

WASIMP

Chemische Profilering van afvalstoffen uit de clandestiene productie van drugs

FEDERAAL WETENSCHAPSBELEID



KATHOLIEKE UNIVERSITEIT LEUVEN
LABORATORIUM VOOR TOXICOLOGIE EN
BROMATOLOGIE

De studie kadert binnen het "Onderzoeksprogramma ter ondersteuning van de Federale Beleidsnota Drugs", in opdracht van en gefinancierd door de POD Wetenschapsbeleid.

Introductie

Het feit dat grote winsten kunnen gehaald worden uit de handel in illegale drugs, is al lang geen geheim meer en heeft er deels toe geleid dat de georganiseerde misdaad zichzelf een sleutelrol heeft toebedeeld in het domein. Politie en justitiële diensten uit zowel binnen- als buitenland proberen een antwoord te bieden aan dit probleem. Eén manier richt zich op het gebruik van objectieve wetenschappelijke argumenten; zo is de chemische profilering van geconfiscerde drugs, synthetische precursoren en chemisch afval belangrijk voor politie en justitiële diensten om al dan niet linken te kunnen leggen tussen gereguleerde drugs die op straat aan de man worden gebracht met productie- en dumpingplaatsen. Dientengevolge kan chemische profilering een belangrijke positie innemen in het oprollen van een criminele organisatie.

Doelstellingen

Het WASIMP project trachtte betrouwbare chemische parameters te vinden die toelaten linken te leggen tussen dumpingplaatsen onderling en/of dumpingplaatsen en illegale laboratoria. Het onderzoek richtte zich voornamelijk op MDMA (XTC) en amfetamine (speed), de twee meest populaire designer drugs in België.

De meeste van de in beslag genomen amfetamines wordt geproduceerd via de Leuckart reductieve aminatie, terwijl MDMA meestal gesynthetiseerd wordt gebruik makende van PtO₂-gecatalyseerde reductieve aminatie of de zo genoemde “koude methode” met NaBH₄. Aldus werd in dit onderzoek de nadruk gelegd op de syntheseonzuiverheden afkomstig van deze syntheseswegen.

De onderzoeksgroep trachtte een antwoord te vinden op de volgende vragen:

- Is het mogelijk om via chemische analyse van clandestiene stortplaatsen van syntheseafval al dan niet een verband te leggen tussen verschillende stortplaatsen enerzijds, en/of tussen stortplaats en productiesite anderzijds?
- Indien ja, welke parameters kunnen dan daarvoor gebruikt worden en hoe kan men deze parameters automatiseren?
- Welk is de waarde van een chemische profilering van clandestien gedumpte syntheseafvalstoffen voor justitie?

Methodologie

Staalname

In een eerste fase werden, in samenwerking met de Federale Politie, stalen van zowel dumpingen als ontmantelde laboratoria verzameld. De meeste staalnames gebeurden in een verwerkingsbedrijf. Stalen van één productieplaats werden echter genomen bij de Federale Politie. Staalname op de productie- of dumpingplaatsen zelf was niet mogelijk wegens veiligheidsredenen. Daarom konden er ter plaatse ook geen bodemstalen genomen worden en was het reconstrueren van dumpingscondities niet van toepassing.

In totaal werden stalen van 9 dumpingplaatsen en 5 laboratoria gecollecteerd.

Analysis

De analyse kan verdeeld worden in 2 segmenten, (a) de chemische analyse van stalen binnen de relevantie van het project, en (b) onderzoek naar de oorsprong van de syntheseonzuiverheden. Deze twee aspecten zijn onderling afhankelijk van elkaar.

(a) Chemische analyse

De protocols gebruikt voor zowel de staalvoorbereiding als de uiteindelijke scheiding en detectie werden opgesteld aan de hand van een voorafgaande literatuurstudie. De beschreven werkwijzen van het Europees project CHAMP (“Collaborative Harmonisation of Methods for Profiling of Amphetamine Type Stimulants”) werden als standaard genomen in de ontwikkeling van de protocols [1-6].

- Alvorens directe injectie uit te voeren op GC/MS, was in een eerste stap opzuivering van het staal noodzakelijk. Hierbij werd gebruik gemaakt van vaste fase extractie (SPE) waarin 4 types van kolommen gebruikt werden: omgekeerde fase, normale fase, kation en anion uitwisselaar. Nonadecaan (100 µg/ml) werd als inwendige standaard gebruikt. Het eluens van deze opzuivering werd rechtstreeks geïnjecteerd in de GC/MS.
- *Headspace solid-phase microextraction (HS-SPME)* is een staalvoorbereidingstechniek waarbij vluchtige stoffen worden geconcentreerd alvorens in te spuiten in de GC/MS. In deze techniek wordt een vezel gebruikt met een absorberende substantie. Polydimethylsiloxane (PDMS), een niet-

polaire coating kwam als meest stabiele uit enkele testen. Deze werd dan ook gebruikt bij alle staalanalyses.

(b) Bibliotheken van onzuiverheden

Bibliotheken van onzuiverheden werden ontwikkeld en gesynthetiseerd via combinatoriële chemie. Via deze nieuwe en innovatieve methode, trachtten we een hogere efficiëntie te bereiken dan de conventionele methode. Ook probeerden we te anticiperen op de veranderingen in *modus operandi* van de clandestiene drug productie sites. Deze benadering liet een hoge graad van automatisering toe.

Resultaten

De Pearson-correlatie werd gebruikt als statistische evaluatie. Om de invloed van grote pieken te vermijden werd voor het uitvoeren van de Pearson test het absolute piekoppervlak genormaliseerd tot de som van alle piekoppervlakken en verder gestandaardiseerd door van deze genormaliseerde waarde de vierkantswortel te nemen.

Praktisch werd de volgende formule gebruikt:

$$r = \frac{\sum(x - \bar{x})(y - \bar{y})}{\sqrt{\sum(x - \bar{x})^2 \sum(y - \bar{y})^2}}$$

Hierdoor bekwamen we een waarde tussen -1 en 1 die de mate van de lineaire samenhang tussen de twee te onderzoeken stalen aangeeft. Hierbij staat -1 voor een negatieve correlatie en 1 voor een positieve correlatie. Deze waarden werden omgezet naar waarden tussen 0 (negatieve correlatie) en 100 (positieve correlatie).

Gezien het relatief grote aantal stalen dat geïnterpreteerd moest worden, zagen we de noodzaak in om een andere benadering voor de vergelijking van de Pearson-correlatiecoëfficiënten te zoeken. We hebben daarom de analyseresultaten eerst opgedeeld in groepen welke zuiver gebaseerd zijn op de chromatogrammen:

- FL: intermediair N-formylamfetamine.

- S: Solventafval.
- P2P: Afval van de precursor fenyl-2-propanon.
- AL: Staal waar amfetamine één van de belangrijkste componenten is, maar niet noodzakelijk de hoofdcomponent.
- AL2: Sterk verdunde versie van AL. Deze werden in een aparte groep gezet om de Pearson-correlatiecoëfficiënt niet kunstmatig te verhogen. Dit zou immers een verkeerd beeld geven.

Stalen werden vergeleken binnen hun groep. Pearson coëfficiënten werden berekend voor elke groep behalve S en AL2. In deze 2 gevallen is de relevantie ervan laag.

Om RTL-screening mogelijk te maken werd een massaspectrometrische bibliotheek samengesteld, welke informatie bevat over nuttige massaspectra en samengaan- de retentietijden. Deze bibliotheek bevat 190 ingaven.

HSPME resultaten

Lijst I geeft een overzicht van de geselecteerde parameters welke gebruikt werden in de geautomatiseerde screening van de analyse resultaten.

RT		som	voorkomen
4,58	tolueen (C1)	75	85,23
5,50	IS	88	100,00
6,72	mesityloxyde (C2)	21	23,86
9,30	diacetonolcohol (C3)	17	19,32
13,82	p-chlorotolueen (C4)	19	21,59
16,12	benzaldehyde (B19)	55	62,50
17,00	trans-β-methylstyreen (C5)	36	40,91
17,27	1,2-methyleendioxybenzeen (A2)	20	22,73
17,72	benzylchloride (B10)	74	84,09
18,05	p-bromotolueen (C6)	0	0,00
20,62	acetofenon (B20)	75	85,23
21,15	methylbenzoaat (C7)	19	21,59
21,42	3,4-methyleendioxytolueen (A3)	23	26,14
21,60	2-chloroethylbenzeen (C8)	58	65,91
22,28	2-fenylethanol (C9)	1	1,14
23,00	α,α-dichlorotolueen (C10)	12	13,64
23,17	fenyl-2-propanon (B1)	45	51,14
23,88	ethylbenzoaat (C11)	12	13,64
24,70	benzylcyanide (B12)	81	92,05
25,13	2-bromoethylbenzeen (C12)	20	22,73

25,33	3-chloro-1-fenylpropan (C13)	1	1,14
25,60	α,α,α -trichlorotolueen (C14)	0	0,00
45,97	1-(3,4-methyleendioxyfenyl)-2-propanon (A1)	18	20,45

Tijdens de analyses deden er zich enkele complicaties voor. Sterk zure matrices (bijvoorbeeld base opgelost in solvent verzadigd met zoutzuurgas) tastten de integriteit van de fiber aan. Verder bleken de resultaten moeilijk interpreteerbaar of waren de gevonden componenten weinig specifiek voor een gevolgde reactieweg. Zo wijst de aanwezigheid van Mesityloxyde en diacetonalcohol in de richting van het gebruik van aceton. De aanwezigheid is echter sterk afhankelijk van zuur of base in het mengsel, maar ook van de tijd.

Gebaseerd op de ervaring die wij opgedaan hebben tijdens het project, kunnen we besluiten dat GC-HSPME/MS een interessante techniek is om meer informatie te vergaren over de identiteit van de gebruikte solventen. Ook om onderzoek te verrichten naar de vluchtige componenten gevormd tijdens de productie is dit een aantrekkelijke techniek. Daartegenover staat dat de methode niet dezelfde rijkdom aan informatie kan verschaffen als directe injectie (met voorafgaande SPE opzuivering).

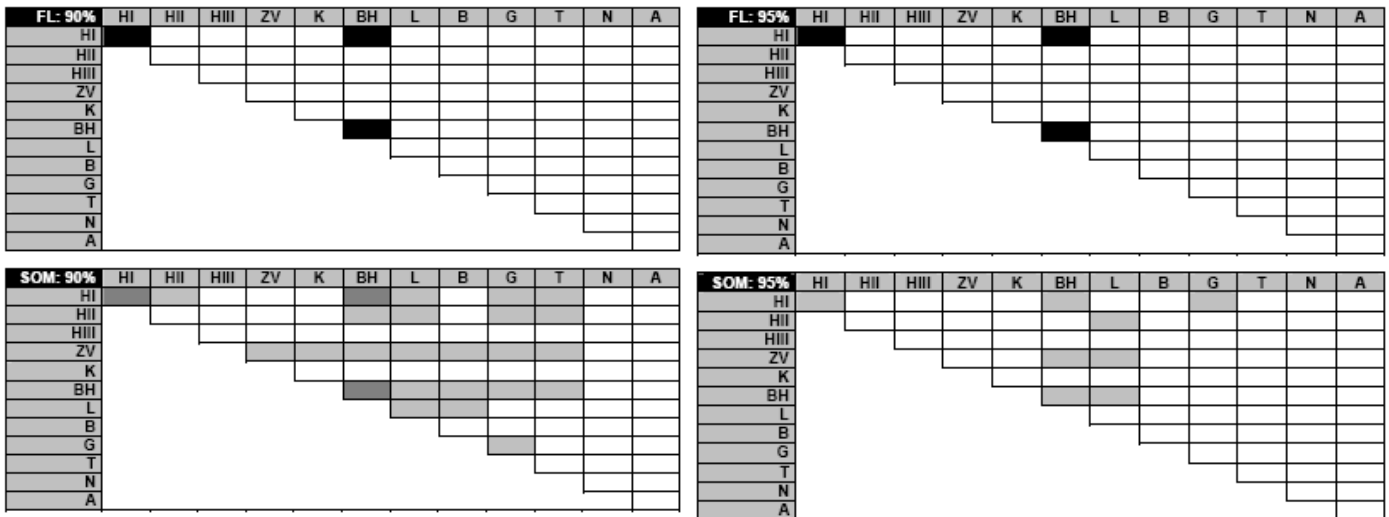
SPE resultaten

Amfetamine stalen

In het totaal werden 412 analyses gecategoriseerd als amfetamine-gerelateerd. Dit werd gebaseerd op de SPE-GC/MS analyse gebruik makende van 36 markers.

Tabel I geeft een voorbeeld van een overzicht van de gevonden relaties tussen verschillende stalen met een Pearson correlatie van respectievelijk 90% en 95%. Zwart duidt een relatie aan, wit betekent geen relatie tussen de respectievelijke stalen. De "som" tabel geeft de vergelijking weer tussen de verschillende groepen. Hierin geeft donker grijs een indicatie voor een relatie tussen twee van de drie groepen, terwijl lichtgrijs een indicatie is voor slechts één gevonden correlatie. Opmerkelijk hierin is de correlatie die gevonden werd tussen HI en BH.

Table I

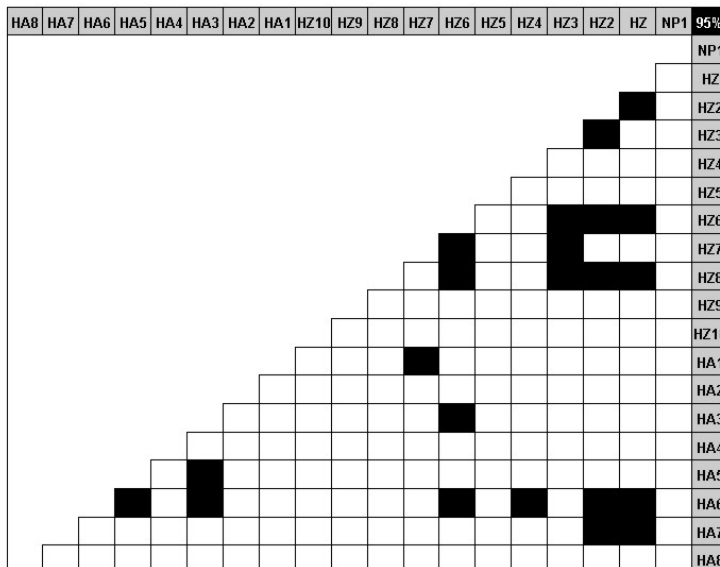


Methamphetamine stalen

Drie dumpingplaatsen, welke een verband hadden met de productie van MDMA, werden onderzocht. In totaal werden 76 analyses gecategoriseerd in deze groep. 28 markers werden gebruikt in de berekening van mogelijke correlaties.

Een voorbeeld van de Pearson coëfficiënt van MDMA stalen is hieronder weergegeven. Opmerkelijk is de sterke correlatie tussen HA en HZ rekening houdend met de 95% correlatie coëfficiënt.

Table II



Bibliotheken van onzuiverheden

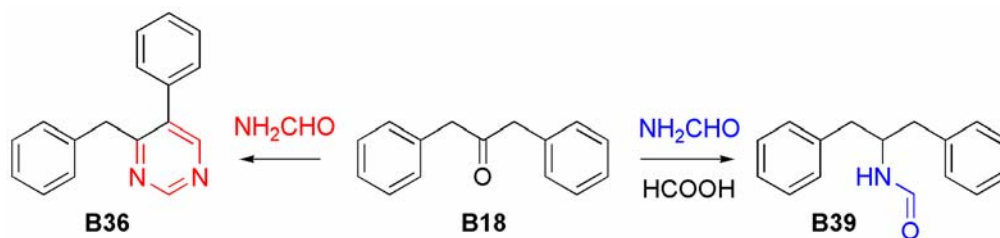
Combinatoriële chemie werd toegepast om een bibliotheek van massaspectra van onzuiverheden aan te leggen welke gekoppeld werd aan een RTL gaschromatografische methode. Het zeer variërend resultaat duidt aan dat de reagentia zeer zorgvuldig moeten gekozen worden gebaseerd op hun verwachte reactiviteit. Zo werd bijvoorbeeld in een experiment geprobeerd een benzylamine te laten reageren met een groep van carbonyl-bevattende precursoren (deoxybenzoin, propiofenon, acetofenon, benzaldehyde). Op kamertemperatuur werd alleen het imine van benzylamine en benzaldehyde gemakkelijk gevormd. Wanneer langere reactietijd werd toegestaan, werden er geen grotere hoeveelheden imine, afkomstig van andere carbonyl precursoren, teruggevonden. Wel werd er een groot aantal andere onzuiverheden gevormd. Wanneer de reactietemperatuur werd verhoogd, werd imine meer teruggevonden in vergelijking met andere carbonyl precursor componenten. Niettegenstaande bleek hier de reactietijd een cruciale factor aangezien het aantal onzuiverheden sterk toeneemt in de loop van de tijd. Voor deze reactie werden geen verdere testen ondernomen om de onzuiverheden, gevormd na de imine stage, te identificeren en in de bibliotheek op te nemen.

Zeer goede resultaten werden bekomen door een groep benzaldehyden te laten reageren met een amine. In één experiment lieten we een benzaldehyde mengsel (2,4-dimethoxybenzaldehyde, asaraldehyde, benzaldehyde, *p*-fluorobenzaldehyde, *m*-anisaldehyde) reageren met verschillende amines: A) *n*-butylamine, (B) β -phenethylamine and cyclohexylamine, (C) benzyl amine and piperonyl amine, (D) α -phenethylamine. De corresponderende imines werden gevormd bij kamertemperatuur gebruik makend van een magnetische roerder en moleculaire zeven (5Å). Voor de analyse van de gevormde reactiemengsels werd de standaard methode gebruikt met *n*-nonadecaan als inwendige standaard. De vier reactiemengsels A-D resulteerden in 5X6 nieuwe componenten, die werden geïdentificeerd aan de hand van hun massaspectrum. Verder werden de retentietijden opgenomen in de RTL-bibliotheek.

Enkele basisexperimenten werden uitgevoerd om de gevormde onzuiverheden in de reactie van 1,3-diphenylaceton onder typische Leuckart reductieve aminatie reactiecondities te bepalen. Verschillende, niet eerder beschreven substanties (in forensische context) werden gevonden. De Leuckart reactie werd vervolgens onder

welbepaalde en gecontroleerde reactiecondities uitgevoerd. Hierbij werden zowel de invloed van het amineringsreagens (ammonium formaat vs. formamide and mierenzuur) als de aanwezigheid van variërende relatieve hoeveelheden van fenylaceton onderzocht. Aan het einde van de reactie werd een staal van het reactiemengsel genomen en geanalyseerd gebruik makend van de standaard GC/MS methode. Gebaseerd op onze experimenten konden we vijf, niet eerder beschreven substanties, identificeren die kunnen voorkomen als forensisch relevante onzuiverheden in amfetamine geproduceerd uitgaande van met 1,3-difenyliceton gecontamineerde fenyl-2-propanon.

Twee onzuiverheden werden waargenomen en geïdentificeerd op basis van het reactiemechanisme van de Leuckart reactie en hun massaspectra: Unknown GM-20070925-1 (B36) and Unknown GM-20070925-2 (B39).



Synthese van deze componenten via onafhankelijke weg zou bevestiging (of uitsluiting) kunnen geven van hun structuur.

Interpretatie van de resultaten

Een belangrijke vraag is “Hoe moeten we de verkregen correlatie coëfficiënten interpreteren?”

De Pearson coëfficiënten zijn indicatief voor een causaal verband tussen de onderzochte stalen. Niettegenstaande geven deze coëfficiënten geen informatie over de aard van de oorzaak van dit verband. Oorzaak van zulk verband zou kunnen zijn: dezelfde synthesemethode, dezelfde bron van precursoren, dezelfde productiesite of de correlatie zou zelf louter toeval kunnen zijn. In ons onderzoek hebben we geprobeerd om de factor toeval tot een minimum te beperken door een breed spectrum te onderzoeken. Dit werd bewerkstelligd door gebruik te maken van vier verschillende SPE kolommen. Niettegenstaande blijft de hoge variabiliteit tussen de

verschillende stalen een belangrijk probleem. Dit zou kunnen het gevolg zijn doordat het synthese afval, mogelijk afkomstig van verschillende synthesesewegen, in één vat geïncubateerd werd (bv. NP staal). In dit geval heeft de vergelijking van de Pearson correlaties geen enkele relevantie. Daarom kunnen we concluderen dat het voorspellend karakter van deze analyse van syntheseafval met de nodige voorzichtigheid in beschouwing dient genomen te worden. Aan de andere kant kunnen we stellen dat de chromatografische analyse van syntheseafval zeker niet waardeloos is. Ondanks het feit dat het zeer moeilijk is om bepaalde verbanden te voorspellen, blijft dit een interessante techniek om gedetailleerde informatie van een bepaalde zaak in een wetenschappelijke context te plaatsen. Met deze analyse kunnen tevens veranderingen in de illegale drug productie ontdekt en opgevolgd worden. Daarom kan dit onderzoek een toegevoegde waarde betekenen in het onderzoek naar de illegale drugproductie in onze maatschappij.

Tot slot willen we antwoorden formuleren op de in de doelstellingen gestelde vragen:

- Is het mogelijk om via chemische analyse van clandestiene stortplaatsen van syntheseafval al dan niet een verband te leggen tussen verschillende stortplaatsen enerzijds, en/of tussen stortplaats en productiesite anderzijds?
Het wetenschappelijk onderzoek rond de chemische analyse van clandestiene stortplaatsen en syntheseafval kan nuttig zijn wanneer er terugkoppeling mogelijk is. Indien er reeds vermoedens zijn van mogelijke verbanden tussen stortplaats en laboratorium of tussen stortplaatsen onderling, dan kan dit wetenschappelijk onderzoek, gebaseerd op de reeds bestaande vermoedens, een ondersteunende en eventueel bevestigende rol spelen. Wij raden echter niet aan om de resultaten van het onderzoek als alleenstaand gegeven te beschouwen als een mogelijk bewijs van verbanden.
- Indien ja, welke parameters kunnen dan daarvoor gebruikt worden en hoe kan men deze parameters automatiseren?
Aangezien de resultaten van het onderzoek op zichzelf onvoldoende sterk staan om met zekerheid verbanden aan te tonen tussen verschillende stortplaatsen enerzijds en/of tussen stortplaats en productiesite anderzijds, is de gestelde vraag niet meer van toepassing.

Toch kunnen de parameters, welke gebruikt werden in de geautomatiseerde GC/MS screening, gebruikt worden bij verder onderzoek in dit domein.

- Welk is de waarde van een chemische profilering van clandestien gedumpte syntheseafvalstoffen voor justitie?

Aangezien finaal werd besloten dat dit wetenschappelijk onderzoek op zichzelf niet kan leiden tot het met zekerheid vaststellen van verbanden tussen dumpingsplaatsen en/of laboratoria, zagen wij geen toegevoegde waarde in het aanstellen van een jurist om de waarde voor justitie te bepalen. Verder onderzoek is vereist in dit domein alvorens de justitiële waarde van zulk onderzoek te valoriseren.

References

1. Aalberg, L., et al., *Development of a Harmonised Method for the Profiling of Amphetamines I. Synthesis of Standards and Compilation of Analytical Data*. Forensic Sci. Int., 2005. **149**(2-3): p. 219-229.
2. Aalberg, L., et al., *Development of a Harmonised Method for the Profiling of Amphetamines II. Stability of Impurities in Organic Solvents*. Forensic Sci. Int., 2005. **149**(2-3): p. 231-241.
3. Andersson, K., et al., *Development of a Harmonised Method for the Profiling of Amphetamines III. Development of the Gas Chromatographic Method*. Forensic Sci. Int., 2007. **169**(1): p. 50-63.
4. Andersson, K., et al., *Development of a Harmonised Method for the Profiling of Amphetamines IV. Optimisation of Sample Preparation*. Forensic Sci. Int., 2007. **169**(1): p. 64-76.
5. Andersson, K., et al., *Development of a Harmonised Method for the Profiling of Amphetamines VI. Evaluation of Methods for Comparison of Amphetamine*. Forensic Sci. Int., 2007. **169**(1): p. 86-99.
6. Lock, E., et al., *Development of a Harmonised Method for the Profiling of Amphetamines V. Determination of the Variability of the Optimised Method*. Forensic Sci. Int., 2007. **169**(1): p. 77-85.