مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی – ملکولی
دوره پنجم، شماره هجدهم – بهار ۱۳۹۴

Research Article
مقاله تحقیقی

سنتز کلشیسین نشاندار و بررسی توزیع زیستی آن

مصطفی عرفانی*[۱]، سید پژمان شیرمردی[۱]

۱- استادیار، پژوهشکده کاربرد پرتوها، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، صندوق پستی ۸۳۶-۱۴۳۹۵، تهران- ایران

چکیده

سابقه و هدف: کلشیسین آلکالوئیدی است که از گیاه گل حسرت استخراج شده و به دلیل داشتن خاصیت ضد میتوزی دارای اثرات درمانی در بیماری های نقرس و تب مدیترانه ای می باشد.

مواد و روش ها: ترکیب توسط رادیونوکلید تکنسیوم نشاندار گردید و پس از بررسی توزیع بیولوژیکی در موش، ارگانهای هدف برای آن تعیین شد.

یافته ها: بررسی نتایج نشان دهنده بازده بالای نشان دار سازی برای ترکیب بود. در بررسی توزیع بیولوژیک، برداشت نسبتا سریع از خون همراه با تجمع کلیوی و کبدی سریع دیده شد. ترکیب تجمع یافته در کبد با ترشح فعال کبدی بلافاصله وارد روده شده و نهایتا تجمع در روده کوچک و بزرگ دیده شد. این ارگان ها به عنوان ارگان های هدف نهایی مشخص شدند.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج به دست آمده می توان از این ترکیب نشان دار به عنوان عاملی برای بررسی عملکرد و نحوه پاسخ دهی درمان به داروی کلشیسین به خصوص در نواحی از بدن که فاقد تجمع دفعی می باشند استفاده کرد.

کلمات کلیدی: گل حسرت، کلشیسین، تکنسیوم، توزیع بیولوژیکی

مقدمه

کلشیسین بعنوان یکی از مواد موجود در گل حسرت در درمان بیماری هایی همچون نقرس، تب مدیترانه ای و سرطان استفاده می شود (۱). سه پروتئین نقش حیاتی در فارماکوکینتیک کلشیسین بازی می کنند، گیرنده کلشیسین (توبولین) که نیمه عمر حذف و برداشت پلاسما از دارو را کنترل می کند، سیتوکروم cytochrome P۳A۴ کبدی و روده ای که کلید تبدیل زیستی کلشیسین است، و P-glycopro-tein، پمپ جریان سلولی که توزیع بافتی کلشیسین و دفع آن از طریق مجاری صفراوی و کلیه را تنظیم می کند. کلشیسین موجب کاهش کموتاکسی و فاگوسیتوز گلبول های سفید شده، آزاد سازی گلیکوپروتئین کموتاکتیک در جریان فاگوسیتوز کریستال های اورات را م هار می کند. همچنین می تواند از تولید کلاژن جلوگیری کرده و فرآیند فیبروز کبدی را به تاخیر اندازد. این دارو با تحریک سنتز کلاژناز و تصحیح برخی اختلالات عملکرد لنفوسیت ها و منوسیت ها موجب بهبود سیروز صفراوی می گردد. کلشیسین درصورتی که این ماده بتواند بر اساس خواص فیزیولوژیکی سلول ها و رفتار گیرنده هایشان وارد سلول سرطانی گردد، از اتصال آن ها به هم برای تشکیل سایتواسکلتون ممانعت مینماید بنابراین هم سلول اول و هم سلول جدید هر دو نابود میگردند (۷-۱). مقاومت چند دارویی MDR که حاصل از بیان زیاد پی گلیکوپروتئین (Pgp)، یکی از چالش های عمده‌ی ناکامیابی شیمی درمانی، در درمان سرطان است. کلشیسین و همگون های آن که با ^{99m}Tc نشاندار گردید هاند، ممکن است پتانسیل

آدرس نویسنده مسئول: گروه پژوهشی رادیو داروها، پژوهشکده کاربرد پرتوها، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، سازمان انرژی اتمی ایران

پست الکترونیکی : mgandomkar@aeoi.org.ir

تاریخ دریافت مقاله : ۹۲/۱۱/۲۳

تاریخ پذیرش : ۹۶۳/۷/۷

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-18]

این را داشته باشند که MDR را در تومور ها قابل مشاهده سازند. تری متیل کلشیسینیک اسید که از کلشیسین ساخته شده است، به عنوان پیش ماده برای تهیه‌ی مشتقات ایمینودی استیک اسید و دی تیوکاربامات به کار رفت. در تلاش دیگری که توسط دریشتی ساتپاتی و همکارانش در سال ۲۰۰۶ انجام گرفته است، کلشیسین را با ^{90}Y که یک گسیلنده بتا با انرژی بیشینه ۲.۲۸ MeV نشاندار گردید (۷).

کلشیسین دارای سمیت خاصی برای بدن است و در صورت تجویز مقادیر زیاد، علائم مسمومیت از ۲ تا ۵ ساعت پس از دوز سمی شروع و شامل سوزش در د هان و گلو، تب، استفراغ، اس هال، درد شکم، و نارسایی کلیه می باشد همچنین احتمال ایجاد شوک hypovolemic به علت آسیب شدید عروق و از دست دادن مایع از طریق دستگاه گوارش و در ن هایت مرگ وجود دارد. پادزهر اختصاصی برای کلشیسین وجود نداشته و برخی از م هار کننده های رایج CYP۳A۴ و / یا P-GP، از جمله عصاره گریپ فروت، ممکن است خطر مسمومیت کلشیسین را افزایش دهد. همه این عوارض جانبی می تواند از م هار بیش از حد میتوز منجر شود. بطور کلی این ماده از دستگاه گوارش به سرعت جذب می شود. قسمتی از دارو که تغییر نیافته، ممکن است مجدداً از روده و از مسیر صفراوی جذب شود. بعد از جذب مجدد از روده، به سرعت در بافت های مختلف انتشار می یابد. در گلبول های سفید تجمع می یابد و در کلیه ها، کبد، طحال و مجرای روده انتشار می یابد. تا حدی در کبد متابولیزه می شود. متابولیسم این دارو در بافت های دیگر آهسته است. کلشیسین و متابولیت های آن عمدتاً از طریق مدفوع، و به مقدار کم از طریق ادرار دفع می شوند.

با نشان دار کردن کلشیسین با رادیو نوکلید های گسیل دهنده بتا یا گاما می توان ضمن ردیابی ترکیب برای پیدا کردن بافت های هدف، راه های دفع بیولوژیکی ترکیب را نیز می توان به دست آورد. با دانستن عضو هایی که ترکیب نشان دار در آن ها تجمع می کند و همچنین در نظر گرفتن رادیو نوکلید مناسب که تابش گاما یا بتا داشته باشد محل تجمع می توان مورد شناسایی قرار داده و یا جهت درمان استفاده کرد. با توجه به اینکه کلشیسین با اتصال به میکروتوبول ها در تقسیم سلولی دخالت کرده و مانع از جداسازی رشته های دوک در تقسیم سلولی می شود با نشان دار کردن آن می توان محل تومور ها که دارای تقسیم سلولی بالا می باشند را شناسایی و سپس درمان کرد. بدیهی است در این راستا دانستن مسیر جذب و دفع و همچنین توزیع بیولوژیکی ترکیب برای هدف های ذکر شده بسیار با اهمیت می باشد. زیرا موارد ذکر شده در تعیین روش تصویر برداری و درمان با توجه به اشعه ساطع شده دادای اهمیت خاصی می باشد. هدف این تحقیق، بررسی چگونگی توزیع بیولوژیکی کلشیسین نشان دار با رادیو نوکلید گاما دهنده تکتسیوم می باشد که میتوان از آن به عنوان عامل وضوح در تصویربرداری از سلول های سرطانی استفاده نمود.

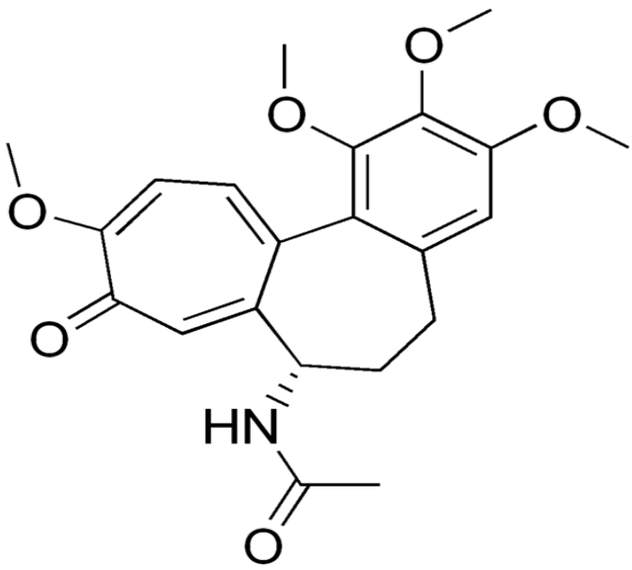
مواد و روش ها

مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت های FLUKA، سانتریفوژ SIG-MA ۶K۱۵ ساخت کشور آلمان و HPLC مدل JASCO ۸۸۰-PU (Japan)) می باشند. رادیونوکلید ^{99m}Tc جهت نشاندارسازی در راکتور تحقیقاتی تهران تولید می شود که از مسیر فعالسازی نوترونی ^{98}Mo بدست می آید.

نشاندارسازی کلشیسین با تکنسیوم–۹۹m

برای نشاندار سازی کلشیسین از رادیونوکلید گسیلنده گاما (تکنسیوم – ۹۹m) استفاده شد و از یک واسطه به نام HYNIC برای اتصال تکنسیوم به کلشیسین استفاده گردیده است.

مقداری $SnCl_2$ را درون محلول ۰/۱ نرمال از HCl افزوده و سپس ۴۰ میکروگرم از HYNIC-deacetylcolchicine به آن اضافه می شود. در ادامه نیز مقدار ۱۵ میلی گرم ترایسین به ۵ میلی گرم EDDA افزوده می شود. مقدار ۲۰۰ میکرولیتر معادل ۲۰ میلی کوری از تکنسیوم – ۹۹m که به شکل TcO_4^- است به این ترکیب اضافه شده و در شرایط ۱۰۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه نگهداشته می شود. مادهی حاصل از نشاندار سازی دارای ساختار شکل (۱) است.



شکل ۱(ساختار شیمیایی کلشیسین

تست پایداری در سرم

برای بررسی پایداری در سرم، ترکیب های مورد نظر را به ۱میلی لیتر از سرم تازه تهیه شده انسانی، افزوده و مخلوط در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نگه داشته شد. در زمان های مختلف ۱۰۰ میکرولیتر از آن

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-18]

را برداشته و به ۱۰۰ میکرولیتر الکل جهت تخریب و رسوب پروتئین های سرم به آن افزوده شده و سپس نمونه به مدت ۱۵ دقیقه در یک سانتریفیوژ با ۳۰۰۰ دور بر دقیقه برای ته نشین کردن پروتئین های سرم قرار داده شد. در ادامه ماده شناور بر روی سطح (Supernatant) را برداشته و اکتیویته آن با اکتیویته فاز ته نشین شده (Sediment) برای محاسبه درصد رادیوپپتید های متصل به پروتئین های سرم مقایسه گردید.

بررسی توزیع بیولوژیکی

بررسی توزیع بیولوژیکی در واقع تعیین میزان دفع رادیوپپتید از خون، میزان و مسیر دفع رادیوپپتید، پایداری درون تنی رادیوپپتید، میزان جذب و نگهداری در بافت های با گیرنده مثبت می باشد، شمارش میزان اکتیویته در بافت های مختلف توسط دستگاه شمارنده چاهی گاما مدل ORTEC Model ۴۰۰۱ M انجام پذیرفتدر این مطالعه انجام آزمایشات حیوانی با توجه به مقررات مرتبط با آزمایشات حیوانی انجام پذیرفت. برای بررسی این قسمت از کار، از موش های نر با وزن تقریبی بین ۲۵ تا ۳۰ گرم استفاده گردید. به این موش ها از ترکیب نشاندار از طریق رگ موجود در دم تزریق شد و سپس طی زمان های ۱، ۴ و ۲۴ ساعت، این موش ها قربانی و اندام های مورد نظر آن ها جدا شده و اکتیویته آن ها شمارش گردید. میزان تجمع رادیودارو در اندام ها با٪ID/g بیان میگردد. نتایج در ۳ موش برای هر ساعت بررسی شده و از آزمون t تست برای بررسی آماری داده ها استفاده شد.

$$\%\,\mathrm{ID/g} = \frac{\frac{\text{Organ Count - B.G}}{\text{Total Count - B.G}}}{W} \times 100 \qquad \text{رابطه (۱)}$$

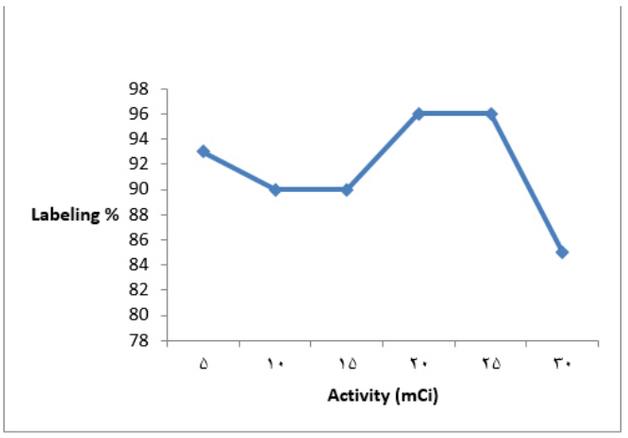
که در آن:

Organ Count: شمارش آشکارساز از عضو مربوطه، Total Count: شمارش آشکارساز از نمونه شاهد، W: وزن عضو مربوطه بر حسب گرم و B.G: شمارش آشکارساز از تابش زمینه است.

یافته ها

بررسی پایداری

نتایج بررسی های بازدهی نشاندارسازی نشان می دهد که ترکیب نشاندار دارای بهترین بازدهی نشاندارسازی برای شرایط ۴۰ میکروگرم کلشیسین و ۲۰ میلی کوری تکنسیوم-۹۹m به دست آمد. نتایج بررسی بازدهی نشاندارسازی برای مقادیر مختلف رادیونوکلید و کلشیسین در شکل ۲ آمده است.

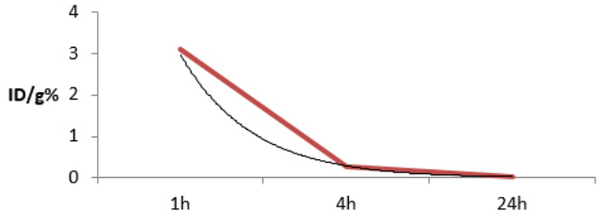


شکل ۲) تغییرات درصد نشاندارسازی با افزایش اکتیویته و مقدار ۴۰ میکروگرم کلشیسین

نتایج بررسی پایداری ترکیبب نشان می دهد که ترکیب مورد نظر دارای پایداری خوبی در سرم دارا بوده بطوریکه پس از ۴ ساعت، ۸۸ درصد و پس از ۲۴ ساعت به ۷۵ درصد به صورت نشان دار باقی مانده بود.

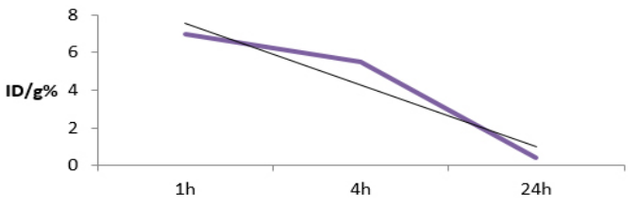
نتایج توزیع بیولوژیکی

نتایج بررسی توزیع بیولوژیکی ترکیب نشاندار نشان می دهد که فرایند نشاندار سازی با صحت کامل انجام پذیرفت و ترکیب مورد نظر گیرنده های سطح تومور را شناسایی نموده است. لذا میزان ٪ID/g برای تومور مقداری قابل ملاحظه می باشد. برداشت نسبتا سریع از خون همراه با تجمع کلیوی و کبدی سریع دیده شد. ترکیب تجمع یافته در کبد با ترشح فعال کبدی بلافاصله وارد روده می گردد و نهایتا تجمع در روده کوچک و بزرگ دیده شد. نتایج توزیع بیولوژیکی در بدن موش بعد از گذشت ۱، ۴ و ۲۴ ساعت در شکل های ۱-۳ تا ۶-۳ نشان داده شده است.

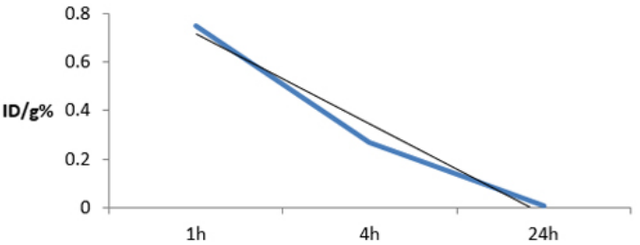


شکل۳-۱) منحنی تمرکز رادیو دارو و تغییرات ٪ID/g در زمان های ۱،۴و ۲۴ ساعت در خون

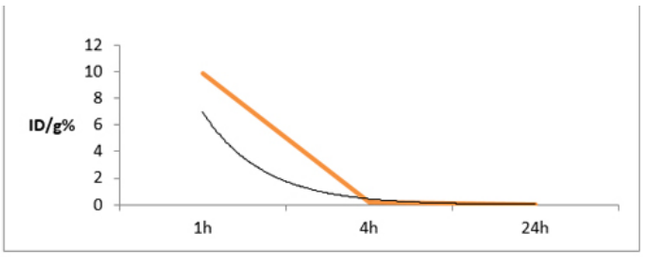
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-18]



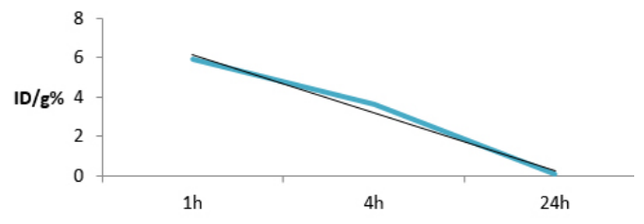
شکل۳-۲) منحنی تمرکز رادیو دارو و تغییرات ID/g٪ در زمان های ۱،۴و ۲۴ ساعت در کلیه ها



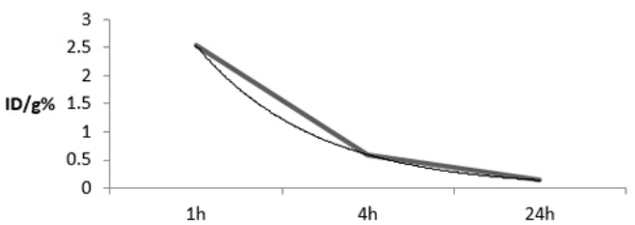
شکل۳-۳) منحنی تمرکز رادیو دارو و تغییرات ID/g٪ در زمان های ۱،۴و ۲۴ ساعت در معده



شکل۳-۴) منحنی تمرکز رادیو دارو و تغییرات ID/g٪ در زمان های ۱،۴و ۲۴ ساعت در روده کوچک



شکل۳-۵) منحنی تمرکز رادیو دارو و تغییرات ID/g٪ در زمان های ۱،۴و ۲۴ ساعت در روده بزرگ



شکل۳-۶) منحنی تمرکز رادیو دارو و تغییرات ID/g٪ در زمان های ۱،۴و ۲۴ ساعت در کبد

بحث

گل حسرت از دیرباز برای درمان بیماری های مختلفی استفاده می شد. یکی از مواد موثر در گل حسرت کلشیسین می باشد. این ماده آلکالوئیدی است که به دلیل داشتن خاصیت ضد میتوزی دارای اثرات درمانی در بیماری های مختلف از جمله سرطان و نقرس می باشد. در این تحقیق، کلشیسین توسط رادیونوکلید تکنسیوم نشاندار گردید و پس از بررسی توزیع بیولوژیکی در موش، ارگان های هدف برای آن تعیین شد. نتایج نشان دهنده بازده بالای نشاندار سازی برای ترکیب بود. در بررسی توزیع بیولوژیک برداشت نسبتا سریع از خون (دز تزریقی در گرم خون در ساعت اول ۲/۷ و در ساعت چهارم ۰/۲۱) همراه با تجمع کلیوی (در ساعت اول ۵/۵۶ ، در ساعت چهارم ۴/۴۱ و در ساعت ۲۴ ام ۰/۳۱) و کبدی (۲/۰۲ در ساعت اول و ۰/۴۸ در ساعت چهارم) سریع دیده شد. ترکیب تجمع یافته در کبد با ترشح فعال کبدی بلافاصله وارد روده می گردد و نهایتا تجمع در روده کوچک و بزرگ دیده شد. این ارگان ها به عنوان ارگان های هدف ن هایی مشخص شدند. با توجه به نتایج به دست آمده می توان از این ترکیب نشان دار به عنوان عاملی برای بررسی عملکرد و نحوه پاسخ دهی درمان به داروی کلشیسین به خصوص در نواحی از بدن که فاقد تجمع دفعی می باشند استفاده کرد.

بطور کلی از نتایج بررسی توزیع بیولوژیکی ترکیب نشاندار مشاهده می شود که ترکیب نشاندار پاکسازی خوبی از خون داشته و تجمع کلیوی کمتر، تجمع بیشتر در روده کوچک، بزرگ و کبدی کمتر مشاهده شد. تجمع تقریبا ۲/۵ درصدی در تومور مقدار مناسبی است و میتواند به عنوان عامل وضوح در تصویربرداری از تومور های سرطانی مطرح باشد. از آنجا که رادیودارو های تشخیصی باید به سرعت از بدن دفع گردند، این رادیودارو دارای پاکسازی از خون سریع میباشد و از این جهت برای تصویربرداری مناسب است.

سی تی اسکن و ام ار ای از جمله روش هایی هستند که برای تشخیص سرطان و محل تومور ها استفاده می شود. در این روش ها از پرتو ایکس و میدان مغناطیسی استفاده می شود و با توجه به میزان عبور اشعه و چگالی بافت به توموری بودن آن و یا اینکه توده ای جدید باشد پی می برند. این روش ها بر پایه آناتومی عضو می باشد و به صورت غیر زنده از بافت گرفته می شود و نمی توانند عملکرد کاری و زنده بودن بافت را نشان دهند. در روش استفاده از ترکیبات فعال که نشان دار شده اند که همان رادیو دارو ها می باشند زنده بودن بافت و عملکرد آن با توجه به جذب پرتو مشخص می شود. استفاده از کلشیسین نشان دار محل های فعال بافتی که ترکیب را به خود جذب کرده و نگهداری می کنند را نشان می دهد که در شناسایی نقاط کوچک فعال و بافت های مرده و غیر فعال بسیار مفید می باشد. در مطالعات قبلی نیز از

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-18]

مشتقات کلشیسین نشان دار برای این منظور استفاده شده است (۷). در مطالعه ای حاضر ساختار کلشیسین با کمترین تغییر نشان دار شده که دفع سریعتر و اکتیویته زمینه ای کمتری نسبت به مشتقات کلشیسین نشان داده شد.

نتیجه گیری

مطالعه انجام شده نشان داد که کلشیسین به صورت دست نخورده با تکنسیوم با بازده بالایی نشان دار شد. در توزیع بیولوژیکی به دست آمده ترشح فعال کبدی و دفع کلیوی در یک ساعت اول مشاهده می شود که در دفع ترکیب و کاهش اکتیویته زمینه ای بسیار موثر است. مجموعه خصوصیات توزیع بیولوژیکی نشان داد که استفاده به عنوان عامل تصویر برداری از تومور ها در یک ساعت اول پس از تزریق با توجه به ترشح فعال کبدی دارای اهمیت می باشد.

سپاسگزاری

از پرسنل آزمایشگاه مطالعات حیوانی و پیش بالینی تشکر و قدر دانی می گردد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-18]

منابع

1. Chen LX, Schumacher HR. “Gout: an evidence-based review”. *J Clin Rheumatol*, 2008; 14 (5 Suppl): S55-62.
2. Ben Chetrit E, Fischel R, Hinz B, Levy M, The effects of colchicines and hydroxychloroquine on the cyclo-oxygenases COX-1 and COX-2. Rheumatol Int 2005;25:332–35.
3. Roberts WN, Liang MH, Stern SH. Colchicine in acute gout. Reassessment of risks and benefits. JAMA 1987;257:1920–22.
4. Wardle NJ, Kalber T, Bell JD, Annie Bligh SW, Synthesis and characterization of a novel tubulin-directed DO3A–colchicine conjugate with potential theranostic features, *Bioorgc & MedChem* lett,2011; 21(11):3346-8.
5. Crielaard BJ, van der Wal S, Le HT, Bode ATL, Lammers T, Hennink WE, Schiffelers RM, Fens M, Storm G, Liposomes as carriers for colchicine-derived prodrugs: vascular disrupting nanomedicines with ailorable drug release kinetics. Eur J Pharm Sci, 2012; 45:428–35.
6. Korde A, Satpati D, Mathur A, Mallia M, Banerjee S, Kothari K, Sarma HD, Choudhari P, Venkatesh M, ^{99m}Tc-labeling of colchicine using $[^{99m}Tc(CO)_3(H_2O)_3]^+$ and $[^{99m}TcN]^{2+}$ core for the preparation of potential tumor-targeting agents” *Bioorg Med Chem*, 2006; 14: 793-79.
7. Satpati D, Korde A, Pandey U, Dhami P, Banerjee S, Venkatesh M, Synthesis and evaluation of 90Y-DOTA-Colchicine conjugate in murine fibrosarcoma model, Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals, 2006;49(11):951-58.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-18]