* 분류번호	IV'-16

제 목	수종 점막 추출액중 메치오닌엔케팔린 및 유사체의 분해 억제
연구자	전인구, 이치호*, 신영희**
소 속	동덕여자대학교 약학대학, *부산대학교 약학대학, **경성대학교 약학대학
내 용	

목적: 생리활성 펩타이드류의 경점막 수송을 검토하기 위하여 토끼의 비강, 직장, 질 또는 눈 점막 추출액에서의 메치오닌엔케팔린 (Met-Enk) 및 그 합성 유사체인 [D-알라^2]-메치오닌엔케팔린아미드 (YAGFM)의 효소적 분해를 억제하고자 수종 효소억제제를 검토하였다.

방법: 토끼의 질, 직장 및 비강 점막을 차례로 적출하여 신속히 Valia-Chien 투과셀에 마운팅하고, 눈의 각막을 절취하여 따로 각막 투과셀에 마운팅한 다음 등장 인산염 완충액 3.5 ml씩으로 8시간씩 3회 추출하여 점막측 및 장막측 추출액을 제조하였다. 추출 완료 직후 이들 추출액에 Met-Enk 또는 YAGFM을 50μg/ml의 농도로 첨가하고 여러 효소억제제를 단독 또는 혼합하여 첨가한 조건에서 37°C에서 60 rpm으로 24시간 동안 흔들면서 경시적으로 시료를 취하여 잔존 펩타이드의 양을 HPLC법으로 정량하여 속도론적으로 비교 검토하였다. 이 연구에 사용한 효소억제제로는 아미노펩티다제의 억제제인 amastatin (AM), bestatin (BS), 엔케팔리나제 A의 억제제로 알려진 thiorphan (TP), 엔케팔리나제 B의 억제작용이 있는 것으로 밝혀진 thimerosal (TM), metalloenzyme의 억제제인 에데트산나트륨 (EDTA) 등을 검토하였고 또 β-시클로덱스트린 유도체인 디메칠-β-시클로덱스트린과 2-히드록시프로필-β-시클로덱스트린이 펩타이드의 분해억제효과도 함께 검토하였다.

결과: 비강, 직장 및 질 점막 추출액중 YAGFM의 분해에 미치는 효소억제제류의 영향으로는 단독을 사용한 경우 그 분해억제효과는 비강점막 추출액에서 TP > TM > EDTA > AM > BS의 순이었다. AM과 BS와 같은 아미노펩티다제류의 억제제는 별다른 분해억제 효과가 없었으며 TM(0.5 mM)은 억제제를 첨가하지 않은 것 (분해 반감기; 비강: 20.1 hr, 직장: 3.1hr, 질: 7.2 hr) 에 비해 비강, 직장 및 질점막에서의 YAGFM 분해속도를 각각 4.1, 12.9 및 13.8 배 억제시켰으며 TM은 TP(50 μM)보다도 직장 및 질점막에서 그 억제효과가 높았다. 더욱 TM에 TP 또는 EDTA를 첨가한 경우 YAGFM의 분해를 더욱 현저히 억제하여 24시간 후의 잔존율이 약 80% 이상에 달하였으며 AM(50μM)/TM(0.5 mM)/EDTA(5mM)의 3종 효소억제제를 첨가한 경우는 24시간 incubation 후에도 90% 이상 안정화시켰다. 한편 시클로덱스트린 유도체들도 10%의 첨가농도에서 약 70% 정도 24 시간 incubation 후에 YAGFM을 약 70% 잔존시키는 안정화 효과가 있었다. 한편 눈의 각막 표피측 추출액에서는 Met-Enk 및 YAGFM의 분해 반감기가 각각 약 1.1 및 17.8시간이었으나 내피측 추출액에서는 각각 8.2 및 347시간으로 나타나 표피측과 내피측 추출액 간에는 분해속도에 현저한 차이가 있었다. 따라서 눈의 표피측 추출액중 Met-Enk의 분해억제에 미치는 억제제류의 영향을 검토한 결과 TP는 오히려 분해를 촉진하였으며 AM, EDTA, TM은 단독으로 상당한 억제효과를 보였으나 이들 3종을 혼합하여 사용한 경우 분해속도를 50.3배 억제하여 24시간 후에도 약 80%의 잔존율을 나타내었다.

결론: 이상과 같이 Met-Enk는 물론 합성유사체(YAGFM)라 하더라도 이들 펩타이드가 비강, 직장, 질 및 눈 점막부위에서 효소적으로 심하게 분해되기 때문에 경점막 수송을 도모하기 위해서는 먼저 이들 펩타이드들의 분해를 억제하여야 하며 그 한 수단으로 펩타이드에 따라 AM/TM/EDTA 또는 TM/EDTA 등의 혼합효소억제제의 이용이 기대된다.