

FARMAKOKINETIKA E KOLKICINES NË URINËN E NJË INDIVIDIT VULLNETAR TË SHËNDETSHËM MBAS MARRJES SË NJË DOZE TË VETME

Dr.H.C. ULRICH ZWEIFEL, As. Prof. DR. EDMOND PANARITI,
Prof. Dr. CHRISTIAN SCHLATTER*

Summary

PHARMACOKINETICS OF COLCHICINE IN URINE OF A HEALTHY MALE VOLUNTEER, FOLLOWING A SINGLE DOSE INTAKE

The present article, describes the implementation of a Thin Layer Chromatography technique for the determination of colchicine in urine of a healthy male volunteer, following two consecutive doses intakes of 2 mg and 4 mg.

Unchanged colchicine was identified up to 13 hours in urine, following the dose administration. Samples of urine were treated with an enzyme mixture. Most probably, metabolites are excreted as well.

The highest concentration of unchanged colchicine (3,4% of dose) in urine was reached 5 and a half hours following the intake.

Kolkicina është një alkaloid me bazë bimore i cili për nga struktura kimike e veçantë nuk grupohet në klasifikimet kryesore të alkaloidëve. Në kushte natyrale alkaloidi, sintetizohet nga bima *Colchicum autumnale*, që njihet në Shqipëri me emrin Xherokilli tek e cila ai në kushte të veçanta mund të arrijë edhe përqendrimin 0,8% (1). Raste të helmueshmërisë nga kjo bimë janë tashmë të njohura si në njerëz (2), ashtu edhe në kafshë (3). Kolkicina njihet për vlerat e saj kurative ndaj gutes (një formë e trashëgueshme e artritit të karakterizohet nga përqendrimet të larta në gjak të acidit hipurik) dhe të cirrozës hepatike (4).

Doza ditore terapeutike e saj është 3 mg, ndërsa raste të helmimit tek pacientët janë vrojtuar edhe për dozën 7 mg (5). Problemi më i mprehtë i cili lidhet me vlerat kurative të kolkicinës, ka të bëjë me vetitë e shprehura kumulative të alkaloidit në organizëm. Për këtë arsye dozat kuruese me lehtësi mund të shndërrohen në doza helmuese në trajtimet e përsëritura të pacientëve me të. Për rrjedhojë, sqarimi i farmakodinamikës së alkaloidit, është i rëndësishëm në vlerësimin e efektit të tij kumulativ në organizëm. Mbi këtë bazë edhe mjekimi i pacientëve me këtë alkaloid, do të shmangë pasojat e padëshirueshme të një hemimi të mundshëm.

Në këtë artikull përshkruhet zbatimi i një teknike të kromatografisë në shtresë të hollë sasiore për sqarimin

e aspekteve farmakokinetike të kolkicinës. Duke qenë relativisht e thjeshtë dhe e pakuptueshme kromatografia në shtresë të hollë duhet konsideruar si teknikë me përparësi në diagnozën analitike të rasteve të helmimit me kolkicinë.

Materiali dhe metoda

Eksperimenti u krye tek një individ vullnetar mashkull, i cili mori brenda një intervali kohor 20 ditësh, dy doza kolkicine. Mbas trajtimit urina e tij u grumbullua rregullisht duke filluar që nga koha e trajtimit dhe u dërgua për analizë.

Dozat

Individi i ofruar vullnetarisht morri nga goja dy doza të kolkicinës. Doza e parë ishte 2 mg, ndërsa doza e dytë 4 mg.

Duke mbajtur parasysh faktin se doza kurative ditore tek pacientët është 3 mg nuk pritej ndonjë pasojë e mundshme dhe në fakt individi nuk shfaqti ndonjë shqetësim pas trajtimit.

Marrja e mostrave

Mostrat e urinës u morë në intervale rastësore pas dhënies së dozës. Sasia e urinës për çdo interval ishte e ndryshme. Mostra të urinës normale u përdorën për kontroll dhe për prova të rifitimit.

* Dorëzuar në Redaksi në 8 Prill 1996, miratuar për botim më 14 Janar 1997.

Nga Insituti i Shëndetit Publik, Institut für Toxikologie, Universitaet Zuerich, Switzerland (U.Z., E.P., C.S.)

Adresa për letërkëmbim: E. Panariti Insituti i Shëndetit Publik të Tiranës.

Të gjitha mostrat u ruajtën në konxhelator në rreth - 20°C.

Procedura analitike

5 ml urine u acifikuan me HCl deri në pH 4. Përmbajtja më pas u përzie me 10 ml petrol-eter për dy herë dhe më pas faza organike u derdh.

Faza e mbetur ujore u bazifikua duke shtuar një sasi të kufizuar tretësire amoniakale dhe më pas u krye ekstraktimi i saj për dy herë me 10 ml diklormetan. Përmbajtja në vijim u tha me sulfat natriumi, u filtrua dhe u avullua me një evaporator tip rotativ (P=250 Torr) në 40°C.

Precipitimi i përfutur pas tharjes, u grumbullua me 200 ul të një përzierje kloroform + etanol (1+1PV).

Kromatografia në shtresë të hollë

- Pllakat kromatografike: Kieselgel 60 (pa tregues fluoreshence) Merck.
- Faza lëvizëse: Dietileter (për shmangien e ndërhyrjeve nga lëndë të tjera të spektrit (UV) përpara pikimit të mostrave.

Kloroform/n – Hekzan/Metanol/ tret. Amon. 25%

70 20 10 0.5 PV

Kamera: e ngopur

Standarti: Kolkicine (Sandoz) në përqendrimin 50 ng/ul në tretësirë kloroform+etanol (1+1). Tretësira u ruajt në tretësirë në kufijtë e temperaturave 4-8°C dhe ripërgatitej për çdo javë.

Pasqyra nr.1

Përqendrimet e kolkicinës në urinën e një individi mashkull

Doza 2mg

Nr. mostrave	Koha e marrjes pas dozimit (orë)	Vëllimi total ml	Shkalla e rifitimit %	Përqëndrim i kolkicinës ng/ml	Totali i jashtëqitur në urinë (ug)	Totali i jashtëqitur në % të dozës
1	2.5	310	75	115	36,65	1,8
2	5,25	470	75	37	13,5	0,7
3	7,2	365	75	37	13,5	0,7
4	10,2	250	75	52	13	0,65
5	11,5	210	75	24	5	0,25
6	13,2	330	-	nuk mund të përcaktohet		më pak se 0,1
7	14,3	340	-	nuk mund të përcaktohet		më pak se 0,1

Zbulimi dhe vlerësimi sasior

U krye me anë të një skaneri TLC Camag II (me programin integral Cats 3) në një gjatësi vale 350 nm.

Identifikimi dhe pastërtia e njollave kromatografike

Për secilën njollë që paraqiste interes u përcaktua një diapazon i spektrit që luhatej nga 210-400 nm. Kolkicina ka dy maksimume karakteristike të absorbimit përkatësisht 240 dhe 350 nm(6).

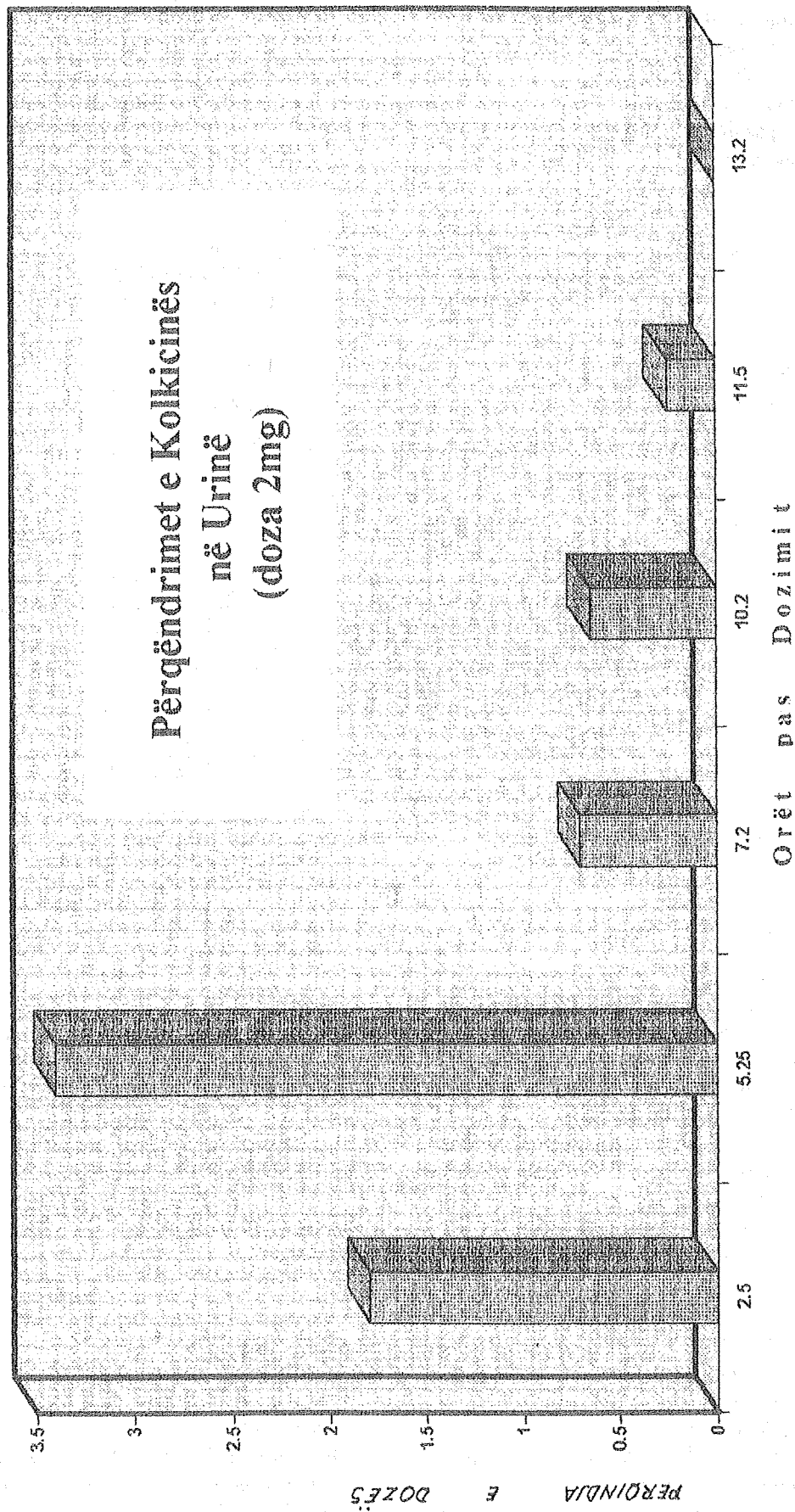
Pllaka kromatografike u nda në 12 korsi. Përpara zhvillimit të testit, pllaka u pastrua në dietil eter. Pikimi I mostrave dhe i standarteve u krye sipas rradhës: 50, 100, 150, 200 ng standart, 2x20 ul për mostrën dhe sërshmi 50, 100, 150, 200 ng për standartin.

Trajtimi i mostrave me β-glukuronidaze

Për mostrat e urinës të grumbulluara pas trajtimit të individit me dozën 4 mg u krye trajtimi me 20ul përzierje enzimatike β-glukuronidaze/alylsulfataze (Boehringer-Mannheim) e cila interferon në metabolizimin e lakaloidit në organizëm. Qëllimi i këtij veprimi është vlerësimi i shkallës së metabolizmit të saj. Pas shtimit të enzimës, mostra e urinës, inkubohet për 24 orë në 37°C dhe më pas trajtohet si mostrat e tjera.

Rezultatet dhe diskutimi i tyre

Të dhënat që lidhen me farmakokinetikën e kolkicinës në urinë, pas dhënjes së dozës 2 mg paraqiten në pasqyrën nr.1



Grafiku nr.1

Përqëndrimet e kolkicinës në urinë

Përqendrimi më i lartë i kolkicinës në urinë arrihet 325 min pas marrjes së saj nga goja, ndërsa 13 orë më pas zbulimi I saj nuk është më i mundur. Në grafikun që vijon jepet një ide më e saktë mbi farmakokinetikën e alkaloidit në urinë (Grafiku nr.1).

Është me interes të theksohet se duke filluar që nga ora e shtatë pas dhënies së dozës për rreth 3 orë ruhen përqendrime relativisht të qëndrueshme të alkoolit.

Përqendrimet e kolkicinës në urinën e një individi mashkull Doza 4 mg (urina e trajtuar dhe e patrajtuar me përzjerje enzimatiqe)

Pasqyra nr. 2

Përqendrimet e kolkicinës në urinën e një individi mashkull Doza 4 mg (urina e trajtuar dhe e patrajtuar me përzjerje enzimatiqe)

Nr. i mos- trave	Koha e marrjes pas dozimit	Vëllimi total	Shkalla e rifitimit	Përqendrimi i kolkicinës		Totali i jashtëqitur në urinë (g)		Shprehur si % e dozës	
				patrajtuar	trajtuar	patrajtuar	trajtuar	patrajtuar	trajtuar
1	135	385	75	95	67	36,6	25,8	9,5	6,5
2	310	375	75	58	59,5	21,8	22,3	5,45	5,7
3	475	145	75	41,5	38,2	6	5,6	1,5	1,4
4	535	315	75	22,5	13,5	7,1	4,3	1,7	1
5	570	180	75	7	3	1,2	0,54	0,3	0,1
6	670	520	75	5,7	8,3	3	4,3	0,75	1
7	1580	320	75	3,3	6,6	3,3	6,63	0,8	1,6

Për dozat e përdorura në studim, kolkicina e pazberthyer mund të përcaktohet në urinë deri në 13 orë pas marrjes së saj nga goja. Presupozohet që për doza helmuese, zbulimi dhe përcaktimi I saj sasiore në urinë mund të bëhet deri në intervalet 20-24 prë pas dozimit. Nga të dhënat e pasqyrës nr.2 shihet qartë, se në mostrat e urinës të trajtuar me përzjerje enzimatiqe, përqendrimet e kolkicinës së pazberthyer janë më të ulëta në krahasim me ato të kolkicinës në mostrat e urinës së patrajtuar me enzimë. Mund të thuhet se një pjesë e kolkicinës,

jashtëqitet nëpërmjet urinës në trajtë metabolitesh. Sipas disa kërkuesve vetëm 30% e saj jashtëqitet në gjendje të pazberthyer (7), ndërsa pjesa tjetër përbëhet nga metabolite. Këto metabolite nuk mund të përcaktohen me teknikën e përkruar me sipër, si rezultat i vetive të tyre të shprehura hidrofile, të cilët e bëjnë të vështirë kalimin e tyre në fazën e diklorometanit gjatë ekstraktimit. Për rrjedhojë sasia e përgjithshme e alkaloidit e jashtëqitur nëpërmjet urinës duhet të jetë më e madhe.

BIBLIOGRAFIA

1. Kingsbury J.M. "Poisonous plants of the USA and Canada, prentice-Hall in. Englewood Cliffs. New-Jersey USA 1994: 449-456.
2. Mc Intyre I.M. "Death following colchicine poisoning" J. Forensic Sci. 1994, 39,1 : 280-286.
3. Radeleff D.R. "Veterinary Toxicology" sec. Edition 1970 : 62-64.
4. Goodman RL, Gilman A.R. "The Pharmacological basis therapeutics" 5 ed Mc Millan Pub. New-York 1985 : 823.
5. Folpini a, Furfori P.. Colchicine toxicity – clinical features and treatment. Massive overdose case report. " J.Toxicol. Clin Toxicol 1995, 33,1 : 71-77
6. Fernandez P., Bermejo A.M. : Determination of

colchicine in biological fluids by reverse phase
HPCL " Variation of colchicin levels in rate. Fo-
rensic Sci Int, 1993, 59;1 :15-18.

7. Rochdi M., Sabouraud A.; "Toxokinetics of col-
chicine in humans : Analysis of tissue, plasma and
urin data in ten cases". Hum, Exp. Toxicol, 1992,
11;6 : 510-516.