



**T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SENTETİK KANNABİNOİD ANALİZLERİNDE ENZİM
İMMÜNASSAY VE SIVI KROMATOĞRAFİSİ - KÜTLE
SPEKTROMETRESİ (LC- MS/MS) METODLARININ ANALİZ
SONUÇLARININ KARŞILAŞTIRILMASI**

Ahmet ETİZ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Nuri Cenk COŞKUN**

**2.DANIŞMAN
Doç. Dr. Ertuğrul KAYA**

DÜZCE 2019



**T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SENTETİK KANNABİNOİD ANALİZLERİNDE ENZİM
İMMÜNASSAY VE SIVI KROMATOĞRAFİSİ - KÜTLE
SPEKTROMETRESİ (LC- MS/MS) METODLARININ ANALİZ
SONUÇLARININ KARŞILAŞTIRILMASI**

Ahmet ETİZ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Nuri Cenk COŞKUN**

**2.DANIŞMAN
Doç. Dr. Ertuğrul KAYA**

DÜZCE 2019

KABUL VE ONAY

Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı Çerçevesinde yürütülmüş olan
“Sentetik Kannabinoid Analizlerinde Enzim İmmünassay ve Sıvı Kromatografisi- Kütle
Spektrometresi (LC-MS/MS) Metodlarının Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması ”
adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarihi: 08/08/2019

TEZ SINAV JÜRİSİ


Dr. Öğr. Üyesi Nuri Cenk COŞKUN
Düzce Üniversitesi
Başkan


Doç. Dr. Akif Hakan KURT
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi
Üye


Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Ali SUNGUR
Düzce Üniversitesi
Üye

Yukarıdaki Tez, Yönetim Kurulunun 28/08/2019 tarih ve 2019/271 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Adnan ÖZÇETİN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

08.08.2019

Ahmet Etiz

TEŞEKKÜR

Farmakoloji Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimim süresince gösterdiği her türlü destek ve yardımlardan dolayı çok değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Nuri Cenk COŞKUN' a en içten dileklerle teşekkür ederim.

Tez çalışmam süresince yardım ve desteğini esirgemeyip bilgi birikimini benimle paylaşan hocam Doç. Dr. Ertuğrul KAYA'ya en içten dileklerle teşekkür ederim.

İstatistiksel bilgi paylaşımından dolayı Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Ali SUNGUR hocama ayrıca şevk ve motivasyon ve yardımlarından dolayı Osman AKSU, Mehmet Kamil Temel ve diğer Tıbbi Anabilim Dalında ki arkadaşlarıma en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Bütün çalışmalarında yardım ve desteklerini esirgemeyen, maddi ve manevi yanımda olan babam Ramazan ETİZ, annem Fatma ETİZ'e ve aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez, Düzce Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Komisyonu Başkanlığı tarafından "Düzce İlinde Kullanılan Sentetik Kanabinoid Çeşitleri ve Analizi" adlı ve 2018.04.03.845 numaralı proje ile desteklenmiştir.

08 Ağustos 2019

Ahmet Etiz

İÇİNDEKİLER:

KABUL VE ONAY.....	
BEYAN.....	i
TEŞEKKÜR.....	i
SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ.....	iv
TABLolar LİSTESİ.....	vi
ŞEKİLLER VE RESİMLER LİSTESİ.....	vii
ÖZET.....	1
ABSTRACT.....	2
1.GİRİŞ.....	3
1.1. Bağımlılık.....	4
1.2. Madde Bağımlılığı.....	4
1.3 Bağımlılık Yapıcı Maddeler.....	4
1.4. Sentetik Kannabinoidler.....	5
1.4.1.Sentetik kannabinoidlerin tarihçesi.....	5
1.4.2. Türkiye’de Sentetik Kannabinoid Kullanımı.....	10
1.4.3 Sentetik kannabinoidlerin genel özellikleri.....	11
1.5 Sentetik Kannabinoid Türleri.....	12
1.5.1. Sentetik kannabinoidlerin etki mekanizması.....	13
1.6. Sentetik Kannabinoidlerin Farmakolojisi ve Toksikolojisi.....	15
1.6.1 Farmakolojisi.....	15
1.6.2. Toksikolojisi.....	17

1.7. Yasal durum	20
1.8. LC-MS/MS Analiz Yöntemi	22
1.9. Enzim İmmünassay Yöntemi	26
2. METARYAL VE METOD	28
3. BULGULAR	30
4. SONUÇ ve TARTIŞMA	40
KAYNAKÇA	43
ÖZGEÇMİŞ	47



SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

LC-MS/MS:	Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
SSS:	Santral Sinir Sistemi
DSÖ:	Dünya Sağlık Örgütü
LSD:	Halüsinojen
THC:	Tetrahidrokannabinol
CP:	sikloheksilfenoller
EMCDDA:	European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction
AAPCC:	Amerikan Zehir Kontrol Merkezleri Derneği
JWH-XXX:	John W. Huffman
AM-XXX:	Alexandros Makriyannis
HU-XXX:	Hebrew Üniversitesi
CB1:	Kannabinoid reseptörü 1
CB2:	Kannabinoid reseptörü 2
mg/kg:	miligram/kilogram
µg/kg:	mikrogram/kilogram
GABA:	Gama aminobütirik asit
MI:	Miyokard İnfarktüsü
GKS:	Glasgow Koma Skalası
TUBİM:	Türkiye Uyuşturucu ve Uyuşturucu Bağımlılığını İzleme Merkezi
EWS:	Erken Uyarı Sistemi
m/z:	Kütle-Yük oranı
ESI:	Elektrosprey iyonizasyon
APCI:	Atmosferik Basınç Kimyasal İyonizasyon

mL/dk:	mililitre/dakika
MS:	Kütle spektrometresi
RF :	Radyo Frekans
DC:	Doğrusal Akım
EMMIT:	Enzyme Linked-ImmunoSorbent Assay
TLC:	İnce tabaka kromatografisi
LC-MS:	Sıvı kromatografisi-kütle spektrometre
Q1:	kuadrupol 1
HPLC:	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
Rt:	Kolon Fırını sıcaklığı sabit tutarak alıkonma süresi
RP-HPLC:	Ters faz yüksek performanslı sıvı kromatografisi
LC:	Sıvı kromatografisi

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1: THC'nin cihazlardaki uyumu.....	33
Tablo 2: MDMA'nın cihazlardaki uyumu.....	34
Tablo 3: MDA'nın cihazlardaki uyumu.....	34
Tablo 4: MDEA'nın cihazlardaki uyumu.....	34
Tablo 5: K3-ADB-PINACA-pentanoic-acid'in cihazlardaki uyumu.....	35
Tablo 6: K3-AB-PINACA-N-5-hydroxypentyl'in cihazlardaki uyumu.....	35
Tablo 7: K2-UR-144'ün cihazlardaki uyumu.....	36
Tablo 8: K1-JWH-018'in cihazlardaki uyumu.....	36
Tablo 9: Diğer K3-K2-K1 maddelerinin cihazdaki uyumu.....	37
Tablo 10: AMFETAMİN'nin cihazlardaki uyumu.....	37
Tablo 11: METAMFETAMİN'nin cihazlardaki uyumu.....	37
Tablo 12: BZD'nin cihazlardaki uyumu.....	38
Tablo 13: Morfin-Opiad 'in cihazlardaki uyumu.....	38
Tablo 14: 6mam'ın cihazlardaki uyumu.....	38
Tablo 15: Kokain'nin cihazlardaki uyumu.....	38
Tablo 16: LC-MS/MS (LC) - Enzim İmmünassay (Eİ) cihazlarında uyum.....	39

ŞEKİLLER VE RESİMLER LİSTESİ

Şekil 1: İnternet ortamında satılan bonzailer	5
Şekil 2: Tetrahidrokannabinol.....	6
Şekil 3: CP 47,497	6
Şekil 4: HU-210	7
Şekil 5: JWH-18.....	8
Şekil 6: AM-2201	8
Şekil 7: Spice(bonzai)	9
Şekil 8: Tandem Kütle Spektrometrisi Genel Görünümü	23
Şekil 9: LC-MS/MS Cihazı.....	25
Şekil 10: MS/MS Sıralı Kütle Analizörü	25
Şekil 11: Enzim Ümmünassay Cihazı.....	27
Şekil 12: 2017 numune analiz sayısı cinsiyete göre farkı	30
Şekil 13: Yıllara göre yaş ortalaması	31
Şekil 14: Analiz için gönderilmiş numuneler 2017.....	31
Şekil 15: 2017 yılı bağımlılık yapıcı madde kullanım tipleri.....	32
Şekil 16: 2017 yılı bağımlılık yapıcı madde kullanım oranları.....	32
Şekil 17: 2017 yılı tespit edilen sentetik kannabinoid türlerinin oranları	33

ÖZET

SENTETİK KANNABİNOİD ANALİZLERİNDE ENZİM İMMÜNASSAY VE SIVI KROMATOĞRAFİSİ - KÜTLE SPEKTROMETRESİ (LC- MS/MS) METODLARININ ANALİZ SONUÇLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Ahmet ETİZ

Yüksek Lisans Tezi, Farmakoloji Anabilim Dalı

Tez danışmanı Dr. Öğr. Üyesi Nuri Cenk COŞKUN

Ağustos 2019, 47 Sayfa

Bağımlılık yapıcı madde kullanımı tüm dünya başta olmak üzere ülkemizde de toplum sağlığını tehdit eden en önemli sağlık sorunların başında gelmektedir. Son yıllarda uyuşturucu ve uyarıcı bağımlılık yapıcı madde kullanımlarında artış görülmektedir. Son birkaç yılda ülkemizde uyuşturucu kullanımı ve bağımlılık yapıcı maddelerin dağıtımı ile mücadele başlamıştır. Toplumda yükselen bağımlılık yapıcı madde kullanımı oranlarının nedenleri arasında; yeni, ucuz, kolay ulaşılabilen, zor tespit edilebilen bağımlılık yapıcı madde satışının artması gösterilmektedir. Özellikle de sentetik kannabinoid maddesi kullanımlarında artış görülmektedir. Bu çalışmada amacımız laboratuvarımızda yapılan uyuşturucu analizlerinde kullanılan iki farklı yöntem arasında sentetik kannabinoid analizleri üzerinde herhangi bir farklılık olup olmadığını ortaya koymaktır. Her iki yöntem olan LC-MS/MS (sıvı kromatografisi, kütle spektrofotometresi) ve enzim immünassay yöntemi ile analiz yapan otoanalizör cihazları günümüzde uyuşturucu madde ve ilaç analizlerinde kullanılan güvenli ve hassas yöntemlerdir. Bu tezde her iki yöntemle gerçekleştirilecek analizler üzerinden iki metodun güvenilirliği ve hassasiyeti karşılaştırılacaktır.

Anahtar kelimeler: Bonzai, Enzim immünassay, LC-MS/MS, Sentetik kannabinoid, Uyuşturucu,

ABSTRACT

COMPARISON OF ANALYSIS RESULTS OF ENZYME IMMUNASSAY AND LIQUID CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY (LC-MS/MS) METHODS IN SYNTHETIC CANNABINOID

Ahmet ETİZ

Master of Science Department of Pharmacology

Supervisor Asistant, Assistant Professor Nuri Cenk COŞKUN

August 2019, 47 Pages

The use of addictive substances is one of the most important health problems that threaten public health in the world and especially in our country. In recent years, there has been an increase in the use of drugs and stimulants. In the last few years, the fight against drug use and distribution of addictive substances has been carried out in our country. Among the reasons for the rising rates of addictive substance use in the society; increased is shows sales of new, inexpensive, easily accessible, barely identifiable banned substances. In also particular, there is an increase in the use of synthetic cannabinoid substances. The aim of this study is to determine whether there is a difference between synthetic cannabinoid analyzes between two different methods used in drug analysis in our laboratory. Both methods, LC-MS/MS (liquid chromatography, mass spectrophotometer) and enzyme immunoassay analyzing methods, are now safe and sensitive methods used in drug and drug analysis. In this thesis, the safety and sensitivity of the two methods will be compared through the analysis to be performed by both methods.

Key words: Bonsai, Drug, Enzyme immunoassay, LC-MS/MS, Synthetic cannabinoid,

1. GİRİŞ

Tüm dünyada bağımlılık yapıcı maddeler kullanıldığı gibi ülkemizde de uyuşturucu madde kullanımında artış söz konusudur. Son yıllarda uyuşturucu madde kullanımında ağırlıklı olarak sentetik kanabinoid kullanımı ilk sıralarda yer almaya başlamıştır. Bunun başlıca sebebi ise daha ucuza elde edilebilmeleri ve yakalandıklarında teşhis edilememeleridir. Sentetik kannabinoidler, insanlarda bir takım marijuana benzeri etkilere sebep olan kimyasallardır¹. Sentetik kannabinoid bulduran maddeler çoğu zaman, Unite States of America’da “K2”, European’da “Spice”, Türkiye Cumhuriyet’inde “Marihuana” şeklinde isimlendirilmektedir. Bu maddeler çoğu zaman, bitki parçacıkların üstüne dökülerek birçok çeşit sentetik kannabinoid bulduran ve sonraki zamanda tüketilerek marihuana benzeri gibi etki gösteren, tütünsel versiyonlarıdır¹. Sentetik kannabinoidler çoğu zaman tütün gibi tüketilse de, aerosol ya da oral şeklinde kullanımı olduğu belirtilmiştir¹. Sentetik kannabinoidlerin önde yer alan maddeleri JWH grubundaki seriler oluşturmaktadır. Bu seriler JWH-018, JWH-073, JWH-210 gibi maddelerden oluşmaktadır¹. Vücutta etki edebilmesi için kannabinoid reseptörlerinin aktif olması gerekmektedir. Günümüzde kannabinoid reseptörlerinin iki alt dala ayrılmış olduğu bilinmektedir: CB1 kannabinoid reseptörü, beyinde birçok defa lokalize olur. CB2 kannabinoid reseptörü, çoğu zaman immün sistemde bulunmaktadır. Sentetik kannabinoidler çoğu zaman CB1 reseptörlerinde agonist etkiye sebep olurlar, böylelikle az bir kısmında bile maksimum etkiyi oluştururlar¹. Bu sebeple bu maddelerin tespit edilmesinde kullanılan metod ve cihazlar arasında çeşitli farklılıklar oluşabilmektedir. Rutinde sıkça kullanılan enzim immünassay yönteminin analizlerinin bu konuda referans kabul edilen Lc-MS/MS analizleri ile karşılaştırılması yöntemlerin güvenilirliğinin test edilmesi açısından önem teşkil etmektedir.

Araştırmanın konusu sentetik kannabinoid analizlerinde LC-MS/MS yönteminin analiz sonuçları ile enzim immünassay yönteminin analiz sonuçlarının kıyaslanarak fark oluşup oluşmadığı ve eğer fark var ise neden kaynaklandığını tespit etmektir. Araştırmanın kapsamı laboratuvarımızda her iki yöntem ile yapılan sentetik kannabinoid analizlerinin değerlendirilmesidir

1.1. Bağımlılık

Çoğunlukla kişiye, objeye, veya herhangi bir şeye karşı hissedilen önlem alınamayacak istek, arzu; ya da bazı bireylerin etkisiyle de tesir oluşturma durumu bağımlılık olarak adlandırılabilir. Başka bir deyim ile insanın ruhsal sağlığını etkileyen patolojik davranışların yansıtılmasına sebep olduğu söylenmektedir.²

1.2. Madde Bağımlılığı

Madde bağımlılığı, santral sinir sistemi (SSS) ile psikoaktif bir madde arasındaki etkileşmeden oluşan ve ilacın keyif verici psişik tesirlerini duyumsamak bazen de yokluğunun oluşturacağı huzursuzluktan sakınmak için, ilacı sürekli veya periyodik olarak alma dürtüsü veya kompülsiyonu başta olmak üzere çeşitli davranış değişikliği ve diğer reaksiyonların eşlik ettiği ruhsal ve bazen de ilave olarak somatik (fiziksel) nitelikli bir durumdur³.

1.3 Bağımlılık Yapıcı Maddeler

Bağımlılık yapıcı maddelerin farmakolojik özellikleri, bağımlılıkla bir arada olan ruhsal ve fiziksel bağımlılığın nitelikleri ve bağımlılık sonucu oluşan riskleri, diğer yönleri, kötüye kullanımı veya bağımlılığın sebep olduğu bireysel, toplumsal ve halk sağlığında olumsuz etkilerin derecesi, psikoaktif madde çeşitleri arasında farklılık gösterir. Bu değişikliklere bakılarak Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün İlaç Bağımlılığı Uzman Kurulu 1950'lerde aşağıda yazılan bağımlılık çeşitlerini tanımlamıştır.³

- Morfin bağımlılığı
- Alkol bağımlılığı
- Barbitürat tipi bağımlılık
- Tütün bağımlılığı
- Amfetamin bağımlılığı
- Kokain bağımlılığı
- Esrar (marihuana) bağımlılığı
- Halüsinojenik (LSD) bağımlılık
- 'Khat' bağımlılığı
- Sentetik kannabinoid bağımlılığı

1.4. Sentetik Kannabinoidler

Sentetik kannabinoidler, laboratuvar ortamında üretilen; bitki veya buna benzer yapıdaki maddelerin kimyasallar ile spreylenece sonuce yapılan marihuana içinde yer alan THC (Tetrahidrokannabinol) maddesine benzer bir tesir oluşturulması beklenen bir uyuşturucu türüdür.⁴

Ülkemizde, Avrupada ve dünyada takip edilmesi, belirlenmesi ve tedavisi yapılan, çok fazla uğraşlara sebep olan bağımlılık yapıcı psikoaktif madde sınıfı sentetik kannabinoidlerdir. 2012 yılına gelene kadar dünyanın her yerinde tüketimi ve üretimi yasal kapsamına alınmadığından, olumsuz tüketimi hızlı yaygınlaşmıştır. Sentetik kannabinoid maddelerde aynı sentetik katinonlar gibi internette ya da marketlerde rahatlıkla bulunabilen, “yeni nesil esrar”, “özel bitki karışımları”, “tütsü” gibi isimler ile satışa çıkarılan madde çeşitleridir. Basit kimyasal tepkimeler sonucu oluşan ve kimyasal özellikleri birbirine çok benzer olan bu maddelerin onlarca türevi sentezlenmektedir.⁵



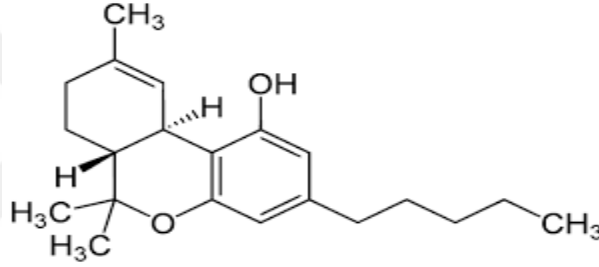
Şekil 1: İnternet ortamında satılan bonzailer

1.4.1.Sentetik kannabinoidlerin tarihçesi

Cannabis Sativa denilen hint kenevirinden yapılan bir bitki çeşidi olan kannabis, dünyadaki en eski tarihli olarak belirtilen psikotrop maddeler arasına girmektedir. İlk defa Hindistan’da Hinduların kültüründe geleneksel hal almış ve sarhoşluk etkisinden dolayı kullanılmış.

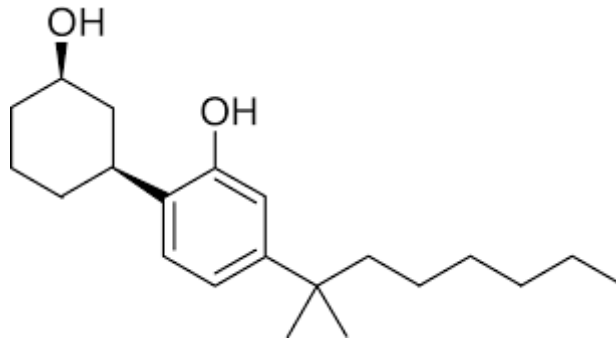
Çin Devletinde de yüzyıllarca elbise yapımında ve bir kısım bitkisel karışımlar halinde ilaç olarak kullanılmıştır. Hint kenevirin(kannabisin) romatizma ve sıtmayı tedavi etmede etkili olduğunu tarihte ilk kez Çin İmparatoru Shen-Nung (M.Ö. 2737) söylemiştir.⁶ Kannabis kullanımı Hindistan'dan Orta Doğu'ya oradan Asya'nın diğer kısımlarına ve daha sonra Afrika ve Güney Amerika'ya kadar ulaşmıştır. Afrika'daki ülkeler de, yılanların zehirlenmesinde ve doğum yapmayı kolaylaştırmak için kullanılmıştır. Aynı zamanda, ateş düşürücü, şarbon hastalığı, astımın tedavisinde de kullanıldığı söylenmektedir.⁶

Yakın tarihimizde ilk defa 1941 yılında Amerikan uyruklu Organik Kimya Profesörü Roger Adams'ın öncülüğünde kurulan ekibin çalışmaları sebebiyle sentetik kannabinoidlere benzer moleküller (THC serilerini) (Şekil 2) üretmiştir.⁷



Şekil 2: Tetrahidrokannabinol

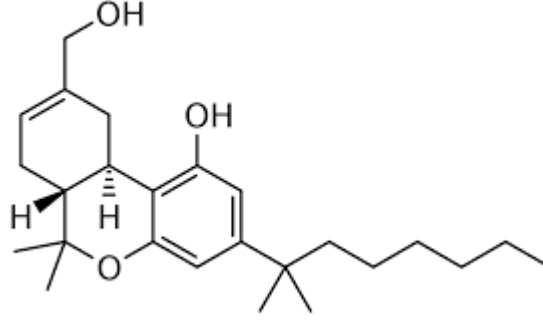
Bir sonraki sentez çalışmaları 1970'li yıllarda Pfizer ilaç firması "CP" yani sikloheksilfenoller şeklinde adlandırılan Δ⁹-THC serilerini üretmiştir (CP 47,497) (Şekil 3).⁷



Şekil 3: CP 47,497

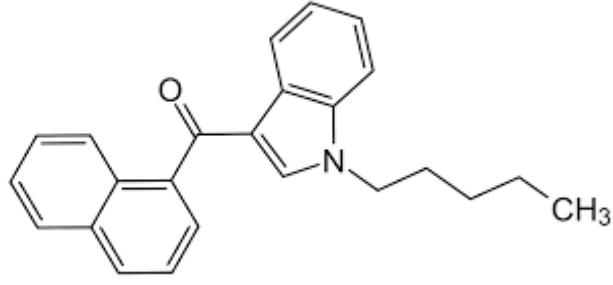
Daha sonra İsrail'de Hebrew Üniversitesinde Farmasötik Kimya Profesörü Raphael Mechoulam ile ekibi bu maddelerin sentezleme çalışmalarının devamını sağlamış ve

1988’de HU-210 (Hebrew Universitesi-210) (Şekil 4) isimli maddeyi üretmişlerdir. Sentezlenen bu madde etkisinin THC’den 100 ile 800 kat daha çok olduğu söylenmiştir. HU-210 ilk defa 2009’da Amerika Birleşik Devletleri’nin gümrük geçişinde yakalanan “Spice Gold” diye tabir edilen paketin içerisinde bulunmuştur.⁷



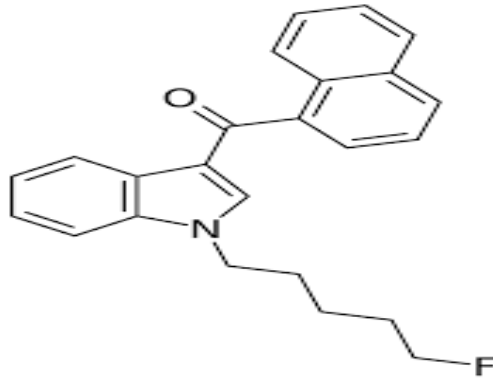
Şekil 4: HU-210

Sentetik kannabinoidlerin bir kısmını üretmeyi başarabilen bir diğer bilim insanı John William Huffman’dır. JW Huffman bir organik kimya profesörüdür. Prof. Dr. Huffman National Institute’nin desteğiyle ilaç araştırmalarına başlamış ve vücutta endokannabinoid reseptörleri bulmayı amaçlayan ilaç araştırmalarına odaklanmıştır. Huffman ile ekip arkadaşları 1984 yılının devamında multiple sikleroz, HIV/AIDS ve kemoterapi tedavilerine fayda sağlayacak sentetik kannabinoidleri geliştirme aşamasına başlamışlardır. Geçen onca yılın sonunda Huffman ile grubu beyinde ve bir kısım organlarda kannabinoid reseptörlerin etkililiğini ölçmek için yapılan testte 45 adet sentetik kannabinoid sentezlemişlerdir. 2000 senesinin sonunda Prof. Dr. Huffman’ın 2 adet sentezlediği ürününü Almanya’da marihuanın alternatifi olarak piyasaya sürülmüştür. Huffman sentezlediği maddeleri bilimsel araştırmalarda kullanılmak amacıyla geliştirmiş olsa bile daha sonra bu ilaçların kötüye kullanımından sorumlu olduğu belirtilmektedir. Huffman ile grubunun sentezlemiş olduğu JWH serisi, sentetik kannabinoidler içinde en belirgin ve tartışmasız en dominant kannabinoidlerdir. JWH-18(John W. Huffman-) 1995’te sentezlenmiştir(Şekil 5). Üretiminin kolaylıkla yapılabilmesi , yüksek farmakolojik aktiviteye sahip olması sebebiyle olumsuz tüketimi çok olan bu madde tercihte ilk sırayı alan kannabinoidler arasındadır.⁷



Şekil 5: JWH-18

Sentetik kannabinoidleri sentezleyen diğer bilim adamı da Prof. Dr. Alexandros Makriyannis' dir. Prof. Makriyannis, Northeastern Üniversitesi Farmasötik Kimya Bölümünde çalıştığı ekip ile bir arada birçok kannabinoid reseptörünün aktivisini sağladığını gösteren bileşikler sentezlemiştir⁷. Bunlar içinde en fazla ön plana çıkan bileşik AM-2201(Alexandros Makriyannis-2201)'dir (Şekil 6).



Şekil 6: AM-2201

Sentetik kannabinoidlerin internet üzerinden “head shop” diye adlandırılan marketlerde satılması olmakta ve bitki maddesi olarak piyasaya sürülmektedir. Aynı zamanda bu bitki karışımların tüketilmesiyle oluşan bağımlılık yapıcı etkisinin olması, özellikle internette ve madde piyasalarında konuşulmaya başlanması ve sentetik kannabinoidlerin ününün artmasıyla yükselişe geçmesine neden olmuştur. Sentetik kannabinoidler öncelikle Avrupa ülkelerinde dikkatleri cezbetmiştir, fakat günümüzde de sentetik kannabinoidlerin olumsuz tüketimi tüm dünyada görülmeye başlanmıştır⁸.



Şekil 7: Spice(bonzai)

European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction'nın (EMCDDA) 2008 yılındaki rapor da, yeni nesil psikotrop madde çeşidi tanımlaması yapılmış ve JWH-018 ilk klasik olmayan kannabinoid diye sınıflandırılmaya başlanmıştır. O zamandan bu yana EMCDDA, sentetik kannabinoidleri, her sene ortaya çıkarılan yeni ürünlerin sayılarına bakılarak, yükselişe geçiş oranında hızlanan bir madde çeşidi olarak tanımlama yapılmaktadır (EMCDDA 2009 Raporu: 9 madde; EMCDDA 2010 Raporu: 11 madde)⁸. 2011 yılında ortaya çıkan madde çeşitlerinin 2/3'ünü sentetik kannabinoidler ile sentetik katinonlar oluşturmaktaydı. Aynı zamanda bu 2 sınıf madde, 2005 yılından bu yana kısa sürede haber veren sistem sayesinde bildirilen yeni madde çeşitlerindeki 2/3'ünü oluşturmaktadır. 2011 yılında Drug Enforcement Administration (Uyuşturucu ile Mücadele Dairesi) bu madde çeşitlerinin sentezinde kullanılmış bir kısım özel kimyasalların belirlenmesini sağlamıştır. Fakat, yasanın koyduğu sınırlandırmaların bir basamak önünde olabilmek için maddelerin kimyasal yapılarında oynamalar ile yeni maddeler yapımının devamlılığı sağlanmaktadır⁸. Sentetik kannabinoidlerin büyük çoğunluğu farmasötik gayelerle yapılmış ve bilime katkı olarak literatürde yer almıştır. Fakat bir kısmı yasadışı laboratuvarlarda sentezlenmektedir⁸.

Sentetik kannabinoidlerin sebep olmasıyla oluşan ilk intoksikasyon, 240 günlük "K2" tüketimi sonucu oluşan sürekli bağımlı olma durumu olduğu düşünülen bir bireyde rastlanılmıştır. Günümüzde "K2" ismi verilen sentetik kannabinoidlere maruz kalma sonrasında bildirilen ölümlerin artması nedeniyle sentetik kannabinoidlerden çıkabilecek tehlikeler önem arz ettiğinden halkın sağlığı için sorun haline gelmeye başlanmıştır. The American Association of Poison Control Centres, (AAPCC, Amerikan

Zehir Kontrol Merkezleri Derneği) “Spice”ye maruz kalanların sayısı 2009’da 53.000 olduğu söylenirken, 2011’de 13.000 olarak bildirmiştir⁸.

Amerikadaki genç grubunun oluşturduğu ve maddenin kötü kullanımının prevalans oranını belirlemek için Michigan Üniversitesi tarafından ortaya konulan “Monitoring the Future” çalışmalarında 8. 10. Ve 12. Sınıf öğrencilerinin oluşturduğu 45.000 ile 50.000 arasındaki kişiler araştırılmıştır. 2012’de sentetik kannabinoid tüketiminin senelik prevalans oranınının 12. Sınıflarda %11.4, 8. Sınıflarda %4.3, 10. Sınıflarda %8.7 olduğu belirtilirken, bu hızlı kullanım oranını düşürmek için devletin ve eyaletlerin çaba göstermelerine rağmen, oranın fazla olduğu bildirilmiştir. Alkol ve sigara dışında sentetik kannabinoidlerin 10, ve 12. Sınıftakiler içinde marihuandan sonra ikinci olduğu, 8. Sınıftakiler içinde marihuana ve inhalasyonlardan sonra üçüncü olarak en fazla tüketilen madde olduğu belirtilmiştir⁹.

Hu ile ekip arkadaşları, araştırdıkları bir okulun öğrencilerinin %8’inin “K2” kullanmakta olduğunu ayrıca bu maddeyi tüketenlerin birçoğunun, ilk veya ikinci yılında olan erkek öğrencilerinin oluşturduğunu bildirmişlerdir. Çalışmanın devamında, öğrenciler içinden sentetik kannabinoidlerin nargilede (%87), esrarda (%90) ve sigarada ise (%76) oranlardan oluşan bir arada tüketiminin de olduğu belirlenmiştir¹⁰. Miami-Dade’de olan Güney Miami Hastanesi Bağımlılık Tedavi Merkezi’nde değerlendirmeye alınan 11 ergenin 10’unda (14-18 yaşlarında) “K2” ile içki maddesinin kötü tüketiminin bir arada bulunduğu gözlemlenmiştir¹¹.

1.4.2. Türkiye’de Sentetik Kannabinoid Kullanımı

Türkiye’de resmîyete geçen ilk sentetik kannabinoidin yakalanması 2010 yılının beşinci ayında gerçekleşmiştir¹². Bu maddeler çoğunlukla bitkisel ürünler şeklinde piyasaya sürülüp, “insanların kullanımına uygun değildir” gibi ifadelerin basımı yapılarak pazara sunulurlar. Türkiye’de 2010 yılı da dahil olmak üzere sentetik kannabinoid yakalamalarında artmanın olduğu, ele geçirilen maddelerin 2012 yılında oluşan verilerin, 2011’deki verilere göre 9 katlık bir artış olduğu ve yakalama yapılan şehir sayılarının 20’den 45’e yükseldiği bildirilmiştir. Türkiye’de 2012 senesinde 3.400 sentetik kannabinoid yakalamalarında 4.780 şüpheli yakalanmıştır. 2012 yılındaki olayların sayısı bir önceki seneye göre 19 kata kadar arttığı, şüpheli sayısında da yaklaşık 57 kat artış gerçekleştiği bildirilmektedir¹².

Aksel ve ekip arkadaşları 2012-2014 seneleri arasında Acil servise başvuran bireylerden 197 Sentetik kannabinoid toksikasyon olgusundan 2 ölüm oluştuğunu, 141 olgunun ise 6-12 saat izlemeye alındığı bildirmiştir¹². Sentetik kannabinoid (bonzai) kullanımının son zamanlarda özellikle de 2014 yaz aylarında ise daha belirgin olarak arttığını vurgulamışlardır. Bu bireylerde düşük seviyede semptomlar görülebileceğinden, ölümlerde karşılaşılabileceği mümkündür. Özellikle ölümcül solunumu olan, düşük GKS skoru olan ve yüksek PaCO₂ değerlerine sahip hastaların ölümcül seyredebileceği bildirilmektedir¹².

1.4.3 Sentetik kannabinoidlerin genel özellikleri

Sentetik kannabinoidler çoğu zaman katı veya yağ halinde bulunurlar. Genellikle saf hali beyazdan griye, sarı ya da kahverengi renkler arasında değişen ince kristal yapılar halindedirler. Çoğunlukla sentetik kannabinoidlerin suda çözünürlüğü düşüktür. Bu bileşiklerin geneli lipofiliktir ve metil alkol, asetonitril, etil asetat, etil alkol ve aseton gibi çözücüler içinde iyi çözünürlük göstermektedir. Bir veya daha fazla sentetik kannabinoid karışımı bir solventte (aseton, etil alkol, metil alkol vs) çözüldükten sonra parçacık haline getirilen bitkilerin üzerine püskürtülür, daha sonra solvent buharlaştırılır ve bu bitkisel karışım tekrar kurutulduktan sonra paketlenir ve piyasaya sürülürler. Bu maddeleri piyasaya sürebilmek için genellikle limon otu, nane, kekik, adaçayı, pelin otu gibi bitki türleri tercih edilmektedir¹³. Bu bitkilerin bulmak oldukça kolay olup, püskürtülen etken maddeyi üzerinde iyi bir şekilde muhafaza edebilmektedir. İlk kez Türkiye’de bonzai olarak bilinen sentetik kannabinoidin bonzai ismi verilirken minyatür ağaçtaki yaprakların kullanılmasından dolayı “bonzai” isminin verilmiş olduğu düşünülmektedir. Çoğunlukla sentetik kannabinoid içerikli bu bitkiler kurutulduktan sonra, çoğu zaman küçük gümüş plastik poşetlere yerleştirilen ve ambalajlar üzerinde banyo tuzu, bitkisel gübre, koku giderici, tütsü ve insan kullanımı için değildir gibi ifadeler bulunan paketlemeler halinde satışa sunulmaktadır¹³. Genellikle, Çin, Hindistan ya da Asya’da üretilip, Avrupa ülkeleri üzerinden dünyaya yayılmıştır¹³.

Bu maddeler kullanıldıktan sonra belli bir süre geçince akciğerlerde toplanması ve az zamanda beyin gibi bir kısım organlara tekrar dağılımının oluşmasıyla sentetik kannabinoidlerin etki etmesi çoğunlukla 2-5 dakika içinde başlamaktadır. Fakat oral tüketim yapıldıktan sonra, gıda alımına veya ilk geçiş sistemindeki farklılıklara bağlı olacağından etki etme süresinde biraz gecikme olabilmektedir. Yağda çözünen bu yapıdaki moleküller büyük ihtimalle dağılım hacminin yüksek olmasından

kaynaklanmaktadır. Bu maddelerin sürekli tüketimi sonrasında vücudun yağ bulunduran kompartmanlarında depolanırlar¹⁴.

Etki etme sürelerinin farklılık göstermesine rağmen genel olarak saatler sürer. JWH-018'in etkisi 1-2 saat sürdüğü belirtilirken, CP-47,497-C8'in etkisinin de 5-6 saat boyunca devam ettiği bildirilmektedir. JWH-018'in bazı metabolitlerinin, CB-1 reseptörlerine JWH-018 gibi bağlanma isteği olduğu söylenmiştir. Genellikle Δ9-THC'den farklı olarak yarılanma ömürleri uzundur ve toksik etkileri daha fazla sürmektedir¹⁵.

Sentetik kannabinoidlerin dönüşümünden karaciğer enzimleri sorumludur. Bazı Sentetik kannabinoidlerin yarılanma ömrü uzundur. Örnek olarak; JWH- 018 vucuda girdikten sonra 1 gün sonunda kanda, 12 saat sonunda ise tükürükte saptandığı bildirilmektedir. Tüketilen doz miktarının azlığının 0,5 ile 5 mg arasında bulunduğu bildirilmektedir. Sentetik kannabinoidler diğer maddeler ile karıştırılıp ve bunlara kıyasla düşük miktarlarda bulunmaktadır. Bu sebeple sentetik kannabinoidleri belirleyebilecek ölçümler yeterliliğe sahip hassasiyette olmalıdır. Sentetik kannabinoidler vücudun bazı özellikleri tarafından hızlıca, bilinmeyen metabolitlere dönüştürüldüğü için idrar analiz numunelerinde tespiti için yeterli değildir. Aynı zamanda birden çok sentetik kannabinoid, benzer özellikteki metabolitlere dönüştürüldüğünden dolayı idrar analizinden çıkan sonuçlar hangi sentetik kannabinoidlerin kullanıldığını gösterememektedir. Sentetik kannabinoidlerin çoğu metabolitinin CB1 reseptöre bağlanma isteğini devam ettirmesi ve farklı oranlarda glikoproteinlerin aktivasyonunun oluşması önem teşkil edecek yan tesirlere ve güvenlik ile ilgili sorunlara yol açmaktadır¹⁵.

1.5 Sentetik Kannabinoid Türleri

Sentetik kannabinoidlerin yapısal özellikleri birbirine benzer olan kimyasal maddelerdir. Bundan dolayı insanların hücrelerinde var olan CB1 ya da CB2 adı ile tanımlanan kannabinoid reseptörlerine bağlanan yapısal özelliklere sahip olduğu bilinmektedir. CB1 reseptörü genellikle beyin ve omurilikte bulunur. CB1 kannabisin karakteristiğine, fizyolojik ve en önemlisi de psikoaktiflik etkilerinden sorumludur. CB2 reseptörü de genellikle dalakta ve bağışıklık sistemin hücrelerinde bulunmaktadır. Bağışıklık sistemindeki düzenleyici etkilere aracı vaziyetinde bulunur. Sentetik kannabinoidlerin fonksiyonel kısımları kannabisin temel aktif maddelerine benzerlik

göstermektedir ve tütün gibi tüketildiğinde esrar gibi etki etmektedir. Esrar gibi maddeler kannabinoid reseptör agonistlerine çok fazla eğilim göstermektedir. Uzun yıllar boyunca ağrıyı dindirmeyi amaçlayan terapötik ilaçlar gibi geliştirilmesi sağlanmıştır. Bir kısım sentetik kannabinoidler CB1 veya CB2 reseptörlerine THC'den daha fazla ya da benzer şekilde bağlanma isteği gösterebilirler. Fakat bu ilaçların psikotrop olarak etki etmesinden seçici olan terapötik özelliğini kontrol altına almak çok güçtür. Aynı zamanda bu ilaçların kannabisten daha çok ilgi odağı haline geldiği ortaya konulmuştur¹⁶.

Sentetik kannabinoid maddelerin kimyasal yapı bakımından sınıflandırılması aşağıda olduğu gibi yapılmıştır¹⁶.

Klasik kannabinoidler: THC'nin, kannabisin bir kısım bileşenleri ve onlar ile yapı bakımından benzerlik gösteren sentetik çeşitleri HU-210, AM-906, AM-411 ve O-1184

Klasik olmayan kannabinoidler: Siklokekzilfenol ya da CP-47,497-C8; CP-55,940; CP-55,244 gibi 3-arilsikloheksanoller

Hibrid kannabinoidler: Klasik ya da klasik olmayan kannabinoidlerin yapı bakımından özelliklerinin kombinasyonları AM-4030

Aminoalkilindoller (AAIs): Naftoyilindollere bölünmüş olanlar (JWH-018, JWH-073, JWH-398, JWH-015, JWH-122, JWH-210, JWH-081, JWH-200, WIN-55,212); fenilasetilindoller (JWH-250, JWH-251); naftilmetilindoller ve benzoilindoller (pravadoline, AM-694, RSC-4)

Eicosanoidler: Anandamide ve bu gibi sentetik analogu olan endokannabinoidler; (metanandamid)

Diğerleri: Diarilpirazoller (selektif CB1 antagonisti Rimonabant), naftoilpiroller (JWH-307), naftilmetilindenler ya da naftalin-1-yl-(4-pentyloxynaphthalen-1-yl) methanone (CRA-13), indazol karboksamid (APINICA)

1.5.1. Sentetik kannabinoidlerin etki mekanizması

1998 yılı ve sonrasında THC'nin psikoaktif etkisinin belirlenmiş nöronların seçici bariyerleri üzerinde yerleşmiş doğal yüksek bağlanma isteği olan bir reseptör yardımı ile yaptığı kanıtlanmış böylece bu reseptöre kannabinoid (CB) reseptörü ismi verilmiştir³⁸. Sonraki yıllarda beyinde ve periferde bulunan iki farklı CB reseptörlerin varlığı kanıtlanmış ve bu reseptörler CB1, CB2 olarak adlandırılmıştır. Aynı zamanda

CB3 tipi reseptörlerin olduğunu bildiren verilere ulaşıldığı söylenmiştir. CB1 reseptörü, santral sinir sistemi ve çevresel sinir sistemindeki nöronların membranı üzerine yerleşmiş, 7 transmembranal segmentli, G proteinleriyle birleşen reseptörlerdir. CB2 reseptörleri ise lenfoma dokuları ile birlikte bağışıklık sistem hücrelerinin membranı içinde yerleşmiş, yapısal olarak CB1 reseptörleriyle benzerlik gösteren ve G proteinleriyle birleşen reseptörlerdir¹⁷. Bu zamana dek toplanan deney verilerinin, THC ve bir kısım kannabinoidlerin davranış değişikliğinin ve nörokimyasal olarak etki etmesinin, keyif artırıcı etkisini de içine alan nöronların CB1 reseptörleri yardımı ile oluştuğunu göstermektedir¹⁷. CB1 reseptörler G proteini yardımı ile adenilat siklazı inhibe eder. CB1 reseptörü beynin en fazla bazal ganglionlarında, hipokampusta ve limbik sisteminde bulunmaktadır. CB1 reseptörleri kannabinoidlerin duygu hallerinde artış, anksiyete ve nöbet geçermeye benzer psikotrop etkilerinin oluşumundan sorumlu olmaktadır. Bununla birlikte aneljeziye, motor fonksiyonunda düşüşe, hafızada ve zamansal kavramlarda sorunlar oluşmaya başlar, görme ve işitme algısını etkilerler¹⁷.

CB2 reseptörleri, CB1 reseptörler gibi hücrelerde aynı olabilecek etkiyi gösterebilmektedirler. Dalak ve lenf düğümüne benzer olan lenfositlerden hücrelerin zengin yapısında çokça bulunmaktadır. İmmün sistemlerin düzeninin sağlanmasında faydalarının olabileceği düşünülmektedir. Karaciğer, akciğerler ve böbreklerde CB1 reseptörlerle bir arada bulunmaktadır¹⁸.

Kannabinoid reseptörleri ayrıca diğer reseptörler ile kompleks halde olabilirler. Opioid reseptörlerle arasındaki etkileşimi sağlayan, etkili ağrıyı kontrol altına almasını sağlayan farmakolojik projelerin ilgisi haline gelmiştir¹⁹. Avrupa'da "K2" örnekleri arasında bulunduğu belirtilen sentetik kannabinoidler JWH-018, JWH-073, JWH-398, JWH-250, HU-210, CP-47, 497 ve homologları lipofilik olan, apolar olan, görünümsel şekli 20-26 karbonlu atom olan, uçuculuğu fazla moleküllerdir²⁰. İndollerin kannabinoid reseptörler için oluşan bağlanma isteği Δ^9 -THC'nin üç anahtar bölgesi şeklinde açıklanabilmektedir. Bu 3 noktalı bağlanma naftalen halkası, karbonil grubu ve indol halkasındaki N-alkil grubudur. Naftalenin yerine geçebilecek olan metil-, metoksi-veya floro-, kloro- ve bromo- bulunduran fenasetil grubunun CB1 reseptörlerinde bağlanma isteğinin arttırmasına sebep olabileceği bildirilmiştir. Aynı zamanda benzoilindollerin, pirollerin ve indenlerin de potansiyel kannabimimetiklerin aktivasyonlarının oluştuğu bildirmişlerdir²⁰.

1.6. Sentetik Kannabinoidlerin Farmakolojisi ve Toksikolojisi

1.6.1 Farmakolojisi

Kannabinoid reseptörler kompleks endokannabinoid sistemin bir bölümüdür. Bu zamana kadar iki çeşit kannabinoid reseptör belirlenmiştir ve bunlar CB1 ve CB2 reseptörleridir. CB1 ve CB2, adenilat siklaz aktivesini baskılayan G proteinine bağlanmış reseptörlerdir. G proteinine bağlanmış reseptörlerin aktive edilmesiyle, kalsiyum girişi ve potasyum çıkışıyla presinaptik hiperpolarizasyona sebep olmaktadır. Bu sayede nörotransmitterin salınması azaltılabilmektedir. Aynı zamanda, N ve P/Q tipi kalsiyum kanallarının inhibasyonunu sağlarken, A tipi potasyum kanallarını ve mitojenle aktivesi sağlanmış olan protein kinazı inhibe ederler²¹.

CB1 reseptörleri, G proteinine bağlanmış olan reseptörler arasında beynin içinde en çok oluşanlar arasında yer almaktadır. Gama-aminobutirik asit ile glutamat nörotransmisyonunun düzeninde önem arz etmektedir. Genelde yoğunluğunun fazla olduğu kortikal bölgesinde, omurilikte spinal gangliyonlarında ve periferdeki organ ve dokulardan ağrı durumunu oluşturan çevresel sinir sisteminde bulunurlar²².

CB2 reseptörleri, çoğu zaman dalağın marjinal zonunda, bademcikde, bağışıklık sisteminin bir bölümü olan makrofajlarda, B hücrelerinde, doğal katil hücrelerde, monositlerde, T-lenfositlerde, PMN'lerde ve yıldız hücrelerde bulunurlar²³.

CB2 reseptör agonistleri, CB1 reseptörlerinin oluşturduğu psikotrop etki oluşmasıyla iltihaplanma ağrılarını azalma ihtimalinin olması sebebiyle, araştırma sahasının ilgi alanına girmiştir. Kannabinoid reseptör agonistlerinin meme kanserinin oluşumunda veya büyümesinde, insandaki PC-3 prostat kanserli hücrelerin artmamasını sağladığı ileri sürülmüştür. CB2 reseptörlerinin beynin alt kısmında, kortekste veya serebellumda olduğu ve kusmanın kontrolünde rol almış olabileceği bildirilmiştir²³.

Kannabinoid reseptörleri ayrıca diğer reseptörlerle heterodimerler şeklinde kompleks oluşturabilirler²⁴. Kannabinoid reseptörleri ve opioid reseptörleri arasında oluşan bağ yeni ve etkili ağrılarının kontrol altına alınmasını sağlayan farmakolojik projelerin hedefindedir²⁴.

Sentetik kannabinoidlerin CB1 reseptörlerine olan bağlanma isteği JWH-200'ün ve Δ9-THC'nin bağlanma isteği benzer olabilirken, JWH-210'nun bağlanma isteği Δ9-THC'ninkinden 90 kat daha fazla da olabilir²⁴. Sentetik kannabinoidlerin endojen

kannabinoid reseptörlerine daha fazla bağlanma isteğinin oluşması, özgül kanabisten çok kuvvetli bir etkiyi oluşturmaya neden olur²⁵.

Sentetik kannabinoidlerin birçoğunun insanda incelenen farmakokinetik ve farmakodinamik özelliklerinden oluşan bilginin az olduğu söylenmektedir. Sentetik kannabinoidlerin çoğunlukla tütün gibi kullanılsa da solunum yoluyla, oral veya rektal şeklinde tüketimi de bildirilmiştir. Parenteral şeklinde tüketimi ise daha bildirilmemiştir²⁵.

Sentetik kannabinoidlerin solunum yoluyla ya da oral yol ile alınımından sonra biyoyararlanımlarından çıkan sonuçların verileri bulunmuş ancak biyoyararlanım sürecinin bir kısmı bilinmemektedir. Detoksifiye edici yöntemler ya da boşaltımda gereksinim duyulan metabolik yollar henüz aydınlatılmamış olsa da çoğunlukla, hepatik sitokrom P450 oksidasyonunu glukuronik asit konjugasyonunun ve böbrek atılımının geldiği düşünülmektedir²⁶. Sentetik kannabinoidlerin insanda oluşan etkileri $\Delta 9$ -THC'ye göre farklılık göstermiş olsa da [JWH-018'in süresinin az (1–2 saat); CP-47,497 veya C8 homoloğu süresinin çok (5–6 saat)] , çoğu zaman, yarı ömür süresi uzundur ve toksik etki etme süresinin de fazla olduğu bilinmektedir. Aminoalkilindollerin eboşaltımı farklı ürünler gibi idrar yollarıyla atıldığı gözükmüş olsa da bilinmeyen bir kısmının da dışkıyla atılımın gerçekleştiği düşünülmektedir. C8'in idrardaki ürünlerinin yoğunluğunun düşük olması, idrardaki numunenin laboratuvarında normal koşullarda incelenmesiyle saptanmasını zorlaştırmaktadır²⁶.

$\Delta 9$ -THC'den ayrı yönü, sentetik kannabinoid ürünlerinin farklı oranlarda biyolojik aktivasyonları vardır ve CB1 reseptörlerinde agonist, antagonist, ters agonist veya nötral antagonist şeklinde etki edebilirler. JWH-018'in omega-hidroksil ürününün glukuronik asit konjugatı CB1 reseptörleri için bağlanma isteğini devam ettirir ve nötral antagonist şeklinde etkinlik gösterir²⁷. JWH-073'lerin mono-hidroksile grupları ise CB1 reseptörlerine orta veya yüksek seviyelerde bağlanma isteği sergilerken parsiyel agonist veya nötral antagonist şeklinde etki göstermektedir. Sentetik kannabinoidlerin birçok ürününün CB1 reseptöre bağlanma isteğini devam ettirmesi ve farklılaşan seviyelerde iç kaynaklı aktivasyon oluşması, sentetik kannabinoidlerin biyotransformasyonunda oluşan ve son derece ciddi yan etkileri açıklar ve güvenlikle alakalı oluşan kaygıları vurgular²⁷.

CB2 reseptörlerine bağlanma isteği oluşan JWH-015 veya JWH-133 benzeri sentetik kannabinoidlerin, T lenfositlerin kemotaksisini etkileyerek veya timik atrofi ve apoptoza sebep olarak vücuttaki bağışıklığa tesiri olmaktadır. Aynı zaman nöronlarda ve glial hücrelerde CB2 reseptörlerinin varlığı, sentetik kannabinoidlerin sürvi benzeri ana nöronal süreçlere etki ettiği düşündürmektedir²⁸. Hamsterlerin JWH-015'e sürekli kötü madde tüketimine naruz kalması ve depresyondaki hassasiyetin artması; limbik sistemin ödüllendirme merkezinde JWH-133 uygulanması ise doza bağımlı olarak marihuananın ödüllendirici ve lokomotor uyarıcı etkilerindeki düşüşle ilişkili olduğu bulunmuştur²⁸.

1.6.2. Toksikolojisi

Sentetik yapıdaki kannabinoidler özgül yapıdaki kannabinoidlerden etkililiğin fazla olduğu söylene de bireylerde iyi olmayan sonuçların oluşması ile ilgili bilgiler azdır. Sentetik kannabinoidlerin bulunabilmelerini sağlayan güvenlik testlerin olmaması veya bu şekildeki maddeler de belirsiz yapıların ortaya çıkması, literatür taramasında tutarlılığını ve olumsuz tüketimleri kısıtlamıştır²⁹. Sentetik kannabinoidlerin sürekli tüketimi, kronik kanabis kullanımıyla aynı durumda bağımlı olma belirtileri, yoksunluk semtomlarına ve ruhsal bozuk belirtilerine neden olur. Fakat kanabisten ayrı durumları, vucuttaki akut toksikasyonlarının iletimleri birçok uyarıcı veya sempatomimetik maddelerin tüketiminde oluşana benzemektedir. Sentetik kannabinoid bulunduran bir kısım maddelerin toksikliği değerlendirilirken bu maddelerin yağ asitleri ve esterlerini (linoleik asit), amid yağ asitlerini (oleamid,), bitki kökenli maddeleri (öjenol), koruyucu maddeleri (benzil benzoat), katkı maddelerini (alfa-tokoferol) ve $\beta 2$ adrenerjik agonist olan klenbuterol benzeri sempotomimetik etki (terleme, kalp ritmi artışı, anksiyete) oluşturabilecek diğerlerinde bulunduğu unutulmamalıdır²⁹. On altı çeşit bitkisel ürünün aynı zamanda kırk farklı olgunun araştırıldığı bir çalışmada, olgudan olguya değiştiği görülen farklı kombinasyon oranlarında 11 çeşit sentetik kannabinoid saptanmıştır. Bundan dolayı, sentetik kannabinoidleri içerdiği söylenen maddelerin klinik etkilerini bulmak oldukça zor olduğu söylenmiştir²⁹.

Sentetik kannabinoidler vücuttaki toksikasyonların genelinde klinik vakalarda oluşan eklileşim zamansal olarak 8 saatten daha az olurken, diğerlerinde 1 günden fazla sürebilmektedir³⁰. Sentetik kannabinoid tüketimi sonrasında bir kısım bireylerde sedasyon olduğu bildirilirken, diğer kişilerde ajitasyon, mide bulantısı, vücutta sıcaklığın artması, göz yanması, ağızda kuruluk, midriyazis ve taşikardi görülür³⁰.

Klinik vakalarda görünen belirtilerin değişikliklerinin sebebinin ne olduğu bilinmemektedir. Fakat bir kısım sentetik kannabinoidler uyarıcı gibi hızlı etkiyi oluştururken, diğer kısım sentetiklerin çoklukla kanabis şeklinde sürekli toksit etki göstermesine veya tüketilen K2'lere, maddelerin etki durumuna göre bireysel yatkınlığa, kullanılan madde miktarına ya da birçok etken sebep olmuş olabilir³¹.

Sentetik kannabinoid kullanımından sonra bildirilen ve en çok belirtilen fiziksel etki taşikardidir³². Kalp ritminde artış oluşumu marihuana tüketen bireylerde sık sık görülür. Fakat Hoyte ile ekip arkadaşları, marihuana zehirlenmesiyle gelen hastalarda çoğunlukla azalmış psikomotor gelişim, sedasyon ve patolojik uyku durumu oluştuğunu, sentetik kannabinoid zehirlenmesinde ise ajitasyon ve uyarılara karşı aşırı tepki verme durumu sıklıkla belirtilen klinik bulgularda ikinci sırada yer almaktadır. Aynı zamanda, sentetik kannabinoid tüketimi sonrasında titreme ve kalp çarpıntılarının olduğu belirtilmiştir³².

Sentetik kannabinoidlerin maruzluğunu yaşayan bireylerin genelinde bu maddelerin belirtileri az da olsa bulunsa bir kısım bireylerde kalp krizi gibi hayatı tehdit eden olaylara sebep olabilir. Nöbetler ve epileptik durumun sentetik kannabinoid kullanımı sonucu oluşsa da kanabis intoksikasyonu ile ilişkili değildir³². Santral sinir sisteminde CB1 reseptörleriyle etkileşebilecek reseptörlerin olup olmadığı belirtilmemek ile birlikte Gama-aminobutirik asitin sinir iletimi inhibisyonuyla nöbetlere sebep verdiği belirtilmiştir. Fakat başka bir görüşte tüketilen bitki karışımların içinde yer alan sentetik maddenin opioid grubundaki ağrı kesici diye adlandırılan tramadolun etken metoboliti O-desmethyltramadolun bu nöbet geçirmelere sebep olabileceği belirtilmiştir³².

Hastane kliniğinde 90 günlük zamanda sentetik kannabinoid içeren maddeleri tüketen 3 gençte akut ST elevasyonlu miyokart infarktüsünün olduğu bildirilmiştir. Fakat oluşturulan bir grup tarafından, sentetik kannabinoid kullananlarda miyokard infarktüsü ile ilişkili bir şey bildirilmemiştir ve böyle olayların ayrılmış olabileceği düşünülmüştür. Böyle olayları belirtmek için iki ihtimal söz konusu olabilir; sentetik kannabinoid içeren bu maddeler, kalbin etrafını çevreleyen damarların tıkanmasına sebep olduğu düşünülen maddeler de içeriyor olabilirler veya bu maddelerde henüz ne olduğu belirlenmemiş ve bir tek vazospastik anginaya sebep olan sentetik kannabinoidler bulunuyor olabilir. Literatürde, Sentetik kannabinoid kullanımına bağlı olabileceği belirtilen 1 ölüm durumu bildirilmiştir. Solunum yoluyla Sentetik kannabinoid tüketen 58 yaşında bir

erkek hasta, kalp durmasıyla hastaneye getirilmiştir. Fakat yapılan klinik bulguların Sentetik kannabinoid ile ilişkilendirilip veya ilişkilendirilmediği bilgisi kaydedilmiştir³².

Aynı zamanda sentetik kannabinoidleri tüketen, bireyi bir takım tehlikeli durumlara yol açabileceği ya da ölüme sebep olabileceği için de tehlikelidir. Daha sonraki dönemde oluşan zihirlenmeyle birlikte, Sentetik kannabinoid tüketimiyle oluşan intiharların sayısında da artma olduğu görülmektedir. Sentetik kannabinoid kullanımı sonucu oluşan belirtilerin kaldırılmasını sağlayan ve duygu durum bozukluğu kontrolü için benzodiazepinlerin kullanılması önerilmiştir³³.

Sentetik kannabinoidlerin etilen, kenevir veya tütün benzeri diğer psiko trop maddelerle bir arada tüketildiği bildirildiğinden, zehirlenme olayından dolayı bir hastanın hataneye gelmesiyle klinikteki hekimler böyle durumlar dikkat etmeleri gerekmektedir. Aynı zamanda zehirlenmelerin genelinde hastanın aktivitesinde yükselmeye sebep olduğu, bundan dolayı hastaların böbrek yetmezliğine neden olabileceği belirtilmektedir³³.

Sentetik kannabinoidlerin sürekli alımı ve zehirlenmeler ile ilgili veriler kısıtlıdır. Fakat sürekli marihuana kullanımının uzun dönem etkilerine bakılarak yorumlar yapılabilir. Sentetik kannabinoidleri uzun süre marihuana alımı gibi artmış ruhsal faktör ile ilişkilendirilmiştir. Ergenlerin yoğun tüketimi sonunda kişilerde yaşa ve doza bağlı olarak değişmektedir. Bunlar gibi, uzun süre sentetik kannabinoid tüketenler çoklukla işitme ve görme organlarından paranoya durumlarına, düşünsel bloktan konuşma bozukluğuna, aşırı endişe ve uykusuz olma durumundan tut ta intihar eğilimine kadar farklılaşan ruhsal bozukluk belirtileri yaşarlar³⁴. Bundan dolayı, uzun dönem Sentetik kannabinoid tüketiminin duygusal işlemde ve bilişsel durumlarda önem arz eden farklılaşmalar bulunabileceği iddiası bulunmaktadır. Bir defadan çok Sentetik kannabinoid tüketimi yapan (21 gün içinde 4 seferden, 18 ay boyunca hergün tüketimine kadar), hasta olmayan 10 erkekte yeni ruhsal bozukluk belirtileri görüldüğü belirtilmiştir. Aynı zamanda, Sentetik kannabinoid kullanımının psikoz nüksü ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bütün bu bilgiler ışığında, kanabise benzer özellikte sentetik kannabinoidlerin, eğilimi olan kişilerde, bilinçaltında yatan ruhsal sağlığı bozduğu ya da ruhsal gelişimini hızlandırdığı söylenebilir³⁴.

Uzun süreli Sentetik kannabinoid kullanımı ile ilgili diğer bir olası zararın da özellikle naftil grubu olan metabolitlerin taşıdığı karsinojenik potansiyel olduğu öne sürülmüştür³⁴.

Sürekli sentetik kannabinoid alımından sonra vücudun bunu tolere etmesi ve yoksunluk durumunun arttığı bildirilmektedir. Sentetik kannabinoidleri tolere etmesinin kısa sürdüğü bunun sebebinin bu maddenin yüksek bağımlılık potansiyeline sahip olduğu söylenilebilir. Bunun sonucunda oluşan yoksunluk krizi; ruhsal bozukluk, çok terleme, madde isteği, baş ve mide ağrı durumları, korkunç rüyalar, uykusuzluk, odaklanma zorluk çekme ve depresyon şeklinde tariflenmiştir³⁵.

1.7. Yasal durum

2009 yılında, sentetik kannabinoidler Avrupa'nın çoğu ülkelerin de uyuşturucu yasası ilkesine eklenmiştir. Yasada yapılan değişiklikler bu maddelerin yapımını, satışını ve bulundurulmasını kısıtlamıştır. Bu kısıtlanan zorlukları gidermek şartıyla sentetik kannabinoidlerin farklı biçimleri devamlı bir şekilde piyasaya sürülmektedir. Bundan dolayı sentetik kannabinoidlerin belirlenmesi ve saptanmasıyla bu maddeler ile mücadele etmek daha kolay olacaktır³⁶.

Avrupa'da Bağımlılık ve Bağımlılık Yapıcı Madeleri İzleme Merkezi (EMCDDA) yeni bağımlılık yapıcı maddelerle mücadeleyi daha kolay hale getirmesini sağlayan EWS (Early Warning System) ismi oluşturulmasıyla erken uyarı vermesi sağlanmıştır. Bu sistem EMCDDA'ye bağlı ulusal birimdir. Türkiye'de de erken uyarı sistemi TUBİM tarafından yapılmaktadır. Oluşturulan gruplar yardımıyla EMCDDA'ye gelen haberlerle üye ülkelerin hepsi ile paylaşılmasıyla yeni maddelere karşı çabuk önlem alınması sağlanabilmektedir. Yeni çıkarılan maddelerle ilgili gelen haberlerin belli bir oranın üstünde olduğunda EMCDDA Avrupa Polis Teşkilatı ile bir arada genişletilmiş bilimsel ekibinin oluşturulmasıyla madde ile ilgili ortak rapor hazırlamaktadır. Hazırlanan raporda maddelerin kimyasal yapısı ve tanımı fiziksel tanımı yer almaktadır. Bununla birlikte dışarda kullanılan adı, yakalanan maddelerin sayısı, kullanıcı sayısı, ne şekilde el değişikliğinin yapıldığı, yapım metodu, kullanıcılardaki sağlık risk boyutu, madde sebebiyle ölümün oluşması, devam eden herhangi Avrupa Birliği'ne bağlı ülkede yasaklanıp yasaklanmadığı gibi durumlara yer verilmiştir. Hazırlana Rapor sonrasında eğer madde tehlikeli olarak görülmüş ise üye olan ülkelerin maddeyi 6 ay içerisinde yasaya alması gerekmektedir. Şuana dek çıkan sonuçlar Meta-Klorofenilpiperazin (2005), Benzilpiperazin (2007) ve Mefedron (2010) ile ilgilidir. Bu sistemin bağımlılık yapıcı maddeler ile mücadelede önemli olduğu düşünülmektedir³⁶.

TUBİM (Türkiye Uyuşturucu ve Uyuşturucu Bağımlılığı İzleme Merkezi'nin) çalışmalarıyla Early Warning System (EWS) sayesinde bir takım sentetik kannabinoidlerin ihbarını yapmıştır³⁷.

Türkiye Devlet'inde sentetik kannabinoidlerin bazıları 2013 Mayıs ayında çıkarılan bir kararname ile bu maddelerin yasaklandığı bildirilmiştir. Bu maddeler AM-2201, RCS-4, JWH-201, JWH-302, JWH-018, JWH-019, CP-47 ve diğer bağımlılık yapıcı maddeler 2011 Şubat ayı itibari ile 2313 sayılı yasa kapsamına alınmıştır³⁷. Çıkan yasadan hemen sonraki zamanda yani 2013'te 30 adet, 2014'te ise 52 adet sentetik kannabinoid bağımlılık yapıcı maddeler kapsamına alınmıştır. 24.02.2015'te oluşturulan kanun tasarısıyla 'marihuana' benzeri bağımlılık yapıcı sentetik yapıları TCK'nın kapsamına alındığı bildirilmiştir. 5237 Sayılı TCK'nın Madde 188'in 4. Fıkrasına 'morfin' yazısından sonra gelmek şartıyla 'sentetik kannabinoid ve türevleri' yazısı eklenmiştir³⁷.

Cumhuriyet Savcılığı; kolluk kuvvetleri tarafından adli bir olay sırasında yakalanan veya dava konusu durumlarda şahıslardan bağımlılık yapıcı yasaklı madde kullanımı analizi isteyebilmektedir. Bu durumda savcılık üst yazı ile laboratuvarlara alınan örnekleri güvenli şekilde göndererek analiz sonuçlarını resmi yollardan istemektedir.

Denetimli Serbestlik Tedbiri (DST) uygulamasında ise Türkiye'de 2005 yılından bu yana 5237 sayılı Türk Ceza Kanunu'nun Madde 191'de tanımlandığı üzere "Bağımlılık yapıcı madde kullanmak" suçu sebebiyle hukuki işlem yapılan kişilere ceza almama ve tedavi olma uygulamasını seçen bir düzenlemedir. Verilen tedavi ve denetimli serbestlik kararının şüpheliye iletilmesi veya bildirilmesinden sonra on güne kadar sorumlu denetimli serbestlik müdürlüğüne gitmesi gerekmektedir. Daha sonra bu birime kayıt işleminin yapılmasından sonrasındaki aşamada ise kurum, şüpheli şahısı bir kaç haftalık aralıklarla bağımlılık yapıcı madde analizleri için laboratuvarlara gönderilmektedir. İlk olarak 3 haftalık analizlerde tespit edilip edilmemesine bağlı olarak takipsizlik kararı veya tedavi için araştırma hastanelerine sevk edilmesiyle gönderilmesi sağlanmaktadır³⁸.

1.8. LC-MS/MS Analiz Yöntemi

Kütle spektrometresi (MS) yönteminin seçicilik oranının fazla oluşuna karşın tek başına analizi yapılacak maddenin aynı matrikste yer alan öteki yapılardan ayırıştırması çok güçtür. MS tekniği maddeleri m/z (kütle/yük) farklılıklarına göre ayırmasını sağlayan düzenlenmiş bir sistemdir. Maddeleri birbirinde ayıran sıvı kromatografisi (LC) sistemi ile MS bir olduğunda (LC-MS) oluşur. Bu sistemlerin ayırt edici özelliklerinin kombine edilmesini sağlayarak Sıvı kromatografi/ Tandem Kütle Spektrometresi (LC-MS/MS) sistemi oluşturulmuş olup kullanılmaya hazır hale getirilmiştir. Sistem hassas olup, hızının ve seçiciliğin yüksek olması sebebiyle son zamanlarda sıklıkla kullanımı daha fazla olmuştur³⁹.

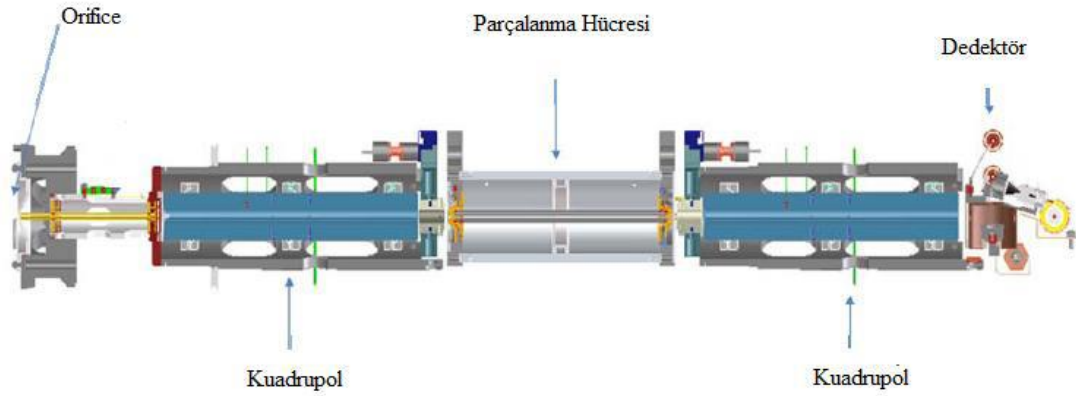
Bu sistemin ana kısmında sıvı kromatografisi, iyon kaynağı, kütle analizörü, detektör ve yazılımdan oluşmaktadır. Sıvı Kromatografi bölümü maddeleri fizikokimyasal özelliklerine göre ayırır ve iyon kaynağına bu sıraya göre gönderir. İyon kaynağı bu maddeleri buharlaşabilen ve analizi istenmeyen diğer maddelerden ayırarak gaz fazına dönüştürür ve analiz edilmesini sağlayan pozitif ve negatif yükleri kazandırır. Kütle analizörü bu yüklenmiş parçacıkları kuadropollerde m/z oranları ve yüklerine göre ayırır. Detektör ayrılmış bu moleküllerin iyon enerjilerini elektriksel sinyallere çevirir. Son olarak yazılım bu sinyalleri alan değerine dönüştürerek okur ve analiz gerçekleştirilmiş olur³⁹.

Sıvı kromatografisindeki temel amaç maddelerin yapılarına göre farklı tutunma zamanlarında birbirinden ayrılmasını sağlayarak bu maddeleri çeşitli zamanlarda iyon kaynağına göndermektedir. Bu amaçla ilk olarak analiz edilecek maddeler açısından rezolüsyonu iyi bir analitik kolon seçilir. Maddelerin kolonda hareket etmesini ve farklı zamanlarda kolonda tutunmasını sağlamak üzere mobil fazlar kullanılır. Bu mobil fazların farklı oranlarda kolona gönderilmesiyle ayrılma sağlanmış olur. Mobil fazların farklı oranlarda sisteme gönderilmesini sağlayan sistem bileşenleri ise pompalardır³⁹.

İyon kaynakları maddelerin vakum altında solventten uzaklaştırıldığı ve yapısına göre yük kazandırıldığı bölümdür. Maddenin polaritesine göre elektrosprey (ESI) veya atmosferik basınç kimyasal iyonizasyon (APCI) kaynakları kullanılmaktadır. Bir kısım maddeler bu iki kaynaktan da iyonlaşabilmektedir. Bu kısımda maddelerin vakum altında efektiflik açısından buharlaştırılabilmesi için akış [0.2-2 mL/dk] belirli bir miktar

aralığında sınırlandırılmıştır. Düşük akıflarda analit kaybı gözlenirken yüksek akışta maddenin gaz haline geçmesi engellenmektedir³⁹.

Kütle analizörleri maddelerin m/z oranlarına göre ayrılmasını sağlamak üzere tasarlanmış manyetik yüzeye sahip iletkenlikleri yüksek ve metal aşınmasına dayanıklı yüzeylerdir. Bu yüzeyler üzerine sırasıyla ya da birlikte RF (Radyo Frekans) ve DC (Doğrusal Akım) voltajları uygulanır. Bu da analizi istenen moleküllerin hızını ve yörüngesini ayarlamaktadır. Şekil 8’de temel kütle analizör bileşenleri gösterilmiştir³⁹.



Şekil 8: Tandem Kütle Spektrometrisi Genel Görünümü³⁹

Giriş kuadrupolünde (Q1) analizi hedeflenen yüklü ana madde seçilir. Bu madde parçalanma hücresi (Q2) olarak isimlendirilen ikinci kuadrupolde azot gazı altında parçalanır ve fragmentlerine ayrılır. Bu fragmentler üçüncü kuadrupolde (Q3) aynı hıza getirilir ve detektöre yollanırlar³⁹.

LC-MS/MS sisteminde yöntemin oluşturulmasındaki en önemli basamaklar; analizi yapılması gereken maddenin özelliklerinin tanımlamaktır. Sonra özellikleri tanınan maddelerin cihazdaki optimizasyonu sağlamaktır. Daha sonra o maddelere özgü parçaların oluşturulması, maddenin yapısına göre analitik kolonun oluşturulması ve kolon üzerindeki akış ve sıcaklık durumlarının belirlenmesinden oluşmaktadır³⁹.

LC-MS/MS sistemlerin ana bileşenleri:⁴⁰

1. Oto örnekleyci
2. Degasifier
3. Ayırımı sağlayan kolon

4. İyon kaynağı
5. Yazılım
6. Analizör
7. Dedektör
8. Vakum pompaları olarak tanımlanmaktadır

Sıvı kromatografi sistemi iyon kaynağından maddeleri fizikokimyasal yapısına göre gönderir. Buharlaşabilen ve analizi istenmeyen maddeler iyon kaynağından bir gaz yardımı ile uzaklaştırılırken analiz edilecek maddelerin pozitif ve negatif yükler kazandırılarak sisteme girmeleri sağlanır. Bu yüklenmiş parçacıklar kuadrapollerde m/z ve pozitif/negatif olarak ayrılır. Detektör sayesinde bu moleküllerin iyon enerjileri elektriksel sinyallere dönüştürülerek yazıcıya gönderilir. Yazılım sayesinde bu sinyaller alan değerlerine dönüştürülerek okunur.

Pompa: Hareketli fazın HPLC'in içinde hareket edebilmesini sağlamaktadır. Hareketli fazı alıp, örnekleme ünitesine yollar. Bunları yapmak için akışı aynı zamanda basıncı düzelterek gerçekleştirir.

Degasifier: Hareketli phase şişesinden taşınan ve mobil fazdaki hava kabarcıklarının giderilmesini için kullanılmaktadır. Kullanılan hareketli fazlara ve pompa çeşitlerine uyum sağlayacak degasifierler bulunmaktadır. Tekrarlanabilir R_t elde etmemizi sağlar. Sistemde Degasser yok ise mobil fazın ultrasonik banyoda (20) dakika kalması gerekir.

Oto Örnekleyci: Yıkama ünitesi, iğne, şırınga ve enjektörün oluşturduğu ünedir.

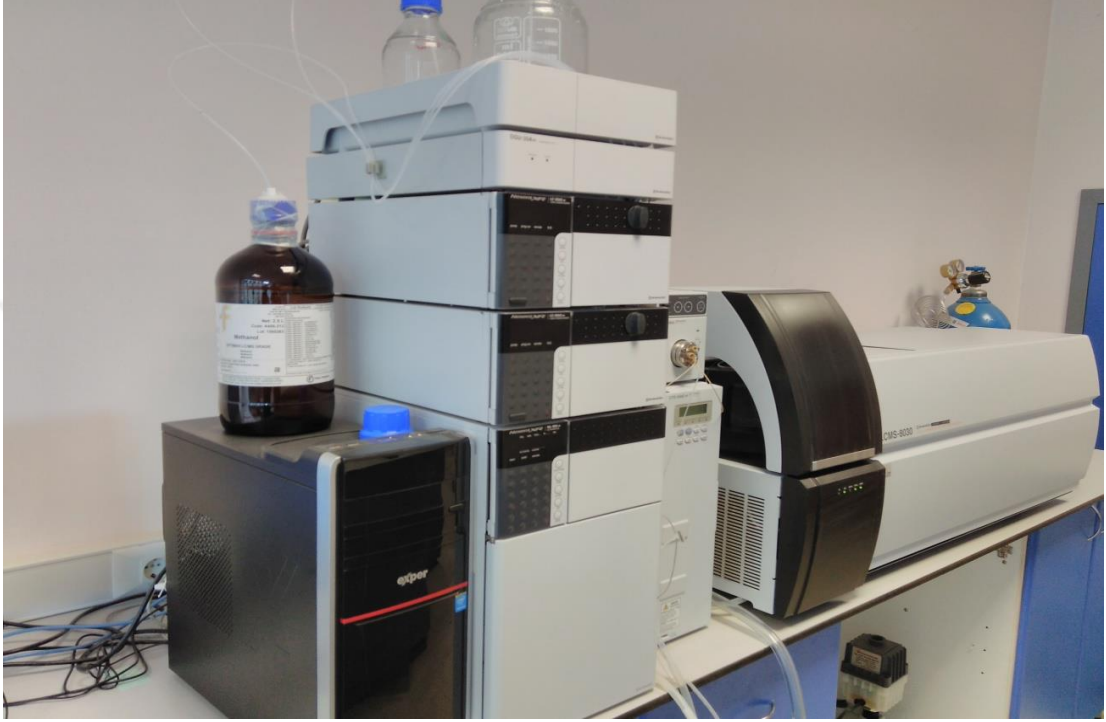
Kolon Fırını: Kolon Fırını sıcaklığı sabit tutarak alıkonma sürelerinin (R_t) lerin etkilenmemesini sağlar. Hava dolaşımı sağlayan sistemde olası kaçaklar için sızıntı sensörü mevcuttur. Kolon fırınında blok ısıtıcı da bulunmaktadır.

Kolon: Çoğunlukla fonksiyonel grup bulduran silica ya da bazik polimer dolgulu kolonlar kullanılmaktadır. Mobil Faz (Hareketli Faz) kolona doğru pompalanır.

İyon Kaynağı: Kolondan gelen akıştaki buharlaşabilen maddeleri uzaklaştırıp istenen analitleri sistemde tutar.

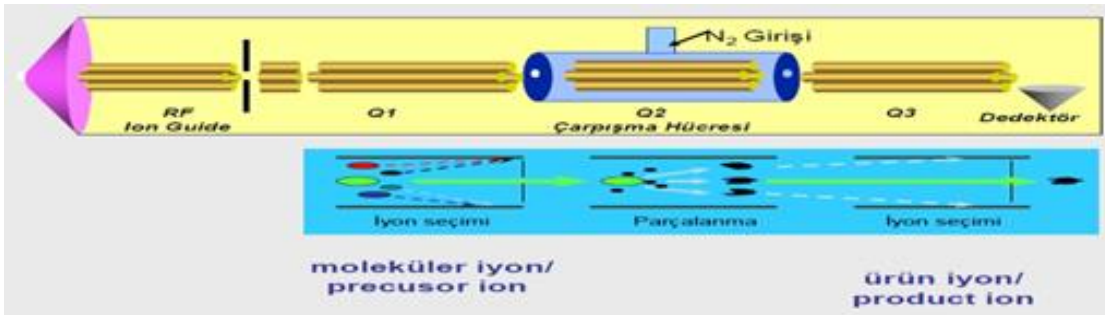
Vakum Pompaları: Ortamda gerekli vakumu ($<10^{-5}$ ten 10^{-7} torr'a kadar) üretirler. Sistemde iki adet vakum pompası bulunmaktadır. Sistemde iki adet turbo moleküler

pompa bulunmaktadır. Vakum iki aşamada sağlanmaktadır. Pompanın birinci aşamasında 10–4 torr vakum yapmaktadır. Diğer pompa ise 10–5 ile 10–7 torr vakuma kadar düşebilmektedir. Pompalardan birisi iyon kaynağını atmosfer basıncında tutarken ikinci pompa sadece analizör kısmının vakum değerini sabit tutmak için çalışmaktadır⁴⁰.



Şekil 9: LC-MS/MS Cihazı

MS/MS analizörü: LC-MS/MS cihazı Q1 ve Q3 tarama kuadrupolü birde parçalanma hücresi olan Q2'den oluşmaktadır. Hedef iyon ilk kuadrupol tarafından seçilerek parçalanmasını indükleyerek inert gaz birikmiş ikinci hücreye gönderilir. Parçalanmış iyonlar ayrılmak ve belirlemek için üçüncü kuadrupole gönderilirler.



Şekil 10: MS/MS Sıralı Kütle Analizörü⁴⁰

Dedektör: Kütle spektrometresi kuadropollerden gelen RF sinyallerinin analizöre geçmesi sayesinde analiz aşamalarının her saniyesinde geçen kütle-iyon oranlarını tespit etmektedir. Bu veriler belirli süreler boyunca tarama sonucu oluşanları bir araya getirerek ana kütle ve parçalanma sonucu oluşan ürünlerinin ortaya çıkmasını sağlar.

Yazılım: Yazılım sistemi kütle dedektöründen gelen örneksel sinyalin dijital sinyale çevrilerek veri oluşturulmasını ve işlenmesini sağlamaktadır⁴⁰.

1.9. Enzim İmmünassay Yöntemi

EMIT, biyolojik sıvı içerisindeki spesifik bileşenleri analiz etmek için kullanılan Homojen Enzim Immunoassay yöntemidir. EMIT açılımı Enzyme Multiplied Immunoassay Technique olarak tanımlanır. İlk kez 1973 yılında Syva firması tarafından serum ve idrardaki numunelerinde kalitatif ve kantitatif/semikantitatif olarak ilaç düzeyi ve metabolitlerinin tespitinde kullanılan Immunoassay tabanlı yöntem, yaygın olarak Uyuşturucu ve Madde Bağımlılığı testlerinde tarama amaçlı kullanılmaktadır.

EMIT yöntemi, antijen-antikor etkileşmesi prensibiyle analiz yapılan metodlardır. Bu metodlarda öngörülen bir antijen bulunduğunda örnek numunede yer alan antikor ya da öngörülen bir antikor bulunduğunda örnek numunede antijen saptandığı söylenilebilir. EMIT tekniği, özgül antijen-antikor bağlanmasının antikorlara enzim bağlanması ile oluşan enzim substratının renkli ürünler ile sonuçlanması prensibine dayalı immünokimyasal ölçüm tekniğidir. EMIT prensibiyle özgül antikor kullanılarak numunedeki antijenin miktarı, özgül antijen kullanarak numunedeki antikorun miktarı ölçülebilir. EMIT tekniği, farklı uygulanalar ile yapılabilir⁴¹.



Şekil 11: Enzim İmmünassay Cihazı

2. METARYAL VE METOD

Laboratuvarda bağımlılık yapıcı yasaklı madde analizlerinde kullanılmak üzere; LC-MS/MS sistemi ve enzim immünassay sistemi olmak üzere iki sistem kullanılmaktadır. Bu tez için veriler bu sistemlere verilen numunelerin sonuçlarından toplanmıştır. Her iki sisteminde eş zamanlı çalıştığı 2017 yılı sonuçları kıyaslanmıştır.

Kullanılan cihazlar:

- Likit Sistem (LC): shimadzu DGU-20A3R
- Kütle Sistem (MS/MS): Shimadzu Upgrade with UF-Lens LC-MS/MS 8030/8040
- Kolon: XB-C18 Welch 2,1x150x3µm
- Enzim immünassay sistem (EMIT): Siemens viva-E

LC-MS/MS cihazında yapılan çalışmada; cihaza enjeksiyon yapılan tüm çözeltiler insan idrar, kan ve saç örnek numunesinin bir kısmı kullanılarak hazırlanır. Ana iyon taramadan geçme, MRM optimizasyonu sağlama, kalibrasyon çözeltileri oluşturma ve metot validasyonu için verilen tüm idrar, kan ve saç numunelerinden 500 mikrolitre (µL) alınır. Bu numuneler sırasıyla 250'şer µL metanol ve asetonitril eklenip 2'şer dakika vortekslenir. Daha sonra 100 µL Trifloro Asetik Asit (TFA) eklenip bir daha 2 dakika vortekslenir. Oluşturulan çözeltiler 10 dakika 4100 rpm'de santrifüjlendikten sonra süpernatant kısımları alınır. Süperlant kısımları falkon tüpüne eklendikten sonra N(azot)'ta soğuk uçurma yapılarak çözücülerin uzaklaşması sağlanır. Daha sonra falkon tüpünde kalan kısımlar için 200 µL hareketli faz A'dan alınıp eklendikten sonra 10 dakika vortekslenir. Bir daha 10 dakika 4100 rpm'de santrifüjlendikten sonra süpernatant kısmı alınıp viallere aktarılır. Cihaz için enjeksiyona hazır hale gelir ve cihaza verilir. Daha sonra sonuçlanması beklenir.

Laboratuvarımızda; kan, kıl ve idrar örneklerinden, Sıvı Kromatografisi –Kütle spektrometrisi (LC-MS/MS) ile başlıca THC, eroin, kokain, MDMA, amfetamin, metamfetamin, morfin ile 40 tür sentetik kannabinoid tespiti yapılmaktadır. ESI metodu ile C18 2,1x150 mm 3 µm'lik kolonlu, 0,4 ml/dk akış hızlı gradient sistem kullanılarak gerçekleştirilmektedir.

Enzim immünassay cihazında yapılan çalışmada; Enzim substrat ilişkisi ile spektroskopinin birleşmesinden meydana gelmektedir. Cihaza birçok uyuşturucu ve ilaç

moleköl yapısı belli bir kit(substrat) şeklinde tanımlıdır. Bu tanımlı substrat yüzeyi yine kendine has bir enzim ile tepkimeye girmektedir. Numunenin içinde aradığımız madde eğer cut-off değeri kadar varsa ona tanımlı substrat yüzeyine entegre olur ve enzim ile reaksiyon hızlandırılır. Bu reaksiyona 0.1 N'lik HCl eklendikten sonra spektroskopi devreye girmektedir. Oluşan bu reaksiyona UV ışını gönderildiğinde H⁺ iyonu açığa çıkarsa numunenin içinde aradığımız madde cut-off değerinin üzerinde olduğunu göstermektedir. Yani numune pozitifdir. Daha sonra açığa çıkan H⁺ iyonu elektrovolt değerine göre cihazımız bize ng/mL cinsinden değer verir. Sentetik kannabinoidler ve diğer bağımlılık yapıcı maddelerin kitleri cihazda tanımlıdır. İdrardan alınan numuneler cihaza verilir. Eğer idrar numunelerinde sentetik kannabinoid ve diğer maddeler varsa o kitlere uygun substrat yüzeyi bulur ve enzimle hızlandırılan reaksiyon H⁺ iyonu kopmasıyla sonlanır ve cihaz bize numunenin pozitif veya negatif şeklinde bir değer verir.

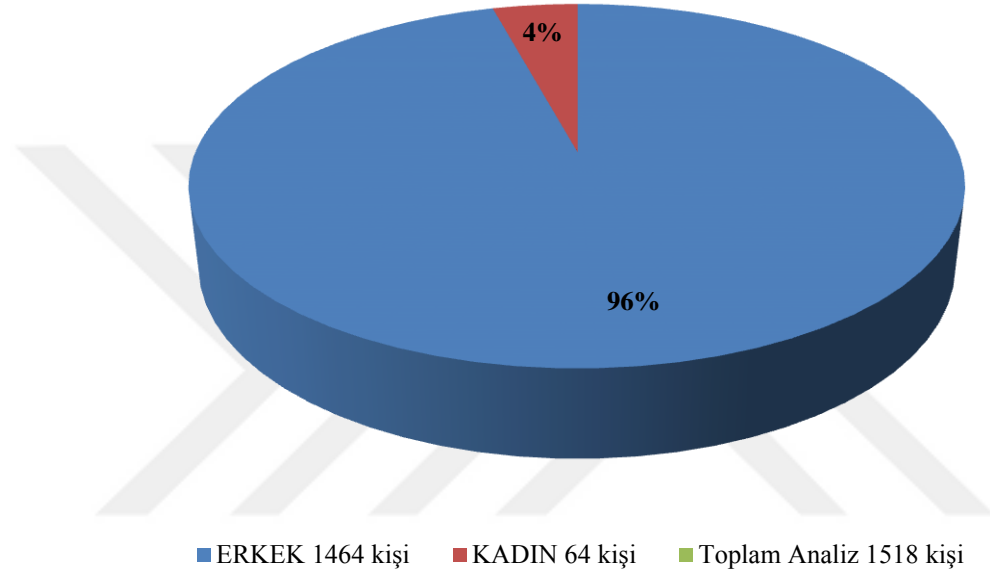
İstatistiksel Analiz:

Çalışmamızdaki; Kategorik verilerin analizinde Pearson ki-kare ve Fisher's exact testleri kullanılmıştır. İdrar numunelerinde LC-MS/MS ve enzim immünassay cihazlarının uyumu Kappa istatistiği ile incelenmiştir. İstatistiksel analizler SPSS v.22 paket programı ile yapılmış ve anlamlılık düzeyi 0,05 olarak dikkate alınmıştır. LC-MS/MS ve enzim immünassay cihazlarının aynı numunede aynı madde taraması için verdikleri sonuçlar arasındaki uyum Kappa istatistiği ile incelenmiştir. Kappa değerine göre uyum düzeyi için yorum skalası şöyledir:

- 0.01-0.20 - çok zayıf uyum
- 0.21-0.40 - zayıf uyum
- 0.41-0.60 - orta düzeyde uyum
- 0.61-0.80 - iyi düzeyde uyum
- 0.81-1.00 - çok iyi düzeyde uyum

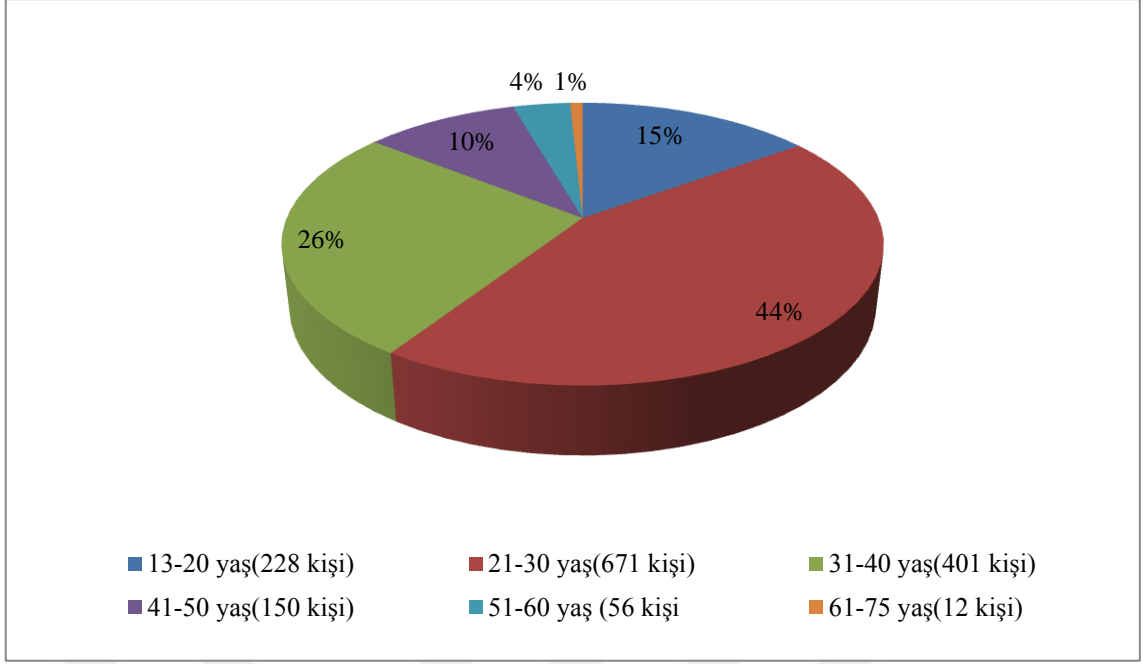
3. BULGULAR

Analiz alışmaları 2017 yılına ait olup Enzim mmünassay cihazında yapılan yapılan idrar numunelerinin sonuçlarını LC-MS/MS cihazından çıkan sonuçlar ile karşılaştırılıp iki cihaz arasındaki anlamlılık belirtilecektir.



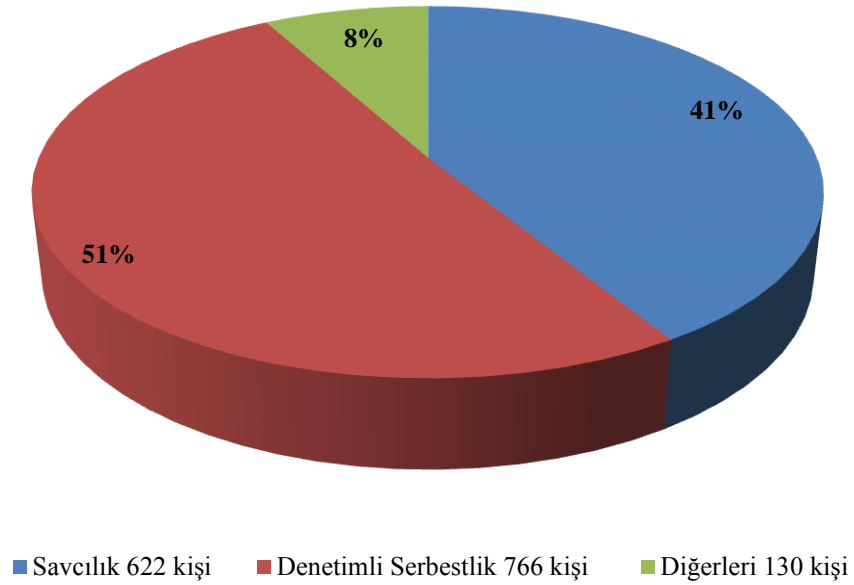
şekil 12: 2017 numune analiz sayısı cinsiyete göre farkı

2017 yılında 1518 analiz yapılmıştır. 2017 yılında 1518 analiz yapılmıştır. Bunlardan 1464' Erkek iken 64 kişi de Kadın'lardan oluşmaktadır.



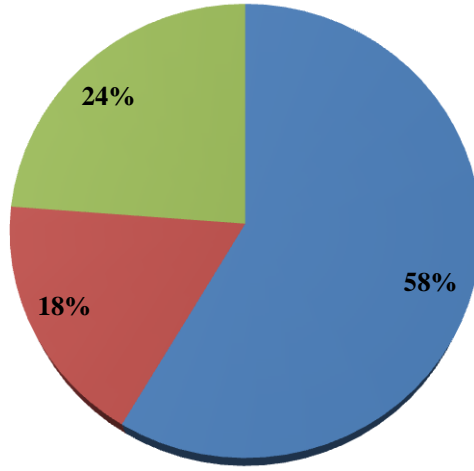
Şekil 13: 2017 yılı yaş grupları

2017 yılında bireylerin yaş gruplarına bakıldığında 1. Sırada 21-30 yaş grubu olurken 2. Sırada 31-40 yaş grubu 3. Sırada ise 13-20 yaş grubu olan çocuklarında içinde bulunduğu gruptan ve diğer yaş gruplarından oluşmuştur.



Şekil 14: Analiz için gönderilmiş numuneler 2017

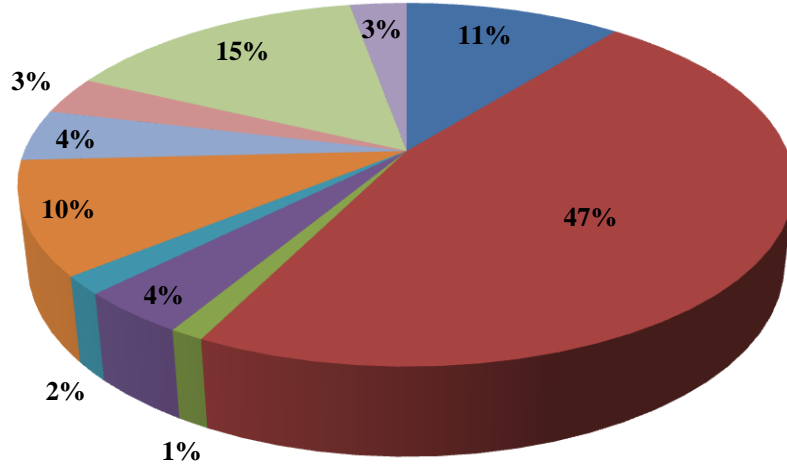
2017 yılında savcılıktan gelenlerin oranı artarken denetimli serbestlikten gelenlerin oranı azalmıştır. Yıllara göre geldiği yerler Şekil 14'te verilmiştir.



■ Temiz 888 kişi ■ Tekli 269 Kişi ■ Çoklu 361 kişi

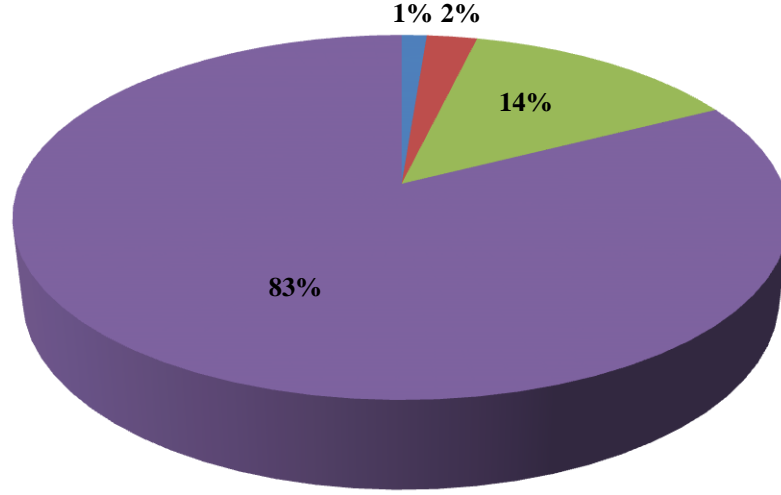
Şekil 15: 2017 yılı bağımlılık yapıcı madde kullanım tipleri

2017 hem tekli kullanım oranı hem de çoklu kullanım oranı ($p < 0,001$) anlamlı şekilde artarken temiz çıkma oranı azalmıştır.



■ SK ■ THC ■ Amfetamin ■ Metamfetamin ■ BZD ■ MDMA

Şekil 16: 2017 yılı bağımlılık yapıcı madde kullanım oranları



■ JWH-018 ■ UR-144 ■ AB-PINACA-N-5-hydroxypentyl ■ ADB-PINACA-pentanoic-acid

Şekil 17: 2017 yılı tespit edilen sentetik kannabinoid türlerinin oranları

LC-MS/MS(LC) – Enzim Ümmünassay(Eİ) sistemleri arasındaki uyum

2017 yılında toplanan idrar örnekleri üzerinden hem LC-MS/MS hem de enzim immünassay cihazında analiz edilen 1518 idrar örneği sonucunun iki sistem açısından uyumu kapa istatistiği ile kıyaslanmıştır

Tablo 1: THC'nin cihazlardaki uyumu

THC		Eİ(+)	Eİ(-)	Toplam
	LC(+)	326	10	336
LC(-)	11	1171	1182	
Toplam		337	1181	1518

THC maddesine bakıldığında LC’de toplam pozitif 336 iken Eİ’de toplam pozitif 337 olarak görülürken iki cihazda da 1171 bireyde negatif sonuçlanmıştır. Kappa istatistiği ile incelendiğinde k: 0.960 gibi bir değerle çok iyi düzeyde bir uyum görülmüştür.

Tablo 2: MDMA'nın cihazlardaki uyumu

		Eİ(+)	Eİ(-)	Toplam
MDMA	LC(+)	85	13	98
	LC(-)	14	1406	1420
	Toplam	99	1419	1518

MDMA maddesine bakıldığında LC'de toplam pozitif 98 iken Eİ'de ise 99 olduğu görülmekte ve iki cihazda 1406 bireyde negatif sonuçlanmıştır. Kappa istatistiği ile incelendiğinde $k:0.853$ gibi çok iyi düzeyde bir uyum olduğu görülmüştür.

Tablo 3: MDA'nın cihazlardaki uyumu

		Eİ(+)	Eİ(-)	Toplam
MDA	LC(+)	23	3	26
	LC(-)	5	1489	1494
	Toplam	28	1492	1518

Tablo 4: MDEA'nın cihazlardaki uyumu

		Eİ(+)	Eİ(-)	Toplam
MDEA	LC(+)	9	1	10
	LC(-)	2	1506	1508
	Toplam	11	1507	1518

Tablo 5: K3-ADB-PINACA-pentanoic-acid'in cihazlardaki uyumu

		Eİ(+)	Eİ(-)	Toplam
K3_ADB_PINACA_pentanoic_acid	LC(+)	53	11	64
	LC(-)	2	1452	1454
	Toplam	55	1463	1518

K3-ADB-PINACA-pentanoic-acid maddesine bakıldığında LC'de toplam pozitif 64 iken Eİ'de ise 55 olduğu görülmekte ve iki cihazda 1452 bireyde negatif sonuçlanmıştır. Aynı zamanda LC 'de 11 sonuca pozitif(+) verirken Eİ'de negatif(-) sonuçlanmıştır ve 2 sonuçta da Eİ'de pozitif(+) verirken LC'te negatif(-) sonuçlanmıştır. Kappa istatistiği ile incelendiğinde k:0.886 gibi çok iyi düzeyde bir uyum olduğu görülmüştür.

Tablo 6: K3-AB-PINACA-N-5-hydroxypentyl'in cihazlardaki uyumu

		Eİ(+)	Eİ(-)	Toplam
K3_AB_PINACA_N_5_hydroxypentyl	LC(+)	3	8	11
	LC(-)	0	1507	1507
	Toplam	3	1515	1518

K3-AB-PINACA-N-5-hydroxypentyl maddesine bakıldığında LC'de toplam pozitif 11 iken Eİ'de ise 3 olduğu görülmekte ve iki cihazda 1507 bireyde negatif sonuçlanmıştır. Aynı zamanda LC 'de 8 sonuca pozitif(+) verirken Eİ'de negatif(-) sonuçlanmıştır. Kappa istatistiği ile incelendiğinde k:0.427 gibi orta düzeyde bir uyum olduğu görülmüştür.

Tablo 7: K2-UR-144'ün cihazlardaki uyumu

K2_UR_144		Eİ(+)	Eİ(-)	Toplam
	LC(+)	2	0	2
	LC(-)	0	1516	1516
	Toplam	2	1516	1518

K2-UR-144 maddesine bakıldığında toplam pozitif ve negatif sonuçları aynı olduğundan kappa istatistiği ile incelediğimizde k: 1.00 gibi çok iyi düzeyde uyum olduğu görülmüştür.

Tablo 8: K1-JWH-018'in cihazlardaki uyumu

K1_JWH_018		Eİ(+)	Eİ(-)	Toplam
	LC(+)	1	0	1
	LC(-)	0	1517	1517
	Toplam	1	1517	1518

K1-JWH-018 maddesine bakıldığında toplam pozitif ve negatif sonuçları aynı olduğundan kappa istatistiği ile incelediğimizde k: 1.00 gibi çok iyi düzeyde uyum olduğu görülmüştür.

Tablo 9: Diğer K3-K2-K1 maddelerinin cihazdaki uyumu

		Eİ(+)	Eİ(-)	Toplam
Diğer K3-K2-K1 maddeleri	LC(+)	0	0	0
	LC(-)	0	1518	1518
	Toplam	0	1518	1518

Tablo 10: AMFETAMİN'nin cihazlardaki uyumu

		Eİ(+)	Eİ(-)	Toplam
AMFETAMİN	LC(+)	64	9	73
	LC(-)	2	1443	1445
	Toplam	66	1452	1518

Tablo 11: METAMFETAMİN'nin cihazlardaki uyumu

		Eİ(+)	Eİ(-)	Toplam
METAMFETAMİN	LC(+)	31	3	34
	LC(-)	0	1484	1484
	Toplam	31	1487	1518

Tablo 12: BZD'nin cihazlardaki uyumu

BZD(Benzodiazepin)		Eİ(+)	Eİ(-)	Toplam
	LC(+)	17	6	23
	LC(-)	2	1493	1495
	Toplam	19	1499	1518

Tablo 13: Morfin-Opiad 'ın cihazlardaki uyumu

Morfin -Opiad		Eİ(+)	Eİ(-)	Toplam
	LC(+)	5	2	7
	LC(-)	2	1509	1511
	Toplam	7	1511	1518

Tablo 14: 6mam'ın cihazlardaki uyumu

6mam		Eİ(+)	Eİ(-)	Toplam
	LC(+)	3	0	3
	LC(-)	1	1514	1515
	Toplam	4	1514	1518

Tablo 15: Kokain'nin cihazlardaki uyumu

Kokain		Eİ(+)	Eİ(-)	Toplam
	LC(+)	17	2	19
	LC(-)	2	1497	1499
	Toplam	19	1499	1518

Tablo 16: LC-MS/MS (LC) - Enzim İmmünassay (Eİ) cihazlarında uyum

İDRAR ÖRNEKLERİ		Eİ (+)	Eİ (-)	Kappa	p
thc	LC (+)	326	10	0,960	<0,001
	LC (-)	11	1171		
mdma	LC (+)	85	13	0,853	<0,001
	LC (-)	14	1406		
mda	LC (+)	21	3	0,837	<0,001
	LC (-)	5	1489		
mdea	LC (+)	9	1	0,856	<0,001
	LC (-)	2	1506		
K3_ADB_PINACA_pentanoic_acid	LC (+)	53	11	0,886	<0,001
	LC (-)	2	1452		
K2_UR_144	LC (+)	2	0	1,000	<0,001
	LC (-)	0	1518		
K3_AB_PINACA_N_5_hydroxypentyl	LC (+)	3	8	0,427	<0,001
	LC (-)	0	1518		
K1_JWH_018	LC (+)	1	0	1,000	<0,001
	LC (-)	0	1517		
Diğer K1-K2-K3 Maddeleri	LC (+)	0	0	---	---
	LC (-)	0	1518		
amfetamin	LC (+)	64	9	0,917	<0,001
	LC (-)	2	1443		
metamfetamin	LC (+)	31	3	0,953	<0,001
	LC (-)	0	1484		
bzd	LC (+)	17	6	0,807	<0,001
	LC (-)	2	1493		
morfin.opiad	LC (+)	5	2	0,713	<0,001
	LC (-)	2	1509		
6mam	LC (+)	3	0	0,893	<0,001
	LC (-)	1	1514		
Kokain	LC(+)	17	2	0,893	<0,001
	LC(-)	2	1497		

4. SONUÇ ve TARTIŞMA

Bu tez kapsamında laboratuvar sonuçları analiz edildiğinde; her iki sisteminde kullanıldığı 2017 yılı içerisinde; 1518 numune analiz edilmiştir. Numune veren kişilerden % 95,8'inin (1454) erkek, % 4,2'sinin (64) kadın olduğu görülmüştür. Bu cinsiyet oranlarında 2016 yılında sadece LC-MS/MS'te yapılan çalışmaya göre anlamlı bir fark olmamasına rağmen, bireylerin yaş ortalaması ise 2016 yılında LC-MS/MS'te yapılan çalışmada $30,73 \pm 9,69$ (13-74) iken 2017 yılında her iki sistemde yapılan çalışmada yaş ortalaması $29,89 \pm 9,72$ (13-71) olduğu görülmüş ve aralarındaki farklılık (yaş düzeyinde düşme) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur, ($p=0,011$).

2016 yılında sadece LC-MS/MS'te ve 2017 yılında her iki sistemde analizi yapılan tüm idrar numunelerinde (3546 adet) sentetik kannabinoid tespit edilen şahısların; sayılarına bakıldığında erkek popülasyonun anlamlı miktarda fazla olduğu, savcılık tarafından gönderilen örneklerde; diğer başvurulara göre anlamlı olarak çoklu madde kullanımının daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Analizlerimizde en fazla esrar (THC), ikinci olarak da ekstazi metaboliti MDMA maddesi tespit edilmiştir. Sentetik kannabinoidler ile en fazla beraber kullanılan bağımlılık yapıcı maddenin esrar olduğu verilerine ulaşılmıştır.

2017 yılında hem tekli (yalnız bir çeşit bağımlılık yapıcı madde kullanan) kullanım oranı hem de çoklu (birden fazla çeşitte bağımlılık yapıcı madde kullanan) kullanım oranı anlamlı şekilde artarken yani 2016 yılında sadece LC-MS/MS'te yapılan çalışmaya göre, temiz (hiçbir bağımlılık yapıcı madde tespit edilemeyen) bulunma oranı azalmıştır.

İdrar örneklerinde sentetik kannabinoid analizlerinin değerlendirmesi sonucu LC-MS/MS sistemi ile enzim immünassay sistemi arasında genellikle istatistiksel açıdan çok iyi düzeyde bir uyum tespit edilmiştir. (Tespit edilebilen sentetik kannabinoidler olan; K1-JWH-018, K2-UR-144, K3-ADB-PINACA-pentanoic-acid'de).

İncelenen K3-AB-PINACA-N-5-hydroxypentyl isimli sentetik kannabinoid numunelerinin analizlerinde ise iki cihaz arasında istatistiksel açıdan orta düzeyde uyum ($\kappa=0.427$; $p<0.001$) görülmüştür.

Dr. Fikret Akyürein yaptığı "17-Hidroksipregesteron Ölçümünde İmmünassay ve Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometre (LC-MS/MS) Metodların Karşılaştırılması" çalışmada: iki yöntemle elde edilen 17-OHP ölçüm sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildi. Aralarındaki

ilişkiyi incelemek amacıyla regresyon analizi yapıldı ve bu ilişki korelasyon katsayısı olarak ifade edildi. Her iki ölçüm sisteminden elde edilen değerler EP Evaluator ve MedCalc analiz programları ile değerlendirildi ve iki yöntem (LC-MS/MS ve ELISA) arasındaki korelasyon hesaplandı. Her iki yöntem arasındaki korelasyon katsayısı 0.55 olarak bulundu. Korelasyonun 0.4 ile 1.5 ng/mL arasındaki değerlerde daha güçlü olduğu gözlenirken ($r=0.66$) daha yüksek değerlerde korelasyon oranının düştüğü gözlenmiştir ($r=0.083$)⁴².

Tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde; LC-MS/MS sistemi ile enzim immünassay sisteminin çok yüksek oranda uyumlu olarak çalıştığı tespit edilmiştir. Sentetik kannabinoid sonuçlarına bakıldığında; K3-AB-PINACA-N-5-hydroxypentyl analizlerinde 8 adet sonuçta enzim immünassay sistemi tarafından tespit edilemeyen maddenin LC-MS/MS sistemi tarafından tespit edildiği, K3-ADB-PINACA-pentanoic-acid analizlerinde ise 2 adet sonucun enzim immünassay sistemi tarafından tespit edilememesine rağmen LC-MS/MS sistemi tarafından tespit edildiği, fakat 11 adet sonucun ise LC-MS/MS sistemi tarafından tespit edilememesine rağmen enzim immünassay sistemi tarafından tespit edildiği görülmüştür. Bilimsel literatüre göre; LC-MS/MS sistemi; molekülü, molekül ağırlığına ve fragmanlarına göre saptaması sebebiyle bağımlılık yapıcı madde analizlerinde hassaslığı ve seçiciliği en üst düzeyde olan sistemlerdendir. Bu nedenle de bağımlılık yapıcı madde analizlerinde doğrulama işlemlerinde kullanılmaktadır.

Sonuçlar tüm bu bilgiler ışığında değerlendirildiğinde; enzim immünassay sistemi tarafından tespit edilemeyen maddenin LC-MS/MS sistemi tarafından tespit edilmesi doğal olarak karşılanabilir. Fakat bu maddelerin LC-MS/MS sistemi tarafından tespit edilememesine rağmen enzim immünassay sistemi tarafından tespit edilmesi paradoks olarak görülse de sistemlerin analiz yöntemlerinin farklılığından dolayı bu sonucun görülebilmesi olasıdır. Çünkü enzim immünassay ile bağımlılık yapıcı madde analiz sistemi antikorlar ve enzimler üzerinden indirekt bir analiz gerçekleştirmektedir. Bu nedenle bu ve benzeri sistemlerde benzer maddeler ile çapraz reaksiyonların görülmesi beklenebilir. Sentetik kannabinoidlerde ana yapıları kannabinoid olmasına rağmen küçük kimyasal değişiklikler oluşturularak çeşitlendirilmektedirler. LC-MS/MS sistemlerinde sadece maddenin kendisi tespit edildiğinden çok benzer yapıda da olsa diğer maddeler sisteme tanımlanmadıysa tespit edilememektedir. Bu nedenle bazı bağımlılık yapıcı maddeler LC-MS/MS sistemi tarafından tespit edilememesine rağmen enzim

immünassay sistemi tarafından tespit edilebilir. Bu da göstermektedir ki bir analiz laboratuvarında her iki sisteminde kullanılması analiz güvenliğini artırmaktadır.

Yapılan sonuçlar irdelendiğinde; halen ülkemizde kullanılan bağımlılık yapıcı yasaklı maddeler içerisinde sentetik kannabinoid dışındaki diğer yasaklı madde analiz sonuçlarındaki pozitiflik oranının sentetik kannabinoidlere göre oldukça yüksek olduğu görülmüştür. Bunun da sebebinin sentetik kannabinoid molekül yapısının çok sık bir şekilde üreticiler tarafından değiştirilmesi olduğu düşünülmektedir. Uzun yıllardan beri kullanılan bağımlılık yapıcı yasaklı maddeler olan esrar, ekstazi, gibi maddelerin kullanımı sık olarak görülmektedir.

Sentetik kanabinoidlerin, diğer kanabinoid türevi maddelere kıyasla daha etkili uyuşturucu/uyarıcı ve keyif verici etkiye yol açmaları, ucuz olmaları, herhangi bir bitkinin üzerine uygulanabilmesi kolay olduğundan hem görsel olarak, hemde kimyasal yapıları sık değiştirildiğinden kimyasal olarak tespit edilmesinin zor olması nedenleriyle son yıllarda sentetik kannabinoid kullanımında ülkemizde ve dünyada artış görülmektedir.

Bu tez çalışması ile sentetik kannabinoid analizlerinde LC-MS/MS analiz yöntemi ile enzim immünassay analiz yöntemi arasında yüksek düzeyde bir uyumun görüldüğü ayrıca maddeleri tespit etme işleminde birbirlerini tamamlayarak tespit etme oranını yükselttikleri tespit edilmiştir. Bu verilere dayanılarak bağımlılık yapıcı yasaklı madde analizi yapan laboratuvarlarda farklı yöntemler kullanan birden fazla analiz cihazı ile analiz yapmanın sonuçlar açısından daha sağlıklı ve güvenli olacağı söylenilebilir.

Bu tezin; ülkemizde yürütülmekte olan bağımlılık yapıcı madde kullanımı ile mücadele programı ve bağımlılık yapıcı madde analizleri ile ilgilenen diğer araştırmacılara faydalı bir kaynak olabileceği düşünülmüştür.

KAYNAKÇA

1. Küçük E, Küçük İ, Kirazaldı YY. Acil serviste yeni bir tehlike: Sentetik kannabinoidler (Bonzai, Jameika). Sakarya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Acil Tıp Kliniği. Adli Tıp Dergisi Sakarya 2015;25 s. 18-22.
2. Karaaziz M, Keskindağ B. A Popular Psychoactive Substance Among Youth; Synthetic Cannabinoid (bonsai): A Review. Psk, Yakın Doğu Üniversitesi, Psikoloji Bölümü, Lefkoşa, KKTC Klinik Psikiyatri 2016;19:137-144.
3. Kayaalp SO, Uzbay T. İlaç Kötüye Kullanım ve İlaç Bağımlılığı. İn: Kayaalp Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji Kayaalp, S.O. (ed.), 13.Baskı. Pelikan Yayıncılık, Ertem Basım Ltd. Şti. Ankara, 2012, s.846-868 .
4. Eminler AT, Yıldırım M, Usulan Mİ, Köksal AŞ, Parlak E. Sentetik Kannabinoidler (Bonzai) ve Gastrointestinal Sistem üzerine etkileri: “Kannabinoid Hiperemezis Sendromu”. Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Sakarya 2014 18/4 s.459-462.
5. Mercan S, Yeni Nesil Psikoaktif Maddelerin Tanımı, Sınıflandırılması, Temin Yöntemleri ve Etkileri. 4.Tıp Hukuku Günleri: Adli Toksikoloji. “Prof. Dr. Emre Murat Albek Anısına”. Yeter O, Şam B, Koç S. (editörler). İ.U. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Oditoryumu İstanbul 2014, s.138-146.
6. Drummer O, Odell M. The Forensic Pharmacology Of Drugs Of Abuse, 1 1st edition CRC Press London (İngiltere): Arnold 2001 s.1-462.
7. Özkanlı F. Synthetic cannabinoids, FARAB. J. Pharm. Sci. Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasöik Kimya Anabilim Dalı, Ankara 2017, 42 s. 67-80
8. Evren C, Bozkurt M. Sentetik kannabinoidler: Son yılların krizi. Düşünen Adam the Journal of Psychiatry and Neurological Sciences 2013; 26: 1-11.
9. Johnston LD, O'Malley PM, Bachman JG, Schulenberg JE. The rise in teen marijuana use stalls, synthetic marijuana use levels, and use of 'bath salts' is very low. University of Michigan News Service: Ann Arbor, MI, 2012. <http://www.monitoringthefuture.org/pressreleases/12drugpr.pdf>. Accessed February 21, 2013.

10. Hu X, Primack BA, Barnett TE, Cook RL. College students and the use of K2: An emerging drug of abuse in young persons. *Subst Abuse Treat Prev Policy* 2011; 6: 1-16.
11. Castellanos D, Singh S, Thornton G, Avila M, Moreno A. Synthetic cannabinoid use: A case series of adolescents. *J Adolesc Health* 2011; 49:347-349.
12. Pakiş İ, Polat O. Sentetik kannabinoidler. *ACU Sağlık Bill Derg* 2016; 1: 6-13.
13. Karadeniz H, Özer E, Aydoędu Hİ, Askay M. Sentetik kannabinoid: sokak dilinde 'Bonzai'. *Karadeniz Chem. Sci. Tech.* 2017; 01: 1-8.
14. Oluwabusi OO, Lobach L, Akhtar U, Youngman B, Ambrosini PJ. Synthetic cannabinoid-induced psychosis:two adolescent cases. *J Child Adol Psychop* 2012; 22: 393
15. Wiley JL, Marusich JA, Martin BR, Huffman JW.1-Pentyl-3-phenylacetylindoles and JWH-018 share in vivo cannabinoid profiles in mice. *Drug Alcohol Depen* 2012; 123: 48.
16. Özşeker PE, Dip A, Dağlıoğlu N, Gülmen MK. Sentetik kannabinoidler: Yeni nesil esrar. *Türk Aile Hek Derg* 2017; 21(1): 34-40.
17. Kayaalp SO. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. 11.Baskı. Hacettepe-Taş Kitapçılık, Feryal Matbaa. Ankara 2005; 1-632
18. Rieder SA, Chauhan A, Singh U, Nagarkatti M, Nagarkatti P. Cannabinoid-induced apoptosisin immune cells as a pathway to immunosuppression, *Immunobiology*, 2010; 215: 598-605
19. Desroches J, Beaulieu P. Opioids and cannabinoids interactions: Involvement in pain management, *Current Drug Targets*, 2010; 11: 462-473.
20. Özkanlı F. Synthetic cannabinoids, FARAB. *J. Pharm. Sci. Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasöik Kimya Anabilim Dalı*, Ankara 2017, 42 s. 67-80
21. Evren C, Bozkurt M. Sentetik kannabinoidler: Son yılların krizi. *Düşünen Adam the Journal of Psychiatry and Neurological Sciences* 2013; 26: 1-11.
22. McCarberg BH, Barkin RL. The future of cannabinoids as analgesic agents: A pharmacologic, pharmacokinetic, and pharmacodynamic overview. *Am J Ther* 2007; 14: 475-483.
23. Qamri Z, Preet A, Nasser MW, Bass CE, Leone G, Barsky SH, Ganju RK. Synthetic cannabinoid receptor agonists inhibit tumor growth and metastasis of breast cancer. *Mol Cancer Ther* 2009; 8: 3117-3129.

24. Desroches J, Beaulieu P. Opioids and cannabinoids interactions: Involvement in pain management. *Curr Drug Targets* 2010; 11: 462-473.
25. Vandrey R, Dunn KE, Fry JA, Girling ER. A survey study to characterize use of Spice products (synthetic cannabinoids). *Drug Alcohol Depend* 2012; 120: 238-241.
26. Gronewold A, Skopp G. A preliminary investigation on the distribution of cannabinoids in man. *Forensic Sci Int* 2011; 210: 7-11.
27. Seely KA, Brents LK, Radomska-Pandya A, Endres GW, Keyes GS, Moran JH, Prather PL. A major glucuronidated metabolite of JWH-018 is a neutral antagonist at CB1 receptors. *Curr Res Toxicol* 2012; 4: 825-827.
28. Xi ZX, Peng XQ, Li X, Song R, Zhang HY, Liu QR, Yang HJ, Bi GH, Li J, Gardner EL. Brain cannabinoid CB2 receptors modulate cocaine's actions in mice. *Nat Neurosci* 2011; 14: 1160-1166.
29. Wood DM, Dargan PI. Novel psychoactive substances: How to understand the acute toxicity associated with the use of these substances. *Ther Drug Monit* 2012; 34: 363-367.
30. 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* 2012; 60: 435-438.
31. Harris CR, Brown A. Synthetic cannabinoid intoxication: A case series and review. *J Emerg Med* 2013; 44: 360-366.
32. 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* 2012; 60: 435-438.
33. Harris CR, Brown A. Synthetic cannabinoid intoxication: A case series and review. *J Emerg Med* 2013; 44: 360-366.
34. Every-Palmer S. Synthetic cannabinoid JWH-018 and psychosis: An explorative study. *Drug Alcohol Depend* 2011; 117:152-157
35. Vandrey R, Dunn KE, Fry JA, Girling ER. A survey study to characterize use of Spice products (synthetic cannabinoids). *Drug Alcohol Depend* 2012; 120:238-241.
36. Yeni Nesil Psiko-aktif Maddeler Sempozyumu. 26 Kasım 2013. İstanbul. www.atk.gov.tr/Pdf/psikoakifmaddeler.pdf (Erişim tarihi:20.04.2015).
37. Pakiş İ, Polat O. Sentetik kannabinoidler. *ACU Sağlık Bill Derg* 2016; 1: 6-13.
38. <https://hukukdestegi.com/tr/2016/08/10/uyusturucu-madde-dosyasinda-denetimli-serbestlik/>

39. Öztürk S. JWH-073 ve Metabolitlerinin LC-MS/MS ile Kanve İdrarda Tayinleri. 2015, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimler Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 50 sayfa, İstanbul, (Prof. Dr. Buket Alpertunga)
40. Yılmaz M. JWH-122 ve JWH-122 N-(4-hidroksipentil) Metabolitinin LC-MS/MS ile Kanda Tayini. 2017, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 40 sayfa, Tekirdağ, (Doç. Dr. Nuriye Akbay)
41. Emon JMV, Chuang JC, Trejo RM, Durnford J. Integrating bioanalytical capability in an environmental analytical laboratory. In: I Emon JMV, editors. Immunoassay and Other Bioanalytical Techniques. CRS press. 2000, pp 6-9.
42. Akyürek F. 17-Hidroksipregesteron Ölçümünde İmmünassay ve Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometre (LC-MS/MS) Metodların Karşılaştırılması. 2014, Selçuk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıpta Uzmanlık Tezi, 75 sayfa, Konya, (Prof. Dr. Ali Ünlü)

ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında Siirt ili Pervari ilçesinde doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Mersin’de tamamladım. Yüksek öğrenimimi 2016 yılında Dicle Üniversitesi Ziya Gökalp Eğitim Fakültesi Kimya Öğretmenliği Bölümü’nde tamamladım. Halen 2019 yılında girmiş olduğum Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalında eğitimimi sürdürmekteyim.

