



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İDRARDA UR-144 VE METABOLİTLERİNİN LC-MS/MS İLE TAYİNLERİ

Ergün KARAOĞLU

Prof. Dr. BELGİN İZGİ
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KRİMİNALİSTİK ANABİLİM DALI

BURSA-2016

TEZ ONAYI

Ergün KARAOĞLU tarafından hazırlanan “İdrarda UR-144 ve metabolitlerinin LC-MS/MS ile tayinleri” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kriminalistik Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof.Dr. Belgin İZGİ

Başkan : Prof. Dr. Belgin İZGİ
Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Kriminalistik Anabilim Dalı Başkanı

İmza

Üye : Doç Dr. S.Kemal AKAY
Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi
Fizik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

İmza

Üye : Doç Dr. Ömer KOZ
Bursa Teknik Üniversitesi Doğa Bilimleri,
Mimarlık-Mühendislik Fakültesi
Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

İmza

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Ali Osman DEMİR
Enstitü Müdürü

.../.../.....

U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
 - görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
 - başkalarının eserlerinden yararlanması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
 - atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
 - kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
 - ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı
- beyan ederim.**

.././....

İmza

Ergün KARAOĞLU

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

İDRARDA UR-144 VE METABOLİTLERİNİN LC-MS/MS İLE TAYİNİ

Ergün KARAOĞLU

Uludağ Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kriminalistik Anabilim Dalı

Danışman: Prof.Dr. Belgin İZGİ

Esrarın yan etkilerini azaltarak tedavi edici etkisini geliştirmek üzere sentezlenen sentetik kannabinoidler son yıllarda esrara alternatif olarak kullanılmakta ve suistimali tehlikeli boyutlara ulaşmıştır. Endokannabinoid reseptörlere tetrahidrokannabinol (THC)'e benzer etki gösteren fakat farklı kimyasal yapıdaki bu maddeler, ciddi yan etkilere hatta ölümlere neden olabilmektedirler. Sentetik kannabinoidlerin bitkisel materyaller üzerine spreyleneşmesiyle hazırlanan karışımlar “doğal” ve “yasal” kandırmacasıyla internet üzerinden kolaylıkla satılmakta ve popülariteleri gün geçtikçe artmaktadır. Maddelerin farmakolojisi, toksik etkileri ve tayiniyle ilgili yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır.

“Tütsü” gibi isimlerle adlandırılan Spice, Yucatan Fire, Smoke, Sence, Skunk ve Space gibi ticari isimlerle piyasaya sürülen bu maddeler esrardan daha güçlü bir etki oluşturmaktadır. Buna ek olarak yasal kapsama alınmadığı için rahatlıkla ticareti yapılabilmektedir.

Artan popülaritesi ve olası hasar potansiyeli nedeniyle “spice” Türkiye’de 2011 yılında yasa kapsamına alınması nedeniyle bileşenlerinin analizine adli toksikolojide ihtiyaç duyulmuş ve tayini gerekli hale gelmiştir.

UR-144, UR-144 N-pentanoik asit ve UR-144 N-(5-hidroksipentil) maddelerinin katı faz ekstraksiyonu yapılarak LC-MS/MS analizi ile idrarda tayini ve miktar belirlenmesi amacıyla spesifik ve güvenilir bir metot geliştirilmiştir. Metodun validasyonu

doğrusallık (0,1 – 100 ng/mL), seçicilik, gün içi ve günler arası doğruluk ve kesinlik (CV < %15), geri kazanım (% 81-99), gözlenebilme sınırı (LOD) (0,05-0,09 ng/mL), ve gözlenebilme miktarı (LOQ) (0,17-0,31 ng/mL) parametreleri dikkate alınarak yapılmıştır. Ayrıca matriks etkisi, kararlılık ve işlem etkileri de incelenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Sentetik kannabinoid, LC-MS/MS, UR-144, metabolit, idrar

2016, xi+57 sayfa

ABSTRACT

Msc Thesis

DETERMINATION OF UR-144 AND METABOLITES IN URINE WITH LC-MS/MS

Ergün KARAOĞLU

Uludağ University

Graduate School of Naturel and Applied Sciences

Departmant of Criminalistics

Supervisor: Prof.Dr. Belgin İZGİ

Synthetic cannabinoids are synthesized to improve the therapeutic effect of marijuana by reducing the adverse effects of it but cannabis are now being used as alternative of marijuana and its widespreadening has reached dangerous proportions abusively. The endocannabinoid receptors for tetrahydrocannabinol (THC) showing similar effects to these substances but with different chemical structures, they cause serious side effects even death. It is increasingly getting popular and available on internet to reach Synthetic cannabinoids which prepared as liquid spray and applied over mixtured various plant materials under mask of "natural" and "legal" trade labels in the market day by day. Unfortunately, pharmacologic, toxic effects and determination of cannobinoid substances related studies are very limited.

Trading traffic of those substances in the market held by different names such "Incense, Spice, Yucatan Fire, Smoke, Sence, Skunk" and these substances have more effective than marijuana. Additionaly legal gaps and abstractness of legal regulations provides easiness on trading of that substances in the market. It became required to analyze and identificate for forensic toxicology when a legal legislation made in 2011 which aims to prevent the dangerously increasing popularity and damage potential of "spice" in Turkey.

A specific and reliable method has been developed for the detection and quantification of UR-144, UR-144 N-pentanoic acid and UR-144 N- (5-hydroxypentyl) in urine using solid-phase extraction by LC–MS/MS analysis. The method has been validated in terms of linearity (0,1 – 100 ng/mL), selectivity, intra-assay and inter-assay accuracy and precision (CV < 15%), recovery (81-99%), limits of detection (LOD) (0,05-0,09 ng/mL), and quantification (LOQ) (0,17- 0,31 ng/mL). Matrix effects, stability, and process efficiency were also assessed.

Key Words: Synthetic cannabinoid, LC-MS/MS, UR-144, metabolites, urine
2016, xi+57 sayfa

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması boyunca yardımlarını esirgemeyen danıőmanım Prof. Dr. Belgin İZGİ'ye, Adli Tıp Kurumu Başkanı Doç. Dr. Yalçın BÜYÜK'e, desteğini esirgemeyen eőim, çocuklarım ve iç arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Ergün KARAOğLU

.../.../2016

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Sentetik Kannabinoidler.....	4
2.2. Sentetik Kannabinoid UR-144 ve Özellikleri.....	9
2.2.1. Farmakolojik ve Toksikolojik Etkileri.....	12
2.2.2. Farmakolojik ve Toksikolojik Özellikleri.....	13
2.2.3. Yasal Kısıtlamalar ve Kullanım Sıklığı.....	17
2.2.4. Analiz yöntemleri.....	18
2.3. LC-MS/MS Yöntemi.....	19
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	22
3.1. Materyal.....	22
3.2. Kimyasal Maddeler ve Çözücüler.....	22
3.2.1. Çözeltiler.....	23
3.3. Biyolojik Örnekler.....	25
3.4. İdrar Örneklerin Hazırlanması.....	25
3.5. LC-MS/MS Sistemi Çalışma Şartları.....	26
3.5.1. Sıvı Sistem Özellikleri.....	26
3.5.2. MS/MS Sistem Özellikleri.....	27
3.6. Validasyon (Geçerlilik) Çalışmaları.....	29
3.6.1. Seçicilik Çalışmaları.....	30
3.6.2. Doğrusallık ve Kalibrasyon Grafiği.....	30
3.6.3. Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırı (LOQ).....	30
3.6.4. Geri Kazanım.....	31
3.6.5. Kesinlik.....	31
3.6.6. Kararlılık.....	31
4. BULGULAR.....	32
4.1. Metot Validasyonu.....	32
4.1.1. Seçicilik.....	32
4.1.2. Doğrusallık ve Kalibrasyon Grafiği.....	36
4.1.3. Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırı LOQ).....	38
4.1.4. Geri Kazanım.....	38
4.1.5. Kesinlik.....	39
4.1.6. Kararlılık.....	39
5. TARTIŞMA.....	42
KAYNAKLAR.....	46
EKLER.....	51

Sayfa

EK 1 Bakanlar Kurulu Kararı (25.06.2013 tarih, 28688 sayılı Resmi Gazetede yayımlanan 22.05.2013 tarih, 4827 sayılı).....	52
EK 2 Eğitim ve Bilimsel Araştırma Komüsyonu Kararı.....	56
ÖZGEÇMİŞ	57

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

Açıklama

gr	Gram
mg	Miligram
mL	Mililitre
m/z	Kütle/yük
ng/mL	Milyarda Bir Birim
rpm	Dakikada Katedilen Dairesel Aç
µg/mL	Milyonda Bir Birim
µl	Mikrolitre

Kısaltmalar

Açıklama

ACN	Asetonitril
AJS ESI	Jet Rüzgarı Elektro Sprey İyonizasyonu
APCI	Atmosferik Basınç Kimyasal İyonlaştırma
CE	Parçalanma Enerjisi
CXP	Parçalanma Çıkış Enerjisi
DC	Doğrusal Akım
DP	Kümeleşme Önleyici Potansiyel
EMCDDA	Avrupa Uyuşturucu Ve Uyuşturucu Bağımlılığı İzleme Merkezi
EP	Giriş Potansiyeli
ESI	Elektro Sprey İyonizasyon
EWS	Erken Uyarı Sistemi
GC/MS	Gaz Kromatografi/Kütle Spektrometrisi
IS	İnternal Standart
LC-MS/MS	Sıvı kromatografi/ Tandem Kütle Spektrometrisi
LOD	Gözlenebilme sınırı
LOQ	Tayin sınırı
MeOH	Metanol
MRM	Çoklu Reaksiyon Görüntüleme
MS	Kütle Spektrometresi

MW	Moleküler Ağırlık
RF	Radyo Frekans
RSD	Bağıl Standart Sapma
SPE	Katı Faz Ekstraksiyonu
S/N	Sinyal/Gürültü
THC	Tetrahidrokannabinol
TIC	Total İyon Kromatogramı
UPLC	Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1 Satışı yapılan sentetik kannabinoidlerin farklı isim, ambalaj ve içerikleri.....	6
Şekil 2.2 JWH-018'in Kimyasal Yapısı (1-pentyl-3-(1-naphthoyl)indole)	10
Şekil 2.3 UR-144'ün Kimyasal Yapısı (1-pentylindol-3-yl)-(2,2,3,3-tetramethylcyclopropyl) methanone.....	11
Şekil 2.4 UR-144 N-pentanoik asit'in Kimyasal Yapısı.....	11
Şekil 2.5 UR-144 5-hidroksipentil'in Kimyasal Yapısı.....	11
Şekil 2.6 THC-COOH-D3'ün Kimyasal Yapısı.....	11
Şekil 2.7 Tandem Kütle Spektrometresi Genel Görünümü.....	21
Şekil 3.1 İdrar örneklerinin ekstraksiyon basamakları.....	26
Şekil 3.2 İnfüzyon sırasında moleküler iyondan elde edilmiş UR-144 maddesine ait infüzyon spektrumu.....	28
Şekil 3.3 İnfüzyon sırasında moleküler iyondan elde edilmiş UR-144 N-pentanoik asit maddesine ait infüzyon spektrumu.....	28
Şekil 3.4 İnfüzyon sırasında moleküler iyondan elde edilmiş UR-144 N-(5-hidroksipentil) maddesine ait infüzyon spektrumu	29
Şekil 3.5 İnfüzyon sırasında moleküler iyondan elde edilmiş THC-COOH-D3 maddesine ait infüzyon spektrumu.....	29
Şekil 4.1 Orijinal idrar örneğine ait kromatogram	32
Şekil 4.2 10 ng/mL UR-144, UR-144 N-Pentanoik asit ve UR-144 N-(5-hidroksipentil) ilave edilmiş idrar örneğine ait kromatogram.....	33
Şekil 4.3 Orijinal idrarda UR-144'ün MRM spektrumu	33
Şekil 4.4 2.5 ng/mL UR-144 ilave edilmiş idrarda UR-144'ün MRM spektrumu....	34
Şekil 4.5 Orijinal idrarda UR-144 N-Pentanoik asit'e ait MRM spektrumları.....	34
Şekil 4.6 2.5 ng/mL UR-144 ilave edilmiş idrarda UR-144 N-Pentanoik asit'e ait MRM spektrumları.....	35
Şekil 4.7 Orijinal idrarda UR-144 N-(5- hidroksipentil)'e ait MRM spektrumları	35
Şekil 4.8 2.5 ng/mL UR-144 N-(5- hidroksipentil) ilave edilmiş idrarda UR-144 N-(5- hidroksipentil)'e ait MRM spektrumları.....	36
Şekil 4.9 İdrarda UR-144 maddesi için kalibrasyon grafiği.....	36
Şekil 4.10 İdrarda UR-144 N-pentanoik asit maddesi için kalibrasyon grafiği.....	51
Şekil 4.11 İdrarda UR-144 N-(5-hidroksipentil) maddesi için kalibrasyon grafiği.....	51

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1. Jenerasyon numarası ve dahil edilen sentetik kannabinoidler.....	8
Çizelge 3.1. LC-MS/MS çalışma koşulları.....	27
Çizelge 3.2. UR-144, Metabolitleri ve IS için infüzyon sonrası belirlenmiş Moleküler İyon, Prekürsor İyon, Frag (V), CE (V), Cell Acc (V), CXP (V) ve RT (dk) değerleri.....	27
Çizelge 4.1. UR-144, UR-144 N-pentanoik asit ve UR-144 N-(5- hidroksipentil) maddeleri için idrarda kalibrasyon grafiklerine ait denklem,doğrusal aralık ve korelasyon katsayıları	38
Çizelge 4.2. UR-144, UR-144 N-pentanoik asit ve UR-144 N-(5-hidroksipentil) maddelerinin idrar örneği için hesaplanan LOD ve LOQ değerleri (n=10).....	38
Çizelge 4.3. İdrarda (1 , 10 ve 50 ng/mL derişimlerde) geri kazanım, matriks etkisi ve proses etkinliği değerleri (n=6)	39
Çizelge 4.4. İdrarda (1, 10 ve 50 ng/mL derişimlerde) gün içi kesinlik ve doğruluk değerleri (n=10).	39
Çizelge 4.5. UR-144:-20 °C , +4° C ve oda sıcaklığı'nda 1 ng/mL, 10 ng/mL ve 50 ng/mL konsantrasyonlarında kararlılığın ölçülmesi.....	40
Çizelge 4.6. UR-144 N-Pentanoik Asit: -20 °C , +4° C ve oda sıcaklığı'nda 1 ng/mL, 10 ng/mL ve 50 ng/mL konsantrasyonlarında kararlılığın ölçülmesi.....	40
Çizelge 4.7. UR-144 N-(5-hidroksipentil): -20 °C , +4° C ve oda sıcaklığı'nda 1ng/mL, 10 ng/mL ve 50 ng/mL konsantrasyonlarında kararlılığın ölçülmesi.....	41

1. GİRİŞ

Kenevir içindeki esrar bileşeninin (THC-tetrahidrokannabinol) ve diğer bileşenlerinin dini ya da tıbbi tedavi amaçlarla kullanılması eski Çin'e kadar uzanmaktadır. İlk olarak M.Ö. 2737 yılında Çin İmparatoru Shen-Nung yazılarında esrarın, malarya ve romatizma üzerindeki etkilerine dikkat çekerek esrarın faydalarından bahsetmiştir (Seely ve ark. 2012 a).

1964 yılında Raphael Mechoulam ve ark. kenevir bitkisi içindeki psikoaktif bileşen olan THC'ü bitkiden izole etmişler ve tanımlamışlardır (Castaneto ve ark.2014). Aynı yıllarda esrarın sahip olduğu yan etkilere neden olmayan ağrı kesici ve iltihaplara karşı etkileri olan kannabinoid reseptör agonisti yeni maddelerin bulunması için de çalışmalar yapılmıştır (Lindsay ve ark.2012). 1980'li yıllarda endokannabinoid reseptörleri CB1 ve CB2 keşfedilmiştir. Bu reseptörlerin etkilerini incelemek amacıyla pek çok çalışma yapılmıştır 1990'lı yıllarda Huffman ve arkadaşları bu çalışmalar da kullanılmak üzere "JWH" olarak bilinen bileşikler sentezlemişlerdir.

THC'nin kemoterapideki kusmayı önleyici etkisini geliştirmek üzere dizayn edilen çalışmalarda sentetik kannabinoidler sentezlenmiştir. THC analogları olan bir grup klasik kannabinoid THC'nin dibenzofuran yapısının kısmi olarak kırılmasıyla sentezlenmiştir (Young ve ark. 2011). Sentetik kannabinoidler esrara benzer olarak endokannabinoid CB1 ve CB2 reseptörlerinden biri ya da her ikisi üzerinde de etki göstermektedir (Znaleziõna ve ark.2015). Sentetik kannabinoidler kimyasal yapı olarak esrara benzemiyor olmasına rağmen farmakolojik etkileri esrara benzerdir (Wiebelhaus ve ark. 2012).

Sentetik kannabinoid içeren bitkisel ürünler ilk olarak 2004 yılında "Spice" ve "K2" ticari isimleriyle piyasaya sürülmüşlerdir (Vardakou ve ark. 2010). Satışları genellikle internet üzerinden yapılan bu maddeler "legal high" ya da "herbal incense" olarak pazarlanmışlardır (Fantegrossi ve ark. 2014). Üzerlerinde "insan tüketimi için değildir" ibaresi bulunan ve tütsü ya da potpori iddiasıyla pazarlanan maddelerin ambalajları üzerinde içeriğinin yazılması zorunlu değildir, bu yüzden yasal denetimleri atlatmak da mümkün olmaktadır. Maddelerin "bitkisel" ya da "yasal" kelimeleri kullanılarak

satışının yapılması kullanan kişilerde “doğal” ve “zararsız” izlenimi oluşturmaktadır. Sentetik kannabinoidlerin etanol ya da asetonda çözünmesi ile bitkisel parçalar (yaprak, çiçek v.b.) üzerine püskürtüldüğü ve daha sonra kurutularak değişik derişimlerde ürün elde edildiğı düşünölmektedir. Püskürtölen madde derişimlerinin değişken olmasına bağlı olarak yan etkileri de değişiklik göstermekte, hatta aynı ürünü alan farklı kişilerde hafif yan etkiden ölümlle sonuçlanan toksisiteye kadar değişiklik göstermektedir. Teminlerinin oldukça kolay ve ucuz olması sentetik kannabinoidleri uyuşturucu kullanmaya meyilli genç ve ergenler için cazip hale getirmektedir. Merkezi sinir sistemi, kardiyovasköler sistem başta olmak üzere birçok sistem üzerinde toksik etkileri belirlenen bu maddelerin kullanımına bağlı olarak acil servislere başvurular gün geçtikçe artmaktadır (Seely ve ark. 2012 b, Fantegrossi ve ark. 2014).

Amerikan Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC) verilerine göre kokain, eroin, amfetamin, metamfetamin, MDMA (3,4-methylenedioxy-methamphetamine) gibi maddelerin yüksek dozda alımından kaynaklanan ölüm vakaları 1999 ve 2010 yılları arasında neredeyse sabit kalmış; buna karşılık “tanımlanmamış” maddelerden kaynaklanan ölümler üç katına çıkmıştır. Ölümlerin üç katına çıkmasına bahsi geçen yıllar arasında yasaklı maddeler kapsamında olmayan sentetik kannabinoidlerin neden olduğı düşünölmektedir (Mycyk 2012). Bu maddelerin kötüye kullanımı Amerika Birleşik Devletleri’nde acil servislere başvuran hasta sayısının son on yılda %187’den %5846’ya kadar çıkarmıştır (Nacca ve ark. 2013).

2008 sonlarında THC Pharma (Frankfurt, Almanya) firması “Spice” içerisinde bir sentetik kannabinoid olan JWH-018 olduğunu raporlamış ve 2009 yılı başında JWH-018 maddesi yasaklanmıştır. Bu düzenlemenin hemen ardından Mart 2009’da ikinci nesil sentetikler piyasaya sürölmüş ve yakalanmaya başlanmıştır (Lindigkeit ve ark. 2009). Kısa bir sürede pek çok Avrupa ülkesinde bu maddeler yasa kapsamına alınmışlardır. Mart ayında Amerika Birleşik Devletleri FDA (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) JWH-018, JWH-073, JWH-200 ve CP-47,497 ve kannabisikloheksanol’den oluşan beş maddelik yasak listesini yayınlamıştır.

Sentetik kannabinoidlerin farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri hakkında bilinenler oldukça azdır (Lapoint ve ark. 2011). Farmakokinetik ve farmakodinamik

özelliklerinin tanımlanması ve toksik etkilerinin incelenebilmesi, analizleri için uygun metotlarının geliştirilmesi oldukça önemlidir. Maddelerin kimyasal yapı olarak heterojen bir dağılım göstermeleri ortak analiz yöntemlerinin geliştirilmesini oldukça zorlaştırmaktadır.

Bu çalışmanın amacı UR-144 ve metabolitlerinin idrarda tayinini sağlayan seçici, güvenilir, maliyeti düşük bir yöntem geliştirilmesi ve uluslararası rehberlere uygun olarak validasyonunun yapılmasıdır. Böylece suistimali yaygın olan bu maddenin yasa tarafından izlenmesi ve bu maddeden kaynaklanan ölümlerin tespiti amaçlanmaktadır. Yapılan çalışma ile ayrıca bu alandaki literatüre katkı sağlanabilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sentetik Kannabinoidler

Kannabinoidler genel olarak üç grupta toplanmaktadırlar; fitokannabinoidler, endokannabinodler ve sentetik kannabinoidler. *Fitokannabinoidler* sadece kenevir bitkisinden kayda değer miktarda izole edilen kannabinol (CBN), kannabidiol (CBD) ve THC doğal kannabinoidlerdir. *Endokannabinoidler* vücutta üretilen hücre içi lipid mesajcılarıdır, kullanılabilir miktardan daha fazla üretildiği ve sonraki kullanım için saklanabildiğine inanılır. Fitokannabinoidler, endokannabinodler ve sentetik kannabinoidlerin etkilerinin hücre membranları ile özel bir etkileşim ile meydana geldikleri bilinmektedir (Sun ve ark. 2007). 1980 yılında kannabinoid reseptörler (CB) tanımlanmış ve keşif sırasına göre (CB1) ve (CB2) olarak adlandırılmıştır. Bu iki reseptör arasındaki farklılık tahmin edilen aminoasit dizisi farklılıkları, sinyal mekanizması ve doku dağılımından kaynaklanmaktadır (Vardakou ve ark. 2010).

Kenevir'e ait psikoaktif bileşenler yüzyıllardır uyuşturucu olarak kullanılmıştır. Bu bileşenlerden en önemlisi endokannabinoid CB1 reseptörü üzerinde kısmi agonist (hipotermi, analjezi) ekti gösteren THC'dir. Bu psikoaktif maddenin keşfinden sonra maddenin reseptör etkisi, terapötik etkileri ve yan etkileri üzerinde pek çok çalışma yapılırken, aynı zamanda endokannabinoid sistem ve reseptörler üzerinde de çalışmalar yapılmıştır (Mazzarino ve ark. 2014).

Sentetik kannabinoidlerden JWH-018 ilk olarak 1980'li yıllarda medikal kimyacı John William Huffman tarafından vücutta endokannabinoidlerin yapısını ve etki mekanizmasını incelemek üzere geliştirilmiştir. Huffman bir ilaç üzerine Ulusal Uyuşturucu Bağımlılığı Enstitüsü tarafından desteklenen bir çalışmaya başlamış ve sentetik esrarları sentezlemiştir. JWH serisi kannabinoidler (Δ^9 -THC)'nin yapısının bilgisayar üzerinden geliştirilmesiyle sentezlenmişlerdir (Beuck ve ark. 2011).

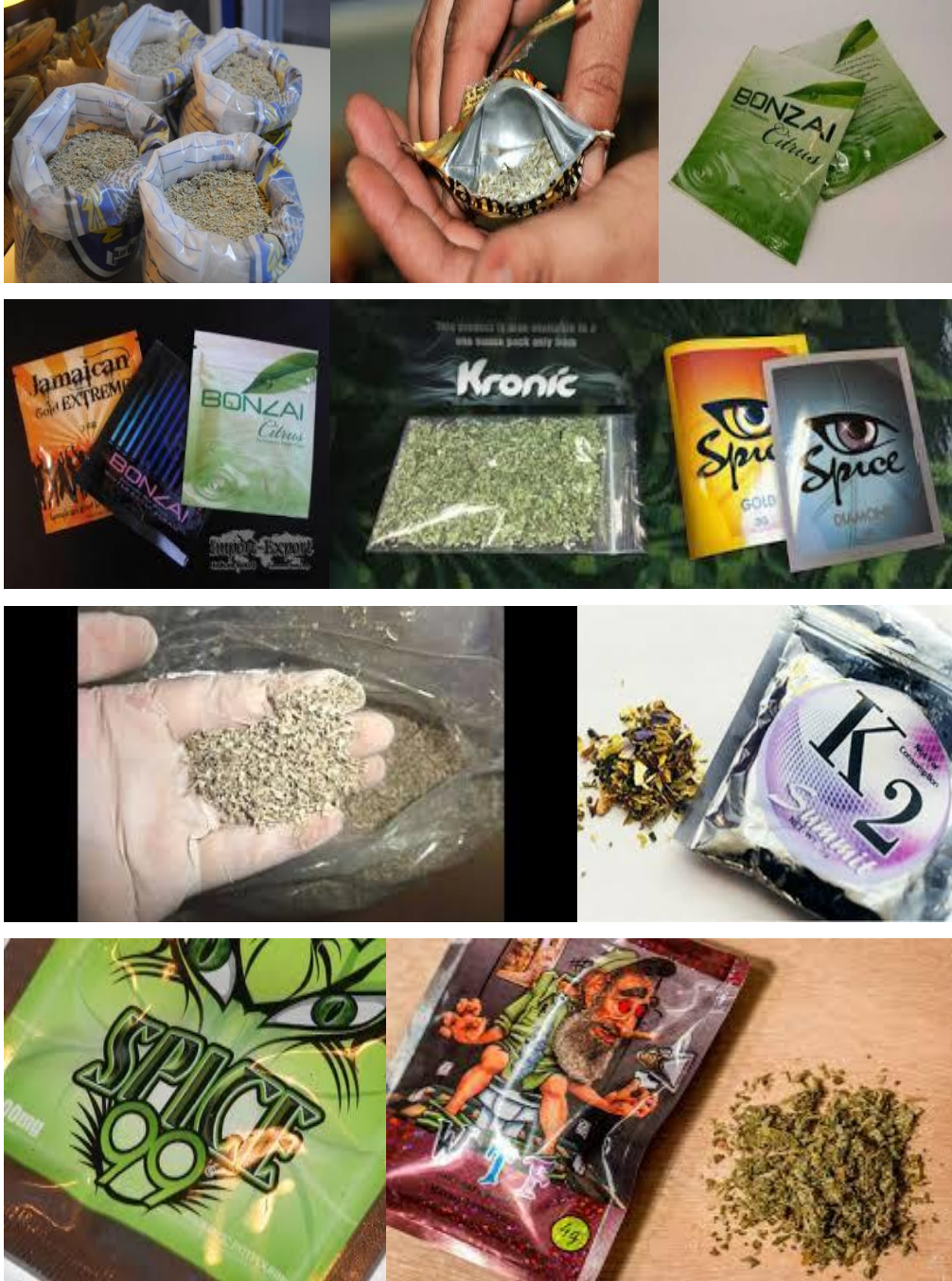
Son dönemlere kadar sentetik kannabinoidler geleneksel tedavi edici ilaçların farmakolojik özelliklerini geliştirmek veya esrar ve kubar (toz) esrarın spesifik mekanizmasını araştırmak üzere dizayn edilmişlerdir (Huffman ve ark. 1994, Seely ve ark. 2012). Sentetik kannabinoidler, sentezleyen kişi ya da kurumların ön ekleri ile

isimlendirilmiş dört ana gruptan (JWH, HU, CP, AM) oluşmaktadır. 2004'ten itibaren sokak kimyacıları kontrole tabi ya da yasaklı olmayan ve aynı zamanda farmakolojik olarak en az esrar kadar etkili ürünler tasarlamaya başlamışlardır (Huffman ve ark. 1994).

Bu araştırmalarda kullanılmak üzere sentezlenen sentetik kannabinoidlerin reseptörlere bağlanma eğilimleri THC'ye oranla CB1 üzerinde 4 ile 10 kat kadar daha fazla olduğu görülmüştür (Young ve ark. 2011). THC, CB1 ve CB2 reseptörleri üzerinde kısmi agonist etki gösterirken sentetik kannabinoidler aynı reseptörler üzerinde tam agonist etki gösterirler (Fantegrossi ve ark. 2014).

Sentetik kannabinoidler farkı kimyasal yapıda maddelerden oluşan geniş bir ailedir. Farmakolojik ajanlar olarak üretilmiş olmalarına rağmen tedavi edici özelliklerini istenmeyen psikoaktif yan etkilerden ayırmak oldukça zordur (Vardakou ve ark. 2010).

İlk kez 2004 yılında "Spice" adı altında sentetik kannabinoid içeren ve bitkisel olduğu iddia edilen bir ürünün internet üzerinden satılmaya başlandığı tespit edilmiş, 2008'den sonra ise "Spice" ve benzeri paketlenmiş ürünlerin satışı ile ilgili Alman ulusal televizyonu ve yerel gazetelerde ilanlar görülmeye başlanmış, genellikle de psikotrop madde kullanmak isteyen ergenler ve gençler tarafından tercih edildiği belirlenmiştir (Lindigkeit ve ark. 2009, Vardakou ve ark. 2010). Erişimlerindeki kolaylık ve psikoaktif etkileri bu maddelere ilgiyi oldukça arttırmıştır. Spice Silver, Spice Gold ve Spice Diamond ve birçok çeşidinin *Pedicularis densiflora* (Hint Savaşçısı), *Leonotis leonurus* (Aslan Kuyruğu), *Cannavalia rosea* (Baybean), *Nymphaea aquatic* (Mavi Lotus), *Vanilleae planifolia* (Vanilya), bal ve benzeri bitkisel ürün ya da bitki içerdiği rapor edilmiştir. Bu bitkilerin de toksikolojik etkileri bilinmemektedir (Rosenbaum ve ark. 2012). Kimyasal içeriklerine bağlı olarak *Pedicularis densiflora* (Hint Savaşçısı) ve *Leonotis leonurus* (Aslan Kuyruğu)'un psikotrop etkiye sahip olduğu söylenebilir. Şekil 2.1.'de "Spice" ve benzeri ticari ürünler ve tütsüye benzetilen içerikleri gösterilmektedir.



Şekil 2.1. Satışı yapılan sentetik kannabinoidlerin farklı isim, ambalaj ve içerikleri

Kullanıcılarda esrar benzeri etkiler gösteren ve bitkisel baharat olduğu iddia edilen ürünler, içerikleri bakımından incelenmiş ancak esrara rastlanmamıştır. 2008 yılı Aralık ayında bitkisel karışımların psikoaktif etkilerinin sentetik kannabinoidlerden kaynaklandığı açığa çıkmış ve içlerinde JWH-018, JWH-073, JWH-398, JWH-250, HU-210 ve CP-47,497 ve homologları ile oleamid olduğu rapor edilmiştir. Bu

kannabinoid reseptör agonistleri yağda çözünen, polar olmayan, 20-26 karbonlu ve oldukça uçucu yapılardır (Uchiyama ve ark. 2010, Vardakou ve ark. 2010). 2009 yılında Avusturya, Almanya, Fransa, Lüksemburg, Polonya, Litvanya, İsveç, İngiltere ve Estonya gibi bazı Avrupa ülkeleri bütün bu ürünleri narkotik yasasına dahil ederek satışı engellenmiştir (Seely ve ark. 2012).

“Spice” içerisinde bulunan sentetik kannabinodlerden HU-210 1960’larda Hebrew Üniversitesi’nde Raphael Mechoulam tarafından sentezlenmiştir. Klasik olmayan kannabinoidlerden Siklofenol (CP) 1970’lerde Pfizer firması tarafından geliştirilmiştir. HU-210 yapı olarak THC’ye çok benziyor olmasına rağmen reseptör afinitesi daha yüksektir. CP-47,497’nin sentezi daha kolaydır. CB1 reseptörü üzerinde tam bir agonist etki göstermesi nedeniyle daha güçlü ve daha popülerdir. Diğer bir sentetik kannabinod olan AM, Alexandros Makriyannis tarafından sentezlenmiştir (Seely ve ark. 2012). Son olarak 1990’lı yıllarda John W. Hoffman ve ekibi JWH isimli bir seri sentetik kannabinoid sentezlemişlerdir.

Maddelerin tek başına yasa kapsamına alınmıyor olması suistimalinin önüne geçememiştir. Yasa kapsamına alındığı anda aynı ticari isimle satılmaya devam edilen ticari mamüllerin kimyasal içerikleri değiştirilerek yasa kapsamı dışında yeni maddeler sentezlenerek “yasal” niteliği korunmuştur. İlk üretilen “Spice” ürünleri JWH-018 ve JWH-073 içermekteydi. Fakat bu maddeler aminoalkil indoller ve diğer bisiklik klasik olmayan CP-47,497 ve onun C8 homologları gibi yasa kapsamına alındığı için yeni ikinci jenerasyon üretilmeye başlanmıştır. İlk jenerasyon maddeler daha birçok ülkede yasaklanmadan ikinci jenerasyon maddeler tespit edilmeye başlanmıştır. Ocak 2014 itibariyle yedinci jenerasyon sentetik kannabinoidlerden THJ-018 listeye dahil edilmiştir (<http://www.nist.gov> 2015). Çizelge 2.1.’de sentetik kannabinoidler ve dahil olduğu jenerasyon numaraları gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. Jenerasyon numarası ve dahil edilen sentetik kannabinoidler (<http://www.nist.gov> 2015)

Jenerasyon Numarası	Sentetik Kannabinoid
1	JWH-018, JWH-019, JWH-073
2	AM-2201, RCS-4, JWH-122
3	AKB-48, STS-135
4	UR-144, 5-Fluoro-UR-144, XLR-11
5	PB-22, 5-fluoro-PB-22, BB-22
6	AB-PINACA, AB-FUBINACA, ADB-PINACA
7	THJ-018, FUB-PB-22

Yeni üretilen ve klasik serilerde (CP, AM, JWH, HU) olmayan sentetik maddelere üretildikleri ülkelere özgü isimler verilmiştir. “AKB-48” ismini Japon pop grubundan almıştır. “STS-135” Amerikan Uzay Üssü programlarından birinin son uçuşudur. “XLR-11” ilk sıvı yakıtlı motordur. Bu da sentetik kannabinoidlerin artık birçok ülkede ve merdiven altı laboratuvarlarda yasadışı olarak kolaylıkla üretilebildiğini kanıtlamaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, sentetik kannabinoidlerin yan etkilerinin oldukça güçlü olduğunu ve yeni bir suiistimal edilen madde sınıfı olarak kabul edildiğini göstermektedir. Bu amaçla üretilmiş yüzlerce maddeden sadece 20 tanesinden azı biyolojik kitlerle (enzim-substrat ilişkisine dayanarak) ölçülmektedir ve bu sistemlerin çoğunda sadece ana maddelerin tayin ediliyor olması yanlış negatiflere neden olmaktadır (Young ve ark. 2011).

“Spice” içeriğinde sentetik kannabinoidler dışında bulunan diğer maddeler yağ asitleri ve esterleri (linoleik asit, palmitik asit), amid yağ asitleri (oleamid, palmitol etanolamid), bitkisel kaynaklı maddeler (eugenol, timol ,asetil vanilin,..), benzil benzoat gibi koruyucular ve α -tokoferol’dür (Uchiyama ve ark. 2010). Bu maddeleri oldukça yüksek dozlarda karışımlara eklemek suretiyle, sentetik kannabinoidin yan etkilerini maskeleyen hedeflenmektedir (Vardakou ve ark. 2010).

Bu ürünlerde ayrıca, sıklıkla β 2-adrejenik agonisti klenbuterol'e rastlanmaktadır (Dresen ve ark. 2010). Kullanım sonrası titreme, kalp atışının hızlanması ve endişe duyma gibi şikayetler ile acil servise başvuran hastaların anlatmış olduğu sempatomlara benzeri etkilerde bu maddenin de etkisinin olabileceği düşünülmektedir (Simmons ve ark. 2011). Bunların dışında harmin ve harmolin, nikotin, kafein ve metallere de rastlanmaktadır. Karışımlara eklenen kimyasallar, sentetik kannabinoidlerin tespitini de zorlaştırmaktadır (Rosenbaum ve ark. 2012).

2.2. Sentetik Kannabinoid UR-144 ve Özellikleri

UR-144 [IUPAC adı: (1-pentyl-1H-indol-3-yl)- (2,2,3,3-tetramethyl-cyclopropyl)-methanone] sentetik kannabinoidi ilk olarak Abbott laboratuvarı tarafından 2006 yılında sentezlendi (Frost ve ark. 2011). UR-144 için TMCP-018, KM-X1, MN001 ve YX-17 kısaltmaları alternatif isimler olarak kullanılmaktadır (<http://en.wikipedia.org> 2015).

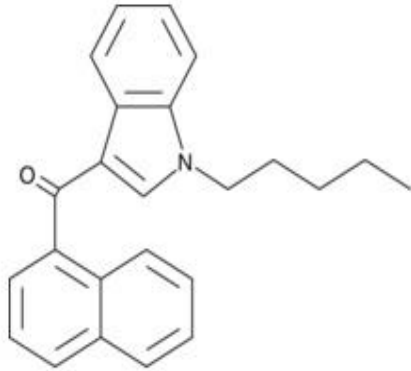
UR-144, ilk sentezlenen JWH-018 ile yapısal benzerlik göstermektedir. JWH-018'de karbonil grubuna naftil halkası bağlı iken UR-144'te tetrametilsiklopropil grubu bağlıdır. UR-144, JWH-018 maddesindeki fonksiyonel grubun değiştirilmesiyle sentezlenen sentetik kannabinoid'dir. UR-144'ün sahip olduğu tetrametilsiklopropil grubu nedeniyle, CB1 reseptörüne bağlanması JWH-018'e göre daha etkilidir. Bu özelliği nedeniyle tıbbi tedavi amacıyla tercih edilir. Sentetik kannabinoidler son dört yıldır eczanelerde ilaç olarak satılmaktadır. Δ 9-THC'nin CB1 reseptörüne bağlanma afinitesi $K_i=40,7\text{nmol}$, CB2 reseptörüne bağlanma afinitesi $K_i=36,4\text{nmol}$, JWH-018'in CB1 reseptörüne bağlanma afinitesi $K_i=9\text{nmol}$, CB2 reseptörüne bağlanma afinitesi $K_i=2,94\text{nmol}$ iken UR-144'ün CB1 reseptörüne bağlanma afinitesi $K_i=150\text{nmol}$, CB2 reseptörüne bağlanma afinitesi $K_i=1,8\text{nmol}$ olarak tespit edilmiştir (Frost ve ark. 2011). CB1 reseptörüne yüksek afinitesi nedeniyle ilaç kullanıcıları bu maddeyi çok popüler ve olumlu olarak değerlendirmişlerdir.

UR-144 ambalajları üzerinde her ne kadar "insan kullanımı için değildir" ibaresi olsa da kullanmak isteyenler bu uyarıya dikkat etmemektedirler. UR-144, diğer sentetik kannabinoidler gibi soluma ve sigara içer gibi kullanılmaktadır. Çoğunlukla tütün, sarı kantaran otu veya diğer otlarla karıştırarak sigara sarar gibi sararak ucundan yakıp içine çekmek şeklinde kullanılmaktadır. Raporlara göre; kullanıcılar 0,5 ile 20 mg arasında

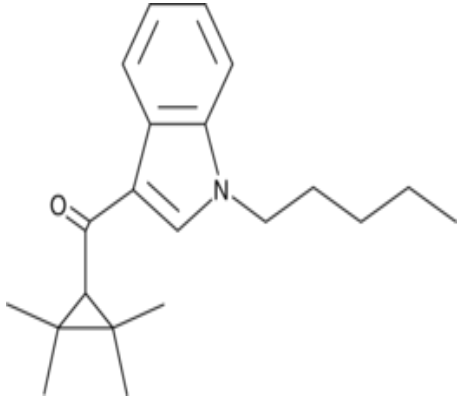
kullanmaya başlamaktadır. Hazırladıkları ot içerisine %0,05 - %0,4 oranında UR-144 katmaktadırlar (<http://www.drug-forum.com> 2013).

Kullanıcı ifadelerine göre UR-144, esrar ve diğer sentetik kannabinoidlere benzer etki göstermektedir (Piotr ve ark. 2013). Piotr ve ark. yaptığı çalışmalarda Ur-144'ün diğer sentetik kannabinoidlerle benzer şekilde metabolize olduğunu, ve vücuttan metabolitleri şeklinde atıldığını doğrulamaktadır. JWH-018, UR-144, UR-144 N-pentanoik asit, UR-144 N-(5-hidroksipentil) ve iç standart olarak kullanılan THC-COOH-D3'in kimyasal formülleri aşağıdaki şekillerde gösterilmiştir.

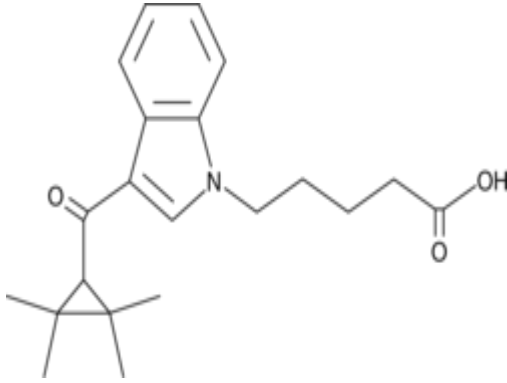
UR-144, ilk olarak Haziran 2012'de Kore'de yakalanmıştır (Choi ve ark. 2013). Daha sonra dünyada hızlı bir şekilde yayılmıştır. Avrupada Hırvatistan, İsveç, Almanya, Finlandiya, Norveç ve Macaristan'da, Japonya ve Amerika Birleşik Devletleri'nde bu madde tespit edilmiştir (Uchiyama ve ark. 2013). 2012 yılında Rus laboratuvarı bu maddeyi analiz etmiştir. UR-144, Yeni Zelanda ve Rusya'da 2012 yılında, İngiltere ve Amerika Birleşik Devletleri'nde 2013 yılında yasaklanmıştır (Piotr ve ark. 2013).



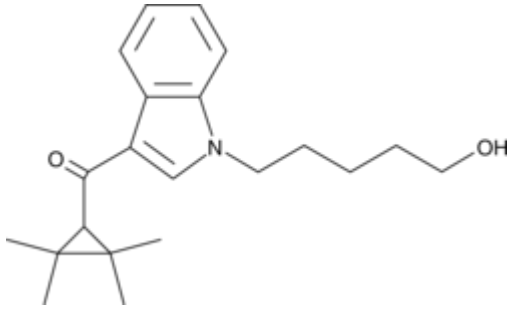
Şekil 2.2. JWH-018'in Kimyasal Yapısı (1-pentyl-3-(1-naphthoyl)indole)



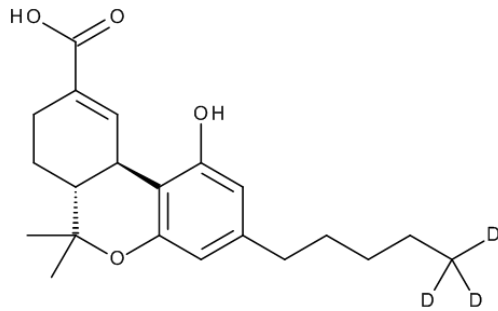
Şekil 2.3. UR-144'ün Kimyasal Yapısı
(1-pentylindol-3-yl)-(2,2,3,3-tetramethylcyclopropyl)methanone



Şekil 2.4. UR-144 N-pentanoik asit'in Kimyasal Yapısı



Şekil 2.5. UR-144 N-(5-hidroksipentil)'in Kimyasal Yapısı



Şekil 2.6 THC-COOH-D3'ün Kimyasal Yapısı

2.2.1. Farmakolojik ve Toksikolojik Etkileri

Sentetik kannabinoidlerin insanlarda farmakokinetik ve farmakodinamik etkileri tam olarak bilinmemektedir. Kullanıcılarla ilgili herhangi bir klinik bulgusu olmamasına rağmen “Spice” kullanmış olan kişiler deneyimlerini internet sayfalarında “chat” odaları aracılığıyla paylaşmıştır (<http://www.bluelight.ru> 2012). Kullanıcıların paylaştığı yorumlara göre etkileri “insan beyninin ön tarafında gözlerin arkasında basınç (esrarla aynı etkiler), bulanıklık, duygu ve durum iyileşmesi” olarak tanımlanmıştır (Zimmermann ve ark. 2009). Aynı gün içerisinde tekrar tekrar kullanan kişi, artan bir etki hissetmekte ve gün sonunda kişi sarhoş, yorgun ve sersemlemiş olmaktadır. Kullanıcılar sentetik kannabinoidi esrar kadar ilginç bulmuştur. Diğer bir kullanıcı, 4mg JWH-018’i eritmiş ve içmiştir. Bu kişi vücutta esrardan biraz daha farklı bir enerji dalgası olduğu gibi bir yorumda bulunmuştur. Başka bir konuşmada kullanıcı, 10 mg JWH-018 kullanmış ve kaygı hissettiğini belirtmiştir. İki küçük doz JWH-018 içen bir başka kullanıcı güçlü madde olarak tanımlamıştır (Zimmermann ve ark. 2009).

Ur-144 ile yapılan ilk çalışmalar; maddenin bitkisel içeriklerdeki saçtaki, tükürükteki, kandaki ve idrardaki analizleri ile ilgilidir. Sentetik kannabinoidlerle ilgili olarak karaciğer mikrozomları kullanılarak yapılan çalışmalarda Faz I ve Faz II metabolizması tanımlanmıştır. Ana madde önce CYP450’lerle (merkezi sinir sistemi:CYP2C9, akciğer:CYP1A2 ve karaciğer:CYP2D6) enzimleri ile oksitlenerek hidroksillenmiş ya da poli hidroksillenmiş metabolitlerine, sonrasında UDP glukuronozil transferaz enzimleri ile glukuronid konjugatlarına dönüşerek böbreklerden atılmaktadır. Konjugasyondan karaciğerde UGT1A1, UGT1A9; karaciğer dışında UGT2B7, UGT1A10; akciğerde UGT1A7 ve beyinde UGT1A3, UGT2B7 enzimleri sorumludur (Simoes ve ark. 2014).

Poklis ve ark.(2012)’nin yaptığı bir çalışmada farelere esrar, JWH-018 ve JWH-073 maddelerinden aynı dozlarda verilmiş ve metabolit düzeyleri takip edilmiştir. Farelere “Magic Gold” verildikten 20 dakika sonra JWH-073 derişimleri kanda 67-244 ng/mL arasında, beyinde ise 412-873 ng/g arasında değişim göstermiştir. Hayvanlarda maruziyet sonrası bulunan JWH-073 ve JWH-018 miktarları THC’ye oranla daha

düşüktür, bu da yarılanma ömürlerinin THC'den daha kısa olduğunu göstermektedir (Poklis ve ark. 2012).

Maddenin genellikle alkil grubunda ω -karbonunun oksitlenmesi ya da hidrosillenmesiyle Faz I hidroksil metabolitlerinin oluştuğu ve bu metabolitlerin, biyolojik materyallerde analiz için daha uygun olduğu görülmüştür (Znaleziona 2015).

2.2.2. Farmakolojik ve Toksikolojik Özellikleri

Maddelerin farmakolojik etkilerinin anlaşılabilmesi için yapılan deneysel çalışmalarda insan denekler kullanılamıyor olması nedeniyle çalışmalar genellikle farelerle yapılmıştır. Fareler, piroliz edilen maddelere burundan inhalasyon yoluyla maruz bırakılmış ve etkileri incelenmiştir (Wiebelhaus ve ark. 2012). Kimyasal yapıları farklı olmasına rağmen esrara benzer olarak endokannabinoid sistem üzerindeki CB1 ve CB2 reseptörlerini etkilemekte olduğu gözlenmiştir.

Yapılan vaka çalışmalarında oral ya da inhalasyon yoluyla alımlardaki tahmini biyoyararlanımları ve bu şekilde alıma bağlı etkilerinden bahsedilmektedir. Spesifik metabolik yolları, detoksifikasyon ve atılım reaksiyonları hala tam olarak bilinmemektedir. Genel olarak hepatik sitokrom P450 oksidasyonunu takiben glukuronik asit konjugasyonu ve böbrekten atılımı ile biten bir farmokokinetiği olduğu düşünülmektedir (Gronewold ve Skopp 2011). Sentetik kannabinoid metabolizmasından sorumlu sitokrom P450 izoenzimleri tanımlanmamış olmasına rağmen, konjugasyondan sorumlu ana UDP-glukuronoziltransferazlar UGT1A1, UGT1A3, UGT1A9, UGT1A10 ve UGT2B7 olarak tanımlanmıştır (Chimalakonda ve ark. 2011).

CB1 reseptörleri merkezi ya da perifer sinir sistemi, kemik, kalp, karaciğer, akciğer, vasküler endotelyum ve üreme sisteminde bulunmaktadır. CB2 reseptörleri başlıca immun sistemde yoğunlaşmıştır, fakat az miktarda da merkezi sinir sisteminde de bulunur (Van Scikle ve ark. 2005, Ashton ve Moore 2009). Sentetik kannabinoidler çoğunlukla pre-snaptik terminaller üzerine yerleşmiş olan G-protein çiftli CB1 reseptörlerini uyarırlar. CB1 reseptör aktivasyonu hücrel siklik adenozin monofosfat (cAMP) miktarını düşürür ve kannabimetik cevap oluşmasını sağlar (Pertwee 1999).

Sentetik kannabinoid reseptör agonistleri voltaj-kapılı iyon kanalları ile etkileşime girerek potasyum, sodyum ve N ve P/Q tip kalsiyum kanallarını inhibe ederek membran potansiyelini düşürürler (Castaneto ve ark. 2014).

Birçok farklı sentetik kannabinoidin organizma üzerindeki ortak dört ana etkisi; hipotermi, analjezi, katalepsi ve lokomotor baskılamadır. Bu etkilere kannabinoid tetradı adı verilir ve bu etkilerin derecelendirilmesi ile farklı maddelerin reseptörler üzerindeki etkileri karşılaştırılır (Fantegrossi ve ark. 2014). THC ile kıyaslandığında bazı sentetik kannabinoidler CB1 reseptörüne 4-5 kat daha fazla bağlanma eğilimine sahiptir (Seely ve ark. 2012).

Kannabinoid analogları CB1 and CB2 reseptörleri üzerinde agonist etki gösterirler. CB1 Kannabinoid reseptörleri beyinde yer alan en fazla G-protein bağlı reseptörlerdir ve γ -amino butirik asit (GABA) ve glutamat nörotransmisyonunun modülasyonu konusunda önemli bir rol oynarlar. Ayrıca kannabinoid reseptörler genellikle diğer reseptörler ile heterodimerler oluştururlar. Kannabinoid ve opioid reseptörler arasında meydana geldiği bilinen bu etkileşim etkili ağrı kontrolü konusunda farmasötik stratejilerin geliştirilmesi konusunda bir hedef oluşturmuştur. Fakat sentetik kannabinoidler ve opiyatların etkileşimleri hakkında henüz herhangi bir bilgi yoktur (Hajos ve Freund 2002, Desroches ve Beaulieu 2010).

Bu tür maddelerin klinik etkileri yayınlanmış olan vaka çalışmalarının derlenmesiyle belirlenmiştir. Bu etkiler belirlenirken internet üzerinden paylaşımda bulunan bloglar da fazlaca kullanılmıştır. En fazla rapor edilen etkiler merkezi sinir sistemi etkileridir. Bunlar; anksiyete, öfke patlaması, paranoya, göz temasından kaçınma, ajitasyon, delüzyonlar, psikozlar, kusma ve tepkisizliktir (Cohen ve ark. 2012, Schneir ve Baumbacher 2012). Klinik etkileri taşikardi, hipertansiyon, konvulsiyon, göz iltihabı, terleme, göğüs kafesinde ağrı ve ağız kuruluğu olarak rapor edilmiştir. Buna ek olarak bazı kaynaklar, sentetik madde kullanımının intihara teşebbüsü arttırdığını belirtmişlerdir (Vearrier ve Osterhoudt 2010, Cohen ve ark. 2012). Bazı vaka raporlarında, hafif hipokalemi, miyokard infarktüsü, böbrek yetmezliği ve konvulsiyonlar rapor edilmiştir (Pertwee 1999, Mir ve ark. 2011, Rosenbaum ve ark. 2012).

17 yaşında bir erkek; K9 alımı sonrası göğüs ağrısı, taşikardi ve sonrasında bradikardi tanısıyla acil serviste gözlem altına alınmış, şikayetleri nefes almada zorluk ve göğüs kafesinde baskı olarak kaydedilmiştir. Terleme ve kusma şikayeti olmayan hasta K9 almadan bir saat önce “Oxyelite” isimli (100 mg kafein ve diğer bileşenler) diyet ilacını aldığını söylemiştir. Alımdan 30 dakika sonra kalp atış hızı 140 ve tansiyon 136/78 mm Hg olarak ölçülmüştür. Hastane müdahalesinden 11 saat sonra kalp atış hızı 48 ve tansiyon 121/59 mm Hg olarak ölçülmüştür (Young ve ark. 2012). 100 mg UR-144 kullanan bir kullanıcının tanımladığı belirtiler, bilinç bozukluğu, taşikardi, uyku hali, bulanık düşünme ve halüsinasyon görme şeklinde olmuştur (Piotr ve ark. 2013).

UR-144 kullanan diğer bir kullanıcının ifade ettiği belirtiler beyninin önünde ve gözlerinin yuvasında basınç, bulanıklık ve hareketlilik şeklindedir. Gün içinde tekrar alımlarda kişi esrarinkine benzer “uyuşturucunun etkisi altında, yorgun ve bulanık” etkiler hissetmiştir (Vardakou ve ark. 2010).

Harris ve Brown (2013) 3 ay boyunca “Spice” kullanımına bağlı önemli şikayetlerle acil servise başvuran hastaları incelemişler ve altı vaka tespit etmişlerdir. İki hasta geçici felç şikâyetiyle başvurmuş, diğer iki hastada halüsinasyon saptanmış, sadece bir hastada taşikardi gözlemlenmiştir. Acil serviste gözlem süresi ortalama 2-8 saat olmuştur ve hiçbir hasta tekrarlayan felç durumundan bahsetmemiştir. Birçok sentetik kannabinoidin esrardan daha etkili oldukları ve psikoaktif dozlarının <1 mg olduğu sanılmaktadır (Harris ve Brown 2013).

Esrarın düzenli alınımının kesilmesinin ardından yoksunluk reaksiyonları görülmüyorken sentetiklerde bu etkilerin görüldüğü gözlemlenmiştir (Nacca ve ark. 2013). Bağımlılık etkisini yaratan asıl etkilerin; antikonvulsan aktivite, kataleptik etki, lokomotor aktivitenin baskılanması, hipotermi, hipotansiyon, kortikosteroidlerin salınımı olduğu düşünülmektedir (Fantegrossi ve ark. 2013). Kayda değer ilk geri çekilme sendromu bilgisi 8 ay boyunca her gün düzenli olarak Spice kullanan 20 yaşındaki bir erkek kullanıcıdan gelmiştir. Kişi bu maddeyi başlangıçta rahatlatıcı, yatıştırıcı ve esrar benzeri etkilere sahip olarak tanımlarken sonrasında yoksunluk periyodunda içsel

huzursuzluk, yoğun terleme, madde özlemi, gece kâbusları, titreme ve baş ağrısı yaşadığı için tıbbi tedavi talebinde bulunmuştur (Zimmermann ve ark. 2009).

Sentetik kannabinoidleri kullananlarda geveleyerek konuşma, uyuşukluk, yüksek kan basıncı, inme, hissizlik, halüsünasyon, asabilik, taşikardi, paranoya ve anksiyeteyi de içeren çeşitli toksisite belirtileri rapor edilmiştir. Yeni nesil kannabinoidlerin reseptör afiniteleri oldukça yüksek olduğundan, bu maddelerin yan etkilerinin de oldukça ciddiye alınması gerektiği ifade edilmiştir (Seely ve ark. 2012). Bu vakaların tedavisi daha çok destekleyici tedavi niteliğindedir, spesifik bir antidot bulunmamaktadır. Ajitasyon, taşikardi, hipertansiyon, anksiyete ve konvülsiyon gibi semptomların tedavisi için diazepam ya da lorazepam gibi benzodiazepinler başlıca tedavi araçlarıdır. Ek olarak iç/dış soğutma, yüksek dozda benzodiazepin, agresif hidrasyon, sedasyon ya da entübasyon gerekli olabilir. Ayrıca distonik reaksiyonlar ve kas sertliği için difenhidramin kullanılabilir (Cohen ve ark. 2012 , Rosenbaum ve ark. 2012).

Kronik kullanımdan kaynaklanan uzun dönem etkileriyle ilgili hiçbir bilimsel veri bulunmamaktadır. Üç hafta içinde dört kez ve 1,5 yıl boyunca günlük dozlar halinde düzenli olarak sentetik kannabinoid kullanılan 10 kişilik sağlıklı erkek topluluğunda psikoz geliştiği gözlemlenmiştir. Bu vaka raporunda duyuşsal ve görsel halüsünasyonlardan, paranoid kuruntulara, düşünme yetisinde tutukluktan bozulmuş konuşmaya ve uykusuzluktan sersemlik ve intihar düşüncesine kadar değişen bir grup psikotik semptom tanımlanmıştır. Bu etkiler esrara benzer olmakla birlikte alınan küçük dozlarda dahi esrardan daha ciddi yan etkilere neden olmaktadır (Hurst ve ark. 2011).

Uzun dönem yoğun esrar kullanımı azalan beyin hacmi ile ilişkilendirilmiştir. Hipokampus ve amigdalanın serebral kısımları sırasıyla %12 ve %7 oranlarında anlamlı bir şekilde azalmıştır. Bu kısımlar hafıza ve şizofreninin pato-psikolojisi ve duyguların işlenmesi ile ilgilidir. Benzer olarak uzun dönemli Spice kullanıcıları öfke ve anksiyete nöbetleri yaşamaktadır (Seely ve ark. 2012). Uzun dönemde ve yüksek dozlarda kannabinoid alımının embriyonun gelişimine (implantasyon sorunu, düşük, erken doğum, anomaliler) zarar verdiği görülmüştür (Sun ve Bennett 2007).

2.2.3. Yasal Kısıtlamalar ve Kullanım Sıklığı

İnternet üzerinden yaş sınırı ve yasal kontrol olmaksızın satılıyor olması bu maddelerin suistimali sorununa uluslararası bir boyut kazandırmıştır. Bu tür uyuşturucu maddelerin tanımlanması ve hızlı bir şekilde yasa kapsamına alımını sağlamak üzere hizmet veren Avrupa Uyuşturucu Ve Uyuşturucu Bağımlılığı İzleme Merkezi (EMCDDA) konsey kararıyla (2005/387/JHA), Erken Uyarı Sistemi (EWS)'ni kurmuştur. Ülkemiz bu sisteme 2006 yılında üye olmuştur ve uyuşturucunun izlenmesi ile ilgili tüm veriler en kısa sürede bu merkeze üye olan tüm ülkelerle paylaşılmaktadır.

2008 yılı sonlarında THC Pharm firmasının bitkisel içerikli olduğu iddia edilen bu ürünlerde sentetik kannabinoidleri tespitinin ardından 2009 yılı başlarında ilk olarak Almanya'da bu maddeler yasaklanmıştır. Daha sonra Avrupa Birliği ülkelerinin birçoğunda bu maddeler yasaklanmıştır. Ülkelerin bir kısmı maddelerin kendisini yasaklarken bir kısmı “jenerik yasa” da birbirine benzeyen tüm maddeleri yasaklamıştır. Ülkemizde bu madde ile ilgili ilk yakalamalar 2010 yılındadır (<http://www.kom.gov.tr> 2015).

Bunu takiben UR-144 25.06.2013 tarih, 28688 sayılı Resmi Gazetede yayımlanan 22.05.2013 tarih, 4827 sayılı Bakanlar Kurulu Kararı (Ek 1) ile kanun tarafından kullanılması, bulundurulması, üretilmesi ve ticaretinin yasak olduğu uyuşturucu ve uyarıcı maddeler listesine alınmıştır (<http://www.resmigazete.gov.tr> 2015)

2015 yılında ise Adli Tıp Kurumu ve Sağlık Bakanlığı gibi resmi kuruluşlar tarafından yapılan öneriye istinaden bu maddeler ve bu maddelerden üretilen tüm türevleri isim anılmaksızın yasa kapsamına alınmıştır. Bu yasa Avrupa ve dünya çapında uygulanan bir tür “jenerik” yasadır (<http://www.resmigazete.gov.tr> 2015).

Maddelerin kullanım sıklığının belirlenmesi amacıyla pek çok çalışma yapılmıştır. 2010 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde sentetik esrar ve banyo tuzlarına bağlı acil servislerde aramaları 3200 iken bu sayı 2011'de 13000 olarak kaydedilmiştir. Madde toplumda esrardan sonra en çok suiistimal edilen ikinci madde durumundadır. (Bronstein ve ark. 2011, Marshall ve ark. 2014).

İngiltere ve Galler’de her yıl ev sakinleri arasında yapılan anketlerde 15-24 yaş arası “Spice” kullanımının %0,4 ve 25-29 yaş arası kullanımın ise %0,1 arttığı ortaya çıkmıştır (Smith ve Flatley 2011). 2013 yılında yayınlanan bir araştırmaya göre 2011 yılında internet üzerinden yapılan bir ankete katılanların %17’si sentetik kannabinoid kullandığını kabul etmiştir. Bu kişilerden %41’i daha önce de kullandığını belirtmiştir. Sentetik kannabinoid kullanıcılarının %99’u daha önce esrar kullanmışlardır. Michigan Üniversitesi’nin liselerde yaptığı bir ankette 12. sınıfların %11,3 10. sınıfların %8,8 ve 8. Sınıfların %4,4’ü sentetik esrar kullanmaktadır. Bu sayı, bahsi geçen sınıflarda esrar kullananların yaklaşık üçte biri kadardır (Tuy ve ark. 2014).

14 Ekim - 2 Kasım 2011 ve 26 Mart 2012- 23 Nisan 2014 tarihleri arasında Norveç Halk Sağlığı Enstitüsü’nün yaptığı 7 haftalık bir çalışmada güvenli sürüş uygulaması amacıyla örnekleri alınmış olan 726 vaka incelenmiştir. Kan örneklerinden 16 tanesi sentetik kannabinoid bakımından pozitif bulunmuştur. 11 kişi ilaç etkisi altında araç kullanımı şüphesiyle, dördü trafik kazasına karıştığı için ve biri de yasadışı ilaç kullanımı şüphesiyle örnek vermiştir. İlaç etkisi altında araç kullanımında sentetik kannabinoid oranı % 2,2’dir. Bu çalışma, maddeyi sadece genç bireylerin kullanmadığını ve büyük çoğunluğun erkek olduğu gerçeğini de ortaya koymuştur (Brents ve ark. 2012).

Son olarak ülkemizde Eylül 2012 ve Eylül 2013 arasında savcılık tarafından gönderilen 636 şüpheliye ait 868 örnekten 471 tanesi uyuşturucu maddeler bakımından pozitif bulunmuştur. Bu vakaların %50,5’inde sentetik kannabinoid metabolitleri pozitif bulunmuştur (Erol ve ark. 2015). Bu da ülkemizde sentetik esrar kullanımının ne kadar yaygın olduğunu gözler önüne sermektedir.

Sentetik kannabinoidler hızla üretiliyor ve geliştiriliyor olmasına rağmen analiz metotları oldukça yetersiz kalmaktadır. Bu yüzden kullanım sıklığı artmakta ve kullanıcı yaş ortalaması giderek düşmektedir.

2.2.4. Analiz yöntemleri

Maddelerin tanımlanması için pek çok analiz yöntemi birlikte kullanılmıştır. Öncelikle maddelerin bitkisel ürünlerde tespit edilmesi amacıyla çalışmalar yapılmıştır (Uchiyama ve ark. 2010, Dresen ve ark. 2011, Grigoryev ve ark, 2011, Gottardo ve ark. 2012). Bu

çalışmalarda LC-MS, LC-MS/MS, GC/MS, TOF ve NMR sistemleri maddelerin yapısının belirlenmesi ve isimlendirilmesi için kullanılmıştır

Maddelerin ve metabolitlerinin belirlenmesi ve biyolojik sıvılarda tespiti için yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarda GC/MS ve LC-MS/MS sistemleri kullanılmıştır (Hutter ve ark. 2012, Gambaro ve ark. 2014). Bu çalışmaların tamamına yakınında uygun gözlenebilme sınırı, kolaylığı, türevlendirme gerektirmemesi, analiz maliyetinin dūřüklüđü ve analiz süresinin kısalığı gibi avantajları nedeniyle LC-MS/MS tercih edilmiştir.

2.3. LC-MS/MS Yöntemi

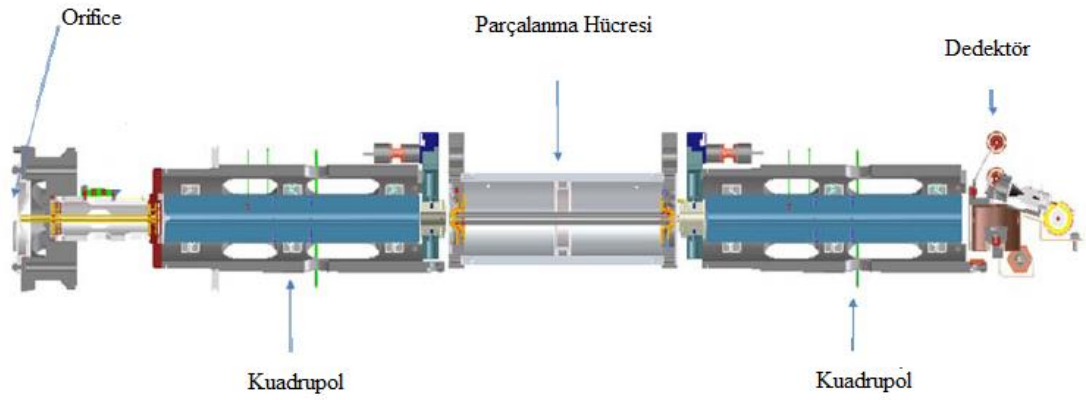
Kütle spektrometresi (MS) tekniğinin seçiciliği yüksek olmasına karşın tek başına analiz edilecek maddeyi aynı matriks içinde bulunan diğer moleküllerden ayırması oldukça güçtür. MS tekniği maddeleri m/z (kütle/yük) oranlarına göre ayırmak üzere dizayn edilmiş bir sistemdir, ayırmaya yardımcı olan sıvı kromatografisi (LC) sistemi ile kombine edildiğinde (LC-MS), her iki sistemin ayırt edici özellikleri birleştirilerek Sıvı kromatografi/Tandem Kütle Spektrometresi (LC-MS/MS) sistemi dizayn edilmiş ve kullanılmaya başlanmıştır. Sistem hassasiyet, hız ve seçicilik gibi özellikleri nedeniyle son dönemlerde sıklıkla tercih edilmektedir.

Bu sistem temelde sıvı kromatografisi, iyon kaynağı, kütle analizörü, detektör ve yazılımdan oluşmaktadır. Sıvı kromatografi kısmı 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 yüklü parçacıkları dört kutuplu kısımda (kuadropollerde) m/z oranları ve yüklerine göre ayırır. Tayini yapılacak iyon birinci kuadropolden geçer, diğerleri kalır. Birinci kuadropolden geçen iyon moleküller çarpışma gazı adı verilen yüksek saflıkta argon gazı ile parçalanmaya tabi tutulur. İkinci kuadropol filtrede parçalanma sonucu oluşan iyonlar arasından seçilen ikincil iyon dedektöre ulaşır ve bu iyon üzerinden teşhis ve miktar tayini yapılır. Dedektör ayrılmış bu moleküllerin iyon enerjilerini elektriksel sinyallere çevirir. Son olarak yazılım bu sinyalleri alan değerine dönüştürerek okur ve analiz gerçekteştirilmiş olur.

Sıvı kromatografisindeki temel amaç, maddelerin yapılarına göre farklı tutunma zamanlarında birbirinden ayrılmasını sağlayarak bu maddeleri farklı zamanlarda iyon kaynağına yollamaktır. Öncelikle analiz edilecek maddeler açısından ayırma gücü (rezolüsyonu) iyi bir analitik kolon seçilir. Maddelerin kolonda hareket etmesini ve farklı zamanlarda kolonda tutunmasını sağlamak üzere hareketli (mobil) fazlar kullanılır. Ayrımı gerçekleştirilmek istenen maddelerin özelliğine göre en uygun bileşenlerin mobil faz karışımı kullanılarak (A ve B mobil fazların en uygun karışım oranları) bileşenlerin birbirinden ayrılması sağlanır. Kolonla etkileşimde ve madde bileşenlerinin birbirinden etkin olarak ayrılmasında etkili faktörler polarite ve pH'tır. Mobil fazların farklı oranlarda sisteme gönderilmesini sağlayan sistem bileşenleri ise pompalardır. Mobil fazlar gazı giderilerek sisteme hava veya başka gazların girmesi engellenir.

İyon kaynakları maddelerin vakum altında çözücünden uzaklaştırıldığı ve yapısına göre yük kazandırıldığı bölümdür. Maddenin polaritesine göre elektrosprey (ESI) ya da atmosferik basınç kimyasal iyonizasyon (APCI) kaynakları kullanılmaktadır. Bazı maddeler bu iki kaynakta da iyonlaşabilmektedir. Bu kısımda maddelerin vakum altında etkin olarak buharlaştırılabilmesi için akış 0,2-2 mL/dk aralığında sınırlandırılmıştır. Düşük akışlarda, analit kaybı gözlenirken yüksek akışta maddenin gaz haline geçmesi engellenmektedir.

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 2.7.'de temel kütle analizör bileşenleri gösterilmiştir.



Şekil 2.7. Tandem Kütle Spektrometresi Genel Görünümü (<http://www.rsc.org> 2015)

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

LC-MS/MS sisteminde metodun geliştirilmesindeki en önemli basamaklar; analizi yapılacak maddenin özelliklerinin tanımlanması, maddelerin cihaz üzerinde optimizasyonu, maddeye özgü fragmentlerin belirlenmesi, maddenin yapısına uygun analitik kolonun belirlenmesi, kolon üzerindeki akış ve sıcaklık parametrelerin belirlenmesinden oluşmaktadır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışma, Adli Tıp Kurumu Bursa Grup Başkanlığı Kimya İhtisas Dairesi Enstrümantal Analiz ve Araştırma Laboratuvarında yapılmıştır.

3.1. Materyal

Buzdolabı	Uğur marka
Cam ve plastik deney tüpleri	Isolab marka
Derin Dondurucu	LIEBHERR marka
Hassas Terazi	Mettler Toledo marka
Kolon	Agilent Poroshell 120 EC-C18, 2,7µm 4,6 x 150 mm
Kütle (MS/MS) Sistem	Agilent 6460 Triple Quad LC/MS
Sıvı (LC) Sistem	Agilent 1290 Infinity
Mikro Pipetler	Eppendorf
Santrifüj	Universal 320
SPE kartuşu	Oasis HLB 3 cc (60mg)
SPE manifoldu	UCT marka
Ultrasonik Banyo	İntersonik marka
Vorteks	Velp marka
Yazılım	MassHunter Workstation Software B.06.00
0,22 µm 13 mm PTFE filtre	Agela Technologies marka
Dispenser cihazı	Hamilton marka
Azot Evaporatoru	Teknosem marka

3.2. Kimyasal Maddeler ve Çözücüler

Amonyum asetat	Sigma Aldrich
Etil Asetat	Sigma Aldrich
Ur-144 standardı	Cayman
Ur-144 N-(5-hidroksibütil) standardı	Cayman
Ur-144 N-pentanoik asit standardı	Cayman
Metanol	Merck

THC-COOH-d3(IS)
Ultra saf su

Lipomed
ELGA

3.2.1 Çözeltiler

a) İç Standart (IS) çözeltileri:

Stok IS (10 µg/mL) çözeltisi: 1mg/mL'lik THC-COOH-d3 çözeltisinden 1 mL alınıp metanol ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.

Ara Stok IS (20 ng/mL) çözeltisi: Stok iç standart çözeltisinden 20 µL alınıp metanol ile 10 mL'ye tamamlanmıştır.

b) UR-144, UR-144 N-pentanoic acid ve UR-144 N-(5-hydroxypentyl) standart çözeltileri:

Ana stok çözeltisi (100 µg/mL) hazırlamak için: 5 mg standart UR-144, UR-144 N-pentanoic acid ve UR-144 N-(5-hydroxypentyl) 50 mL metanolde çözüldü.

Ara stok çözeltisi (1 µg/mL) hazırlamak için: Ana çözeltilerden 1 mL alınıp metanol ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.

İdrar standart ilaveli (spiked) örneklerinin hazırlanması için:

İdrar standart ilaveli örneklerine eklenecek 0,1; 1; 2,5; 5; 10; 25; 50; 100; 250; 500 ng/mL derişimlerde çözeltiler hazırlanmıştır:

500 ng/mL standart çözelti: Ara stok çözeltilerden 1 mL alınıp metanol ile 2 mL'ye tamamlanmıştır.

250 ng/mL standart çözelti: Ara stok çözeltilerden 0,25 mL alınıp metanol ile 1 mL'ye tamamlanmıştır.

100 ng/mL standart çözelti: Ara stok çözeltilerden 0,1 mL alınıp metanol ile 1 mL'ye tamamlanmıştır.

50 ng/mL standart çözelti: 100 ng/mL'lik çözeltilerden 1 mL alınıp metanol ile 2 mL'ye tamamlanmıştır.

25 ng/mL standart çözelti: 100 ng/mL'lik çözeltilerden 0,25 mL alınıp metanol ile 1 mL'ye tamamlanmıştır.

10 ng/mL standart çözelti: 100 ng/mL'lik çözeltilerden 1 mL alınıp metanol ile 10 mL'ye tamamlanmıştır.

5 ng/mL standart çözelti: 100 ng/mL'lik çözeltilerden 0,5 mL alınıp metanol ile 20mL'ye tamamlanmıştır.

2,5 ng/mL standart çözelti: 100 ng/mL'lik çözeltilerden 0,25 mL alınıp metanol ile 20 mL'ye tamamlanmıştır.

1 ng/mL standart çözelti: 100 ng/mL'lik çözeltilerden 0,1 mL alınıp metanol ile 10 mL'ye tamamlanmıştır.

0,1 ng/mL standart çözelti: 100 ng/mL'lik çözeltilerden 0,01 mL alınıp metanol ile 10 mL'ye tamamlanmıştır.

Tüm standart çözeltiler taze olarak hazırlanmış ve kullanılabilecek +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

c) Ekstraksiyonda kullanılan çözeltiler:

% 5'lik metanol suda (v/v) çözeltisi: Yüksek saflıkta metanolden 5 mL alınarak LC/MS analizine uygun saflıkta saf su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır. Çözeltiler, numunelerin hazırlandığı günde taze olarak hazırlanmıştır.

d) Mobil Fazların Hazırlanması:

Mobil fazların hazırlanabilmesi için 2 M Amonyum asetat çözeltisi hazırlanmıştır.

2 M Amonyum asetat çözeltisi: %99 saflıkta amonyum asetatın 0,154 g tartılarak, saf su ile 1 mL'ye tamamlanmıştır.

Mobil Faz A: 2 M amonyum asetat çözeltisinden 1 mL alınarak saf su ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır.

Mobil Faz B: Yüksek saflıkta metanol.

Mobil fazlar her analizden önce taze hazırlanmıştır ve 10 dk ultrasonik banyoda bekletilerek gazı uzaklaştırıldıktan sonra kullanılmıştır.

3.3 Biyolojik Örnekler

İdrar örnekleri uyuşturucu kullanım şüphesi olmayan gönüllülerden alınmış ve analize dek +4 °C’de muhafaza edilmiştir.

3.4 İdrar Örneklerin Hazırlanması

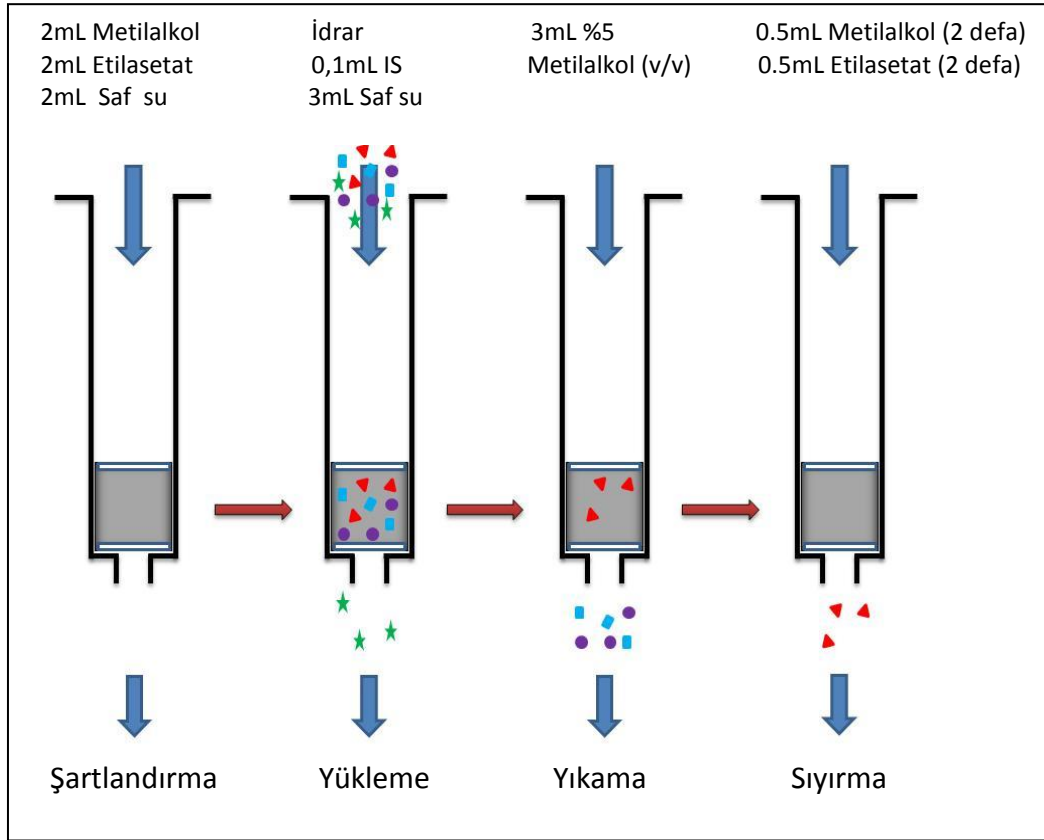
Bu örneklerin hazırlanmasında dairemizde sentetik kannabinoidlerin analizi için özel olarak geliştirilmiş katı-faz ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır.

Standart ilaveli yapılacak örneklerden 0,8 mL alınarak üzerine 100 µL IS (20 ng/mL) ile 100 µL istenen derişimde standart çözelti karışımı eklenmiştir. 1 mL hacimdeki bu karışım üzerine 3 mL saf su eklenerek çalışılacak örnek hacmi 4 mL’ye tamamlanmıştır. Örnek vorteks yardımı ile 1 dk karıştırıldıktan sonra 10 dk süre ile 4000 rpm’de santrifüj edilmiştir.

Oasis HLB kartuşu eklenme sırasına göre 2 mL metanol, 2 mL etilasetat ve 2 mL saf su ile şartlandırılmıştır. Örnek kartuştan yaklaşık 2 mL/dk hızla geçirilmiştir. HLB Kartuş 3 mL %5’lik metanol suda (v/v) ile yıkandıktan sonra 20 dk süre ile kartuşlar vakum altında kurutulmuştur. Sıyırma 1 mL metanol ve 1 mL etil asetatla yapılmıştır. Toplanan fraksiyon azot gazı altında kuruluğa kadar uçurulmuştur. 1 mL metilalkol ile çözülerek 0,22 µm filtreden geçirilmiş ve uygun cam şişeye alınarak analize hazır hale getirilmiştir.

Matriks körü olarak kullanılacak örneklerden 0,9 mL alınarak üzerine 100µL IS (20 ng/mL) eklenmiştir. Hazırlanan 1 mL örnek üzerine 3 mL saf su eklenerek toplam örnek hacmi 4 mL’ye tamamlanmıştır. Örnek vorteks yardımı ile 1 dk karıştırıldıktan sonra 10 dk süre ile 4000 rpm’de santrifüj edilmiş ve yukarıda standart ilaveli örnekler için açıklanmış yöntem uygulanarak analize hazır hale getirilmiştir.

Örneklerin hazırlanması basitçe Şekil 3.1.’de özetlenmiştir.



Şekil 3.1. İdrar örneklerinin ekstraksiyon basamakları

3.5 LC-MS/MS Sistemi Çalışma Şartları

3.5.1 Sıvı Sistem Özellikleri

Akış hızı	0,75 mL/dk
Analiz süresi	10 dk
Enjeksiyon hacmi	5 µL
Kolon fırını sıcaklığı	40 °C
Hareketli Faz A	2 mM Amonyum asetat (Suda)
Hareketli Faz B	Metanol

Çizelge 3.1.'de UPLC üzerinde uygulanan akış diyagramı gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. LC-MS/MS çalışma koşulları

Basamaklar	Zaman (d)	Akış (mL/dk)	Hareketli Faz A(%)	Hareketli Faz B(%)
1	0,00	0,75	30	70
2	1	0,75	30	70
3	3,5	0,75	20	80
4	5	0,75	5	95
5	7	0,75	5	95
6	7,01	0,75	30	70
7	10	0,75	30	70

3.5.2 MS/MS Sistem Özellikleri

Gaz sıcaklığı (°C)	300
Gaz akışı (L/dk)	10
Sisleştirici (psi)	45
Koruyucu gaz ısısı(°C)	350
Koruyucu gaz akışı(L/dk)	11
Kapiler (V)	3500
Perdeleme gazı	Azot
İyon kaynağı	AJS ESI
Hedef iyon tarama zamanı	500ms

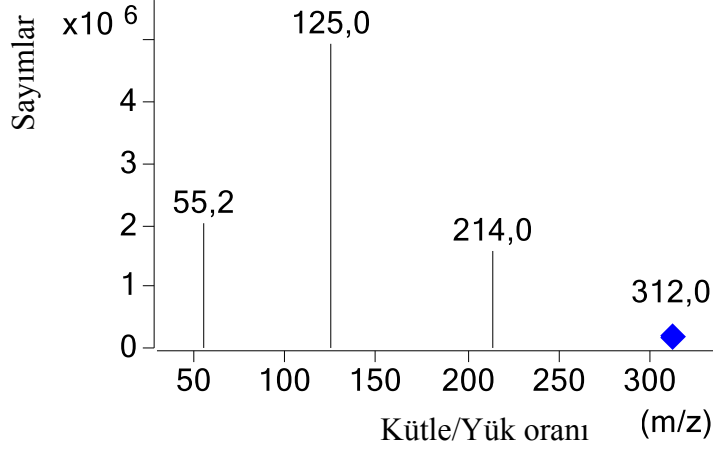
Çizelge 3.2 de UR-144 ve metabolitlerine ait MS/MS metot değerleri verilmiştir.

Çizelge 3.2. UR-144, Metabolitleri ve IS için infüzyon sonrası belirlenmiş Moleküler İyon, Prekürsör İyon, Frag (V), CE (V), Cell Acc (V), CXP (V) ve RT (min) değerleri.

Bileşik	Geçişler	Frag (V)	CE (V)	Cell Acc (V)	CXP (V)	RT (min)
UR-144	311,4>214/125/55,2	137	24/20/44	4	10/8/12	7,8
UR-144 N-pentanoik asit	341,5>125/97,1/55,2	110	20/32/56	4	10/8/8	4,1
UR-144 N-(5-hidroksipentil)	327,5>125/97,1/55,2	131	20/32/44	4	8/10/8	6,2
IS (Δ^9 -THC-COOH-d ₃)	348,2>330,2/302,2/196,1	150	10/20/20	3	16/12/4	6,3

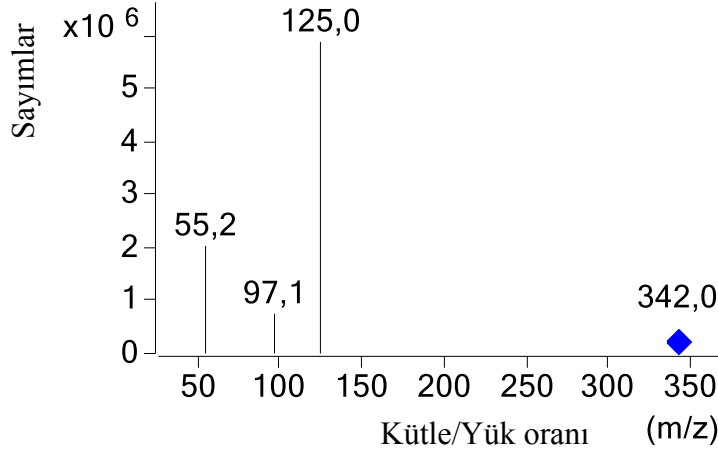
UR-144, UR-144 N-pentanoik asit, UR-144 N-(5-hidroksipentil) ve THC-COOH-d3 standartlarının infüzyonu ile elde edilen parçalanma kütle spektrumları sırasıyla Şekil 3.2. , Şekil 3.3., Şekil 3.4., Şekil 3.5., de verilmiştir.

+ MRM (7,694-7,995 min, 24 scans) (312,0 -> *...

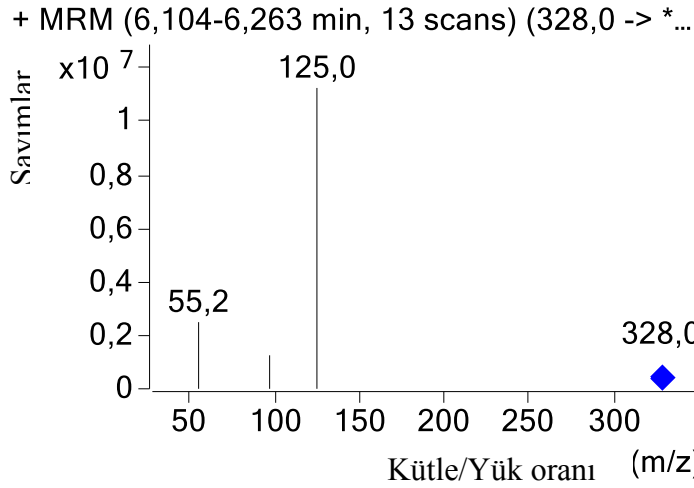


Şekil 3.2. İnfüzyon sırasında moleküler iyondan elde edilmiş UR-144 maddesine ait infüzyon spektrumu

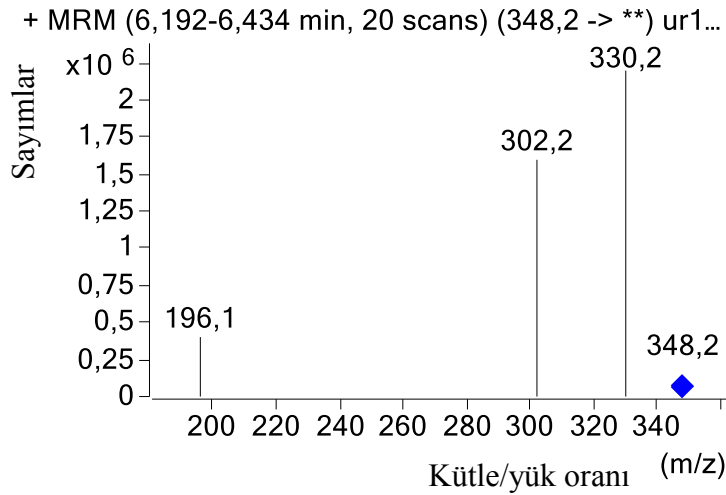
+ MRM (3,989-4,189 min, 16 scans) (342,0 -> *...



Şekil 3.3. İnfüzyon sırasında moleküler iyondan elde edilmiş UR-144 N-pentanoic acid maddesine ait infüzyon spektrumu



Şekil 3.4. İnfüzyon sırasında moleküler iyondan elde edilmiş UR-144 N-(5-hydroxypentyl) maddesine ait infüzyon spektrumu



Şekil 3.5. İnfüzyon sırasında moleküler iyondan elde edilmiş THC-COOH-D3 maddesine ait infüzyon spektrumu

3.6 Validasyon (Geçerlilik) Çalışmaları

Uygulanan yöntemin validasyonu, FDA (Amerikan Gıda ve İlaç Uygulamaları) tarafından verilen Biyoanalitik Metot Validasyonu Rehberine uygun şekilde ve diğer uluslar arası validasyon rehberlerine uygun olarak gerçekleştirilmiştir. (<http://www.fda.gov> 2015). Seçicilik, Doğrusallık ve kalibrasyon eğrisi, Gözlenebilme

sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ), Geri kazanım, Kesinlik ve Kararlılık parametreleri incelenmiştir.

3.6.1 Seçicilik Çalışmaları

İdrar örnekleri biyolojik matriksten kaynaklanabilecek olası tüm girişimler için 10'ar ($n \geq 6$) kez örneklenerek LC-MS/MS ile analiz edilmiştir. Spektrumlarda UR-144, UR-144 N-pentanoic acid ve UR-144 N-(5-hydroxypentyl) maddeler için belirlenmiş spesifik alıkonma zamanlarında herhangi bir pik olup olmadığı incelenmiştir.

3.6.2 Doğrusallık ve Kalibrasyon Grafiği

Validasyonu yapılan metodun doğru sonuç verdiği aralık belirlenmiştir. İdrar örneklerine standart çözeltilerden 0,1-1-2,5-5-10-25-50-100 ng/mL derişimler sağlanacak şekilde ilave edilerek Bölüm 3.4.' de anlatıldığı şekilde çalışmaya devam edilmiştir. Her bir derişim basamağı için birbirinden bağımsız ikişer idrar örneğinin ekstraksiyonu yapılmıştır. Her bir analit için elde edilen alan ile IS arasında doğrusal bir grafik çizilmiş ve denklem yazılım tarafından otomatik olarak hesaplanmıştır. Validasyon Rehberine göre korelasyon katsayısı $>0,99$ olmalıdır.

3.6.3 Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırı (LOQ)

Dedektör tarafından tespit edilen en küçük sinyalin matriks tarafından oluşturulan gürültüden (noise) ayırt edilebildiği en düşük miktar o maddenin gözlenebilme sınırıdır. Ek olarak analiz edilen madde ile ilgili en düşük doğru madde miktarının hesaplanabildiği konsantrasyon değeri de o maddenin tayin alt sınırıdır.

Teşhis ve tayin alt sınırı değerleri;

$$\text{LOD} = X_{bl} + 3 S_{bl}$$

$$\text{LOQ} = X_{bl} + 10 S_{bl}$$

X_{bl} = Analitsiz ölçümlerinin ortalaması

S_{bl} = Analitsiz ölçümlerinin standart sapması,

Eşitliklerinden yararlanılarak hesaplanmıştır.

3.6.4 Geri Kazanım

Geri kazanım, matriks etkisi ve proses etkinliği değerlerinin hesaplanmaları Matuszewski ve ark. tarafından koşullara uygun olarak yapılmıştır. Geri kazanım, matriks etkisi ve proses etkinliği değerlerinin hesaplanmaları için; Düşük (1 ng/mL), Orta (10 ng/mL) ve Yüksek (50 ng/mL) derişimlerde UR-144, UR-144 N-pentanoik asit ve UR-144 N-(5-hidroksipentil) standart çözeltileri ile yapılan ölçümler (A), kör idrar örneklerinin ekstraksiyonu sonrası eluata 1 ng/mL, 10 ng/mL ve 50 ng/mL derişimlerinde UR-144, UR-144 N-pentanoik asit ve UR-144 N-(5-hidroksipentil) standartlarının eklenmesiyle oluşan çözeltilerde yapılan ölçümler (B) ve son olarak ekstraksiyon işlemi başında son derişimler 1 ng/mL, 10 ng/mL ve 50 ng/mL olacak şekilde standart ilavesi yapılarak hazırlanan kan ve idrar örnekleriyle yapılan ekstraksiyon işlemi sonrası eluatta yapılan ölçümler (C) değerlendirildi. Bu çalışmalar idrar örneklerinde 6 bağımsız tekrarla yapılmıştır.

Matriks etkisi, geri kazanım ve proses etkinliği yüzdeleri sırasıyla “B/Ax100, C/Bx100, C/Ax100” formülleri kullanılarak hesaplanmıştır.

3.6.5 Kesinlik

Kesinlik parametresi çalışmaları gün içi (tekrarlanabilirlik) ve günler arası (yeniden üretilebilirlik) olarak düşük, orta ve yüksek olmak üzere üç farklı derişimde (1 ng/mL, 10 ng/mL, 50 ng/mL) standart eklenmiş örneklerle ve her derişim için on tekrar olacak şekilde uygulanmıştır.

3.6.6 Kararlılık

UR-144, UR-144 N-pentanoik asit ve UR-144 N-(5-hidroksipentil) maddelerinin metanol ve biyolojik matriksler içindeki kararlılığı; oda sıcaklığı, +4° C ve -20 °C sıcaklıklarında 20 gün boyunca izlenmiştir. Ölçüm alınacak zaman dilimlerinde, taze hazırlanan standartlardaki alan derişimleri karşılaştırılmıştır.

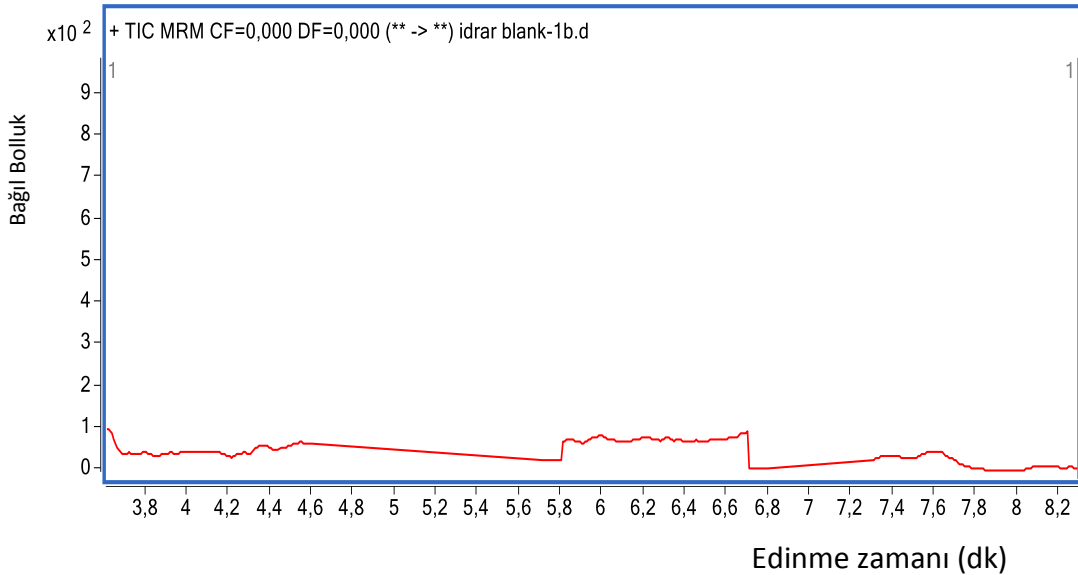
4. BULGULAR

4.1. Metot Validasyonu

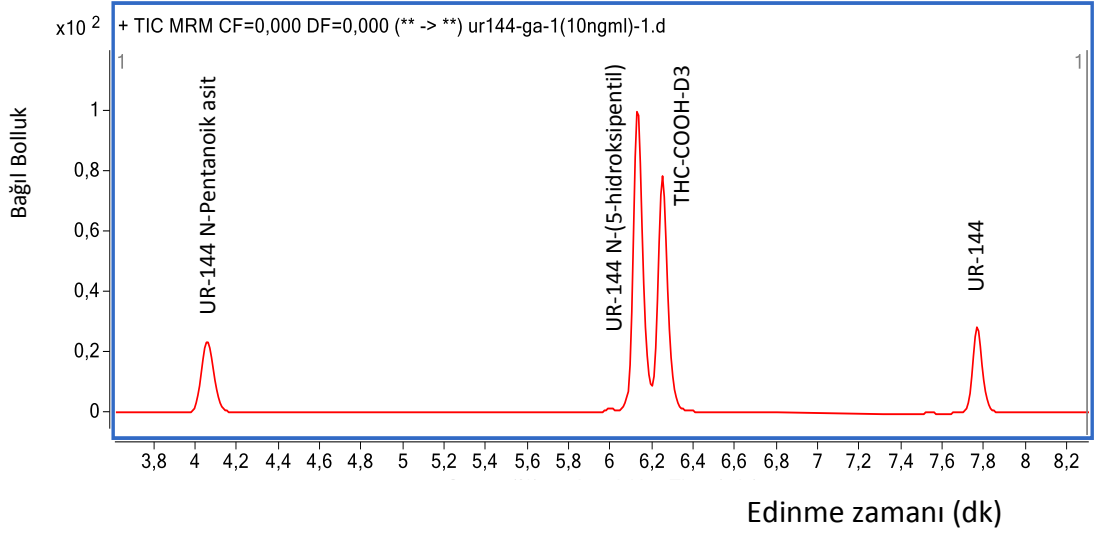
4.1.1. Seçicilik

Bölüm 3.4 ve 3.6.1.'de belirtildiği şekilde çalışılarak elde edilen kromatogramlarda, UR-144, UR-144 N-pentanoik asit ve UR-144 N-(5-hidroksipentil) maddeleri için belirlenen alıkonma zamanlarında idrar numunelerinde hiçbir girişim tespit edilmemiştir.

UR-144, metabolitleri UR-144 N-Pentanoik asit ve UR-144 N-(5-hidroksipentil)'in sıvı kromatografisi ile gerçekleştirilen analiz sonuçlarına ait kromatogramlar orijinal idrar örneği ve IS ilave edilerek incelenmiş ve 10 ng/mL'lik derişimlerde standart ilave edilmiştir. Orijinal idrar örneğine ait kromatogram Şekil 4.1.'de verilmiştir. Şekil 4.2.'de ise orijinal idrar örneğine 10 ng/mL derişim düzeyinde UR-144, UR-144 N-Pentanoik asit ve UR-144 N-(5-hidroksipentil) metabolitlerinin ilavesindeki kromatogram görülmektedir.

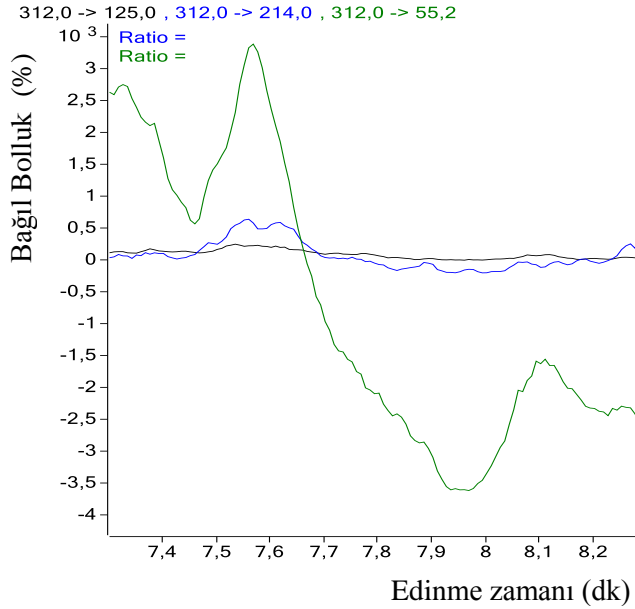


Şekil 4.1. Orijinal idrar örneğine ait kromatogram

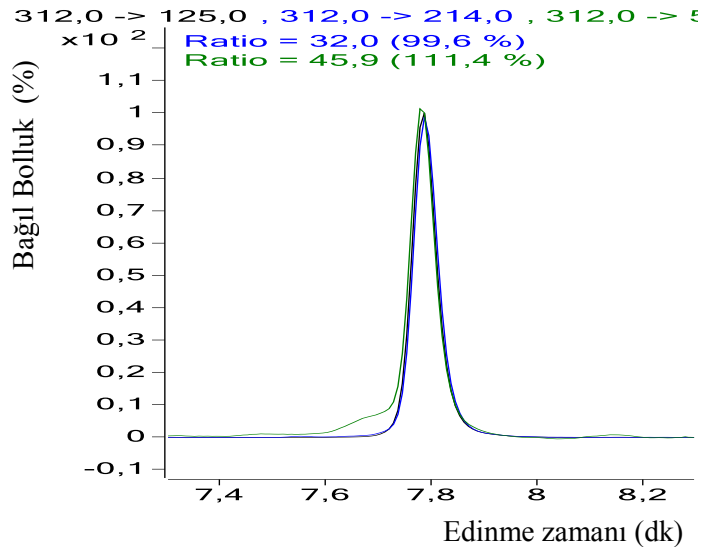


Şekil 4.2. 10 ng/mL UR-144, UR-144 N-Pentanoik asit ve UR-144 N-(5-hidroksipentil) ilave edilmiş idrar örneğine ait kromatogram

Orijinal idrar örneğinde UR-144'ün edinme zamanındaki UR-144'e ait MRM spektrumu Şekil 4.3.'de verilmiştir. Şekil 4.4.'de ise orijinal idrar örneğine 2.5 ng/mL derişim düzeyinde UR-144 ilavesinde, edinme zamanındaki UR-144'e ait MRM spektrumu görülmektedir.

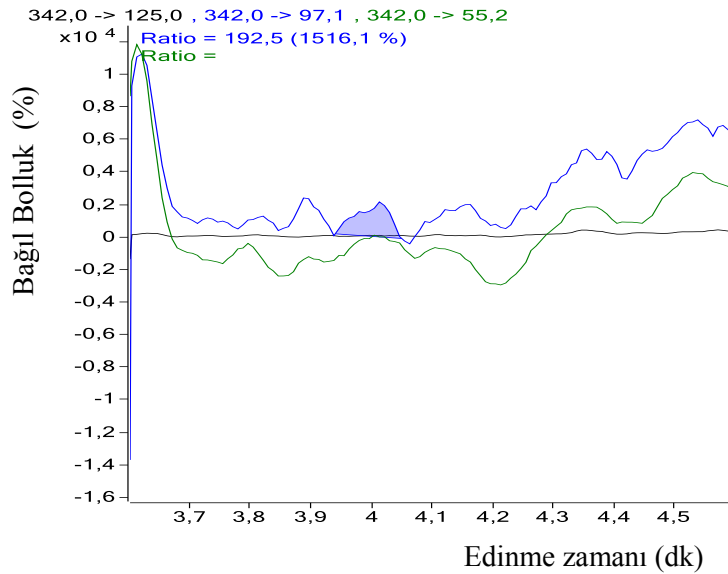


Şekil 4.3. Orijinal idrarda UR-144'ün MRM spektrumu

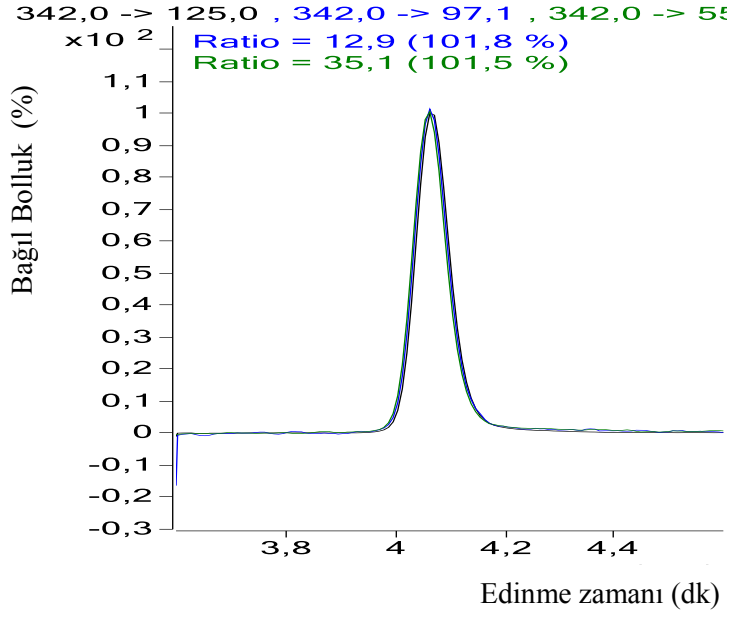


Şekil 4.4. 2.5 ng/mL UR-144 ilave edilmiş idrarda UR-144'ün MRM spektrumu

Orijinal idrar örneğinde UR-144 N-Pentanoik asit'in edinme zamanındaki UR-144 N-Pentanoik asit'e ait MRM spektrumu Şekil 4.5.'de verilmiştir. Şekil 4.6.'de ise orijinal idrar örneğine 2.5 ng/mL derişim düzeyinde UR-144 N-Pentanoik asit ilavesinde, edinme zamanındaki UR-144 N-Pentanoik asit'e ait MRM spektrumu görölmektedir.

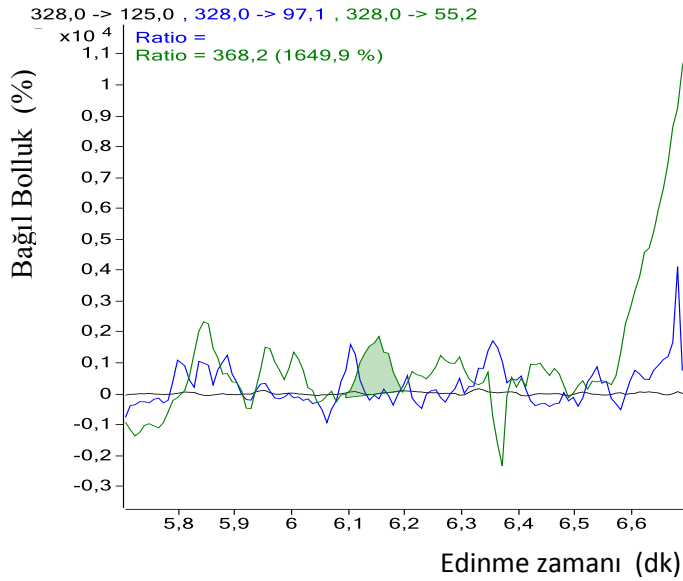


Şekil 4.5. Orijinal idrarda UR-144 N-Pentanoik asit'e ait MRM spektrumları

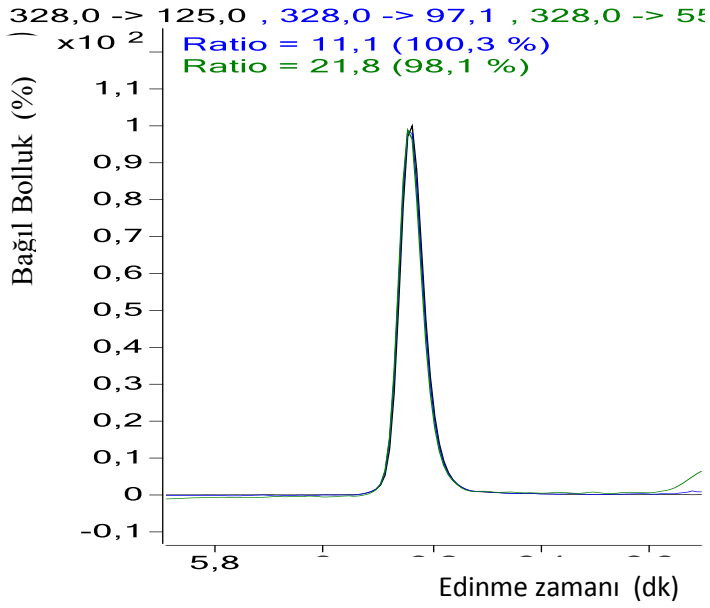


Şekil 4.6. 2.5 ng/mL UR-144 ilave edilmiş idrarda UR-144 N-Pentanoik asit'e ait MRM spektrumları

Orijinal idrar örneğinde UR-144 N-(5-hidroksipentil)'in edinme zamanındaki UR-144 N-(5-hidroksipentil)'e ait MRM spektrumu Şekil 4.7.'de verilmiştir. Şekil 4.8.'de ise orijinal idrar örneğine 2.5 ng/mL derişim düzeyinde UR-144 N-(5-hidroksipentil) ilavesinde, edinme zamanındaki UR-144 N-(5-hidroksipentil)'e ait MRM spektrumu görölmektedir.



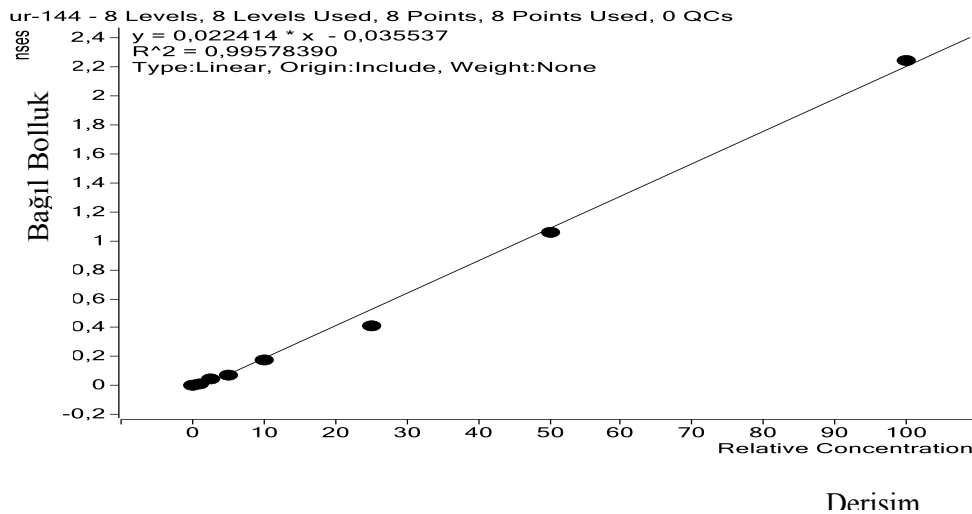
Şekil 4.7. Orijinal idrarda UR-144 N-(5- hidroksipentil)'e ait MRM spektrumları



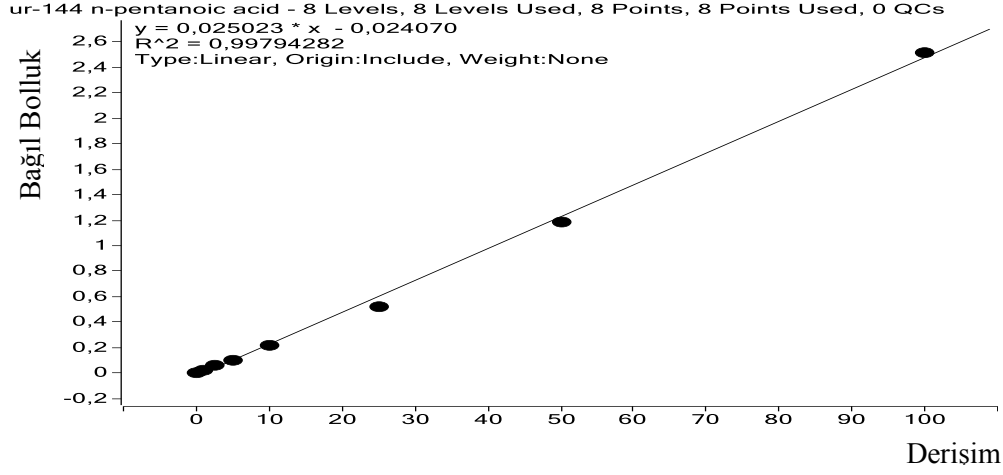
Şekil 4.8. 2.5 ng/mL UR-144 N-(5- hidroksipentil) ilave edilmiş idrarda UR-144 N-(5- hidroksipentil)'e ait MRM spektrumları

4.1.2. Doğrusallık ve Kalibrasyon Grafiği

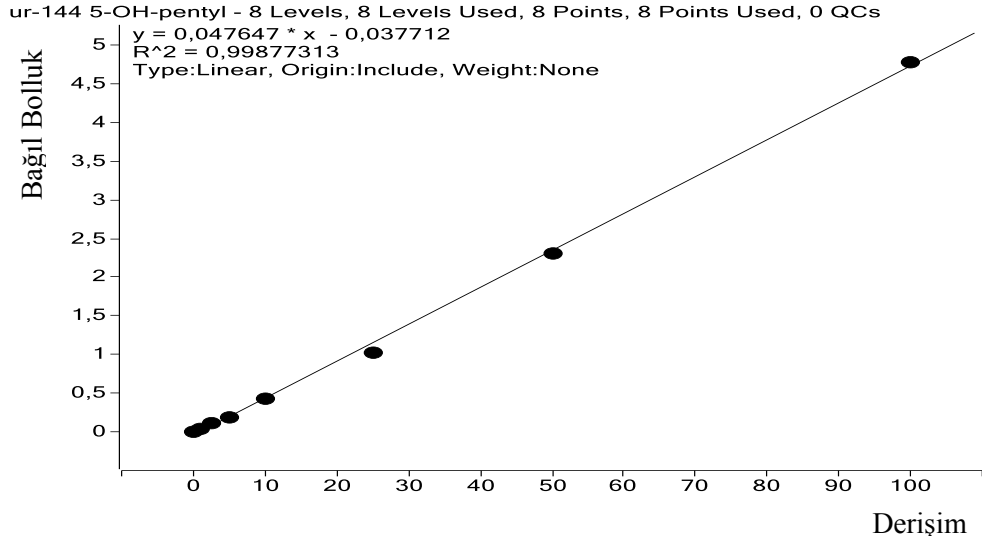
Bölüm 3.4 ve 3.6.2.'de belirtildiği şekilde çalışılarak elde edilen örnekler ile metodun doğrusal aralığının hesaplanmasında 0,1- 1- 2,5- 5- 10- 25- 50 ve 100 ng/mL derişimi sağlayacak şekilde hazırlanan örneklere karşılık gelen pik alanı ile IS pik alanı arasında grafik çizilmiştir. Sekiz farklı derişimden her birinde iki ölçüm yapılmıştır. Şekil 4-9, Şekil 4.10, Şekil 4.11'de sırasıyla UR-144, UR-144 N-pentanoik asit ve UR-144 N-(5- hidroksipentil) maddeleri için idrarda çizilmiş olan kalibrasyon grafikleri görülmektedir.



Şekil 4.9. İdrarda UR-144 maddesi için kalibrasyon grafiği.



Şekil 4.10. İdrarda UR-144 N-pentanoik asit maddesi için kalibrasyon grafiği.



Şekil 4.11. İdrarda UR-144 N-(5- hidroksipentil) maddesi için kalibrasyon grafiği.

UR-144, UR-144 N-pentanoik asit ve UR-144 N-(5- hidroksipentil) maddeleri için idrarda çizilmiş olan kalibrasyon grafiklerinin denklemleri, lineer dinamik aralığı ve korelasyon katsayıları Çizelge 4.1.'de özetlenmiştir.

Çizelge 4.1. UR-144, UR-144 N-pentanoik asit ve UR-144 N-(5- hidroksipentil) maddeleri için idrarda kalibrasyon grafiklerine ait denklem, doğrusal aralık ve korelasyon katsayıları

Madde	Doğrusal Aralık	Denklem	Korelasyon Katsayısı(r^2)
UR-144	0,1-100 ng/mL	$y=0,0224x-0,0355$	0,995
UR-144 N-pentanoik asit	0,1-100 ng/mL	$y=0,0250x-0,024$	0,997
UR-144 N-(5-hidroksipentil)	0,1-100 ng/mL	$y=0,0476x-0,037$	0,998

4.1.3.Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırı (LOQ)

Bölüm 3.4 ve 3.6.3.'de belirtildiği şekilde çalışılarak elde edilen S/N oranı en az 3 şartını taşıyan 0,1 ng/mL UR-144, UR-144 N-pentanoik asit ve UR-144 N-(5-hidroksipentil) içeren idrar örnekleri (n=10) çalışılarak LOD ve LOQ değerleri hesaplanmıştır.

Çizelge 4.2.' de analiz edilen UR-144, UR-144 N-pentanoik asit ve UR-144 N-(5-hidroksipentil) maddeleri için idrarda elde edilen LOD ve LOQ değerleri verilmiştir.

Çizelge 4.2. UR-144, UR-144 N-pentanoik asit ve UR-144 N-(5-hidroksipentil) maddelerinin idrar örneği için hesaplanan LOD ve LOQ değerleri (n=10)

Madde	İDRAR	
	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)
UR-144	0,05	0,17
UR-144 N-pentanoik asit	0,08	0,26
UR-144 N-(5-hidroksipentil)	0,09	0,31

4.1.4. Geri Kazanım

Bölüm 3.4 ve 3.6.4’de belirtildiği şekilde, doğrusal aralık içinde bulunan en düşük, orta ve en yüksek derişimlerde yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen geri kazanım, matriks etkisi ve proses etkinliği değerleri Çizelge 4.3.’de verilmiştir.

Çizelge 4.3. İdrarda (1 , 10 ve 50 ng/mL derişimlerde) geri kazanım, matriks etkisi ve proses etkinliği değerleri (n=6)

Madde	Geri Kazanım (%)			Matriks Etkisi (%)			Proses Etkinliği (%)		
UR-144	90	81	83	102	82	86	100	87	92
UR-144 N-pentanoic acid	90	90	96	105	97	98	103	101	99
UR-144 N-(5-hydroxypentyl)	85	91	99	99	101	99	100	102	101

4.1.5. Kesinlik

Bölüm 3.4 ve 3.6.5’de belirtildiği şekilde çalışılarak hesaplanan kesinlik parametresi ve doğruluk değerleri Çizelge 4.4.’de verilmiştir.

Çizelge 4.4. İdrarda (1, 10 ve 50 ng/mL derişimlerde) gün içi kesinlik ve doğruluk değerleri (n=10).

Bileşik	Kesinlik (CV, %)						Doğruluk (Bias, %)					
	Güniçi			Günlerarası			Gün İçi			Günlerarası		
UR-144	1,6	0,8	1,9	4,4	9,9	7,7	4,3	3,1	2,9	3,3	3,7	2,6
UR-144 N-pentanoik asit	0,9	1,0	1,1	7,7	9,8	9,7	4,7	5,1	4,0	4,2	3,9	3,4
UR-144 N-(5-hidroksipentil)	2,4	4,6	2,6	2,3	9,4	9,9	2,3	2,4	2,6	1,9	2,3	2,1

4.1.6. Kararlılık

Bölüm 3.4 ve 3.6.6’de belirtildiği şekilde yapılan kararlılık çalışmalarında metanolde ve idrar örneklerinde -20 °C , +4° C ve oda sıcaklığında bekletilmiş standartların 1, 2, 3, 5 ve 20. günlerde ölçümü yapılmış ve aynı gün taze hazırlanmış çözeltilerin alanları ile karşılaştırılmıştır. Örneklerde izlenen aralıkta alan değerlerinde anlamlı bir alan değişikliği(≥ 10) izlenmemiştir.

Çizelge 4.5. UR-144:-20 °C , +4° C ve oda sıcaklığı'nda 1 ng/mL, 10 ng/mL ve 50 ng/mL derişimlerde kararlılığın ölçülmesi.

Madde Adı	Sıcaklık (°C)	Gün	% DEĞİŞİM					
			İdrar			Metanol		
			1	10	50	1	10	50
UR-144	-20	t1	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t2	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t3	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t5	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t20	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
	4	t1	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t2	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t3	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t5	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t20	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
	Oda Sıcaklığı	t1	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t2	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t3	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t5	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t20	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.

*D.İ.:Değişiklik izlenmedi.

Çizelge 4.6. UR-144 N-pentanoik asit: -20 °C , +4° C ve oda sıcaklığı'nda 1 ng/mL, 10 ng/mL ve 50 ng/mL derişimlerde kararlılığın ölçülmesi.

Madde Adı	Sıcaklık (°C)	Gün	% DEĞİŞİM					
			İdrar			Metanol		
			1	10	50	1	10	50
UR-144 N-pentanoik asit	-20	t1	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t2	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t3	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t5	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t20	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
	4	t1	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t2	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t3	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t5	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t20	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
	Oda Sıcaklığı	t1	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t2	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t3	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t5	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t20	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.

Çizelge 4.7. UR-144 N-(5- hidroksipentil): -20 °C , +4° C ve oda sıcaklığı'nda 1ng/mL, 10 ng/mL ve 50 ng/mL konsantrasyonlarında kararlılığın ölçülmesi.

Madde Adı	Sıcaklık (°C)	Gün	% DEĞİŞİM					
			İdrar			Metanol		
			1	10	50	1	10	50
UR-144 N-(5-hidroksipentil)	-20	t1	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t2	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t3	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t5	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t20	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
	4	t1	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t2	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t3	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t5	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t20	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
	Oda Sıcaklığı	t1	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t2	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t3	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t5	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.
		t20	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.	*D.İ.

5. TARTIŞMA

Esrar ve benzeri maddeler psikoaktif etkileri nedeniyle dünyada ve ülkemizde yüzyıllardır suiistimal edilmekte ve ciddi sosyal problemler oluşturmaktadır. Bu maddelerin suistimal edilmesini önlemek amacıyla alınan tedbirlere ve yasal düzenlemelere karşın psikoaktif maddelerin imalatı ve ticareti yıllardır popülaritesini kaybetmemekte, artmaktadır. Sürekli yeni psikoaktif maddeler sentezlenmekte ve yenileri eklenmektedir. Mevcut psikosktif maddelerin etkilediği reseptörler üzerinde benzer etkiyi sağlayan bu yeni tasarım maddelerin piyasaya arz süreci yasa koyucuların engelleme ve denetleme sürecinden her zaman bir adım öndedir.

Sentetik kannabinoidler, yeni nesil psikoaktif maddelerin önemli bir grubunu oluşturmaktadır. Sentetik kannabinoidler ilk kez 1996 yılında piyasaya çıkmışlardır. Bu tarihten itibaren “Spice” “Bonzai” ve “K2” gibi isimler altında pazarlanmaya devam etmektedir. Sokak kimyacılarının merdiven altı ürettikleri ürünler pazarlandıktan ve piyasada isimleri duyulduktan sonra hukuki süreç devreye girmektedir. Bu yüzden yasal olarak engellenene kadar geçen sürede maddeler hedef kitleler tarafından kullanılmaya devam etmekte ve yayılmaktadır.

Sentetik kannabinoidlerin içeriğinde tespit edilen etken madde, yasa kapsamına alınana kadar maddenin yerini yeni sentezlenen başka sentetik kannabinoidler almaktadır.

Sentetik kannabinoidler üretim tarihlerine, piyasaya arz tarihlerine ve yapılarına göre jenerasyonlar halinde sınıflandırılmışlardır. 2009 yılında JWH 018, JWH 073, JWH 250, CP 47,497 maddeleri yakalanmış ve ilk jenerasyon olarak kabul edilmişlerdir. 2013 yılında yasa kapsamına alınan UR-144, dördüncü jenerasyon, 2014 Ocak ayında piyasada yer bulan THJ-018 ise yedinci jenerasyondur. 2009 ve 2014 yılları arasında yüzlerce sentetik kannabinoid sentezlenmiş ve dünya çapında pazarlanmıştır.

Sentetik kannabinoidlerin sentezlenmesi klasik uyuşturuculara nazaran oldukça kolaydır. Bu yüzden merdivenaltı olarak tabir edilen pek çok laboratuvarında sentezlenmekte, aseton veya metanol gibi organik çözücülerde çözündürüldükten sonra ada çayı, tütsü benzeri bitkisel ürünler üzerine spreylenebilir. Spreylenme işlemi sırasında etken maddenin bitkisel ürün üzerinde homojen bir şekilde dağılımı mümkün

olmadığından ürünler arasında madde miktarı açısından büyük farklılıklar ortaya çıkmaktadır. Bunun sonucunda ise bitkisel üründen aynı miktarda kullanılmasına rağmen farklı etkiler görülmekte, toksisite gelişebilmektedir. Ürünlere etken maddeye ek olarak psikoaktif etkiyi arttırmak ya da yan etkileri maskeleyerek amacıyla bitkisel kökenli maddeler ya da ilaç etken maddeleri de püskürtülmektedir. Bunun yanı sıra kannabinoidlerin spreylendiği bitki parçalarının içeriklerindeki doğal maddeler ile kalıntıların veya kirliliklerin de toksik etkilerinin olabileceği göz ardı edilemez.

Sentetik kannabinoidlerin toksik etkileri ile ilgili yeterli çalışma bulunmamaktadır. Farmakolojik ve psikoaktif etkileri ile ilgili bilgiler gözlemlere ve kullanıcıların ifadelerine dayanmaktadır. Popüleritelerinin ve kullanımlarının giderek artması maddelerin bitkisel ürünlerde ve biyolojik örneklerde analiz edilmelerini zorunlu kılmaktadır. Yarılanma sürelerinin oldukça kısa olmaları nedeniyle biyolojik örneklerde analiz edilebilmeleri için metabolitlerinin bilinmesi gerekmektedir. Bu maddelerin, klasik uyuşturucuların aksine immunoassay yöntemlerle tespit edilmesi oldukça zordur. Sentezlenen ve pazarlanan yüzlerce maddeden çok küçük bir kısmı immunoassay yöntemi ile tespit edilmektedir. Ancak yöntemin maddeye özgü olmaması çok fazla yanlış pozitif sonuçlara yol açmaktadır. Bu nedenle tayin sınırı düşük, hızlı ve seçici metotların geliştirilmesi oldukça önemlidir.

Sentetik kannabinoidlerden UR-144 ilk olarak 2006 yılında Abbott laboratuvarı tarafından sentezlenen bir sentetik kannabinoiddir. Türkiye’de ilk kez 2013 yılında yakalanmıştır. UR-144 ile ilgili ilk araştırmalar maddenin bitkisel içeriklerde tespiti üzerine yoğunlaşmıştır. Bu çalışmalarda LC ve GC sistemleri tercih edilmiş, yöntemlere yardımcı olmak amacıyla LC-MS/MS ve NMR sistemleri kullanılmıştır.

UR-144 kullanımının ve etkisi altında suça karışma ihtimalinin incelenmesi amacıyla maddenin biyolojik örneklerde aranabilmesi için analitik metotlar geliştirilmiştir. UR-144 ve metabolitlerinin idrarda tayini ile ilgili yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır. Tespit sınırı, seçicilik, hız ve maliyet gibi parametreler de göz önüne alınarak genelde LC sistemleri tercih edilmiştir (Scheidweiler ve Huestis 2014).

Bu çalışmada UR-144, UR-144 N-pentanoik asit ve UR-144 N-(5-hidroksipentil)'in idrarda tayinleri için katı-faz ekstraksiyonu ve LC-MS/MS yönteminin kullanıldığı tespit sınırı düşük, seçici, hızlı ve ekonomik bir metot geliştirilmiştir.

Çalışmada ilk olarak seçicilik parametresi araştırılmıştır. Standart eklenmemiş idrar örneklerinin ekstraksiyonu yapılarak maddelerin belirlenmiş edinme zamanlarındaki olası girişimler incelenmiş, herhangi bir girişim saptanmamıştır.

Scheidweiler ve Huestis (2014) yaptıkları çalışmada, idrarda UR-144 N-pentanoik asit ve UR-144 N-(5-hidroksipentil)'in katı faz ekstraksiyonuyla LC-MS/MS ile yapılan analizlerinde bulunan LOD değerleri 0,2 ng/mL olarak tespit edilmiştir.

Piotr ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada, idrarda UR-144'ün katı faz ekstraksiyonuyla LC-MS/MS ile yapılan analizlerinde bulunan LOD değerleri 0,15 ng/mL, LOQ değeri 0,5ng/mL olarak tespit edilmiştir.

Yapılan çalışmada, idrarda LOD değeri UR-144 için (0,05 ng/mL), UR-144 N-pentanoik asit için, (0,08 ng/mL), UR-144 N-(5-hidroksipentil) için (0,09 ng/mL) olarak tespit edilmiştir. LOQ değerleri ise UR-144 için (0,17 ng/mL), UR-144 N-pentanoik asit için, (0,26 ng/mL), UR-144 N-(5-hidroksipentil) için (0,31 ng/mL) olarak tespit edilmiştir.

Poklis ve ark.'ları yaptıkları çalışmada fareleri sentetik kannabinoid maddesine (JWH-073) maruz bırakarak kandaki konsantrasyonları LC-MS/MS ile izlenmişler ve yarılanma ömrünün esrardan daha kısa olduğunu görmüşlerdir. Buna ek olarak 20 saat sonra yapılan ölçümlerde beyin dokusunda sentetik kannabinoide (JWH-073) rastlanmamıştır (Poklis ve ark. 2012). Maddenin kısa sürede metabolize olması biyolojik örneklerde tespit edilmesini zorlaştırmaktadır. Bu yüzden analizlerde maddenin faz I ve faz II metabolitlerinin de aranması çok önemlidir. Çalışmamızda geliştirilen yöntem ile UR-144 maddesinin idrarda UR-144 N-pentanoik asit ve UR-144 N-(5-hidroksipentil) metabolitleri ile birlikte daha güvenilir ve kesin olarak tayini yapılabilmektedir.

Yapılmış olan çalışmalarda; UR-144 ile metabolitleri olan UR-144 N-pentanoik asit ve UR-144 N-(5-hidroksipentil)'in idrarda LC-MS/MS ile yapılmış olan analizlerinde

metabolitler için bulunan LOD değerleri 0,15 ng/mL ile 0,09 ng/mL arasında. Bu alışmada UR-144 ve metabolitleri için tespit edilmiş olan LOD değerleri (0,05-0,09 ng/mL) ve LOQ değerleri (0,17-0,31 ng/mL). İdrarda yapılmış olan diğer çalışmalar ile uyumludur.

UR-144, UR-144 N-pentanoik asit ve UR-144 N-(5-hidroksipentil) maddelerine ait idrarda oluşturulmuş kalibrasyon eğrilerinin korelasyon katsayıları (R²) değerleri 0,995-0,998 arasında değişmektedir ve ideal korelasyon katsayısı değeri olan 1'e oldukça yakındır. Doğrusal aralık değeri tüm analitler için 0,1-100 ng/mL'dir.

İdrar için ortalama geri kazanım değerleri %81 - %99 aralığında değişmektedir. Bu maddeler için matriks etkisi ve proses etkinliği değerleri de ölçülmüştür. Gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik çalışmalarında CV değerleri %10'dan küçük bulunmuştur. İdrar ve metanolde yapılan kararlılık çalışmalarında standart eklenen örneklerde ve standartları taze hazırlanan örneklerle yapılan alan karşılaştırmasında %10'dan büyük bir değişim gözlenmemiştir. Tüm validasyon sonuçları literatür ve uluslar arası kabul kriterleri ile uyumludur (<http://www.fda.gov> 2015).

Bu alışma UR-144 ve metabolitlerinin idrarda analiz edildiği bir çalışmadır. Belirsizlik değerleri düşük, doğrusal aralığı geniş, geri kazanım değerleri yüksek ve analiz süresi oldukça kısadır. Geliştirilen ve validasyonu yapılan bu yöntemin UR-144 ve metabolitlerinin idrarda örneklerinin izlenmesinde ve madde kaynaklı ölümlerin tespitinde faydalı olacağı dşnlmektedir. Ayrıca idrar örneklerinde metabolitlerin tayin ediliyor olması yöntemin önemli bir avantajıdır.

KAYNAKLAR

- Ashton, CH., Moore, PB. 2009.** Regulation of synthetic cannabinoids. *Lancet.*, 374:1595.
- Beuck, S., Möller, I., Thomas, A., Klose, A., Schlörer, N., Schänzer, W. 2011.** Structure characterisation of urinary metabolites of the cannabimimetic JWH-018 using chemically synthesised reference material for the support of LC-MS/MS-based drug testing. *Analytical and Bioanalytical Chemistry.*, 401(2):493-505
- Brents, L.K., Gallus-Zawada, A., Radomska-Pandya, A., Vasiljevik, T., Prisinzano, T.E., Fantegrossi, W.E. 2012.** Monohydroxylated metabolites of the K2 synthetic cannabinoid JWH-073 retain intermediate to high cannabinoid 1 receptor (CB1R) affinity and exhibit neutral antagonist to partial agonist activity. *Biochem., Pharmacol.*, 83:952–61.
- Bronstein, A.C., Spyker, D.A., Cantilena, L.R. 2011.** 2010 Annual Report of the American Association of Poison Control Centers' National Poison Data System (NPDS): 28th Annual Report. *Clin Toxicol.*, 49:933-40.
- Castaneto, M.S., Gorelick, D.A., Desrosiers, N.A., Hartman, R.L., Pirard, S., Huestis, M.A. 2014.** Synthetic cannabinoids : Epidemiology , pharmacodynamics , and clinical implications, *Drug Alcohol Depend.*, 144:12–41.
- Chimalakonda, K.C., Bratton, S.M., Le, V.H., Yiew, K.H., Dineva, A., Moran, C.L. 2011.** Conjugation of synthetic cannabinoids JWH-018 and JWH-073,
- Choi H., Heo S., Kim E., Hwang B.Y., Lee C., Lee J. 2013.** Identification of (1-pentylindol-3-yl)-(2,2,3,3-tetramethylcyclopropyl) methanone and its 5-pentyl fluorinated analog in herbal incense seized for drug trafficking, *Forensic Toxicol.*, 31 86–92.
- Cohen, J., Morrison, S., Greenberg, J. 2012.** Clinical presentation of intoxication due to synthetic cannabinoids. *Pediatrics.*, 129:e1064-7.
- Desroches, J., Beaulieu, P. 2010.** Opioids and cannabinoids interactions: involvement in pain management. *Current Drug Targets.*, 11: 462–473.
- Dresen, S., Ferreirós, N., Pütz, M., Westphal, F., Zimmermann, R., Auwärter, V. 2010.** Monitoring of herbal mixtures potentially containing synthetic cannabinoids as psychoactive compounds, *J. Mass Spectrom.*, 45:1186–1194.
- Dresen, S., Kneisel, S., Weinmann, W., Zimmermann, R., Auwärter, V. 2011.** Development and validation of a liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the quantitation of synthetic cannabinoids of the aminoalkylindole type and methanandamide in serum and its application to forensic samples, *J. Mass Spectrom.*, 46:163–171.

Erol Öztürk, Y., Yeter, O., B, Alpertunga. 2015. Validation of JWH-018 and its metabolites in blood and urine by UPLC–MS/MS: Monitoring in forensic cases, *Forensic Sci. Int.*, 248:88–93.

Fantegrossi, W.E., Moran, J.H., Radomska-Pandya, A., Prather, P.L. 2014. Distinct pharmacology and metabolism of K2 synthetic cannabinoids compared to $\Delta(9)$ -THC: mechanism underlying greater toxicity?. *Life Sci.*, 97: 45–54.

FDA Bioanalytical Method Validation Guide 2011.

website:<http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm368107.pdf> (Erişim tarihi: 12.08.2015)

Frost J.M., Dart M.J., Tietje K.R., Garrison T.R., Grayson G.K., Daza A.V., El-Kouhen O.F., Yao B.B., Hsieh G.C., Pai M., Zhu C.Z., Chandran P., Meyer M.D. 2011. Indol-3-ylcycloalkyl ketones: effects of N1 substituted indole side chain variations on CB(2) cannabinoid receptor activity. *J. Med. Chem.*, 53 295–315.

Gottardo, R., Chiarini, A., Dal Prà, I., Seri, C., Rimondo, C., Serpelloni, G. 2012. Direct screening of herbal blends for new synthetic cannabinoids by MALDI-TOF MS. *J. Mass Spectrom.*, 47:141–146.

Grigoryev, A., Savchuk, S., Melnik, A., Moskaleva, N., Dzhurko, J., Ershov, M. 2011. Chromatography– mass spectrometry studies on the metabolism of synthetic cannabinoids JWH-018 and JWH-073, psychoactive components of smoking mixtures. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.*, 879:1126–1136.

Gronewold A., Skopp G. 2011. A preliminary investigation on the distribution of cannabinoids in man. *Forensic Science International.*, 210: 7-11.

Hajos, N., Freund, T.F. 2002. Distinct cannabinoid sensitive receptors regulate hippocampal excitation and inhibition. *Chemistry and Physics of Lipids.*, 121: 73–82.

Harris, C.R., Brown, A. 2013. Selected Topics : Toxicology, *J. Emerg. Med.* 44-360–366.

https://en.wikipedia.org/wiki/Triple_quadrupole_mass_spectrometer#/media/File:Triple_quadrupole_schematic.jpeg (Erişim tarihi:02.01.2016)

<http://en.wikipedia.org/wiki/UR-144-> (Erişim tarihi:10.12.2015)

Huffman, J.W. 1994. Design, synthesis and pharmacology of cannabimimetic indoles. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters.*, 4: 563–566.

Hurst, D., Loeffler, G., McLay, R. 2011. Psychosis associated with synthetic cannabinoid agonists: a case series. *Am J Psychiatry.*, 168:1119.

Hutter, M., Kneisel, S., Auwärter, V., Neukamm, MA. 2012. Determination of 22 synthetic cannabinoids in human hair by liquid chromatography–tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr. B.* 90:395–101.

Lapoint, J., James, LP., Moran, CL., Nelson, LS., Hoffman, RS., Moran, JH. 2011. Severe toxicity following synthetic cannabinoid ingestion. *Clin Toxicol.* 49:760–764.

LGC: National Measurement System http://www.rsc.org/images/AMC%20LCMS%20Guide_tcm18-240030.pdf. (Erişim:17.11.2015)

Lindigkeit, R., Boehme, A., Eiserloh, I., Luebbecke, M., Wiggermann, M., Ernst, L. 2009. Spice: A never ending story? *Forensic Sci. Int.* 191:58–63.

Lindsay, L., White, M.L. 2012. Herbal Marijuana Alternatives and Bath Salts “Barely Legal” Toxic Highs. *Clin. Pediatr. Emerg. Med.* 13:283–291.

Marshall, R., Kearney-Ramos, T., Brents, L.K., Hyatt, W.S., Tai, S., Prather. P,L. 2014. In vivo effects of synthetic cannabinoids JWH-018 and JWH-073 and phytocannabinoid Δ^9 -THC in mice: inhalation versus intraperitoneal injection., *Pharmacol. Biochem. Behav.* 124:40–7.

Matuszewski , B.K., Constanzer , M.L. 2003. Strategies for the Assessment of Matrix Effect in Quantitative Bioanalytical Methods Based on HPLC - MS / MS, *Anal. Chem.* 75 (2003) 3019–3030.

Mazzarino, M., de la Torre, X., Botre, F. 2014. A liquid chromatography-mass spectrometry method based on class characteristic fragmentation pathways to detect the class of indole-derivative synthetic cannabinoids in biological samples., *Anal. Chim. Acta.* 837: 70–82.

Mir, A., Obafemi. A., Young. A. 2011. Myocardial infarction associated with use of the synthetic cannabinoid K2. *Pediatrics*, 128:e1-6.

Mycyk, M.B. 2012. Emerging drugs of abuse: what was new yesterday is new today. *J Med Toxicol*, 2012;8:1-2.

Nacca, N., Vatti, D., Sullivan, R., Sud, P., Su, M., Marraffa, J. 2013, The synthetic cannabinoid withdrawal syndrome. *J Addict Med*, 7:296–8.

Pertwee RG. 1999. Pharmacology of cannabinoid receptor ligands. *Curr Med Chem*, 6:635–64.

Piotr A., Dariusz Z., Karolina S. 2013. Analysis of UR-144 and its pyrolysis product in blood and their metabolites in urine. *Forensic Science International*, 233 (2013) 320–327

Poklis, JL., Amira, D., Wise, LE., Wiebelhaus, JM., Haggerty, BJ., Poklis, A. 2012. Detection and disposition of JWH-018 and JWH-073 in mice after exposure to “ Magic Gold” smoke. *Forensic Sci. Int*, 220:91–96.

Resmi Gazete 25.06.2013 tarih, 28688 sayılı Resmi Gazete
<http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2013/06/20130625.htm> (Erişim tarihi:20.12.2015).

Resmi Gazete 06.02.2015 tarih, 27845 sayılı Resmi Gazete
<http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2015/02/20150206.htm> (Erişim tarihi:20.12.2015)

Rosenbaum, CD., Carreiro, SP., Babu, KM. 2012. Here today, gone tomorrow and back again? A Review of herbal marijuana alternatives (k2, spice), synthetic cathinones (bath salts), kratom, Salvia divinorum, methoxetamine, and piperazines. *J Med Toxicol*, 8:15-32.

Scheidweiler, K. B., Huestis, M. A. 2014. Synthetic cannabinoids and 21 metabolites, and semi-quantification of 12 alkyl hydroxy metabolites in human urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*

Schneir, A.B., Baumbacher, T. 2010. Convulsions associated with the use of a synthetic cannabinoid product. *J Med Toxicol*, 8:62-4.

Seely, K.A., Lapoint, J., Moran, J.H. ve Fattore, L. 2012. “Spice” drugs are more than harmless herbal blends: A review of the pharmacology and toxicology of synthetic cannabinoids. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 39: 234-243.

Seely, K.A., Lapoint, J., Moran, J.H., Fattore, L. 2012. Spice drugs are more than harmless herbal blends: A review of the pharmacology and toxicology of synthetic cannabinoids. *Prog. Neuro-Psychopharmacology Biol. Psychiatry 2012*, 39: 234–243.

Smith, K., Flatley, J. 2011. Drug Misuse Declared: Findings from the 2010/11 British Crime Survey. Home Office Statistical Bulletin, *Home Office*.

Simmons, JR., Skinner, CG., Williams, J., Kang, CS., Schwartz, MD., Wills, BK. 2011. Intoxication from smoking “spice”. *Ann EmergMed*, 57:187–188.

Simoës, S.S., Silva, I., Ajenjo, A.C., Dias, M.J. 2014. Validation and application of an UPLC-MS/MS method for the quantification of synthetic cannabinoids in urine samples and analysis of seized materials from the Portuguese market. *Forensic Sci. Int*, 243:117–25.

Sun, Y., Bennett A. 2007. Cannabinoids: A New Group of Agonists of PPARs. PPAR Research

Tuv, S.S., Krabseth, H., Karinen, R., Olsen, K.M., Øiestad, E.L., Vindenes, V. 2014. Prevalence of synthetic cannabinoids in blood samples from Norwegian drivers suspected of impaired driving during a seven weeks period., *Accid. Anal. Prev.*, 62:26–31.

Türkiye Cumhuriyeti İçişleri Bakanlığı Polis Narkotik Bölümü, Ulusal Rapor (2010 verileri) <http://www.kom.pol.tr/SiteAssets/Sayfalar/Raporlar/2010.pdf> (Erişim tarihi:15.10.2015).

Uchiyama N., Kawamura M., Kikura-Hanajiri R., Goda Y. 2013. URB-754: a new class of designer drug and 12 synthetic cannabinoids detected in illegal products, *Forensic Sci. Int.*, 227 21–32.

Uchiyama, N., Kikura-Hanajiri, R., Ogata, J., Goda, Y. 2010. Chemical analysis of synthetic cannabinoids as designer drugs in herbal products. *Forensic Sci. Int.*, 198:31–38.

Uchiyama, N., Kawamura, M., Kikura-Hanajiri, R., Goda, Y. 2011. Identification and quantitation of two cannabimimetic phenylacetylindoles JWH-251 and JWH-250, and four cannabimimetic naphthoylindoles JWH-081, JWH-015, JWH-200, and JWH-073 as designer drugs in illegal products, *Forensic Toxicol.*, 29:25–37,

Van Sickle, M.D., Duncan, M., Kingsley, P.J. 2005. Identification and functional characterization of brainstem cannabinoid CB2 receptors. *Science* 2005, 310:329–32.

Vardakou, I., Pistos, C., Spiliopoulou, C. 2010. Spice drugs as a new trend: Mode of action, identification and legislation, *Toxicol. Lett.*, 197:157–162.

Vearrier, D., Osterhoudt, K.C. 2010. A teenager with agitation: higher than she should have climbed. *Pediatr Emerg Care.*, 26: 462-5.

Wiebelhaus, J.M., Poklis, J.L., Poklis, A., Vann, R.E., Lichtman, A.H., Wise, L.E. 2012. Inhalation exposure to smoke from synthetic “marijuana” produces potent cannabimimetic effects in mice. *Drug Alcohol Depend.*, 126 :316–323.

Young, A.C., Schwarz, E., Medina. G., Obafemi, A., Feng, S., Kane, C. 2011. Case Report: Cardiotoxicity associated with the synthetic cannabinoid, K9, with laboratory confirmation. *Am. J. Emerg. Med.*, 30:1320.

Zimmermann, U.S., Winkelmann, P.R., Pilhatsch, M. A Nees J, Spanagel R, Schulz K. 2009. Withdrawal phenomena and dependence syndrome after the consumption of “spice gold”., *Dtsch. Arztebl. Int.*, 106:464–467.

Znaležiona, J., Ginterová, P., Petr, J., Ondra, P., Válka, I., Sevcík, J. 2015. Determination and identification of synthetic cannabinoids and their metabolites in different matrices by modern analytical techniques – a review. *Anal. Chim. Acta.* (In press).

EKLER

- EK 1** Bakanlar Kurulu Kararı (25.06.2013 tarih, 28688 sayılı Resmi Gazetede yayımlanan 22.05.2013 tarih, 4827 sayılı)
- EK 2** Eğitim ve Bilimsel Araştırma Komisyonu Kararı

EK 1 Bakanlar Kurulu Kararı (25.06.2013 tarih, 28688 sayılı Resmi Gazetede yayımlanan 22.05.2013 tarih, 4827 sayılı)

Sayfa : 12

RESMÎ GAZETE

25 Haziran 2013 – Sayı : 28688

Karar Sayısı : 2013/4827

Ekli listede yer alan maddelerin 2313 sayılı Uyuşturucu Maddelerin Murakabesi Hakkında Kanun hükümlerine tabi tutulması; Sağlık Bakanlığının 8/5/2013 tarihli ve 49977 sayılı yazısı üzerine, adı geçen Kanununun 19 uncu maddesine göre, Bakanlar Kurulu'nca 22/5/2013 tarihinde kararlaştırılmıştır.

Abdullah GÜL
CUMHURBAŞKANI

Recep Tayyip ERDOĞAN

Başbakan

B. ARINÇ

Başbakan Yardımcısı

A. BABACAN

Başbakan Yardımcısı

B. ATALAY

Başbakan Yardımcısı

B. BOZDAĞ

Başbakan Yardımcısı

S. ERGİN

Adalet Bakanı

F. ŞAHİN

Aile ve Sosyal Politikalar Bakanı

E. BAĞIŞ

Avrupa Birliği Bakanı

N. ERGÜN

Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanı

F. ÇELİK

Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanı

E. BAYRAKTAR

Çevre ve Şehircilik Bakanı

A. DAVUTOĞLU

Dışişleri Bakanı

M. Z. ÇAĞLAYAN

Ekonomi Bakanı

T. YILDIZ

Enerji ve Tabii Kaynaklar Bakanı

S. KILIÇ

Gençlik ve Spor Bakanı

M. M. EKER

Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanı

H. YAZICI

Gümrük ve Ticaret Bakanı

M. GÜLER

İçişleri Bakanı

C. YILMAZ

Kalkınma Bakanı

Ö. ÇELİK

Kültür ve Turizm Bakanı

M. ŞİMŞEK

Maliye Bakanı

C. YILMAZ

Millî Eğitim Bakanı V.

İ. YILMAZ

Millî Savunma Bakanı

V. EROĞLU

Orman ve Su İşleri Bakanı

Ö. ÇELİK

Sağlık Bakanı V.

E. BAYRAKTAR

Ulaştırma, Denizcilik ve Haberleşme Bakanı V.

Yürütme ve İdare Bölümü Sayfa : 12

22/5/2013 TARİHLİ VE 2013/4827 SAYILI KARARNAMENİN EKİ**LİSTE**

1. 3-(4-hydroxymethylbenzoyl)-1-pentylindole ismi ile bilinen, (4-Hydroxymethylphenyl)(1-pentyl-1H-indol-3-yl)methanone),
2. AM-1220 Azepane Isomer ismi ile bilinen, (1-(1-Methylazepan-3-yl)-1H-indol-3-yl](naphthyl)methanone),
3. AM-1220 kısa ismi ile bilinen, ((R)-(1-((1-methylpiperidin-2-yl)methyl)-1H-indol-3-yl)(naphthalen-1-yl)methanone),
4. AM-2232 kısa ismi ile bilinen, (5-[3-(1-naphthoyl)-1H-indol-1-yl]pentanenitrile),
5. AM-2233 kısa ismi ile bilinen, (1-[(N-methylpiperidin-2-yl)methyl]-3-(2-iodobenzoyl)indole),
6. AM-694 chloro türevi ismi ile bilinen, 1-[(5-chloropentyl)-1H-indol-3-yl]-(2-iodophenyl)methanone),
7. AM-694 kısa ismi ile bilinen, (1-[(5-fluoropentyl)-1H-indol-3-yl]-(2-iodophenyl)methanone),
8. CP47,497 (C2,C3,C4,C5,C6,C7,C8) homologes ismi ile bilinen, (2-[(1R,3S)-3-hydroxycyclohexyl]-5-(2-methyloctan-2-yl)phenol) (C2,C3,C4,C5,C6,C7,C8),
9. CRA-13 kısa ismi ile bilinen, (naphthalen-1-yl-(4-pentylloxynaphthalen-1-yl)methanone),
10. JWH-007 kısa ismi ile bilinen,(1-pentyl-2-methyl-3-(1-naphthoyl)indole),
11. JWH-018 adamantoyl türevi (AB-001) ismi ile bilinen, (1-Pentyl-3-(1-adamantoyl)indole),
12. JWH-018 N-(5-chloropentyl) türevi ismi ile bilinen, ([1-(5-chloropentyl)-1H-indol-3-yl](naphthalen-1-yl)methanone),
13. JWH-122 Pentenyl türevi ismi ile bilinen, (4-methylnaphthalen-1-yl)(1-(pent-4-en-1-yl)-1H-indol-3-yl)methanone),
14. JWH-182 kısa ismi ile bilinen, (1-pentyl-3-(4-propyl-1-naphthoyl)indole),
15. JWH-22 kısa ismi ile bilinen, (Naphthalen-1-yl(2-(pent-4-enyl)-1H-indol-3-yl)methanone),
16. JWH-250 1-(2-methylene-N-methyl-piperidyl) türevi ismi ile bilinen, (1-(2-methylene-N-methylpiperidyl)-3-(2-methoxyphenylacetyl) indole),
17. JWH-251 kısa ismi ile bilinen, (2-(2-methylphenyl)-1-(1-pentyl-1H-indol-3-yl)methanone),

18. JWH-307 kısa ismi ile bilinen, (5-(2-fluorophenyl)-1-pentylpyrrol-3-yl)-naphthalen-1-ylmethanone),
19. JWH-387 kısa ismi ile bilinen, (1-Pentyl-3-(4-bromo-1-naphthoyl)indole),
20. JWH-412 kısa ismi ile bilinen, (1-Pentyl-3-(4-fluoro-1-naphthoyl)indole),
21. MAM-2201 kısa ismi ile bilinen, (1-(5-fluoropentyl)-1H-indol-3-yl)(4-methyl-1-naphthalenyl)-methanone),
22. Methanandamide kısa ismi ile bilinen, (5Z,8Z,11Z,14Z)-N-[(1R)-2-hydroxy-1-methylethyl]icosa-5,8,11,14-tetraenamide),
23. Org 27569 kısa ismi ile bilinen, (5-Chloro-3-ethyl-1H-indole-2-carboxylic acid [2-(4-piperidin-1-yl-phenyl)-ethyl]-amide),
24. Org 27759 kısa ismi ile bilinen, (3-Ethyl-5-fluoro-1H-indole-2-carboxylic acid [2-(94-dimethylamino-phenyl)-ethyl]-amide),
25. Org 29647 kısa ismi ile bilinen, (5-Chloro-3-ethyl-1H-indole-2-carboxylic acid (1-benzyl-pyrrolidin-3-yl)-amide, 2-enedioic acid salt)
26. RCS-4 ortho isomer ismi ile bilinen, (2-methoxyphenyl)(1-pentyl-1H-indol-3-yl)methanone),
27. RCS-4(C4) kısa ismi ile bilinen, (4-methoxyphenyl-(1-butyl-1h-indol-3-yl)methanone),
28. UR-144 kısa ismi ile bilinen, ((1-pentylindol-3-yl)-(2,2,3,3-tetramethylcyclopropyl)methanone),
29. WIN 48,098 / Pravadoline ismi ile bilinen, (4-methoxyphenyl)-[2-methyl-1-(2-morpholin-4-ylethyl)indol-3-yl]methanone),
30. XLR-11 ya da 5FUR-144 kısa isimleri ile bilinen, (1-(5-fluoropentyl)-1H-indol-3-yl)(2,2,3,3-tetramethylcyclopropyl)methanone),
31. 1-naphyrone kısa ismi ile bilinen, (1-naphthalen-1-yl-2-pyrrolidin-1-yl-pentan-1-one),
32. 3,4-DMMC kısa ismi ile bilinen, (1-(3,4-dimethylphenyl)-2-(methylamino)propan-1-one),
33. 4-EMC kısa ismi ile bilinen, (RS)-2-methylamino-1-(4-ethylphenyl)propane-1-one),
34. 4-FMC (flephedrone) kısa ismi ile bilinen, (RS)-1-(4-fluorophenyl)-2-methylaminopropan-1-one),
35. 4-MEC kısa ismi ile bilinen, (2-Ethylamino-1-(4-methylphenyl)-1-propanone),
36. 4-MeMABP kısa ismi ile bilinen, (2-(methylamino)-1-(4-methylphenyl)butan-1-one),

37. 4-MBC (Benzedrone) kısa ismi ile bilinen, (4-methyl-N-benzylcathinone),
38. Buphedrone kısa ismi ile bilinen, (2-(methylamino)-1-phenylbutan-1-one),
39. MBDB (Butylone) kısa ismi ile bilinen, (2-methylamino-1-(3,4-methylenedioxyphenyl)butan-1-one),
40. MDPBP kısa ismi ile bilinen, (3',4'-methylenedioxy- α -pyrrolidinobutyrophenone),
41. MDPPP kısa ismi ile bilinen, (1-(3,4-methylenedioxyphenyl)-2-(1-pyrrolidinyl)-1-propanone),
42. MPHP kısa ismi ile bilinen, (R,S-4'-Methyl-alpha-pyrrolidinohexanophenone),
43. Naphyrone kısa ismi ile bilinen, (RS)-1-naphthalen-2-yl-2-pyrrolidin-1-ylpentan-1-one),
44. Pentedrone kısa ismi ile bilinen, ((\pm)-1-phenyl-2-(methylamino)pentan-1-one),
45. Pentylone kısa ismi ile bilinen, ((\pm)-1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-2-(methylamino)pentan-1-one),
46. α -PBP kısa ismi ile bilinen, ((RS)-1-phenyl-2-(1-pyrrolidinyl)-1-butanone),
47. 2C-C kısa ismi ile bilinen, (1-(4-Chloro-2,5-dimethoxyphenyl)-2-aminoethane 1-(4-Chloro-2,5-dimethoxyphenyl)-2-ethanamine),
48. 2C-D kısa ismi ile bilinen, (1-(2,5-Dimethoxy-4-methylphenyl)-2-aminoethane),
49. 2C-E kısa ismi ile bilinen, (1-(2,5-Dimethoxy-4-ethylphenyl)-2-aminoethane),
50. 2C-I kısa ismi ile bilinen, (2,5-Dimethoxy-4-iodophenethylamine)
51. 2C-T-2 kısa ismi ile bilinen, (2-[4-(Ethylthio)-2,5-dimethoxyphenyl]ethanamine),
52. 2C-T-4 kısa ismi ile bilinen, (2-[4-(Isopropylthio)-2,5-dimethoxyphenyl]ethanamine),
53. 2C-T-7 kısa ismi ile bilinen, (2-[2,5-Dimethoxy-4-(propylthio)phenyl]ethanamine),
54. 4-FMA kısa ismi ile bilinen, ((RS)-1-(4-fluorophenyl)-N-methylpropan-2-amine),
55. FMA kısa ismi ile bilinen, (Fluoromethamphetamine)
56. Metoxetamine kısa ismi ile bilinen, ((RS)2-(3-methoxyphenyl)-2-(ethylamino)cyclohexanone),
57. DBZP kısa ismi ile bilinen, (1,4-Dibenzylpiperazine)
58. o-CPP kısa ismi ile bilinen, (1-(2-chlorophenyl)piperazine)
59. p-CPP kısa ismi ile bilinen, (1-(4-chlorophenyl)piperazine)
60. 5-MeO-MiPT kısa ismi ile bilinen, (N-[2-(5-methoxy-1H-indol-3-yl)ethyl]-N-methylpropan-2-amine)

EK 2 Eğitim ve Bilimsel Araştırma Komisyonu Kararı

**T. C.
ADALET BAKANLIĞI
Adli Tıp Kurumu Başkanlığı**

Sayı : 21589509/329
Konu: Bilimsel Çalışma

15/12/2015

Sayın, Kim. Ergün KARAOĞLU

“İdrarda UR-144 ve metabolitlerinin LC-MS/MS ile tayini” isimli çalışma öneriniz 15/12/2015 tarihli Eğitim ve Bilimsel Araştırma Komisyonu toplantısında görüşülmüş ve kabul edilmiştir.

Bilginize rica ederim.


Doç. Dr. Yalçın BÜYÜK
Başkan

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ergün KARAOĞLU

Doğum Yeri ve Tarihi : Hatay 15.10.1977

Lisans Üniversite : Sivas Cumhuriyet Üniversitesi

Y. Lisans Üniversite (varsa) :

Elektronik posta :ergunkaraoglu@hotmail.com.tr

İletişim Adresi :Adli Tıp Kurumu Bursa Grup Başkanlığı

Kimya İhtisas Dairesi

Üçevler-Nilüfer / BURSA

Yayın Listesi :