

278992

**T. C.**  
**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ FAKÜLTESİ**

**Allerjik Aşıların Uzun Tesirli  
Preparat Haline Getirilmesi Yöntemleri  
Üzerinde Çalışma**

**Galenik Farmasi Programı**

**Bilim Uzmanlığı Tezi**

**Ecz. Uğur Soyal**

**Ankara - 1974**

T.C.

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ FAKÜLTESİ

ALLERJİK AŞILARIN UZUN TESİRLİ  
PREPARAT HALİNE GETİRİLMESİ YÖNTEMLERİ  
ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR

GALENİK FARMASİ PROGRAMI

BİRİM UZMANLIĞI TEZİ

Ecz. UĞUR SOYAL

REHBER ÖĞRETİM GÖREVLİSİ : Dr. OYA ALPAR

ANKARA, 1974

## İ Ç İ N D E K İ L E R

GİRİŞ	1 - 2
GENEL BİLGİ	3 - 6
MATERYEL ve YÖNTEM	7 - 13
BULGULAR	14 - 15
SONUÇ ve TARTIŞMA	16 - 21
ÖZET	22
KAYNAKLAR	23 - 26

## G İ R İ Ő

Eczacı bir preparatı formüle ederken iki ana özelliği göz-  
önüne almalıdır. Bunlar: İlaç etkisinin spesifikliği ve bu etki-  
nin uygun bir süre devam etmesidir. Bunlardan ilki aktif madde-  
lerin kimyasal özellikleriyle ilgili olan doğal bir durumdur.  
İkincisi ise preparatın formüle edilif ve hazırlanif şekline  
bağlıdır.

Bugün değişik yöntemlerle uzun etkili preparat hazırlamak  
mümkündür. Ancak bütün yöntemlerde ortak prensip ilacın farma-  
sötik şekilden salıverilmesini ve sonuçta absorpsiyonunu kontrol-  
lü olarak yavaşlatmaktır. İlacın verilif yerinde dolaŐımın yavaş-  
latılması da absorpsiyonu yavaşlatır. Nitekim 1944 de Trumper  
i.m. enjeksiyon yerinin çevresindeki dolaŐımı yavaşlatarak peni-  
silinin uzun etkili olmasına çalışmıŐtır (1). Pitkin 1950 de (2)  
viskozite artırıcı makromolekülleri ve 1953 de Alfred (3), 1969  
da Van der Vies (4) yađları eksipiyen olarak kullanmak suretiyle  
uzun etkili preparatlar hazırlamıŐlardır. Uygulanan bu yöntemler  
o kadar geliştirilmiŐtir ki bu sayede saatteki salıverilme hızı  
% 1 olan preparatlar bile hazırlanabilmiŐtir (5).

Uzun etkili preparat hazırlama yöntemleri ile hem oral,  
hem de parenteral ilaçlar yapılabilir. Ancak parenteral prepa-  
ratlarda uzun etki oral olanlardan daha önemlidir. Çünkü, sık  
enjeksiyonun birçok sakıncaları vardır.

Bu tezin amacı da enjeksiyon suretiyle tatbik edilen alerjik aşıların uzun etkili preparat haline getirilmesi yöntemlerini araştırmaktır.

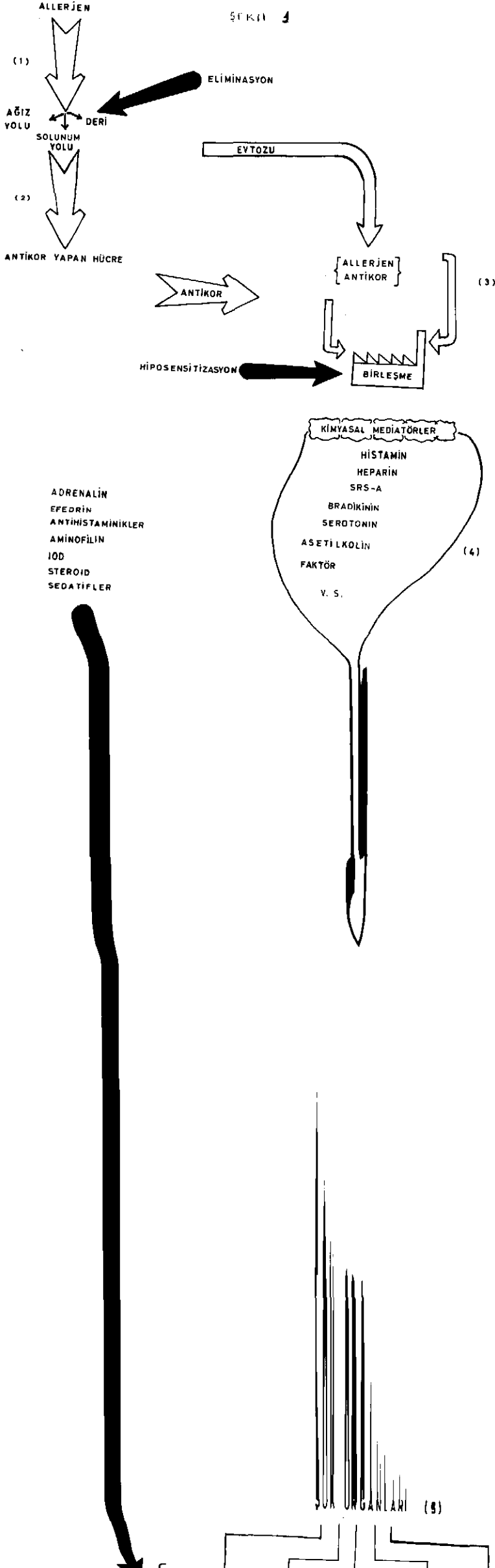
## G E N E L B İ L G İ

Doğuştan alerjik bünyeli kişiler her memlekette nüfusun muayyen bir oranını teşkil ederler. Yapılan bir klinik çalışmada bu oranın memleketimizde takriben % 10 civarında olduğu tesbit edilmiştir (6).

Alerjik reaksiyonların meydana gelmesinde vücuda alerjenlerin girmesi zorunludur. Bunlardan polenler, mantar sporları, ev tozu, hayvan deri ve tüy döküntüleri solunum; pomat ve kozmetikler deri; birçok gıda ve ilaç da ağız yoluyla vücuda girerler (7). Bu alerjenler kan yolu ile muayyen hücrelere giderek "reagin" adını alan özel karakterli antikorların meydana gelmesine sebep olurlar. Antikorların bu değişik karakterleri alerjenlerin cinsi, dozu ve vücuda giriş yerleri ile ilgilidir.

Bir alerjen vücuda girdikten belirli bir süre sonra reagin adını alan, deriyi sensitize eden antikorları meydana getirir. Bu antikorların genellikle vücutta mast hücreleri ve kanda lökositlere yapıştığı kabul edilmektedir. Vücuda giren alerjenlerin meydana getirdiği antikorların vücut hücrelerine yapışması ile hassas hale gelmiş dokuya, şok organı adı verilir. Aynı alerjenin tekrar vücuda girmesi ve kan aracılığı ile antikora ulaşarak birleşmesi hakkında bazı teoriler vardır. Bunlardan 1910 da Schultz (8) tarafından ileri atılan ve 1920 de Tale (9) tarafından esasları konan selüler teori halen en kuvvetli

kabul edilmektedir. Bu teoriye göre : antijen, sensitif hücreye yapışmış antikorla hücre sathında birleşerek, mast hücrelerinden kimyasal mediatörleri açığa çıkardığı ileri sürülmektedir. Kimyasal mediatörlere "H maddeleri" de denir. Bunlar histamin, heparin, serotonin, asetil kolin, SRS-A, bradikinin, permeabilite F. v.s. dir (Şekil 1).



Alerjik hastalıkların tedavileri başlıca 3 şekilde yapılmaktadır: Eliminasyon, İlaç tedavisi ve Hiposensitizasyondur.

Eliminasyon : Alerjenleri hastanın çevresinden uzaklaştırmak ya da alerjik kişinin, alerjenler ile temasını önlemektir. Bu ancak bazı alerjenlere karşı yapılabilir. Örneğin : Kozmetik, gıda, kısmen de ev tozu gibi. Halbuki bir yerin havasında bulunan polenleri, mantar sporlarını uzaklaştırmak mümkün olmadığından bu tip alerjenlere karşı eliminasyon yapmak mümkün değildir.

İlaç tedavisi : Semptomatik bir tedavi şeklidir. Akut alerjik hastalıkların tedavisinde en çok kullanılan ilaçlar antihistaminikler, efedrin, adrenalin, kortikosteroidler, aminofillin ve potasyum iyodürdür.

Hiposensitizasyon : Alerjik bir şahsın sensitif olduğu alerjenlerin gittikçe artan dozda haftada 1 - 2 defa ve birkaç sene müddetle enjekte edilmesi suretiyle yapılır. Hiposensitizasyon tedavisi 1911 de Noon'un (10) saman nezlesine ait polen ekstralarını çok küçük fakat tedricen artan dozlarda hastalara enjekte etmesiyle başlar. Noon'dan sonra çeşitli ülkelere ait bilim adamları kontrollü olarak hiposensitizasyon tedavisi uygulamışlardır. 1961 senesinden itibaren de Ülkemizde ilk defa Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Alerji Bölümünde hiposensitizasyon tedavisi astma ve perannial alerjik rinitli hastalara uygulanmıştır (11).

Bu şekilde enjekte edilen maddelerin vücutta meydana getirdiği bloke edici antikorlar, aynı alerjenlerin solunum yolu ile vücuda girip meydana getirdiği reagin antikorlarından



farklıdır. Bu antikorlar kanda dolaşarak spesifik alerjenleri bloke ederler ve hücreye yapışmış reagin antikorlarıyla alerjenlerin birleşmesine engel olurlar. Böylece akut alerjik reaksiyonu önlemiş olurlar.

Bu şekil tedavide, hastaların uzun bir süre, haftada bir defa enjeksiyon için alerji kliniklerine devam etmek mecburiyetinde olmaları, tedavinin en güç tarafını teşkil etmektedir. Buna bir de çocukların bizzat enjeksiyona karşı gösterdikleri tepkiyi ilave edersek, bu tip tedavinin zorluğu daha da meydana çıkar. Bu nedenle araştırmacılar, daha uzun aralıklarla enjeksiyon yöntemleri aramaktadırlar.

Fuchs ve Strauss (12) 1959 da piridin ekstraksiyonu yöntemi ile hazırlanan yeni bir polen süspansiyonu tarif etmiştir. Kolay tatbik edilebilirliği ve yavaş absorbe olması gibi alerjik hastaların tedavisinde aranan özelliklere sahip olan bu yöntem tarafımızdan benimsenmiştir.

## M A T E R Y E L   V E   Y Ö N T E M

### Materyel :

#### A - Kullanılan maddeler ve Solüsyonlar :

5 gram çayır poleni karışımı : 5 çeşit çayır poleni birer gram tartılıp homojen olarak karıştırıldı.

Piridin :  $C_5H_5N$  formülünde; molekül ağırlığı 79,10 olan, alev alabilen, renksiz bir sıvıdır. Karakteristik hoşagitmeyen bir kokusu vardır. Su, alkol, eter, petrol eteri, yağlar ve daha birçok organik sıvılarla karışır. Pekçok organik ve inorganik maddeler için iyi bir çözücüdür. Zayıf bir bazdır. Kullanılışı: Susuz mineral tuzlar için organik sentezlerde ve analitik kimyada iyi bir çözücüdür.

% 0.3 lük Sodyum bikarbonat Solüsyonu : 3 gram Sodyum bikarbonat tartılıp 1000 ml lik balon joje'ye konur. Distile suyun az bir miktarında eritilip 1000 ml ye tamamlanır.

$1/4$  N  $H_2SO_4$  Solüsyonu : % 98 lik Sülfürik asitten 12.5 ml alınıp 1000 ml lik balon jojeye konur. Distile Su ile 1000 ml ye tamamlanır.

% 2 lik Potasyum alüminyum sülfat Solüsyonu : 2 gram potasyum alüminyum sülfat tartılıp 100 ml lik balon jojeye konur. Bir miktar distile su ile oda hararetinde eritilip, 100 ml ye distile su ile tamamlanır.

Steril fizyolojik serum Solüsyonu : 9 gram sodyum klorür tartılıp 1000 ml lik balon jojeye konur. Az miktarda distile suda eritilip, distile su ile 1000 ml ye tamamlanır. Sterilize edilir.

Steril tampon Solüsyonu : pH 8 civarında bir solüsyondur. Sodyum klorür, monobazik potasyum fosfat, dibazik sodyum fosfat, fenol ve distile su ile hazırlanır. Sterilize edilir.

Katalizör karışımı : 100 g potasyum sülfat, 2,7 g Cıva II oksit, 0,3 g Bakır sülfat, 0.3 g Selenyum.

Kalevi karışımı : 100 ml hacmen % 50 lik Sodyum hidroksit sol, 25 ml hacmen % 8 lik Sodyum tiyosülfat solüsyonu.

Endikatör karışımı : 0.04 g metil kırmızısı, 0.01 g metilen mavisi, 100 ml 95° lik alkol.

Derişik Sülfürik asid : % 98 lik Sülfürik asid.

0.1 N Hidroklorik asid .

0.1 N Sodyum hidroksit .

Fosfotungustik asid .

Distile su .

Tridistile su .

Çinko parçası .

B -Kullanılan malzeme ve aletler :

Santrifüj aleti : Hettich Universal II.

Seitz filtresi : St-1 Type

Kaba süzgeç : Normal filtre kâğıdı

Cam bilye : 3 mm çapında. Steril.

Sallama aleti : Elektronik Mag.

5 cc ve 10 cc lik şişeler : Steril

Etüv : Heraeus

Kjeldahl Cihazı (Şekil 2).

Diğer çeşitli cam malzemeler.

Aşı hazırlama yöntemi :

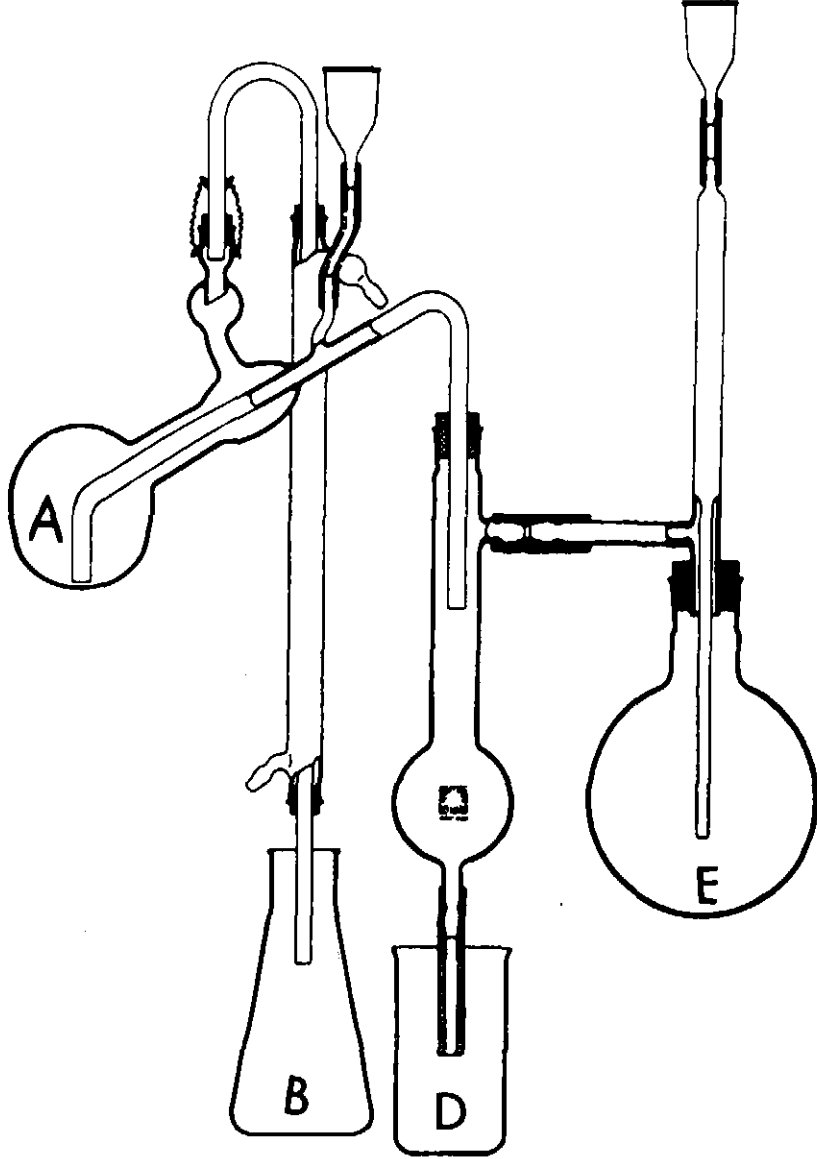
Ağız geniş ve kapaklı bir şişe içine yağı alınmamış 5 gram polen, 50 ml piridin, 50 ml % 0.3 lük sodyum bikarbonat solüsyonu ve bir miktar da cam bilye koyup, arada sırada el ile sallayarak 24 saat oda hararetinde bekletilir. Sonra sallama aletinde 15 dakika sallayıp 10 dakika dinlendirilir. Bu şekilde 12 defa sallama işlemi yapılır, sonra kaba bir süzgeçten geçirilir. Toplanan süzüntü miktarı kadar distile su ilave edilip karıştırılır ve santrifüj edilerek seitz filtresinden geçirilir (Bundan sonraki çalışmalar steril teknik ve şartlar altında yapılır). Bu solüsyon üzerine ( 1 k. steril  $1/4$  N  $H_2SO_4$ , 1 k. steril % 2 lik potasyum alüminyum sülfat) karışımından yavaş yavaş damlatılarak ilave edilir ve solüsyon steril bir cam çubukla karıştırılır. Bu damlatma ve karıştırma işlemine çökme sona erinceye kadar devam edilir ve  $+5^{\circ}$  de 24 saat bekletilir. Sonra bu karışım 2000-2500 devirde 10 dakika santrifüj edilir. Üstteki sıvı atılır. Çökelti, içinde steril cam bilyeler bulunan, steril bir kaba alınıp çok miktarda Steril fizyolojik serum ile yıkanır. Cam bilyeler steril kapta kalacak şekilde, süspansiyon santrifüj tüplerine alınır, santrifüj edilip üstteki sıvı atılır (Çökelti aynı şekilde iki defa daha yıkanır). Çökelti steril tampon

Solüsyonu ile 100 ml hacme getirilir. Standartlaştırılması yapılır. Homojen olarak, istenilen miktarlarda steril şişelere doldurulur. Sterilite kontrolü da yapıldıktan sonra, bir sene içinde kullanılmak kaydı ile +4° de buzdolabında saklanır.

Standartlaştırma yöntemi :

A - Proteine bağlı azotun Kjeldahl yöntemi ile tayini:

20 ml ekstre, 10 ml fosfotungustik asit ile muamele edilerek içindeki protein tamamen çöktürülür, süzülür ve süzüntü atılır. Çökelti 100 ml lik bir Kjeldahl balonuna nakledilir, üzerine 3 g katalizör karışımı ve 5 ml derişik sülfürik asit konur ve iyice karıştırılır. Balon ağzına bir cam huni konup, içine birkaç tane cam boncuk atılıp, önce hafif alevde ısıtılır. Köpürme safhası geçince alev kuvvetlendirilir ve balon muhteviyatı tamamiyle berrak, renksiz oluncaya kadar kaynatmaya devam edilir. Bu ameliyenin sonunda karışım soğutulur, 20 ml tridistile su ile huni, balonun içersine yıkanarak numune seyreltilir. Bir küçük çinko parçası ve 15-20 ml kalevi karışımı da ilave edildikten sonra balon derhal distilasyon cihazına takılır. Damlalar, içinde 10 ml 0.1 N HCl ve 1-2 damla endikatör karışımı olan bir erlende toplanır. Distilasyon tamamlandıktan sonra erlendeki asidin fazlası 0.1 N NaOH ile geri titre edilir. Renk dönüşmesi katidir. Renk asitli ortamda kırmızımtrak, eşdeğer noktada renksiz, kalevi ortamda açık yeşildir.



Şekil 2 : Kjeldahl Cihazı

- A. Numunenin bulunduğu balon
- B. Asidin bulunduğu erlen
- D. Damlayan suların toplandığı kap
- E. Suyun kaynatıldığı balon

Hesap Örneği :

0.1 N NaOH'ten sarfedilen miktar : 7.29 ml

Proteine bağlı azot için : 10.00 - 7.29 = 2.71 ml 0.1 N

HCl sarfedildi.

1 ml 0.1 N HCl 1.4008 mg protein azotuna tekabül ettiğine göre 20 ml ekstrede  $2.71 \times 1.4008 = 3.8$  mg ve 1 ml ekstrede :  $\frac{3.8}{20} = 0.19$  mg proteine bağlı azot olduğu tesbit edildi. Bu değer Cooke ve Stull'un kabul ettikleri 100000 katsayısı ile çarpılırsa, 1 ml ekstredeki mevcut olan Protein Nitrojen Unit (P.N.U.) değeri bulunmuş olur ( $0.19 \times 100000 = 19000$  P.N.U.). Buna göre : 1 P.N.U = 0.00001 mg azot'a tekabül eder.

B - Ekstrenin kuru ağırlığının tayini :

1 ml ekstre bir lam üzerine konur, etüvde  $37^{\circ}$  de 24 saat tutularak kurutulur. Tartılır. Bulduğumuz değer 10.5 mg dir. Cooke ve Stull'un kabul ettikleri 2000 katsayısı ile bu değer çarpılırsa ekstredeki takribi Protein Nitrojen Unit değeri bulunmuş olur ( $10.5 \times 2000 = 21000$  P.N.U.).

C - Standart hatanın tayini :

Aşağıda yazılı standart hata formülüne göre verilerin standart hataları hesaplanmış ve bulunan değerler tablo II de son sütunda gösterilmiştir.

$$\text{Standart Sapma : } S = \sqrt{\frac{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}{n - 1}}$$

$$\text{Standart hata : } \frac{S}{\bar{x}} = \frac{S}{\sqrt{n}}$$

Tablo I . Piridin ekstrelerinin alerji kliniğinde hastalara tatbik edilen doz şekli.

10 P.N.U.	Haftada bir
20 "	" "
30 "	" "
40 "	" "
50 "	" "
75 "	" "
100 "	" "
150 "	" "
200 "	" "
300 "	" "
400 "	" "
500 "	" "
750 "	İki haftada bir
1000 "	" " "
1500 "	" " "
2000 "	" " "
2500 "	" " "
3000 "	" " "
3500 "	" " "
4000 "	Üç haftada bir
4500 "	" " "
5000 "	" " "
6000 "	" " "
7000 "	" " "



## B U L G U L A R

Hiposensitizasyon tedavisi sulu ekstralerle yapılırsa, ekstrelerin oldukça küçük dozda ve sık olarak verilmesini gerektirmektedir. Aksi takdirde alerjik veya anaflaktik reaksiyon meydana gelebilir.

Potasyum alüminyum sülfatla çöktürülerek hazırlanan piridinli ekstreler daha yavaş absorbe olduğu için, daha yüksek dozda ve uzun aralıklarla yapılarak hiposensitizasyon tedavisi mümkün olabilmektedir. Hacettepe Tıp Fakültesi Alerji Araştırma Labratuvarında tarafımızdan hazırlanan bu aşı Mayıs 1974 den beri astım bronşiyal ve alerjik nezleli hastalar üzerinde tatbik edilmektedir. Başlangıçta her hastaya yapılmakta olan sulu ekstre aşısına ilaveten, bu aşı da yöntem kısmında bahsedilen doz şemasına göre uygulanmaktadır (Tablo I.).

Hazırlanan bu aşılardan standardizasyonu için gerekli olan proteine bağlı azot miktar tayinleri yapılmış ve bulgular tablo II de gösterilmiştir.

Tablo II. Kuru polen, Sulu ekstre, Piridinli ekstre ve kurutulmuş piridinli ekstrenin proteine bağlı azot miktarlarının karşılaştırılması.

Madde	10 tayinde bulunan değerler	Ortalama değer $\pm$ S.H.
Kuru Polen (1 gr.)	6,6-6,8-6,9-7,1-7,1-7,1-7,3-7,3-7,4-7,4	7,1 $\pm$ 0.09 mg
Sulu ekstre <sup>x</sup>	2,1-2,0-1,9-2,0-2,2-2,2-2,3-2,3-2,4-2,6	2,2 $\pm$ 0.07 mg
Piridinli <sup>x</sup> ekstre	3,4-3,5-3,6-3,8-4,0-4,2-3,8-3,8-4,1-3,8	3,8 $\pm$ 0.08 mg
Kurutulmuş <sup>x</sup> Piridinli ekstre	3,2-3,2-3,4-3,4-3,4-3,8-3,8-3,3-3,3-3,2	3,4 $\pm$ 0.07 mg

x . 1 gr kuru polen kullanılarak hazırlanmıştır.

Ayrıca piridinli ekstreden 1 er ml.lik 10 numune alınıp, kurutulmak suretiyle kuru ağırlık tayini yapıldı. Kuru ağırlığın ortalama olarak 10,5 mg olduğu tesbit edildi.

## S O N U Ç V E T A R T I Ş M A

Çok dozlu enjeksiyon tekniği, hastanın alerjik olduğu maddelerin çok sulandırılmış formlarının küçük dozlardan başlıyarak önceleri haftada iki ve sonraları da haftada bir enjeksiyonlarının tatbiki ile ortalama 4-6 sene devam edebilen bir tekniktir. Enjeksiyonların bu sıklıkta yapılmasının nedeni aşı halinde verilen alerjenlerin içinde çok az antijen bulunması ve çok miktarda antijen yüklenildiği takdirde anaflaktik şok gibi ölümlerle neticelenen alerjik reaksiyonların açığa çıkmasındandır. Bu hiposensitizasyon yöntemi ile yapılan tedavideki başarının, verilen alerjenin dozu ile orantılı olduğu çok iyi saptanmıştır (13, 14).

Hiposensitizasyon yöntemi, son senelerde yerini emülsifiye ekstraları ile hazırlanmış tek enjeksiyonla yapılan reposituar (15, 16, 17) tekniğe terketmektedir. Bu yöntemde büyük miktardaki alerjen, saflaştırılmış sıvı vazelin içinde emülsifiye edilerek hazırlanmaktadır. Bazı ciddi zararlarına rağmen bu teknik, iki enjeksiyon arasının uzun olması gibi pratik faydası itibariyle birçok alerji kliniklerince uygulanmaktadır. Bu yöntem 4-5 sene uygulamadan sonra bazı komplikasyonlar göstermiştir. Bunlardan başlıcaları : 1- Açığa çıkan antijenin güvenilir olmayışı. 2- Sıvıyı teşkil eden sıvı vazelin türevlerinin koltuk altı veya enjekte edilen bölgedeki lenf düğümlerinde toplama-

narak lenf guddelerini büyütmesi ve apse teşekkülüdür. Özellikle bu son komplikasyon Amerikan Kanser Uzmanları tarafından "ileride kansere sebep olabilir" düşüncesiyle karşılanmış ve bu nedenle tedavi fazla rağbet bulmamıştır. Ayrıca tedavi şekli Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi tarafından araştırmaya alınmıştır.

Alerjik aşı tedavisi (hiposensitizasyon) ilk defa su içinde polen tanelerinin ekstraksiyonu ile başlamış ve bunu 1/200 N NaOH ve % 0.9 NaCl solüsyonu (18), % 66 gliserol solüsyonu (19), tamponlu fizyolojik Serum içinde Süspansiyon yapılmış fenol ve polen (20), ve % 5 dekstroz (21) ile ekstrelerin hazırlanması takip etmiştir. Bunlara ait aşamalar tablo III de özetlenmiştir (12).

Milford (22) ve Moore (23) dikkatli yaptıkları kontrol çalışmalarında polen yağında aktif antijenin bulunduğunu göstermiştir. Birçok polen önemli miktarda, su ile karışmayan yağ ihtiva etmektedir. Bu suda karışmayan yağların varlığı sebebiyle su ile ekstre edilen polen solüsyonları bulanıktır. Bu sebeple 1922 de Coca (24) eter ile bu yağlı maddelerin arıtılmasını teklif etti ve 1931 de Stull ve arkadaşları (25) polenin sudaki ekstraksiyonunu kolaylaştırmak için yağlı maddeleri kaldırdılar. O zamandanberi hiposensitizasyonda kullanılan ve bazı değişikliklere tabi tutulan bütün alerjen ekstrelerinde polenlerin bu yağlarından arıtılması yöntemi benimsenmiştir.

Polenler yağlarının alınması için eter ile muameleye tabi tutulduğunda aşağıdaki değişikliklerin olduğu öngörülmektedir:

- 1- Flavonol'un kaldırıldığı
- 2- Polenin suyunu aldığı için belirli oranda proteinin denatürasyonuna sebep olunduğu.

Tablo III. Polen ekstresi hazırlanmasına ait çeşitli usuller

Ekstraksiyondan önce polenin durumu	Ekstraksiyon Sıvısı ve ilave usulleri	Araştırmacılar	Tarih
Yağı alınmamış	Su	Noon	1911
" "	N/200 Na OH ve % 0.9 NaCl Solüsyonu	Cooke	1915
" "	% 33 Doymuş NaCl Solüsyonu ve %66 Gliserol	Clock	1917
Yağı alınmış	Coca'nın solüsyonu	Coca	1922
Yağı alınmamış	Zeytin yağı, gliserin ve petrol	Milford	1929
" "	Fenol, sonra tamponlu tuz çözeltisinde Polenler süspansiyon edilir	Murphy	1929
" "	% 5 dekstroz ve % 0.1 krezol	Moore ve Ark.	1932
Yağı alınmış	Coca'nın solüsyonu	Stull ve Ark.	1930
" "	Sulu solüsyon, sonra formalin	Carter	1936
" "	Sulu, sonra ultra-filtre	Spain ve Ark.	1935
" "	Sulu, sonra potasyum alüminyum sülfat	Zoss ve Ark.	1937

Ekstraksiyondan önce polenin durumu	Ekstraksiyon Sıvısı ve ilave usulleri	Araştırmacılar	Tarih
Yağı alınmış	Sulu, sonra Lanolin ve zeytin yağı	Naterman	1938
" "	Sulu, sonra formalin	Stull ve Ark.	1940
" "	Sulu, sonra ısıtma		
" "	Sulu, sonra ultra-viole ışını		
" "	Sulu, sonra Potasyum alüminyum sülfat		
" "	Sulu, sonra jelatin	Spain ve Ark.	1941
" "	Sulu, sonra dondurma, kurutma, susam yağında	Taub ve Ark.	1941
" "	Sulu, sonra tannik asit	Naterman	1941
" "	N/ 100 NaOH tuz süsyonunda, HCl ile çöktürme	Rockwell	1953
" "	Sulu, sonra ZnCl <sub>2</sub> , tannik asit, formalin ve Al (OH) <sub>3</sub>	Naterman	1957

Fuchs ve Strauss (1959) işte bu nedenle yukarıdaki sakıncalardan yoksun olmak üzere, yeni bir suda erimeyen polen kompleksi süspansiyonu hazırlamıştır. Burada önemli olan husus bu süspansiyonun standartlaştırılmasıdır. Ancak bir polenin veya herhangi bir alerjenik ekstrenin antijenik kuvvetini tam olarak ölçen hiçbir kriter mevcut değildir. Bununla beraber bir ekstredeki protein azotu miktarı ile klinik gözlemler arasında oldukça uygun, orantılı bir ilişki tesbit edilmiştir. Bundan dolayı piridin ekstralarını standartlaştırma, protein azotu tayini ile olabilmektedir (12). Cooke ve Stull bu maksatla belli bir miktar süspansiyonu fosfotungustik asit ile çöktürüp, çökelti üzerinden protein azotu tayini yapmışlardır. 1 ml süspansiyondaki protein azot miktarını kendilerinin kabul ettikleri bir katsayı (100.000) ile çarparak buldukları değeri birim olarak kabul etmişlerdir. Buna Protein Nitrojen Unit (P.N.U.) değeri adını vermişlerdir. Buna göre :  
1 P.N.U. = 0.00001 mg azota tekabül etmektedir. Ancak Kjeldahl yöntemi ile yapılan bu tayinler çok zaman aldığı için daha pratik yöntemler aranmıştır. Bu maksatla ölçülü bir miktar süspansiyon alınıp, etüvde 37° de 24 saat kurutulup, ekstrenin kuru ağırlığı bulunmuş, bununla azot miktarı arasında bir ilgi kurulmaya çalışılmıştır. Kuru ağırlık, Protein Nitrojen Unit değerine bölünerek bulunan katsayısının 2000 civarında olduğu görülmüştür. Bu yöntem, standartlaştırmada çok daha pratiktir. Bundan faydalanılarak belli miktardaki süspansiyonun kuru ağırlığı 2000 ile çarpıldığında takribi Protein Nitrojen Unit değerini bulmak mümkün olmuştur (Tablo IV.). Hazırlanış yöntemlerine göre ekstralar değişik birimlerle ifade edilir. Bu birimlere ait değerler tablo IV de özetlenmiştir. Tamponlanmış fizyolojik serum içinde yapılan ekstraksi-

Tablo IV. Suda erimeyen bütün antijen polen kompleksi  
Süspansiyonun standartları

---

---

Protein Azotu Birimi :	
Mg Protein Azotu x 100.000	23.000
Total Azot Birimi :	
Mg Total Azot x 100.000	23.300
Total Ağırlık Birimi :	
Mg Bütün ekstrenin kuru ağırlığı x 2000	24.000
Noon yahut Polen Birimi :	
Mg 1 ml de polen ekstresi x 1000	50.000
Ağırlık / Hacim Standart :	
1 ml de polen ekstralarının gramları	1:20

---

---

yonlarda ağırlık / Hacim birimi kullanılmaktadır. Buna göre 1/50 sulandırılmış ekstrenin 1 ml sine tekabül eden polen ünitesi, Noon ünitesi, Protein azot ünitesi, total azot ünitesi tablo IV de gösterilmiştir.

Suda erimeyen polen kompleksi süspansiyonu hazırlama yönteminin en büyük özelliği polen yağının alınmaması, bu şekilde hem yağda bulunan antijenden istifade edilmesi, hem de yağın alınması esnasında polendeki antijenik proteinin tabiatının bozulmamasıdır. Fakat en önemlisi absorpsiyonun yavaş oluşudur.



Ö Z E T

Yapılan çalışmalar hemen hemen her memleket nüfusunun % 15 nin alerjik bünyeli olarak doğduğunu ve bunların hayatları boyunca astma bronşial, alerjik nezle ve ekzama gibi çeşitli alerjik hastalıklara yakalanmakta olduklarını göstermektedir.

Bunların tedavisi eliminasyon, ilaç tedavisi veya hiposensitizasyon adı verilen aşı ile olmaktadır.

Hiposensitizasyon, birkaç sene devam eden haftalık enjeksiyonlarla hastanın alerjik olduğu maddelerin ekstrelerinin verilmesi esasına dayanmaktadır. Hastaların her hafta alerji kliniklerine birkaç sene gelmeleri yerine daha uzun etkili alerjenik ekstrelerin yapılması uzun zamandanberi araştırılmaktadır. Bu tezde de alerjenlerin antiijenik yapısını değiştirmeden piridin ve potasyum alüminyum sülfat ile uzun etkili hale getirilmesine çalışılmıştır.

K A Y N A K L A R

- 1 - Dr. Max Trumper and Dr. A.M. Hutter : Prolonging effective Penicillin action, Science. 100, November 10, 1944
- 2 - George P. Pitkin : Therapeutic preparations for intramuscular and subcutaneous injection, U.S. 2, 530, 480 Nov. 21, 1950 (Chem. Abst. 45, 1735 h, 1951).
- 3 - Alfred E. Jurist, John C. Burke, and Wm. E. Gaunt : Injectable therapeutic preparation having prolonged effectiveness. U.S. 2, 661, 315, December 1, 1953 ( Chem. Abst. 48, 2992 e, 1954).
- 4 - Van der Vies : Mechanism of action of long-acting hormone preparations, J. organorama 1969, 6( ), 4-8 (Eng).
- 5 - Laboratoire de Recherches Physiques S. a. r. l. Brit. I, 081, 090 (Cl, A 61 k), Aug. 31, 1967 : U.S. Appl. Feb. 20, 1964. Sustained-release pharmaceutical preparations. (Chem. Abst. 67, 102785 k, 1967).
- 6 - Özkaragöz K., Pirnar A., Karadeli F. : The incidence of allergic diseases in a pediatric practice in Turkey, The Turkish journal of Pediatric 5 : 155, 1963

- 7 - Özkaragöz K. : Management of the allergic Child in Turkey, The Turkish journal of Pediatrics 7:90, 1965.
- 8 - Schultz, W.H. : Physiological studies in anapylaxis. 1. the reaction of smooth muscle of the quinea-pig sensitized with horse serum. J. Phamacol. and Exper. Therap 1 : 549, 1909-1910.
- 9 - Dale, H.H. : Anaphylaxis, Bull., Johns Hosp. 31 : 310, 1920.
- 10 - Noon, L. : Prophylactic inoculation against hay-fever, Lancet I : 1572, 1911.
- 11 - Özkaragöz K. : Astma Bronchiale ve allerjik nezlenin spesifik hiposensitizasyon tedavisi, Çocuk Sağlığı ve hastalıkları dergisi Cilt 11 Sayı 4 Ekim 1968.
- 12 - Fuchs, A., and Strauss M.B. : The Clinical evaluation and the preparation and standardization of suspensions of a new water - insoluble whole ragweed pollen Complex, J. Allergy 62-82 Jan. Feb., 1959.
- 13 - Norman, P.S., Winkenwerder, W, L. and Lichtenstein, L. M. : Immunotherapy of hay fever with ragweed antigen E : Comparisons with whole pollen extract and placebos, J. Allergy 42 : 93, 1968.
- 14 - Norman, P.S., Winkenwerder, W.L., and Lichtenstein, L.M.: Maintenance immunotherapy in ragweed hay fever : Booster injections at six weeks intervals, J. Allergy 47 : 273, 1971.

- 15 - Norman, P.S., Winkenwerder W.L. and D'Lugof B.C. :  
Controlled evaluations of Repository Therapy in Radweed  
hay Fever. J. Allergy 39 : 82 February 1967.
- 16 - Feinberg S.M., Rabinowitz H.I., pruzansky J. : Absorption  
Studies by Immunologic and Radioactive Methods. Repository  
antigen injections. : J. Allergy 31 : 321 September, Octo-  
ber, 1960.
- 17 - Feinberg A. R., Feinberg S.M. and Fisherman E.W. Repostiory  
antigen injections. J. Allergy 31 : 433 September - October  
1960.
- 18 - Cooke, R.A. The Treatment of Hay Fever by Active Immuni-  
zation, Laryngoscope 25 : 108, 1915.
- 19 - Clock R. O. : A Stable pollen Antigen, J. Infect, Dis.  
21 : 387, 1917.
- 20 - Murphy, J. A. : Pollen suspensions; a Preliminary Report,  
J. Lab. Clin. Med. 15 : 158, 1929.
- 21 - Moore, M., and Unger, L. : Studies on pollen extracts.  
IX. A New Extracting solution, J. Allergy 4 : 92, 1932.
- 22 - Milford, E. L. : Studies in Allergy. I. The Specific  
Activity of pollen oil, J. Allergy 1 : 331, 1930.
- 23 - Moore, M. B., Cromwell, H.W., and Moore, E. E.: Studies  
on pollen and pollen extracts. IV. The Allergenicly  
Active Constituent in Pollen Oil, J. Allergy 2 : 6, 1930.

- 24 - Coca, A. F. : Studies in specific hypersensitiveness;  
the preparation of Fluid Extracts and solutions for use  
in the diagnosis and Treatment of the Allergies with  
Notes on the Collection of Pollens, J. Immunol. 7 : 163,  
1922.
- 25 - Stull, A., Chobot, R. and Cooke, R. A. : Chemical and  
Clinical Studies on pollen (Preliminary Report), J.  
Allergy 1 : 470, 1930.