

5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden Methoden zum Nachweis verschiedener Phenylpropanamine im Speichel entwickelt.

Im ersten Teil erfolgte der Nachweis von Amphetamin mittels kompetitiv arbeitender immunchromatographischer Teststreifen. Es sollte eine Methode zum Nachweis von berauschenden Mitteln im Straßenverkehr erprobt werden. Zuerst wurden die Testbestandteile aufeinander abgestimmt und eine Probenahme-prozedur entwickelt, die eine zuverlässige Analyse des Speichels mit diesem Testformat ermöglicht. Aus den Arbeiten ging hervor, dass Amphetamin mit einer Empfindlichkeit von <50 ng/mL mit diesem Test aus wässrigen Lösungen nachweisbar ist. Da der Speichel vor der Analyse durch einen Probennehmer oder einen Verdünnungsschritt konditioniert werden muss, verschiebt sich die Nachweisgrenze zu deutlich erhöhten Werten. Um Amphetamin und Methamphetamin mit nur einem Test nachweisen zu können, wurde die Kombination der Antikörper verändert, sodass Amphetamin und auch MDMA zu einer Verdrängung an der selben Bande führten. Diese Teststreifen, wie auch ein bei den Drägerwerken Lübeck entwickelter Opiat-Kokain- Kombinationstest, wurden anhand einer Speichelsammlung aus Straßenverkehrskontrollen auf ihre Praxistauglichkeit geprüft. Im Vergleich zu den mittels GC/MS-Analytik ermittelten Konzentrationen, zeigten die Bandenintensitäten eine gute Korrelation. Für niedrige Konzentrationen ergab sich jedoch kein Unterschied zu negativen Proben. Mit diesen Teststreifen wurden Versuche zur Oberflächenbeprobung und ein Stabilitätstest durchgeführt.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde eine Kapillarelektrophoresemethode entwickelt, die es ermöglicht, Phenylpropanamine im Speichel nachzuweisen und Unterschiede zwischen verschiedenen Quellen (Arzneimittel oder nicht verkehrsfähige Betäubungsmittel) aufzuzeigen. Dazu wurden die Racemate mittels nativem β -Cyclodextrin aufgetrennt.

Um die benötigte Empfindlichkeit zu erreichen, war es erforderlich, den Speichel mittels Festphasenextraktion aufzuarbeiten und in $0,1$ mM H_3PO_4 aufzunehmen. Durch elektrokinetische Injektion erfolgte ein „stacking“, sodass eine Nachweisempfindlichkeit von <10 ng/mL resultierte. Es konnte gezeigt werden, dass durch hydrodynamische Injektion einer kleinen Probenmenge

5. Zusammenfassung

nach der eigentlichen elektrokinetischen Injektion, die Impräzision deutlich verringert werden konnte.

Für die Untersuchung von Amphetaminkonzentrationen nach Arzneistoffgabe standen Famprofazon und Selegilin zur Verfügung. Im Speichel wurde nach Famprofazongabe überwiegend R-(-)-Methamphetamin gefunden. Es lagen ebenfalls kleinere Mengen S-(+)-Methamphetamin, sowie R(-)- und S-(+)-Amphetamin vor. Ähnliche Enantiomerenverhältnisse wurden im Blut von anderen Autoren beschrieben.

Nach Selegilingabe wurden R-(-)-Methamphetamin und R-(-)-Amphetamin gefunden. Selegilin ist ein enantiomerenreiner Stoff, daher ist dieses Ergebnis plausibel.

Legt man den aktuellen Grenzwert von 50 ng/mL S-(+)-Methamphetamin der SAMSHA zugrunde, so sind falsch positive Amphetainnachweise im Speichel auch durch die Einnahme von Arzneistoffen erklärbar. Dieses kann im Einzelfall die Interpretation von Drogenschnelltests im Speichel erschweren.

6 Summary

Different methods of analyzing phenylpropanamine in saliva were in the scope of this thesis.

The first part comprises the development of immunochromatographic test strips for amphetamine analysis with a competitive detection system. These test strips should be able to detect amphetamines in an on-site drug testing environment. The principle constituents for the test were experimentally determined and possible sampling procedures were explored and evaluated. After tuning the assay a complete displacement of the detection line could be observed for concentrations <50 ng/mL of aqueous amphetamine solution. Because dilution and conditioning were necessary this sensitivity decreased distinctly. The antibody composition was changed in order to achieve a higher cross reactivity for methamphetamines, thus leading to a test detecting both amphetamines and methamphetamines in one detection line. This test, as well as a opiate-cocain test developed by Drägerwerke Lübeck, was evaluated using saliva samples collected in road side tests in Belgium. Comparing the intensity of the detection line with the corresponding concentrations found by GC/MS analysis a good correlation was found. However, there was no difference in detection line intensity between samples with low drug concentration and negative saliva samples. The eligibility of the test strips was evaluated with respect to surface detection and a stress test was performed.

The second part reports on the development of a capillary electrophoresis method with a view to analysing phenylpropanamines in saliva and also finding differences between the legal intake of medications leading to metabolic amphetamine production on one hand and illegal drugs on the other hand. For enantioseparation native β -cyclodextine was used.

In order to enhance the sensitivity of the method, a solid phase extraction was performed. The residue was dissolved in 0,1 mM H_3PO_4 and electrokinetically injected, resulting in a sensitivity of <10 ng/mL. By hydrodynamically injecting a small portion of the sample solution subsequent to the electrokinetic injection, the precision concerning the injection could be significantly reduced. For the analysis of amphetamine concentrations after intake of medication, famprofanzone and selegilin also known as deprenyl were selected. After the

6. Summary

intake of famprofazone, mainly R-(-)-methamphetamine was observed. In addition to that, smaller amounts of S-(+)-methamphetamine besides R-(-)- and S-(+)- amphetamine were found. Literature describes similar enantiomeric distributions to be found in blood samples.

After the consumption of selegilin only R-(-)-methamphetamine and R-(-)-amphetamine were detected. Since selegilin is a enantiomeric pure drug this is plausible.

Taking into account that 50 ng/mL S-(+)-methamphetamine is the legal U.S. cutoff value for saliva amphetamine analysis, positive results do not necessarily have to originate from illegal drug abuse but can also be caused by the consumption of medication. This should be taken into consideration when the results are interpreted.