

BAZI AMFETAMİN MADDELERİNİN AT İDRARLARINDA ARANMASI

S. KALAYCI (*)

M. KERMAN (**)

GİRİŞ ve LİTERATÜR ÖZETİ

Koşu atlarına, yarış gücünü değiştirmek gereğiyle çeşitli kimyasal yapıda doping maddeleri uygulanmaktadır (3, 6, 17).

Bunlar yarış kazandıran amfetamin grubu gibi merkezi sinir sistemi uyarıcıları; yarış kaybettiren yani merkezi sinir sistemi uyuşturucuları olmak üzere bölümlendirilmişlerdir (5, 6, 7).

Türkiy'de laboratuvar kayıtlarına göre amfetamin grubu ve benzeri ile kafein grubu doping maddeleri koşu atlarının idrar ve salya örneklerinde fazla miktarda saptanmıştır (14). Dünya Yarış Kimyagerleri Cemiyetine bağlı doping analiz laboratuvarlarının kayıtlarına göre son 25 yıl içinde Amfeamin 385, Metilamfetamin 86, Kafein 408, Novalgin 86, Morfin 58, Prokain 539 kez atın idrar ve salya örneklerinde bulunmuştur (17). Merkezi sinir sistemi uyarıcı aminlerin şırıngadan sonra idrar ve salya örneklerinde çıkış ve kayboluş zamanlarının saptanması konusunda pek az araştırmaya rastlanmıştır. Yapılan bu araştırma ile kimyasal yapıları birbirine benzer (18) Amfetamin (A), Hidroksiamfetamin (H), Metilamfetamin (M), Efedrin (E)'in şırıngadan sonra idrar ve salya örneklerinde çıkış ve kayboluş zamanları saptanmıştır.

Böylece bu anılan etken maddeler için olmak üzere, koşu atlarından alınacak idrar ve salya örneklerinin alınma zamanları ortaya konmuştur. Ayrıca sonda ile kısarak da olsa, idrar almanın güç olduğuda saptanmıştır.

(*) Hayvan Hast. A. Ens. M. Doping Lab. Şefi
(**) Hayvan Hast. A. Ens. M. Doping Lab. Uzmanı

Doping etkisi yapan maddeler yarış kazandıran (ileri doping) ve yarış kaybettiren (geri doping) olmak üzere incelenmiştir (7).

Kullandığımız doping etkisine sahip etken maddelerin koşu atının sürat, kuvvet ve cesaretini etkiliyerek yarış kazanmasını temin ettiği uzun devre içinde olmak üzere tonik maddelerin, seksüel hormonların, besleyici ve kuvvetlendirici maddelerin de aynı etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (3, 16).

Amfetamin (A) merkezi sinir sisteminin kuvvetli bir uyarıcısı olduğu, sinir sistemi ve kas sisteminin bir pilotu yahut jockeyi sayılabileceği, bu özelliğinden dolayı bu etken maddenin etkisi altında bulunan bir koşu atının yarış esnasında kamçı kullanılmadan güçlü bir performans göstererek iyi bir netice alabileceği, yüksek dozda kullanıldığında yönetim ve içgüdüleri kaybedeceğinden sinirlerin uyarılmaları sonucu kasların süratli ve şiddetli olarak kasılacağı böylece koşu atının, koşu yeteneği ve süratının önemli bir miktarda artacağı, dozunun iyi ayar edilmesi ve verilme zamanının tayininin, uyarıcı etki yapmasına neden olduğu bu koşullar yerine getirilmediği takdirde koşu atının çalışan organlarında uyumsuzluk görüleceği bildirilmiştir (17).

Hidroksiamfetamin (H) 1913 yılında sentez edildiği, amfetamin gibi simpatomimetik bir amin olduğu, ancak 1933 yılında farmakolojik etkilerinin incelenebildiği, kimyasal yapı itibariyle, diğer simpatomimetik aminlere benzerlik gösterdiği, uyku halini ortadan kaldırıp kuvvet, cesaret ve canlılık verme yeteneğinin diğer aminlere göre az olduğu incelenmiştir (18). Bu etken maddenin dolaşım sistemi üzerinde de değişik ve ilginç bir etkisi olduğu, kalp damarlarını genişleterek kalbin daha iyi beslenmesine neden olduğu halde, diğer dolaşım sisteminde ise kan basıncını yükselttiği, bronşları genişleterek solunumu kolaylaştırdığı açıklanmıştır (21).

Metilamfetaminin (M) simpatomimetik bir amin olduğu simpatik sinir uçlarını ve merkezi sinir sisteminin kuvvetli bir şekilde uyardığı, bu etkisinin amfetamin etken maddesinden daha fazla olduğu, solunum merkezini vaso motor merkezi etkisi altında bıraktığı, derece derece olmak üzere kan basıncını daima yüksek tutucu etkisi bulunduğu, solunumu kolaylaştırdığı ve düzelttiği bildirilmiştir (2). Ağız yolu ile verildiğinde de etkili olduğu, uyku halini ortadan kaldırıp koşu atına canlılık verdiği, zorlayıcı etkiler

bir yana atta gözlenen etkisi, dozun çok fazla artırılmasıyla korku ve çekingenliğin oluşmasına neden olduğu, iyi doze edildiğinde ilacın etkisi altında bulunan at kalp duruncaya dek, dört nala koştuğu çok fazla dozun kas ve damarlarda kopmalar oluşturabileceği açıklanmıştır (3)

Efedrin (E), efedra vulgaris adlı bir bitkiden elde edilen bir alkaloid olduğu, 5000 yıl önce Çin'de astım hastalığının iyileştirilmesinde kullanıldığı, daha çok kan damarlarının genişletilmesini sağlayan efedrinin diğer etken maddelere göre (A-H-M) kalp üzerine etkisinin az olduğu medulla spinalisi etkilediği, merkezi sinir sistemini uyardığı atlarda bundan dolayı doping maddesi olarak kullanıldığı, koşu atının koşu yeteneğini, bronşları genişletmesi sonucu arttırdığı bildirilmiştir (3).

Kısıraklardan sonda ile idrar alma tekniği tarif edilmiştir (1).

Atın üreme organına yerleştirilen plastik bir torbanın, plastik bir boru ile toplama şişelerine bağlanarak sonda kullanmadan fakat atın, tamamen kendi isteğine bağlı olarak her saatte verebileceği idrar örneklerinin ayrı ayrı kaplarda toplanabileceği tarif edilmiştir (4).

Koşu atlarından yarıştan sonra veya yarıştan önce polietilenden yapılmış bir torba, idrar verme organına takılmak suretiyle idrar alınabileceği bildirilmiştir (5).

Koşu atından, salya salgısını artırmak suretiyle, salya almak için, glasiyal asetik asidin suda çözünmüş % 0,5 ve % 1 çözeltilerinin kullanıldığı bildirilmiştir (17, 25).

Kullandığımız etken maddeleri (A-H-M-E) içermek üzere 10 adet amfetamin grubu etken maddelerin at idrarına katıldığı, idrarın etken maddeler yönünden muayene edildiği, sonuçların değerlendirildiği izah edilmiştir (19).

İdrardan etken maddeleri ayırmak için, direkt ekstraksiyon metodu kullanılarak eriticide emülsiyon oluşmasına engel olunabileceği incelenmiştir (17).

At idrarını, kendi eksenini etrafında dönen silindir şeklinde bir ayırma hunisi içinde eriticilerle çalkalamak suretiyle, eriticilerde emülsiyon oluşmadan, etken maddeleri ayırmanın mümkün olabileceği bildirilmiştir (8).

İdrarda dahil olmak suretiyle vücut sıvılarından etken maddeleri ayırmak için, anılan bu maddelerin derişik amonyum sülfat çözeltisi ile temizlenebileceği, böylece eriticide emülsiyon oluşmasına engel olunabileceği önerilmiştir (24).

İdrardan doping maddelerini ayırmak için, içinde idrar ve eritici bulunan ayırma hunilerini kendi eksenini etrafında döndüren bir aletin kullanılabileceği anlatılmıştır (22).

İdrar ve salya içindeki doping etkisine haiz maddelerin ayrılmasını temin için, eritici olarak kloroform metanol (9+1) karışımı (17), sadece kloroform (15) kullanılabileceği, etken maddeleri taşıyan eritici kalıntısının kağıt kromatogramlara geçirilmesini kolaylaştırılacak bir yöntem geliştirilmiş olduğu bildirilmiştir (10).

Alkaloidleri Rf değerlerine göre ayırmak için, değişik inkişaf çözeltileri kullanılabileceğini incelemiştir (11).

Etken maddeleri ayırmak için, assendes kağıt kromatografi metodunda suda eritilmiş % 5'lik sodyum dihidrojen sitrat çözeltisi ile ıslatılmış ve kurutulmuş kromatogramlar kullanıldığı, böylece (A-H-M-E) etken maddelerde dahil olmak üzere 400 yakın alkaloidleri, Rf değerleri, ÜV'de verdikleri renkli tepkimeler, renkli püskürme araçları ve mikro kristal testlerle birbirlerinden ayrılabilceği bildirilmiştir (9).

M A T E R Y A L V E M E T O D

Araştırmanın düzenli bir şekilde yürütülmesi için latin kare yöntemi kullanılmış; bunun için de dört adet kısrağ, dört etken madde Amfetamin (A), Hidroksiamfetamin (H), Metilamfetamin (M), Efedrin (E)'in suda eriyen tuzları kullanılmıştır. Etken maddelerin saf şekilleri (E. Merck AG. D. Armstat and Merck Rahway N.J. U.S.A.)'dan temin edilmiştir.

(A sülfat, (H) bromit, (M) hidroklorit ve (E) hidrokloritin 400 miligram miktarları sterilize edilmiş arı su içinde eritilerek, şırınga edilecek çözeltiler hazırlanmıştır (2). (Tablo : 1)

Bu çözeltiler her kısrağa ayrı deri altı yolla 15-20 dakikalık aralıklarla şırınga edilmiştir. Bir kısrağtan bir etken madde için, uygun aralıklarla sonda kullanmak suretiyle 40 adet olmak üzere

dört kısıraktan toplam 160 adet idrar örnekleri sonda kullanmak suretiyle alınmıştır. Her etken madde dört kısıraktan ayrı ayrı denendiğinden, toplam olarak araştırmanın bu kısmında $160 \times 4 = 640$ idrar örneği alınmıştır. Bunların muayenesi esnasında kısıraklar dinlenmeğe terkedilmişlerdir. Etken madde çözeltileri yine deri altı yolla kısıraklara şırınga edilmiştir. Şırıngadan hemen sonra koşturularak güç sarfetmeleri sağlanmış, idrar alınma zamanları, güç sarfetmeden alınan idrar örneklerinin muayene sonuçları dikkate alınarak seçilmiştir. Güç sarfetmiş kısırakların herbirinden her etken madde için 10 adet olmak üzere, dört kısıraktan 40 adet idrar örnekleri toplanmıştır. Bir etken madde dört kısıraktan ayrı ayrı denendiğinden $40 \times 4 = 160$ adet idrar örneği alınmıştır. Deri altı şırıngadan sonra güç sarfetmiş güç sarfetmemiş kısıraklardan toplam 800 adet idrar örnekleri alınmıştır.

Etken maddelerin hazırlanmış çözeltileri 15-20 dakikalık aralıklarla güç sarfetmemiş kısıraklara ayrı ayrı olmak üzere kasıci şırınga edilmiştir. Bir kısıraktan, bir etken madde için uygun aralıklarla 30 adet olmak üzere dört kısıraktan 120 adet idrar örnekleri toplanmıştır. Her etken madde her kısıraktan ayrı denendiğinden araştırmanın bu kısmında 480 adet idrar örnekleri toplanmıştır.

Kas içi şırıngadan sonra, kısıraklar koşturularak güç sarfetmeleri temin edilmiş her etken madde için 30 adet olmak üzere, dört adet güç sarfetmiş kısıraktan $30 \times 4 = 120$ adet idrar örnekleri alınmıştır. Her etken madde, kısıraklarda ayrı ayrı denendiğinden toplam 480 adet idrar örnekleri alınmıştır. Etken madde çözeltilerinin kas içi şırıngadan sonra güç sarfetmemiş ve güç sarfetmiş kısıraklardan toplam olarak $480 + 480 = 960$ adet idrar örnekleri toplanmıştır.

Etken maddelerin çözeltileri güç sarfetmemiş dört adet kısıraktan ayrı ayrı olmak üzere 20, 25 dakikalık aralıklarla deri altı yolla şırınga edilmiştir. Salya örneklerinin alınma zamanları etken maddelerin idrar örneklerinde çıkış ve kayboluş zamanları dikkate alınarak özenle seçilmiştir. Güç sarfetmemiş kısırakların herbirinden bir etken madde için olmak üzere 40 adet salya örnekleri Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı Salya Alma Yönetmeliğine uygun olarak 150 ml. % 1'lik glasiyal asetik asit çözeltisi kullanılarak alınmıştır (16). Her etken madde her kısıraktan ayrı ayrı denendiğinden

den toplam olarak araştırmanın bu bölümünde güç sarfetmemiş kısıraklardan $40 \times 4 = 160$ adet salya örnekleri alınmıştır. Yukarıdaki işlem, güç sarfetmiş kısıraklara da aynen uygulanarak, 4 adet kısıraktan 4 etken madde için toplam olarak 160 adet salya örnekleri alınmıştır.

Etken maddelerin çözeltileri, her kısırağa ayrı ayrı olmak üzere kas içi şırınga edilmiş; deri altı şırıngadaki uygulama tamamen esas alınarak güç sarfetmemiş kısıraklardan 160, güç sarfetmiş kısıraklardan 160 adet olmak üzere toplam 320 adet salya örnekleri alınmıştır.

Buna göre bu araştırmada 1760 adet idrar 100 Ml. miktarında olmak üzere, 640 adet de salya örnekleri alınmıştır.

İdrar ve salya örneklerinin içinden etken maddelerin çıkarılmasını sağlayacak ekstraksiyon temizleme işleminde tarafımızdan modifiye edilmiş direkt ekstraksiyon metodu kullanılmıştır (17). Bu metotta kullanılan cam alet çok karmaşık olduğundan, aletin çalışma ilkesi değişmemek koşulu ile, daha basit hale getirilmiştir. Kloroformun idrar ve salya örneklerini, damlalar halinde yıkaması; sonra kloroformun süzülmesi, santrüfuj tüpünün dibinde, vakum ve su banyosu yardımıyla, yoğunlaştırılması tek bir camdan yapılmış alette toplanmıştır. Türkiye'nin koşullarına uygun olarak bu alet kısımlara ayrılarak daha basit hale getirilmiştir. Şöyle ki, kloroformu taşıyan 100 Ml.'lik ayırma hunisi, idrar ve salyayı taşıyan 100 Ml. kapasiteli ve 85 cm. uzunluğunda bir büret; ayırma hunisindeki kloroform düzenli damlalar halinde büret içinde bulunan idrar ve salyayı yıkar, büretin dibinde toplanan kloroform damlalar halinde, içerisinde sodyum sülfat anhidri bulunan bir cam huni yardımıyla, porselen kapsüle geçirilir. Etken maddeleri taşıyacak olan kloroform santrüfuj tüpünün dibinde sıcak hava ve su banyosu yardımıyla yoğunlaştırılır.

Çalışmamızda 100 Ml. idrar kullanılmıştır. İdrar ve salya örneklerinin pH'sı, derişik amonyum hidroksit çözeltisi ve pH metre aleti yardımıyla 10'a ayar edilmiştir (17). Tarafımızdan değiştirilmiş direkt ekstraksiyon metodu kullanılarak idrar ve salya örnekleri içindeki etken maddelerin çıkarılması sağlanmıştır. pH'sı ayar edilen idrar ve salya örnekleri büretin içine doldurulur. Ayırma hunisindeki kloroform metanol karışımı (9+1), büret içerisindeki

pH'sı ayar edilmiş, idrar ve salya örnekleri üzerine düzenli damlalar halinde damlatılır. Kloroform damlaları idrar ve salya örnekleri üzerine çarptığında daha küçük damlalara ayrılarak temas yüzeyi genişlemiş olarak, idrar ve salyayı etken maddeler yönünden yıkar; emülsiyon hiçbir zaman oluşmaz. Büretin musluğu kloroform damlalarına eşdeğerde olmak üzere, açık bırakılır. Buradan kloroform damlalar halinde, içinde susuz sodyum sülfat bulunan, bir cam huni yardımıyla, porselen kapsülde toplanır. Kloroform ısı ayarlı su banyosunda, hava tabancası yardımıyla 10 Ml. kalıncaya dek uçurulur. 10 Ml. kloroform su banyosu ve sıcak hava kullanılarak, santrüfuj tüpünün dibinde yoğunlaştırılır (9). Santrüfuj tüpünün içerisine 0,5 Ml. miktarında N/10 tuz asidi çözeltisi konur. Ucu ince hale getirilmiş bir bağıtle karıştırılarak eritici kalıntısının erimesi sağlanır (17). Mikro pipet kullanılarak, santrüfuj tüpünün içindeki çözelti üç nokta halinde hiçbir işleme tabi tutulmamış kağıt kromatogramlara damlatılır (17). Aynı kağıt kromatogramlara % 1'lik glasiyal asetik asit çözeltisinde hazırlanmış etken maddelerin (A-H-M-E) suda eriyen tuzlarının saf şekilleri 50 gama miktarında olmak üzere şahit olarak damlatılır (8). N. Butanol + Glasiyal asetik asit + Arı su (4+1+5) inkişaf çözeltisi içinde (16), kağıt kromatogramlar tam 11 saat bırakılır (17). Bu sürenin sonunda kağıt kromatogramlar nötr camdan yapılmış özel kavanozların içinden çıkarılır. Süzgeç kağıdı içinde suyu alınır, sıcak hava veren hava tabancası ile kurutulur. Kurutulan kromatogramlar 250 milimikron dalga uzunluğundaki Ultraviyole (UV) lambası altında, şahitlerle birlikte incelenir. Absorbe edilmiş lekeler varsa, kurşun kalemle işaretlenir. Kromatogramlar üzerindeki etken maddelerin (A-H-M-E) suda eriyen tuzlarının saf şekilleri si ile belirgin hale getirilir. (Tablo : II).

B U L G U L A R

Latin kare yöntemi uygulanarak, etken maddelerin suda eriyen tuzlarının yüksek dozları, dört adet kısrağa ayrı ayrı olmak üzere, derialtı ve kasiçi yolla şırınga edilmiş, her bir etken madde dört adet kısrakta ayrı ayrı denenmiştir. Şırıngadan sonra güç sarfetmemiş ve güç sarfetmiş kısraklardan alınan idrar ve salya örneklerinde anılan etken maddeler aranarak, bunların idrar ve salya örneklerinde çıkış ve kaybolmuş zamanları saptanmıştır.

1) Derialtı şırıngadan sonra güç sarfetmemiş kısıraklardan alınan idrar örneklerinde etken maddelerin aranması :

Şırıngadan 15 dakika sonra alınan idrar örneklerinden etken maddelerin hiçbirisine rastlanmamıştır.

Şırıngadan 30 dakika sonra (A-H-M) etken maddeler için alınan $3 \times 4 = 12$ adet idrar örneğinin 9 adedinde olumlu 3 adedinde olumsuz tepkime, (E) etken maddesi için alınan idrar örneklerinin 2'sinde olumsuz tepkime, 2'sinde olumlu tepkime saptanmıştır.

Şırıngadan 45 dakika sonra alınan idrar örneklerinin hepsinde etken maddeler saptanmıştır. Şu halde, çıkış zamanı şırıngadan sonraki 45 inci dakikadır. Tepkimenin şiddeti, şırıngadan 1,5-2 saat sonra alınan idrar örneklerinde en yüksek düzeyi bulmuştur.

Şırıngadan 29 saat sonra, alınan idrar örneklerinin hepsinde etken maddeler saptanmıştır.

Şırıngadan 31 saat sonra (A) ve (M) etken maddeleri için alınan idrar örneklerinin hepsinde olumlu tepkime, (H) etken maddesi için idrar örneklerinin 1'inde olumlu, 3'ünde olumsuz, (E) etken maddesi için alınan idrar örneklerinin 2'sinde olumlu, 2'sinde olumsuz tepkime saptanmıştır.

Şırıngadan 33 saat sonra, alınan idrar örneklerinde etken maddelere rastlanmamıştır. Şu halde kayboluş zamanı şırıngadan sonraki 33'üncü saattir.

2) Derialtı şırıngadan sonra güç sarfetmiş kısıraklardan alınan idrar örneklerinde etken maddelerin aranması :

Şırıngadan 15 dakika sonra alınan idrar örneklerinde etken maddelere rastlanmamıştır.

Şırıngadan 25 dakika sonra (A-E) ve (M) etken maddeleri için alınan idrar örneklerinde 9'unda olumlu 3'ünde olumsuz; (B) etken maddesi için alınan idrar örneklerin hepsinde olumlu tepkime saptanmıştır.

Şırıngadan 40 dakika sonra alınan idrar örneklerin hepsinde olumlu tepkime saptanmıştır. Şu halde etken maddelerin çıkış zamanı şırıngadan sonraki 40'ıncı dakikadır.

Şıringadan 28,5 saat sonra alınan idrar örneklerinin hepsinde etken maddeler saptanmıştır.

Şıringadan 29 saat sonra (A-H-M) etken maddeleri için alınan idrar örneklerinin 6'sında olumlu 6'sında olumsuz; (E) etken maddesi için alınan idrar örneklerin 1'inde olumlu 3'ünde olumsuz tepkime saptanmıştır.

Şıringadan 29,5 saat sonra alınan idrar örneklerinde etken maddelere rastlanmamıştır. Şu halde etken maddelerin kayboluş zamanı şıringadan sonraki 29,5'uncu saattir.

3) Kas içi şıringadan sonra güç sarfetmemiş kısıraıklardan alınan idrar örneklerinde etken maddelerin aranması :

Şıringadan 25 dakika sonra alınan idrar örneklerinde etken maddelere rastlanmamıştır.

Şıringadan 30 dakika sonra (A) etken maddesi için alınan idrar örneklerinin tamamında olumlu (M) etken maddesi için alınan idrar örneklerinin 3'ünde olumlu 1'inde olumsuz; (H) etken maddesi için alınan idrar örneklerinin 2'sinde olumlu 2'sinde olumsuz; (E) etken maddesi için alınan idrar örneklerin 1'inde olumlu 3'ünde olumsuz tepkime saptanmıştır.

Şıringadan 40 dakika sonra alınan idrar örneklerinin hepsinde etken maddeler saptanmıştır. Şu halde çıkış zamanı şıringadan sonraki 40'ıncı dakikadır. Tepkimenin şiddeti şıringadan 1 saat sonra alınan idrar örneklerinde en yüksek düzeyi bulmuştur.

Şıringadan 28,5 saat sonra alınan idrar örneklerinin hepsinde etken maddeler saptanmıştır.

Şıringadan 30 saat sonra (E) etken maddesi için alınan idrar örneklerinin tamamında olumlu; (H) etken maddesi için alınan idrar örneklerinin 2'sinde olumlu 2'sinde olumsuz; (M) ve (A) etken maddeleri için alınan idrar örneklerinin 2'sinde olumlu 6'sında olumsuz tepkime saptanmıştır.

Şıringadan 31 saat sonra alınan idrar örneklerinde etken maddelere rastlanmamıştır. Şu halde kayboluş zamanı şıringadan sonraki 31'inci saattir.

4) Kas içi şırıngadan sonra güç sarfetmiş kısıraklardan alınan idrar örneklerinde etken maddelerin aranması :

Şırıngadan 20 dakika sonra alınan idrar örneklerinde etken maddelere rastlanmamıştır.

Şırıngadan 25 dakika sonra (E) etken maddesi için idrar örneklerinin hepsinde olumsuz tepkime; (H) etken maddesi için alınan idrar örneklerinin 3'ünde olumsuz 1'inde olumlu; (M) etken maddesi için alınan idrar örneklerin 2'sinde olumlu 2'sinde olumsuz; (A) etken maddesi için alınan idrar örneklerin 1'inde olumsuz 3'ünde olumlu tepkime saptanmıştır.

Şırıngadan 30 dakika sonra alınan idrar örneklerinin hepsinde olumlu tepkime, yani etken maddeler saptanmıştır. Tepkimenin şiddeti şırıngadan 1 saat sonra alınan idrar örneklerinde en yüksek düzeyi bulmuştur. Şu halde çıkış zamanı şırıngadan sonraki 30'uncu dakikadır.

Şırıngadan 28,5 saat sonra alınan idrar örneklerinde etken maddeler saptanmıştır.

Şırıngadan 29 saat sonra (A-H-M) etken maddeler için alınan idrar örneklerinin 9'unda olumlu 3'ünde olumsuz; (E) etken maddesi için alınan idrar örneklerinin 2'sinde olumlu 2 olumsuz tepkime saptanmıştır.

Şırıngadan 29,5 saat sonra alınan idrar örneklerinde etken maddelere rastlanmamıştır. Şu halde kayboluş zamanı şırıngadan sonraki 29,5 uncu saattir.

5) Derialtı şırıngadan sonra güç sarfetmemiş kısıraklardan alınan salya örneklerinde etken maddelerin aranması :

Şırıngadan 30 dakika sonra (A) etken maddesi için alınan salya örneklerinin 2'sinde olumsuz 2'sinde olumlu fakat zayıf; (M) etken maddesi için alınan salya örneklerinin 3'ünde olumsuz 1'sinde zayıf; (H-E) maddeleri için alınan salya örneklerinde etken maddelere rastlanmamıştır.

Şırıngadan 40 dakika sonra alınan salya örneklerinin tamamında etken maddelere rastlanmıştır. Tepkimenin şiddeti şırıngadan 2 saat sonra alınan salya örneklerinde en yüksek düzeyi bulmuştur. Şu halde çıkış zamanı şırıngadan sonraki 45'inci dakikadır.

Şırıngadan 22 saat sonra alınan salya örneklerinde etken maddelerin hepsi saptanmıştır.

Şırıngadan 23 saat sonra etken maddeler için alınan salya örneklerinde olumlu zayıf ve olumsuz tepkimeler saptanmıştır.

Şırıngadan 24 saat sonra alınan salya örneklerinde etken maddelere rastlanmamıştır. Şu halde kayboluş zamanı şırıngadan sonraki 34'üncü saattir.

6) Derialtı şırıngadan sonra güç sarfetmiş kısıraklardan alınan salya örneklerinde etken maddelerin aranması :

Şırıngadan 30 dakika sonra (A) etken maddesi için alınan salya örneklerinin 2'sinde olumlu fakat zayıf, 2'sinde olumsuz; (M) etken maddesi için alınan salya örneklerinin 1'inde olumlu fakat zayıf 3'ünde olumsuz; (H-E) etken maddeleri için alınan salya örneklerinin tamamında olumsuz tepkime saptanmıştır.

Şırıngadan 45 dakika sonra alınan salya örneklerinin tamamında etken maddelere rastlanmıştır. Tepkimenin şiddeti şırıngadan 2 saat sonra alınan salya örneklerinde en yüksek düzeyi bulmuştur. Buna göre çıkış zamanı şırıngadan sonraki 45'inci dakikadır.

Şırıngadan 22 saat sonra alınan salya örneklerinde etken maddelerin tamamı saptanmıştır.

Şırıngadan 23 saat sonra alınan olumlu fakat zayıf ve olumsuz tepkimeler saptanmıştır.

Şırıngadan 24 saat sonra alınan salya örneklerinde etken maddelere rastlanmamıştır. Şu halde kayboluş zamanı şırıngadan sonraki 24'üncü saattir.

7) Kasiçi şırıngadan sonra güç sarfetmemiş kısıraklardan alınan salya örneklerinde etken maddelerin aranması :

Şırıngadan 30 dakika sonra alınan salya örneklerinde etken maddelere rastlanmamıştır.

Şırıngadan 45 dakika sonra alınan salya örneklerinin tamamında etken maddelere rastlanmıştır. Tepkimenin şiddeti şırıngadan 1,5-2 saat sonra alınan salya örneklerinde en yüksek düzeyi bulmuştur. Buna göre çıkış zamanı şırıngadan sonraki 45'inci dakikadır.

Şırıngadan 23 saat sonra alınan salya örneklerinde etken maddelerin tamamı saptanmıştır.

Şırıngadan 24 saat sonra alınan salya örneklerinin 11 adedinde olumsuz diğerlerinde de zayıf tepkime saptanmıştır. Şu halde kayboluş saati, şırıngadan sonraki 24'üncü saat sayılabilir.

8) Kasiçi şırıngadan sonra güç sarfetmiş kısıraklardan alınan salya örneklerinde etken maddelerin aranması :

Şırıngadan 30 dakika sonra alınan salya örneklerinin 12'sinde olumsuz, diğerlerinde zayıf tepkime saptanmıştır.

Şırıngadan 45 dakika sonra alınan salya örneklerinin hepsinde etken maddelere rastlanmıştır. Tepkimenin şiddeti şırıngadan 1,5-2 saat sonra alınan idrar örneklerinde en yüksek düzeyi bulmuştur. Çıkış zamanı şırıngadan sonraki 45'inci dakikadır.

Şırıngadan 22 saat sonra alınan salya örneklerinde olumlu tepkime; 24 saat sonra alınan salya örneklerinde etken maddelere rastlanmamıştır. Buna göre etken maddelerin salyada kayboluş zamanı, şırıngadan sonraki 24'üncü saattir.

T A R T I Ş M A

Araştırmanın sonuçlarına göre, kimyasal yapıları birbirine benzeyen etken maddelerin (A-H-M-E) deriatlı kasiçi şırıngadan sonra, güç sarfetmiş ve güç sarfetmemiş kısıraklardan alınan idrar ve salya örneklerinde, anılan etken maddeleri, şırıngadan sonraki 40-45'inci dakikada saptamak mümkündür. Etken maddelerin idrar ve salya örneklerinde çıkış zamanı şırıngadan sonraki 40, 45'nci dakikadır.

Etken maddelerin idrarda kayboluş zamanı şırıngadan sonraki 29-31-33'üncü saatlerdir.

Salya örneklerinde ise kaybolmuş zamanı şırıngadan sonraki 24'üncü saattir.

Yapılan bir araştırmada (12), on adet kısırakda 12 adet doping etkisine sahip etken maddelerin tedavi edici dozu kasiçi olarak şırınga edilmiş; şırıngadan 1,5 saat sonra başlamak üzere ve uygun aralıklarla, şırıngadan 24'üncü saate kadar idrar ve salya örnekleri

toplanmıştır. Etken maddeler, idrar ve salya örneklerinde direkt ekstraksiyon metodu kullanılarak ve ince satıh kromatografi yardımıyla, saptanmağa çalışılmıştır. Şırıngadan sonraki 1,5 saatten daha önce idrar ve salya örnekleri alındığına ve bunlarda etken maddelerin saptanıp, saptanmadığına dair bilgi verilmemiştir. Sonuçlar şöyledir: Şırıngadan 1,5 saat sonra alınan idrar ve salya örneğinde etken maddeler saptanmıştır. Yani etken maddelerin idrar ve salya örneklerinde çıkış zamanı şırıngadan sonraki 1,5'uncu saat olduğu saptanmıştır. Şırıngadan sonraki 24'üncü saatte alınan idrar ve salya örneklerinde etken maddelerin bazıları saptanmış, bazıları ise saptanamamıştır. Etken maddelerin kayboluş zamanı şırıngadan sonraki 25'nci saat olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda ise, şırıngadan sonraki 15, 20, 25, 30, 45 ve 60'inci dakikalarda idrar ve salya örnekleri alınmış; şırıngadan sonraki 40-45'inci dakikalarda alınan idrar ve salya örneklerinde zayıf bir tepkimeyle de olsa etken maddelerin tamamı saptanmıştır.

Anılan araştırmada, etken maddelerin tedavi edici dozda kullanılması, idrar örneğinin, analiz için, 20 ml. olarak alınması bunlara ek olarak, etken maddelerin kimyasal yapı ve fizyolojik karakterlerinin değişik olması, çıkış zamanının şırıngadan sonraki 1,5 saat olarak bulunmasına neden olmuştur, kanısındayız. Çalışmamızda ise etken maddeler yüksek dozda kullanılmış ve 100 ml. idrar üzerinde çalışılmıştır. Bunun için de idrar ve salya örneklerinde, etken maddelerin atılışı yüksek olmuştur. Etken maddelerin idrar ve salya örneklerinde, şırıngadan sonraki 30-40-45'inci dakikalarda saptanmasının neden olmuştur, kanısındayız. Şırınga edilen etken maddelerin yüksek dozda kullanılması, kaybolma zamanını idrarda şırıngadan sonraki 29,5-31-33'üncü saate kadar uzatmıştır.

Diğer bir araştırmacı (23), doping etkisine sahip iki adet etken maddeyi, atlara ağız yolu ile vermiştir. Bunlardan birisi şırıngadan 72 saat, diğeri de şırıngadan 21 saat sonra alınan idrar örneklerinde saptanmıştır. Araştırmamızda ise etken maddeler derialtı ve kasiçi tatbik edilmiş, bunların idrar ve salya örneklerinde çıkış ve kayboluş zamanları saptanmıştır. Anılan araştırmada ise kullanılan maddelerin çıkış ve kayboluş zamanları bulunamamıştır.

Diğer bir araştırmada (13), amfetamin tartarat maddesi, tedavi edici dozda, 6 adet kısrağa şırınga edilmiş; kısraklardan uygun

aralıklarla salya ve sonda yardımıyla idrar örnekleri alınmıştır. Şırıngadan sonraki 15'inci dakikada amfetamin etken maddesi idrar ve salyada saptanmıştır. Buna karşın kayboluş zamanı bildirilmemiştir. Araştırmamızda ise, etken maddeler şırıngadan sonraki 15'inci dakikada saptanamamıştır. Şırıngadan sonraki 30-40-45'inci dakikalarda tesbit edilebilmiştir. Bunun nedeninin kullanılan kâğıt kromatografi ileri geldiği kanısındayız. Anılan araştırmada ince satıh kromatografi metodu kullanılmıştır.

Başka bir araştırmada (20), araştırmamızda kullandığımız etken maddelerin dışında, doping etkisine sahip dört etken madde kullanılmıştır. Bunlardan teofillin etken maddesi, tedavi edici dozda, kasiçi şırınga edilmiş; bu etken maddenin, idrar örneğinden çıkış zamanı, şırıngadan sonraki 35'inci dakika, kayboluş zamanı şırıngadan sonraki 24'üncü saat olarak saptanmıştır. Diğer etken maddelerin çıkış ve kayboluş zamanları hakkında bilgi verilmemiştir. Bu sonuçların, araştırmamızda bulduğumuz sonuçlarla bir yakınlaşması olduğu görülmektedir.

Genel olarak, araştırmamızda olduğu gibi, doping etkisine sahip etken maddeleri gruplandırarak, bunların idrar ve salya örneklerinde çıkış ve kayboluş zamanlarının saptanması; at yarışları ile ilgili yasa ve yönetmeliklerin eksikliklerinin tamamlanmasına olanak tanıyacaktır.

Sonda ile idrar örneği almanın kolay bir işlem olmadığı açıklığa kavuşmuştur. Hele yarıştan sonra coşkusu kaybolmamış bir koşu atından sonda ile idrar almak çok güçtür.

Şırıngadan genellikle 1,5-2 saat sonra alınan idrar ve salya örneklerinde etken maddeler yönünden en yüksek tepkime oluşmuştur. Koşu atından doping yönünden muayene için alınacak, idrar ve salya örneklerinin, bu zamana göre ayar edilmesi gerekir. Böylece anılan müddet içinde alınan idrar ve salya örneklerinde etken maddeleri saptamak kolaylığı ortaya konmuştur.

Bu araştırma ile dört etken maddeyi idrar örneklerinde olduğu gibi salya örneklerinde de saptamak mümkün olmuştur. Şu halde salya örneği, doping maddesinin aranmasında idrardan sonra en elverişli vücut sıvısıdır.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu araştırmada, Latin Kare yöntemi uygulanarak, dört baş kısarak, dört adet etken madde kullanılmıştır.

Bu etken maddeler kısıraklara derialtı ve kasiçi yolla şırınga edilmiş, şırıngadan sonra, uygun süreler içinde, güç sarfetmiş ve güç sarfetmemiş kısıraklardan alınan idrar ve salya örneklerinde, etken maddeler aranarak anılan bu maddelerin idrar ve salya örneklerinde çıkış ve kayıboluş zamanları saptanmıştır.

Derialtı şırıngadan sonra güç sarfetmemiş kısıraklardan alınan idrar örneklerinde, etken maddelerin çıkış zamanı şırıngadan sonraki 45'inci dakika, kayıboluş zamanı ise şırıngadan sonraki 33'üncü saattir.

Derialtı şırıngadan sonra güç sarfetmiş kısıraklardan alınan idrar örneklerinde, etken maddelerin hepsinin çıkış zamanı, şırıngadan sonraki 40'inci dakika, kayıboluş zamanı ise şırıngadan sonraki 29,5'uncu saattir.

Kasiçi şırıngadan sonra güç sarfetmemiş kısıraklardan alınan idrar örneklerinde, etken maddelerin hepsinin çıkış zamanı, şırıngadan sonraki 40'inci dakika, kayıboluş zamanı ise şırıngadan sonraki 31'inci saattir.

Kasiçi şırıngadan sonra, güç sarfetmiş kısıraklardan alınan idrar örneklerinde etken maddelerin hepsinin çıkış zamanı, şırıngadan sonraki 30'uncu dakika, kayıboluş zamanı ise şırıngadan sonraki 29,5'uncu saattir.

Genel olarak, etken maddelerin tümünün derialtı, kasiçi şırıngadan sonra, güç sarfetmemiş ve güç sarfetmiş kısıraklardan alınan idrar örneklerinde çıkış zamanı şırıngadan sonraki 30-40-45'inci dakikalar kayıboluş zamanı ise 29,5-31-33'üncü saatlerdir.

Derialtı ve kasiçi şırıngadan sonra, güç sarfetmiş ve güç sarfetmemiş kısıraklardan alınan salya örneklerinde etken maddelerinin tümünün çıkış zamanı, ortaklaşa olarak şırıngadan sonraki 45'inci dakika, kayıboluş zamanı ise, aynı şekilde ortaklaşa olarak şırıngadan sonraki 24'üncü saattir.

Salya örneklerinde, etken maddelerin çıkış ve kayboluş zamanları her dört durumda da aynı olduğu halde, idrar örneklerindeki çıkış ve kayboluş zamanları az da olsa farklılık göstermektedir. (Tablo : 3)

İncelenen etken maddeler gibi, atın sürat, kuvvet, yüreklilik ve coşkusunu değiştiren, ayrı kimyasal yapıya sahip diğer doping maddelerinin, idrar ve salya örneklerinde çıkış, kayboluş ile en yoğun olduğu zamanlarının saptanmasını, yarışlarla ilgili yürürlükteki yasa ve yönetmeliklerin noksanlıklarının, ortaya konulabileceği gibi yeni yasa ve yönetmeliklerin hazırlanmasında da faydalı olabileceğinde bu gibi araştırmaların yapılmasını önemini belirtmek isteriz.

Ö Z E T

Latin Kare yöntemi kullanılarak, doping etkisine sahip Amfetamin, Hidroksiamfetamin, Metilamfetamin, Efedrin (A-H-M-E) etken maddelerin suda eriyen tuzların yüksek dozları derialtı ve kasiçi yolla, dört kısrağa, her etken madde her kısrağta ayrı ayrı denemek koşuluyla şırınga edilmiş, bu kısraklardan, şırıngadan sonra, elverişli aralıklarla sonda ile idrar ayrıca salya örnekleri alınmıştır. Güç sarfetmiş ve güç sarfetmemiş kısraklardan alınan idrar ve salya örneklerinde, etken maddeler aranarak, bunların çıkış ve kayboluş zamanları saptanmıştır.

Modifiye edilmiş direkt ekstraksiyon metodu kullanılarak idrar ve salya örneklerinin pH'sı ayar edildikten sonra, kloroformla yıkanmış, kloroform uçurularak tüpün dibinde yoğunlaştırılarak elde edilen eritici kalıntısı, kağıt kromatogramlara şahidi ile birlikte geçirilmiştir. Assendes kağıt kromatografi metodu kullanılmıştır. Kromatogramlar ultraviole lambası (UV) altında muayene edilerek ve renkli püskürtme araçları uygulanarak, etken maddeler için tepkimeler saptanmıştır.

Bu muayeneler sonucu, etken maddelerin idrar ve salya örneklerinde çıkış ve kayboluş zamanları saptanmıştır.

Genel bir anlatım ile etken maddelerin derialtı ve kasiçi şırıngadan sonra, güç sarfetmiş ve güç sarfetmemiş kısraklardan alınan idrar örneklerinde etken maddelerin çıkış zamanı şırıngadan sonraki 30-40-45'inci dakikalardır. Kayboluş zamanı 29,5-31-33 saatlerdir.

Salya örneklerinde etken maddelerin çıkış zamanı şiringadan sonraki 40'inci dakika, kayboluş zamanı ise şiringadan sonraki 24 üncü saat olduğu saptanmıştır.

S U M M A R Y

Water soluble high doses of the agent substances, Amphetamine, Hydroxyamphetamine, Methylamphetamine, Ephedrine (A-H-M-E) having four doping effect, have been injected to four mares intramuscularly and subcutaneously by latin square method and each agent substance has been tested in each mare individually. Following the injections, urine samples collected with catheter and saliva samples have been collected with intervals. The agent substance have been searched for the urine and saliva samples taken from the forced and nonforced mares in and the excretion and disappearance period of these agents have been determined in these urine and saliva samples.

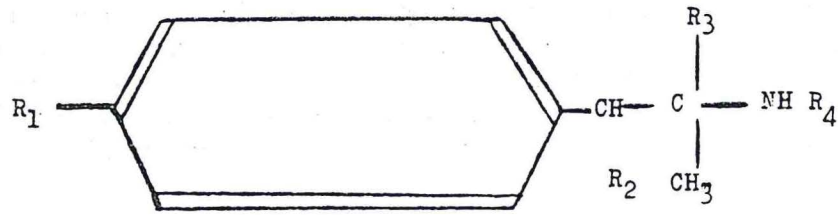
After adjusting the pH of urine and saliva samples by the modified method, they are washed with chloroform and the solvent remnant obtained after evaporating the chloroform and having them densed at the bottom of the tube have been recorded on the paper chromatograms with their witnesses. For recoding the ascendes paper chromatography method has been used. Chromatograms have been examined under ultraviolet lamp (UV) and by using colored reagents the reacting agent substances have been determined.

Following these studies the excretion and disappearance period of the agent substances have been determined in urine and saliva samples.

Briefly, following the injection of the agent substances intramuscularly and subcutaneously in the urine samples collected from forced and nonforced mares, the excretion started 30-40-45 minutes and disappeared 29,5-31-33 hours following injection.

In the saliva samples, the excretion started after 40 minutes and disappeared after 24 hours following injection.

TABLO : I
AMFETAMİNLERİN GENEL YAPILARI (18)



Etken Maddeler	R_1	R_2	R_3	R_4
Amfetamin	H	H	H	H
Hidroksiamfetamin	OH	H	H	H
Metilamfetamin	H	H	H	CH_3
Efedrin	H	OH	H	CH_3

TABLO : II
KULLANILAN AYIRAÇLAR

Etken Maddeler	İnkişaf Çizeltesi	U.V. Analiz	Rf Değeri	Np	DNA	BCG
Amfetamin	Bu-Ac	M	0.66 0.72	Mr	Kr	Mv
Hidroksi-amfetamin	Bu-Ac	Mr	0.62- 0.67	Mr	Kr-Mr	Mv
Metilamfetamin	Bu-Ac	M	0.65- 0.67	Mr	Sr	Mv
Efenrin	Bu-Ac	M	0.62 0.72	Mr	Sr	Mv

NP : Ninhidrin-Pyridine :
Ninhidrin 0,2 Gr.
Isopropal 80 Ml.
Pyridine 20 Ml.
Kromatogramlara püskürtülür.
Sonra Kromatogramla 90 -
110°C derecede 10-30 dakika
bekletilir.

DNA : Diazetiezed-P.Nitroanilin
P. Nitroanalin 0.25 Gr.
N. Tuz asidi 25 Ml.
Etil alkol 25 Ml.
Kullanılmadan önce 0.5 Gr.
sodyum nitrat eklenir. Kroma-
togramlara püskürtülür. Kuru-
tutulur. Alkalik sodyum hidroksit
püskürtülür.

BCG : Bromcresolgreen
Bromcresolgreen 0.04 Gr.
Ethanol 100 Ml.
Kromatogramlara püskürtüle-
rek kullanılır.

ETKEN MADDELERİN AYIRAÇLARLA VERDİKLERİ T E P K İ M E L E R

Kısaltmalar : analiz 254 milimikron dalga uzunluğunda

Uv : Ultraviyole Kr : Kırmızı
M : Menfi Mv : Mavi
Mr : Mor
Sr : Sarı

TABLO : III
Etken Maddelerin İdrar ve Salya Örneklerinde ÇIKIŞ ve KAYBOLUŞ Zamanları

DERİALTI Şiringadan sonra GÜÇ SARFETMEMİŞ kısıraklardan alınan İDRAR örneklerinde etken maddelerin... ŞİRINGAMAN SONRAKI			DERİALTI Şiringadan sonra GÜÇ SARFETMİŞ kısıraklardan alınan İDRAR örneklerinde etken maddelerin... ŞİRINGAMAN SONRAKI			KASIÇI Şiringadan sonra GÜÇ SARFETMEMİŞ kısıraklardan alınan İDRAR örneklerinde etken maddelerin... ŞİRINGAMAN SONRAKI			KASIÇI Şiringadan sonra GÜÇ SARFETMİŞ kısıraklardan alınan İDRAR örneklerinde etken maddelerin... ŞİRINGAMAN SONRAKI			DERİALTI Şiringadan sonra GÜÇ SARFETMEMİŞ kısıraklardan alınan SALYA örneklerinde etken maddelerin... ŞİRINGAMAN SONRAKI			KASIÇI Şiringadan sonra GÜÇ SARFETMEMİŞ kısıraklardan alınan SALYA örneklerinde etken maddelerin... ŞİRINGAMAN SONRAKI			KASIÇI Şiringadan sonra GÜÇ SARFETMİŞ kısıraklardan alınan SALYA örneklerinde etken maddelerin... ŞİRINGAMAN SONRAKI		
ÇIKIŞ ZAMANI	EN ŞİDDETLİ TEPKİME	KAYBOLUŞ ZAMANI	ÇIKIŞ ZAMANI	EN ŞİDDETLİ TEPKİME	KAYBOLUŞ ZAMANI	ÇIKIŞ ZAMANI	EN ŞİDDETLİ TEPKİME	KAYBOLUŞ ZAMANI	ÇIKIŞ ZAMANI	EN ŞİDDETLİ TEPKİME	KAYBOLUŞ ZAMANI	ÇIKIŞ ZAMANI	EN ŞİDDETLİ TEPKİME	KAYBOLUŞ ZAMANI	ÇIKIŞ ZAMANI	EN ŞİDDETLİ TEPKİME	KAYBOLUŞ ZAMANI	ÇIKIŞ ZAMANI	EN ŞİDDETLİ TEPKİME	KAYBOLUŞ ZAMANI
45 Dk.	1. S. 30 Dk.	33 S.	40 Dk.	1. S.	29 S. 30 Dk.	40 Dk.	1. S.	31 S.	30 Dk.	60 Dk.	29 S. 30 Dk.	45 Dk.	2 S.	24 S.	45 Dk.	2 S.	24 S.	45 Dk.	2 S.	24 S.

LİTERATÜR

- 1 — BALCH, C.C. and BARTLETT (1951) : Apparatus for the separate collection or urine from horses. J. Agric. Sci., 41: 98.
- 2 — BRANDER, G.C. and D.M. PUGH (1971) : Veterinary Applied Pharmacology and Therapeutics. The Willams-Wilking Company, Baltimore London, p. 273-276.
- 3 — BUSCHER (1974) : Horse Doping., 5-32 Hannover.
- 4 — CLABBY, J. et al. (1963) : A urine collecting stall for horses. Lab. Pract., 15: 559-560.
- 5 — CLARKE, E.G.C. (1969) : Dope and Doping. Tenth Annual Scientific Meeting. London.
- 6 — CLARKE, E.G.C. and MYRA L. CLARKE, (1975) : Veterinary Toxicology, Bailliere Tindal., p. 388-392.
- 7 — CLARKE, E.G.C. (1962) : The Doping of Racehorses. Med. Leg, J., XXX. 180-193.
- 8 — CLARKE, E.G.C. and S. KALAYCI (1963) : A Simple Rotary Extracter. Lab. Pract. 6: 1095.
- 9 — CLARKE, E.G.C. (1962) : The Isolation and Identification of Alkaloids. Interscience, John Wiley Sons., London, New York p. 34-36, 44-171.
- 10 — CLARKE, E.G.C. and SHEILA A. POWDER (1964) : Continuous Flow Spotting for Paper Chromatogram. Nature, 202: 795.
- 11 — CURRY A.S. and H. POWELL (1954) : Paper Chromatographic Examination of the Alkaloid Extract in Toxicology, Nature, 173: 1143.
- 12 — DEBACKERE, M. and L. LARUELLE (1968) : Isolation Detection and Identification of some Alkaloids or Alkaloid-Like Substances in Biological specimens from Horses with Special Reference to Doping. J. Chromatog. 35: 234.
- 13 — DEBACKERE, M. and A.M. MASSART LEEN (1965) : Identification and Metabolism of Amphetamine in Some Domestic Animals. Arch. Int. Pharmacodyn., 155: 450.
- 14 — Etlik Vet) Kontrol Araştırma Ens. (1970, 1980) : Merkez Doping Lab. Yıllık Çalışma Raporları.
- 15 — FOX, R.H. (1969) : «Paper Chromatography» p. 31-42, E.G.C. Clarke (ed), Isolation and Identification of Drugs in Pharmaceutical Body Fluids and Post-mortem Material., The Pharmaceutical Press., London.

- 16 — Tarım ve Orman Bakanlığı (1966) : İdrar-Salya Alma Yönetmeliği., Mühürdar Matbaası., Ankara.
- 17 — HARRY, P. (1964) : Methods for Collection and Analysis of Horse saliva and urine for detection of Drugs., New York Racing. Comm. Lab, 148-07 Hillside Avenue, Jamaica. 35. U.S.A.
- 18 — HİROM, P.C. and R.L. SMITH (1975) : «The Metabolism of Drugs» p. 979-997, E.G.C. Clarke (ed), Isolation and Identification of Drugs in Pharmaceuticals Body Fluids and Posu-Mortem Material, The Pharmaceutical Press., London.
- 19 — KALAYCI, S. ve F. ALP (1967) : Amfetamin ve Benzeri Maddeleri Kâğıt Kromatografisi Yardımıyla Birbirinden Ayırmağa Yarayacak Ayıraçların Bulunması. Etlik Vet. Bak. Ens. Derg. 3: 25,
- 20 — MACKAY, A. (1961) : Some Effects of Drugs in the Doping of Racehorses., The New Zealand Vet. J., 9: 129.
- 21 — MEYER JONES, L. (1957) : Veterinary Pharmacology and Therapeutics. The Iowa State College Press Ames, Iowa USA P: 251-268.
- 22 — MOSS, M.S. (1965) : Rapit Screenin Methods for Drugs in Body Fluids. Kişisel ilişki, Forencis Lab. Eouine Research Station Newmarket. Eng.
- 23 — NICHOLSON, J.D. (1967) : The urinary Excretion of Phenobarbitone and Pento barbitone in the horse., Biochem. J., 17: 1.
- 24 — NICKOLLS, J.C. (1956) : The Scientific Investigation of Crime. Butterworth Co. Publishers LTD London., p. 380-386.
- 25 — STEWART, J.D. (1951) : The Detection of Doping in the Race-Horses. Austr. Vet. J., 27: 153.