détecter simultanément les cannabinoïdes JWH-018, JWH-019, JWH-073, JWH-081, JWH-122, JWH-200, JWH-210, JWH-250, AM-2201, RCS-4 et CP-47,497.
- Il est à noter que le CP-47,497 n'est détecté qu'en mode ions négatifs, tandis que les autres analytes le sont en mode ions positifs.

6. Techniques d'analyse supplémentaires pour l'analyse des cannabinoïdes synthétiques

La présente section décrit brièvement certaines des techniques et approches supplémentaires que l'on peut utiliser pour analyser des cannabinoïdes synthétiques dans des produits végétaux.

6.1. Spectroscopie infrarouge (ATR-IR et FTIR)

En général, il n'est pas possible, sans extraction, d'analyser qualitativement des mélanges végétaux par spectroscopie infrarouge du fait de la complexité de la matrice et de la concentration relativement faible des cannabinoïdes synthétiques présents dans ces produits. Cependant, les cannabinoïdes synthétiques étant généralement fixés sur la matrice végétale, il est dans la plupart des cas possible, avec une extraction, d'obtenir un bon spectre IR après évaporation de l'extrait directement sur la cellule à diamants ATR. Toutefois, les facteurs de corrélation qui sont calculés par le logiciel du spectromètre infrarouge pour les cannabinoïdes synthétiques présents dans les extraits de mélanges végétaux sont légèrement plus faibles que pour les substances pures. Il faut donc impérativement effectuer un contrôle de plausibilité (comparaison visuelle du spectre de référence du cannabinoïde pur à celui de l'extrait d'échantillon analysé).

Pour les saisies de cannabinoïdes synthétiques en poudre, l'analyse spectroscopique infrarouge qualitative est plus simple. La spectroscopie infrarouge peut également être utile pour identifier de nouvelles substances [29]. Pour déterminer la structure de composés inconnus, la spectroscopie infrarouge est très utile, différenciant les isomères lorsqu'il n'est pas possible d'utiliser le piégeage d'ions (SM^n).

6.2. Chromatographie en phase gazeuse à détection infrarouge (CPG/IR)

La CPG/IR combine la puissance de séparation de la CPG et l'identification moléculaire de la FTIR. Comme il existe de nombreuses variantes de cannabinoïdes

synthétiques, la CPG/IR est précieuse pour confirmer l'identité de molécules très similaires telles que les régioisomères, diastéréoisomères et autres molécules isobares qui présentent des spectres SM presque identiques.

6.3. Spectrométrie de masse à ionisation ambiante

Comme les cannabinoïdes synthétiques sont essentiellement fixés sur une matrice végétale, on peut employer des techniques de spectrométrie de masse à ionisation ambiante telles que la spectrométrie de masse à analyse directe en temps réel (SM-ADTR) [30], la photo-ionisation de désorption à pression atmosphérique (PIDPA) [31] ou la spectrométrie de masse à ionisation par électrospray de désorption (SM-IESD) pour échantillonner ces cannabinoïdes directement sur la substance végétale sans avoir à extraire et à préparer des échantillons. La SM-IESD peut également être utilisée en combinaison avec la CCM.

6.4. Spectrométrie de masse à haute résolution (SMHR)

Outre l'identification par des mesures de masse précises, la SMHR peut être utilisée pour déterminer la composition élémentaire de nouvelles molécules de synthèse et calculer les équivalents double liaison ainsi que la masse exacte des ions fragmentés. En outre, elle permet, conjointement au filtrage des défauts de masse, d'effectuer une analyse non ciblée de composés apparentés et d'analogues, ce qui peut être très utile pour dépister des cannabinoïdes synthétiques [32 à 34].

6.5. Spectrométrie de masse à désorption-ionisation laser assistée par matrice et temps de vol (SM-MALDI-TOF)

Une autre possibilité, pour effectuer une analyse qualitative directe de mélanges végétaux, est la spectrométrie de masse à désorption-ionisation laser assistée par matrice et temps de vol. Elle fonctionne de manière simple et rapide, permet d'analyser à haut débit et peut être utilisée pour le "dépistage initial" de substances confisquées [35].

6.6. Spectroscopie à résonance magnétique nucléaire (RMN)

En raison de l'existence d'un grand nombre de cannabinoïdes synthétiques structurellement apparentés, on a besoin d'outils efficaces qui permettent de les différencier. La RMN, à savoir la RMN ^{1}H et la RMN ^{13}C, permet d'identifier, tout en déterminant leur structure, de nouveaux cannabinoïdes synthétiques inconnus. On peut également, pour apporter une preuve définitive de cette structure, pratiquer des expériences bidimensionnelles (H,H-COSY, H,H-NOESY, H,C-HSQC et H,C-HMBC, par exemple). En outre, la RMN peut également être utilisée pour effectuer des déterminations quantitatives. Bien que ce type de spectroscopie soit efficace pour ce qui est d'identifier les analogues, son coût et les compétences techniques requises empêchent de l'appliquer à grande échelle dans les analyses de routine [5 à 7, 9, 17].

7. Isolation et caractérisation chimique de nouveaux cannabinoïdes synthétiques

En raison du grand nombre de nouveaux cannabinoïdes synthétiques, il est très probable qu'un analyste rencontre une substance inconnue dans un produit végétal et suspecte la présence d'un nouveau cannabinoïde synthétique. Cependant, il peut être difficile d'identifier cette substance inconnue sans étalons et spectres de référence disponibles dans le commerce, et sans textes scientifiques pertinents. Pour identifier cette nouvelle substance, par conséquent, il faut d'abord l'isoler à partir du mélange végétal en un composé pur/enrichi, puis utiliser diverses techniques d'analyse pour la caractériser. La figure II ci-dessous décrit une approche générale de l'isolation et de la caractérisation d'un nouveau cannabinoïde synthétique.

Isolation d'un nouveau composé

La première étape consiste à identifier un solvant approprié (méthanol, éthanol, acétonitrile, acétate d'éthyle, acétone ou iso-octane, par exemple) pour extraire le cannabinoïde inconnu du produit végétal. L'extraction doit inclure une sonication et l'extrait doit être filtré. L'extrait doit ensuite être soumis à une chromatographie préparatoire/flash (colonne de gel de silice, CCM ou CPL préparatoire, par exemple) pour obtenir une fraction contenant le cannabinoïde inconnu ciblé. À l'analyse CCM (visualisation par lumière UV et/ou d'autres réactifs — Fast Blue RR, iode, iodoplatinate, par exemple), cette fraction doit présenter une tache unique. Enfin, il faut concentrer la fraction contenant le composé pur/enrichi et l'utiliser pour caractériser ensuite le cannabinoïde inconnu.

Caractérisation d'un nouveau composé

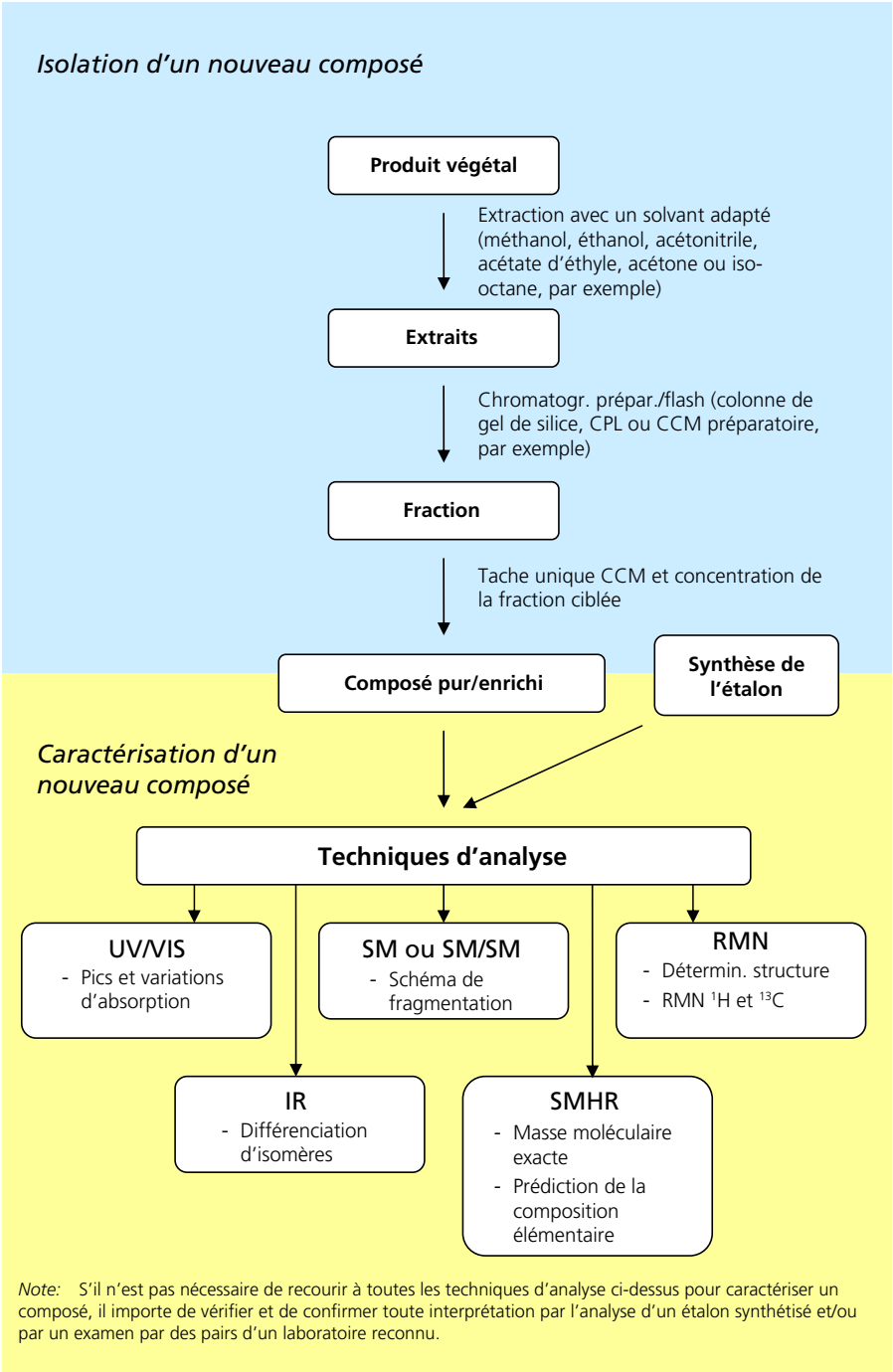
Il existe, pour caractériser un cannabinoïde inconnu, diverses techniques. On peut, pour déterminer sa structure sans ambiguïté, combiner des techniques telles que la SMHR et la RMN. Des techniques telles que l'IR et SM/SM peuvent être utiles pour obtenir d'autres informations structurelles, notamment différencier des isomères ou des diastéréoisomères.

Avec ces techniques, on peut déduire la structure du cannabinoïde inconnu et, à partir de là, synthétiser un étalon de référence (non disponible dans le commerce).

Cet étalon doit être analysé en utilisant les mêmes techniques et dans les mêmes conditions. Si l'analyse de l'étalon donne les mêmes résultats, on peut confirmer la structure déduite du cannabinoïde inconnu. Avec les techniques UV/VIS, cependant, l'obtention de spectres identiques de l'échantillon et de l'étalon ne confirme pas l'identité du composé. À l'inverse, l'obtention de spectres dissemblables confirme que le composé est bien différent de l'étalon.

S'il n'est pas nécessaire de recourir à toutes les techniques d'analyse ci-dessus pour caractériser un composé, il importe de vérifier et de confirmer toute interprétation par l'analyse d'un étalon synthétisé et/ou par un examen par des pairs d'un laboratoire reconnu. Une collaboration avec le milieu universitaire peut également être utile, la plupart des laboratoires de criminalistique ne disposant pas couramment de certains instruments perfectionnés (RMN, SMHR, par exemple) pour leurs opérations de routine.

Figure II. Schéma illustrant l'isolation et la caractérisation chimique d'un nouveau cannabinoïde synthétique



Note: S'il n'est pas nécessaire de recourir à toutes les techniques d'analyse ci-dessus pour caractériser un composé, il importe de vérifier et de confirmer toute interprétation par l'analyse d'un étalon synthétisé et/ou par un examen par des pairs d'un laboratoire reconnu.

8. Références

1. Auwärter, V., Dresen, S., Weinmann, W., Müller, M., Pütz, M. et Ferreiros, N., “Spice and other herbal blends: harmless incense or cannabinoid designer drugs?” *Journal of Mass Spectrometry*, 2009. 44(5): p. 832 à 837.

2. Uchiyama, N., Kikura-Hanajiri, R., Kawahara, N., Haishima, Y. et Goda, Y., “Identification of a cannabinoid analog as a new type of designer drug in a herbal product”. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* (Tokyo), 2009. 57(4): p. 439 à 441.

3. Dresen, S., Ferreiros, N., Pütz, M., Westphal, F., Zimmermann, R. et Auwärter, V., “Monitoring of herbal mixtures potentially containing synthetic cannabinoids as psychoactive compounds”. *Journal of Mass Spectrometry*, 2010. 45(10): p. 1186 à 1194.

4. EMCDDA, *Thematic Papers—Understanding the ‘Spice’ Phenomenon,* 2009; disponible sur http://www.emcdda.europa.eu/publications/thematic-papers/spice (consulté le 17.03.2013).

5. Ernst, L., Schiebel, H. M., Theuring, C., Lindigkeit, R. et Beuerle, T., “Identification and characterization of JWH-122 used as new ingredient in ‘Spice-like’ herbal incenses”. *Forensic Science International*, 2011. 208(1-3): p. e31 à e35.

6. Jankovics, P., Varadi, A., Tolgyesi, L., Lohner, S., Nemeth-Palotas, J. et Balla, J., “Detection and identification of the new potential synthetic cannabinoids 1-pentyl-3-(2-iodobenzoyl)indole and 1-pentyl-3-(1-adamantoyl)indole in seized bulk powders in Hungary”. *Forensic Science International*, 2012. 214(1-3): p. 27 à 32.

7. Kneisel, S., Westphal, F., Bisel, P., Brecht, V., Broecker, S. et Auwärter, V., “Identification and structural characterization of the synthetic cannabinoid 3-(1-adamantoyl)-1-pentylindole as an additive in ‘herbal incense’”. *Journal of Mass Spectrometry*, 2012. 47(2): p. 195 à 200.

8. Lindigkeit, R., Boehme, A., Eiserloh, I., Luebbecke, M., Wiggermann, M., Ernst, L. et Beuerle, T., “Spice: a never ending story?” *Forensic Science International*, 2009. 191(1-3): p. 58 à 63.

9. Moosmann, B., Kneisel, S., Girreser, U., Brecht, V., Westphal, F. et Auwärter, V., "Separation and structural characterization of the synthetic cannabinoids JWH-412 and 1-[(5-fluoropentyl)-1H-indol-3yl]-(4-methylnaphthalen-1-yl) methanone using GC-MS, NMR analysis and a flash chromatography system". *Forensic Science International*, 2012. 220(1-3): p. e17 à e22.

10. Nakajima, J., Takahashi, M., Nonaka, R., Seto, T., Suzuki, J., Yoshida, M., Kanai, C. et Hamano, T., "Identification and quantitation of a benzoylindole (2-methoxyphenyl)(1-pentyl-1H-indol-3-yl)methanone and a naphthoylindole 1-(5-fluoropentyl-1H-indol-3-yl)-(naphthalene-1-yl)methanone (AM-2201) found in illegal products obtained via the Internet and their cannabimimetic effects evaluated by in vitro [S-35]GTP gamma S binding assays". *Forensic Toxicology*, 2011. 29(2): p. 132 à 141.

11. Nakajima, J., Takahashi, M., Seto, T., Kanai, C., Suzuki, J., Yoshida, M. et Hamano, T., "Identification and quantitation of two benzoylindoles AM-694 and (4-methoxyphenyl)(1-pentyl-1H-indol-3-yl)methanone, and three cannabimimetic naphthoylindoles JWH-210, JWH-122, and JWH-019 as adulterants in illegal products obtained via the Internet". *Forensic Toxicology*, 2011. 29(2): p. 95 à 110.

12. Nakajima, J., Takahashi, M., Seto, T. et Suzuki, J., "Identification and quantitation of cannabimimetic compound JWH-250 as an adulterant in products obtained via the Internet". *Forensic Toxicology*, 2011. 29(1): p. 51 à 55.

13. Nakajima, J., Takahashi, M., Seto, T., Yoshida, M., Kanai, C., Suzuki, J. et Hamano, T., "Identification and quantitation of two new naphthoylindole drugs-of-abuse, (1-(5-hydroxypentyl)-1H-indol-3-yl)(naphthalen-1-yl)methanone (AM-2202) and (1-(4-pentenyl)-1H-indol-3-yl)(naphthalen-1-yl)methanone, with other synthetic cannabinoids in unregulated 'herbal' products circulated in the Tokyo area". *Forensic Toxicology*, 2012. 30(1): p. 33 à 44.

14. Uchiyama, N., Kawamura, M., Kikura-Hanajiri, R. et Goda, Y., "Identification and quantitation of two cannabimimetic phenylacetylindoles JWH-251 and JWH-250, and four cannabimimetic naphthoylindoles JWH-081, JWH-015, JWH-200, and JWH-073 as designer drugs in illegal products". *Forensic Toxicology*, 2011. 29(1): p. 25 à 37.

15. Uchiyama, N., Kikura-Hanajiri, R. et Goda, Y., "Identification of a novel cannabimimetic phenylacetylindole, cannabipiperidiethanone, as a designer drug in a herbal product and its affinity for cannabinoid CB(1) and CB(2) receptors". *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* (Tokyo), 2011. 59(9): p. 1203 à 1205.

16. Uchiyama, N., Kikura-Hanajiri, R., Ogata, J. et Goda, Y., "Chemical analysis of synthetic cannabinoids as designer drugs in herbal products". *Forensic Science International*, 2010. 198(1-3): p. 31 à 38.

17. Westphal, F., Sonnichsen, F. D. et Thiemt, S., "Identification of 1-butyl-3-(1-(4-methyl)naphthoyl)indole in a herbal mixture". *Forensic Science International*, 2012. 215(1-3): p. 8 à 13.

18. Kneisel, S., Bisel, P., Brecht, V., Broecker, S., Müller, M. et Auwärter, V., "Identification of the cannabimimetic AM-1220 and its azepane isomer (N-methylazepan-3-yl)-3-(1-naphthoyl)indole in a research chemical and several herbal mixtures". *Forensic Toxicology*, 2012. 30(2): p. 126 à 134.

19. Hudson, S. et Ramsey, J., "The emergence and analysis of synthetic cannabinoids". *Drug Testing and Analysis*, 2011. 3(7-8): p. 466 à 478.

20. Howlett, A. C., *et al.*, "International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors". *Pharmacological Reviews*, 2002. 54(2): p. 161 à 202.

21. Ernst, L., Krüger, K., Lindigkeit, R., Schiebel, H. M. et Beuerle, T., "Synthetic cannabinoids in 'spice-like' herbal blends: first appearance of JWH-307 and recurrence of JWH-018 on the German market". *Forensic Science International*, 2012. 222(1-3): p. 216 à 222.

22. ACMD, "Consideration of the Major Cannabinoid Agonists". 16th July 2009; disponible sur http://www.namsdl.org/documents/ACMDMajorCannabinoid-Report.pdf (consulté le 17.03.2013).

23. Uchiyama, N., Kawamura, M., Kikura-Hanajiri, R. et Goda, Y., "Identification of two new-type synthetic cannabinoids, N-(1-adamantyl)-1-pentyl-1H-indole-3-carboxamide (APICA) and N-(1-adamantyl)-1-pentyl-1H-indazole-3-carboxamide (APINACA), and detection of five synthetic cannabinoids, AM-1220, AM-2233, AM-1241, CB-13 (CRA-13), and AM-1248, as designer drugs in illegal products". *Forensic Toxicology*, 2012. 30(2): p. 114 à 125.

24. Ginsburg, B. C., McMahon, L. R., Sanchez, J. J. et Javors, M. A., "Purity of synthetic cannabinoids sold online for recreational use". *Journal of Analytical Toxicology*, 2012. 36(1): p. 66 à 68.

25. Valoti, E., Casagni, E., Dell'acqua, L., Pallavicini, M., Roda, G., Rusconi, C., Straniero, V. et Gambaro, V., "Identification of 1-butyl-3-(1-(4-methyl)naphtoyl)indole detected for the first time in 'herbal high' products on the Italian market". *Forensic Science International*, 2012. 223(1-3): p. e42 à e46.

26. Kavanagh, P., Grigoryev, A., Savchuk, S., Mikhura, I. et Formanovsky, A., "UR-144 in products sold via the Internet: Identification of related compounds and characterization of pyrolysis products". *Drug Testing and Analysis*, 2013 [publication électronique avant impression].

27. Zuba, D., Byrska, B. et Maciow, M., "Comparison of 'herbal highs' composition". *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2011. 400(1): p. 119 à 126.

28. Logan, B. K., Reinhold, L. E., Xu, A. et Diamond, F. X., "Identification of synthetic cannabinoids in herbal incense blends in the United States". *Journal of Forensic Science*, 2012. 57(5): p. 1168 à 1180.

29. Kneisel, S., Westphal, F., Rösner, P., Ewald, A., Klein, B., Pütz, M., Thiemt, S. et Auwärter, V., "Cannabinoidmimetika: Massenspektren und IR-ATR-Spektren neuer Verbindungen aus den Jahren 2009/2010". Toxichem Krimtech, *Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie,* 2011. 78(1): p. 23 à 35.

30. Musah, R. A., Domin, M. A., Walling, M. A. et Shepard, J. R., "Rapid identification of synthetic cannabinoids in herbal samples via direct analysis in real time mass spectrometry". *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2012. 26(9): p. 1109 à 1114.

31. Kauppila, T. J., Flink, A., Haapala, M., Laakkonen, U. M., Aalberg, L., Ketola, R. A. et Kostiainen, R., "Desorption atmospheric pressure photoionization-mass spectrometry in routine analysis of confiscated drugs". *Forensic Science International*, 2011. 210(1-3): p. 206 à 212.

32. Grabenauer, M., Krol, W.L., Wiley, J. L. et Thomas, B. F., "Analysis of synthetic cannabinoids using high-resolution mass spectrometry and mass defect filtering: implications for nontargeted screening of designer drugs". *Analytical Chemistry*, 2012. 84(13): p. 5574 à 5581.

33. Hudson, S., Ramsey, J., King, L., Timbers, S., Maynard, S., Dargan, P. I. et Wood, D. M., "Use of high-resolution accurate mass spectrometry to detect reported and previously unreported cannabinomimetics in 'herbal high' products". *Journal of Analytical Toxicology*, 2010. 34(5): p. 252 à 260.

34. Sekula, K., Zuba, D. et Stanaszek, R., "Identification of naphthoylindoles acting on cannabinoid receptors based on their fragmentation patterns under ESI-QTOFMS". *Journal of Mass Spectrometry*, 2012. 47(5): p. 632 à 643.

35. Gottardo, R., Chiarini, A., Dal Pra, I., Seri, C., Rimondo, C., Serpelloni, G., Armato, U. et Tagliaro, F., "Direct screening of herbal blends for new synthetic cannabinoids by MALDI-TOF MS". *Journal of Mass Spectrometry*, 2012. 47(1): p. 141 à 146.

ONUDC
Office des Nations Unies
contre la drogue et le crime

Centre international de Vienne, Boîte postale 500, 1400 Vienne, Autriche
Téléphone: (+43-1) 26060-0, Télécopie: (+43-1) 26060-5866, www.unodc.org

V.13-84936