

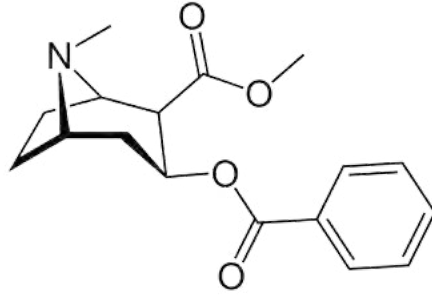
Gülsu Şener*

Erdoğan Özgür**

Prof. Dr., Handan Yavuz**

Prof. Dr., Adil Denizli**

* Hacettepe Üniversitesi,
Nanoteknoloji ve Nanotıp Ana Bilim Dalı
** Hacettepe Üniversitesi,
Kimya Bölümü,
Biyokimya Ana Bilim Dalı



Kokain Teşhisinde Yeni Bir Yöntem

Moleküler Baskılanmış Sensörler

Kokain özellikle son 10 yılda Türkiye’de de yaygınlaşmaya başlamış, bağımlılık yapıcı bir merkezi sinir sistemi uyarıcısıdır. Dolayısıyla kokain teşhisinin halk sağlığı açısından önemi gittikçe artmaktadır. Kokain teşhisine yönelik pek çok yöntem geliştirilmiş olsa da henüz düşük maliyetli, taşınabilir, güvenilir ve hassas bir cihaz geliştirilemedi.



Kokain, koka bitkisinin yapraklarından özütlenerek elde edilen, bağımlılık yapıcı bir merkezi sinir sistemi uyarıcısıdır. Binlerce yıldır insanlarca çiğnenen koka yapraklarının 1900’lerin başlarına kadar tedavi edici etkileri olduğuna inanılmıştır. Koka-

inin sentezlenmesi de mümkün olmakla birlikte, kullanılan kokainin büyük çoğunluğu koka bitkisinden özütlenerek elde edilir. Kolombiya, Peru ve Bolivya gibi Güney Amerika ülkeleri başlıca kokain üreticileridir.

Kokain molekülünün yapısı

Son on yılda ülkemizde kokain kullanımında ve yakalanmasında artış gözlemlenmiştir. 2014 yılında Kaçakçılık ve Organize Suçlarla Mücadele Dairesi Başkanlığı'nın ve Birleşmiş Milletler'in hazırladığı raporlara göre dünya genelinde ve Türkiye'de en fazla yakalanan maddeler başta esrar olmak üzere eroin, kokain ve afyondur (bkz. tablolar). Kokain yakalamaları kapsamında dünya geneli ve Türkiye karşılaştırması tablodaki gibidir.

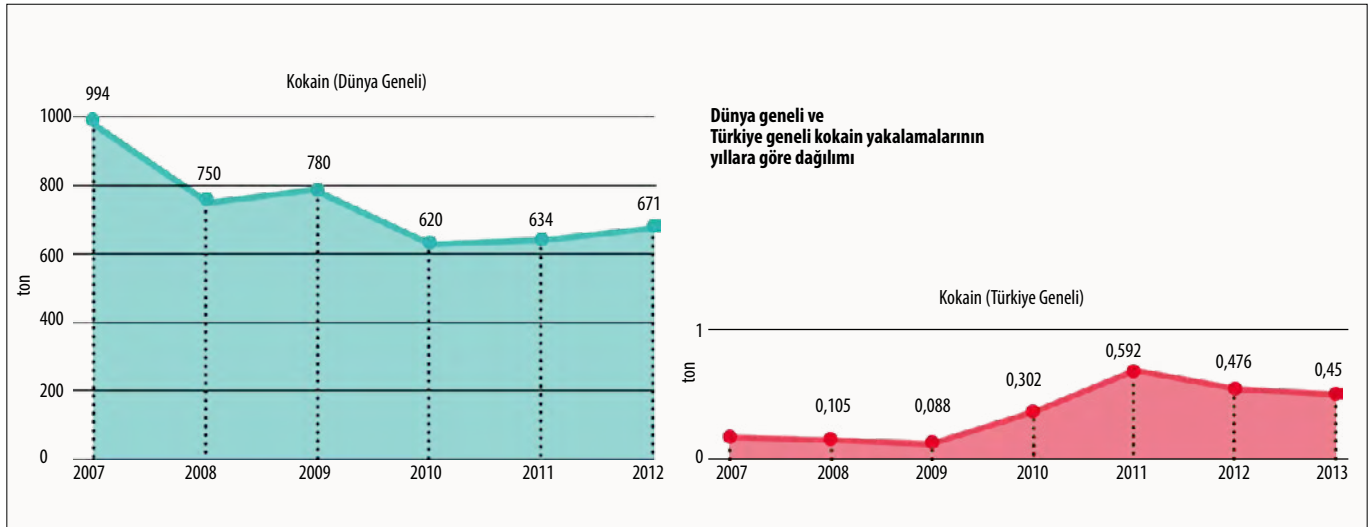
Kokain teşhisinin halk sağlığı, gümrük aktiviteleri, taşıma ve çevresel izleme alanlarındaki önemi gittikçe artıyor. Polis, gümrük personeli, güvenlik personeli gibi yetkililer kamu alanlarında zararlı maddeleri daha kolay teşhis edebilecek cihazlara gereksinim duyuyor. Ayrıca yasadışı madde taşıdığından şüphelenilen kişilerin kıyafetlerinden, yasadışı madde kullandığından şüphelenilen kişilerin kanlarından ya da saçlarından alınan örneklerin analiz edilmesi gerekiyor. Şüphelenilen maddelerin analizi adli laboratuvarların iş yükünün önemli bir kısmını oluşturuyor. Kokain gibi zararlı maddelerin teşhisinde kullanılacak yöntemlerin çok hassas (örneğin buharlaşıp kıyafetler üzerine yapışmış maddeyi bile analiz edebilecek kadar hassas) olması, teşhis sisteminin çalışılan alana taşınabilir olması, hızlı cevap süresi, güvenilirlik ve kullanım kolaylığı gibi özelliklere sahip olması gerekiyor.

Günümüzde kokain teşhisinde yaygın olarak iyon mobilite spektrometre, gaz kromatografi-kütle spektrometrisi (GC-MS) ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılıyor. Bu yöntemler maddenin tayininde iyi sonuçlar verse de analiz için çok önemli bazı kriterleri (örneğin taşınabilirlik, hızlı cevap süresi, basitlik) karşılamıyor. Bu yöntemlerin yanı sıra kokainin ve yasaklı başka maddelerin teşhisinde eğitilmiş köpekler de görev alır. Hatta bu köpekler pek çok yasaklı madde yakalama olayında başrolü oynar. Ancak bu köpeklerin eğitimleri hayli zahmetli ve masraflıdır. Ayrıca köpeklerin hata yapma olasılığı vardır.

Yakın zamanda kokain teşhisinde kullanılan yöntemlerin eksikliklerini gidermek için biyomoleküler tanıma elemanlarına sahip sensörler geliştirilmeye başlandı. Bu sensörler teşhis sistemlerini güçlendirir ve karmaşıklığı azaltır. Bu yöntemlerde genellikle kokaini yüksek seçicilikte tanıyan biyomoleküller yer alır. Ancak çok kararlı yapıda olmayan bu biyomoleküllerin maliyet ve kısa raf ömrü gibi problemleri vardır. Daha kararlı biyomolekül hazırlama yöntemlerinin geliştirilmesine yönelik çok sayıda çalışma olmasına rağmen, halen kullanılan biyomolekül temelli teknikler zaman ve maliyet açısından yeterli değildir.

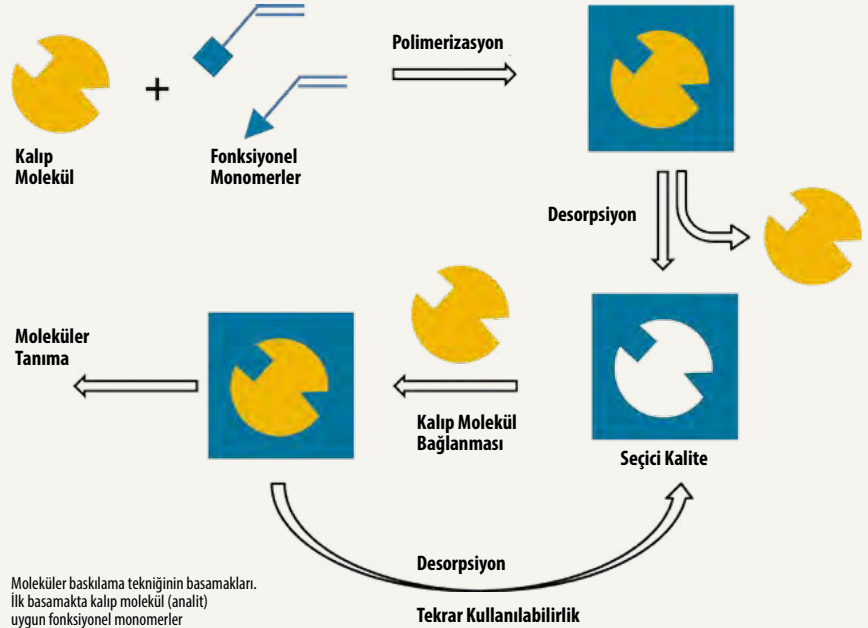
Dünya Geneli Uyuşturucu Yakalamaları		
Madde/Yıl	2011	2012
Esrar (ton)	6260	5350
Eroin (ton)	160	120
Kokain (ton)	634	671
Afyon (ton)	121	86,85
Ekstazi (ton)	4	5
Metamfetamin (ton)	90	114

Türkiye Geneli Uyuşturucu Yakalamaları							
Madde/Yıl	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Esrar (ton)	32,55	39,1	51,45	73,30	76,39	152,08	27,38
Eroin (ton)	13,22	15,44	16,06	12,69	7,29	13,30	13,48
Kokain (ton)	0,116	0,105	0,088	0,302	0,592	0,476	0,45
Afyon (ton)	0,765	0,556	0,485	0,213	0,061	0,198	0,210
Ekstazi (adet)	1.047.559	1.041.111	423.513	924.861	1.364.253	4.389.309	4.441.217
Metamfetamin (ton)	-	-	0,103	0,126	0,35	0,502	0,105

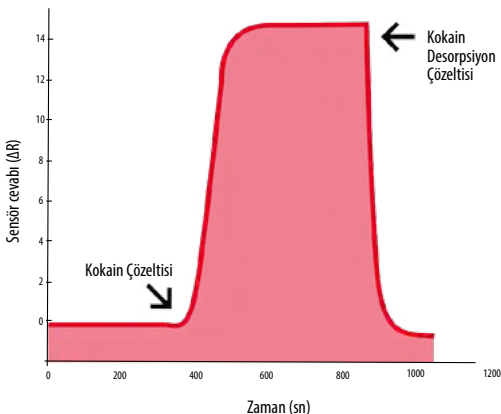


Moleküler Baskılama Teknolojisi

Moleküler baskılanmış polimerler (MIP'ler) kalıp molekülle kompleks oluşturan işlevsel monomerlerin polimerleştirilmesi ile üretilir. Polimerizasyondan sonra yapıda hedef molekülün yerini alacak boşlukların oluşturulması amacıyla, kalıp molekül polimerden uzaklaştırılır. Uygun koşullar altında, bu boşluklar kalıp molekülün büyüklüğünü, yapısını ve fiziko-kimyasal özelliklerini tanıyarak, seçici ve etkin olarak kalıp molekülün bağlanmasını sağlarlar. MIP sensörün maliyeti üretim ve sınırsız kullanım süreleri göz önüne alındığında çok ucuzdur. Bunun yanı sıra MIP'ler kolay hazırlanabilirler, kararlıdır ve hayli spesifik moleküler tanıma yetenekleri vardır. Bu belirgin fiziksel ve kimyasal kararlılık biyomoleküllerin tanıma amaçlı kullanılmadığı durumlarda kullanılma kolaylığı sağlar. MIP'ler yapay malzemelerdir. Bu yüzden üretilirken hayvanların kullanılmasına gerek yoktur. Bu da, sosyal açıdan daha kabul edilebilir olmalarını sağlar.



Kokain baskılanmış SPR sensörün kokain çözeltisine tipik bir cevabı. Kokain içeren çözeltinin eklenmesi ile sensörün cevabı hızlı bir şekilde artar ve kısa sürede sabitlenir. Bu sayede kokain teşhis edilmiş olur. Analiz sonunda kokainin yapıdan uzaklaştırılması ile sensör tekrar kullanılabilir.



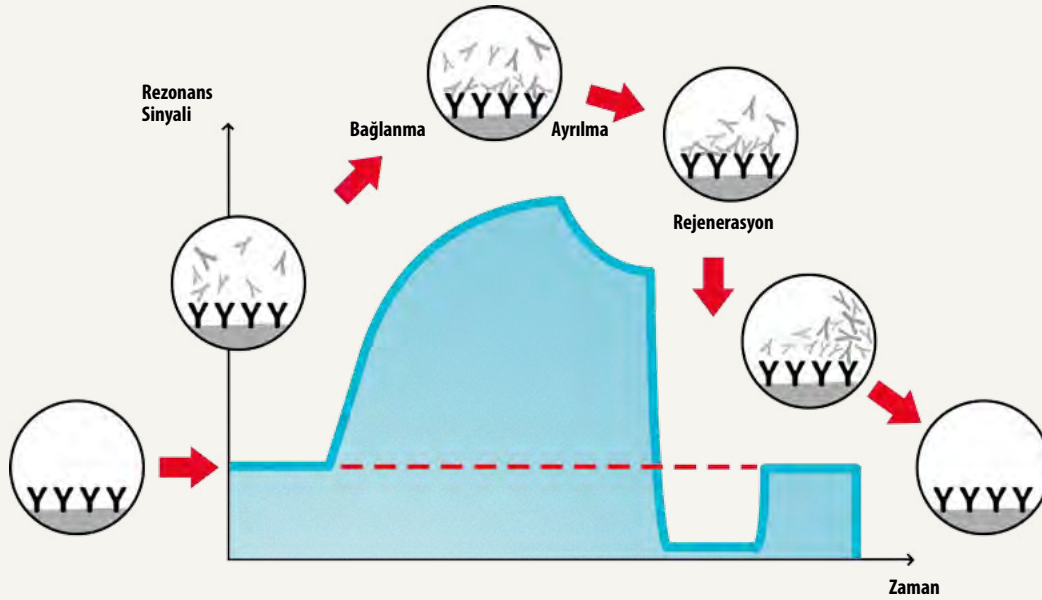
T. C. Kalkınma Bakanlığı ve Emniyet Genel Müdürlüğü Kriminoloji Laboratuvarı'nın desteği ile Hacettepe Üniversitesi Kimya Bölümünde yeni bir yöntem geliştirildi. Bu yöntem kokain teşhis için taşınabilir, güvenilir ve kolay kullanılabilen cihazların geliştirilmesine imkân sağlıyor.

Bu yeni yöntemle kokain teşhisinde biyolojik moleküller yerine daha kararlı bir yapıya sahip olan plastik malzemeler (moleküler baskılanmış polimerler) kullanılır. Baskılanmış polimerler yüzey plazmon rezonans (SPR) sensörlerin üzerine yerleştirilir. Burada kullanılan plastik malzemeler düşük maliyetlidir, kolayca ve tek seferde çok miktarda hazırlanabilirler. Bu polimerdeki kavite kokain moleküllerine özgü olduğundan, hazırlanan sensör karmaşık ortamlarda, örneğin kanda bile kokaini ayırt edip tanıyabilir.

Biyolojik moleküllerle kıyaslandıklarında, moleküler baskılanmış polimer-

lerin kararlılıkları hayli yüksektir. Ayrıca bu yöntemde yer alan malzemeler tekrar kullanılabilir. SPR ölçüm sistemlerinin basit ve küçük cihazlar olması da avantajdır. Bu sayede kokain teşhis için taşınabilir, güvenilir ve kolay kullanılabilen cihazların geliştirilmesi mümkün olacaktır. Daha da önemlisi, moleküler baskılama teknolojisinin pek çok moleküle kolaylıkla uygulanabilir olması sayesinde sadece kokain değil eroin, esrar ve yakın zamanda yaygınlaşan bonzai gibi başka narkotik maddelerin teşhis de mümkün olacaktır. Bunun için sensörler hazırlanırken kalıp molekül olarak teşhis edilen molekülün ve bu molekülün kimyasal yapısı incelenerek seçilecek işlevsel monomerlerin kullanılması yeterli olacaktır. Üretim ve kullanım kolaylıkları göz önüne alındığında moleküler baskılanmış polimer sensörlerin narkotik uygulamalar açısından hayli yüksek potansiyeli vardır.

Yüze Plazmon Rezonans (SPR) Sensörler



Tipik bir SPR sensör eğrisi.

Teşhis edilmek istenilen moleküle uygun olarak değiştirilmiş yüze analit bağlandığında sensörün rezonans sinyalinde bir artış gözlemlenir. Analiz bittikten sonra uygun bir çözelti ile analit uzaklaştırılarak sensör tekrar kullanılabilir.

SPR, metal yüze yakın kırılma indisindeki değişimi ölçerek basit ve doğrudan ölçüm yapan bir tekniktir. SPR yönteminde geçirgen ve farklı kırılma indisli iki ortam arasında (cam prizma ve çözelti) ince bir metal film kullanılır. Metal film genellikle altın veya gümüşdür. Kritik bir açının üzerinde düzlem polarize ışık, daha yüksek kırılma indisli bir ortama girdiğinde (cam prizma) toplam iç yansımaya uğrar. Bu koşullarda kendiliğinden sönümlü dalga adı verilen ışık, metal filmin içine nüfuz eder. Belirli bir kırılma açısında bu dalga, metal yüzeydeki serbest elektronların yüzey plazmonları oluşturmasına sebep olur ve yansıyan ışığın yoğunluğu düşer. Bu olaya yüzey plazmon rezonans denir ve sadece rezonans açısı denilen belirli bir açıda gözlenir. Rezonans açısı, yüze analit eklenmesiyle değiştirilebilir. Bu değişim yüzeyin hedef moleküle göre değiştirilmesiyle seçici hale getirilebilir. Bu da SPR sensörlerin temelini oluşturur.

SPR temelli sensörler, herhangi bir işaretlemeye (örneğin kliniklerde sıklıkla kullanılan ELISA yönteminde genellikle floresan işaretleyiciler kullanılır) gerek duyulmadan moleküllerin etkileşimlerini doğrudan

ölçebilir. Bu özellik, moleküler etkileşimlerin anlaşılması için bu cihazların önemini artırmıştır. Etkileşimleri eş zamanlı ve doğrudan ölçebilmek kinetik, termodinamik parametrelerin, derişimin ve ligandlarla analitler arasındaki etkileşimlerin belirlenebilmesini sağlar. SPR temelli sensörlerin hızlı cevap süresi ve yüksek seçiciliği vardır.

SPR sensörler, metal yüzeyde tanımayı sağlayacak bölgeler oluşturulmasıyla elde edilir. Tanımayı sağlamak için moleküler baskılanmış polimerler kullanılabilir. Hedef molekülü içeren çözelti sensörle etkileştirildiğinde hedef molekül sensör yüzeyine bağlanır ve yüzeyin yoğunluğunun artmasına neden olur. Yüzeydeki bu yoğunluk artışı yüzeyin kırılma indisinin artmasına sebep olur. Kırılma indisindeki artış ise rezonans açısının kayması ile sonuçlanır. Bu etki zamana bağlı olarak incelenirse yukarıdaki şekildesine benzer bir sensorgram elde edilir. Bu şekilde görüldüğü gibi, yüze analit bağlanması ile rezonans açısı artmaktadır. Desorpsiyon çözeltisinin sisteme verilmesiyle analit, yüzeyden ayrılmaya başlar ve bir süre sonra sinyal tekrar eski seviyesine döner.

Kaynaklar

- United Nations Office on Drugs and Crime, World Drug Report, 2014.
- T.C. İçişleri Bakanlığı Emniyet Genel Müdürlüğü, Kaçakçılık ve Organize Suçlarla Mücadele Daire Başkanlığı, EMCDDA 2013/2012/2011/2010 Ulusal Raporu.
- Gümrükler Muhafaza Yakalama İstatistikleri 2009 - 2014 yıllarında yakalanan uyuşturucu maddelere ilişkin veri tablosu, <http://muhafaza.gtb.gov.tr/istatistikler/gumrukler-muhafaza-yakalama-istatistikleri>
- Frisk, T., Sandström, N., Eng, L., van derWijngaart, W., Mansson, P., Stemme, G., "An integrated QCM-based narcotics sensing microsystem", *LabChip*, Sayı 8, s. 1648, 2008.
- Golub, E., Pelosoff G., Freeman, R., Zhang, H., Willner, I., "Electrochemical, Photoelectrochemical, and Surface Plasmon Resonance Detection of Cocaine Using Supramolecular Aptamer Complexes and Metallic or Semiconductor Nanoparticles", *Analytical Chemistry*, Sayı 81, s. 9291, 2009.
- Hedborg, E., Winquist, F., Lundström, I., Anderson, L. I., Mosbach, K., "Some studies of molecularly imprinted polymer membranes in combination with field-effect devices", *Sensors and Actuators*, Sayı 37-38, s. 796, 1993.
- Homola, J., "Surface plasmon resonance sensors for detection of chemical and biological species", *Chemical Reviews*, Sayı 108, s. 462, 2008.