

Scopolamine : un nouveau cas de soumission médicamenteuse sur des enfants

Scopolamine used as a drug facilitated sedation in children

Marie-Laure PUJOL, Marion VILLAIN, Guillaume SALQUÈBRE Emilie VALLET,
Vincent CIRIMELE, Pascal KINTZ

Laboratoire ChemTox, 3 rue Grüninger, 67400 Illkirch, France

*Auteur à qui adresser la correspondance : Dr Pascal KINTZ, Laboratoire ChemTox, 3 rue Grüninger,
67400 Illkirch, France - Tel : 03 90 400 540 - Fax : 03 90 400 541 - e-mail : pascal.kintz@wanadoo.fr

(Article reçu le 16 mai 2006 ; accepté après modifications le 31 juillet 2006)

RÉSUMÉ

Le but de notre étude était de doser la scopolamine, par UPLC-MS/MS dans les cheveux de 3 enfants d'une même fratrie dans le cadre d'une suspicion de soumission chimique par FEMINAX®. Ce médicament, commercialisé en Angleterre, dont les principes actifs sont le paracétamol, la codéine, la caféine et la scopolamine, est indiqué dans le traitement symptomatique des douleurs modérées à fortes (maux de tête, douleurs dentaires, crampes d'estomac, règles douloureuses).

Une mèche de cheveux a été prélevée sur chaque enfant, décontaminée par du dichlorométhane, puis segmentée. Les segments ont ensuite été broyés, puis incubés toute une nuit dans 1 ml de tampon phosphate pH 8,4 en présence d'un étalon interne (2,5 ng d'atropine-d.). Après extraction liquide/liquide par 5 ml d'un mélange dichlorométhane/isopropanol/ n-heptane (50/17/33, v/v/v), la phase organique a été évaporée à sec. Le résidu a été repris par 100 µl de méthanol et 10 µL sont injectés sur une colonne ACQUITY C18 (2,1 x 50 mm, 1,7µm) avec un gradient acétonitrile/tampon formate pH 3,0 (débit 0,3 ml/min). La détection est réalisée par un spectromètre de masse triple-quadrupôle Quattro Micro™ API de Waters® Micromass®, avec une interface de type électrospray en mode positif (ES+). Chaque composé est identifié par 2 transitions et quantifié

SUMMARY

The aim of our study was to develop a procedure to test scopolamine by UPLC-MS/MS in the hair of three children after allegation exposure to FEMINAX®.

This pharmaceutical, commercialized in England, contains active ingredients such as paracetamol, codeine, caffeine and scopolamine. This product is proposed in the treatment of headache, dental pain, related pain and menstrual cramps.

A strand of hair, collected from each child, was decontaminated using dichloromethane, and then segmented. Segments were pulverised and overnight incubated in 1ml pH 8.4 phosphate buffer in presence of 2.5 ng atropine-d., used as internal standard. After liquid-liquid extraction with 5 ml dichloromethane/isopropanol/n-heptane (50/17/33, v/v/v) the organic phase was evaporated to dryness. The residue was reconstituted in 100 µl of methanol, from which 10 µl were injected into a ACQUITY C18 column (2.1 x 50mm, 1.7µm) eluted with a gradient of acetonitrile and formate buffer delivered at a flow rate of 0.3 ml/min. A Waters® Micromass® Quattro Micro™ API triple-quadrupole mass spectrometer was used for analysis. Ionization was achieved using electrospray in ES+ mode.

Each compound was identified using 2 transitions et quan-

sur la transition majoritaire (m/z 304,06 à 138,06 pour la scopolamine et 293,12 à 127,06 pour l'étalon interne).

L'analyse segmentaire des cheveux à confirmer la présence de scopolamine dans chaque segment à des concentrations de 0,3 à 1,1 $\mu\text{g}/\text{mg}$.

De plus, des concentrations de codéine, variant de 89 $\mu\text{g}/\text{mg}$ à 544 $\mu\text{g}/\text{mg}$ ont aussi été mises en évidence dans tous les segments, ce qui confirme bien l'exposition chronique, depuis au moins 4 mois, de ces enfants au médicament FEMINAX®.

MOTS-CLÉS

Scopolamine, cheveux, UPLC-MS/MS, soumission médicale.

Introduction

La scopolamine est un alcaloïde présent chez les Solanacées, particulièrement abondant dans les *Datura* (*Datura innoxia*, *Datura stramonium*) et notamment dans les fleurs et les graines. Anger et coll. ont déterminé les concentrations en scopolamine du *D. innoxia* en Nouvelle Calédonie (1). Dans la fleur, la scopolamine était présente à une concentration de 0,34 $\mu\text{g}/\text{mg}$, le pistil à 0,38 $\mu\text{g}/\text{mg}$ et les graines à 0,22 $\mu\text{g}/\text{mg}$. Ces plantes renferment d'autres alcaloïdes comme l'atropine (2), mais dans la plante sèche, la teneur en scopolamine atteint 33% des alcaloïdes totaux.

De structure chimique très voisine de celle de l'atropine (Figure 1) la scopolamine est un antagoniste des récepteurs muscariniques. Chez l'homme, cet alcaloïde exerce une action parasympholytique responsable d'un syndrome atropinique ou anticholinergique (3) dont les effets sont détaillés dans le tableau I (4).

Tableau I : Signes et symptômes du syndrome anticholinergique.

Niveau périphérique :	Niveau central :
Mydriase	Confusion
Sècheresse des muqueuses	Agitation
Vasodilatation	Hallucinations visuelles et auditives
Hyperthermie	Myoclonie
Rétention urinaire, constipation	Tremblements et convulsions
Tachycardie	Dépression respiratoire

L'activité parasympholytique de la scopolamine est identique à celle de l'atropine, mais moins marquée surtout au niveau myocardique. Néanmoins, il semble que la scopolamine, grâce à son pont époxyde dans le noyau tropane (Figure 1-b), traverse mieux la barrière hémato-encéphalique et est ainsi plus psychoactive. Cliniquement, à faibles doses, la scopolamine est responsable de sédation et d'amnésie ce qui peut en faire une substance de la soumission chimique. De plus, la

titated with the major daughter ion (m/z 304.06 to 138.06 for scopolamine and 293.12 to 127.06 for the internal standard).

The analysis in each hair segment showed concentrations in scopolamine from 0.3 to 1.1 $\mu\text{g}/\text{mg}$. Furthermore, codeine was identified in each segment, which confirms the children's chronic exposure to FEMINAX®.

KEY-WORDS

scopolamine, Hair, UPLC-MS/MS, drug submission.

scopolamine est une molécule curarisante : elle induit des troubles locomoteurs en inhibant les centres de coordinations motrices ce qui la rend incapacitante (5). A plus fortes doses, le syndrome anticholinergique est majeur avec un tableau de délire atropinique marqué par des hallucinations auditives et visuelles (6).

D'un point de vue thérapeutique, la scopolamine est utilisée en solution injectable d'une part dans le traitement symptomatique des manifestations douloureuses aiguës liées aux troubles fonctionnels du tube digestif et des voies biliaires et des manifestation douloureuses aiguës en gynécologie et dans le traitement en soins palliatifs de l'occlusion intestinale (SCOBUREN®) et, d'autre part, dans le traitement en soins palliatifs des râles agoniques liés à l'encombrement des voies aériennes supé-

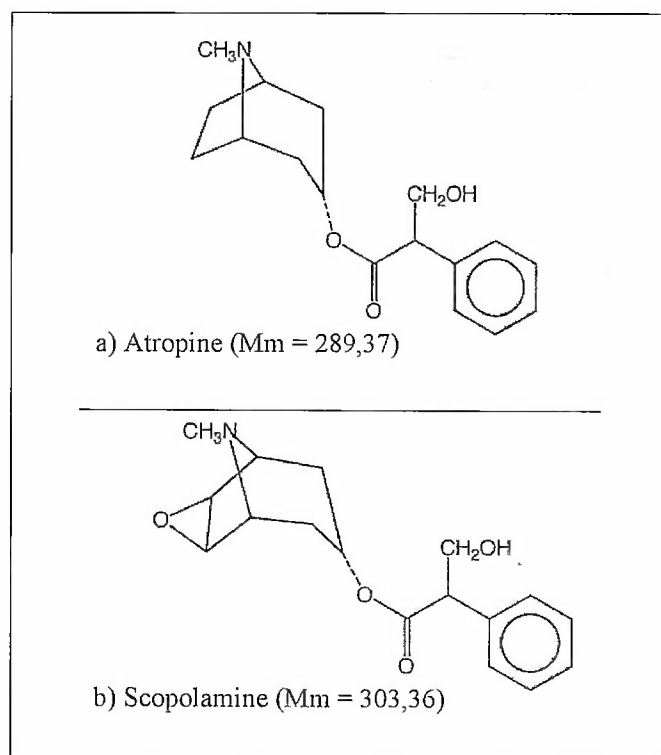


Figure 1 : Structure chimique de l'atropine (a) et de la scopolamine (b).

rieures par excès de sécrétions salivaires (SCOPOLAMINE COOPER®). Enfin, utilisée sous forme de dispositif transdermique, la scopolamine prévient les symptômes du mal des transports (SCOPODERM TTS®) (7).

Dans cet article, les auteurs rapportent le cas d'une soumission chimique médicamenteuse sur trois jeunes enfants anglais issus de la même fratrie. Le médicament incriminé est le FEMINAX® dont les principes actifs sont le paracétamol, la codéine, la caféine et la scopolamine à des concentrations de 500 mg, 8 mg, 50 mg et 100 µg respectivement pour un comprimé. Ce médicament, commercialisé uniquement en Angleterre, est utilisé dans le traitement des douleurs modérées à fortes (maux de tête, douleurs dentaires, crampes d'estomac, règles douloureuses) (8).

La soumission chimique consiste à administrer à l'insu d'une personne, une substance psychoactive à des fins criminelles visant à réduire sa volonté, son libre arbitre, son indépendance ou toute autre forme de pensées d'émancipation physique ou psychique de la victime (9). C'est dans ce cadre que la scopolamine a été testée comme « sérum de vérité » pendant la seconde guerre mondiale. Aujourd'hui, il semble bien que le *Datura* représente un produit addictif hallucinogène souvent plébiscité par les jeunes et également recherché par des individus peu scrupuleux souhaitant soumettre leurs victimes (1,10).

Une analyse segmentaire des cheveux des 3 victimes a été réalisée par UPLC-MS/MS (chromatographie liquide ultra performance couplé à la spectrométrie de masse en tandem) afin de doser la scopolamine.

En effet, la scopolamine ayant une demi-vie courte (3 à 8 heures) (3), le délai entre l'administration du médicament et les prélèvements biologiques (sang et urines) est souvent trop long pour permettre la détection de la scopolamine. Le cheveux apparaît donc comme une matrice alternative très intéressante.

Matériels et méthodes

Solvants et réactifs

Le dichlorométhane, l'isopropanol, le méthanol ainsi que le *n*-heptane utilisés sont de qualité HPLC et proviennent de Carlo Erba (Val de Reuil, France). L'acétonitrile, également de qualité HPLC a été acheté chez Merck (Darmstadt, Allemagne).

Pour la réalisation du tampon phosphate ajusté à pH 8,4, le di-ammonium-hydrogénophosphate - (NH₄)₂HPO₄ - et l'acide chlorhydrique 1N nous ont été fournis par Merck (Darmstadt, Allemagne). La solution d'atropine-d₃ a été achetée chez Sigma (Saint-Quentin Fallavier, France).

Extraction

Une mèche d'environ 80 cheveux (diamètre d'un crayon à papier) est prélevée sur chaque enfant en vertex postérieur et orientée au moyen d'une cordelette fixée à 1 cm de la racine.

Chaque échantillon est décontaminé par 2 bains successifs de dichlorométhane (5 ml, 2 min) puis segmenté (3 segments de 2 cm pour les 2 premiers cas, 2 segments de 2,5 cm pour le troisième). Les segments sont ensuite broyés, puis incubés toute une nuit à 40°C dans 1 ml de tampon phosphate ajusté à pH 8,4 en présence de 2,5 ng d'atropine-d₃ utilisé comme étalon interne. Après extraction liquide / liquide par 5 ml d'un mélange dichlorométhane / isopropanol / *n*-heptane (50/17/33, v/v/v), la phase organique est évaporée et le résidu sec repris par 100 µl de méthanol (11).

Analyse par UPLC-MS/MS

L'analyse de ces échantillons est réalisée par UPLC-MS/MS grâce au système ACQUITY UPLC de Waters. 10 µl sont injectés et l'élution est réalisée sur une colonne ACQUITY C18 (2,1 x 50 mm, 1,7 µm) avec un gradient acétonitrile / tampon formate pH 3,0 à un débit de 0,3 ml/min (tableau II).

Tableau II : Gradient de solvants utilisé pour l'analyse de la scopolamine.

Temps (min)	Débit (ml/min)	Acétonitrile (%)	Tampon formate (%)
0	0,3	5	95
1.30	0,3	80	20
2.50	0,3	80	20
3.00	0,3	5	95
4.80	0,3	5	95

La détection est réalisée par spectrométrie de masse en tandem (QUATTRO MICRO™ API, Waters®Micromass®), avec une interface de type électrospray en mode positif (ES+).

Les conditions suivantes se sont avérées optimales pour l'analyse de la scopolamine et de l'étalon interne : tension de capillaire, 3,0 kV ; température de la source, 150°C, température de désolvatation 420°C, débit de gaz de désolvatation 800L/h.

L'acquisition des données est réalisée en mode MRM (*Multiple Reaction Monitoring*). Les ions parents [M+H]⁺ sélectionnés et les ions fils détectés ainsi que les paramètres de tension optimaux pour l'analyse sont donnés dans le tableau III. La quantification est réalisée sur les transitions majoritaires (304,06 > 138,06 pour la scopolamine et 293,12 > 127,06 pour l'atropine-d₃).

Tableau III : Paramètres d'identification de la scopolamine.

Molécules	Ion parent (m/z)	Ion fils (m/z)	Temps de rétention (min)	Tension de cône (V)	Energie de collision (eV)
Scopolamine	304	138*	1,13	25	23
		157	1,13	25	17
Atropine-d ₃	293	127*	1,20	35	22

* Ions servant pour la quantification

Résultats

Validation de la méthode

La méthode UPLC-MS/MS utilisée dans cette étude est dérivée de notre procédure publiée (11). En particulier, l'analyse par UPLC-MS/MS a permis d'abaisser la limite de détection (LOD) à 0,08 pg/mg avec une limite de quantification (LOQ) à 0,2 pg/mg. La répétabilité (n=6) à 50 pg/mg était de 10% alors que le coefficient de corrélation de la droite d'étalonnage était de 0.998. La figure 2 représente le chromatogramme obtenu après extraction d'un échantillon de cheveux témoin négatif dopé à une concentration finale en scopolamine de 10 pg/mg.

Étude du cas

Les mèches de cheveux ont été prélevées environ 2 mois après la mise en évidence des faits. L'analyse des cheveux montre la présence de scopolamine en quantité faible dans chaque segment. Les résultats sont détaillés dans le tableau IV.

La figure 3 représente le chromatogramme obtenu lors de l'analyse du segment 2,0 à 4,0 cm du sujet 2 et la

figure 4 celui du segment 2,5-5,0 cm du sujet 3. Parallèlement, des concentrations de codéine, variant de 89 pg/mg à 544 pg/mg, ont aussi été mises en évidence les segments de cheveux de ces enfants.

Discussion - Conclusion

La présence de scopolamine et de codéine dans tous les segments analysés démontrent une exposition chronique de ces 3 jeunes enfants au FEMINAX®. Ces 2 molécules ont des propriétés sédatives à concentration thérapeutique. Par conséquent, compte tenu des résultats des ana-

Tableau IV : Résultats de l'analyse segmentaire des cheveux des 3 victimes.

	Longueur du segment (cm)	Masse du segment (mg)	Concentration en scopolamine (pg/mg)
Sujet 1	0-2	25	0,7
	2-4	19	0,4
	4-6	18	< 0,2
Sujet 2	0-2	31	0,6
	2-4	39	0,3
	4-6	38	< 0,2
Sujet 3	0-2,5	32	0,3
	2,5-5	28	1,1

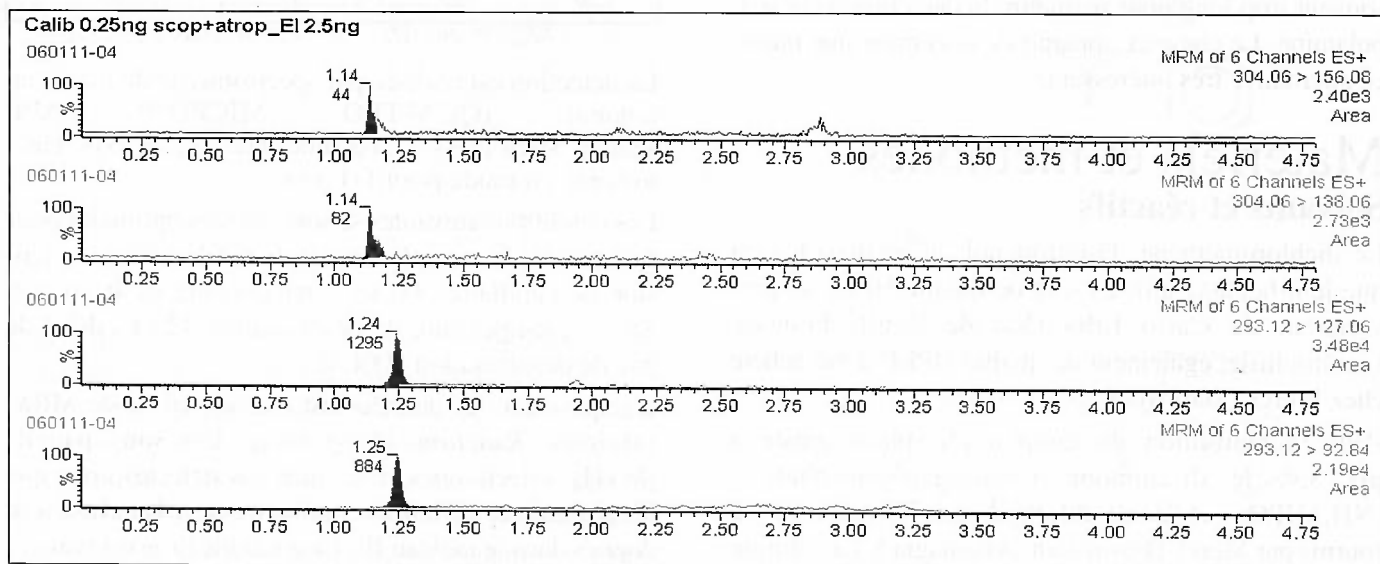


Figure 2 : Chromatogramme d'un échantillon de cheveux dopé à 10 pg/mg de scopolamine. : En haut: les 2 transitions de la scopolamine, en bas : les 2 transitions de l'atropine-d₃

lyses, il semblerait que le médicament FEMINAX® ait été administré dans le but de sédaté ces enfants.

L'analyse des cheveux apparaît ici comme un complément indispensable des analyses conventionnelles sur sang et urines car elle permet d'élargir la fenêtre de détection et de différencier, grâce à la segmentation, une exposition unique d'une exposition chronique.

Alors que la scopolamine devient un sujet préoccupant au

vu du nombre de cas, sans cesse croissant, d'intoxications volontaires, en France, aucun cas de soumission chimique par administration de médicament à base de scopolamine n'a été rapporté. Ceci s'explique en autre par le fait que la scopolamine utilisée par voix orale a été retirée du marché depuis une dizaine d'années. Néanmoins, à l'heure d'internet, il est facile de se procurer de tels produits, mais il faut espérer que ce cas ne reste qu'exceptionnel.

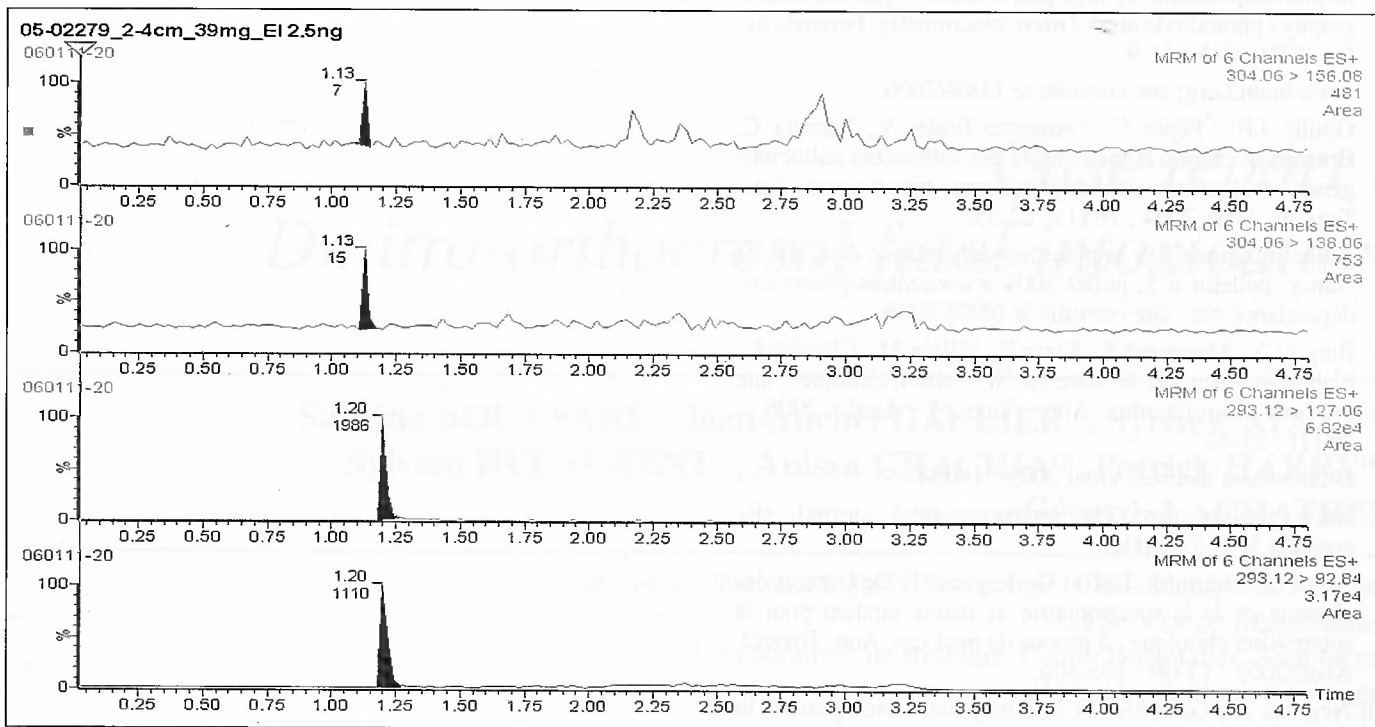


Figure 3 : Chromatogramme d'un échantillon de cheveux prélevé sur le sujet 2 (segment 2-4cm). La concentration en scopolamine est de 0,3 pg/mg. En haut : les 2 transitions de la scopolamine, en bas : les 2 transitions de l'atropine-d₃,

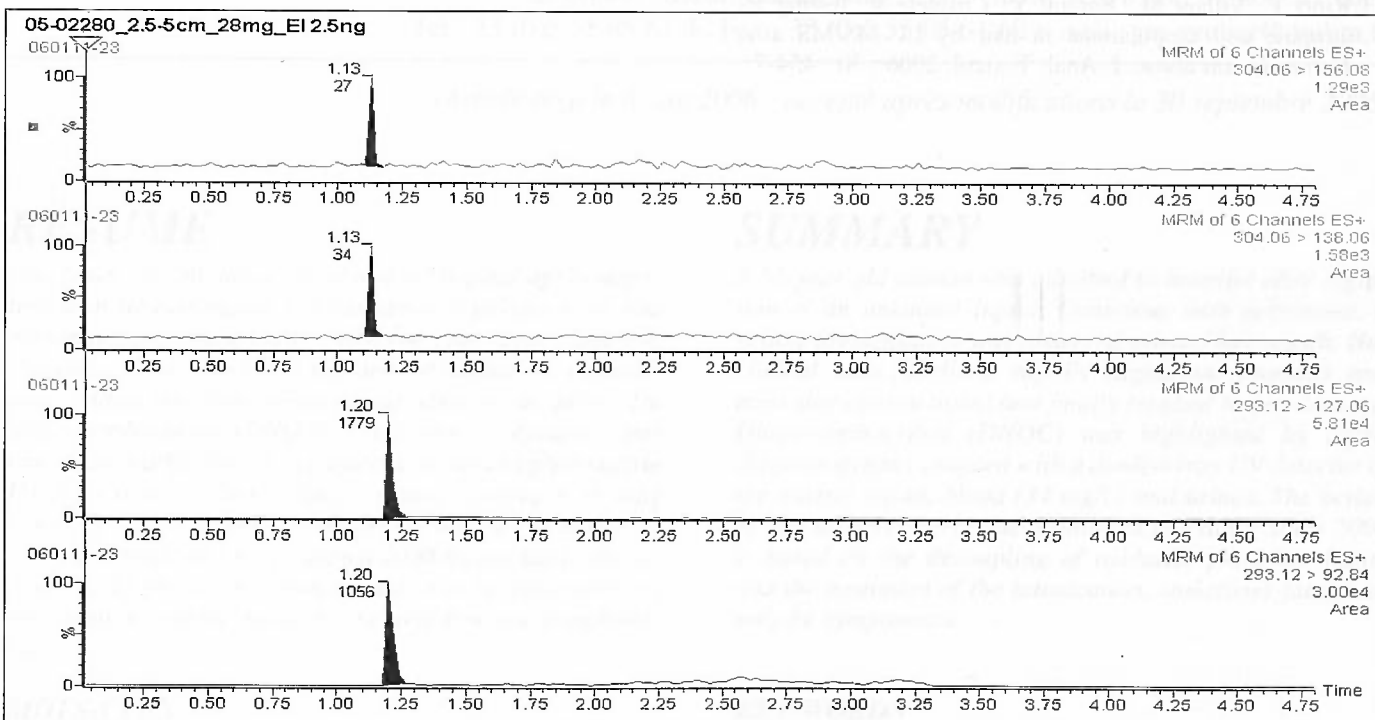


Figure 4 : Chromatogramme d'un échantillon de cheveux prélevé sur le sujet 3 (segment 2,5 à 5,0 cm). La concentration en scopolamine est de 1,1 pg/mg. En haut : les 2 transitions de la scopolamine, en bas : les 2 transitions de l'atropine-d₃,

Références

1. Anger J.P., Villain M., Baert A., Kintz P. Le datura : une plante abandonnée de la pharmacopée mais qui semble aujourd'hui de plus en plus plébiscitée par les jeunes. *J. Med. Lég. Droit Méd.* 2005 ; 48 (3) : 185-97.
2. Steenkamp P.A., Harding N.M, van Heerden F.R., van Wyk B.E. Fatal *Datura* poisoning : identification of atropine and scopolamine by high performance liquid chromatography / photodiode array / mass spectrometry. *Forensic Sc. Int.* 2004 ; 145 : 31-9.
3. www.biam2.org; site consulté le 15/04/2006.
4. Goullé J.P., Pépin G., Dumestre-Toulet V., Lacroix C. Botanique, chimie et toxicologie des solanacées hallucinogènes : belladone, datura, jusquiame, mandragore. *Ann. Toxicol. Anal.* 2004 ; 16 (1) : 22-35.
5. Bulletin régional sur la pharmacodépendance du CHU de Nancy, bulletin n°5, juillet 2004 www.centres-pharmacodépendance.net , site consulté le 05/05/2006
6. Barguil Y., Mermond S., Kintz P., Villain M., Choblet E.. L'abus de datura et de kava en Nouvelle Calédonie : une pratique inquiétante. *Ann. Toxicol. Anal.* 2006 ; 18 (1) : 33-43.
7. Dictionnaire médical Vidal 2005 : 1805-6.
8. www.Pjonline.com; The pharmaceutical journal, site consulté le 15/04/2006.
9. Pépin G., Chèze M., Dufort G., Vaysette F. De l'intérêt des cheveux et de la spectrométrie de masse tandem pour la soumission chimique : à propos de neuf cas. *Ann. Toxicol. Anal.* 2002 ; 14 (4) : 395-406.
10. Negrusz A., Gaensslen R.E. Analytical developments in toxicological investigation of drug-facilitated sexual assault. *Anal. Bioanal. Chem.* 2003 ; 376 : 1192-7
11. Kintz P., Villain M., Barguil Y., Cirimele V. Testing for atropine and scopolamine in hair by LC-MS/MS after *Datura inoxia* abuse. *J. Anal. Toxicol.* 2006 ; 30 : 454-7.