Mise au point et validation d'une technique de détection et de quantification de cannabinoïdes de synthèse dans les urines par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Application à un panel de patients suivis pour conduite addictive au CHU de Nancy

Elise Pape

▶ **To cite this version:**

Elise Pape. Mise au point et validation d'une technique de détection et de quantification de cannabinoïdes de synthèse dans les urines par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Application à un panel de patients suivis pour conduite addictive au CHU de Nancy. Sciences pharmaceutiques. 2014. hal-01732247

HAL Id: hal-01732247
https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01732247v1

Submitted on 14 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

UNIVERSITE DE LORRAINE
2014

FACULTE DE PHARMACIE

MEMOIRE
du DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
de
BIOLOGIE MEDICALE

Soutenu devant le Jury Interrégional

Le 25 Septembre 2014

Par Elise PAPE
née le 29 avril 1987 à Besançon (25)

Conformément aux dispositions de l'arrêté

du 4 octobre 1988 tient lieu de

THESE
pour le DIPLOME D'ETAT
de DOCTEUR en PHARMACIE

Titre

Mise au point et validation d'une technique de détection et de quantification de cannabinoïdes de synthèse dans les urines par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Application à un panel de patients suivis pour conduite addictive au CHU de Nancy

---

Membres du Jury

Président : Monsieur le Professeur Jean-Yves JOUZEAU

Juges : Monsieur le Professeur Jean-Claude ALVAREZ
Monsieur le Professeur François PAILLE
Madame le Docteur Valérie GIBAJA
Monsieur le Docteur Vincent LAPREVOTE
Monsieur le Docteur Nicolas GAMBIER (Directeur de thèse)

UNIVERSITÉ DE LORRAINE
FACULTÉ DE PHARMACIE
Année universitaire 2013-2014

DOYEN
Francine PAULUS
Vice-Doyen
Francine KEDZIEREWICZ
Directeur des Etudes
Virginie PICHON
Président du Conseil de la Pédagogie
Bertrand RIHN
Président de la Commission de la Recherche
Christophe GANTZER
Président de la Commission Prospective Facultaire
Jean-Yves JOUZEAU
Responsable de la Cellule de Formations Continue et Individuelle
Béatrice FAIVRE

Responsable ERASMUS :	Francine KEDZIEREWICZ
Responsable de la filière Officine :	Francine PAULUS
Responsables de la filière Industrie :	Isabelle LARTAUD, Jean-Bernard REGNOUF de VAINS
Responsable du Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier :	Jean-Michel SIMON
Responsable Pharma Plus E.N.S.I.C. :	Jean-Bernard REGNOUF de VAINS
Responsable Pharma Plus E.N.S.A.I.A. :	Raphaël DUVAL

DOYENS HONORAIRES
Chantal FINANCE
Claude VIGNERON

PROFESSEURS EMERITES
Jeffrey ATKINSON
Max HENRY
Gérard SIEST
Claude VIGNERON

PROFESSEURS HONORAIRES
Roger BONALY
Pierre DIXNEUF
Marie-Madeleine GALTEAU
Thérèse GIRARD
Maurice HOFFMANN
Michel JACQUE
Lucien LALLOZ
Pierre LECTARD
Vincent LOPPINET
Marcel MIRJOLET
Maurice PIERFITTE
Janine SCHWARTZBROD
Louis SCHWARTZBROD

MAITRES DE CONFERENCES HONORAIRES
Monique ALBERT
Gérald CATAU
Jean-Claude CHEVIN
Jocelyne COLLOMB
Bernard DANGIEN
Marie-Claude FUZELLIER
Françoise HINZELIN
Marie-Hélène LIVERTOUX
Bernard MIGNOT
Jean-Louis MONAL
Blandine MOREAU
Dominique NOTTER
Christine PERDICAKIS
Marie-France POCHON
Anne ROVEL
Maria WELLMAN-ROUSSEAU

ASSISTANTS HONORAIRES
Marie-Catherine BERTHE
Annie PAVIS

ENSEIGNANTS	*Section CNU**	*Discipline d'enseignement*
PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS		
Danièle BENSOUSSAN-LEJZEROWICZ	*82*	*Thérapie cellulaire*
Chantal FINANCE	*82*	*Virologie, Immunologie*
Jean-Yves JOUZEAU	*80*	*Bioanalyse du médicament*
Jean-Louis MERLIN	*82*	*Biologie cellulaire*
Alain NICOLAS	*80*	*Chimie analytique et Bromatologie*
Jean-Michel SIMON	*81*	*Economie de la santé, Législation pharmaceutique*
PROFESSEURS DES UNIVERSITES		
Jean-Claude BLOCK	*87*	*Santé publique*
Christine CAPDEVILLE-ATKINSON	*86*	*Pharmacologie*
Raphaël DUVAL	*87*	*Microbiologie clinique*
Béatrice FAIVRE	*87*	*Biologie cellulaire, Hématologie*
Luc FERRARI ¤	*86*	*Toxicologie*
Pascale FRIANT-MICHEL	*85*	*Mathématiques, Physique*
Christophe GANTZER	*87*	*Microbiologie*
Frédéric JORAND ¤	*87*	*Environnement et Santé*
Pierre LABRUDE (retraite 01-11-13)	*86*	*Physiologie, Orthopédie, Maintien à domicile*
Isabelle LARTAUD	*86*	*Pharmacologie*
Dominique LAURAIN-MATTAR	*86*	*Pharmacognosie*
Brigitte LEININGER-MULLER	*87*	*Biochimie*
Pierre LEROY	*85*	*Chimie physique*
Philippe MAINCENT	*85*	*Pharmacie galénique*
Alain MARSURA	*32*	*Chimie organique*
Patrick MENU	*86*	*Physiologie*
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS	*86*	*Chimie thérapeutique*
Bertrand RIHN	*87*	*Biochimie, Biologie moléculaire*
MAITRES DE CONFÉRENCES - PRATICIENS HOSPITALIERS		
Béatrice DEMORE	*81*	*Pharmacie clinique*
Julien PERRIN	*82*	*Hématologie biologique*
Marie SOCHA	*81*	*Pharmacie clinique, thérapeutique et biotechnique*
Nathalie THILLY	*81*	*Santé publique*
MAITRES DE CONFÉRENCES		
Sandrine BANAS	*87*	*Parasitologie*
Mariette BEAUD	*87*	*Biologie cellulaire*
Emmanuelle BENOIT	*86*	*Communication et Santé*
Isabelle BERTRAND	*87*	*Microbiologie*
Michel BOISBRUN	*86*	*Chimie thérapeutique*
François BONNEAUX	*86*	*Chimie thérapeutique*
Ariane BOUDIER	*85*	*Chimie Physique*
Cédric BOURA	*86*	*Physiologie*
Igor CLAROT	*85*	*Chimie analytique*
Joël COULON	*87*	*Biochimie*
Sébastien DADE	*85*	*Bio-informatique*
Dominique DECOLIN	*85*	*Chimie analytique*
Roudayna DIAB	*85*	*Pharmacie galénique*
Natacha DREUMONT	*87*	*Biochimie générale, Biochimie clinique*
Joël DUCOURNEAU	*85*	*Biophysique, Acoustique*

ENSEIGNANTS (suite)	*Section CNU**	*Discipline d'enseignement*
Florence DUMARCAY	*86*	*Chimie thérapeutique*
François DUPUIS	*86*	*Pharmacologie*
Adil FAIZ	*85*	*Biophysique, Acoustique*
Caroline GAUCHER	*85/86*	*Chimie physique, Pharmacologie*
Stéphane GIBAUD	*86*	*Pharmacie clinique*
Thierry HUMBERT	*86*	*Chimie organique*
Olivier JOUBERT	*86*	*Toxicologie*
Francine KEDZIEREWICZ	*85*	*Pharmacie galénique*
Alexandrine LAMBERT	*85*	*Informatique, Biostatistiques*
Faten MERHI-SOUSSI	*87*	*Hématologie*
Christophe MERLIN	*87*	*Microbiologie*
Maxime MOURER	*86*	*Chimie organique*
Coumba NDIAYE	*86*	*Epidémiologie et Santé publique*
Francine PAULUS	*85*	*Informatique*
Christine PERDICAKIS	*86*	*Chimie organique*
Caroline PERRIN-SARRADO	*86*	*Pharmacologie*
Virginie PICHON	*85*	*Biophysique*
Anne SAPIN-MINET	*85*	*Pharmacie galénique*
Marie-Paule SAUDER	*87*	*Mycologie, Botanique*
Gabriel TROCKLE	*86*	*Pharmacologie*
Mihayl VARBANOV	*87*	*Immuno-Virologie*
Marie-Noëlle VAULTIER	*87*	*Mycologie, Botanique*
Emilie VELOT	*86*	*Physiologie-Physiopathologie humaines*
Mohamed ZAIOU	*87*	*Biochimie et Biologie moléculaire*
Colette ZINUTTI	*85*	*Pharmacie galénique*
PROFESSEUR ASSOCIE		
Anne MAHEUT-BOSSER	*86*	*Sémiologie*
PROFESSEUR AGREGE		
Christophe COCHAUD	*11*	*Anglais*

¤ *En attente de nomination*

**Disciplines du Conseil National des Universités :*

80 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé

81 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé

82 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques

85 ; Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé

86 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé

87 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques

32 : Personnel enseignant-chercheur de sciences en chimie organique, minérale, industrielle

11 : Professeur agrégé de lettres et sciences humaines en langues et littératures anglaises et anglo-saxonnes

SERMENT DES APOTHICAIRES

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque

« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION, NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

REMERCIEMENTS

A notre Président de jury,

Monsieur le Professeur Jean-Yves JOUZEAU

Professeur des Universités, Laboratoire d'Ingénierie Moléculaire et Physiopathologie Articulaire – UMR 7365, Université de Lorraine, Faculté de Pharmacie de Nancy
Praticien Hospitalier au laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie, Hôpital Central, CHU de Nancy

Nous vous remercions de l'honneur que vous nous faites d'accepter la présidence de notre jury. Nous vous remercions de votre soutien durant notre parcours, de vos enseignements et de votre bienveillance.
Veuillez trouver ici l'expression de notre admiration et de notre profond respect.

A notre Directeur de thèse

Monsieur le Docteur Nicolas GAMBIER

Maître de Conférences, Pharmacologie fondamentale et pharmacologie clinique, Faculté de Médecine de Nancy, Université de Lorraine
Praticien Hospitalier au laboratoire de Pharmacologie Clinique et de Toxicologie, Hôpital Central, CHU de Nancy

Nous vous remercions de nous avoir guidée tout au long de ce travail mais également de nous avoir conseillée et écoutée. Nous vous remercions aussi de nous avoir accueillie avec tant d'enthousiasme dans votre équipe durant nos stages d'internat, de nous avoir initiée à la Pharmacologie et à la Toxicologie, et de nous avoir fait confiance.
Soyez assuré de notre profonde reconnaissance.

A nos juges

Monsieur le Professeur Jean-Claude ALVAREZ

Professeur des Universités, Pharmacologie fondamentale et pharmacologie clinique, Faculté de Médecine de PIFO, Université Versailles Saint Quentin
Praticien Hospitalier au laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie du CHU R. Poincaré, Garches

Vous nous faites l'honneur de participer à notre jury de thèse et de juger ce travail. Nous vous remercions pour les enseignements et les encouragements que vous nous avez apportés durant notre période d'apprentissage dans votre service. Veuillez trouver ici l'expression de notre profond respect et le témoignage de nos remerciements sincères.

Monsieur le Professeur François PAILLE

Professeur des Universités, Thérapeutique et Médecine d'urgence à la Faculté de Médecine de Nancy - Université de Lorraine
Praticien Hospitalier dans le service de Médecine L, Hôpital de Brabois, CHU de Nancy

Nous vous remercions de nous honorer de votre présence dans notre jury de thèse. Nous espérons que ce travail suscitera votre intérêt.
Soyez assuré de notre gratitude et de notre profond respect.

Madame le Docteur Valérie GIBAJA

Docteur en Pharmacie - Praticien Hospitalier au CHU de Nancy, CEIP-A

Nous vous remercions de l'honneur que vous faites de juger notre travail.

Veuillez trouver ici le témoignage de nos sincères remerciements et l'expression de notre profonde reconnaissance.

Monsieur le Docteur Vincent LAPREVOTE

Docteur en Médecine, Praticien Hospitalier au CHU de Nancy, Service Maison des Addictions

Nous vous remercions de l'honneur que vous nous faites de participer à notre jury de thèse.

Qu'il nous soit permis d'exprimer nos remerciements et notre gratitude

Un grand merci,

A toutes les équipes qui m'ont accueillie et formée pendant ces quatre années d'internat,

Tout d'abord, un grand merci à l'équipe du laboratoire de Pharmacologie Clinique et de Toxicologie du CHU de Nancy, Nicolas, Julien, Monsieur Jouzeau, Madame Lapicque, Natacha, Sophie et Agnès ; je vous remercie pour l'enseignement que vous m'apportez, la confiance et le soutien que vous me portez et les conseils que vous me dispensez. Je vous dois beaucoup et vous en suis très reconnaissante. A Isa pour ta patience et tes conseils lors de toutes mes manips, à l'autre Isa, Anne-Sophie, Patricia et Nathalie pour votre patience et pour tout ce que vous m'apprenez également au quotidien. A Sandrine pour son précieux soutien en informatique.

A l'équipe du laboratoire de Toxicologie de Garches, Jean-Claude, Adeline, Emuri, Stan, Charlotte, Marjo, Isabelle, Céline, Amélie, Maryline, Jacqueline et avec qui j'ai également beaucoup appris durant ces 6 mois. Mon séjour parisien dans votre équipe m'a beaucoup apporté.

A toutes les équipes des laboratoires qui m'ont accueillie durant mes stages de début d'internat en biochimie, en hématologie en bactériologie et en immunologie, je vous remercie pour tout ce que vous m'avez appris.

A ma famille,

Bien sûr à ma famille, toujours là pour moi à chaque instant, en toutes circonstances, à tous les Pape de Mont de Laval mais aussi à tous les autres.

A ma Maman et mon Papa, vous qui m'entourez si bien, m'aidant à avancer. Merci pour votre soutien inconditionnel, votre lot d'amour quotidien et votre patience. Je vous remercie pour tout.

A mes frères, le grand et le petit, vous me faites bien rire, je peux compter sur vous et ça, ça compte énormément pour moi. Et bien sûr je n'oublie pas vos moitiés, Sophie et Caroline, c'est chouette de vous avoir dans la famille.

A mes grands-parents, Mémé pour tous ces moments passés avec toi, pour tout ce soutien et cet amour que tu nous envoies. A mon Pépé qui je suis sûre aurait été fier de moi, merci pour ces beaux souvenirs que tu m'as laissés. A Mamame et Papy, un grand merci pour votre

amour, pour ces mercredis soirs où vous me chouchoutiez et pour les autres bons moments passés avec vous.

Au reste de la famille, les cousins, cousines, oncles et tantes.

A mes amis,

A mes amis qui sont là depuis le tout début, Arnaud, Aurore, Yoan…Des années sont passées depuis mais vous êtes toujours là et mes passages dans notre Haut Doubs chéri sont toujours aussi magiques grâce à vous. Merci d'avoir toujours été là, dans les différentes étapes de ma vie, vous assurez les loulous et je veux un « câlin géant ».

A mes boudins,

Bezac power, la team boudins, les pink ladies, vous m'avez tellement vendu de rêve pendant ces cinq années de fac. Parce que les « RDV au bar » et bien d'autres phrases font désormais partie de mon vocabulaire.

Mes boudins, vous me manquez toutes, la distance nous a séparées mais vous resterez toujours le noyau. Merci pour cette amitié déjantée mais tellement vraie. Vous avez rendu l'épisode « Bezac » magique !

A mon Chonchon, mon binôme ; je te remercie pour tous ces bons moments et pour ton amitié sans faille, ces fous rires, les moments où tu étais là quand j'en avais besoin et pour tout le reste.

A Marie, MW tu es notre maman et encore plus depuis que tu m'as rejoint à Nancy (merci Andreas !). Si on ne t'avait pas il faudrait t'inventer avec la suze, Cartoum et la twingo ! Merci pour ta spontanéité et ta générosité, ton naturel, merci pour tes recettes de cuisine que je n'arrive pas refaire ! MW au top !

A Sab, la fac nous a réunies en tant que deux filles du Haut Doubs et franchement ça vaut le coup. Je suis fière de toi, à droite à gauche, tu déchires. C'est toujours un plaisir de te revoir et d'avoir de tes nouvelles.

A mon petit Alix, j'adore cette douceur qui te caractérise et ce dynamisme que tu dégages. Tes conseils et tes paroles réconfortantes sont toujours là au bon moment. Merci pour ta générosité et ta gentillesse et tous ces bons moments qu'on apprécie. Just enjoy raisonne en moi grâce à toi.

A Poca, tu m'impressionnes toujours, ne change rien. Tu gères !

A Julie, ça me fait toujours chaud au cœur de te revoir, ton sourire, ta spontanéité font toujours qu'on passe de bons moments. J'ai apprécié passer plus de temps avec toi pendant ma virée parisienne.

A mon Sarah Guy, tu me manques à l'autre bout du monde. Reviens nous voir.

Au reste de la « team boudins », Océane, Alizée, Eve, Fannie, Tess et toutes les pièces rapportées, un grand merci pour tous ces bons moments.

Restez comme vous êtes, je vous aime comme ça.

A mes amis nancéiens, mes amis d'internat,

A Cynthia, « poulette », merci pour tous ces bons moments et fous rires,

A Marion pour ta bonne humeur légendaire, ta « boulet-attitude » qui pourrait presque me faire concurrence et pour tout le reste…on va réfléchir à la coloc.

A Virginie, pour ton « dark style » et ta vision des choses si décalée que tu pourrais presque comprendre la mienne, parce que tu aimes les travestis et moi la drogue. Merci pour toutes ces soirées improbables à Paris et ce top 10 des brunchs.

A Solenne, merci pour ta sincérité, ta joie de vie et ton sourire !

A Marie, parce que tu me surprendras toujours, « fréquence potins Nancy » j'adore.

A Nassim et Vlad, on ne sait pas comment vous êtes rentrés dans nos vies mais après on ne peut plus se passer vous !

A Anthony, merci pour ton implication dans l'internat, de m'avoir initiée à de grandes aventures tant en local qu'en national.

A Hélène, je suis contente de t'avoir rencontrée, même si je reste une jeunette, j'apprécie ta spontanéité.

A tous les autres, Max (I miss you), Thibaut (I miss you too), Margaux et Raph, Delphine, Max et Jess, , Ben et Maria, Philippes, Lucille, Lucile et tous les autres, à tous ceux qui ont rendu ces quatre ans formidables et qui m'ont fait oublier que j'étais loin de mon Haut-Doubs. Merci à tous.

Aux autres, d'ici et là,

A Allan, qui m'a connu bébé interne, merci pour tout, pour cette convivialité, ces entrainements, pour ton aide, pour le clash Vosges versus Haut Doubs. Merci d'avoir toujours été là.

Au petit chat, la petite loutre et le grumpy cat. Merci. Je sais que tu te fiches d'apparaitre là mais juste merci. Merci de me faire sourire, rire et parfois râler ; merci pour ces messages qui donnent la pêche le matin (ou pas) « hop hop, c'est le matin ». Merci pour tous ces concepts « pjm », pour ces « vtff » ou « cmb », pour ta personnalité si atypique.

A Olivier, Albin et Laure, la dream team d'Annecy. Merci à vous pour votre bonne humeur. C'est toujours un plaisir que de passer du temps avec vous depuis ces séjours à Saint-Jorioz. J'espère qu'il y en aura beaucoup d'autres.

A Thomas pour toutes ces soirées mirabelles et tableaux Excel.

A Arthur, pour ton sourire, ta gentillesse, ton « Elise aux yeux marrons » et nos parties de « chochoille » (je n'ai jamais su l'écrire).

A Elodie, pour ces bons moments passés ensembles, WTF.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION 24

PARTIE I : SPICES ET CANNABINOIDES DE SYNTHESE 26

A. Les Spices 27

1. Les formes disponibles et la composition 27

1.1 Les mélanges d'herbes séchées 27

1.2 Une composition hétérogène et mal connue 28

1.3 Les autres formes disponibles 30

2. La vente des produits 30

2.1 Les magasins spécialisés 31

2.2 Internet 31

3. L'évolution de la consommation 33

3.1 L'ampleur du « Spice » phénomène 34

3.2 La diversification des « Spices » 36

4. La consommation des « Spices » 37

4.1 Le mode de consommation 37

4.1.1 Voie par inhalation 37

4.1.2 Voie par ingestion 38

4.2 Les populations concernées 39

4.2.1 Les adolescents et jeunes adultes 39

4.2.2 Les athlètes et sportifs 41

4.2.3 Le personnel militaire 42

4.2.4 Les conducteurs automobiles 42

4.3 Une alternative à la marijuana 43

4.4 Absence de tests de dépistage de routine 44

B. Les cannabinoïdes de synthèse 45

1. Définition 45

1.1 Nouveaux Produits de Synthèse (NPS) ou Nouvelles Substances Psychoactives .45

1.2 Strucuture chimique et classification 46

2. Historique 49

3. La législation 51

3.1 En Europe 51

3.2 En France 52

3.3 Les autres pays hors UE 52

3.4 Une surveillance internationale 53

4. Synthèse des produits 54

4.1 Synthèse chimique des molécules 54

4.2 Préparation des produits vendus 54

5. Pharmacologie des cannabinoïdes de synthèse 55

5.1 Métabolisme 55

5.2 Le système endocannabinique : les récepteurs aux cannabinoïdes 57

5.2.1 Le récepteur aux cannabinoïdes de type 1 (CB1) 57

5.2.2 Le récepteur aux cannabinoïdes de type 2 (CB2) 58

5.3 Affinité des cannabinoïdes de synthèse pour les récepteurs CB1 59

5.4 Activité des agonistes des récepteurs CB1 et CB2 61

5.5 La relation structure-activité 62

6. Les effets pharmacologiques et toxicologiques 63

6.1 Les effets pharmacologiques 63

6.2 Les effets indésirables et toxiques 65

6.2.1 Les sources d'informations 65

6.2.2. Les effets indésirables les plus fréquents 65

6.2.3 Les effets toxiques sévères 68

6.4 Dépendance et tolérance 70

7. Détection de cannabinoïdes de synthèse 71

7.1 Les matrices biologiques 71

7.2 Les techniques analytiques utilisées 73

PARTIE II : 74

MISE AU POINT D'UNE TECHNIQUE DE DOSAGE URINAIRE ET SON APPLICATION ... 74

A. Matériel et Méthode 75

1. Réactifs 75

2. Traitement des échantillons 75

2.1 Recueil des urines 75

2.2 Hydrolyse des urines 75

2.3 Préparation de la solution d'étalon interne 76

2.4 Extraction des échantillons 76

2.5 Dérivatisation 77

3. Gamme d'étalonnage 77
4. Contrôles internes de la qualité 78
5. Appareillage CG-SM 79
5.1 Equipement chromatographique 79
5.2 Spectrométrie de masse 80
6. Critères de validation de méthode 81
6.1 Répétabilité 81
6.2 Fidélité intermédiaire (reproductibilité intra-laboratoire) 82
6.3 Limite de Détection 82
6.4 Limite de quantification 83
6.5 Interférences 83
6.6 Effet matrice 84
6.7 Domaine de linéarité 85
6.8 Contamination inter-échantillons 86
6.9 Stabilité des solutions de travail 86
6.10 Stabilité des CIQ 87
6.11 Effet de la congélation /décongélation sur la stabilité des échantillons 87
6.12 Rendement de l'extraction 87
7. Etude d'une série de patients 88
7.1 Recherche urinaire des stupéfiants, de la méthadone et des benzodiazépines 88
7.2 Recherche urinaire de la buprénorphine 89
B. Résultats et Discussion 90
1. Le choix des molécules 90
2. Validation de la méthode 90
2.1 Répétabilité 91
2.2 Fidélité intermédiaire (reproductibilité inter-laboratoire) 92
2.3 Limite de détection 93
2.4 Limite de quantification 95
2.5 Interférences 96
2.6 Effet matrice 100
2.7 Domaine de linéarité 101
2.8 Contamination inter-échantillons 103

2.9 Stabilité des solutions de travail.....104

2.10 Stabilité des CIQ 105

2.11 Stabilité des échantillons congélation/décongélation 106

2.12 Rendement de l'extraction 106

3. La population étudiée 107

3.1 Age, sexe et service prescripteur 107

3.2 Consommation de stupéfiants et de benzodiazépines 108

3.3 Consommation de cannabinoïdes de synthèse.....111

CONCLUSION 115

ANNEXES 117

BIBLIOGRAPHIE.....126

LISTE DES ABBREVIATIONS

AAPCC : American Association of Poison Control Centers (association américaine des centres antipoison)

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de Santé

BSTFA : N,O-bis(trimethylsilyl) trifluoroacetamide

CAP : centre anti-poison

CB1r : Récepteur aux cannabinoïdes de type 1

CB2r : Récepteur aux cannabinoïdes de type 2

CIQ : contrôle Interne de Qualité

CLHP-SM : chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse

COFRAC : Comité Français d'Accréditation

CPG-SM : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

EI : Etalon Interne

EMCDDA : European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction

EWS : Early Warning System (système d'alerte précoce)

G6PDH : Glucose-6-Phosphate déshydrogénase

HAS : Haute Autorité de Santé

JWH : John W. Huffman

OFDT : Observatoire Français des drogues et des toxicomanies

OEDT : Observatoire européens des drogues et des toxicomanies

RCPG : Récepteurs couplés aux protéines G

Reitox : Réseau Européen d'information sur les drogues et les toxicomanies

SIM : Single Ion Monitoring

SFTA : Société Française de Toxicologique Analytique

UNODC : United Nations Office on Drugs and Crime (Office des Nations Unies contre la Drogue et le Crime)

THC : delta-9-tétrahydrocannabinol

THC-COOH : acide 11-nor-delta-9-tetrahydrocannabinol carboxylique

11-OH-THC : 11-hydroxy-tetrahydrocannabinol

TMCS : Trimethylchlorosilane

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1 : AFFINITE DES CANNABINOÏDES DE SYNTHESE POUR LES RECEPTEURS CB1 ET CB2 EN FONCTION DE LA CONSTANTE D'INHIBITION KI 60

TABLEAU 2 : EFFETS DES CANNABINOÏDES DE SYNTHESE CHEZ LA SOURIS PAR LE TEST DE LA « TETRADE CANNABINIQUE » 62

TABLEAU 3 : FREQUENCE DES EFFETS INDESIRABLES OBSERVES CHEZ DES PATIENTS ADMIS AUX URGENCES AVEC IDENTIFICATION D'UN CANNABINOÏDE DE SYNTHESE DANS LE SANG 67

TABLEAU 4 : PROTOCOLE DE REALISATION DES POINTS DE LA GAMME D'ETALONNAGE. 77

TABLEAU 5 : PROTOCOLE DE PREPARATION DES CIQ. 78

FIGURE 5: PROGRAMME DE TEMPERATURES DU FOUR. 79

TABLEAU 6 : IONS DE CONFIRMATION ET IONS DE QUANTIFICATION UTILISES DANS LA METHODE SIM EN CG-SM 80

TABLEAU 7 : MOLECULES TESTEES LORS DE L'ESSAI D'INTERFERENCES. 84

TABLEAU 8 : CARACTERISTIQUES DE LA METHODE D'IMMUNOANALYSE POUR CHACUNE DES SUBSTANCES RECHERCHEES DANS LES URINES. 89

TABLEAU 9 : RESULTATS DE L'ESSAI DE REPETABILITE EXPRIMES. 92

TABLEAU 10 : RESULTATS DE L'ESSAI DE FIDELITE INTERMEDIAIRE EXPRIMES 93

TABLEAU 11 : DETERMINATION DE LA LIMITE DE DETECTION (LOD) POUR CHACUN DES CANNABINOÏDES TESTEES CALCULEE EN FONCTION DU SIGNAL SB. 94

TABLEAU 12 : LIMITE DE QUANTIFICATION (LOQ) RETENUE POUR CHACUN DES CANNABINOÏDES TESTEES 95

TABLEAU 13 : RESULTATS DU TEST DE L'EFFET MATRICE D'UN POINT 150 NG/ML 100

TABLEAU 14 : RESULTATS DES TESTS STATISTIQUES DE REGRESSION ET DE NON LINEARITE 102

TABLEAU 15 : COMPARAISON DES VALEURS DES SOMMES DES CARRES DES ECARTS TOTALES DES REPONSES (SCEY) ENTRE LES GAMMES DE LIMITE SUPERIEURE 200 NG/ML ET 500 NG/ML 103
TABLEAU 16 : RESULTATS DE L'ESSAI DE STABILITE D'UNE SOLUTION DE CONCENTRATION A 100 NG/ML CONSERVEE A -34°C PENDANT 30 JOURS EXPRIMES EN POURCENTAGE DE LA VALEUR ATTENDUE. 104
TABLEAU 17 : ESSAI DE STABILITE DES CIQ1 ET CIQ2 CONSERVES A -34°C. LES RESULTATS SONT EXPRIMES EN POURCENTAGE DE LA CONCENTRATION INITIALE. 105
TABLEAU 18 : RESULTATS DU TEST DE CONGELATION/DECONGELATION SUR UN CIQ A 150 NG/ML 106
TABLEAU 19 : RENDEMENT D'EXTRACTION DE CHAQUE CANNABINOÏDE DE SYNTHESE TESTE POUR DES ECHANTILLONS DE CONCENTRATION 50 NG/ML ET 150 NG/ML. LES RESULTATS SONT EXPRIMES EN POURCENTAGE DE LA CONCENTRATION THEORIQUE ATTENDUE. 107

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1 : PAQUETS CONTENANT DIFFERENTS TYPE DE « SPICES » 31

FIGURE 2 : NOUVEAUX PRODUITS DE SYNTHESE IDENTIFIES EN FRANCE ET PAR FAMILLE DEPUIS 2000 34

FIGURE 3 : STRUCTURE CHIMIQUE DES MOLECULES DE THC (9-DELTA-TETRAHYDROCANNABINOL) ET DE HU 210 (11-HYDROXY-8-DELTA-THC-DMH) 47

FIGURE 4 : STRUCTURE CHIMIQUE DES MOLECULES DU GROUPE DES AMINOALKYLINDOLES 48

FIGURE 5: PROGRAMME DE TEMPERATURES DU FOUR. 79

FIGURE 6 : CHROMATOGRAMME D'UNE URINE SURCHARGEE A 100 NG/ML DE CANNABINOIDES DE SYNTHESE EN MODE TIC. 91

FIGURE 7 : CHROMATOGRAMMES DU JWH018 LORS DES ESSAIS D'INTERFERENCES. . 97

FIGURE 8 : FREQUENCE DE CONSOMMATION DES BENZODIAZEPINES ET DES STUPEFIANTS DANS LA POPULATION DE PATIENTS SUIVIS POUR CONDUITES ADDICTIVES. 108

FIGURE 9 : PREVALENCE DE LA CONSOMMATION D'UNE OU DE PLUSIEURS CLASSES DE STUPEFIANTS ET BENZODIAZEPINES CHEZ LES PATIENTS DU PANEL 110

FIGURE 10 : CHROMATOGRAMME ET SPECTROGRAMME DE MASSES DE L'ECHANTILLON POSITIF EN CANNABINOÏDES DE SYNTHESE. 112

INTRODUCTION

Les premiers cannabinoïdes de synthèse sont le fruit d'une recherche initiée dans les années 1990 qui avait pour objectif la synthèse de nouveaux médicaments antalgiques et anti-inflammatoires. La recherche sur les cannabinoïdes de synthèse s'est largement inspirée des études sur le rôle analgésique du cannabis réalisées lors des deux décennies précédentes. L'idée des chercheurs était ainsi de pouvoir disposer de nouvelles molécules capables de produire les effets thérapeutiques observés avec le cannabis par stimulation des récepteurs aux cannabinoïdes de type 2 (CB2) tout en empêchant la production de ses effets indésirables par stimulation des récepteurs aux cannabinoïdes de type 1 (CB1). Malheureusement, aucune des molécules synthétisées ne rencontra le succès escompté puisqu'il a pu être montré que les cannabinoïdes de synthèse étaient tous des agonistes partiels ou entiers de l'ensemble des récepteurs cannabinoïdes ; et avec même, pour certains d'entre eux, une affinité plus grande que le delta-9-tétrahydrocannabinol (THC) pour les récepteurs CB1.

De nos jours, les cannabinoïdes de synthèse ont été détournés de leur usage premier et utilisés à des fins récréatives. Additionnées à des mélanges d'herbes séchées et vendus sous le nom de « Spices », les cannabinoïdes de synthèse sont généralement fumés. Les effets recherchés par leurs consommateurs sont ici les mêmes effets psycho-actifs que ceux décrits pour le cannabis. C'est pour cette raison que les « Spices » sont considérés par ses consommateurs comme de la « marijuana synthétique ». Si les cannabinoïdes de synthèse possèdent des propriétés pharmacologiques similaires au THC, leurs structures chimiques en revanche en sont très éloignées. La grande hétérogénéité de leurs structures chimiques est par ailleurs à l'origine de leur classification en groupes. Le groupe de cannabinoïdes de synthèse le plus décrit et le plus étudié est celui des aminoalkylindoles dont les deux représentants les plus connus sont le JWH018 et JWH073.

L'existence sur le marché des cannabinoïdes de synthèse semble dater de 2004 mais il faudra attendre 2008 pour que la première molécule de cannabinoïdes de synthèse soit identifiée en Allemagne dans un mélange d'herbes de « Spices » ; il s'agissait alors de la molécule de JWH-018. La difficulté d'identification et de dépistage des cannabinoïdes de synthèse est au cœur même du phénomène « Spices ». En effet, les différences de structure chimique entre les cannabinoïdes de synthèse et le THC rendent ces molécules parfaitement indétectables par les méthodes d'analyse de routine des laboratoires. Ajouter à cela, le statut réglementaire et

législatif de ces produits, très variable d'un pays à l'autre, renforce l'utilisation de ces produits non inscrits ou non « encore » inscrits à la liste des produits illicites des différents pays. En France par exemple, seules 5 molécules et leurs dérivés sont classées comme stupéfiants ; ce qui laisse un champ de possibilités énorme pour les fabricants qui ont tout le loisir de synthétiser des nouvelles molécules en modifiant les structures chimiques existantes afin d'échapper à tout cadre législatif. Au final, il est ainsi aisé de comprendre que « l'indétectabilité » des cannabinoïdes de synthèse associée à une réglementation non adaptée au renouvellement rapide des molécules présentes sur le marché ne peuvent que renforcer l'usage détourné de ces produits et participer à la progression de leur consommation. D'un point de vue analytique, l'importance du taux de renouvellement des cannabinoïdes de synthèse constitue un obstacle majeur à la mise au point d'une méthode d'analyse capable de détecter l'ensemble de ces molécules. Par voie de conséquence, les données disponibles sur les cannabinoïdes de synthèse, et notamment épidémiologiques, sont peu nombreuses et parcellaires.

Devant l'ampleur du phénomène « Spices » et son possible impact sur la santé publique, le dépistage et l'identification des cannabinoïdes de synthèse sont un point essentiel afin d'améliorer les connaissances tant toxicologiques qu'épidémiologiques sur ces produits. Nous avons ainsi, dans ce travail, mis au point une méthode d'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse pour permettre le dosage urinaire de 9 cannabinoïdes de synthèse parmi les plus fréquemment décrits dans la littérature. Après sa validation selon la norme ISO 15189, norme actuellement en vigueur dans les laboratoires de biologie médicale, nous avons appliqué notre méthode d'analyse à des échantillons urinaires d'une série de patients suivis pour conduite addictive au CHU de Nancy et pour lesquels était prescrit un criblage toxicologique urinaire, afin de déterminer l'existence d'une possible consommation de cannabinoïdes de synthèse au sein de cette population.

PARTIE I : SPICES ET CANNABINOIDES DE SYNTHESE

A. LES SPICES

1. LES FORMES DISPONIBLES ET LA COMPOSITION

1.1 Les mélanges d'herbes séchées

Les « Spices » sont des mélanges d'herbes aromatiques séchées sur lesquels sont pulvérisés des cannabinoïdes de synthèse. Ils sont généralement fumés pour obtenir des effets similaires à ceux ressentis lors d'une consommation de cannabis.

Nom commercial dans un premier temps, le « Spice » est utilisé aujourd'hui pour désigner de façon générique ces mélanges d'herbes contenant des cannabinoïdes de synthèse. Ils sont vendus sous des noms de rue très variés, par exemple « K2 » ou « Kronic » aux Etats-Unis et en Australie (1) et d'autres noms comme Spice Gold, Spice Diamond, Yucatan Fire, Smoke, Gorillaz, Blue Lotus, Aroma, Banana cream, Tai fun, Chill zone mint, Sensation orange, Blackberry, Chaos cherry, Zen Ultra, Smoke, Happy tiger incense (2).

Les dénominations ne caractérisent pas une composition précise du mélange d'herbes. D'ailleurs, cette liste est non exhaustive puisque de nouveaux noms apparaissent en fonction des molécules de cannabinoïdes de synthèse émergeant sur le marché. Ainsi de nouveaux mélanges d'herbes arrivent régulièrement sur le marché constitués à la fois d'anciennes et de nouvelles molécules. Ces variations de composition sont des tactiques utilisées par les fabricants pour contourner les lois (3). Aujourd'hui, plus de 140 préparations « Spice » connues sous divers noms sont vendues comme « encens à brûler » ou « pot pourris » pour ne pas être présentées comme produits à usage récréatif (4).

Les mélanges d'herbes ne contiennent pas forcement de tabac ou de marijuana. Ils peuvent être nommés HMA pour « Herbal Marijuana Alternative » ou « Marijuana synthétique » (5).

Leur composition variable fait appel à différentes plantes issues de nombreuses familles comme la damiana, la mélisse, la menthe, le thym, la variété Scutelleria (famille des Lamiaceae), l'espèce Canavalia maritima (famille des Fabaceae) ou Nymphaea alba (famille des Nymphaeaceae), etc. Dissous dans divers solvants, les cannabinoïdes de synthèse sont pulvérisés sur ces mélanges d'herbes qui servent de support. Cependant, le type de plantes utilisé ne semble pas avoir été choisi au hasard. Certaines d'entre elles sont connues pour posséder des propriétés similaires à celle de la marijuana lorsqu'elles sont fumées (2). Par exemple, la variété Passiflora est connue en phytothérapie pour ses effets psychotropes et notamment anxiolytiques (2)(4) ou Scutelleria utilisée en phytothérapie pour ses propriétés tranquillisantes. Certains alcaloïdes de ces plantes sont connus pour leurs effets cannabis-like, par exemple l'aucubine contenu dans Pedicularis densiflora (« Indian Warrior ») ou la leonurine contenue dans Leonotis leonorus (« Lion's Tail » ou « Wild Dagga ») (1)(3)(9). D'autres alcaloïdes potentiellement psychoactifs, comme la betonicine, l'aporphine ou la nicotine ont également été décrits (2)(6). L'utilisation de telles plantes par les fabricants de « Spice » a été motivée par le souhait de créer un doute quant à l'origine des effets psychotropes recherchés afin de dissiper les soupçons des autorités sur la réelle implication des molécules synthétiques. En effet, la présence conjointe de ces plantes à des cannabinoïdes de synthèse a compliqué l'origine étiologique des effets décrits par les consommateurs, l'objectif ultime étant certainement de retarder leur interdiction. Cette hypothèse pouvait être évoquée au début de l'émergence de ces produits sur le marché mais aujourd'hui elle n'est plus envisageable du fait de la relative évolution des connaissances sur ces produits. Les propriétés pharmacologiques de ces cannabinoïdes de synthèse ont depuis été décrites comme étant à l'origine d'effets psychoactifs non négligeables pour la santé des consommateurs.

1.2 Une composition hétérogène et mal connue

Les emballages dans lesquels sont vendus les « Spices » présentent peu d'informations. Si ces emballages mentionnent le plus souvent le poids total d'herbes contenu, les données qualitatives comme la composition chimique exacte de ces produits sont, quant à elles, le plus souvent des cas absentes (2)(7). La présence des cannabinoïdes de synthèse non reportée sur l'emballage, s'inscrit dans une volonté commerciale de faussement présenter ces produits

comme naturels, ce qui engendre indéniablement un manque d'information sur la potentielle toxicité liée à leur consommation (2)(8).

Ajouter à cela, des études ont révélé que la composition de végétaux retrouvés dans certains mélanges d'herbes était différente de celle mentionnée sur les emballages (9). L'analyse de ces mélanges a par ailleurs permis d'identifier 5 groupes de composés. Plusieurs hypothèses ont été émises quant à leur rôle dans la composition (3)(10). On peut citer :

- Les composants psychoactifs : il s'agit des différents cannabinoïdes de synthèse ajoutés aux plantes.

- Les composants destinés à améliorer ou modifier la qualité du produit vendu : se trouve dans ce groupe notamment le tocophérol, qui va avoir une action anti-oxydante et permettre une certaine stabilité du produit dans le temps et éviter la dégradation des composés psychoactifs.

- Les additifs aromatiques : ils rendent les « Spices » plus attrayants à la consommation (menthol, eugenol, caféine…).

- Les substances issues des plantes utilisées pour le mélange d'herbes. On trouve des alcaloïdes psychoactifs (nicotine…).

- Les composés d'hémisynthèse ou les impuretés de synthèse ou autres dérivés : du chrome ou d'autres métaux ont été mis en évidence. Leur présence est dans ce cas plutôt due à des négligences lors de la synthèse et de la fabrication.

La présence d'additifs et d'adultérants peut parfois rendre difficile l'analyse de ces produits et l'identification des cannabinoïdes de synthèse. Certains auteurs suggèrent même que l'ajout de ces substances dans le produit vendu est délibéré et a pour unique objectif d'interférer sur les méthodes d'analyses (11). Les adultérants de type tocophérols ou oléamides ont été principalement retrouvés dans les premièrs « Spices » mis sur le marché. Uchiyama *et al*. retrouvent la présence de tocophérol et d'oléamide dans la majorité des échantillons vendus via le net au Japon entre juin 2008 et juin 2009 (9), ce qui n'est plus vrai pour les lots actuels. La raison de l'ajout de ces produits aux mélanges n'est pas réellement élucidée et deux hypothèses sont avancées : masquer les véritables composés actifs ou stabiliser le produit final.

Quelques études publiées sur l'analyse qualitative et quantitative de divers mélanges d'herbes présents sur le marché montrent une variation qualitative de leur composition au cours du temps, même si certains cannabinoïdes de synthèse peuvent être retrouvés dans plusieurs lots. D'un point de vue quantitatif, il reste également une grande variation de la teneur en cannabinoïdes de synthèse entre les différents lots (9). Par défaut d'information, le consommateur n'a bien évidemment pas connaissance de ces données qualitatives et quantitatives, et les réelles informations dont il dispose sont la liste des substances végétales, le plus souvent inertes, présentes dans le mélange (11).

1.3 Les autres formes disponibles

Vendus le plus souvent sous forme de mélange d'herbes séchées, il est possible de trouver du « Spice » prêt à l'emploi sous forme de cigarette. Les cannabinoïdes de synthèse peuvent également être vendus sous forme de poudre avec la mention « produits chimiques pour la recherche », la dissolution dans des solvants et la pulvérisation sur des herbes séchées étant réalisées par le consommateur (9)(12).

2. LA VENTE DES PRODUITS

Il est difficile d'évaluer l'ampleur des marchés concernant certaines drogues comme les cannabinoïdes de synthèse ou les cathinones de synthèse.

Vendus dans des paquets contenant en général 3g de mélange d'herbes à fumer, les « Spices » sont vendus sous divers noms commerciaux dans des conditionnements issus d'un travail de marketing (**Figure n°1**) : paquets à dessins colorés, psychédéliques, décalés ou plutôt amusants et très colorés (4)(7)(13)(14), laissant à penser une utilisation récréative de ces produits contrastant avec l'inscription « not for human consumption ». Ils peuvent également être vendus sous la forme de paquets de thé, d'encens ou même de tabac à rouler.

Figure 1 : Paquets contenant différents type de « Spices » (UNODC 2011 (15))

2.1 Les magasins spécialisés

Il est relativement facile de se procurer des « Spices », disponibles à la vente sur internet et dans certains magasins appelés « headshop » ou « smartshop » (2). Il s'agit de magasins spécialisés légaux dans la vente de produits psychoactifs légaux et issus de plantes. Certains pays intègrent, dans le cadre de leurs lois, la surveillance voire l'interdiction de ces magasins notamment en Pologne (12).

2.2 Internet

Quelques études se sont intéressées au marché des euphorisants légaux disponibles sur internet et concluent que l'approvisionnement par internet serait la voie privilégiée des consommateurs (2)(12)(16).

Concernant l'Europe, deux études internationales menées par l'European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA) en 2008 et 2009, auprès de 30 pays appartenant au Réseau Européen d'Information sur les Drogues et les Toxicomanies (Reitox) dressent en

2009 un état des lieux des ventes en ligne des « Spices » (2). Cent quinze boutiques en ligne réparties dans 17 pays européens ont été identifiées. Parmi ces distributeurs, 48% d'entre eux étaient basés dans 14 pays européens et proposaient du « Spice ». La majorité des sites de vente était localisée au Royaume Uni (58%), en Roumanie, en Irlande et en Lettonie. Cette étude a également permis de montrer qu'aucun magasin en ligne n'avait été identifié dans les pays où des mesures législatives concernant la surveillance et l'interdiction de vente de ces produits avaient été mises en place (Allemagne, France et Autriche). Ce caractère préventif de l'encadrement législatif est cependant à modérer puisqu'en 2011, une trentaine de sites francophones proposant des nouveaux produits de synthèse ont été identifiés .

D'après Schmidt *et al*(8), les Etats Unis et le Royaume Uni hébergent la majorité des sites de vente de « legal highs » via internet. L'enquête de l'EMCDDA réalisée en 2009 plaçait même le Royaume Uni comme premier pays hébergeur de sites de distribution de ce type de produits. *In fine*, si les personnes physiques sont basées au Royaume-Uni, les serveurs informatiques sont hébergés dans d'autres pays afin d'échapper aux réglementations nationales (14).

L'étude de Schmidt *et al* réalisée en 2011 (8) détaille les différents produits vendus sur ces sites. Il a été recensé entre 500 et plus de 1000 produits « legal highs » différents avec une moyenne de 16 cannabinoïdes de synthèse par site. Les « Spices » proposés parmi d'autres produits sont catégorisés dans la rubrique « effet sédatif ». Ils sont proposés à la vente sous forme de mélange d'herbes et représentent 3,7% des produits totaux. Le JWH018 et le CP47,497 représentent 5.7 % des 25 composés les plus fréquemment retrouvés sur ces différents sites internet explorés durant cette étude.

A partir des données ethnographiques, l'OFDT a décrit en 2011 plusieurs types de sites internet proposant des nouvelles substances psychoactives (NPS ou New Psychoactive Substances) dont les cannabinoïdes de synthèse. En fonction du profil du consommateur, la commercialisation est différente. En effet, les sites dédiés à un public averti, minoritaire, proposent des molécules sous forme de poudre vendues sous leur nom et leur formule chimique, de présentation austère et peu attrayante. En revanche, la majorité des sites internet est beaucoup plus attractif et proposent les molécules sous des noms commerciaux à destination d'un public le plus souvent novice, faisant appel à des stratégies commerciales élaborées. Ces sites ne délivrent que très peu d'information sur les produits et ne précisent pas explicitement l'origine de ces molécules synthétiques (14).

Le fait que les « Spices » soient des drogues assez répandues, la vente par internet a facilité fortement cette diffusion. En effet, en quelques clics, il est possible d'acheter du « Spice » à un prix très raisonnable sans restriction d'âge. Pour Fattore *et al* (6), internet joue un rôle important dans le marché des nouvelles drogues et participe à augmenter la popularité de ces dernières auprès des consommateurs.

2.3 Le prix de vente

Lorsqu'il est vendu auprès d'un fournisseur, le prix de vente du « Spice » est plus élevé que sur internet. En effet, un paquet contenant 3 grammes et pouvant servir à fabriquer 8 joints est vendu entre 25 et 40 euros (4)(18)(19) entre 2010 et 2013 alors que son prix est estimé entre de 12 à 18 euros sur internet en 2011 (11). Selon l'OFDT, le prix de revente des NPS est souvent 3 à 10 fois plus chers que le prix de vente directe sur internet (20).

L'étude réalisée par l'EMCDDA en 2008 dans différents pays européens révèle un prix moyen de vente sur internet comparable à celui de la marijuana, évalué entre 20 et 30 euros par paquet (2)(6).

3. L'EVOLUTION DE LA CONSOMMATION

Synthétisés à l'origine dans un but thérapeutique, les cannabinoïdes de synthèse ont été détournés à des fins récréatives dès le début des années 2000. Les « Spices » sont consommés pour leurs effets similaires à ceux ressentis lors de la consommation de cannabis (3).

3.1 L'ampleur du « Spice » phénomène

Les premières saisies sur le marché de mélanges d'herbes contenant des cannabinoïdes de synthèse ont été rapportées en 2004 en Europe notamment en Allemagne, en Suisse et au Royaume Uni. La consommation de tels produits était marginale et ne concernait que quelques populations particulières de consommateurs expérimentaux (15). Ce n'est qu'en 2008 que le phénomène a pris de l'ampleur avec une augmentation de leur consommation en Europe. L'origine probable de cet engouement pourrait être un battage médiatique mettant en avant leur capacité à être des substituts légaux du cannabis. Leur popularité n'a ainsi cessé de croître touchant peu à peu d'autres pays européens puis les Etats-Unis, l'Australie et la Nouvelle Zélande en 2010 et 2011 (21). La détection de ces produits depuis 2009 sur de nombreux territoires est le reflet d'un probable phénomène de mode à l'échelle internationale. Selon l'OFDT, depuis 2010, la majorité des nouvelles substances psychoactives détectées en France sur le marché concerne les cannabinoïdes de synthèse (**Figure n°2**) (14). Le nombre de molécules identifiées augmente depuis 2011 passant respectivement de 5 à 10 puis 13 en 2011, 2012 et 2013.

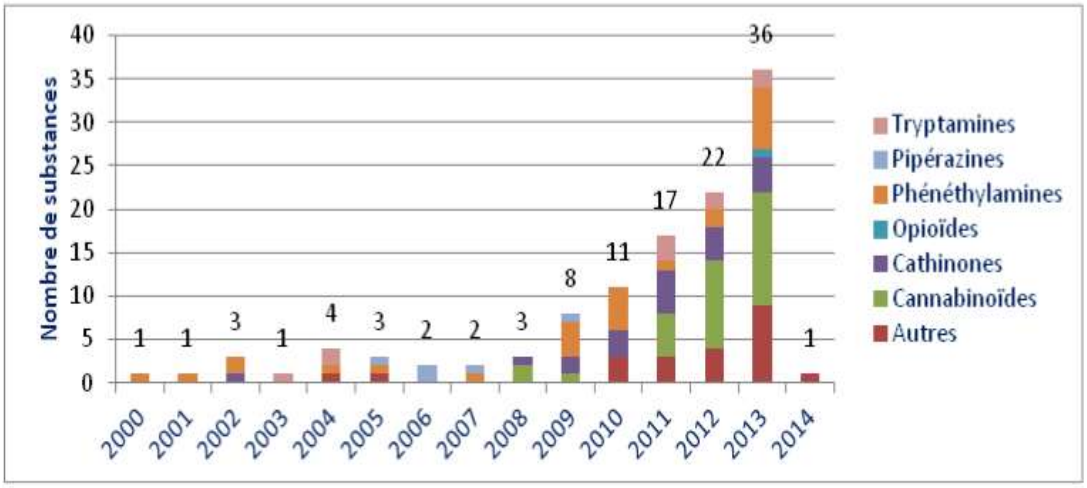


Figure 2 : Nouveaux produits de synthèse identifiés en France et par famille depuis 2000 (OFDT, 2014 (14))

A l'échelle européenne, la même tendance est observée avec une augmentation du nombre de molécules identifiées avec respectivement 23 à 30 puis 29 en 2011, 2012 et 2013 (7).

Parallèlement, le nombre de magasins ou de sites en ligne proposant la vente de ces produits a augmenté de façon non négligeable notamment aux Etats Unis et au Royaume Uni (2) reflétant ainsi l'engouement pour ces nouvelles substances. Cette information doit cependant être nuancée pour les cannabinoïdes de synthèse puisqu'il s'agit de magasins vendant de nombreux autres euphorisants légaux et cette conclusion ne peut pas être directement transposée aux cannabinoïdes de synthsèe. Une autre source d'information importante, reflet de la consommation de ces produits, est la documentation des cas d'intoxication rapportés chez des patients ayant consommé des «Spices». Ceci, bien sûr, ne permet pas de connaitre la prévalence de la consommation de ces drogues dans la population mais permet, en plus de la mise en évidence de la toxicité, de dégager une tendance de la consommation. Par exemple, aux Etats Unis, l'association américaine des centres antipoison (AAPCC ou the American Association of Poison Control Centers) (22) révèle que le nombre d'appels téléphoniques reçus par les centres antipoison relatifs à la consommation de « Spice » est passé de 13 pour l'année 2009 à 3000 pour l'année 2010. Ce même organisme recense les cas exposés aux « Spices » ou aux cannabinoïdes de synthèse depuis 2009. Les chiffres présentés correspondent à 6968 expositions, 5230, 2658 et 1099 expositions respectivement pour les années 2011, 2012, 2013 et le début de l'année 2014 (22). Ainsi, à partir de ces seules données, même si la tendance semble être à la baisse, il est difficile aujourd'hui de conclure si ce phénomène de mode, débuté en 2008 et ayant atteint un pic entre 2010 et 2011 est en train de s'estomper vraiment ou de perdurer dans le temps. En effet, internet contribue largement à propager et entretenir ce « Spice Phénomène » via les blogs dédiés aux consommateurs de ces substances. A partir des échanges entre consommateurs sur les effets ressentis, les préparations de mixtures, la recherche de nouvelles expériences, le classement des produits les plus appréciés et la mise en avant des effets recherchés, il se dessine auprès des jeunes consommateurs une tendance à vouloir se procurer ce type de drogue facilement accessible (6).

A noter que l'ampleur de ce phénomène n'est peut-être cependant pas le même dans tous les pays. En effet, l'étude menée en 2009 par l'EMCDDA dans les pays du réseau Reitox révèle que certaines agences ont déclaré ne pas avoir identifié de cannabinoïdes de synthèse sur leur territoire, comme le Luxembourg, la Suède, la Lituanie ou encore Chypre. Les 21 autres pays ont détecté des cannabinoïdes de synthèse dans différents types de produits en circulation. En

France par exemple, l'analyse de 4 types de mélanges d'herbes a révélé la présence de cannabinoïdes de synthèse. Cependant, même s'il est difficile d'estimer la fréquence et l'importance de la consommation d'une nouvelle substance, la France déclarait en 2009 que l'intérêt des populations potentiellement consommatrices de « Spices » semblait limité. Néanmoins, cette étude présente des limites sur le plan analytique, en effet, peu de techniques à cette époque permettaient le dépistage et l'identification des cannabinoïdes de synthèse (15).

3.2 La diversification des « Spices »

La diversification des « Spices » correspond à une évolution et à un changement des cannabinoïdes de synthèse présents dans les mélanges d'herbes.

Cette diversification de composition répond à une volonté de ne proposer que des molécules non soumises à la réglementation des pays de distribution. La synthèse de nouvelles molécules avec une structure chimique légèrement différente, permet de contourner la loi et de pérenniser la vente de ces nouveaux produits. Zuba et Byrska qui ont analysé 420 échantillons de « Spices » (12) sur une période de 3 ans et demi (de 2007 à 2010) en Pologne, ont constaté que les changements de composition des produits étaient calqués sur les grandes vagues d'amendements interdisant la consommation de ces molécules. Par exemple, la fréquence de détection du JWH018 est passée de 24% à 6,1% à partir d'octobre 2010, soit un an après son interdiction (mai 2009). Lindigkeit *et al.* a observé en 2009 la même tendance sur le territoire allemand mais l'auteur conclut que ces molécules devenues illicites restent présentes dans les « Spices » (23). Si les différentes réglementations et législations impactent le marché des cannabinoïdes de synthèse, elles ne permettent cependant pas de les éradiquer totalement.

Kneisel *et al* (24) ont également observé que la composition en cannabinoïdes de synthèse contenus dans les « Spices » sur le territoire allemand variait dans le temps. Durant la période 2011-2012, l'auteur a recherché et dosé plusieurs cannabinoïdes de synthèse dans le sérum de patients hospitalisés en psychiatrie, en centres de désintoxication ou en soins intensifs pour intoxications sévères en Allemagne. Sur les 833 échantillons analysés, 27 % soit 227 étaient positifs aux cannabinoïdes de synthèse, dont 80% pour le JWH210 et 64% pour le JWH122.

Ces résultats ne corroborent pas ceux de Dresen (25) obtenus en 2010 qui présentaient le JWH081 et le JWH250 comme les molécules majoritaires. Cependant, des biais de comparaison existent puisque Dresen ne détectait alors pas le JWH210 et le JWH122. Il est donc difficile à partir de ces études, d'évaluer la diversification des cannabinoïdes de synthèse au cours du temps, les techniques analytiques ne permettant pas de dépister les mêmes molécules à un temps donné. Les deux auteurs relatent cependant le même fait : malgré leur interdiction dans certains pays au moment des différentes études, le JWH018 et le JWH073 étaient encore présents sur le marché, vendus et consommés.

Enfin, à côté des cannabinoïdes de synthèse, certaines publications révèlent que les « Spices » pourraient contenir également de la kétamine ou du cannabis (26). Ce mélange de substances, connues des consommateurs, a pour objectif de potentialiser les effets psychoactifs. Ces nouvelles combinaisons seraient néanmoins peu utilisées (27).

4. LA CONSOMMATION DES « SPICES »

4.1 Le mode de consommation

Plusieurs méthodes existent pour consommer les « Spices », la plus courante étant la consommation par inhalation. Dans une moindre proportion, les « Spices » se consomme par voie orale (ingestion) et aucun document ne rapporte à ce jour une consommation par voie parentérale ou rectale (11).

4.1.1 Voie par inhalation

La consommation de « Spice » par inhalation est la plus connue par la grande majorité des consommateurs ; les mélanges d'herbes séchées étant soient intégrés à des cigarettes ou à des joints. Certains jeunes consommateurs utilisent également des narguilés ou des pipes à eau

(28). Les utilisateurs décrivent des effets psychoactifs apparaissant et s'estompant plus rapidement en comparaison à la marijuana fumée (29)(30).

Les « Spices » lorsqu'ils sont fumés, peuvent être mélangés à la marijuana, avec du tabac ou utilisés seuls lors de la préparation des cigarettes ou des joints par les consommateurs. Certains auteurs présentent le « Spice » chez les fumeurs chroniques et réguliers de cannabis qui souhaitent lui trouver une alternative. Ainsi, leur consommation au départ composée uniquement de marijuana évolue en une consommation de marijuana associée à du « Spice ». Leurs joints peuvent alors être composés de 50% de marijuana et de 50% de « Spice ». Certains de ces consommateurs décrivent une action synergique des deux produits avec des sensations beaucoup plus fortes lorsque les deux produits sont combinés plutôt que consommés seuls (29).

Du fait de leur grande lipophilie, les cannabinoïdes de synthèse peuvent être vaporisés sans être dégradés (15). Cependant au vu du grand nombre de composés autres que les cannabinoïdes de synthèse contenus dans les mélanges d'herbes, il est difficile de connaitre l'impact de la combustion sur ces différents composés (10). De plus, la voie par inhalation ne permet pas non plus d'exclure une toxicité pulmonaire notamment due à l'inhalation de composés brulés (29).

4.1.2 Voie par ingestion

Bien que peu fréquente, l'ingestion de « Spices » est décrite dans quelques documents et forums sur internet. Pour ce faire, les mélanges d'herbes sont infusés ou utilisés en décoctions. Néanmoins, ces molécules étant particulièrement lipophiles pour la plupart d'entre elles, leur solubilité dans l'eau est fortement réduite, leur consommation sous forme de thés ou de tisanes ne semblent pas de ce fait répondre aux attentes des consommateurs (15).

Par ailleurs, cette voie implique une absorption plus lente et un premier passage hépatique qui allonge le délai d'apparition des effets comparé à celle de la voie inhalée (15).

4.2 Les populations concernées

Avant 2008, la consommation des « Spices » restait très sporadique et concernait un type particulier et restreint de consommateurs en quête de nouvelles expérimentations. A partir de 2008, ces produits sont devenus plus attractifs et populaires du fait de leur promotion et de nouveaux genres de consommateurs sont apparus. Néanmoins, les données épidémiologiques restent limitées pour plusieurs raisons. Parmi elles, nous pouvons citer notamment le manque de définitions communes au niveau international avec pour conséquences une perte d'homogénéité des recherches des différentes molécules et l'absence de consensus quant aux différentes techniques de détection et leurs limites. La grande diversité des molécules et des produits complique le contexte. Ainsi il est difficile d'estimer l'étendue de la consommation des « Spices ». La prévalence de la consommation de cannabinoïdes de synthèse dans la population générale est méconnue car les seules études réalisées portaient sur des sous-groupes correspondant à des populations particulières, non représentatifs de la population générale (31).

A ce jour, peu d'études ont décrit le profil du consommateur de « Spices » (28). Cependant, les jeunes adultes semblent plus concernés par le phénomène. Les cas rapportés dans la littérature décrivent 3 grands profils de consommateurs : 1) les consommateurs de cannabis, 2) les consommateurs occasionnels de cannabis cherchant à éviter les risques juridiques et pénaux et 3) les non consommateurs de drogues voulant uniquement expérimenter ces nouvelles drogues (32).

4.2.1 Les adolescents et jeunes adultes

Il semblerait que la consommation de « Spices » touche essentiellement les adolescents et les adultes.

Vandrey *et al*. (16) ont publié en 2012 les résultats d'une étude basée sur une enquête réalisée via internet. Bien que celle-ci présente plusieurs biais de sélection et de réponse, elle permet néanmoins d'obtenir quelques informations sur les tendances de consommations de ce type de drogues. Plusieurs éléments ressortent de cette étude :

Les consommateurs sont relativement jeunes (26 ans en moyenne), consommateurs de drogues licites ou illicites : alcool, cannabis, tabac pour plus de la moitié, et pour quelques cas cocaïne, amphétamines et benzodiazépines. Pour 21 % d'entre eux, le « Spice » serait la drogue de choix avec une consommation motivée par la curiosité de cette nouvelle drogue, ses effets décrits ou la négativité des tests toxicologiques classiques. La majorité des consommateurs interrogés a connaissance des effets indésirables encourus par la consommation de « Spice » mais continue à consommer ces produits malgré leur interdiction.

En complément de cette étude, des chiffres annoncés par les centres antipoison des Etats-Unis ont évalué que 60% des appels relatifs à la consommation de cannabinoïdes de synthèse concernaient des personnes de moins de 25 ans. La même tendance est observée au sein des services des urgences américains où ¾ des consultations concernaient des patients âgés de 12 à 29 ans et 78% des patients de sexe masculin (33)(34). En effet, la consommation chez les jeunes femmes semble moins répandue que chez les hommes du même âge (11).

Les études ciblées sur la population étudiante de plusieurs pays ont révélé que les étudiants sont exposés précocement aux « Spices ». Une étude américaine réalisée en 2012 par Johnston *et al.* révèle une prévalence de 8,8% chez les 15/16 ans et de 11,3 % chez les 17/18 ans (35). La marijuana synthétique serait la deuxième drogue la plus consommée dans cette population. Hu *et al.* ont évalué une prévalence similaire à celle citée précédemment chez des lycéens américains (8%). Le « Spice », dans cette population, est majoritairement fumé sous forme de cigarettes ou de joints (88%) et moins souvent avec un narguilé (36%)(28). L'auteur arrive à la même conclusion que Johnston *et al*. quant à la prévalence de la consommation des cannabinoïdes de synthèse. Cette prévalence est certes moins importante que celle de la marijuana ou du tabac, mais devance les autres drogues couramment connues et utilisées (LSD, héroïne, substances sédatives…). Cette étude fait cependant apparaitre quelques biais, notamment de réponse puisque la majorité des personnes ayant répondu à l'enquête sont des jeunes filles qui sont certainement des consommatrices moins fréquentes.

Par rapport aux Etats-Unis, les études réalisées en Europe donnent des prévalences plus faibles, par exemple, 0,4% chez les 15-24 ans et 0,1 % chez les adultes anglais (36) ou 0,6 % chez les adolescents espagnols en 2012 (7).

En 2008 et 2009, Werse *et al*. ont interrogé 2186 étudiants allemands âgés de 15 à 19 ans à l'aide d'un questionnaire et d'un entretien. Sept pour cent ont reconnu avoir déjà eu une expérience avec les cannabinoïdes de synthèse. Les consommateurs de cannabinoïdes de

synthèse étaient déjà, pour la plupart, des consommateurs de cannabis (37). Cependant, Werse *et al.* concluent que cette population n'était pas la plus à risque malgré une prévalence non négligeable. En effet, contrairement aux consommateurs de « legal highs » dont 16% déclare consommer de façon chronique des mélanges d'herbes (10 fois par mois), les adolescents quant à eux, semblent s'arrêter à leur première expérience (38).

4.2.2 Les athlètes et sportifs

Comme le cannabis, les cannabinoïdes de synthèse sont classés depuis 2011 sur la liste des substances interdites en compétition sportive par l'Agence mondiale anti-dopage. Les molécules JWH018, JWH073 et le HU-210 y sont inscrites de façon nominative mais on y trouve également le terme générique de « Spice » qui permet d'englober les autres cannabinoïdes de synthèse (39). La recherche de cannabinoïdes de synthèse lors de contrôles anti-dopage se justifie d'autant plus qu'il est probable que les sportifs consomment ces molécules du fait qu'elles ne soient pas détectées par les tests de dépistage toxicologique classiques.

Les études réalisées sur la population sportive sont peu nombreuses et ne permettent pas de la considérer comme une population à risque, cependant Hetsley *et al.* présentent en 2012 une prévalence de 4,5% chez les athlètes américains (40). L'auteur s'est intéressé aux deux molécules les plus populaires que sont le JWH018 et le JWH073 ainsi que leurs métabolites, ce qui rend cette étude non exhaustive. Cela est d'autant plus vrai qu'à partir de 2012, le JWH018 et le JWH073 étaient inscrits sur la liste des substances illicites, mais malgré cela ils sont encore présents, de façon moins fréquente, dans les mélanges d'herbes.

Une autre étude menée par Moller en 2010 a également permis de retrouver du JWH018 dans des urines testées (n=7500) lors de contrôle anti-dopage (41).

Pour conclure, le peu de données concernant cette population ne permet pas de suspecter une discipline plus amatrice de ces substances qu'une autre, ni de savoir si l'inscription des molécules sur la liste des substances stupéfiantes a modifié ou non l'usage de ces produits dans le milieu sportif.

4.2.3 Le personnel militaire

L'armée est un secteur non épargné par la consommation de cannabinoïdes de synthèse. Plusieurs cas ont été décrits dans la population militaire américaine (42)(43). La popularité de ces substances dans les corps de l'armée étant bien connue, de nouvelles mesures ont été intégrées à celles déjà existantes pour inclure les cannabinoïdes de synthèse dans la recherche de drogues illicites chez les militaires engagés.

L'étude de Walker *et al*. (44) menée sur une population de militaires américains (n = 199) a montré que les cannabinoïdes de synthèse sont plus populaires chez les militaires engagés que chez les civils. Le profil du militaire consommateur de cannabinoïdes de synthèse est un jeune homme célibataire avec un niveau de revenus et d'éducation moins élevés que le consommateur d'alcool. Par ailleurs ces consommateurs développeraient plus fréquemment des symptômes de dépendance et d'abus qu'avec l'usage d'autres drogues, à l'exception de l'alcool. L'étude montre que 12 % des consommateurs de cannabinoïdes de synthèse présentaient des critères d'abus comme l'incapacité à satisfaire leurs obligations de service ; 68% présentaient des signes de dépendance comme l'augmentation des doses, une consommation plus fréquente ou un syndrome de manque.

En 2012, une interdiction de posséder et de consommer des cannabinoïdes de synthèse a été établie dans l'armée américaine (45).

4.2.4 Les conducteurs automobiles

Plusieurs cas de conducteurs automobiles positifs au dépistage de cannabinoïdes de synthèse ont été publiés dans la littérature (46).

L'étude norvégienne menée par Tuv *et al.* (31) chez 726 conducteurs automobiles positifs au test de dépistage de substances illicites réalisé lors d'un contrôle routier ou suite à un accident de la circulation, a révélé que 2,2% des échantillons étaient positifs aux cannabinoïdes de

synthèse. Parmi les six cannabinoïdes de synthèse identifiés, l'AM2201 et le JWH018 ont été les plus fréquemment retrouvés.

Les auteurs ont conclu qu'il était difficile d'évaluer si les conducteurs étaient ou non sous l'emprise du «Spice» au moment de l'accident, et cela pour différentes raisons : 1) d'autres molécules psychoactives notamment du THC ont été détectées à des concentrations élevées, 2) même si les effets des cannabinoïdes de synthèse sur le système nerveux central (SNC) sont connus - notamment une vigilance et des réflexes altérés incompatibles avec la conduite automobile - aucune étude clinique n'a pu prouver à l'heure actuelle les effets d'une telle consommation sur les performances psychomotrices, 3) les concentrations sanguines détectées chez ces conducteurs sont faibles (de 0,07 à 1,67 ng/mL).

Même si le lien entre la conduite automobile sous l'emprise de cannabinoïdes de synthèse et le risque d'augmentation d'accidents de la circulation ne peut être établi, la détection des cannabinoïdes de synthèse dans les matrices biologiques est nécessaire.

4.3 Une alternative à la marijuana

Il est difficile d'obtenir des données concernant le profil du consommateur de « Spice » dans la population générale ; plusieurs études décrivent le « Spice » chez des fumeurs de marijuana (28). Les consommateurs testent les cannabinoïdes de synthèse pour leur facilité d'approvisionnement, la vente par internet de « Spice » permet alors de se fournir en cannabinoïdes de synthèse sans dépendre de dealers, ainsi que pour éviter de positiver les tests de dépistage toxicologique classiques (29).

Pour certains consommateurs dépendant au cannabis, les cannabinoïdes de synthèse sont perçus comme des molécules de « substitution » permettant d'éviter le syndrome de manque. Plusieurs cas ont été rapportés chez les consommateurs de cannabis pour lesquels aucun symptôme de sevrage au cannabis n'est apparu après substitution par le « Spice ». L'auteur Gunderson suggère que cela peut être considéré comme une preuve *in vivo* de l'activité agoniste des cannabinoïdes de synthèse sur les récepteurs aux cannabinoïdes (29).

Fattore *et al.* rapportent que la plupart des consommateurs savent que les propriétés psychoactives de ces mélanges d'herbes proviennent principalement des composés synthétiques. Le manque d'étude *in vivo* ou *in vitro* ne semble par ailleurs pas être un frein à leur consommation. Certains consommateurs, notamment les plus jeunes d'entre eux, les considèrent même comme plus sains que le cannabis (6).

4.4 Absence de tests de dépistage de routine

L'indétectibilité des cannabinoïdes de synthèse aux tests de dépistage habituellement utilisés en routine par les laboratoires dans le cadre de criblages toxicologiques est une des raisons de l'engouement pour ces produits par les adolescents et les jeunes adultes qui pensent ainsi se préserver de tous litiges face à un dépistage potentiel (33). Ceci les rassure notamment dans le cas des contrôles routiers où le retrait de permis de conduire peut être une conséquence à une détection positive de substances illicites (37). Il en est de même pour les personnes qui sont amenées à subir régulièrement des tests toxicologiques (i.e. après une période de détention carcérale ou dans le cadre de leur profession) (6)(27).

B. LES CANNABINOÏDES DE SYNTHESE

1. DEFINITION

Les cannabinoïdes de synthèse sont des agonistes des récepteurs aux cannabinoïdes et correspondent à une grande famille de composés chimiques structurellement différents du delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) mais ayant des effets pharmacologiques similaires.

1.1 Nouveaux Produits de Synthèse (NPS) ou Nouvelles Substances Psychoactives

Les cannabinoïdes de synthèse font partie de la famille des NPS qui regroupe des substances utilisées à des fins récréatives et abusives. Ce terme NPS est apparu courant 2008 et désigne des substances imitant les effets de substances illicites telles que l'ecstasy, les amphétamines, la cocaïne, le cannabis (14). Les cannabinoïdes de synthèse correspondent à un groupe de molécules parmi les 7 groupes référencés comme NPS (cannabinoïdes de synthèse, cathinones de synthèse, phénéthylamines..). A noter que toutes ces molécules ne sont ni contrôlées, ni soumises à la convention sur les drogues et narcotiques de 1961 ou à la convention des substances psychoactives de 1971 des Nations Unies (47). Elles peuvent être disponibles sous leur forme pure ou sous forme de différentes préparations. Leur apparition sur le marché peut cependant engendrer des problèmes de santé publique au même titre que les substances inscrites sur ces conventions.

Il existe une nuance entre le terme « nouveaux produits de synthèse » utilisé en France et le terme européen « nouvelles substances psychoactives ». La dénomination européenne inclut des drogues connues mais dont l'émergence sur le marché est récente. Le terme français quant à lui, se focalise sur les nouvelles drogues synthétisées et n'intègre pas les plantes hallucinogènes par exemple (14).

En 2009, l'EMCDDA et Europol rapportaient dans leur rapport annuel une augmentation du nombre de NPS au cours de cette année, toutes étant des molécules d'origine synthétique. Cette large augmentation observée est due à l'apparition de nombreux cannabinoïdes de synthèse, 9 des 24 molécules recensées (48). En 2013, l'OFDT confirme que la moitié des nouveaux produits de synthèse correspond à des cannabinoïdes de synthèse. Ces molécules ont donc été rapportées pour la première fois en 2008 et 2009 dans différents pays européens tels que l'Allemagne, le Danemark, le Royaume Uni et la Lituanie.

Beaucoup d'autres dénominations sont fréquemment rencontrées pour désigner les NPS. Cette hétérogénéité d'appellation peut être responsable de confusion notamment en ce qui concerne l'aspect légal de ces différents groupes de molécules. Par exemple, les cannabinoïdes de synthèse sont désignés par le terme anglais « legal highs » traduit par « euphorisants légaux » qui englobe les molécules non réglementées par la loi, synthétiques ou dérivées de substances naturelles. Ce terme est un abus de langage qui le rend inapproprié car ces substances ne sont pas légales ; soit elles n'ont pas encore de statut juridique précis soit elles sont classées comme stupéfiants (14). De même pour les mentions souvent rencontrées sur les conditionnements commerciaux ou sur les sites dédiés à la vente qui permettent de présenter ces produits comme légaux ou de contourner la législation en masquant la réelle nature du produit comme nous avons pu le voir précédemment. Il s'agit des termes « herbal highs », « engrais », « encens ». D'autres termes encore se basent plus sur l'approche chimique et l'origine synthétique de ces molécules : « designer drugs », « research chemicals ». Pour ce dernier, l'association de la mention « usage réservé à la recherche » tente de contourner la législation.

1.2 Structure chimique et classification

Le NC-IUPHAR (International Union of Basic and Clinical Pharmacology Committee on Receptor Nomenclature and Drug Classification) classe les ligands des récepteurs aux cannabinoïdes à partir de leur structure chimique et permet de les différencier en plusieurs groupes (49) :

1. Cannabinoïdes classiques :

Ce groupe comprend le THC (Delta-9-tetrahydrocannabinol) et les autres composés présents dans le cannabis (cannabinol et cannabidiol). Viennent s'ajouter des analogues synthétiques du THC tel que le HU-210 (HU pour Hebrew university) présentant une structure à noyau dibenzopyrane dont la structure chimique est représentée sur la **Figure n° 3**.

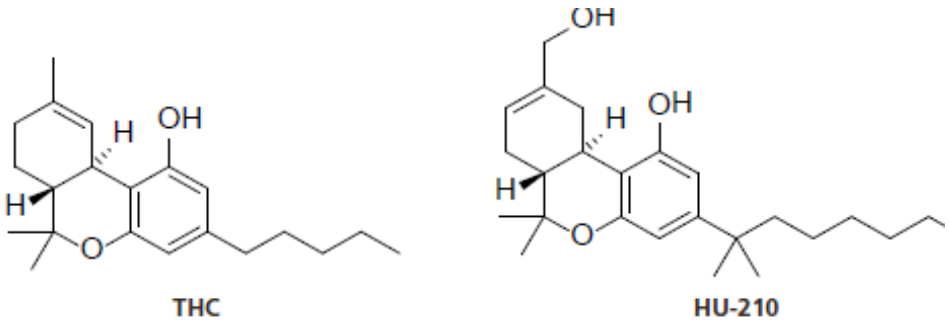


Figure 3 : Structure chimique des molécules de THC (9-delta-tétrahydrocannabinol) et de HU 210 (11-hydroxy-8-delta-THC-DMH)

2. Cannabinoïdes non classiques :

Il s'agit des molécules Cyclohexylphenols (CP) ou 3-arylcyclohexanols et les homologues C6 et C9.

3. Aminoalkylindoles :

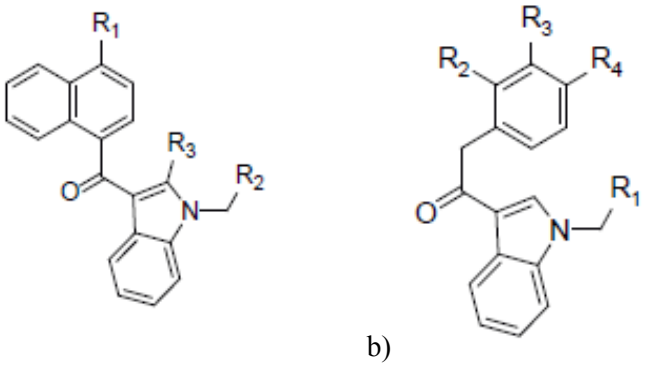
Ce groupe qui comprend de nombreuses molécules, est divisé en différents sous-groupes en fonction des groupements chimiques qui viennent s'ajouter au noyau indole. On y retrouve :

- Les Naphtoylindoles (ex : JWH018, JWH073, JWH122)
- Les Naphthylméthylindole (ex : JWH184)
- Les Phenylacetylindoles (ex : JWH250)
- Les Benzoylindoles (ex : RCS4)
- Les Cycloprpoylindoles (ex : UR-144 et XLR-11)

- Les Adamantoylindoles (ex : AB-001)

- Les Indole carboxamides (ex : APICA, STS-135)

L'ensemble des structures chimiques des cannabinoïdes de synthèse aminoalkylindole est détaillé en **Annexe n°1**. Seuls les squelettes des 2 premiers sous-groupes sont présentés sur la **Figure n° 4**.



a) b)

Figure 4 : Structure chimique des molécules du groupe des aminoalkylindoles : a) naphtoylindoles et b) phenylacetylindoles.

4. Eicosanoides :

Les eicosanoïdes regroupent les endocannabinoïdes, des dérivés d'acides gras comme l'oléamide ou l'anandamide et ses dérivés. On y trouve également des dérivés synthétisés comme le methanandamide.

Les deux cannabinoïdes endogènes les plus connus sont l'anandamide et le 2-AG. L'anandamide (arachidoyléthanolamide) est un amide d'acide gras, et le 2-AG (2-arachydonoylglycérol), un ester d'acide gras. Ces deux molécules peuvent être synthétisées dans les cellules à partir de précurseurs à la suite de stimulation de récepteurs puis directement libérées sans être stockées dans des vésicules. Elles miment le comportement pharmacologique du THC. L'anandamide est un agoniste partiel se liant préférentiellement sur les récepteurs CB1 que CB2. Le 2-AG quant à lui a des actions moins puissantes que l'anandamide et le THC.

1. Autres classes :

D'autres molécules ont été identifiées comme étant des agonistes des récepteurs aux cannabinoïdes par exemple les dérivés diarylpyrazoles (SR141716A), naphtoylpyrroles (JWH-307), naphtylmethylindenes ou indazole carboxamides (AKB-48)

Il existe un large panel de molécules qui se différencient par de simples substitutions comme l'ajout de groupements halogénés, alkyls, aromatiques ou des chaînes alkyles comme présentés dans l'Annexe 1. Ces modifications structurelles influencent leur affinité et leur puissance intrinsèque sur les récepteurs aux cannabinoïdes et par conséquent sur leurs effets cannabimimétiques.

Ces dernières années, de nombreuses molécules appartenant à ces différents groupes de cannabinoïdes de synthèse ont été retrouvées dans des mélanges d'herbes à fumer « Spice » à travers le monde entier bien que le groupe des aminoalkylindoles soit le plus souvent identifié puisqu'il comprend les molécules les plus facilement synthétisables.

En 2014, l'EMCDDA a répertorié, 105 cannabinoïdes de synthèse différents (7).

Concernant leurs propriétés physico-chimiques, ces molécules sont généralement liposolubles, de poids moléculaire faible et facilement volatiles ce qui leur permet d'être fumées (7). Le plus souvent sous forme de poudre, elles peuvent également être retrouvées sous forme d'huile (4). La couleur des poudres peut être considérée comme un critère de pureté car, en effet, il est décrit des poudres blanches avec des nuances de brun ou de jaune qui traduisent la présence de résidus de synthèse (50).

2. HISTORIQUE

Ces molécules ont été synthétisées pour la plupart il y a une vingtaine d'années à des fins thérapeutiques pour leur potentiel analgésique et anti-inflammatoire (CP55,940 et WIN-55,212-2) (3).

La première molécule synthétisée est la pravadoline, molécule analgésique par un mécanisme d'action différent de celui des morphiniques ou des inhibiteurs de la cyclo-oxygénase. Ecartée pour sa néphrotoxicité, les scientifiques ont synthétisé des analogues aminoalkylindoles pour comprendre le mécanisme d'action de ces molécules. C'est ainsi que dans les années 1980, les

laboratoires Pfizer synthétisent la molécule CP-47,497 comme agent analgésique. A cette même époque, l'université hébraïque de Jérusalem développe le HU-210 et le Pr Huffman synthétise les naphtoylindoles connus sous le nom de JWH (pour J. W Huffman). Ces travaux ont permis de découvrir que ces molécules agissaient au niveau des récepteurs aux cannabinoïdes d'où le terme de cannabinoïdes de synthèse.

Le Pr Huffman a ensuite travaillé sur la synthèse d'agonistes spécifiques aux récepteurs aux cannabinoïdes de type 2 pour potentialiser les effets anti-inflammatoires sans engendrer d'effets psychoactifs via les récepteurs de type 1. Malheureusement les activités intrinsèques sur les deux types de récepteurs n'ont pu être dissociées, ce qui en fait de bons candidats pour un usage récréatif.

C'est en 2008 et 2009 que ces molécules commencent à être identifiées pour la première fois en Allemagne et en Autriche dans des produits « Spices ». Le premier cannabinoïde de synthèse découvert était le JWH018. Dès lors, le nombre de nouveaux cannabinoïdes de synthèse identifiés dans les mélanges d'herbe n'a cessé de croître : en Europe 9 en 2009, 11 en 2010, 23 en 2011, 30 en 2012, 29 en 2013 (7).

Avant de découvrir ces cannabinoïdes de synthèse dans les mélanges d'herbes, de nombreux obstacles ont été franchis tels que la complexité des matrices que sont les mélanges de plantes, la présence d'autres composés qui masquent la présence de ces cannabinoïdes de synthèse ou l'absence de molécules de référence répertoriées dans les bibliothèques habituellement utilisées en spectrométrie de masse (7).

3. LA LEGISLATION

Les « Spices » ont longtemps été considérés comme des « produits légaux » puisqu'ils n'étaient pas, dans la plupart des pays, soumis aux lois relatives aux stupéfiants. Ainsi, leur détention et leur utilisation n'étaient pas officiellement interdites et leur vente était possible dans un cadre autre que celui de la consommation humaine (pots-pourris, encens) (6).

La mention « not for human consumption » et l'inscription incomplète de leur composition sur le conditionnement non obligatoire renforcent leur « légalité » aux yeux de certains consommateurs et acheteurs (3).

Après plusieurs cas d'intoxication rapportés à la suite de consommation de cannabinoïdes de synthèse, les autorités ont, depuis quelques années, modifié les statuts de ces molécules (**Annexe n°2**). Plusieurs états de l'Union Européenne, dont la France, ont classé les cannabinoïdes de synthèse comme substances narcotiques, stupéfiantes et dopantes interdisant ainsi la vente libre de « Spice » dans les magasins spécialisés et sur internet.

3.1 En Europe

En Europe, il n'existe pas de consensus. A partir des critères de dangerosité définis par l'OMS, chaque pays peut décider de classer ou non une molécule comme stupéfiant. Cela est également possible par le Conseil Européen via la procédure centralisée. Les cannabinoïdes de synthèse n'ont pas été soumis à cette dernière procédure et leur régulation dépend uniquement des mesures législatives nationales. En 2011, ces dernières sont présentées dans l'Annexe n°2 relative au statut législatif de chacun des pays. En 2013, 14 états de l'Europe ont classé les cannabinoïdes de synthèse comme substances stupéfiantes ou médicamenteuses (6).

C'est en Allemagne que les premiers cannabinoïdes de synthèse (JWH018 et CP47, 497 et ses homologues) ont été interdits suite à la détection du JWH018 dans un mélange d'herbe « Spice » en décembre 2008 (23).

Au Royaume Uni, cinq cannabinoïdes de synthèse ont été classés nominativement en 2009 comme stupéfiants. Et depuis 2013, le terme générique de « agonistes synthétiques des récepteurs aux cannabinoïdes » a remplacé le nom chimique de la molécule interdisant la production, la vente ou la possession de ces substances sur le territoire du Royaume Uni. Cette mesure présente l'avantage d'anticiper les modifications chimiques et structurelles des molécules par les fabricants (51)(52)(53).

3.2 En France

En France, certains cannabinoïdes de synthèse ont été classés comme stupéfiants suite à la parution au Journal Officiel de l'arrêté du 24 février 2009 modifiant l'arrêté du 22 février 1990 qui fixe la liste des substances classées comme stupéfiants : le JWH-018, le CP47,497 et ces homologues C6,C8 et C9, le HU-210 ainsi que leurs isomères, stéréo-isomères, esters, éthers et sels (4)(54)(55). Cette mesure fait suite à la proposition de l'ANSM après avis de la Commission nationale des stupéfiants et des psychotropes qui était basée sur le potentiel addictif de ces substances.

Même un classement dit « générique » qui interdit toutes les molécules appartenant à une famille a déjà été instauré en France, cela n'a pas été appliqué pour les cannabinoïdes de synthèse contrairement aux cathinones qui sont une autre classe de NPS (56).

3.3 Les autres pays hors UE

Comme pour les pays de l'Union Européenne, les mesures relatives à la détention, la vente ou la consommation de cannabinoïdes de synthèse sont abordées différemment selon les pays.

A titre d'exemple, en Australie, les cannabinoïdes de synthèse n'étaient pas assujettis à la loi fédérale interdisant la détention de cannabis ou de ses analogues, étant structurellement différents du THC. C'est en 2011, suite à l'émergence de ces cannabinoïdes de synthèse sur

son territoire que l'état australien a considéré ces molécules, à titre nominatif, comme analogues du THC (57).

Aux Etats-Unis les cinq premiers cannabinoïdes de synthèse, le JWH018, JWH073, JWH200, CP47,497 et le CP47,497-C8 ont été inscrits comme molécules illégales (6) de façon temporaire en mars 2011 puis de façon permanente à partir de juin 2012 sous la catégorie « agents cannabimimétiques ». De la même façon, l'UR-144, XLR-11 et l'APINACA sont classés de façon temporaire sur cette même liste. Le contrôle des autres molécules est régi par les lois fédérales.

En Nouvelle-Zélande, il est interdit de vendre des produits se fumant à des personnes de moins de 18 ans. Cependant, avec l'inscription « herbe d'encens » ou « ne pas utiliser pour la consommation humaine », les « Spices » vendus échappent à la loi « Smoke-Free Environnements Act 1990 ». Depuis mai 2014, les cannabinoïdes de synthèse ont été intégrés à la loi des substances psychoactives (58).

3.4 Une surveillance internationale

De nombreux réseaux, se sont mis en place pour centraliser les informations sur l'émergence des nouvelles drogues, par exemple des conventions élaborées par la Commission des Stupéfiants des Nations Unies (CND ou Commission Narcotic Drugs) en 2005 (59).

En 2009, le système d'alerte précoce (Early Warning System ou EWS) de l'EMCDDA en collaboration avec Europol (European Police Office) a permis d'obtenir de nombreuses informations comme l'identification de 9 nouveaux cannabinoïdes de synthèse sur le marché européen (6). Ce système permet également d'informer les états de l'UE sur les éventuels problèmes de santé publique engendrés (48).

Cependant, le manque de consensus international relatif aux « Spices » peut expliquer la difficulté de leur surveillance et de leur contrôle. Il est difficile pour les autorités d'identifier les fabricants et les laboratoires de fabrication même si certains grossistes ont pu être identifiés via les sites internet (27) : exemple des compagnies basées au Royaume Uni et en

Allemagne conditionnant des «Spices» sur le sol européen à partir de poudres importées d'Asie (60).

4. SYNTHESE DES PRODUITS

4.1 Synthèse chimique des molécules

Les molécules les plus fréquemment rencontrées dans les saisies de « Spice » sont des composés de la famille des amminoalkylindoles étant les plus facilement synthétisables. Leur synthèse chimique nécessite en effet des coûts d'équipement de laboratoire, de solvants et de réactifs bien plus accessibles.

Comme rapporté dans de nombreuses études, la synthèse et l'apparition de nouvelles molécules sont étroitement liées au statut législatif des pays. En 2012, l'UNODC a caractérisé le JWH018 comme le cannabinoïde de synthèse le plus répandu suivi d'autres molécules de la classe des aminoalkylindoles, le JWH073, le JWH250 et le JWH081 (59). Le cycle de vie des différentes molécules, à l'exception de certains aminoalkylindoles, est de l'ordre de 12 à 24 mois (52).

4.2 Préparation des produits vendus

Les produits contenant des cannabinoïdes de synthèse émergent courant 2004. Les cannabinoïdes de synthèse sont pour la majorité synthétisés en Chine sous forme de poudre, transportés en empruntant des moyens légaux pour être distribués dans les différents réseaux. La poudre peut être soit mélangée aux plantes, ce qui peut entraîner une distribution non homogène du produit, soit dissoute dans des solvants organiques avant d'être pulvérisée. Cette seconde option nécessite alors une évaporation par la suite.

Après synthèse, la pureté des poudres est peu vérifiée. Certaines poudres sont tout de même de bonne qualité puisque quelques études réalisées sur des saisies ont montré des teneurs variant de 75 à 90% en cannabinoïdes de synthèse, teneurs comparables aux poudres obtenues dans le commerce et utilisées comme standard. D'autres poudres semblent être de moins bonne qualité et présentent des impuretés responsables de texture, de couleur, d'odeur différentes d'une poudre pure (50). Ces impuretés ne semblent cependant pas être à l'origine des effets indésirables observés après consommation des poudres. Enfin, il est également possible de retrouver des contaminations en cannabinoïdes de synthèse entre différents lots dues aux négligences de nettoyage des équipements utilisés pour réaliser les mélanges. Les produits obtenus sont exportés sous de fausses déclarations en étant dénommés «polyphosphates», «acide maléique», «dioxide de titanium» (61).

La fabrication des « Spices» peut être réalisée à l'échelle industrielle mais également à l'échelle artisanale à l'aide d'équipements non prévus à cet effet comme par exemple des bétonnières utilisées pour le mélange des cannabinoïdes de synthèse avec le matériel végétal (7).

A noter que certains consommateurs se procurent directement les poudres afin de réaliser eux-mêmes leur propre mélange d'herbes à fumer.

5. PHARMACOLOGIE DES CANNABINOÏDES DE SYNTHESE

5.1 Métabolisme

Jusqu'en 2009, peu d'articles ont été publiés sur la pharmacologie des cannabinoïdes de synthèse. Avec l'augmentation de leur consommation et la publication d'intoxications chez des consommateurs, la littérature s'est enrichie en travaux sur les voies métaboliques et d'élimination des cannabinoïdes de synthèse. Les premiers travaux publiés dans les années 2000 se sont limités au métabolisme *in vitro* de quelques molécules telles que le WIN-55,212-2, l'AM-630 ou le JWH015. Quelques années plus tard, au vu de l'émergence d'autres

molécules sur le marché, des études *in vivo* ont été réalisées notamment avec le JWH018 (10)(19) (62).

De nombreux métabolites ont été identifiés pour chaque cannabinoïdes de synthèse, par exemple 22 pour le JWH250. Mais en l'absence de standard, il est difficile d'identifier formellement les métabolites. Par exemple, le métabolite monohydroxylé urinaire du JWH018 serait pour Sibolevsky et Grigoryev le métabolite majoritaire alors que Chimalakonda et ElSohly n'arrivent pas à la même conclusion (10)(63)(64)(65)(66)(67)(68). Parmi les différents types de métabolites identifiés pour les molécules aminoalkylindoles, des dérivés hydoxylés, carboxylés ou N-désalkylés ont pu être retrouvés (62)(69)(70).

Ces métabolites sont le plus souvent glucuronoconjugués et issus de la voie métabolique des cytochromes P450 (CYP450) (19)(71). Les cytochromes P450 2C9 et 1A2 sont les principaux isoformes impliqués dans le métabolisme du JWH018 et de l'AM2201. Les CYP2D6, 2E1 et 3A4 seraient également impliqués mais de façon plus restreinte (66). En fonction de la voie d'administration du cannabinoïde de synthèse, chaque isoforme sera plus ou moins sollicité. En effet, le CYP2C9, fortement exprimé au niveau intestinal, participe au métabolisme lorsque la prise est orale alors que le CYP1A2 présent au niveau du tissu pulmonaire joue un rôle lorsqu'ils sont fumés. Quant au CYP2D6 qui est exprimé au niveau du SNC, il pourrait réguler les concentrations cérébrales de certains cannabinoïdes de synthèse (19).

Après la phase I d'hydroxylation par la voie des CYP450, les métabolites sont ensuite glucuronoconjugués (UGT 1A1, 1A9 et 2B7) pour faciliter leur élimination urinaire. En effet, après traitement d'échantillons urinaires à la β-glucuronidase, Dresen *et al.* ont observé une augmentation du signal de JWH018, de JWH073 et de leur métabolites. Il a pu, par ailleurs, être montré que le métabolite hydroxylé est principalement éliminé sous forme conjuguée (57) (64)(72). Lorsqu'une recherche est effectuée sur les urines, l'étape d'hydrolyse à la β-glucuronidase est nécessaire afin de détecter et de quantifier les formes libres. D. de Jager *et al.* ont mesuré des concentrations maximales en métabolites 3 à 16 heures après une prise unique de « Spice » contenant du JWH018. Les métabolites, témoins d'une consommation de la molécule mère, peuvent être détectés dans les urines jusqu'à 65 heures après la consommation. Dans certains échantillons urinaires issus de consommateurs chroniques, les métabolites ont été détectés plus de 2 à 3 semaines après l'arrêt de la consommation (57).

Excrétés dans l'urine à des concentrations variables, certains métabolites hydroxylés des JWH250, JWH018 et JWH073, seraient actifs et potentialiseraient les effets de la molécule

mère (73)(74). Quant aux métabolites carboxylés issus du CYP1A2, quantitativement plus importants, ils ne seraient pas actifs puisqu'ils n'auraient pas d'affinité pour le récepteur CB1 (64)(72).

D'autre part, Moran *et al.* ont mis en évidence une possible décarboxylation enzymatique du métabolite carboxylé du JWH018 qui donnerait naissance à un métabolite du JWH073. Ce métabolisme peut être à l'origine d'une mauvaise interprétation des résultats et d'une conclusion erronée quant à la consommation de JWH073 (66). De la même manière, l'AM2201 serait métabolisé de façon minoritaire en JWH018-5-N-(hydroxypentyl) (75). Certains auteurs conseillent d'analyser les métabolites carboxylés qui seraient de bons marqueurs de la consommation (63)(65).

5.2 Le système endocannabinique : les récepteurs aux cannabinoïdes

L'identification du delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) en 1964 a permis d'identifier les récepteurs aux cannabinoïdes en 1980. Par la suite, la recherche de nouveaux récepteurs impliqués dans les effets antalgiques et anti-inflammatoires a permis de distinguer au début des années 90, 2 types de récepteurs aux cannabinoïdes : CB1 et CB2 (3)(76).

5.2.1 Le récepteur aux cannabinoïdes de type 1 (CB1)

Le récepteur aux cannabinoïdes de type 1 appartient à la famille des récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) (77). Le récepteur CB1 est couplé à une protéine G inhibitrice (Gi). En l'absence d'agoniste, l'adénylate cyclase (AC) est active et catalyse la synthèse du second messager, l'adénosine monophosphate cyclique (AMPc). Cette dernière rend active une protéine kinase A (PKA) qui permet de maintenir le canal potassique à inactivation rapide de type A en position fermée et ainsi contenir les ions potassium à l'intérieur du neurone. L'activation des récepteurs CB1 par un agoniste entraîne une transduction du signal par la

voie de la protéine Gi, en inhibant la synthèse d'AMPc par défaut d'activation de l'AC et permettant l'ouverture du canal potassique de type A (78).

L'activation des récepteurs CB1 pré-synaptiques par les cannabinoïdes inhibe les canaux calciques voltage-dépendants de type L, N et Q/P, essentiellement au niveau pré-synaptique. Ceci entraine une inhibition de la libération des neurotransmetteurs (79).

Exprimés de façon constitutive, les récepteurs CB1 sont principalement localisés à forte densité au niveau du système nerveux central (SNC) (80)(81). Ils sont également présents à densité élevée au niveau du ganglion basal et du cervelet qui jouent un rôle dans la motricité et le maintien postural, au niveau de l'hippocampe qui est impliqué dans le phénomène de mémoire et de traitement des informations sensorielles et au niveau du lobe frontal impliqué dans la cognition (vision et concentration mentale).

Cette répartition permet de comprendre les effets pharmacologiques de ces agonistes aux récepteurs CB1. La forte densité de ces récepteurs au niveau du lobe frontal et du cervelet explique le rôle des agonistes dans la cognition et les mouvements. Par contre, leur faible densité au niveau du tronc cérébral et du bulbe, explique les faibles effets sur les systèmes cardiovasculaires et respiratoires (73). Les récepteurs CB1 sont également présents au niveau du système nerveux périphérique et plus particulièrement au niveau du système nerveux autonome, des fibres nerveuses sensorielles et des terminaisons nerveuses, expliquant l'activité antalgique des cannabinoïdes. Ils sont également exprimés au niveau des cellules immunitaires mais dans des proportions beaucoup plus faibles que les récepteurs CB2 (76).

5.2.2 Le récepteur aux cannabinoïdes de type 2 (CB2)

Le récepteur aux cannabinoïdes de type 2 appartient également à la famille des RCPG. Il est couplé à une protéine Gi/o qui agit sur les protéines kinases et peut notamment activer la voie des MAP kinases.

Contrairement au récepteur CB1, le récepteur CB2 n'est pas exprimé au niveau du SN. Ce récepteur CB2 est localisé en périphérie et principalement sur les tissus lymphoïdes (thymus, rate, moelle osseuse), le pancréas, les amygdales et les cellules immunitaires (lymphocytes B, lymphocytes T, macrophages, monocytes) (77).

5.3 Affinité des cannabinoïdes de synthèse pour les récepteurs CB1

La liaison d'un ligand avec son récepteur est caractérisée par une constante d'affinité qui traduit la puissance de l'interaction physico-chimique entre le ligand et son récepteur. L'affinité est spécifique pour chaque molécule et permet de comparer les molécules entre elles.

Cette affinité peut être exprimée soit par une constante de dissociation « Kd » qui correspond à la concentration de ligand nécessaire pour occuper 50% des récepteurs à l'équilibre, soit par une constante d'inhibition « Ki » qui correspond à la concentration d'inhibiteur nécessaire pour inhiber 50% de la liaison spécifique d'un agoniste complet. Ainsi, plus la Ki est petite, plus l'inhibiteur a une affinité élevée pour le récepteur.

Le THC, premier agoniste identifié et composé actif du cannabis, est souvent pris comme point de comparaison pour les cannabinoïdes de synthèse. Pour le récepteur CB1, la «Ki » du THC est de 41 nM. Par exemple le HU-210 a une affinité de l'ordre de 200 fois plus importante pour le CB1 avec une Ki comprise entre 0,06 et 0,73 nM (49).

Dans le **Tableau 1** qui résume les Ki de plusieurs cannabinoïdes de synthèse, il est intéressant de constater que la majorité des cannabinoïdes de synthèse ont une affinité plus importante pour le récepteur aux cannabinoïdes CB1 que le THC.

Tableau 1 : Affinité des cannabinoïdes de synthèse pour les récepteurs CB1 et CB2 en fonction de la constante d'inhibition Ki (Gurney et al. 2014 (52))

Table 1. Binding affinities of synthetic cannabinoids determined by displacement of radioactive CP 55,940 (unless otherwise marked)

Compound	CB_1 K_i (nM)[a]	CB_2 K_i (nM)[a]	CB_2 K_i/ CB_1 K_i[b]	Ref.	Compound	CB_1 K_i (nM)[a]	CB_2 K_i (nM)[a]	CB_2 K_i/ CB_1 K_i[b]	Ref.
HU-210	0.061±0.007	0.52±0.04	8.52	[27]	XLR-11	24±(4.6)	2.1±(0.6)	0.09	[112]
AM-694	0.08	1.44	18.00	[60]	JWH-306	25±1	82±11	3.28	[43]
ADB-FUBINACA	0.36	—	—	[10]	JWH-251	29±3	146±36	0.20	[43]
JWH-210	0.46±0.03	0.69±0.01	1.50	[43]	UR-144	29±(0.9)	4.5±(1.7)	0.01	[112]
CP 55,940	0.58±0.07	0.69±0.02	1.19	[87]	JWH-251	29±3	146±36	5.03	[43]
JWH-122	0.69±0.5	1.2±1.2	1.74	[41]	JWH-237	38±10	106±2	2.79	[43]
AM-2201	1	2.6	2.60	[59]	Delta9-THC	41±2	36±10	0.88	[15,87]
JWH-081	1.20±0.03	12.4±2.23	10.33	[5]	JWH-200	42±5	—	—	[5]
WIN 55212-2	1.9±0.09	0.28±0.16	0.15	[52,87]	JWH-211	70±0.8	12±0.8	0.17	[41]
CP 47,497	2.20±0.47	—	—	[89]	JWH-312	72±7	91±20	1.26	[43]
AM-411	6.9	52	7.50	[59]	JWH-167	90±17	159±14	1.77	[43]
JWH-203	8.0±0.9	7.0±1.3	0.88	[43]	JWH-303	117±10	138±12	1.18	[43]
JWH-249	8.4±1.8	20±2	2.38	[43]	JWH-205	124±23	180±9	1.45	[43]
JWH-073	8.9±1.8	38±24	4.27	[5]	JWH-208	179±7	570±127	3.18	[43]
JWH-018	9.0±5.0	2.9±2.6	0.32	[5]	JWH-206	389±25	498±37	1.28v	[43]
JWH-019	9.80±2.00	5.55±2.00	0.57	[5]	JWH-313	422±19	365±92	0.86	[43]
JWH-250	11±2	33±2	3.00	[43]	JWH-209	746±49	1353±270	1.81	[43]
JWH-204	13±1	25±1	1.92	[43]	JWH-248	1028±39	657±19	0.64	[43]
JWH-305	15±1.8	29±5	1.93	[43]	JWH-201	1064±21	444±14	0.42	[43]
JWH-302	17±2	89±15	5.24	[43]	JWH-207	1598±134	3723±10	2.33	[43]
JWH-311	23±2	39±3	1.70	[43]	JWH-202	1678±63	645±6	0.38	[42]

[a] Results are reported as mean plus/minus standard deviation or mean plus/minus (standard error of the mean). Compounds with a lower K_i bind more tightly to the receptor.
[b] The CB_2 K_i to CB_1 K_i is an indicator of potential for recreational use. A high ratio indicates preference for the CB_1 receptor.

Les résultats présentés dans le Tableau n° 1 permettent de voir que la majorité des cannabinoïdes de synthèse présentés ont également une bonne affinité pour les récepteurs CB2. La Ki du THC pour le récepteur CB2 est de 36 nM alors que certains cannabinoïdes de synthèse présentent une meilleure affinité pour ce récepteur également.

Concernant les métabolites des cannabinoïdes de synthèse, les études publiées montrent que les métabolites JWH073 et JWH018 présentent une forte affinité pour les récepteurs aux cannabinoïdes (74)(62).

5.4 Activité des agonistes des récepteurs CB1 et CB2

La capacité d'une molécule à induire un effet sur les récepteurs aux cannabinoïdes est évaluée par des tests dits fonctionnels *in vitro* ou *in vivo*.

In vitro, il s'agit de mesurer l'activation du récepteur par un analogue radiomarqué de la guanosine triphosphate, la guanosine 5'-O-gamma-thiotriphosphate (GTPϒS) (52)(82).

In vivo, les effets cannabimimétiques d'un cannabinoïde de synthèse sont évalués par le test « tétrade des cannabinoïdes » (**Tableau 2**). Il s'agit d'une batterie de 4 tests effectuée chez les rongeurs et permettant d'établir si une substance agit comme un cannabinoïde en mesurant l'hypothermie, la catalepsie, la diminution de l'activité locomotrice spontanée et l'analgésie. Les travaux de Wiebelhous *et al*. publiés en 2012 montrent qu'une inhalation d'herbes fumées contenant du JWH018 induit une hypothermie et une catalepsie chez la souris après activation des récepteurs CB1 du SNC (83).

Tableau 2 : Effets des cannabinoïdes de synthèse chez la souris par le test de la « tétrade cannabinique » (Gurney *et al* 2014(52))

Table 3. Mouse Tetrad Test: reported are either the ED_{50} (95% confidence interval) or percent inhibition of the level of activity (SA) or maximal antinoceptive effect achieved (dose in µg/kg)[a]

Compound	Spontaneous activity	%MPE	Rectal temp. change (°C)	Ring immobility	Average potency	Ref.
Delta 9-THC	0.92	2.7	2.5	Not tested	2.0	[111]
WIN 55,212-2	0.19	1.4	1.5	Not tested	1.0	
JWH-018	0.44	0.09	1.7	3.9	0.7	
JWH-073	0.34	1.3	3.3	Not tested	1.6	
JWH-019	0.96	0.73	1.5	Not tested	1.0	
JWH-167	1.6 (0.9–2.6)	1.3 (0.7–2.3)	13 (7–23)	Not tested	5.3	[113,
JWH-205	19 (9–34)	13 (9–19)	13 (9–16)	Not tested	15	114]
JWH-251	0.9 (0.6–1.6)	0.9 (0.6–1.3)	6 (3–9)	Not tested	2.6	
JWH-208	2.8 (0.9–9)	16 (9–25)	38 (22–63)	Not tested	18.9	
JWH-209	39 (21–75)	57 (33–99)	81 (42–153)	Not tested	59	
JWH-306	87% (2.9)	1.1 (0.9–1.4)	1.1 (0.9–1.7)	Not tested	1.1	
JWH-302	0.6 (0.3–1.2)	0.9 (0.6–1.2)	3 (2.1–4.2)	Not tested	1.5	
JWH-201	84% (90)	35% (90)	−2.3 (90)	Not tested	–	
JWH-202	26 (11–51)	51 (29–97)	−2.5 (86)	Not tested	38.5	
JWH-203	0.1 (0.09–0.2)	0.3 (0.2–0.6)	6 (5–6)	Not tested	2.1	
JWH-204	0.8 (0.3–1.7)	0.6 (0.6–0.8)	2 (1.4–2.5)	Not tested	1.1	
JWH-237	1.5 (0.9–3)	3 (3–6)	3 (2.6–6)	Not tested	2.5	
JWH-303	90% (85)	100% (85)	−4 (85)	Not tested	–	
JWH-206	76% (29)	Inactive (29)	Inactive (29)	Not tested	–	
JWH-207	Inactive (28)	Inactive (28)	Inactive (28)	Not tested	–	
JWH-249	1 (0.5–2)	0.3 (0.3–0.5)	1 (0.8–1.3)	Not tested	0.8	
JWH-305	1.5 (0.2–7.5)	1.8 (1.3–2.5)	5 (5–8)	Not tested	2.8	
JWH-248	Inactive (26)	Inactive (26	Inactive (26)	Not tested	–	
JWH-311	2.5 (out of range)	2.5 (out of range)	1.2 (0.9–1.9)	Not tested	4.2	
JWH-312	6 (5–7)	1.9 (1.2–2.5)	5.6 (5.3–5.9)	Not tested	4.5	
JWH-313	Inactive (9)	Inactive (9)	Inactive (9)	Not tested	–	
XLR-11	0.9 (0.36–1.64)	3.3 (2.22–4.77)	0.6 (0.58–0.91)	0.6 (0.57–0.64)	1.4	[112]
UR-144	1.0 (0.55–2.25)	2.6 (1.83–4.05)	0.6 (0.51–0.74)	1.0 (0.64–1.66)	1.3	

[a] ED_{50} was defined as the dose at which half the maximal effect occurred. The maximal effect was 90% inhibition of spontaneous activity, 100% maximal antinociceptive effect (MPE), –6 °C change in rectal temperature, and 60% ring immobility. Dose is reported as µmol/kg. Potency is the average ED_{50} for all tests and as µmol/kg for comparison between compounds.

5.5 La relation structure-activité

En fonction de leur structure chimique, les cannabinoïdes de synthèse peuvent induire une réponse variable. La relation «structure activité» a été évaluée par l'affinité des molécules sur les récepteurs via la constante d'inhibition (Ki) et par l'activité cannabimimétique qu'ils peuvent induire *in vivo* chez les souris.

Wiley *et al*. (84) ont étudié les modifications structurales des dérivés indoles et pyrroles, fréquemment retrouvés dans les «Spices», sur l'activité cannabimimétique. A titre d'exemple, la présence d'une longue chaîne alkyle en position 3 sur les dérivés alkylindoles (JWH018 et JWH073) augmente leur puissance sur les récepteurs CB1. Cette chaîne alkyle aurait la même importance en terme de relation structure-activité que celle du THC située en position C3.

L'ajout d'un groupement halogéné en position terminale de la chaine alkyle augmente l'affinité du ligand pour son récepteur, exemple de l'AM2201 qui est le dérivé fluoré du JWH018 (52).

Ainsi, l'étude de la relation structure-activité des cannabinoïdes de synthèse permet de mettre en évidence que les cannabinoïdes de synthèse ayant une bonne affinité et une bonne activité *in vivo* sont ceux identifiés dans les «Spices» mis en vente.

6. LES EFFETS PHARMACOLOGIQUES ET TOXICOLOGIQUES

6.1 Les effets pharmacologiques

Les travaux scientifiques réalisés sur les cannabinoïdes de synthèse ont eu pour objectif de découvrir de nouveaux agonistes aux récepteurs CB2 possédant des propriétés antiinflammatoires et antalgiques. Cependant, les études menées *in vitro* et *in vivo* ont montré que cette activité médiée par les récepteurs CB2 était indissociable des effets psychoactifs médiés par les récepteurs CB1, effets recherchés à des fins récréatives par les consommateurs de « Spices ».

Après consommation par voie inhalée, les utilisateurs attendent les mêmes effets que ceux obtenus lors d'une consommation de cannabis c'est-à-dire les effets psychoactifs comme la sensation de bien-être, l'euphorie, les modifications sensorielles (vision, audition, toucher), les sentiments de ralentissement temporel et des troubles cognitifs (temps de réaction) (52).

Certaines études suggèrent une différence dans la relation dose-effet entre les cannabinoïdes de synthèse. Par exemple, les travaux de Uchiyama *et al.* rapportent que le

cannabinocyclohexanol induit un effet avec 0,2 à 8 mg de mélange d'herbes alors que le JWH-018 nécessite 0,1 à 20mg pour produire le même effet. A partir des commentaires diffusés sur internet par les consommateurs, il faut fumer environ 80 à 150 mg de mélange d'herbes soit environ 1 à 2,5 mg de JWH018 pour ressentir les effets psychotropes, avec une teneur de 1,5 % en JWH018. Pour les autres cannabinoïdes de synthèse comme le JWH073 il est plus rare de trouver des teneurs aussi élevées. Cependant, ces résultats sont à nuancer car plusieurs facteurs ne sont pas maitrisables : la teneur en cannabinoïdes de synthèse, la composition du mélange et la quantité de mélange fumé par cigarette (9).

Concernant la relation concentration-effet, peu d'études renseignent les concentrations sanguines de cannabinoïdes de synthèse. Après avoir fumé de l'herbe à encens, les concentrations maximales en cannabinoïdes de synthèse retrouvées chez 2 individus étaient de 10 ng/mL de sang total, 5 minutes après l'inhalation. Quarante-huit heures après la consommation, les molécules ne sont plus détectées dans le sang. A noter que les effets avaient disparu 12 heures après la consommation (85).

Malgré la publicité valorisant les effets relaxants, anxiolytiques, narcotiques, euphorisants et hallucinogènes des cannabinoïdes de synthèse, de nombreux consommateurs ont décrit rapidement sur les forums internet des effets indésirables suite à l'expérimentation de ces drogues (86)(30).

6.2 Les effets indésirables et toxiques

6.2.1 Les sources d'informations

Les différents effets indésirables liés à la consommation de « Spice » sont retrouvés dans la littérature, sur des blogs et forums internet dédiés à la consommation de ce type de produit (13).

Dans les cas publiés, il s'agit le plus souvent de patients ayant été admis aux urgences ou ayant appelé un centre antipoison. Ce dernier mode de recueil de données est important puisqu'il permet de recenser des consommateurs souhaitant avoir un avis médical sans consulter. Les appels aux centres antipoison proviennent également du personnel médical confronté à une intoxication aux cannabinoïdes de synthèse. A ce jour, ce type d'intoxication reste encore mal connu du corps médical. Les données recueillies ainsi et centralisées permettent d'évaluer la dangerosité de ces drogues (11).

Quant aux blogs ou sites internet, ces sources d'information, même si elles sont parfois considérées comme non scientifiques, ne doivent pas être négligées car elles reflètent le ressenti de consommateurs. Ces témoignages informent tant sur la tendance que sur les diverses pratiques liées à cette consommation. La multiplicité des blogs dédiés aux « Spices » témoigne de l'intérêt que portent les consommateurs à déclarer les effets ressentis ainsi que les effets toxiques.

Malgré toutes ces données, scientifiques ou non, il n'existe pas à ce jour d'études évaluant les effets indésirables et toxiques liés à la consommation de « Spice » (21).

6.2.2. Les effets indésirables les plus fréquents

Les premiers signes classiques d'une consommation de cannabinoïdes de synthèse sont semblables à ceux d'une consommation de cannabis : yeux rouges, mydriase, troubles du langage et de la motricité (23).

Certains cannabinoïdes de synthèse étant des agonistes complets des récepteurs cannabinoïde, leurs effets sont alors plus intenses que le THC qui est un agoniste partiel (87). On peut ainsi envisager qu'ils soient potentiellement plus dangereux que le cannabis. En effet, Wiebelhaus *et al.* ont mis en évidence chez la souris une concentration plus importante de JWH018 et de JWH073 que de THC aux doses équivalentes (83). Si ce résultat confirme une certaine puissance des cannabinoïdes de synthèse, il explique également la fréquence importante des effets toxiques observés après la consommation de « Spice ».

Les principaux effets indésirables rapportés sont des effets sur le SNC et des troubles psychiatriques, comme l'agitation, l'anxiété, les crises de paranoïa ou des hallucinations (32). La fréquence et la gravité des effets toxiques sont résumées dans le **Tableau 3**. Nous pouvons noter la fréquence élevée d'hypertension et de tachycardie. D'autres signes cliniques ou biologiques moins spécifiques peuvent être observés tels que l'hypokaliémie, les nausées et vomissements également (13)(33)(86)(88) (89).

Tableau 3 : Fréquence des effets indésirables observés chez des patients admis aux urgences avec identification d'un cannabinoïde de synthèse dans le sang (Hermann-Claussen 2013 (90)).

Table 3 Frequency of symptoms after intoxication with synthetic cannabinoids. Shown are the numbers of patients having a specific symptom after consumption of a synthetic cannabinoid. If more than two synthetic cannabinoids were identified in the blood serum of the patients (see Table 2), symptoms were assigned to the cannabinoid with the highest concentration in the serum.

Synthetic cannabinoid / *No. of cases*		*CP 47,497-C8* *n = 1*	*JWH-018* *n = 4*	*JWH-081* *n = 4*	*JWH-122* *n = 9*	*JWH-210* *n = 11*	*Sum* *n = 29*	%
Nervous system	Restlessness/agitation	0	3	3	4	2	12	41
	Changes of perception/ hallucination	0	2	0	4	5	11	38
	Vertigo	0	1	0	3	3	7	24
	Anxiousness/panic attack	0	0	2	3	1	6	21
	Somnolence	1	1	1	1	1	5	17
	Initial unconsciousness for up to 60 minutes, followed by somnolence for several hours	0	0	0	0	5	5	17
	Confusion/disorientation	0	0	1	0	3	4	14
	Anaesthesia/paraesthesia	0	1	0	1	1	3	10
	Anterograde amnesia	0	0	0	1	1	2	7
	Acute psychosis[a]	0	0	1	0	0	1	3
	Generalized seizure with hypopnoic episode	0	0	0	1	0	1	3
	Aggressive behaviour	0	0	1	0	0	1	3
	Aphasia, mild	0	0	0	0	1	1	3
	Feeling hot	0	0	0	1	0	1	3
	Laugh attacks	0	0	1	0	0	1	3
Neuromuscular system	Muscle jerking/muscle cramps	0	0	1	1	0	2	7
	Muscle pain	0	0	1	1	0	2	7
	Myoclonia	0	0	1	0	0	1	3
	Shivering/shaking	0	2	2	0	0	4	14
Cardiovascular system	Tachycardia	0	4	2	8	8	22	76
	Bradycardia	0	0	0	1	0	1	3
	Other electrocardiographic changes[b]	0	1	0	1	2	4	14
	Hypertension	0	2	1	4	3	10	34
	Hypotension	0	0	0	2	0	2	7
	Syncope	0	0	0	1	0	1	3
	Dyspnoea	1	0	1	2	2	6	21
	Thoracic pain	0	1	1	1	0	3	10
Gastrointestinal system	Nausea/vomiting	1	1	1	3	2	8	28
	Dry mouth/globus sensation	0	2	0	1	1	4	14
	Excessive thirst	0	0	0	1	1	2	7
	Diarrhoea	0	0	0	1	1	2	7
Eyes	Mydriasis	0	3	1	3	4	11	38
	Conjunctival hyperaemia	0	3	0	1	0	4	14
Laboratory results	Hypokalaemia	0	1	1	3	3	8	28
	Elevation of creatine kinase	0	0	1	3	0	4	14

Les différents effets sont pour la plupart de courte durée et régressent de façon spontanée.

Via leur action sur les récepteurs CB2, les cannabinoïdes de synthèse pourraient avoir une action immunomodulatrice mais aussi carcinogène (87).

6.2.3 Les effets toxiques sévères

Même s'il est difficile de prédire la dangerosité d'un type de « Spice » particulier, la variation et la répartition inégale des cannabinoïdes de synthèse dans les mélanges d'herbes peut entrainer des effets plus importants et plus dangereux pour le consommateur (90).

- Infarctus du myocarde

Mir *et al*. décrivent 3 cas d'infarctus du myocarde suite à la consommation de K2 chez de jeunes consommateurs sans antécédents cardiovasculaires (91). Il s'agit de patients de 16 ans ayant consommé du K2 dans les jours précédents (de 1 à 7 jours) et présentant des douleurs thoraciques. Néanmoins, ce sont également des consommateurs occasionnels de marijuana pouvant également être responsable d'infarctus du myocarde.

L'auteur suggère donc que la consommation de « Spice » seul ou associé à de la marijuana peut être responsable d'infarctus du myocarde chez une population jeune même sans antécédent cardiovasculaire.

- Crises convulsives

Quelques cas de crises convulsives, très rarement décrites lors de la consommation de cannabis, ont été rapportés aux Etats-Unis chez de jeunes patients sans antécédents neurologiques après consommation de « Spice ». Dans un cas, les convulsions sont survenues après la consommation de l'herbe. Le dépistage toxicologique n'a révélé aucune consommation d'autres drogues excepté des cannabinoïdes de synthèse. L'analyse des « Spices » a révélé la présence de JWH018, JWH084, JWH250 et AM2201 alors qu'un seul cannabinoïde de synthèse était mentionné sur le paquet. Un cas en Europe de crises convulsives a également été publié après la consommation d'AM2201 (92).

Pour expliquer le mécanisme pharmacologique des convulsions induits par les cannabinoïdes de synthèse, l'auteur avance l'hypothèse que l'absence de phytocannabinoïdes anticonvulsivants dans les « Spices » comme le cannabinol, le cannibidiol ou le THCV présents dans la marijuana, pourraient expliquer ces effets neurologiques très peu observés chez les consommateurs de cannabis (93). Une autre hypothèse retrouvée dans la littérature suppose que la forte affinité de ces molécules pour les récepteurs aux cannabinoïdes ainsi que leur puissante activité agoniste peuvent être à l'origine de convulsion dose-dépendante et peut expliquer ce mécanisme d'action (92). Néanmoins, il ne peut pas être écarté que ces convulsions peuvent être dues à d'autres substances présentes dans les mélanges d'herbes à fumer.

- Insuffisance rénale

Seize cas d'insuffisance rénale aiguë (IRA) ont été rapportés aux Etats-Unis (94) durant une période de 9 mois chez des patients sans antécédents rénaux ayant consommé des cannabinoïdes de synthèse dans les heures ou les jours précédents l'insuffisance rénale.

Dans 7 cas, la présence de cannabinoïdes de synthèse a été confirmée dans les urines, le sang et le produit consommé. L'origine des drogues était différente mais il a été retrouvé dans 5 des 7 produits le cannabinoïde de synthèse XLR11, molécule fluorée découverte en 2012, et ses métabolites.

- Effets psychiatriques

Dans une revue de la littérature, Papanti *et al*. (95), relève de nombreux troubles psychotiques chez 41 consommateurs de « Spice ». Les cannabinoïdes de synthèse détectés et potentiellement à l'origine des effets observés sont le JWH-018, le JWH-073, le JWH-122, le JWH-250 et le CP-470497.

A partir des données téléphoniques des centres antipoison (96)(97), 9 à 11% des patients ayant consommé des cannabinoïdes de synthèse présentent des troubles psychotiques. Chez

les consommateurs admis aux urgences et chez lesquels la recherche de cannabinoïdes de synthèse a été positive, ce chiffre s'élève de 18 à 41%. Ces troubles psychotiques sont variables : il s'agit d'irritabilité, d'agitation, d'anxiété, de crises de panique, de confusion, des altérations des perceptions, des hallucinations, des épisodes de paranoïa voire des crises suicidaires.

L'auteur précise qu'il est difficile d'imputer ces effets psychiatriques aux cannabinoïdes de synthèse car dans de nombreux cas, la prise de ces molécules est associée à la prise d'autres substances parfois psychoactives comme le THC par exemple. Il a été également décrit dans la littérature plusieurs cas de troubles psychotiques pour lesquels aucune prise de cannabis n'était décelée. Les effets psychiatriques semblent plus fréquents et plus graves chez les consommateurs de cannabinoïdes de synthèse.

D'après plusieurs auteurs (98)(95)(99), ces effets psychiatriques peuvent être déclenchés par l'utilisation de cannabinoïdes de synthèse chez des personnes avec un terrain psychotique fragilisé.

Müller (100) suggère aussi que les troubles psychotiques sont plus intenses et plus précoces que lors d'une consommation de cannabis. L'affinité plus importante des cannabinoïdes de synthèse pour les récepteurs CB1 et l'absence de phytocannabinoïdes comme le cannabidiol à l'effet antipsychotique, expliqueraient des troubles psychiatriques plus sévères que chez les consommateurs de cannabis (100).

6.4 Dépendance et tolérance

Zimmerman *et al*. ont décrit le cas d'un consommateur quotidien de « Spice » depuis 8 mois amené à augmenter ses prises (3 à 4 par jour) pour obtenir les mêmes effets. Ce patient a également décrit un syndrome de sevrage incluant des sueurs nocturnes et profuses, des cauchemars, des insomnies, une agitation, des palpitations, des nausées et vomissements et des diarrhées l'ayant obligé à consommer de nouveau. L'auteur suggère que ces substances cannabimimétiques sont théoriquement addictives et que le mode de consommation par inhalation sous forme de « bong » accentue cette addiction (101).

7. DETECTION DE CANNABINOÏDES DE SYNTHESE

7.1 Les matrices biologiques

Pour détecter les cannabinoïdes de synthèse, le biologiste dispose de plusieurs matrices biologiques qui présentent chacune des avantages et des inconvénients.

Depuis 2011, la littérature s'est enrichie de travaux de mise au point de techniques permettant la détection de cannabinoïdes de synthèse avec une évolution du nombre de métabolites dépistés dans les urines (65)(75)(102).

- Les urines

Les prélèvements urinaires ont pour avantage la facilité de recueil mais surtout une fenêtre de détection, via les métabolites, plus longue que celle du sang (103). Les métabolites sont retrouvés de façon majoritaire dans les urine, par exemple les métabolites monohyrdoxylés et carboxylés des dérivés aminoalkylindoles.

Dresen *et al.* (25) considèrent que les urines représentent la matrice idéale en toxicologie et plus particulièrement dans le cadre de dépistage des drogues notamment chez les conducteurs suspectés de conduire sous l'emprise de substances illicites.

Les molécules mères sont peu retrouvées dans les urines (70). De plus, elles seraient moins stables que les métabolites car elles possèdent une faible polarité (75). Il est donc important de connaitre les voies métaboliques de ces molécules et de rapporter la concentration à la créatinine urinaire afin d'estimer s'il s'agit d'une prise occasionnelle ou chronique (57)(75).

- Le sang

Même si aucune donnée à ce jour ne permet d'établir le lien entre la concentration sérique et les effets observés après une consommation de « Spice », le sang reste la matrice biologique de référence pour évaluer si une personne est sous l'emprise ou non de substances illicites au moment du prélèvement.

Les molécules mères sont présentes dans le sang après une inhalation de « Spice » avec une fenêtre de détection moins longue que celle des métabolites dans les urines. Par exemple, le JWH018 et le JWH073 sont détectables dans le sang 3 à 24 heures après l'inhalation (85)(104). Les données chez la souris montrent également une certaine concentration de molécules dans le cerveau peu de temps après l'inhalation du fait de la grande lipophilie des molécules (83). De plus, ces molécules persistent dans le cerveau alors que la concentration sanguine diminue (105).

- La salive

Le prélèvement salivaire est facile, non invasif et moins à risque à l'aldutération ou à la substitution que l'urine. La salive, dans le cadre de dépistage, permet de détecter une prise récente de drogues (106).

Quelques études décrivent une corrélation entre les concentrations des cannabinoïdes de synthèse salivaires et sanguines (106)(107)(108). Après inhalation, la concentration salivaire maximale en JWH018 est atteinte en 20 minutes et la molécule est détectable jusqu'à 5 à 12 heures après.

La molécule mère, les métabolites, témoins d'un relargage dans la salive sont également détectés dans cette matrice mais également les produits issus de la pyrolyse des molécules lors de la consommation d'herbes fumées (109)(110).

- Les cheveux

Comme pour de nombreuses drogues, les cheveux fixent les molécules mères (111)(112). Salomone *et al.* ont quantifié 23 cannabinoïdes de synthèse dont les concentrations sont comprises entre 1,3 à 2800 pg/mg de cheveux (112) (113).

L'interprétation d'une analyse toxicologique de cheveux est délicate et doit tenir compte d'une possible contamination par voie passive. Auwarter *et al*. (81) ont ainsi retrouvé chez des sujets exposés à la fumée de cannabinoïdes de synthèse des concentrations capillaires similaires à ceux de consommateurs. Pour éviter ces faux positifs, il est important de détecter également les métabolites, en concentrations plus faibles car moins fixés (112).

7.2 Les techniques analytiques utilisées

Par leur structure chimique différente du THC, les cannabinoïdes de synthèse ne sont pas détectés par les tests de dépistage classiques au cannabis. A ce jour, très peu de kits d'immunoanalyse dépistant les cannabinoïdes de synthèse sont commercialisés. Ces techniques utilisent les technologies EMIT (Enzyme multiplied Immunoassay Technique) ou ELISA compétition ce qui limite la détection à quelques molécules de la classe des aminoalkylindoles (114)(115). Cette technologie permet une approche qualitative avec des seuils de positivité de 5 à 20 ng/mL voire plus bas avec les nouveaux kits (1 ou 2 ng/mL).

Comme pour toutes les techniques de dépistages en immuno-analyse, les résultats doivent être confirmés par une technique spécifique permettant d'identifier les molécules avec une bonne sensibilité et spécificité (114). Ces techniques utilisent la essentiellement la chromatographie liquide ou en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Malgré le besoin d'un personnel qualifié, ces techniques permettent d'identifier et de quantifier les nouvelles molécules émergentes sur le marché ainsi que leurs métabolites dans diverses matrices biologiques.

PARTIE II : MISE AU POINT D'UNE TECHNIQUE DE DOSAGE URINAIRE ET SON APPLICATION

A. MATERIEL ET METHODE

1. REACTIFS

Les solutions méthanoliques de cannabinoïdes de synthèse et de leurs dérivés deutérés ont été obtenues chez Lipomed (ampoule de 1 mL titrée à 1mg/mL) (Lipomed AG, Arlesheim, Suisse). Pour les autres réactifs, le complexe β-glucuronidase-arylsulfatase provient de chez Roche (Roche diagnostics GmbH, Mannheim, Allemagne) et tous les autres produits utilisés pour notre méthode proviennent de chez Sigma Aldrich (Saint-Quentin Fallavier, France).

2. TRAITEMENT DES ECHANTILLONS

2.1 Recueil des urines

Les échantillons d'urines analysés ont été recueillis au Service d'addictologie et au centre méthadone du Centre de Soins d'Accompagnement et de Prévention en Addictologie (CSAPA) sur des patients potentiellement toxicomanes suivis au CHU de Nancy pour conduites addictives et pour lesquels était prescrit un criblage toxicologique urinaires.

2.2 Hydrolyse des urines

L'hydrolyse est une étape de préparation des urines importante nécessaire pour libérer les cannabinoïdes de synthèse de leurs formes conjuguées et permettre leur dosage sous forme libre. Pour notre méthode, nous avons utilisé une hydrolyse enzymatique catalysée par une β-glucuronidase et une aryl-sulfatase. Ces deux enzymes ont été utilisées sous forme de « Mix

β-glucuronidase » qui associe ces deux enzymes à du tampon acétate 1M à pH 5,5. L'utilisation du Mix β-glucuronidase permet ainsi l'hydrolyse simultanée des β-glucuronides et des esters sulfates. Les conditions d'incubation optimales pour ces réactions sont une valeur de pH comprise entre 4,5 et 6,2 (pH cible à 5,5) et une température égale à 37°C. Pour ajuster le pH des urines, nous avons utilisé de l'acide acétique dilué. L'hydrolyse des urines a été réalisée en ajoutant 120 µL de Mix β-glucuronidase à 1mL d'urines. Le mélange obtenu a été incubé à 37°C pendant 16h. Au terme de l'incubation, la réaction est stoppée en plaçant les échantillons dans une enceinte réfrigérée à +4°C.

2.3 Préparation de la solution d'étalon interne

L'étalon interne retenu pour notre méthode est le JWH018-D11, dérivé deutéré du JWH018. La solution de travail de JWH018-D11, réalisée extemporanément, est obtenue par dilution au centième dans du méthanol de la solution mère à 0,1 mg/mL. La concentration de la solution de travail de JWH018-D11 est alors de 1 µg/mL.

2.4 Extraction des échantillons

L'extraction des échantillons a été réalisée par une méthode d'extraction liquide/liquide. Brièvement, 0,5mL de tampon acétate 0,1 M pH 3,5 a été ajouté à 1 mL d'échantillon urinaire. Après agitation au vortex pendant 20 secondes, 3ml de mélange d'extraction (dichlorométhane, hexane, éther et alcool isoamylique dans les proportions 30/50/20/0,5 % $_{v/v}$) ont été ajoutés. Après agitation mécanique pendant 15 min et centrifugation pendant 10 min à 2500 rpm, le surnageant obtenu est évaporé sous flux d'azote et permet d'obtenir un résidu sec.

2.5 Dérivatisation

Les résidus secs obtenus après évaporation sont repris dans 50µL d'un mélange composé de BSTFA (N,O-bis(trimethylsilyl) trifluoroacetamide), TMCS (trimethylchlorosilane) et de cyclohexanol (v : v). Les solutions obtenues sont alors chauffées à 70°C pendant 20min. L'arrêt de la réaction de dérivatisation est réalisé en plaçant les échantillons dans une enceinte réfrigérée à -20°C. Seuls les métabolites du JWH018 et du JWH073 sont dérivatisés.

3. GAMME D'ETALONNAGE

Les points de gamme fixés à 10, 20, 50, 100, 200 ng/mL ont été préparés par surcharge d'urines temoins selon le protocole décrit dans le **Tableau 4** :

Tableau 4 : Protocole de réalisation des points de la gamme d'étalonnage.

Points de gamme (ng/mL)	10	15	20	50	100	200
Solution SF2 à 10 ng/mL (µL)					10	20
Solution SF3 à 1 ng/mL (µL)	10	15	20	50		
Urines (µL)	990	985	980	950	990	980

A noter que les solutions filles SF2 et SF3 ont été respectivement réalisées par dilution au 1/100ème et au 1/1000ème de la solution mère commerciale titrée à 1mg/mL.

Les points de gamme obtenus sont par la suite traités de façon identique aux échantillons et aux contrôles internes de la qualité.

4. CONTROLES INTERNES DE LA QUALITE

Les contrôles internes de la qualité (CIQ) ont été préparés par surcharge d'une urine témoin. Deux niveaux de contrôle ont été réalisés et présentent des concentrations cibles respectives de 30 et 150 ng/mL. Le protocole de préparation des CIQ est présenté dans le **Tableau 5**.

Tableau 5 : Protocole de préparation des CIQ.

CIQ	CIQ1 (30 ng/mL)	CIQ2 (150 ng/mL)
SF2-CQ (µL)	75	
SF1-CQ (µL)		37,5
Urines qsp (mL)	25	25

La solution SF2-CQ a été obtenue par dilution au 1/10ème de la solution SF1-CQ composée d'un mélange des solutions mères de chaque cannabinoïde de synthèse testé (40µL/solution mère) et de 40µL de méthanol.

Après homogénéisation pendant une nuit, les CIQ ont été conditionnés en aliquots de 2mL et conservés à -20°C jusqu'à leur utilisation.

5. APPAREILLAGE CG-SM

5.1 Equipement chromatographique

Le laboratoire est équipé d'une chromatographie en phase gazeuse (CPG) Focus (Thermo Fischer Scientific Inc) couplée à un détecteur de spectrométrie de masse (SM) DSQ II (Thermo Fischer scientific Inc). Ce chromatographe utilise une colonne DB-5MS de dimensions 30m x 0,25 mm x 0,25 µm (Agilent Technologies, Inc) parcourue par de l'hélium à un débit de 1mL/min. Les températures de l'injecteur et de la ligne de transfert sont respectivement de 275°C et de 290°C. Le gradient de température du four est décrit dans la **Figure n° 5**.

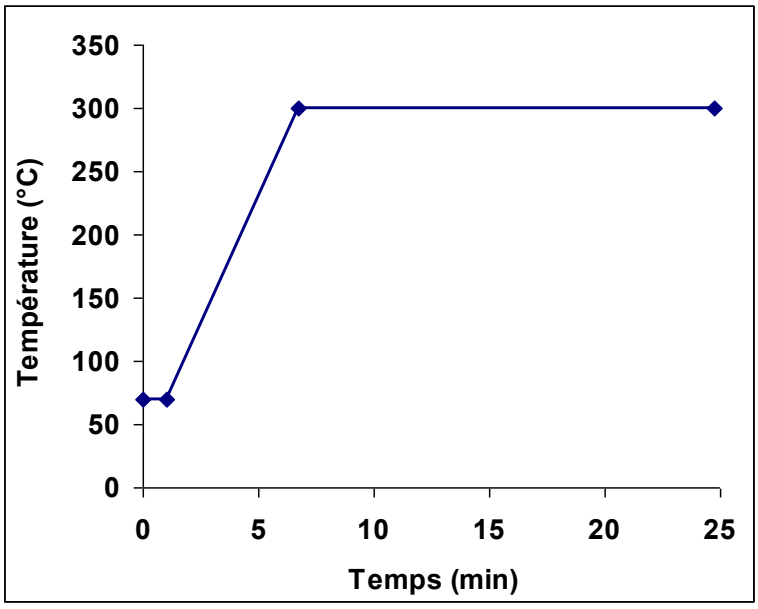


Figure 5: Programme de températures du four.

Les échantillons (1µL) sont injectés en mode splitless.

5.2 Spectrométrie de masse

La fragmentation des molécules se fait par ionisation électronique (EI) à 70eV en polarisation positive. La température de la source est fixée à 220°C. La séparation des ions et l'analyse des masses se font grâce à un quadripole. Le traitement des données a été réalisé avec le logiciel Xcalibur 2.0.7 de la société Thermo.

Pour l'identification et la quantification de chacune des molécules, la méthode utilise le mode Selected Ion Monitoring (SIM). Afin d'augmenter la sensibilité, il est nécessaire de segmenter le temps d'analyse en courtes périodes durant lesquelles seuls les ions caractéristiques d'une molécule sont détectés. Les ions retenus pour chacune des molécules analysées dans notre méthode sont référencés dans le **Tableau 6**.

Tableau 6 : ions de confirmation et ions de quantification utilisés dans la méthode SIM en CG-SM (en « gras » ion moléculaire)

Molécules	Temps de rétention (min)	Temps de Rétention Relatif (RTR)[a]	Ions d'identification/ confirmation	Ion quantification
JWH250	10,22	0,819	**335** ; 214 ; 144 ; 116	214
RCS-4	10,64	0,853	**321** ; 264 ; 214 ; 144	321
JWH073	11,65	0,934	**327** ; 310 ; 270 ; 127	310
JWH018-D11	12,48	1	**352** ; 335	352
JWH018	12,57	1,007	**341** ; 324 ; 284 ; 144	341
AM2201	14,01	1,122	**359** ; 342 ; 284 ; 127	342
JWH122	14,33	1,148	**355** ; 338 ; 298 ; 144	355
JWH073-N	15,45	1,238	**415** ; 270 ; 170 ; 155	270
JWH018-N	17,43	1,397	**429** ; 414 ; 270 ; 284 ; 127	270
JWH200	20,15	1,615	**384** ; 100 ; 56	100

[a] : ratio temps de rétention de la molécule / temps de rétention de EI

L'identification des molécules est basée sur leur temps de rétention, leur temps de rétention relatif et leur spectre de masse.

6. CRITERES DE VALIDATION DE METHODE

L'objectif de ce travail est la mise au point d'une analyse de biologie médicale ; celle-ci est, de par sa nature, soumise aux exigences d'assurance qualité de la norme ISO 15189. Par ailleurs, notre méthode d'analyse des cannabinoïdes de synthèse étant une méthode développée en interne au sein du laboratoire, elle devra répondre aux exigences des analyses de portée flexible B étendue (99). Les différents critères nécessaires à la validation de notre méthode selon la norme ISO 15189 sont présentés dans les paragraphes suivants.

6.1 Répétabilité

Le critère de répétabilité correspond à l'analyse d'un même échantillon dans les mêmes conditions, c'est-à-dire faisant appel à un même opérateur, dans une même série, utilisant un même lot de réactifs et sur le même instrument. Elle permet ainsi d'observer le bon fonctionnement du système instrumental pour les molécules concernées dans des conditions optimales.

L'essai de répétabilité est établi sur 2 niveaux de CIQ par analyte. Les concentrations des CIQ sont choisies pour permettre de tester le domaine de quantification retenue. Notre méthode ne permettant pas de réaliser 30 analyses du même échantillon, tel que recommandé par le COFRAC, nous avons choisi de répéter l'analyse 5 fois sur le même échantillon. En effet, les méthodes chromatographiques souffrent classiquement de contraintes de volume et de temps.

Le critère de répétabilité est évalué par un coefficient de variation (CV) exprimé en pourcentage et calculé à partir de l'écart type (s) et de la moyenne (m) des résultats obtenus selon la formule suivante :

$$CV(\%) = \frac{s}{m} \times 100$$

L'essai de répétabilité est validé pour une valeur de CV inférieure à 20%.

6.2 Fidélité intermédiaire (reproductibilité intra-laboratoire)

La fidélité intermédiaire correspond à la reproductibilité intra-laboratoire c'est-à-dire à l'analyse d'un même échantillon dans des conditions différentes. Les conditions testées sont généralement le jour, l'opérateur ou des lots de réactifs différents. Etant donné la durée de l'analyse et des données trouvées dans les publications (103), il est décidé de valider l'essai de fidélité intermédiaire à partir de 5 échantillons pour chacun des deux niveaux de CIQ. Chacun de ces échantillons sera passé sur une gamme nouvellement réalisée à des jours différents couvrant une période de 2 semaines.

Le critère de fidélité intermédiaire est évalué par un CV calculé de la même façon que pour la répétabilité et exprimé en pourcentage.

L'essai de fidélité intermédiaire est validé si la valeur de CV calculé est inférieure à 20%.

6.3 Limite de Détection

La limite de détection ou LOD correspond à la plus petite concentration d'analyte pouvant être distinguée du signal obtenu sur un blanc dans les mêmes conditions. Elle peut être déterminée comme étant le triple de l'écart-type obtenu à partir du signal correspondant à la ligne de base (sb) mesurée 10 fois.

$$LOD = 3 \times sb$$

Le signal sb mesuré correspond à l'aire sous la courbe du blanc au temps de rétention de chaque molécule considérée rapporté à l'aire du pic d'étalon interne. Le ratio est rapporté sur la courbe d'étalonnage du jour et est exprimé en concentration.

Dans un deuxième temps, la limite de détection est vérifiée par différentes dilutions à des concentrations faibles : 10 ; 5 ; 4 ; 3 ; 2 et 1 ng/mL. Il est vérifié que les pics peuvent être distingués du bruit de fond sur le chromatogramme.

6.4 Limite de quantification

La limite de quantification (LOQ) correspond à la plus faible concentration dans un échantillon pouvant être mesurée avec une incertitude de mesure acceptable dans des conditions de mesures définies.

Elle est déterminée par dilution d'un échantillon de concentration élevée. Chacune des concentrations testées est analysée sur plusieurs séries. Après calcul des CV correspondant à chacune des concentrations testées, la LOQ est la plus petite concentration présentant une valeur de CV inférieure à 20%. Elle correspond donc à la plus petite concentration pouvant être donnée pour un échantillon de patient.

6.5 Interférences

La spécificité analytique se définit comme la capacité d'une méthode d'analyse à doser une molécule indépendamment des autres molécules présentes dans l'échantillon ou de toutes autres grandeurs.

Une interférence analytique correspond à une perte de spécificité ou de sensibilité d'une méthode d'analyse pour un analyte du fait de la présence d'un autre composé dans l'échantillon rendant ainsi le résultat ininterprétable pour l'analyte concerné.

Le but de l'essai d'interférences est de vérifier l'absence de signal engendré par une autre molécule pouvant être à tort identifiée comme un cannabinoïde de synthèse.

Pour notre méthode, nous avons testé l'existence ou non d'interférences avec des molécules appartenant aux stupéfiants (THC, cocaïne, amphétamines, opiacés et opioïdes) et à la famille des benzodiazépines (**Tableau 7**). Pour cela, nous avons préparé des échantillons que nous avons utilisés comme témoins positifs des différentes molécules à tester :

- Des urines surchargées avec les molécules à tester (stupéfiants, benzodiazépines) à 2µg/mL,

- Des urines surchargées en cannabinoïdes de synthèse à 200 ng/mL comme décrits précédemment,

- Des urines surchargées en cannabinoïdes de synthèse à une concentration de 200 ng/mL et en molécules à tester également à 2µg/mL.

Tableau 7 : Molécules testées lors de l'essai d'interférences.

Famille	Molécules
Benzodiazépines	Oxazépam, diazépam, bromazépam, flunitrazépam, zopiclone
Cocaïniques	Cocaïne, benzoylecgonine, méthylesterecgonine
Amphétamines	Amphétamine, metamphetamine, MDMA, MDEA
Cannabinoïdes	THC, 11-OH-THC, THC-COOH
Opiacés et opioïdes	Morphine, codéine, 6-MAM, Méthadone, EDDP, buprénorphine

Les témoins positifs permettent de vérifier l'absence ou la présence de signal aux temps de rétention des cannabinoïdes de synthèse pour les ions utilisés pour l'identification et la quantification des cannabinoïdes de synthèse.

6.6 Effet matrice

L'effet matrice se définit par une variation du signal mesuré (augmentation ou atténuation) induite par la matrice. Ce phénomène est décrit pour les techniques utilisant une détection par spectrométrie de masse.

Des échantillons à 150 ng/mL sont réalisés en l'absence de matrice (série 1) et par surcharge d'urines (série 2). Nous avons utilisé des urines de patients hospitalisés (n=3) dans différents services du CHU non inclus dans notre étude. Ces échantillons urinaires sont traités selon le protocole mis au point.

Pour apprécier l'effet matrice, nous calculons le ratio entre la surface du pic du cannabinoïde de synthèse de la série 1 et celle de la série 2. Le CV est ensuite déterminé pour chaque molécule et doit être inférieur à 20%.

6.7 Domaine de linéarité

Le COFRAC définit le domaine de linéarité entre la limite de quantification (LOQ) et la limite supérieure de linéarité. La limite supérieure de linéarité est obtenue en vérifiant la linéarité entre les dilutions d'un échantillon de concentration très élevée et les concentrations calculées. D'un point de vue analytique, cette méthode de détermination du domaine de linéarité est difficilement acceptable. En effet, pour s'assurer d'une zone de linéarité, il est impératif de s'assurer en premier lieu de l'existence d'une relation entre les variables de concentration et de signal puis de vérifier que cette relation suit un modèle linéaire. De plus, il est à noter que cette partie du guide de validation des méthodes en biologie médicale édité par le COFRAC est particulièrement réductrice puisqu'il existe d'autres types de modèle que le modèle linéaire pour décrire des relations entre les variables de concentration et de signal (i.e. modèle quadratique). Par ailleurs, d'un point de vue pratique, cette détermination nécessite l'utilisation d'une méthode de quantification validée non décrite par ce guide et d'une méthode itérative de recherche de la limite supérieure de linéarité contraignante.

Aussi, en lieu et place de l'essai recommandé par le COFRAC, nous avons réalisé l'essai du domaine de linéarité selon le test d'analyse des variances (116). Brièvement, ce test consiste à déterminer les sommes des carrés des écarts totaux des réponses (SCE_Y) composés des écarts dus à une erreur résiduelle (SCE_r), des écarts dus à une inadéquation du modèle (SCE_{nl}) et des écarts dus au modèle de régression linéaire (SCE_{reg}). A partir des sommes des carrés des différents écarts calculés, les valeurs des variances et les ratios de ces variances (rapport « F » de Fisher) sont déterminés. Chacune des valeurs de F calculée (F de régression et F de non linéarité) a été comparée avec la valeur de F théorique déterminée dans la table de Fischer pour les degrés de liberté correspondants à un risque $\alpha<0,01$. Le domaine de concentrations testé est validé si le F de régression calculé est supérieur au F de la table de Fischer et si le F de non linéarité calculé est inférieur au F de la table de Fischer.

6.8 Contamination inter-échantillons

Le test de contamination inter-échantillons permet de déterminer si un échantillon de forte concentration peut ou non contaminer un échantillon de faible concentration ou négatif. Pour ce faire, un échantillon de concentration élevée (400 ng/mL) sera analysé successivement 3 fois (H1, H2, H3) puis suivi d'un blanc analysé successivement 3 fois (B1, B2, B3). A noter que le blanc est passé avant le premier passage de l'échantillon de concentration élevée pour s'assurer de l'absence d'interférences ou de contaminations de cet échantillon.

La contamination inter-échantillons est exprimée en pourcentage de contamination calculé selon la formule suivante :

$$\% = \frac{(mB1 - mB3)}{(mH - mB3)} \times 100$$

avec mH, la moyenne des concentrations de l'échantillon de concentration élevée

6.9 Stabilité des solutions de travail

La stabilité des solutions mères est considérée comme celle préconisée par le fournisseur selon ses conditions de stockage. C'est donc le cas pour notre solution d'étalon interne.

La stabilité de la solution fille SF1 a été évaluée après 4 et 8 semaines de stockage à -34°C et à l'abri de la lumière. La stabilité de cette solution est validée si la différence des concentrations initiales et calculées après la période de stockage est inférieure à 10%.

6.10 Stabilité des CIQ

La stabilité des CIQ a été évaluée sur une période de 1 mois. Pour ce faire, les niveaux de CIQ bas et haut sont stockés à -20°C sur une période de 30 jours et analysés sur des gammes réalisées le jour de l'analyse. Les valeurs ainsi calculées ne devront pas être différentes de plus de 20% par rapport à la valeur fixée du CIQ correspondant.

6.11 Effet de la congélation /décongélation sur la stabilité des échantillons

La stabilité des échantillons au processus de congélation/décongélation est évaluée sur 1 niveau de CIQ. Durant 2 cycles, les échantillons conservés à -20°C sont décongelés à température ambiante puis recongelés à -20°C pendant au minimum une nuit. A la suite de la 3ème décongélation, les échantillons sont analysés et leurs concentrations sont comparées à celles des CIQ fraîchement décongelés.

La stabilité des CIQ après séquence de congélation/décongélation était validée si la différence des concentrations calculées entre les échantillons congelés/décongelés et les échantillons du jour est inférieure à 20%.

6.12 Rendement de l'extraction

Le rendement d'extraction est évalué par la comparaison de la concentration de deux échantillons de même concentration, l'un surchargé avant l'extraction et le second après l'extraction une fois la phase organique récupérée et prête à être évaporée.

Pour cet essai, des échantillons de 50 ng/mL et 150 ng/mL ont été testés.

Le rendement de l'extraction est calculé en pourcentage selon la formule suivante :

$$\text{Rendement extraction}(\%) = \frac{\text{Ratio des aires après extraction}}{\text{Ratio des aires avant extraction}} \times 100$$

7. ETUDE D'UNE SERIE DE PATIENTS

Le prélèvement des échantillons urinaires des patients provenant des services d'addictologie et du centre de la méthadone adressés au laboratoire de Pharmacologie Clinique et de Toxicologie du CHU de Nancy est effectué dans le cadre du suivi des conduites addictives de ces patients. Les analyses pratiquées comportent la recherche de stupéfiants (opiacés, cocaïne, apmphétamines, cannabis), de benzodiazépines et des médicaments utilisés dans le traitement substitutif à savoir la buprénorphine et la méthadone.

7.1 Recherche urinaire des stupéfiants, de la méthadone et des benzodiazépines

Ces analyses sont réalisées par immuno-analyse en phase homogène sur un automate Siemens Dimension EXL 200. Brièvement, la méthode d'immuno-analyse utilisée fait appel à la technique Syva Emit II Plus Siemens. Cette technique consiste en une reconnaissance de la molécule d'intérêt par des anticorps en présence de cette même molécule marquée par de la glucose-6 phosphate déshydrogénase (G6PDH). Par la suite, la glucose-6 phosphate déshydrogénase catalyse l'oxydation du glucose-6Phosphate et permet la réduction du NAD+ en NADH,H+. L'activité G6PDH n'est effective que si le conjugué est libre (extinction d'une activité). Le signal mesuré correspond alors au NADH,H+ dont la longueur d'absorption est de 340 nm. Le signal obtenu est proportionnel à la concentration de molécule d'intérêt présente dans l'échantillon. Le **Tableau 8** présente les caractéristiques de cette méthode pour chacune des substances analysées.

Tableau 8 : Caractéristiques de la méthode d'immunoanalyse pour chacune des substances recherchées dans les urines.

Dépistage	Molécules ciblées par anticorps	Molécules marquées	Seuil positivité
Opiacés	Morphine	Morphine-G6PDH	300 ng/mL
Cocaïne	Benzoylecgonine	Benzoylecgonine-G6PDH	150 ng/mL
Amphétamines	d-amphétamine et d-métamphetamine	d-amphétamine-G6PDH et d-métamphetamine-G6PDH	300 ng/mL
Cannabis	THC-COOH	THC-COOH-G6PDH	50 ng/mL
Méthadone	Méthadone	Méthadone-G6PHDH	300 ng/mL
Benzodiazépines	Diazépam/Lormetazépam	Benzodiazépines-G6PDH	200ng/mL

7.2 Recherche urinaire de la buprénorphine

Le dépistage de la buprénorphine est réalisé par un test ELISA compétition en phase hétérogène. Dans cette méthode, les anticorps anti-buprénorphine recouvrent la surface des puits. Après dépôt de l'échantillon et du conjugué, ces derniers entrent en compétition pour les anticorps. Après incubation et lavage, l'étape de révélation fait appel à une réaction enzymatique catalysée par la peroxydase de raifort après ajout du substrat (TMB). La coloration bleue obtenue est inversement proportionnelle à la concentration de l'échantillon. Le seuil de positivité est de 5 ng/mL.

B. RESULTATS ET DISCUSSION

1. LE CHOIX DES MOLECULES

La revue de la littérature réalisée sur les « Spices » montre une grande hétérogénéité de leur composition. Par ailleurs, la chimie des cannabinoïdes de synthèse s'adapte à l'évolution de la législation concernant les stupéfiants, ce qui a pour conséquence un renouvellement rapide des molécules présentes sur le marché. Au vu de l'importance du nombre de cannabinoïdes de synthèse pouvant exister, 105 répertoriés par l'EMCDDA en mars 2014, il est difficile de réaliser une recherche sur l'ensemble des molécules de cette famille. Aussi, la méthode d'analyse mise au point ne peut porter que sur quelques représentants de cette famille. Le choix de ces représentants a nécessité une sélection rigoureuse prenant en compte différents critères. Les critères que nous avons retenus sont :

- Les molécules les plus décrites dans la littérature
- Les molécules présentes sur le marché à la date de la mise en place de la technique
- Les molécules référencées et disponibles sous forme de standard
- Les molécules pouvant être retrouvées dans un prélèvement urinaire

Au regard des critères pris en compte, nous avons sélectionné les molécules suivantes : JWH250 ; RCS-4 ; JWH073 ; JWH018 ; JWH018-5-N-(hydroxypentyl) ; JWH073-4-N-(hydroxybutyl) ; AM2201 ; JWH122 ; JWH200.

2. VALIDATION DE LA METHODE

Notre méthode permet de séparer chacune des molécules comme le montre la **Figure n° 6**. Les spectres de chaque molécule en mode Full Scan et SIM sont présentés en **Annexe n°3**.

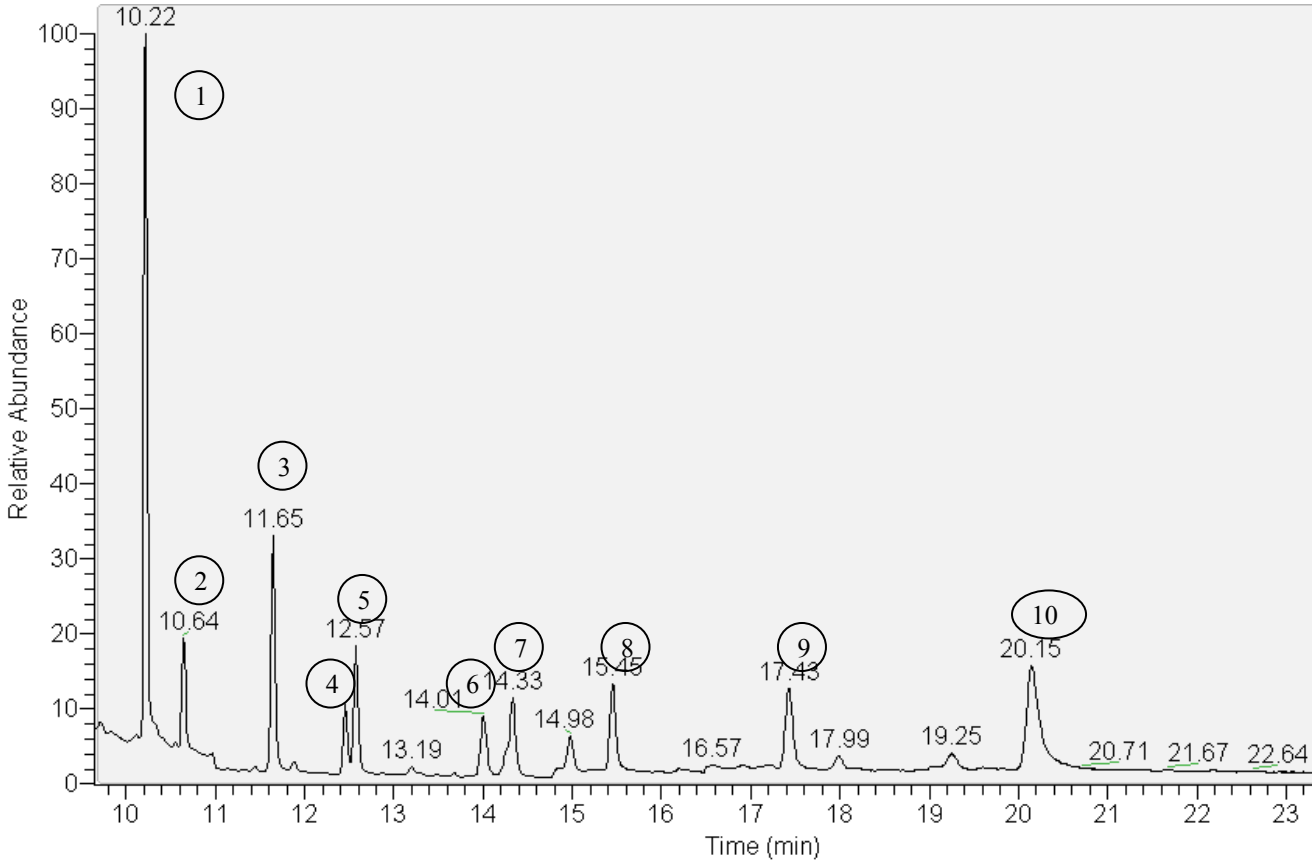


Figure 6 : Chromatogramme d'une urine surchargée à 100 ng/mL de cannabinoides de synthèse en mode TIC (Total Ionique Courant). 1: JWH250 ; 2 : RCS-4 ; 3 : JWH073 ; 4 : JWH018-D11 ; 5 : JWH018 ; 6 : AM2201 ; 7 : JWH122 ; 8 : JWH073-4-N-(hydroxybutyl) ; 9 : JWH018-5-N-(hydroxypentyl) ; 10 : JWH200.

2.1 Répétabilité

Les coefficients de variation obtenus pour les tests de répétabilité sur les niveaux 1 et 2 sont présentés dans le **Tableau 9**.

Tableau 9 : Résultats de l'essai de répétabilité exprimés en CV (%) (n=5).

Essai de Répétabilité	CV (%)		Conclusion
Niveaux	CIQ1	CQ2	
JWH 250	1,82	1,76	Validé
RCS-4	3,10	6,56	Validé
JWH073	1,44	4,07	Validé
JWH018	0,95	4,73	Validé
AM2201	2,82	2,59	Validé
JWH122	2,22	3,65	Validé
JWH073N	2,17	3,24	Validé
JWH018N	1,49	4,60	Validé
JWH200	0,71	1,34	Validé

Les pourcentages de CV obtenus, inférieurs à 20%, permettent de valide l'essai de répétabilité pour chacun des cannabinoïdes testés.

2.2 Fidélité intermédiaire (reproductibilité inter-laboratoire)

Les résultats de l'essai de fidélité intermédiaire sont présentés dans le **Tableau 10**.

Tableau 10 : Résultats de l'essai de fidélité intermédiaire exprimés en CV (%) (n=5).

Essai de Fidélité Intermédiaire	CV (%)		Conclusion
Niveaux	CIQ1	CQ2	
JWH 250	10,3	19,8	Validé
RCS-4	14,4	8,0	Validé
JWH073	19,1	13,3	Validé
JWH018	16,3	6,5	Validé
AM2201	7,5	9,4	Validé
JWH122	9,5	5,9	Validé
JWH073N	13,0	4,2	Validé
JWH018N	3,4	6,1	Validé
JWH200	15,4	15,3	Validé

Les pourcentages de CV obtenus, inférieurs à 20%, permettent de valider l'essai de fidélité intermédiaire pour chacun des cannabinoïdes testés.

2.3 Limite de détection

Le **Tableau 11** présente les moyennes et les écarts-types calculés du signal de base sb calculé au temps de rétention de chacun des cannabinoïdes testés.

Tableau 11 : Détermination de la limite de détection (LOD) pour chacun des cannabinoïdes testées (n=10) calculée en fonction du signal sb.

Molécules	Moyenne (ng/mL)	Ecart-Type (ng/mL)	LOD (ng/mL)
JWH 250	0,3	0,2	1,0
RCS-4	0,6	0,9	3,0
JWH073	1,3	0,9	3,0
JWH018	0,6	0,3	1,0
AM2201	0,7	0,4	2,0
JWH122	0,3	0,2	1,0
JWH073N	0,2	0,1	1,0
JWH018N	0,2	0,1	1,0
JWH200	0,3	0,4	2,0

Si les limites de détection obtenues par mesure d'un blanc sont comprises entre 1,0 et 3,0 ng/mL, l'essai complémentaire de détermination des LOD par dilutions successives d'un échantillon de concentrations à 20ng/mL n'a, quant à lui, permis de ne retrouver qu'une LOD égale à 5 ng/mL pour l'ensemble des cannabinoïdes testés. En effet, à des concentrations inférieures à 5 ng/mL il n'était pas possible d'identifier les cannbinoïdes de synthèse. Compte-tenu des observations de ce dernier essai, la limite de détection a été fixée à 5 ng/mL pour l'ensemble des cannabinoïdes de synthèse testés dans notre méthode.

La limite de détection est un paramètre important d'une méthode de dépistage puisqu'elle en conditionne la sensibilité et la spécificité ; elles-mêmes étroitement liées au biais de classement des patients. Les limites de détection trouvées dans la littérature sont inférieures à 1ng/mL mais obtenues avec la technique de CLHP-SM/SM et pour les cannabinoïdes de synthèse étudiés, comme le JWH-018, le JWH-073 et leurs métabolites (25)(85)(103)(104), pour lesquels des données sont accessibles. D'un point de vue clinique, ces différences de LOD observées en fonction de la technique utilisée conditionnent la durée de détectabilité des substances recherchées. Comme cela avait pu être montré pour d'autres produits (Consensus SFTA sur la soumission chimique par exemple), les durées de détectabilité des cannabinoïdes

de synthèse semblent ainsi plus courtes avec une méthode par CPG-SM que par CLHP-SM/SM.

2.4 Limite de quantification

Le **Tableau 12** présente les CV obtenus pour des échantillons de cannabinoïdes de synthèse de concentrations 10 et 15 ng/mL et la limite de quantification retenue pour chacune de ces molécules.

Tableau 12 : Limite de quantification (LOQ) retenue pour chacun des cannabinoïdes testées (n=5).

	CV %		LOQ
Concentration testée (ng/mL)	**10**	**15**	**(ng/mL)**
JWH 250	18,5	10,1	10
RCS-4	12,2	6,6	10
JWH073	17,1	8,6	10
JWH018	15,0	8,3	10
AM2201	10,4	6,2	10
JWH122	9,0	2,2	10
JWH073N	14,4	6,5	10
JWH018N	20,7	8,6	15
JWH200	27,4	14,0	15

Les limites de quantification pour les cannabinoïdes de synthèse analysées dans notre méthode ont été fixées à 10 ou 15 ng/mL. La comparaison de ces résultats aux données de la littérature permet une conclusion similaire à celle émise pour la limite de détection à savoir une sensibilité analytique moins importante de la GPG-SM par rapport à la CLHP-SM/SM. En effet, les LOQ rapportées dans la littérature sont de l'ordre de 2,5 ng/mL (67). Là encore, les études se limitent à quelques cannabinoïdes de synthèse tels que le JWH-018 ou le JWH-073.

2.5 Interférences

L'essai d'interférence a pour objectif de déterminer l'existence d'une influence de la matrice ou de tout autre composé sur la recherche et/ou le dosage de l'analyte d'intérêt. Les essais réalisés avec des urines non chargées et des urines chargées en stupéfiants et benzodiazépines ont montré l'absence d'interférence avec les cannabinoïdes de synthèse testés. La **Figure n° 7** présente les résultats de cet essai pour la molécule de JWH-018.

Les résultats des essais d'interférences permettent de valider notre méthode sur la matrice urinaire mais également de valider les paramètres chromatographiques utilisés dans notre méthode ainsi que les ions de détection et de quantification utilisés pour chacun des cannabinoïdes de synthèse.

Il est important de rappeler que le choix des molécules utilisées pour les essais d'interférences fut guidé par le choix du groupe de patients que nous souhaitions tester dans notre étude - à savoir des patients toxicomanes suivis au CHU de Nancy pour conduites addictives - et par le choix de la matrice urinaire.

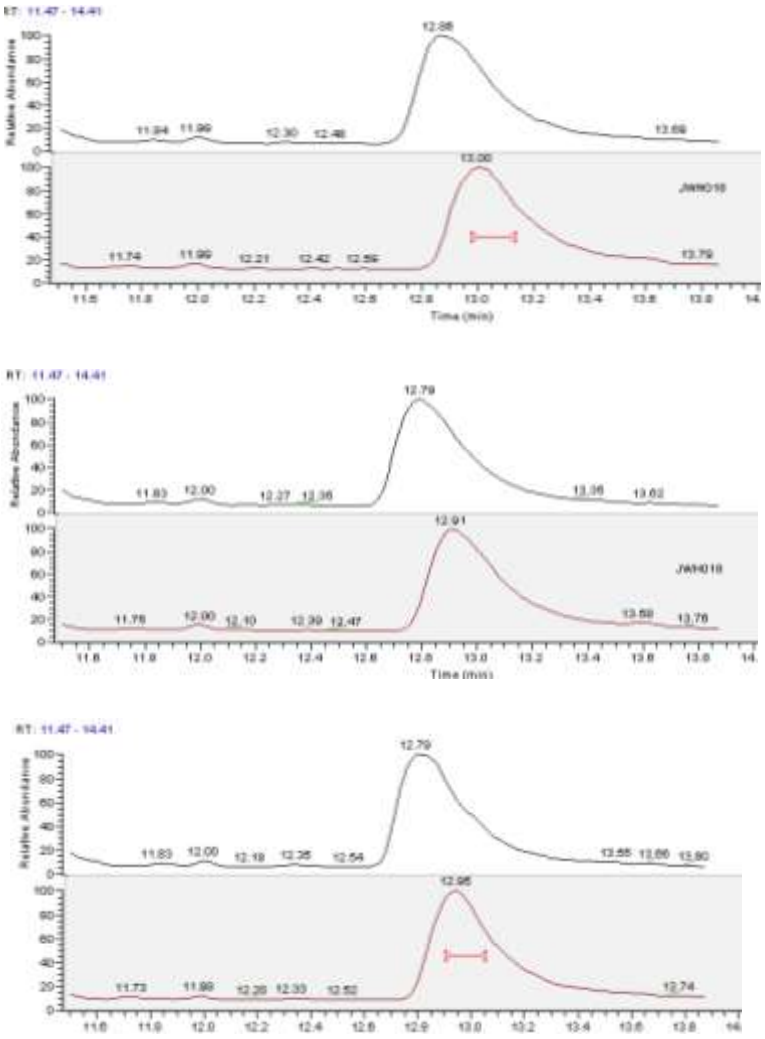


Figure 7 : Chromatogrammes du JWH018 lors des essais d'interférences. (a) urine surchargée en JWH018 ; (b) urine surchargée en JWH018 et en opiacés, cocaïne, cannabis et benzodiazépines ; (c) urine surchargée en JWH018, en amphétamines, en méthadone et buprénorphine.

De ce fait, les molécules testées appartenaient à la famille des benzodiazépines et à la classe des stupéfiants.

Pour les benzodiazépines, le rapport de l'ANSM de 2013 sur la consommation des benzodiazépines en France (117) présente le bromazépam, l'oxazépam, le diazépam, la zopiclone, le clonazépam et le flunitrazépam comme les 5 benzodiazépines les plus fréquemment consommées par les patients suivis dans des structures spécialisées dans la prise en charge et le suivi des toxicomanies. La recherche d'interférences a ainsi été en priorité ciblée sur ces 5 molécules. A noter que le tétrazépam, le bromazépam, le zolpidem, l'alprazolam et la zopiclone sont les 5 benzodiazépines les plus consommées dans la population générale. Ainsi, le tétrazépam, le zolpidem et l'alprazolam pourraient également être testés. Il est également important de rappeler que dans les urines, les benzodiazépines sont présentes sous forme de glucuroconjugués afin d'en faciliter l'élimination urinaire. Aussi, une étape d'hydrolyse des urines est nécessaire afin de libérer les benzodiazépines de leur conjugué, étape intégrée dans notre protocole de traitement des échantillons. Enfin, l'essai d'interférences présenté dans ce travail devrait être par la suite complété par l'étude des métabolites hydroxylés ou aminés, majoritairement présents dans les urines.

Pour le cannabis, les molécules retenues pour le test d'interférences furent le THC-COOH, le 11-OH-THC et le THC. Dans les urines, le THC-COOH, métabolite inactif du THC, est le composé majoritairement retrouvé. La recherche d'une possible interférence avec le THC-COOH est de ce fait obligatoire. Même si le THC est habituellement retrouvé en très faible quantité dans les urines et le 11-OH-THC y est normalement absent, nous avons également réalisé ce test avec ces 2 molécules puisque leur absence ne peut être complètement exclue dans la matrice urinaire.

Pour les opiacés, les molécules choisies furent soit des opiacés naturels (morphine et codéine) soit des opiacés semi-synthétiques (héroïne et son métabolite, la 6-monoacétylmorphine (6-MAM) ou soit des opioïdes synthétiques ou semi-synthétiques (buprénorphine, méthadone et son métabolite, l'EDDP (2éthylidène-1,5-diméthyl-3,3-diphényl pyrrolidine)). Ces molécules sont principalement éliminées par voie urinaire sous forme libre ou sous forme conjuguée. Aussi, l'hydrolyse des urines permet de travailler avec les formes libres des molécules.

Pour la cocaïne, nous avons choisi de tester la cocaïne et ses principaux métabolites urinaires que sont la benzoylecgonine et la méthylesterecgonine. A noter que ces deux métabolites peuvent être retrouvés dans les urines pendant 1 à 3 jours en fonction de la dose et de la voie d'administration de la cocaïne (118). Ces molécules sont les principaux marqueurs de la consommation de cocaïne et sont recherchés dans les dépistages toxicologiques.

Pour les amphétamines, notre choix s'est porté sur les produits les plus classiques et leurs dérivés les plus courants : l'amphétamine (alpha-méthylphénéthylamine), la métamphétamine (N-alpha-diméthylphénéthylamine), la MDMA (méthylènedioxymethamphétamine), MDEA (méthylènedioxyéthamphétamine). La voie d'élimination majoritaire de ces molécules est urinaire.

Nous avons pu, au cours de l'essai d'interférences, mettre en évidence l'absence d'interférences entre les cannabinoïdes de synthèse et les molécules testées. Si notre recherche d'interférences a particulièrement été ciblée sur les molécules de la classe des stupéfiants utilisées dans les conduites addictives, nous n'en oublions cependant pas qu'il peut également exister de multitudes d'autres interférences, non testées, avec les molécules utilisées plus classiquement dans les traitements médicamenteux. L'essai réalisé est non exhaustif et constitue une limite de notre essai. Par ailleurs, il est important de rappeler que nous avons effectué cet essai avec une surcharge des molécules à tester à une concentration de 2 µg/mL. Là encore, cette concentration ne permet pas valider les interférences pour des concentrations supérieures à cette valeur testée.

2.6 Effet matrice

Les CV calculés à partir des ratios des aires pour chacune des molécules sont résumés dans le **Tableau 13**.

Tableau 13 : Résultats du test de l'effet matrice d'un point 150 ng/mL (n=3)

	Effet matrice %
molécules	**CV**
JWH-250	5,5
RCS-4	4,0
JWH-073	4,2
JWH-018	15,9
AM-2201	7,4
JWH-122	30,7
JWH-073N	5,8
JWH-018N	8,7
JWH-200	3,1

Les CV sont compris entre 3,1 et 15,9 % ce qui permet de conclure à l'absence d'un effet matrice significatif pour l'ensemble des molécules excepté pour le JWH122 qui présente un CV à 30,7 %. Ce résultat peut paraître surprenant au vu de la structure de cette molécule relativement similaire aux autres, nous nous attendions donc à un CV du même ordre pour toutes les molécules. Ce résultat pourra être confirmé sur un nouvel essai et le test de l'effet matrice complété par l'analyse d'un échantillon de faible concentration.

2.7 Domaine de linéarité

Afin de valider notre domaine de linéarité, nous avons d'abord entrepris une recherche dans la littérature des concentrations habituellement retrouvées en cannabinoïdes de synthèse dans les urines afin de cibler la zone de concentrations de notre méthode d'analyse. Là encore, il existe peu de données dans la littérature et nous retiendrons les résultats de l'étude de Jang sur l'analyse des métabolites urinaires du JWH-018 dans des cas médico-légaux (103). Parmi les 21 patients étudiés, les concentrations urinaires variaient de 0 à 671 ng/mL et seuls 4 patients présentaient des concentrations urinaires supérieures à 200ng/mL. Aussi, nous avons décidé de tester la linéarité de nos gammes d'étalonnage entre la limite de quantification de chaque cannabinoïde de synthèse étudié (10 ou 15 ng/mL) et la limite supérieure retenue de 200 ou 500 ng/mL. Les résultats de l'essai de linéarité pour les gammes d'étalonnage de limite supérieure à 200 ng/mL sont présentés dans le **Tableau 14**.

Tableau 14 : Résultats des tests statistiques de régression et de non linéarité (n=25)

Molécule	Régression F_{reg}	Erreur de Modèle F_{nl}	P_{reg} $\alpha<0,05$	P_{nl} $\alpha<0,05$	Conclusion Régression/Linéarité
JWH 250	358,11	0,07	$3,10.10^{-14}$	0,98	Significatif/Significatif
RCS-4	517,35	0,28	$9,15.10^{-16}$	0,84	Significatif/Significatif
JWH073	448,05	0,11	$3,65.10^{-15}$	0,95	Significatif/Significatif
JWH018	1149,86	0,43	$3,79.10^{-19}$	0,73	Significatif/Significatif
AM2201	139,03	0,23	$1,85.10^{-10}$	0,87	Significatif/Significatif
JWH122	473,87	0,25	$2,13.10^{-15}$	0,86	Significatif/Significatif
JWH073N	410,56	0,33	$8,42.10^{-15}$	0,80	Significatif/Significatif
JWH018N	256,36	0,38	$7,18.10^{-13}$	0,77	Significatif/Significatif
JWH200	70,11	0,14	$5,72.10^{-8}$	0,93	Significatif/Significatif

* F_{reg} : F de régression ; F_{nl} : F de non linéarité ;P_{reg} : Probabilité de régression ; P_{nl} : Probabilité de non linéarité

La significativité des essais de linéarité par analyse de variances permettent de valider les domaines de concentrations entre 10 ou 15 ng/mL en fonction des molécules et 200 ng/mL. Les essais réalisés avec une limite supérieure fixée à 500 ng/mL conduisent également à une significativité des tests de régression linéaire et de non linéarité. Cependant, il apparaît que ce domaine de concentrations présente une erreur totale plus importante en comparaison au

domaine LOQ-200 ng/mL. Le **Tableau 15** présente cette différence d'erreur totale, exprimée en somme des carrés des écarts totale des réponses (SCE_Y).

Tableau 15 : Comparaison des valeurs des sommes des carrés des écarts totales des réponses (SCEY) entre les gammes de limite supérieure 200 ng/mL et 500 ng/mL (n=25).

Gamme (ng/mL)	10-200	10-500	
JWH 250	957,84	9011,70	
RCS-4	6,17	64,17	
JWH073	3,77	37,96	
JWH018	13,59	134,98	
AM2201	1,22	12,69	
JWH122	7,27	74,72	
JWH073N	16,73	173,32	
Gamme (ng/mL)	15-200	15-200	
JWH018N	6,95	77,05	
JWH200	944,82	13062,82	

Au vu des résultats du **Tableau 15** nous avons ainsi retenu le domaine LOQ-200 ng/mL pour notre méthode.

2.8 Contamination inter-échantillons

Pour l'essai de contamination inter-échantillons, nous avons utilisé des échantillons surchargés à 400 ng/mL en cannabinoïdes de synthèse et des échantillons blancs non surchargés correspondant respectivement aux «échantillons à valeur élevée » (H1, H2, H3) et aux «échantillons à valeur faible » (B1, B2, B3) décrits par le guide technique d'accréditation du COFRAC. Le passage de la séquence H1, H2 H3, B1, B2, B3 n'a pas permis de constater la présence de cannabinoïdes de synthèse dans les échantillons blancs surchargés. Ainsi, à la concentration de 400 ng/mL testée, il n'y a pas de contamination inter-échantillons. La conséquence de ce résultat est la possibilité de réaliser des séquences de travail sans utiliser de rinçages intercalés entre les différents échantillons ; ce qui permet un gain de temps indéniable d'analyse dans la limite d'échantillons de concentration inférieure à 400 ng/mL.

Dans le cas d'échantillons de concentration plus élevée, il sera nécessaire de repasser les échantillons en aval de la séquence afin de s'assurer de la réalité des résultats obtenus.

2.9 Stabilité des solutions de travail

L'essai de stabilité des réactifs a été réalisé pendant 30 jours à -34°C à partir d'une solution de concentration à 100 ng/mL. Les résultats de cet essai sont présentés dans le **Tableau 16**.

Tableau 16 : Résultats de l'essai de stabilité d'une solution de concentration à 100 ng/mL conservée à -34°C pendant 30 jours exprimés en pourcentage de la valeur attendue (n=1).

	Stabilité à 30 jours	
Molécules	**Niveau 1**	**Niveau 2**
JWH 250	98,4	103,5
RCS-4	105,2	109,1
JWH-073	102,9	107,9
JWH-018	100,8	102,3
AM-2201	106,5	113,7
JWH-122	104,8	113,3
JWH-073N	103,7	108,5
JWH-018N	105,0	115,6
JWH-200	106,3	117,0

Les solutions testées ont été considérées comme stables si leur pourcentage calculé était compris dans l'intervalle 100 +/- 10%. A la lecture des résultats du Tableau n°16, toutes les solutions sont stables après 30 jours de conservation à -34°C. Etant donné que ces résultats ont été obtenus sur une seule série d'échantillons, l'essai de stabilité mérite d'être confirmé par l'analyse d'autres séries d'échantillons afin d'être validé. Par ailleurs, l'étude de stabilité que nous avons commencé dans ce travail est toujours en cours et de nouvelles données seront accessibles ultérieurement.

2.10 Stabilité des CIQ

L'étude de stabilité des contrôles internes de la qualité (CIQ) a été réalisée sur les deux niveaux de CIQ conservés à -20°C. Les CIQ étaient considérés comme stables si les concentrations mesurées étaient comprises dans l'intervalle [concentration initiale ± 20%]. Les résultats de l'essai stabilité obtenus après 7 et 30 jours de conservation sont présentés dans le **Tableau 17**.

Tableau 17 : Essai de stabilité des CIQ1 et CIQ2 conservés à -20°C. Les résultats sont exprimés en pourcentage de la concentration initiale (n=1).

	Stabilité à 7j		Stabilité à 30j	
Molécules	**CIQ1**	**CIQ2**	**CIQ1**	**CIQ2**
JWH 250	83,0	108,5	92,5	107,6
RCS-4	86,6	96,3	61,4	94,9
JWH-073	97,4	98,1	77,7	91,0
JWH-018	95,5	102,6	89,7	94,8
AM-2201	104,4	99,7	75,4	94,0
JWH-122	81,8	96,6	71,6	96,1
JWH-073N	103,1	100,4	76,1	91,6
JWH-018N	93,2	102,3	76,2	92,7
JWH-200	98,0	100,8	75,6	88,8

L'essai de stabilité des CIQ a montré une stabilité des contrôles à 7 jours pour l'ensemble des molécules testées et pour les deux niveaux de concentration. Après 30 jours de conservation à -20°C, si les CIQ de concentrations plus élevées (CIQ2) de l'ensemble des molécules testées sont stables, seuls les CIQ1 du JWH-250 et du JWH-018 sont stables. En effet, nous avons pu constater une diminution de l'ordre de 25 à 40 % des concentrations mesurées dans les CIQ1 des autres molécules testées. Si le JWH-018 et ses dérivés (AM-2201, JWH122, JWH-073, JWH-200, JWH-018N, JWH-073N) présente des stabilités relativement homogènes à 30 jours dans le CIQ1, la différence de stabilité entre le JWH-250 et le RCS-4 est quelque peu surprenante au vue de la grande similitude des structures chimiques de ces deux molécules. Ces résultats sont ainsi à confirmer sur un plus grand nombre d'échantillons testés.

2.11 Stabilité des échantillons congélation/décongélation

Le **Tableau 18** présente la différence observée entre les échantillons fraîchement décongelés et les échantillons ayant subi trois cycles de congélation/décongélation.

Tableau 18 : Résultats du test de congélation/décongélation sur un CIQ à 150 ng/mL

molécules	Différence (%)
JWH-250	13,0
RCS-4	12,4
JWH-073	4,0
JWH-018	27,1
AM-2201	-28,8
JWH-122	-36,3
JWH-073N	-13,7
JWH-018N	-11,6
JWH-200	-5,3

Seules deux molécules présentent une concentration plus faible que la concentration théorique. Les cycles de congélation/décongélation imposés à ces molécules semblent donc favoriser la dégradation pour les molécules de JWH122 et d'AM2201. Pour ce test également, le résultat est surprenant du fait de la similarité des structures chimiques. Ce test révèle donc que les échantillons ne peuvent être décongelés et recongelés. Il devra également être complété par un test avec une concentration plus faible.

2.12 Rendement de l'extraction

Les résultats des rendements d'extraction obtenus pour chacun des cannabinoïdes de synthèse testés sont présentés dans le **Tableau 19**.

Tableau 19 : Rendement d'extraction de chaque cannabinoïde de synthèse testé pour des échantillons de concentration 50 ng/mL et 150 ng/mL. Les résultats sont exprimés en pourcentage de la concentration théorique attendue (n=1).

	Rendement d'extraction (%)	
Molécules	**50 ng/mL**	**150 ng/mL**
JWH 250	102,2	105,7
RCS-4	97,6	103,8
JWH-073	96,6	105,4
JWH-018	99,9	105,6
AM-2201	97,1	96,4
JWH-122	102,3	100,2
JWH-073N	101,8	92,7
JWH-018N	107,7	93,7
JWH-200	100,1	102,8

Les rendements d'extraction obtenus sont compris entre 92,7% et 107,7%. Ces valeurs de rendement d'extraction sont élevées et homogènes entre les différents cannabinoïdes de synthèse et ce, quel que soit le niveau de concentration testé. Si notre méthode fait appel à une extraction en milieu acide, nombre de méthodes décrites dans la littérature font appel à une extraction en milieu alcalin. Le choix s'est porté sur le milieu acide qui est moins propice à l'extraction de la majorité des xénobiotiques dont les opiacés et les benzodiazépines.

Enfin, ces résultats méritent cependant d'être confirmés au vu de l'absence de répétition de cet essai.

3. LA POPULATION ETUDIEE

3.1 Age, sexe et service prescripteur

Les patients retenus pour notre étude étaient des patients suivis pour conduites addictives au Service d'addictologie et au Centre méthadone du Centre de Soins, d'Accompagnement et de Prévention en Addictologie (CSAPA) du CHU de Nancy. Dans la période sélectionnée pour

notre étude qui s'échelonnait d'octobre 2013 à juillet 2014, 112 échantillons ont pu être recensés et analysés ; 61 (55%) provenant de patients suivis au CSAPA et 51 (45%) du Service d'Addictologie. Il est à noter que les échantillons provenant du CSAPA sont réceptionnés au laboratoire selon le protocole établi entre les deux services. Ainsi aucune information sur l'âge ou le sexe de ces patients ne nous était connue. Concernant les patients suivis au Service d'Addictologie, l'âge moyen était de 37,8 ans et ces patients étaient essentiellement des hommes (sex-ratio de l'ordre de 5,6). En l'absence de toute information sur le motif de consultation, il est difficile de comparer les résultats obtenus aux chiffres rencontrés dans la littérature. Néanmoins, l'âge comme la prédominance masculine semble en accord avec les études de consommation des produits psychoactifs accessibles dans la littérature (119).

3.2 Consommation de stupéfiants et de benzodiazépines

Le dépistage des benzodiazépines et des différentes familles de stupéfiants ont été réalisés pour tous les patients à l'exception de la buprénorphine qui n'a été réalisé que chez 95 patients. La **Figure n° 8** présente la fréquence de consommation de chacune des familles de stupéfiants et de benzodiazépines dans notre population.

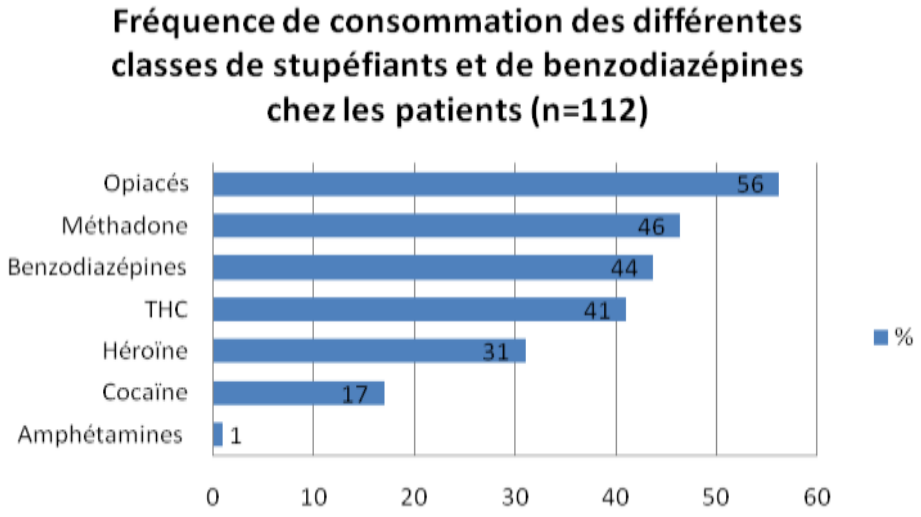


Figure 8 : Fréquence de consommation des benzodiazépines et des stupéfiants dans la population de patients suivis pour conduites addictives.

Après analyse des échantillons, il apparaît que les opiacés sont les produits les plus consommés dans notre population. En effet, plus de la moitié des échantillons analysés répondait positivement au dépistage immunoenzymatique. Par ailleurs, après analyse de confirmation par CPG-SM, près de 31% des patients positifs aux opiacés étaient positifs à la 6-MAM, métabolite de l'héroïne. Le produit illicite le plus consommé après les opiacés était le THC avec plus de 40% des urines répondant positivement au dépistage immunoenzymatique. Parmi les substances illicites, la cocaïne et les amphétamines arrivaient respectivement en troisième et quatrième place. Par comparaison aux données relevées sur le territoire national (120), les consommateurs d'héroïne semblent sur-représentés dans notre groupe de patients. En effet, en France, les consommateurs de cannabis arrivent largement en tête avec plus de 13 millions de consommateurs, loin devant les consommateurs de cocaïne (1,5 million de consommateurs), d'ecstasy (environ 1 million de consommateurs) et d'héroïne (environ 500 000 consommateurs). La forte proportion de consommateurs d'héroïne rencontrée dans notre groupe de patients est directement liée au choix des services de provenance des urines analysées et en particulier le centre méthadone du CSAPA, responsable d'un fort biais de sélection en faveur des patients héroïnomanes. Concernant les benzodiazépines et la méthadone, il est difficile d'en commenter les résultats puisque ces médicaments peuvent être utilisés dans le traitement des addictions comme de façon détournée par ces patients.

En complément de l'étude sur la nature des produits consommés, nous nous sommes également intéressés à la question de la polyconsommation. La **Figure n° 9** présente la répartition des patients en fonction du nombre de produits consommés. Il est intéressant ainsi de constater que les patients ne consommant qu'un seul type de produits étaient largement minoritaires. En effet, près de 80% des patients sont polyconsommateurs et près de 87% d'entre eux consomment entre deux et trois produits. Seuls 20% des patients ne semblent consommer qu'un seul produit.

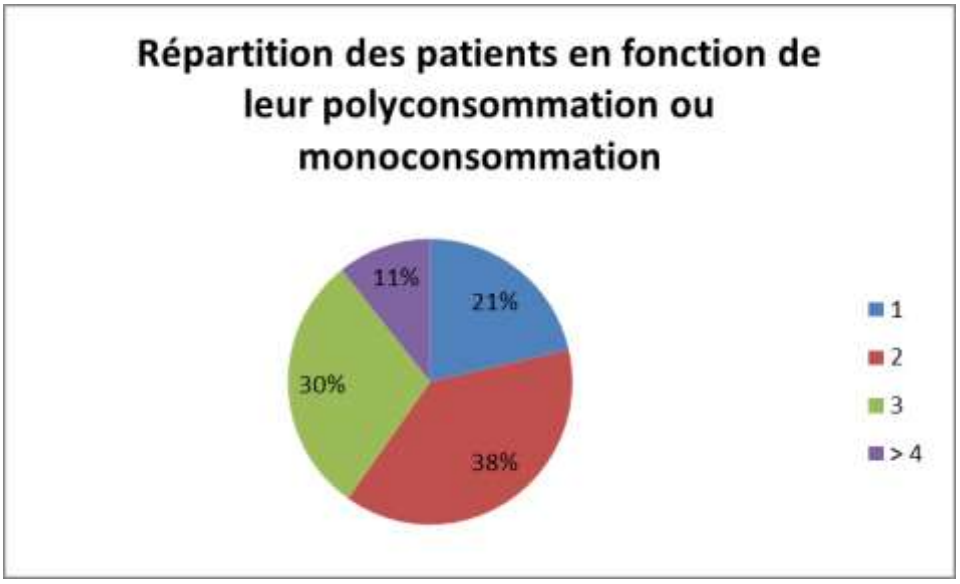


Figure 9 : Prévalence de la consommation d'une ou de plusieurs classes de stupéfiants et benzodiazépines chez les patients du panel (n=112)

A l'issue de cette analyse épidémiologique, il apparaît très nettement que notre groupe de patients est un sous-groupe particulier de la population générale constitué majoritairement de patients plus volontiers héroïnomanes et polyconsommateurs. Concernant la polyconsommation, le rapport de l'HAS sur la polyconsommation (121) révèle une prévalence d'expérimentation d'autres drogues illicites plus élevée, de l'ordre de 5 à 8 fois, chez les consommateurs réguliers de cannabis ou d'héroïne par rapport à la population générale. La polyconsommation serait ainsi un facteur d'aggravation des conduites de consommation. Dans le cas de notre étude, cela nous laisse à penser que parmi les patients de notre série, certains seront peut-être sujets à expérimenter d'autres produits psychoactifs – comme les cannabinoïdes de synthèse - que ceux habituellement décrits. Cette constatation va ainsi dans le sens de la raison pour laquelle nous avions décidé d'analyser des urines de patients provenant de services spécialisés dans les addictions et en particulier des produits psychoactifs. En effet, nous avions émis l'hypothèse que ces patients seraient peut-être plus à même d'être au contact des produits recherchés dans notre étude.

Cette hypthèse est toutefois à nuancer par le fait que le dernier rapport de L'OFDT sur les nouveaux produits de synthèse semble faire état de « l'apparition d'expérimentations de ces substances parmi un public plus jeune, constitué de personnes usagères occasionnelles de drogues, a priori socialement insérées, pouvant acheter sur Internet » (14).

3.3 Consommation de cannabinoïdes de synthèse

Parmi les 112 échantillons urinaires de patients analysés, un seul échantillon s'est révélé positif pour la molécule de JWH-073-4-N-(hydroxybutyl), métabolite du JWH-073. Après quantification, nous avons pu retrouver une concentration à 25 ng/mL de cette molécule. La **Figure n° 10** présente le chromatogramme ainsi que le spectrogramme de masses de cet échantillon.

Au sein de l'échantillon positif, nous avons ainsi pu mettre en évidence la présence d'un cannabinoïde de synthèse. Le JWH-073-4-N-(hydroxybutyl) est un métabolite monohydroxylé du JWH-073. De nombreuses études ont pu montrer que les dérivés monohydroxylés sont les métabolites majoritairement retrouvés au niveau des urines. Par ailleurs, il est intéressant de constater que la molécule mère, le JWH-073, n'est pas retrouvée dans cet échantillon ; ce qui confirme les résultats de la littérature sur l'absence des molécules mères dans les urines. Enfin, il est également à noter que les derniers « Spices » mis sur le marché contiennent *a priori* plusieurs cannabinoïdes de synthèse dans leur composition. Dans le cas de notre patient, nous n'avons pu mettre en évidence que le métabolite du JWH-073, ce qui conduit à différentes hypothèses :

- Consommation d'un produit plus ancien ne contenant que du JWH-073.
- Sensibilité de notre méthode insuffisante pour détecter d'autres cannabinoïdes de synthèse présents dans notre méthode de dosage.
- Consommation d'un produit contenant du JWH-073 et des cannabinoïdes de synthèse non analysés par notre méthode de dosage. Concernant ce dernier point, en 2014, 105 molécules de cannabinoides de synthèse ont été répertoriées par l'EMCDDA.

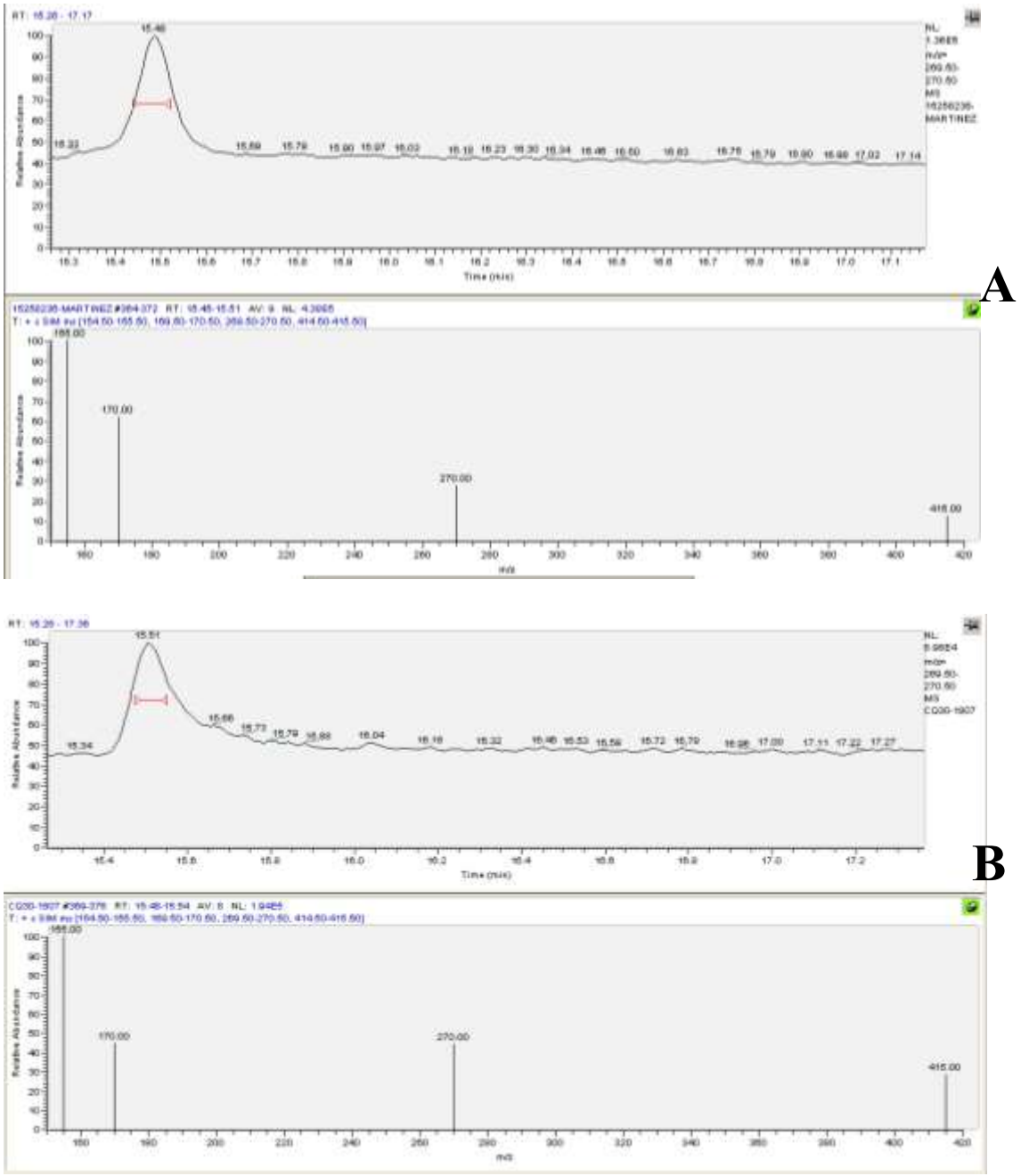


Figure 10 : Chromatogramme et Spectrogramme de masses de l'échantillon positif en cannabinoïdes de synthèse. A Patient positif au JWH-073-4-N-(hydroxybutyl) B Contrôle CIQ1 à 30 ng/mL

Il est important de rappeler que les molécules de cannabinoïdes de synthèse sont rapidement renouvelées et que des nouvelles molécules émergent régulièrement sur le marché. Pour suivre cette évolution constante et régulière du marché, il nous faudrait disposer d'une méthode capable de rechercher l'ensemble des molécules. Cette mise au point implique un investissement important tant en coût qu'en temps de développement analytique et ce, après que les molécules recherchées soient disponibles chez les fournisseurs. La résultante de tout ceci est un décalage indéniable entre les molécules accessibles aux méthodes d'analyse et les molécules réellement présentes sur le marché. Un point d'ordre pré-analytique à considérer est la stabilité des cannabinoïdes de synthèse dans le milieu urinaire. En effet, l'étude de stabilité réalisée à ce jour sur des urines surchargées puis conservées pendant 30 jours à -20°C présentaient des diminutions significatives dans les échantillons de plus faible concentration (50 ng/mL). Cette perte de stabilité laisse à penser que les cannabinoïdes de synthèse ont probablement un délai de conservation limité dans la matrice urinaire ; point que nous ne pouvons exclure dans l'interprétation de nos résultats. L'étude que nous avons conduite a été réalisée rétrospectivement sur des échantillons conservés entre 0 et 8 mois avant analyse. Notre étude mériterait d'être confirmée par une étude prospective réalisant l'analyse de cannabinoïdes de synthèse sur des urines fraîchement émises parallèlement aux analyses demandées en routine par les services prescrivant des recherches de stupéfiants. Enfin, si notre méthode a fait appel à une méthode par CPG-SM, de nombreuses études sur les cannabinoïdes de synthèse font appel à la LC-SM/SM qui présente une sensibilité bien plus grande que la CPG-SM et qui permet ainsi d'élargir la fenêtre de détection des molécules recherchées (57).

Au cours de notre étude, nous avons pu observer un patient positif sur les 112 patients testés ; ce qui représente près de 0,9 % de patients positifs. Ce résultat important est plutôt inattendu puisque comparativement l'expérimentation de l'héroïne s'élève dans la population générale à 1,2 % (119). Comme énoncé dans les paragraphes précédents, ce résultat élevé est très certainement à mettre au crédit de la sélection de notre groupe particulier de patients. En effet, dans son rapport de 2009, l'EMCDDA révélait que la mise en évidence en France de la présence de plusieurs cannabinoïdes de synthèse sur le territoire national restait marginale. En 2014, l'étude française de Cirimele *et al.* ne relate aucun cas positif parmi 65 échantillons capillaires analysés provenant de patients pour lesquels une recherche de stupéfiants avait été demandée. Au vu de ces informations, même si un réel état des lieux de la consommation en

France des « Spices » n'est pas clairement publié, il semblerait néanmoins que le « phénomène Spices» n'a peut-être pas eu autant de succès en France que dans d'autres pays. L'inscription rapide en 2009 de plusieurs cannabinoïdes de synthèse dont le JWH-018 comme substances stupéfiantes a certainement contribué à limiter la consommation de ces produits ; l'absence de réglementation les concernant étant souvent une raison invoquée par les consommateurs pour les expérimenter.

Une autre hypothèse quant à une utilisation plus restreinte des cannabinoïdes de synthèse semble résider dans les études de l'AAPCC (American Association of Poison control Centers) (22) . Les résultats de ces études montrent une nette tendance à la décroissance du nombre de ces patients depuis 2011 années durant laquelle 6968 cas ont été recensé contre 2664 en 2013. Une réelle diminution de l'utilisation de ces produits a été amorcée en 2012 et semble continuer en 2013. Ces chiffres concernent les cas rapportés aux Etats-Unis mais pourraient être un reflet de la situation globale sur l'ensemble des pays concernés par la consommation de Spices. Cette tendance à la décroissance de consommation des « Spices » semble trouver une explication dans l'étude de Winstock et Barrat (30) menée en 2011 sur internet et qui révèle que les consommateurs de cannabis expérimentant les cannabinoïdes de synthèse semblent préférer le cannabis aux «Spices ». En effet, ces consommateurs ont rapporté une fréquence plus importante d'effets indésirables, et notamment une paranoïa plus importante avec les « Spices ». De plus, ces mêmes consommateurs ajoutent que les effets recherchés durent moins longtemps avec les Spices par rapport au cannabis. Cette étude conclut que 93% des consommateurs de cannabis semblent préférer la marijuana aux «Spices » (n = 975).

CONCLUSION

La consommation de cannabinoïdes de synthèse est un sujet d'actualité internationale, l'apparition de nombreux cannabinoïdes de synthèse nouvellement identifiés ainsi que le développement du marché des « Spices » sont observés depuis 2008. Depuis, ces drogues font l'objet de nombreuses publications mais des zones d'ombres persistent quant aux certaines connaissances notamment épidémiologiques et pharmacocinétiques. L'intérêt de mettre au point une technique de dépistage et de dosage de ces molécules est alors une condition indispensable pour documenter au mieux les possibles cas.

C'est ainsi que dans la première partie de notre travail, nous avons décrit une technique de dosage de 9 cannabinoïdes de synthèse dans les urines en CPG-SM, validée selon la norme ISO 15189. Notre méthode présente des limites de détection et de quantification respectivement de 5 ng/mL et de 10 ng/mL (15 ng/mL pour JWH018N et JWH200) et un domaine de linéarité s'étendant jusqu'à 200 ng/mL. Une des principales limites de notre méthode est étroitement liée à la diversité des structures chimiques de ces molécules et à la mutation rapide de la composition des « Spices » présents sur le marché, rendant difficile le ciblage des molécules d'intérêt. Une autre limite correspond à la sensibilité de notre technique de dépistage qui est directement liée à la fenêtre de détection des cannabinoïdes de synthèse dans les échantillons soumis à analyse. Les limites de notre technique mise au point ont été identifiées et prises en compte dans l'interprétation de nos résultats. Il doit être envisagé d'adapter et d'optimiser notre technique pour son utilisation en routine.

Dans un second temps, nous avons appliqué cette technique à une étude rétrospective d'un panel de patients connus comme toxicomanes et suivis en structure de soins au CHU de Nancy. Cette population nous a paru potentiellement plus à risque d'expérimenter les cannabinoïdes de synthèse que la population générale. Parmi les 112 échantillons à notre disposition, un seul s'est révélé positif pour le métabolite du JWH073, le JWH073-4-N-(hydroxybutyl). Ainsi nous montrons que dans ce panel de patients suivis pour conduites addictives, la prévalence des cannabinoïdes de synthèse criblée est de l'ordre de 1%. Peu de données concernant la prévalence en France sont disponibles à ce jour. Les résultats obtenus à travers cette étude présentent cependant des limites de part certains biais observés. Un biais d'échantillonnage nous restreint à un groupe particulier de toxicomanes avec une proportion

d'héroïnomanes plus élevée que la population classique de toxicomanes. Il paraitrait intéressant d'élargir la population étudiée.

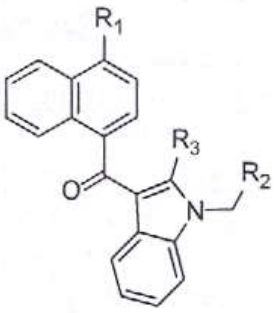
Ainsi, plusieurs hypothèses sont à établir au vu de cette faible prévalence de consommation de « Spice » rapportée. D'abord, il est possible que la population étudiée ne soit pas la plus à risque de consommer ce type de drogues ou il peut s'agir de la tendance générale au niveau local ou national. Aussi, nous devons émettre l'hypothèse des limites analytiques qui serait que les molécules criblées ne soient pas les plus fréquentes sur le potentiel marché.

Pour finir, il parait important d'approfondir les données et les connaissances sur la consommation des « Spices », de proposer de nouvelles études avec des techniques analytiques et des échantillonnages judicieusement choisis en fonction des connaissances actuelles.

ANNEXES

Annexe n°1 : Structures chimiques des aminoalkylindoles en fonction de leur sous-groupe (UNODC, 2011 (15)**)**

(a) Naphthoylindoles

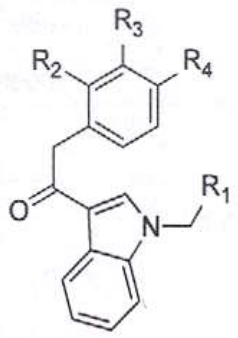


R_1=R_3=H
AM-1220 (R_2=1-methylpiperidin-2-yl)
AM-2201 (R_2=4-fluorobutyl)
AM-2232 (R_2=butanenitrile)
JWH-018 (R_2=butyl)
JWH-019 (R_2=pentyl)
JWH-020 (R_2=hexyl)
JWH-022 (R_2=3-buten-1-yl)
JWH-072 (R_2=ethyl)
JWH-073 (R_2=propyl)
JWH-200 (R_2=4-morpholinylmethyl)

R_2=butyl, R_3=H
JWH-081 (R_1=methoxy)
JWH-122 (R_1=methyl)
JWH-210 (R_1=ethyl)
JWH-387 (R_1=Br)
JWH-398 (R_1=Cl)
JWH-412 (R_1=F)

JWH-007 (R_1=H, R_2=butyl, R_3=methyl)
JWH-015 (R_1=H, R_2=ethyl, R_3=methyl)
JWH-073 4-methylnaphthyl (R_1=methyl, R_2=propyl, R_3=H)
MAM-2201 (R_1=methyl, R_2=4-fluorobutyl, R_3=H)

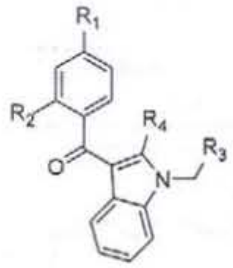
(b) Phenylacetylindoles



R_3=R_4=H
Cannabipiperidiethanone (R_1=1-methylpiperidin-2-yl, R_2=methoxy)
JWH-203 (R_1=butyl, R_2=Cl)
JWH-250 (R_1=butyl, R_2=methoxy)
JWH-251 (R_1=butyl, R_2=methyl)
RCS-8 (R_1=cyclohexylmethyl, R_2=methoxy)

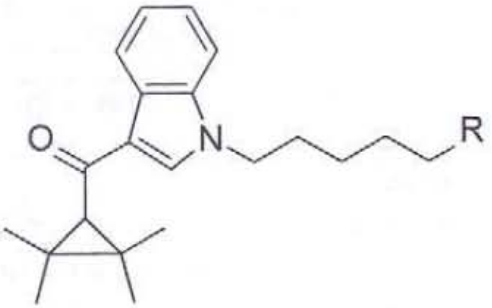
R_1=butyl, R_2=H
JWH-201 (R_3=H, R_4=methoxy)
JWH-302 (R_3=methoxy, R_4=H)

(c) Benzoylindoles



AM-694 (R_1=R_4=H, R_2=I, R_3=4-fluorobutyl)
AM-694 chloro derivative (R_1=R_4=H, R_2=I, R_3=4-chlorobutyl)
AM-2233 (R_1=R_4=H, R_2=I, R_3=1-methylpiperidin-2-yl)
RCS-4 (R_1=methoxy, R_2=R_4=H, R_3=butyl)
RCS-4-ortho isomer (R_1=R_4=H, R_2=methoxy, R_3=butyl)
RCS-4 butyl homolog (R_1=methoxy, R_2=R_4=H, R_3=propyl)
WIN 48,098 (R_1=methoxy, R_2=H, R_3=4-morpholinylmethyl, R_4=methyl)

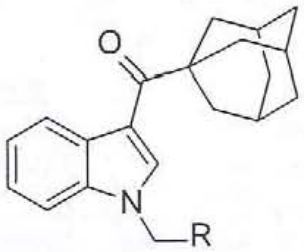
(e) Cyclopropoylindoles



R=H
UR-144

R=F
XLR-11

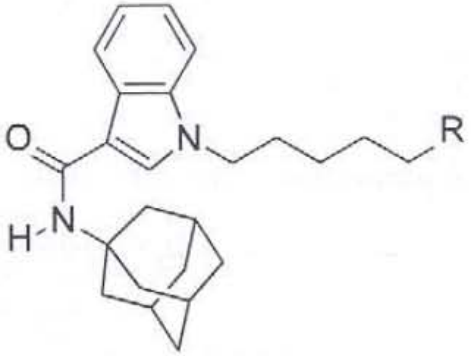
(f) Adamantoylindoles



R=butyl
AB-001

R=1-methylpiperidin-2-yl
AM-1248

(g) Indole carboxamides



R=H
APICA

R=F
STS-135

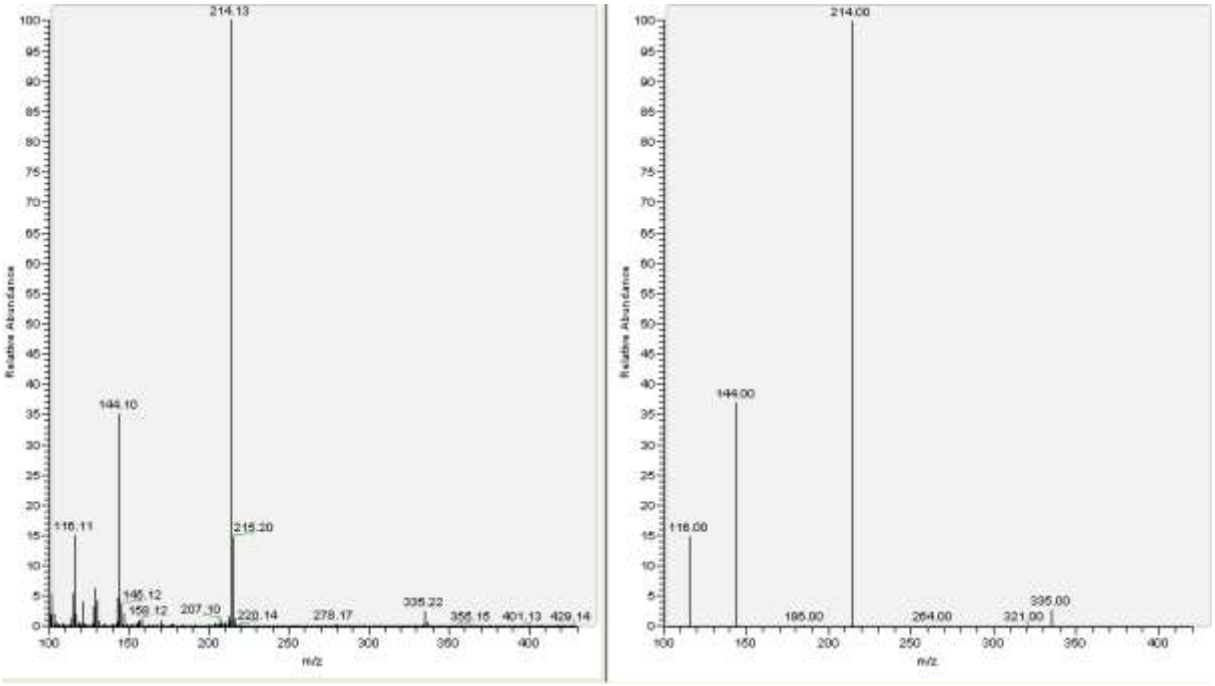
Annexe n°2 : Résumé du statut législatif des cannabinoïdes dans différents pays (UNODC, 2011 (15)**)**

Country	Enforcement Date	Controlled substances / Remarks
Austria	January 2009	'Spice' products classified as medicinal preparations
	October 2010	CP-47,497-C6/C7/C8/C9, JWH-018, HU-210, JWH-015, JWH-019, JWH-073, JWH-081, JWH-200, JWH-250
Denmark	March 2010	CP-47,497-C6/C7/C8/C9, JWH-018, JWH-073, HU-210, JWH-250, JWH-398, JWH-200
Estonia	July 2009	CP-47,497-C6/C7/C8/C9, JWH-018, JWH-073, HU-210
Finland	Not controlled	JWH-018, JWH-073, JWH-200, HU-210, CP-47,497-C6/C7/C8/C9 classified as medicinal preparations
France	February 2009	JWH-018, CP-47,497-C6/C7/C8/C9, HU-210
Germany	January 2009	emergency regulation, JWH-018, CP-47,497-C6/C7/C8/C9
	January 2010	permanent control and addition of JWH-019, JWH-073
	Planned for 2011	JWH-015, JWH-081, JWH-200, JWH-250, JWH-122
Ireland	May 2010	generic approach
Italy	June 2010	JWH-018, JWH-073
Japan	November 2009	controlled as 'designated substances' under the Pharmaceutical Affairs Law: CP-47,497-C7/C8, JWH-018, HU-210
	September 2010	JWH-073, JWH-250
Latvia	November 2009	JWH-018, JWH-073, CP-47,497-C6/C7/C8/C9, HU-210, Leonotis Leonurus and Nymphacea caerulea
Lithuania	May 2009	CP-47,497-C6/C7/C8/C9, JWH-018, JWH-073, HU-210, JWH-250, JWH-398, JWH-200

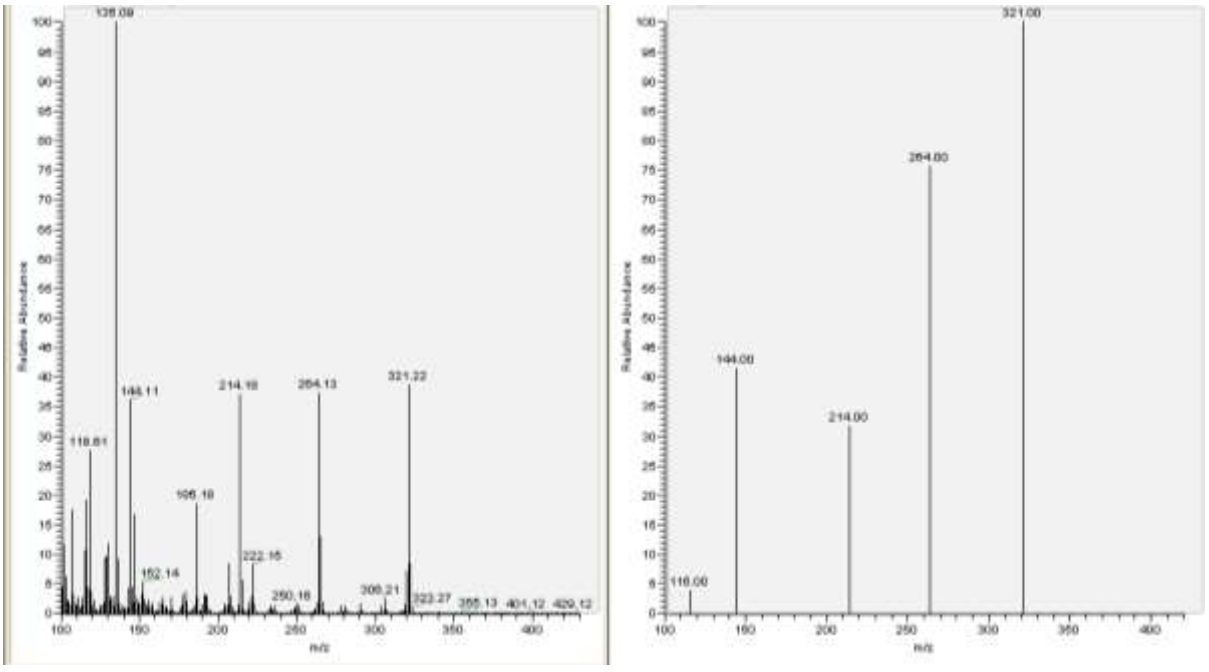
Country	Enforcement Date	Controlled substances / Remarks
Luxembourg	May 2009	generic approach
New Zealand	Not controlled	HU-210 may be regarded as an THC analog
Poland	May 2009	JWH-018, Leonotis Leonurus, Nymphacea caerulea
Romania	February 2010	CP-47,497-C6/C7/C8/C9, JWH-018, JWH-073, JWH-250
Russia	December 2009	CP-47,497-C6/C7/C8/C9, HU-210, JWH-007, JWH-018, JWH-073, JWH-081, JWH-098, JWH-122, JWH-149, JWH-166, JWH-175, JWH-176, JWH-184, JWH-185, JWH-192, JWH-193, JWH-194, JWH-195, JWH-196, JWH-197, JWH-198, JWH-199, JWH-200
South Korea	July 2009	JWH-018, HU-210, CP-47,497
Sweden	September 2009	CP-47,497-C6/ C7/C8/C9, JWH-018, JWH-073,HU-210
Switzerland	May 2009 December 2010	control of 'Spice herbal mixes' under food regulation (5 grams allowed for personal use) JWH-018, JWH-019, JWH-073, JWH-250, CP-47,497-C6/C7/C8/C9
United Kingdom	December 2009	generic approach
USA	Not controlled under federal law* November 2010	HU-210 is scheduled as an analog of THC DEA announcement to emergency schedule JWH-018, JWH-073, CP-47,497, CP-47,497-C8 and JWH-200

Annexe n° 3 : Spectres (m/z) en mode FullScan (à gauche) et en mode SIM (à droite) des cannabinoides de synthèse obtenus à partir d'échantillons surchargés à 100 ng/mL.

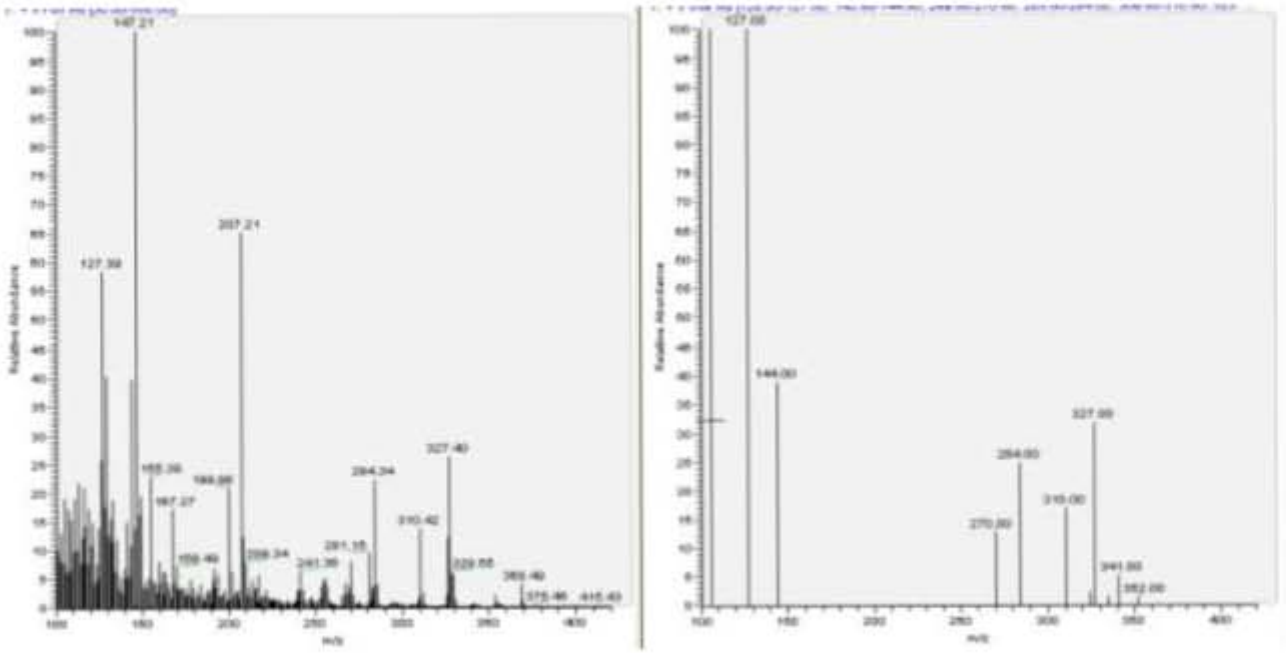
JWH250



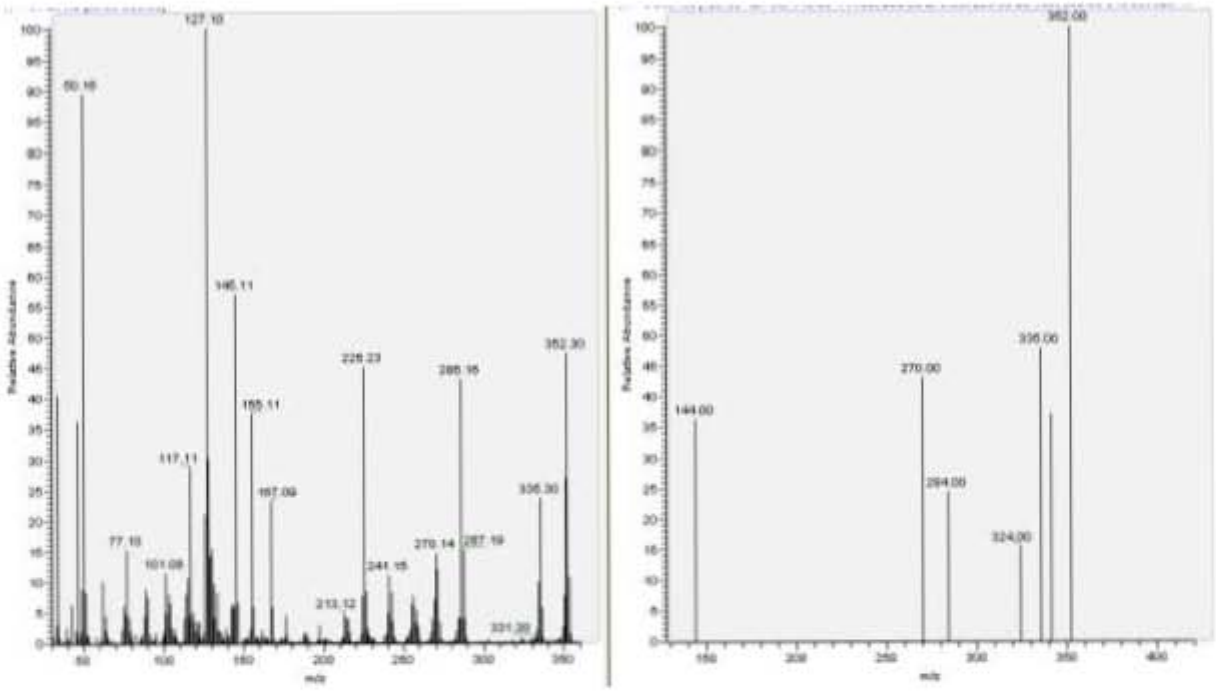
RCS-4



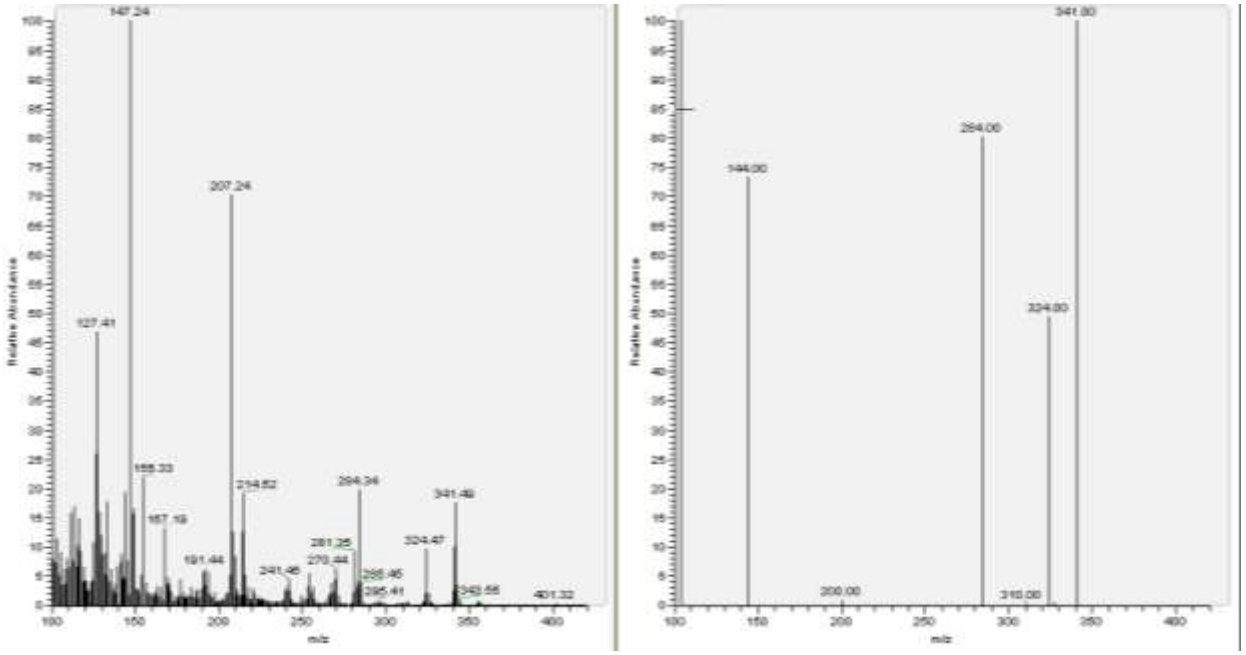
JWH073



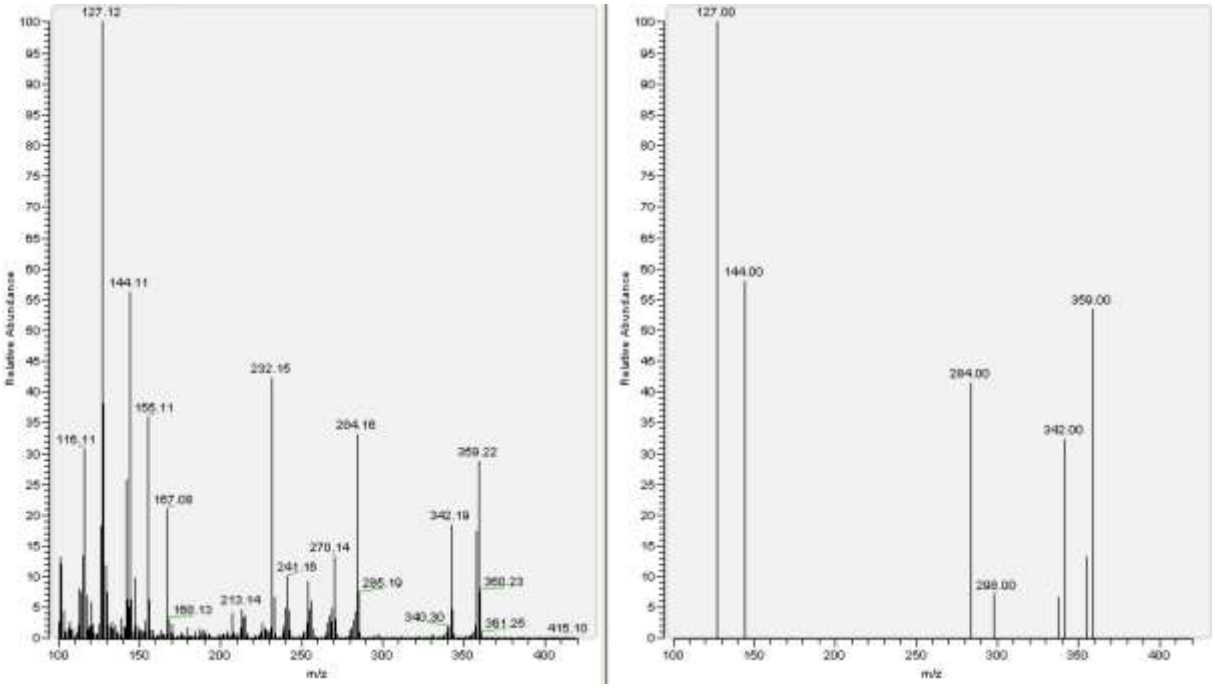
JWH018 D11



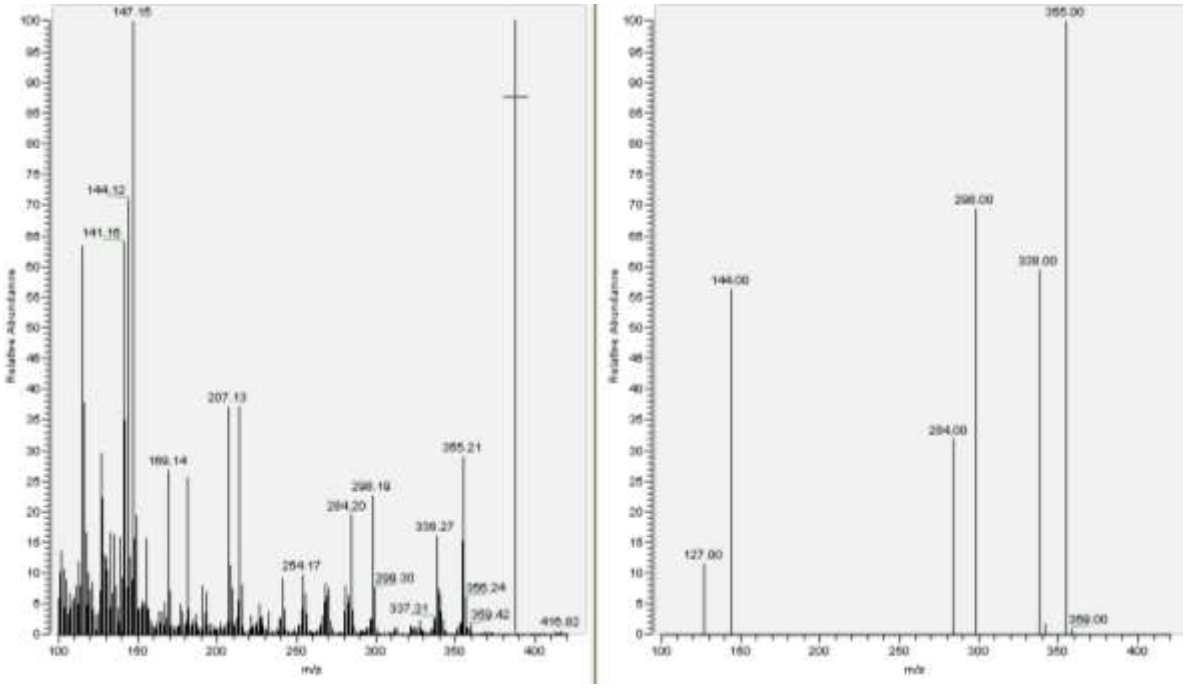
JWH018



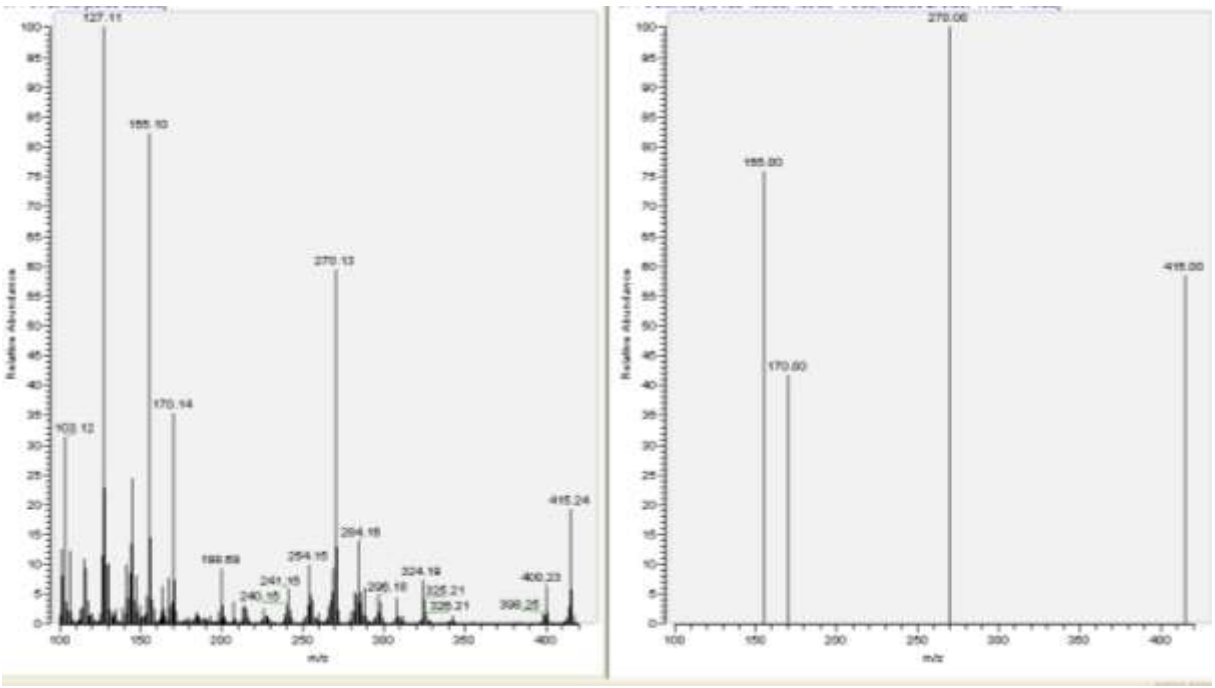
AM2201



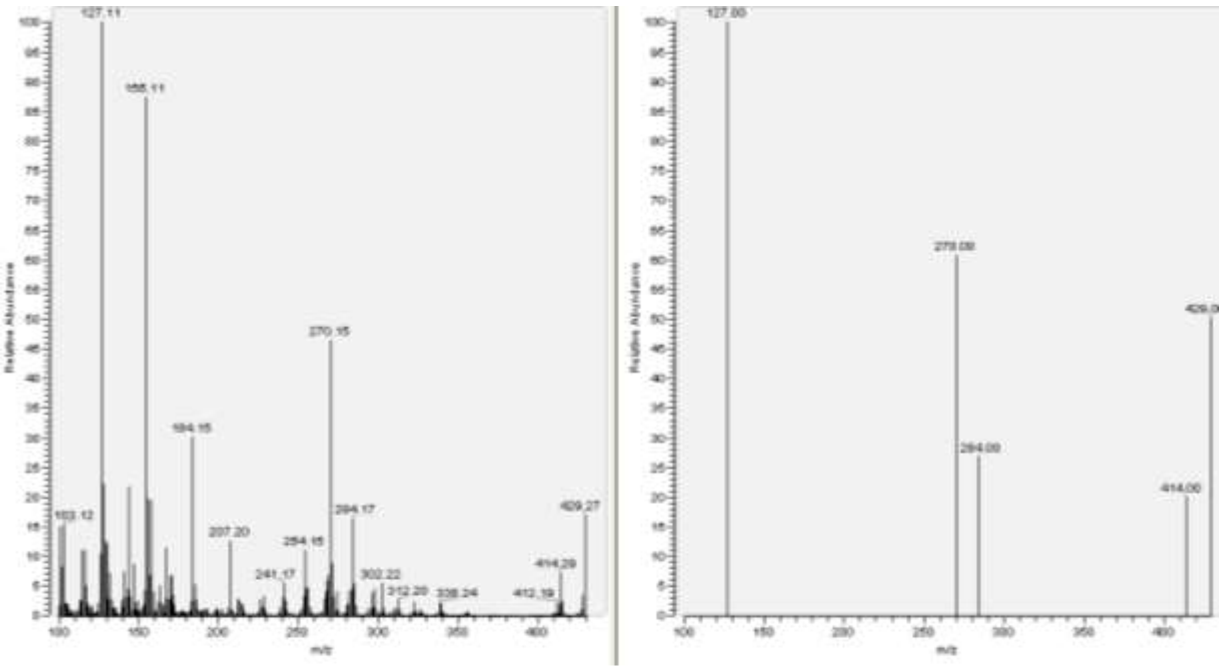
JWH122



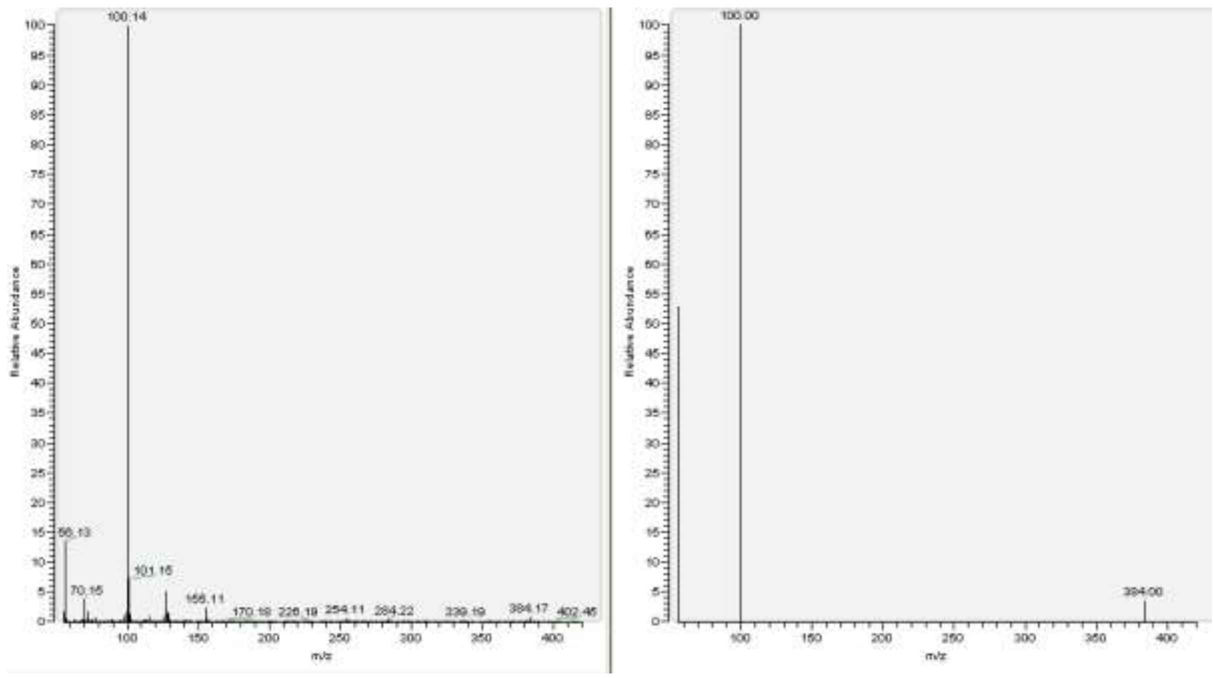
JWH073-4-N-(hydroxybutyl)



JWH018-5-N-(hydroxypentyl)


127.11
155.11
184.15
270.15
103.12
207.20
254.15
284.17
241.17
302.22
414.29
429.27
Relative Abundance
m/z
127.00
270.09
284.09
414.00
Relative Abundance
m/z

JWH200


100.14
56.13
70.15
101.16
155.11
170.18
226.18
254.11
284.22
339.19
384.17
402.46
Relative Abundance
m/z
100.00
384.00
Relative Abundance
m/z

BIBLIOGRAPHIE

1. Barratt MJ, Cakic V, Lenton S. Patterns of synthetic cannabinoid use in Australia. Drug Alcohol Rev. 2013;32(2):141-6.

2. EMCDDA | Understanding the « Spice » phenomenon [Internet]. [cité 16 août 2014]. Disponible sur: http://www.emcdda.europa.eu/publications/thematic-papers/spice

3. Lindsay L, White ML. Herbal Marijuana Alternatives and Bath Salts—« Barely Legal » Toxic Highs. Clin Pediatr Emerg Med. déc 2012;13(4):283-91.

4. Bousquet A, Spice : un nouvel enjeu de santé publique? Méd et armées. 2012;40(1):71-5.

5. Dunham SJB, Hooker PD, Hyde RM. Identification, extraction and quantification of the synthetic cannabinoid JWH-018 from commercially available herbal marijuana alternatives. Forensic Sci Int. 30 nov 2012;223(1–3):241-4.

6. Fattore L. Beyond THC: the new generation of cannabinoid designer drugs. Front Behav Neurosci. 2011;5:60.

7. EMCDDA | Perspectives on drugs: synthetic cannabinoids in Europe [Internet]. [cité 29 juin 2014]. Disponible sur: http://www.emcdda.europa.eu/topics/pods/synthetic-cannabinoids

8. Schmidt MM, Sharma A, Schifano F, Feinmann C. « Legal highs » on the net—Evaluation of UK-based Websites, products and product information. Forensic Sci Int. 20 mars 2011;206(1–3):92-7.

9. Uchiyama N, Kikura-Hanajiri R, Ogata J, Goda Y. Chemical analysis of synthetic cannabinoids as designer drugs in herbal products. Forensic Sci Int. 20 mai 2010;198(1–3):31-8.

10. Grigoryev A, Savchuk S, Melnik A, Moskaleva N, Dzhurko J, Ershov M, et al. Chromatography–mass spectrometry studies on the metabolism of synthetic cannabinoids JWH-018 and JWH-073, psychoactive components of smoking mixtures. J Chromatogr B. 1 mai 2011;879(15–16):1126-36.

11. Cottencin O, Rolland B, Karila L. New designer drugs (synthetic cannabinoids and synthetic cathinones): review of literature. Curr Pharm Des. 2014;20(25):4106-11.

12. Zuba D, Byrska B. Analysis of the prevalence and coexistence of synthetic cannabinoids in « herbal high » products in Poland. Forensic Toxicol. 1 janv 2013;31(1):21-30.

13. Schneir AB, Cullen J, Ly BT. « Spice » Girls: Synthetic Cannabinoid Intoxication. J Emerg Med. mars 2011;40(3):296-9.

14. Tendances 84 - Nouveaux produits de synthèse et Internet [Internet]. [cité 1 sept 2014]. Disponible sur: http://www.ofdt.fr/ofdtdev/live/publi/tend/tend84.html

15. Synthetic Cannabinoids in herbal products [Internet]. [cité 29 juin 2014]. Disponible sur: https://www.unodc.org/documents/scientific/Synthetic_Cannabinoids.pdf

16. Vandrey R, Dunn KE, Fry JA, Girling ER. A survey study to characterize use of Spice products (synthetic cannabinoids). Drug Alcohol Depend. 1 janv 2012;120(1–3):238-41.

17. Tendances n°84 - janvier 2013 - NPS et Internet [Internet]. [cité 20 juill 2014]. Disponible sur: http://www.ofdt.fr/BDD/publications/docs/eftxelt1.pdf

18. Camp NE. Synthetic Cannabinoids. J Emerg Nurs. mai 2011;37(3):292-3.

19. Fantegrossi WE, Moran JH, Radominska-Pandya A, Prather PL. Distinct pharmacology and metabolism of K2 synthetic cannabinoids compared to Δ9-THC: Mechanism underlying greater toxicity? Life Sci [Internet]. [cité 8 déc 2013]; Disponible sur: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0024320513005523

20. OFDT - Nouveaux produits de synthèse - recherches thématiques [Internet]. [cité 30 août 2014]. Disponible sur: http://www.ofdt.fr/ofdtdev/live/produits/nds/offre-1.html#aff_rech

21. Winstock AR, Barratt MJ. The 12-month prevalence and nature of adverse experiences resulting in emergency medical presentations associated with the use of synthetic cannabinoid products. Hum Psychopharmacol Clin Exp. 2013;28(4):390-3.

22. Synthetic marijuana dat_ juin 2014_AAPCC [Internet]. [cité 17 août 2014]. Disponible sur: https://aapcc.s3.amazonaws.com/files/library/Syn_Marijuana_Web_Data_through_7.2014.pdf

23. Lindigkeit R, Boehme A, Eiserloh I, Luebbecke M, Wiggermann M, Ernst L, et al. Spice: A never ending story? Forensic Sci Int. 30 oct 2009;191(1–3):58-63.

24. Kneisel S, Auwärter V. Analysis of 30 synthetic cannabinoids in serum by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry after liquid-liquid extraction. J Mass Spectrom. 2012;47(7):825-35.

25. Dresen S, Kneisel S, Weinmann W, Zimmermann R, Auwärter V. Development and validation of a liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the quantitation of synthetic cannabinoids of the aminoalkylindole type and methanandamide in serum and its application to forensic samples. J Mass Spectrom. 2011;46(2):163-71.

26. psychonautproject [Internet]. [cité 14 juill 2014]. Disponible sur: http://www.psychonautproject.eu/documents/reports/Spice.pdf

27. Schifano F, Corazza O, Deluca P, Davey Z, Di Furia L, Farre' M, et al. Psychoactive drug or mystical incense? Overview of the online available information on Spice products. Int J Cult Ment Health. 2009;2(2):137-44.

28. Hu X, Primack BA, Barnett TE, Cook RL. College students and use of K2: an emerging drug of abuse in young persons. Subst Abuse Treat Prev Policy. 11 juill 2011;6:16.

29. Gunderson EW, Haughey HM, Ait-Daoud N, Joshi AS, Hart CL. « Spice » and « K2 » Herbal Highs: A Case Series and Systematic Review of the Clinical Effects and Biopsychosocial Implications of Synthetic Cannabinoid Use in Humans. Am J Addict. 7 août 2012;21(4):320-6.

30. Winstock AR, Barratt MJ. Synthetic cannabis: A comparison of patterns of use and effect profile with natural cannabis in a large global sample. Drug Alcohol Depend. 1 juill 2013;131(1–2):106-11.

31. Tuv SS, Krabseth H, Karinen R, Olsen KM, Øiestad EL, Vindenes V. Prevalence of synthetic cannabinoids in blood samples from Norwegian drivers suspected of impaired driving during a seven weeks period. Accid Anal Prev. janv 2014;62:26-31.

32. Seely KA, Lapoint J, Moran JH, Fattore L. Spice drugs are more than harmless herbal blends: A review of the pharmacology and toxicology of synthetic cannabinoids. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 3 déc 2012;39(2):234-43.

33. Brewer TL, Collins M. A review of clinical manifestations in adolescent and young adults after use of synthetic cannabinoids. J Spec Pediatr Nurs. avril 2014;19 (2):119-126.

34. The DAWN Report: Drug-Related Emergency Department Visits Involving Synthetic Cannabinoids - SR105-synthetic-marijuana.pdf [Internet]. [cité 2 août 2014]. Disponible sur: http://www.samhsa.gov/data/2k12/DAWN105/SR105-synthetic-marijuana.pdf

35. National survey results on drug use 1975-2012 [Internet]. [cité 2 juill 2014]. Disponible sur: http://www.monitoringthefuture.org/pubs/monographs/mtf-overview2012.pdf

36. Drug Misuse Declared: Findings from the 2010/11 British Crime Survey England and Wales - hosb1211.pdf [Internet]. [cité 25 août 2014]. Disponible sur: https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/116333/hosb1211.pdf

37. Containing Cannabinoids : use and motivation for use agains the backdrop of changing laws [Internet]. [cité 2 juill 2014]. Disponible sur: http://drogenbeauftragte.de/fileadmin/dateien-dba/DrogenundSucht/Illegale_Drogen/Heroin_andere/Downloads/Kurzbericht_Spice_Smoke_und_Co_engl_100531_Drogenbeauftragte.pdf

38. Online_survey_on_the_topic_of__legal_highs [Internet]. [cité 2 juill 2014]. Disponible sur: https://www.bundesgesundheitsministerium.de/fileadmin/dateien/Publikationen/Kurzberichte/Online_survey_on_the_topic_of__legal_highs_.pdf

39. WADA-prohibited-list-2014-EN [Internet]. [cité 3 juill 2014]. Disponible sur: http://www.wada-ama.org/Documents/World_Anti-Doping_Program/WADP-Prohibited-list/2014/WADA-prohibited-list-2014-EN.pdf

40. Heltsley R, Shelby MK, Crouch DJ, Black DL, Robert TA, Marshall L, et al. Prevalence of synthetic cannabinoids in U.S. athletes: initial findings. J Anal Toxicol. oct 2012;36(8):588-93.

41. Möller I, Wintermeyer A, Bender K, Jübner M, Thomas A, Krug O, et al. Screening for the synthetic cannabinoid JWH-018 and its major metabolites in human doping controls. Drug Test Anal. 1 sept 2011;3(9):609-20.

42. Berry-Cabán CS, Ee J, Ingram V, Berry CE, Kim EH. Synthetic Cannabinoid Overdose in a 20-Year-Old Male US Soldier. Subst Abuse. 2013;34(1):70-2.

43. Bebarta VS, Ramirez S, Varney SM. Spice: a new « legal » herbal mixture abused by young active duty military personnel. Subst Abuse Off Publ Assoc Med Educ Res Subst Abuse. 2012;33(2):191-4.

44. Walker D, Neighbors C, Walton T, Pierce A, Mbilinyi L, Kaysen D, et al. Spicing up the military: Use and effects of synthetic cannabis in substance abusing army personnel. Addict Behav. juill 2014;39(7):1139-44.

45. DoD Instruction 1010.01, September 13, 2012 - 101001p.pdf [Internet]. [cité 5 juill 2014]. Disponible sur: http://www.dtic.mil/whs/directives/corres/pdf/101001p.pdf

46. Musshoff F, Madea B, Kernbach-Wighton G, Bicker W, Kneisel S, Hutter M, et al. Driving under the influence of synthetic cannabinoids (« Spice »): a case series. Int J Legal Med. :1-6.

47. NPS_UNODC.pdf [Internet]. [cité 12 juill 2014]. Disponible sur: https://www.unodc.org/documents/drugs//printmaterials2013/NPS_leaflet/WDC13_NPS_leaflet_EN_PRINT.pdf

48. EMCDDA | EMCDDA–Europol 2009 Annual Report on the implementation of Council Decision 2005/387/JHA [Internet]. [cité 12 juill 2014]. Disponible sur: http://www.emcdda.europa.eu/html.cfm/index132910EN.html

49. Pertwee RG, Howlett AC, Abood ME, Alexander SPH, Di Marzo V, Elphick MR, et al. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIX. Cannabinoid Receptors and Their Ligands: Beyond CB1 and CB2. Pharmacol Rev. déc 2010;62(4):588-631.

50. Ginsburg BC, McMahon LR, Sanchez JJ, Javors MA. Purity of synthetic cannabinoids sold online for recreational use. J Anal Toxicol. févr 2012;36(1):66-8.

51. Home Office Circular 21/2009_gov.uk.pdf [Internet]. [cité 13 juill 2014]. Disponible sur: https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/100526/21-2009.pdf

52. Gurney SMR, Scott KS, Kacinko SL, Presley BC, Logan BK. Pharmacology, toxicology, and adverse effects of synthetic cannabinoid drugs. Forensic Sci Rev. 2014;26(1):53-78.

53. Circular 004/2013: Control of synthetic cannabinoids - Publications - GOV.UK [Internet]. [cité 13 juill 2014]. Disponible sur: https://www.gov.uk/government/publications/circular-0042013-control-of-synthetic-cannabinoids

54. Arrêté du 22 février 1990 - Article Annexe IV.

55. Arrêté du 24 février 2009 modifiant l'arrêté du 22 février 1990 fixant la liste des substances classées comme stupéfiants.

56. Arrêté du 27 juillet 2012 modifiant les arrêtés du 22 février 1990 fixant la liste des substances classées comme stupéfiants et la liste des substances psychotropes.

57. De Jager AD, Warner JV, Henman M, Ferguson W, Hall A. LC–MS/MS method for the quantitation of metabolites of eight commonly-used synthetic cannabinoids in human urine – An Australian perspective. J Chromatogr B. 15 mai 2012;897:22-31.

58. Law and penalties | Drug Foundation [Internet]. [cité 30 août 2014]. Disponible sur: https://www.drugfoundation.org.nz/synthetic-cannabinoids/law-and-penalities

59. The challenge of NPS_UNODC_2013_SMART.pdf [Internet]. [cité 12 juill 2014]. Disponible sur: http://www.unodc.org/documents/scientific/NPS_2013_SMART.pdf

60. EMCDDA | European Drug Report 2013: Trends and developments [Internet]. [cité 14 juill 2014]. Disponible sur: http://www.emcdda.europa.eu/publications/edr/trends-developments/2013

61. UNODC. Recommended methods for the identification and analysis of synthetic cannabinoid receptor agonists in seized materials. 2013.

62. Brents LK, Reichard EE, Zimmerman SM, Moran JH, Fantegrossi WE, Prather PL. Phase I Hydroxylated Metabolites of the K2 Synthetic Cannabinoid JWH-018 Retain In Vitro and In Vivo Cannabinoid 1 Receptor Affinity and Activity. PLoS ONE [Internet]. 6 juill 2011 [cité 8 déc 2013];6(7). Disponible sur: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3130777/

63. Sobolevsky T, Prasolov I, Rodchenkov G. Detection of JWH-018 metabolites in smoking mixture post-administration urine. Forensic Sci Int. 15 juill 2010;200(1–3):141-7.

64. Chimalakonda KC, Bratton SM, Le V-H, Yiew KH, Dineva A, Moran CL, et al. Conjugation of synthetic cannabinoids JWH-018 and JWH-073, metabolites by human UDP-glucuronosyltransferases. Drug Metab Dispos Biol Fate Chem. oct 2011;39(10):1967-76.

65. ElSohly MA, Gul W, Elsohly KM, Murphy TP, Madgula VLM, Khan SI. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of urine specimens for K2 (JWH-018) metabolites. J Anal Toxicol. sept 2011;35(7):487-95.

66. Hutter M, Broecker S, Kneisel S, Auwärter V. Identification of the major urinary metabolites in man of seven synthetic cannabinoids of the aminoalkylindole type present as adulterants in « herbal mixtures » using LC-MS/MS techniques. J Mass Spectrom JMS. janv 2012;47(1):54-65.

67. Emerson B, Durham B, Gidden J, Lay Jr. JO. Gas chromatography–mass spectrometry of JWH-018 metabolites in urine samples with direct comparison to analytical standards. Forensic Sci Int. 10 juin 2013;229(1–3):1-6.

68. De Brabanter N, Esposito S, Tudela E, Lootens L, Meuleman P, Leroux-Roels G, et al. In vivo and in vitro metabolism of the synthetic cannabinoid JWH-200. Rapid Commun Mass Spectrom. 2013;27(18):2115-26.

69. Wintermeyer A, Möller I, Thevis M, Jübner M, Beike J, Rothschild MA, et al. In vitro phase I metabolism of the synthetic cannabimimetic JWH-018. Anal Bioanal Chem. nov 2010;398(5):2141-53.

70. Strano-Rossi S, Anzillotti L, Dragoni S, Pellegrino RM, Goracci L, Pascali VL, et al. Metabolism of JWH-015, JWH-098, JWH-251, and JWH-307 in silico and in vitro: a pilot study for the detection of unknown synthetic cannabinoids metabolites. Anal Bioanal Chem. 1 juin 2014;406(15):3621-36.

71. Kim U, Jin MJ, Lee J, Han SB, In MK, Yoo HH. Tentative identification of phase I metabolites of HU-210, a classical synthetic cannabinoid, by LC–MS/MS. J Pharm Biomed Anal. mai 2012;64–65:26-34.

72. Moran CL, Le V-H, Chimalakonda KC, Smedley AL, Lackey FD, Owen SN, et al. Quantitative measurement of JWH-018 and JWH-073 metabolites excreted in human urine. Anal Chem. 1 juin 2011;83(11):4228-36.

73. Rajasekaran M, Brents LK, Franks LN, Moran JH, Prather PL. Human metabolites of synthetic cannabinoids JWH-018 and JWH-073 bind with high affinity and act as potent agonists at cannabinoid type-2 receptors. Toxicol Appl Pharmacol. 1 juin 2013;269(2):100-8.

74. Brents LK, Gallus-Zawada A, Radominska-Pandya A, Vasiljevik T, Prisinzano TE, Fantegrossi WE, et al. Monohydroxylated metabolites of the K2 synthetic cannabinoid JWH-073 retain intermediate to high cannabinoid 1 receptor (CB1R) affinity and exhibit neutral antagonist to partial agonist activity. Biochem Pharmacol. 1 avr 2012;83(7):952-61.

75. Scheidweiler KB, Huestis MA. Simultaneous quantification of 20 synthetic cannabinoids and 21 metabolites, and semi-quantification of 12 alkyl hydroxy metabolites in human urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. J Chromatogr A. 31 janv 2014;1327:105-17.

76. Howlett AC, Barth F, Bonner TI, Cabral G, Casellas P, Devane WA, et al. International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of Cannabinoid Receptors. Pharmacol Rev. 6 janv 2002;54(2):161-202.

77. Herkenham M, Lynn AB, Little MD, Johnson MR, Melvin LS, de Costa BR, et al. Cannabinoid receptor localization in brain. Proc Natl Acad Sci U S A. mars 1990;87(5):1932-6.

78. Howlett AC, Shim J-Y. Cannabinoid Receptors and Signal Transduction [Internet]. 2000 [cité 3 août 2014]. Disponible sur: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6154/

79. Bouaboula M, Casellas P. Récepteurs cannabinoïdes. Douleur Analgésie. 1 déc 2001;14(4):207-11.

80. Herkenham M, Lynn AB, Johnson MR, Melvin LS, de Costa BR, Rice KC. Characterization and localization of cannabinoid receptors in rat brain: a quantitative in vitro autoradiographic study. J Neurosci Off J Soc Neurosci. févr 1991;11(2):563-83.

81. Egertová M, Elphick MR. Localisation of cannabinoid receptors in the rat brain using antibodies to the intracellular C-terminal tail of CB. J Comp Neurol. 26 juin 2000;422(2):159-71.

82. Griffin G, Atkinson PJ, Showalter VM, Martin BR, Abood ME. Evaluation of Cannabinoid Receptor Agonists and Antagonists Using the Guanosine-5′-O-(3-[35S]thio)-triphosphate Binding Assay in Rat Cerebellar Membranes. J Pharmacol Exp Ther. 5 janv 1998;285(2):553-60.

83. Wiebelhaus JM, Poklis JL, Poklis A, Vann RE, Lichtman AH, Wise LE. Inhalation exposure to smoke from synthetic « marijuana » produces potent cannabimimetic effects in mice. Drug Alcohol Depend. 1 déc 2012;126(3):316-23.

84. Wiley JL, Marusich JA, Huffman JW. Moving around the molecule: Relationship between chemical structure and in vivo activity of synthetic cannabinoids. Life Sci [Internet]. [cité 8 févr 2014]; Disponible sur: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0024320513005341

85. Teske J, Weller J-P, Fieguth A, Rothämel T, Schulz Y, Tröger HD. Sensitive and rapid quantification of the cannabinoid receptor agonist naphthalen-1-yl-(1-pentylindol-3-yl)methanone (JWH-018) in human serum by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. J Chromatogr B. 1 oct 2010;878(27):2659-63.

86. Auwärter V, Dresen S, Weinmann W, Müller M, Pütz M, Ferreirós N. « Spice » and other herbal blends: harmless incense or cannabinoid designer drugs? J Mass Spectrom JMS. mai 2009;44(5):832-7.

87. Cohen J, Morrison S, Greenberg J, Saidinejad M. Clinical presentation of intoxication due to synthetic cannabinoids. Pediatrics. avr 2012;129(4):e1064-7.

88. Hermanns-Clausen M, Kneisel S, Hutter M, Szabo B, Auwärter V. Acute intoxication by synthetic cannabinoids – Four case reports. Drug Test Anal. 2013;5(9-10):790-4.

89. Heath TS, Burroughs Z, Thompson AJ, Tecklenburg FW. Acute Intoxication Caused by a Synthetic Cannabinoid in Two Adolescents. J Pediatr Pharmacol Ther JPPT. 2012;17(2):177-81.

90. Hermanns-Clausen M, Kneisel S, Szabo B, Auwärter V. Acute toxicity due to the confirmed consumption of synthetic cannabinoids: clinical and laboratory findings. Addiction. 2013;108(3):534-44.

91. Mir A, Obafemi A, Young A, Kane C. Myocardial Infarction Associated With Use of the Synthetic Cannabinoid K2. Pediatrics. 12 janv 2011;128(6):e1622-7.

92. McQuade D, Hudson S, Dargan PI, Wood DM. First European case of convulsions related to analytically confirmed use of the synthetic cannabinoid receptor agonist AM-2201. Eur J Clin Pharmacol. 1 mars 2013;69(3):373-6.

93. Schneir AB, Baumbacher T. Convulsions Associated with the Use of a Synthetic Cannabinoid Product. J Med Toxicol. mars 2012;8(1):62-4.

94. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Acute kidney injury associated with synthetic cannabinoid use--multiple states, 2012. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 15 févr 2013;62(6):93-8.

95. Papanti D, Schifano F, Botteon G, Bertossi F, Mannix J, Vidoni D, et al. « Spiceophrenia »: a systematic overview of « spice »-related psychopathological issues and a case report. Hum Psychopharmacol. juill 2013;28(4):379-89.

96. Forrester MB, Kleinschmidt K, Schwarz E, Young A. Synthetic Cannabinoid Exposures Reported to Texas Poison Centers. J Addict Dis. 2011;30(4):351-8.

97. Hoyte CO, Jacob J, Monte AA, Al-Jumaan M, Bronstein AC, Heard KJ. A Characterization of Synthetic Cannabinoid Exposures Reported to the National Poison Data System in 2010. Ann Emerg Med. oct 2012;60(4):435-8.

98. Hurst D, Loeffler G, McLay R. Psychosis Associated With Synthetic Cannabinoid Agonists: A Case Series. Am J Psychiatry. 1 oct 2011;168(10):1119-1119.

99. Every-Palmer S. Synthetic cannabinoid JWH-018 and psychosis: an explorative study. Drug Alcohol Depend. 1 sept 2011;117(2-3):152-7.

100. Müller H, Sperling W, Köhrmann M, Huttner HB, Kornhuber J, Maler J-M. The synthetic cannabinoid Spice as a trigger for an acute exacerbation of cannabis induced recurrent psychotic episodes. Schizophr Res. mai 2010;118(1–3):309-10.

101. Zimmermann US, Winkelmann PR, Pilhatsch M, Nees JA, Spanagel R, Schulz K. Withdrawal Phenomena and Dependence Syndrome After the Consumption of « Spice Gold ». Dtsch Ärztebl Int. juill 2009;106(27):464-7.

102. Beuck S, Möller I, Thomas A, Klose A, Schlörer N, Schänzer W, et al. Structure characterisation of urinary metabolites of the cannabimimetic JWH-018 using chemically synthesised reference material for the support of LC-MS/MS-based drug testing. Anal Bioanal Chem. août 2011;401(2):493-505.

103. Jang M, Yang W, Choi H, Chang H, Lee S, Kim E, et al. Monitoring of urinary metabolites of JWH-018 and JWH-073 in legal cases. Forensic Sci Int. 10 sept 2013;231(1–3):13-9.

104. Kacinko SL, Xu A, Homan JW, McMullin MM, Warrington DM, Logan BK. Development and Validation of a Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Method for the Identification and Quantification of JWH-018, JWH-073, JWH-019, and JWH-250 in Human Whole Blood. J Anal Toxicol. 9 janv 2011;35(7):386-93.

105. Poklis JL, Amira D, Wise LE, Wiebelhaus JM, Haggerty BJ, Poklis A. Detection and disposition of JWH-018 and JWH-073 in mice after exposure to « Magic Gold » smoke. Forensic Sci Int. 10 juill 2012;220(1–3):91-6.

106. Samyn N, Laloup M, De Boeck G. Bioanalytical procedures for determination of drugs of abuse in oral fluid. Anal Bioanal Chem. août 2007;388(7):1437-53.

107. Coulter C, Garnier M, Moore C. Synthetic Cannabinoids in Oral Fluid. J Anal Toxicol. 9 janv 2011;35(7):424-30.

108. Gallardo E, Barroso M, Queiroz J. Current technologies and considerations for drug bioanalysis in oral fluid. Bioanalysis. 27 mars 2009;1(3):637-67.

109. Oiestad EL, Johansen U, Christophersen AS, Karinen R. Screening of synthetic cannabinoids in preserved oral fluid by UPLC-MS/MS. Bioanalysis. sept 2013;5(18):2257-68.

110. Amaratunga P, Thomas C, Lemberg BL, Lemberg D. Quantitative measurement of XLR11 and UR-144 in oral fluid by LC-MS-MS. J Anal Toxicol. août 2014;38(6):315-21.

111. Testing for 18 synthetic cannabinoids in hair using HPLC-MS/MS : method development and validation its application to authentic samples and preliminary results [Internet]. 19th meeting SoHT; 2014 juin; Bordeaux

112. Salomone A, Luciano C, Di Corcia D, Gerace E, Vincenti M. Hair analysis as a tool to evaluate the prevalence of synthetic cannabinoids in different populations of drug consumers. Drug Test Anal. févr 2014;6(1-2):126-34.

113. Salomone A, Gerace E, D'Urso F, Di Corcia D, Vincenti M. Simultaneous analysis of several synthetic cannabinoids, THC, CBD and CBN, in hair by ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. Method validation and application to real samples. J Mass Spectrom JMS. mai 2012;47(5):604-10.

114. Kronstrand R, Brinkhagen L, Birath-Karlsson C, Roman M, Josefsson M. LC-QTOF-MS as a superior strategy to immunoassay for the comprehensive analysis of synthetic cannabinoids in urine. Anal Bioanal Chem. juin 2014;406(15):3599-609.

115. Barnes AJ, Young S, Spinelli E, Martin TM, Klette KL, Huestis MA. Evaluation of a homogenous enzyme immunoassay for the detection of synthetic cannabinoids in urine. Forensic Sci Int. août 2014;241:27-34.

116. Feinberg M. Labo-Stat : Guide de validation des méthodes d'analyse. 2009.

117. Etat des lieux en 2013 de la consommation des benzodiazépines en France - Point d'Information - ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé [Internet]. [cité 26 juill 2014]. Disponible sur: http://ansm.sante.fr/S-informer/Points-d-information-Points-d-information/Etat-des-lieux-en-2013-de-la-consommation-des-benzodiazepines-en-France-Point-d-Information

118. Kintz P. Toxicologie et pharmacologie médicolégales. Elsevier Masson; 1998.

119. Tendances 76 - Les niveaux d'usage des drogues en France en 2010 [Internet]. [cité 1 sept 2014]. Disponible sur: http://www.ofdt.fr/ofdtdev/live/publi/tend/tend76.html

120. Baromètre santé 2010 [Internet]. [cité 1 sept 2014]. Disponible sur: http://www.inpes.sante.fr/Barometres/barometre-sante-2010/index.asp

121. Haute Autorité de Santé - Abus, dépendances et polyconsommations : stratégies de soins [Internet]. [cité 1 sept 2014]. Disponible sur: http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_615021/fr/abus-dependances-et-polyconsommations-strategies-de-soins

FACULTE DE PHARMACIE **UNIVERSITE DE LORRAINE**

DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : 25 Septembre 2014

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présenté par : Elise PAPE

Sujet : Mise au point et validation d'une technique de détection et de quantification de cannabinoïdes de synthèse dans les urines par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Application à un panel de patients suivis pour conduite addictive au CHU de Nancy

Jury :

Président : Pr JY JOUZEAU
Directeur : Dr N GAMBIER
Juges : Pr JC ALVAREZ
Pr F PAILLE
Dr V GIBAJA
Dr V LAPREVOTE

Vu,

Nancy, le 14 Août 2014

Le Président du Jury Directeur de Thèse

Vu et approuvé,

Nancy, le 1.09.2014

Doyen de la Faculté de Pharmacie
de l'Université de Lorraine,

Francine PAULUS

Vu,

Nancy, le - 9 SEP. 2014

Le Président de l'Université de Lorraine,

Pierre MUTZENHARDT

N° d'enregistrement : 6625

N° d'identification : 6625

TITRE

Mise au point et validation d'une technique de détection et de quantification de cannabinoïdes de synthèse dans les urines par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Application à un panel de patients suivis pour conduite addictive au CHU de Nancy

Thèse soutenue le 25 Septembre 2014

Par Elise PAPE

RESUME :

Synthétisés dans les années soixante dans un but thérapeutique, les cannabinoïdes de synthèse ont été détournés depuis quelques années de leur objectif initial pour un usage récréatif. En effet, ces molécules, agonistes complets ou partiels des récepteurs aux cannabinoïdes CB1 et CB2, produisent des effets similaires au delta-9-tétrahydrocannabinol (THC). Les cannabinoïdes de synthèse sont habituellement vendus mélangés à des herbes séchées sous le nom de « Spices » pour être fumés. Parmi les différentes molécules de cette famille, les premières détectées sur le marché appartenaient au groupe des aminoalkylindoles représenté par le JWH-018 et le JWH-073. De structure chimique différente du THC, les cannabinoïdes de synthèse ont la particularité de ne pas être détectés par les méthodes habituelles de dépistage des drogues, ce qui a fortement participé à l'essor de ces molécules. Consommés *a priori* préférentiellement par de jeunes adultes de sexe masculin, les « Spices » ont été responsables de nombreux effets toxiques et semblent être potentiellement plus dangereux que le cannabis du fait notamment d'une affinité bien plus grande que le THC pour les récepteurs cannabinoïdes. Si la forte progression des cannabinoïdes de synthèse peut faire redouter un problème de santé publique d'importance, cette inquiétude est renforcée par le manque de données et d'études relatives à ces produits et à leur consommation.
Pour faire face à l'émergence des cannabinoïdes de synthèse sur le marché des drogues, l'outil analytique revêt une importance capitale pour la quantification du phénomène. C'est dans ce contexte que nous avons mis au point et validé selon la norme ISO 15189 une méthode de dosage par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse de 9 cannabinoïdes de synthèse dans les urines. Nous avons par la suite utilisé notre méthode à l'analyse des urines d'une série de patients du CHU de Nancy suivis pour conduites addictives.

MOTS CLES : Cannabinoïdes de synthèse – JWH – Spice – Stupéfiants – CG-SM

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
Dr Gambier Nicolas	Service de Pharmacologie Clinique et de Toxicologie CHU de Nancy	Expérimentale ■ Bibliographique □ Thème 5

Thèmes 1 – Sciences fondamentales 2 – Hygiène/Environnement
3 – Médicament 4 – Alimentation – Nutrition
5 - Biologie 6 – Pratique professionnelle