

การหาค่าอัตราส่วนความเข้มข้น ของยาอีโอฟิลลีน ในน้ำลายกับพลาสมาของคนไทย



นางสาว ชฎารัตน์ อัมพะเสวต

คณบดีวิทยาลัย
วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาคตามหลักสูตรเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ภาควิชาเภสัชเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ.2536

ISBN 974-583-460-2

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

019479. 11787117x

Determination of Saliva-Plasma Concentration Ratio of Theophylline

in Thais



Miss Chadarat Ampasavate

**A Thesis Submitted in Partial Fullfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Pharmacy
Department of Pharmaceutical Chemistry**

Graduate School

Chulalongkorn University

1993

ISBN 974-583-460-2

Copyright of the Graduate School , Chulalongkorn University

Thesis Title **Determination of saliva-plasma concentration
ratio of theophylline in Thais**
By **Miss Chadarat Ampasavate**
Department **Pharmaceutical Chemistry**
Thesis Advisor **Asso.Prof. Phensri Thongnopnua, Ph.D.**



**Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn
University in Partial Fulfillment of the Requirement for the Master's
Degree/**

Thavorn Vajrabhaya.....**Dean of Graduate School**
(Professor Thavorn Vajrabhaya, Ph.D.)

Thesis Committee

Vilai Chunejitbhong.....**Chairman**

(Asso.Prof. Vilai Chunejitbhong, B.Sc.in Pharm.Hons.)

Phensri Thongnopnua.....**Thesis Advisor**

(Asso.Prof. Phensri Thongnopnua, Ph.D.)

Duangchit Panomvana.....**Member**

(Asso.Prof. Duangchit Panomvana Na Ayudhya, Ph.D.)

Jarungchit Ngamphaiboon.....**Member**

**(Assis.Prof. Jarungchit Ngamphaiboon, M.D., Cert in Ped.
Allergy & Immuno.)**

Suwanna Laungchonlatan.....**Member**

(Asso.Prof. Suwanna Laungchonlatan, M.Sc. in Pharm.)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

ชฎารัตน์ อัมพะเสวต : การหาค่าอัตราส่วนความเข้มข้นของยาธีโอฟิลลีน ในน้ำลายกับพลาสมา
ของคนไทย (DETERMINATION OF SALIVA-PLASMA CONCENTRATION RATIO OF
THEOPHYLLINE IN THAIS) อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ.ดร. เพ็ญศรี ทองนพเนื้อ, 125 หน้า
ISBN 974-583-460-2

ค่าอัตราส่วนความเข้มข้นของยาธีโอฟิลลีนในน้ำลายกับพลาสมา นี้ ได้ถูกศึกษาในอาสาสมัคร
ผู้ใหญ่ไทยที่มีสุขภาพแข็งแรง จำนวน 36 คน (เป็นชาย 18 คน และเป็นหญิง 18 คน) ที่มีอายุระหว่าง
20 ถึง 40 ปี ซึ่งได้รับยาธีโอฟิลลีนชนิดเม็ดครั้งเดียวในขนาด 5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัม โดย
ทำการเก็บตัวอย่าง พลาสมา และน้ำลายที่ถูกกระตุ้นด้วยผลึกกรดซิริก ที่เวลา 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0,
4.0, 6.0, 8.0 และ 12.0 ชั่วโมง หลังจากการบริหารยา และทำการวิเคราะห์หาปริมาณ ภายในหนึ่ง
สัปดาห์ โดยเทคนิคทางไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิกวิดโครมาโทกราฟีที่ปรับปรุง และผ่านการประเมินประสิทธิ
ภาพของวิธีวิเคราะห์ จากการทดสอบทางสถิติพบว่า ความเข้มข้นของระดับยาธีโอฟิลลีนในพลาสมา กับใน
น้ำลายมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ ($r=0.81$, $p<0.001$) พบว่าอัตราส่วนความเข้มข้นของยา
ธีโอฟิลลีนในน้ำลายกับพลาสมา โดยเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 0.57 ± 0.14 โดยไม่ขึ้นกับ เพศ นิสัยการสูบบุหรี่
และเวลาที่ทำการเก็บตัวอย่าง ยกเว้น เวลาที่ 0.5 ชั่วโมง หลังจากการบริหารยา

นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาเบื้องต้นถึงการนำค่าอัตราส่วนที่ได้รับนี้ไปประยุกต์ใช้กับผู้ป่วยที่เป็น
โรคหืด จำนวน 12 คน พบว่าระดับยาธีโอฟิลลีนในพลาสมาที่ได้จากการคำนวณ มีความสัมพันธ์กับระดับยา
ธีโอฟิลลีนในพลาสมาที่ได้จากการวิเคราะห์จริง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($r=0.95$, $p<0.001$) และ
ค่าอัตราส่วนของความเข้มข้นของยาจากการคำนวณ ต่อความเข้มข้นจากการวิเคราะห์ โดยเฉลี่ยเท่ากับ
 1.385 ± 0.208 ในการที่จะนำค่าอัตราส่วนความเข้มข้นของยาธีโอฟิลลีนมาใช้ในผู้ป่วยไทยได้นั้นควรที่จะ
มีการศึกษา ค้นคว้าเพิ่มเติมในผู้ป่วยมากขึ้น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาควิชา เกสัชเคมี
สาขาวิชา เกสัชเคมี
ปีการศึกษา 2536

ลายมือชื่อนิสิต
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม —

C475110 : MAJOR PHARMACEUTICAL CHEMISTRY
KEY WORD: THEOPHYLLINE IN THAIS / SALIVA-PLASMA RATIO

CHADARAT AMPASAVATE : DETERMINATION OF SALIVA-PLASMA CONCENTRATION
RATIO OF THEOPHYLLINE IN THAIS. THESIS ADVISOR : ASSO.PROF.
PHENSRI THONGNOPNUA, Ph.D. 125 pp. ISBN 974-583-460-2

The saliva-plasma concentration ratio of theophylline was determined from mixed saliva and plasma of 36 healthy Thai adult volunteers, (18 males and 18 females) with the ages ranged from 20 to 40 years, receiving single oral doses of 5 milligram per kilogram body weight of conventional theophylline tablet. Simultaneous plasma and citric acid-stimulated mixed saliva samples were collected at 0,0.5,1.0,1.5,2.0,4.0,6.0,8.0, and 12.0 hours after drug administration and analyzed within one week. The analytical method utilized was the isocratic reversed-phase HPLC technique which was modified and validated under this laboratory condition. The statistically significant correlation between plasma and saliva theophylline concentration was observed ($r=0.81, p<0.001$). The mean saliva-plasma ratio was determined to be 0.57 ± 0.14 . The value was proven to be independent upon sex, smoking habit and sampling time excluding the data from 0.5 hour after drug administration.

Additionally, the preliminary application of this obtained ratio to 12 asthmatic patients was also studied. The statistical correlation between the calculated plasma and analyzed values was indicated ($r=0.95, p<0.001$). For which the average calculated-to-analyzed proportionality was equal to 1.385 ± 0.208 . To fulfill the need for using saliva-plasma concentration ratio in routine theophylline monitoring of Thai patients, it is suggested that more involved patients should be investigated.



ภาควิชา.....เภสัชเคมี

สาขาวิชา.....เภสัชเคมี

ปีการศึกษา.....2536

ลายมือชื่อนิสิต *Chadarat Ampasavate*

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา *Phensri Thongnopnu*

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

ACKNOWLEDGEMENTS

I wish first to express my deep indebtedness and profound gratitude to my excellent advisor, Associate Professor Dr. Phensri Thongnopnua, for her valuable guidance, extremely pay attention, continual understanding and encouragement throughout my study.

I would like to thank Associate Professor Suttatip Chantaraskul and the staff of Pharmaceutical Chemistry Department for their useful suggestion and helpful assistance.

My sincere appreciation is given to Assistant Professor Jarungchit Ngamphaiboon, M.D. , Department of Pediatrics and Assistant Professor Somkiat Wongtim, M.D. , Department of Medicine, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University and their staff for their grateful assistance and co-operation in clinical work.

I would like to thank Plasma Division, Thai Red Cross Society for generously supported plasma for using in the analytical method part.

I am hearthfully grateful and indebted to my kind and lovely volunteers and patients who entered to my research with the grate willingness.

I gratefully appreciated to Mr. Naruebodee Phadungsombat , Mr. Wiphoosit Limwong and other lovely friends for spending their private time, giving a helping hand and appreciate friendship, I shall

never forget.

My deeply appreciate is given to Mr. Peerapong Duangratana for his continual helping, encouragement and care.

Finally, my deepest gratitude goes to my parents for their endless love, cheerfulness, understanding and supporting throughout my graduate study.

Chadarat Ampasavate



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



CONTENTS

	Page
THAI ABSTRACT.....	iv
ENGLISH ABSTRACT.....	v
ACKNOWLEDGEMENTS.....	vi
LIST OF TABLES.....	ix
LIST OF FIGURES.....	xi
LIST OF ABBREVIATIONS.....	xv
CHAPTER	
I. INTRODUCTION.....	1
- Objective.....	7
- The Significance of the Study.....	7
II. MATERIALS and METHODS.....	8
- Materials.....	8
- Methods.....	13
- Analytical Method for Theophylline.....	14
- Experiment in Volunteers.....	23
- Data Analysis.....	25
- Application to Patients.....	26
III. RESULTS AND DISCUSSION.....	28
IV. CONCLUSION.....	107
REFERENCES.....	109
APPENDICES.....	119
VITA.....	125

LIST OF TABLES

Table No.	Page
1 Physicochemical properties of theophylline and theophylline homologues used in internal standard selection.....	16
2 Signal to noise ratio (S/N) of spiked theophylline in plasma and saliva at theophylline concentration of 200 ng./ml.....	36
3 Physical recoveries of theophylline in plasma..	40
4 Physical recoveries of β -Hydroxyethyl theophylline in plasma.....	41
5 Physical recoveries of theophylline in saliva....	42
6 Physical recoveries of β -Hydroxyethyl theophylline in saliva.....	43
7 Analytical recoveries of theophylline in plasma.	45
8 Analytical recoveries of theophylline in saliva...	46
9 Within-run precision of theophylline in plasma (n=3).....	47
10 Within-run precision of theophylline in saliva (n=3).....	48
11 Between-run precision of theophylline in plasma (n=6).....	49
12 Between-run precision of theophylline in saliva (n=6).....	50

Table No.	Page
13 Cmax and Tmax of theophylline in plasma and saliva of male subjects.....	89
14 Cmax and Tmax of theophylline in plasma and saliva of female subjects.....	90
15 Comparative data of Cmax value between male and female using Student's t-test.....	92
16 Comparative data of Tmax value between male and female and between plasma and saliva using Student's t-test.....	93
17 The two-way ANOVA output of the saliva-plasma theophylline concentration ratio by using statistical package SPSS/PC+.....	101
18 The individual data of application to patients.....	105



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF FIGURES

Figure No.	Page
1 The UV spectrum of theophylline aqueous solution.....	29
2 The UV spectrum of β -Hydroxyethyl theophylline (IS) in methanol.....	30
3 Chromatograms from the internal standard selection.....	31
4 Calibration curve of spiked theophylline standard solution in plasma.....	34
5 Calibration curve of spiked theophylline standard solution in saliva.....	35
6 Chromatogram showed the specificity of the analytical method for theophylline in plasma...	37
7 Chromatogram showed the specificity of the analytical method for theophylline in saliva.....	38
8 The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No. 1.....	53
9 The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No. 2.....	54
10 The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No. 3.....	55
11 The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No. 4.....	56

Figure No.	Page
12 The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No. 5.....	57
13 The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No. 6.....	58
14 The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No. 7.....	59
15 The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No. 8.....	60
16 The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No. 9.....	61
17 The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No.10.....	62
18 The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No.11.....	63
19 The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No.12.....	64
20 The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No.13.....	65
21 The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No.14.....	66
22 The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No.15.....	67
23 The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No.16.....	68

Figure No.		Page
24	The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No.17.....	69
25	The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No.18.....	70
26	The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No.19.....	71
27	The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No.20.....	72
28	The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No.21.....	73
29	The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No.22.....	74
30	The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No.23.....	75
31	The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No.24.....	76
32	The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No.25.....	77
33	The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No.26.....	78
34	The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No.27.....	79
35	The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No.28.....	80

Figure No.	Page
36 The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No.29.....	81
37 The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No.30.....	82
38 The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No.31.....	83
39 The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No.32.....	84
40 The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No.33.....	85
41 The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No.34.....	86
42 The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No.35.....	87
43 The plasma and saliva theophylline concentration-time profile of subject No.36.....	88
44 The average plasma and saliva theophylline concentration-time profile of male volunteers....	97
45 The average plasma and saliva theophylline concentration-time profile of female volunteers	98
46 The correlation between saliva and plasma theophylline concentration of all data points (n=324).....	100
47 The correlation between analyzed and calculated theophylline concentration in plasma.....	106

LIST OF ABBREVIATIONS

mcg.	microgram
mcl.	microlitre
mg.	milligram
ml.	millilitre
g.	gram
kg.	kilogram
nm.	nanometre
mcm.	micrometre
mm.	millimetre
min.	minute
hr.	hour
M.	molar
cc.	cubic centimetre
%	percent
w/v	weight by volume
wt.	weight
psi.	pound per square inch
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IS	Internal Standard
H ₂ O	water
EtOH	ethanol
CHCl ₃	chloroform
sol.	soluble
m.p.	melting point
I.D.	internal diameter
α	alpha

β	beta
λ	lamda
UV	ultra violet
\bar{X}	mean
S.D.	standard deviation
C.V.	coefficient of variation
S.E.M.	standard error of mean
$^{\circ}\text{C}$	degree Celcius
yr.	year
p	probablility
<	less than
>	more than
conc.	concentration
ng.	nanogram

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย