

테오필린과 그 대사체의 HPLC 동시 정량 및 신(腎) 배설 특성

구효정 · 심창구[†] · 이민화 · 김신근

서울대학교 약학대학
(1991년 2월 20일 접수)

HPLC Assay and Renal Excretion Characteristics of Theophylline and Its Metabolites in Rat

Hyo-Jeong Kuh, Chang-Koo Shim[†], Min-Hwa Lee and Shin-Keun Kim

Department of Pharmaceutics, College of Pharmacy, Seoul National University

(Received February 20, 1991)

A high-performance liquid chromatographic (HPLC) method was developed for the simultaneous determination of theophylline(TP) and its metabolites, 1-methyluric acid (1-MU) and 1,3-dimethyluric acid (1,3-DMU), in rat plasma and urine. An 100 μ l aliquot of a plasma or urine sample was mixed with 250 μ l of acetonitrile and vortexed. After centrifugation, 200 μ l (plasma) or 20 μ l (urine) aliquot of the supernatant was dried by N₂ stream and redissolved in 100 μ l (plasma) or 200 μ l (urine) of the mobile phase. A 20 μ l of the mobile phase solution was injected onto a C₁₈ reversed-phase column. The column was maintained at 45°C by the aid of electric heating jacket. The mobile phase was a 3%(v/v) methanol solution in deionized water which contains sodium acetate (100 mM) and tetrabutyl ammonium hydroxide (4 mM). pH of the mobile phase was adjusted 4.5 by the addition of acetic acid. Detection limits for TP, 1-MU, and 1,3-DMU in plasma were 0.2, 0.1 and 0.1 μ g/ml, respectively and the corresponding values in urine were all 5 μ g/ml. Inter- and intra-day variability of the assay for all compounds in the plasma samples was less than 5.5 and 3.8%, respectively. The retention times for 1-MU, 1,3-DMU, and TP were approximately 7, 8.5 and 18 min, respectively. Sample preparation procedure used in this method was simple, rapid and reproducible. Renal clearance of TP and its metabolites in rats showed plasma concentration dependency indicating renal tubular secretion and reabsorption of them.

Keywords—HPLC, theophylline, 1-methyluric acid (1-MU), 1,3-dimethyluric acid (1,3-DMU), nonlinear renal clearance, renal tubular secretion

테오필린은 기관지 천식 및 미숙아의 호흡곤란 치료에 널리 쓰이고 있는 약물이다. 그러나 그 치료 혈중 농도범위는 성인의 경우 10-20 μ g/ml, 어린이의 경우 5-10 μ g/ml로 상당히 좁은편이며 과잉 투여시의 부작용 또한 심하다.¹⁾

테오필린은 대부분이 간에서 xanthine oxidase에 의해 3-methylxanthine(3-MX), 1,3-dimethyluric

acid(1,3-DMU) 및 1-methyluric acid(1-MU)로 대사되며^{2,3)} 미숙아에서는 성인에 비해 많은 양이 카페인으로 대사되기도 한다.¹⁾ 테오필린은 그 대부분이 간에서 대사를 통해 소실되며 뇨로의 배설은 15% 미만이나¹⁾ 대사체들은 대부분이 신장을 통해 배설된다. 대사체중 3-MX는 기관지 평활근을 이완시켜 테오필린의 기관지 천식 및 호흡곤란 치료에 어느

[†]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

정도 기여한다고 보고되어 있다.^{4,5)} 또한 1,3-DMU는 기니픽 trachea의 평활근을 이완시키며 3-MX와 1,3-DMU가 기니픽에서 심장 수축성을 증가시킨다고 보고되어 있다.^{4,5)}

대사체들의 이러한 약리활성으로 인해 테오필린의 약리효과와 체내동태와의 관계를 연구할 때 모체 약물과 함께 그 대사체의 체내동태를 파악하는 것이 중요하다고 생각된다. 본 연구에서는 랫트에서의 대사체인 1-MU와 1,3-DMU 및 모약물인 테오필린 동시정량 및 노배설기전을 규명하고자 하였다.

테오필린 및 그 대사체의 정량방법에 대해서는 여러 논문이 있지만¹⁶⁻²⁹⁾ 그들의 대부분이 그라디언트 유출계를 쓰고 있고 또한 번거롭고 복잡한 추출방법을 쓰고 있다. 더욱이 1회 분석시간이 길고 분리능이 나쁘다는 등의 문제가 있어서, 본 연구에서는 시료처리시간과 HPLC 분석시간이 짧은 정량방법을 개발하고자 하였다. 본 연구에서는 위스타계 랫트를 사용하였으며 이 동물에서 테오필린은 대체로 1-MU 및 1,3-DMU로 대사됨에 따라 정량방법에서도 1-MU, 1,3-DMU 및 테오필린의 분리 정량에 중점을 둔 HPLC 동시정량 방법을 개발하여, 그 대사체의 신클리어란스의 농도의존성 등을 검토하여 사람에서의 테오필린의 신장 배설에 대한 정보를 추가하고자 하였다.⁶⁾

실험 방법

시약 및 기기

테오필린, dyphylline(디필린), 1-methyluric acid, 1,3-dimethyluric acid, tetrabutylammonium hydroxide(40% aqueous solution), *dl*-트립토판, *l*-시스테인 및 이눌린(Sigma사 미국)과 HPLC용 메탄올 및 아세트니트릴(Merck, Darmstadt)을 사용하였으며 그 외에 초산, 초산나트륨, 수산화나트륨, 황산, 황산아연 등은 특급 시약을 사용하였다.

HPLC 기기로는 Spectra Physics사의 등속펌프(SP 8810 precision isocratic pump)와 Applied Biosystem사의 757 UV-variable detector, Erma사의 Degasser ERC-3310을 사용하였다. HPLC 칼럼으로는 RP-18 Speri 5 5 μ m(Brownlee Labs, U.S.A.)에 μ Bondapak C-18/Corasil이 충전된 프리칼럼을 연결하여 사용하였다. 가온용 칼럼 자켓트는 和仁기기

(서울)로부터 주문 제작하여 사용하였으며, 동물실험시 등속주입을 위해 주입펌프(Natsume, Tokyo, Japan)를 사용하였다.

HPLC에 의한 테오필린의 정량

테오필린 및 1-MU, 1,3-DMU의 저장용 원액은 최소량의 1 N-NaOH 수용액을 사용, 각각 200 μ g/ml의 메탄올 용액으로 만들어 -20°C 냉동고에 보관하였다.

표준시료는 혈장의 경우 테오필린은 0.2-32.0 μ g/ml, 1-MU는 0.1-32.0 μ g/ml, 1,3-DMU는 0.1-32.0 μ g/ml의 농도범위로 만들어 실험하였으며 뇨시료의 경우 테오필린, 1-MU 및 1,3-DMU 모두 5.0-400 μ g/ml의 농도범위에서 실험, 그 정량성을 확인하였다. 이동상은 탈 이온수에 100 mM의 초산나트륨, 4 mM의 tetrabutylammonium hydroxide와 30 ml/l의 메탄올을 혼합 용해시키고 여기에 초산을 가하여 pH를 4.5로 조절하고 0.45 μ m 필터로 여과한 후 초소니케이터로 脫氣하여 사용하였다.

검출기의 파장은 280 nm로 고정하였고, 칼럼의 온도는 자켓트를 이용하여 45 \pm 1°C로 유지하였다. 유속은 1.0 ml/min으로 하고 이 때의 압력은 100 bar 정도였으며, aufs는 0.005, 차트속도는 2 mm/min로 하고 두 개의 기록계를 이용하였다. 총조작시간은 20분 이었으며 피크 높이를 측정하여 농도로 환산하였다.

혈장 및 뇨 시료에 대해 추출회수를 실험을 행하였다. 3개의 같은 시료를 추출하여 HPLC로 분석하고, 또 다른 3개의 같은 시료를 수용액으로 만들어 HPLC로 분석하였다.

분석회수율은 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{회수율(\%)} = \frac{\text{혈장 또는 뇨 시료의 피크 높이}}{\text{수용액의 평균 피크 높이}} \quad (1)$$

일내(日內) 변동과 일간(日間) 변동은 연속 3일간 실험하였는데 표준시료 1은 저농도 시료로서 1-MU, 1,3-DMU 및 테오필린을 각각 0.5, 0.5 및 3.0 μ g/ml의 농도로 하였고 표준시료 2는 고농도 시료로서 각각 3.0, 5.0 및 25.0 μ g/ml의 농도로 하여 실험하였다.

혈장중 농도 분석: 혈장시료 100 μ l를 시험관에 취해 250 μ l의 아세트니트릴을 가하고 1분간 혼합하여 제단백한 후 5000 rpm에서 10분간 원심분리

하였다. 이 상층액 중 200 μ 를 취하여 다른 시험관에 옮기고 이를 40°C 수욕에서 질소를 통해 증발 건조시켜 잔사로 남겼다. 여기에 이동상 100 μ 를 가해 2분간 충분히 혼합한 후 이 최종액 중 20 μ 를 HPLC에 주사하여 분석하였다.

뇨중 농도 분석: 뇨 시료 100 μ 에 아세트니트릴 250 μ 를 가하고 30초간 혼합한 후 5000 rpm에서 10분간 원심분리 하였다. 원심분리된 상층액 중 20 μ 를 취해 다른 시험관에 옮기고 이에 이동상 200 μ 를 가하여 30초간 혼합하였다. 이 최종액 중 20 μ 를 HPLC에 주사하여 분석하였다.

혈장중 이눌린 정량

Waugh 등의 방법¹³⁾을 약간 개량하여 사용하였다. 혈장시료 100 μ 에 증류수 200 μ 를 가하고 ZnSO₄ 용액(10.01 g/ml) 100 μ 와 0.5 N-NaOH 용액 100 μ 를 가하여 30초간 혼합한 후 3000 rpm에서 10분간 원심분리 하였다. 이 상층액 중 200 μ 를 취하여 1.8 N-NaOH 용액 200 μ 를 가하고 30초간 혼합하였다. 이를 100°C 수욕상에서 정확히 10분간 끓인 후 실온에서 약 5분간 방치 냉각시켰다. 빙욕상에서 70 v/v% 황산용액 3 ml를 가하고 염산시스테인/트립토판액(17g and 400 mg/l) 0.3 ml를 가하여 혼합한 후 56°C 항온조에서 25분간 진탕하였다. 이와 같이 배양한 후 실온까지 냉각시키고 515 nm에서 UV 흡광도를 측정하였다.

뇨중 이눌린 정량

뇨 시료 100 μ 에 증류수 2 ml를 가하여 혼합한 후 그 중 100 μ 를 취하여 ZnSO₄ 용액 500 μ 와 0.5 N-NaOH 용액 500 μ 를 가했다. 이를 30초간 혼합하고 3000 rpm에서 10분간 원심분리했다. 원심분리한 상층액 50 μ 를 취해 여기에 1.8 N-NaOH 용액 100 μ 를 넣고 30초간 혼합하였다. 이 후의 과정은 발생과정으로서, 혈장에 대한 과정과 동일하게 실험하였다.

실험동물 및 동물 실험방법

물(상수)과 사료(삼양사)를 자유로이 공급하면서 사육한, 체중 250~350g의 웅성 위스타 랫트(서울대 사육장)를 사용하였다.

랫트를 에테르 가볍게 마취시킨 후 좌측 대퇴부 동맥 및 정맥에 폴리에틸렌 튜브를 삽관한 후, 개복하여 좌우측 수뇨관에 PE-10 카테터를 삽입하고 고정하였다. 수술이 끝난 후 한 마리당 21 mg의

이눌린을 정맥주사하고 곧이어 3% 만니톨 생리식염수에 18 mg/ml로 이눌린을 용해시킨 액을 주입 펌프를 이용하여 1.0 ml/hr의 속도로 등속 주입하였다. 계속 등속 주입하면서 뇨가 좌우 양측 카테터로부터 잘 나오는 것을 확인한 후 좌측 대퇴부 정맥을 통해 6 mg/kg(랫트 A, B, D) 및 9 mg/kg(랫트 C, E)으로 테오필린을 정맥주사 하였다. 계속해서 상기한 이눌린-만니톨 생리식염수 용액을 등속 주입하면서 0~1, 1~2, 2~4, 4~6 및 8~10 시의 시간별로 집뇨하였으며 그 중간시점인 0.5, 1.5, 3, 5, 7 및 9시간에 채혈하였다. 채혈시에는 약 500 μ 의 혈액을 마이크로튜브에 받아서 8000 rpm에서 1분간 원심분리하여 분리한 혈장 중 100 μ 는 테오필린과 그 대사체의 HPLC 정량분석을 위해, 또 100 μ 는 이눌린 정량분석을 위해 뇨 시료와 함께 분석시까지 -20°C 냉동고에 보관하였다. 뇨의 용량은 뇨의 비중을 1.0으로 하여 뇨의 중량으로부터 환산하였다.

뱀클리어런스(CL_r)의 측정

테오필린 1-MU 및 1,3-DMU의 CL_r는 (2)식에 의하여 구하였으며 동시에 투여한 이눌린의 CL_r값(즉 GFR)도 이 식에 따라 구하여 세 물질에 대한 CL_r값과 비교 검토하였다.

$$CL_r = \frac{U \times V}{P \times \Delta t} \quad (2)$$

CL_r: 뱀 클리어런스(ml/hr)

U: 뇨중농도(μ g/ml)

V: 뇨량(ml)

P: 채뇨시간 중간 시점에서의 혈장중농도(μ g/ml)

Δt : 채뇨한 시간간격(hr)

실험결과 및 고찰

HPLC 조건의 검토

Fig. 1과 Fig. 2에는 랫트, 토끼 및 사람의 대조혈장과 테오필린, 1-MU, 1,3-DMU 및 디필린을 스파이킹한 랫트혈장에 대한 크로마토그램을 나타내었다. 각 물질의 피크 출현시간은 1-MU=6.7분, 1,3-DMU=8.5분 TP=18분 디필린=15.2분이었다. 각 물질의 분리상태는 양호하였으며 이로부터 필요하다면 디필린을 내부표준물질로 사용할 수 있음을

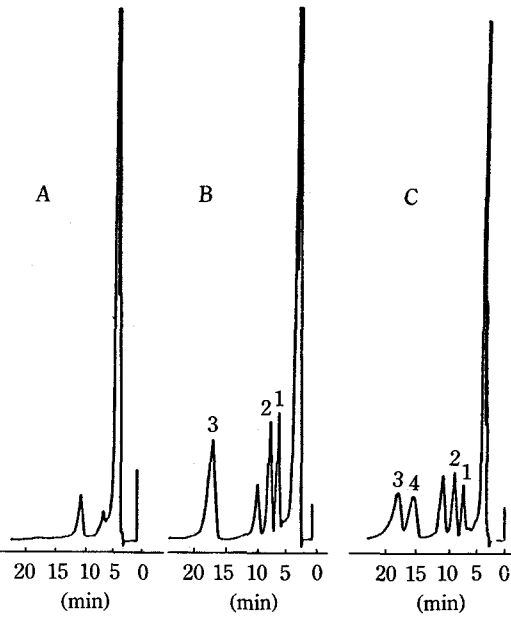


Figure 1—Chromatograms of: (A) blank rat plasma; (B) rat plasma spiked with theophylline and its metabolites; (C) rat plasma spiked with theophylline, its metabolites and dyphylline as an internal standard. Peaks: 1=1-MU; 2=1,3-DMU; 3=Theophylline; 4= Dyphylline.

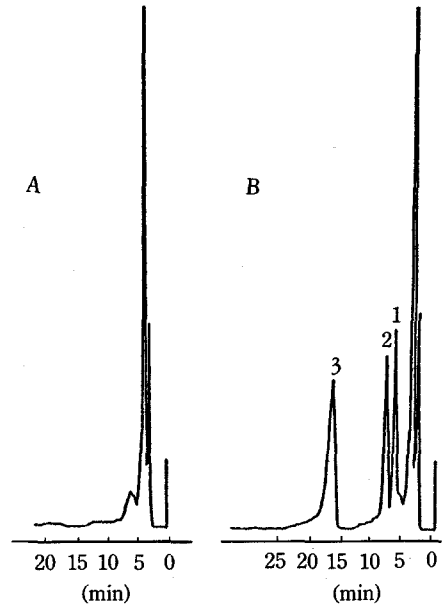


Figure 3—Chromatograms of: (A) blank rat urine; (B) rat urine spiked with theophylline and its metabolites. Peaks: 1=1-MU; 2=1,3-DMU; 3=Theophylline.

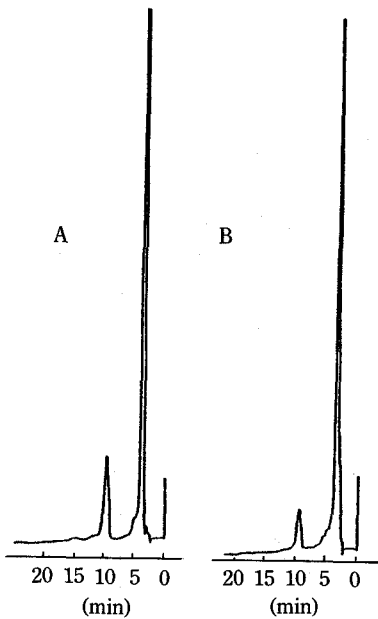


Figure 2—Chromatograms of: (A) blank rabbit plasma; (B) blank human plasma.

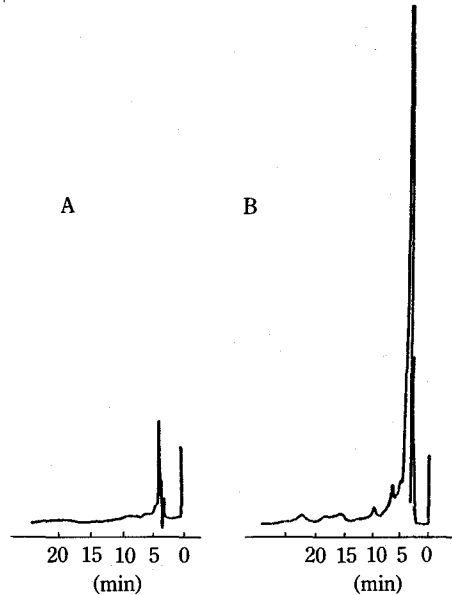


Figure 4—Chromatograms of: (A) blank rabbit urine; (B) blank human urine.

알았다. 본 실험에서는 내부표준물질 없이도 양호한 결과를 얻을 수 있었기에 디필린을 사용하지 않았다. Fig. 3과 Fig. 4에는 랫트, 토끼 및 사람의 뇨에 대한

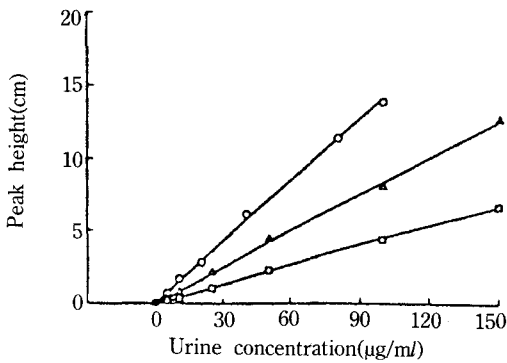


Figure 5—The relationship between peak height and plasma concentration of (○) 1-MU, (△) 1,3-DMU, and (□) theophylline in the rat.

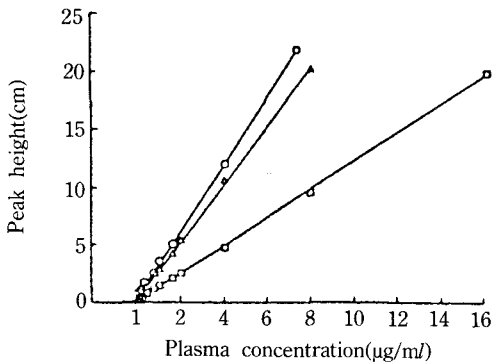


Figure 6—The relationship between peak height and urinary concentration of (○) 1-MU, (△) 1,3-DMU, and (□) theophylline in the rat.

크로마토그램을 실었다.

크로마토그램에서 보듯이 랫트의 혈장 및 뇨에서 연구대상인 세 물질의 분리 및 정량에는 문제가 없으며 또한 토끼의 혈장과 뇨 및 사람혈장에서의 분리 정량 또한 가능함을 알 수 있었다. 즉 랫트, 토끼 및 사람혈장 내의 테오필린 및 1-MU, 1,3-

Table I—Extraction recovery and sensitivity limits of the assay in plasma.

Compound	Concentration added(µg/ml)	Recovery ^a (%)	Sensitivity limit(µg/ml)
1-MU	5.00	49.75 ± 0.58	0.1
1,3-DMU	5.00	74.51 ± 1.31	0.1
Theophylline	10.00	68.49 ± 1.60	0.2

^aMean ± S.E. of triplicate samples.

Table II—Extraction recovery and sensitivity limits of the assay in urine.

Compound	Concentration added(µg/ml)	Recovery ^a (%)	Sensitivity limit(µg/ml)
1-MU	100.0	Not determined	5.0
1,3-DMU	100.0	98.69 ± 2.06	5.0
Theophylline	200.0	103.64 ± 2.52	5.0

^aMean ± S.E. of triplicate samples.

DMU의 피크가 잘 분리되었다. 다만 사람의 뇨에서는 1,3-DMU는 잘 분리되었으나 1-MU는 미지 피크와 출현시간이 비슷하므로 이점에 있어서는 계속적인 연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다.

전형적인 검량선은 Fig. 5와 Fig. 6에 나타내었다. 내부표준물질을 사용하지 않고도 좋은 직선성을 나타내었다. 혈장 및 뇨로부터의 추출회수를 실험결과를 Table I 및 II에 나타내었다. 혈장시료의 회수율은 Kester 등의 연구논문²⁾에 발표된 값, 즉 테오필린(8.12 µg/ml) : 76.0%, 1-MU(3.12 µg/ml) : 77.9% 및 1,3-DMU(6.10 µg/ml) : 74.2%와 비슷한 값을 나타내었다.

일내 또는 일간변동 실험은 회수율이 낮은 혈장 시료에 대해서만 실험하였는데 그 결과는 각각 Table III 및 IV와 같다. 실험결과 세 물질에 대한 C.V. (변동계수)는 일내변동의 경우 3.8% 이하로, 일간

Table III—Interday variability of the assay in plasma samples.

Compound	Standard 1		Standard 2	
	Concentration ^a (µg/ml)	C.V. ^b (%)	Concentration ^a (µg/ml)	C.V. ^b (%)
1-MU	0.52 ± .016	3.09	2.53 ± 0.11	4.25
1,3-DMU	0.48 ± .015	3.07	3.92 ± 0.19	4.77
Theophylline	2.95 ± .099	3.36	24.67 ± 1.35	5.46

^aMean ± S.D. of five replicates.

^bCoefficient of variation.

Table IV—Intraday variability of the assay in plasma samples.

Compound	Standard 1		Standard 2	
	Concentration ^a ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	C.V. ^b (%)	Concentration ^a ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	C.V. ^b (%)
Day 1				
1-MU	0.52 ± .018	3.50	2.51 ± .040	1.60
1,3-DMU	0.48 ± .023	4.72	3.87 ± .047	1.21
Theophylline	2.97 ± .056	1.87	24.21 ± .31	1.28
Day 2				
1-MU	0.53 ± .010	1.89	2.65 ± .022	.84
1,3-DMU	0.49 ± .011	2.17	4.11 ± .025	.60
Theophylline	3.04 ± .047	1.55	26.19 ± .17	.64
Day 3				
1-MU	0.50 ± .010	2.01	2.44 ± .087	3.58
1,3-DMU	0.46 ± .012	2.69	3.74 ± .14	3.71
Theophylline	2.84 ± .096	3.38	23.61 ± .89	3.77

^aMean ± S.D. of five replicates.

^bCoefficient of variation.

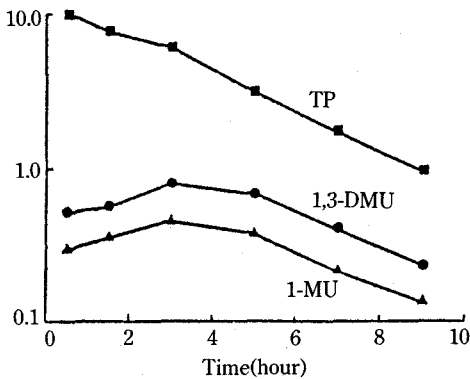


Figure 7—Plasma concentration versus time profiles of TP (■), 1,3-DMU (●) and 1-MU (▲) after an i.v. bolus administration of theophylline 6 mg/kg, to a rat.

변동의 경우 5.5% 이하로 나타났다.

테오필린 및 그 대사체의 혈장중 및 뇨중 농도의 동시 정량에는 여러 가지 난점이 있다. 등속유출(isocratic) 조건에서는 분리능이 떨어지며 분석시간이 길어진다.^{14,15)} 이 문제는 gradient 유출프로그램과 이온대 형성반응을 이용함으로써 개선할 수 있는데, 이러한 방법을 이용한 뇨중 정량방법 중 Tang-Liu와 Riegelman의 방법¹⁹⁾이 가장 예민하고 선택적이다. 그러나 이 방법은 추출조작이 복잡하고 HPLC 분석시간(74분)이 매우 길다. 이러한 점에서

생각할 때, 본 연구의 정량방법은 혈장과 뇨에 대해서 동일한 정량조건을 쓴다는 점, 정량성 및 감도한계가 좋다는 점으로 볼 때 동물실험에 적용될 수 있다고 생각된다.

본 정량방법을 사용하여 실험한 혈장 데이터의 한 예를 Fig. 7에 실었다. 많은 논문에서 발표되었듯이¹⁻³⁾ 두 대사체의 혈장중 농도 곡선에서 소실상이 테오필린의 소실상과 평행하게 나타나고 있다.

신클리어란스의 농도의존성

각 랫트마다 GFR 및 각 물질의 CL_r값에 다소 차이가 있었으며 CL_r값에 있어서는 이미 보고되어 있는대로 테오필린의 CL_r값이 1-MU 및 1,3-DMU의 값에 비해 1/100~1/200의 작은값을 나타내었다. 각 물질의 CL_r값을 이눌린의 GFR과 비교한 값 즉 CL_r/GFR을 보면 실험한 각 랫트에서 두 대사체의 경우 1 이상으로 나타났으며 테오필린의 경우에는 1보다 훨씬 작은 값으로 나타났다. 이 결과는 테오필린의 단백결합율을 고려하더라도 마찬가지이며 사람에게 있어서 미변화체로 배설된 테오필린의 대부분이 신세뇨관에서 재흡수된다는 기존의 실험결과들과 일치한다.

테오필린의 신클리어란스가 농도증가에 따라 감소하는 농도의존성을 Fig. 8에 나타나 있다. 세 마리의 실험결과를 각기 다른 심벌을 이용해 나타내

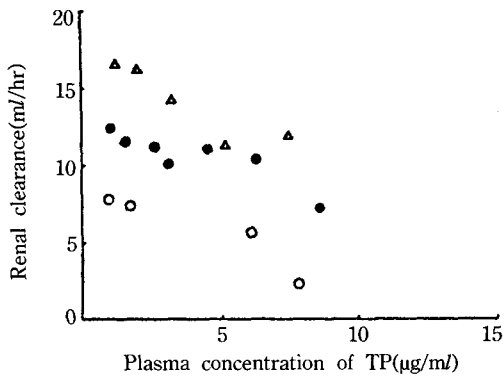


Figure 8—Relationship the between renal clearance and plasma concentration of theophylline. (○)=Rat A; (●)=Rat B;(△)=Rat C.

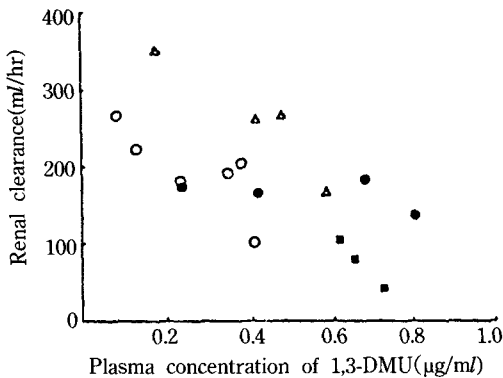


Figure 9—Relationship between the renal clearance and plasma concentration of 1,3-DMU. (●)=Rat A; (○)=Rat B; (△)=Rat C; (■)=Rat E.

었는데, 각 개체마다 또는 전체적으로 농도의존성 경향을 볼 수 있다. 예컨대 랫트 A의 경우, 혈장중 농도가 0.96에서 7.73 µg/ml로 증가함에 따라 그 CL_r 가 7.77에서 2.33 ml/hr로 감소되었다. 한편 비슷한 혈중농도 영역에서도 동물들 마다 각각 고유한 CL_r 값을 나타내었으며 그 감소되는 정도에 있어서도 차이를 나타내었다.

또한 1,3-DMU의 신클리어란스의 농도의존성에 관한 실험의 결과를 Fig. 9에 나타내었는데 테오필린의 경우와 마찬가지로 개체마다 다소의 차이를 포함하는 농도의존성을 보이고 있음을 잘 알수 있다. 예컨대 랫트 C의 경우 1,3-DMU의 혈장중 농도가 0.17에서 0.58 µg/ml로 증가함에 따라 그 CL_r 값이 349.7에서 164.5 ml/hr로 감소하였다.

Table V—Relationship between the renal clearance and plasma concentration of 1-methyluric acid.

Rat	Plasma Concentration (µg/ml)	CL_r (ml/hr)
C	0.291	159.41
	0.286	241.15
	0.265	225.31
	0.107	292.93
E	0.406	34.90
	0.380	68.14
	0.348	78.72

1-MU에 대한 결과는 Table V에 나타내었는데 1, 3-DMU의 경우와 유사한 결과를 보였다. 예컨대 랫트 C의 경우에서 혈장중 농도가 0.11에서 0.29 µg/ml로 증가함에 따라서 그 CL_r 값이 292.9에서 159.4 ml/hr로 감소하였다.

결론적으로 테오필린의 경우 그 CL_r 값이 GFR 보다 작으면서도 농도의존성을 보이고 있으므로 랫트에서 그 신배설 과정에는 재흡수 과정과 함께 포화과정 즉 신세뇨관 분비과정이 관계하고 있다고 생각된다.

대사체인 1-MU 및 1,3-DMU의 경우 그 CL_r 값이 GFR 값보다 크거나 같으며 또한 농도의존성을 보이고 있으므로 그들의 신배설 과정에는 세뇨관 분비 과정이 포함되어 있다고 생각된다. 이 랫트에서의 결과와 유사하게 Riegelman 등은¹⁷⁾ 사람에서 대사체의 CL_r 가 GFR 보다 크음을 보여줌으로써 대사체의 신배설 기전에 분비과정이 있음을 예상했다.

테오필린과 그 대사체가 분자 구조 면에서 크게 틀리지 않으므로 그들의 분비과정에 같은 담체가 관여하지 않을까 생각되어 앞으로 여러 용량으로 정맥주사 또는 주입하는 실험 등으로 좀더 상세한 데이터를 얻고자 한다.

감사의 말씀

본 연구에는 1988년도 보건장학회 연구비(구효정)의 지원이 있었다. 이에 깊이 감사드린다.

문 헌

- 1) W.E. Evans, J.J. Schentag and W.J. Jusko, *Ap-*

- plied Pharmacokinetics: Principles of Therapeutic Drug Monitoring*, p.95, Applied Therapeutics, Inc, WA, (1986).
- 2) J.H.G. Jonkman, D. Tang, R.A. Upton and S. Riegelman, Measurement of excretion characteristics of theophylline and its metabolites, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **20**, 435 (1981).
 - 3) D.D.S. Tang-Liu, R.L. Williams and S. Riegelman, Nonlinear theophylline elimination, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **31**, 385 (1982).
 - 4) J.F. Williams, S. Lowitt, J.B. Polson and A. Szentivanyi, Pharmacological and biochemical activities of some monomethylxanthine and methyluric acid derivatives of theophylline and caffeine, *Biochem. Pharmacol.*, **27**, 1545 (1978).
 - 5) C.G.A. Persson and K.E. Andersson, *Acta Pharmacol. Toxicol.*, **40**, 529 (1977).
 - 6) G. Kohen, Clinical pharmacokinetic significance of the renal tubular secretion of digoxin *Clin. Pharmacokin.*, **13**, 334 (1987).
 - 7) M. Acara, E.A. Carr Jr. E.N. Terry, Probenecid inhibition of the renal excretion of dyphylline in chicken, rat and man *J. Pharmacol.*, **39**, 526 (1987).
 - 8) Y. Kita and A. Imada, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **31**, 1692 (1973).
 - 9) M. Cohen and R. Pocolinko, Renal transport mechanisms for the excretion of sulfoxazole *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **185**, 703 (1973).
 - 10) E. Owada, K. Takahashi, R. Hori and T. Arita, Transformation and excretion of drugs in biological systems X. Renal excretion mechanisms of sulfonamides in rabbits(2). *Chem. Pharm. Bull.*, **22**, 594 (1974).
 - 11) N. Watari, K. Aizawa and N. Kaneniwa, Dose- and time-dependent kinetics of the renal excretion of nitrofurantoin in the rabbit. *J. Pharm. Sci.*, **74**, 165 (1985).
 - 12) D.D.-S. Tang-Liu, R.L. Williams and S. Riegelman, Nonlinear theophylline elimination, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **31**, 358 (1982).
 - 13) W.H. Waugh, Photometry of inulin and poly fructosan by use of a cysteine/tryptophan reaction. *Clin. Chem.*, **23**, 639 (1977).
 - 14) R.K. Desiraju and E.T. Sugita, Pharmacokinetics of theophylline and metabolites in humans. *J. Chromatogr. Sci.*, **15**, 563 (1977).
 - 15) Van Bree-Blom, D. Ketting and S.K. Wadman, Separation of xanthine derivatives by high-pressure liquid chromatography and application to plasma analysis. *J. Chromatogr.*, **168**, 351 (1979).
 - 16) E. Naline, B. Flouvat, C. Advenier and M. Pay, Determination of theophylline and its metabolites in plasma and urine by reversed-phase liquid chromatography using an amine modifier, *J. Chromatogr.* **419**, 177 (1897).
 - 17) M.B. Kester, C.L. Saccar, M.L. Rocci Jr. and H.C. Mansmann Jr., A new simplified micro-assay for the quantitation of theophylline and its metabolites in serum by HPLC, *J. Chromatogr.*, **380**, 99 (1986).
 - 18) M.B. Kester, C.L. Saccar, M.L. Rocci Jr. and H.C. Mansmann Jr., A new simplified assay for the quantitation of theophylline and its major metabolites in urine by HPLC, *J. Pharm. Sci.*, **76**, 238 (1987).
 - 19) D.D.-S. Tang-Liu and S. Riegelman, An automated HPLC assay for simultaneous quantitation of methylated xanthines and uric acids in urine, *J. Chromatogr. Sci.*, **20**, 155 (1982).
 - 20) K.T. Muir, M. Kunitani and S. Riegelman, Improved high-performance liquid chromatographic assay for theophylline in plasma and saliva in the presence of caffeine and its metabolites and comparisons with three other assays *J. Chromatogr.*, **231**, 73 (1982).
 - 21) K.T. Muir, J.H.G. Jonkman, D.D.-S. Tang-Liu, M. Kunitani and S. Riegelman, Simultaneous determination of theophylline and its major metabolites in urine by reversed-phase ion-pair high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr.*, **221**, 85 (1980).
 - 22) R.I. Ogilvie, Clinical pharmacokinetics of theophylline, *Clin. Pharmacokin.*, **3**, 267 (1978).
 - 23) U. Gundert-Remy, R. Hildebrant N. Hengen and E. Weber, Nonlinear elimination processes of theophylline, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **24**, 71 (1983).
 - 24) R.D. Thompson, H.T. Nagasawa and J.W. Jenne, Determination of theophylline and its

- metabolites in human urine and serum by high-pressure liquid chromatography, *J. Lab. Clin. Med.*, **84**, 584 (1974).
- 25) A. Turcant, P. Cailleux and P. Allain, An HPLC method for the determination of theophylline and its metabolites in serum and urine *J. Liq. Chromatogr.*, **3**, 1537 (1980).
- 26) M.V. St.-Pierre, A. Tesoro, M. Spino and S.M. MacLeod, *J. Liq. Chromatogr.*, **7**, 1593 (1984).
- 27) J.J. Orcutt, P.P. Kozak, S.A. Gillman and L.H. Cummins, Micro-scale method for theophylline in body fluids by reversed-phase, high pressure liquid chromatography *Clin. Chem.*, **23**, 599 (1977).
- 28) P.J. Naish, R.E. Chambers and M. Cooke Theophylline elimination-A comparative evaluation of a gas chromatographic method and a high-performance liquid chromatographic method. *Ann. Clin. Biochem.*, **16**, 254 (1979).
- 29) G.W. Peng, M.A. Gadalla and W.L. Chiou, High performance liquid-chromatographic determination of theophylline in plasma, *Clin. Chem.* **24**, 357 (1978).
- 30) G. Levy and R. Koysooko, Renal clearance of theophylline in man *J. Clin. Pharmacol.*, **16**, 329 (1976).