

## ATROPİNİK TIP SPAZMOZ GİDEREN BİR DROG'TAN ÇEŞİTLİ TARZDA HAZIRLANAN EKSTRAKSİYON ÜRÜNLERİNİN STATİSTİK MUKAYESE METODU

M. Şahin Akman\*

Kemal Ozan\*\*

### Giriş

Spazmoz gideren ilaçlar, organların kasılmalarını azaltma veya durdurma yeteneğine malik maddelerdir. Genel olarak her türlü düz kas liflerine tesir ederler<sup>6</sup>. Asetilkolinik spazmı Atropine benzer şekilde ortadan kaldıranlarına, "Nörotrop" tesirli spazmoz gideren ilaçlar; bir başka deyimle atropinik tip antispazmodikler denir. Baryum klorürle meydana getirilen spazmı papaverine benzer şekilde durduranlara ise "Müskülotrop" tesirli antispazmodikler veya papaverin tipi spazmoz gideren ilaçlar denir<sup>4, 8, 9</sup>.

İlaç piyasasında, tercihan atropinik tip antispazmodik drog- lar kullanılmakta isede, bunların farmakolojik aktiviteleri çeşitli farmasötik preparasyonlarda kullanılmak üzere hazırlanacak ek- straksionlarında değişikliğe uğrar. İşte bu sebeple, elde edilecek ek- straksion ürünlerinde, farmakolojik aktivite kontrolünün yapılması gerekir. Bunun içinde, birçok aktivite kontrolü hallerinde olduğu gibi, droguların fizyolojik bazende sadece toksik tesirlerinden istifade edilmesi esasına dayanan, bir hayvan veya izole organ üzerinde be- liren, spesifik bir biolojik reaksiyona baş vurulur. İncelenecek ilaç antispazmodik tesirli olduğunda, bu spesifik reaksiyon, izole organ- lar üzerinde meydana getirilecek kontraksionları durdurmaya inhi- sar eder.

### M a t e r y a l v e M e t o d

1 - *Beş farklı ekstraksion ürünü arasındaki aktivite farkının araştırıl- ması*: Drogdan elde edilen ekstraksion ürünlerinin atropinik tip

\* A.Ü. Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Kürsüsü Profesörü. Ankara- Türkiye.

\*\* A.Ü. Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Kürsüsü Dr. Asistanı. Ankara- Türkiye.

spazmolitik aktivitesi, tyrode banyosuna konmuş ve asetilkolin ilâvesile kontraksion yapan, izole rat düodenumu üzerinde incelendi. İlk önce, çeşitli fertlerden gelen düodenumlar arasındaki farklardan kaçınmak amacı ile, beş farklı ekstraksiyon ürünün, aynı düodenum parçası üzerinde incelenmesi yoluna gidildi. Oysa, 150 gr. lık erkek ratlardan kaldırılan düodenumlar, deneysel koşullar içinde, beş ilâcın seri denenmesine müsade etmiyecek derecede çabuk yoruluyordu. Halbuki, 200 ilâ 250 gr. ağırlığında, üç-dört aylık ratlardan alınan düodenumlar kullanıldığında, denemeler mümkün oluyor ve böylece yorgunluk faktörü bertaraf edilmiş oluyordu. Bu vakitte ortaya çıkan ikinci bir problem: ekstraksiyon ürünlerinin, aynı preparasyon üzerinde deneme sırasının farklı oluşu ve böylece ilk denen ilâcın tesirinin fikse edilerek, müteakip gelen ilâcın aktivitesine karışabileceği ihtimali idi.

İşte yukarıdaki sebepler bunun için, beş farklı ekstraksiyon ürünün aktivitelerini rakam cinsinden değerlendirmekten evvel, bulunmuş neticelerin, bu maksat için yeter derecede hassas olup olmadığının araştırılmasını zorunlu kılar.

*a - Tecrübe plânı:* Preparasyon'un yorulması ve ekstraksiyon ürünlerinin deneme sırasının farklı oluşundan doğacak yanılmaları azaltmak ve böylece aktivite tayinini mümkün kılacak hassas neticelerin elde edilmesi için, Fischer tablosundan üç adet 5x5 latin kare seçilerek şu deney plânı tasarlandı<sup>3</sup>.

Her grup için beş farklı düodenum ve bütün çalışma içinde 15 düodenum alınır. Her düodenum üzerinde A, B, C, D, E diye işaretlenen beş ekstraksiyon ürünü, tablo: 1 deki sıraya göre denir.

Manipülasyonlar, aşağıdaki şekilde yapılır:

- 1 - Tyrode banyosundaki düodenuma  $2/3 \cdot 10^{-6}$  asetilkolin tesir ettirilerek bir kontraksion yazdırılır ve kimograf yardımı ile yazdırılan kontraksionun değeri a olsun\*.
- 2 - Preparasyon yıkanır ve 6 dakika dinlendirilir.
- 3 -  $8/3 \cdot 10^{-5}$  gr. spazmolitik ilâç (A, B, C, D, veya E den biri) 30 saniye müddetle düodenum ile temas ettirilir.
- 4 - Preparasyon yıkanmaksızın,  $2/3 \cdot 10^{-6}$  gr. asetilkolin banyoya ilâve olunur ve buna ait kontraksionun değeri b olsun.
- 5 - Preparasyon tekrar yıkanır ve 6 dakika dinlendirilir.
- 6 -  $2/3 \cdot 10^{-6}$  gr. asetilkolinle bir kontraksion yazdırılır ve bu kontraksionun değeri c olsun.

\* Kontraksionun değeri, kâğıda yazdırılan trase ölçülerek, mm uzunluk olarak tesbit edilir.

Tablo: 1 - A, B, C, D, E harflerile işaretlenmiş beş farklı ekstraksiyon ürününün, çeşitli deneyler esnasında banyoya ilâve sırası.

Düdenumlar	Ekstraksiyon ürünlerinin tyrode banyosuna ilâve sırası				
	1	2	3	4	5
<b>Birinci grup deney</b>					
1	A	B	C	D	E
2	B	A	E	C	D
3	C	D	A	E	B
4	D	E	B	A	C
5	E	C	D	B	A
<b>İkinci grup deney</b>					
6	A	B	C	D	E
7	B	E	D	A	C
8	C	A	B	E	D
9	D	C	E	B	A
10	E	D	A	C	B
<b>Üçüncü grup deney</b>					
11	A	B	C	D	E
12	B	A	D	E	C
13	C	D	E	A	B
14	D	E	B	C	A
15	E	C	A	B	D

Beş farklı ekstraksiyon ürünü incelenene kadar, aynı seri operasyon, herbir ilâçla aynı şekilde tekrarlanır.

*b* - Antispazmodik ekstraksiyon ürünlerinin, asetilkolinik kontraksiyonları durdurma yüzdelerinin hesaplanması: Antispazmodik ilâç ilâve edilmeksizin, asetilkolinle elde edilen iki kontraksiyon ortalaması

$$\frac{a + c}{2} \text{ olduğuna göre, ilâcın yaptığı durdurucu tesir } \frac{a + c}{2} - b$$

ve inhibisyon yüzdeside:

$$\frac{a + c}{2} - b$$

$$\frac{\frac{a + c}{2} - b}{\frac{a + c}{2}} \times 100 \text{ dür.}$$

$$\frac{a + c}{2}$$

Bu şekilde üç grup deneyin neticeleri rakam cinsinden bulunduğu sonra, tablo: 1 deki harflerin yerine, bunlara ait neticeler konarak statistik analiz yapılır <sup>1, 2, 7</sup>.

## T a r t ı Ő m a v e S o n u ç

Statistik analiz işlemlerinin yapılabilmesi için, I no. lu tablo-  
daki harfler yerine, bunlara ait inhibisyon yüzdelerini gösteren ra-  
kamlar yerleştirilir. Rakamların, varians analiz formüllerine <sup>1, 2, 3, 7</sup>  
tatbik edilmesi ile, II no. lu varians analiz tablosu elde edilir.

Tablo: II. - Neticelerin Varians Analizi.

Varyasyon kaynağı	Kareler ortalaması	Bağımsız varyant sayısı	Varyans	F	P <sup>(*)</sup>
1. İlaçlar arası	3 407 . 10	4	851.78	13.45	<0.001
2. Düodenum- lar arası	6 622 . 93	14	473.07	7.47	<0.001
3. Kalıntı	3 546 . 12	56	63.32		
<b>TOTAL</b>	<b>13 576 . 15</b>	<b>74</b>			

(\*) P<0.001 : fark çok önemli.

Varians analiz tablosu, ekstraksiyon ürünleri arasındaki farkın çok önemli olması sebebiyle, neticelerin aktivite tayini için geçerli bilgi verecek hassasiyette olduğunu göstermektedir. Aynı tablo düodenumlar arası farkında önemli olduğunu göstermekte isede, tasarlanan ön plân gereğince, bu fark, ilaçlar arası farklılığı ehemmiyetsiz duruma düşürmeyecek derecede azaltılabilmektedir.

t-Test'le(\*) ekstraksiyon ürünleri ikişer ikişer karşılaştırılırsa, varians analiz tablosunda bulunan ilaçlar arası farkın hangi ekstraksiyon ürünleri arasında ve ne derece önemle yerleştiğinin anlaşılması mümkün olur.

Tablo: III. Denenen beş ekstraksiyon ürünü (A,B,C,D,E) arasındaki farkın statistik değeri.

	A	B	C	D	E
A	////	Ç.Ö	Ö	Ç.Ö	Ö.D
B	////	////	Ç.Ö	Ö.D	Ö
C	////	////	////	Ç.Ö	Ö
D	////	////	////	////	Ö
Ö.D: Önemli değil; Ö: Önemli; Ç. Ö.: Çok önemli.					

$$(*) t = \frac{(\bar{Y}_A - \bar{Y}_B)}{\sqrt{\frac{VY_A}{n_A} + \frac{VY_B}{n_B}}}$$

$\bar{Y}_A$  ve  $\bar{Y}_B$ : A ve B ürünlerinin ortalama değerleridir.

$VY_A$  ve  $VY_B$ : Kalıntı (Résiduelle) varyans.

Hesapla bulunan t değeri, t teorik tablosundaki değerle karşılaştırılarak netice bulunur.

III no. lu tablo incelenirse, beş ekstraksiyon ürününün şöyle sıralandığı görülür:

$$C \neq (A \neq E) \neq (B \neq D)$$

Asetikolinik kontraksiyonların inhibisyon yüzdelerine göre aynı sıralama yapılırsa:

$$C > (A \neq E) > (B \neq D) \text{ olur.}$$

II - *Aktiviteleri farklı ekstraksiyon ürünleri arasında kantitatif mukayese:*

Çalışmanın birinci partisi, denenen çeşitli fabrikasyon ürünleri arasında fark olup olmadığının araştırılması gayesiyle düzenlenmişti. Ancak, C ve D gibi birbirinden çok farklı iki ürün arasındaki aktivite farkının, kantitatif olarak bilinmesi gereklidir. Bu maksatla, yine aynı tip biyolojik deneylerden yararlanarak, 2x3 tipi dozaj seçildi. Bunun için, iki C ve D ürünü 3 farklı dozda ve logaritmik bir silsile takip edecek şekilde kullanıldı. Yapılan ön deneyler, benzer bir asetilkolinik kontraksiyon inhibisyonu elde etmek için, D ürünü dozunun, C ürününe nazaran iki kat olması gerektiğini gösterdi. Üstelik dozlar arası oranın da, 1,5 (3/2) olması gerekiyordu. Böylece aşağıdaki çalışma şeması düzenlendi:

- 1 - C'nin 1 ci dozu :  $4/3 \cdot 10^{-5}$
- 2 - D'nin 1 ci dozu :  $8/3 \cdot 10^{-5}$
- 3 - C'nin 2 ci dozu :  $2 \cdot 10^{-5}$
- 4 - D'nin 2 ci dozu :  $4 \cdot 10^{-5}$
- 5 - C'nin 3 cü dozu :  $3 \cdot 10^{-5}$
- 6 - D'nin 3 cü dozu :  $6 \cdot 10^{-5}$

Yukarıdaki şekilde plânlanan deneme, 10 farklı düodenum üzerinde, aynı artış silsilesine göre, fakat her defasında C ve D ürünlerinin banyoya ilâve sırası değiştirilerek tekrarlandı.

Her doz için asetilkolinik kontraksiyonların inhibisyon yüzdesi, materyal ve metod kısmında açıklandığı gibi hesaplanır. Neticelerin statistik formüller yardımı ile kareler toplamı bulunur. 3/2 logaritmik oranına göre tertiplenmiş dozlar kullanıldığından, faktorielle analiz<sup>5</sup> tatbik edildiğinde, iki ekstraksiyon ürünü arasında fark olmadığı görülür. Bu yapılan mukayesenin geçerli olduğuna delâlet eder. Oysa, D ürününün dozu C ninkinin iki katı olarak kullanıldığından dozlar arası fark önemlidir.

Netice olarak, denemelerde kullanılan dozlara bakarak, D ekstraksiyon ürünü ile B ekstraksiyon ürünü benzer spazmolitik aktivi-

tede olup, C ekstraksiyon ürününden iki defa daha az tesirlidirler denir. Şu halde B ve D ekstraksiyon ürünlerinin fabrikasyon tekniği terkedilmelidir.

### Ö z e t

Atropinik tip antispazmodik bir drogtan çeşitli fabrikasyon metodları yardımı ile hazırlanan beş ekstraksiyon ürünü arasındaki farmakolojik aktivite farkı araştırıldı. Bu maksat için, kimyasal dozaj metodları kifayetsiz olduğundan, izole rat duodenum metodu kullanıldı. Bunun içinde, denemeler özel bir şekilde plânlanıp elde edilen neticeler statistik metodlarla değerlendirildi.

### R é s u m é

#### **Méthode Statistique de Comparaison de Différents Produits Résultant de Cinq Procédés D'extraction Différents d'une même Drogue Antispasmodique de Type Atropinique**

On a cherché la différence d'activité pharmacologique entre les produits résultant de cinq procédés d'extraction différents d'une même drogue antispasmodique de type atropinique. On a utilisé le duodenum isolé de rat en tenant compte que la méthode chimique est insuffisant. Ainsi, les essais ont été planifié et les résultats obtenus été étudié avec les méthodes statistiques.

### B i b l i o g r a p h i e

- 1 - **Burn, j., H., Finnek, D. j. and Goodwin, L.G.** (1952): *Biological standardization*. Oxford Univ. Press. London.
- 2 - **Emmens, C.W.** (1948): *Principles of biological assay*. Chapman et Hall, London.
- 3 - **Fischer, R.A.** (1950): *Statistical tables for biological Agricultural and Medical research*. Oliver et Boyol. Edingburgh.
- 4 - **Gabrielle, M et Mlle Bady** (1962): *Essais cliniques d'un nouvel antispasmodique de synthèse*. Revue Lyonnaise de Médecine. Tome: XI, 17, 1117 - 1120.
- 5 - **Marcy, M.R.** (1950): *Méthode de comparasion de résultats pharmacodynamiques obtenus à partir de différents produits d'extraction d'une même drogue*. Annales Pharm. franç. 8, 643-648.

- 6 - **Morin, H.** (1962): *Cours de Pharmacodynamie Supérieur*. Faculté de Pharmacie de Paris (Inédit).
- 7 - **Schwartz, D.** (1958): *Les Méthodes Statistiques en Médecine* Institut de Statistique de l'Université de Paris.
- 8 - **Terrasse, j., Moinade, S., Marcheix, j.** (1961): *Premiers résultats obtenus en clinique avec un nouvel antispasmodique anticholinergique*. *Révue Médical de Tours*. Tome: 2, 16, 1-11
- 9 - **Turner, R.A.** (1965): *Screening Methods in Pharmacology*. Academic Press. New York.

Yazı "Dergi Yazı Kuruluna" 27.9.1966 günü gelmiştir.