

**DIVISION DES STUPÉFIANTS**  
Vienne

**MÉTHODES  
RECOMMANDÉES  
POUR L'IDENTIFICATION  
DE L'AMPHÉTAMINE  
ET DE LA  
MÉTAMPHÉTAMINE**

**MANUEL A L'USAGE  
DES LABORATOIRES NATIONAUX  
DE STUPÉFIANTS**



**NATIONS UNIES**  
New York, 1988

ST/NAR/9

## TABLE DES MATIERES

	<u>Page</u>
INTRODUCTION	1
I. DESCRIPTION DES COMPOSES A L'ETAT PUR	4
II. PRODUCTION ET CARACTERISTIQUES CHIMIQUES DE L'AMPHETAMINE ET DE LA METAMPHETAMINE DE FABRICATION ILLICITE	6
III. APPARENCE EXTERIEURE DE L'AMPHETAMINE ET DE LA METAMPHETAMINE ILLICITES	9
IV. ANALYSE DES SUBSTANCES CONTENANT DE L'AMPHETAMINE OU DE LA METAMPHETAMINE	10
A. Prélèvement d'échantillons	10
1. Poudres	10
a) Prélèvement d'échantillons dans un seul emballage	10
b) Prélèvement d'échantillons dans plusieurs emballages	11
c) Prélèvement d'échantillons de substances contenant des agrégats visqueux ou volumineux	12
2. Comprimés et capsules - Préparations commerciales ou licites	12
a) Un seul emballage	12
b) Plusieurs emballages	12
3. Comprimés et capsules - Origine illicite	13
a) Un seul emballage	13
b) Plusieurs emballages	13
4. Solutions aqueuses - Origine illicite	14
a) Un seul emballage	14
b) Plusieurs emballages	14
5. Résidus des seringues ou de la verrerie des laboratoires clandestins	14
B. Tests d'identification présomptive	15
1. Tests de coloration	15
a) Réactif de Marquis	15
b) Réactif à la ninhydrine	15
c) Réactif de Simon	15

	<u>Page</u>
C. Chromatographie sur couche mince	16
D. Chromatographie gaz-liquide	18
1. Technique de la colonne à remplissage	18
a) Système A - sans formation de dérivés	18
b) Système B - avec formation de dérivés	19
2. Technique de la colonne capillaire	20
E. Chromatographie en phase liquide à haute pression	21
1. Technique isocratique	21
a) Phase normale	21
b) Phase inversée	21
F. Spectroscopie infrarouge	23
G. Analyse des isomères optiques	28
1. Différenciation des formes l, d et dl de l'amphétamine par réaction microcristalline	28
2. Différenciation des formes d et dl de la métamphétamine par réaction microcristalline	29
3. Différenciation des isomères optiques de l'amphétamine par la spectroscopie infrarouge	29
4. Autres méthodes permettant de distinguer les isomères optiques de l'amphétamine de ceux de la métamphétamine	32
H. Analyse des impuretés de l'amphétamine et de la métamphétamine	33
1. Extraction et préparation de l'échantillon	33
2. Chromatographie sur couche mince	33
3. Chromatographie gaz-liquide	34
4. Chromatographie en phase liquide à haute pression	34

## INTRODUCTION

### Historique

Depuis quelques années, on constate une très forte augmentation du nombre des substances inscrites aux tableaux des conventions et placées sous contrôle international. Cette augmentation reflète la diversification rapide des drogues dont il est fait abus et, en conséquence, l'intensification des mesures de réglementation qui font, d'une part, que les substances placées sous contrôle sont plus nombreuses et, d'autre part, que les dispositions législatives et pénales en vigueur dans les divers pays sont plus satisfaisantes mais en même temps plus rigoureuses. Parallèlement, les saisies de drogues déjà placées sous contrôle (opiacés, cocaïne, pâte de coca, produits à base de cannabis, amphétamines et composés apparentés) ont aussi augmenté de façon alarmante et sans précédent dans certaines régions. Cette situation nouvelle, caractérisée par un accroissement tant de la fréquence que du volume des saisies, pose un problème difficile non seulement aux services nationaux de répression, mais aussi au personnel scientifique et technique des laboratoires médico-légaux.

Les producteurs et les trafiquants font preuve de tant d'ingéniosité que de nouvelles drogues ou combinaisons de drogues illicites apparaissent de façon inattendue sur le marché illicite, ce qui oblige les chimistes légistes à agir rapidement et efficacement en faisant preuve eux aussi d'ingéniosité. De même, la multiplication des substances placées sous contrôle et des dispositions législatives correspondantes apporte un surcroît de travail aux laboratoires des stupéfiants et aux laboratoires médico-légaux, ainsi qu'à leur personnel. Les analystes doivent manipuler un plus grand nombre de substances et de préparations, et ils doivent aussi utiliser des méthodes d'identification et d'analyse plus rapides, plus précises et plus spécifiques. De plus, le caractère international du trafic de drogues exige l'échange rapide de données analytiques entre les laboratoires et les services de répression des délits, aux niveaux tant national qu'international. Ces objectifs seraient beaucoup plus faciles à atteindre si l'on mettait au point des méthodes d'analyse internationalement acceptables. Cette question est d'ailleurs à l'étude depuis quelque temps déjà.

A sa huitième session extraordinaire, en février 1984, la Commission des stupéfiants a demandé au Secrétaire général "d'étudier la possibilité de parvenir à un accord aux niveaux régional et interrégional sur l'adoption de méthodes d'analyse des drogues saisies". La Commission a estimé qu'un examen plus poussé et une harmonisation des nombreuses méthodes d'analyse en usage dans les pays faciliteraient la tâche du personnel des organismes nationaux, mais aussi les échanges d'informations aux niveaux régional et interrégional.

### Objectif du manuel

Pour donner suite à la demande de la Commission, la Division des stupéfiants a réuni un groupe de 11 experts et 2 consultants à l'invitation du Gouvernement malaisien à Kuala-Lumpur, en septembre 1986. Le présent manuel, publié par la Division des stupéfiants de l'Organisation des Nations Unies, rend compte des conclusions du groupe d'experts et a pour but d'aider pratiquement les autorités nationales par la description des méthodes recommandées aux laboratoires médico-légaux pour l'analyse et l'identification des produits amphétaminiques et métamphétaminiques. Il pourra aussi servir de guide aux autorités nationales dans l'évaluation des méthodes appliquées par les laboratoires d'Etat et par ceux des universités.

Le présent ouvrage est le quatrième d'une série qui traite de l'analyse et de l'identification de divers groupes de drogues placées sous contrôle international; il a été précédé de manuels sur l'analyse de l'héroïne (ST/NAR/6), de la cocaïne (ST/NAR/7) et du cannabis (ST/NAR/8).

Ces manuels proposent à l'analyste médico-légiste des méthodes propres à lui faciliter le choix de la technique qui convient à l'échantillon examiné. L'analyste peut ensuite opter pour une des méthodes décrites, car chacune donnera des informations analytiques sûres sur les échantillons auxquels elle est appliquée. Chaque méthode est utilisée depuis plusieurs années dans des laboratoires médico-légaux réputés et a été exposée dans des publications scientifiques. Quant il a sélectionné ces méthodes, le groupe d'experts n'ignorait pas que de nombreuses autres, à la fois utiles et acceptables, donnaient une analyse et des renseignements valables à l'analyste médico-légiste et que d'autres méthodes aussi satisfaisantes étaient décrites dans les publications médico-légales.

#### Utilisation du manuel

Peu de méthodes sont parfaites et moins que toutes celles qui servent à l'analyse médico-légale des drogues où l'on doit s'attendre à de notables variations de la forme physique et de la composition chimique des substances examinées. Il appartient à l'analyste qui travaille dans son propre pays de décider de la méthodologie à suivre et de l'optique à adopter. L'analyste est seul à avoir vu la substance suspecte, et il est mieux placé que quiconque pour juger de la manière correcte d'aborder le problème. De plus, le choix des méthodes diffère nécessairement selon les matériaux de référence et les moyens existants.

Il n'est pas nécessaire d'appliquer toutes les méthodes décrites à tous les échantillons supposés contenir de l'amphétamine ou de la métamphétamine. Les exigences pourront différer car il faut, entre autres choses, tenir compte de la variabilité des échantillons recueillis à tel ou tel endroit, des installations disponibles et des preuves normalement admises par le système judiciaire qui est celui de l'analyste. Les méthodes les plus complexes ne s'imposent que pour répondre à certaines exigences médico-légales, par exemple pour comparer des échantillons ou en déterminer la provenance.

Pour identifier une drogue placée sous contrôle, il faudrait au moins disposer de deux paramètres analytiques indépendants. Chaque fois, ces paramètres devraient être choisis en fonction de la drogue considérée et des moyens de laboratoire à la disposition de l'analyste. C'est ainsi que deux systèmes CCM distincts compteraient comme deux paramètres. Par systèmes CCM distincts on entend ici que les systèmes de solvants ou les couches étalées sur les plaques sont entièrement différents. Si possible, on utilisera trois techniques analytiques différentes, par exemple : test de coloration, chromatographie (CCM, CGL ou CLHP) et spectroscopie (IR ou UV). Dans la pratique, le choix des paramètres est laissé à la discrétion du chimiste.

L'attention est également attirée sur l'importance capitale des ouvrages traitant des drogues dont il est fait abus et des techniques analytiques. En outre, l'analyste doit suivre constamment l'évolution des tendances et prendre régulièrement connaissance de ce qui se publie sur les analyses et les questions médico-légales. A cet égard, il y a lieu de signaler l'existence du Dictionnaire multilingue des stupéfiants et des substances psychotropes placés sous contrôle international (ST/NAR/1), outil indispensable dans un laboratoire médico-légal, et du manuel intitulé Compétences requises et

équipement de base pour un laboratoire de stupéfiants (ST/NAR/2) publiés l'un et l'autre par la Division des stupéfiants. On trouvera dans cette dernière publication des indications bibliographiques et une sélection de revues spécialisées réputées. Il serait bon que les analystes se reportent à ces ouvrages et aux précédents manuels de la même série où ils trouveront décrites dans leurs grandes lignes les techniques d'analyse exposées ici.

Des relations étroites entre les services nationaux de répression et les autorités judiciaires, ainsi qu'entre les laboratoires nationaux et régionaux des stupéfiants peuvent conduire à une meilleure connaissance des tendances les plus récentes dans la présentation des drogues, le trafic illicite, les techniques de contrebande et l'établissement des preuves à présenter devant les tribunaux. Il sera ainsi possible de faire un choix plus judicieux des techniques analytiques à appliquer aux dernières substances présentées.

Il est tout aussi important de diffuser rapidement les dernières informations sur les changements apportés aux drogues disponibles sur le marché illicite. Mieux vaut souvent le faire avant de publier un article dans des périodiques spécialisés dans les analyses médico-légales ou autres analyses chimiques, car ces publications n'atteignent les milieux médico-légaux que deux ou trois ans après qu'on a connaissance de ces changements. On ne saurait trop insister sur l'intérêt de la diffusion fréquente de rapports nationaux signalant le dernier état de l'évolution des drogues, mais aussi les travaux en cours et les résultats des analyses faites dans les divers laboratoires.

Toutes observations sur le contenu et l'utilité du présent manuel seront les bienvenues. On peut adresser observations et suggestions à l'adresse suivante :

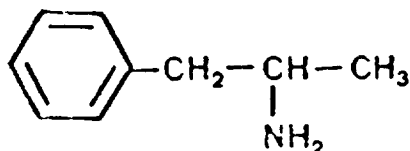
Division des stupéfiants  
Organisation des Nations Unies  
Centre international de Vienne  
B.P. 500  
A-1400 Vienne  
Autriche

I. DESCRIPTION DES COMPOSES A L'ETAT PUR

<u>AMPHETAMINE</u>	<u>Point d'ébullition (°C)</u>	
Amino-2 phényl-1 propane	d	203 - 204
α-méthylbenzèneéthanamine	l	----
α-méthylphénéthylamine	dl	200 - 203

Substances inscrites aux tableaux en application de la "Convention de 1971 sur les substances psychotropes"

AMPHETAMINE = (dl), (+) mélange racémique  
 DEXAMPHETAMINE = (d-), (+), (S) isomère  
 LEVAMPHETAMINE = (l-), (-), (R) isomère



C<sub>9</sub>H<sub>13</sub>N  
 Poids mol. = 135,2

<u>PHOSPHATE D'AMPHETAMINE</u>	<u>Point de fusion (°C)</u>	
C <sub>9</sub> H <sub>13</sub> N.H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	d	300 (décomp)
Poids mol. = 233,2	l	----
	dl	300 (décomp)

<u>SULFATE D'AMPHETAMINE</u>	<u>Point de fusion (°C)</u>	
(C <sub>9</sub> H <sub>13</sub> N) <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	d	300 (décomp)
Poids mol. = 368,5	l	----
	dl	280 - 281

SOLUBILITE

	<u>Base</u>	<u>Phosphate</u>	<u>Sulfate</u>
Eau	Peu soluble	Soluble	Soluble
Ethanol	Soluble	Peu soluble	Peu soluble
Ether éthylique	Soluble	Insoluble	Quasi insoluble
Chloroforme	Soluble	Insoluble	Insoluble



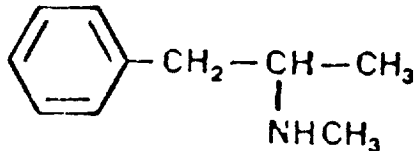
METAMPHETAMINE

Point d'ébullition (°C)

Méthylamino-2-phényl-1 propane	d	208 - 210
N, $\alpha$ -diméthylbenzeneethanamine	l	210
N, $\alpha$ -diméthylphénéthylamine	dl	209 - 210
N, -méthylamphétamine		
Méthylamphétamine		
Phenylisopropylméthylamine		

Substances inscrites aux tableaux en application de la "Convention de 1971 sur les substances psychotropes"

METAMPHETAMINE = (d-), (+), (S) isomère  
 LEVOMETAMPHETAMINE = (l-), (-), (R) isomère



C<sub>10</sub>H<sub>15</sub>N  
 Poids mol. = 149,2

CHLORHYDRATE DE METAMPHETAMINE

Point de fusion (°C)

C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> N.HCl	d	170 - 175
Poids mol. = 185,7	l	170 - 171
	dl	131 - 135

SOLUBILITE

	<u>Base</u>	<u>Chlorhydrate</u>
Eau	Peu soluble	Soluble
Ethanol	Soluble	Soluble
Ether éthylique	Soluble	Insoluble
Chloroforme	Soluble	Soluble

## II. PRODUCTION ET CARACTERISTIQUES CHIMIQUES DE L'AMPHETAMINE ET DE LA METAMPHETAMINE DE FABRICATION ILLICITE

Une bonne partie des produits amphétaminiques et métamphétaminiques que l'on trouve sur le marché illicite ont été détournés des circuits licites, mais la plupart sont produits dans des laboratoires clandestins. Les bases libres de l'amphétamine et de la métamphétamine sont des liquides assez peu stables. On les trouve donc maintenant le plus souvent en poudre, sous forme de sulfate ou de phosphate d'amphétamine ou de chlorhydrate de métamphétamine. Dans certains pays, on offre des solutions aqueuses de chlorhydrate de métamphétamine couramment appelées "gold fish"; des comprimés produits illicitement sont aussi largement utilisés. L'amphétamine de fabrication illicite est encore très courante sur le marché européen, mais en Amérique du Nord et au Japon, on préfère la métamphétamine.

Les échantillons d'amphétamine et de métamphétamine d'origine illicite se caractérisent par le fait que leur qualité n'est pas contrôlée et que leur degré d'activité varie. Ils contiennent souvent des sous-produits et des intermédiaires parce que la substance de départ était impure, la réaction a été incomplète ou les intermédiaires et le produit synthétique fini n'ont pas été correctement purifiés. Ces sous-produits et intermédiaires peuvent donner des informations intéressantes sur les méthodes de fabrication illicite. Il importe pour plusieurs raisons de connaître les impuretés : on peut en évaluer les effets nocifs, faire connaître au public les risques qu'elles présentent et, le cas échéant, prévoir un traitement. La présence ou l'absence de telle ou telle impureté aide à déterminer la méthode de synthèse employée, à savoir si les échantillons sont tous de même origine et s'ils sont de production licite ou illicite. Il est bon que l'analyste légiste soit au courant de la présence de certaines impuretés, car elles peuvent jouer un rôle dans les techniques employées pour analyser la pièce à conviction.

Le type et les quantités d'impuretés présentes dépendent de la méthode de synthèse, des proportions et de l'origine des matières premières, de la durée et de la température des réactions, des conditions d'hydrolyse des intermédiaires et des procédés de purification éventuellement utilisés. La plupart des impuretés sont faiblement basiques ou neutres et constituent normalement moins de 2 à 3 % du produit fini.

Il existe de nombreuses méthodes de synthèse illicite de l'amphétamine et de la métamphétamine. La réaction de Leuckart est la plus courante, car elle permet une synthèse simple, rapide, de bon rendement et sans grand danger. On peut considérer trois phases dans cette réaction : la formylation, l'hydrolyse et la purification. Pour l'amphétamine, la condensation de phénylpropanone (benzylméthylcétone, BMC) avec la formamide, parfois en présence d'acide formique ou si l'on utilise du formiate d'ammonium, donne un certain nombre de produits de réaction secondaires. La deuxième phase consiste à hydrolyser le produit intermédiaire, la N-formylamphétamine, à l'aide d'acide sulfurique. Pour la dernière phase - celle de la purification - on procède soit à la distillation à la vapeur d'eau, soit à l'extraction de l'amphétamine base à l'aide d'éther et à la précipitation du sulfate d'amphétamine, suivie d'un lavage avec un ou deux solvants organiques ou d'une recristallisation du sulfate, ou encore des deux opérations.

On peut préparer la métamphétamine selon un procédé analogue en utilisant, au stade de la condensation, de la méthylamine et de l'acide formique ou du N-méthylformamide. La réaction de Leuckart a été étudiée en

détail et l'on a constaté que la N-formylamphétamine ou N-formylmétamphétamine et la méthyl-4 phényl-5 pyrimidine étaient les principales impuretés propres à cette méthode. Elles sont normalement présentes en proportions inférieures à 1 %. Depuis quelque temps, on utilise de l'acide formique pour cette réaction et les principales impuretés sont alors : N,N-di( $\beta$ -phénylisopropyl) amine (DPIA) et N-formyl DPIA pour l'amphétamine et N,N-di( $\beta$ -phénylisopropyl) méthylamine (DPIMA) et N-formyl-DPIMA pour la métamphétamine. On en a trouvé jusqu'à 3 %. Bien d'autres impuretés, y compris des pyridines à point d'ébullition plus élevé, ont été trouvées. Bien que la phénylpropanone soit disponible dans le commerce, certains pays en contrôlent la distribution. Une synthèse clandestine, à partir d'acide phénylacétique et d'anhydride acétique, donne de la dibenzylcétone comme sous-produit. Des impuretés comme celle-là en introduisent d'autres dans le produit fini. Ainsi, on a détecté dans l'amphétamine et la métamphétamine fabriquées à partir de phénylpropanone impure, de l'alpha-benzylphénéthylamine et de l'alpha-benzyl-N-méthylphénéthylamine. Pour ces deux sous-produits, la DL<sub>50</sub> est inférieure à celle de l'amphétamine, ce qui montre bien le danger potentiel des drogues impures "du trottoir".

D'autres méthodes de synthèse de l'amphétamine et de la métamphétamine ne donnent pas autant d'impuretés spécifiques.

Dans certains pays, on prépare de l'amphétamine suivant la méthode de réduction par amination, pour laquelle on fait réagir de la phénylpropanone et une suspension de nickel de Raney sur un mélange de gaz ammoniac et d'hydrogène. A ce jour, on n'a connaissance que d'amination à basse pression et à basse température. Pour autant que l'on sache, les autres réducteurs utilisés sont le platine, la poudre d'aluminium avec du HgCl<sub>2</sub> et le zinc nickelé. On peut aussi préparer de la métamphétamine par cette méthode en utilisant de la méthylamine. Les principales impuretés sont des bases de Schiff, dont l'une se forme vraisemblablement par condensation de la phénylpropanone et de l'amphétamine. Elles ne sont donc pas propres à une méthode ou à une autre, mais peuvent résulter de toute synthèse où intervient la phénylpropanone. Les impuretés minérales dues à l'utilisation de catalyseurs déterminés peuvent servir de marqueurs.

Il existe deux autres méthodes courantes : celle de l'"oximation", où l'oxime résulte de la réaction de l'hydroxylamine sur la phénylpropanone et est ensuite hydrogénée, et celle du "nitrostyrène", qui donne le nitrostyrène comme produit intermédiaire par condensation de la phénylpropanone au contact du nitroéthane. L'hydrogénation de la double liaison et la réduction du groupe nitro de l'intermédiaire donnent de l'amphétamine. Avec ces deux méthodes, la principale impureté est la benzylméthyl-cétoxime. Elle apparaît dans la méthode de l'oximation parce que la réaction est incomplète et dans celle du "nitrostyrène" parce que la réduction est partielle. On a procédé à des réductions en utilisant et des réactifs de transfert d'électrons, comme l'amalgame de sodium et le sodium-éthanol, et des réactifs de transfert d'hydrure comme LiAlH<sub>4</sub> et NaBH<sub>3</sub>CN. On a détecté dans l'amphétamine de synthèse produite au moyen de réactifs de transfert d'hydrures des aziridines qui peuvent éventuellement servir à établir le lien entre échantillons de même origine. Dans certains pays, l'oximation suivie de réduction électrochimique est actuellement un procédé courant de fabrication illicite.

Toutes les méthodes clandestines mentionnées ci-dessus utilisent la formation de la liaison C-N et produisent un mélange racémique de dl-amphétamine ou de dl-métamphétamine de façon non stéréospécifique. Depuis que le mouvement licite de la phénylpropanone est contrôlé, l'éphédrine et la

pseudo-éphédrine sont des matières premières très recherchées pour la synthèse illicite de métamphétamine. Leur réduction à l'aide d'iodure d'hydrogène et de phosphore rouge, ou d'hydrogène et de Pd/BaSO<sub>4</sub>, soit directement soit en passant par un produit intermédiaire, la chloréphédrine (ou la chlorpseudo-éphédrine) obtenue à partir de chlorure de thionyle, donne un bon rendement de métamphétamine. Les impuretés détectées dans les réactions opérées selon ces procédés sont notamment la phénylpropanone, l'iode, la chloréphédrine, l'éphédrine et des substances minérales comme Pd et Ba. Si l'(1R, 2S)-éphédrine optiquement active (connue également sous la forme l- ou (-)éphédrine), qu'il est facile de se procurer dans certains pays, est utilisée dans la réaction, on obtient de la d-métamphétamine car la stéréochimie du carbone C-2 reste inchangée pendant la phase de deshydrohalogénéation et garde la chiralité optique à cette position dans la métamphétamine. La confirmation de l'activité optique dans le produit fini jointe à la présence de l-éphédrine comme impureté permet de conclure qu'il y a bien des chances que cette réaction ait été employée. On peut obtenir de l'amphétamine à partir de phénylpropanolamine de la même façon.

La pureté de la drogue non coupée peut se situer entre 90 et 99 %. Aux fins du trafic, elle est généralement coupée au moins à 40 % avec un hydrate de carbone (glucose, lactose, sucrose, mannitol), du sulfate de magnésium, du glutamate de sodium, de la caféine, de l'éphédrine, de la procaïne, de l'antipyrine ou de la phénazone. Dans certains pays, on peut se procurer des solutions aqueuses de chlorhydrate de métamphétamine aussi appelées "gold fish".

### III. APPARENCE EXTERIEURE DE L'AMPHETAMINE ET DE LA METAMPHETAMINE ILLICITES

Les produits amphétaminiques de fabrication licite contiennent la drogue sous forme de sulfate ou de phosphate. On les trouve sur le marché, dans divers pays, en comprimés, capsules spansules, sirops et élixirs.

La métamphétamine, sous forme de chlorhydrate, est disponible en comprimés et en solution stérile injectable. Les analystes devraient chercher dans les catalogues pharmaceutiques la description illustrée des divers produits que l'on peut légalement se procurer dans leur pays et les informations les concernant.

Le sulfate d'amphétamine de fabrication illicite se présente sous forme de poudre, qui peut être soit de couleur blanche comme la substance fabriquée licitement, soit de couleur rosée, jaunâtre ou brunâtre, selon le type et la quantité d'impuretés et d'adultérants. Il est souvent humide et dégage une odeur caractéristique désagréable due à la présence de résidus de solvants.

Le chlorhydrate de métamphétamine d'origine illicite se présente généralement sous forme de poudre compacte ou de pâte. Sa couleur peut aussi varier : il peut être blanc, brun ou violet suivant les impuretés qu'il contient.

#### IV. ANALYSE DES SUBSTANCES CONTENANT DE L'AMPHÉTAMINE OU DE LA MÉTAMPHÉTAMINE

##### A. Prélèvement d'échantillons

Le but principal d'une méthode de prélèvement d'échantillons est la réalisation d'une analyse chimique correcte et significative. Comme la plupart des méthodes - qualitatives et quantitatives - utilisées dans les laboratoires médico-légaux pour l'examen des drogues ne nécessitent que de petites quantités déterminées de substance, il est essentiel que ces quantités soient parfaitement représentatives de la masse de laquelle elles ont été tirées. Il convient de prélever les échantillons en se conformant aux principes de la chimie analytique qui sont énoncés, par exemple, dans les pharmacopées nationales ou par des organismes comme l'Association nationale des chimistes analytiques.

Il peut arriver que des raisons juridiques empêchent de suivre les procédures normales de prélèvement et d'homogénéisation des échantillons. C'est le cas par exemple quand l'analyste souhaite conserver une partie de la substance comme pièce à conviction. On peut aussi se trouver dans l'obligation de procéder à deux essais distincts pour deux substances en poudre au lieu de les mélanger pour faire une seule analyse, cela parce que les deux poudres ont été présentées séparément par le fonctionnaire qui a opéré la saisie et parce que le système judiciaire qui est celui de l'analyste impose la communication de résultats particuliers pour chaque pièce à conviction présentée au tribunal.

Pour éviter tout gaspillage de ressources et de temps, les analystes médico-légistes doivent, chaque fois qu'il est possible, utiliser une méthode d'échantillonnage reconnue et réduire ainsi le nombre des déterminations quantitatives nécessaires. Pour se faciliter la tâche, l'analyste médico-légitime devra peut-être examiner les cas particuliers avec les fonctionnaires responsables des saisies et le personnel judiciaire avec lequel il est en relations de travail.

L'amphétamine saisie peut se présenter sous forme de comprimés et de capsules - qui ont été soit détournés du marché licite, soit fabriqués illicitement - ou sous forme de poudre fine ou de pâte. La métamphétamine se présente généralement sous forme de poudre ou de pâte, mais dans certains pays on la trouve aussi en comprimés et en capsules, d'origine licite ou illicite. L'amphétamine base et la métamphétamine base sont des liquides qui, de même que les solutions des sels, sont souvent disponibles sur le marché illicite.

##### 1. Poudres

###### a) Prélèvement d'échantillons dans un seul emballage

Le cas le plus simple est celui dans lequel les quantités à analyser se trouvent dans un seul emballage - dans le cas de l'amphétamine et de la métamphétamine, le produit se présente le plus souvent sous forme de poudre. Il faut retirer la substance de son emballage, puis la placer dans un sac propre transparent en plastique et la peser pour obtenir son poids net. La substance doit être ensuite parfaitement homogénéisée avant d'être soumise à une série d'essais chimiques, mais on peut déjà faire à ce stade des tests d'identification présomptive si l'échantillonnage ou l'homogénéisation risquent d'être longs et si des doutes subsistent sur l'identité de la

substance. Pour homogénéiser une poudre, le plus simple est de l'agiter longuement dans le sac en plastique transparent dans lequel on l'a mise. Si la poudre contient des agrégats, on peut les désagréger en la faisant passer dans des tamis de plus en plus fins, en la pilant dans un mortier ou encore en utilisant un mixeur ou un robot de cuisine adapté à cet usage.

La technique du quartage peut aussi être utilisée. La substance est agitée ou brassée et, au besoin, les gros fragments sont réduits. La substance est ensuite versée sur une surface plane de façon à former un cône. Ce "cône" ayant été aplati, on découpe la substance en quartiers selon deux diamètres qui se coupent à angle droit. Deux quartiers opposés forment un échantillon et le reste est replacé dans le sac où la substance avait été prise. S'il apparaît souhaitable de pousser plus loin le quartage pour obtenir un échantillon plus petit, on réduit encore la taille des particules, puis après avoir mélangé vigoureusement la substance, on la verse sur une surface plane et on la divise comme ci-dessus.

b) Prélèvement d'échantillons dans plusieurs emballages

L'analyste devra procéder à un examen visuel du contenu de tous les emballages et, éventuellement, à un test simple de coloration ou une chromatographie sur couche mince pour déterminer :

1. Si tous les emballages contiennent ce qu'on suppose être une substance amphétaminique ou métamphétaminique, et/ou
2. Si un ou plusieurs emballages contiennent une substance différente de celle de la majorité des emballages. L'indicateur le plus simple est l'aspect de la poudre. Si un ou plusieurs emballages diffèrent manifestement par leur contenu, il faut les mettre à part et en faire une analyse distincte.

Pour la préparation d'un échantillon composé de substances tirées de plusieurs emballages, on procédera comme suit :

- a) S'il y a moins de 10 emballages - prélever un échantillon dans chacun;
- b) S'il y en a de 10 à 100 - prendre 10 emballages au hasard;
- c) S'il y en a plus de 100 - prendre au hasard un nombre d'emballages égal à la racine carrée du nombre total d'emballages arrondi au nombre entier supérieur.

Si on constate que les poudres sont les mêmes, on peut mettre ensemble le contenu de plusieurs emballages; la masse obtenue peut être homogénéisée, par exemple dans un robot de cuisine adapté à cet usage. Autre solution possible, le quartage de la masse.

Quand différents types de substances ont été identifiés dans les divers emballages, il faut préparer comme ci-dessus un échantillon composite pour chaque sous-groupe.

Les erreurs d'échantillonnage inhérentes aux méthodes quantitatives sont moindres quand de grosses quantités déterminées de substance font l'objet de dilutions successives avec le solvant utilisé. Si l'échantillon total est de grande taille, cette méthode peut s'appliquer. Cependant, quand de grandes quantités de substance sont dissoutes la première fois, il peut falloir ajouter le solvant à la pipette pour éviter des erreurs dues à des matières insolubles. Il y a fréquemment des adjuvants insolubles dans les échantillons de drogues vendues à la sauvette dans tous les pays.

c) Prélèvement d'échantillons de substances contenant des agrégats visqueux ou volumineux

Si les particules sont faciles à réduire en poudre, il convient de les broyer et d'appliquer ensuite la méthode de prélèvement indiquée plus haut. La réduction en poudre peut se faire dans un mortier avec un pilon, dans un mixeur ou un robot de cuisine ordinaire ou dans un broyeur industriel. Si la substance n'est pas facile à dissocier, il faut alors prélever au hasard des particules de tailles diverses prises dans trois parties au moins de la quantité de substance à étudier. Il convient de prélever au moins un gramme de substance, de faire une pesée précise et d'en faire l'analyse.

2. Comprimés et capsules - Préparations commerciales ou licites

La détermination préliminaire de l'origine commerciale est une question d'appréciation personnelle. Des unités de prise semblables aux descriptions et illustrations des catalogues nationaux de préparations pharmaceutiques offrent des exemples clairs de produits d'origine commerciale. Le fabricant contrôle généralement la qualité de ces préparations; l'examen d'un grand nombre d'unités de chaque emballage ne donnerait donc guère d'informations supplémentaires utiles. La quantité d'ingrédient que contient chaque comprimé ou capsule sera statistiquement valable pour l'ensemble.

a) Un seul emballage

1. 1 à 50 unités de prise -- Prendre au hasard la moitié du nombre total d'unités, jusqu'à concurrence de 20. Déterminer le poids moyen, réduire en poudre, passer au tamis de 20 mailles et bien mélanger.
2. 51 à 100 unités de prise -- Prendre au hasard 20 unités et procéder comme indiqué ci-dessus.
3. 101 à 1 000 unités de prise -- Prendre au hasard 30 unités et procéder comme indiqué ci-dessus.
4. Plus de 1 000 unités de prise -- Prendre au hasard un nombre d'unités égal à la racine carrée du nombre total arrondi au nombre entier supérieur et procéder comme ci-dessus.

b) Plusieurs emballages

Regrouper les contenants par numéros de lots et traiter chaque groupe comme il est indiqué à la rubrique 1.b ci-dessus. Donner les résultats séparément pour chaque groupe.

Calculer la racine carrée du nombre total d'emballages de chaque groupe. Prendre au hasard un nombre d'emballages équivalant au chiffre obtenu arrondi au nombre entier supérieur.

Prendre au hasard dans chaque emballage un nombre d'unités de prise équivalent au chiffre obtenu en divisant la racine carrée du nombre total d'unités de prise par la racine carrée du nombre d'emballages arrondi au nombre entier supérieur.

Moudre pour obtenir une poudre composite, passer au tamis de 20 mailles et bien mélanger. Faire l'analyse de la poudre.



### 3. Comprimés et capsules - Origine illicite

Pour les préparations illicites, le contrôle de la qualité est inexistant. On peut supposer qu'il y a de grandes différences dans la composition des comprimés, mais que dans la plupart des cas, chacun contiendra des constituants actifs. Il faut donc examiner autant que possible les unités ou les emballages séparément.

#### a) Un seul emballage

Déterminer le nombre total d'unités de prise (up) et le poids moyen de l'unité.

Lorsque le nombre d'up est compris entre 1 et 10 -- Analyser toutes les unités de prise.

De 11 à 27 up -- Prendre au hasard et examiner les 3/4 du nombre total d'unités de prise en arrondissant au nombre entier supérieur.

Plus de 28 up -- Prendre au hasard et examiner la moitié du nombre total d'unités en arrondissant au nombre entier supérieur, dans une fourchette comprise entre 21 et 50 up.

Suivant les résultats de la sélection, procéder comme suit :

1. S'il apparaît que toutes les unités de prise sont identiques, les réduire en une poudre composite comme il est indiqué pour les préparations licites et en faire l'analyse.
2. Si l'on est en présence de deux formes pharmaceutiques, en faire deux groupes. Si besoin est, rajouter des unités de prise jusqu'à ce que les deux groupes contiennent assez de substance pour procéder à une analyse, puis constituer deux poudres composites et les analyser.
3. Si l'on est en présence de plus de deux formes pharmaceutiques, on réduira d'abord en une poudre composite celle que l'on trouve en plus grande quantité, puis on rajoutera des unités de prise jusqu'à ce qu'on obtienne un échantillon de même volume ne contenant que les formes présentes en moindre quantité. On poursuivra l'opération jusqu'à l'obtention d'une poudre composite pour chaque forme pharmaceutique ou jusqu'à l'épuisement de l'échantillon.

On peut évaluer le pourcentage d'unités de prise qui contiennent une substance placée sous contrôle ou un autre constituant actif donné à partir du pourcentage d'unités prises au hasard et examinées dont on constate qu'elles contiennent cette substance.

#### b) Plusieurs emballages

Prendre au hasard un certain nombre d'unités de prise dans chacun des emballages eux-mêmes pris au hasard en nombre n, comme indiqué ci-dessus pour obtenir une poudre composite de préparations licites. Examiner chaque unité.

Suivant les résultats de la sélection, procéder comme suit :

1. S'il apparaît que toutes les unités sélectionnées sont les mêmes, les réduire toutes ensemble en une poudre composite.
2. Dans le cas contraire, traiter chaque emballage séparément en procédant suivant les indications données ci-dessus pour un emballage unique.

#### 4. Solutions aqueuses - Origine illicite

On trouve sur le marché illicite de certains pays des solutions aqueuses de chlorhydrate de métamphétamine. Comme par leur nature même les solutions sont homogènes, un échantillon relativement petit (10 ml) représente le volume entier.

##### a) Un seul emballage

Si le volume de solution le permet, en prélever à la pipette au moins 10 ml pour l'analyse.

##### b) Plusieurs emballages

Regrouper les contenants par numéros de lot ou selon d'autres caractéristiques et traiter chaque groupe comme il est indiqué à la rubrique 1.b ci-dessus. Donner les résultats séparément pour chaque groupe.

Calculer la racine carrée du nombre total de contenants de chaque groupe. En prendre au hasard un nombre équivalent au chiffre obtenu, arrondi au nombre entier supérieur.

Prélever dans chacun des contenants sélectionnés un échantillon de 10 ml ou plus si leur volume le permet pour en faire une solution composite.

Si le volume le permet, prélever au moins 10 ml de cette solution pour l'analyser.

#### 5. Résidus des seringues ou de la verrerie des laboratoires clandestins

L'amphétamine et la métamphétamine n'étant généralement présentes qu'à l'état de trace dans les seringues hypodermiques saisies sur des personnes et dans la verrerie et autre matériel trouvés dans les laboratoires clandestins, l'analyste ne tentera pas de tests d'identification présumptive, mais passera directement à l'analyse concluante.

Laver la seringue ou le verre au méthanol, en quantité minimale, et concentrer par deshydratation sous jet d'azote, puis procéder aux tests choisis.

## B. Tests d'identification présumptive

### 1. Tests de coloration

Il faut souligner que les résultats positifs d'un test de coloration permettent seulement de présumer la présence éventuelle d'amphétamine ou de métamphétamine. Bien d'autres substances, qu'il s'agisse de produits substitués aux amphétamines ou de produits inoffensifs non contrôlés par la législation nationale ou les traités internationaux, peuvent donner des couleurs analogues avec les réactifs utilisés pour les tests. Certains agents de coupage peuvent aussi donner des réactions faussement positives ou négatives; tel est le cas en particulier, avec le réactif de Simon. L'analyste doit donc impérativement confirmer les résultats qu'il obtient en recourant à d'autres techniques.

#### a) Réactif de Marquis

Se prépare en ajoutant à 10 ml d'acide sulfurique concentré 8 à 10 gouttes d'une solution de formaldéhyde à 40 %. Comme le paraformaldéhyde est plus stable que le formaldéhyde, on peut préférer un mélange d'acide sulfurique concentré et de paraformaldéhyde (10 : 1 vol./vol.).

#### METHODE

Disposer une petite quantité de l'échantillon (1 à 2 mg de poudre ou 1 ou 2 gouttes de liquide) dans un creux d'une plaque à cavités; ajouter le réactif goutte à goutte (pas plus de trois gouttes). L'amphétamine et la métamphétamine produisent immédiatement une couleur orangée qui vire au brun. La limite inférieure de détection est d'environ un µg. (1)

#### b) Réactif à la ninhydrine

Dissoudre 0,5 g de ninhydrine dans 40 ml d'acétone. Préparer cette solution quotidiennement.

#### METHODE

Dissoudre une petite quantité de l'échantillon (1 à 2 mg de poudre) dans du méthanol. Laisser tomber une goutte de la solution sur du papier filtre et ajouter une goutte de réactif. Chauffer sur une plaque chauffante à 110 °C. La couleur vire à l'orange rosé sous l'effet de la chaleur. Cette réaction n'est pas particulièrement sensible.

#### c) Réactif de Simon

Solution 1. Solution aqueuse de carbonate de sodium à 20 %.

Solution 2. Solution éthanolique d'acétaldéhyde à 50 %.

Solution 3. Solution aqueuse de nitroprussiate de sodium à 1 %.

#### METHODE

Disposer une petite quantité de l'échantillon sur une plaque à cavités et mélanger avec une goutte de la solution 1. Ajouter une goutte de la solution 2. L'addition de quelques gouttes de la solution 3 produit une

couleur bleue pour la métamphétamine et les autres amines secondaires. L'amphétamine et les autres amines primaires prennent lentement une coloration qui se situe entre le rose pâle et le rouge cerise. Ce test peut servir à distinguer la métamphétamine de l'amphétamine. Il faut noter cependant que la présence de certains agents de coupage peut donner une réaction faussement négative.

### C. Chromatographie sur couche mince

#### SOLVANTS DE DEVELOPPEMENT

SYSTEME A :	Méthanol	100
	Ammoniaque concentrée	1,5
SYSTEME B :	Cyclohexane	75
	Toluène	15
	Diéthylamine	10
SYSTEME C :	Méthyléthylcétone	130
	Diméthylformamide	19
	Ammoniaque concentrée	1
	Isopropanol	30

#### Préparation des solutions à appliquer sur la plaque CCM

Poudre : Préparer une solution d'une concentration de 5 mg par ml dans du méthanol.

Capsules : Prélever le contenu d'un échantillon représentatif de capsules (selon le procédé décrit plus haut) et préparer une solution contenant l'équivalent d'environ 5 mg de la drogue par ml dans du méthanol.

Comprimés : Réduire en une poudre fine un nombre représentatif de comprimés et préparer une solution contenant l'équivalent d'environ 5 mg de l'amphétamine ou de la métamphétamine par ml dans du méthanol.

Solutions aqueuses : Déposer directement ou déposer l'équivalent de 5 mg par ml si la concentration de la drogue est connue.

Solutions témoins : Pour toutes ces solutions, la concentration est de 5 mg par ml dans du méthanol.

Comme les amphétamines sont en général sensibles à la plupart des réactifs de visualisation, il est conseillé d'appliquer 5  $\mu$ l d'une solution de 5 mg par ml de la drogue dans du méthanol, ce qui donne environ 25  $\mu$ g de drogue sur la plaque CCM.

Lorsqu'on a des raisons de croire que la concentration d'amphétamine ou de métamphétamine dans l'échantillon est très faible, par suite d'adultération par exemple, il peut être nécessaire de préparer pour l'analyse une solution 10 fois plus concentrée.

Peu importe que la solution témoin et la pièce à conviction soient un sel ou une base. Les deux donneront satisfaction. Les solvants de développement étant basiques, les composés se déplacent comme les bases libres.

## VISUALISATION

Les plaques doivent être séchées avant l'examen visuel. Le séchage peut se faire à la température ambiante ou, plus rapidement, à l'air chaud pulsé. Dans le second cas, il faut opérer prudemment car les bases libres d'amphétamine et de métamphétamine sont volatiles. Toutefois, pour obtenir un bon développement des couleurs, il faut éliminer de la plaque toute trace d'ammoniaque ou d'autres bases.

### Méthodes de visualisation

1. Lumière UV, 254 nm.
2. Réactif à la ninhydrine.
3. Réactif d'iodoplatinate de potassium acidifié.

Observer d'abord la plaque à la lumière UV, puis vaporiser la ninhydrine et chauffer 5 mn au four à 110 °C. Les amines primaires comme l'amphétamine donnent des taches violettes ou roses et les amines secondaires comme la métamphétamine des taches plus claires. On peut alors vaporiser par-dessus la solution d'iodoplatinate acidifié. L'amphétamine et la métamphétamine donnent des taches d'un gris violet brunâtre, sur fond rose.

Avertissement - Etant donné le caractère volatil des bases libres de l'amphétamine, la température nécessaire à l'évaporation des solvants utilisés pour la plaque et le nombre d'amphétamines de structure similaire disponibles sur le marché illicite, la chromatographie sur couche mince est d'une utilité limitée et il est recommandé d'en interpréter les résultats avec prudence.

### Préparation des réactifs à pulvériser

#### IODOPLATINATE DE POTASSIUM ACIDIFIE

Dissoudre 0,25 g de chlorure platinique et 5 g d'iodure de potassium dans de l'eau, étendre d'eau jusqu'à 100 ml. Ajouter 2 ml d'acide chlorhydrique concentré pour l'acidification.

#### REACTIF A LA NINHYDRINE

Préparer une solution à 0,1 % dans de l'isopropanol.

#### RESULTATS

Valeurs de  $R_f \times 100$  :

#### COMPOSÉS

#### SYSTEME DE DEVELOPPEMENT

	<u>A</u>	<u>B</u>	<u>C</u>
Amphétamine	46	34	49
Métamphétamine	28	42	16
Ephédrine	30	-	12
Caféine	68	6	75

## D. Chromatographie gaz-liquide

### 1. Technique de la colonne à remplissage

#### a) Système A - sans formation de dérivés

Conditions de travail :

Détecteur : DIF

Colonne : 6 pieds (ou 2 m) de longueur, diamètre intérieur : 2 à 4 mm, verre

Corps de remplissage : 10 % Apiézon L et 2 % KOH sur Chromosorb W HP ou 3 % SE-30 ou OV-1

Gaz porteur : Azote à 30 ml par minute

Température de la colonne : Programmée de 130 ° à 260 °C

Etalons internes : n-tétradécane ou autres n-alcanes ayant un nombre pair d'atomes de carbone ou diphénylamine ou chlorhydrate de propylamphétamine.

#### METHODE

On prépare les solutions des substances témoin (1 mg base/ml) en dissolvant dans de l'eau une portion du sel pesée avec précision. La solution est alcalinisée par addition de quelques gouttes de 1.0 N NaOH. Ajouter un volume égal de solvant d'extraction (hexane ou acétate d'éthyle); agiter et laisser se former les différentes couches. La concentration finale devrait être d'environ 1 mg de base et 1 mg d'étalon interne par ml.

Traiter l'échantillon illicite de la même manière, en en utilisant une quantité suffisante pour donner une concentration d'amphétamine ou de métamphétamine à peu près égale à celle de la solution témoin.

Injecter, suivant les besoins, un à deux µl de la couche organique.

Pour le calcul quantitatif, ajouter l'étalon interne à la solution aqueuse initiale (si l'on a employé un sel d'amine comme le chlorhydrate de propylamphétamine) ou à l'acétate d'éthyle utilisé comme solvant d'extraction (si l'on a employé des n-alcanes ou de la diphénylamine).

La teneur (en pourcentage) de chaque élément peut être calculée selon la formule générale ci-après :

$$C_x\% = \frac{C_{r. \text{ std.}}}{C_{\text{sam.}}} \times \frac{A_x/A_{\text{int. std. in sam. chrom.}}}{A_{r. \text{ st.}}/A_{\text{int. std. in std. chrom.}}} \times 100$$

Où :

$C_x\%$  = Teneur de l'élément x dans l'échantillon (poids/poids en %).

$C_{r. \text{ std}}$  = Concentration de la substance x dans la solution témoin de référence (poids/poids en %).

$A_x$  = Aire de pic pour la substance x obtenue sur le chromatogramme de l'échantillon.

$A_{r.st.}$  = Aire de pic pour la substance x obtenue sur le chromatogramme du témoin.

$A_{int.std.in\ sam. chrom}$  = Aire de pic de l'étalon interne obtenu sur le chromatogramme de l'échantillon.

$A_{int.std.in\ std. chrom}$  = Aire de pic de l'étalon interne obtenu sur le chromatogramme du témoin.

$C_{sam.}$  = Concentration de l'échantillon (poids/vol. en %).

b) Système B - avec formation de dérivés

Conditions de travail :

Détecteur : DIF

Colonne : 6 pieds (2 m), diamètre intérieur : 3 mm, verre

Corps de remplissage : 3 % OV-17 sur Chromosorb W HP de 80 à 100 mailles ou l'équivalent

Gaz porteur : Azote à 30 ml par minute

Température de la colonne : 145 °C ou programmée pour 130 ° à 270 °C

Etalon interne : n-tétradécane ou d'autres alcanes ayant un nombre pair d'atomes de carbone

Agent de formation de dérivés : Anhydride trifluoroacétique.

METHODE

Préparer une solution d'acétate d'éthyle de la base libérée, comme dans la méthode décrite ci-dessus, et en sécher une partie à travers du sulfate anhydre de magnésium. Transférer 0,1 à 0,5 ml de la solution d'acétate d'éthyle et 100  $\mu$ l d'anhydride trifluoroacétique dans le flacon à réaction hermétiquement fermé et chauffer à 55 °C pendant 20 mn. Effectuer l'évaporation du solvant sous vide et dissoudre le résidu dans 100  $\mu$ l d'acétate d'éthyle. Injecter 1  $\mu$ l dans le chromatographe à gaz.

PROFILS D'ELUTION POUR QUELQUES COLONNES

SYSTEME	COLONNE		
	Apiézon L : 10 % KOH : 2 % Sans formation de dérivés	SE-30	OV-17 : 3 % Dérivés de TFA

Composés

Amphétamine	1 134 <sub>a/</sub>	1 129	1 536
Métamphétamine	1 200	1 176	1 722
Ephédrine	1 386	1 363	1 467
Caféine	1 862	1 810	2 376

a/ Les chiffres indiquent les indices de rétention. Ces valeurs varieront suivant les conditions au laboratoire (température, humidité, courants d'air, etc.) et d'autres paramètres ayant trait au matériel.

2. Technique de la colonne capillaire

Conditions de travail

Détecteur :	DIF
Colonne :	Silice fondue, méthyl silicone ou méthylphényl silicone chimiquement liés et réticulés, comme SE-54, DB-1, DB-5 ou l'équivalent
Epaisseur de la pellicule :	0,5 µm
Longueur :	10 à 30 m, diamètre intérieur : 0,25 mm
Gaz porteur :	Hélium, 40 cm/sec.
Taux d'échappement :	40:1
Température de la colonne :	Programme : 2 min à 75 °C, élever de 10 ° par minute jusqu'à 280 °C
Etalon interne :	n-tétradécane ou autre n-alcane ayant un nombre pair d'atomes de carbone ou chlorhydrate de propylamphétamine.

METHODE

Préparer des solutions témoin de drogue et des solutions de l'échantillon inconnu à une concentration d'1 mg de la base libre par ml d'H<sub>2</sub>O. Alcaliniser la solution en y ajoutant quelques gouttes de 1.0 N NaOH et agiter le mélange avec 1 ml d'acétate d'éthyle. Filtrer à travers MgSO<sub>4</sub>, puis injecter 1 µl. Sur une colonne de SE-54 de 11 m, les temps de rétention de l'amphétamine et de la métamphétamine sont respectivement de 1,6 et 1,9 minute.

D'autres systèmes de CGL sont décrits dans les ouvrages suivants :

1. Journal of Forensic Sciences 31 (1986), p. 1102 à 1107.
2. Journal of Chromatography 90 (1974), p. 19 à 33.
3. Journal of Chromatography 258 (1983), p. 65 à 72.



E. Chromatographie en phase liquide à haute pression

1. Technique isocratique

a) Phase normale

Colonne : 125 mm, diamètre intérieur : 4,9 mm

Corps de remplissage : Silice qualité CLHP, diamètre : 5 microns (Sphérisorb S5W ou l'équivalent)

Phase mobile : Les phases mobiles A et B donnent l'une et l'autre d'également bonnes séparations

A : Solution contenant 1,17 g (0,01M) de perchlorate d'ammonium dans 1 000 ml de méthanol. Pour obtenir un pH de 6,7, ajouter 0,1M d'hydroxyde de sodium dans du méthanol (environ 1 ml).

B : Méthanol : solution tampon aqueuse de nitrate d'ammonium (90:10 vol./vol.). Cette solution se prépare par addition de 94 ml d'ammoniaque concentrée et de 21,5 ml d'acide nitrique concentré à 884 ml d'eau; on ajoute de l'ammoniaque pour obtenir un pH de 10.

Débit : 2,0 ml par minute

Détection : UV à 254 nm

Préparation de l'échantillon : Toutes les substances sont dissoutes dans du méthanol pour donner une concentration d'environ 1 mg de base libre par ml

Solutions témoins : Dissoudre une quantité suffisante de sel de métamphétamine ou d'amphétamine pour donner une solution contenant 1 mg de base libre par ml de méthanol

Volume d'injection : 1 à 5 µl, à la seringue ou à l'injecteur à boucle

Quantification : Par aires de pic, méthode de l'étalon externe

b) Phase inversée

Colonne : 250 mm, diamètre intérieur : 4 mm

Corps de remplissage : Octadécyl-silice qualité CLHP, 5 microns de diamètre (LiChrosorb RP-18 ou l'équivalent)

Phase mobile : C : Acétonitrile : solution aqueuse d'acétate d'ammonium à 1 % : solution aqueuse de diéthylamine à 2,5 % (40 : 45 : 15). Pour obtenir un pH entre 8 et 9, ajouter de l'ammoniaque ou de l'acide acétique

Débit : 1,5 ml par minute  
Température : 35 °C  
DéTECTEUR : UV à 254 nm  
Préparation des échantillons : Toutes les substances sont dissoutes dans un mélange de deux parties d'eau pour une partie d'acétonitrile de façon à donner une concentration approximative de 2 à 6 mg par ml  
Solutions témoins : Dissoudre une quantité suffisante d'amphétamine ou de métamphétamine témoin dans un mélange de deux parties d'eau et une partie d'acétonitrile de façon à donner une concentration de 2 mg par ml  
Volume d'injection : 10 à 20 µl, à l'injecteur à boucle  
Quantification : Par aires de pic, méthode de l'étalon interne avec de la lidocaïne ou de la procaïne, ou méthode de l'étalon externe.

#### RESULTATS

Les taux de capacité (valeurs de K') ou temps de rétention (en minutes) sont les suivants :

SYSTEME	<u>PHASE NORMALE</u>		<u>PHASE INVERSEE</u>
	<u>A</u>	<u>B</u>	<u>C</u>
<u>Composés</u>			
Amphétamine	0,9	0,98	6,0 mn
Métamphétamine	2,0	2,07	11,0 mn
Ephédrine	1,0	1,79	--
Caféine	0,2	0,26	--

On trouvera la description d'autres méthodes de CLHP pour l'analyse de l'amphétamine et de la métamphétamine dans les ouvrages suivants :

1. Journal of Chromatography 218 (1981), p. 639 à 646.
2. Microgram XVIII (1985), p. 134 à 143.

## F. Spectroscopie infrarouge

### Préparation des échantillons

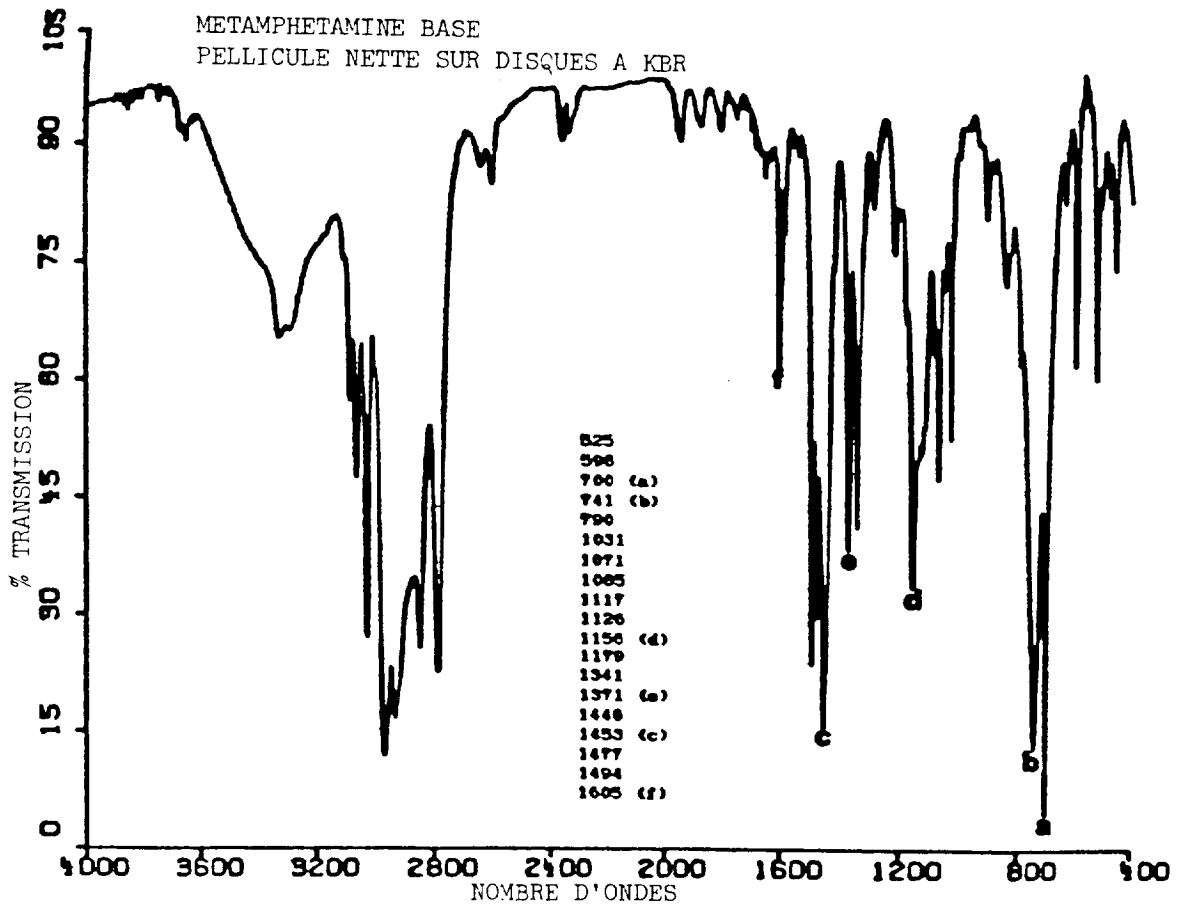
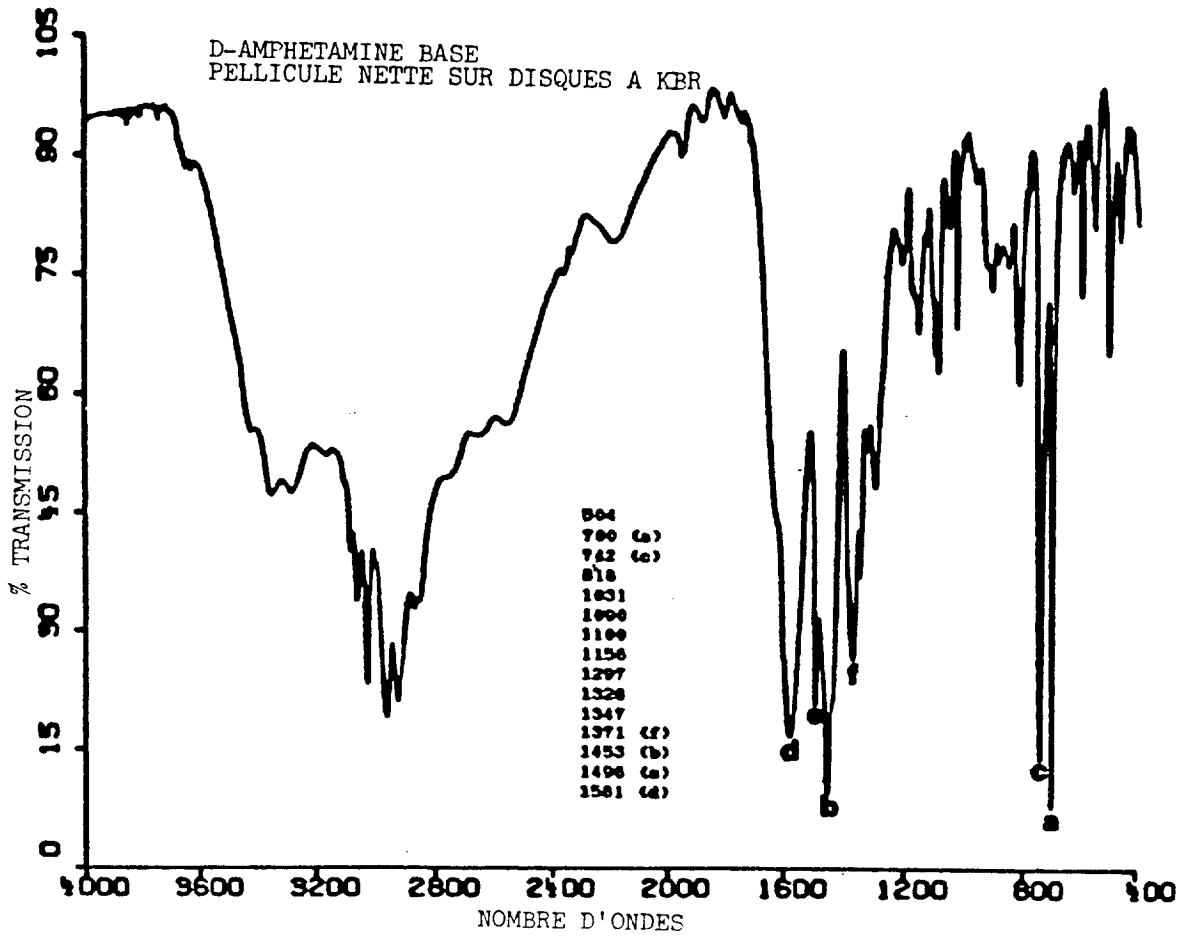
Les techniques courantes de préparation des échantillons (méthodes du disque d'haloïde, du microdisque d'haloïde et de la pâte à l'huile Nujol) sont décrites dans les précédents manuels de la même série.

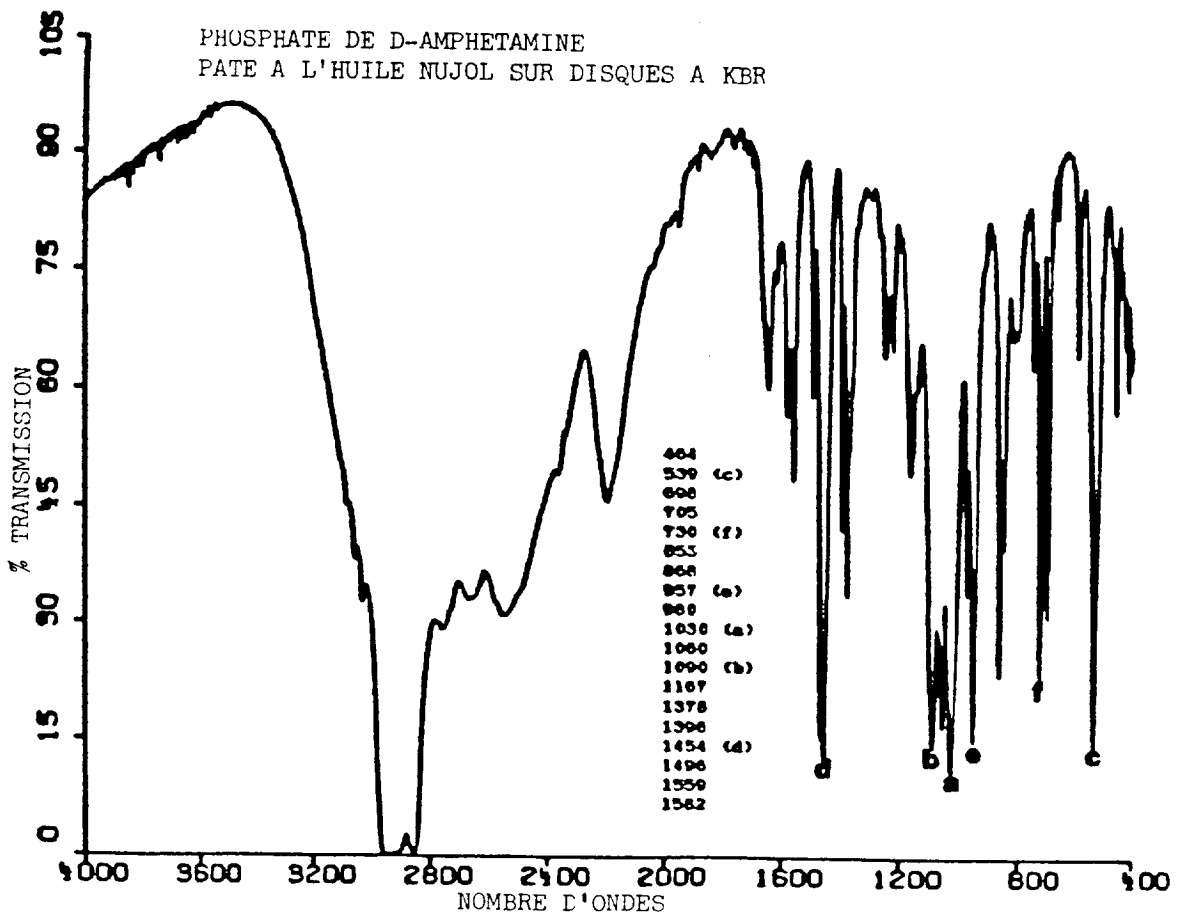
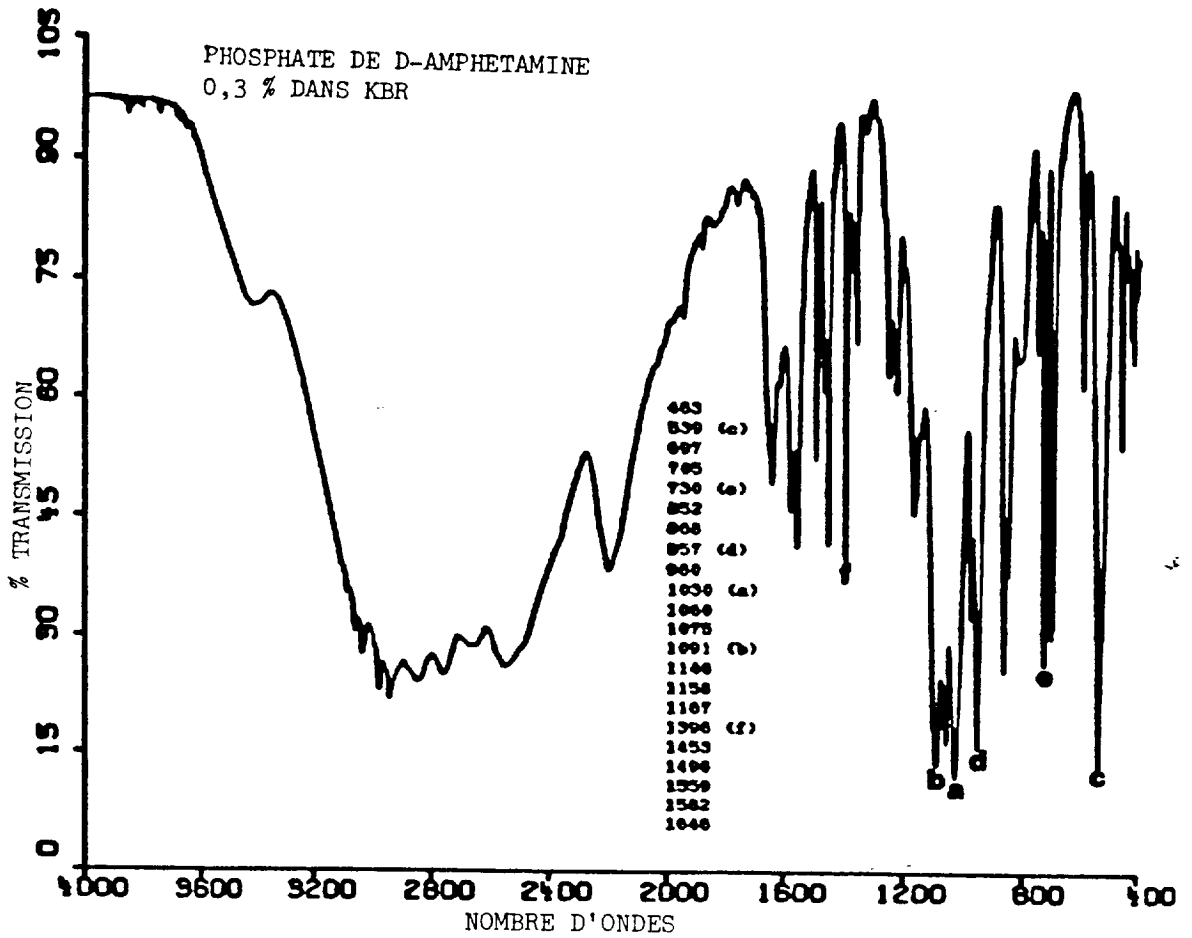
### Méthode de la pellicule fine

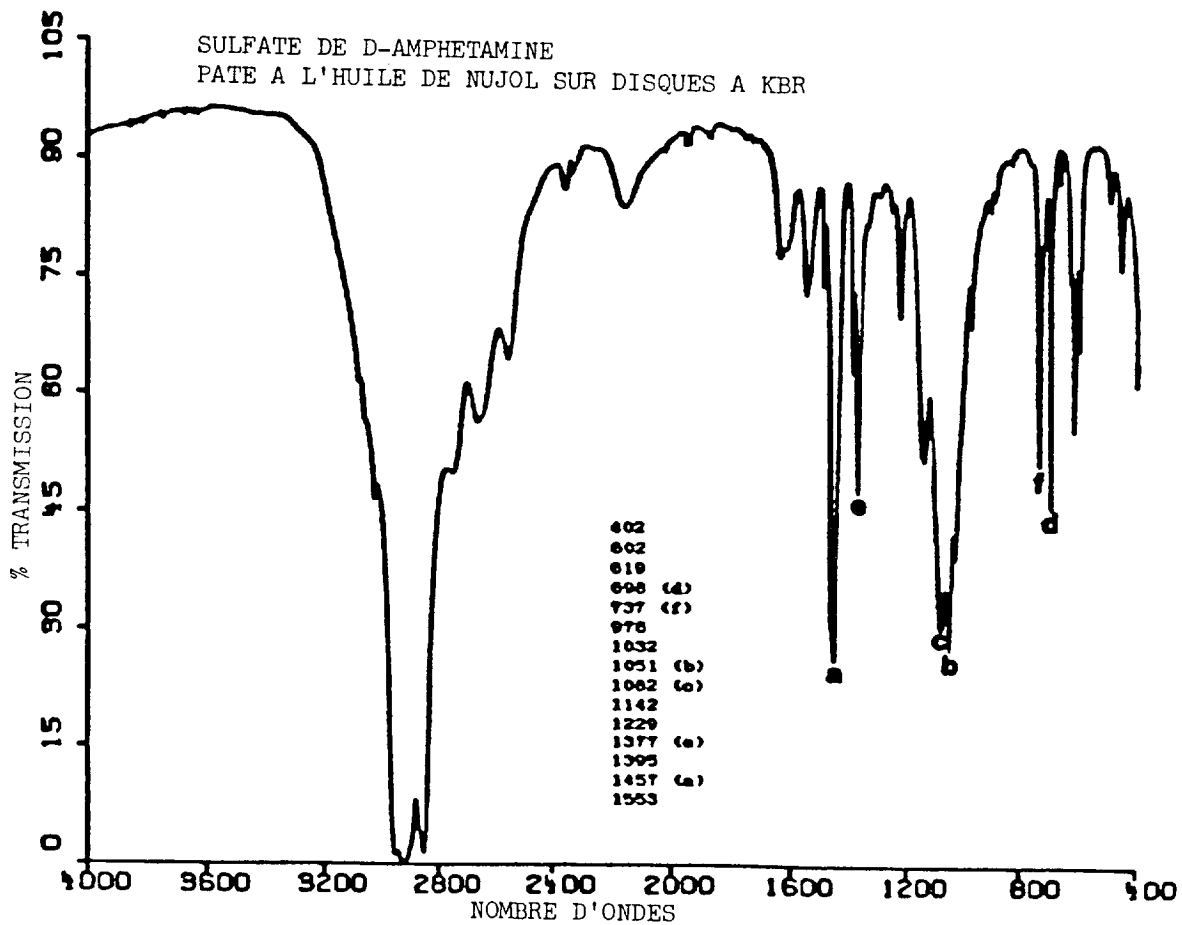
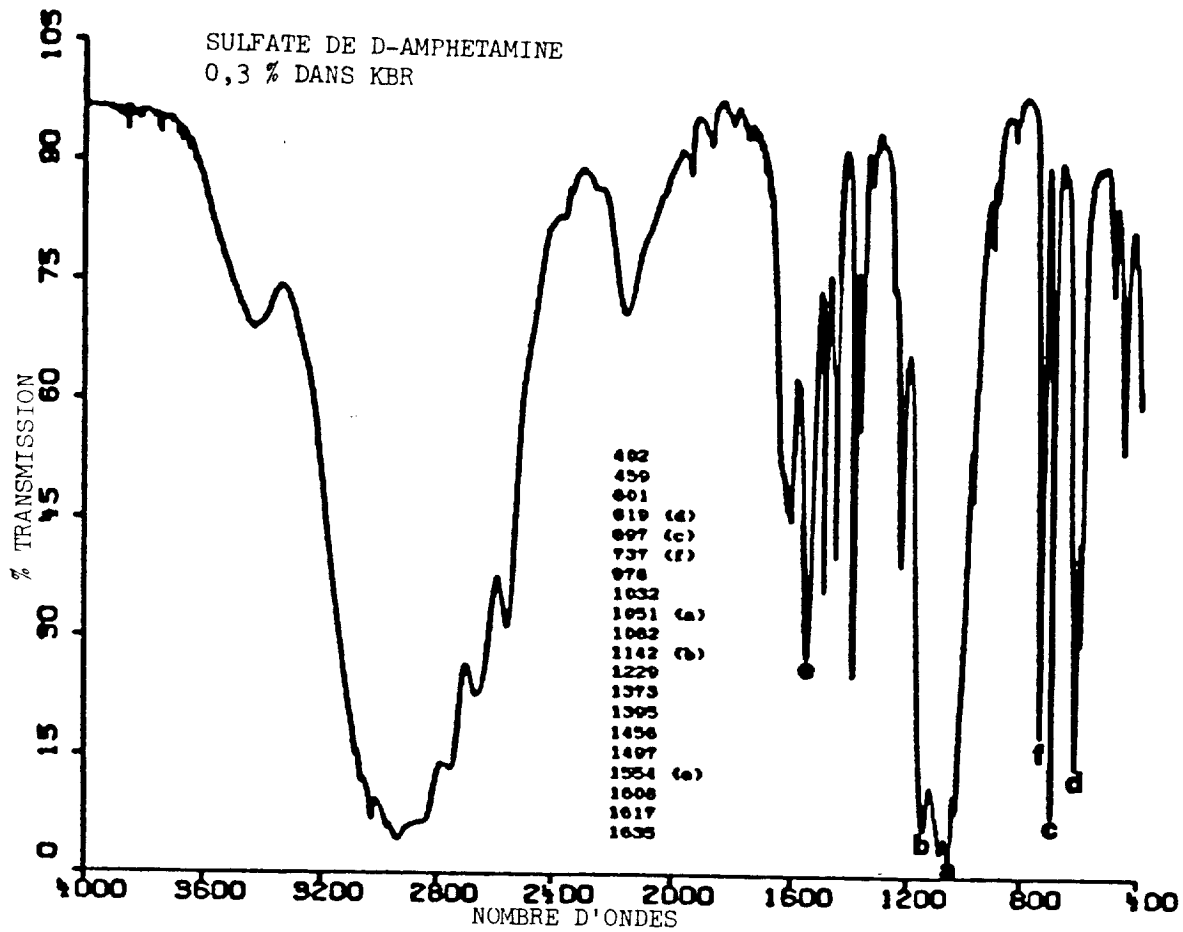
Cette méthode est particulièrement utile pour obtenir les spectres des bases libres d'amphétamine et de métamphétamine qui sont des liquides. Une goutte de l'amine est déposée entre deux plaques d'haloïde alcalin et forme une fine pellicule liquide.

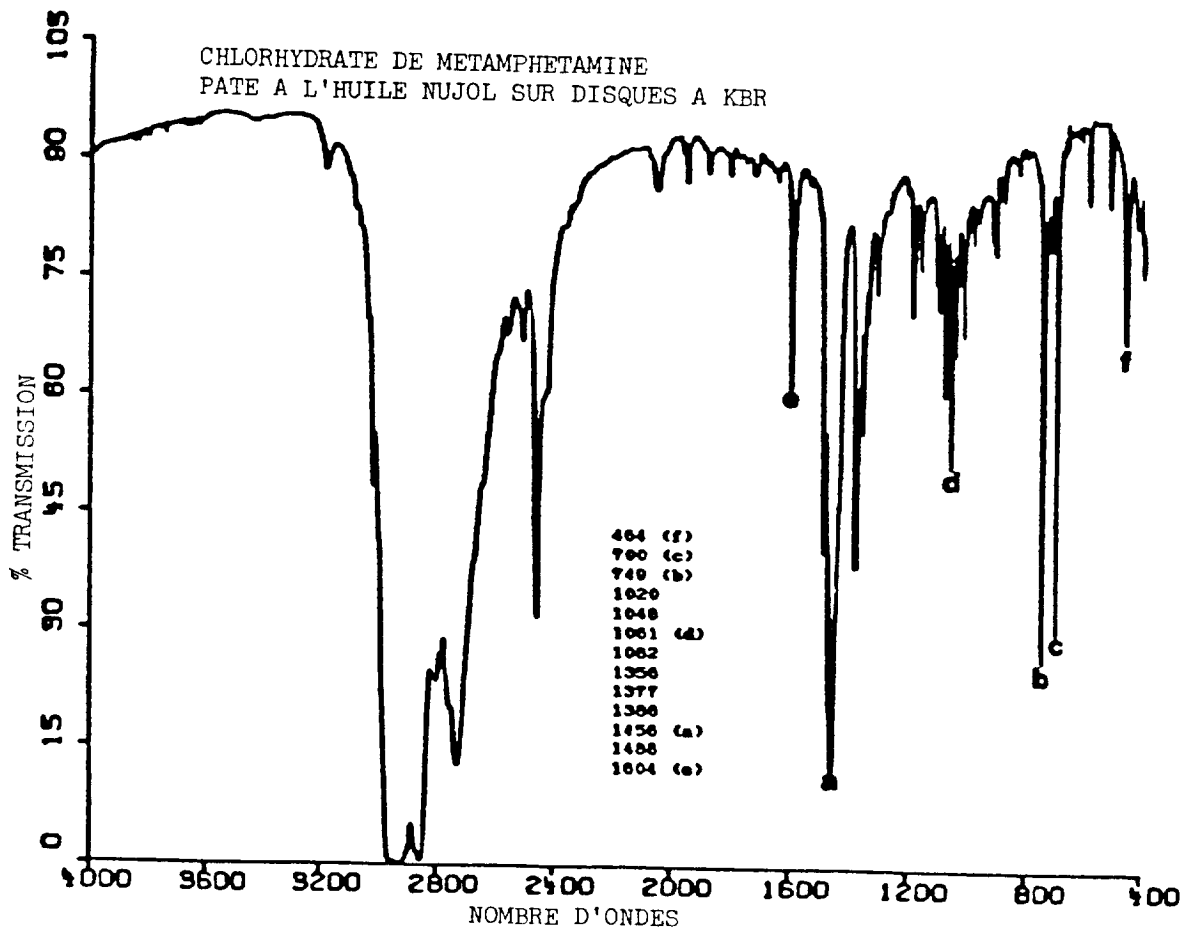
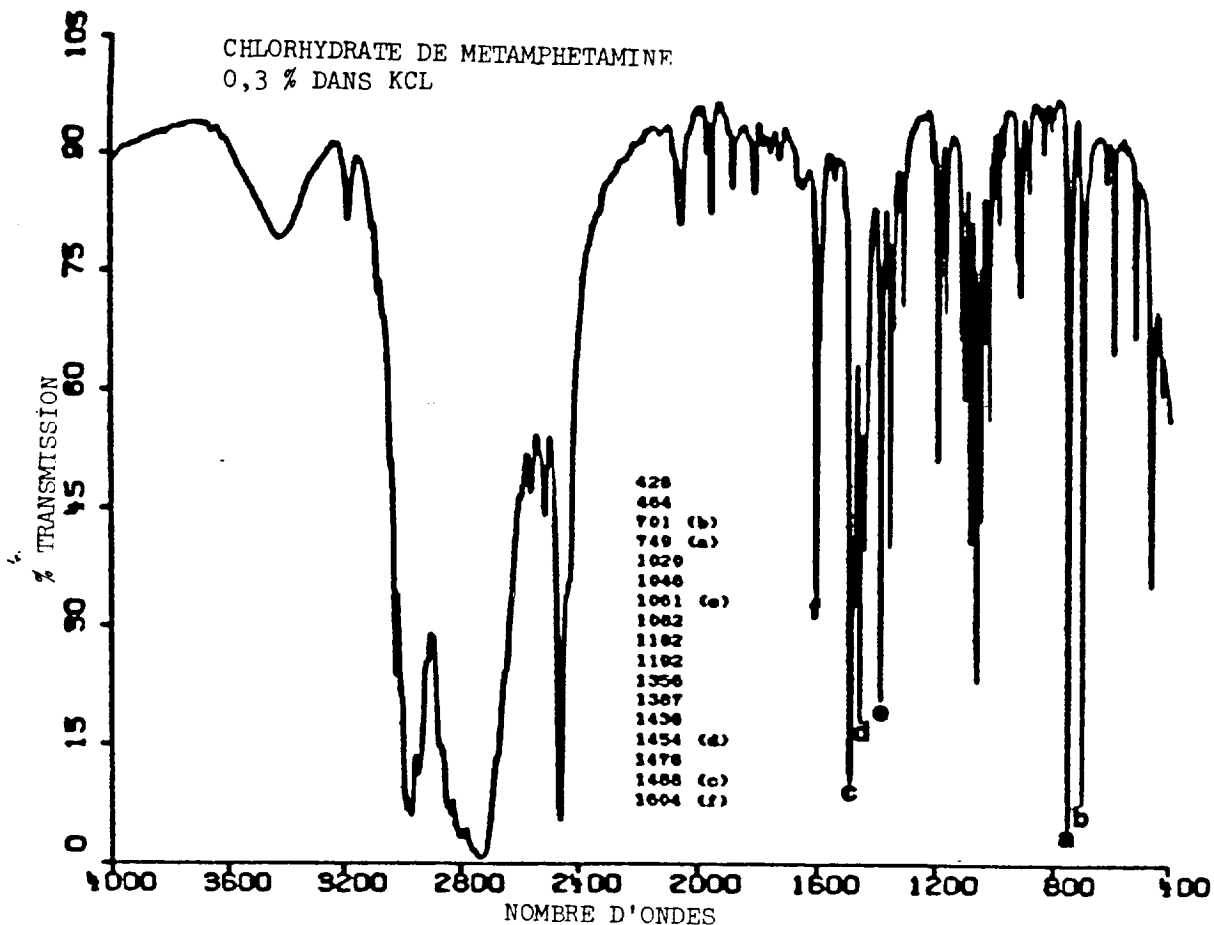
### RESULTATS

En général, les spectres des sels d'amphétamine et de métamphétamine sont enregistrés à l'aide d'échantillons préparés suivant la méthode du disque d'haloïde ou de la pâte à l'huile de Nujol, et ceux des bases libres en étalant celles-ci en fines pellicules. Les principaux pics qui se produisent dans le spectre infrarouge du sulfate d'amphétamine, du phosphate d'amphétamine, de l'amphétamine base, du chlorhydrate de métamphétamine, et de la base libre de métamphétamine sont énumérés par ordre d'absorbance décroissante sur chaque figure. La séquence peut cependant varier d'un échantillon à l'autre.









### G. Analyse des isomères optiques

L'amphétamine et la métamphétamine ont l'une et l'autre un atome de carbone asymétrique, ce qui donne une paire d'énantiomères dans chaque cas. Suivant que la substance est de source licite ou illicite, on pourra trouver dans les échantillons à analyser de l'amphétamine ou de la métamphétamine de forme l, d ou dl.

Ces isomères optiques n'ont pas tout à fait la même activité pharmacologique et sont soumis à une réglementation différente dans certains pays. Chaque isomère optique (d ou l), ainsi que le mélange racémique (dl) de l'amphétamine est placé sous contrôle en vertu de la Convention sur les substances psychotropes. Mais, pour la métamphétamine, ne sont contrôlés que les isomères d-(+) et l-(-). Dans les pays où la législation nationale exige que l'isomère optique présent soit identifié spécifiquement, on peut utiliser les méthodes d'analyse suivantes.

#### 1. Différenciation des formes l, d et dl de l'amphétamine par réaction microcristalline

Les formes d- et l- de l'amphétamine donnent des microcristaux identiques. On les distingue en formant le racémique qui donne, lui, des cristaux différents.

#### REACTIFS

##### 1. Réactif d'essai H<sub>Au</sub>Cl<sub>4</sub> dans H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> à 5 %

Dissoudre 1 g d'acide tétrachloroaurique commercial (H<sub>Au</sub>Cl<sub>4</sub>.3H<sub>2</sub>O) dans 20 ml d'une solution contenant un volume de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> concentré et deux volumes d'eau.

##### 2. Réactif de volatilisation

Préparer une solution aqueuse de NaOH à 5 %.

#### METHODE

On emploie pour l'amphétamine et la métamphétamine la technique de la "goutte en suspension". Cette technique exige une plaque à cavité, une lamelle de verre, le réactif d'essai et un réactif de volatilisation. Déposer une petite quantité de la poudre d'échantillon dans le creux de la plaque, puis une ou deux gouttes du réactif de volatilisation. L'amine libre se trouve ainsi libérée sous la forme d'une base libre volatile qui s'évapore au-dessus de la solution. Déposer immédiatement une goutte du réactif d'essai sur la lamelle et la retourner de façon à recouvrir la cavité contenant l'échantillon en la plaçant transversalement. Le réactif réagit alors sur la vapeur de l'amine présente dans la cavité. Laisser agir le temps voulu, puis retourner la lamelle pour voir si le réactif contient des cristaux ou s'il y en a sur les bords de la goutte.

#### RESULTATS

Les formes d- et l- de l'amphétamine produisent de longs bâtonnets jaunes ou des aiguilles grossières et de longues lames étroites. Le racémique, la dl-amphétamine, donne d'abord des gouttes "huileuses" puis des cristaux colorés en plaques. Ces cristaux se forment le plus souvent une fois la lamelle retournée.



### Moyen de distinguer les formes d- et l- de l'amphétamine

Si le test ci-dessus montre que l'on est en présence d'un échantillon d'amphétamine de forme d- ou l-, il faut déterminer s'il s'agit de l'une ou de l'autre. Ajouter de la poudre de l'échantillon à une petite quantité d'un sel connu de d-amphétamine déposée dans une cavité et d'un sel connu de l-amphétamine déposée dans une autre. Refaire le test décrit ci-dessus. Le mélange composé de deux formes identiques (d + d) ou (l + l) donnera les longs bâtonnets jaunes, etc. Le mélange des formes d- et l- donnera les cristaux en plaques du racémique, comme décrit plus haut.

### 2. Différenciation des formes d et dl de la métamphétamine par réaction microcristalline

#### REACTIFS

#### 1. Réactif d'essai : $H_3BiI_6$ dans $H_2SO_4$

Dissoudre 1,25 g d'iodure de potassium dans 2,0 ml d'eau. Ajouter 2,5 ml d'une solution d'une part de  $H_2SO_4$  pour sept parts d'eau, 0,5 ml d'une solution de  $Bi(NO_3)_3$  concentrée et 0,1 g d'hypophosphate de sodium. On prépare la liqueur mère concentrée de  $Bi(NO_3)_3$  en dissolvant 50 g de bismuth sous-nitrate dans 70 ml d'une solution d'une part de  $HNO_3$  pour une part d'eau allongée jusqu'à 100 ml avec de l'eau. Ce réactif se conserve plusieurs mois.

#### 2. Réactif de volatilisation - solution aqueuse de NaOH à 5 %

#### METHODE

Procéder selon la méthode de la "goutte en suspension" décrite plus haut pour l'amphétamine, mais en utilisant le réactif d'essai  $H_3BiI_6$  dans  $H_2SO_4$ .

#### RESULTATS

La d-métamphétamine donne de longues aiguilles orangées et la forme dl donne des bâtonnets d'un rouge orangé aux extrémités incurvées.

Pour plus de renseignements sur les réactions cristallines, le lecteur peut consulter :

1. Fulton, C.C. (1969) Modern Microcrystal Tests for Drugs, Wiley-Interscience, New York
2. U.S. Dept. of Justice (1986) Basic Training Program for Forensic Drug Chemists.

### 3. Différenciation des isomères optiques de l'amphétamine par la spectroscopie infrarouge

Une autre méthode de différenciation des isomères optiques de l'amphétamine repose sur le fait que les formes d-, dl- et l- de l'amphétamine en tant que sels de l'acide d-mandélique ont trois spectres infrarouges distincts.

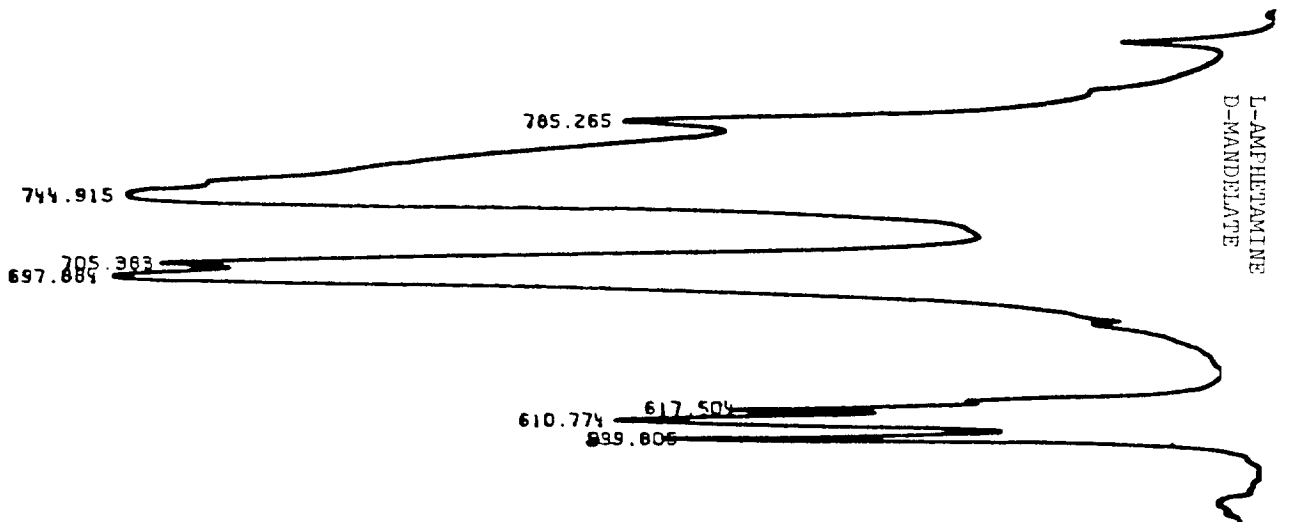
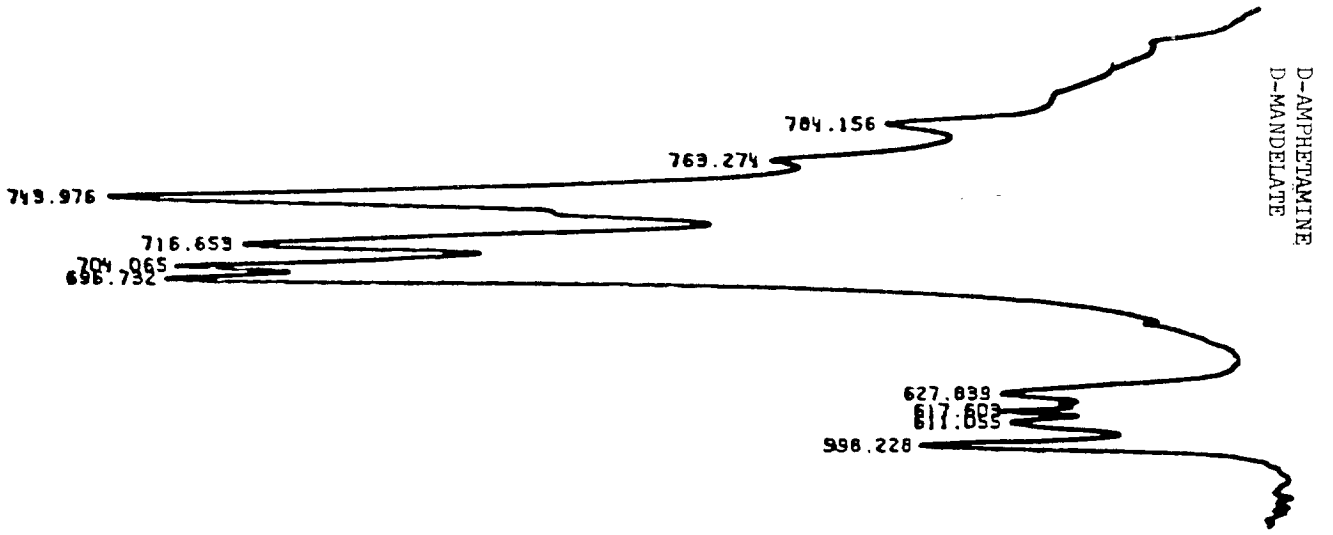
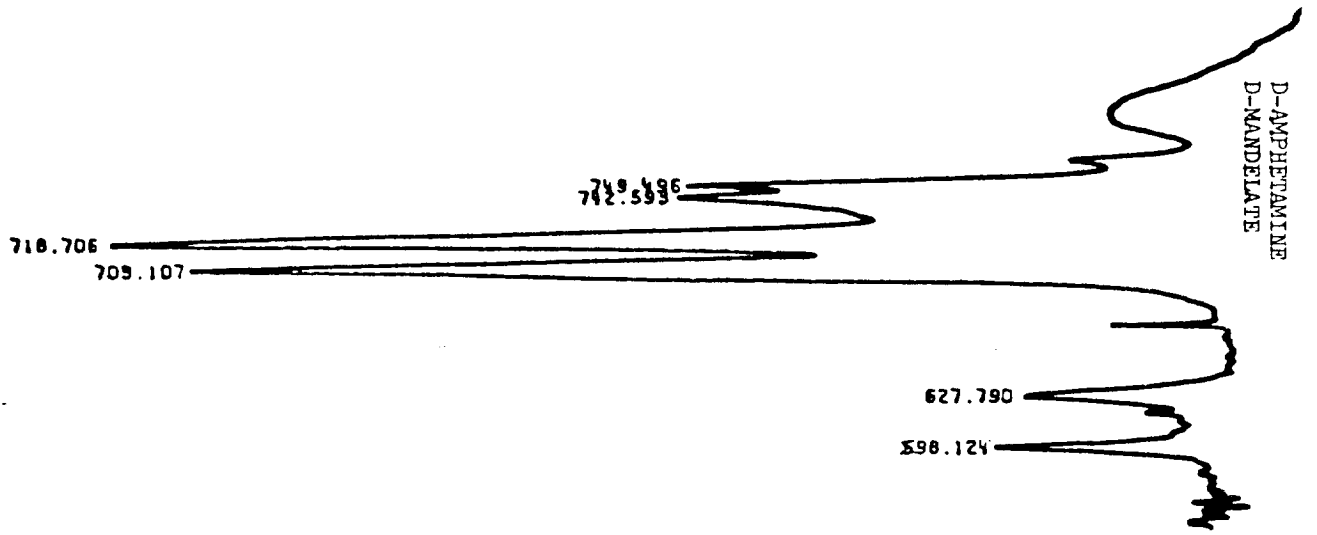
#### METHODE

Alcaliniser une solution aqueuse de n'importe quel sel d'amphétamine (10 à 50 mg) et extraire l'amphétamine dans du chlorure de méthylène. Déshydrater le chlorure de méthylène à travers du sulfate de sodium anhydre et le concentrer à environ 2 ml. Ajouter une solution saturée d'acide d-mandélique dans du chlorure de méthylène, plusieurs gouttes à la fois, jusqu'à neutralisation de l'amphétamine (papier à pH). Laisser le d-mandélate se cristalliser, filtrer la solution par succion et laver les cristaux avec une petite portion de chlorure de méthylène. Après séchage, préparer un disque à KBr des cristaux et développer le spectre infrarouge. Recommencer l'opération en utilisant des isomères optiquement purs connus de l'amphétamine et comparer les spectres à ceux que donnent les témoins purs.

#### RESULTATS

Les spectres (voir figures) des différents isomères sont suffisamment distincts, en particulier entre 800 et 600  $\text{cm}^{-1}$ , pour que l'on puisse distinguer les formes d-, dl- et l- de l'amphétamine.

Référence - Analytical Chemistry, 42 (1970), p. 1459.



4. Autres méthodes permettant de distinguer les isomères optiques de l'amphétamine de ceux de la métamphétamine

1. CCM - J. Chromatography 117 (1976), p. 442 à 444.
2. CGL - J. Forensic Sciences 27 (1982), p. 39 à 48.
3. CLHP - Analytical Chemistry 58 (1986), p. 1643 à 1648.
4. RMN - Analyst 107 (1982), p. 544 à 549.  
- J. Pharm. Belg. 36 (1981), p. 348 à 353.
5. CLHP - SM - Analytical Chemistry 58 (1986), p. 1349 à 1352.

## H. Analyse des impuretés de l'amphétamine et de la métamphétamine

### 1. Extraction et préparation de l'échantillon

Comme la plupart des impuretés sont neutres ou faiblement basiques, il faut généralement les extraire avec un solvant organique pour les séparer d'une solution aqueuse du sel d'amphétamine ou de métamphétamine. Pour la détermination quantitative de certaines impuretés comme la DIPA (diphénylisopropylamine), l'extraction doit se faire à partir d'une solution alcaline, mais elle entraîne aussi celle d'une grande quantité de drogue. Pour obtenir "l'empreinte" d'un échantillon contenant de l'amphétamine ou de la métamphétamine, opération pour laquelle il vaut mieux séparer l'impureté du reste de l'échantillon, on obtiendra de bons résultats en procédant comme suit :

Solution de l'échantillon - Réduire 200 mg de l'amphétamine ou de la métamphétamine saisie en une poudre fine et la dissoudre dans un tampon de sulfate (pH 7) pour obtenir une solution de concentration 100 mg/ml.

Extraction liquide-liquide - Extraire 2 ml de la solution de l'échantillon avec 0,2 ml d'heptane (ou de n-octane) en agitant vigoureusement pendant 2 à 5 mn. Après la séparation des phases, transférer la couche organique dans un tube de verre (en laisser une petite quantité pour éviter de transférer une quantité, même infime, de la phase aqueuse). Pour l'analyse quantitative, on peut ajouter de la diphénylamine (comme étalon interne) à la solution initiale d'heptane, à une concentration de 35 mg/L.

### 2. Chromatographie sur couche mince

Solvants de développement :

SYSTEME A :	Hexane	50
	Ether	50
SYSTEME B :	Cyclohexane	75
	Toluène	15
	Diéthylamine	10
SYSTEME C :	Isopropanol	95
	Ammoniaque concentrée	5

Solutions à chromatographier - Préparer des solutions des substances témoins à une concentration de 2 mg par ml d'acétonitrile. Déposer 1 à 5 µl de ces solutions et la solution obtenue à partir de l'extraction liquide-liquide décrite ci-dessus.

VISUALISATION

1. Lumière UV à 254 nm.
2. Iodoplatinate de potassium acidifié.

Références :

Bulletin des stupéfiants 39 (1981), p. 37 à 54.

J. Forensic Sciences 30 (1985), p. 427 à 438.

Eisei Kagaku 29 (1983), p. 400 à 406.

### 3. Chromatographie gaz-liquide

#### Conditions de travail

- SYSTEME A : Technique de la colonne à remplissage - voir ci-dessus, système A, section IV.D1.
- SYSTEME B : Technique de la colonne capillaire - voir ci-dessus section IV.D.2.
- Méthode : Injecter 1 à 5 µl de la solution de l'échantillon obtenue par la méthode d'extraction liquide-liquide décrite ci-dessus.

#### Références :

- Système A - 1. J. Forensic Sciences 23 (1978), p. 693 à 700.  
2. Eisei Kagaku 29 (1983), p. 400 à 406.

- Système B - 1. J. Chromatography 258 (1983), p. 65 à 72.  
2. J. Chromatography 234 (1984), p. 499 à 502.

#### 4. Chromatographie en phase liquide à haute pression

Système des phases inversées pour l'analyse des impuretés de l'amphétamine :

Cette méthode permet d'automatiser l'extraction et l'analyse. On utilise une colonne d'extraction en ligne pour enrichir les impuretés tandis que les amphétamines et les diluants polaires sont entraînés par de l'H<sub>2</sub>O. On actionne alors une vanne à 6 voies et les impuretés sont éluées de la colonne d'extraction C-8 vers une colonne analytique C-18 où elles sont séparées.

Appareillage : Pompe isocratique pour CLHP, système de pompage à gradient pour CLHP, valve à 6 clapets.

Colonne d'extraction : 15 mm, diamètre intérieur : 3,2 mm, octasilane 7 µm de diamètre, qualité CLHP.

Colonne d'analyse : 100 mm, diamètre intérieur : 4,6 mm, octadécylsilane qualité CLHP 5 µm de diamètre.

Colonne de garde : 30 mm, diamètre intérieur : 3,2 mm, octadécylsilane qualité CLHP 5 µm de diamètre.

Phase mobile : Solution de lavage  
Eau de qualité CLHP pour absorption et séparation.  
Pour désorption et séparation  
Solvant A  
0,2 M de butylamine dans de l'eau. Le pH est amené à 8,0 avec de l'acide o-phosphorique.  
Solvant B  
20 % (vol./vol.) de solvant A dans de l'acétonitrile.

Le pompage est d'abord à gradient et programmé linéairement pour aller de 30 à 100 % du solvant B pendant 20 mn, puis isocratique à 100 % B pendant 5 mn. A la fin de la journée, on lave le système avec une solution aqueuse d'acétonitrile à 75 % pendant environ 30 mn.

Débit : 1,0 ml par minute.  
Détection : UV à 220 et 254 nm.  
Volume injecté : 100 µl, par injecteur à boucle.  
Quantification : Par la mesure de la hauteur ou de la surface des pics, méthode de l'étalon externe.

Préparation de l'échantillon : Réduire une portion de l'échantillon saisi en une poudre fine et la dissoudre dans un tampon d'acétonitrile et de citrate de pH 3 (2:8) à une concentration de 50 mg/ml. On peut, au besoin, poser la solution sur un bain à ultrasons pendant 15 mn.

#### METHODE

Commutation des colonnes Voir figure.

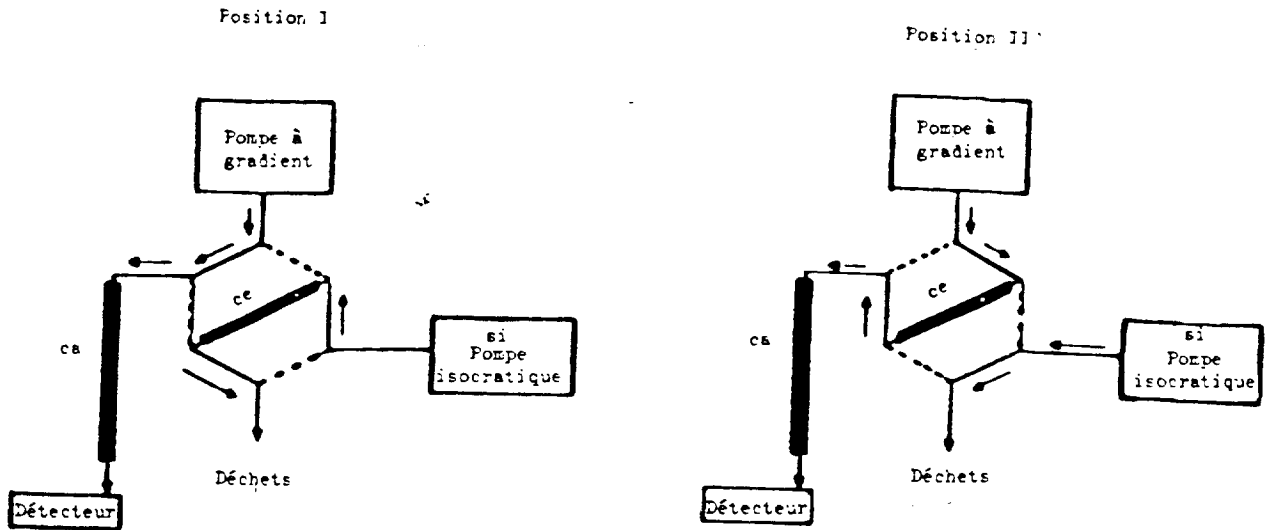
Temps 0 : Injecter 100 µl d'échantillon dans la colonne d'extraction (ce), avec l'eau comme phase mobile.

Temps 1,5 min : Le lavage à l'eau est terminé. Passage de la vanne de la position 1 à la position 2. Démarrage de la pompe à gradient. Démarrage de l'enregistreur. Les impuretés à l'état de traces sont désorbées de la colonne d'extraction (ce) et la séparation commence sur la colonne d'analyse (ca).

Temps 16,5 min : Retour de la vanne de la position 2 à la position 1 pour rétablir l'équilibre entre la colonne d'extraction (ce) et l'eau avant la nouvelle injection.

Temps 26,5 min : L'élution et la séparation dans la colonne d'analyse (ca) sont terminées.

Temps 30 min : L'équilibre est rétabli entre la colonne d'analyse (ca) et le solvant résultant du pompage à gradient initial. La colonne est prête pour une nouvelle injection.



Systeme de commutation pour préconcentration et élution des impuretés en ligne.

ce = colonne d'extraction  
ca = colonne d'analyse  
si = système d'injection



RESULTATS

<u>Composés</u>	<u>Taux de capacité K'</u>
Amphétamine	1,7
N-formylamphétamine	4,2
Méthyl-4 phényl-5 pyrimidine	6,2
N,N-di(β -phénylisopropyl)formamide	13,3
N,N-di(β -phénylisopropyl)amine	14,3
N,N-di(β -phénylisopropyl)méthylamine	19,3
Caféine	0,7
Ephédrine	1,5
Phénazone	1,8
Procaïne	4,8
Glucose	nd*
Sucrose	nd

\*nd - non détecté

Références

J. Chromatography 369 (1986), p. 365.

D'autres méthodes de CLHP sont décrites dans les publications ci-après :

1. Analytical Chemistry 58 (1986), p. 1643 à 1648.
2. J. Chromatography 295 (1984), p. 264 à 268.
3. J. Chromatography 331 (1985), p. 339 à 348.

\* \* \* \* \*

