MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

POSTMORTEM KAN ÖRNEKLERİNDE BAZI PSİKOAKTİF MADDELERİN LC-MS/MS İLE KANTİTATİF TAYİNİ VE METOT VALİDASYONU

ŞAFAK UZCAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Kimya Anabilim Dalı
Analitik Kimya Programı

DANIŞMAN
Prof. Dr. Ece KÖK YETİMOĞLU

EŞ-DANIŞMAN
Doç. Dr. Oya YETER

İSTANBUL, 2023

MARMARA UNIVERSITY

INSTITUTE FOR GRADUATE STUDIES
IN PURE AND APPLIED SCIENCES

QUANTITATIVE DETERMINATION AND METHOD VALIDATION OF SOME PSYCHOACTIVE SUBSTANCES IN POSTMORTEM BLOOD SAMPLES BY LC-MS/MS

ŞAFAK UZCAN

MASTER THESIS

Department of Chemistry

Thesis Supervisor

Prof. Dr. Ece KÖK YETİMOĞLU

Thesis CO- Supervisor

Doç. Dr. Oya YETER

ISTANBUL, 2023

MARMARA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Öğrencisi Şafak UZCAN'nın "**Postmortem Kan Örneklerinde Bazı Psikoaktif Maddelerin LC/MS-MS ile Kantitatif Tayini ve Metot Validasyonu**" başlıklı tez çalışması, …… tarihinde savunulmuş ve jüri üyeleri tarafından başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri

Prof.Dr. Adı SOYADI (Danışman)

Marmara Üniversitesi ..... (İMZA).....

Doç.Dr. Adı SOYADI (Üye)

Marmara Üniversitesi ..... (İMZA).....

Dr. Öğr. Üyesi Adı SOYADI (Üye)

Marmara Üniversitesi ..... (İMZA).....

ONAY

Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun …… tarih ve ……. sayılı kararı ile Şafak UZCAN'nın Kimya Anabilim Dalı Analitik Kimya Programında Yüksek Lisans derecesi alması onanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Prof. Dr. Adı SOYADI

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim ve tez çalışmalarım süresince bana rehberlik eden, her zaman destekleyici tutumuyla yanımda olduğumu hissettiren saygıdeğer hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Ece KÖK YETİMOĞLU'na

Tez çalışmalarım boyunca laboratuvarlarını ve analitik cihazlarını kullanmama olanak sağlayan Adli Tıp Kurumu Başkanı Dr. Öğr. Üyesi Hızır ASLIYÜKSEK ve Adli Tıp Kurumu Kimya İhtisas Dairesi Başkanı İsmail ATEŞ'e

Çalışma ve akademik hayatımda desteklerini esirgemeyen değerli ikinci tez danışmanım Doç. Dr. Oya YETER'e

Deneysel çalışmalarımda yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen Uzman Kimyager Ebru Aydın ALTEPE'ye

Tez sürecimin başından sonuna kadar bana yardımcı olan arkadaşım ve destekçim Psikolog Ahmet DEMİR'e, bu uzun yolda destekleriyle beni motive eden aileme ve tüm arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Mayıs, 2023 Şafak UZCAN

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **Vİİ**
SUMMARY ..... **İX**
SEMBOL LİSTESİ ..... **Xİ**
KISALTMALAR LİSTESİ ..... **Xİİ**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **Xİİİ**
TABLO LİSTESİ ..... **XİV**
1. GİRİŞ **15**
1.1. Psikoaktif Maddeler 15
1.2. Psikoaktif Maddelerin Tarihçesi 16
1.3. Adli Olgularda Psikoaktif Madde Kullanımı 19
1.4. Bazı Psikoaktif Maddeler ve Metabolitleri 22
1.4.1. Esrar *22*
1.4.1.1. THC-COOH 24
1.4.2. Amfetamin Tipi Stimülanlar *24*
1.4.2.1. Amfetamin 24
1.4.2.2. Metamfetamin 25
1.4.2.3. MDMA (Ekstazi) 26
1.4.2.4. MDA 27
1.4.3. Kokain ve Metabolitleri *27*
1.4.3.1. Kokain 27
1.4.3.2. Benzoilekgonin 29
1.4.3.3. Ekgonin Metil Ester 29
1.4.4. Opioidler *30*
1.4.4.1. Morfin 31
1.4.4.2. Kodein 32
1.4.4.3. Eroin 32
1.4.4.4. 6-MAM 33
1.5. Psikoaktif Maddelerin Tayininde Kullanılan Analitik Yöntemler 34
1.6. Adli Toksikolojik Analizlerde Kullanılan Biyolojik Örnekler 34
1.6.1. Postmortem Kan *34*
1.6.2. İdrar *35*
1.6.3. Burun Süründüsü *35*
1.7. Numune Hazırlanmasında Kullanılan Yöntemler 35
1.7.1. Ekstraksiyon Teknikleri *36*
1.7.1.1. Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu (LLE) 37
1.7.1.2. Katı Faz Ekstraksiyonu (SPE) 37
1.8. Numune Analiz Yöntemleri 39
1.8.1. LC–MS/MS yöntemi *39*
1.8.1.1. Pompa sistemi: 41
1.8.1.2. Analitik kolon: 41
1.8.1.3. İyon kaynağı: 42

1.8.1.4. Vakum sistemi 43
1.8.1.5. Analizör 45
1.8.1.6. Dedektör 45
1.8.1.7. Data kontrol ünitesi 45
1.8.2. Gaz kromatografisi (GC) Yöntemi 46
1.9. Metot Validasyonu 46
1.9.1. Seçicilik 46
1.9.2. Doğrusallık 47
1.9.3. Tespit Limiti ve Tayin Limiti 47
1.9.4. Doğruluk 48
1.9.5. Kesinlik 48
1.9.6. Tekrarlanabilirlik 48
1.9.7. Tekrarüretilebilirlik 49
2. GEREÇ VE YÖNTEM 50
2.1. Deneysel Çalışmada Kullanılan Araç ve Gereçler 50
2.1.1. Cihaz ve Aletler 50
2.1.2. Cihaz Parametreleri 51
2.2. Deneysel Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler 52
2.2.1. Kimyasal Maddeler ve Çözücüler 52
2.2.2. Çözeltiler 53
2.2.2.1. Hareketli Faz Çözeltisinin Hazırlanması 53
2.2.2.2. Ekstraksiyonda Çözeltileri 53
2.2.2.3. Standart Karışım Çözeltisinin Hazırlanma 53
2.2.2.4. Katı Faz Ekstraksiyonu (SPE) 53
2.2.3. Kalibrasyon için kan örneklerinin hazırlanması 54
2.2.4. LC/MS/MS Sistem Şartları 56
2.2.5. Validasyon Çalışmaları 57
2.2.5.1. Seçicilik 57
2.2.5.2. Doğrusallık 57
2.2.5.3. Tespit Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırı (LOQ) 57
2.2.5.4. Geri Kazanım 58
2.2.5.5. Kesinlik 58
3. BULGULAR 59
3.1. Metot Validasyonu 59
3.1.1. Seçicilik 59
3.1.2. Doğrusallık ve Kalibrasyon Eğrisi 61
3.1.3. Tespit Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırı (LOQ) 67
3.1.4. Geri Kazanım 68
3.1.5. Kesinlik 69
4. TARTIŞMA VE SONUÇ 81
5. KAYNAKÇA 86

ÖZET

POSTMORTEM KAN ÖRNEKLERİNDE BAZI PSİKOAKTİF MADDELERİN LC-MS/MS İLE KANTİTATİF TAYİNİ VE METOT VALİDASYONU

Psikoaktif maddeler, beynin işlevlerini değiştirerek algıda, ruh halinde, bilinçte ve davranışta geçici değişikliklere neden olan kimyasal maddelerdir ve bu etki ilk olarak merkezi sinir sisteminde görülür. Psikoaktif maddeler farklı amaçlarla kullanılabilirler. Bazıları eğlence, ritüel, spritüal, zihni inceleme ya da tedavi amacıyla bilinç düzeyini değiştirmek için kullanılırlar. Avrupa, yasadışı psikoaktif maddeler için önemli bir pazar oluştururken, ülkemizde de birçok yeni ve farklı psikoaktif madde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu çalışmanın amacı, postmortem kan örneklerinde morfin, kodein, 6-MAM, amfetamin, metamfetamin, MDMA, MDA, THC-COOH, benzoilekgonin, ekgonin metil ester ve kokain gibi bazı psikoaktif maddelerin ve metabolitlerinin tespit edilmesi ve kantitatif olarak tayin edilmesidir. UV ya da floresans spektrofotometre, immünolojik ve radyo-reseptör analizleri, psikoaktif maddelerin tespit edilmesi ve miktar tayinleri için kullanılan yöntemlerdir. Ancak, kütle spektrometresinin LC-MS, LC-MS/ MS, GC-MS gibi kromatografik sistemlerle birleştirilmesi, hassas ve seçici olması özellikleri sebebiyle daha uygundur. LC-MS/MS, hem kalitatif hem de kantitatif analizler için analitlerin incelenmesine olanak sağlar. Kompleks ortamlardaki tekli veya çoklu analitlerin analizi, eser miktarda bulunan maddelerin tespiti, ilaç etken maddelerinin yanı sıra safsızlık ve metabolitlerinin analizi, katkı maddeleri veya pestisitlerin gıda analizleri, kan, idrar, doku gibi biyolojik örneklerin analizlerinde yüksek hassasiyet ve doğrulukla sonuçlar elde edilebilir.

LC-MS/MS, eser miktarlardaki analitlerin tespiti için tercih edilen en hassas yöntemlerden biridir ve çoklu analit tayini yanı sıra numunedeki eser miktardaki analitlerin tayini için de uygundur. Bu yöntem, bileşenlerin miktarları, yapıları ve molekül ağırlıkları hakkında bilgiler verir. LC-MS/MS yöntemi, polar iyonik, termal kararsız ve uçucu olmayan bileşiklerin analizi de dahil olmak üzere geniş bir kullanım alanına sahiptir. Küçük farmasötik bileşiklerden büyük proteinlere kadar birçok farklı bileşiğin tayinine olanak tanır. Mevcut LC-MS/MS sistemi, 1000 bar basınçla çalışan bir sıvı kromatografi (LC) birimi ile üçlü kuadropolden oluşan bir kütle spektrometresi (MS/MS) içerir. Sistem, ESI (elektrosprey iyonizasyon) ve APCI (atmosferik basınç kimyasal iyonizasyon) iyon kaynakları içerir, bu da daha geniş bir analiz skalası elde etmeyi mümkün kılar. LC-MS/MS yöntemi, postmortem kan örneklerinin analizi için diğer yöntemlere göre daha hassas ve seçici olduğundan tercih edilmektedir. Postmortem kan örnekleri, analiz öncesinde katı faz ekstraksiyonu (SPE) ile analize uygun hale getirilir. SPE,

farklı tutucu maddelerin (adsorban) küçük ve tek kullanımlık ekstraksiyon kolonlarına doldurululup geçirilmesiyle pratik bir örnek hazırlama yöntemi oluşturur. Bugün birçok laboratuvarda etkili bir örnek hazırlama yöntemi olarak kullanılan SPE yöntemi, analitlerin daha hızlı ve daha verimli bir şekilde temizlenmesini sağlar. SPE, klasik sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemiyle karşılaştırıldığında daha hızlı, az çözücü gerektiren, emülsiyon oluşumunu engelleyen ve postmortem kan gibi karmaşık matrislerin temizlenmesinde daha etkili bir teknik olarak kabul edilir. Katı faz ekstraksiyonu ile daha temiz ekstraktlar ve yüksek geri kazanım oranları elde etmek mümkündür. Örnekler, SPE yöntemiyle hazırlanıp daha sonra viallere alınarak analizinin yapılması için LC-MS/MS cihazına verilir.

Anahtar Kelimeler: LC-MS/MS, Psikoaktif maddeler, Postmortem, Kan, Metot validasyonu, Adli bilimler

SUMMARY

QUANTITATIVE DETERMINATION AND METHOD VALIDATION OF SOME PSYCHOACTIVE SUBSTANCES IN POSTMORTEM BLOOD SAMPLES BY LC-MS/MS

Psychoactive substances are chemicals that cause temporary changes in perception, mood, consciousness and behavior by changing the functions of the brain, and this effect is first seen in the central nervous system. Psychoactive substances can be used for different purposes. Some are used to alter the level of consciousness for entertainment, ritual, spiritual, mental examination, or therapeutic purposes. While Europe constitutes an important market for illicit psychoactive substances, many new and different psychoactive substances are widely used in our country. The aim of this study is to detect and quantitatively determine some psychoactive substances and their metabolites such as morphine, codeine, 6-MAM, amphetamine, methamphetamine, MDMA, MDA, THC-COOH, benzoylecgonine, ecgonine methyl ester and cocaine in postmortem blood samples. UV or fluorescence spectrophotometer, immunological and radio-receptor analysis are methods used for the detection and quantification of psychoactive substances. However, combining mass spectrometry with chromatographic systems such as LC-MS, LC-MS/MS, GC-MS is more suitable due to its sensitive and selective features. LC-MS/MS allows analysis of analytes for both qualitative and quantitative analysis. Results can be obtained with high sensitivity and accuracy in the analysis of single or multiple analytes in complex environments, the detection of trace amounts, the analysis of drug active ingredients as well as their impurities and metabolites, food analysis of additives or pesticides, and analysis of biological samples such as blood, urine, and tissue.

LC-MS/MS is one of the most sensitive methods of choice for the detection of trace analytes and is suitable for the determination of trace analytes in the sample as well as multi-analyte determination. This method gives information about the amounts, structures and molecular weights of the components. The LC-MS/MS method has a wide range of uses, including the analysis of polar ionic, thermally labile and non-volatile compounds. It allows the determination of many different compounds, from small pharmaceutical compounds to large proteins.

The current LC-MS/MS system includes a liquid chromatography (LC) unit operating at 1000 bar and a triple quadrupole mass spectrometer (MS/MS). The system includes ESI (electrospray ionization) and APCI (atmospheric pressure chemical ionization) ion sources, making it possible to achieve a wider analysis scale. The LC-MS/MS method is preferred for the analysis of postmortem blood samples because it is more sensitive and selective than other methods.

Postmortem blood samples are made available for analysis by solid phase extraction (SPE) prior to analysis. SPE creates a practical sample preparation method by filling and passing different adsorbent materials into small and disposable extraction columns. The SPE method, which is used as an effective sample preparation method in many laboratories today, provides faster and more efficient cleaning of analytes. Compared to the classical liquid-liquid extraction method, SPE is considered a technique that is faster, requires less solvent, prevents emulsion formation, and is more effective in cleaning complex matrices such as postmortem blood. It is possible to obtain cleaner extracts and high recovery rates with solid phase extraction. The samples are prepared by SPE method and then taken into vials and given to the LC-MS/MS device for analysis.

Keywords: LC-MS/MS, Psychoactive substances, Postmortem, Blood, Method validation, Forensic sciences

SEMBOL LİSTESİ

Semboller	**Açıklamalar**
mm	**:** Milimetre
nm	**:** Nanometre
mg	**:** Miligram
µL	**:** Mikrolitre
ng	**:** Nanogram
°C	**:** Santigrat Derece
g	**:** Gram
ng/mL	**:** Milyarda Bir Birim
$\boldsymbol{R^2}$	**:** Determinasyon Katsayısı

KISALTMALAR LİSTESİ

Kısaltmalar	Açıklamalar
ACN	**:** Asetoniltiril
MeOH	**:** Metanol
LOQ	**:** Tayin Sınırı
LOD	**:** Tespit Sınırı
IS	**:** İç standart
LC-MS/MS	**:** Sıvı Kromatografisi – Kütle spektroskopisi/Kütle spektroskopi
MRM	**:** Çoklu Reaksiyon İzleme
SD	**:** Standart Sapma
RSD	**:** Bağıl Standart Sapma
UV	**:** Ultraviyole
IP	**:** İyon çifti
IC	**:** İyon Değişim
RT	**:** Alıkonma Zamanı
IUPAC	**:** Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği
SPE	**:** Katı Faz Ekstraksiyonu
THC	**:** Tetrahidrokannabinol
6-MAM	**:** 6-Monoasetilmorfin
DEHB	**:** Dikkat Eksikli ve Hiperaktivite Bozukluğu
UPLC	**:** Ultra Performans Sıvı Kromatografisi
ESI	**:** Elektro Sprey İyonizasyon
APCI	**:** Atmosferik Basınç Kimyasal İyonizasyon
AKB	**:** Atomik Kütle Birimi
MSS	**:** Merkezi Sinir Sistemi
TOF-MS	**:** Uçuş Süreli Kütle Spektrometrisi
GC/MS	**:** Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi

Şekil Listesi

Şekil 1.1: Kenevir bitkisi 22
Şekil 1.2: Esrar 23
Şekil 1.3: THC-COOH'ın kimyasal yapısı 24
Şekil 1.4: Amfetaminin kimyasal yapısı 24
Şekil 1.5: Metamfetaminin kimyasal yapısı 25
Şekil 1.6: Metamfetamin 25
Şekil 1.7: MDMA'in kimyasal yapısı 26
Şekil 1.8: Farklı şekillerde ekstazi örnekleri 26
Şekil 1.9: MDA kimyasal yapısı 27
Şekil 1.10: Kokainin kimyasal yapısı 27
Şekil 1.11: Kokain 28
Şekil 1.12: Benzoilekgoninin kimyasal yapısı 29
Şekil 1.13: Ekgonin metil esterin kimyasal yapısı 29
Şekil 1.14: Morfinin kimyasal yapısı 31
Şekil 1.15: Kodeinin kimyasal yapısı 32
Şekil 1.16: Eroinin kimyasal yapısı 32
Şekil 1.17: 6-MAM'in kimyasal yapısı 33
Şekil 1.18: SPE yöntemi ve SPE Cihazı 38
Şekil 1.19: Genel LC-MS/MS Çalışma Sistemi 41
Şekil 1.20: Analitik kolonun ayırma mekanizması 42
Şekil 1.21: İyon kaynağının bileşenleri 42
Şekil 1.22: ESI ve APCI propları 43
Şekil 1.23: Kütle analizörünün çalışma sistemi 44
Şekil 1.24: Moleküler iyonun parçalanması ve bu parçalanma ile ürün oluşumu 44
Şekil 1.25: Kuadrupollerin kısımları 45
Şekil 2.1: Genel SPE metodu 54
Şekil 2.2: Kan ekstraksiyonu şeması 56
Şekil 3.1: Kokain, kodein ve MDA'nın kromatogramları 59
Şekil 3.2: Metamfetamin, morfin ve THC-COOH'ın kromatogramları 59
Şekil 3.3: 6-MAM, amfetamin ve benzoilekgonin kromatogramları 60
Şekil 3.4: MDMA ve ekgoninin metil ester kromatogramları 60
Şekil 3.5: Morfin içeren kana ait kalibrasyon eğrisi 61
Şekil 3.6: Kodein içeren kana ait kalibrasyon eğrisi 61
Şekil 3.7: 6-MAM içeren kana ait kalibrasyon eğrisi 62
Şekil 3.8: Metamfetamin içeren kana ait kalibrasyon eğrisi 62
Şekil 3.9: Amfetamin içeren kana ait kalibrasyon eğrisi 63
Şekil 3.10: Kodein içeren kana ait kalibrasyon eğrisi 63
Şekil 3.11: MDMA içeren kana ait kalibrasyon eğrisi 64
Şekil 3.12: MDA içeren kana ait kalibrasyon eğrisi 64
Şekil 3.13: Benzoilekgonin içeren kana ait kalibrasyon eğrisi 65
Şekil 3.14: THC-COOH içeren kana ait kalibrasyon eğrisi 65
Şekil 3.15: Ekgonin metil ester içeren kana ait kalibrasyon eğrisi 66

Tablo Listesi

Tablo 2.1: Gradient akış programı 51
Tablo 2.2: Maddelerin m/z ve RT değerleri 52
Tablo 2.3: Kalibrasyonda kullanılan miktarlar 55
Tablo 3.1: Kan örnekleri için hazırlanmış kalibrasyonların denklemleri, doğrusal aralıkları ve $R2$ değerleri 66
Tablo 3.2: Morfin, kodein, amfetamin ve metamfetaminin LOD ve LOQ değerleri 67
Tablo 3.3: MDMA, MDA, kokain ve ekgonin metil esterin LOD ve LOQ değerleri 67
Tablo 3.4: 6-MAM, benzoilekgonin ve THC-COOH'ın LOD ve LOQ değerleri 67
Tablo 3.5: 5 ng/mL düzeyinde geri kazanım yüzde değerleri 68
Tablo 3.6: 25 ng/mL düzeyinde geri kazanım yüzde değerleri 68
Tablo 3.7: 50 ng/mL düzeyinde geri kazanım yüzde değerleri 69
Tablo 3.8: 5 ng/mL Morfin içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri 69
Tablo 3.9: 25 ng/mL Morfin içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri 69
Tablo 3.10: 50 ng/mL Morfin içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri 70
Tablo 3.11: 5 ng/mL Kodein içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri 70
Tablo 3.12: 25 ng/mL Kodein içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri 70
Tablo 3.13: 50 ng/mL Kodein içeren kanda tekrarlanabilirlik değerler 71
Tablo 3.14: 5 ng/mL 6-MAM içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri 71
Tablo 3.15: 25 ng/mL 6-MAM içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri 71
Tablo 3.16: 50 ng/mL 6-MAM içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri 72
Tablo 3.17: 5 ng/mL Amfetamin içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri 72
Tablo 3.18: 25 ng/mL Amfetamin içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri 72
Tablo 3.19: 50 ng/mL Amfetamin içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri 73
Tablo 3.20: 5 ng/mL Metamfetamin içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri 73
Tablo 3.21: 25 ng/mL Metamfetamin içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri 73
Tablo 3.22: 50 ng/mL Metamfetamin içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri 74
Tablo 3.23: 5 ng/mL MDMA içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri 74
Tablo 3.24: 25 ng/mL MDMA içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri 74
Tablo 3.25: 50 ng/mL MDMA içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri 75
Tablo 3.26: 5 ng/mL MDA içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri 75
Tablo 3.27: 25 ng/mL MDA içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri 75
Tablo 3.28: 50 ng/mL MDA içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri 76
Tablo 3.29: 5 ng/mL Kokain içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri 76
Tablo 3.30: 25 ng/mL Kokain içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri 76
Tablo 3.31: 50 ng/mL Kokain içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri 77
Tablo 3.32: 5 ng/mL Benzoilekgonin içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri 77
Tablo 3.33: 25 ng/mL Benzoilekgonin içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri 77
Tablo 3.34: 50 ng/mL Benzoilekgonin içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri 78
Tablo 3.35: 5 ng/mL Ekgonin Metil Ester içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri 78
Tablo 3.36: 25 ng/mL Ekgonin Metil Ester içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri 78
Tablo 3.37: 50 ng/mL Ekgonin Metil Ester içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri 79
Tablo 3.38: 5 ng/mL THC-COOH içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri 79
Tablo 3.39: 25 ng/mL THC-COOH içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri 79
Tablo 3.40: 50 ng/mL THC-COOH içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri 80

1. GİRİŞ

1.1. Psikoaktif Maddeler

Psikoaktif maddeler, vücuda alındıktan sonra beyin işlevlerini değiştiren; zihin süreçlerini etkileyen kimyasal maddelerdir. Bu maddeler kullanıldığında bireylerin algı, bilinç veya davranış süreçlerinde çeşitli farklılıklara yol açmaktadır (Dinç, 2019). Merkezi sinir sistemi (MSS) üzerinde etkisi olan ve bağımlılık yapma potansiyeli olan bu maddeler tıbbi uygulamalarda kullanılırken bazı bireylerce keyif verici madde olarak kullanılırken; bazı topluluklarda spritüal etkinliklerde kullanıldığı görülmektedir (Kaya Kılıç, 2012; Lawn ve ark., 2014). 20.yy. itibariyle kullanımı yaygınlaşmasıyla dikkatleri üzerine çeken psikoaktif maddeler mücadele edilmesi gereken bir sorun haline dönüşmeye başlamıştır. Öncelikli olarak bireyi etkilemekte olan bu maddeler bağımlılık yapmaları dolayısıyla kişinin maddeyi kullanmasının devam etmesine ve yaşamlarını bu maddeyi edinme hedefiyle geçirmelerine neden olmaktadır. Madde kullanımı ve bağımlılığı sonucunda kişilerin hem bedensel hem de ruh sağlığı etkilenmekte yaşamlarının birçok alanındaki işlevleri bozulmaktadır (Kaya Kılıç, 2012).

Beyin işlevlerini değiştirerek algı, bilinç, ruh hali ve davranışlarda çeşitli değişikliklere yol açan kimyasal maddeler olan psikoaktif ilaçlar, doktorlar ve diğer sağlık uzmanları tarafından reçete edilebilmektedir. Örneğin anestezikler, antiparkinson ilaçları, antidepresanlar, antipsikotikler ve uyarıcı çeşitli ilaçlar psikiyatrik ve nörolojik bozuklukların tedavisinde kullanılmaktadır. Bazı psikoaktif maddeler ise ilaca bağımlı kişilerin rehabilitasyonu süreçlerinde verilmektedir (Dinç, 2019).

Bağımlılığa neden olma süreçlerine bakıldığında bireyler ilk süreçte bu maddeleri bilinç ve ruh halinde rahatlama, öfori gibi sonuçları ulaşmak amacıyla ödüllendirici ve kuvvetlendirici olarak kullanmaktadır. Ödüllendirici olması ve aynı zamanda pozitif hali pekiştirici olması nedenli olarak negatif sonuçlarına rağmen bu maddeler tekrarlı şekilde alınmak istenir. Bu durum sonuç olarak bireylerde bağımlılığa yol açmaktadır. Ayrıca bazı psikoaktif maddelerin sürekli kullanımı kişide somatik ve psikolojik yoksunluk geliştirerek hem somatik hem de psikolojik olarak bağımlılığa yol açmaktadır (Dinç, 2019).

Psikoaktif maddeler genel olarak merkezi sinir sistemi yatıştırıcıları ve merkezi sinir sistemi uyarıcıları olarak iki kategoriye ayrılmaktadır. Yatıştırıcılar maddeler; narkotikler, barbitüratlar, inhalantlar ve sakinleştiricilerdir. Bireyler bunları alarak rahatlama, endişe ve acı duygularını azaltma, özgüvende artış ve öfori elde etmektedir. Uyarıcı türdeki maddeleri

aldıklarında ise bireyler aşırı düzeyde özgüven iyilik duygusu, uyanıklık, uyarılma, cesaret duygusunda artış gibi duygulara ulaşmaktadır. Bu maddeler arasında amfetaminler, LSD gibi halisünojenler ve kokain örnek olarak verilebilir (Ramo ve ark., 2010).

1.2. Psikoaktif Maddelerin Tarihçesi

Psikoaktif maddelerin tarihçesine bakıldığında insanlık tarihinin en eski zamanlarında dahi psikoaktif maddeler hastalıkları iyileştirici, keyif verici, ağrı kesici olarak kullanıldığı bilinmektedir. İlk insanlar, yaşadıkları çevrede bulunan bazı bitkilerin ruhsal yaşantıları üzerinde etkili olduğunu görmüşlerdir. Tarih boyunca bazı din ve inanışlarda psikoaktif maddeler yasaklanırken bazılarında ise dinsel törenlerde kullanılmıştır. 20. yüzyıla kadar doğadan alınan haliyle kullanılan bu maddeler ilkel toplumlarda gündelik bilinçten farklı bir bilince ulaşmak amacıyla çeşitli kabile ayinlerinde ve törenlerde kullanıldığı görülmektedir (Adalıer, 2006; Demirsoy, 1996). Psikoaktif maddelerin kullanımı milattan önce 4000'lü yıllara kadar dayanmakta olup hastalıkları tedavi etmek amacıyla en eski olarak Sümerlilerde rastlanmaktadır. Ayrıca arkeologlar tarafından Mezopotamya bölgesinde yapılan kazılarda haşhaş ve kenevir ekildiğine dair motifler içeren tabletlere de ulaşılmıştır (Altıntaş, 2018).

Afyon, milattan önce 1500'lü yıllarda yazılmış kaynaklarda ağrı, dindirici, uyuşturma gibi özellikleri olan bir ilaç şeklinde tanımlanmıştır. Sümerlerin Esrar ve Afyonun uyuşturucu etkisini keşfeden ilk uygarlıktır. Sümerlerin hastalıkların tedavisinde, ameliyatlarda hastalara acı çektirmemek için afyonu kullanıldığına dair bilgiler mevcuttur. Daha sonrasında afyonu İranlılar ve Mısırlılar kullanmış olup Avrupa ülkelerine afyonun Mısırlı tüccarlar tarafından götürüldüğü; Yunanların afyonu savaşta askerleri cesaretlendirmesi için kullandığı bilinmektedir. Afyonun hastalıklarda kullanılması için ilaç olarak tavsiye edildiği Hipokrat tarafından belirtilmiştir (Altıntaş, 2018).

Tarihsel olarak psikoaktif maddelerin etkisinin yaratılması amacıyla Aztek ve Maya Uygarlıklarında mantarların kullanıldığı; yine bu mantarların Asya kıtasındaki şaman ayinlerinde kullanıldığı bilinmektedir. Zorlu yaşam koşullarına adapte olmak için Güney Amerika yerlileri kokain kullanmaktaydı. Yine Hindu metinlerine bakıldığında esrarın kutsal bir yere sahip olduğu görülmektedir. Eski Roma ve Yunan uygarlıklarında ise afyon hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır (Adalıer, 2006). Afyonun sağlık ve neşe verici özelliğinin kullanımı ile suiistimali ilk olarak Haşhaşi Devleti'nde görülmektedir. Hasan

Sabbah fedailerine bu maddeyi kullandırarak bazı ülkelere suikastçı olarak yetiştirdiği belirtilmektedir (Altıntaş, 2018).

Tıp alanında kullanılmaya başlanan afyonu kaynak alarak 1806 yılında Friedric Wilhelm Adam Sertürner adlı eczacı asistanı morfini keşfetmiştir. Morfin olarak adlandırmasının sebebi ise morfin kelimesinin Morpheus'tan gelmesiydi. 1898 yılına gelindiğinde ise morfinin bağımlılığını araştıran Heinrich Dreser eroini bulmuştur. Bu buluş beraberinde psikoaktif madde kullanımına farklı boyutlar getirmiştir. Çeşitli toplumlarda tıbbi amaçlar, keyif verici olarak ya da törensel ayinlerde kullanılan psikoaktif maddeler tıp ve kimya alanındaki gelişmeler sonucunda üretimleri yasadışı hal almaya başlamıştır. Direkt olarak doğadan alınarak kullanılan maddeler yerini pazarlanan maddelere bırakmış, kötüye kullanım ve madde bağımlılığı gibi konular toplumların gündemi haline gelmiştir. Bu maddelerin tıp alanı dışında kullanımının yaratacağı olumsuz sonuçlar ilk kez 1909 yılında Şanghay Afyon Antlaşması ile resmi olarak kabul edilmiş olup yine bu konu sonrasında çeşitli antlaşmalarda yer almıştır. 1960'lı yıllara gelindiğinde endişeli boyut haline gelmiş; 1980'li yıllarda ise yaygın hale gelerek küçük çocuklar arasında kullanılmaya başlanmış ve vahim olarak nitelendirilecek duruma gelmiştir (Altıntaş, 2018; Demirsoy, 1996).

Türklerin psikoaktif madde ile ilk olarak ne zaman tanıştıklarına dair literatürde herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır (Demirsoy, 1996). Fakat Türk-İslam medeniyetlerine bakıldığında psikoaktif maddelerin kaynağını haşhaş ve kenevir bitkisi oluşturmuş bu durum Osmanlı'da da devam etmiştir. Kenevir ve haşhaş bitkileri Osmanlı'da tıp alanında kullanılmıştır. "Beng" adıyla anılan esrarın yanında afyon ve türevlerine, çeşitli ağrıların ve öksürük tedavisinde yaygın şekilde başvurulduğu tarih kaynaklarında yer almaktadır. Osmanlı İmparatorluğu'nun Klasik Dönemi'nden itibaren geleneksel usulle üretilen afyon, afyon macunları vs. ile esrar ve türevleri keyif verici maddeler olarak da kullanılmıştır (Göktepe, 2020). Haşhaş üretimi, afyon üretimi kullanımı ve sağlayanlara ilişkin yasalar ilk olarak Fatih Sultan Mehmet döneminde çıkmış; IV. Murat döneminde içki, afyon ve tütün kullanımı yasaklanmıştır (Demirsoy, 1996).

Osmanlı'da esrar, sıtma, gut gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmasının yanında ağrı kesici olarak da kullanılmaktaydı. Afyon ise en sık kullanılan ağrı kesici maddeydi. Tarihsel kaynaklara bakıldığında özellikle 14. yüzyıldan itibaren tıp eserlerinde afyona sıkça yer verildiği görülmektedir. Özellikle bel ağrılarına, sindirim sistemi problemlerine iyi geldiğine dair bilgiler yer almaktadır. Ağrı kesici olarak kullanılan afyon içeren çeşitli maddeler sadece toplumsal alanda çalışan hekimlerce değil aynı zamanda saray hekimlerince de kullanılmaktaydı. Osmanlı'da uyuşturucu özelliği bulunan maddeler aktarlarda satılmaktaydı.

Aktarlarda satılmasının amacı halk sağlığı ve şifa ürünlerine olan ihtiyaçtı. Fakat zamanla bazı aktarların uyuşturucu tiryakilerine sadece keyif için bu maddeleri sattıkları görüldüğünde devlet kullanımına dahil olmuş ve denetlemeye başlamıştır (Göktepe, 2020). Osmanlı'da Süleymaniye'de bulunan Tiryakiler Çarşısı afyon ve esrar satışıyla bilinmekteydi. Osmanlı döneminde afyondan çok esrar içilir ve birçok esrar kahvehanesi olduğu belirtilmektedir (Acar, 2006).

Esrar ve afyonun uyuşturucu olarak nitelendirilmesine dair tutum değişimi 19. yüzyılın sonlarında başlamıştır. Bu durumu en çok etkileyen faktör bağımlılık yapıcı yönlerinin olduğunun keşfedilmesidir. Bir diğer faktör ise afyondan morfin ve eroin elde edilmesinin uyuşturucu piyasasında yol açtığı sonuçtur. I. Dünya Savaşı gibi büyük savaşlarda askeri hastanelerde morfin sıklıkla kullanılmaktaydı. Özellikle savaş dönemi sonrasında tüm dünyada kullanımı yaygınlaşmıştı. 19. yüzyıl başında afyon ve türevleri sadece keyif veren madde olarak değil aynı zamanda ağrı kesici olarak evlerdeki ecza dolaplarında bulunmaktaydı. Keyif veren madde olarak kullanılan psikoaktif maddelerin arasına 20. yüzyıldan itibaren kokain ve morfin de katılmıştır. Özellikle tıp alanında lokal anestezi olarak kullanılan kokain diğer maddeler arasında yaygınlığı hızla artmıştır. 19. yüzyılla beraber psikoaktif maddelerin kullanımının artmasıyla bağımlılık tablosu hastalık olarak açıklanmaya başlanmıştır. Avrupa'da sanayileşmenin artması, kentleşme ve savaşların toplum üzerinde yarattığı stres gibi faktörler 20. Yüzyılın boyunca psikoaktif maddelerinde kötüye kullanımını arttırmıştır. Türkiye bakıldığında ise cumhuriyetin ilk yıllarında Beyoğlu semtinin eğlence sektöründe sıklıkla kokainin kullanıldığı belirtilmekte; psikoaktif madde kullanımına bağlı hastane yatışları kayıtlarda yer almaktadır. Ülkemizde 1936 yılından sonra yaygın olarak eroinin kullanıldığı görülmektedir. Bunun sebebi ise o dönemde devlet izniyle Japonların Fransızlarla ortaklaşa olarak açtığı eroin fabrikasında ürettikleri eroini, coşku ve neşe verici olarak tanıtarak tütüncülere satmasıdır. Fakat Cumhuriyet döneminde Türkiye uyuşturucu ile ilgili tüm uluslararası toplantılara katılmış olup bu toplantılarda alınan kararları desteklemiştir. 1930'lu yıllarda Japonlar tarafından açılan iki eroin fabrikasını yine aynı yıllarda kapatmıştır. (Altıntaş, 2018; Demirsoy,1996; Acar, 2006; Kılıç, 2016).

1960 yıllardan itibaren batılı ülkelerde esrar kullanımı artış göstermiştir. Esrar kullanımının yanında diğer psikoaktif maddelerin kullanımının da artmasıyla beraber 1975 yılına gelindiğinde ABD ve Avrupa ülkelerinde eroin kullanımı ciddi bir problem haline dönüşmüştür. Türkiye' de ise 1980 yıllardan itibaren kullanımı görülmeye başlanmıştır. (Demirsoy, 1996). Son 30, 40 yılda Pakistan, Afganistan, Burma gibi ülkelerde üretiminde ve

kullanımında artış olmuş; birçok Avrupa ülkesine bu ülkelerden psikoaktif maddeler ihraç edilmiştir (Acar, 2006). 1970'li yıllara gelindiğinde tüm dünyada yasal olmayan afyon trafiğinden Türkiye sorumlu tutulmuş ve bu konuda suçlanmıştır. Bu doğrultuda afyon üretimi Türkiye'de yasaklanmış sonrasında bu yasak afyondan geçimini sağlayan çok fazla insanın yoksullaşması dolayısıyla kaldırılmıştır (Altıntaş, 2018).

1970'lerden başlayarak önemli bir uğraş alanı haline gelen psikoaktif maddelerin kötüye kullanımı, çeşitli sloganlar, giyim tarzı ve müzik gibi çeşitli faktörler ile desteklenmesiyle yaygınlaşmış ve global bir sorun haline gelmiştir. Günümüzde bağımlılık yapıcı psikoaktif maddelerin üretimine ve dağıtımında en büyük pay terör örgütlerine aittir. Bu sebeple bu maddelerin üretimi ve bağımlılığı sadece halk sağlığı değil aynı zamanda güvenlik sorunu haline de gelmiştir (Uzbay, 2009).

1.3. Adli Olgularda Psikoaktif Madde Kullanımı

Yasal ve tıbbi açıdan birçok anlamda önlem alınmasına rağmen psikoaktif maddelerin kullanımı, toplum sağlığı açısından ciddi sorunu haline gelmiştir. Hem biyolojik hem psikolojik hem de sosyal açıdan çeşitli sorunlara yol açan maddelerin birçok alanda probleme yol açması nedeniyle psikoaktif maddelerin kullanımı konusuna multidisipliner şekilde yaklaşılması gerekmektedir. Kullanım bozukluğu gelişen kişilerde tedavi için psikiyatrik değerlendirmenin yanı sıra adli açıdan da önemli olmasından dolayı farklı bir yaklaşım gerekli olmakta ve Adli Tıp'ın da sürece dahil olması gerekmektedir (Gündüz, 2019).

Psikoaktif maddelerin bağımlılığı bu maddelerin zararlı veya tehlikeli kullanımı şeklinde tanımlanabilir. Daha detaylı açıklanırsa yinelenen şekilde psikoaktif madde alımı akabinde bu maddelerin tekrar alımı için karşı konulamaz bir istek, kullanımına dair kontrol kaybı; maddenin bedensel, ruhsal ve sosyoekonomik zararlarının farkında olmasına rağmen kullanmaya devam etmesi, diğer sosyal, ailevi ve mesleki faaliyetlerin önüne geçmesi, giderek artan miktarlarda kullanım ihtiyacının ortaya çıkması olarak tanımlanan toleransın gelişmesi ve bazı psikoaktif maddelerin kullanımına bağlı olarak fiziksel kesilme semptomlarının ortaya çıkmasıyla karakterize edilen bir durum olarak tanımlanmaktadır. Madde kullanım bozuklukları, toplum ruh sağlığı açısından önemli bir sorun olmasının yanı sıra, özellikle eşlik eden toplum karşıtı kişilik bozukluğuna sahip bireylerde toplum karşıtı davranışlar, suça yönelim ve düşmanlık gibi eylemlerin tetiklenmesini kolaylaştırmasıyla da dikkat çekici olmakta ve adli bilimlere konu olmaktadır (Ögel, Tamar, Evren ve Sır, 1999; Gündüz, 2019).

Psikoaktif madde kullanım bozukluğu sonucunda ortaya çıkabilecek bedensel ve ruhsal sorunlarla birlikte trafik kazaları, intihar girişimleri, suç davranışları, ailevi, mesleki ve ekonomik sorunlar gibi birçok faktörün bir araya gelmesi, durumun çok boyutlu bir biyopsikososyal problem olduğunu açıkça ortaya koymaktadır (Gündüz, 2019). Yapılan araştırmalar, psikoaktif madde kullanımının özellikle saldırganlık ve şiddet eylemleriyle birlikte suç davranışlarını tetiklediğini göstermektedir (Ögel, Tamar, Evren ve Sır, 1999; Gündüz, 2019). Madde kullanımının suçla ilişkisini araştıran çalışmalarda, madde kullanımının farklı aşamalarında meydana gelen durumlar, özellikle akut intoksikasyon, çekilme süreci, madde alımının ardından ortaya çıkan psikoz ve stimülan kullanımından sonra gelişen paranoya gibi durumlar şiddet içeren suç davranışlarıyla ilişkilendirilmektedir. Fakat çalışmalar madde kullanımıyla suç arasında net bir neden-sonuç ilişkisi gösterilememekle beraber, bazı çalışmalar suçla madde kullanımı arasında bir ilişki olduğunu ileri sürmektedir (Ögel, Tamar, Evren ve Sır, 1999; Arabacı, Gülsenay ve Dikeç; 2017). Ögel ve arkadaşlarının (1999) yaptıkları çalışmada suç işleme ile psikoaktif madde kullanımı arasında ilişki olduğu ek olarak hap kullanıcılarının suç işlemeye daha eğilimli olduklarını eroin kullananların daha çok maddeyle ilişkili suçlar işlediklerini belirtmişlerdir. Bireylerin kullandığı maddeler, duygusal yoğunluğun artmasına, hormonal ve fizyolojik değişimlere ve irrasyonel davranışlara neden olarak bilincin kontrol mekanizmasının zayıflamasına yol açabilir, bu da bireyi suç işlemeye yönlendirebilmektedir. Bununla birlikte, bazen kişi aldığı madde etkisi altında suça sürüklenirken, diğer durumlarda ise madde etkisi altında mağdur haline de gelerek adli süreçlere dahil olabilmektedirler (Arabacı, Gülsenay ve Dikeç; 2017)

Adli açıdan çocuk ve ergenlerin madde kullanımının konu olduğu çalışmalara bakıldığında ise kullanım yaygınlığının son yıllarda hem ülkemizde hem de dünyada artış gösterdiği görülmektedir. Bu artışın, gençlerin kurdukları sosyal ilişkiler, iletişim kurdukları kişilerin madde kullanım geçmişi, suç oranları, sosyal aktivitelerde bulundukları ortamlar ve arkadaş grupları arasında popüler olan maddelere yönelik algılar gibi belirleyici risk faktörleriyle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, okul ortamının da gençler arasındaki madde kullanımına etkisi olduğu ve okulla olan bağlantının önemli olduğu bildirilmektedir (Aslan, Aktaş ve Akgür, 2023). Çocuk ve ergenlerde suç davranışı ve madde kullanımı arasındaki ilişkiye bakıldığında ise Bennett, Holloway ve Farrington (2008) 30 çalışmayı gözden geçirdikleri ve herm erişkinleri hem de çocuk ve ergenleri içeren araştırmaları dahil ettikleri meta-analiz çalışmalarında madde kullanan bireylerin, madde kullanmayanlara kıyasla suç işleme olasılığının 3-4 kat daha yüksek olduğu bulgusunu ortaya koymuşlardır. Yine ülkemizde Ögel

ve Aksoy'un (2007) tutuklu ve hükümlü ergenlerle yaptıkları çalışmada bu ergenlerde madde kullanımının yaygın olduğunu ayrıca bu ergenlerin %32,8'sinin suç işlerken madde etkisinde olduklarını bulgulamışlardır.

Yasa dışı psikoaktif maddelerin kolaylıkla bulunabilir hale gelmesi ve kullanımlarındaki sürekli artış nedeniyle, ölüm sonrası toksikolojik değerlendirmeler, ölüm araştırmalarında giderek daha büyük bir öneme sahip olmuştur. Önlem alınabilen doğal olmayan ölümlerin bir kısmı uyuşturucu kullanıcılarının profillerindeki madde kullanımı ve eğilimlerinin araştırılmasıyla önlenebilmektedir. Uyuşturucuyla ilişkili ölümlerle ilgili toplumun önleyici önlemler alabilmesi için, ölenlerin uyuşturucu kullanımı sırasında daha fazla bilgiye ihtiyaç duyulmaktadır. Uyuşturucu madde kullanımına bağlı ölümlerin otopsileri, tedavi görmeyen ve başka kayıt altına alınmamış madde kullanıcıları hakkında değerli bilgiler sağlaması nedeniyle yerel ve ulusal düzeyde madde kullanım profillerinin belirlenmesi ve buna göre alınacak tedbirlerin genişletilmesi açısından önem taşımaktadır. Adli otopsilerde, insan vücut sıvıları ve dokularında yapılan incelemelerin amacı psikoaktif madde ile ölüm nedeni arasındaki ilişkinin değerlendirilmesidir. Bu değerlendirme ile tespit edilen psikoaktif madde miktarının ölüme sebep olup olmadığını, ölüme katkısının varlığını, ölüm öncesi davranışlar ve karar verme yetisi üzerindeki etkileri gibi sorulara cevap bulmayı amaçlamaktadır. Adli toksikoloji, bu maddeleri tespit etmek, ölçmek ve daha sonra bu ölçümleri tıbbi müdahaleler için bir rehber olarak kullanmayı, ölüm sonrası bulguları yorumlamayı, yasal araştırmaları desteklemeyi ve uyuşturucu kullanımı ile değişen uyuşturucu kalıpları hakkında epidemiyolojik araştırmalara katkı sağlamayı amaçlamaktadır (Temel, 2022). Sonuç olarak tüm bu bilgiler ışığında psikoaktif maddelerin hem canlı olgular hem de ölüm olgularında tespiti adli süreçlerin aydınlatılmasında hem de psikoaktif madde kullanımının tedavisi ve kullanımının önlenmesi açısından önem arz ettiği görülmektedir.

1.4. Bazı Psikoaktif Maddeler ve Metabolitleri

Psikoaktif Maddeler

1) Esrar ve Metabolitleri
    - THC-COOH
2) Amfetamin Tipi Stimülanlar
    - Amfetamin
    - Metamfetamin
    - MDMA
    - MDA
3) Kokain ve Metabolitleri
    - Benzoilekgonin
    - Ekgonin Metil Ester
4) Opioidler ve Metabolitleri
    - Morfin
    - Kodein
    - Eroin
    - 6-MAM

1.4.1. Esrar

Kenevir, uzun yıllar boyunca yetiştirilen ve tıbbi amaçla kullanılan bir bitkidir. Esrar ise; kenevir bitkisinden elde edilen vücutta kullanıldığı zaman sarhoşluk ve keyiflendirici etkisi olan bitki parçalarının halk arasındaki ismidir (Koç, 2019).



Şekil 1.1: Kenevir bitkisi

Kenevirin neredeyse her iklim koşullarında yetişebilmesi, yetişen kenevirin herhangi bir işlemden geçmesine gerek kalmadan esrarın kolayca elde edilmesi ve ayrıca esrarı kullanırken herhangi bir araca gereksinim duyulmaması gibi nedenlerle esrar dünyada en yaygın kullanılan yasa dışı maddelerdendir (Coşar, 2011).

THC, kimyasal olarak $C_{21}H_{30}O_2$ formülüne sahip bir bileşiktir. Bu molekül, birçok farklı karbon ve hidrojen atomu içerir ve fenolik bir grup taşır. THC, kararlı bir yapıya sahip olmakla birlikte, ısıtıldığında veya solventsiz şekilde özütlenerek saf hale getirildiğinde kristalimsi bir yapıya sahip olabilir (Özşeker, 2018).

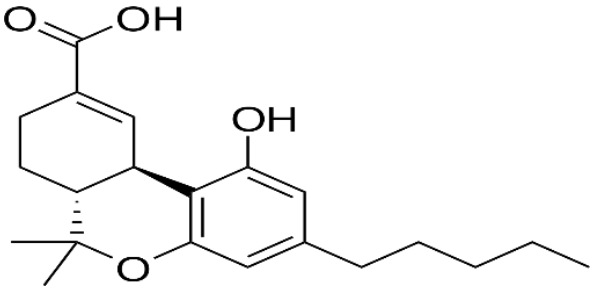
THC, beyindeki CB1 adı verilen reseptörlere bağlanarak, çeşitli psikoaktif etkiler yaratır. Bu etkiler arasında yorgunluk, gevşeme, iştah artışı, algısal değişimler ve mutluluk hissi yer alır. Ayrıca, THC, ağrı kesici, anti-inflamatuar ve antiemetik etkileri nedeniyle tıbbi kullanımı da mevcuttur (Özşeker, 2018).



Şekil 1.2: Esrar

Esrarın kimyasal yapısı, içerdiği farklı bileşiklerin miktarına ve oranına bağlı olarak değişebilir. Örneğin, esrar bitkisinde THC dışında, cannabidiol (CBD), cannabigerol (CBG), ve tetrahidrocannabivarin (THCV) gibi diğer kimyasal bileşikler de bulunur. Bu bileşiklerin bir arada bulunması, esrarın genel etkilerini belirler ve bu nedenle esrarın içeriği ve kalitesi oldukça önemlidir. Bitkinin içeriğinde esrar varlığını kannabinol (CBN), kannabidiol (CBD) ve Δ9-Tetrahidrokannabinol (THC) gösterirken, esrar kullanan kişinin esrar kullandığının tespiti için kan, idrar, saç gibi biyolojik materyallerde Δ9-Tetrahidrokannabinolün ana metabolitleri 11-hidroksi-Δ9-tetrahidrokannabinol (THC-OH) ve 11-nord9-tetrahidrokannabinol-9 karboksilik asit (THCOOH) tespit edilmesi gerekmektedir (Özşeker, 2018).

1.4.1.1. THC-COOH

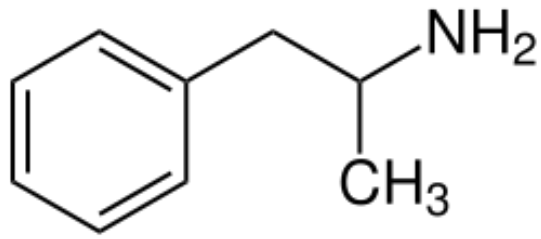


Şekil 1.3: THC-COOH'ın kimyasal yapısı

Δ9-Tetrahidrokanabinol (Δ9-THC), cannabis bitkisinde bulunan temel psikoaktif madde olarak bilinir. Bu madde, hidroksilasyon sürecine uğradığında psikoaktif bileşik 11-OH-THC (11-hidroksi-Δ9-Tetrahidrokanabinol) olarak dönüşürken, oksidasyon süreci sonucunda ise baskın metabolit olan inaktif THC-COOH (11-nor-9-karboksi-Δ9-tetrahidrokannbinol) meydana gelir. Bağımlılığın teşhisi açısından en çok araştırılan madde, THC-COOH'dır. Ayrıca toksikolojik araştırmalarda odak merkezi olan bu maddenin çok çalışılmasının sebebi kanda ve idrarda yüksek konsantrasyonda bulunmasıdır (Gökkaya, 2020). $C_{12}H_{28}O_4$ kimyasal formülüne sahip bu maddenin molekül ağırlığı 344.4 g/mol'dür.

1.4.2. Amfetamin Tipi Stimülanlar

1.4.2.1. Amfetamin

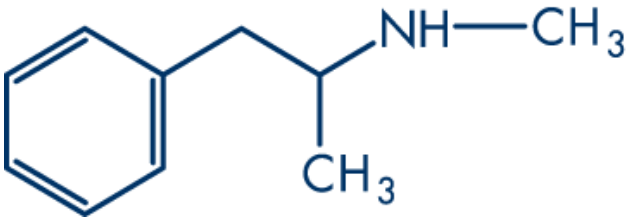


Şekil 1.4: Amfetaminin kimyasal yapısı

Amfetamin, tıpta dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu (DEHB), obezite ve narkolepsi gibi hastalıkların tedavisinde kullanılan bir maddedir. Kullanım şekilleri arasında sigara şeklinde içme, buharını çekme veya damar yoluyla kullanma gibi yöntemler bulunmaktadır. Sinir sistemindeki etkisine bakıldığında amfetaminler katekolaminlerin salınımını artırma yoluyla özellikle dopamin ve noradrenalin salınımını artırarak sempatik sinir sistemini uyarmaktadır. Kullanıldıktan sonra bireylerde kendine güven, hiperaktivite, öfori veya performans arttırıcı vb. etkiler görülmekte olup bağımlılık yapıcı maddelerdir (Leis, Fauler ve Windischhofer, 2014; Hädener ve ark.,2017).

Amfetaminin kimyasal yapısı incelendiğinde kimyasal formülü C_9H_{13}N hidroklorür olan amfetaminin molekül kütlesi 171,5 g/mol'dür. 148±3°C'da eriyen bu madde su ve alkolde çözünmekle beraber kloroform ve eterde çözünmemektedir (Sönmez, 2016).

1.4.2.2. Metamfetamin



Şekil 1.5: Metamfetaminin kimyasal yapısı

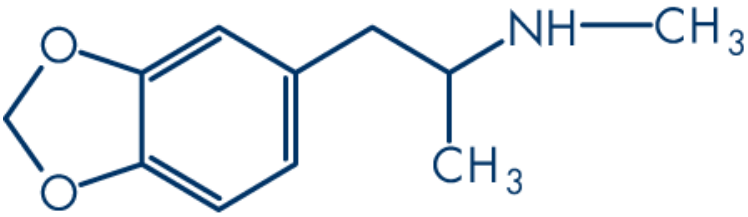
Büyütülerek bakıldığında kristal görünümlü olması sebebiyle sokakta "kristal" veya "buz" olarak adlandırılan Metamfetamin, bağımlılık düzeyi yüksek olan uyarıcı uyuşturucu türlerinden biridir. Etki düzeyi hızlı ve uzun süreli olan bu uyuşturucu türü kullanıcı üzerindeki kötü ve istenmeyen etkileri nedeniyle en tehlikeli yasadığı maddelerden biridir (Butcher, Mineka ve Hooley, 2013; Özden, 2007). Kimyasal olarak amfetaminin bir türevi olan bu madde, daha güçlü ve daha uzun süren etkisi olması sebebiyle daha büyük zarar verme potansiyeli bulunan bir maddedir (de Matos, Hannemann, Atzendorf, Kraus ve Piontek, 2018). Metamfetamin, denetimin yapılmadığı uzak köşelerdeki merdiven altı laboratuvar ortamlarında büyük oranda üretilebilen bir amfetamin türüdür. Herhangi bir eczaneden yasal yolla alınabilecek maddeler ile portatif bir soğutucuda kolayca üretilebilmekte olan bu madde sigara şeklinde içilebildiği gibi burundan ve ağızdan ya da enjeksiyon yoluyla alınabilmektedir. Sigara şeklinde içildiği veya vücuda enjekte edildiği takdirde etkileri neredeyse hemen görülmektedir (Butcher, Mineka ve Hooley, 2013).



Şekil 1.6: Metamfetamin

Metamfetaminin kimyasal yapısına bakıldığında IUPAC adı, N-metil-1-fenilpropan-2-amindir. Kimyasal formülü $C_{10}H_{15}N$ ve molekül kütlesi 149.233 g/mol'dür. Metamfetamin, uyarıcılar ve halüsinojenlerden oluşan fenetilamin ailesinin bir üyesidir. (Wikibooks, 2019) Metamfetaminin bileşik olarak iki çeşidi bulunmaktadır Bunlar D-metamfetamin ve L-metamfetamin'dir. D- metamfetaminin Merkezi Sinir Sistemine Etkisi 3-5 kat daha fazladır ve L-metamfetamine göre etkileri daha uzun sürmektedir (Ciccarone, 2011).

1.4.2.3. MDMA (Ekstazi)



Şekil 1.7: MDMA'in kimyasal yapısı

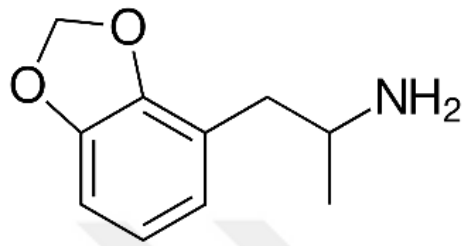
Alman kimya firması olan Merck tarafından farklı bir madde olarak sentezlenen ve 1914 yılında patenti alınan MDMA ilk kez 1912 yılında üretilmiştir (Benzenhöfer ve Passie, 2010). MDMA yaygın olarak ekstazi olarak bilinmekte olup merkezi sinir sistemini (MSS) uyarıcı yönde etki ederek duygusal farkındalığı artıran zayıf bir halüsinojenik özelliktedir (emcdda t.b.). Kullanımı sonrasında akut dönemde saldırganlık titreme terleme iştah azalması, hipertermi, bulanık görme, taşikardi ve ajitasyon gibi etkileri görülebilmektedir (Umut, 2020)



Şekil 1.8: Farklı şekillerde ekstazi örnekleri

Kimyasal formülü $C_{11}H_{15}NO_2$ olup bu maddenin molekül kütlesi 193,25 g/mol'dür. Amfetamin türevi olan bu psikoaktif maddenin IUPAC ismi 3,4-metilendioksimetamfetamin'dir. Kullanıcılar arasında adam, lovedrug, rave vb. gibi farklı isimler ile anılmaktadır (Şahin, 2016).

1.4.2.4. MDA

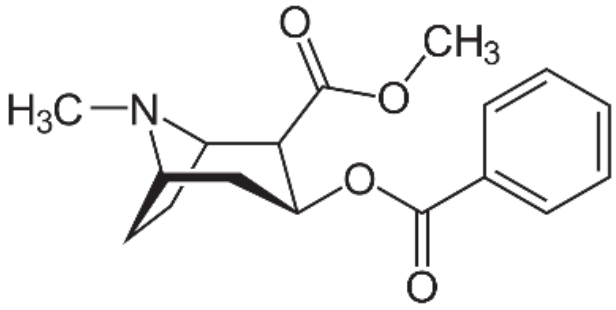


Şekil 1.9: MDA kimyasal yapısı

Etkileri MDMA'ya benzeyen fakat MDMA'ya göre psikolojik etkileri daha yüksek olan MDA maddesi 1910 yılında sentezlenmiş 1939 yılıyla beraber hayvanlar üzerinde test edilmiştir. Parkinson hastalığının tedavisi için kullanılmak amacıyla insanlar üzerinde test edilmeye 1941 yılında başlanmıştır. 1960'lardan itibaren popülerlik kazanan bu madde yüksek dozlarda alındığında taşikardi, titreme, sarsıntı ve koma gibi sonuçları olabilmektedir (Topal, 2012; Galichet, 2014). Kimyasal formülü $C_{10}H_{13}NO_2$ olan MDA'nın moleküler kütlesi 179,22 g/mol'dür. Katekolamin nörotransmitterlerinin alımını engelleyen bir amfetamin türevi olan bu madde halüsinojen olup metillenmiş türevinden daha toksiktir (Pubchem, 2022).

1.4.3. Kokain ve Metabolitleri

1.4.3.1. Kokain



Şekil 1.10: Kokainin kimyasal yapısı

Güney Amerika'da yetişen boyu 1-2 metre boylarında olan Erythroxylon coca bitkisinin yapraklarından elde edilen kokain merkezi sinir sisteminde dopaminerjik etkinliğini arttırarak

öfori oluşturan bir maddedir. Kokain dışında başka maddelerde elde edilen bu bitki And Dağları'nda yabani olarak yetişmekle birlikte yaprakları için özel olarak da yetiştirilebilmektedir. İlk olarak 1855 yılında Gaedecke tarafından bitkinin yapraklarından izole edilmiş 1860 yılında ilk defa dil üstünde kullanıldığında anestezik etkisi olduğu anlaşılmıştır. 1884 yılında nörolog Sigmund Freud'un önerisi üzerine Cerrah Carl Koller tarafından göz ameliyatlarında lokal anestezide kullanılmıştır. 1902 yılına gelindiğinde ise Wilstatter kokainin açık kimyasal formülünü bulmuştur. Güçlü bir psikostimulan olan kokain lokal anestezik ve vazokonstriktördür.

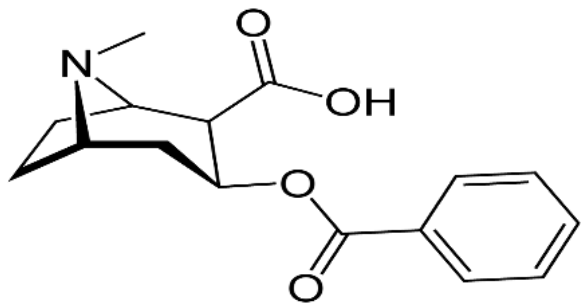


Şekil 1.11: Kokain

Psikotimulan özelliği olması nedeniyle maddenin kötüye kullanımına sebep olabilmektedir. Sıklıkla burun yolundan alınma yoluyla kullanılan bu madde alındığında merkezi sinir sisteminde dopaminerjik etkinliği arttıran bu madde coşku, artan bilinç düzeyi, haz duygusunda artış ve çok konuşma gibi sonuçlar ortaya çıkarmaktadır. Bunların akabinde coşku ve huzursuzluk duyguları gelebilmektedir (Dinç, 2019; Ateş, 2010; Karakuş, 1990; King ve ark., 2008; Uskur, 2014).

Kokainin kimyasal formülü $C_{17}H_{21}NO_4$'tür. Molekül ağırlığı ise 303.35 g/mol'dür. Kokainin kaynama noktası 187 °C iken erime noktası ise 98 °C'dir (Pubchem, 2022).

1.4.3.2. Benzoilekgonin

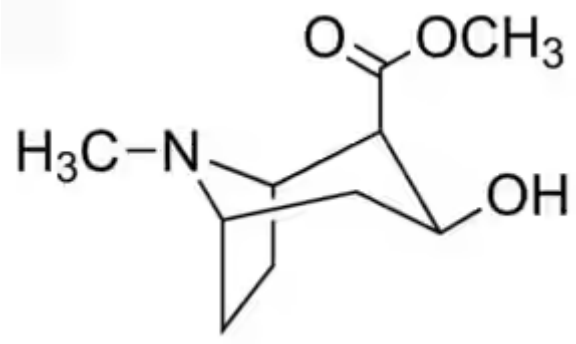


Şekil 1.12: Benzoilekgoninin kimyasal yapısı

Benzoilekgonin maddesi kokainin ana metabolitidir. Karboksilesterazlar tarafından katalize edilen karaciğerde kokainin hidrolizi ile oluşmaktadır. Karaciğerde işlendikten sonra idrar yoluyla atılır (Drugbank, 2020). FDA onayı olmayan veya Amerika Birleşik Devletleri'nde piyasada bulunan, kas ağrılarının giderilmesi için kullanılan topikal bir araştırma ilacı Esterom'un ana etken maddesidir (McDonald ve Lunte, 2003). Kokainin ana metaboliti olan bu madde tek kullanımda dahi 2-3 güne kadar idrar örneğinden tespiti yapılabilmektedir. Kokainin kullanımının vücut sıvılarında tespit edilmesi amacıyla yapılan toksikolojik analizlerde en çok bu maddenin varlığı araştırılmaktadır. Bunun sebebi ise iki ana metabolit içerisinde en fazla oluşanının benzoilekgonin olmasıdır (Tekin Bülbül, 2021).

Kimyasal özelliklerine bakıldığında benzoilekgoninin formülü $C_{16}H_{19}NO_4$'tür. Bu maddenin molekül ağırlığı 289.33 g/mol iken Kaynama noktası 442.4°C; erime noktası 195 °C'dir (Pubchem, 2022).

1.4.3.3. Ekgonin Metil Ester



Şekil 1.13: Ekgonin metil esterin kimyasal yapısı

Ekgonin metil ester, kokainin ana metabolitlerinden biridir ve kokainin vücutta metabolize edilmesi sonucu oluşur. Kokain, kullanımında negatif etkilere sahip olan bir uyuşturucudur ve bağımlılık yapıcı özellikleri nedeniyle birçok ülkede yasaklanmıştır. Ekgonin metil ester ise,

kokainin tıbbi olarak kullanılan bazı lokal anesteziklerin üretiminde kullanılan bir ara ürünüdür. Ancak, kokain bağımlılığı ile mücadele etmek için bu bileşenin kullanımı önerilmez ve yasal olarak sıkı şekilde kontrol edilir.

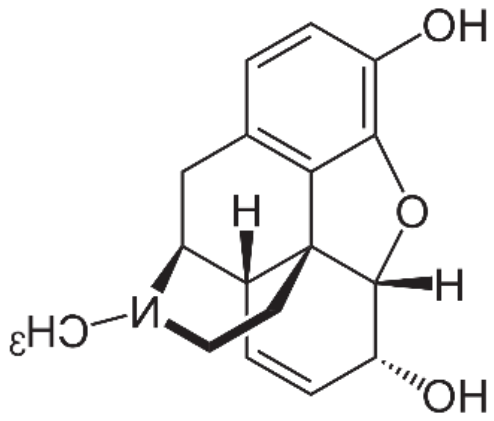
Ekgonin metil ester, kimyasal formülü $C_{10}H_{15}NO_3$ olan bir esterdir. Ekgonin adı verilen bir alkaloidin metil esteridir. Ekgonin metil ester, beyaz renkte kristal bir toz olarak görünür ve suda çözünür. Kokainin bir metaboliti olduğu için, kokainin metabolizması ile ilgili birçok araştırmada kullanılır. Kimyasal yapısı nedeniyle, bazı araştırmacılar tarafından bu bileşik, kokainin etkileriyle ilgili birçok çalışmada da kullanılmaktadır.

1.4.4. Opioidler

Opioidler, adli toksikolojideki en önemli ilaç sınıflarından biridir. Yaygın olarak hem tıbbi amaçlarla reçete edilirken hem de yasadışı kullanımı oldukça fazladır. Opiyatlar doğal olarak sentezlenir ancak opioidler doğal, yarı sentetik ve sentetik türevlerin tamamını kapsar. Doğal ve yarı sentetik türevlerin çoğu morfin benzeri bir kimyasal yapıya sahiptirler ancak sentetik opioidler geniş bir kimyasal sınıflandırmayı içerebilirler. Farklı yapılarına rağmen, tüm opioidler farklı reseptör alt tiplerinde opioid reseptör aktivitesi sergilerler. Yakın zamanda yeni sentetik opioidlerin keşfedilmesi, opioid kullanımının manzarasını önemli ölçüde karmaşık hale getirmiştir (Gören, 2022).

Opioidlerin farmakolojik tesirleri, merkezi sinir sisteminin farklı bölgelerinde seçici reseptör bağlanmasından kaynaklanır. Limbik sistem, opioid bağlama bölgeleri açısından zengin olduğu için özellikle duygusal uyarımlarda rol oynar. Opioidler, ağrılı uyaranların iletimini engelleyerek analjezik bir etki yaratır. Opioidler, spesifik reseptörlerle terminal sinir uçları arasında etkileşim kurarak nörotransmitter salınımını azaltır ve bu da ağrıyı azaltır. Bu mekanizma, acıyı hissetmenin engellenmesine, ağrının olumsuz duygusal bileşeninin azaltılmasına ve hatta öfori üretimine neden olabilir (Gören, 2022).

1.4.4.1. Morfin



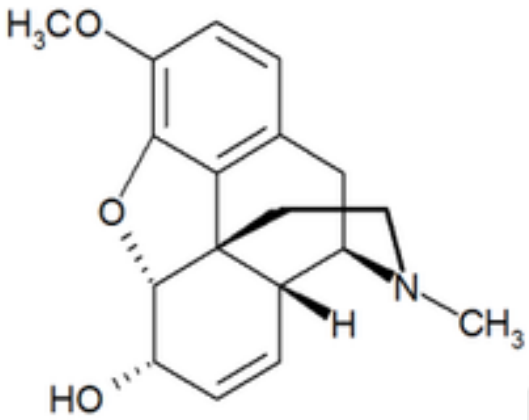
Şekil 1.14: Morfinin kimyasal yapısı

Afyon bitkisinden elde edilen morfin tıbbi alanlarda ağrı kesici olarak kullanılan morfin, Friedrich Wilhelm Serturner adındaki bir eczacının asistanı olan bir araştırmacı tarafından 1805-1816 yılları arasında köpekler üzerinde denenmiştir. Bu deneylerin ardından, bazı erkekler üzerinde küçük dozlarla deneyler yaparak etkilerini gözlemlemiştir. Yaptığı deneyler sonucunda, bu maddenin ağrı kesici ve öforik etkilere sahip olduğunu tespit etmiştir. Buna ek olarak yüksek dozda kullanımında mide bulantısı, kusma, kabızlık, solunum yavaşlaması ve çeşitli psikiyatrik etkilere yol açabileceğini ifade etmiştir (Dinç, 2019). Ağrı kesici olarak kullanılan morfin beyinde birçok bölgeye bağlanabilmesi dolayısıyla uyku hali ve iyi hissetme gibi yan etkisi olan bir maddedir. Beyindeki endorfini aktive ederek haz almayla ilgili alanları aktive etmekte ağrıyı keserken bir yandan da kişinin rahatlamasına ve neşelenmesini sağlamaktadır. Dolayısıyla bu yan etkiler bu maddenin kötüye kullanımına sebep olabilmektedir (Yavuz, 2011)

Morfin maddesinin kimyasal yapısı incelendiğinde kimyasal formülü $C_{17}H_{19}NO_3$'tür. Bir benzilizokinolin alkoidi olan morfinin üç boyutlu yapısının 5 halkası bulunmaktadır. Bunlardan üçü yaklaşık olarak aynı düzlemde olmakla beraber diğer nitrojen içeren halka ve kalan halka diğer üçüne dik açıdadır. Morfin ayrıca bir nitrojen atomuna bağlı bir metil grubuna sahiptir (Mandal, 2019). Özelliklerine bakıldığında morfin suda veya lipidlerde çok iyi çözünür değildir. Yaklaşık bir gram morfin beş litre suda ancak çözünebilmektedir. Morfin kan-beyin bariyerini geçebilmektedir. Fakat lipid çözünürlüğünün zayıf olması ve glukaronik asit ile hızlı konjugasyonu nedeniyle bu bariyeri kolayca geçemediği görülmektedir (Mandal, 2019). Ana molekülden yaklaşık 300 kat daha fazla suda çözünür olan hidroklorür ve sülfat gibi morfin tuzları ticari olarak temin edilen morfin formlarıdır. Bu tuzlar, pH'ı 8,5 olan doymuş morfin

hidrat çözeltisinden pH'ı 5 civarında olarak çok daha asidik özelliktedir. Bu sebeple bu tuzlar enjeksiyon olarak kullanılması adına uygun hale getirmek için az miktarda soydum hidroksit ile nötralize edilmektedir (Mandal, 2019).

1.4.4.2. Kodein

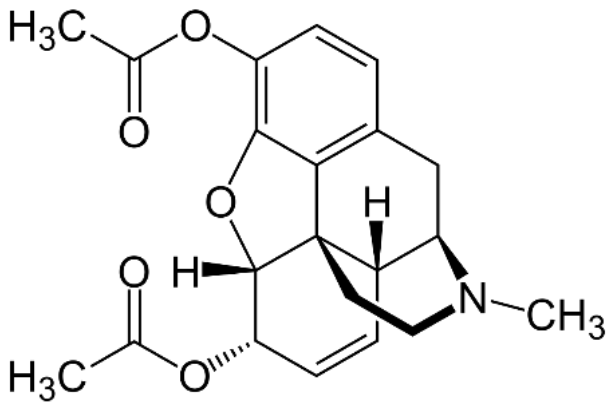


Şekil 1.15: Kodeinin kimyasal yapısı

Morfinin fenolik hidroksil grubundan metillenmesiyle oluşan kodein doğal yolla afyondan elde edilebileceği gibi genelde morfinin metilasyonu ile elde edilir. Afyonda bulunan alkoloidler içerisinde morfinin ardından en baskın opoiddir. Kodein analjezik vb. olarak çeşitli şekillerde kombine edilmesiyle tıbbi amaçlar için kullanılmaktadır. Yasadışı olarak ise tablet ya da toz formunda, tek başına ya da diğer uyuşturucu ve uyarıcı maddeler ile beraber satılmaktadır. Ek olarak kodein içeren tıbbi amaçlı ürünler suistimal edilmektedir (Aşıcıoğlu ve ark., 2013).

Kodein (3-metilmorfin), kimyasal formülü $C_{18}H_{21}NO_3$, IUPAC adı [(5α,6α)-7,8- didehydro-4,5-epoxy-3-methoxy17-methylmorphinan-6-ol monohydrat)]; molekül ağırlığı ise 299.364 g/mol'dür (Açıcıoğlu ve ark., 2013).

1.4.4.3. Eroin

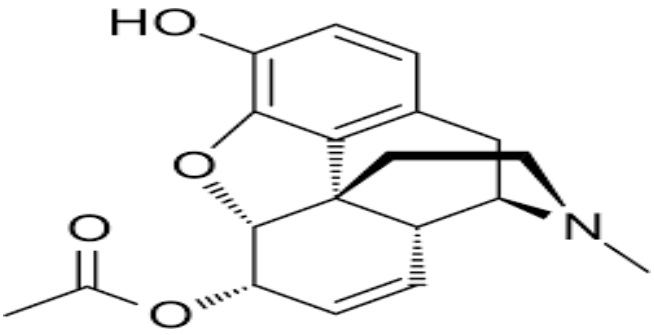


Şekil 1.16: Eroinin kimyasal yapısı

Asıl adı heroin ve morfinin diasetil türevi olan eroin ilk olarak Bayer fabrikalarında 1899 yılında üretilmiştir. Opioidler arasında en yaygın kötüye kullanımı olan eroin morfinle karşılaştırıldığında iki kat daha etkilidir. Morfine göre daha fazla olarak suda ve lipitte daha hızlı çözüldüğü için beyne daha kısa sürede nüfuz eder. Gerçekte ön ilaç olan bu madde hidroliz ile vücutta 6-O-Asetilmorfin, 3-O-Asetilmorfin ve morfine dönüşür. İngiltere ve Kanada dışında diğer bütün ülkelerde Türkiye de dahil olmak üzere analjezik ilaç şeklinde kullanımı yasaklanan bu maddenin morfinden daha fazla bağımlılık yapma potansiyeli bulunmaktadır. Birçok suç örgütü parasal kaynak elde etme amacıyla eroinin ticaretini yapmaktadır.

Eroinin kullanım şekillerine bakıldığında en sık burna çekilmesi yoluyla kullanılmaktadır. Sigara tütününe karıştırılması yolu ile veya sigara jelatini ya da alüminyum folyo üzerinde ısıtılması yoluyla buharının içe çekilmesi şeklinde kullanımı yapılmaktadır. Ayrıca damar yoluyla da bireylerde kullanımı görülmektedir. Çok hızlı tolerans geliştirme potansiyeli yüksek bu madde doz artırımına sebep olduğu için kısa sürede öldürücü olabilmektedir. Bir veya iki hafta düzenli kullanımında bağımlılık yaratan eroin kişi eğer duyarlıysa ilk kullanımda dahi bağımlı olabilir. Türkiye de yapılan analizlerde çeşitli seyreltici maddeler ve kinin, metadon, kafein, amfetamin, barbitüratlar vb. maddelerin eroine katıldığı görülmüştür. Kişiden alınan biyolojik numunelerin analizi esnasında bu maddelerin de görülmesi olasıdır (Duman ve Duman, 2021).

1.4.4.4. 6-MAM



Şekil 1.17: 6-MAM'in kimyasal yapısı

6-MAM (6-Monoasatilmorfin) eroinin metabolize edilmesiyle oluşan bir metabolittir. Eroin merkezi sinir sistemine etkisini arttırdığı düşünülen 2 asetil grubunun eklenmesiyle morfinin çekirdek yapısını paylaşmaktadır. Eroin bu asetil gruplarının sırasıyla uzaklaştırılması ile metabolize edilmektedir. Birinci asetil grubunun kaybı eroini 6-monoasetilmorfine (6-MAM)

dönüştürmektedir. İkinci asetil grubunun kaybı ise 6-MAM'i eroinin ana metaboliti olan morfine dönüştürür. 6-MAM, eroininin benzersiz olan bir metaboliti olması dolayısıyla yakın zamanda eroin kullanıldığın göstergesidir. Eroin gibi, 6-MAM'in da kısa bir yarılanma ömrü vardır (Mayo Clinic Laboratories, 2022).

1.5. Psikoaktif Maddelerin Tayininde Kullanılan Analitik Yöntemler

Psikoaktif maddelerin tayini için kullanılan çeşitli kromatografik analiz yöntemleri bulunmaktadır. Bu yöntemlere sıvı kromatografi kütle spektrometresi (LC-MS), gaz kromatografi kütle spektrometresi (GC-MS), uçuş süreli kütle spektrometresi (TOF-MS) gibi analiz yöntemleri örnek olarak verilebilir (Avcıoğlu, 2019). Bu bölümde analiz yöntemleri için alınan numunelerin özellikleri ve tayin için uygulanan analiz yöntemleri değerlendirilecektir.

1.6. Adli Toksikolojik Analizlerde Kullanılan Biyolojik Örnekler

Adli toksikolojik analizlerde en çok kullanılan biyolojik örnekler kan ve idrardır. Bu örneklerin yanı sıra burun sürüntüsü, saç, tırnak, tükürük ve çeşitli organlar kullanılabilir. Psikoaktif madde ve metabolitlerinin kromatografik tayini için çalışmamızda kullanılan numune örneği otopsiler sırasında alınan postmortem kan örnekleridir.

1.6.1. Postmortem Kan

Postmortem bozulma ve çürüme sebebiyle postmortem biyolojik örneklerin toksikolojik analizleri klinik biyolojik örneklerin toksikolojik analizlerinden daha zor olmaktadır. Toksikolojik analizlerde en sık kullanılan örnekler kan ve idrardır. Her ikisi de sıklıkla birçok kimyasal madde ve metabolitlerinin araştırılmasında tercih edilmektedir. Postmortem kan örneği almak için öncelikle en uygun bölge tespit edilmeli eğer olguda çürüme başlamışsa veya şiddetli düzeyde hasar ve yırtılma varsa örnek alınırken dikkat edilmelidir. Toksikolojik analizde kullanılacak postmortem kan numuneleri femoral damarlardan veya juguler ven bölgesinden alınmalıdır. Kalpten alınan kan yeniden dağılım ve kontaminasyon olasılığından kaynaklı olarak ideal değildir. En uygun kan numunesi kaynağı ven'dir. Femoral ya da juguler ven kanları, intestinal arterler postmortem mikroorganizmaların kaynağı olduğundan daha uygundur. Femoral veya juguler ven kanları her ne kadar ideal örnekler olsa da maddelerin kan konsantrasyonlarının bozulma ve diğer vücut sıvıları ile kontamine olma ihtimalleri sebebiyle

değişime uğrayabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Dolayısıyla postmortem kan örneklerinden elde edilen sonuçların doğru şekilde yorumlanabilmesi için diğer biyolojik örneklerden elde edilen sonuçlar ile desteklenmesi gerekebilmektedir. Numune alınma işlemi steril şırınga ya da iğne yardımıyla doku düzeyi delinerek yapılabilir. Fakat yine de çok gerekmedikçe yapılmamalıdır. Alınan kan numuneleri ağzı sıkı olacak şekilde kapalı olarak analize kadar ve analiz sonrasında buzdolabında 4 °C'de saklanmalıdır (Battal, 2012; Evren, 2008).

1.6.2. İdrar

İdrar, analitik analizlerde kullanılan önemli bir biyolojik materyaldir. İnsanların dışarıdan aldıkları maddelerin ve sonrasında meydana gelen metabolitlerinin idrarda birikmesi ve kana göre derişimlerinin daha fazla olması idrarı önemli bir materyal yapmaktadır. Bu sebeple kişiden idrar numunesi minimum seviyede alınsa bile analizlerde verim oldukça fazladır. Buna ek olarak kişinin kullandığı maddeye göre 1-30 gün arasında değişen tespit edilme süresi vardır. Kişi madde kullanımına bağlı olarak hemen öldüğü durumlarda idrarda maddenin varlığı maddenin idrara hemen geçmemesinden dolayı tespit edilemeyebilir. Böyle durumlarda kullanılan maddeler kişinin kanında yüksek derişimde tayin edilmesine karşın idrarda tayin edilemeyebilir. İdrardaki pozitif göstergeler ise kişinin madde kullandığını gösterse de kullanım vaktini ve dozu hakkında herhangi bir görüş vermez (Yeter, 2018).

1.6.3. Burun Sürüntüsü

Burun sürüntüsü özellikle burundan alınan psikoaktif maddelerin tespit edilmesinde kullanılan, burundan eküvyon çubuklar yardımı ile alınan önemli bir materyaldir. Burun sürüntüleri ile yapılan analitik analizlerde aranan ana madde tespit edilirken aynı zamanda bu maddelerin metabolitleri de tespit edilebilir. Analiz sonuçlarına bakıldığında dikkatli bir şekilde yorumlanmalıdır çünkü her pozitif sonuç maddenin burundan kullanıldığı anlamına gelmez (Yeter, 2018).

1.7. Numune Hazırlanmasında Kullanılan Yöntemler

Adli bilimlerde psikoaktif maddelerin biyolojik olgulardaki düzeylerini belirlemek amacıyla çeşitli örnekler kullanılmaktadır. Bu örnekler kan, ağız sıvısı, idrar ve ter gibi sıvı olabilirken saç, tırnak, yeni doğanlarda göbek kordonu, plasenta ya da postmortem dokular gibi katı içerikli; nefes gibi gaz fazında örnekler olabilmektedir. Biyolojik olgulardan alınan bu

örneklerin analiz edilmesinde aktarım ve güvenlik zinciri sağlandıktan sonra laboratuvar ortamında çeşitli immüno ölçüm testleriyle analizlere tabi tutulması yolu izlenmektedir. Kromatografik yöntemler doğrulama testleri olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda kütle dedektörlü gaz (GC-MS) ve sıvı kromatografisi (LC-MS) kromatografik yöntemler içerisinden en sık kullanılan yöntemler arasındadır. Günümüze gelindiğinde ardışık kütle dedektörlü LC-MS-MS sistemleri seçiciliği ve teknik duyarlılığı dolayısıyla daha çok tercih edilmektedir (Erdem Yayayürük, Özdokur ve Ertaş, 2018).

Biyolojik olgulardan örnek seçimi önemli olmakla beraber bu örneklerin analize nasıl hazırlandığı da güvenilir sonuçlar için önemlidir. Örneklerin analize hazırlanması sürecinde izlenecek yol ve kullanılan teknikler amaca uygun olmalıdır. Ayrıca bu izlenecek yol örneğin türüne ve yöntemine göre farklı şekillerde olabilmesi dolayısıyla ama uygun olarak belirlenmelidir. Analitik kimyanın temel basamaklarından biri olan örnek hazırlama sürecinde yapılacak ölçüm öncesi alınan örneğin içeriğini çok iyi düzeyde temsil eden, tekrarlanabilir sonuçlar veren homojen bir çözeltiye dönüşmesi amaçlanmaktadır. Ayrıca alınan numuneyi girişimcilerden arındırmakla beraber kullanılacak analitik yöntemle uyumlu homojen bir çözeltiye dönüştürmek hedeflenir (Erdem Yayayürük, Özdokur ve Ertaş, 2018).

Psikoaktif maddelerin analizinde daha çok kromatografik yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler her ne kadar daha duyarlı ve seçici olsa da iyi hazırlanmamış bir örnek yanlış pikler verebilmektedir. Sonuç olarak kullanılacak örnek ne olursa olsun biyolojik örneklerin karmaşık yapısı sebepli olarak analiz öncesi mutlaka ön ayırma ve temizleme işlemine gerek duyulmaktadır. Ayrıca seçilen örnek hazırlama yöntemi bir bütün şekilde analitik yöntemin duyarlılığını arttırmaktadır (Erdem Yayayürük, Özdokur ve Ertaş, 2018).

1.7.1. Ekstraksiyon Teknikleri

Katı karışımlar ya da çözeltilerden bir maddeyi ayırmak veya çözünmesi istenmeyen saf olmayan maddeleri karışımdan uzaklaştırma işlemi olarak tanımlanan ekstraksiyon bir ayırma yöntemidir (Şahin, 2019). Herhangi bir analitin numune ortamından çıkartılıp başka bir çözücü ortamına alınması işlemi olan ekstraksiyonun farklı teknikleri bulunmakta olup başlıca teknikler bu başlık altında ele alınacaktır.

1.7.1.1. Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu (LLE)

Genellikle sulu bir matriksten organik yapılı analitlerin ayrılmasında kullanılan ve en sık tercih edilen bu ekstraksiyon tekniğinin esası farklı ortamlarda çözünürlük farkında dayanmaktadır. Alınan örnek sıvısı ile karışmayan ve ayrı bir faz oluşturan çözücü örnek ile etkileşime sokulur ve böylelikle analitlerin daha çok çözündüğü organik faza geçmesi sağlanmaktadır. Ekstraksiyon verimini arttırmak için ise çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Örneğin asidik ve bazik özellikler taşıyan analitler için ortam pH'ının ayarlanması ile bu verim arttırılabilmektedir. Bir başka yöntem ise ortama inert bir tuz eklenmesi yoluyla iyon şiddetinin arttırılmasıyla analitin organik faza geçişinin sağlanmasıdır. Ayrıca ısı etkisi ile de ekstraksiyonun verimi arttırılabilmektedir (Erdem Yayayürük, Özdokur ve Ertaş, 2018).

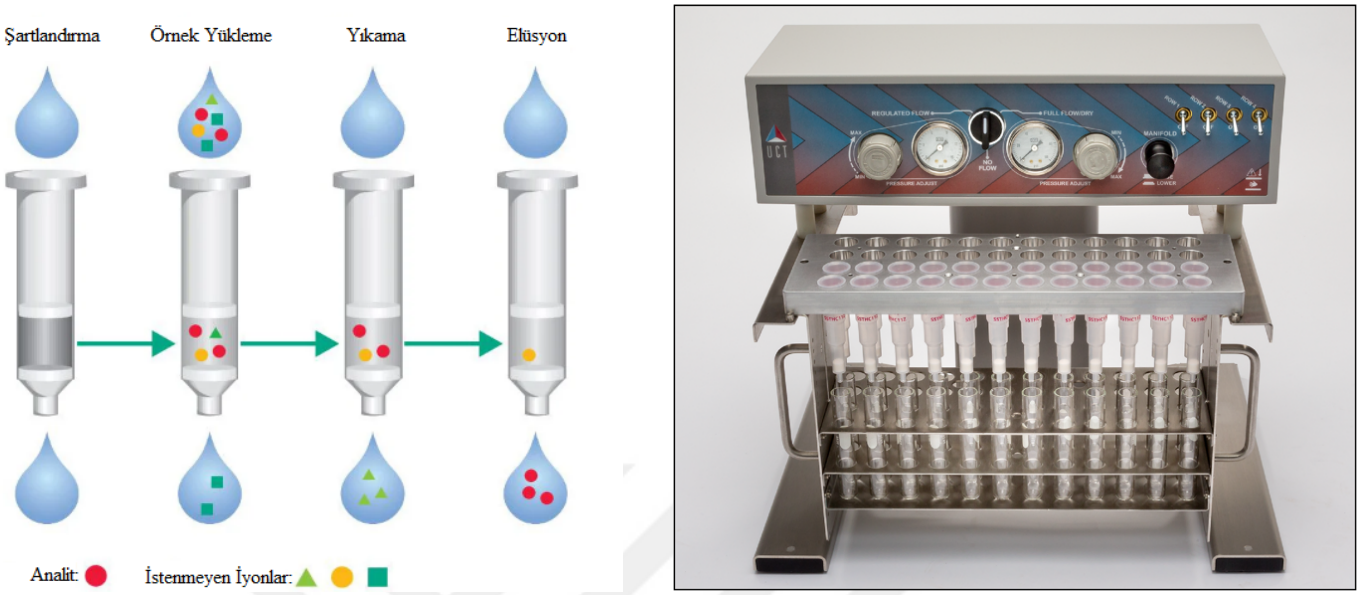
Bu yöntemde emülsiyon oluşumu ve faz ayrımının açık şekilde gözlenememesi bu yöntemi dezavantajlı yapabilmektedir. Ayrıca yöntemin zaman alıcı ve emek gerektiren bir teknik olması, sağlığa zararlı çözücü kullanımını gerektirmesi ve işlem sonucunda açığa çıkan atık çözücülerin ortadan kaldırılmasının maliyetli olması dezavantajları arasında sayılabilir (Erdem Yayayürük, Özdokur ve Ertaş, 2018). Bu dezavantajlar dolayısıyla bu tekniğe 1970'lerde alternatif bir yöntem geliştirilmesini sağlamış olup bu teknik ise katı faz ekstraksiyonu (SPE)'dir.

1.7.1.2. Katı Faz Ekstraksiyonu (SPE)

Örnek hazırlama yöntemlerinden biri olan katı faz ekstraksiyonu günümüzde yaygın şekilde kullanılmaktadır. LLE metodu ile karşılaştırıldığında bu tekniğin daha az çözücüye ihtiyaç duyması dolayısıyla hem maliyet açısından hem de zaman ve emek açısından avantajlı olmasını sağlamakta dolayısıyla da tercih edilmektedir (Bilgün, 2014).

Yüksek basınçlı sıvı kromatografi, radiyoimmün ölçüm vb. gibi çeşitli cihazlar ile yapılan analizlerden önce yapılması gereken örnek hazırlamada sıvı-sıvı ekstraksiyon ve bunu takiben çözücülerin farklı yöntemlerle uzaklaştırılması en çok kullanılan teknikler olmuştur. Fakat tipik sıvı-sıvı ekstraksiyon uygulamalarında çok fazla çözücü harcanmasının gerekmesi, bu yöntemin çok zaman alması ve beraberinde getirdiği yüksek maliyetler dolayısıyla dezavantajlı olarak değerlendirilmektedir. Ek olarak bu teknikler, ekstraksiyon sırasında emülsiyon faz meydana gelmesi, gerekli saflıkta olmayan ekstraktlar elde edilmesi, çözücülerin yeterince uzaklaştırılamaması ve duyarlı kantitatif sonuçlara ulaşılamaması açısından farklı istenmeyen durumlar elde edilebilmektedir. Ayrıca santrifüj etme, süzme, distilasyon, liyofilizasyon gibi

farklı ekstraksiyon yöntemlerinin de sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile benzer sakıncaları bulunmaktadır.



Şekil 1.18: SPE yöntemi ve SPE Cihazı

Katı faz ekstraksiyonu (SPE) ise bu yöntemlere alternatif olarak 1970'li yılların ortalarında kullanılmaya başlanmıştır. Bu yöntem farklı tutucu maddelerin küçük, tek kullanımlık ekstraksiyon kolonlarına doldurulması yoluyla pratik şekilde bir örnek hazırlama düzeneği tasarlanması şeklinde tanımlanabilir. Birçok laboratuvarda örnek hazırlama yöntemi olarak sıklıkla kullanılan bu yöntem, tipik sıvı-sıvı ekstraksiyonuna göre emülsiyon oluşumun şekillenmediği, daha hızlı, daha az çözücü kullanılan ve daha ucuz olan bir yöntemdir. Ayrıca bu yöntem ile daha temiz ekstrakt ve yüksek geri kazanım oranlarına ulaşılmaktadır (Yavuz ve Aksoy, 2006).

Katı faz ekstraksiyonu, genellikle küçük ve tek kullanımlık ekstraksiyon kolonlarına farklı tutucu kimyasalların yerleştirilmesiyle gerçekleştirilen bir yöntemdir. Bu yöntemde, sıvı numuneleri, istenmeyen bileşenlerden arındırılarak temizlenir, yoğunlaştırılır ve ileri analiz aşamaları için örnek matriks yapısını değiştirmek amacıyla hazırlanan kolonlardan geçirilir. Sıvı numunenin kolon içinden geçirilmesi, manuel olarak yerçekimi etkisiyle gerçekleştirilebileceği gibi, zamandan tasarruf sağlamak için vakum manifoldları yardımıyla da yapılabilir. (Yavuz ve Aksoy, 2006)

1.8. Numune Analiz Yöntemleri

Bir maddenin adlandırılması ve kimyasal yapısının bulunması için birçok analiz yöntemi bulunmaktadır. Bu yöntemler arasında akla ilk gelenler sıvı kromotografi-kütle spektrometrisi/kütle spektrometrisi (LC-MS/MS) ve gaz kromotografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS) dir.

LC-MS/MS yöntemi, neredeyse tüm analiz yöntemleri içinde çok tercih edilen bir yöntemdir. Bu tercihin arkasındaki nedenler, uygun dedeksiyon limitine sahip olması, kullanımının kolay olması, türevlendirme gereksinimi olmaması, analiz maliyetlerinin ve analiz süresinin uygun olması gibi avantajlardır.

Son yıllarda psikoaktif madde kullanımının artması, kullanıcıların izlenmesi açısından adli toksikoloji çalışmalarının önemini artırmıştır. Bu nedenle, psikoaktif maddeler ve metabolitlerinin kan gibi biyolojik örneklerde tespit edilmesi için yapılan çalışmaların büyük bir kısmı LC-MS/MS yöntemi ile gerçekleştirilmektedir.

LC-MS/MS yöntemi, kanda kısa yarılanma ömrüne ve maddelerin genellikle "ng/mL" seviyelerindeki konsantrasyonlarına sahip olmaları nedeniyle maddelerin ve metabolitlerinin tayininde oldukça etkilidir. Bu yöntem sayesinde daha doğru sonuçlar elde edilebilir ve psikoaktif madde kullanımına bağlı ölümlerin önlenmesine yardımcı olunabilir.

1.8.1. LC–MS/MS yöntemi

MS ilaç sanayi biyokimya, su ve gıda analizleri, klinik, biyomedikal gibi farklı alanlarda uygulanan kalitatif ve kantitatif sonuç veren bir analiz yöntemidir. Numunelerin uygun şekilde analize hazır hale getirilmesiyle kütle spektroskopisi teknikleriyle çok fazla sayıda madde tespiti yapılabilmektedir. Yöntemin hassas oluşu, hızı, algılama sınırları ve uygulamaların çeşitli olması nedeniyle günümüzde önde gelen teknolojik yöntemlerden biridir. MS teknolojisi günümüzde hızlı bir şekilde gelişmiş olması analizde kullanılmak üzere çeşitli yeni cihazların ortaya çıkmasını sağlamıştır (Gök Topak, 2021). LC-MS cihazları atmosferik basınç iyonizasyonu ile çalışmakta olup düşük miktardaki hedef analitlerin tespit edilmesinde çok yüksek duyarlılık ve seçicilik sağlamaktadır. Ek olarak sıvı kromatografisinin tandem kütle spektrometresiyle (LC-MS/MS) kombine edilmesi, analit ve matriks piklerini LC-MS'den daha güçlü ayırma becerisi olması sebebiyle analizlerin seçicilik ve duyarlılığını arttırmaktadır (Yıldız, 2012).

LC-MS/MS yöntemi molekülleri hem kütle/yük oranları hem de kolondan çıkış zamanına göre analiz eden bir yöntemdir. Bu yöntem çok düşük derişimlerde dahi maddenin kantitatif tayinin

yapılabilmesini; MS/MS miktar tayinlerinde yüksek bir hassasiyet ve kesinlik sağlamaktadır (Eser ve Serpici Dinçel, 2018). Kromatografik ayrıştırmanın akabinde, moleküller bir enerji kaynağı kullanılarak iyonlaştırılmaktadır. Bu iyonize edilmiş moleküller daha sonrasında molekülleri kütle/yük oranlarına göre ayıran bir dizi mıknatıstan geçer. Algılama, bir dedektöre çarpan ve akım oluşturan yüklü parçacıklara dayalı olarak gerçekleştirilmektedir. Dedektör sadece yükleri algılar ve kütleye göre ayrım yapmaz. Manyetik ayırma, metodun seçiciliğini sağlamaktadır. Böylece aynı zamanda iyonize olan fakat farklı kütlelere sahip iki molekül, MS kullanılarak bağımsız olarak belirlenebilmektedir. Benzer şekilde aynı zamanda iyonize olan farklı kütlelere sahip ve farklı yüklere sahip iki molekül de bağımsız olarak tespit edilebilmektedir. Çoklu iyonlaşma meydana geldiğinde daha fazla duyarlılık sağlanmaktadır. İkinci iyonizasyon işlemi ise molekülleri her biri kendi kütle/yük oranına sahip olacak şekilde parçalara ayırmaktadır. Bu parçalara yavru iyonlar denilmekte olup bu iyonlar tespit edilebilmektedir. Her ana molekül öngörülebilir bir şekilde parçalanmakta olup iki ana molekül aynı kütle/yük oranına sahip olsalar bile farklı yavru iyonlara ayrıldıkları için ayırt edilebilmektedir. Bu çoklu iyonlaşma yöntemi tandem kütle spektrometresi (MS/MS) olarak adlandırılmaktadır. MS/MS teknolojisi sadece tek bir iyonizasyon istenen hassasiyeti elde etmek için yeterli olmadığı durumlarda kullanılmaktadır (Teuscher, 2014). LC-MS ise adından da anlaşılacağı gibi sıvı kromatografisi ve kütle spektrometrisi tekniklerinin birleşimidir. Sıvı kromatografisi ve kütle spektrometrisinin bir araya getirilmesi, analiz edilen maddeleri tanımlama ve miktarlarının tayini için kütle spektrometresinden sırayla geçirilmesiyle kütle spektral analizi sırasındaki karmaşıklığı büyük ölçüde azaltacak şekilde karmaşık moleküllerin ayrılmasına olanak tanımaktadır (Cross ve Hornshaw, 2016).

LC-MS/MS yönteminin kullanım alanlarına bakıldığında biyoteknoloji alanında peptit, protein ve oligonükleotidler; Adli tıp, toksikoloji alanında uyuşturucu ilaçlar, narkotikler ve zehirler; farmakoloji alanında farmokinetik, ilaç metabolizması, ilaç seviyeleri ve geliştirilmesi; çevre ve gıda analizleri alanında gıda örneklerinde pestisit ve metabolitlerinin analizi, hormon ve metabolitlerinin vb. analizlerinde kullanılmaktadır (Eser ve Serpici Dinçel, 2018).

LC-MS/MS sistemlerindeki temel parçalar:

a. Pompa sistemi

b. Analitik kolon

c. İyon kaynağı

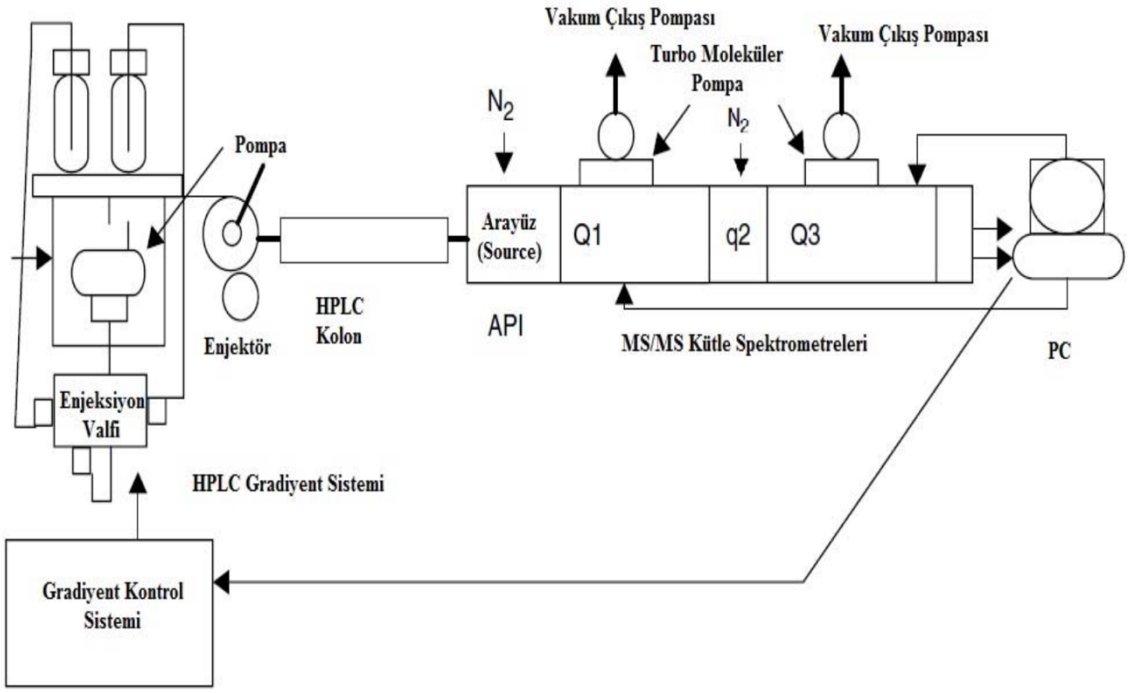
d. Vakum sistemi

e. Lens sistemi

f. Analizör

g. Dedektör

h. Data kontrol ünitesi (Ersoy, 2017).



Şekil 1.19: Genel olarak LC-MS/MS'in Çalışma Prensibi

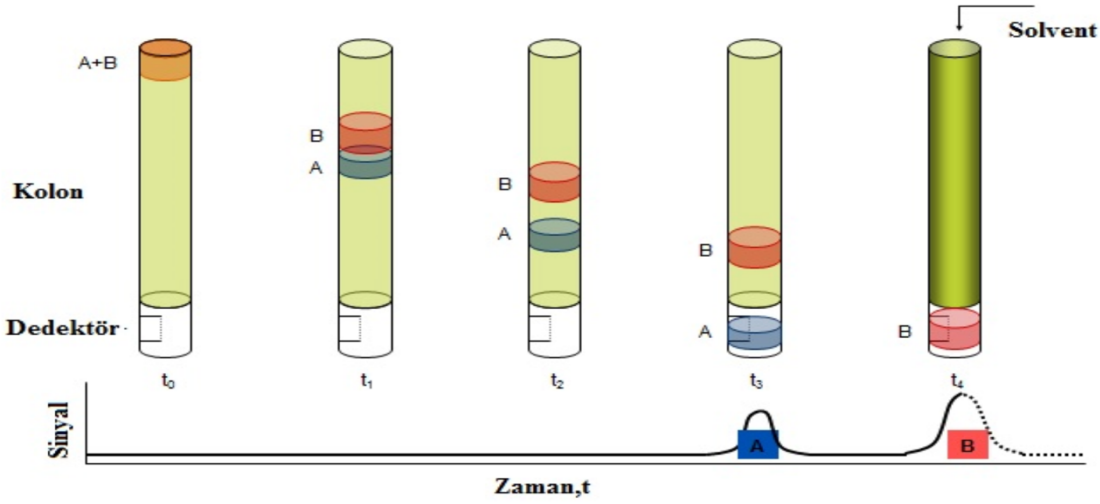
1.8.1.1. Pompa sistemi:

Hareketli fazın içine depo edilmiş örnek, birtakım filtrelerden geçirilerek ve kolondan kaynaklanan basıncı aşıp çözücüyü sürükler. Bu hareketli faz, genellikle bir çözücü içinde çözünmüş olan örnek ile birlikte otomatik numune yapıcı kullanılarak akışa eklenir. Örnek içeren çözücü, enjektöre doğru yönlendirilerek ilerler (Ersoy, 2017).

1.8.1.2. Analitik kolon:

Örneğin içinde çözünmüş durumda olan numune, mobil faz içerisindeyken ayrımın gerçekleştiği bu kısma gelir. Bu noktada, örnek dolgu malzemesiyle etkileşime girer ve kolon

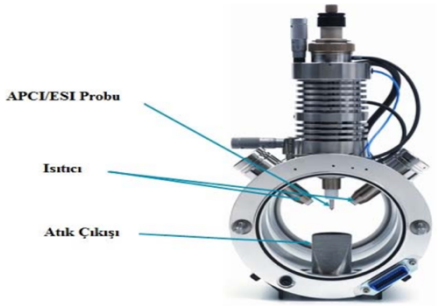
içinde denge ayrılması sağlandıktan sonra kolondan uzaklaştır. Ayırma işlemi, seçilen kolonun madde yapısına bağlı olarak gerçekleştirilir ve maddeler aynı sırayla dedektöre ulaşarak sinyal oluştururlar (Ersoy, 2017).



Şekil 1.20: Analitik kolonun ayırma mekanizması

1.8.1.3. İyon kaynağı:

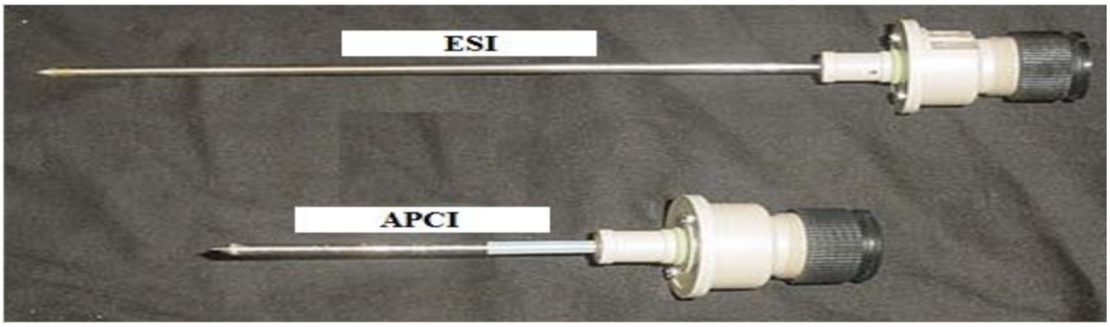
Kolondaki akış içerisinde buharlaşabilen maddelerin uzaklaştırılmasının yanı sıra, istenen analitlerin de sistemde tutulmasını sağlayan bileşenler bulunur. İyon kaynağının temel görevlerinden bir tanesi çözücüde bulunan nötr iyonlara yük kazandırmaktır. Bu nedenle, kütle dedektörlerinin çalışma prensipleri yüklenmiş moleküllerin kütle/yük oranına göre ayrılmasına dayanır. Örneklerin yüklenmesi için buharlaştırma işlemi tamamlandıktan sonra, kütlelerin hareketlendiği kapilerin üzerine bir voltaj uygulanır. (Ersoy, 2017).



Şekil 1.21: İyon kaynağının bileşenleri

Bu sistemde, farklı iyonlaştırma probu seçenekleri kullanılmaktadır. Elektrosprey (ES) ara yüzü, kolay iyonlarına ayrılabilen ve yapısal olarak kolay parçalanabilen polar yapılı moleküller için tercih edilirken, atmosferik basınçlı kimyasal iyonlaştırma (APCI) ara yüzü daha az polar maddeler için tercih edilmektedir. Birçok ticari üründe, iyon kaynağı probunun her iki seçeneği bir arada bulunur. Elektrosprey ara yüzü, basit bir parçalama tekniğidir ve minimal düzeyde parçalanma gerçekleşir. Bu, cihazın markasına ve modeline bağlı olarak değişmekle birlikte genellikle 10-10.000 akb arasında çalışma kütle aralığına sahiptir (Ersoy, 2017).

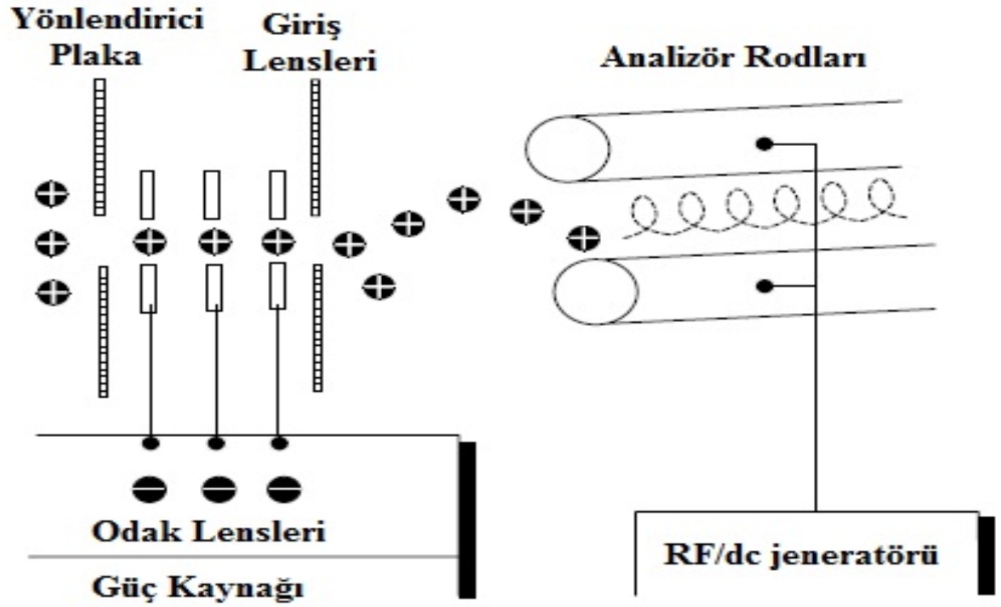
LC-MS/MS sistemleri için yalnızca seçilmiş ve yüklenmiş iyonların sistem içerisine girebilmesi için sarmallanmış yolaklar ya da perde plakalar kullanılır. En büyük sorun ise APCI ve ESI arayüzlerinin tüm maddeleri iyonize edememesidir. Bu sorunu çözmek için analizi yapılacak molekülün yapısını bilmek ve en uygun arayüzü kullanmak için çaba harcanır. (Ersoy, 2017).



Şekil 1.22: ESI ve APCI propları

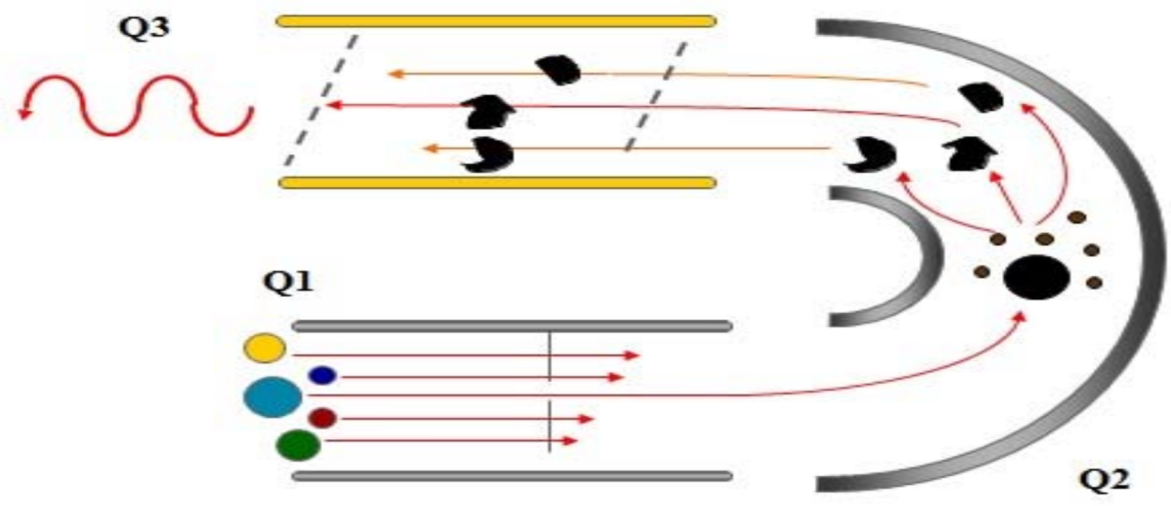
1.8.1.4. Vakum sistemi

İyonlaşmış maddeler, hava molekülleriyle çarpıştıklarında analizörlere kadar yürüyemezler. Maddelerin havayla temasını engelleyebilmek için gerekli olan vakumu sağlamak için vakum pompaları kullanılır. Tek bir pompa bu vakumu sağlamak için yeterli olmadığından, sistemde iki adet vakum pompası bulunur. İlk pompa (roughing pump), 10^{-4} torr vakum sağlarken, ikinci pompa (turbo moleküler pompa) kademeli olarak 10^{-5}-10^{-7} torr aralığına inebilme kapasitesine sahiptir. İyonlarına ayrılan örnek, içerisinde ters yükle yüklenmiş lensler ve aynı yükle yüklenmiş çubuklardan oluşan kütle analizörü bölümüne taşınır. Analizörde, karşılıklı çubuklara aynı doğru akım (DC) voltajı uygulanır iken, bitişik çubuklara tam tersi olan bir DC voltajı uygulanır. Sonrasında, seçilmiş olan iyonlar seramik bileziklerle birbirine bağlanmış kuadrupol üzerinden dedektöre taşınması için RF (yüksek frekans) voltajı uygulanır.



Şekil 1.23: Kütle analizörünün çalışma sistemi

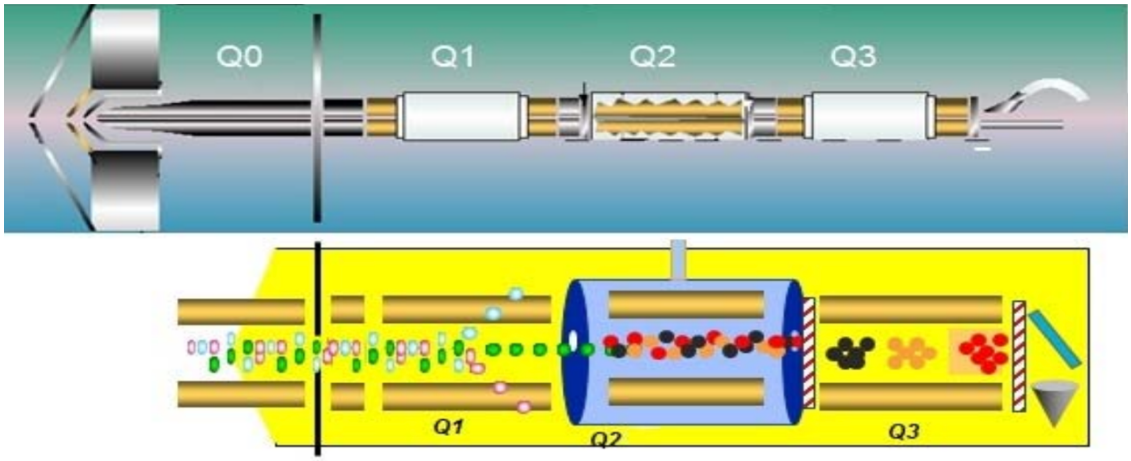
Taşınmış olan bu iyonlar, dedektörün yüzeyine çarparak sinyalleri oluştururlar ve oluşan bu sinyaller yükseltici aracılığıyla bilgisayara iletilir. İyonlar, çubuklar arasında ileri doğru sarmal bir hareket sergilerken farklı RF voltajlarına bağlıdır (Ersoy, 2017).



Şekil 1.24: Moleküler iyonun parçalanması ve bu parçalanma ile ürün oluşumu

1.8.1.5. Analizör

Sistem analizörü üç adet parçadan oluşur. Bunların iki tanesi kütle spektrometrisi analizörüyken diğeri ise parçalanma hücresidir. Birinci kuadrupolün seçtiği hedeflenen iyonlar, parçalanma amacıyla gaz ile dolu olan diğer hücreye yönlendirilir. Parçalanmış olan bu iyonlar, ayrıştırılmak, dedekte edilmek için üçüncü kuadrupol olan bir diğer tarama kuadrupolu (Q3) üzerinden geçer. Aşağıdaki şekilde de görüldüğü gibi cihaz sistemlerinde genellikle Q1 ile Q3 ile gösterilen iki adet tarama amaçlı kuadrupol ve Q2 ile gösterilen bir adet parçalanma hücresi vardır (Ersoy, 2017).



Şekil 1.25: Kuadrupollerin kısımları

1.8.1.6. Dedektör

Yüklenmiş parçacıklar, dedektörün yüzeyine çarptıklarında, elektronlarda bir salınım meydana gelir. Bu elektronlar, dedektörün duvarına çarparak çoklu şekilde elektronların serbest bırakılmasına sebep olur. Serbest bırakılan bu elektronlar tüm etkileşimler için veri sistemi tarafından kaydedilen sinyalleri oluştururlar. Veri işleme aşamasında, dedektörde oluşan sinyalin yoğunluğu zamanla değişir ve bu değişim Toplam İyon Kromatogramı (TIC) olarak adlandırılır. Kuadrupollerden gelen RF sinyalleri, analizördeki her bir saniyede geçen kütle-iyon oranlarının belirlenmesini sağlar. Bu veriler, belirlenmiş zaman aralıklarında yapılan tüm taramalarla bir araya getirilerek ana kütle ve parçalanma sonucu ürünlerinin tespit edilmesini sağlar (Ersoy, 2017).

1.8.1.7. Data kontrol ünitesi

Kütle dedektöründen gelen sinyali dijital bir sinyale dönüştürerek veri oluşturmayı ve oluşan bu veriyi işlemeyi sağlayan bilgisayar tabanlı bir yazılım sistemidir (Ersoy, 2017).

1.8.2. Gaz kromatografisi (GC) Yöntemi

Hukuk alanında gerek ulusal gerek uluslararası düzeyde giderek daha fazla bilimsel ve teknik kanıt kullanmaya yönelik eğilim bulunmaktadır. Potansiyel olarak toksik maddeler hem etkileri hem de çeşitli davalardaki rolleri ile ilgili konuların aydınlatılması adli toksikoloji ile sağlanabilir. Bilimi adalete ulaşmak amacıyla kullanan ve uygulayan adli bilim alanında çalışan adli bilim insanının görevi kimlik tespiti yapmak, yorumlama ve delil materyallerinin araştırılması olarak kısaca açıklanabilir. Adli toksikoloji alanı adli bilimler alanındaki problemlerin aydınlatılmasın önemli bir alan olup adli tıp laboratuvarlarında karşılaşılan analitik problemlere yaklaşımda kütle spektrometrik (MS) teknikler kullanmaktadır. Kütle spektrometresi (GC) yüksek seçicilik sağlaması nedeniyle evrensel bir teknik olup araştırmacıya çalışılan maddenin kesin bir kimlik kanıtını sunmakta ve tanımlanmasında geçerli veriler sağlamaktadır Araştırılan bileşiklerin karışan maddelerden ya da matristen bir ön ayrımın sağlanabilmesi için gaz kromatografisi (GC) tekniği kullanılmaktaydı. (Bocxlaer, Clauwaert, Lambert, Deforce, Eeckhout ve Leenheer, 2000). Adli bir çalışma sürecinde yüksek hassasiyet, seçicilik, hız, doğruluk ve kesinlik, geniş dinamik konsantrasyon aralığı, sağlam ve basit cihaz tasarımı olması vb. gibi birçok artık yönü olması dolayısıyla Gaz kromatografisi (GC) cihazını tercih edilen bir cihaz haline getirmiştir (Kabir ve Furton, 2021).

1.9. Metot Validasyonu

1.9.1. Seçicilik

Seçicilik parametresinin doğrulanması sırasında, analitik metodun belirli bir analite özgü olup olmadığını göstermek her zaman mümkün değildir. Bu nedenle safsızlıkların tespiti ve özgüllük araştırması yapılması gerekmektedir. Bu durumda gerekli ayrım düzeyine ulaşmak için iki ya da daha fazla analitik prosedürün bir kombinasyonu tavsiye edilir. Doğru tanımlama testleri, analiti içeren örneklerden pozitif sonuçlar ve analiti içemeyen örneklerden negatif sonuçlar elde ederek ayrım yapılabilir. Ayrıca pozitif bir sonucun elde edilmediğini doğrulamak için analitle ilişkili ürünlerle tanımlama testi yapılabilir. Malzemelerin seçimi, olası etkileşimler dikkate alınarak güvenilir bilimsel prensiplere dayanarak yapılmalıdır. Seçicilik kriterleri, bileşenlerin ve çözücülerin analiz edilen maddenin nihai karışımından ayrılabilmesini sağlamak için önemlidir. Bu amaçla kromatografik sistemde, çözücüler, mobil fazlar, hammadde, standartlar belirli konsantrasyonlarda hazırlanmış çözeltileri ve temin edilebilen analitlerin saflık çözeltileri enjekte edilerek herhangi bir girişim olup olmadığı tespit edilir (ICH-Q2, 2005; USP-1225, 2015, ve Çiftçioğlu, 2023).

1.9.2. Doğrusallık

Analitik yöntemin çalışma aralığı boyunca analitin konsantrasyonu ile absorbansı arasında doğrusal bir ilişki olup olmadığı tespit edilmelidir. Bunun için ilgili aktif maddeyle stok standart çözeltisi hazırlanmaktadır. 5 farklı düzeyde hazırlanan çözeltiler ile doğrusallık parametresinin doğru şekilde uygulanabilmesi sağlanmaktadır. Çalışma aralığı için tayin sınırı (LOQ) olarak adlandırılır.

Bu çözeltiler LOQ seviyesinden standart seviyesinin 2 katına kadar olan aralıkta orta seviyelerde bulunmaktadır. Kromatografik sisteme enjekte edilen bu çözeltilerden elde edilen etken pik alanları, konstrasyonları ile orantılı olup olmadığı kontrol edilir. İyi bir analitik metot, en alt düzeyden en üst düzeye kadar doğrusal bir yanıt vermelidir. Bir analitik yöntemin doğrusallığını kontrol etmek için hazırlanan çözeltilerin konstrasyonuna karşı elde edilen kromatografik pik alan grafiği çizilmektedir. Grafik üzerinden korelasyon katsayısı, y-kesme noktası, regresyon doğrusunun eğimi ve artık kareler toplamı gibi parametreler sunulmaktadır (ICH-Q2, 2005; USP-1225, 2015; Şahin, 2019 ve Çiftçioğlu, 2023).

1.9.3. Tespit Limiti ve Tayin Limiti

Metodun laboratuvar ortam şartlarında örnek içindeki varlığını tespit edebildiği, ancak kesin bir miktar ölçemediği küçük örnek derişimini tespit limiti (LOD) olarak adlandırılır. Tayin limiti (LOQ) nicel bir değer için tespit edilebilecek olan en küçük örnek derişimini ifade eder. LOD ve LOQ, genellikle kullanılan yaygın tanımlardır. LOD, örnekteki analitin varlığının tespit edilebileceği en düşük seviyeyi ifade ederken, LOQ, örnekteki analitin tespit edilip miktarının doğru bir şekilde ölçülebileceği en düşük konsantrasyon seviyesini ifade eder. Bu iki parametre, bir analitik metodun doğruluğunu ve hassasiyetini değerlendirmede önemli bir rol oynamaktadır (ICH-Q2, 2005; USP-1225, 2015 ve Şahin, 2019).

Tespit limiti (LOD), kullanılacak analitik koşullar altında tespit edilebilecek bir analitin en düşük konsantrasyonu olarak tanımlanmaktadır. Analitlerin varlığı tespit limitinde görülebilir; ancak konsantrasyonları kantitatif olarak ölçülememektedir. Tayin limiti (LOQ) ise analitik koşullar altında kabul edilebilir doğruluk ve kesinlik ile belirlenebilen en düşük konsantrasyondur. Genel olarak, LOQ, LOD'un üç katı olarak tahmin edilebilir. LOD seviyesindeki bir çözeltide yer alan etken pikinin sahip olduğu sinyalin kromatografik sistemin gürültüsüne oranı bir başka deyişle S/N oranı en az 3; LOQ seviyesindeki bir çözeltideki S/N oranı ise en az 10 olmalıdır. Bu ise şu şekilde formülize edilebilir: LOD: 3.3 x *s/S,* LOQ: 10 x *s/S* (Yuwono ve Indrayanto, 2005).

1.9.4. Doğruluk

Analitik bir yöntemin doğruluğu elde edilen değerin referans (gerçek) değerden ne derece saptığı ile belirlenmektedir. Doğruluk tahminleri konsantrasyonu bilinen bir numunenin analiz edilmesini ve ardından sonuçların ölçülen değer ile referans değer arasında karşılaştırılmasını içermektedir. Diğer bir yol ise yeni yöntemden elde edilen test sonuçlarını, doğru olduğu bilinen ve kullanılan yöntemden elde edilen sonuçlarla karşılaştırmaktır. Ayrıca bunlara ek olarak doğruluk tespiti yöntemlerine boş matrislere veya ürünlere eklenmiş bilinen analitin yüzde geri kazanımının belirlenmesi olan standart ekleme yöntemi de söylenebilir (Yuwono ve Indrayanto, 2005). Doğruluk, bir analiz sonrasında elde edilen ölçüm sonucunun referans değere olan yakınlığını ifade eden ölçümünün iki ayrı bileşeni bulunmaktadır. Bunlar kesinlik ve gerçekliktir (Şahin, 2019).

1.9.5. Kesinlik

Kesinlik, ölçüm sonuçlarının birbirlerine ne kadar yakın olduğunun bir ölçüsü olmakla beraber ayrıca ölçüm sonuçlarının ortalaması etrafındaki dağılımını göstermektedir. Bu da tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik olmak üzere iki ayrı bileşen içermektedir. Kesinlik, standart sapma veya varyasyon katsayısı kullanılarak ifade edilmekte olup ve rastgele hatalardan etkilenmektedir. İyi çalışma teknikleri kullanarak kesinlik küçültülebilirken, tamamen ortadan kaldırılamaz (Yuwono ve Indrayanto, 2005; Şahin, 2019).

1.9.6. Tekrarlanabilirlik

Tekrarlanabilirlik analizin bir laboratuvarda bir analiz eden kişi tarafından, belirli bir ekipman parçası kullanılarak gerçekleştirilmesi ve kısa süre içinde gerçekleştirilmesi ile belirlenmesidir. Bir başka deyişle bir yöntemin tekrarlanabilirliği, aynı laboratuvar, cihaz/metot, uygulama koşulları ve aynı kişi tarafından kısa bir zaman aralığında benzer veya aynı matrislerde elde edilen ölçüm sonuçlarının benzerliğinin bir ölçüsüdür. Bu benzerlik standart sapma, bağıl standart sapma veya % bağıl standart sapmayla ifade edilebilir (Yuwono ve Indrayanto, 2005; Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, 2018).

Validasyon/Verifikasyon planı, ürün veya sistem performansının doğru bir şekilde ölçülebilmesi için çok önemlidir. Bu nedenle, belirlenen her konsantrasyon düzeyi için en az 6 tekrarlı bir çalışma yaparak tekrarlanabilirlik verileri elde edilir. Bu tekrarlı çalışmalar, belirli bir süre boyunca aynı veya farklı günlerde paralel bağımsız çalışmalar olarak gerçekleştirilebilir (Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, 2018).

1.9.7. Tekrarüretilebilirlik

Laboratuvarlar arası tekrar üretilebilirlik, bir ölçüm metodunun başka bir laboratuvarda uygulanması sonucu elde edilen sonuçların orijinal laboratuvar sonuçlarına ne kadar yakın olduğunu gösterir. Bu kavram, bir ölçüm metodunun yaygın bir şekilde kabul edilmesinde önemli bir rol oynar ve sonuçların güvenilirliğini arttırır (Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, 2018).

Laboratuvar içi tekrarüretilebilirlik, aynı laboratuvarda ve aynı ya da farklı cihazlarla, değişik zamanlarda ve farklı kişiler tarafından yapılan ölçümlerin aynı veya eşdeğer matrislerdeki sonuçlarının yakınlığını ölçen bir metriktir. Analiz edilen örneğin özelliklerinde zamanla değişim olduğunda, tekrarlanabilirlik, en az bir koşulun değiştirilerek yeniden yapılabilir. Validasyon veya verifikasyon deneyi tasarımı, tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik verilerinin elde edilmesi için özel olarak hazırlanabilir. Laboratuvar içi tekrar üretilebilirlik çalışması, en az altı tekrar yapılmalı ve istatistiksel karşılaştırma testleri kullanılmalıdır. Her analit için belirlenen konsantrasyon seviyelerinde elde edilen verilerin standart sapması hesaplanarak sR ve % RSDR (%CVR) değerleri ile tekrar üretilebilirlik belirlenir (Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, 2018).

2. Gereç ve Yöntem

Bu tez çalışması postmortem kan örneklerinde bazı psikoaktif maddeler ve metabolitlerinin kromatografik analizine yönelik deneysel bir araştırma çalışmasıdır. Çalışma, Nisan 2022 – Şubat 2023 tarihleri arasında ATK Kimya İhtisas Dairesi Ens. Analiz ve Numune Hazırlama Laboratuvarında yapılmıştır. Çalışma, Adli Tıp Kurumu Eğitim ve Bilimsel Araştırma Komisyonu'na sunulmuştur. 10/05/2022 tarih ve 2022/338 karar numarası ile onay almıştır.

2.1. Deneysel Çalışmada Kullanılan Araç ve Gereçler

2.1.1. Cihaz ve Aletler

LC-MS/MS Sistemi: Shimadzu LCMS 8050

Analitik Kolon: InfinityLab Poroshell 120 EC-C18

Yazılım: Lab Solutions

Azot Jeneratörü: P.S. Genius 1051

Hassas Terazi: M. Toledo Balance XPR504S

Mikro Pipetler ve Otamatik Pipet: Eppendorf

Vorteks: DVX-2500 Digital Multi Tube Vortexer

Santrifüj: Hettich UNIVERSAL 380R Masaüstü Soğutmalı Santrifüj

Ultra Saf Su Cihazı: MERCK Direct-Q5 UV

Katı Faz Ekstraksiyon Manifoldu: UCT Positive Pressure Manifold

Evaporatör: TAB-40WEL

Ultrasonik Banyo: WiseClean

SPE Kolonu: OASIS 3mL Kartuş (HLB)

Mikrofiltre

Cam ve plastik deney tüpleri

Vial, vial kapağı

Pipet ucu

Enjektör

2.1.2. Cihaz Parametreleri

LC Parametreleri

Enjeksiyon modu: Injection with needle wash

Hız: 200 µL/dk

Enjeksiyon hacmi: 10µL

Akış hızı: 600 µL/dk

Kolon sıcaklığı: 40ºC

A pompası: Mobil Faz A

B pompası: Mobil Faz B

Maksimum/minimum pompa basıncı: 600 Bar

Gradient Akış Programı:

Tablo 2.1: Gradient akış programı

Total Zaman (dk)	Pompa Akış Hızı (mL/dk)	Mobil Faz A (%)	Mobil Faz B (%)
0.0	0.6	90	10
0.3	0.6	90	10
3.0	0.6	20	80
7.0	0.6	5	95
11.0	0.6	5	95
11.1	0.6	90	10

MS Parametreleri

Chrom. Peak width (FWHM): 15 s

Method Duration: 15 dk

Run Time: 0-15 dk

Polarity: Pozitif

Inclusion: On

Resolution: 35.000

AGC Target: 3e6

Maximum IT: 100 ms

Tablo 2.2: Maddelerin m/z ve RT değerleri

Madde	m/z	RT(dk)
Ekgonin metil ester	200,15>182,10	2,60
Morfin	286,15>152,10	3,83
Kodein	300,15>152,10	4,23
6-MAM	328,15>165,10	4,44
MDMA	194,10>163,10	4,62
MDA	180,10>105,15	4,64
Amfetamin	136,10>91,10	4,69
Metamfetamin	150,15>91,10	4,76
Kokain	304,15>182,15	4,90
Benzoilekgonin	290,15>168,15	4,98
Diazepam d5*	290,00>198,10	7,04
THC-COOH	342,90>299,20	9,37

2.2. Deneysel Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler

2.2.1. Kimyasal Maddeler ve Çözücüler

Metanol: J.T. Baker (LC/MS grade)

Asetonitril (ACN): İsolab (LC/MS grade)

Etil Asetat (EtAc): İsolab (LC/MS grade)

Formik Asit: İsolab

İnternal standart: Diazepam d_5

Standart karışımı için kullanılan standart maddeler:

Antipsikotik karışımı 1A 1x1 mL metanol içinde

Antidepresan karışımı 02A 1x1 mL metanol içinde

Opiyat karışımı 5 1x1 mL ACN içinde

Halüsinojen karışımı 1x1 mL ACN içinde

Benzodiazepin karışımı 02A 1x1 mL ACN içinde

2.2.2. Çözeltiler

2.2.2.1. Hareketli Faz Çözeltisinin Hazırlanması

Mobil Faz A: 2mM 2mL amonyum asetat ve % 98'lik formik asitten 1 mL alınmıştır. Ultra saf su ile balon joje içerisinde 1000 mL'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.

Mobil Faz B: 1 L metanol alınarak hazırlanmıştır.

Mobil fazlar her analiz öncesinde yeni hazırlanarak, 10 dk ultrasonik banyoda bekletilerek degaze edilerek kullanılmıştır.

2.2.2.2. Ekstraksiyonda Çözeltileri

%5'lik metanol çözeltisi: Cihazda kullandığımız metanolden 50 ml alınarak balon jojeye aktarılmıştır. Sonra balon joje saf su ile 1000 mL'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.

2.2.2.3.Standart Karışım Çözeltisinin Hazırlanma

Standart karışım çözeltisi için kullanılan standart maddelerden 300'er µL alınmıştır. Toplamda 1,5 mL olan karışıma 8,5 mL metanol eklenerek 10 mL'ye tamamlanmıştır.

2.2.2.4. Katı Faz Ekstraksiyonu (SPE)

Şartlandırma:

2 x 2 mL etil asetat

2 x 2 mL MeOH

2 x 2 mL saf su

Kolon şartlandırıldıktan sonra örneklerin tamamı kolona yüklenir.

Yıkama:

2 x 2 mL %5'lik MeOH çözeltisi

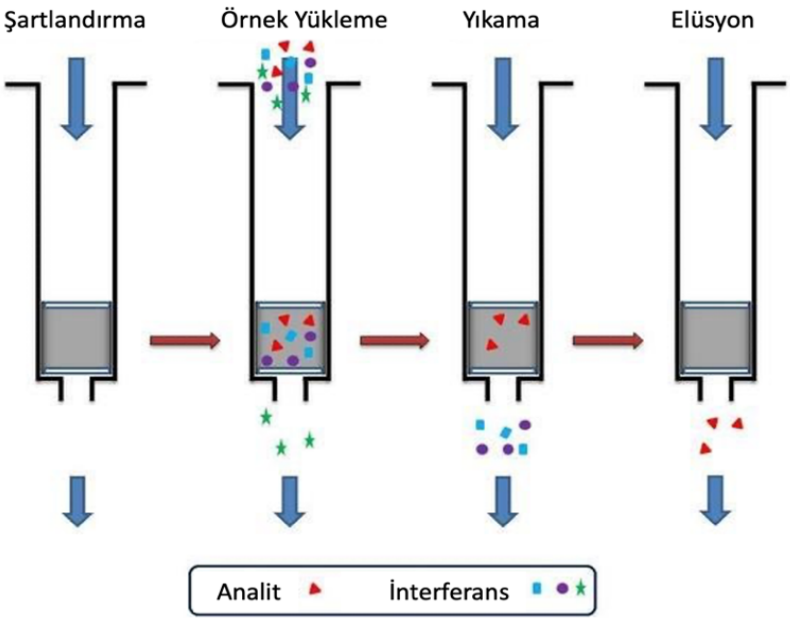
Yıkama işleminden sonra kolon 10-15 dk azot gazı altında kurutulur.

Elüsyon:

2 x 0,5 mL MeOH

2 x 0,5 mL etil asetat

Şeklinde elüentler cam tüplerde toplanır.



Şekil 2.1: Genel SPE metodu

Cam tüplerde toplanan elüatlar evaporatörde 40ºC'de azot gazı ile tamamen uçurulur. Tamamen uçurululan ekstrat %20'lik metanol çözeltisi ile çözülüp filtre edilerek insertlü viallere aktarılır.

2.2.3. Kalibrasyon için kan örneklerinin hazırlanması

Kalibrasyon için kullanılan negatif kan örneği Kızılay'dan temin edilmiştir. Kalibrasyon için alınan psikoaktif madde içermediği bilinen katım yapılacak kandan 0,5 mL alınıp içerisine 50 µL internal standart ve 2 mL saf su eklenmiştir. Plastik santrifüj tüpünde kapakları kapatılarak vorteksle karıştırılmasının ardından 5000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. 4 mL etilasetat, 4mL metanol ve 4mL saf su ile şartlandırılan Oasis HLB kartuşlara örneklerin üst fazı

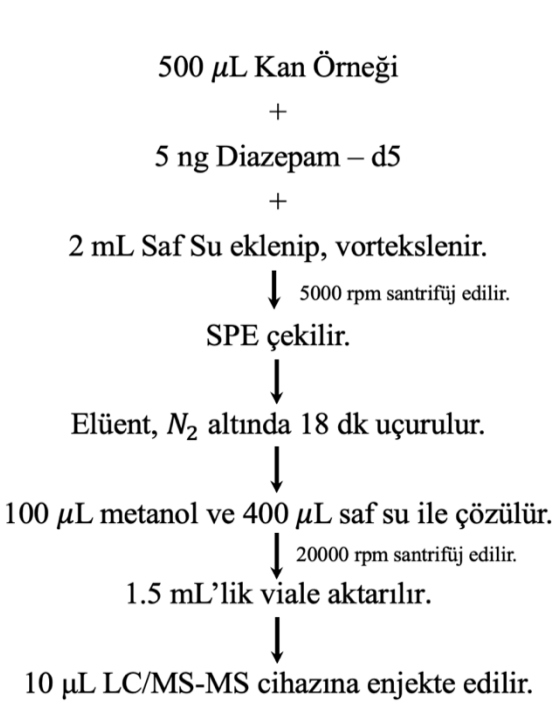
aktarılmıştır. Sonrasında kartuşlardan 4 mL %5'lik metanol geçirililerek yıkama işlemi yapılmıştır. Sonrasında vakum altında 15 dakika kurutulmuştur.

Kartuşların altına cam tüpler yerleştirilip sırasıyla 1 mL metanol, 1 mL etil asetat eklenmiştir. Elde edilen elüent azot evaporatörüne tamamen uçurmaya bırakılmıştır. Sonrasında cam tüplere 0.25 mL metanol eklenip vortekslenmiştir. Ardından 1 mL saf su eklenmiştir ve sonrasında tekrar vortekslenmiştir. Son olarak karışım mikro filtre takılı enjektörlerle filtre edilerek viallere aktarılmıştır.

Kalibratörlere 0.5, 1, 5, 10, 25, 50, 75, 100 ng/mL konsantrasyonlarda olacak şekilde standart karışım çözeltisinden eklenmiştir ve LC/MS/MS cihazında çalışılmıştır.

Tablo 2.3: Kalibrasyonda kullanılan miktarlar

Kalibrasyon Düzeyi (ng/mL)	Negatif Kan Hacmi (mL)	Standart Karışımından Eklenecek Hacim (µL)		İç Standart (250 ng/mL) miktarı (µL)
		500 ng/mL	25 ng/mL	
100	0,5	100	-	50
75	0,5	75	-	50
50	0,5	50	-	50
25	0,5	25	-	50
10	0,5	-	200	50
5	0,5	-	100	50
1	0,5	-	20	50
0.5	0,5	-	10	50



Şekil 2.2: Kan ekstraksiyonu şeması

2.2.4. LC/MS/MS Sistem Şartları

Akış Hızı	0,6 mL/dk
Basınç Üst Limiti	600 bar
Enjeksiyon Hacmi	10 µL
Analiz Süresi	15 dk
Kolon Fırın Sıcaklığı	40ºC
Gaz	Argon
İyon Kaynağı	ESI
Kurutucu Gazın Sıcaklığı	300ºC
Kurutucu Gazın Akışı	10 L/dk
Nebulize Gaz Akışı	3 L/dk
Desselvasyon Sıcaklığı	526ºC
Isıtıcı Gaz Akışı	10 L/dk
Tarama Modu	Dinamik MRM

2.2.5. Validasyon Çalışmaları

2.2.5.1.Seçicilik

LC-MS/MS yöntemiyle çalışılan kan örneklerinde olası girişimlerin tespiti için kör kan örnekleri de analiz edildi. Bu amaçla, n≥6 olacak şekilde 10'ar kez kör kan örnekleri alındı ve LC-MS/MS ile analiz edildi.

Analiz sonuçları, psikoaktif maddeler ve metabolitleri için seçilen alıkonma sürelerinde matriksten veya çözücüden kaynaklı herhangi bir girişimin olup olmadığını gösterir. Bu sayede, çalışılan biyolojik örneklerden kaynaklanabilecek herhangi bir girişimin olup olmadığı değerlendirildi ve analiz sonuçlarının doğru ve güvenilir olması sağlandı.

2.2.5.2. Doğrusallık

Kullanılan yöntemin nicel olarak doğru sonuçlar alındığı derişim aralığını belirlemek için doğrusallık çalışmaları gerçekleştirildi. Bu çalışma için içerisinde herhangi bir analitin olmadığı bilinen negatif kör kan örneklerine standart çözelti karışımından 0,5, 1, 5, 10, 25, 50, 75, 100 ng/mL konsantrasyonları ilave edilerek örnekler hazırlandı. Her bir konsantrasyon seviyesi için 8 ayrı kan örneği hazırlandı ve ekstraksiyon işlemi gerçekleştirildi. Konsantrasyonlar ile analitin pik alanı ve iç standartın pik alanı arasındaki ilişki bulunarak lineelik sağlandı. Grafik üzerinde "lineer regresyon formülü" ve "korelasyon katsayısı" otomatik olarak hesaplanarak kalibrasyon eğrisi elde edildi.

Validasyon çalışmamıza göre, (r^2) değeri 0,99 veya daha yüksek olduğundan, metodun çalışılan doğrusal aralık için doğrusal olduğu tespit edildi.

2.2.5.3. Tespit Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırı (LOQ)

Kör kan örneği en düşük konsantrasyon düzeyinde (sinyalin gürültüye olan oranının 3'ten büyük olduğu bir nokta) referans standartlar ile kirletildi. 10 bağımsız analiz yapıldı ve ortalama ve standart sapma hesaplandı.

LOD = Ortalama + 3SD

LOQ = Ortalama + 6SD formülleri ile hesaplanmıştır.

2.2.5.4.Geri Kazanım

Geri kazanım, proses etkinliği ve matriks etkisi çalışmaları 5, 25 ve de 50 ng/mL olmak üzere 3 farklı konsantrasyonda ve her konsantrasyon için 6 bağımsız analiz yapılarak hesaplanmıştır. Geri kazanım, matriks etkisi ve proses etkinliği yüzde olarak ifade edildi. Bu çalışmalarda ilk olarak standart karışım çözeltisi belirlenen konsantrasyonlarda viallere alınıp ölçüm yapıldı (A). Sonra kör kan örneklerinin ekstraksiyonu sonrası elüatlara belirlenen konsantrasyonlarda standart karışım çözeltileri eklenip ölçüm yapıldı (B). Son olarak kör kan örneklerine yine belirlenen konsantrasyonlarda standart karışımı eklenip ekstraksiyon sonrasında ölçüm yapıldı (C).

Çalışmalarda kullanılan formüller aşağıda gösterilmiştir.

%Matriks Etkisi: $\frac{B}{A}\ x\ 100$

%Geri Kazanım: $\frac{C}{B}\ x\ 100$

%Proses Etkinliği: $\frac{C}{A}\ x\ 100$

2.2.5.5. Kesinlik

Tekrarlanabilirlik ve yeniden üretilebilirlik parametreleri ile belirlenir.

Tekrarlanabilirlik için, içindeki standart madde miktarı bilinen kör kan örneğinin standart madde ile kirletilmesiyle elde edilen numuneler kullanmıştır. En az 3 konsantrasyonda (LOQ ya da yakın bir üst değer, çalışma aralığının orta noktası ya da yakın bir değer ve çalışma aralığının üst noktası ya da yakın bir alt değer) standart numune hazırlandı. Her konsantrasyon için 10 tekrar yapıldı. Aynı gün içinde çalışma gerçekleştirildi. Her bir seviye için 10 tekrar yapılmıştır.

Bu çalışmalar için standart ve bağıl standart sapma ve ortalamalar hesaplandı.

Yeniden üretilebilirlik için, tekrarlanabilirlik çalışmalarında kullanılan seviyelerde aynı tür numuneler ile çalışılıldı. Her seviye için en az 6 tekrar yapıldı. Çalışmalar 5 günü kapsamıştır.

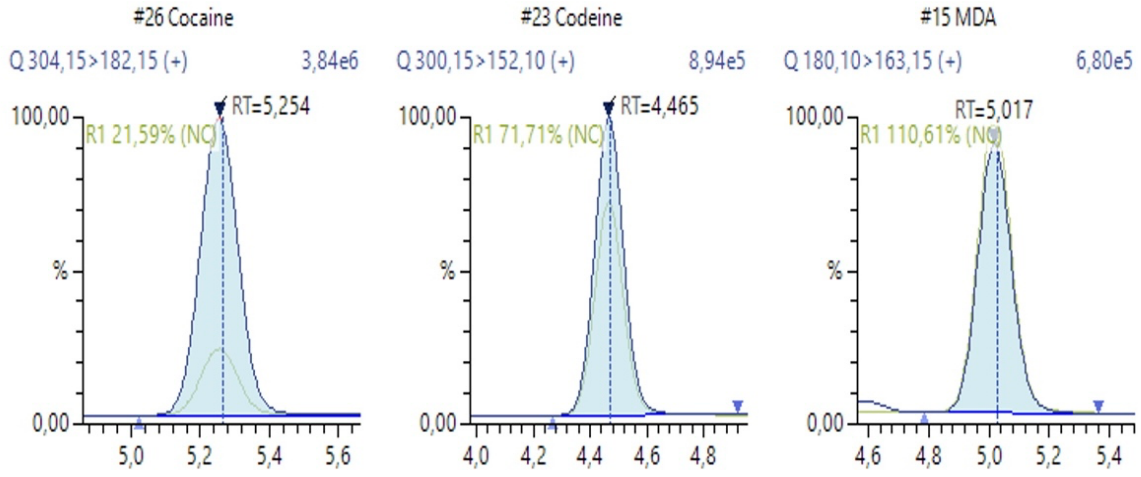
Bu çalışmalar için standart, bağıl standart sapma ve ortalamalar hesaplandı ve tekrarlanabilirlik ve yeniden üretilebilirlik limitleri belirlendi.

3. BULGULAR

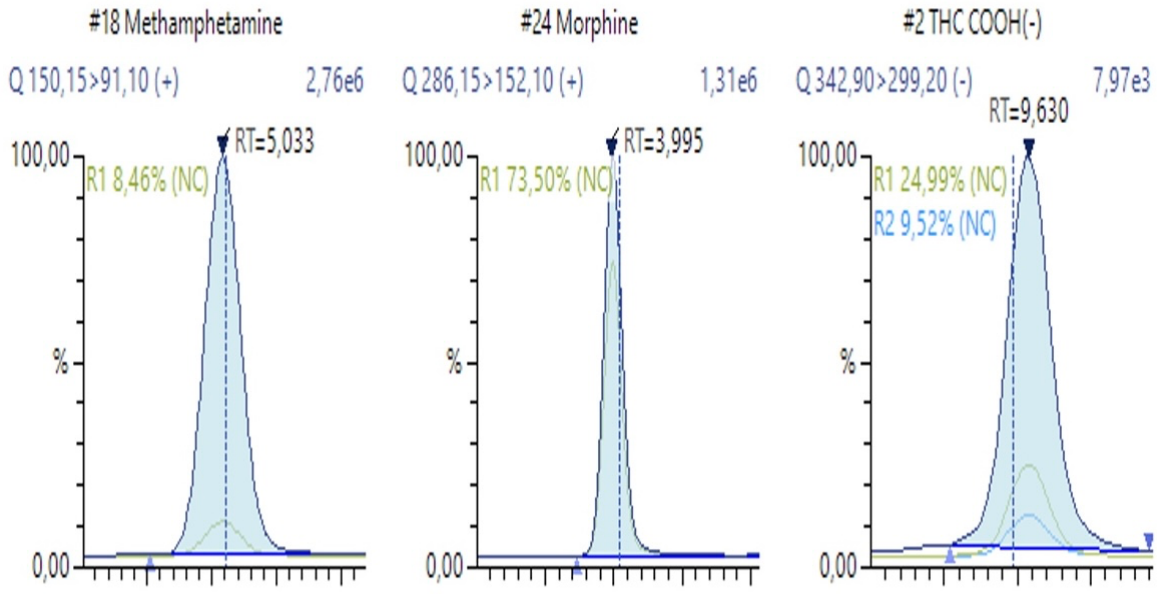
3.1. Metot Validasyonu

3.1.1. Seçicilik

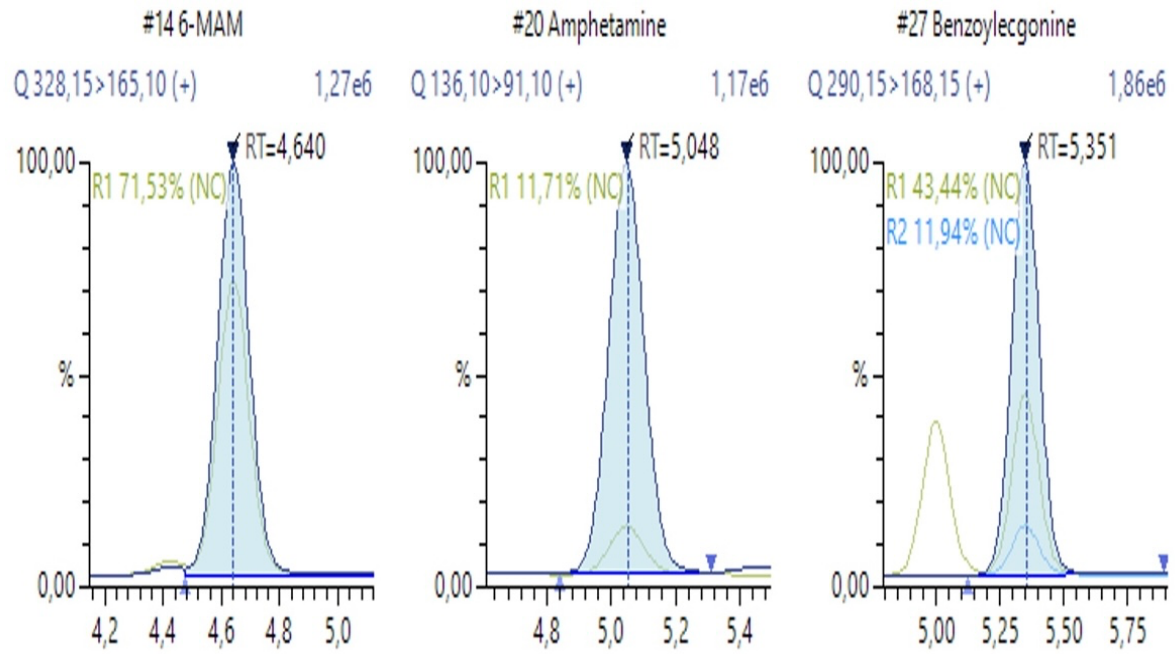
Seçicilik başlığında anlatıldığı şekilde çalışılarak elde edilen kromatogramlar aşağıda gösterilmiştir.



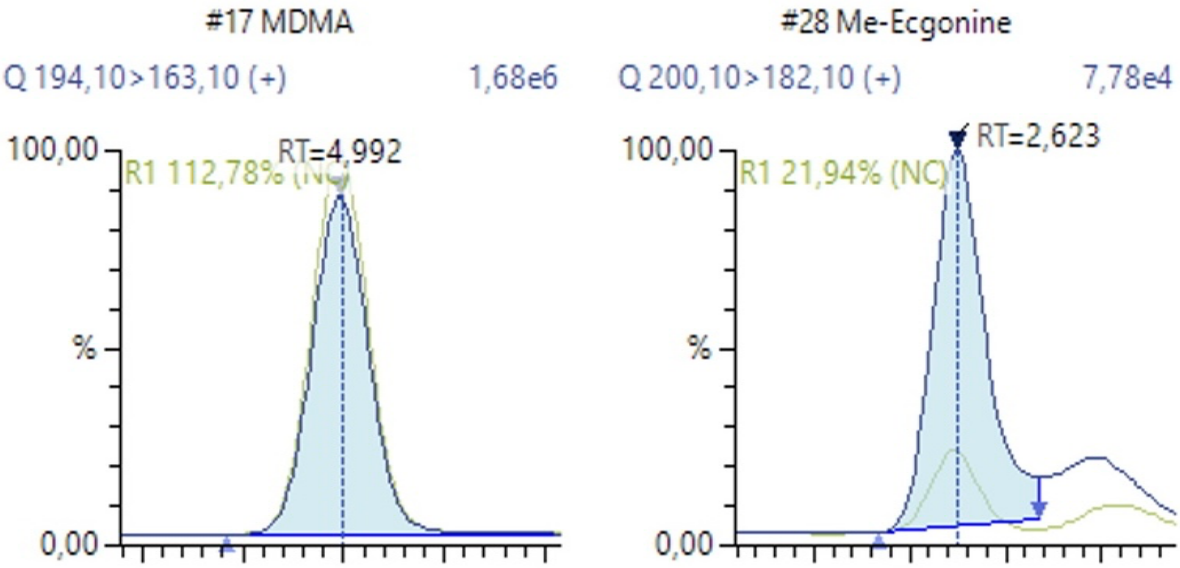
Şekil 3.1: Kokain, kodein ve MDA'nın kromatogramları



Şekil 3.2: Metamfetamin, morfin ve THC-COOH'ın kromatogramları



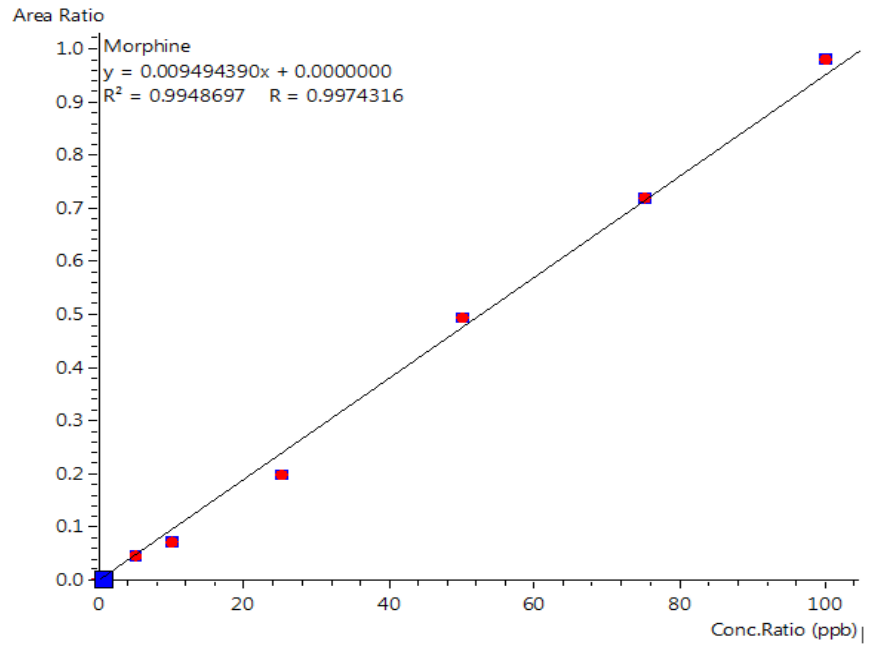
Şekil 3.3: 6-MAM, amfetamin ve benzoilekgonin kromatogramları



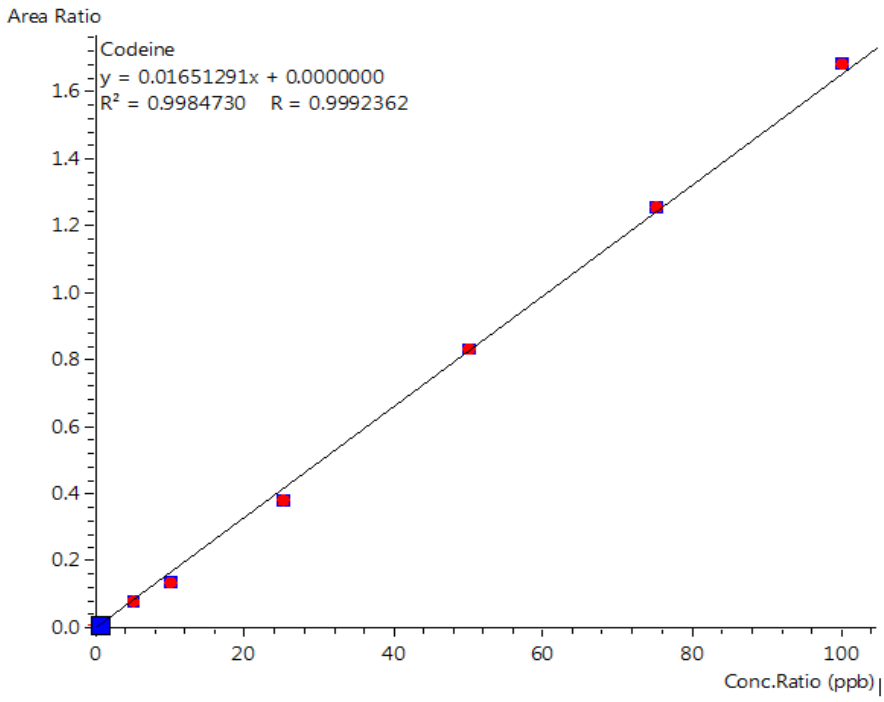
Şekil 3.4: MDMA ve ekgoninin metil ester kromatogramları

3.1.2. Doğrusallık ve Kalibrasyon Eğrisi

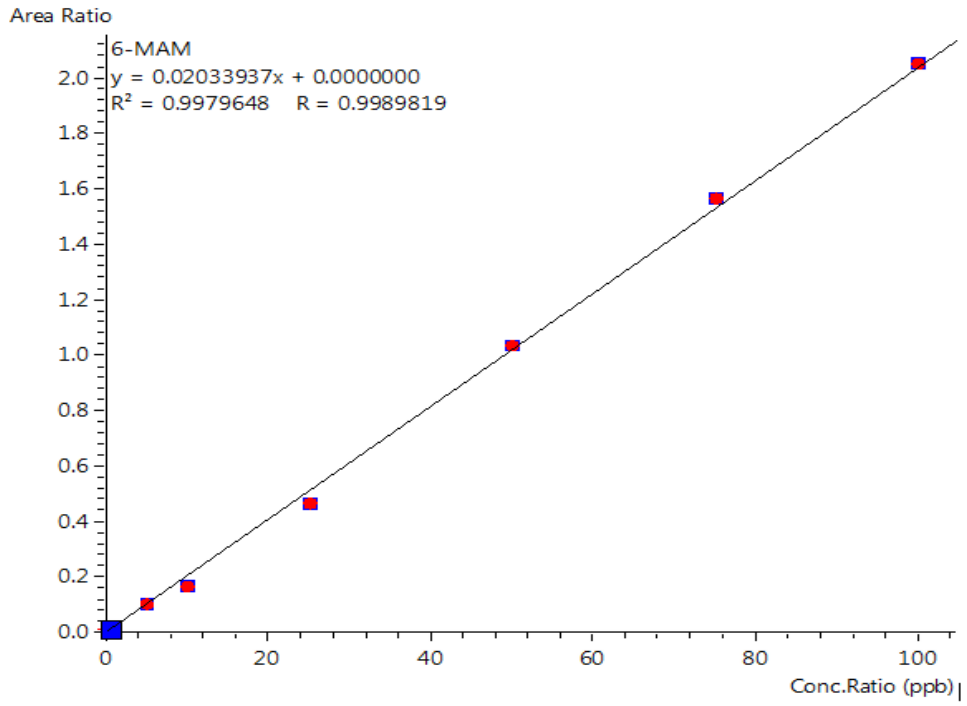
Kalibrasyon için hazırlanan örnekler ile metodun doğrusallığının hesaplanabilmesi için 0,5, 1, 5, 10, 25, 50, 75 ve 100 ng/mL konsantrasyonların sağlanacağı örneklere jarşılık gelen kalibrasyon grafikleri aşağıda verilmiştir.



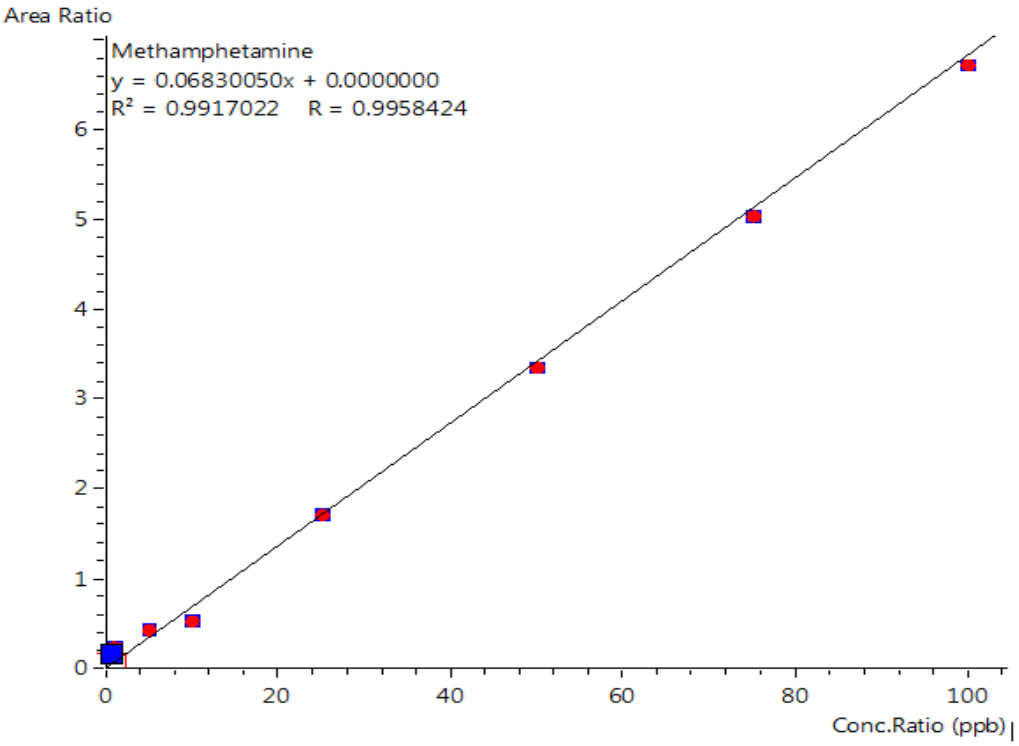
Şekil 3.5: Morfin içeren kana ait kalibrasyon eğrisi



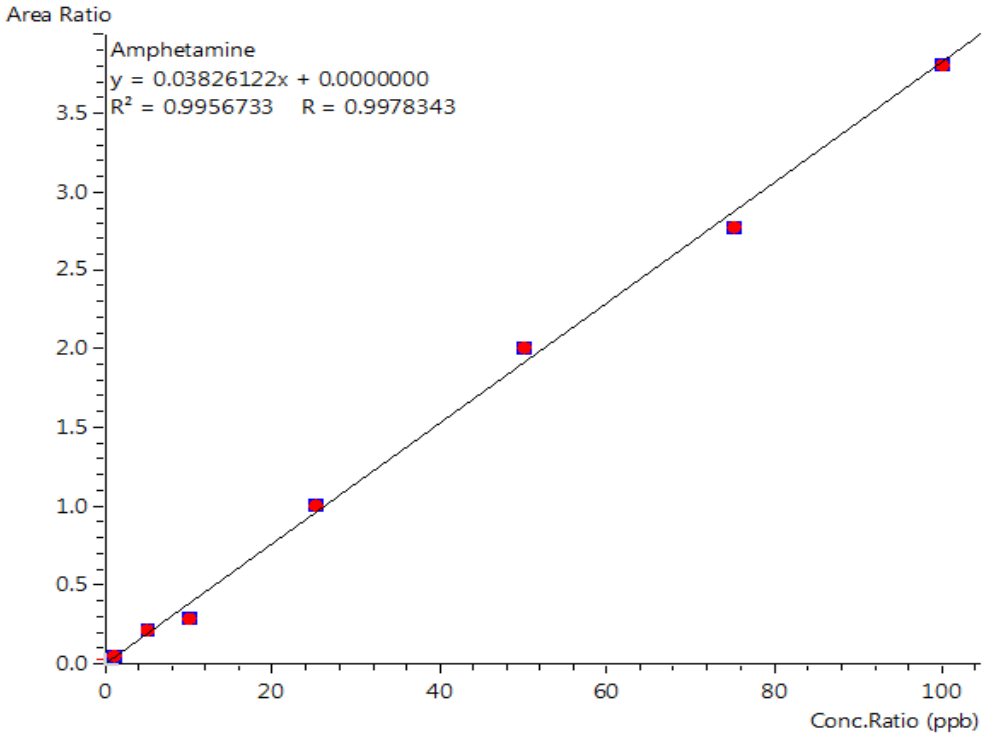
Şekil 3.6: Kodein içeren kana ait kalibrasyon eğrisi



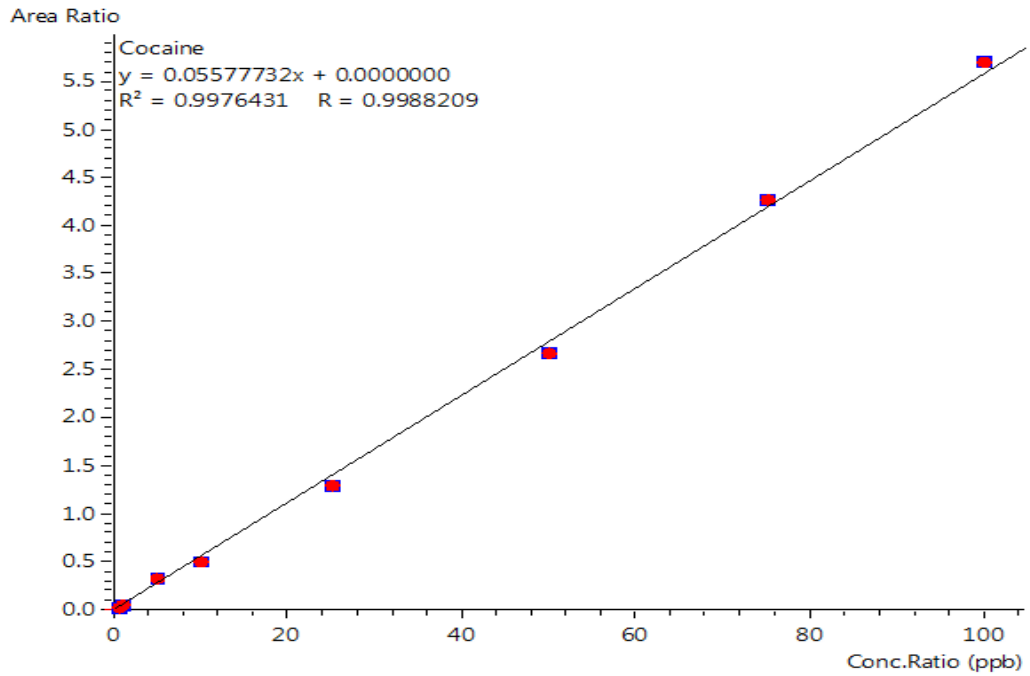
Şekil 3.7: 6-MAM içeren kana ait kalibrasyon eğrisi



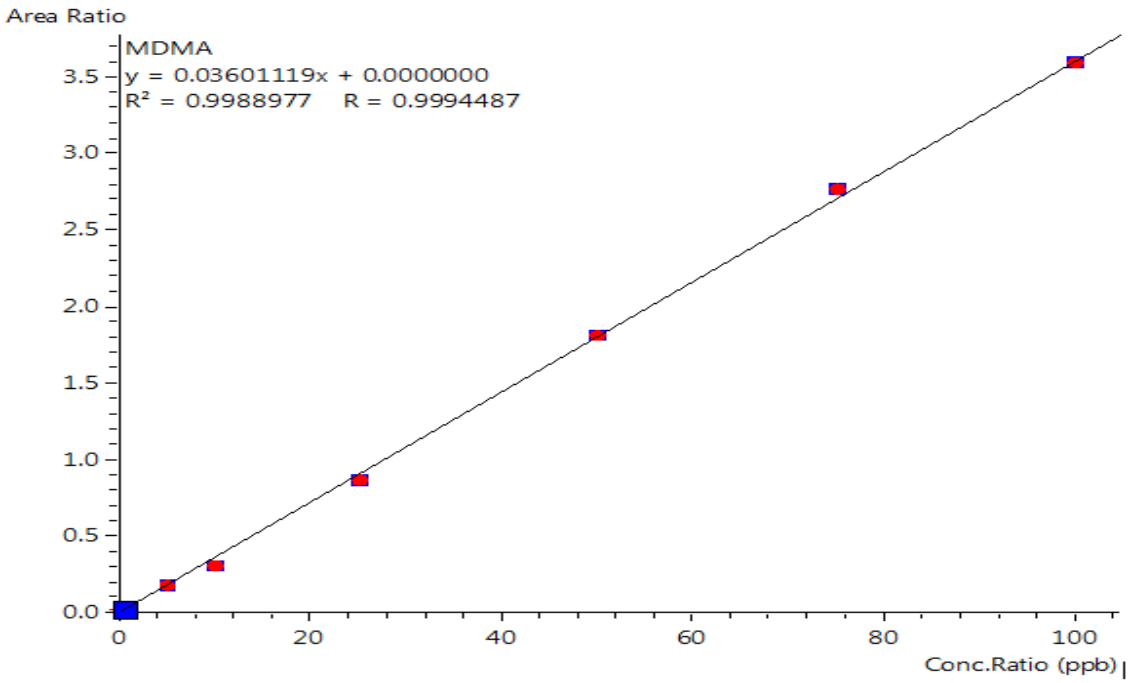
Şekil 3.8: Metamfetamin içeren kana ait kalibrasyon eğrisi



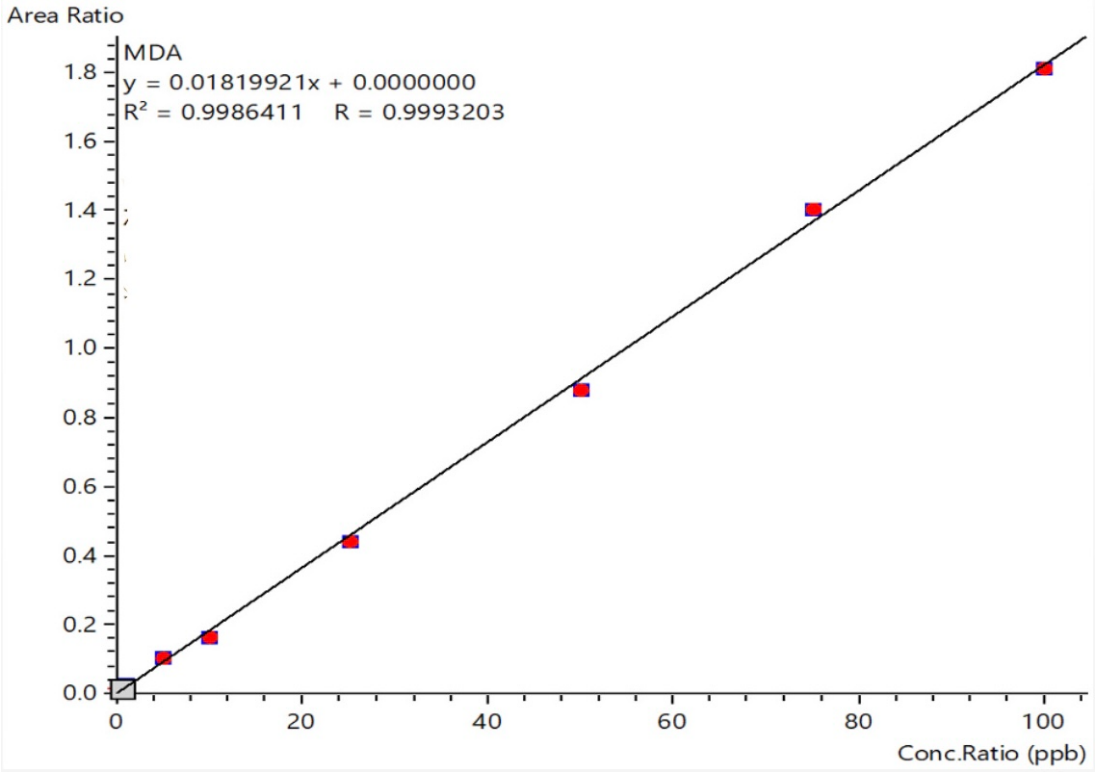
Şekil 3.9: Amfetamin içeren kana ait kalibrasyon eğrisi



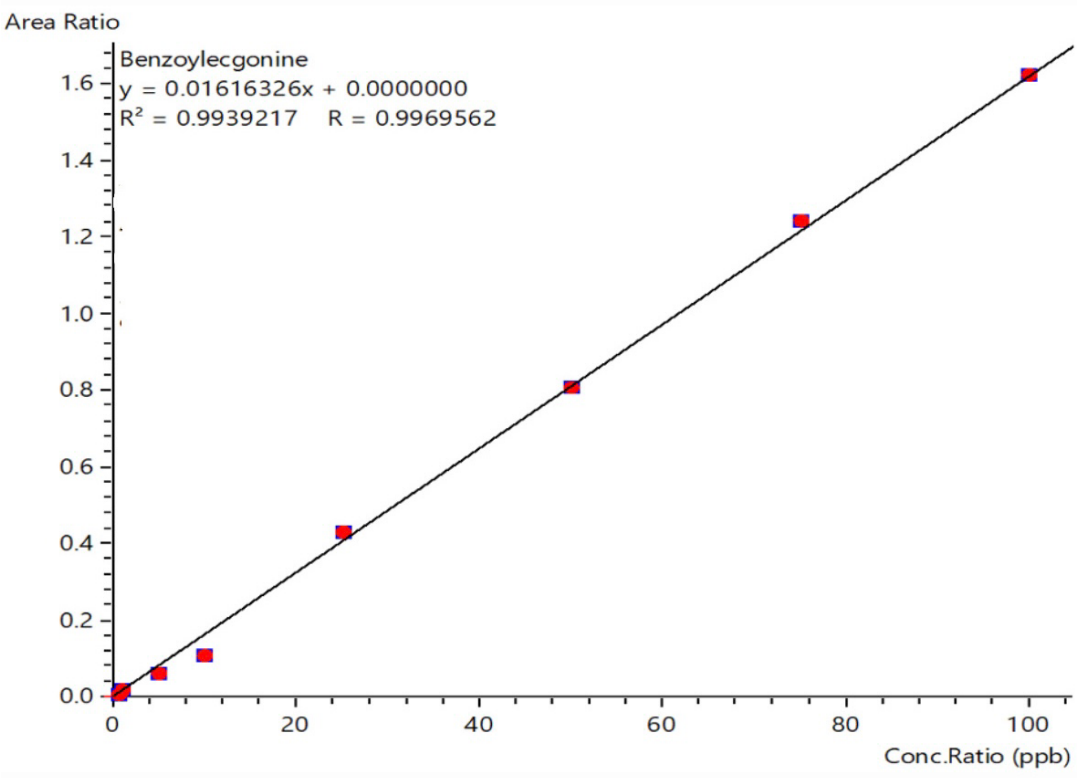
Şekil 3.10: Kodein içeren kana ait kalibrasyon eğrisi



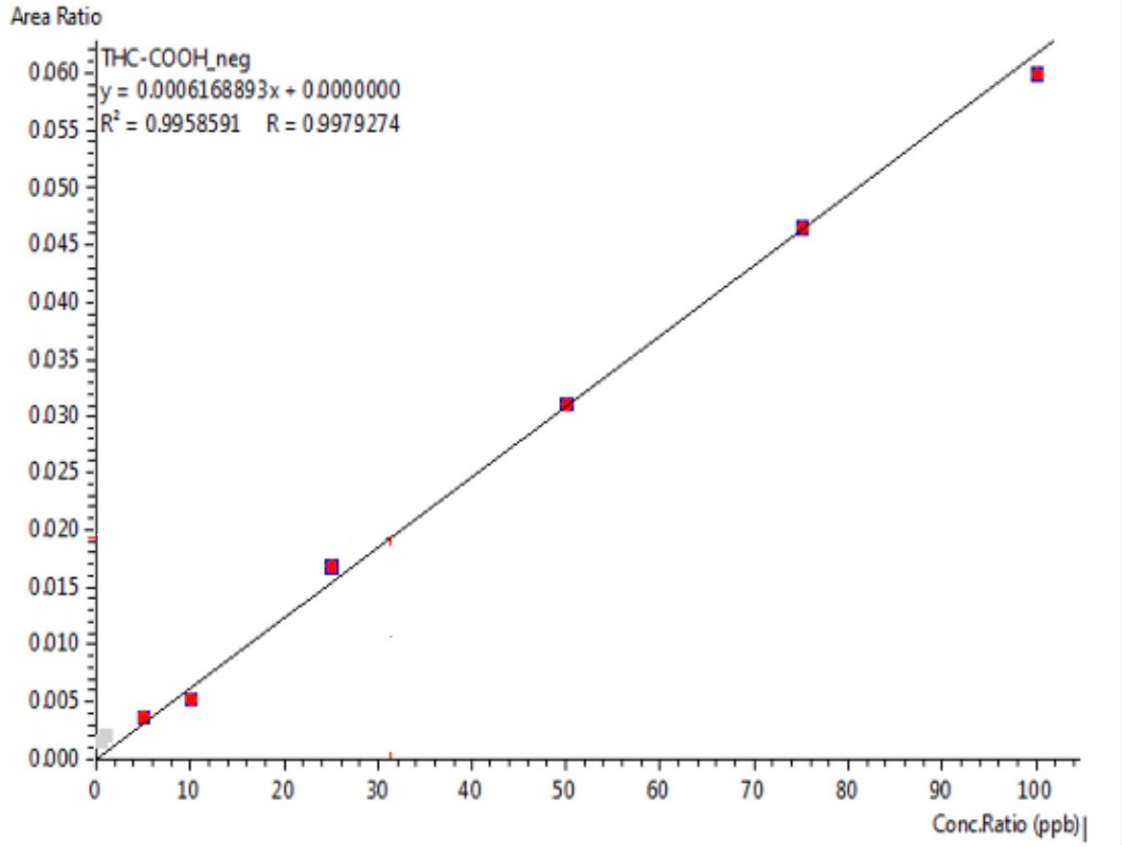
Şekil 3.11: MDMA içeren kana ait kalibrasyon eğrisi



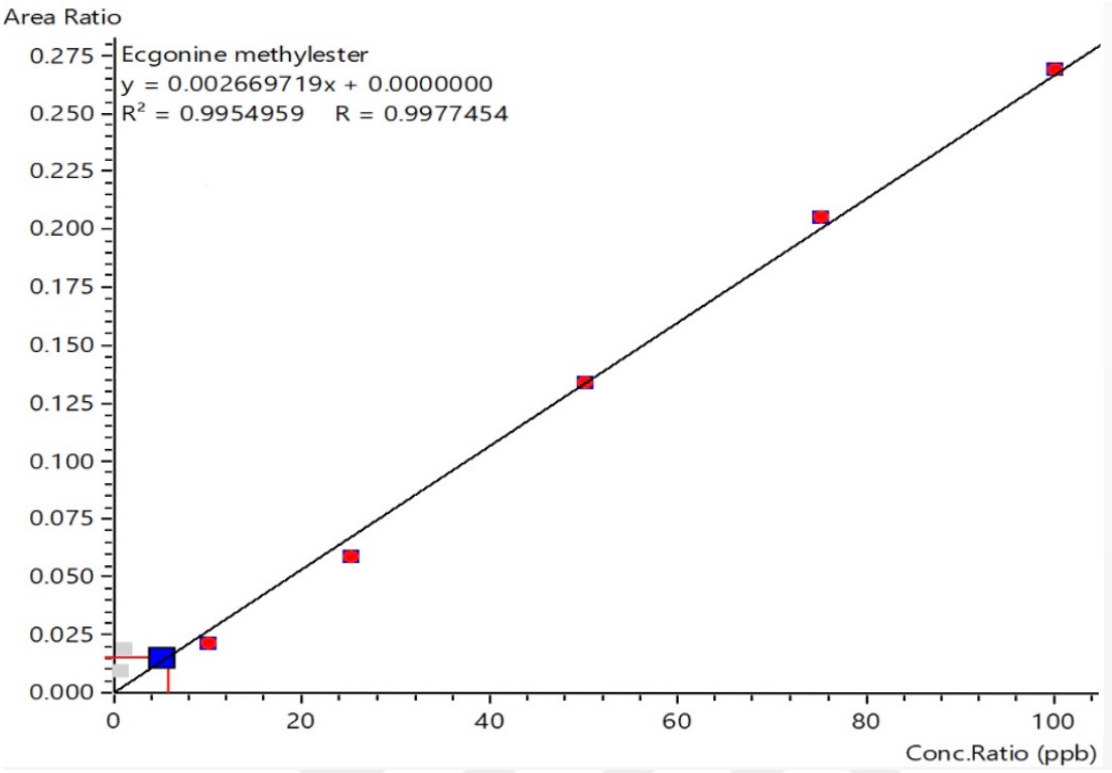
Şekil 3.12: MDA içeren kana ait kalibrasyon eğrisi



Şekil 3.13: Benzoilekgonin içeren kana ait kalibrasyon eğrisi



Şekil 3.14: THC-COOH içeren kana ait kalibrasyon eğrisi



Şekil 3.15: Ekgonin metil ester içeren kana ait kalibrasyon eğrisi

Kana katılmış psikoaktif maddeler ve metabolitlerine ait kalibrasyon eğrilerinin denklemleri, lineer dinamik aralıkları ve aynı zamanda korelasyon katsayıları aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 3.1: Kan örnekleri için hazırlanmış kalibrasyonların denklemleri, doğrusal aralıkları ve R^2 değerleri

Madde	Lineer Aralık	Denklem	R^2
Morfin	0,5 – 100 ng/mL	y=0,0094x	0,994
Kodein	0,5 – 100 ng/mL	y=0,0165x	0,998
6-MAM	0,5 – 100 ng/mL	y=0,0203x	0,997
Metamfetamin	0,5 – 100 ng/mL	y=0,0683x	0,991
Amfetamin	0,5 – 100 ng/mL	y=0,0382x	0,995
Kokain	0,5 – 100 ng/mL	y=0,0557x	0,997
MDMA	0,5 – 100 ng/mL	y=0,0360x	0,998
MDA	0,5 – 100 ng/mL	y=0,0181x	0,998
Benzoilekgonin	0,5 – 100 ng/mL	y=0,0161x	0,993
THC-COOH	0,5 – 100 ng/mL	y=0,0006x	0,995
Ekgonin Metil Ester	0,5 – 100 ng/mL	y=0,0094x	0,995

3.1.3. Tespit Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırı (LOQ)

Belirlenen konsantrasyonlarda standart karışımı içerdiği bilinen 10'ar kan örneği çalışılarak LOD ve LOQ değerleri hesaplanmıştır.

Aşağıdaki tablolarda kanda analiz edilen maddeler için hesaplanan LOD ve LOQ değerleri gösterilmiştir.

Tablo 3.2: Morfin, kodein, amfetamin ve metamfetaminin LOD ve LOQ değerleri

Madde:	**Morfin**	**Kodein**	**Amfetamin**	**Metamfetamin**
Konsantrasyon:	**0,5 ng/mL**	**0,5 ng/mL**	**1 ng/mL**	**0,5 ng/mL**
LOD	0,75	0,61	1,31	0,81
LOQ	0,89	0,76	1,68	1,07

Tablo 3.3: MDMA, MDA, kokain ve ekgonin metil esterin LOD ve LOQ değerleri

Madde:	**MDMA**	**MDA**	**Kokain**	**Ekgonin Metil Ester**
Konsantrasyon:	**0,5 ng/mL**	**0,5 ng/mL**	**0,5 ng/mL**	**0,5 ng/mL**
LOD	0,58	0,77	0,58	0,67
LOQ	0,62	0,99	0,63	0,87

Tablo 3.4: 6-MAM, benzoilekgonin ve THC-COOH'ın LOD ve LOQ değerleri

Madde:	**6-MAM**	**Benzoilekgonin**	**THC-COOH**
Konsantrasyon:	**0,5 ng/mL**	**0,5 ng/mL**	**2 ng/mL**
LOD	0,73	0,75	2,71
LOQ	0,93	0,93	3,27

3.1.4. Geri Kazanım

Doğrusal aralık içerisinde bulunan 5, 25 ve 50 ng/mL konsantrasyon düzeylerinde yapılan deneyler sonucunda elde edilen değerler yüzde olarak aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 3.5: 5 ng/mL düzeyinde geri kazanım yüzde değerleri

Madde	Konsantrasyon (ng/mL)	Geri Kazanım (%)	Matriks Etkisi (%)	Proses Etkinliği (%)
6-MAM	5	103,9	86,5	89,9
Amfetamin	5	102,8	95,7	98,2
Benzoilekgonin	5	98,7	100,8	99,6
Kokain	5	93,1	99,4	92,5
Kodein	5	87,9	92,2	81,0
Diazepam d5*	5	95,6	89,8	85,8
Ekgonin Metil Ester	5	102,8	95,0	97,7
MDA	5	94,6	92,8	87,8
MDMA	5	95,5	97,5	93,2
Metamfetamin	5	99,8	89,4	89,3
Morfin	5	86,0	97,9	84,2
THC-COOH	5	96,0	88,8	85,3

Tablo 3.6: 25 ng/mL düzeyinde geri kazanım yüzde değerleri

Madde	Konsantrasyon (ng/mL)	Geri Kazanım (%)	Matriks Etkisi (%)	Proses Etkinliği (%)
6-MAM	25	97,0	93,2	90,4
Amfetamin	25	92,5	94,5	87,5
Benzoilekgonin	25	93,6	88,5	82,9
Kokain	25	100,3	99,3	99,6
Kodein	25	84,3	95,9	80,8
Diazepam d5*	25	98,4	97,0	95,5
Ekgonin Metil Ester	25	101,6	94,8	96,4
MDA	25	85,4	94,3	80,6
MDMA	25	102,6	93,8	96,3
Metamfetamin	25	102,9	95,6	98,5
Morfin	25	91,8	79,6	73,1
THC-COOH	25	88,1	100,8	88,8

Tablo 3.7: 50 ng/mL düzeyinde geri kazanım yüzde değerleri

Madde	Konsantrasyon (ng/mL)	Geri Kazanım (%)	Matriks Etkisi (%)	Proses Etkinliği (%)
6-MAM	50	97,0	99,1	98,1
Amfetamin	50	92,5	100,9	96,2
Benzoilekgonin	50	93,6	94,3	78,7
Kokain	50	100,3	82,7	81,6
Kodein	50	84,3	90,3	86,5
Diazepam d5*	50	98,4	88,1	80,8
Ekgonin Metil Ester	50	101,6	105,9	99,3
MDA	50	85,4	83,5	83,5
MDMA	50	102,6	97,1	95,6
Metamfetamin	50	102,9	105,5	98,0
Morfin	50	91,8	90,3	87,8
THC-COOH	50	88,1	89,0	88,1

3.1.5. Kesinlik

Kesinlik için ölçülen parametre değerleri 5, 25 ve 50 ng/mL konsantrasyonlarında her bir madde için aşağıdaki tablolarda verilmiştir.

Tablo 3.8: 5 ng/mL Morfin içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri

Gün	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**
ORT.	5,18	5,4	5,49	5,08	5,24
SD	0,63	0,44	0,39	0,42	0,33
RSD	12,22	8,26	7,18	8,31	6,32
%HATA	3,68	8	9,96	1,64	4,8

Tablo 3.9: 25 ng/mL Morfin içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri

Gün	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**
ORT.	27,30	25,57	25,75	27,07	25,32
SD	2,08	0,90	1,94	1,37	0,65
RSD	7,61	3,53	7,55	5,06	2,59
%HATA	9,20	2,31	3	8,28	1,28

Tablo 3.10: 50 ng/mL Morfin içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri

Gün	1	2	3	4	5
ORT.	53,91	51,61	51,53	52,77	50,52
SD	3,93	1,75	3,65	3,17	2,03
RSD	7,28	3,39	7,08	6,01	4,01
%HATA	7,82	3,22	3,06	5,54	1,04

Tablo 3.11: 5 ng/mL Kodein içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri

Gün	1	2	3	4	5
ORT.	4,54	5,38	4,81	4,95	5,28
SD	0,30	0,25	0,41	0,46	0,31
RSD	6,65	4,75	8,51	9,28	5,88
%HATA	9,16	7,62	3,82	0,84	5,68

Tablo 3.12: 25 ng/mL Kodein içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri

Gün	1	2	3	4	5
ORT.	22,91	24,67	25,43	26,11	24,93
SD	1,14	0,68	0,88	0,95	0,48
RSD	4,98	2,76	3,49	3,65	1,92
%HATA	8,35	1,29	1,72	4,46	0,28

Tablo 3.13: 50 ng/mL Kodein içeren kanda tekrarlanabilirlik değerler

Gün	1	2	3	4	5
ORT.	53,65	49,65	53,09	50,60	50,90
SD	4,40	2,34	3,61	3,36	1,71
RSD	8,20	4,71	6,80	6,64	3,35
%HATA	7,31	0,69	6,18	1,19	1,81

Tablo 3.14: 5 ng/mL 6-MAM içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri

Gün	1	2	3	4	5
ORT.	5,43	5,52	5,53	5,45	5,32
SD	0,26	0,27	0,29	0,31	0,29
RSD	4,85	5,02	5,22	5,75	5,49
%HATA	8,60	10,4	10,54	9,1	6,52

Tablo 3.15: 25 ng/mL 6-MAM içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri

Gün	1	2	3	4	5
ORT.	27,45	25,72	26,5	25,51	24,73
SD	1,80	0,81	1,70	1,35	1,23
RSD	6,55	3,18	6,44	5,29	4,99
%HATA	9,80	2,88	6	2,06	1,09

Tablo 3.16: 50 ng/mL 6-MAM içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri

Gün	1	2	3	4	5
ORT.	54,05	52,14	54,86	50,14	50,46
SD	3,81	3,22	3,07	2,78	1,17
RSD	7,04	6,17	5,60	5,55	2,32
%HATA	8,11	4,27	9,72	0,28	0,92

Tablo 3.17: 5 ng/mL Amfetamin içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri

Gün	1	2	3	4	5
ORT.	5,18	5,38	5,50	5,47	5,30
SD	0,65	0,40	0,22	0,37	0,33
RSD	12,45	7,49	4,07	6,88	6,30
%HATA	3,62	7,74	9,94	9,48	6,14

Tablo 3.18: 25 ng/mL Amfetamin içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri

Gün	1	2	3	4	5
ORT.	23,62	25,15	26,11	25,26	24,90
SD	1,76	1,17	1,34	0,74	1,02
RSD	7,46	4,65	5,14	2,95	4,08
%HATA	5,53	0,632	4,44	1,06	0,40

Tablo 3.19: 50 ng/mL Amfetamin içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri

Gün	1	2	3	4	5
ORT.	51,44	53,79	52,62	50,58	50,63
SD	2,26	4,24	1,68	2,91	1,74
RSD	4,40	7,89	3,20	5,76	3,44
%HATA	2,89	7,57	5,24	1,15	1,26

Tablo 3.20: 5 ng/mL Metamfetamin içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri

Gün	1	2	3	4	5
ORT.	5,43	5,54	5,44	5,39	5,16
SD	0,25	0,21	0,30	0,45	0,23
RSD	4,57	3,81	5,44	8,42	4,59
%HATA	8,58	10,82	8,88	7,90	3,30

Tablo 3.21: 25 ng/mL Metamfetamin içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri

Gün	1	2	3	4	5
ORT.	25,68	25,58	25,80	26,47	24,89
SD	2,06	0,95	1,71	0,77	0,81
RSD	8,02	3,74	6,62	2,91	3,27
%HATA	2,74	2,34	3,216	5,88	0,46

Tablo 3.22: 50 ng/mL Metamfetamin içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri

Gün	1	2	3	4	5
ORT.	51,90	52,37	53,14	49,50	52,05
SD	2,87	3,97	3,39	2,89	1,21
RSD	5,54	7,59	6,38	5,84	2,32
%HATA	3,79	4,74	6,28	0,99	4,10

Tablo 3.23: 5 ng/mL MDMA içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri

Gün	1	2	3	4	5
ORT.	4,56	5,51	5,40	5,53	4,94
SD	0,33	0,24	0,46	0,32	0,17
RSD	7,16	4,47	8,45	5,92	3,60
%HATA	8,86	10,26	8,08	10,64	1,18

Tablo 3.24: 25 ng/mL MDMA içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri

Gün	1	2	3	4	5
ORT.	22,77	26,15	24,99	23,89	24,63
SD	0,80	0,95	1,17	1,09	0,94
RSD	3,50	3,63	4,70	4,58	3,81
%HATA	8,93	4,62	0,02	4,40	1,48

Tablo 3.25: 50 ng/mL MDMA içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri

Gün	1	2	3	4	5
ORT.	53,07	53,24	54,91	47,95	49,12
SD	1,71	3,98	2,48	2,40	2,29
RSD	3,22	7,47	4,52	5,00	4,67
%HATA	6,15	6,48	9,83	-4,10	-1,76

Tablo 3.26: 5 ng/mL MDA içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri

Gün	1	2	3	4	5
ORT.	5,42	5,52	5,67	5,58	5,02
SD	0,38	0,34	0,34	0,70	0,26
RSD	6,99	6,27	5,99	12,53	5,25
%HATA	8,46	10,4	13,46	11,78	0,54

Tablo 3.27: 25 ng/mL MDA içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri

Gün	1	2	3	4	5
ORT.	23,67	25,43	24,84	26,13	25,13
SD	2,48	1,20	0,76	1,03	0,80
RSD	10,47	4,72	3,07	3,96	3,19
%HATA	-5,32	1,74	-0,60	4,53	0,53

Tablo 3.28: 50 ng/mL MDA içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri

Gün	1	2	3	4	5
ORT.	52,23	54,40	53,11	52,44	49,52
SD	3,12	3,70	3,62	2,18	0,59
RSD	5,98	6,81	6,83	4,16	1,20
%HATA	4,45	8,79	6,22	4,88	-0,97

Tablo 3.29: 5 ng/mL Kokain içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri

Gün	1	2	3	4	5
ORT.	4,88	5,41	5,54	5,20	4,93
SD	0,44	0,38	0,25	0,53	0,19
RSD	8,97	7,14	4,54	10,28	3,94
%HATA	2,36	8,26	10,84	4,06	1,28

Tablo 3.30: 25 ng/mL Kokain içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri

Gün	1	2	3	4	5
ORT.	25,16	25,17	24,22	23,20	22,27
SD	1,81	1,21	1,48	1,24	1,31
RSD	7,19	4,80	6,12	5,33	5,87
%HATA	0,64	0,68	3,12	-7,20	-10,91

Tablo 3.31: 50 ng/mL Kokain içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri

Gün	1	2	3	4	5
ORT.	53,50	53,68	55,35	48,17	49,13
SD	2,35	1,98	1,87	1,62	1,98
RSD	4,38	3,70	3,38	3,37	4,02
%HATA	6,99	7,35	10,70	-3,65	-1,75

Tablo 3.32: 5 ng/mL Benzoilekgonin içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri

Gün	1	2	3	4	5
ORT.	5,29	5,57	5,58	4,99	5,19
SD	0,49	0,48	0,36	0,57	0,21
RSD	9,28	8,59	6,42	11,51	4,12
%HATA	5,86	11,46	11,52	0,28	3,78

Tablo 3.33: 25 ng/mL Benzoilekgonin içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri

Gün	1	2	3	4	5
ORT.	24,60	25,47	24,82	25,60	25,15
SD	2,51	1,36	1,68	1,11	0,88
RSD	10,20	5,34	6,77	4,35	3,49
%HATA	-1,59	1,86	-0,72	2,40	0,62

Tablo 3.34: 50 ng/mL Benzoilekgonin içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri

Gün	1	2	3	4	5
ORT.	53,63	53,76	52,18	49,53	50,48
SD	2,38	4,61	3,41	3,85	2,35
RSD	4,44	8,57	6,54	7,78	4,65
%HATA	7,26	7,51	4,35	-0,94	0,95

Tablo 3.35: 5 ng/mL Ekgonin Metil Ester içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri

Gün	1	2	3	4	5
ORT.	5,52	5,64	5,63	4,55	5,43
SD	0,26	0,41	0,38	0,47	0,43
RSD	4,62	7,27	6,67	10,34	7,88
%HATA	10,46	12,82	12,56	8,94	8,66

Tablo 3.36: 25 ng/mL Ekgonin Metil Ester içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri

Gün	1	2	3	4	5
ORT.	24,67	25,50	24,65	25,76	25,06
SD	2,28	1,75	2,12	1,36	1,31
RSD	9,25	6,87	8,59	5,30	5,22
%HATA	-1,32	2,02	-1,40	3,02	0,22

Tablo 3.37: 50 ng/mL Ekgonin Metil Ester içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri

Gün	1	2	3	4	5
ORT.	55,78	55,62	51,40	51,33	51,79
SD	3,27	4,95	3,51	2,63	2,82
RSD	5,86	8,90	6,83	5,12	5,45
%HATA	11,56	11,24	2,79	2,65	3,57

Tablo 3.38: 5 ng/mL THC-COOH içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri

Gün	1	2	3	4	5
ORT.	4,83	4,70	5,09	5,60	5,05
SD	0,38	0,43	0,40	0,51	0,37
RSD	7,96	9,23	7,95	9,10	7,41
%HATA	3,38	6,08	1,82	11,94	1,00

Tablo 3.39: 25 ng/mL THC-COOH içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri

Gün	1	2	3	4	5
ORT.	23,76	22,02	24,71	24,03	24,53
SD	1,93	1,65	1,64	1,24	1,45
RSD	8,12	7,50	6,65	5,16	5,93
%HATA	-4,98	-11,94	-1,17	-3,88	-1,88

Tablo 3.40: 50 ng/mL THC-COOH içeren kanda tekrarlanabilirlik değerleri

Gün	1	2	3	4	5
ORT.	54,60	45,06	50,72	51,14	48,10
SD	2,89	2,67	4,35	2,59	2,18
RSD	5,29	5,92	8,58	5,07	4,53
%HATA	9,21	-9,87	1,43	2,27	-3,80

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Madde suistimali, toplumun neredeyse her kesimini doğrudan ya da dolaylı olarak olumsuz etkileyen ciddi sosyal bir sorundur. Bu sorun, çeşitli suçları ve sosyal sorunları beraberinde getirirken, aynı zamanda sağlık problemlerine ve hatta ölümlere neden olabilmektedir. Şiddet, istismar, madde etkisinde trafiğe çıkma gibi suçlar, madde kullanımıyla ilişkilendirilebilen sorunlardan sadece birkaçıdır. Ayrıca, madde kullanımı iş gücü kaybı gibi sosyal sorunları da beraberinde getirmektedir.

Psikoaktif maddelerin imal edilmesi ve yasadışı ticareti çok uzun yıllardır popülerliğini hiç kaybetmeden devam etmektedir. Ne yazık ki, yasa koyucuların engelleme çabaları, genellikle pazarın değişim hızına yetişememektedir. Sokaklarda üretilen ve illegal yollarla pazarlanan maddeler, adını duyduktan sonra hukuki süreçlerin devreye girmesiyle engellenmeye çalışılmaktadır. Ancak bu ürünler, hedef kitleler tarafından kullanılmaya ve yayılmaya devam edebilmektedir, ta ki etkili önlemler alınıp yayılması durdurulana kadar. Bu nedenle, madde suistimaliyle mücadele etmek için kapsamlı ve etkili stratejilerin geliştirilmesi çok önemli bir konudur.

Bu sorunun çözümü için toplumun farklı kesimleri arasında iş birliği ve koordinasyon gerekmektedir. Öncelikle, madde suistimaliyle mücadelede etkili yasalar ve düzenlemelerin oluşturulması önemlidir. Ayrıca, madde kullanımın nedenlerini anlamak ve önlemek için eğitim, bilinçlendirme ve rehabilitasyon programlarına yatırım yapılmalıdır.

Psikoaktif madde analizi, adli bilimlerde büyük bir öneme sahiptir. Bu analizler, suç olaylarıyla ilişkili madde kullanımını belirlemek, suçlu tespit etmek ve adil bir yargılama süreci sağlamak için kullanılan önemli bir araçtır.

Psikoaktif maddeler, beynin işleyişini etkileyen ve duygu durumunu değiştiren kimyasallardır. Uyuşturucu, alkol, ilaçlar ve diğer benzer maddeler bu kategoriye girer. Suç olaylarına karışan kişilerin madde etkisi altında olup olmadığını belirlemek, suçun işlenme şekli ve motivasyonu hakkında önemli ipuçları sağlayabilir.

Psikoaktif madde analizi, adli laboratuvarlarda yürütülen detaylı testlerden oluşur. Bu testler, biyolojik örneklerin (kan, idrar, saç, tırnak vb.) analiz edilmesini içerir. Analiz sonuçları, kişinin vücudunda bulunan maddelerin tespitini ve miktarını belirler. Bu bilgiler, kişinin maddeyi

hangi miktarlarda aldığını ve ne zaman aldığını ortaya koyarak adli soruşturmada önemli deliller sağlar.

Psikoaktif madde analizi, adli bilimcilerin suç mahallinde toplanan kanıtları ve diğer delilleri analiz ederek, suçun işlenmesiyle ilgili önemli bilgilere ulaşmasına yardımcı olur. Bu analizler, bir suçun işlenme şeklini, suçlunun eylemi sırasında nasıl etkilendiğini ve suçun mağdurlar üzerindeki etkilerini anlamada kritik bir rol oynar.

Ayrıca, psikoaktif madde analizi, trafik kazaları veya şiddet olayları gibi durumlarda da önemli bir rol oynar. Bu analizler, sürücülerin veya şüphelilerin madde etkisi altında olup olmadığını belirlemek için kullanılır. Bu da adil bir yargılama süreci sağlamanın yanı sıra trafik güvenliğini artırmak ve toplumu korumak açısından da büyük bir önem taşır.

Sonuç olarak, psikoaktif madde analizi, adli bilimlerde suç olaylarının aydınlatılmasında kritik bir araçtır. Bu analizler, suçlu tespiti, suçun işlenmesiyle ilgili bilgilerin elde edilmesi ve adil bir yargılama sürecinin sağlanması gibi birçok alanda önemli bir rol oynar. Adli bilimcilerin ve hukuk sistemlerinin doğru analizler ve doğru yorumlamalar yaparak bu konuda uzmanlaşmış laboratuvarlardan destek almaları, adil ve etkili bir adalet sistemi için hayati öneme sahiptir.

Psikoaktif maddelerin kantitatif tayini, analitik kimya ve toksikoloji alanlarında önemli bir araştırma konusudur. Bu çalışmalar, belirli bir psikoaktif maddeyi tespit etmek ve miktarını ölçmek için analitik yöntemlerin geliştirilmesini içerir.

Bu tür çalışmalar genellikle adli laboratuvarlarda ve toksikoloji laboratuvarlarında gerçekleştirilir. İlgili numuneler (kan, idrar, saç, tırnak vb.) incelenir ve analitik yöntemler kullanılarak hedeflenen psikoaktif maddenin varlığı ve miktarı belirlenir.

Bu çalışmaların amacı, kullanıcının vücudunda bulunan psikoaktif maddelerin miktarını doğru bir şekilde belirlemek ve kullanıcının maruziyet düzeyini değerlendirmektir. Bu, madde kullanımının tespit edilmesi, yasalara uygunluğun belirlenmesi ve tedavi veya rehabilitasyon programlarına yönlendirme gibi önemli uygulamaları olan bilgilere dayanmaktadır.

Psikoaktif maddelerin kantitatif tayini için kullanılan analitik yöntemler arasında gaz kromatografisi (GC), sıvı kromatografisi (LC), kütle spektrometrisi (MS), yüksek performanslı sıvı kromatografisi-kütle spektrometrisi (HPLC-MS) ve immünoanalitik yöntemler bulunur. Bu yöntemler, numunelerdeki psikoaktif maddelerin varlığını ve miktarını belirlemek için spesifik ve duyarlı analiz sağlar.

Çalışmalar genellikle standartlar ve kalibrasyon eğrileri kullanılarak gerçekleştirilir. Standartlar, bilinen konsantrasyonlarda saf psikoaktif madde çözeltileri veya sertifikalı referans

maddeleridir. Bu standartlar, analizlerde kullanılarak numunelerdeki psikoaktif maddelerin miktarının belirlenmesinde referans noktaları sağlar.
Bu çalışmalar, toksikoloji, adli bilimler, tıp ve kamu sağlığı alanlarında önemli uygulamalara sahiptir. Psikoaktif madde kullanımının tespiti, ilaç testleri, zehirlenme vakalarının araştırılması, trafik kazalarının analizi gibi alanlarda yaygın olarak kullanılan yöntemlerdir. Ayrıca, bu çalışmalar, psikoaktif maddelerin bağımlılık potansiyelini değerlendirmek, kullanım eğilimlerini izlemek ve halk sağlığı politikalarının geliştirilmesine katkıda bulunmak için de kullanılır.

Sonuç olarak, psikoaktif maddelerin kantitatif tayini hakkındaki çalışmalar, analitik yöntemlerin geliştirilmesi ve kullanılmasıyla psikoaktif maddelerin varlığını ve miktarını belirlemede önemli bir rol oynamaktadır. Bu çalışmalar, adli ve tıbbi alanda doğru teşhislerin yapılmasını, yasalara uygunluğun tespit edilmesini ve toplum sağlığına yönelik önlemlerin alınmasını sağlamaktadır.

Bu çalışmada morfin, kodein, 6-MAM, amfetamin, Metamfetamin, MDMA, MDA, THC-COOH, benzoilekgonin, ekgonin metil ester ve kokainin postmortem kandaki kantitatif tayinleri için katı-faz ekstraksiyonu (SPE) ile örneklerin hazırlandığı, LC-MS/MS yönteminin kullanıldığı analiz süresi bakımından çok uzun olmayan, seçici ve güvenilir bir metot geliştirilerek, bu metodun valide edilmiştir.

Yapılan çalışmada öncelikli olarak morfin, kodein, 6-MAM, amfetamin, metamfetamin, MDMA, MDA, THC-COOH, benzoilekgonin, ekgonin metil ester ve kokainin kanda seçiciliği araştırılarak, kör kan örneklerinde maddelerin alıkonma sürelerinde herhangi bir pik görülmemiştir.

Sempio ve ark.'ın (2014) kan örneklerinde 88 psikoaktif maddenin tayinin ve metot validasyonu çalışmasında en yüksek duyarlılığı sağlayan moleküller için 0,001-0,100 µg/mL arasında değişen kalibrasyon eğrileri geliştirilmiştir. Doğruluk, gün içi ve gün içi belirsizlik üç farklı kalite kontrol seviyesinde hesaplanmış ve 85 maddenin tüm parametreleri kabul kriterlerini karşılamıştır. En düşük kalite kontrol seviyesi %20'den düşük CV% ve RSD %, orta %15'ten düşük ve en yüksek %10'dan düşük sağlamıştır. Bu çalışmada 200 µL kan örneği kullanılmıştır. Kan metanol ile seyreltilip, iç standart olarak halazepam kullanılmıştır.

Giachetti ve ark.'ın (2022) LC-MS-MS Analizi ile Yedi Sentetik Katinonun Yöntem Validasyonu ve Ölüm Sonrası Vaka Çalışmasında *N*-Etilpentillon Prevalansı adlı çalışmada yöntem, Adli Toksikoloji için Bilimsel Çalışma Grubu kılavuzlarından sonra modellenen laboratuvar protokolünün ardından başarıyla doğrulanmıştır. Analit doğrusallığı, idari olarak 5 ng/mL olarak ayarlanmış bir tespit sınırı ile 6 noktalı kalibrasyon eğrisi üzerinde 10–500 ng/mL arasında oluşturulmuştur. Tüm analitler için R^2 değerleri 0,90'ın üzerinde doğrusal bir eğri uyumu seçilmiştir. Günler arası ve gün içi varyasyon katsayısı (%CV) ≤%3,2 ve yanlılık hedef değerden %6,8 ile %0,8 sapma arasında değişmiştir. Ekstraksiyon geri kazanımı tüm analitler için %95 ile %100 arasında değişmiştir.

LOD ve LOQ hesaplamarını yapabilmek amacıyla gerçekleştirilen deneyler neticesinde elde edilen sonuçlar aşağıdaki tablodaki gibidir.

Madde	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)
Morfin	0,75	0,89
Kodein	0,61	0,76
6-MAM	0,73	0,93
Amfetamin	1,31	1,68
Metamfetamin	0,81	1,07
MDMA	0,58	0,62
MDA	0,77	0,99
THC-COOH	2,71	3,27
Benzoilekgonin	0,75	0,93
Ekgonin Metil Ester	0,67	0,87
Kokain	0,58	0,63

Bu değerlerin literatür taramalarında bulunan LOD ve LOQ değerleri ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Çalışmamızda, morfin, kodein, 6-MAM, amfetamin, metamfetamin, MDMA, MDA, THC-COOH, benzoilekgonin, ekgonin metil ester ve kokaine ait matriks içinde oluşturulmuş, kalibrasyon için çizilen eğrilerin R^2 değerleri 0,991-0,998 arasında hesaplanmıştır. Doğrusal aralıklarda her örnek için 0,5 ile 100 ng/mL arasındadır.

Yüzde geri kazanım değerleri tüm maddeler için %82,70-105,90 aralığındadır. Matriks etkisi değerleri %79,1-100,87 aralığında olurken, proses etkisi değerleri ise %73,09-99,62 aralığında hesaplanmıştır. Tekrarlanabilirlik çalışmalarında RSD değerleri 12,53-1,20 aralığında bulunmuştur.

Bu çalışmada özetlenen LC-MS/MS metodolojisi, bir operatörün psikoaktif maddeler ve metabolitleri için ölüm sonrası kan örneklerini taramasına olanak tanır. GC-MS tarafından bir referans tarama metodolojisi ile karşılaştırıldığında, LC-MS/MS hem tespit edilen bileşikler aralığında hem de analizin duyarlılığında üstün performans gösterir. GC-MS tarafından tespit edilmeyen ancak LC–MS/MS tarafından tespit edilen bileşiklerin çoğu GC–MS kütüphanelerinde mevcuttur. Bu, iki yöntemin tespit oranındaki farkın, testlerin farklı hassasiyetlerinden veya GC-MS için ekstraksiyon prosedürünün seçiciliğinden kaynaklandığını göstermektedir.

Ölüm sonrası vakalardan alınan numuneler değerlidir ve alınan hacim küçük olabilir. Bu yüzden LC-MS/MS tahlili kullanılarak kan örneğinin analizinin 500 µL kan kullanılarak yapılması büyük bir avantajdır. Bu çalışmada katı faz ekstraksiyonu ile örnek hazırlama çalışmanın verimliliğini arttırmıştır. Bu çalışma, seçtiğimiz psikoaktif maddelerin ve metabolitlerinin postmortem kanda tespit edilmesi için düşük belirsizlik değerlerine, geniş doğrusal aralığa, yüksek geri kazanım değerlerine ve kısa analiz süresine sahip olan bir yöntemin geliştirilmesini amaçlamaktadır. Bu yöntem, tarama çalışmalarında düşük konsantrasyonlardaki maddelerin ve metabolitlerinin tespiti için ve aynı zamanda adli toksikolojik analizlerde postmortem örneklerin incelenmesi için oldukça faydalı olabileceği düşünülmektedir.

5. KAYNAKÇA

Lawn, W., Barratt M., Williams M., Horne A., Winstock A., (2014). Thenbome hallucinogenic drug series: patterns of use, characteristics of users and selfreported effects in a large international sample. J. Psychopharmacol. 28. 780– 788

Kaya Kılıç, A. (2012). *Psikoaktif madde bağımlılığını tedavi etmede sağlık sisteminin etkinliği* (Master's thesis, Yalova Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü).

Dinç, K. (2019). *Psikoaktif Maddeler ve Sentetik Kannabinoidler.* (Yüksek Lisans Tezi) Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

Ramo, D. E., Grov, C., Delucchi, K., Kelly, B. C., & Parsons, J. T. (2010). Typology of club drug use among young adults recruited using time–space sampling. *Drug and alcohol dependence*, *107*(2-3), 119-127.

Adalıer, Ali (2006) Uyuşturucu Madde Ticareti ve Kara Para Aklamanın Önlenmesinde Ülkelerin Hukuki Mevzuatları ve Tedbirleri (Yüksek Lisans Tezi) Near East University

Demirsoy, Ç. (1996). *Psikoaktif Madde Kullananlarda Suçu Etkileyen Faktörlerin Araştırılması.* (Yüksek Lisans Tezi) İstanbul Üniversitesi, Adli Tıp Enstitüsü.

Altıntaş, C. (2018). *Türkiye'de narko terörizm ve uluslararası düzeyde uyuşturucu ile mücadele* (Master's thesis, Kütahya Dumlupınar Üniversitesi/Sosyal Bilimler Enstitüsü).

GÖktepe, K. (2020). Osmanlı Toplumunda Uyuşturucu Madde Kullanımı Ve Devletin Buna Karşı Bazı Mücadele Çalışmaları. Osmanlı Mirası Araştırmaları Dergisi, 7(19), 627 - 654. 10.17822/omad.2020.174

Acar, M. (2006). *Türkiye'de madde bağımlılığı ve gençlik* (Master's thesis, Kırıkkale Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü).

Uzbay, T.İ. (2009) Madde Bağımlılığının Tarihçesi, Tanımı, Genel Bilgiler ve Bağımlılık Yapan Maddeler, *Mised Türk Eczacılar Birliği Meslek İçi Sürekli Eğitim Dergisi 21-22*. s.5-15

Gündüz, N. (2019). Yasa Dışı Madde Kullanımlarına Adli Psikiyatrik Yaklaşımlar. Naile Esra Saka (Ed.), *Adli Tıp ve Adli Bilimlerde Klinik Uygulamalara Bakış* içinde (295-311). Ankara: Akademisyen Kitapevi.

Ögel, K., Tamar, D., Evren, C., Sır, A., & Psikiyatri, A. B. D. (1999). Madde kullanımı ve suç. *Psikiyatri Psikoloji Psikofarmakoloji (3P) Dergisi*

ARABACI, L. B., Gülsenay, T. A. Ş., & Dikeç, G. (2017). Çocuk ve ergenlerde madde kullanımı, suça yönelme, ruhsal bozukluklar ve hemşirelik bakımı. *Bağımlılık Dergisi*, *18*(4), 135-144.

Aslan, R., Aktaş, A. ve Akgür, S. (2023). Çocuk ve Ergenlerde Madde Kullanımı ve Adli Toksikolojik Analizler. *Bağımlılık Dergisi. 24 ()*: 93-103.

Ögel K, Aksoy A. Tutuklu ve Hükümlü Er-genlerde Madde Kullanimi. Bağımlılık Derg.2007;8(1):11–7.

Bennett, T., Holloway, K. ve Farrington, D. (2008). The sta-tistical association between drug misuse andcrime: A meta-analysis. *Aggress Violent Behav*.13(2):107–18 .

Temel, E. T. (2022). *2018-2020 Yılları Arasında Adli Tıp Kurumu Bursa Grup Başkanlığında Otopsisi Yapılan Olgularda Alkol, Uyutucu-Uyuşturucu ve Uyarıcı Madde Tespit Edilen Vakaların Retrospektif Olarak Incelenmesi* (Doctoral dissertation, Bursa Uludag University (Turkey)).

Koç, P. (2019). *Yasadışı olarak kullanılan esrar (kannabinoidler)'in idrar analizinde farklı türevlendiricilerin karşılaştırılması* (Master's thesis, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü).

COŞAR, A. (2011). Uyuşturucu Madde Suçları. *Madde Bağımlılığı Suç İlişkisi ve Eroinin Analizi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yayımlanmış Yüksek Lisans Tezi, Trabzon*.

Özşeker, P. E. (2018) Kannabinoidlerin Toksikolojik Analizi. *Türkiye Klinikleri J Pharmacol-Special Topics*, 6(1):74-7.

Gökkaya, N (2020). *Anti-Thc Fab Fragmanının Psikoaktif Bileşik THC'nin Metaboliti Thc-Cooh' Ye Olan Affinitesinin Arttırılması İçin Moleküler Dinamik Simulasyonları İle Optimizasyonu* (Yüksek Lisans Tezi), Üsküdar Üniversitesi Bağımlılık Ve Adli Bilimler Enstitüsü.

Leis, H. J., Fauler, G., & Windischhofer, W. (2014). Enantioselective quantitative analysis of amphetamine in human plasma by liquid chromatography/high-resolution mass spectrometry. *Analytical and bioanalytical chemistry*, *406*, 4473-4480.

Hädener, M., Bruni, P. S., Weinmann, W., Frübis, M., & König, S. (2017). Accelerated quantification of amphetamine enantiomers in human urine using chiral liquid chromatography and on-line column-switching coupled with tandem mass spectrometry. *Analytical and bioanalytical chemistry*, *409*, 1291-1300.

Sönmez, K. (2016). *Genç Nüfusta Kullanımı Yaygın Olan Amfetamin Türevlerinin (ekstazi) idrarda GC/MS ile Tayini (Yüksek Lisans Tezi)*. Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Butcher, J. N., Mineka, S. ve Hooley, J. M. (2013). Anormal Psikoloji. (O. Gündüz, Çev.). İstanbul: Kaknüs Yayınları.

Özden, S. Y. (2007). Adli psikiyatri (1. Baskı). İstanbul: Şahinkaya Matbaacılık.

de Matos, E. G., Hannemann, T. V., Atzendorf, J., Kraus, L., & Piontek, D. (2018). The Consumption of New Psychoactive Substances and Methamphetamine: Analysis of Data From 6 German Federal States. *Deutsches Ärzteblatt International*, *115*(4), 49.

Ciccarone, D. (2011). Stimulant abuse: pharmacology, cocaine, methamphetamine, treatment, attempts at pharmacotherapy. Primary Care: Clinics in Office Practice, 38(1), 41-58.

Wikibooks (2019). Structural Biochemistry/Methamphetamine. Alınma Tarihi: 23.02.2023. https://en.wikibooks.org/wiki/Structural_Biochemistry/Methamphetamine.

Benzenhöfer, U., ve Passie, T. (2010). Rediscovering MDMA (ecstasy): the role of the American chemist Alexander T. Shulgin. *Addiction*, *105*(8), 1355-1361.

https://www.emcdda.europa.eu/publications/drug-profiles/mdma_en

Şahin, M. (2016). *GC/FID cihazı ile kantitatif mdma analizi metot validasyonu* (Master's thesis, Namık Kemal Üniversitesi).

Topal, H. (2012). *3, 4-metilendioksimetamfetamin (MDMA) içeren tabletlerin kimyasal ve fiziksel özellikleri kullanılarak kataloglandırılması* (Master's thesis, Sağlık Bilimleri Enstitüsü).

GALICHET, L.,Y., (2004). Clarke's analysis of drugs and poisons in pharmaceuticals, body fluids and post mortem material. 3, 2nd Ed., Pharmaceutical Press, 567-1919.

https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3_4-Methylenedioxymethamphetamine

Ateş, İ. (2010). *Ante-mortem saç örneklerinde bazı uyuşturucuların (Kokain, Opiatlar ve THC) CEDIA yöntemi ile belirlenmesi ve GC/MS ile teyidi* (Master's thesis). İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü.

Karakuş Ü. (1990) Kokain metabolizmasını aydınlatıcı ön çalışmalar, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü, İstanbul

King, L. A., McDermott, S.D., Jickells, S., Negrusz,A., (2008) Drugs of abuse, Clarke's Analytical Forensic Toxicology, (S. Jickells, A. Negrusz, Eds), Vol. 3, Pp. 45-48, Pharmaceutical Press.

Uskur, T.B. (2014). Deksmedetomidin'in Sıçanlarda Morfin Bağımlılığına ve Morfin Bağımlılığının Nüksüne Etkisinin Değerlendirilmesi. (Yüksek Lisans Tezi). İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü, İstanbul

https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cocaine

https://go.drugbank.com/drugs/DB01515

McDonald, S., & Lunte, C. (2003). Determination of the dermal penetration of esterom components using microdialysis sampling. *Pharmaceutical research*, *20*, 1827-1834.

Tekin Bülbül, T. (2021). Yapay beyin omurilik sıvısında kokainin ve ana metaboliti benzoilekgoninin sıvı kromatografisi ardışık kütle spektrometresi yöntemiyle belirlenmesi. (Yüksek Lisans Tezi). İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa: Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü.

https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Benzoylecgonine

İsmail Ethem GÖREN (2022) Opioidlere bağlı ölümlerde postmortem yeniden dağılımın ve opioid metabolitlerinin stabilitesinin belirlenmesi (Doktora Tezi) Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Aşçıoğlu, F., Özcan, M., Saygılı, S., Iraz, M., Okudan, M. ve İlhan, L., 2013. Kodein ve kodein içeren tıbbi müstahzarlar hakkında uzman görüşü. J For Med., 27(3), 189-198.

Mine Kadıoğlu Duman ve Erdem Nail Duman, Yasal ve Yasadışı Maddeler ve Adli Toksikolojik Yaklaşımlar Kitabı, Opioidler (2021)

AVCIOĞLU, G. (2019). *Uyuşturucu Madde Analizinde Tükürük, İdrar, Kan Örneklerinde Kullanılan Tarama ve Doğrulama Yöntemlerinin Laboratuvar ve Klinik Bakış Açısından Değerlendirilmesi* (Doctoral dissertation, Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi).

Battal, D. (2012). Adli Toksikoloji Analizlerinde Biyolojik Örnek ve Analitik Yöntem Seçimleri. *Adli Tıp Dergisi*, *27*(1), 44-53.

Evren, Z. (2008). Postmortem Kan Etanol Düzeyinin Toksikolojik Analizi ve Adli Tıpta Önemi. (Yüksek Lisans Tezi) Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Oya YETER (2018), Temel Adli Toksikoloji Kitabı, Biyolojik Materyal ve Örnek Seçimi, Postmortem Biyolojik Materyaller

Erdem Yayayürük, Özdokur ve Ertaş, (2018) Temel Adli Toksikoloji Kitabı, Örnek Hazırlama Yöntemleri

Şahin, G. (2019). *Afyon alkaloidleri fabrikası sıvı–sıvı ekstraksiyonu sırasında atık olarak çıkan kodeinin geri kazanımı* (Master's thesis). Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

Aksoy, A., & Yavuz, O. (2006). Örnek hazırlamada katı faz ekstraksiyonu metodu. *Samsun FÜ Sağlık Bil. Derg*, *20*(3), 259-269.

Gök Topak, E. D. (2021). Sülfür Metabolizmasında Yer Alan Metabolitlerin Miktar Tayini için LC-MS/MS Yönteminin Geliştirilmesi ve Valide Edilmesi. Hacettepe Üniversitesi; Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Eser, B. & Sepıcı Dınçel, A. (2018). Kromatografiye Giriş, Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi Kullanımında Basit İpuçları. Sağlık Hizmetleri ve Eğitimi Dergisi, 2 (2) , 51-57 . DOI: 10.26567/JOHSE.2018250150

Yıldız, G. (2012). *İyon hareketliliği spektrometresi ile birleştirilmiş LC-MSMS cihazı kullanılarak bazı sebzelerde pestisit kalıntılarının belirlenmesi* (Master's thesis), Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

Teuscher, N. (2014). Understanding LC/MS/MS. 23 Ocak 2023 tarihinde https://www.certara.com/knowledge-base/understanding-lcmsms/ adresinden erişildi.

Cross, T. G., & Hornshaw, M. P. (2016). Can LC and LC-MS ever replace immunoassays?. *Journal of Applied Bioanalysis*, *2*(4), 936.

Ersoy, C. (2017), JWH-210 (4-etil-1-naftalenil) (1-pentil-1H-indol-3-il)-metanon ve metabolitinin (JWH-210-N-5-karboksi pentil) LC-MS/MS ile kanda tayini (Yüksek Lisans Tezi) Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Van Bocxlaer, J. F., Clauwaert, K. M., Lambert, W. E., Deforce, D. L., Van den Eeckhout, E. G., & De Leenheer, A. P. (2000). Liquid chromatography—mass spectrometry in forensic toxicology. *Mass spectrometry reviews*, *19*(4), 165-214.

USP-1225 (2015). VALIDATION OF COMPENDIAL METHODS. Amerika Birleşik Devletleri Farmakopesi.

Eldin, A. I. B.(2011). Validation of an Analytical Procedure. Quality Control of Herbal Medicines and Related Areas, 17.

ICH Q2-R1 (2005). Validation of analytical procedures: text and methodology, International Conference on Harmonisation. Uluslararası Uyum Konseyi.

Şahin, T. (2019). *Etil asetat metodu ile mevye ve sebzelerde pestisit analizi ve metot validasyonu* (Master's thesis, Adli Tıp Enstitüsü).

Çiftçioğlu, U. (2023). *Timolol Miktar Tayini İçin Hızlı, Spesifik ve Hassas UPLC Yönteminin Geliştirilmesi ve Validasyonu. Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yayımlanmış Yüksek Lisans Tezi, İstanbul*.

34. Ulusal Kimya Kongresi – Poster Sunumu Özeti

PS-031

Postmortem Kan Örneklerinde Bazı Psikoaktif Maddelerin LC-MS/MS İle Kantitatif Tayini

Oya Yeter[1], Ece Kök Yetimoğlu[2], Şafak Uzcan[2]

[1]Adli Tıp Kurumu
[2]Marmara Üniversitesi

Özet: Psikoaktif maddeler, ilk olarak merkezi sinir sisteminde etkisini gösteren ve beynin işlevlerini değiştirerek algıda, ruh hâlinde, bilinçte ve davranışta geçici değişikliklere neden olan kimyasal maddelerdir. Bu maddeler eğlence amaçlı olarak bilerek bilinç düzeyini değiştirmek, entojen olarak ritüel ve spiritüel amaçlı, zihni incelemek amaçlı ya da tedavi amaçlı ilaç olarak kullanılabilir. Avrupa, yasadışı psikoaktif maddeler için önemli bir pazardır. Günümüzde ülkemizde de bir çok yeni ve farklı psikoaktif madde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Adli Tıp Kurumu'nda incelenen örneklerde sistematik toksikolojik analiz çerçevesinde uyuşturucu madde analizleri yapılmaktadır. Bu analizlerde hem klasik hem de yeni psikoaktif maddeler LC-MS/MS metotları ile rutin olarak taranmaktadır. Postmortem kan örneklerindeki yeniden dağılım gibi (PRD: Postmortem re-distribution) durumlar nedeniyle kan örneklerinde miktar analizleri zorlayıcı olabilmektedir. Bu çalışmada yaygın kullanılan metamfetamin, eroin, kokain, esrar ve ekstazinin postmortem kan örneklerinde LC-MS/MS ile kantitatif analizi yapılacaktır. Metotun tayin-tespit sınırı, geri kazanım, kesinlik, doğruluk, stabilite ve matriks etkisi parametreleri ile tam validasyonu yapılacaktır. Bu çalışmada Shimadzu LCMS-8050 LC-MS/MS cihazı kullanılacaktır. LC-MS/MS, analitlerin kalitatif ve kantitatif olarak analiz edilmesine imkan verir. Karmaşık ortamlarda yer alan tekli veya çoklu analitlerin analizinde, eser düzeydeki maddelerin analizinde, ilaç etken maddelerinin yanında safsızlık ve metabolitlerinin analizinde, gıdalardaki katkı maddeleri veya pestisitlerinin analizlerinde, kan, idrar, doku gibi biyolojik numunelerin analizlerinde yüksek hassaslık ve doğruluk ile sonuç almak mümkündür. LC-MS/MS, çoklu analit tayininin yanı sıra numunedeki eser miktardaki analitlerin tayini için tercih edilen en hassas metotlardan biridir. Örnekte bulunan bileşenlerin miktarı, yapısı ve molekül ağırlığı hakkında bilgi verir. Küçük farmasötik bileşiklerden büyük proteinlerin tayinine kadar, polar iyonik, termal kararsız ve uçucu olmayan bileşiklerin analizleri gibi çok geniş bir kullanım alanına sahiptir.LC–MS/MS yöntemi, postmortem kan örneklerinin analizleri ve ayrıca klinik amaçlar için daha hassas ve seçici olduğundan tercih edilmiştir. Postmortem kan örnekleri LC-MS/MS cihazına verilmeden önce katı faz ekstraksiyonu (SPE) ile analize uygun hale getirilir. Daha sonra örnekler viallere alınıp cihaza verilir. SPE çeşitli tutucu maddelerin (adsorban) küçük, tek kullanımlık ekstraksiyon kolonlarına doldurularak pratik bir örnek hazırlama düzeneği tasarlanması esasına dayanmaktadır. SPE, günümüzde etkili bir örnek hazırlama yöntemi olarak birçok laboratuvarda kullanılmaktadır. SPE metodu, klasik sıvı-sıvı ekstraksiyon ile karşılaştırıldığında daha hızlı, az çözücüye ihtiyaç duyan, emülsiyon oluşumun şekillenmediği, çok daha ucuz bir tekniktir. Bunun yanında katı faz ekstraksiyonu ile daha temiz ekstrakt ve yüksek geri kazanım oranları elde edilebilmektedir. Çalışmamızın hedefi, LC-MS/MS cihazına uygun olarak geliştirilen ve validasyonu yapılan analitik metodu ile postmortem kan örneklerindeki psikoaktif maddelerin hızlı, hassas ve güvenilir bir yöntemle kantitatif olarak analizini yapılması ve metodun valide edilmesidir.

Teşekkürler: Yüksek lisans eğitimimin her aşamasında destek ve anlayışını esirgemeyen Sayın Hocam Prof. Dr, Ece Kök Yetimoğlu'na,Tez çalışması süresince laboratuvar imkanlarını kullanmama izin veren Adli Tıp Kurumu yönetimine, 2. tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Oya Yeter'e ve analizlerini birlikte çalıştığım mesai arkadaşlarıma en içten teşekkürlerimi sunarım.

Anahtar Kelimeler: Adli Kimya, Psikoaktif Maddeler, LC-MS/MS, Postmortem Kan, Adli Bilimler

ÖZGEÇMİŞ

EĞİTİM HAYATI

Lise (2008-2012)	: Gürpınar İMKB Anadolu Teknik Lisesi, İstanbul
Lisans (2012-2018)	: Marmara Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya
Yüksek Lisans (2020-2023)	: Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya

İŞ HAYATI

Mustafa Nevzat İlaç (2018-2019)	: Stabilite Laboratuvarı
Adli Tıp Kurumu (2019-Halen)	: Enstrümantel Analiz ve Araştırma Laboratuvarı