

**Organik Baz Yapısındaki Stimülanların (Doping maddelerinin)
İdrarda İTK ve GLK ile Nitel ve Nicel Analizleri***

Qualitative and Quantitative Analysis of Organic Basic Stimulants
-doping materials- in Urine by TLC and GLC

Nevin VURAL**

Şahan

SAYGI***

GİRİŞ

Sportif yarışmalarda "DOPING" olayları 1925 yılından itibaren farmakolojik doping maddelerinin ortaya çıkması ile büyük önem kazanmıştır (1). Spor karşılaşmalarının yüzyılımızın ortalarına doğru uluslararası bir nitelik kazanması ile son yirmi yıl içinde uluslararası doping mücadelesi de başlamıştır (2). Uluslararası Olimpiyat Komitesi bünyesinde kurulan Medikal Komite 1968 Grenoble ve Mexico Olimpiyat Oyunlarında ilk kez "dopingle mücadele" kontrollerini gerçekleştirmiştir. Bundan sonraki Olimpiyat oyunlarında da hem doping kontrolleri yapılmış ve hem de yasaklanan doping maddelerini içeren listeler yayınlanmıştır (2,3). Doping analizini yapan laboratuvarların araç, gereç ve analitik yöntemler bakımından standardize edilmesine çalışılmaktadır (4).

Türkiye'de at yarışlarında rutin doping kontrolleri 1951 yılından itibaren yapılmaya başlanmıştır (5). Sporcularda ise doping kontrollerinin yapılması için 1971 yılında Gençlik ve Spor Bakanlığı Beden Terbiyesi Genel Müdürlüğü tarafından "Sportif Dopinglerle Müca-

Redaksiyona verildiği tarih: 17 Şubat 1983

* Ecz. Şahan Saygı tarafından Toksikoloji Anabilim Dalı'nda hazırlanmış aynı isimli doktora tezinden özetlenmiştir. Sınav tarihi: 31.5.1982.

** Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, Eczacılık Fakültesi, Ankara Üniversitesi.

*** Kontrol ve Analiz Laboratuvarı, MSB İlaç Fabrikası, Ankara.

dele Yönetmeliği" yayınlanmış (6) olmasına rağmen günümüzde yetkili bir laboratuvar bulunmamaktadır.

Bu çalışmada Uluslararası Olimpiyat Komitesi Medikal Komisyonu tarafından 5 grup altında toplanan doping maddelerinden (3) ilk üç gruba giren organik baz yapısındaki stimulan aminlerden 19 ilaç seçilmiştir. Bu ilaçların biyolojik materyalde kalitatif ve kantitatif analizleri için duyarlı, kesin, çabuk ve laboratuvar koşullarına uygun bir yöntem geliştirilmesi amaç edinilmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

I- MATERYAL:

a) İlaç standartları: Amfetamin sülfat (Specia-Fransa), Metamfetamin hidroklorür (Knoll AG- B.Almanya), Dimetamfetamin hidroklorür (Temmler-Werke-B.Almanya), p-Hidroksiamfetamin hidroklorür (Janssen pharmaceutica-Belçika), Fentermin hidroklorür (Heinrich Mack Nachf. Chem.-B.Almanya), Tranilsipromin sülfat (SKF-A.B.D.), Metoksifenamin hidroklorür (The Upjohn Gompriya-A.B.D.), Foledrin sülfat (Knoll AG-B.Almanya), Dietilpropion hidroklorür (Wyeth Lab.-A.B.D.), Niketamid (Siegfried S.A.-İsviçre), Kardiazol (Aarhus-Danimarka), Fenilefrin hidroklorür (DEVA), Metaraminol bitartarat (Merck Sharp and Dohme-A.B.D.), Novadral hidroklorür (Eczacıbaşı), Etamivan (Riker Lab.-Avustralya), Pemolin (Laboratories Aron-Fransa), Striknin sülfat (M.S.B. İlaç Fb.).

b) Kondensasyon maddesi: 7-Klor-4-nitrobenzofurazan (NBD) (Merck-B.Almanya).

II- YÖNTEMLER:

A. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)ne ait çalışmalar:

1) İlaç standartlarının İTK'da püskürtme belirteçleri ile tanımlanmaları: İlaçların (bazlarına göre hesaplanan) 1 mg/ml konsantrasyonda metanoldeki çözeltileri hazırlandı. Püskürtme belirteçleri olarak, ninhidrin (0.5 mg/ml asetonda), sülfürik asit (% 0.5 su içinde), Draggendorf belirteci ve potasyum permanganat belirteci (% 1 suda) kullanıldı. Silikajel GF₂₅₄ ile kaplı plaklarda/ etil asetat/meta-

nol/konsantre amonyak (85:10:5) ile develope edildikten sonra tanktan çıkarılan plaklar oda sıcaklığında kurutulup 254 nm de mor ötesi ışına maruz bırakıldı. Üzerine ninhidrin püskürtüldü ve mor ötesi ışını altında 15 dakika bekletildi. Üzerine daha sonra sırasıyla üstteki diğer belirteçler püskürtülerek oluşan lekeler ve renkleri kaydedildi. Her ilacın Rf değeri hesaplandı (7,8,9).

2) İlaç standartlarının NBD ile kondensasyonu ve İTK'da tanımlanmaları:

10 ml'lik cam şişelere 1 ml (1 mg/ml) ilaç standardı, 1 ml etilasetat, 1 ml NBD (4 mg/ml etilasetatda) ve 1 damla 1 N NaOH ilavesiyle karıştırıldı. Ağzı sıkıca kapatılarak karanlıkta oda sıcaklığında kondensasyon reaksiyonuna bırakıldı (10, 11). Kondensasyon ürünü, silikajel $GF_{2,5,4}$ plak üzerinde sikloheksan/etil asetat/eter (40:40:20) ile develope edildi. Kromatogramlar U.V de 366 nm'de incelendi

(10,12).

B. Gaz Sıvı Kromatografisine (GLK) ait çalışmalar (Gaz Kromatograf Packard-Becker Model 419):

, 1) İlaçların SE-30 sabit fazında tanımlanmaları: 19 ilaç standardı için aşağıdaki kromatografik koşullarda çalışıldı: Sabit faz: % 3 SE-30 "Chromosorb WHP 80-100 mesh üzerinde", Dedektör: FID, Taşıyıcı gaz (azot) akış hızı 40 ml/dk. Fırın sıcaklığı: 140-250°C, Dedektör sıcaklığı; 200-275°C, Enjeksiyon giriş sıcaklığı: 200-275°C, Kaydedici hızı: 0.5 cm/dk. Attenuation 32. 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ konsantrasyondaki ilaç standartlarından 1 μl madde enjekte edilerek alıkonma zamanları belirlendi.

2) İlaçların Apiezon-L/KOH sabit fazında tanımlanmaları: Amin yapısındaki maddelere karşı duyarlı olan (13, 14) kolon materyali, laboratuvarda chromosorb W-AW (80-100 mesh) üzerinde % 10 Apiezon-L/ % 10 KOH hazırlandı (14, 15), Dedektör FID, taşıyıcı gaz (azot) akış hızı: 40 ml/dk. Fırın sıcaklığı: 160-200°C, Dedektör ve enjeksiyon giriş sıcaklığı 200-220°C, kaydedici hızı 0.5 cm/dk, Attenuation: 32 koşullarında çalışıldı. 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ konsantrasyondaki ilaç standartlarından 1 μl madde enjekte edilerek alıkonma zamanları belirlendi.

3) İlaçların SE-30 sabit fazında asetik anhidriti ile türevlendirilerek tanımlanmaları: Primer ve sekonder amin yapısındaki ilaçların

gaz sıvı kromatografisi kolonu üzerinde türevleme işlemi asetik anhidriti ile yapıldı (7, 13). 1 µl ilaç çözeltisi üzerine 1 µl asetik anhidriti çekilerek birlikte enjekte edildi. Gaz kromatografisi koşulları 1)' deki gibi yürütüldü. Yalnız fırın sıcaklığı 160-210°C arasında çalışıldı.

C. Kalibrasyon Eğrilerinin Çizilmesi:

Maddelerin (bazlarına göre hesaplanan 1 mg/ml) sudaki çözeltileri hazırlandı. Formül benzerlikleri, sabit faz seçicilikleri ve kullanılış özellikleri göz önüne alınarak amfetamin, metamfetamin, dimetamfetamin, tranilsipromin, metoksifenamin, dietilpropion, niketamid, kardiazol ve efedrinin 10-100 µg/µl arasında değişen seri çözeltileri suda hazırlandı. İç standart (i.s., 30 µg/µl) olarak, dimetamfetamin (amfetamin ve metamfetamin için), amfetamin (dimetamfetamin ve tranilsipromin için), niketamid (metoksifenamin için), difenilamin (kardiazol için) kullanıldılar. Efedrin için norefedrin dış standart şeklinde kullanıldı. 1 ml standart çözelti (i.s. içeren) pH: 12-12.5 da 300 µl kloroformla ekstrakte edildi. Kloroform fazından 3 µl alınarak gaz kromatografa enjekte edildi. Pik yükseklikleri oranları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrileri çizildi.

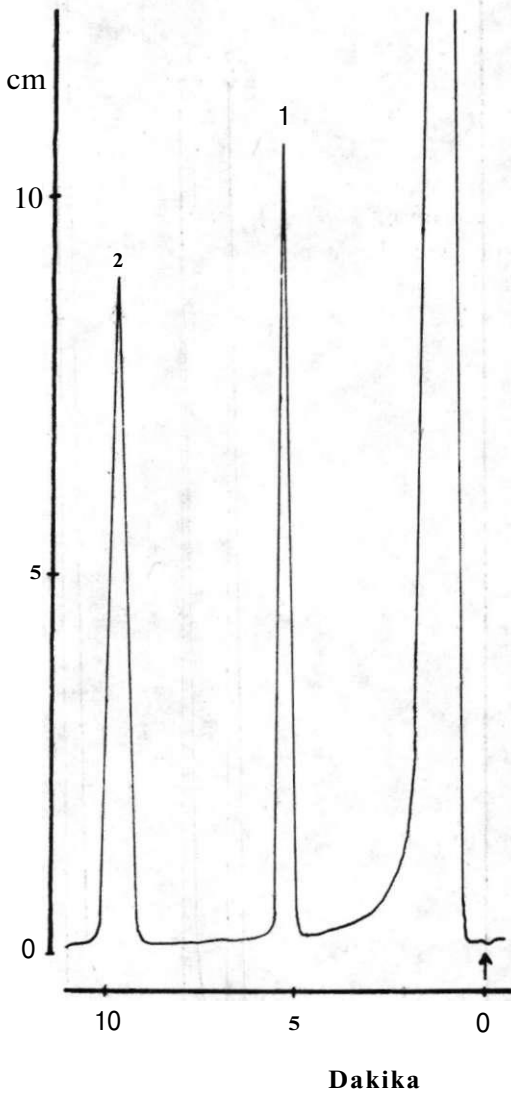
D. İlaçların İdrardan Ekstraksiyonu: 1 ml ilaç sulu standardı üzerine 4 ml idrar ilave edilerek 2.5 N NaOH ile pH: 12-12.5'a ayarlandı. Katı NaCl ile doyurulup 3 X 5 ml eter ile Whirlimixer'de 30 saniye ekstraksiyon yapıldı. Eter ekstraktları birleştirilip susuz Na₂SO₄'den geçirilerek suyundan kurtarıldı. Üzerine 1 ml 2 N HCl ilave edilerek yine 2 dakika ekstraksiyon yapıldı. Asit ekstrakt 10 ml'lik kapaklı santrifüj tüpüne alınarak 5 N NaOH ile pH: 12-12.5'a ayarlandı. Son ekstraksiyon işlemi ya saf kloroformla ya da i.s. içeren 300 µl kloroformla yapılarak gaz kromatografa uygulandı (7, 16).

E. Ekstraksiyon Veriminin Hesaplanması: Maddelerin ekstraksiyon verimi gaz sıvı kromatografisi yöntemi kullanılarak yapıldı (13).

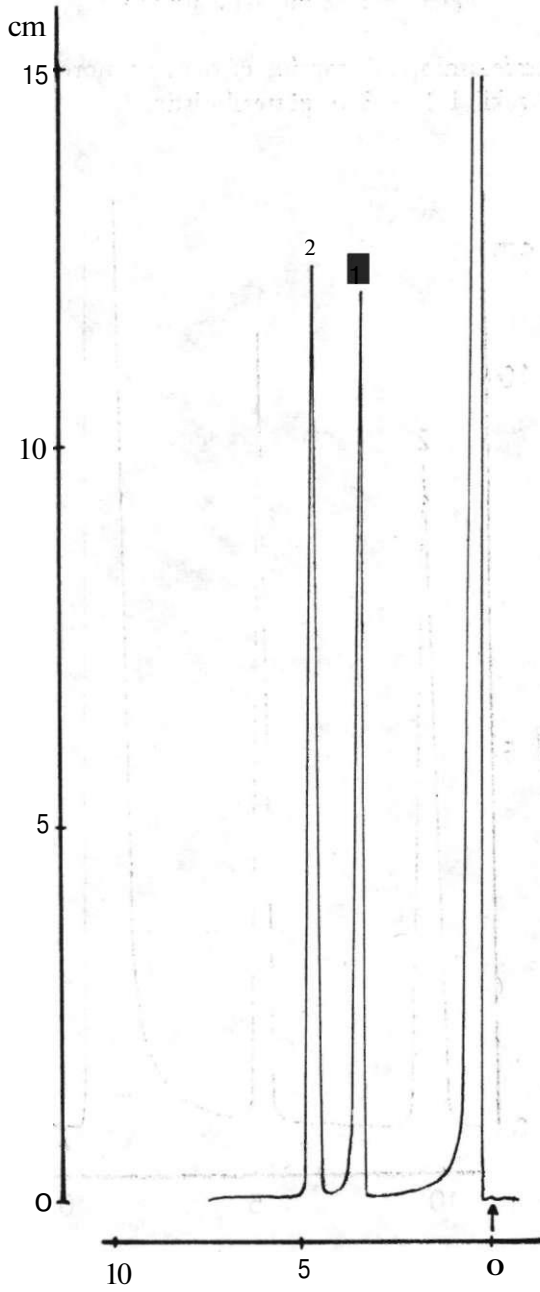
BULGULAR

Organik baz yapısındaki 19 stimülan ilacın İTK ve GLK ile elde edilen kromatografik özellikleri Tablo I, II, III, ve IV de; amfe-

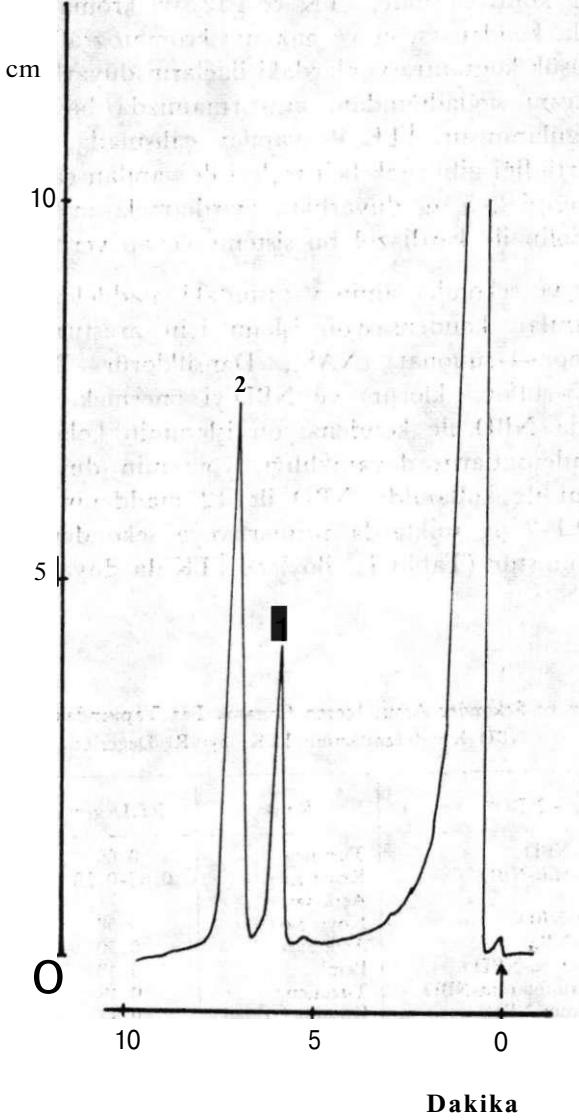
tamin, dimetamfetamin, niketamid, efedrin ve norefedrinin gaz kromatogramları şekil 1,2 ve 3 te gösterilmiştir.



Şekil 1. Amfetamin ve Dimetamfetaminin Gaz Kromatogramları. 1- Amfetamin (0.3 mikrogram), 2- Dimetamfetamin (0.3 mikrogram).



Şekil 2, Niketamid ve Difenilaminin Gaz Kromatogramları. 1- Niketamid (0.4 mikrogram), 2- Difenilamin (0.4 mikrogram).



Şekil 3. Efedrin ve Norefedrinin Gaz Kromatogramları. 1- Norefedrin (0.5 mikrogram),
2- Efedrin (0.6 mikrogram).

TARTIŞMA

Doping kontrollerinde, İTK ve gaz sıvı kromatografisine ilaveten, İTK'da kondensasyon ve gaz sıvı kromatografisinde türevleme işlemleri düşük konsantrasyonlardaki ilaçların duyarlı ve kesin olarak tanımlanmasını sağladığından, araştırmamızda böyle bir kombine yöntem uygulanmıştır. İTK ile yapılan çalışmada, yöntemler bölümünde belirtildiği gibi renk belirteçleri ile yapılan çalışmada 19 ilaçtan 17 tanesini 2-5 µg duyarlıkta ayırdetmek mümkün olmuştur. Yalnız pemolin ile kardiazol bu sisteme cevap vermemiştir.

Primer ve sekonder amin yapısındaki maddelerin tanımlanmasında kullanılan kondensasyon işlemi için araştırmacılar sodyum 1,2-naftokinon-4-sülfonat (NAS), Dansilklorür (N,N-dimetilamino-naftalin-5-sulfonyl klorür) ve NBD'yi önermektedirler (17, 18). çalışmamızda NBD ile kondensasyon işleminin kolay uygulanabilir olması, kondensatların dayanıklılığı, yöntemin duyarlı ve spesifik oluşu nedeni ile kullanıldı. NBD ile 12 maddenin kondensasyonu yapılarak 0.1-2 µg miktarda primer veya sekonder aminin tayini mümkün olmuştur (Tablo I). Böylece İTK'da duyarlık 2.5-20 kere artmıştır.

Tablo I. Primer ve Sekonder Amin içeren Organik Baz Yapısındaki Stimülan İlaçların NBD Kondensatlarının İTK'daki Rf Değerleri.

İlaç - NBD*	Renk	Rf Değeri	Rölatif** Rf Değeri
Fentermin-NBD	Turuncu	0.66	1.14
Tranilsipromin-NBD	Koyu sarı	0.65-0.28	1.12-0.48
	Açık sarı		
Amfetamin-NBD	Koyu sarı	0.58	1.00
Norefedrin-NBD	Açık sarı	0.50	0.86
Metoksifenamin-NBD	Pembe	0.48	0.83
p-Hidroksiamfetamin-NBD	Turuncu	0.48	0.83
Metamfetamin-NBD	Kavuniçi rengi	0.42	0.72
Metaraminol-NBD	Koyu sarı	0.38	0.65
Foledrin-NBD	Pembe-Pembe	0.38-0.14	0.65-0.24
Efedrin-NBD	Turuncu	0.32	0.55
Novadral-NBD	Koyu sarı	0.27	0.46
Fenilefrin-NBD	Portakal rengi	0.17	0.29

* İTK plakları 366 nm'de incelenerek kromatogramlar belirlenmiştir.

** Amfetamine göre.

Gaz sıvı kromatografisinde-polariteleri farklı iki ayrı sabit faz sisteminin kullanılması ile daha sağlıklı bir ayırım elde edilmiştir. % 3 SE-30 sabit fazında niketamid ve kardiazolün aynı alıkonma zamanları olduğu halde (192 saniye), alkali Apiezon-L sabit fazında niketamid 492'nci saniyede, kardiazol ise 648'inci saniyede pik vermektedir. Bu örnekler Tablo II ve III te görülmektedir.

Tablo II. Organik Baz yapısdaki stimülan ilaçların Gaz Sıvı Kromatografisindeki Alıkonma zamanları (Sabit faz % 3 SE. 30).

ilaç Adı	Fırın Sıcaklığı	Dedektör Sıcaklığı	Enjeksi. Giriş Sıcaklığı	Alıkonma Zamanı (Saniye)	Rölatif Alıkonma Zamanları
Amfetamin	140°C	200°C	200°C	78*	1.00
Fentermin			"	84	1.07
Metamfetamin		"	"	96	1.23
Tranilsipromin		"	"	114	1.46
Dimetamfetamin			"	120	1.53
Metoksifenamin	"			204	2.61
Dietilpropion	"			336	4.30
Norefedrin	160°C		"	108*	1.00
Efedrin		"		132	1.22
Niketamid	"			192	1.77
Kardiazol				192	1.77
p-Hidroksiamfetamin	180°C	220°C	220°C	84*	1.00
Foledrin	"	"	"	91	1.14
Fenilefrin	200°C	225°C	225°C	102*	1.00
Metaraminol		"	"	1008	1.05
Novadral			"	120	1.17
Etamivan		"	"	192	1.88
Pemolin	250°C	275°C	275°C	108*	1.00
Striknin	"			1008	9.33

* Referans olarak seçilen maddeler.

Araştırmamızda hem primer ve hem de sekonder amin yapısındaki bazlar ile türev oluşturduğu ve bu işlemin kolon üzerinde gerçekleştirilebilir olması nedenleri ile asetik anhidriti tercih edilmiştir. Doğrudan standart maddelerle çalışıldığında gerek SE-30 ve gerekse alkali Apiezon-L sabit fazında 0.1 µg madde tanımlanabilmekte, asetillemeden sonra ise 0.05 µg madde düzeyine inilebilmektedir.

Organik baz yapısındaki doping maddelerinin kontrolünde idrar, bu maddelerin bir miktar da değişikliğe uğramadan idrarla atılmaları (20, 21), idrar konsantrasyonlarının kana göre daha yüksek olması (7) ve ayrıca idrar numunesi temini daha kolay olduğu için tercih edilmektedir.

Tablo III. Organik Baz Yapısındaki Stimülan İlaçların Gaz Sıvı Kromatografisindeki Alınma Zamanları (Sabit faz % 10 Apiezon L/% 10 KOH).

İlaç Adı	Fırın Sıcaklığı	Dedektör Sıcaklığı	Enjeksi. Giriş Sıcaklığı	Alınma Zamanı (Saniye)	Rölatif Alınma Zamanları
Amfetamin	160°C	200°C	200°C	312*	1.00
Fentermin				384	1.23
Metamfetamin			"	420	1.34
Tranilsipromin	"	"	"	492	1.57
Dimetamfetamin			"	588	1.88
Dimetamfetamin			"	588	1.88
Norefedrin	190°C	220°C	220°C	348*	1.00
Metoksifenamin			"	408	1.17
Efedrin	"	"	"	432	1.24
Niketamid	200°C		"	492*	1.00
Dietilpropion		"		516	1.04
Dietilpropion	"	"		516	1.04
Kardiazol		"		648	1.31

Referans olarak seçilen maddeler.

Tablo IV. Primer ve Sekonder Amin İçeren Organik Baz Yapısındaki Stimülan İlaçların N-Asetil Türevlerinin Gaz Sıvı Kromatografisindeki Alınma Zamanları (Sabit faz % 3 SE-30)

İlaç Adı	Fırın Sıcaklığı	Dedektör Sıcaklığı	Enjeksi. Giriş Sıcaklığı	Alınma Zamanı (Saniye)	Rölatif Alınma Zamanları
Amfetamin	160°C	200°C	200°C	162*	1.00
Fentermin			"	174	1.07
Metamfetamin	"	"	"	240	1.48
Tranilsipromin			"	306	1.88
Metoksifenamin			"	480	2.96
Norefedrin	180°C	220°C	220°C	186*	1.00
Efedrin	"	"	"	228	1.22
p-Hidroksiamfetamin			"	360	1.93
Foledrin	210°C	240°C	240°C	180*	1.00
Metaraminol		"	"	216	1.20
Novadral		"	"	240	1.33
Fenilefrin	"	"	"	264	1.46
Fenilefrin		"	"	264	1.46

* Referans olarak seçilen maddeler.

Araştırmamızda 5 ml idrar numunesine tek bir ekstraksiyon sistemi uygulanmış, elde edilen ekstrakt, kullandığımız tüm tarama ve destekleyici analiz yöntemlerinde kullanılmıştır. Amfetamin ve efedrin gibi uçucu bazların varlığı dikkate alınarak ısı ve uçurma işlemine gerek bırakmayan kademeli mikro ekstraksiyon sistemi geliştirilmiştir.

Formül benzerlikleri, sabit faz seçicilikleri ve kullanılış özellikleri göz önüne alınarak 9 ilacın ekstraksiyon verimleri ve kantitatif tayinleri gaz sıvı kromatografisinde yapılmıştır (Şekil 1, 2, 3). Bu sonuçlara göre en düşük ortalama verim kardiazol için % 58.36 \pm 0.87 ve en yüksek ortalama verim amfetamin için % 96.84 \pm 2.20 elde edilmiştir.

Geliştirdiğimiz bu sistematik yöntemde duyarlık ve verim sonuçları göz önünde bulundurulduğunda doping maddeleri listesinin ilk üç sınıfına giren ilaçların 1 litre idrarda 2 mg madde düzeyinin kesin tanımlama ve miktar tayini için güvenle kullanılabilirliği görülmektedir.

ÖZET

Doping maddeleri içinde önemli yeri olan organik baz yapısındaki 19 stimülan ilaç için, idrarda, duyarlı ve güvenilir bir tarama yöntemi geliştirilmiştir.

İTK'da çeşitli renk belirteçleri ile Silikajel GF₂₅₄ üzerinde 2-5 μ g duyarlıkta, primer ve sekonder amin yapısında olan 12 bazın ise NBD ile verdikleri kondensasyon ürünlerinin 0.1-2 μ g duyarlıkta tanımlanmaları mümkün olmuştur. Bu 19 ilacın gaz sıvı kromatografisinde, iki ayrı kolonda (% SE-30 ve % 10 Apiezon-L % 10 KOH) 140-250°C aralığında ayrılmaları (0.1 μ g duyarlıkta) sağlanmıştır. Primer ve sekonder aminlerin N-asetil türevlerinin ayrılmaları GLK'da ayrıca destekleyici deney olarak kullanılmıştır (duyarlık 0.5 μ g).

Bu stimülan bazların 5 ml idrardan pH 12-12.5 da eter, 2 N HCl ve kloroformla kademeli ekstraksiyonla izolasyonları yapıldıktan sonra aynı ekstrakt İTK ve GLK için kullanılmıştır. Böylece tek ekstraksiyonla 1 litre idrarda 2 mg bazın (% 58-97 verim) kantitatif ve kantitatif analizi mümkün olmuştur.

SUMMARY

A sensitive and reliable screening test has been developed for 19 of the main stimulant drugs used as doping substances, inorganic base structure.

These drugs have been detected on TLC (Silicagel G F₂₅₄ plates) by various colour reagents with 2-5 µg sensitivity and as NBD condensates of primary and secondary with bases 0.1-2 µg sensitivity.

Using 3 % SE-30 and 10 % Apiezon-L/10 % KOH columns and oven temperature range from 140°C to 250°C reasonable separations of these drugs has been achieved with 0.1 µg sensitivity by GLC. Besides, the separation of N-acetyl derivatives of the primary and secondary amines has been developed as a confirmatory method with 0.5 µg sensitivity by GLC.

All the organic bases were isolated from 5 ml urine extracted with ether, 2 N HCl and chloroform respectively at pH 12-12.5. This extract has been used in both TLC and GLC analysis. As the recoveries have been varied between 58-97 %, 2 mg base in 1 liter urine could have been identified and determined.

LİTERATÜR

- 1- Akgün, N., *Ankara Tıp Fak. Mec.* 11: 80-92 (1958).
- 2- Dirix, A., *Spor Hek. Derg.*, 14: 15-25 (1979).
- 3- The International Olympic Committee: IOC Medical Controls XIII. Olympic Winter Games. Lake Placid (1980).
- 4- IAAF Medical Commission's Regulations for Accreditation of Doping Control Laboratories. (Prof. M. Donike'den elde edilen belge).
- 5- Özkazanç, A.N., Türkiye'de Yarış Atlarında Doping Olarak Kullanılan Başlıca Alkaloidlerden Heroin ve Kokainin Salyada Aranması Üzerine Araştırmalar. A.Ü. Basımevi (1956).
- 6- Gençlik ve Spor Bakanlığı Beden Terbiyesi Genel Müdürlüğü. Sportif Dopinglerle Mücadele Yönetmeliği. Ayıldız Matbaası A.Ş. Ankara (1971).
- 7- Beckett, A.H., Tucker, G.T., Moffat, A.C., *J. Pharm. Pharmac.* 19: 273-294 (1967).
- 8- Decker, W.J., Thompson, J.D., *Clin. Toxicol.*, 13: 545-549 (1978).
- 9- Sznelwar, R.B., Chromatographic Detection of Some Drugs of Toxicological Interest Using a Method for Amphetamine Identification. (TIAFT toplantısında sunulan tebliğin aslı yazarın kendisinden sağlanmıştır) (1979).
- 10- Clasing, D., Alfes, H., Reisch, J., Jantos, N., Möllmann, H., *Spor Hek. Derg.*, 5: 77-82 (1970).
- 11- Reisch, J., Kommert, H. J., Clasing, D., *Pharmazeutische Zeitung*, 115: 752-753 (1970).
- 12- Hopen, T.J., Briner, R.C., Sadler, H.G., Smith, R.L., *J. Forensic Sci.*, 21: 842-850 (1976).

- 13- Foerster, E.H., Hatchett, D., Garriott, J.C., *J. Anal. Toxicol.*, 2: 50-55 (1978).
- 14- Jain, N.C., Sneath, T.C., Budd, R.D., *Clin.Chem.*, 20: 1460-1462 (1974).
- 15- Berry, D.J., Grove, J., *J. Chromatog.* 61: 111-123 (1971).
- 16- Ehrsson, N., Knapp, D., *Clin. Chem.* 20: 1366-1367 (1974).
- 17- Goldbaum, L.R., Dominguez, A.M., *Prog.Chem. Toxicol.*, 5: 101-149 (1974).
- 18- Gürkan, T., *Microchimica Acta* (Wien), 1: 165-171 (1976).
- 19- Finkle, B.S., Cherry, E.J., Taylor, D.M., *J. Chromatogr. Sci.*, 9: 393-419 (1971).
- 20- Caldwell, J., Dring, L.C., Williams, R.T., *Biochem. J.*, 129: 23-24 (1972).
- 21- Dirix, A., Examens Anti-Doping Effectures en 1979 par la Ligue Velocipedique Belge. (Yazardan sağlanmıştır).