

HPFA를 이용한 HSA와 ibuprofen 이성질체의 단백질 결합력의 측정

최두영, 노경호*, 김룡매, 정용안¹
 인하대학교; ¹한국기기유화시험연구원
 (rowkho@inha.ac.kr*)

인체 내에서 약리성분은 Human Serum Albumin (HSA)과 같은 혈장 단백질과 약리성분의 평형 관계에 의하여 결합되어 있는 약리성분과 혈장단백질과 결합되지 않은 약리성분으로 이루어져 있다. 약리성분의 전달현상을 규명하기 위해서는 혈장 단백질과 약리성분의 결합력에 대한 연구가 선행되어야 한다. 본 실험에서 혈장 단백질인 HSA는 Fluka Co.에서 구입하였고, 약리성분인 s-ibuprofen은 Sigma-Aldrich Co.에서 구입하였다. 컬럼은 일본의 Nomura사의 diol-silica column (Develosil 100Diol5, 100 x 4.6 mm I.D.)을 미국의 Phenomenex Co.로부터 구입하였다. 이동상은 인산완충용액을 사용하였다. HPLC에 컬럼 오븐(CTS30 HPLC column oven, 영린기기)을 장착하여 일정한 온도로 유지하였고, 펌프(M930 solvent delivery pump, 영린기기)와 486 검지기 (M 720 Absorbance detector, 영인과학)를 사용하였다.

S-ibuprofen 300 μ M과 HSA 350 μ M을 제조하여 37 $^{\circ}$ C에서 3시간 동안 반응을 시킨 후 on-line HPFA 컬럼에 주입하였다. 컬럼 내부에 HSA과 결합되지 않은 약리성분의 영역이 발생하게 된다. 이 약리성분의 영역은 평평한 영역으로 사다리꼴 형태로서 용출되고, 평평한 영역에서 약리성분의 농도는 초기의 시료 용액의 HSA 결합되지 않은 약리성분의 농도와 같게 된다. 5 μ l부터 주입 부피를 증가시켜서, 300 μ M의 s-ibuprofen, 350 μ M HSA의 경우, 70 μ l에서 평평한 사다리꼴 영역이 나타나는 것을 실험적으로 확인하였다.