

## 正常人尿의 加水分解에 의한 醫藥品結合 阻害誘導因자의 抽出

張 阪 燮

德成女子大學 藥學部

(Received August 28, 1982)

Pan Sup Chang

*Department of Pharmacy, Duk-Sung Women's College, Seoul 132, Korea*

### An Extract from Hydrolyzed Normal Human Urine which Induces Drug Binding Defects

**Abstract**—Uremia is associated with defective protein binding of weakly acidic drugs, whereas the protein binding of basic drugs tends to be normal. The exact chemical nature of compound(s) and mechanism for these changes as yet is unknown, and has not been defined. Organic solvent extraction of pooled normal human urine following hydrolysis by hydrochloric acid produced an extract, which when added to normal human serum, was capable of inducing binding defects similar to those in uremia. Binding defects were observed with the weakly acidic drugs such as nafcillin, salicylate, sulfamethoxazole and phenytoin while the binding of the basic drugs such as trimethoprim and quinidine were unaffected. The binding defects induced by the hydrolyzed urine extract could readily be corrected by same organic solvent extraction of acidified serum and the defects could be transferred to the normal human serum using the organic solvent layer at the physiologic pH (7.4). Followed by reacidification and extraction of the binding defects induced serum with the same solvent, separated several fractions were obtained on thin-layer chromatography. One of these fractions could reinduce the binding defects and this factor(s) is apparently weakly acidic compound(s) and tightly bound to serum at physiologic pH, but extractable at acidic pH, and its molecular weight range is approximately 500 or less similar to those seen in uremia. These findings strongly support the hypothesis that the drug binding defect in urcmia is due to the accumulation of endogenous metabolic products which are normally excreted by the kidneys but accumulate in renal failure.

血清蛋白質의 醫藥品과의 結合은 醫藥品의 吸收, 分布, 排泄 및 活性등에 영향을 미치게 하는 藥理的인 重要 決定要素이다.

따라서 醫藥品의 蛋白質結合에 있어서의 變化 즉 이를 支配하는 因子는 여러가지 藥効物質의 治療的인 效果에 重大한 영향을 미치게 되지만 아직도 그 임상적인 重要性은 論難의 대상으로 되어 있으며<sup>1-3)</sup> 그 物質의 本質에 관해서 確實히 究明되어 있지 않다. 이 血清蛋白質結合의 과정은 蛋白質 및 醫藥品의 농도, pH, 이온強度, 溫度 및 共存하는 內分泌代謝物質등 관련된 여러 가지 要因에 의해서 달라진다.

病的狀態는 이들 여러가지 要因의 하나 또는 그 이상의 變化에 따른 醫藥品의 血清蛋白質과의 結合狀態에 따라 나타낼 수도 있을 것이다. 尿毒症은 그 血清이 鹽基性인 醫藥品(例컨데 trimethoprim 및 clindamycin)과는 正常的으로 作用하는 反面 弱酸性醫藥品(例컨데 penicillins, cephalosporins, sulfamides, phenytoin, salicylate 및 barbiturates)과는 그 結合이 阻害를 받는 것과 관

련이 있는것으로 報告되고 있다<sup>4-5)</sup>. 이 尿毒症 患者血清의 蛋白質 結合阻害는 많은 研究者에 依해서 研究되어 왔으나 아직 正確한 機轉은 밝혀지지 않고 있다. 弱酸性 醫藥品에 대한 蛋白質 結合阻害는 血清 albumin 含量的 減少와 어느정도 관련이 있는 것으로 보는 見解도 있으나 hypoalbuminemia만에 依한 結合阻害值보다는 큰것으로 報告되고 있다.<sup>6-7)</sup> 또 이 阻害는 hemodialysis나 in vitro에서 長時間의 透析에 의해서도 교정되지 않는다.<sup>8-9)</sup>

그리하여 最近까지의 尿毒症患者 血清의 蛋白質結合阻害現象을 설명하는데 있어 두가지의 假說이 제출되어 있는 바, 그 첫째는 尿毒症 患者에 있어서의 血清蛋白質組成의 變化에 基因할 것이라는 것이고<sup>9-12)</sup>, 둘째는 健康하고 正常人에 있어서는 그 腎藏에 依해서 조절되어 낮은 농도로 존재해야 할 內分泌代謝物이 腎藏障害患者에 있어서는 蓄積이되고 이 蓄積된 物質(들)이 albumin 分子와 강하게 結合하여 醫藥品과의 結合을 阻害한다는 것이다.<sup>13-15)</sup> 특히 이 後者の 경우는 結合阻害가 腎藏移植으로 쉽게 교정된다는 事實<sup>16)</sup>, 酸性醫藥品과의 結合만 阻害할 뿐 鹽基性 醫藥品과의 結合은 阻害하지 않는 선택적이며 또 尿毒症患者血清의 酸性pH(3.0)에서의 活性炭處理에 依해서 교정되는 事實<sup>13)</sup> 등에 依해서 支持를 받고 있다. 勿論 이 結合阻害에 決定的으로 作用한다고 생각되는 阻害因子(들)을 活性炭으로부터 다시 再生시키지는 못하고 있다. 한편, 最近 有機溶媒인 n-butyl chloride를 써서 強力히 蛋白質 結合을 하는 酸性醫藥品 nafcillin, salicylate 및 좀더 弱하게 結合을 하는 sulfamethoxazole등을 酸性으로 한 人血清으로부터 抽出하고 또 이들을 定量하는데 成功的으로 利用하고<sup>17-18)</sup>, 더 나아가 尿毒症患者 血清검체에도 適用하여 蛋白質 結合阻害物質除去에 依해서 酸性醫藥品들에 대한 그 結合能을 교정하는데 應用하고 있다.<sup>19)</sup>

이 때에 있어 著者는 尿毒症患者 血清의 酸性醫藥品에 대한 蛋白質結合阻害가 腎藏障害에 依한 內分泌代謝物(들)의 蓄積에 依할것이라는 假定에 근거를 두어, 따라서 正常人個體에 있어서는 代謝物質이 正常的으로 排泄될 것이기 때문에 이 排泄된 正常人尿를 鹽酸으로 加水分解 한 다음 有機溶媒로 抽出하여 그로부터 蛋白質結合阻害를 誘導하는 物質(들)을 探索함과 同時에 이 (들)와 尿毒症 血清에 있어서의 蛋白質結合阻害物質(들)과의 相關性등을 究明하고자 本研究에 착수하였으며 약간의 知見을 얻었기에 報告코저한다.

### 實驗 方法

正常人尿—醫藥品, vitamin 및 alcohol 등을 全然섭취하지 않고 正常食을 하는 건강한 正常人尿를 수집하여 冷藏庫에 저장하고 12시간이내에 抽出操作에 移行하였다.

正常人血清—건강한 正常人血液을 수집하여 血清을 分離시켜 사용할때까지  $-20^{\circ}\text{C}$ 에서 저장하였다.

尿毒症患者血清—hemodialysis를 하기에 앞서 heparin을 投與하기 직전의 정규적으로 hemodialysis를 行하고 있는 만성의 腎不全 患者로부터 血液을 수집하여 血清을 分離시켜 사용할때까지  $-20^{\circ}\text{C}$  이하로 저장하였다.

分析方法—血清全蛋白質 및 albumin 농도는 各各 Gornall등<sup>20)</sup> 및 Doumas등<sup>21)</sup>의 方法에 依해서 측정하였고, 유리지방산 및 bilirubin 농도는 各各 Laurell등<sup>22)</sup> 및 Malloy등<sup>23)</sup>의 方法으로 측정하였다. 吸光度는 Bausch & Lomb's Spectronic 20 Spectrophotometer (Bausch & Lomb's, Inc., Rochester, N.Y., U.S.A)로 측정하였다. 醫藥品分析에 있어서는 nafcillin,<sup>17)</sup> sulfamethoxazole 및 trimethoprim<sup>18)</sup> 및 quimidine<sup>24)</sup>은 fluorometric assay로 시행하였다. 또 phenytoin 및 aspirin에 對해서는 各各 5,5-diphenyl [4-<sup>14</sup>C] hydantoin (59.8mci/m mol) (The Radiochemical Centre,

Amersham, England) 및 acetyl [carboxyl- $^{14}\text{C}$ ] salicylic acid (31.6mci/m mol) (The Radiochemical Centre, Amersham, England)를 사용하였으며 對應하는 各藥品 농도에 이들 放射線同位元素藥品을 포함하도록 一定量씩을 넣어 醫藥品液으로 하였다. 그리하여 血清 또는 buffer液 50 $\mu\text{l}$ 를 外部標準液으로서 3ml의 Aquasol scintillation fluid (New England Nuclear, Boston, Mass., U.S.A)이 들어 있는 polyethylene scintillation vials中에 分散시켜 Nuclear Chicago Mark II 液體 Scintillation Counter (Nuclear Chicago, Desplaines, Ill., U.S.A) 內에서 Scintillation Spectrophotometry에 依해서 측정하였다.

**蛋白質結合測定**—Klatz<sup>25)</sup>에 의해서 間發되어 Kunin<sup>26)</sup>에 의해서 改良된 平衡透析에 依해서 血清蛋白質과 各醫藥品과의 結合能을 조사하였다. 蛋白質溶液(2ml의 血清)을 nitro화하지 않은 cellulose 透析管에 넣고 各各 一定量씩의 醫藥品을 含有하는 3ml의 Krebs-Ringer phosphate buffer, pH 7.4에 對해서 roller drum (Model TC-2, New Brunswick Scientific Co., New Brunswick, N.J., U.S.A)를 써서 4°C에서 平衡에 도달할때까지(보통 36~48hrs.) 透析시켰다.

**正常人尿의 加水分解**—150ml의 正常人尿에 45ml의 比率로 진한 HCl을 加하고 약 100°C의 水浴上에서 10分間 加熱한다음 冷却하여 室溫으로 하고 19N-NaOH 溶液을 써서 pH를 7.0으로 調整한다음 침전물을 濾去한다.

**有機溶媒抽出**—正常人尿를 加水分解 處理한 濾液을 2M-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>/NaOH buffer, pH 1.95로 pH를 3.0으로 다운다음 正常人尿 150ml에 對해서 15ml의 比率로 n-butyl chloride (Burdick & Jackson Laboratories, Inc., Miskegon, M.I., U.S.A)를 加하고 이 混合物를 Mechanical shaker (Dubnoff Metabolic Shaking Incubator, Model P/S; Precision Scientific Co., Chicago, ILL, U.S.A)上에서 大략 100회/min의 속도로 유연하게 진탕시킨다음 n-butyl chloride層을 약 20°C에서 10分間 遠心分離(2,000×g) (International Centrifuge, Model PR-6; International Scientific Instruments, Inc., Santa Clara, CA, U.S.A)한다. 10ml의 n-butyl chloride를 써서 같은 操作을 1回 반복한 다음 有機溶媒層을 흡하여 이를 air stream에 의해서 溶媒를 증발除去하고 다시 n-butyl chloride 3.0ml에 溶解시켜 冷藏庫에 貯藏하였다가 蛋白質結合 阻害誘導物質(들)의 探索用으로 사용한다.

**蛋白質結合阻害의 誘導와 그 矯正**—正常人尿의 HCl加水分解에 依한 有機溶媒抽出液이 醫藥品에 對한 結合阻害를 誘導하는지의 如否를 探索하기 爲해서 有機溶媒抽出貯藏液 20ml에 對해서 10ml의 比率로 正常人血清 pH 7.4을 유리마개가 있는 50ml의 conical 遠心分離管에 넣고 마개를 하여 15分間 mechanical shaker에서 진탕한 다음 10分間 2,000×g로 遠心分離하여 n-butyl chloride層을 除去하고, 血清層을 Krebs-Ringer phosphate buffer, pH 7.4를 써서 每 6~8時間마다 buffer液을 交換해주면서 4°C에서 24~36時間 透析精製한다. 또 이 계속적인 透析에 依해서 阻害誘導因子가 除去矯正되는지의 如否도 檢討하기 爲해서 一部는 透析操作을 72時間까지 계속한다. 이렇게 해서 얻은 血清들에 對해서 蛋白質結合能을 前述한 平衡透析에 依해서 有機溶媒抽出液處理前後의 蛋白質結合能을 比較檢討하였다. 또 이와같이 正常人尿의 HCl加水分解에 依한 有機溶媒抽出液으로 誘導시킨 蛋白質 結合阻害因子(들)를 다시 교정이 可能한지의 如否를 試驗하기 爲해서 誘導시킨 血清(有機溶媒抽出液으로 處理한 血清) 3ml에 2M-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>/NaOH buffer, pH 1.95를 加하여 pH를 3.0으로 調整한다음 4.5ml의 n-butyl chloride를 加하여 有機溶媒抽出 操作에 記載한 操作法에 따라 處理한다음 이 處理前後의 檢體에 對해서 蛋白質結合能을 조사 檢討하였다. 또 有機溶媒抽出液處理前後의 血清에 對해서 全蛋白質量, albumin, 그리고 유리脂肪酸 및 bilirubin 농도등을 既述한 方法에 依해서 分析하여 非正常的 如否를 檢討하였다.

醫藥品の 蛋白質結合研究에 使用한 농도는 治療의 效果를 나타낼 수 있는 血中濃度 범위를 越하였는데 이 濃度範圍에 있어서는 그 농도의 多少의 變化에 依해서 結合値에 크게 影響을 미치지 않는다.<sup>27)</sup> 酸性藥品인 nafcillin은 20 $\mu$ g/ml, sulfamethoxazole은 20 $\mu$ g/ml 및 salicylate는 100 $\mu$ g/ml phenytoin은 20 $\mu$ g/ml이고, 鹽基性藥品인 trimethoprim은 20 $\mu$ g/ml 및 quinidine은 5 $\mu$ g/ml 이다.

蛋白質結合阻害誘導因子(들)의 部分的인 特性化—前述한 方法으로 誘導시킨 蛋白質結合阻害因子(들)은 平衡透析에 依해서 正常人血清으로 轉移시킬 수가 있다.

各各 分子量이 다른 12,000, 6,000~8,000 또는 3,500 程度以上の 分子들은 通過시키지 않는 程度의 多孔性을 가진 透析膜을 使用하여 結合阻害誘導因子(들)의 大畧的인 分子量의 範圍域을 얻었다. 이들 세가지 다른 析透膜은 3787-H45, 3787-F25 및 3787-D22 (Arthur H. Thomas Co., Philadelphia, PA, U.S.A)를 썼으며 이들 管에 2ml의 正常人血清 또는 結合阻害因子를 誘導시킨 血清을 넣고, 3ml의 正常人血清에 對해서 平衡에 到達할 때까지 透析시킨 다음 dialysis bag과 chamber를 除去하고 正常人血清을 對照로 各各의 檢體에 對해서 phenytoin에 對한 蛋白質結合能을 平衡透析에 依해서 分析하여 大畧的인 分子量을 얻는데 參考로 하였다. 또 좀더 近似的인 分子量域은 Amicon Diaflo 限外濾過膜(Amicon Corp., Lexington, Mass., U.S.A)를 使用하여 蛋白質結合因子(들)을 誘導시킨 血清을 酸性으로 하여 限外濾過하므로써 얻을 수가 있다. 이때에 使用한 膜은 UM05 및 UM2로 이들은 各各 分子量 500 및 1,000 程度 以上을 통과시키지 않는 程度의 多孔性을 가진다. 5ml의 正常人血清, 結合阻害因子(들)를 誘導시킨 血清 및 尿毒症患者 血清등을 4N-HCl로 pH 3.0로 調節한것을 10ml의 Amicon 限外濾過장치에 加하고 N<sub>2</sub> 가스를 40 Lb/in<sup>2</sup>의 壓力으로 作用시킨 다음 限外濾過液을 얻는다. 이 分離液을 n-butyl chlorrde로 前述한 有機溶媒 抽出法의 操作에 따라 抽出하고 이 n-butyl chlorrde層을 各各 3ml씩의 正常人血清에 加하여 蛋白質 結合阻害의 誘導와 그 矯正에 記載한 方法에 依해서 操作하여 再誘導如否를 檢討한다.

또 結合阻害誘導因子(들)의 極性을 TLC法에 依해서 調査하였다. 正常人血清, 尿毒症患者 血清 및 結合阻害를 誘導시킨 血清등의 n-butyl chlorrde 抽出液을 Silicagel 60 TLC유리板(EM Reagents, Elmsford, N.Y., U.S.A) 및 展開溶媒로 pet. ether: Et<sub>2</sub>O: EtOH: Ac<sub>2</sub>O(40: 9: 11: 3)을 써서 展開시켜 有機物質을 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> spray, I<sub>2</sub> exposure 또는 紫外線 lamp 등으로 檢査하였다.

### 實驗結果 및 考察

蛋白質結合阻害의 誘導 및 그 矯正—正常人尿를 HCl로 加水分解시킨 다음 n-butyl Chloride에 依한抽出液이 正常人血清에 蛋白質結合阻害를 誘導하는지 또 長時間의 透析에 依해서 誘導된 阻害因子(들)가 除去矯正되는지를 究明하기 爲해서 正常人尿加水分解抽出液과 正常血清과를 生理的인 pH에서 15分間 混和하고 有機溶媒層을 分離除去한 다음, Krebs-Ringer phosphate buffer를 써서 透析한다. 이에 對해서 正常人血清을 對照로 醫藥品과의 蛋白質結合能을 調査하였으며 그 結果를 表示하면 Table I과 같다.

Table I에서 보는 바와 같이 酸性藥品인 nafcillin, sulfamethoxazole, phenytoin 그리고 salicylate에 對해서는 蛋白質結合阻害를 誘導할 수 있었으나 鹽基性藥品인 trimethoprim 및 quinidine은 影響을 받지 않았다. 또 一段 蛋白質 結合阻害因子(들)가 血清으로 轉移誘導된 다음은 生理的인 pH 7.4에서는 長時間(72時間)의 透析에 依해서 除去되지 않는다.

**Table I**—Inducement of drug binding defects by n-butyl chloride extracts of hydrolyzed normal urine and its correction by n-butyl chloride extraction.

Drugs	Percentage of protein bound			Correction of binding defect <sup>▲</sup>
	NHS (A) (%)	NHS+HUE (B) (24~36hrs dialysis) (%)	NHS+HUE (C) (72 hrs dialysis) (%)	
Nafcillin	87.3±1.0	79.3±1.2§	80.5±0.9§	85.6±0.9
Sulfamethoxazole	73.4±0.5	58.8±0.9§	59.5±0.7§	72.5±0.6
Salicylate (Aspirin)	87.4±0.5	79.7±0.8§	80.9±0.9§	86.1±0.9
Phenytoin	96.3±0.1	85.7±0.4§	85.9±0.6§	96.0±0.5
Trimethoprim	70.8±0.6	68.3±1.2	67.9±1.1	70.2±0.7
Quinidine	90.0±1.0	88.7±1.1	89.1±1.0	89.3±1.2

NHS; Normal human serum

HUE; Hydrolyzed urine extracts

▲ post treated (B) with n-butyl chloride

§ p<0.01 significant vs normal human serum

Values are means ± standard deviation and are derived from 3 specimens per value.

한편 蛋白質結合阻害를 誘導시킨 血清을 酸性 pH에서 다시 n-butyl chloride로 處理, 阻害因子(들)를 抽出 除去한 檢體는 그 蛋白質結合值에 있어서 原狀으로 矯正할 수 있었으며 그 結果는 역시 Table I과 같다.

蛋白質結合阻害因子(들)의 部分的인 特性化—分子量이 12,000, 6,000~8,000 및 3,500 정도 이상의 分子들은 通過시키지 않는 정도의 各各 다른 多孔性을 갖은 透析膜을 써서 蛋白質結合阻害因子(들)의 大畧的인 分子量의 概念을 파악하였으며 그 값은 分子量이 3,500以下이었다. 正常人 血清과 結合阻害를 誘導시킨 血清을 이와같이 透析處理後의 phenytoin에 對한 蛋白質結合值은 各各 96.3±0.1 및 85.7±0.4이었다.

또 이 蛋白質結合阻害因子(들)을 誘導시킨 檢體를 正常人血清에 對하여 4°C에서 24時間 透析시킨 後의 正常人血清의 蛋白質結合值은 96.3±0.1%에서 91.3±0.5%로 減少하였고, 反對로 結合阻害因子(들)를 誘導시킨 檢體는 85.7±0.4%에서 90.2±0.3%로 增加하였으며 이 實驗에서 사용한 透析膜의 分子量 cut-off point에 相關없이 비슷한 結果가 얻어졌다.

더 나아가 正常人尿抽出液으로 蛋白質結合阻害因子(들)를 誘導시킨 檢體를 限外濾過膜을 써서 얻은 分離液을 n-butyl chloride로 抽出하고 이 抽出液을 各各 正常人血清에 混合處理해서 얻은 檢體는 그 蛋白質結合值가 phenytoin에 對해서 96.3±0.1%에서 86.8±0.6로 減少하였고 尿毒症患者血清에서도 96.3±0.1%에서 87.2±0.5%로 減少하였으나 正常人血清에서는 處理前後에서 거의 變化가 없었다. 이로부터 考察컨데 尿毒症患者 血清과 正常人尿加水分解抽出液에 包含된 蛋白質阻害因子(들)은 그 分子量이 500以下임을 豫見할 수 있으며 이는 Lichtenwalner<sup>19)</sup> 등의 尿毒症患者 血清에 관한 豫見値와 一致한다.

正常人血清, 尿毒患者血清 및 正常人尿의 加水分解에 依한 有機溶媒抽出液으로 處理한 正常人血清 등의 TLC 사이에는 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> spray, I<sub>2</sub> exposure 또는 紫外線 lamp에 依해서 差異가 있었다. 正常人血清으로부터는 正常人尿抽出液으로부터의 化合物(들)을 檢出할 수가 없었다. 各各의 TLC를 original, lower (R<sub>f</sub>=~0.098), middle (R<sub>f</sub>=0.098~0.196), upper (R<sub>f</sub>=0.196~0.327) 등 4

**Table II**—Reinducement of drug binding defects by extraction of TLC from binding defects induced serum by n-butyl chloride extraction of hydrolyzed urine.

Drugs	Percentage of protein bound				
	NHS	TLC of NHS+HUE			
		Origin	Lower part (Rf= $\sim$ 0.098)	Middle part (Rf=0.098 $\sim$ 0.196)	Upper part (Rf=0.196 $\sim$ 0.327)
Phenytoin	96.3 $\pm$ 0.1	95.1 $\pm$ 0.3	87.5 $\pm$ 0.6§	93.6 $\pm$ 0.3	93.2 $\pm$ 0.8
Sulfamethoxazole	73.4 $\pm$ 0.5	67.8 $\pm$ 0.7	61.7 $\pm$ 0.9§	72.0 $\pm$ 0.4	71.8 $\pm$ 0.8
Quinidine	90.0 $\pm$ 1.0	88.9 $\pm$ 0.9	88.2 $\pm$ 0.5	89.1 $\pm$ 0.5	89.3 $\pm$ 0.7

NHS; Normal human serum

§: p<0.01 significant vs. NHS

HUE; Hydrolyzed urine extracts

Values are means $\pm$ standard deviation and are derived from 3 specimens per value.

parts를 分離 이들 各 part 部分의 固定相을 剝離 MeOH로 抽出하여 이를 air stream에서 증발건조시키고 다시 n-butyl chloride에 溶解시켜 이 抽出液을 正常人血清과 混合 蛋白質阻害因子(들)를 轉移誘導시켜 醫藥品에 對한 蛋白質結合能을 調査한 表 Table II와 같이 酸性藥品에 있어서는 lower part (Rf= $\sim$ 0.098)에서 阻害因子(들)이 分離됨을 알수 있었으나 鹽基性藥品 quinidine에 있어서는 差異를 認定할수가 없었다. 한편 尿毒症患者 血清으로부터 얻은 spot의 Rf値는 0.08로서 正常人尿抽出液으로부터의  $\sim$ 0.098과 近似的으로 一值하여 正常人血清으로부터는 이 Rf値 範圍內에서 spot를 얻을 수가 없었다.

正常人血清 및 正常人尿의 加水分解에 依한 有機溶媒抽出液으로 蛋白質結合阻害因子(들)를 誘導시킨 檢體中の 全蛋白質 및 albumin 含量은 各各 5.5 $\sim$ 6.5g/100ml 및 4.1 $\sim$ 5.0g/100ml로 正常值 範圍內에서 處理前後에 크게 變動이없으며, 遊離脂肪酸 및 bilirubin 含量도 0.50 $\sim$ 0.70mmol/l 및 0.3 $\sim$ 0.6mg/100ml로 正常值範圍內이며 그 相關性을 檢討할 價値를 認定할 수 없었다.

## 結 論

1) 正常人尿의 HCl 加水分解에 依한 有機溶媒抽出液으로 부터 生理的 pH 7.4에서 酸性藥品에 對한 蛋白質結合阻害因子(들)를 誘導시킬수가 있었고 또 이는 酸性 pH 3.0에서 同一溶媒抽出에 依해서 矯正되었으며, 이 蛋白質結合阻害因子(들)은 弱酸性이며 分子量域이 500以下로 尿毒症患者 血清에서 얻은 값과 一致한다. 2) 一段 蛋白質結合阻害因子(들)을 誘導시킨 血清은 長時間의 in vitro 透析으로 除去矯正되지 않으며 TLC에 依해서 活性 part를 分離할 수 있었다. 3) 正常人尿의 加水分解없는 有機溶媒抽出液은 蛋白質結合阻害因子(들)를 誘導시킬 수가 없었으며 이는 阻害因子(들)이 人尿中에서 遊離狀態가 아닌 conjugated狀態로 存在하는 것으로 생각된다.

以上 本實驗을 通해서 蛋白質結合阻害因子(들)를 純粹하게 分離치 못하였음은 遺憾이나 尿毒症 血清의 酸性藥品에 對한 蛋白質結合阻害는 本態性인 血清蛋白質組成의 變化에 依한다기 보다는 오히려 內分泌代謝產物의 蓄積에 依한다는 假說을 強力하게 뒷받침한다.

本 研究는 Health Science Center, Temple University, Philadelphia, PA., U.S.A에서 施行하였으며 特別物心兩面으로 協助해주신 Dr. Suh에게 感謝한다.

## 文 獻

1. G.H. Warren, *Chemotherapia* **10**, 339 (1966).
2. G.N. Rolinson, in *Recent Advances in Medical Microbiology* (A.P. Waterson Ed.), Churchill, London, p-254 (1967).
3. M. Barza, *Infection* **4** (Suppl.), s-144 (1976).
4. W.A. Craig, R.G. Welling, J.P. Wagnild, and C.M. Kunin, *Hellenic Society for Chemotherapy* **1**, 722 (1974).
5. W.A. Craig, M.A. Evenson, and V. Rangopal, in *the Effect of Disease States on Drug Pharmacokinetics* (L.Z. Benet Ed.) A.Ph.A./Academy of Pharmaceutical Sciences, Washington, D.C., U.S.A., p-125 (1976).
6. W.A. Craig, in *Chemotherapy* (J.D. Williams, and A.M. Geddes Ed.) Plenum, London **4**, p-79 (1976).
7. W.A. Craig, and B. Suh, *Scand. J. Infect. Dis.*, **14** (Suppl.) s-239 (1978).
8. A.M. Anton, and W.T. Corey, *Fed. Proc.* **30**, 629 (1971).
9. M.M. Reidenberg, I. Odar-Cederlöf, C. von Bahr, O. Borga, and F. Sjöqvist, *N. Engl. J. Med.* **285**, 264 (1971).
10. D.W. Shoeman, and D.L. Azarnoff, *Pharmacology* **7**, 169 (1972).
11. D.S. Campion, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **25**, 391 (1973).
12. S.W. Boobis, *Clin. Pharmacol. Ther.* **22**, 147 (1977).
13. W.A. Craig, M.A. Evenson, K.P. Sarver, and J.P. Wagnild, *J. Lab. Clin. Med.* **87**, 637 (1976).
14. I. Sjöholm, A. Kober, I. Odar-Cederlöf, and O. Borga, *Biochem. Pharmacol.* **25**, 1025 (1976).
15. A. Kober, I. Sjöholm, O. Borga, and I. Odar-Cederlöf, *Ibid.*, **28**, 1037 (1979).
16. M.B. Affirme, D.L. Blecker, P.J. Lyons, C.D. Swartz, and D.T. Lowenthal, *Clin. Res.* **26**, 609A (1978).
17. D.M. Lichtenwalner, B. Suh, B. Lorber, and A.M. Sugar, *Antimicrob. Agents Chemother.* **16**, 210 (1979).
18. D.M. Lichtenwalner, B. Suh, B. Lorber, and A.M. Sugar, *Ibid.* **16**, 579 (1979).
19. D.M. Lichtenwalner, B. Suh, B. Lorber, M.R. Rudnick, and W.A. Craig, *J. Lab. Clin. Med.* **97**, 72 (1981).
20. A.G. Gornall, C.J. Bardawill, and M.M. David, *J. Biol. Chem.* **177**, 751 (1949).
21. B.T. Doumas, W.A. Watson, and H.G. Briggs, *Clin. Chim. Acta* **31**, 87 (1971).
22. S. Laurell, and G. Tibbling, *Ibid.* **16**, 57 (1967).
23. H.T. Malloy, and K.A. Evelyn, *J. Biol. Chem.* **119**, 481 (1937).
24. G. Cramer, and B. Isaksson, *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* **15**, 553 (1963).
25. I.M. Klotz, *Arch. Biochem.* **9**, 109 (1946).
26. C.M. Kunin, *Clin. Pharmacol. Ther.* **7**, 166 (1966).
27. W.A. Craig, and B. Suh, in *Antibiotics in Laboratory medicine* (V. Lorian Ed.) Williams and Wilkins Co., Baltimore, Md., U.S.A. p-265 (1980).