

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ADLİ TIP ANABİLİM DALI

**İNHALASYON YOLUYLA KANNABİMİMETİK ETKİLER
GÖSTEREN BİTKİSEL ÜRÜNE MARUZ KALAN RATLARIN
BİYOLOJİK ÖRNEKLERİNDE SENTETİK KANNABİNOİD TESPİTİ**

PINAR EFEOĞLU ÖZŞEKER

ADLİ TIP ANABİLİM DALI DOKTORA PROGRAMI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMANI
Prof. Dr. Mete Korkut GÜLMEN

ADANA-2017

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ADLİ TIP ANABİLİM DALI

**İNHALASYON YOLUYLA KANNABİMETİK ETKİLER
GÖSTEREN BİTKİSEL ÜRÜNE MARUZ KALAN RATLARIN
BİYOLOJİK ÖRNEKLERİNDE SENTETİK KANNABİNOİD TESPİTİ**

PINAR EFEOĞLU ÖZŞEKER
ADLİ TIP ANABİLİM DALI DOKTORA PROGRAMI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMANI

Prof. Dr. Mete Korkut GÜLMEN

Bu tez, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından TF2013D5 Nolu
proje ile desteklenmiştir.

ADANA-2017

KABUL VE ONAY

Adli Tıp Doktora Programı Çerçevesinde yürütölmüş olan
“İnhalasyon Yoluyla Kannabimimetik Etkiler Gösteren Bitkisel Ürüne Maruz Kalan Ratların
Biyolojik Örneklerinde Sentetik Kannabinoid Tespiti”
adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

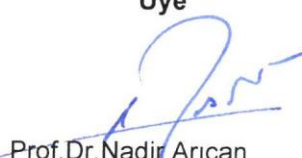
Tarihi: 18/09 /2017

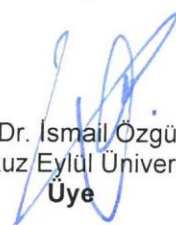
TEZ SINAV JÜRİSİ


Prof. Dr. Mete Korkut GÜLMEN
Çukurova Üniversitesi
Başkan


Prof. Dr. Ahmet Hilal
Çukurova Üniversitesi
Üye


Prof. Dr. Yusuf Karataş
Çukurova Üniversitesi
Üye


Prof. Dr. Nadir Arıcan
İstanbul Üniversitesi
Üye


Doç. Dr. İsmail Özgür Can
Dokuz Eylül Üniversitesi
Üye

Dr.
Üniversitesi
Üye

Dr.
Üniversitesi
Üye

Yukarıdaki Tez, Yönetim Kurulunun / / tarih ve
edilmiştir.

sayılı kararı ile kabul

Prof. Dr. Behice DURGUN
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

T.C. ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS / DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI
ETİK BEYANI

Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesini okuduğumu ve anladığımı ve Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Tez olarak sunduğum bu çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda bu konuda hakkımda yapılacak tüm yasal işlemleri ve aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim. 24/09/2017


Pınar EFEOĞLU ÖZŞEKER

Kayıtlı olunan Program : Doktora
Tezin Konusu : İnhalasyon Yoluyla Kannabimimetik Etkiler Gösteren Bitkisel Ürüne Maruz Kalan Ratların Biyolojik Örneklerinde Sentetik Kannabinoid Tespiti

Tezin Türü : Yüksek Lisans : ☐ Doktora: ☒

Danışmanın Adı-Soyadı : Mete Korkut GÜLMEN

Danışmanın İletişim Bilgileri

Telefon : 0 (530) 777 41 07
E-Posta : mgulmen@gmail.com

Öğrencinin İletişim Bilgileri

Telefon : 0 (530) 206 31 43
E-Posta : pnrefeoglu@gmail.com
Adresi : Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı
Sarıçam/Adana

TEŞEKKÜR

Tezimin oluşumunda ve yönetiminde bilgi ve deneyimleri ile desteklerini esirgemeyen tez danışmanım Prof. Dr. Mete K. Gülmen'e ve Doç. Dr. Nebile Dağlıoğlu'na,

Eğitim ve tez dönemi içerisinde gösterdikleri ilgi ve destekleri için Anabilim Dalı Öğretim Üyelerinden Prof. Dr. Necmi Çekin, Prof. Dr. Ahmet Hilal, Prof. Dr. Behnan Alper ve Doç. Dr. Ayşe Serin'e,

Deneyisel uygulamalarda ve çalışmalarda yardımını ve desteğini esirgemeyen değerli ablam Dr. İlknur Tolunay'a ve Fehiman Efeoğlu'na, Doç. Dr. Kenan Dağlıoğlu'na, Sağlık Bilimleri Deneyisel Uygulama ve Araştırma Merkezi çalışanları ile Adli Tıp Anabilim Dalı çalışanlarına,

Karşılaştığım her zorlukta hep yanımda olan değerli eşim Evren Özşeker'e,

Eğitimimin her aşamasında maddi-manevi destek sağlayan beni büyük bir ilgi ve sevgiyle bugünlere getiren canım aileme,

TF2013D5 no'lu proje olarak bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde maddi katkı sağlayan Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederim.

Pınar EFEOĞLU ÖZŞEKER

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	ii
ETİK BEYANI	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ÖZET	xii
ABSTRACT.....	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ.....	3
2.1. Esrar ve Kannabinoidler.....	3
2.2. Esrarın Tarihçesi	6
2.3. Kannabinid Reseptörleri.....	7
2.4. Sentetik Kannabinoidler.....	9
2.4.1. Bitkisel Ürünlerdeki Sentetik Kannabinoidlerin Tarihçesi	9
2.4.2. Sentetik Kannabinoidlerin Sınıflandırılması	12
2.4.3. Sentetik Kannabinoidlerin Farmokokinetiği	17
2.4.4. Sentetik Kannabinoidlerin Toksisitesi.....	18
2.4.5. Bitkisel Üründe Toksikolojik Analiz.....	19
2.4.6. Biyolojik Örneklerde Toksikolojik Analiz Yöntemleri.....	19
3. GEREÇ ve YÖNTEM	23
3.1. Deney Hayvanları.....	24
3.2. İnhalasyon Düzenegi.....	25
3.3. Deneyde Kullanılan Malzemeler.....	27
3.3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	27
3.3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	27
3.4. Örneklerin Hazırlanması ve Ekstraksiyon İşlemi	28
3.4.1. Bitkisel Ürünün Ekstraksiyonu.....	28
3.4.2. Kan ve İdrar Örneklerinin Ekstraksiyonu.....	28

3.4.3. Organ Örneklerinin Ekstraksiyonu	30
3.5. Cihaz Parametreleri	31
3.5.1. GC/MS Çalışma Şartları	31
3.5.2. LC/MSMS Çalışma Şartları	32
3.6. Kalibrasyon Eğrisinin Hazırlanması	34
4. BULGULAR.....	40
4.1. Gaz Kromatografi/Kütle Spektrometre Analizi	40
4.2. Likit Kromatografi /Tandem Kütle Spektrometre Analizi.....	42
4.3. Deneysel Çalışma.....	42
5. TARTIŞMA	45
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	50
7. KAYNAKLAR	51
ÖZGEÇMİŞ	60

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 1. Hint keneviri (Cannabis sativa) bitkisi	3
Şekil 2. THC'nin kimyasal yapısı.....	5
Şekil 3. Beyin içerisindeki bölgeler	7
Şekil 4. İnaktif ve aktif reseptörün hücresel durumu	8
Şekil 5. CB1 agonistinin hücresel sinyal iletimi	9
Şekil 6. İnternette satılan sentetik kannabinoid ambalajlarının bir kaçı	11
Şekil 7. Sentetik kannabinoidlerin kimyasal yapısı (EMCDDA, perspectives on drugs Synthetic cannabinoids in Europe)	13
Şekil 8. AB-FUBINACA kimyasal yapısı	16
Şekil 9. 5F-NPB-22 kimyasal yapısı.....	16
Şekil 10. Sigara gibi sarılan solutulacak bitkisel ürün	23
Şekil 11. Deneysel diyagram	24
Şekil 12. İnhalasyon düzeneği ve aşamaları.....	26
Şekil 13. Bitkisel ürünün yavşan otu ile karıştırılarak sigara gibi sarılma işlemi	26
Şekil 14. Kan örneklerinin ekstraksiyon algoritması	29
Şekil 15. İdrar örneklerinin ekstraksiyon algoritması	30
Şekil 16. Organ örneklerinin ekstraksiyon algoritması	31
Şekil 17. GC/MSMS cihazı	32
Şekil 18. LC/MSMS cihazı.....	32
Şekil 19. AB-Fubinaca kandaki kalibrasyon eğrisi	35
Şekil 20. AB-Fubinaca metabolite 2A kandaki kalibrasyon eğrisi	35
Şekil 21. AB-Fubinaca metabolite 2B kandaki kalibrasyon eğrisi.....	35
Şekil 22. 5F-NPB-22 kandaki kalibrasyon eğrisi	35
Şekil 23. AB-Fubinaca idrardaki kalibrasyon eğrisi	36
Şekil 24. AB-FUBINACA metabolite 2A idrardaki kalibrasyon eğrisi.....	36
Şekil 25. AB-Fubinaca metabolite 2B idrardaki kalibrasyon eğrisi.....	37
Şekil 26. AB-Fubinaca akciğerdeki kalibrasyon eğrisi	37
Şekil 27. AB-Fubinaca metabolite 2A akciğerdeki kalibrasyon eğrisi	38
Şekil 28. AB-Fubinaca metabolite 2B akciğerdeki kalibrasyon eğrisi.....	38

Şekil 29. Δ^9 -THC kalibrasyon eğrisi	39
Şekil 30. 5F-NPB-22 kalibrasyon eğrisi.....	39
Şekil 31. Bitkide tespit edilen Δ^9 -THC'nin kromatogramı.....	40
Şekil 32. Bitkide tespit edilen AB-Fubinaca'nın kromatogramı	41
Şekil 33. Bitkide tespit edilen 5F-NPB-22'nin kromatogramı	41
Şekil 34. 100 mg bitkisel ürün verilen sıçanın akciğerindeki AB-Fubinaca kromatogramı	43
Şekil 35. Kontrol grubu akciğer görüntüsü ve 100 mg bitkisel ürün solutulan sıçanın akciğerinde görülen peteşiyel kanama	44
Şekil 36. Verilen bitkisel ürünün miktarına göre AB-Fubinaca'nın akciğerlerde görülme olasılığı.....	44

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa No:

Tablo 1. Literatürde Karşılaşılan Sentetik Kannabinoid İçeren Ürünlerin Paket İsimleri	11
Tablo 2. LC/MSMS Gradient Programı	33
Tablo 3. LC/MSMS Cihazında Analizi Yapılan Maddelerin ve Metabolitlerinin MRM Değerleri.....	34



SİMGELER VE KISALTMALAR

THC	: Tetrahidrokannabinol
CYP450	: Sitokrom P450
M.Ö	: Milattan Önce
M.S	: Milattan Sonra
GDP	: Guanozin difosfat
GTP	: Guanizin trifosfat
cAMP	: Siklik adenozin monofosfat
ATP	: Adenozin trifosfat
SC	: Sentetik kannabinoid
γ	: gama
α	: alfa
β	: beta
EMCDDA	: Avrupa Madde ve Madde Bağımlılığı İzleme Merkezi
EUROPOL	: Avrupa Polis Ofisi
mg	: miligram
ng	: nanogram
dk	: dakika
ml	: mililitre
μ l	: mikrolitre
M	: Molarite
HLB	: Hydrophilic- Lipophilic Balance
KH₂PO₄	: Potasyum hidrojen fosfat
GC/MS	: Gaz Kromatografi/Kütle Spektrometresi
LC-MSMS	: Sıvı Kromatografi/Tandem Kütle Spektrometresi
HR LC/MS	: Yüksek Çözünürlüklü Sıvı Kromatografi/
LC/QTOF-MS	: Sıvı Kromatografi/Uçuş zamanlı Kütle Spektrometresi
CE	: Collesion Energy
MRM	: Multiple Reaction Monitoring
°C	: Celcius
pH	: Potansiyel hidrojen

rpm	: Dakikadaki devir sayısı
IS	: Internal Standart
cc	: Cubic cantimeter
mM	: Milimolar
v	: Hacim
w	: Ağırlık
RT	: Retention time



ÖZET

İnhalasyon Yoluyla Kannabimimetik Etkiler Gösteren Bitkisel Ürüne Maruz Kalan Ratların Biyolojik Örneklerinde Sentetik Kannabinoid Tespiti

Dünyada ve Türkiye’de yasaklı olan narkotik ve psikotrop maddelerin dışında bu maddelere benzer etkiler gösteren yeni psikoaktif maddelerin kullanım sıklığı giderek artmaktadır. Sentetik kannabinoidler bu psikoaktif maddeler içinde yer almaktadır. Bunlar; fonksiyonel olarak tetrahidrakannabinol (THC)’e benzemektedir ve sigara gibi içildiğinde kannabinoid reseptörlerine (CB1 ve CB2) bağlandığı için esrarın etkisini taklit etmektedir. Ancak, bu ürünlerin çoğu THC’den daha güçlüdür ve daha büyük sağlık riski oluşturur. Yasal görünüm kazandırmak amacıyla çeşitli bitki kırıntılarına emdirilen bu maddeler ülkemizde “*Bonzai*” olarak bilinmektedir.

Bu çalışmada ilk olarak “*Bonzai*” bitkisel ürününün içeriğindeki sentetik kannabinoid türü belirlenmiş daha sonra sentetik kannabinoid içeren “*Bonzai*” bitkisel ürüne inhalasyon yoluyla maruz kalan sıçanların kan, idrar ve organ örneklerinde bitkinin yanan miktarı ile dokuda biriken miktarı arasındaki ilişkiye bakılmıştır. Yapılan analiz sonucunda bitkisel üründe AB-Fubinaca ve 5F-NPB-22 sentetik maddeleri ile Δ^9 -THC (Esrar) tespit edilmiştir. Sıçanların kan ve idrar örneklerinde sentetik kannabinoid tespit edilmezken, özellikle akciğer dokusunda bitkisel ürün miktarı ile dokuda görülme sıklığı arasında anlamlı ilişki bulunmuştur.

Sentetik kannabinoid içeren bitkisel ürünlere inhalasyon ile maruz kalan kişilerin biyolojik örneklerinde yapılan bir çalışma bulunmamaktadır. Deney hayvanları insanlar için iyi bir modeldir. Elde edilen bulguların sonucunda bitkisel ürünün miktarının artması insanlar içinde risk oluşturabileceğini göstermiştir. Aynı zamanda bu çalışma biyolojik örneklerde yeni çıkan sentetik kannabinoidlerin tespitinde hassas analitik yöntemler oluşturmamızı sağlamıştır.

Anahtar Kelimeler: Bitkisel ürün, İnhalasyon, Sentetik kannabinoid, Hayvan Çalışması

ABSTRACT

Detection of Synthetic Cannabinoid in Biological Samples of Rats Exposed to Herbal Product Acting Cannabimimetic Effects by Inhalation

The incidence of new psychoactive substances which have not any legal disability and show similar effects is getting increased in Turkey and other countries all over the world as well as is known and controlled by laws. Synthetic cannabinoids are found in these psychoactive substances. These are functionally resembles tetrahydrocannabinol (THC) and mimic the effects of cannabis because it binds to cannabinoid receptors (CB1 and CB2) when consumed as a cigarette. Synthetic cannabinoids are included in these psychoactive substances. However, most of these products are stronger than THC and create a greater health risk. In our country, these substances are known as “Bonsai” plants are impregnated various plants in order to gain a legal appearance.

In this study, firstly what kinds of the synthetic cannabinoids in the content of the “Bonsai” was first determined and then the relationship between the burning amount of the plant and the amount accumulated in the tissue of blood, urine and organ samples of exposed to rats by inhalation. As a result of the analysis, AB-Fubinaca and 5F-NPB-22 of synthetic materials and Δ^9 -THC (Cannabis) were detected in herbal extracts. A significant relationship was found between the amount of herbal products in lung tissue and the frequency of appearance in the tissue, while synthetic cannabinoid was not detected in the blood and urine specimens of the rats.

There are no studies on biological samples of persons exposed to herbal products containing synthetic cannabinoids by inhalation. Experimental animals are a good model for humans. As a result of the findings obtained, it has been shown that the increase in the amount of herbal products can create risks in humans. At the same time, this work has enabled us to create sensitive analytical methods for the detection of novel synthetic cannabinoids in biological samples.

Keywords: Herbal product, Inhalation, Synthetic cannabinoids, Animal study

1. GİRİŞ

Tüm dünyada olduğu gibi Türkiye’de de bilinen ve yasalar tarafından kontrol altına alınmış olan narkotik ve psikotrop maddelerin dışında, bu maddelere benzer etkiler gösteren ancak herhangi bir yasal kısıtlılığı olmayan yeni psiko-aktif maddelerin görülme sıklığı giderek artmaktadır. Bu yeni psikoaktif maddeler; sentetik kannabinoidler, sentetik katinonlar, fenitilaminler, triptaminler ve arilalkilaminleri içermektedir. Sentetik kannabinoidler Avrupa Uyuşturucu ve Uyuşturucu Bağımlılığı İzleme Merkezi (EMCDDA) tarafından izlenen en büyük yeni uyuşturucu grubudur. 2014 yılında, Avrupa’da, yaklaşık 4 ton ağırlığında, neredeyse 50.000 yeni madde ele geçirilmiştir. Sentetik kanabinoidler bu yeni nesil psikoaktif maddelerin büyük çoğunluğunu oluşturmaktadır. Yakalanan sentetik kannabinoidler ya toz halinde ya da üzerine kimyasal madde püskürtülen bitki olarak ele geçirilmiştir. Tozlar yasal kafa yapıcılar olarak satılan ürünler üretmek için kullanılmaktadır¹.

Yasal bir kısıtlılığın olmaması ve kolay temin edilebilmesi bu maddelerin piyasaya arzını giderek arttırmaktadır. Ayrıca bu maddeleri kullanmanın cezai bir yaptırım olmaması hızlı bir talebin oluşmasını kaçınılmaz kılmaktadır². Bu yeni psiko-aktif maddelerle daha etkin mücadele için Avrupa Madde ve Madde Bağımlılığı İzleme Merkezi (EMCDD) bünyesinde Erken Uyarı Sistemi (EWS) olarak adlandırılan bir sistem kurulmuştur. Bu sistem psiko-aktif etkili yeni maddeler ile mücadelede ülkeler arası hızlı işbirliği ve iletişimin gerçekleşmesinde önemli rol oynamaktadır. 2010 yılında EWS aracılığı ile EMCDDA ve Avrupa Polis Teşkilatı (EUROPOL)’na 41 yeni psikoaktif madde bildirilmiştir. 2016 yılı EMCDDA raporuna göre sırasıyla 2008 yılında 1, 2009 yılında 9, 2010 yılında 11, 2011 yılında 23, 2012 yılında 30, 2013 yılında 29, 2014 yılında 30 ve 2015 yılında 25 olmak üzere toplam 158 sentetik kannabinoid kaydedilmiştir¹.

Ülkemizde 2010 yılında sentetik kannabinoidlerden JWH-018, CP 47,497, JWH-073, HU-210, JWH-200, JWH-250, JWH-398, JWH-081, JWH-073 metil türevli, JWH-015, JWH-122, JWH-203, JWH-210 ve JWH-019 maddeleri Bakanlar Kurulu kararıyla Uyuşturucu Maddelerin Murakabesi Hakkında Kanun hükümlerine tabi tutulurken bu maddelerin jenerik adlarının çok hızlı değişmesinden ötürü bugün Türkiye’de 3-

numaralı konumunda alkil grubu taşıyan indol türevi, keton grubu taşıyan indol türevi, karboksilli esteri taşıyan indol türevi ve amid taşıyan indol türevi sentetik kannabinoidler ile triptamin türevleri, katinon türevleri ve amfetamin türevleri olarak genel bir ifade belirtilmiş, 26/01/2015 tarihli ve 2015/7238 sayılı Bakanlar Kurulu Kararı ile bu maddeler 2313 sayılı Uyuşturucu Maddelerin Murakabesi Hakkında Kanun Hükümlerine tabi tutulmuştur³.

Sentetik kannabinoidler tipik olarak kannabinoid reseptörlerinde agonist olarak hareket ederler ve Cannabis sativa (esrar) bitkisinin primer psikoaktif bileşeni olan Δ^9 -tetrahidrokanabinol'ün (THC) etkilerini taklit etmek için tasarlanmışlardır⁴. Bu ürünlerin üretimi esrara alternatif olarak gösterilmiştir.

Kannabinoid kullanıcılarının büyük çoğunluğu farmakolojik etkilerini hızlı bir şekilde gösterdiği için sigara gibi uygulama şeklini tercih etmektedir. Bu maddelerin çoğu yüksek derecede lipofiliktir ve sigara gibi içme durumunda dekompoze olmaksızın buharlaşır. Ancak literatürde yapılan çoğu çalışma enjeksiyon uygulamalarına dayanmaktadır.

Çalışmanın amacı; ülkemizde “*Bonzai* ”olarak satılan bitkisel ürün içeriğindeki sentetik kannabinoid türünü ve miktarını tespit etmek, kromatografik yöntemleri kullanarak biyolojik örneklerde hassas analitik metotlar geliştirmek ve farklı miktarlardaki bitki materyalinin inhale edilmesine bağlı olarak belirli zaman aralıklarında sıçanlardan toplanan kan, idrar, organ gibi biyolojik örneklerde bu maddeleri tanımlamaktır.

2. GENEL BİLGİ

2.1. Esrar ve Kannabinoidler

Esrar, dünyada yasadışı uyuşturucu pazarında en büyük orana sahip olup tüm yaş gruplarında en çok kullanılan maddedir. Hint keneviri bitkisinin kurutulmuş yaprak ve çiçekleri esrar olarak ifade edilir. Kökeni Orta Asya'ya dayanan kenevir bitkisi insanlığın birbiriyle etkileşiminin artmasıyla tüm dünyaya yayılmıştır. Hint keneviri bitkisinin boyu ilkbahardan sonbahara kadar süren büyüme mevsiminde 5 metreye kadar ulaşabilir. Tohumları genellikle 3-7 gün içerisinde çimlenir. Ayrı ayrı gelişen erkek ve dişi çiçeklere sahiptir ve her bitkinin cinsiyeti çiçek açmadan önce anatomik olarak ayırt edilememektedir⁵.

Tek yıllık ömrü olan bir bitkidir. Günümüzde halen tek bir tür (sativa) ve tek bir cinse (kannabis) sahip, kendirgiller (*Cannabaceae*) ailesine ait olduğu bilinen bu bitki aslında son derece değişken bir yapıya sahiptir⁶. Bitkinin dişi ve erkek türlerinin çiçekli tepeleri ve dişi bitkinin tohumu etrafında bulunan yapraklar psikoaktif maddeleri taşımaktadır (Şekil 1).



Şekil 1. Hint keneviri (*Cannabis sativa*) bitkisi

Dişi bitkinin çiçekli tepelerinden salgılanan reçine “haşhiş” adını alır⁷. Esrarın farklı hazırlanma şekillerinde tespit edilen en yüksek THC konsantrasyonları sırasıyla reçinenin alkol ile ekstraksiyonundan elde edilen esrar yağında %20-60 oranında, reçinede %10-15 ve bitki yapraklarında ise %1-8 oranındadır. Esrar bitkisi yetiştirildiği toprağa, sıcaklık ve güneş alma süresine, genetik çeşitliliğe göre farklı biçimlerde gelişir. Bitkinin THC içeren reçinesinden optimum miktar elde etmek için tercihen ılık ve güneşli iklim koşullarında verimli bir toprağa ihtiyacı vardır⁸.

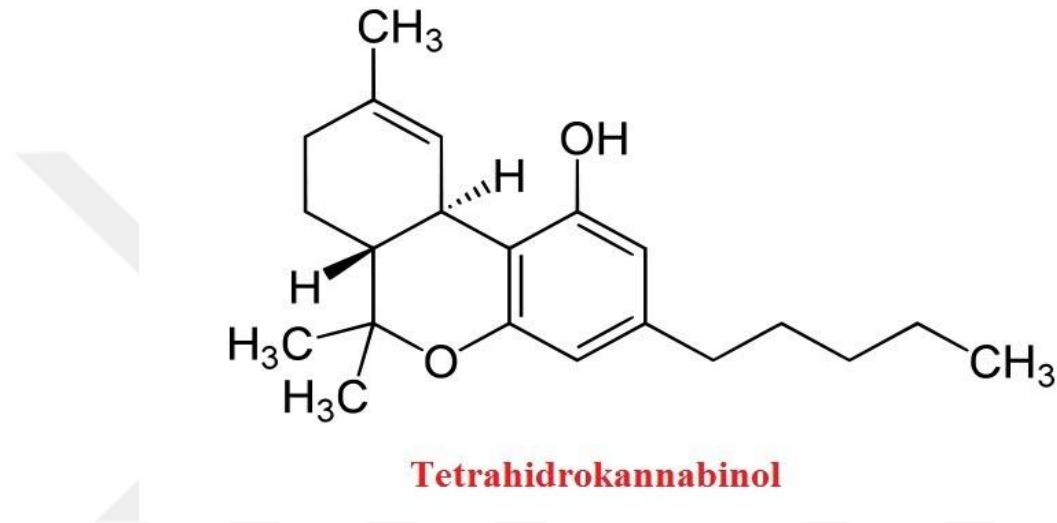
Kenevirin kendini oluşturan çok sayıda bileşenin olması ve birbirleriyle olası etkileşimleri nedeniyle yapısı çok karışıktır. Bu bileşenler, terpenler, şekerler, hidrokarbonlar, steroidler, flavonoidler, azotlu bileşikler ve aminoasitler gibi hemen hemen tüm kimyasal sınıfları temsil etmektedir. Bu kimyasallar kannabinoidler olarak isimlendirilir. Kenevir bitkisinin en iyi bilinen ve en spesifik sınıftaki psikoaktif bileşene sahip olan maddesi C₂₁ terpenofenol kannabinoid yani Δ⁹-Tetrahidrokanabinol (Δ⁹-THC)’dür⁶. 1980 yılında C. Sativa’da tanımlanan toplam doğal bileşik sayısı 423 iken 1995 yılında 483’tür. THC; uçucu, viskoz, suda çözünmeyen, yağda yüksek çözünürlüğe sahip bir maddedir. Hava, ışık veya ısıtmaya maruz kaldığında dekompoze olur⁹.

Kannabinoidler, beyinde belirli reseptörler üzerinde (CB1 ve CB2) etkili olan bir grup kimyasal bileşiktir. Fitokannabinoidler (bitki kaynaklı), endojen kannabinoidler (vücutta doğal olarak üretilen) ve kimyasal olarak üretilen sentetik kannabinoidler olmak üzere üç gruba ayrılırlar¹⁰.

Esrar kullanımı genellikle bitki materyalinin kağıtlara sarılarak yakılmasıyla dumanının solunması yani sigara gibi içilmesi, bitkinin farklı kısımlarının çay gibi demlenerek içilmesi ya da yenilmesi şeklinde olur¹¹. Esrarın sigara gibi içilmesi, etkilerinin beyinde çok hızlı bir şekilde ortaya çıkmasını sağlar. Bu nedenle kullanıcılar tarafından en çok tercih edilen uygulanma şeklidir. Puf sayısı, süresi ve aralığı, inhalasyon hacmi ve ağızda bekletme süresi veya içme şekli uyuşturucuya maruz kalma derecesini büyük ölçüde etkiler^{12,13}. Diğer tüketim yollarında esrarın emilimi çok daha yavaş olduğundan etkileri geç ortaya çıkar. Esrar maddesinin yiyecek veya içeceklerin hazırlanması esnasında ısıtılması, bitki preparatlarında bulunan esrarın aktif olmayan karboksilik asitli türevlerinin kimyasal olarak parçalanmasına neden olur. Ağız

yolundan alındığında etkisi 3-4 saatte belirgin hale gelirken, inhalasyon yoluyla etkisi hemen başlar¹⁴.

Esrarın primer psikoaktif bileşeni olan THC ilk defa 1942’de Amerikalı kimyager Wollner tarafından tek bir saf bileşik değil THC’nin karışımı olarak izole edilmiştir¹⁵. Yapısı ise 1964 yılında Gaoni ve Mechoulam tarafından aydınlatılmıştır¹⁶.



Şekil 2. THC’nin kimyasal yapısı

THC’nin dağılım hacmi 10L/kg olup %97-99 oranında plazma proteinlerine bağlanır ve lipofilik özelliğinden dolayı dokulara hızlı dağılım gösterir. Kannabinoidler temel olarak karaciğerde metabolize olur. Eliminasyon yarı ömrü yaklaşık 1 gündür. THC’nin mono hidroksi metaboliti olan 8-beta-hidroksi THC daha az potansiyele sahipken bir diğer mono hidroksi metaboliti olan 11-hidroksi THC, THC’ye benzer aktivite ve eğilim gösterir. Δ⁹-THC’de bulunan tekli doymamış sikloheksil halkadaki alilik karbon atomunun CYP450 enzimi tarafından hidroksillenmesiyle 11-OH- Δ⁹-THC oluşur. Tek doz THC alındıktan sonra 72 saat içerisinde yaklaşık dozun %70’i metabolize olur ve %30’u idrarla %40’ı dışkıyla atılır. Değişmeyen THC idrar içinde düşük miktarda bulunur. İdrar metabolitleri THC’nin karboksilli asit konjugatları ve tanımlanamayan asidik ürünlerinden oluşmaktadır¹⁷.

THC'nin taşikardi, vazodilasyon, hipertansiyon, bronkodilatasyon, azalan göz içi basıncı, dış stimulanları algılamada değişimler, hafıza kaybı ve zaman algısını kavrayamama gibi etkileri vardır⁷.

2.2. Esrarın Tarihçesi

M.Ö 10.000'li yıllara dayanan ilk esrar kullanımının kanıtı Çin'de kenevir olarak düşünülen kord benzeri bir malzemenin damgasını taşıyan çanak çömlek parçalarında bulunmuştur. Ayrıca Chou hanedanlığındaki Çin mezar odalarında da kenevir bez parçaları bulunmuştur. Bu da kenevir tarımının yapıldığı ve halat, ağ ve bez imalatında kullanıldığını göstermiştir. M.S. 1-2. yüzyılda bitkinin tıbbi özelliğinin tanımlanmış ve adı antik Çin bitkisi olmuştur. Birçok hastalığın tedavisinde kullanılmıştır⁸. M.Ö. 2700 yıllarında Çin imparatoru Shen Nung döneminde hazırlanan ve ilk farmakolojik kitap olarak kabul edilen eserde 265 şifalı bitkiye ve devaya ait bilgi verilmiştir. Bu kitapta Hint keneviri bitkisinin etkileri ve özellikleri de anlatılmış, beriberi, gut, romatizma, sıtma, zayıflama gibi bedensel ve duygu –düşünce bozukluğu gibi ruhsal hastalıklar için ilaç olarak önerilmiştir¹⁸.

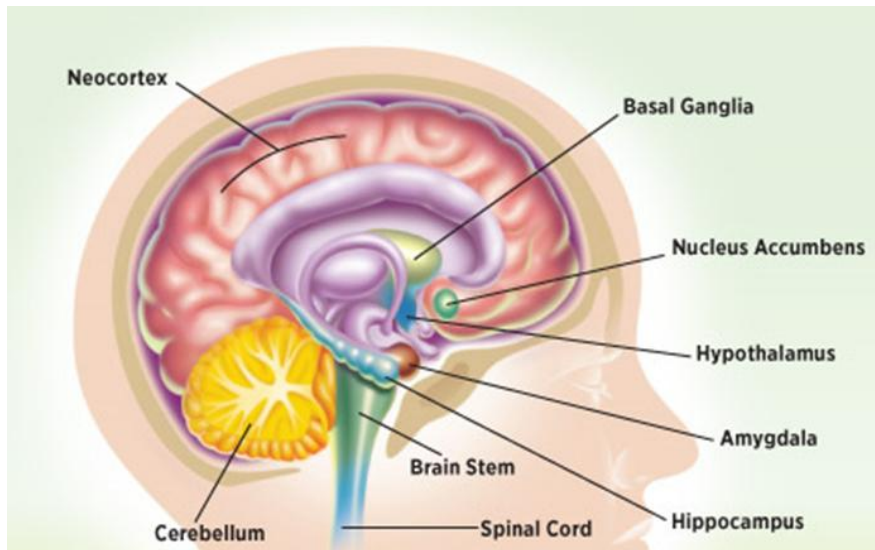
Çin'in aksine, esrarın psikolojik özellikleri nedeniyle kullanımı Hindistan'da bin yıldan fazla bir süredir endemiktir. Esrar kullanımı Neolitik Çağ'da kuzey doğu Asya'daki göçebe kabileler tarafından bilinmekteydi ve şamanizmin uygulanmasında dini ritüel olarak rol oynadı. Yörüklerin esrarı Batı Asya'ya ardından Hindistan'a getirdiği söylenmektedir. Esrarın Batı'ya ulaşması uzun sürmüştür. Yaklaşık M.Ö. 600'lerde Asur belgelerinde "kunnub" ve "kunnap" olarak anılan kenevir, Asur uygarlığında hem elyaf bitkisi hem de bir ilaç olarak bilinmekteydi. Arap adalarında dağlarda gezen bir Sufi esrar yapraklarını yediğini ve kendini çok mutlu ve rahat hissettiğini söylemiştir⁸.

Esrar özellikle Mısır'da yaygın olarak kullanılmıştır. Napolyon'un Mısır'ı işgal edip fethetmesiyle esrar önce Avrupa'ya daha sonra Amerika'ya yayılmış oldu. Esrar bitkisi, 15. yüzyılın ilk yarısına kadar Afrika'dan getirilen köleler tarafından Latin Amerika ve Karayipler'e tanıtıldı. Bu bölgedeki birçok ülkede psikoaktif özellikleriyle, hem rekreasyonel bir ilaç olarak hem de çeşitli yerli Hint dini törenleriyle bağlantılı olarak oldukça yaygın bir şekilde kullanılmıştır.

1937'de, esrar özleri içeren, hap, tablet ve şuruplardan 28'den fazla farklı farmasötik müstahzar mevcuttu. Amerikan ilaç firmaları esrar bazlı ilaçlarla ilgili araştırmalara ilgi göstermeye başladılar⁸. Esrarın kullanımı oldukça eski olmakla beraber tedavi edici kullanımının yanı sıra keyif verici ve sarhoş edici etkisinden pek çok sektörde kullanılmaktadır.

2.3. Kannabinid Reseptörleri

1980'li yılların sonuna kadar çoğu bilim insanı kannabinoidlerin hücre zarlarına kolayca yayılmasına izin veren yüksek lipofilik yapısından dolayı esrar etkisinin reseptör aracılı olmadığına inanmaktaydı¹⁹. 1988 yılında ratlarda ilk kannabinoid reseptörü izole edilmiş ve 1990 yılında Matsuda ve ark. CB1 olarak ifade ettikleri kannabinoid reseptörünü klonlamışlardır^{20,21}. CB1 reseptörleri aktif boğmaca toksinine duyarlı G_i/o bağlı G protein ile kenetlenmiştir (GPCR)²². Doymuş, spesifik, yüksek afinitili CB1 reseptörlerinin varlığı en yoğun merkezi sinir sistemi ve bazı periferik dokularda gösterilmiştir. CB1 reseptörleri ağırlıklı olarak hipokampus, bazal ganglia ve serebellum'da bulunur²³. Ancak kannabinoidlerin karakteristik etkilerinin birçoğunu ürettiği düşünülen beyin içerisindeki özellikle biliş ve kısa süreli hafızadan sorumlu serebral korteks ve hipokampus'da, motor fonksiyonları ve hareketten sorumlu bazal ganglia ve serebellum'da bu reseptörler homojen olarak dağılmamıştır²⁴.



Şekil 3. Beyin içerisindeki bölgeler

1990'lı yılların başında Munro ve ark. CB2 olarak ifade edilen ikinci sentetik kannabinoid reseptörünü moleküler olarak klonlanmıştır²⁵. CB1 reseptörleri gibi CB2 reseptörleri de aktif boğmaca toksinine duyarlı adenil siklaz enzimini baskılayan G_i/o bağlı G protein reseptörleridir. CB2 reseptörleri çoğunlukla bağışıklık hücreleri üzerinde bulunur ve rollerinden biri sitokin salınımını düzenlemektir²⁶. $\Delta 9$ -THC, kannabidiol, JWH-018 ve CP-47,497 gibi ekzojen kannabinoidler ile endojen kannabinoidler kannabinoid reseptörlerine bağlanarak kannabinoid ligandları oluştururlar. Bu ligandlar parsiyel veya tam agonist gibi davranıp reseptör aktivitesini arttırarak ya da reseptör aktivitesini değiştirmeksizin diğer reseptör ligandlarını bloke ederek veya ters agonist gibi reseptörün aktivitesini azaltarak reseptörün aktivitesini düzenleyebilir. $\Delta 9$ -THC ve sentetik kannabinoidler gibi çoğu kannabinoid parsiyel veya tam reseptör agonistidir ve maksimum etki gösterirler.

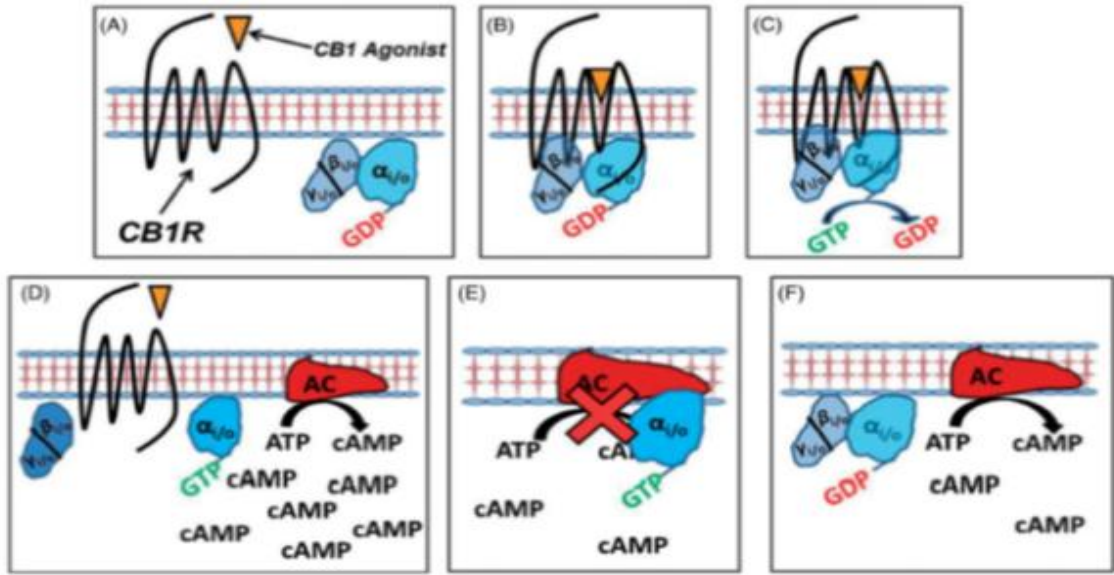
G proteinleri alfa(α), beta(β) ve gama (γ) alt birimlerinden meydana gelmektedir. İnaktif halde iken bu alt birimler birlikte bağlı ve G proteini formunda α alt gruplu guanozin difosfata (GDP) bağlıdır (Şekil 4).



Şekil 4. İnaktif ve aktif reseptörün hücresel durumu

G proteinine bağlanan bir agonist, reseptör ve G proteini arasındaki etkileşimi indükleyen reseptörde yapısal değişimi oluşturur. Bu etkileşim G proteinini aktive ederek GDP'nin GTP'ye dönüşümünü katalizler. G-protein birimlerinin aktif bir monomer olan G_α -GTP'ye ve dimer $G_{\beta\gamma}$ 'ya ayrılmasına neden olur. Aktif halde olan, ayrılmış alt gruplar daha fazla sinyal verme basamağı üretmek için hücresel akım yönünün tersine etkileşime girer. Örneğin CB1 reseptörleri ile aktive olan G protein alt

birimleri ikinci mesajcı siklik adenozin monofosfat (cAMP)'a adenozin trifosfat (ATP) katalizleyen adenil siklaz enziminin aktivitesini inhibe eder. Bu da cAMP'nin yanıt kısımlarında genlerin transkripsiyonunu azaltarak cAMP'nin hücre içi konsantrasyonunu düşürür (Şekil 5). CB1 reseptörünün aktive olması hücrel siklik adenozin monofosfat seviyesini azaltır ve kanabimimetik cevapları oluşturur. Sentetik kannabinoid agonistleri voltaj kapılı iyon kanalları ile etkileşir ve membran potansiyelini azaltan potasyum, sodyum, N ve P/Q tip kalsiyum kanallarını inhibe eder^{27,28}.



Şekil 5. CB1 agonistinin hücrel sinyal iletimi

2.4. Sentetik Kannabinoidler

2.4.1. Bitkisel Ürünlerdeki Sentetik Kannabinoidlerin Tarihçesi

Sentetik kannabinoidler benzer kimyasal yapıları maddeler olup CB1 ve CB2 olarak bilinen kannabinoid reseptörlerini aktive ederek esrar benzeri psikoaktif etkiler göstermektedir. Sentetik kannabinoidler kimyasal yapı bakımından THC'ye benzemez. Ancak kannabinoid reseptörlerine afinitesi THC'den 80-100 kat daha fazladır ve bu maddelerin yapıları sürekli geliştirildiğinden piyasada yüzlerce sentetik kannabinoid yer almaktadır²⁹. Sentetik kannabinoid ürünlerinin kullanımı esrar kullanıcılarında daha

yüksektir³⁰. Esrar ve kannabinoidlerin terapötik etkisini değerlendirme amaçlı sentezlenmişlerdir. Pfizer firması tarafından 1970-1980 yılları arasında sikloheksilfenol (CP) serileri geliştirilmiştir. 1995 yılında ise Clemson Üniversitesi'nde organik kimyager olan John W. Huffman tarafından JWH bileşikleri olarak bilinen aminoalkilindollar geliştirilmiştir³¹. Son birkaç yıldır PB-22, 5F-PB-22, XLR-11, AKB-48, UR-144, AB-PINACA ve AB-FUBINACA gibi insanlarda esrar benzeri etkiler üreten ikinci nesil sentetik kannabinoidler ortaya çıkmıştır³².

Piyasaya ilk çıktıklarında yasal statü kazandırmak amacıyla yasal kafa yapıcılar (legal highs), bitkisel kafa yapıcılar (herbal highs), tasarım ilaçlar (designer drugs) veya bitkisel tütsü (incense) olarak ifade edilmiştir^{33,34}.

Bu kimyasalların çoğu Çin'de üretilmekte olup aseton, etanol ve metanol gibi çözücülerde çözüldükten sonra melisa (limonotu), kekik, nane ve damiana ya da ülkemizde de daha çok maraşotu, yavşan otu gibi otların üzerine püskürtülür. Bu işlemden sonra bitki materyali gölgede kurutularak satış için paketlenir^{1,33}.

Bu maddelerin popülaritesinin bu kadar artması yeniliği, pazarlaması ve erişilebilirliği ile ilişkilidir. Daha genç bireyleri etkilemek için bu paketler renkli, çekici ve cezbedici isimlerle satılır. İlk nesil 'Spice' ürünleri tütsü veya bitkisel karışımlar olarak deklare edilerek 'Spice Silver', 'Spice Gold', 'Spice Diamond', 'Yucatan Fire', 'K2' ve 'Smoke' gibi adlar verilmiştir.

Tablo 1. Literatürde Karşılaşılan Sentetik Kannabinoid İçeren Ürünlerin Paket İsimleri

Spice	Spice Gold	Spice Silver	K2
Heaven	Potpourri	Cloud 9	Smoke XXX
Jamaican Gold	World's finest	Magic	Rainbow
Serenity	Diomand	Gorilla	Spark
Yukatan Fire	Skunk	Dream	Blaze
Magic Gold	Buzz	Spice Max	Aromatic Incense
Jamaican Sprit	Chillin XXX	Bonzai Cuba	Herbal Incense
Moon Rocks	Tribal Warrior Ultimate	California Spice	Smoke
Damiana	Godfather	Mojo	Jamaican Gold Extreme
Nightmare	Red Magic	Xtreme	Climax
Rainbow	Chill	Solar Flare	Galaxy
Zohai	Ivory Wave	Zombie	Skunk
Bonzai	Spice Platinum	Kronic	Growth Regulator
Aromatic Potpourri	Amsterdam	Aroma	Zen
Dragon Herbal Incense	Bonzai Plant	Spark	Purple Haze

Genellikle 0,5-3 g yeşil/kahve bitki materyalinden ince ince kesilmiş renkli ve profesyonel olarak tasarlanmış paketlerde sunulmuştur. Bu paketlerin üzerinde “insan tüketimi için değildir”, “tütsü”, “sadece aromaterapi kullanımı içindir” ibareleri yer almaktadır. Ambalaj etiketlerinde bu otlar tüketildiğinde esrar benzeri etkiler oluşturabileceği iddia edilmiştir ve sadece doğal elementlerin sofistike karışımından dolayı bu ürünler farmakolojik olarak aktiftir denilmektedir³⁴⁻³⁷. Bu ürünler yaş sınırlaması olmaksızın internette, petrol istasyonlarında, aktarlarda ve marketlerde satılmaktadır³⁸⁻⁴⁰.



Şekil 6. İnternette satılan sentetik kannabinoid ambalajlarının bir kaçı

2004 yılından itibaren “Spice” olarak adlandırılan bitkisel karışımlar Almanya, İsviçre ve Büyük Britanya gibi birçok Avrupa ülkesinde elde edilebilmektedir. İlk başta bu ürünler popüler olmayıp sadece küçük bir deneysel kullanıcı grubu tarafından kullanıldı. Ancak 2008’de Alman gazeteleri ve televizyonlarının bu ürünleri yasal esrar bileşeni olarak duyurması kullanıcı sayısının ve popüleritesinin dramatik bir şekilde yıl içerisinde artmasına neden olmuştur. Aynı fenomen Fransa, Büyük Britanya ve diğer birkaç Avrupa ülkesinde gözlemlenmiştir^{41,42}.

2008’in sonunda EMCDDA ve EUROPOL “Spice” markası adı altında sigara karışımı bulmuş ve EMCDDA’nın 2008 raporuna kaydetmiştir. Amerika’da ise ilk defa 2009 yılında K2 ismi altında satılan bitkisel üründe sentetik kannabinoid tespit edilmiştir⁴³⁻⁴⁵. Avustralya ve Yeni Zelanda da “Kronic” adıyla satılmaktadır⁴⁶.

Türkiye’de ilk defa 2010 yılında sentetik kannabinoid (JWH-018) yakalandı⁴⁷. 2011 yılında ise yasaklı madde kapsamına alındı. Gürdal ve ark. yaptıkları çalışmada 2010-2012 yılları arasında İstanbul Adli Tıp Kurumu Narkotik Birimi’ne gelen 1200 bitkisel ürünün paketlerini ve sentetik kannabinoid içeriğini belirlemiştir. Paketlerin üzeri Bonzai Aromatic Potpourri, Bonzai Plant Growth Regulator, Jamaican Gold, Heaven, Yukatan Fire, Smoke XXX, Aromatic Incense, Jamaican Sprit, Tribal Warrior Ultimate, Bonzai Cuba, Bonzai Black Diamond, Jamaican Gold Extreme, Dragon Herbal Incense, Ivory Wave isimlerini içermekte olup, %98.3’ünde sentetik kannabinoid tespit edilmiştir. Sentetik kannabinoidin o yıllardaki içeriği incelendiğinde %99.4’ünde JWH-018 bulunmuştur⁴⁸.

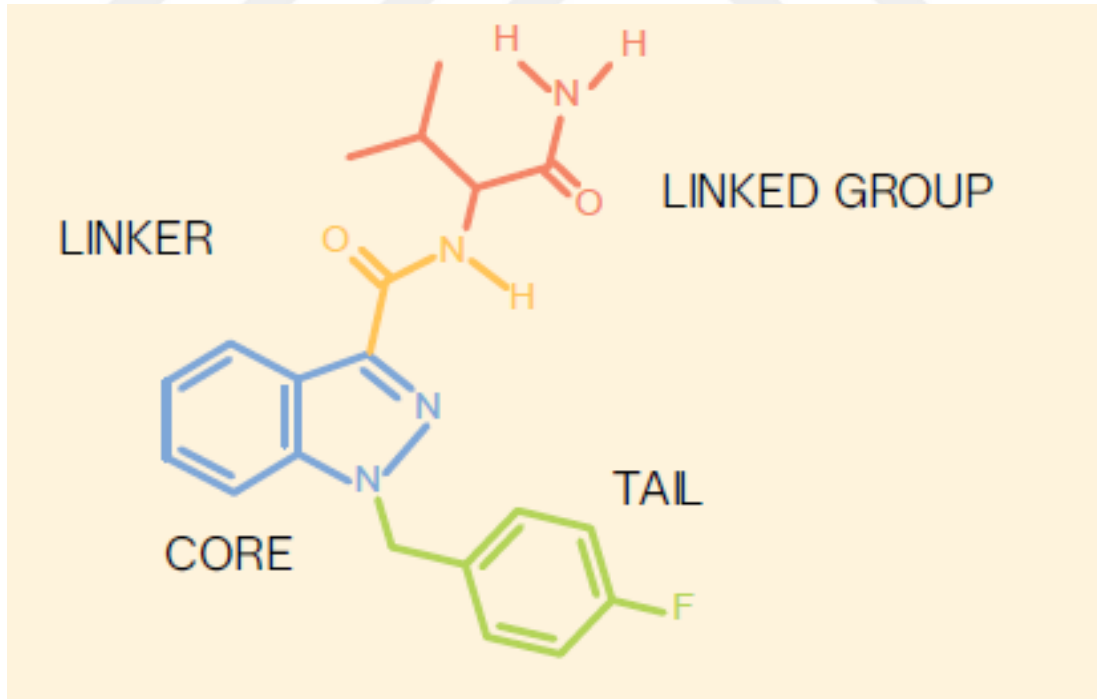
2.4.2. Sentetik Kannabinoidlerin Sınıflandırılması

Sentetik kannabinoidler; kimyasal yapılarındaki küçük farklılıklara rağmen 20-26 karbon atomu içeren küçük molekülü, yağda çözünür, apolar ve oldukça uçucu olan bileşiklerdir⁴⁹. Sentetik kannabinoidlerin kimyasal yapılarına dayanarak yapılan sınıflama; klasik kannabinoidler, klasik olmayan kannabinoidler, eikozanoidler, aminoalkilindoller (AAIs) ve diğerleri olarak alt gruplara ayrılmıştır.

Klasik kanabinoidler (örn. HU-210), bir dibenzopiran halkasına dayanan, yapısal olarak Δ9-THC'ye benzemektedir. Klasik olmayan kanabinoidler, sikloheksilfenol (CP)

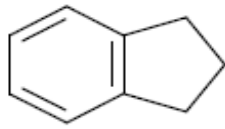
serisi (örn CP47,497) yapısal olarak THC'ye benzemez. Eikozanoidler anandamidin bir sentetik analogu olan AM-356 olarak bilinen metanandamid gibi endokannabinoidlerin sentetik analoglarıdır Aminoalkilindoller (AAIs) naftoilindoller, fenilasetilindoller ve benzoilindollerini içeren alt gruplara ayrılabilir. Sentetik kannabinoidlerin son grubu, indazol karboksamit (örn. APINACA) gibi diğer yapısal tipleri kapsayan "diğer" gruptur. SC'lerin analogları alkil zincirlerinin düzenlenmesi veya uzunluğunun değiştirilerek modifiye edilmesiyle sentezlenebilir. Değişiklikler aromatik halkaya bir alkil, alkoksi, halojen veya başka süstitüentlerin eklenmesiyle de yapılabilir⁵⁰.

Pek çok sentetik kannabinoidin yapısı kuyruk (tail), çekirdek (core), bağlayıcı (linker) ve bağlantılı grup (linked group) olacak şekilde dört bileşen halinde sınıflandırılabilir. Yapının çekirdek kısmı kannabinoid reseptörlerine agonist olma özelliği taşır. İkincil yapı olan bağlantılı grubun yapısının değişmesi ile sentetik kannabinoidin jenerik ismi değişir⁵¹. Bu kimyasal yapıyı isimlendirirken sırasıyla önce bağlantılı grup, kuyruk, çekirdek ve bağlayıcı yapı söylenir⁵².

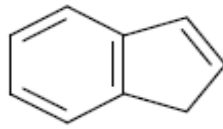


Şekil 7. Sentetik kannabinoidlerin kimyasal yapısı (EMCDDA, perspectives on drugs Synthetic cannabinoids in Europe)

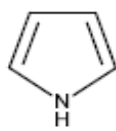
Çekirdek yapı türleri;



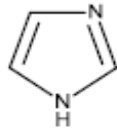
Indane



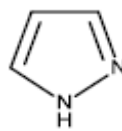
Indene



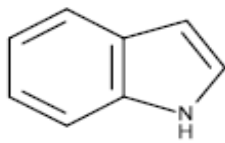
Pyrrole



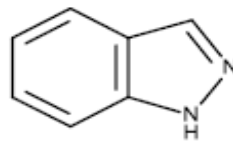
Imidazole



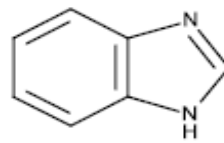
Pyrazole



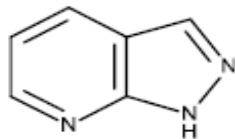
Indole



Indazole

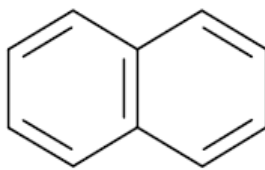


Benzimidazole

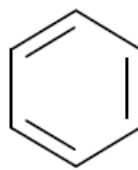


Pyrazolo(3,4-b)pyridine

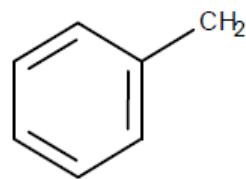
Bağlantılı grup;



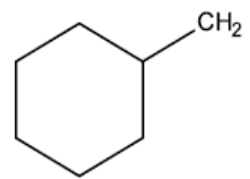
Naphthyl



Phenyl

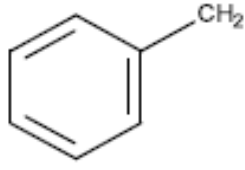


Benzyl

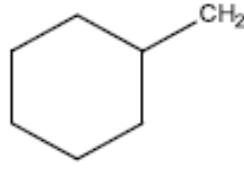


Cycloalkylmethyl

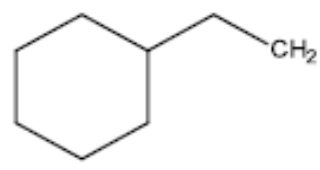
Kuyruk türleri;



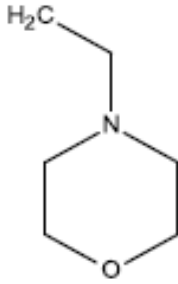
Benzyl



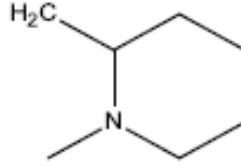
Cycloalkylmethyl
(e.g. cyclohexylmethyl)



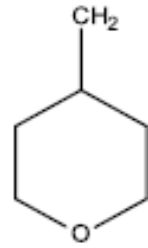
Cycloalkylethyl
(e.g. cyclohexylethyl)



2-(4-morpholinyl)ethyl



(N-methylpiperidin-2-yl)methyl

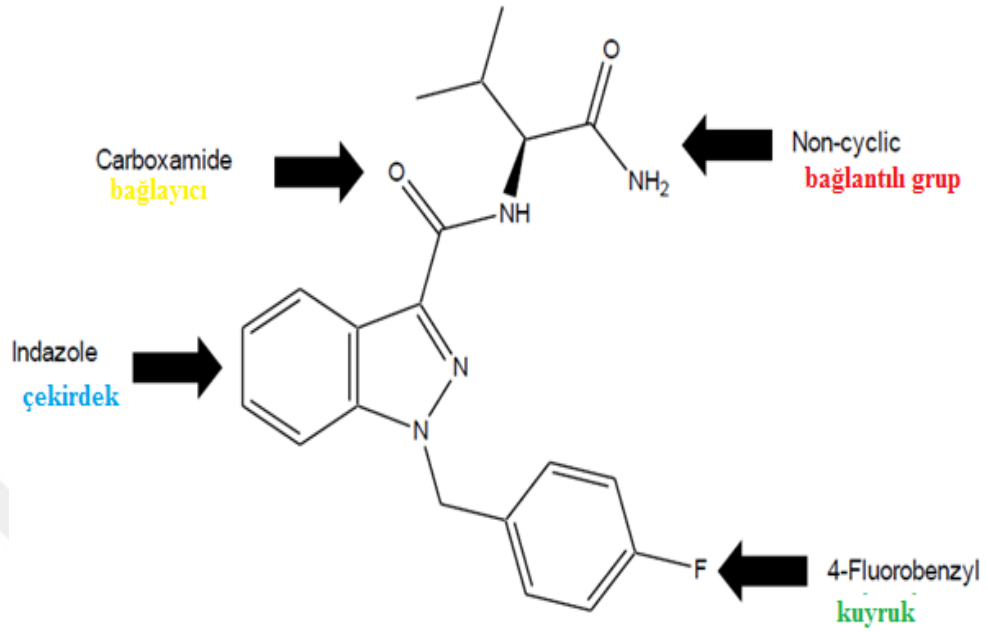


(tetrahydropyran-4-yl)methyl

Bağlayıcı gruplar; Methanone (-CO), Ethanone (-COCH₂-), Carboxamide (-CONH-), Carboxylate (-COO-), Methylene (-CH₂-) ve Methine (=CH-) gibi grupları içerir.

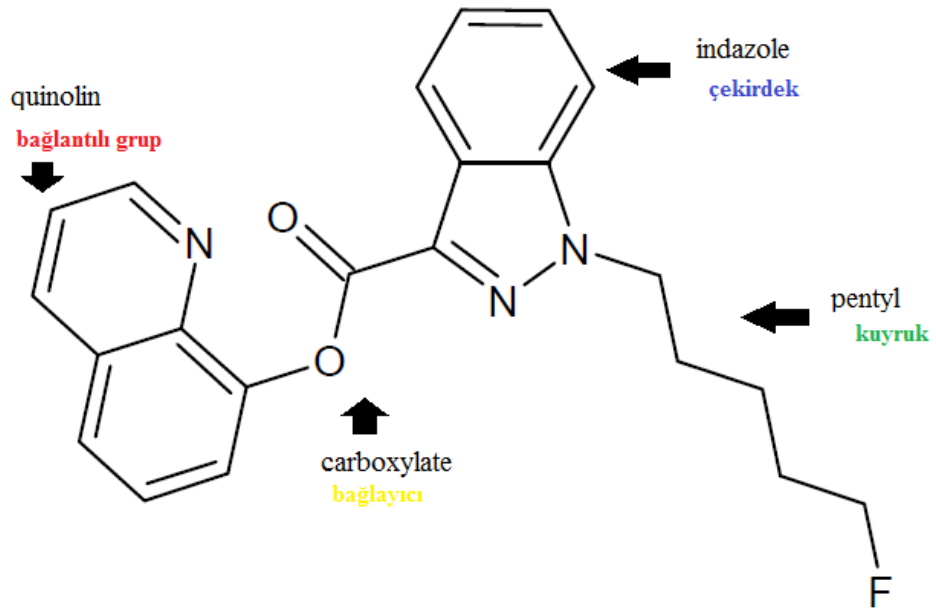
Son zamanlarda ülkemizde AB-FUBINACA (N-[(1S)-1-(aminocarbonyl)-2-methylpropyl]-1-[(4-fluorophenyl)methyl]-1H-indazole-3-carboxamide) ve 5F-NPB-22 (1-(5-fluoropentyl)-8-quinolinyl ester-1H-indazole-3 carboxylic acid) sentetik kannabinoidleri yaygın olarak ortaya çıkmıştır. Kimyasal yapıları aşağıdaki gibidir;

AB-FUBINACA



Şekil 8. AB-FUBINACA kimyasal yapısı

5F-NPB-22



Şekil 9. 5F-NPB-22 kimyasal yapısı

2.4.3. Sentetik Kannabinoidlerin Farmokokinetiği

SC'lerin kötüye kullanma potansiyelini değerlendirmede bağlanma afinitesi (K_i), yararlı bir gösterge sağlayabilir. Bazı SC'lerin K_i değerleri deneysel olarak ölçülmüştür ve literatürde yayınlanmıştır⁵³. Bir ilacın spesifik bağlanma afinitesi (K_i) Chen-Prousoff denklemi yardımıyla maksimum inhibisyonun %50'sini oluşturan ilaç konsantrasyon (IC_{50}) değeri belirlenerek hesaplanabilir.

$$K_i = IC_{50} / (1 + [L] / K_d)$$

[L], deneyde kullanılan radyoaktif ligand konsantrasyonu ve K_d , ligand için ayrışma sabitidir. Günümüzde ilgi uyandıran bazı sentetik kanabinoidler için bağlanma afiniteleri yayınlanmıştır. Bir maddenin K_i 'si ne kadar düşükse reseptöre o kadar sıkı bağlanır. Bağlanma afinitesi, sentetik bir kannabinoidin istismar potansiyelinin değerlendirilmesi için önemli bir gösterge olmasına rağmen, CB1 reseptöründeki etkililiğini ve potensini de değerlendirmek gerekir. Etkinlik, bir ilacın reseptör bağlanmasına dayandırabileceği maksimum biyolojik etkidir. İlacın potensi ise öncül bir biyolojik etki elde etmek için gereken ölçümüdür⁵⁴.

Sentetik kannabinoidler kimyasal yapısı bakımından THC'ye benzemez fakat kannabinoid reseptörlerine bağlandıklarından kannabimimetik etki gösterirler ve THC'ye göre kannabinoid reseptörlerine bağlanma afinitesi yaklaşık 100-800 kat daha fazladır³⁵. In vitro araştırmalarda, bazı SC'lerin afinite sabiti (K_i) ölçüldüğünde kannabinoid reseptörlerine (çoğunlukla CB1) THC'den daha hevesli bir şekilde bağlandığı ve etkisinin doza bağlı olarak daha güçlü bir yanıt ürettiği bulunmuştur^{55,56}.

Maddelerin farmakokinetiği, maddenin vücuda absorbe edilmesi, dağılımı, metabolizması ve atılımını içermektedir. SC bileşiklerinin emilimi ve dağılımı hakkında sadece birkaç çalışma bulunmaktadır. SC'ler THC gibi lipofilik maddelerdir⁴⁴. Teneffüs edildikten sonra, SC'ler akciğerler yoluyla absorbe edilir ve hızla yağ dokusuna yayılır ve birikebilir, bu da uygulama sonrasında kandaki ana ilaç konsantrasyonunun hızlı bir şekilde azalmasına neden olur. Saito ve ark. yüksek lipofilisitesinden dolayı yağ dokusunda MAM-2201 gibi bazı SC'lerin birikiminin olduğunu bildirmişlerdir^{57,58}. SC'ler, kan beyin bariyerini aşabilir ve beyin dokularında birikebilir⁵⁹.

SC'leri içeren Spice ürünleri piyasaya sürülürken, bu bileşiklerin metabolizma yolları genel olarak bilinmemektedir⁶⁰. Bu nedenle, bu ürünlerin istismarını göstermek için muhtemel idrar belirteçlerini tanımlamak gerekmektedir. SC'lerin metabolizması üzerine yapılan çalışmaların çoğu insan veya sıçan karaciğeri mikrozomlarında kullanılan modeller ile bu maddelerin metabolizma yollarını belirlemektedir⁶¹⁻⁶⁹.

Genellikle, metabolizma çalışmaları SC'lerin kolayca metabolize edildiğini ve geniş metabolizma yollarına sahip olduğunu göstermiştir. Örneğin; Naftoilindol bileşiklerinin en yaygın metabolik yolu; indol, alkil ve naftil alt yapılarındaki hidroksilasyondur. Naftil grubunda karboksilasyon, N-dealkilasyon ve dihidrodiol oluşumu da gözlenmiştir^{63,70}. Pentanoik asit metabolitleri genellikle florürlü analoglar tarafından tercih edilir. 5F-PB-22 baskın metabolik yolu ester hidrolizidir⁶¹. SC'lerin metabolitleri esas olarak idrarda glukuronid veya sülfat konjugatları olarak atılır. Monohidroksile edilmiş ve karboksilatlanmış metabolitlerin idrarda en yüksek miktarlarda olduğu bulunmuştur⁵⁰.

SC'lerin dünya pazarında ortaya çıkışı ve yayılmasının hızı nedeniyle bu maddelerin farmakokinetik özelliklerinin araştırılması çok önemlidir.

2.4.4. Sentetik Kannabinoidlerin Toksisitesi

Sentetik kannabinoidler oral veya intravenöz olarak da tüketilebilmesine rağmen genellikle bir mafsallık, kase veya su borusuyla tütürülür. Akut etkileri ruh halinde değişiklik, taşikardi ve konjaktiva enjeksiyonu dahil esrarın etkilerine benzer. İnhalasyondan sonra 10 dakika içerisinde etkileri başlar ve çoğu etkisi kullanımdan 2-6 saat sonra kaybolur⁷¹. 0,3 g'lık doz inhale edildiğinde etkisinin 10 dakika içerisinde meydana geldiği ve kavrama bozukluğunu başlattığı, algı ve ruh halinde değişimler meydana getirdiği kaydedilmiştir⁷².

Akut toksisite ortak bulgudur ve sık sık anksiyete, ajitasyon, psikoz, taşikardi gibi ciddi olan psikiyatrik ve tıbbi etkileri bir arada gösterir⁷³⁻⁷⁵. Klinisyenler akut nöropsikiyatrik şikayetler gösteren bir kişide bu maddelerin değerlendirilmesi gerektiğini akıllarında bulundurmalıdır. Dudak kuruluğu, baş dönmesi ve baş ağrısı kaydedilen fizyolojik yan etkileridir^{76,77}. İstenmeyen diğer etkileri terleme, titreme,

distoni ve solunum güçlüdür⁷⁸. Sentetik kannabinoidler ile ilişkili acil tedavi gerektiren ciddi toksisite durumları akut böbrek yetmezliğini, nöbetleri ve miyokardiyal enfarktüsü içerir⁷⁹⁻⁸⁴. Ayrıca sentetik kannabinoid kullanımı ölüme de sebebiyet verebilir^{85,86}.

Esrara alternatif olarak gösterilen bu maddelere dünya çapında ilginin artması hastalık ve ölüm oranlarını da arttırmaya devam edecektir⁸⁷.

2.4.5. Bitkisel Üründe Toksikolojik Analiz

Sentetik kannabinoidler çeşitli fonksiyonel grupları içermektedir. SC taşıyıcısı olarak kullanılan bitkisel ürüne genel bir ekstraksiyon yöntemi uygulamak gerekir. Ancak bu maddelerin yapısal benzerlikleri ve izomerik formlarından dolayı benzer veya üst üste çakışan kütle spektrumları görülür. Bu nedenle matriksin yapısında eser miktarda bulunabilir⁸⁸.

Sentetik kannabinoid emdirilen bitkisel ürün öncelikle homojen hale getirilmelidir. Ancak bitkisel ürünün yumuşak ve hafif olmasından dolayı homojen hale getirmek zor olabilir. Bitki öğütücü, elektrikli öğütücü, bilye ve havan gibi çeşitli homojenizasyon aletleri denenmiş ve şaşırtıcı bir şekilde hiçbirini kabul edilebilir sonuçlar üretmemiştir. Onun yerine en etkili metot bitki materyalini incecik toz haline gelene kadar zımpara kağıdı ile öğütmektir⁸⁹.

Homojenize edilen örnek bir asit veya baz ile kombine ekstraksiyon ya da metanol ile inkübe edilir. Literatürde genellikle bitkisel ürün tartıldıktan sonra metanol, asetonitril, etanol ya da asetonitril: metanol (1:1 v/v) ile inkübe edilmiştir⁹⁰⁻⁹⁴. Bu yöntemlerde yeterli miktardaki matriksi ekstrakte ederek çoklu pike sahip olan bir kromatogram oluşacaktır.

2.4.6. Biyolojik Örneklerde Toksikolojik Analiz Yöntemleri

Kan, idrar ve saç vb. biyolojik örnekler kütle spektrometresi sinyallerine ve ayrımlara girişim yapabilen pek çok bileşeni içermektedir. Biyolojik bir örneği analitik incelemeye uygun hale getirebilmek için numune hazırlama basamağının temel parçası olan ekstraksiyon işlemini uygulamak gerekir. Bu işlem ile kromatografide arka plan

gürültü oluşumuna neden olan matris bileşiklerini (proteinler, tuzlar ve fosfolipidler gibi) ortadan kaldırır, hedef ilaçları yoğunlaştırır, hassasiyeti artırır ve tespit limitini artırır⁹⁵. Analit ayırımında en yaygın yaklaşım analitin ve girişimlerin iki faz arasında dağıldığı iki fazlı bir sistemi içerir. Hedef maddenin sıvı bir solvent ile katı veya sıvı karışımdan geri çekilmesidir. Dağılım denge sürecidir ve tersine çevrilebilir.

Bir karışımdan istenen bileşenlerin izole edilmesi için en kullanışlı tekniklerin biri sıvı-sıvı ekstraksiyon'dur (LLE). LLE, karışımı iki karışmayan çözücü kullanarak ayırmak için kullanılan bir yöntemdir. Birçok LLE'de fazlardan biri sulu, diğeri karışmayan organik bir çözücüdür. Bu teknikte örnek bir fazın diğesine karışmayan iki safhada dağıtılır. LLE, analitleri, karışmayan iki sıvı veya faz arasında bölünerek analitlerle parazitleri ayırır. Önce, bileşen karışımı uygun bir çözücü içerisinde çözündürülür ve birinci çözücü ile karışmayan ikinci bir çözücü eklenir. Ardından, içerikler iyice karıştırılır (çalkalanır) ve karışmayan iki çözücü katmanlara ayrılmaya bırakılmıştır. Sıvı-sıvı ekstraksiyon hızlı, ucuz ve etkili olmasına rağmen solvent tüketimi fazladır⁹⁶.

Katı-sıvı ekstraksiyonda (SPE) katı içinde bulunan madde bu maddeyi büyük ölçüde çözebilen bir sıvı yardımıyla alınır. Toksikolojik olarak ilişkili madde çözücünün seçimine dayanan hidrofobik, hidrofilik, aromatik veya elektrostatik etkileşim aracılığıyla elde edilir. SPE'de analitler yıkama ve elüsyon adımlarını takiben katı sorbente emilerek örnekten alınır. Bu işlem basamaklarının her biri istenen maddelerin tutunma ve serbest bırakma mekanizması üzerinedir. SPE için pek çok yöntem geliştirilmesine rağmen LLE kadar basit değildir ancak bu tekniğin cazip avantajlar sunar. SPE'nin yüksek ekstraksiyon verimliliğinden dolayı solvent tüketimini azaltan çok küçük örnek miktarı bile yeterli olmaktadır. Ayrıca emülsiyon oluşumu yoktur⁹⁶.

Ekstraksiyon numune ayırma işlemi olarak kullanılırken Gaz kromatografi (GC) ve Likit kromatografi (LC) gibi analitik yöntemler maddeyi tespit etmek için kullanılır.

Gaz kromatografisi kütle spektrometresi ile birleştiğinde gıdada, su kirleticilerinin tayininde, ilaç ve uyutucu-uyuşturucu maddelerinin ve metabolitlerinin tespitinde kullanışlı bir tekniktir. Gaz Kromatografi analitin gaz haldeki hareketli faz ile bir katının yüzeyine tutturulmuş durgun sıvı faz arasında dağılımı üzerine kurulmuştur. Bir GC cihazının ana bileşenleri taşıyıcı gaz, enjektör ve kolondur. Gaz kromatografide

numune buharlaştırılır ve kromatografik kolonun girişine enjekte edilir. Hareketli gaz fazı ile ayırım yapılır. İnert olması gereken taşıyıcı gaz genelde helyum, hidrojen veya azottur. Gaz seçimi kullanılan dedektörün tipine göre yapılmaktadır. Gaz kromatografi ile kullanılan en basit kütle dedektörü iyon-tuzaklı dedektörlerdir. Bu dedektörde kolondan gelen gaz elektron bombardımanı veya kimyasal iyonlaşma ile iyonlaştırılır ve radyo frekans manyetik alanında depolanır. Tutulan iyonlar kütle/yük oranına göre taranır⁹⁷. Bir amino veya hidroksil grubu gibi fonksiyonel bir gruba sahip pek çok bileşik, kolon sabit fazı arasında polar bir etkileşime neden olabilir. Bu da kötü bir kromatografiye ve analitin saptanamamasına yol açar. Bu problemlerin üstesinden gelmek için ekstraksiyon işleminden sonra bir türevlendirme işlemi eklenmelidir. Türevlendirme molekülün fonksiyonel gruplarını ve kimyasal özelliklerini değiştirerek onları sabit faz ile daha az etkili hale getirir ve daha kararlı bileşikler oluşur. Türevlendirme ayrıca kütle spektrumunu, pikin şeklini, hassasiyetini ve özgünlüğü geliştirebilir. Polar bileşiklerin kuyruklanmasını azaltabilir. Buharlaşmayı ve iyonlaşmayı artırarak daha iyi kromatogramlar elde edilmesini sağlar.

Sıvı kromatografi tekniğinde hareketli faz sıvı olup yaygın olarak kullanılan analitik yöntemler arasındadır. Yöntemin duyarlılığının iyi olması, uçucu olmayan türlerin veya sıcaklıkla kolayca bozunabilen türlerin ayrılmasına uygun olması bu yöntemi cazip kılmaktadır. Aminoasitler, proteinler, nükleik asitler, hidrokarbonlar, karbonhidratlar, ilaçlar, pestisitler, antibiyotikler, steroidler, metal-organik türler ve çeşitli inorganik bileşiklerin analizi yapılabilir⁹⁷. LC'de bir hareketli faz (mobil faz), pompa, örnekleyici ve kolondan oluşmaktadır. Mobil faz bileşiklerin ayrılması ve iyonlaşması için önemli bir bileşendir. Genellikle sulu faz ve organik faz olmak üzere iki kısımdan oluşur. SC analizlerinde, çoğu LC-MS yönteminde olduğu gibi, mobil fazın organik çözücüsü için metanol veya asetonitril yaygın olarak kullanılır. Asetik asit, formik asit veya tuzları çoğunlukla tampon katkı maddeleri olarak seçilir. Mobil fazda tamponlar bileşikleri iyonlaştırmak için kullanılır. Kolon LC'nin önemli bir bileşenidir, çünkü analitler kolondan geçtiği sürece ayırım iyi gerçekleşir. Bir kolonun gözenek yapısı, yüzey özelliği ve parçacık şekli ayırımın iyi olmasına yardım ettiğinden kolonlar modifiye edilmiş silika jeli ile doldurulur. Sentetik kannabinoid ve metabolitlerinin ayrılmasında C18 kolonlar kullanılmaktadır. LC/MS için kuadrapol, uçuş zamanlı ve iyon tuzaklı olmak üzere pek çok kütle analizörü vardır. LC/MS, HR

LC/MS, LC/QTOF-MS ile yeni çıkan sentetik kannabinoidler ve onların metabolitlerinin olası yapılarının tespiti yapılmaktadır⁹⁸⁻¹⁰⁶. LC-MS/MS ile sentetik kannabinoid analizleri için kalitatif ve kantitatif metotlar geliştirilmiştir¹⁰⁷⁻¹⁰⁸.

Literatürde modern analitik tekniklerle farklı biyolojik örneklerde sentetik kannabinoid ve metabolitlerini tespiti ile ilgili pek çok çalışma yer almaktadır¹⁰⁹. Sentetik kannabinoid ekstraksiyonunda solvent olarak n-hekzan: etilasetat (99:1), terbütilmetileter (MTBE), klorobütan, izopropanol, metanol, klorobütan: isopropanol karışımı (7:3) kullanılırken saçta Salomone ve ark. sadece diklorometan ve n-hekzan: etilasetat (9:1) karışımını kullanmışlardır¹¹⁰⁻¹²¹.



3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmanın deneysel bir hayvan çalışması olması nedeniyle Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (Etik Kurul Onay No: sayı: 6, Tarih: 2 Mayıs 2013). Ayrıca bu çalışmanın gerçekleştirilebilmesi için Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi bütçesinden TF2013D5 no'lu proje ile parasal destek sağlanmıştır.

Yasal esrar olarak reklamı yapılan “*Bonzai*” bitkisel ürünü Emniyet Müdürlüğü Kriminal Daire Başkanlığı'ndan temin edilmiştir. “*Bonzai*” içeriğinde bulunan sentetik kannabinoid türü GC/MS ile belirlenmiştir. Sıçanların kan, idrar ve organ gibi biyolojik örneklerinde LC/MSMS ile sentetik kannabinoid taraması yapılmıştır.

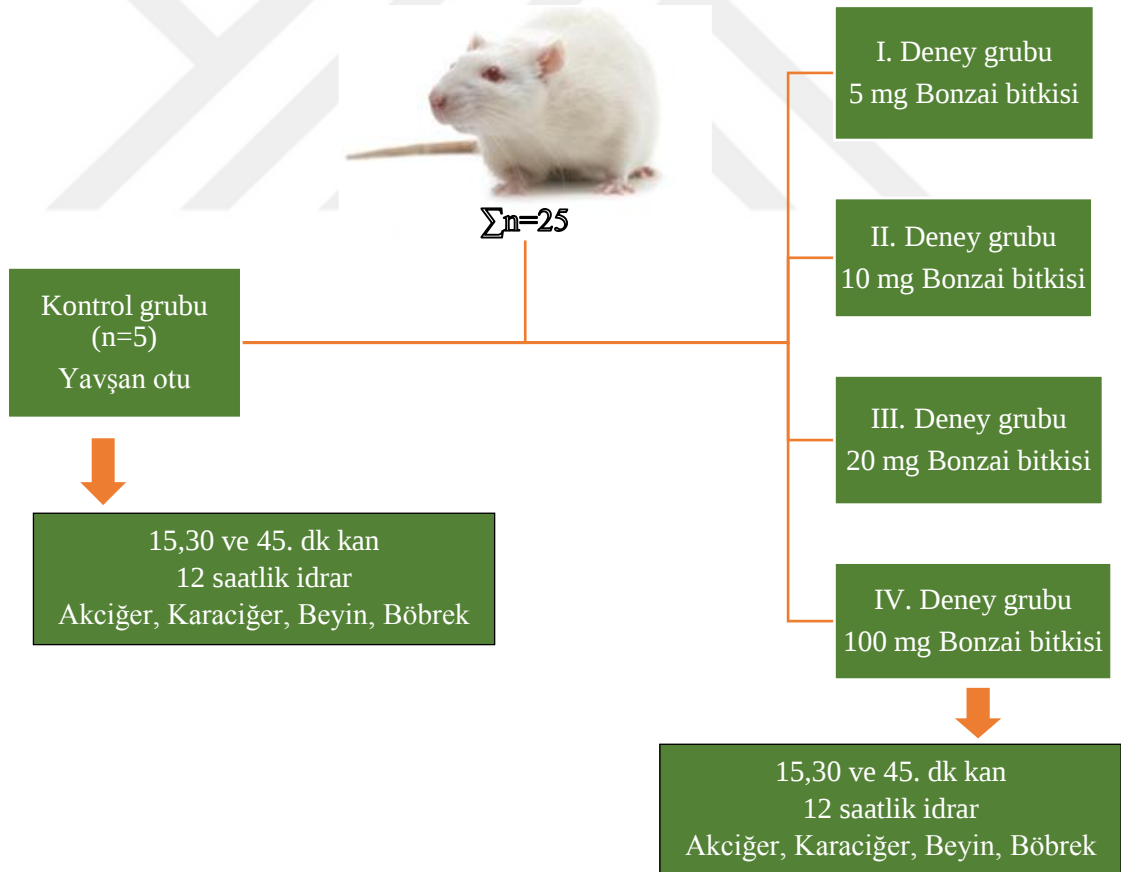


Şekil 10. Sigara gibi sarılan solutulacak bitkisel ürün

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda deney hayvanı olarak 200-250 g ağırlığında 25 adet Wistar albino türü sıçan kullanıldı. Sıçanlara ihtiyaçları kadar yiyecek ve içecek verildi. Laboratuvar oda sıcaklığında (23 ± 1 °C) ve 12 saat aydınlık – karanlık siklusun olacağı şekilde ayarlandı.

Sıçanlar 4 araştırma ve 1 kontrol olmak üzere 5 gruba (n=5) ayrıldı. Bitkisel ürünün dozları ve kontrol grubu farklı günlerde ve rasgele dozlarda çalışılarak sıçanlara tek tek özel olarak hazırlanmış dumanlama düzeneği ile solutuldu. Kontrol grubuna yavşan otu, birinci gruba 5 mg, ikinci gruba 10 mg, üçüncü gruba 20 mg ve dördüncü gruba 100 mg bitkisel ürün yavşan otu ile karıştırılarak sigara gibi verildi. Bitkisel ürün tamamen tükenene kadar (3-5 dakika) sıçanlar dumana maruz bırakıldı.



Şekil 11. Deneysel diyagram

Tek tek inhalasyon işlemi yapılan her bir sıçanın kuyruk venine katater takılarak 15, 30 ve 45. dakikalarda alınan kan örnekleri heparinli tüplerde analize kadar -20°C’de muhafaza edildi. Sentetik kannabinoid metabolitlerinin tespiti için sıçanlar metabolik kafese alındı ve 12 saatlik idrar örnekleri toplandı. Kan ve idrar örneklerinin toplanmasından sonra sıçanlar dekapite edilerek akciğer, karaciğer, böbrek ve beyin dokuları toplandı ve analize kadar -20°C’de buzdolabında muhafaza edildi.

3.2. İnhalasyon Düzeneği

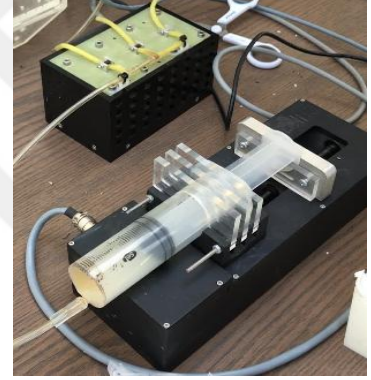
Dumana maruz bırakma işlemi literatürde tanımlanan sistem referans alınarak yapılmıştır¹²². Dumanlama için kullanılan düzenek, 3 litre aktif hacme sahip olup içerisine sıçanların koyulabileceği 10x15x20 cm ölçülerinde çekmeceli bir kutu yer almaktadır. Kutu içerisine yerleştirilen denek, kafes içerisine yerleştirildiğinde dış ortamdan atmosferik olarak izole edilmiş oldu. Yakılan bitkisel ürünün puflamasında sistemde bulunan enjektör tipi dozimat kullanıldı. Bu dozimat sayesinde her bir puf kafes çatısında bulunan fan yardımıyla homojen olarak kafese dağılmıştır. Her bir puf hacmi 0-50 ml aralığında ayarlanabilmiş ve gerek duyulması halinde 50 ml hacme kadar hava ile seyreltilebilmiştir. Dozimat; kafes (iç fan) ve gaz yıkayıcı sistemle 0-99 sn aralığında ayarlanabilecek şekilde senkronize edildi ve böylece dumanlama aralarında sıçanların temiz hava almaları sağlanmıştır. Sistemin temiz hava girişi ise kafes altında yer alan tek yönlü olarak hava geçiren deliklerle sağlanmıştır. Sistemde yer alan vakumlu gaz yıkama sistemi atık dumanı %10’luk NaOH çözeltisi içinde yıkayacak şekilde tasarlanmıştır. Deney düzeneğinde bir başka duman çıkışı ise enjektör tipi dozimata bağlı bulunan ve içerisinde bitki materyalinin yakıldığı pipo’dur. Bu noktadan çıkan dumanın azlığı düşünülerek oluşacak duman su trombu kullanılarak yıkanmıştır.



Kafes



Sigara yakma kısmı



Dozimater

Şekil 12. İnhalasyon düzeneği ve aşamaları



Şekil 13. Bitkisel ürünün yavşan otu ile karıştırılarak sigara gibi sarılma işlemi

3.3. Deneyde Kullanılan Malzemeler

3.3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

5F-NPB-22 standardı (Chiron, reference standards)

AB-FUBINACA, AB-FUBINACA 2A metaboliti, AB-FUBINACA 2B metaboliti (Cayman chemical, reference standards)

JWH-073-d7 internal standart (Cayman chemical, reference standards)

thccooH-d3 internal standart (Cayman chemical, reference standards)

β -glucuronidase (Sigma Aldrich, 463000 units/g solid)

Amonyum Format (Sigma Aldrich)

Asetonitril (Merck)

Etil asetat (Merck)

Metanol (Merck)

Ultra saf su (Merck)

0.1 M pH:10 KH_2PO_4 tamponu

0.1 M pH:6.5-7 KH_2PO_4 tamponu

3.3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

Gaz-Kromatografi/ Kütle Spektrometresi (Agilent 6890N GC, 5973 MS)

Likit Kromatografi/ Tandem Kütle Spektrometresi (Shimadzu, LC Nexera XR, 8040 MS)

Santrifüj (6000 devir/dk- Centurion Scientific Limited)

Vorteks (Velp Scientifica)

Hassas terazi (Mettler Toledo)

Ultrasonikatör (Bandelin Sonorex)

Karıştırıcı (IKA labortech)

Blok ısıtıcılı azot evaporatör (MD 200 Sample concentrator)

Katı-sıvı ekstraksiyon manifoldu (Biotage)

HLB ekstraksiyon kartuşu (3cc 60 mg, Waters)

Cam tüp (10 ml'lik)

Pastör pipeti

Enjektör

Membran filtre (0.22µm PTFE, Shimadzu)

Mezür

Balon joje

Vial ve vial kapağı

Cam insert

3.4. Örneklerin Hazırlanması ve Ekstraksiyon İşlemi

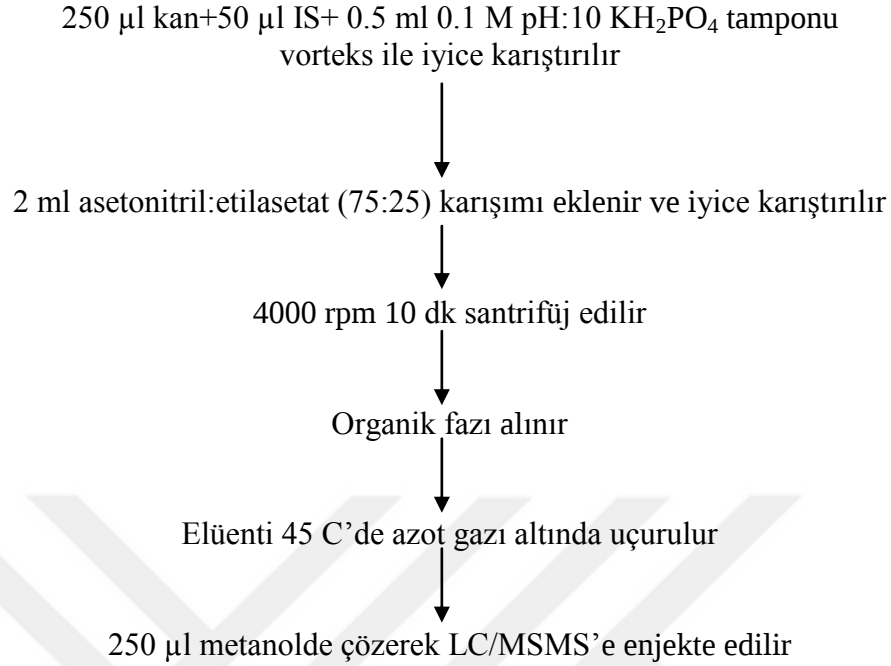
3.4.1. Bitkisel Ürünün Ekstraksiyonu

Emniyet Müdürlüğü Kriminal Daire Başkanlığı’ndan alınan ve piyasada “*Bonzai*” adı altında satılan yeşil toz renkli bitkisel üründen 50 mg tartılıp üzerine 5 ml metanol eklenerek karıştırıcı vasıtasıyla 72 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra 0.22 µm membran filtre ile süzülerek GC/MS’e enjekte edildi.

3.4.2. Kan ve İdrar Örneklerinin Ekstraksiyonu

Kan örneklerinin hazırlanmasında sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi seçildi. Analize kadar -20°C’de Vacutainer B-D tüpünde muhafaza edilen kan örneklerinden 250’şer µl tüm kan alınarak cam tüplere koyuldu. Üzerlerine jwh-073-d7 (0.5 ng/ml, IS), 2 ml asetonitril:etil asetat (75:25) ve 0.5 ml 0.1 M pH:10 fosfat tamponu eklendi. Bu karışım iyice karıştırıldıktan sonra 4000 rpm’de 10 dk. santrifüj edildi. Ayrılan organik faz, pastör pipeti ile başka bir tüpe alınarak 45 °C’de azot gazı altında uçuruldu. Örnekler 250 µl metanol içerisinde çözülerek cam insert’e koyulup LC/MSMS’e enjekte edildi. Kan örneklerinin ekstraksiyon algoritması Şekil 14’de gösterilmektedir.

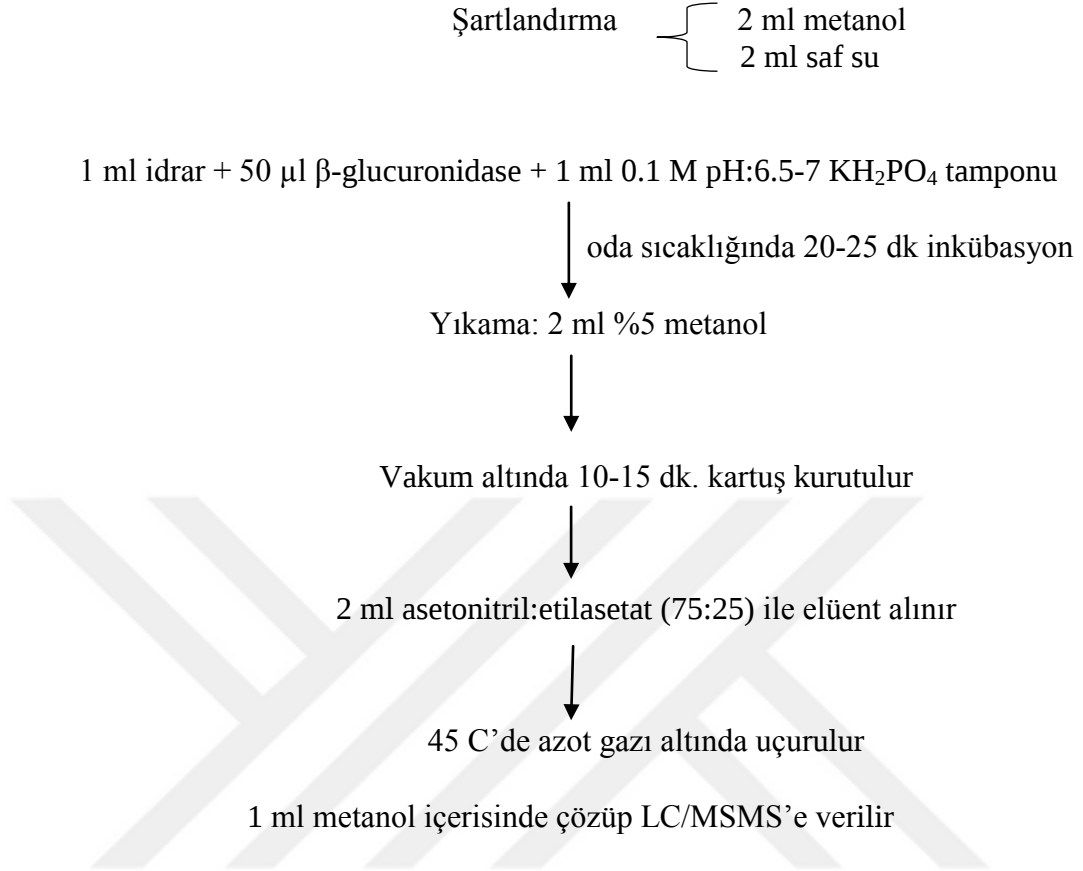
Kan Ekstraksiyonu



Şekil 14. Kan örneklerinin ekstraksiyon algoritması

İdrar örneklerinin hazırlanmasında HLB kartuş ile katı-sıvı ekstraksiyon yöntemi yapıldı. 24 saatlik idrar örneklerinden 1 ml alındı. İdrarda enzimatik hidroliz için üzerine 50 µl β-glucuronidase (10.000u/ml) ve 1 ml 0.1 M pH:6.5-7 fosfat tamponu eklenerek oda sıcaklığında 20-25 dk. inkübasyona bırakıldı. HLB kartuş sırasıyla 2 ml metanol ve 2 ml saf su ile şartlandırıldı. Örnek kartuşa yüklenerek kartuştan kendi akış hızında geçmesi sağlandı. Örnek kartuştan geçtikten sonra 2 ml %5'lik metanol ile yıkama yapıldı. Kartuş vakum altında 10-15 dk. kurutulduktan sonra elüent 2 ml asetonitril:etilasetat (75:25) karışımı ile alındı. Alınan elüent 45°C'de azot gazı altında uçurulduktan sonra 1 ml metanol içerisinde çözüldü. Son olarak membran filtreden geçirilen bu karışım vialle koyulup LC/MSMS'e enjekte edildi. İdrar örneklerinin ekstraksiyon algoritması Şekil 15'de gösterilmektedir.

OASIS HLB (3cc 60 mg) ile İdrar Ekstraksiyonu



Şekil 15. İdrar örneklerinin ekstraksiyon algoritması

3.4.3. Organ Örneklerinin Ekstraksiyonu

Analize kadar -20°C’de plastik kaplarda saklanan akciğer, karaciğer, böbrek ve beyin dokularından 1’er gram tartılarak üzerine 4 ml 0.1 M pH:10 fosfat tamponu eklenerek homojenizatör ile parçalandı. Homojenizattan düz cam tüpe 1 ml alınarak üzerine internal standart (4 ng/g) ve 0.5 ml 0.1 M pH:10 fosfat tamponu eklendi. Vorteks ile karıştırıldıktan sonra 2 ml asetonitril:etilasetat (75:25) karışımı eklenerek tekrar iyice karıştırıldı. 4000 rpm’de 10 dk. santrifüj edildikten sonra alınan üst faz 45°C’de azot gazı altında uçuruldu. Elüent, 1 ml metanol içerisinde çözüldükten sonra membran filtreden geçirilerek LC/MSMS’e enjekte edilir. İdrar örneklerinin ekstraksiyon algoritması Şekil 16’da gösterilmektedir.

Organ Ekstraksiyonu

Homojenizasyon: 1 gram organ + 4 ml 0.1 M pH: 10 KH_2PO_4 tamponu

1 ml homojenizat + IS (4 ng/g) + 0.5 ml 0.1 M pH: 10 KH_2PO_4 tamponu

↓ Vorteksle

2 ml asetonitril:etilasetat (75:25) karışımı eklenir

↓ 4000 rpm 10 dk santrifüj edilir

Organik fazı alıp 45 C'de azot gazı altında uçurulur

↓

Elüenti 1 ml metanolde çözüp LC/MSMS'e verilir

Şekil 16. Organ örneklerinin ekstraksiyon algoritması

3.5. Cihaz Parametreleri

3.5.1. GC/MS Çalışma Şartları

Bitkisel ürün içeriğindeki maddenin tespiti Hewlett-Packard 5973 kütle seçici dedektörle eşleşmiş 6890 N Agilent marka gaz kromatografisi cihazı ile yapıldı. 50 ve 550 atomik kütle birimi arasında tarama yapıldı. Cihaz parametreleri;

- Kolon: HP-5MS %5 phenylmethyl siloxane 30.0 m x 250 μm x 0.25 μm kapiler kolon
- Taşıyıcı gaz: Helyum 1 ml/dk
- Inlet: Split 1:10
- Fırın sıcaklığı: 50°
- Dedektör sıcaklığı: 280°C
- Enjeksiyon sıcaklığı ve hacmi: 300°C ve 1 μl

Sıcaklık Programı; 50°C'den 10°C'lik artışlarla 300 °C'de 5 dk tutulur. Toplam analiz süresi 32 dakikadır.



Şekil 17. GC/MSMS cihazı

3.5.2. LC/MSMS Çalışma Şartları

Çalışmada kan, idrar ve organ gibi biyolojik örneklerin hazırlanmasından sonra elde edilen numunelerin analizi Shimadzu marka LC Nexera 8040 MS cihazı ile yapıldı.



Şekil 18. LC/MSMS cihazı

- Kolon: Restek Allure PFPP 5 μ m 50x2.1 mm
- İyon Kaynağı: Elektro spray ionization (ESI)
- Gaz Akışı: 0.4 ml/dk
- Fırın Sıcaklığı: 40°C
- DL Sıcaklığı: 250°C
- Heat Block Sıcaklığı: 400 °C
- Dedektör Voltajı: 1.88 kV
- Interface Voltajı: 4.5 kV
- Nebulizing gaz: 3L/dk
- Gradient Programı: Binary gradient
- Enjeksiyon hacmi: 20 μ l
- Analiz Süresi: 20 dk
- Mobil Faz A: 1 litre ultra saf su içerisinde 10mM Amonyum Format
- Mobil Faz B: Metanol
- İğne yıkama: Metanol:Su (50:50 v/v)

Tablo 2. LC/MSMS Gradient Programı

Zaman (dk)	Akış (Mobil Faz)	%
10.00	Pump B Conc.	95
15.00	Pump B Conc.	95
15.01	Pump B Conc.	5
20.00	Stop	

Bitkisel üründe tespit ettiğimiz maddeler LC/MSMS kütüphanesinde olmadığından bu maddelerin ve metabolitlerinin referans maddeleri cihaza tanıtılarak optimizasyon yapıldı. Bu maddeler için MRM (Multiple Reaction Monitoring) modu kullanıldı. Bu maddeler LC/MSMS’de pozitif modda tespit edildi.

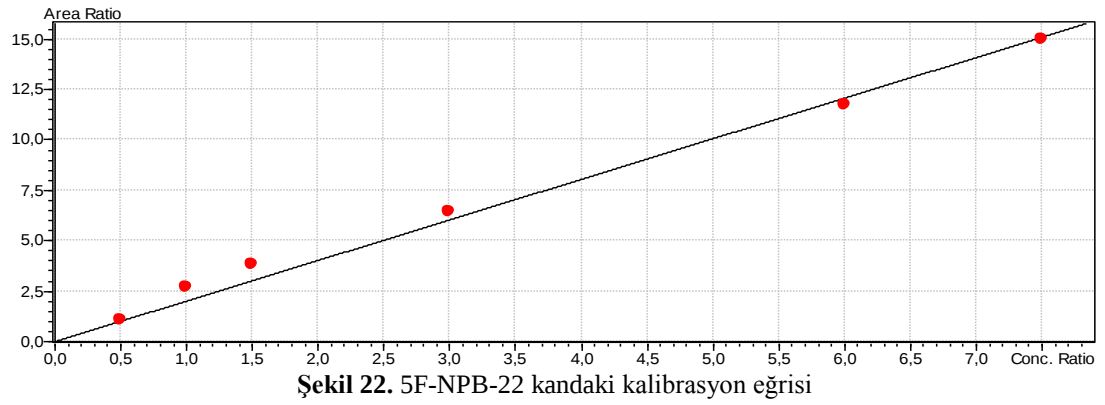
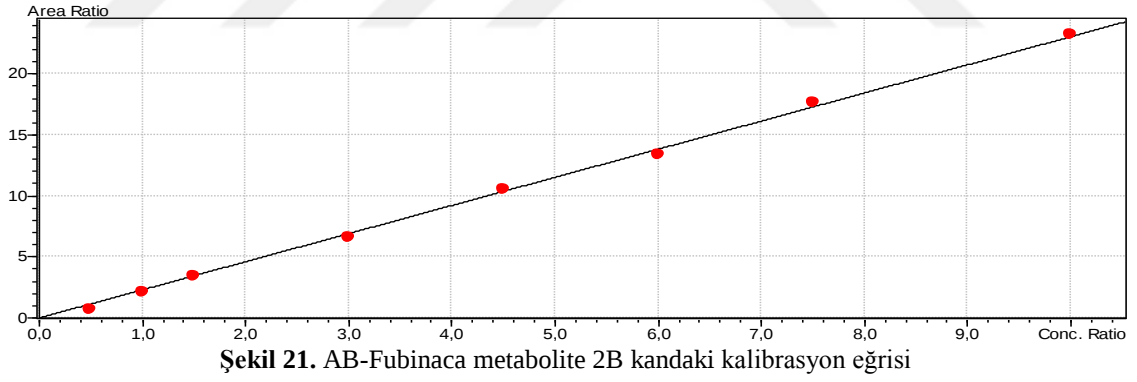
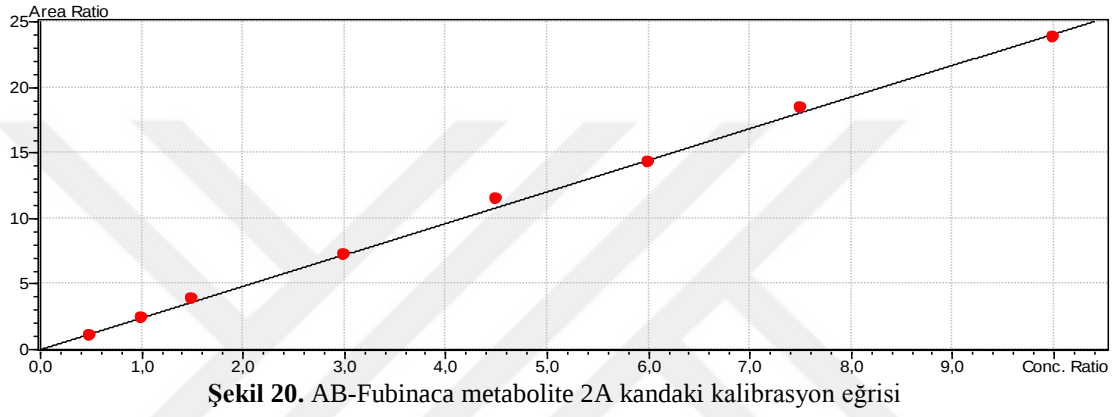
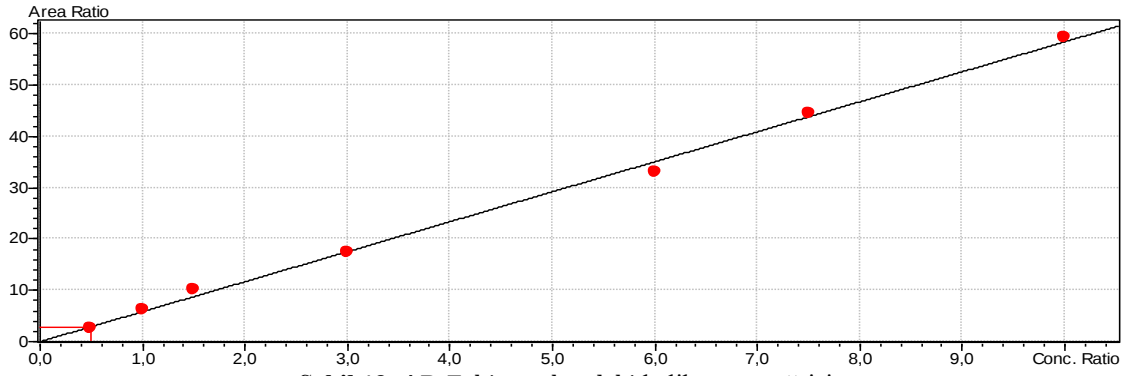
Tablo 3. LC/MSMS Cihazında Analizi Yapılan Maddelerin ve Metabolitlerinin MRM Değerleri

Compound (Maddeler)	Product ion (m/z) → Precursor ion (m/z)	RT (dk)	Q1 (V)	CE(V)	Q3(V)
AB- Fubinaca	369.20 → 109.05 253.20	8.70	-13 -13	-46 -25	-20 -25
AB-Fubinaca metabolite 2A	399.20 → 253.10 109.10	6.38	-14 -14	-25 -47	-26 -20
AB-Fubinaca metabolite 2B	399.25 → 253.10 109.00	6.36	-14 -14	-26 -45	-26 -18
5F-NPB-22	378.05 → 233.10 213.10	9.44	-18 -18	-18 -26	-24 -22
Δ9-THC	315.20 → 259.10 233.05	10.38	-21 -21	-22 -21	-28 -24
THC-COOH	345.00 → 193.00 299.00	8.57	-16 -17	-27 -20	-19 -20
jwh-073-d7	335.10 → 127.10 155.05	10.42	-17 -12	-47 -26	-24 -29

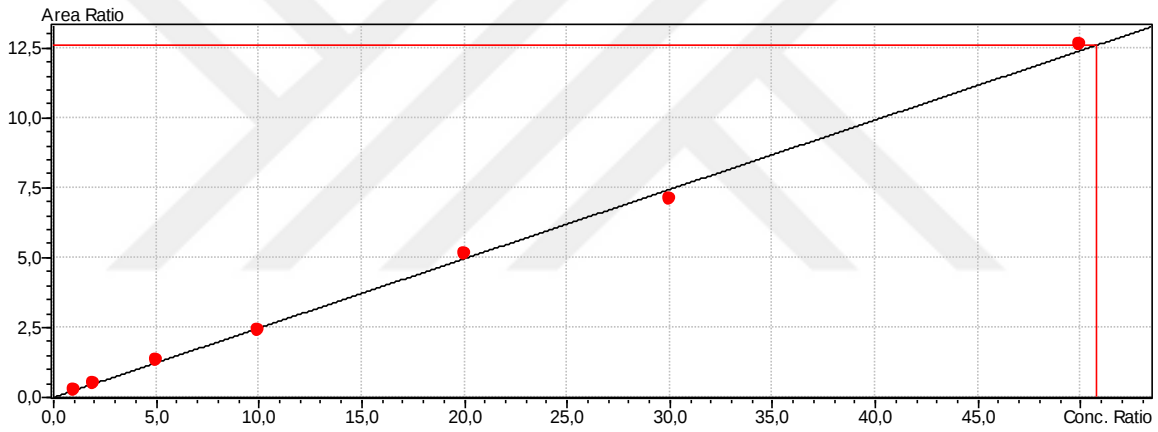
3.6. Kalibrasyon Eğrisinin Hazırlanması

Kalibrasyon eğrisi kan, idrar, organ ve bitki örneği için çizildi. AB-Fubinaca, AB-Fubinaca metabolite 2A, AB Fubinaca metabolite 2B, 5F-NPB-22, Δ9-THC maddelerinden oluşan 10 ng/ml, 100 ng/ml ve 1000 ng/ml stok çözelti hazırlandı.

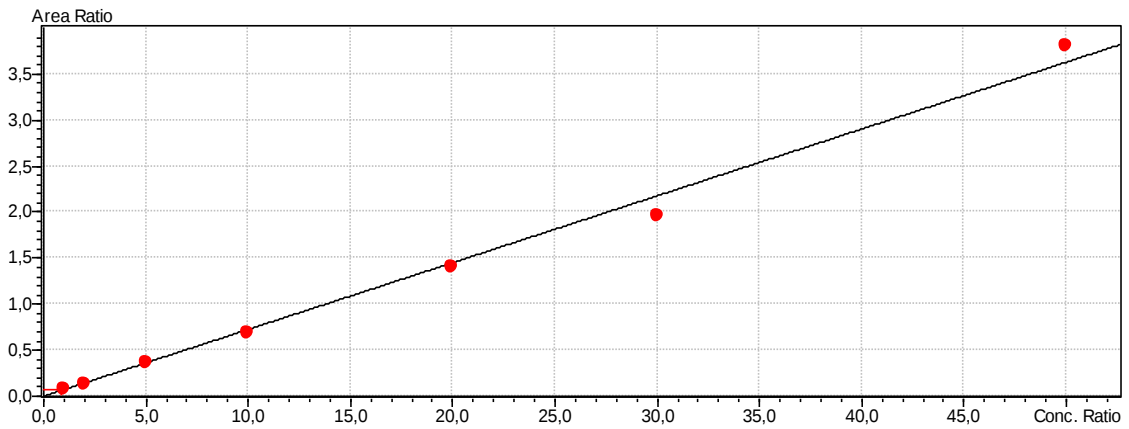
Kan kalibrasyon eğrisi için negatif kana kalibrasyon noktaları 0.5, 1, 1.5, 3, 4.5, 6, 7.5 ve 10 ng/ml olacak şekilde stok çözümden ve 0.5 ng/ml konsantrasyonda jwh-073-d7 internal standarttan eklendi. AB-Fubinaca, AB-Fubinaca metabolite 2A, AB-Fubinaca metabolite 2B ve 5F-NPB-22 maddelerinin korelasyon katsayısı sırasıyla 0.997, 0.998, 0.999 ve 0.996'dır. AB-Fubinaca, AB-Fubinaca metabolite 2A, AB-Fubinaca metabolite 2B ve 5F-NPB-22 maddelerinin kandaki tespit limiti (LOD) sırasıyla 0.27, 0.04, 0.04 ve 0.11 ng/ml; hesaplama limiti (LOQ) ise 0.81, 0.12, 0.11, ve 0.32 ng/ml'dir. Ekstraksiyon geri kazanımı AB-Fubinaca, AB-Fubinaca metabolite 2A, AB-Fubinaca metabolite 2B ve 5F-NPB-22 için sırasıyla % 80, 70, 72 ve 103 bulunmuştur. Şekil 19, 20, 21 ve 22'de Ab-Fubinaca, AB-Fubinaca metabolite 2A, AB-Fubinaca metabolite 2B ve 5F-NPB-22 maddelerinin kalibrasyon eğrileri verilmiştir.



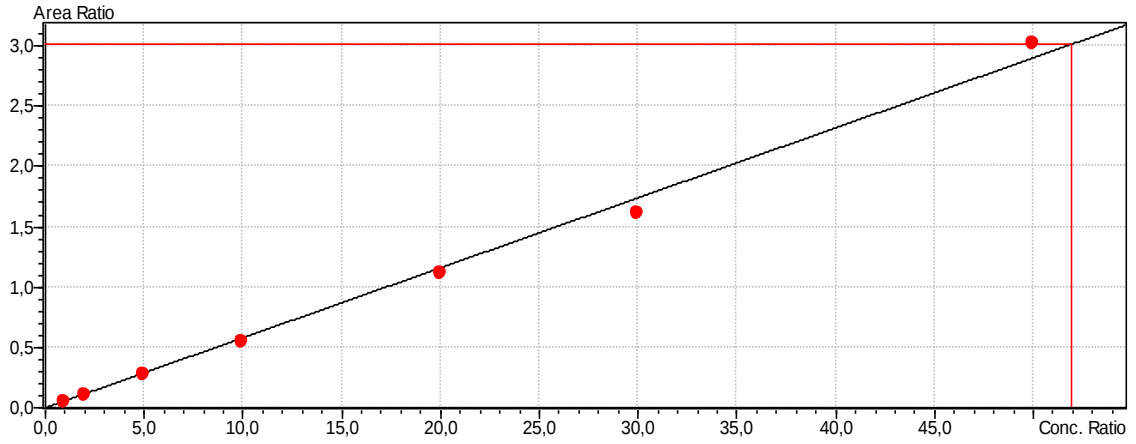
İdrar kalibrasyonu için kalibrasyon noktaları 1, 2, 5, 10, 20, 30 ve 50 ng/ml olacak şekilde 1 ml negatif idrara stok karışımdan eklendi. İdrar içerisindeki internal standart konsantrasyonu 5 ng/ml'dir. AB-Fubinaca, AB-Fubinaca metabolite 2A, AB-Fubinaca metabolite 2B ve 5F-NPB-22 maddelerinin korelasyon katsayısı sırasıyla 0.998, 0.994, 0.996 ve 0.990'dır. AB-Fubinaca, AB-Fubinaca metabolite 2A, AB-Fubinaca metabolite 2B ve 5F-NPB-22 maddelerinin idrardaki tespit limiti (LOD) sırasıyla 0.1, 0.04, 0.04 ve 2.6 ng/ml; hesaplama limiti (LOQ) ise 0.32, 0.13, 0.13 ve 8.00 ng/ml'dir. AB-Fubinaca, AB-Fubinaca metabolite 2A, AB-Fubinaca metabolite 2B ve 5F-NPB-22 için idrardaki geri kazanım oranları sırasıyla %97, 92, 91.2 ve 75'tir. Şekil 23, 24 ve 25'te AB-Fubinaca, AB-Fubinaca metabolite 2A, AB-Fubinaca metabolite 2B'nin idrardaki kalibrasyon eğrileri gösterilmektedir.



Şekil 23. AB-Fubinaca idrardaki kalibrasyon eğrisi

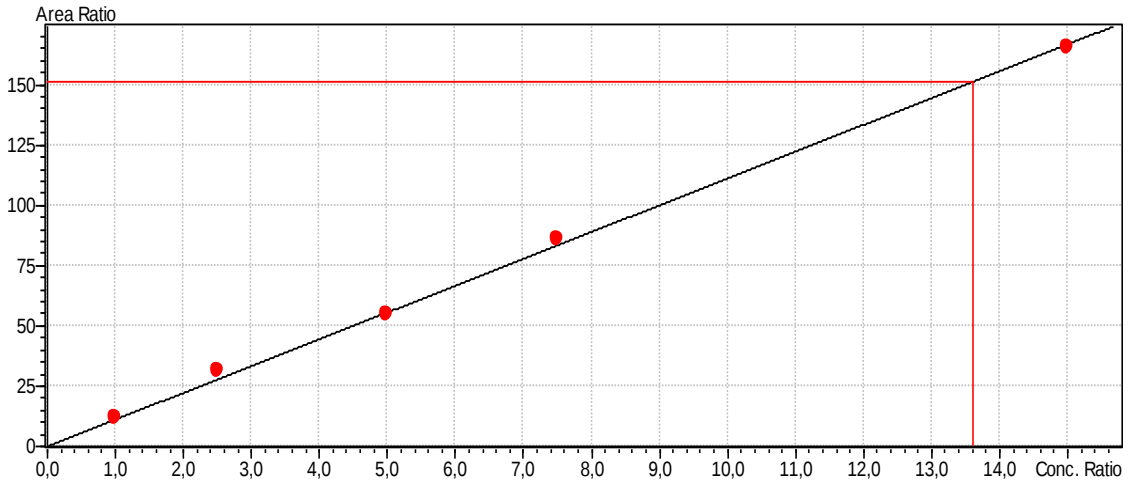


Şekil 24. AB-FUBINACA metabolite 2A idrardaki kalibrasyon eğrisi

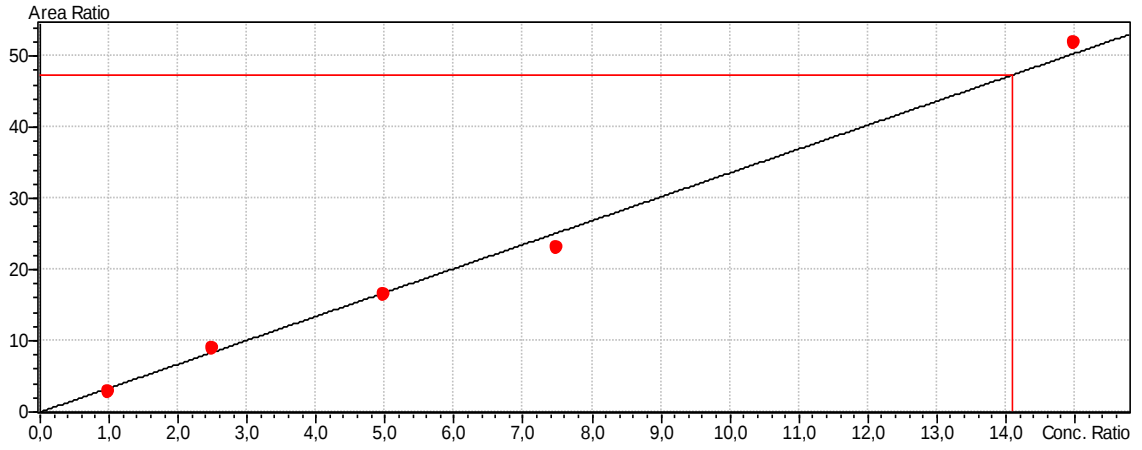


Şekil 25. AB-Fubinaca metabolite 2B idrardaki kalibrasyon eğrisi

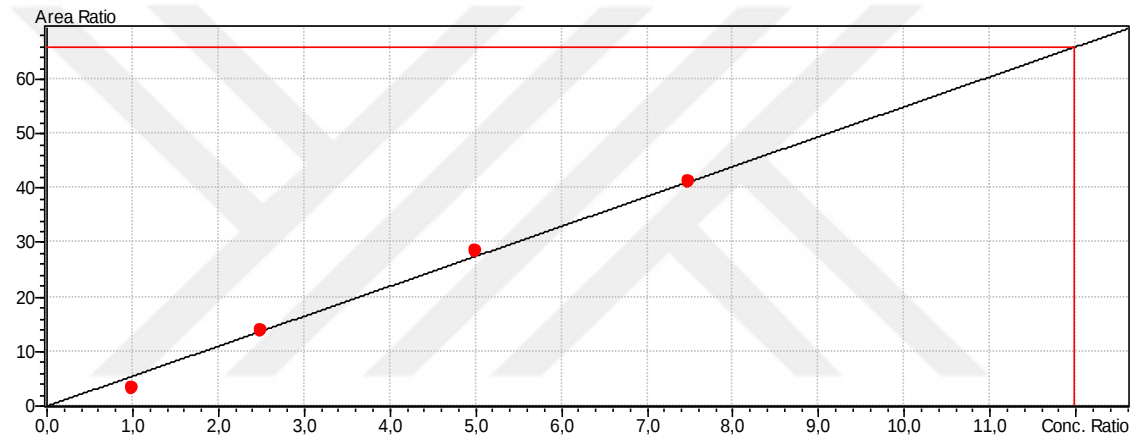
Organ örneklerinin kalibrasyonu için 4, 10, 20, 30, 40 ve 60 ng/mg konsantrasyonlarında kalibrasyon noktaları oluşturuldu. AB-Fubinaca, AB-Fubinaca metabolite 2A ve AB-Fubinaca metabolite 2B maddelerinin korelasyon katsayısı sırasıyla 0.996, 0.990 ve 0.996'dır. AB-Fubinaca, AB-Fubinaca metabolite 2A ve AB-Fubinaca metabolite 2B için kalibrasyon eğrileri şekil 26, 27 ve 28'de verilmiştir.



Şekil 26. AB-Fubinaca akciğerdeki kalibrasyon eğrisi

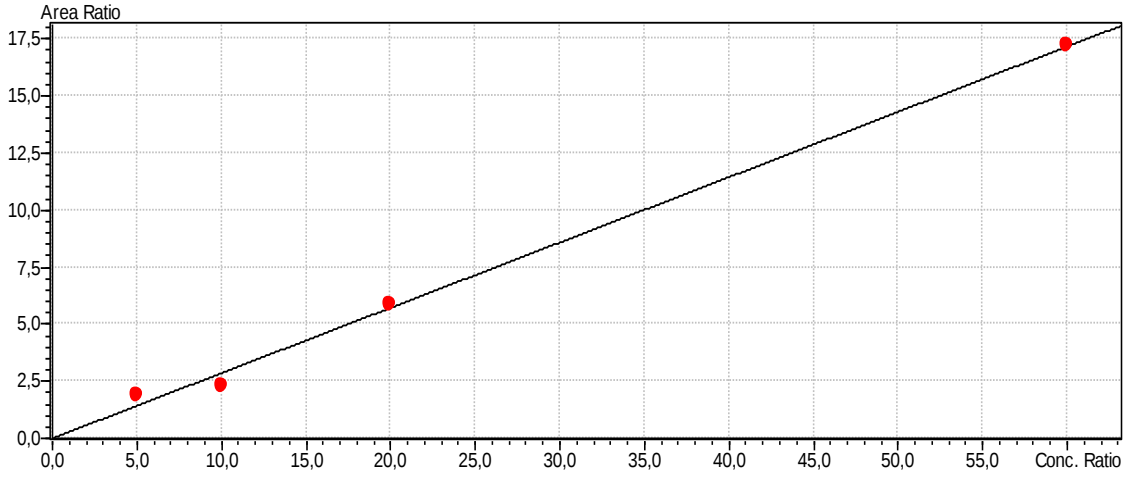


Şekil 27. AB-Fubinaca metabolite 2A akciğerdeki kalibrasyon eğrisi

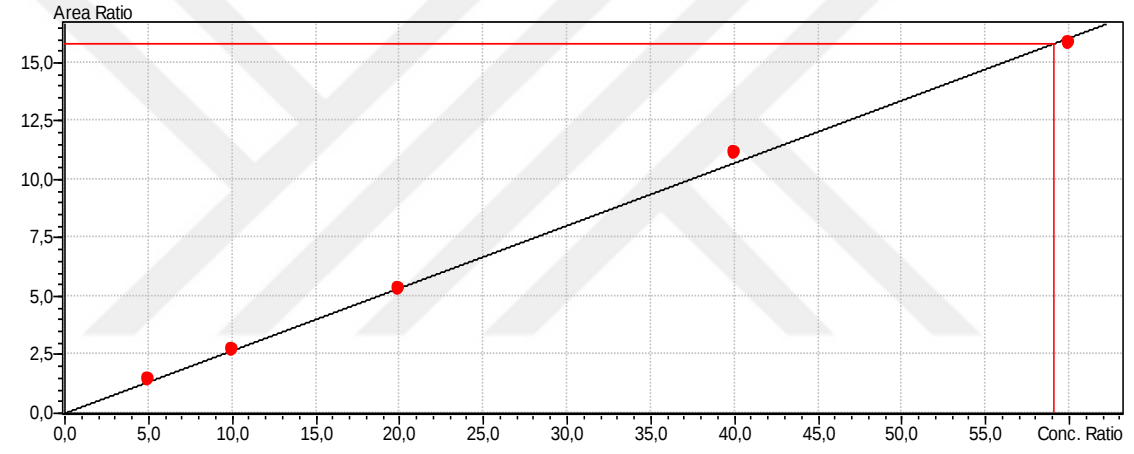


Şekil 28. AB-Fubinaca metabolite 2B akciğerdeki kalibrasyon eğrisi

Bitkisel ürün için kalibrasyon noktaları 5, 10, 20, 40 ve 60 ng/ml olacak şekilde hazırlandı. İnternal standart madde olarak jwh-073-d7 ve thcchoh-d3 eklendi. Δ 9-THC, AB-Fubinaca ve 5F-NPB-22'nin korelasyon katsayıları sırasıyla 0.996, 0.998 ve 0.999'dur. Δ 9-THC ve 5F-NPB-22'nin kalibrasyon eğrisi şekil 29 ve 30'da yer almaktadır.



Şekil 29. Δ9-THC kalibrasyon eğrisi



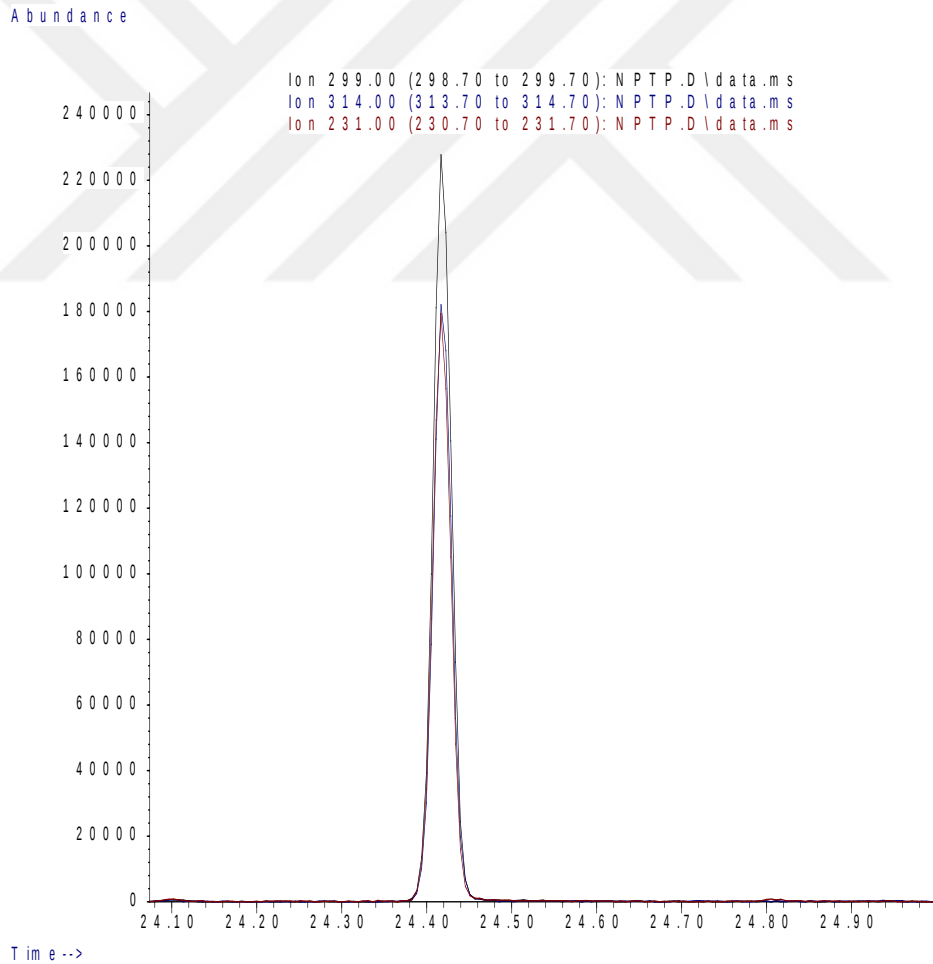
Şekil 30. 5F-NPB-22 kalibrasyon eğrisi

4. BULGULAR

4.1. Gaz Kromatografi/Kütle Spektrometre Analizi

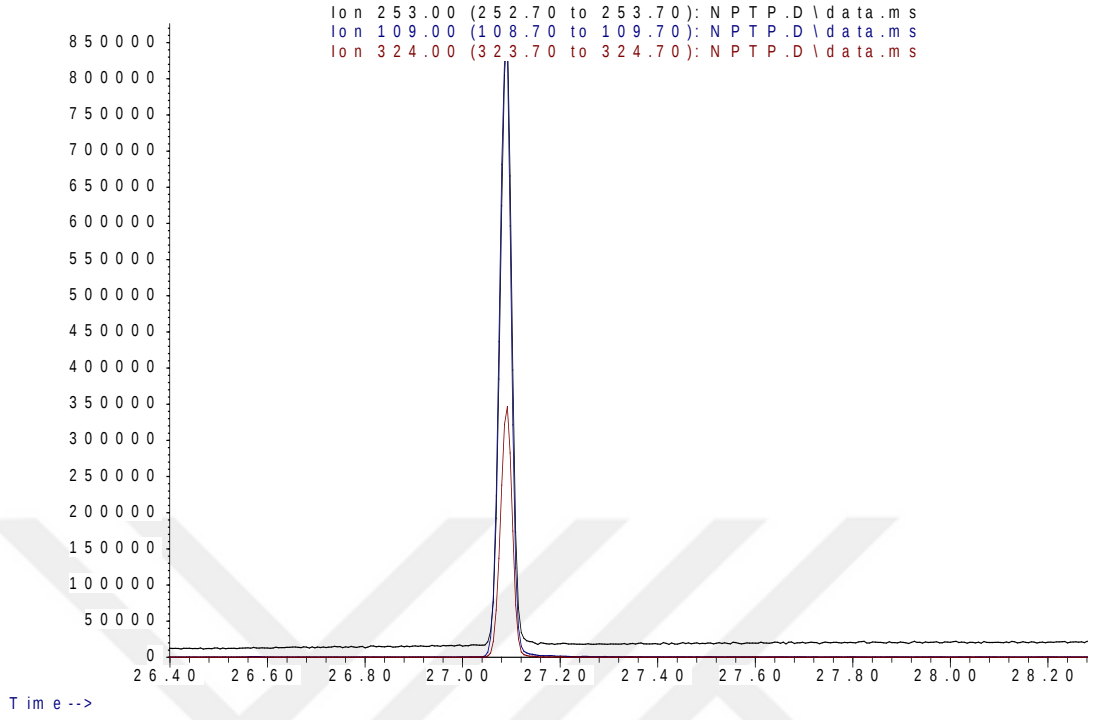
Kannabimimetik etkiler gösteren bitkinin deneysel olarak hayvanlara verilmeden önce içeriğindeki sentetik kannabinoid çeşidini belirlemek için yapılan ölçümlerdir.

Yapılan analiz sonucunda bitkisel üründe $\Delta 9$ -THC, AB-Fubinaca ve 5F-NPB-22 sentetik maddeleri tespit edilmiştir. Bu maddelerin esrar bitkisine püskürtüldüğü görülmüştür. “Bonzai” bitkisinde tespit edilen $\Delta 9$ -THC, AB-Fubinaca ve 5F-NPB-22 maddelerinin GC/MS kromatogramı şekil 31, 32 ve 33’de gösterilmektedir.



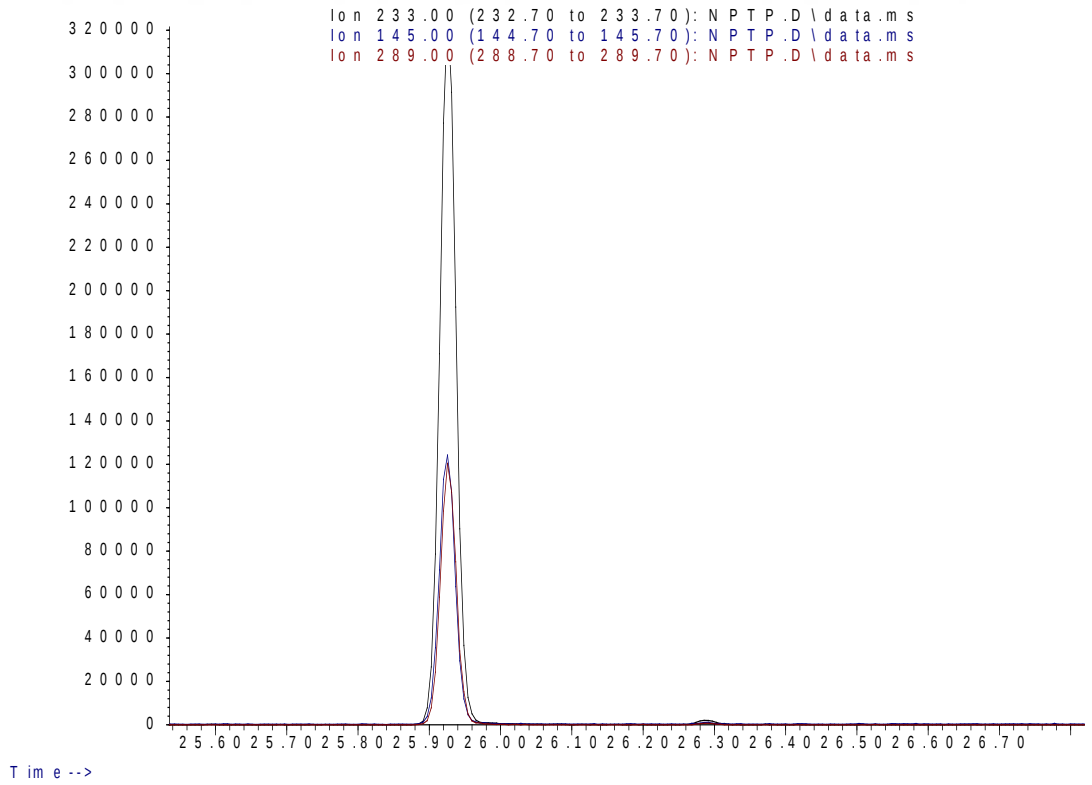
Şekil 31. Bitkide tespit edilen $\Delta 9$ -THC’nin kromatogramı

Abundance



Şekil 32. Bitkide tespit edilen AB-Fubinaca'nın kromatogramı

Abundance



Şekil 33. Bitkide tespit edilen 5F-NPB-22'nin kromatogramı

4.2. Likit Kromatografi /Tandem Kütle Spektrometre Analizi

Bitki içeğindeki sentetik kannabinoidlerin % miktarı ve deneysel olarak inhalasyon yoluyla hayvanlara verilen bitkisel ürünün kan, idrar ve organ örneklerinde tespiti için yapılan ölçümlerdir.

Bitkide Δ^9 -THC %1.7 ve 5F-NPB-22 ise % 8.5 (w/w) oranında bulunmuştur. Bitki içeriğindeki AB-Fubinaca maddesinin % miktarı LC/MSMS ile belirlenememiştir.

4.3. Deneysel Çalışma

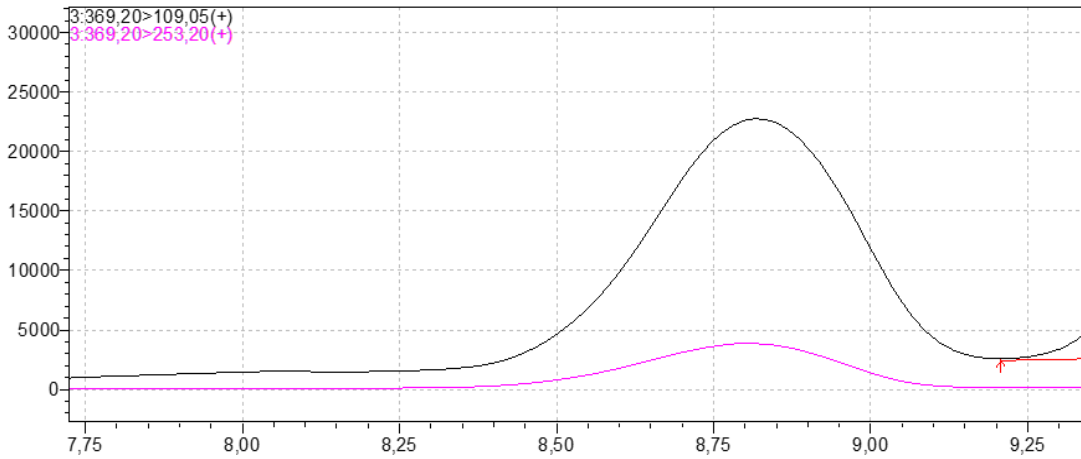
Kontrol grubunda yer alan hayvanlara içerisinde sentetik kannabinoid olmayan yavşan otu solutulmuştur. Kontrol grubundan 15, 30 ve 45. dakikalarda kan, 12 saatlik idrar örneği ve 12 saat sonunda sıçanların dekapite edilmesi ile akciğer, karaciğer, beyin ve böbrek gibi organ örnekleri toplanmıştır. Kontrol grubundan 15, 30 ve 45. dakikalarda alınan kan, 12 saatlik idrar ve 12 saat sonunda dekapite edilerek alınan akciğer, karaciğer, beyin ve böbrek gibi organlarında sentetik kannabinoid tespit edilememiştir.

Birinci deney grubuna 5 mg sentetik kannabinoid içeren bitkisel ürün yavşan otu ile karıştırılarak solutulmuştur. Sıçanlardan 15, 30 ve 45. dakikalarda kan, 12 saatlik idrar örneği ve 12 saat sonunda sıçanların dekapite edilmesi ile akciğer, karaciğer, beyin ve böbrek gibi organ örnekleri toplanmıştır. 5 mg bitkisel ürün verilen sıçan grubunun 15, 30 ve 45. dakikalarda alınan kan, 12 saatlik idrar ve 12 saat sonunda dekapite edilerek alınan akciğer, karaciğer, beyin ve böbrek gibi organlarında sentetik kannabinoid tespit edilememiştir.

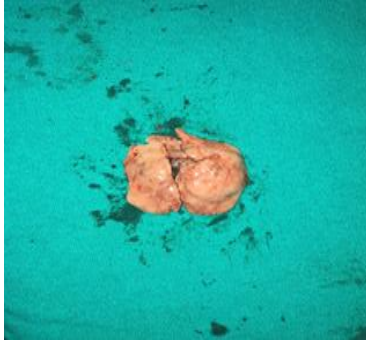
İkinci deney grubuna 10 mg sentetik kannabinoid içeren bitkisel ürün yavşan otu ile karıştırılarak solutulmuştur. Sıçanlardan 15, 30 ve 45. dakikalarda kan, 12 saatlik idrar örneği ve 12 saat sonunda sıçanların dekapite edilmesi ile akciğer, karaciğer, beyin ve böbrek gibi organ örnekleri toplanmıştır. 10 mg bitkisel ürün verilen sıçan grubunun 15, 30 ve 45. dakikalarda alınan kan ve 12 saatlik idrar örneklerinde sentetik kannabinoid tespit edilememiştir. 12 saat sonunda dekapite edilerek alınan akciğer, karaciğer, beyin ve böbrek gibi organlar içerisinde sadece 1 sıçanın akciğerinde 2.4 ng/g AB-Fubinaca maddesi pozitif bulunmuştur.

Üçüncü deney grubuna 20 mg sentetik kannabinoid içeren bitkisel ürün yavşan otu ile karıştırılarak solutulmuştur. Sıçanlardan 15, 30 ve 45. dakikalarda kan, 12 saatlik idrar örneği ve 12 saat sonunda sıçanların dekapite edilmesi ile akciğer, karaciğer, beyin ve böbrek gibi organ örnekleri toplanmıştır. 20 mg bitkisel ürün verilen sıçan grubunun 15, 30 ve 45. dakikalarda alınan kan ve 12 saatlik idrar örneklerinde sentetik kannabinoid tespit edilememiştir. 12 saat sonunda dekapite edilerek alınan akciğer, karaciğer, beyin ve böbrek gibi organlar içerisinde sadece 1 sıçanın akciğerinde 2.7 ng/g AB-Fubinaca maddesi pozitif bulunmuştur.

Dördüncü deney grubuna 100 mg sentetik kannabinoid içeren bitkisel ürün yavşan otu ile karıştırılarak solutulmuştur. Sıçanlardan 15, 30 ve 45. dakikalarda kan, 12 saatlik idrar örneği ve 12 saat sonunda sıçanların dekapite edilmesi ile akciğer, karaciğer, beyin ve böbrek gibi organ örnekleri toplanmıştır. 100 mg bitkisel ürün verilen sıçan grubunun 15, 30 ve 45. dakikalarda alınan kan ve 12 saatlik idrar örneklerinde sentetik kannabinoid tespit edilememiştir. Kontrol grubu içerisinde metabolik kafeste her bir hayvan için ayrı ayrı toplanan 12 saatlik idrar ortalama 8-10 ml iken bu deney grubunun 2 tanesinde 3-4 ml, geriye kalan sıçanlarda ise hiç idrar çıkışı olmamıştır. 12 saat sonunda dekapite edilerek alınan akciğer, karaciğer, beyin ve böbrek gibi organlar içerisinde sadece akciğerlerde sentetik kannabinoid tespit edilmiştir. 100 mg bitkisel ürün verilen sıçanların akciğer dokusundaki AB-Fubinaca konsantrasyonu ortalama 5 ng/g bulunmuştur. 100 mg bitkisel ürün verilen sıçanın akciğerinde tespit edilen AB-Fubinaca maddesinin LC-MSMS cihazındaki kromatogramı Şekil 34’de verilmiştir.

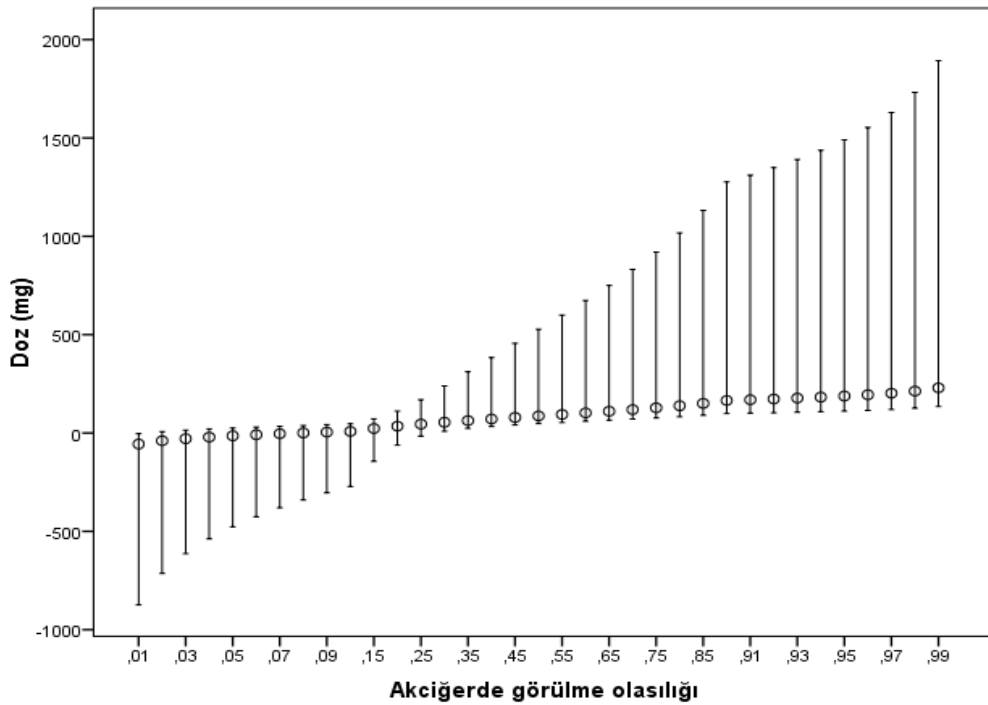


Şekil 34. 100 mg bitkisel ürün verilen sıçanın akciğerindeki AB-Fubinaca kromatogramı



Şekil 35. Kontrol grubu akciğer görüntüsü ve 100 mg bitkisel ürün solutulan sıçanın akciğerinde görülen peteşiyel kanama

Bu çalışmanın veri analizi SPSS 20 istatistik programı kullanılarak hesaplanmıştır. Verilen bitki miktarına göre organlarda maddenin saptanma oranını modellemek için probit analizi kullanılmıştır. Buna göre en çok saptanan organ olan akciğer için görülme olasılığını bitki miktarına göre gösteren sonuç elde edilmiştir. Ayrıca bitkisel ürünün miktarının artışı ile organda görülme olasılığının artıp artmadığı Cochran Mantel Haenszel (CMH) istatistiği ile incelenmiştir. Buna göre akciğerde doz artışı ile maddenin saptanma olasılığının arttığı belirlenmiştir ($p=0.017$). P değeri 0.05'ten küçük olduğundan sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.



Şekil 36. Verilen bitkisel ürünün miktarına göre AB-Fubinaca'nın akciğerlerde görülme olasılığı

5. TARTIŞMA

Türkiye'nin Asya ve Avrupa arasında önemli bir geçiş güzergahı üzerinde olması, yasal veya yasal olmayan ticaretin yapılmasına neden olmaktadır. Uyuşturucu madde kaçakçılığı suçu; şiddet suçları, cinayet, sahtecilik, hırsızlık ve sınır ihlali olayları, silah kaçakçılığı ve terörizm gibi suçları da beraberinde getirmektedir. Bu durumun sonucu olarak, uyuşturucu suçları yalın bir suç olmaktan öte oldukça karmaşık bir yapıya sahip, uluslararası boyutta ve organize suç kapsamına girmektedir¹²³.

Yeni nesil psikoaktif maddeler dünya pazarında hızla yayılmaya devam etmektedir. 2014 yılında dünya genelinde 32 ton sentetik kannabinoid ele geçirilmiş, bunun 26.5 tonu Amerika Birleşik Devletleri'nde yakalanmıştır. Başta Kıbrıs ve Türkiye olmak üzere Avrupa'da ele geçirilen sentetik kannabinoid miktarı 5.4 ton'dur¹²⁴. Çin, Amerika Birleşik Devletleri, İspanya, Hollanda, Portekiz, İngiltere ve Macaristan gibi ülkelerden yasadışı yollarla ülkemize getirilmektedir. Bu sebeple bu ülkelerde daha etkili kontrol ölçümleri uygulanmalıdır. Ayrıca piyasada yer alan sentetik kannabinoid çeşidinin fazla olması önleme, tedavi, kontrol ve tanımlama çabalarını zor hale getirmektedir.

Uyuşturucu zararını azaltmak için en etkili yol kan ve idrar analizleri ile kişide sentetik kannabinoid tespit etmek, bu analizler için hızlı ve güvenilir metotlar geliştirmek ve validasyonunu yapmaktır. Ancak sentetik kannabinoidlerin kimyasal yapısının kolayca sürekli olarak değiştirilmesi bu maddelerin kan, idrar vb. biyolojik örneklerde tespitini zorlaştırmaktadır.

Çalışmanın ilk aşaması Emniyet Daire Kriminal Başkanlığı'ndan alınan bitkisel ürün içerisindeki sentetik kannabinoid türünü ve % miktarını belirlemek olmuştur. "Bonzai" adı altında satılan bitkisel ürünün GC/MS'de yapılan toksikolojik analizi sonucunda Δ^9 -THC, AB-Fubinaca ve 5F-NPB-22 maddelerini içerdiği bulunmuştur. Ülkemizde AB-Fubinaca 2013 yılında piyasada görülürken, 5F-NPB-22 sentetik kannabinoidi 2014 yılında ortaya çıkmıştır. Bitkide Δ^9 -THC'nin tespit edilmesi AB-Fubinaca ve 5F-NPB-22 sentetik maddelerinin esrar bitkisine püskürtüldüğünü göstermiştir. Bitki içeriğindeki sentetik kannabinoid türü GC/MS ile belirlenebilirken, bu maddelerin % miktarı dedeksiyon limitinin yüksek olmasından dolayı GC/MS ile

tespit edilemedi. Onun yerine bitkisel ürünlerdeki miktarsal analiz LC/MSMS cihazı ile yapılmıştır. LC/MSMS’de Δ^9 -THC ve 5F-NPB-22’nin % içeriği belirlenirken bitki içeriklerinin kompleks yapısından (yağ asitleri veya gliserin gibi yapılar) dolayı cihazda girişim yapması AB-Fubinaca’nın tespitini gölgelemiştir.

İstanbul’da yapılan anket çalışmasında, katılımcıların %54.3’ü sentetik kannabinoid içerikli ürünleri düzenli (kronik) olarak kullandıklarını, %45.7’si bu maddeleri kullandığı dönemde aktif olarak başka bir madde daha kullandığını bildirmiştir. Aynı zamanda katılımcılara bu maddelerin uygulanma şekli sorulduğunda %38.6’sı kova, %35.7’si sarma sigara, %15’i sigara ucu ve %10’u pet şişe yöntemini kullanarak bu maddeleri almıştır. Katılımcıların %75.7’si kullandıkları sentetik kannabinoidin etkisinin nefesi çektikten sonra ilk 5 saniye içinde geldiğini %17’si etki geliş süresinin 1 dakikaya kadar uzayabildiği, %7.1’i ise etkinin 5. dakikadan sonra geldiğini söylemiştir. Etki süresi sorulduğunda ise katılımcıların %48.6’sı etki süresinin yarım saat ile bir saat arasında değiştiğini, %28’i etki süresinin yarım saati bulmadığını, % 21’i ise etkinin doksan dakikadan fazla olduğunu belirtmiştir. Kullandıkları yöntem ve etki süresi arasında istatistiki olarak anlamlı bir ilişki bulmamışlardır¹²⁵. Çalışmada 200-250 g ağırlığındaki sıçanlara dört farklı miktarda (5, 10, 20 ve 100 mg) AB-Fubinaca ve 5F-NPB-22 kimyasal maddeleri içeren bitkisel ürün yavşan otu ile karıştırılarak inhalasyon yoluyla verilmiştir. Bu çalışmada farklı dozlarda sentetik kannabinoid içerikli bitkinin verilmesinin sebebi akut inhalasyonun düşük miktarda tespit edilip edilmeyeceğidir.

Çalışmanın ikinci aşaması kan, idrar ve organ gibi biyolojik örneklerde hem AB-Fubinaca hem de 5F-NPB-22’nin aynı ekstraksiyon yöntemi ile hassas analitik yöntem geliştirerek validasyonunu yapmaktır. Biyolojik örneklerin inkübasyon işleminden sonra elde edilen çözelti yüksek oranda safsızlık içermektedir. Bu nedenle analiz öncesi sıvı-sıvı ya da katı-sıvı ekstraksiyon içeren bir clean-up yöntemi uygulanmalıdır¹²⁶. Literatürde AB-Fubinaca ve metabolitlerinin, 5F-NPB-22 sentetik kannabinoidinin aynı ekstraksiyon yöntemi ile çekildiği bir clean-up yöntemine rastlanmamıştır. Bu nedenle çalışmada hem AB-Fubinaca ve metabolitlerinin hem de 5F-NPB-22’nin aynı ekstraksiyon yöntemi ve yüksek geri kazanım oranıyla kısa sürede tespit edilebilmesi için ekstraksiyon yönteminin validasyonu yapıldı. Laboratuvarımızın genel durumu göz önünde bulundurulduğunda yapılan geri kazanım oranlarının da birbirine yakın olması

nedeniyle çalışmada kan ve organ örneklerinde sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi tercih edilirken idrar örneklerinde katı-sıvı ekstraksiyon yöntemi tercih edilmiştir.

Ekstraksiyonda elüenti alırken hekzan: etilasetat (99:1), hidroklorik asit (HCl), terbütileteter (MTBE),asetonitril ve asetonitril:etil asetat (75:25) karışımları denenmiş, her iki madde ve metabolitler için en iyi çözeltinin asetonitril:etil asetat (75:25) karışımı olduğu görülmüştür.

Pek çok ilaç ve uyutucu-uyuşturucu madde idrarda konjugatları halinde atılmaktadır. Bu nedenle idrar örneklerinde dekonjugasyonu işlemi için β -glucuronidase enzimi ile hidroliz etmek gerekir. Glukuronatlar daima β konfigürasyonu gösterirler¹²⁷. İdrarda enzim hidrolizi genellikle 45 °C, 55 °C ve 75°C sıcaklıklarda yapılmaktadır. Laboratuvarıdrarda yapılan ekstraksiyon geri kazanım çalışmasında idrar örneğinin 55 °C’de 45 ve 60 dakika, 75 °C’de 60 dakika ve oda sıcaklığında 20-25 dakika β -glucuronidase ile hidrolizi yapılmıştır. AB-Fubinaca ve metabolitleri için 55 °C’de 1 saat en iyi optimum koşul iken 5F-NPB-22 45°C, 55 °C ve 75 °C olan sıcaklıkların hiçbirinde tespit edilememiştir. Bu sebeple enzimatik hidroliz işlemi oda sıcaklığında 20-25 dakikada yapılmıştır.

Sıçanların kan, idrar ve organ gibi biyolojik örneklerinde sentetik kannabinoid analizi Likit Kromatografi/Kütle Spektrometresi ile yapılmıştır. Sıçanların 15, 30 ve 45. dakikada alınan kan örneklerinde Δ^9 -THC, AB-Fubinaca ve metabolitleri, 5F-NPB-22 tespit edilememiştir. Ayrıca sıçanlardan alınan 12 saatlik idrar örneklerinde de sentetik kannabinoid ve metabolitlerine rastlanmamıştır. Bunun sebebi bitkisel ürün içerisindeki sentetik kannabinoid içeriğinin düşük olması, bu maddelerin metabolik yollarının ve yarılanma ömürlerinin tam olarak bilinmemesi kan ve idrarda tespitini zorlaştırmıştır.

Çalışmada yüksek dozda (100 mg) “Bonzai” solutulan sıçanlar kontrol grubu ile kıyaslandığında 2 tane sıçanın idrar çıkışının çok az olduğu diğer 3’ünde ise idrar çıkışının olmadığı ve dolayısıyla sıçanların akut böbrek hasarına uğramış olabileceği gözlemlenmiştir. Akut böbrek hasarı glomerul filtrasyon hızında azalma ile üre ve kreatinin gibi nitrojen artık ürünlerinin birikimi, sıvı elektrolit ve asit baz dengesinin bozulması ile sonuçlanan klinik tablodur. İdrar miktarında azalma ve kreatinin düzeyinde artış görülür¹²⁸. Literatürde son zamanlarda sentetik kannabinoid kullanımıyla ilişkili akut böbrek hasarı vakaları olmasına rağmen bu komplikasyonun

patogenezi bilinmemektedir. Literatürde yapılan vaka sunumlarında sentetik kannabinoid kullanımı ile akut böbrek hasarının ilişkili olabileceği, açıklanamayan akut böbrek hasarı vakalarında sentetik kannabinoid kullanımının araştırılması gerektiği söylenmiştir^{129,130}.

Gudsoorkar ve ark. yaptığı olgu sunumunda acil servise gelen ve sentetik kannabinoid kullanım öyküsü olan kişinin idrar analizinde kreatinin 2.3 mg/dl , kan üre azotu 25 mg/dl, kreatinin fosfokinaz (CPK) düzeyini 2337 u/L ölçmüştür. Aynı zamanda alan başına 200'den fazla kırmızı kan hücresi görmüştür. Uzun dönem toksik etkisi bilinmemesine rağmen sentetik kannabinoid kullanımı ile ilişkili akut renal hasarının söz konusu olduğunu söylemişlerdir¹³¹.

Çalışmada 1 kontrol ve 4 araştırma grubuna (5 mg, 10 mg, 20 mg ve 100 mg) sentetik kannabinoid kaynaklı bitkisel ürün özel bir düzenek aracılığıyla inhale ettirilmiş ve 12 saat sonra dekapite edilerek sıçanların akciğer, karaciğer, böbrek ve beyin dokuları toplanmıştır. Sıçanların karaciğer ve beyin dokularında sentetik kannabinoid tespit edilemezken, 100 mg bitki materyali verilen grupta sadece 1 sıçanın böbrek dokusunda AB-Fubinaca maddesi bulunmuştur. Ayrıca akciğerlerde AB-Fubinaca sentetik kannabinoidi tespit edilmiştir. Bitkisel ürün miktarının artışı ile akciğerlerde maddenin saptanma olasılığının arttığı belirlenmiştir (p=0.017). Bu çalışma doz etkisi ile akciğerlerde saptanma olasılığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Grupların hiçbirinde 5F-NPB-22 sentetik kannabinoid maddesine rastlanmamıştır. Bu da AB-Fubinaca maddesinin 5F-NPB-22 maddesinden daha lipofilik olduğunu gösterir. Sıçanların yapılan otopsisinde yağ dokusu fazla olanlarda doz artışı ile akciğerlerde peteşiyal kanamaların daha fazla olduğu görülmüştür.

Poklis ve ark. ise yaptıkları çalışmada fareleri “Magic Gold” bitkisel ürününe inhalasyon yoluyla maruz bırakarak bitki içeriğinde tespit ettikleri JWH-018 ve JWH-073 maddelerinin dağılımına bakmışlardır. İki grup oluşturarak (n=5) farelere 200 mg “Magic Gold” bitkisini yakarak vermiş, 1. grubu maruziyetten 20 dakika sonra, 2. grubu 20 saat sonra dekapite etmişlerdir. Farelerin kan ve beyin dokuları toplanarak analize kadar -80 °C’de saklanmıştır. “Magic Gold” içerisinde %3.6 JWH-018, % 5.7 JWH-073 ve %0.1’den az JWH-398 saptanmıştır. Kandaki ve beyindeki nicelik sınırlarını sırasıyla 0.1 ng/ml ve 4 ng/g vermişlerdir. JWH-398 %0.1’den az olduğu için ne kan ne

de beyin örneklerinde tespit edilememiştir. Beyin dokularında JWH-073, JWH-018'den daha yüksek konsantrasyonda bulunmuştur. JWH-073, JWH-018 ile kıyaslandığında daha fazla lipofilik karakterdedir. 20 saat sonra dekapite edilen sıçanların sadece 2 tanesinin kanında JWH-018, 1 tanesinde de JWH-073 tespit edilirken, beyin dokularında JWH-073 bulunmamıştır. Bu da JWH-018'in yarılanma ömrünün JWH-073'den daha uzun olduğunu göstermektedir⁵⁹.

Wiebelhaus ve ark. yaptıkları çalışmada Buzz bitkisi içeriğindeki sentetik kannabinoid türü ve miktarını analiz ederek 6-8 haftalık farelere 10,20 ve 50 mg Buzz bitkisi vermiş ve sadece burun bölgesine yapılan dozlama ile kan ve organlardaki düzeyine bakmışlardır. Buzz bitkisel ürününün içerisinde %5.4 JWH-018 ve eser miktarda JWH-073 ve JWH-398 (%0.1'de az) olduğunu bulmuştur. Buzz ürününün yanan miktarıyla jwh-018' in kan, beyin, kalp, böbrek, akciğer, karaciğer ve dalakta tespit edilen konsantrasyonları doz-bağımlılık ilişkisini göstermektedir. JWH-018'in konsantrasyonu kanda daha düşük konsantrasyonlarda tespit edilmiştir. JWH-018'in en yüksek konsantrasyonu absorpsiyon, metabolizma ve eliminasyon ile ilgilenen dokular olan akciğer, karaciğer ve böbrekte görülmüştür¹³².

Günümüzde gençler ve yetişkinler tarafından kullanımı gittikçe artan sentetik kannabinoidler önemli bir halk sağlığı problemidir. Ancak sentetik kannabinoid içeren bitkisel ürünlerin kullanımını gösteren pek çok kayıt olmasına rağmen bu kimyasallarla ilişkili potansiyel toksik endişeden dolayı insanlar üzerinde yapılan sistemik bir laboratuvar çalışması bulunmamaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Bu çalışmada 1'i kontrol 4'ü araştırma grubu olmak üzere rasgele seçilen 200-250 g ağırlığındaki 25 adet sıçana inhalasyon yoluyla sentetik kannabinoid içeren bitki materyali solutuldu.

2. Bitkisel ürünün içerisindeki sentetik kannabinoid türü Gaz kromatografi/Kütle Spektrometresi ile çalışıldı.

3. Sıçanların kan, idrar ve organ örnekleri Sıvı Kromatografi/Tandem Kütle Spektrometresi ile çalışıldı.

4. Sıçanların kan ve idrar örneklerinde sentetik kannabinoid tespit edilemezken, akciğerde yalnızca AB-Fubinaca maddesi saptanmıştır. Sıçanlara verilen bitkisel ürünün miktarı arttıkça akciğerlerde yağ dokusu fazla olanlarda peteşiyal kanamaların fazla olduğu, yüksek dozlarda ise idrar çıkışının miktarına bağlı olarak akut böbrek hasarının olabileceği düşünüldü.

5. Bitkisel ürünlere püskürtülen kimyasallar standart olarak uygulanan uyutucu-uyuşturucu analizlerinde tespit edilememektedir. Metabolik standartların eksikliği klinik ve adli laboratuvarlarda standardize edilmiş yöntemlerin gelişmesini de engellemektedir.

6. Adli ve klinik toksikoloji laboratuvarı olarak hizmet veren laboratuvarımız için ülkemizde son zamanlarda yaygın olarak kullanılan AB-Fubinaca ve 5F-NPB-22 gibi sentetik kannabinoidler için ekstraksiyon yöntemleri ile hassas analitik yöntem valide edilmiş oldu.

7. İn-vitro ve in-vivo çalışmalarda doz-cevap ilişkisi değerlendirirken miktarlar kronik olarak verilmelidir.

8. Gelecek araştırmalarda akut böbrek hasarı olan sıçanların böbreklerinde histopatolojik inceleme yapılması ve böbrek hasarının ne boyutta olduğu incelenmelidir.

9. “Spice” kullanım yaygınlığında şu anda yeteri kadar bilgi olmadığı için potansiyel kullanıcıların kan ve idrar örneklerinde adli-toksikolojik araştırmalarla eşleşmiş epidemiyolojik bir araştırma problemin boyutunu incelemek için çok yararlı olacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. **EMCDDA 2016 Report.** European Drug Report 2016: Trends and Developments. **2016**, Lisbon.
2. **Bertan A.** Erken Uyarı Sstemi. Türkiye Uyuşturucu ve Uyuşturucu Bağımlılığı İzleme Merkezi, **2010**; 188-190.
3. Bakanlar Kurulu Kararı. <http://www.resmigazete.gov.tr> Erişim tarihi 31.05.2016.
4. **Huffman, J, Zengin, G, Wu, M, Lu, J, Hynd, G, Bushell, K, Thompson, A, et al.** Structure–activity relationships for 1-alkyl-3-(1-naphthoyl)indoles at the cannabinoid CB1 and CB2 receptors: steric and electronic effects of naphthoyl substituents. New highly selective CB2 receptor agonists. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2005**; 13(1): 89-112.
5. **Elsohly MA.** Marijuana and the Cannabinoids. Humana Press New Jersey, **2007**.
6. **Elsohly MA, Slade D.** Chemical constituents of marijuana: The complex mixture of natural cannabinoids. *Life Sciences*, **2005**; 78: 539-548.
7. **Vural N.** Toksikoloji. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, **2005**; 317-335.
8. **Iversen LL.** The Science of Marijuana. Oxford University Press, New York, **2000**.
9. **Levine B.** Principles of Forensic Toxicology. 2nd. Ed, AACPress: Washington, **2003**.
10. **Sun Y, Bennett A.** Cannabinoids: A New Group of Agonists of PPARs. Peroxisome Proliferator-Activated Receptors Research, **2007**; 235-43.
11. **Akgür SA, Cořkunol H.** Bağımlılık Yapan Maddeler ve Toksikolojisi. *Ege Üniversitesi Yayınları*, yayın no:3, İzmir, **2014**.
12. **Heishman SJ, Stitzer ML, Yingling JE.** Effects of tetrahydrocannabinol content on marijuana smoking behavior, subjective reports, and performance. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **1989**; 34(1): 173–179.
13. **Azorlosa JL, Heishman SJ, Stitzer ML, Mahaffey JM.** Marijuana smoking: effect of varying delta 9-tetrahydrocannabinol content and number of puffs. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **1992**; 261(1):114-122.
14. **Uzbay T.** Addictive substances and properties. *Meslek İçi Sürekli Eğitim Dergisi* **2006**; 16-33.
15. **Wollner HJ, Matchett JR, Levine J, Loewe S.** Isolation of a physiologically active tetrahydrocannabinol from Cannabis sativa resin. *Journal of the American Chemical Society*, **1942**; 64(1):26–29.
16. **Gaoni Y, Mechoulam R.** Isolation, Structure, and Partial Synthesis of an active Constituent of Hashish. *J Am Chem Soc*, **1964**; 86(8):1646-1647.
17. **Karch SM.** Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of abused Drugs, CRC press **2008**.
18. **Lozano I.** The Therapeutic Use of Cannabis sativa (L.) in Arabic Medicine. *Journal of cannabis therapeutics*, **2001**; 1(1): 63-70.

19. **Marzo VD.** A brief history of cannabinoid and endocannabinoid pharmacology as inspired by the work of British scientists. *TRENDS in Pharmacological Sciences*, **2006**; 27 (3).
20. **Devane WA, Dysarz FA, Johnson MR, Melvin LS and Howlett AC.** Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol Pharmacol*, 1988;34: 605-613.
21. **Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein MJ, Young AC, Bonner TI.** Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature*, **1990**; 346.
22. **Mackie K.** Cannabinoid receptors: where they are and what they do. *J Neuroendocrinol*, **2008**;20(1):10-14.
23. **Seely KA, Prather PL, James LP, Moran JH.** Marijuana-based drugs: Innovative therapeutics or designer drugs of abuse? *Molecular intervention*, **2011**; 11(1):36-5.
24. **Pertwee RG.** Pharmacology of Cannabinoid CB1 and CB2 Receptors. *Pharmacol Ther* **1997**;74(2):129-180
25. **Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M.** Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature* **1993**;365: 61-65.
26. **Pertwee RG.** The pharmacology of cannabinoid receptors and their ligands: an overview. *International Journal of Obesity*, **2006**; 30: 13–18.
27. **Erden F, Aksoy T.** G protein Aracılı Sinyal İletimi. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi* **1995**;2(3):298-303.
28. **Lodish H, Berk A, Kaiser CA, Krieger M, Bretscher A, Ploegh H, Amon A, Scott MP.** Molecular cell biology. Seventh Edition. W.H. Freeman and Company, New York, **2012**.
29. **Nelson ME, Bryant SM, Aks SE.** Emerging drugs of abuse. *Emerg Med Clin Noth Am*, **2014**; 32: 1-28.
30. **Gunderson EW, Haughey HM, Ait-Doud N, Joshi AS, Hart CL.** A survey of synthetic cannabinoid consumption bu current cannabis users. *Subst Abuse*, **2014**; 35: 184 -9.
31. **Huffman JW, Dai D, Martin BR et al.** Design, synthesis and pharmacology of cannabimimetic indoles. *Bioorg Med Chem Lett*, **1994**; 4: 563-6.
32. **Zawilska JB, Andrzejczak D.** Next generation of novel psychoactive substances on the horizon- A complex problem to face. *Drug and Alcohol Dependence*, **2015**;157:1-17.
33. **Lindigkeit R, Boehme A, Eiserloh I, Luebbecke M, Wiggermann M, Ernst L et al.** Spice: A never ending story? *For Sci Int*, **2009**; 191: 58-63.
34. **McLachlan G.** Taking the spice out of legal smoking mixtures. *Lancet*, **2009**; 374:600.
35. **Vardakou I, Pistos C, Spiliopoulou C.** Spice drugs as a new trend: mode of action, identification and legislation. *Toxicol Lett*, **2010**;197:157-162.
36. **Camp NE.** Synthetic cannabinoids. *J Emerg Nurse*, **2011**; 37: 292-3,
37. **UNODC.** Synthetic cannabinoids in herbal products. United Nations Office on Drugs and Crime, **2011**.

38. **Winstock AR, Barrat MJ.** Synthetic cannabis: a comparison of patterns of use and effect profile with natural cannabis in a large global sample. *Drug Alcohol Depend*, **2013**;131:106-11.
39. **Rech MA, Donahey E, Dziedzic JM, Oh L, Greenhalgh E.** New Drugs of Abuse. *Pharmacotherapy* **2015**;35(2):189-197.
40. **Nakajima J, Takahashi M, Seto T, Suzuki J.** Identification and quantitation of cannabimimetic compound JWH-250 as an adulterant in products obtained via the internet. *Forensic Toxicol*, **2011**;29:51-55.
41. **Zawilska JB.** Legal highs- new players in the old drama. *Curr. Drug Abuse Rev*, **2011**;4:122-130
42. **Penn H, Langman LJ, Unold D, Shields J, Nichols JH.** Detection of synthetic cannabinoids in herbal incense products. *Clinical Biochemistry*, **2011**; 44: 1163-1165.
43. **EMCDDA.** Understanding the “Spice” phenomenon. Lisbon, **2009**.
44. **UNODC.** Synthetic cannabinoids in herbal products. Erişim: (https://www.unodc.org/documents/scientific/Synthetic_Cannabinoids.pdf) Erişim tarihi:05.06.2017
45. **Brents LK, Prather PL.** The K2/Spice Phenomenon: emergence, identification, legislation and metabolic characterazitaion of synthetic cannabinoids in herbal incense products. *Drug Metab Rev*, **2014**;46 (1):72-85.
46. **Dillon P, Copeland J.** Synthetic cannabinoids. *National cannabis prevention and information centre bulletin*, **2012**;13: 1-10.
47. **Akgül A, Aşcıoğlu F.** Uyuşturucu maddelerde yeni trendler ve erken uyarı sistemi. Örgütlü suçlar ve yeni trendler. Ankara, *Polis Akademisi yayınları*, **2011**; 29-56.
48. **Gürdal F, Aşırızder M, Gülhan Aker R, Korkut Ş, Küçükibrahimoğlu EE, Ince H.** Review of Detection Frequency and Type of Synthetic Cannabinoids in Herbal Compounds Analyzed by Istanbul Narcotic Department of the Council of Forensic Medicine, Turkey. *Journal of Forensic and Legal Medicine*,**2013**; (20): 667-672.
49. **Hudson S, Ramsey J.** The Emergence and Analysis of Synthetic Cannabinoids. *Drug Testing and Analysis*, **2011**; 3(7-8): 466-478.
50. **Aldigan A.** Chromatographic Analysis and Survey Studies to Evaluate the Emerging Drugs of Synthetic Cannabinoids in Scotland and Saudi Arabia. PhD Thesis, University of Glasgow, Scotland, **2016**.
51. **Advisory Council on the Misuse of Drugs Cannabinoids.** Third Generation Synthetic Cannabinoids, **2014**.
52. **EMCDDA.** Synthetic cannabinoids in Europe (Perspectives On Drugs),**2017**.
53. **Thomas B, Gilliam A, Burch D, Roche M, Seltzman H.** Comparative receptor binding analyses of cannabinoid agonists and antagonists. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutice*, **1998**; 285 (1): 285-92.
54. **Gurney SMR, Scott KS, Kacinko SL, Presley BC, Logan BK.** Pharmacology, Toxicology, and Adverse Effects of Synthetic Cannabinoid Drugs. *Forensic Science Review*, **2014**; 26(1): 54-77.

55. Huffman, J, Zengin G, Wu M, Lu J, Hynd G, Bushell, K, Thompson A. et al. Structure–activity relationships for 1-alkyl-3-(1-naphthoyl)indoles at the cannabinoid CB1 and CB2 receptors: steric and electronic effects of naphthoyl substituents. New highly selective CB2 receptor agonists. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2005**; 13(1): 89-112.
56. Hermanns-Clausen, M, Kneisel S, Szabo B, Auwärter V. Acute toxicity due to the confirmed consumption of synthetic cannabinoids: clinical and laboratory findings. *Addiction*, 2013; 108(3): 534-544.
57. Kneisel, S, Teske J, Auwärter, V. Analysis of synthetic cannabinoids in abstinence control: long drug detection windows in serum and implications for practitioners. *Drug Testing and Analysis*, **2014**; 6 (1-2): 135-6.
58. Saito T, Namera, A, Miura N, Ohta S, Miyazaki S, Osawa M. et al. A fatal case of MAM-2201 poisoning. *Forensic Toxicology*, **2013**; 31(2): 333-337.
59. Poklis J, Amira D, Wise L, Wiebelhaus J, Haggerty B, Poklis A. Detection and disposition of JWH-018 and JWH-073 in mice after exposure to “Magic Gold” smoke. *Forensic Science International*, **2012**; 220(1–3): 91-96.
60. Peters F, Meyer M. In vitro approaches to studying the metabolism of new psychoactive compounds. *Drug Testing and Analysis*, **2011**; 3 (7-8): 483-495.
61. Wohlfarth A, Gandhi A, Pang S, Zhu M, Scheidweiler K, Huestis M. Metabolism of synthetic cannabinoids PB-22 and its 5-fluoro analog, 5F-PB-22, by human hepatocyte incubation and high-resolution mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **2014**; 406(6): 1763-1780.
62. De Brabanter, N, Esposito S, Tudela E, Lootens L, Meuleman P, Leroux-Roels G, et al. In vivo and in vitro metabolism of the synthetic cannabinoid JWH-200. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, **2013**; 27(18): 2115-2126.
63. Hutter M, Broecker S, Kneisel S, Auwärter V. Identification of the major urinary metabolites in man of seven synthetic cannabinoids of the aminoalkylindole type present as adulterants in 'herbal mixtures' using LC-MS/MS techniques. *Journal of Mass Spectrometry*, **2012**; 47(1): 54-65.
64. Erratico C, Negreira N, Norouzizadeh H, Covaci A, Neels H, Maudens K, et al. In vitro and in vivo human metabolism of the synthetic cannabinoid AB-CHMINACA. *Drug Testing and Analysis*, **2015**; 7(10): 866-876.
65. Zhang Q, Ma P, Iszard M, Cole R, Wang W, Wang, G. In vitro metabolism of R(+)-[2,3-dihydro-5-methyl-3-[(morpholinyl)methyl]pyrrolo[1, 2, 3-de]1,4 benzoxazinyl]-(1 naphthalenyl) methanone mesylate, a cannabinoid receptor agonist. *Drug Metabolism and Disposition*, **2002**; 30(10): 1077-86.
66. Kim, U, Jin M, Lee J, Han S, In M, Yoo H. Tentative identification of phase I metabolites of HU-210, a classical synthetic 203 cannabinoid, by LC–MS/MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **2012**; 64–65(0): 26-34.
67. Wintermeyer A, Moller I, Thevis M, Jubner M, Beike J, Rothschild M, et al. In vitro phase I metabolism of the synthetic cannabimimetic JWH-018. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **2010**; 398(5): 2141-53.
68. Diao X, Wohlfarth A, Pang S, Scheidweiler KB, Huestis MA. High-Resolution Mass Spectrometry for Characterizing the Metabolism of Synthetic Cannabinoid THJ-018 and Its 5-Fluoro Analog THJ-2201 after Incubation in Human Hepatocytes. *Clinical Chemistry*, **2016**; 62(1): 157-169.

69. **Diao X, Scheidweiler KB, Wohlfarth A, Zhu M, Pang S, Huestis MA.** Strategies to distinguish new synthetic cannabinoid FUBIMINA (BIM-2201) intake from its isomer THJ-2201: metabolism of FUBIMINA in human hepatocytes. *Forensic Toxicol*, **2016**; 34: 256–267.
70. **Sobolevsky T, Prasolov I, Rodchenkov G.** Detection of JWH-018 metabolites in smoking mixture post-administration urine. *Forensic Science International*, 2010; 200 (1-3): 141-7.
71. **Gunderson EW, Haughey HM, Ait-Daoud N, Joshi AS, Hart CL.** “Spice” and “K2” herbal highs: a case series and systematic review of the clinical effects and biopsychosocial implications of synthetic cannabinoid use in humans. *Am J Addict*, **2012**; 21: 320-6.
72. **Auwärter V, Dresen S, Weinmann W, Müller M, Pütz M, Ferreirós N.** Spice and other herbal blends: harmless incense or cannabinoid designer drugs? *J Mass Spectrom*, **2009**; 44(5): 832-7.
73. **Weaver MF, Hopper JA, Gunderson EW.** Designer Drugs 2015: Assessment and Management. *Addiction Science & Clinical Practice*, **2015**; 10: 8.
74. **Van Amsterdam J, Brunt T, Van den Brink W.** The adverse health effects on synthetic cannabinoids with emphasis on psychosis-like effects. *Journal of Psychopharm*, **2015**; 29 (3): 254-263.
75. **Hermanns-Clausen M, Kithinji J, Spehl M, Angerer V, Franz F, Eyer F, Auwärter V.** Adverse effects after the use of JWH-210- a case series from the EU Spice II plus Project. *Drug Testing Analysis*, **2016**; 8 (10): 1030-1038.
76. **Gunderson EW, Haughey HM, Ait-Daoud N, Joshi AS, Hart CL.** A survey of synthetic cannabinoid consumption by current cannabis users. *Subst Abus*, **2014**; 35: 184-9.
77. **Vandrey R, Dunn KE, Fry JA, Girling Er.** A survey study to characterize use of Spice products (synthetic cannabinoids). *Drug Alcohol Depend*, **2012**; 120: 238-41.
78. **Brewer TL, Collins M.** A review of clinical manifestations in adolescent and young adults after use of synthetic cannabinoids. *J Spec Pediatr Nurs*, **2014**; 19: 119-26.
79. **Bhanushali GK, Jain G, Fatima H, Leisch LJ, Thornley-Brown D.** AKI associated with synthetic cannabinoids: a case series. *Clin J Am Soc Nephrol*, **2013**; 8: 523-6.
80. **Kazory A, Aiyer R.** Synthetic marijuana and acute kidney injury: an unforeseen association. *Clin Kidney J*, **2013**; 6: 330-3.
81. **Hermanns-Clausen M, Kneisel S, Szabo B, Auwärter V.** Acute toxicity due to the confirmed consumption of synthetic cannabinoids: clinical and laboratory findings. *Addiction*, **2013**; 108: 534-44.
82. **Mir A, Obafemi A, Young Kane C.** Myocardial infarction associated with use of the synthetic cannabinoid K2. *Pediatrics*, **2011**; 128: 1622-7.
83. **Orsini J, Blaak C, Tam E, Rajayer S, Morante J, Yeh A, Butala A.** The wide and unpredictable scope of synthetic cannabinoids toxicity. *Case reports in critical care*, **2015**; 1-5.
84. **Sağ S, Güngören F, Ceğilli E, Serdar OA, Aydınlar A.** Acute anterior myocardial infarction following single dose synthetic cannabinoid (Bonsai) use: Case report. *Türkiye Klinikleri J Case Rep*, **2016**; 24(2): 131-3.

85. Labay LM, Caruso JL, Gilson TP, Phipps RJ, Knight LD, Lemos NP, McIntyre IM, Stoppacher R, Tormos LM, Wiens AL, Williams E, Logan BK. Synthetic cannabinoid drug use as a cause or contributory cause of death. *Forensic Science International*, **2016**; 260: 31-39.
86. Shanks KG, Behonick GS. Death after use of the synthetic cannabinoid 5F-AMB. *Forensic Science International*, **2016**; 262: 21-24.
87. Seely KA, Lapoint J, Moran JH, Fattore L. Spice drugs are more than harmless herbal blends: a review of the pharmacology and toxicology of synthetic cannabinoids. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, **2012**; 39(2): 234-243.
88. Zuba D, Byrska B, Maciow M. Comparison of “herbal highs” composition. *Anal Bioanal Chem*, **2011**;400:119-126.
89. Gluodenis TJ. Identification of synthetic cannabinoids in herbal incense blends. *Forensic magazine*, **2011**. Erişim tarihi: 25.03.2014.
90. Simões SS, Silva I, Ajenjo AC, Dias MJ. 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 markets. *Forensic Science International*, **2014**; 243:117-125.
91. Wurita A, Hasegawa K, Minakata K, Watanabe K, Suzuki O. A large amount of new designer drug diphenidine coexisting with a synthetic cannabinoid 5-fluoro-AB-PINACA found in a dubious herbal product. *Forensic Toxicol*, **2014**; 32: 331-337.
92. Uchiyama N, Matsuda S, Kawamura M, Kikura-Hanajiri R, Goda Y. Two new-type cannabimimetic quinolinyl carboxylates, QUPIC and QUICHIC, two new cannabimimetic carboxamide derivatives, ADB-FUBINACA and ADBICA, and five synthetic cannabinoids detected with a thiophen derivate α -PVT and an opioid receptor agonist AH-7921 identified in illegal products. *Forensic Toxicol*, **2013**; 31:223-240.
93. Nakajima J, Takahashi M, Seto T, Kanai C, Suzuki J, Yoshida M, Hamano T. Identification and quantitation of two benzoylindoles AM-694 and (4-methoxyphenyl)(1-pentyl-1H-indol-3-yl) methanone, and three cannabimimetic naphthoylindoles JWH-210, JWH-122, and JWH-019 as adulterants in illegal products obtained via the internet. *Forensic Toxicology*, **2011**; 29: 95-110.
94. Uchiyama N, Kawamura M, Kikura-Hanajiri R, Goda Y. Identification of two new-type synthetic cannabinoids, N-(1-adamantyl)-1-pentyl-1H-indole-3-carboxamide (APICA) and N-(1-adamantyl)-1-pentyl-1H-indazole-3-carboxamide (APINACA), and detection of five synthetic cannabinoids, AM-1220, AM-2233, AM-1241, CB-13(CRA-13), and AM-1248, as designer drugs in illegal products. *Forensic Toxicol*, **2012**; 30(2):114-125.
95. Prabu S, Suriyaprakash T. Extraction Of Drug From The Biologicalmatrix: A Review. *Applied Biological Engineering – Principles And Practice*, Croatia; **2012**; 479-506.
96. Moffat AC, Osselton MD, Widdop B. Clarke’s Analysis of Drugs and Poisons. Pharmaceutical Press, Fourth Edition,
97. Skoog DA, Holler FJ, Nieman TA. Enstrümental analiz ilkeleri kitabı. Bilim Yayıncılık, Birinci Baskı, **1997**.
98. Favretto D, Pascali JP, Tagliaro F. New challenges and innovation in forensic toxicology: Focus on the “New Psychoactive Substances”. *Journal of Chromatography A*, **2013**; 1287: 84-95.

99. **Namera A, Kawamura M, Nakamoto A, Saito T, Nagao M.** Comprehensive review of the detection methods for synthetic cannabinoids and cathinones. *Forensic Toxicol*, **2015**; 33: 175-194.
100. **ElSohly MA, Gul W, Wanas AS, Radwan MM.** Synthetic cannabinoids: analysis and metabolites. *Life Sciences*, **2014**; 97: 78-90.
101. **Vikingsson S, Gréen H, Brinkhagen L, Mukhtar S, Josefsson L.** Identification of AB-FUBINACA metabolites in authentic urine samples suitable as urinary markers of drug intake using liquid chromatography quadrupole tandem time of flight mass spectrometry. *Drug Testing Analysis*, **2016**; 8(9): 950-6.
102. **Knittel JL, Holler JM, Chmiel JD, Vorce SP, Magluilo J, Levine B, Ramos G, Bosy TZ.** Analysis of parent synthetic cannabinoids in blood and urinary metabolites by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Analytical Toxicology*, **2016**; 40: 173-186
103. **Ibáñez M, Bijlsma L, van Nuijs ALN, Sancho JV, Haro G, Covaci A, Hernández F.** Quadrupole-time-of flight mass spectrometry screening for synthetic cannabinoids in herbal blends. *Journal of mass spectrometry*, **2013**, 48: 685-694.
104. **Grigoryev A, Savchuk S, Melnik A, Moskaleva N, Dzhurko J, Ershov M, Nosyrev A, Vedenin A, Izotov B, Zabirova I, Rozhanets V.** Chromatography-mass spectrometry studies on the metabolism of synthetic cannabinoids JWH-018 and JWH-073, psychoactive components of smoking mixtures. *Journal of Chromatography B*, **2011**; 879: 1126-1136.
105. **Kneisel S, Bisel P, Brecht V, Broecker S, Müller M, Auwärter V.** Identification of the cannabimimetic AM-1220 and its azepane isomer (N-methylazepan-3-yl)-3-(1-naphtoyl)indole in a research chemical and several herbal mixtures. *Forensic Toxicol*, **2011**; 29: 95-110.
106. **Zaitso K, Nakayama H, Yamanaka M, Hisatsune K, Taki K, Asano T, Kamata T, Katagi M, Hayashi Y, Kusano M, Tsuchihashi H, Ishii A.** Erratum to: High-resolution mass spectrometric determination of the synthetic cannabinoids MAM-2201, AM-1220, AM-2232, and their metabolites in postmortem plasma and urine by LC/Q-TOFMS. *Int J Legal Med*, **2016**; 130:309-316.
107. **Freijo TD, Harris SE, Kala SV.** A rapid quantitative method for the analysis of synthetic cannabinoids by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of analytical toxicology*, **2014**; 38: 466-478.
108. **Wohlfarth A, Scheidweiler KB, Chen X, Liu H, Huestis MA.** Qualitative confirmation of 9 synthetic cannabinoids and 20 metabolites in human urine using LC-MS/MS and library search. *Anal Chem*, **2013**; 85: 3730-3738
109. **Znalezona J, Ginterová P, Petr J, Ondra P, Válka I, Ševčík J, Chrástina J, Maier V.** Determination and identification of synthetic cannabinoids and their metabolites in different matrices by modern analytical techniques-a review. *Analytica Chimica Acta*, **2015**; 874: 11-25.
110. **Salomone A, Gerace E, D'Urso F, Di Corcia D, Vincenti M.** Simultaneous analysis of several synthetic cannabinoids, THC, CBD and CBN, in hair by ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. Method validation and application to real samples. *Journal of mass spectrometry*, **2012**; 47: 604-610.
111. **Kneisel S, Auwärter V.** Analysis of 30 synthetic cannabinoids in serum by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry after liquid-liquid extraction. *Journal of Mass Spectrometry*, **2012**; 47: 825-835.

112. Tynon M, Homan J, Kacinko S, Ervin A, McMullin M, Logan BK. Rapid and sensitive screening and confirmation of thirty-four aminocarbonyl/carboxamide (NACA) and arylindole synthetic cannabinoid drugs in human whole blood. *Drug Testing Analysis*, **2017**; 9(6):924-934.
113. Dziadosz M, Weller JP, Klintschar M, Teske J. Scheduled multiple reaction monitoring algorithm as a way to analyse new designer drugs combined with synthetic cannabinoids in human serum with liquidchromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of chromatography-tandem mass spectrometry*, **2013**; 929: 84-89.
114. Chen MHH, Dip A, Ahmed M, Tan ML, Walterscheid JP, Sun H, Teng BB, Mozayani A. Detection and characterization of the effect of AB-FUBINACA and its metabolites in a rat model. *Journal of cellular biochemistry*, **2016**; 117: 1033-1043.
115. Moran CL, Le VH, Chimalakonda KC, Smedley AL, Lackey FD, Owen SN, et al. Quantative measurment of JWH-018 and JWH-073 metabolites excreted in human urine. *Analytical chemistry*, **2011**; 83: 4228-4236.
116. Möller I, Wintermeyer A, Bender K, Jübner M, Thomas A, Krug O, Schänzer W, Thevis M. Screening for the synthetic cannabinoid JWH-018 and its majör metabolites in human doping controls. *Drug testing and analysis*, **2011**; 3: 609-620.
117. Scheidwiler KB, Huestis MA. Simultaneous quantification of 20 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*, **2014**; 1327: 105-117.
118. Knittel JL, Holler JM, Chmiel JD, Vorce SP, Magluilo J, Levine B, Ramos G, Bosy TZ. Analysis of parent synthetic cannabinoids in blood and urinary metabolites by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Analytical Toxicology*, **2016**;40: 173-186.
119. Borg D, Tverdovsky A, Stripp R. A fast and comprehensive analysis of 32 synthetic cannabinoids using Agilent Triple Quadropole LC/MSMS. *Journal of analytical toxicology*, **2017**; 41: 6-16.
120. Dowling G, Regan L. A method for CP-47,497 a synthetic non-traditional cannabinoid in human urine using liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of chromatography B*, **2011**; 879: 253-259.
121. Emerson B, Durham B, Gidden J, Lay JO. Gas chromatography-mass spectrometry of JWH-018 metabolites in urine samples with direct comparison to analytical standards. *Forensic Science International*, **2013**; 229:1-6.
122. Lichtman AH, Poklis JL, Poklis A, Wilson DM, Martin BR. The pharmacological activity of inhalation exposure to marijuana smoke in mice. *Drug and Alcohol Dependence*, **2001**; 63: 107–116.
123. TUBİM. 2016-2018 Uytutucu-Uyuşturucu Madde Strateji Belgesi. Erişim:<http://www.narkotik.pol.tr/TUBIM/Documents/>, Erişim tarihi:15.08.2017.
124. UNODC. Drug 2016 Report, New York, **2016**.
125. Sanal Y. Tedavi Sürecindeki Bağımlıların Sentetik Kannabinoid Kullanım Örüntüleri ve Algıları. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü, **2016**.
126. Telepchak MJ, Augst TF, Chaney GC. Forensic and clinical appliciations of solid phase extraction. Human Press, New Jersey, **2004**;1-40.

127. **Kayaalp O.** Rasyonel tedavi yönünden Tıbbi Farmakoloji. Hacettepe Taş Kitapçılık. Sekizinci basım, 1. Cilt, 1998, 42-55.
128. **Bilgili B, Haliloğlu M, Cinel İ.** Sepsis ve Akut Böbrek Hasarı. *Turk J Anaesth Reanim*, **2014**; 42: 294-301.
129. **Zarifi C, Vyas S.** Spice-y Kidney Failure: A case report and systematic review of acute kidney injury attributable to the use of synthetic cannabis. *The permanente Journal* **2017**; 21:16-160.
130. **Srisung W, Jamal F, Prabhakar S.** Synthetic cannabinoids and acute kidney injury. Baylor University Medical Center Proceedings, **2015**; 28(4):475-477.
131. **Gudsoorkar VS, Perez JA.** A new differential diagnosis: Synthetic cannabinoids-associated acute renal failure. *Houstonmethodist*, **2015**; XI(3): 189-191.
132. **Wiebelhaus JM, Poklis JL, Vann RE, Lichtman AH, Wise LE.** Inhalation Exposure to Smoke from Synthetic “Marijuana” Produces Potent Cannabimimetic Effects in Mice. *Drug Alcohol Depend*, **2012**; 126(3): 316-323.

ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı : Pınar EFEOĞLU ÖZŞEKER
Doğum Tarihi : 21.01.1984, Adana
Adres : Aliya İzzet Begoviç Bulvarı 75492 Sok. Prestige Sitesi
ABlok 8/15 Seyhan/ADANA
Cep telefon : +90-530- 2063143
E-mail : pnrefeoglu@gmail.com
EĞİTİM :

Çukurova Üniversitesi- Yabancı Diller Merkezi (2002-2003)	İngilizce Hazırlık Eğitimi
Çukurova Üniversitesi-Fen Edebiyat Fakültesi (2003-2007)	Kimya Bölümü Lisans Eğitimi
Çukurova Üniversitesi-Tıp Fakültesi-Adli Tıp Anabilim Dalı (2007-2010)	Yüksek Lisans-Adli Tıp Uzmanlığı
Çukurova Üniversitesi-Tıp Fakültesi-Adli Tıp Anabilim Dalı (2011-)	Doktora- Adli Tıp

Evlilik Durumu : Evli

Yabancı Dil : İngilizce

Yüksek Lisans Tez Başlığı: Kokain ve ana metaboliti benzoilekgoninin tavşan kılında ve kanında GC/MS ile belirlenmesi

Doktora Tez Başlığı: İnhalasyon yolu ile kannabimimetik etki gösteren bitkisel ürünlere maruz kalan ratların biyolojik örneklerinde sentetik kannabinoid tespiti

II. BİLİMSEL ARAŞTIRMA ve YAYINLAR

A. Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

A1. Daglıoğlu N, Gülmen MK, Akcan R, **Efeoglu P**, Yener F, Unal I. Determination of organochlorine pesticides residues in human adipose tissue, data from Cukurova, Turkey. Bull Environ Contam Toxicol. **2010** Jul;85(1):97-102.

A2. Daglıoğlu N, Akcan R, Gulmen MK, Yener F, **Efeoglu P.** Pesticide intoxications in cukurova, Turkey: three years analysis. *Hum.Exp.Toxicol.* **2011**; 30(12),1892-1895.

A3. Daglıoğlu N, Akcan R, **Efeoglu P**, Inandıklioğlu N, Gülmen MK, Demirhan O. Polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in amniotic fluids of pregnant women in South-central Turkey. *Toxicological&Environmental Chemistry.* **2013**; 95(6),954-961.

A4. **Efeoglu P**, Daglıoğlu N, Hilal A, Yıldız F, Gülmen MK. Determination of cocaine and its major metabolite benzoylecgonine in rabbit hair by GC/MS. *Romanian Journal of Legal Medicine.* **2013**;21:111-114.

B. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (*Proceedings*) basılan bildiriler:

B1. Dağlıoğlu N, Akcan R, Yener F, **Efeoglu P**, Çekin N. Determination of serum ethanol in clinical cases: comparison of enzymatic and gas chromatographic method. 4th Mediterranean Academy of Forensic Sciences Meeting, Antalya October 14-18, 2009.

B2. Dağlıoğlu N, Akcan R, Yener F, **Efeoglu P**, Hilal A. Determination of organophosphorus pesticides in biological samples by head-space solid-phase microextraction. 4th Mediterranean Academy of Forensic Sciences Meeting, Antalya October 14-18, 2009.

B3. Dağlıoğlu N, Akcan R, , **Efeoglu P**, Yener F, Gülmen MK. Solid-phase microextraction gas chromatographic/mass spectrometric analysis of endosulfan and its metabolites in human biological samples. 4th Mediterranean Academy of Forensic Sciences Meeting, Antalya October 14-18, 2009.

B4. Altinkaya Ö, Battal D, Daglıoğlu N, Gülmen M, **Efeoglu P.** A Detailed overlook at Turkey's situation in international drug trafficking. 4th Mediterranean Academy of Forensic Sciences Meeting, Antalya October 14-18, 2009.

B5. Daglioglu N, Akcan R, Gülmen MK, Yener F, **Efeoglu P**. Detection of acute diazinon exposure in postmortem bone samples. American Academy of Forensic Sciences 63rd. Annual Scientific Meeting, Chicago, USA February 21-26, 2011.

B6. Dağlıoğlu N, **Efeoglu P**, Gülmen MK. Detection of cannabinoids, opiates and metabolites in human hair samples by gas chromatography/mass spectrometry. 22 nd Congress of the International Academy of Legal Medicine, İstanbul, Türkiye July 5-8, 2012.

B7. Efeoglu P, Kilercioğlu S, Dağlıoğlu N, Özak AA, Gülmen Kilercioğlu B, Cengizler I. Determination of POPs in European SeaBass (*Dicentrarchus labrax*) and ELS Catfish (*Silurus glanis*) from the Eastern Mediterranean Region of Turkey. Awareness Raising Workshop: Pesticides residues in closed cropping and organic pollutants in the Turkish Environment, 10-12 March 2014, Kuşadası, TURKEY

B8. Dağlıoğlu N, Gülmen Kilercioğlu B, Cengizler İ, Kilercioğlu S, **Efeoglu P**, Özak AA.-Analysis of PCBs and Organochlorine Pesticides in Blue Crabs (*Callinectes sapidus*) which were caught from Akyatan Lagoon. Awareness Raising Workshop: Pesticides residues in closed cropping and organic pollutants in the Turkish Environment, 10-12 March 2014, Kuşadası, TURKEY

B9. Efeoglu P, Dağlıoğlu N, Şhin M, Bilen A, Cekin N, Gülmen MK. Morphine or Cocaine: “Dig it out” 1st Regional TIAFT Meeting in Turkey, 8-10 May 2014, İzmir

B10. Dağlıoğlu N, Şahin M, **Efeoglu P**, Gören IE, Cekin N, Gülmen MK. Validation of an LC-MSMS(QTRAP) method for the rapid screening and identification of drugs in Forensic Toxicology whole blood samples 1st Regional TIAFT Meeting in Turkey, 8-10 May 2014, İzmir

B11. Efeoglu P, Cekin N, Dağlıoğlu N, Kaya A, Eren T. Carbonmonoxide Poisoning in Divers: A case report. World Forensic Festival, 12-18 October 2014, Seul, Kore

B12. Dağlıoğlu N, **Efeoglu P**, Gülmen MK, Ahmedova A, Ozgunen FT. Distribution of Organochlorine Pesticides in PCBs Umbilical Cord and Maternal Blood; Data from Cukurova, Turkey. World Forensic Festival, 12-18 October 2014, Seul, Kore

B13. Efeoğlu P, Dağlıoğlu N, Gülmen MK, Gören İE. Evaluation of Cases Admitted to Cukurova University Forensic Toxicology Laboratory during the Period 2009-2014 June: A Retrospective Study. American Academy of Forensic Sciences 67th. Annual Scientific Meeting, Orlando,USA February 16-21, 2015.

B14.Daglioglu N, Akcan R, Gülmen MK, Yener F, **Efeoğlu P.** Detection of acute diazinon exposure in postmortem bone samples. American Academy of Forensic Sciences 63th. Annual Scientific Meeting, Chicago,USA February 21-26, 2011.

B15. Efeoğlu P, Hilal A, Daglioglu N, Yıldız F, Gülmen MK. Determination of cocaine and its major metabolite benzoylecgonine in rabbit hair by GC/MS. 22 nd Congress of the International Academy of Legal Medicine, İstanbul, Türkiye July 5-8, 2012.

B16. Gören İE, Dağlıoğlu N, **Efeoğlu Özşeker P,** Gülmen MK. Drug of Abuse Testing in Blood: Statistical Approach and Experimental Comparison Randox Evidence® and LC/MSMS. 2nd Regional Tiaft Meeting in Turkey, Antalya, Türkiye October 30-02 November, 2016.

B17. Kocatürk Sel S, Dağlıoğlu N, **Efeoğlu Özşeker P,** Oksuz H, Gülmen MK, Luleyap H, Yılmaz MB. Pharmacogenetic Analysis of CYP2D6 and CYP2C9 Genes in Drug Addicted Postmortem Subjects. 2nd Regional Tiaft Meeting in Turkey, Antalya, Türkiye October 30-02 November, 2016.

B18. Efeoğlu Özşeker P, Dağlıoğlu N, Gören İE, Efeoğlu F, Ketre O. Frequency of Alcohol and Drug of Abuse Observed in Drivers in Traffic Crash in Adana. 2nd Regional Tiaft Meeting in Turkey, Antalya, Türkiye October 30-02 November, 2016. (Oral presentation)

B19. Döğer R, **Efeoğlu Özşeker P,** Gören İE, Dağlıoğlu N, Akgür SA. Development and Validation of LC-MSMS Assay Following SPE for Analysis of Amphetamine Type Stimulants (ATS) in Hair. 2nd Regional Tiaft Meeting in Turkey, Antalya, Türkiye October 30-02 November, 2016.

B20. Kocatürk Sel S, Dağlıoğlu N, **Efeoğlu Özşeker P,** Oksuz H, Gülmen MK, Luleyap H, Yılmaz MB. Cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) polymorphisms in the

drug abused postmortem subjects from South Turkey. The European Human Genetics Conference, Barcelona, Spain, 21-24 May 2016.

B21. Dağlıoğlu N, Akgür SA, **Efeoglu Özseker P**, Gören İE, Ketre O, Efeoglu F. Evaluation of Drug Abuse Cases Admitted to Cukurova University Forensic Toxicology Laboratory between 2014 and 2015: A Retrospective Study. 54th Annual Meeting of the International Association of Forensic Toxicologists (TIAFT), Brisbane, Australia, 28 Augst-1 September 2016.

C. Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

C1. Dağlıoğlu N, Keten A, **Efeoglu P**, Çekin N. Kan etanol düzeylerinin belirlenmesi: enzimatik ve gaz kromatografik yöntemin karşılaştırılması, Adli Tıp Dergisi. **2012**;26(3):165-70.

C2. **Efeoglu P**, Dağlıoğlu N, Gülmen MK. Adli Toksikoloji Laboratuvarında Standardizasyon. Adli Tıp Dergisi. **2013**; 27(2): 113-121.

C3. **Efeoglu P**, Dağlıoğlu N, Hilal A, Gülmen MK. Cinsel saldırılarda kullanılan ilaçlar: Özellikleri ve toksikolojik incelemeleri. Archives Medical Review Journal. **2013**; 22(3):417-424.

C4. Gören İE, Duysak MI, Dağlıoğlu N, **Efeoglu P**, Gülmen MK. 2008-2012 yılları arasında adli toksikoloji laboratuvarına gelen olguların değerlendirilmesi. Cukurova Medical Journal. **2013**;38(4):675-680.

C5. Dağlıoğlu N, **Efeoglu P**, Gülmen MK, Cekin N. Akut endosülfan zehirlenmesinde postmortem organ dağılımı: Olgü sunumu. Cukurova Medical Journal. **2013**;38(3):515-519.

C6. Gören İE, Dağlıoğlu N, **Efeoglu P**, Gülmen MK. Kimyasal savaş ajanları ve metabolitlerinin biyolojik örneklerde adli toksikolojik analizi. Adli Tıp Dergisi, **2014**;28(2):154-163.

C7. **Özseker Efeoglu P**, Dağlıoğlu N, Gülmen MK. İlaçların postmortem yeniden dağılımı: Toksikolojik örnek alma, veri değerlendirme ve yorumlama. Adli Tıp Bülteni, **2015**;20(2):123-126.

C8. Efeoglu P, Dağlıoğlu N, Gören İE, Gülmen MK, Hilal A. Kargaşa kontrol ajanı olarak kullanılan biber gazının toksikolojik değerlendirilmesi: Bir olgu sunumu. Adli Tıp Dergisi, **2015**;29(1):48-53

D. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

D1. Yener F, **Efeoglu P**, Battal D, Cekin N. 2006-2007 yıllarında Adana ve çevre illerdeki adli olgularda toksikolojik analiz sonuçlarının değerlendirilmesi. 8. Adli Bilimler Kongresi.15-18 Mayıs 2008, Kocaeli.

D2. Efeoglu P, Dağlıoğlu N, Yener F. Adli Toksikoloji Laboratuvarında Standardizasyon. ATUD 8. Ulusal Adli bilimler Sempozyumu. 14-18 Ekim 2009, Antalya.

D3. Efeoglu P, Dağlıoğlu N, Gülmen MK. Legal Marihuana: Synthetic cannabinoids.8. Uluslar arası katılımlı Türk Toksikoloji Derneği Kongresi, 15-18 Kasım 2012, Antalya

D4. Efeoglu P, Dağlıoğlu N, Gören İE, Gülmen MK, Hilal A. Savunma silahı olarak kullanılan biber gazının toksikolojik değerlendirmesi: Bir olgu sunumu. Uluslararası katılımı 10. Anadolu Adli Bilimler Kongresi. 30 Ekim-2 Kasım 2013, Malatya.

D5. Efeoglu P, Dağlıoğlu N, Zeren C, Gülmen MK. Psikiyatri servisine başvuran hastaların saç ve göğüs kılında 11-nor- Δ^9 -tetrahydrocannabinol-9-karboksilik asit (THCCOOH)'in konsantrasyonlarının karşılaştırma çalışması. 12.Anadolu Adli Bilimler Kongresi 4-6 Haziran 2015, Isparta.

D6. Dağlıoğlu N, Gören İE, Gülmen MK, **Efeoglu P**. İlaç Uygulanan Domuzların Postmortem Doku ve Kemiklerinde İlaç Dağılımının Belirlenmesi, 12.Anadolu Adli Bilimler Kongresi 4-6 Haziran 2015, Isparta.

Ödüller

1- TIAFT Grant, 2017 Florida USA

Katıldığı Kurs, Eğitim ve Seminerler

1. ISO 9001:2000 Kalite Yönetim sistemi Temel Eğitimi ve Dökümantasyon Eğitimi 29-30 Nisan 2006, Adana

2. ISO 22000:2005 Gıda Güvenliği Yönetim Sistemi&HACCP Temel Eğitimi ve Dökümantasyon Eğitimi, 29-30 Nisan 2006, Adana
3. “İnsan Sağlığı ve Çevrenin Korunmasında Toksikolojinin Rasyonel Kullanımı”,Türk Toksikoloji Derneği, 30 Mayıs- 1 Haziran 2009, Ankara
4. Forensic Toxicology Training, Erasmus Programme, 25.10.2009-22.01.2010, Portugal
5. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası, 26 Nisan-4 Mayıs 2010, Adana
6. Agilent Kromatografi Cihazlarındaki Son Gelişmeler ve Avantajlar, 12 Mayıs 2010, Adana.
7. Çevre ve Toksikoloji Sempozyumu, 22 Ekim 2010, Mersin.
8. Klinik Toksikoloji Kursu, 22-24 Aralık 2010, İstanbul
9. Addiction Course, 21-22 Ağustos 2011, İzmir.
10. Trafikte Alkol ve Uyuşturucu ile Etkin Mücadele Sempozyumu, 15-16 Ekim 2012, Manisa
11. TS EN ISO/IEC 17025 Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yeterliliği için Genel Şartlar Temel Eğitimi, Türk Standartları Enstitüsü, 20-21 Mayıs 2013, Adana
12. TS EN ISO/IEC 17025 Deney Laboratuvarlarının Yeterliliği için Genel Şartlar Dökümantasyon Eğitimi, Türk Standartları Enstitüsü, 22 Mayıs 2013,Adana
13. 4. Bilirkişilik Sempozyumu, Ankara Üniversitesi,8 Mayıs 2013, Ankara
14. Kromatografi ve Spektroskopi Çözümleri Semineri, Agilent NetKim, 26 Mart 2014,Adana
15. Kromatografide Son Gelişmeler ve MSMS Teknolojisi Semineri, Ant Teknik, 8 Nisan 2014, Adana

Üyesi olduğu meslek kuruluşları;

1. Türk Toksikoloji Derneği
2. Adli ve Klinik Toksikoloji Derneği
3. Uluslararası Toksikologlar Derneği TIAFT