

## 수용액중 [D-알라<sup>2</sup>]-메치오닌엔케팔린아미드의 안정성

전인구\* · 양윤정 · 이치호<sup>1</sup>

동덕여자대학교 약학대학, <sup>1</sup>부산대학교 약학대학

## Stability of [D-Ala<sup>2</sup>]-Methionine Enkephalinamide in Aqueous Solution

In Koo CHUN\*, Yoon Jeong YANG and Chi-Ho LEE<sup>1</sup>

College of Pharmacy, Dongduk Women's University, 23-1, Hawolgok-dong, Sungbuk-ku, Seoul 136-714, Korea, and

<sup>1</sup>College of Pharmacy, Pusan National University, San 30, Jangjeon-dong, Kumjeong-ku, Pusan 607-735, Korea

(Received February 11, 1993; accepted March 24, 1993)

**Abstract**—To evaluate the feasibility of transmucosal delivery of methionine enkephalin analog, [D-ala<sup>2</sup>]-methionine enkephalinamide (YAGFM), the influence of pH, temperature, ionic strength and initial peptide concentration on the physicochemical stability of YAGFM in aqueous buffered solutions were investigated using a stability-indicating HPLC method. The degradation of YAGFM followed the pseudo-first-order kinetics. From the pH-rate profile, the maximum stability of YAGFM was shown to be at the pH of about 5.0. The half-life for the degradation of YAGFM was found to be 181.3 days at pH 5.0 and 37°C. Arrhenius plots of the data obtained at 25~45°C were reasonably linear with a correlation coefficient greater than 0.99, and the activation energy was calculated to be 8.9 kcal/mole. A higher ionic strength and/or a higher peptide concentration in buffered solutions retarded the degradation of YAGFM.

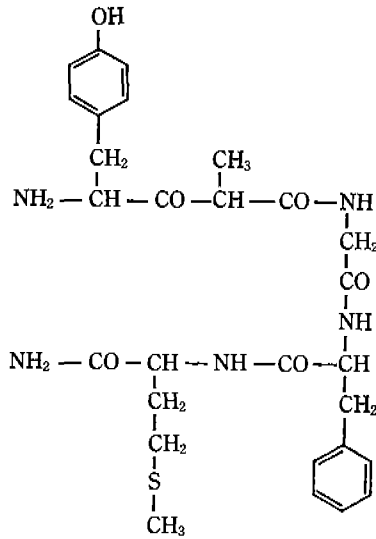
**Keywords** □ methionine enkephalin analog, [D-ala<sup>2</sup>]-methionine enkephalinamide, stability, aqueous solution, pH-rate profile, ionic strength.

엔케팔린은 1975년 Hughes 등에 의해 확인된 내인성 opiate receptor agonist로서 두개의 펜타펩타이드 즉, 메치오닌엔케팔린(Tyr-Gly-Gly-Phe-Met)과 로이신엔케팔린(Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu)이 존재한다(Hughes 등, 1975). 이들 펩타이드의 sequence는 양, 돼지, 사람의 뇌하수체에서 단리된  $\beta$ -lipotropin의 61-65의 잔기에 존재하며 체내 엔케팔린은 중추 및 말초신경계, 혈장 및 후각신경 등에 분포되어 있다. 이들은 통증 전달에 있어서 신경 전달물질 또는 신경조절인자로 진통, 혈압조절, 장관 운동성 변화, 지사작용 및 진해작용 등의 약리학적 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Brownstein, 1980; Olsen 등, 1981; Miller and Castresas, 1978); Dzolijic and Dzolijic, 1989). 그러나 이러한 효과는 생물학적 반감기가 1분 이내로 작용지속시간이 매우 짧으며 뇌실내 주사시에도

진통작용 등이 일시적으로 실제 임상에서의 응용은 매우 어렵다. 이와 같이 천연 엔케팔린류가 체내에서 급격히 불활성화되는 것은 혈장(Hambrook 등, 1976; Fredericksen and Geary, 1982), 뇌(Hersh and McKelvy, 1981)에 존재하는 여러 종류의 효소에 의한 분해에 기인하며 비강, 직장, 질 등의 점막 부위(Dodda-Kashi and Lee, 1986; Chun and Chien, 1992)에서도 심하게 분해되는 것으로 알려져 있다.

한편, 엔케팔린의 이러한 효소적 분해에 대해서 주 분해효소인 아미노펩티다제류에 대한 저항성을 높이고 작용강도를 높이고자 천연 엔케팔린의 두번째 아미노산인 글리신을 D-알라닌으로 치환한 [D-알라<sup>2</sup>]-메치오닌 엔케팔린아미드 등과 같은 합성 유사체가 설계되기에 이르렀다(Coy 등, 1976). 또 최근 엔케팔린 및 그 유사체류의 체내 수송을 위해 비강 (Su 등, 1985; Faraj 등, 1990), 안점막(Stratford 등, 1988), 소장(Kerchner and

\*To whom correspondence should be addressed.



Tyr-D-Ala-Gly-Phe-Met-NH<sub>2</sub>

C<sub>28</sub>H<sub>38</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>S Mol. wt. 586.7

Chart 1. Molecular structure and sequence of [D-ala<sup>2</sup>]-methionine enkephalinamide.

Geary, 1983) 및 피부(Choi 등, 1990) 등을 이용한 연구가 보고되었다. 그러나 이들 펩타이드류의 안정성에 관한 보고는 별로 없다(Vogel 등, 1978; Chun and Chien, 1992).

이 연구에서는 메치오닌엔케팔린의 합성 유사체로 아미노펩티다제류에 대해 보다 저항성이 크도록 설계된 [D-알라<sup>2</sup>]-메치오닌엔케팔린아미드(YAGFM, Chart 1)를 모델 펩타이드 약물로 하여 수용액 중 pH, 온도, 이온강도 및 펩타이드 농도가 YAGFM의 분해에 미치는 영향을 검토하였다.

## 실험방법

### 시약 및 기기

시약으로 YAGFM 및 치메로살은 Sigma Chemical Co. (USA)에서 구입하였고, 헵탄설폰산나트륨은 Junsei Chemical Co.(Japan)에서 구입하여 썼다. 이 밖에 고속액체크로마토그래프용 아세토니트릴, 메탄올(Labscan Limited, Ireland) 및 물 등을 사용하였고 기타 시약은 시판 특급품을 썼다. 기기로는 고속액체크로마토그래프장치(Shimadzu LC-3A, Japan) 및 프로그램 저온 항온기(Yamato IN 81, Japan) 등을 썼다.

### 안정성 시험

**보존온도의 영향**: YAGFM을 0.02 M 인산염(KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) 완충액(pH 7.4,  $\mu=0.08$ )에 녹여 100  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 하고 0.45  $\mu\text{m}$  멤브레인필터를 통과시킨 다음 각 보존 온도별로 멸균 바이알 3개씩에 1 ml씩 나누어 넣고

이를 각각 25, 35, 45 및 60 $\pm$ 0.2 $^{\circ}\text{C}$ 에 보존하면서 5, 10, 15, 20, 35 및 50일째에 각각 50  $\mu\text{l}$ 씩 취하여 인산염완충액(pH 5.0)을 넣어 250  $\mu\text{l}$ 로 희석하였다. 즉시 -20 $^{\circ}\text{C}$ 에서 동결하여 보존한 다음 분석전에 실온에 방치하여 녹인 다음 vortexing하여 섞고 다음의 HPLC법으로 정량하여 그 평균값을 YAGFM의 잔존량으로 하였다.

**pH의 영향**: 0.2 N KCl-HCl 완충액(pH 2.0), 0.1 M 구연산/0.2 M 인산일수소나트륨완충액(pH 3.0 및 4.0), 1/15 M 인산염(KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) 완충액(pH 5.0, 6.0, 7.0 및 8.0) 및 붕산염완충액(pH 9.0 및 10.0) 각각에 염화나트륨을 넣어 녹여 이온강도( $\mu$ )를 모두 0.35로 조절하고 각각의 완충액에 YAGFM을 녹여 100  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 하고 이를 무균 여과하고 각 pH별로 멸균 바이알 3개에 나누어 넣고 37 $\pm$ 0.2 $^{\circ}\text{C}$ 에 보존하면서 5, 10, 15, 20, 35 및 50일째에 각각 50  $\mu\text{l}$ 씩 취하여 1/15 M 인산염완충액(pH 5.0)을 넣어 250  $\mu\text{l}$ 로 희석하였다. 앞의 보존온도의 영향에서와 같이 조작하고 다음의 HPLC법으로 정량하여 그 평균값을 YAGFM의 잔존량으로 하였다.

**이온강도의 영향**: 0.02 M 인산염(KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) 완충액(pH 7.4)에 녹인 YAGFM 용액(100  $\mu\text{g/ml}$ )에 염화나트륨을 넣어 용액의 이온강도( $\mu$ )를 0.08, 0.3, 0.7 및 1.0으로 변화시키고 이를 무균 여과한 다음 이온강도별로 멸균 바이알 3개씩에 1 ml씩 나누어 넣고 37 $\pm$ 0.2 $^{\circ}\text{C}$ 에 보존하면서 앞의 보존온도의 영향에서와 같이 조작하여 YAGFM의 잔존량을 비교하였다.

**초기농도의 영향**: YAGFM을 0.02 M 인산염(KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) 완충액(pH 7.4,  $\mu=0.08$ )에 녹여 그 보존 초기농도를 30, 50, 100 및 200  $\mu\text{g/ml}$ 로 변화시키고 이를 무균 여과한 다음 초기농도별로 멸균 바이알 3개에 1 ml씩 나누어 넣고 37 $\pm$ 0.2 $^{\circ}\text{C}$ 에 보존하면서 앞의 보존 온도의 영향에서와 같이 조작하여 YAGFM의 잔존량을 구하였다.

### HPLC 정량법

HPLC 장치로 펌프시스템(Shimadzu 모델 LC-3A) 및 UV 검출기(Shimadzu 모델 SPD-1), 데이터처리장치(Chromatopac 모델 C-R1B)로 구성된 것을 사용하고 칼럼으로는 역상 C8 칼럼(Zorbax, 5  $\mu\text{m}$ , 4.6 $\times$ 250 mm)을, 이동상으로는 0.05 M 인산염완충액(pH 3.0)·아세토니트릴 혼합액(70:30 v/v, 0.1% 헵탄설폰산나트륨 함유)을 사용하여 유속 1.0 ml/min, 파장 214 nm에서 40  $\mu\text{l}$ 를 주입하였다. 따로 분석 당일 2~25  $\mu\text{g/ml}$  범위에서 YAGFM의 농도를 순차로 달리 하여 만든 표준액을 주입하여 얻은 YAGFM의 피크 면적으로부터 검량선을 작성하고 외부 표준액의 피크 면적과 시료의 피크 면적을 비교하여 이로부터 시료 중의 YAGFM의 양을 정량하였다. 각 펩타이드 용액의 초기농도를 100%로 하고 경시 보존한 시료의 농도를 초기농도에 대한 퍼센트로 나타내었다.

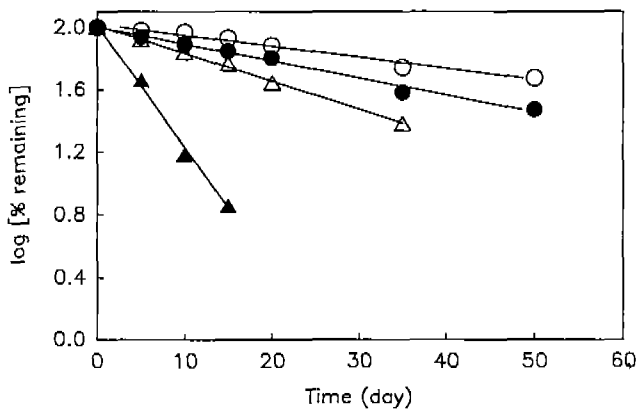


Fig. 1. First-order degradation profiles for [D-ala<sup>2</sup>]-methionine nekephalinamide in pH 0.02 M phosphate buffer (pH 7.4,  $\mu=0.08$ ) at various temperatures.  
Key: ○, 25°C; ●, 35°C; △, 45°C; ▲, 60°C

### 실험결과 및 고찰

여러 완충 수용액중 YAGFM의 안정성을 검토하기 위해 역상 HPLC법으로 정량하였다. 농도변화에 대한 피크 면적의 직선성은 상관계수 0.999 이상으로 양호하였으며 피크 면적의 재현성은 변동계수( $n=6$ ) 0.5% 이내이었다. 본 HPLC 분석조건에서 YAGFM은 4.50분에서 검출되었으며 각종 완충종과 분해산물이 YAGFM의 분리도에 미치는 영향은 없는 것으로 나타났다. 수용액중 YAGFM의 안정성은 온도, 완충액의 pH, 이온강도 및 초기농도를 각각 변화시키고 50일까지 경시적으로 시료를 취해 HPLC법으로 잔존농도를 측정하여 검토하였다. 보존온도가 [D-알라<sup>2</sup>]-메치오닌엔케팔린아미드의 분해에 미치는 영향

온도가 인산염 완충액(pH 7.4,  $\mu=0.08$ ) 중 YAGFM의 분해에 미치는 영향을 25~60°C의 온도 범위에서 검토한 결과 YAGFM의 분해정도는 보존온도가 높을수록 증가하였으며 60°C에서는 20일 이내에 거의 모두 분해되었다. 또한 그 잔존율을 가지고 1차식 (1)에 따라 플로트한 결과 Fig. 1에서와 log C대 시간의 직선관계가 얻어져 수용액중 YAGFM의 분해는 1차식에 따름을 확인하였다. 수용액중 메치오닌엔케팔린(Chun and Chien, 1992), histrelin (Oyler 등, 1991), 황체호르몬 유리호르몬(LHRH) (Motto 등, 1991), 아스파르탐(Sanyude 등, 1991), hexapeptide (Tokumura 등, 1990), thymopentin(Helm and Müller, 1991), gonadorelin 및 triptorelin (Helm and Müller, 1990), 항부신피질성 호르몬(Bhatt 등, 1990; Patel and Borchardt, 1990) 등의 분해도 1차 kinetics에 따르는 것으로 보고되었다.

$$\log C = -\frac{kt}{2.303} + \log C_0 \quad (1)$$

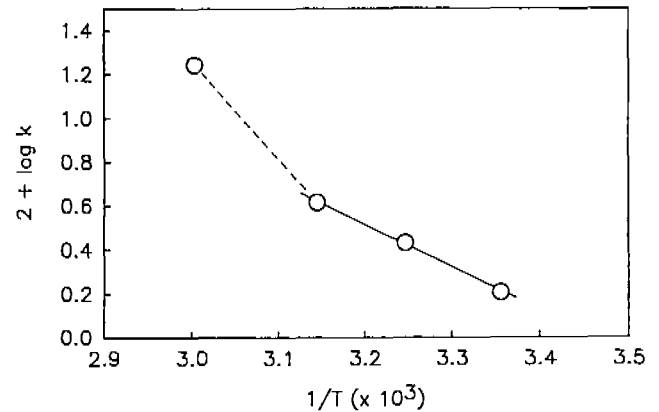


Fig. 2. Arrhenius plot of log rate constant vs  $1/T$  for the degradation of [D-ala<sup>2</sup>]-methionine enkephalinamide in 0.02 M phosphate buffer (pH 7.4,  $\mu=0.08$ ).

또 각 온도에서 pH 7.4 인산염 완충액( $\mu=0.08$ ) 중 YAGFM의 1차 분해속도정수는 25, 35, 45 및 60°C에서 각각 0.0161, 0.0271, 0.0409 및 0.1750 day<sup>-1</sup>로 산출되었으며 이를 Arrhenius 식 (2)에 따라 플로트한 결과 Fig. 2에

$$\log k = \log A - \frac{E_a}{2.303 RT} \quad (2)$$

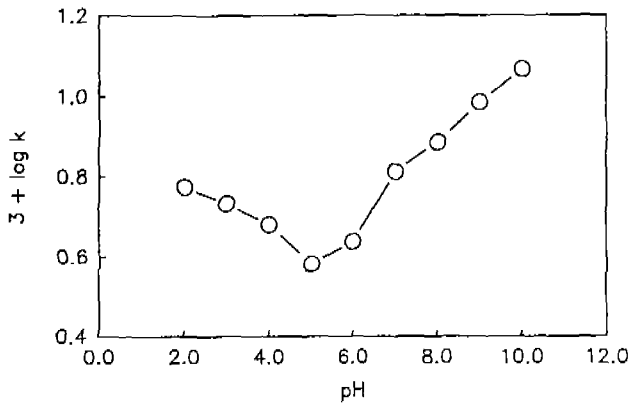
서와 같이 25~45°C 범위에서는 양호한 직선성( $r=0.9993$ )을 나타내어 활성화에너지가 8.90 kcal/mole로 산출되었으며 이 값은 pH 9.84 붕산염 완충액 중 메치오닌엔케팔린 분해의 활성화에너지 (9.84 kcal/mole) (Chun and Chien, 1992)와 거의 유사하다. 그러나 60°C에서는 직선성에서 다소 벗어났다. 이는 고온에서 YAGFM이 다른 기전으로 분해되기 때문인 것으로 추정되나 이에 관해서는 별도의 연구가 요구된다. 한편 50일만에 걸친 보존 및 시료채취도중의 미생물 오염이나 증식으로 인한 YAGFM의 분해속도효과에 영향을 배제하기 위해 따로 치메로살을 0.01% 농도로 첨가하여 비교실험을 행하였으나 잔존율에 있어서 양자 간에 별다른 차이가 없었다. 또 50일 후에도 육안 관찰시 변색, 혼탁, 침전 형성 또는 응집물 등이 관찰되지 않았다. 그러나 메치오닌엔케팔린의 수용액은 37°C에서 수 주간 보존하는 동안 심한 할량 저하와 혼탁 등이 나타났다는 보고(Chun and Chien)와 비교해 볼 때 이의 합성 유사체인 YAGFM은 미생물 오염에 대해서도 보다 저항성이 높은 것으로 생각된다.

**완충액의 pH가 [D-알라<sup>2</sup>]-메치오닌엔케팔린아미드의 분해에 미치는 영향**

완충액( $\mu=0.08$ )의 pH가 YAGFM의 분해에 미치는 영향을 경시적으로 잔존율을 구하여 1차식에 따라 분해속도정수와 반감기를 구한 결과는 Table I과 같으며 이를 가지고 log k-pH profile을 작성한 결과 Fig. 3에서와 같이 V-shape를 보여 주었다. 이에서 보는 바와 같이 YAGFM은 pH 5.0부근에서 가장 안정하였으며 산성에서보

**Table I.** Rate Constants and Half-Life ( $t_{1/2}$ ) for the Degradation of [D-Ala<sup>2</sup>]-Methionine Enkephalinamide in Various Buffered Solutions ( $\mu=0.35$ ) at pH 2.0~10.0 and  $37\pm 0.2^\circ\text{C}$

pH	Rate constants ( $\times 10^3 \text{ day}^{-1}$ )	$t_{1/2}$ (day)
2.0	5.94	116.7
3.0	5.40	128.3
4.0	4.80	144.6
5.0	3.82	181.3
6.0	4.35	159.5
7.0	6.48	106.9
8.0	7.69	90.2
9.0	9.66	71.7
10.0	11.68	59.4



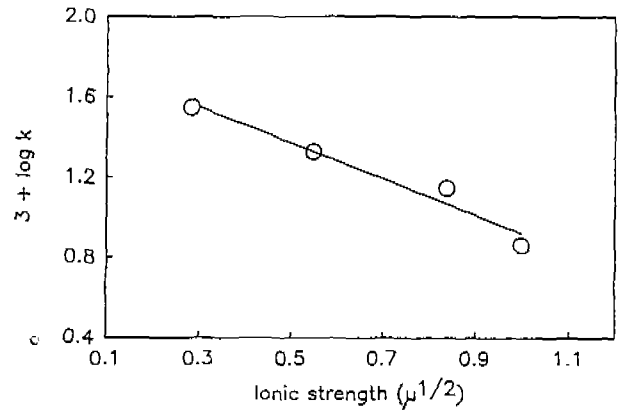
**Fig. 3.** pH-rate profile of the degradation of [D-ala<sup>2</sup>]-methionine enkephalinamide in various buffered solutions ( $\mu=0.35$ ) at  $37\pm 0.2^\circ\text{C}$  for 50 days.

다 알칼리성이 강할수록 분해는 더욱 촉진되었다. 메치오닌엔케팔린의 경우도 pH 5.0 부근에서 가장 안정하였다고 보고되어 메치오닌엔케팔린이나 이의 유사체인 YAGFM 모두 안정 pH 영역이 같음을 알 수 있다. 한편 테카펩타이드인 gonadorelin과 triptorelin도 log  $k$ -pH profile이 V-shape를 나타내었고 pH 5.0 부근에서 가장 안정한 것으로 보고되었다(Helm and Müller, 1990). LHRH의 유사체인 nafarelin acetate는 pH 4와 6 사이에서 안정하였고 hexapeptide인 (Me)Arg-Lys-Pro-Trp-tert-Leu-Leu-OEt는 U-shape의 pH-rate profile을 나타내었고 pH 4 부근에서 가장 안정하였다(Tokumura 등, 1990). 합성 펜타펩타이드인 thymopentin은 수용액 중에서 완충종에 따라 다른 pH-rate profile을 나타내어 초산염 완충액에서 보다 안정한 반면 인산염 완충액에서는 분해속도가 빨랐다고 하였다. 초산염 완충액에서는 pH 6.0 부근에서 그 분해속도정수가 가장 작았다(Helm and Müller, 1991). 또 heptacosapeptide인 secretin은 중성용액에서 분해가 지연되었다(Tsuda 등, 1990).

이와 같이 펩타이드의 종류에 따라 그 분해가 pH 및

**Table II.** Rate Constants and Half-Life for the Degradation of [D-Ala<sup>2</sup>]-Methionine Enkephalinamide in 0.02 M Phosphate Buffer (pH 7.4) with Various Amounts of Sodium Chloride at  $37\pm 0.2^\circ\text{C}$

Ionic strength ( $\mu$ )	Rate constant ( $\times 10^3 \text{ day}^{-1}$ )	$t_{1/2}$ (day)
0.08	35.2	19.7
0.3	16.3	42.5
0.7	14.0	49.5
1.0	7.3	94.9



**Fig. 4.** Ionic strength dependence of the degradation of [D-ala<sup>2</sup>]-methionine enkephalinamide in 0.02 M phosphate buffer (pH 7.4) at  $37\pm 0.2^\circ\text{C}$ .

완충종에 따라 다르게 영향을 받는 것을 알 수 있으며 본 연구에서는 여러 완충종을 사용하여 pH를 변화시키고 염화나트륨을 첨가하여 이온강도를 0.35로 일정하게 하였기 때문에 동일 pH에서 완충종이 YAGFM의 분해에 미치는 영향은 더욱 추구되어야 할 것으로 생각된다. 이온강도가 [D-알라<sup>2</sup>]-메치오닌엔케팔린아미드의 분해에 미치는 영향

인산염 완충액(pH 7.4) 중 YAGFM의 농도를  $100 \mu\text{l}/\text{ml}$ 로 일정하게 하고 이온강도만을 0.1~1.0 범위로 변화시키면서 YAGFM의 분해속도를 검토한 결과 Table II에서 보는 바와 같이 이온강도가 증대할수록 분해가 지연히 지연되었다. Debye-Hückel 식 (3)에 따라  $\mu^{1/2}$ 에

$$\log k = \log k_0 + 1.02Z_A Z_B \mu^{1/2} \quad (3)$$

대해 log  $k$  값을 플로트한 결과 Fig. 4에서 보는 바와 같이 이온강도가 작을수록 분해가 촉진되어 부(負)의 기울기를 나타내었다. 따라서 이의 분해반응은 이종 부호이온간의 반응인 것으로 생각된다. 즉 pH 7.4에서 YAGFM의 하전된 N 말단의  $\text{NH}_3^+$  ( $\text{pK}_a$  7.8)와 수산이온 ( $\text{OH}^-$ ) 간의 반응체인 것으로 추정된다(Ishimitsu and Sakurai, 1982). 한편 gonadorelin과 triptorelin은 pH 5.0 초산염 완충액에서 염화칼륨을 첨가하여 이온강도를 증가시켰으나 이들 펩타이드들의 분해속도정수에는 별다른

**Table III.** Effect of Initial Peptide Concentration on Rate Constants and Half-Life of [D-Ala<sup>2</sup>]-Methionine Enkephalinamide in 0.02 M Phosphate Buffer (pH 7.4,  $\mu=0.08$ ) at 37 $\pm$ 0.2 $^{\circ}$ C

Initial peptide concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	Rate constant ( $\times 10^3 \text{ day}^{-1}$ )	$t_{1/2}$ (day)
30	60.1	11.5
50	40.6	17.1
100	25.6	27.1
200	20.5	33.8

영향이 없는 것으로 나타났다 (Helm and Müller, 1990). 이로 볼 때 펩타이드류의 안정화에는 이온강도의 영향을 면밀히 검토할 필요가 있다. 또한 37 $^{\circ}$ C에서 인산염의 농도가 0.02 M(pH 7.4,  $\mu=0.3$ ) 일 때 YAGFM의 분해속도정수가  $16.3 \times 10^{-3} \text{ day}^{-1}$ (Table II)이었고 0.067 M(pH 7.4,  $\mu=0.35$ )인 경우에는 분해속도정수가  $6.48 \times 10^{-3} \text{ day}^{-1}$ (Table I)로 비슷한 pH와 이온강도의 조건에서 인산염의 농도에 따라 YAGFM의 분해속도정수에 큰 차이가 나타난 점으로 보아 완충종의 농도도 이 펩타이드의 분해에 큰 영향을 미침을 알 수 있다.

**초기농도가 [D-알라<sup>2</sup>]-메치오닌엔케팔린아미드의 분해에 미치는 영향**

YAGFM의 초기농도를 각각 30, 50, 100 및 200  $\mu\text{l}$ /mL로 변화시키면서 펩타이드의 초기농도가 그의 분해에 미치는 영향을 검토한 결과 Table III에서와 같이 초기농도가 커질수록 분해속도정수가 현저히 감소함을 관찰할 수 있었다. 이러한 결과는 4 $^{\circ}$ C에서 장기간 저장하였을 때 로이신엔케팔린의 묽은 수용액이 불안정하였다는 보고(Vogel 등, 1978)와 유사한 현상을 보여 준 것으로 이는 농도가 높을수록 펩타이드류의 자기회합이 증대되어 공격인자로부터 보호된 때문으로 추정되나 이의 원인에 대한 검토는 더욱 추후되어야 한다고 생각된다.

## 결 론

생리활성 펩타이드로 메치오닌엔케팔린의 합성 유사체인 [D-알라<sup>2</sup>]-메치오닌엔케팔린아미드(YAGFM)를 모델 펩타이드 약물로 하여 완충 수용액 중 이의 경시 보존 안정성에 미치는 보존온도, pH, 이온강도 및 초기 펩타이드 농도 등의 영향을 속도론적으로 검토하여 얻은 주된 결론은 다음과 같다.

1. YAGFM은 완충 수용액 중에서의 1차 반응에 따라 온도 의존적으로 분해되었으며 활성화에너지는 8.9 kcal/mole이었다. 수용액의 pH가 YAGFM의 분해에 미치는 영향은 pH-rate profile이 V-shape 거동을 보여 주어 YAGFM이 pH 5.0 부근에서 가장 안정하였으며 pH 5.0(이온강도 0.35) 및 37 $^{\circ}$ C에서 YAGFM의 분해 반감기는 181.3일이었다.

2. 수용액중 YAGFM의 분해는 이온강도가 높아질수록 분해속도가 지연되었으며 초기 펩타이드의 농도가 높을수록 분해가 억제되는 경향을 나타내었다.

3. 수용액중 YAGFM의 안정성이 보존온도, pH, 이온강도 및 초기농도 등에 의해 영향을 크게 받기 때문에 수용액을 장기간에 걸쳐 보존하는 경우 분해에 미치는 여러가지 인자를 고려하는 한편 안정화대책이 요구된다. 그러나 YAGFM의 경점막 수송 연구에 있어서 점막부위의 노출이나 점막투과 과정중의 물리화학적 분해는 무시될 수 있을 것으로 생각된다.

## 감사의 말씀

이 연구는 1991년 보건사회부 신약개발연구지원에 의해 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Bhatt, N.P., Patel, K. and Borchardt, R.T. (1990). Chemical pathways of peptide degradation. I. Deamidation of adrenocorticotrophic hormone. *Pharm. Res.* 7, 593-599.
- Brownstein, M.J. (1980). Peptidergic pathways in the central nervous system. *Proc. R. Soc. B.* 210, 133-149.
- Choi, H.K., Flynn, G.L. and Amidon, G.L. (1990). Transdermal delivery of bioactive peptides: The effects of decylmethyl sulfoxide and pH on enkephalin transport. *Pharm. Res.* 7, 1099-1106.
- Chun, I.K. and Chien, Y.W. (1992). Transmucosal delivery of methionine enkephalin I. Solution stability and kinetics of degradation in various rabbit mucosa extracts. *J. Pharm. Sci.* accepted for publication.
- Coy, D.H., Kastin, A.J., Schally, A.V., Morin, O., Caron, N.G., Labrie, F., Walker, J.M., Fertel, R., Bertson, G.G. and Sandman, C.A. (1976). Synthesis and opioid activities of stereoisomers and other D-amino acid analogs of methionine enkephalin. *Life Sci.* 73, 632-638.
- Dodda-Kashi, S. and Lee, V.H.L. (1986). Enkephalin hydrolysis in homogenates of absorptive mucosae of the albino rabbit: Similarities in rates and involvement of aminopeptidases. *Life Sci.* 38, 2019-2028.
- Dzolic, E.D. and Dzolic, M.R. (1989). Modification of morphine withdrawal in rats by alterations of the endogenous opioid system: Effects of actinonin and GEMSA. *Drug Dev. Res.* 18, 155-261.
- Faraj, J.A., Hussain, A.A., Aramaki, Y., Iseki, K., Kagoshima, M. and Dittert, L.W. (1990). Mechanism of nasal absorption of drugs. IV: Plasma levels of radioactivity following intranasal administration of (3H)leucine enkephalin. *J. Pharm. Sci.* 79, 768-770.
- Frederickson, J.C.A. and Geary, L.E. (1982). Endogenous opioid peptides: Review of physiological, pharmacological and clinical aspects. *Prog. Neurobiol.* 19, 16-69.
- Hambrook, J.M., Morgan, B.A., Rance, M.J. and Smith, L.F.C. (1976). Mode of deactivation of the enkephalins by rat and human plasma and rat brain homogenates. *Nature* 262,

- 782-783.
- Helm, V.J. and Müller, B.W. (1990). Stability and gonadorelin and triptorelin in aqueous solution. *Pharm. Res.* **7**, 1253-1256.
- Helm, V.J. and Müller, B.W. (1991). Stability of the synthetic pentapeptide thymopentin in aqueous solution: Effect of pH and buffer on degradation. *Int. J. Pharm.* **70**, 29-34.
- Hersh, L.B. and McKelvy, J.F. (1981). An aminopeptidase from bovine brain which catalyzes the hydrolysis of enkephalin. *J. Neurochem.* **36**, 171-178.
- Hughes, J., Smith, T.W., Kosterlitz, H.W., Fothergill, L.T., Morgan, B.A. and Morries, H.R. (1975). Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity. *Nature* **158**, 295-308.
- Kerchner, G.A. and Geary, L.E. (1983). Studies on the transport of enkephalin-like oligopeptides in rat intestinal mucosa. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **226**, 33-38.
- Miller, R.J. and Cartresas, P. (1978). The enkephalins: Peptides with morphine-like activity. *Naturwissenschaften* **65**, 508-514.
- Motto, M.G., Hamburg, P.F., Graden, D.A., Shaw, C.J. and Cotter, M.L. (1991). Characterization of the degradation products of luteinizing hormone releasing hormone. *J. Pharm. Sci.* **80**, 417-423.
- Olsen, G.A., Olsen, R.D., Kastin, A.L. and Coy, D.H. (1981). Endogenous opiates. *Peptides* **2**, 349-369.
- Oyler, A.R., Naldi, R.E., Lloyd, J.R., Graden, D.A., Shaw, C.J. and Cotter, M.L. (1991). Characterization of the solution degradation products of histrelin, a gonadotropin releasing hormone (LH/RH) agonist. *J. Pharm. Sci.* **80**, 271-275.
- Patel, K. and Borchartd, R.T. (1990). Chemical pathways of peptide degradation. II. Kinetics of deamidation of an asparaginyl residue in a model hexapeptide. *Pharm. Res.* **7**, 703-711.
- Sanyude, S., Locock, R.A. and Pagliaro, L.A. (1991). Stability of aspartame in water: Organic solvent mixtures with different dielectric constants. *J. Pharm. Sci.* **80**, 674-676.
- Stratford, R.E., Carson, L.W., Dodda-Kashi, S. and Lee, V.H. L. (1988). Systemic absorption of ocularly administered enkephalinamide and insulin in the albino rabbit: Extent, pathways and vehicle effects. *J. Pharm. Sci.* **77**, 838-842.
- Su, K.S.E., Campanale, K.M., Mendelsohn, L.G., Kerchner, G. A. and Gries, C.L. (1985). Nasal delivery of peptides I: Nasal absorption of enkephalins in rats. *J. Pharm. Sci.* **74**, 768-770.
- Tokumura, T., Tanaka, T., Sasaki, A., Tsuchiga, Y., Abe, K. and Machida, R. (1990). Stability of a novel hexapeptide, (Me)Arg-Lys-Pro-Trp-tert-Leu-Leu-OEt, with neurotensin activity in aqueous solution and in the solid state. *Chem. Pharm. Bull.* **38**, 3094-3098.
- Tsuda, T., Uchiyama, M., Sato, T., Yoshino, H., Tsuchiya, Y., Ishikawa, S., Ohmae, M., Watanabe, S. and Miyake, Y. (1990). Mechanism and kinetics of secretin degradation in aqueous solution. *J. Pharm. Sci.* **79**, 223-227.
- Vogel, Z., Miron, T., Altstein, M. and Wilchek, M. (1978). Spontaneous inactivation of enkephalin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **85**, 226-233.