

## Ketoprofen Lysinate의 藥劑學的 研究

李琬夏\* · 金長培\* · 智雄吉\*\* · 柳柄泰\*\*

成均館大學校 藥學大學\* · 忠南大學校 藥學科\*\*

### Pharmaceutical Study on Ketoprofen Lysinate

Wan Ha Lee, Jang Bae Kim, Ung Kil Jee, and Byung Tae Rhyu

(Received April 18, 1982)

In order to enhance water solubility, ketoprofen was made as lysine salt, such as acetylsalicylic acid lysine salt, ibuprofen lysine salt and amino acid salt of phenylbutazone.

The purpose of this study was to make a comparison between ketoprofen and ketoprofen lysine salt in aspects of analgesic, anti-inflammatory, and antipyretic effect.

The experimental results were summarized as followings.

1. Ketoprofen lysinate was composed of one molecule of ketoprofen and one molecule of lysine. The product was water soluble and melting point was  $92^{\circ}\text{C} \sim 94^{\circ}\text{C}$ .
2. Ketoprofen lysinate showed about 2 times stronger analgesic effect than that of ketoprofen while no difference in antipyretic effect was observed.
3.  $\text{LD}_{50}$  of ketoprofen lysinate was higher than that of ketoprofen, suggesting ketoprofen lysinate as safer drug.
4. Blood concentration of ketoprofen lysinate was  $156\mu\text{g/ml}$  while the concentration of ketoprofen was  $116\mu\text{g/ml}$  in 30 min., suggesting long acting as well as high blood concentration.

鎮痛消炎劑의 개발연구가 世界的으로 활발이 이루어지고 있는데, 최근의 개발 동향은 毒性이 弱하여 장기간 사용이 가능한 것, 반대로 抗炎症作用이 강해 사용량을 줄임으로서 副作用을 輕減시킬 수 있는 것과 抗炎症作用 외에 鎮痛作用을 갖는 것, 또는 류마티스성 關節炎에 有効한 것을 開發目標로 하고 있다.

\* College of Pharmacy, Sung Kyun Kwan University

\*\* College of Scince, Chung Nam National University

이런 점에서 ketoprofen은 작용이 강해 소량으로 효과가 있으며 류마티성 關節炎에도 有效하며 indomethacin에 필적하는 抗炎症作用이 있는 반면에 毒性은 그의 1/10~1/20이나 적다.

構造의으로는 anthranilic acid의 誘導體이나 phenylacetic acid 誘導體와 유사한 구조를 갖는 새로운 화합물이며 非스테로이드性 鎮痛消炎劑로서 salicylate, phenylbutazone 및 indomethacin에서 문제가 되는 毒性이나 癢양문제 등 부작용 등이 개선된 의약품이다<sup>1-5)</sup>.

毒性은 LD<sub>50</sub>值가 indomethacin 보다 mouse와 rat에서 경구투여時 20배나 높았고<sup>6)</sup>, rat에서 10~20mg/kg을 40일동안 경구 투여한 후에도 혈액학적 또는 병리조직학적인 이상이 나타나지 않았다는 보고<sup>7)</sup>도 있다.

그러나 ketoprofen은 물에 녹지 않는 성질이 제제상 문제점으로 남아 있다.

Acetyl salicylic acid는 이런 점을 해결하기 위하여 lysine 鹽으로 하여 可溶性으로 하였으며<sup>8,10)</sup> phenyl alkane carboxylic acid系의 약물도 lysine, arginine을 작용시켜 가용성 鹽으로 하였다<sup>9)</sup>. 그리고 phenylbutazone도 amino acid와 鹽을 만들어서 毒性을 비교한 결과 경구 투여時 1/3이나 약해졌다는 보고가 있으며<sup>11)</sup>, ibuprofen도 역시 lysine으로 鹽을 만든 결과 좋은 吸收率과 毒性이 약해졌다는 보고가 있다<sup>12)</sup>.

著者は ketoprofen을 可溶性으로 하기 위하여 ketoprofen과 lysine을 綜合시켜 ketoprofen lysinate를 만들어 이를 物理化學的 方法으로 확인함과 동시에 鎮痛作用, 消炎作用, 解熱作用 등의 약리작용을 비교 검토하고, 急性毒性 및 경구투여한 다음 血中濃度의 변화와 尿中排泄量을 測定하여 몇가지 知見을 얻었기에 이를 보고한다.

## 實 驗 方 法

**Ketoprofen Lysinate의 製造**—방법 ①: ketoprofen 25.4g를 methanol 100ml에 용해시킨 용액에 mole 比 1:1로 따로 lysine 14.6g을 물 15ml에 용해시킨 다음 methanol 20ml를 가하여 희석시킨 것을 교반하면서 소량씩 가하여 반응시켰다. lysine 용액을 다 넣은 다음 용기를 methanol 10ml 물 1ml로 잘 씻어 추가로 넣어 주었다. 17±2°C에서 약 2시간 동안 교반을 계속하여 반응시킨 다음 반응액을 40°C에서 감압 농축하여 농조한 상태의 ketoprofen lysinate 수용액을 얻었다.

이 濃稠液에 ether 200ml를 넣은 다음 잘 섞어주면 橙色 내지 乳白色의 침전이 석출된다. 이를 여취하여 低温에서 송풍 건조시켰다.

방법 ②: ketoprofen 19.05g을 methanol 80ml에 용해시킨 溶液에 lysine 10.96g을 소량씩 분말상태로 직접 가해주면서 교반하였다. 전량을 다 가한 다음 물 5ml를 가하고 15±2°C에서 3시간 동안 교반을 계속하였다.

Lysine 분말이 다 용해되고 미황색이 되면 이를 ①과 같은 方法으로 40°C에서 감압 농축시킨 다음 ether로 처리하여 白色 내지 乳白色의 분말을 얻었다.

방법 ③: lysine 14.6g을 물 15ml에 가하여 용해시키고 methanol 20ml를 가하여 희석시킨 溶液에 별도로 ketoprofen 25.4g를 methanol 80ml에 용해시킨 溶液을 소량씩 가하면서 15±2°C에서 2시간 교반하여 반응시켰다. 이를 위와 같이 40°C에서 감압 농축시킨 다음 ether로 처리하여 白色 내지 乳白色 분말을 얻었다.

위에서 얻은 白色 내지 乳白色 粉末을 methanol과 ether(2:3) 혼액에 용해시키고 여과하여 여기에 ether를 가하여 再結晶하여 實驗試料로 사용하였다.

**確認試驗**—원소분석, IR, UV, NMR에 의하여 ketoprofen lysinate임을 확인하였다.

**鎮痛作用**—Koster<sup>13)</sup>의 초산법에 따라 체중 15~20g의 mouse 5마리씩을 1群으로 하여 ketoprofen 20mg/kg, ketoprofen lysinate 15.75mg/kg(ketoprofen 10mg/kg에 해당) 및 ketoprofen lysinate 31.5mg/kg(ketoprofen 20mg/kg에 해당)을 각각 경구 투여하고 30분 또는 60분 후에 0.6% acetic acid를 0.1ml/10g씩 복강내에 주사하고 5분 후부터 20분 동안에 일어나는 mouse의 stretching數를 測定하여 그 억제작용을 산출하였다.

**解熱作用**—실험동물은 체중 2.3~2.7kg의 영양상태가 좋은 토끼를 1주간 이상 일정한 사료로 사육하고 그 중에서 체중 감소가 없는 것을 사용하였다.

발열물질로서 thypoid vaccine 0.3ml/kg를 귀정맥에 주사한 다음 24시간 후에 체온이 1°C 이상 상승한 토끼를 택하여 1群을 7마리로 하여 ketoprofen 10mg/kg과 ketoprofen lysinate 15.75mg/kg를 각각 경구 투여하고 5시간 동안 毎시간 마다 그 直腸溫度를 Tele thermometer로 측정하였다.

**浮腫抑制作用**—체중 130g 内外의 rat 12마리씩을 1群으로 하여 右足の 容積을 測定한 다음 즉시 ketoprofen 5mg/kg와 ketoprofen lysinate 7.9mg/kg를 각각 경구 투여하고 30분 후에 1% Carrageenin액 0.1ml를 右後 肢足蹠皮下에 주사한 후 5시간 동안 毎시간마다 발의 容積을 測定하여 浮腫의 抑制率을 計算하였다.

**急性毒性試驗**—체중 20g 内外의 mouse를 각군 10마리씩으로 하고 ketoprofen과 ketoprofen lysinate의 각 용량을 복강내에 주사하고, Behren's法에 따라 그 LD<sub>50</sub>值를 算出하였다.

**血中濃度測定**—체중 2~2kg의 토끼를 1群 10마리씩으로 하여 ketoprofen 50mg/kg과 ketoprofen lysinate 78.8mg/kg(ketoprofen 50mg/kg에 해당)를 경구 투여하고 30, 60, 120, 300, 360분에 귀정맥에서 혈액을 5ml씩 채취하여 30분간 원심분리(1000rpm)한 다음 血漿 2ml를 정확히 취하고 여기에 N-HCl액 1ml를 넣고 ether 25ml를 넣어 10분간 진탕한 다음 다시 5분간 원심분리(3000rpm)하여 그중 15ml를 취하고 수욕상에서 증발 건조시켰다.

증발잔사를 acetonitrile과 0.02M phosphate buffer(2:3)와의 혼액(2:3) 5ml를 넣어 용해시키고 여과한 다음 HPLC용 검액으로 하였다. 이때 HPLC의 조건은 다음과 같다.

column,  $\mu$ Bondapak C18; detection, UV 254nm; mobile, phase. acetonitrile:0.02M phosphate buffer(2:3); flow rate, 2.0ml/min; sa. vol, 15 $\mu$ l; chart speed 1 inch/min., 별도로 표준품을 사용하여 검량곡선을 얻어 血中濃度를 계산하였다.

**尿中 Ketoprofen 測定**—1群 10마리의 토끼에 ketoprofen 50mg/kg과 ketoprofen lysinate 78.8mg/kg(ketoprofen 50mg/kg에 해당)을 각각 경구 투여한 후 尿를 10時間, 24時間, 48時間에 각각 수거하여 원심분리한 다음 尿 1ml를 취하여 N-NaOH액 1ml를 넣고 ether 25ml를 넣어 15분간 진탕하고 원심분리하여 ether층을 유거시킨 다음 이 잔층에 N-HCl액 2ml를 넣고 ether 25ml를 넣어 15분간 진탕한 후 다시 원심분리한 다음 ether층 15ml를 취하여 수욕상에서 증발 건조하였다. 증발건고물에 acetonitrile과 phosphate buffer와의 혼액(2:3) 5ml를 넣어 진탕 용해시킨 다음 여과하여 여액을 HPLC용 검액으로 하였다.

검량곡선으로부터 尿中 ketoprofen의 양을 산출하였다.

### 實驗結果 및 考察

**Ketoprofen Lysinate 製造**—제조방법 중 ①은 반응시간은 짧았으나 감압농축시켜 침전으로 제품을 얻는데 3시간 이상이 소요되었고 수득량은 38g이었으며 이를 再結晶하여 37.1g (92.7%)을 얻었다. 그러나 이들의 製造는 ketoprofen과 lysine이 서로 분자량의 당량비로서, 結合되는 상태이므로 1:1의 비율보다 ketoprofen의 양을 조금 초과하여 사용하면 과량의 ketoprofen은 ether에 용해되어 제거되므로 정제하기가 간단하였다.

②의 방법은 ketoprofen methanol 용액에 lysine 분말을 직접 가하여 반응시킨 결과 lysine이 용해가 잘 되지 않으므로 물 5ml를 가한 다음 교반을 계속한 결과 lysine이 완전히 용해되어 반응이 끝난 것은 4시간 정도였다. 그러나 감압 농축 후 ether에 의하여 침전물을析出시키는 조작은 물의 양이 소량이었으므로 다른 방법보다 좋은 수득량을 얻게 되어 수득물도 93.2%의 좋은 결과를 얻었다.

③의 제조방법은 ①의 방법과 같으나 다른 점은 lysine 용액에 ketoprofen methanol 용액을 소량씩 가해주면서 반응시킨 것으로서 결과는 ①의 방법과 같았으며 수득량도 같았다.

위의 3가지 방법으로 얻은 白色 내지 乳白色 粉末은 모두 물에 易溶이며, 그 용점도 같아 92~94°C였다.

**確認試驗**—IR, UV, NMR 및 원소분석에 의해서 ketoprofen에 lysine이 鹽의 상태로 結合되었음을 확인하였다. 元素分析値는 다음과 같다. 理論値 : C, 65.98; H, 7.05; N, 6.99 實驗値 : C, 65.90; H, 7.06

IR spectrum에서  $\sim\text{NH}_3^+$  bond가  $3420\text{cm}^{-1}$ 에서부터  $2800\text{cm}^{-1}$ 에 걸쳐서 염의 특이한 형태로 broad하게 나타나며 특히 ketoprofen과 lysine이 결합하지 않았을 경우 생성될 수 있는 amide나 imine의 peak를 찾아볼 수 없었다.

NMR spectrum에서도 ketoprofen과 lysine에서 나올 수 있는 모든 peak들이 그대로 재현되었고 UV spectrum에서도 ketoprofen과 lysine의 maximal absorbence는 그대로 나타났다.

Ketoprofen lysinate의 m. p.는 92~93°C로서 ketoprofen이 94°C이고 lysine이 224.5°C인데 비하여 ketoprofen과 lysine의 1:1 혼합물의 m. p.는 183~184°C이었다.

**Table I**—Analgesic Effect of Ketoprofen and Ketoprofen Lysinate Mouse by Acetic Acid Method

Drug	Dose(mg/kg)	Time(min.)	Inhibition(%)
Ketoprofen	20	30	57.95 ±3.26a
		60	52.94 ±5.15b
Ketorofen lysinate	31.5(20 as Ketoprofen)	30	78.90* ±3.93
		60	75.16** ±4.14
	15.75(10 as Ketoprofen)	30	73.90 ±3.39
		60	67.79 ±3.24

Values are mean  $\pm$ S.E from 15 mice. \*,  $p < 0.01$  when compared with a; \*\*,  $p < 0.01$  when compared with b.

**藥理作用試驗**—鎮痛作用: 초산으로 일으킨 stretching에 대한 억제작용을 測定한 결과는 Table I 과 같다.

20mg/kg의 ketoprofen에 해당하는 ketoprofen lysinate는 30분에서 79%, 60분에서 75%의 억제를 나타낸 것에 반하여 ketoprofen은 20mg/kg일 때 30분에서 58%, 60분에서 53%의 억제효과를 나타내 ketoprofen lysinate가 더욱 현저하게 억제함을 알 수 있었으며, 10mg/kg의 ketoprofen에 해당하는 ketoprofen lysinate를 투여해도 ketoprofen 20mg/kg보다 더 강한 진통작용을 나타내어 진통작용 면에서는 ketoprofen lysinate가 ketoprofen보다 2배 이상 강한 것을 알 수 있다.

**解熱作用**: 解熱作用을 검토한 결과는 다음 Table II와 같으며 약물을 투여하지 않은 대조군에 비하여 약물 투여군은 현저한 해열작용을 나타냈다.

Ketoprofen과 ketoprofen lysinate群의 해열작용을 비교한 결과 처음 1시간에는 ketoprofen lysinate 群이 ketoprofen 群보다 약간 강한 작용을 나타냈으나 그 후부터는 별 차이가 없었고, 5시간 후에는 거의 정상의 체온으로 되었으며 그 효능도 두 가지가 거의 같은 수치를 나타내었으며 解熱下降曲線도 거의 같으므로 解熱效能은 비슷하다고 볼 수 있다.

**Table II**—Antipyretic Action of Ketoprofen and Ketoprofen Lysinate in Rabbit

Groups	Time(hr)					
	0	1	2	3	4	5
Control	1.06 ±0.09	1.08 ±0.11	1.01 ±0.11	0.94 ±0.12	0.90 ±0.12	0.89 ±0.12
Ketoprofen(10mg/kg)	1.03 ±0.08	0.84 ±0.10	0.53 ±0.10	0.39 ±0.06	0.29 ±0.03	0.11 ±0.04
Ketoprofen lysinate (15.75mg/kg)	1.01 ±0.06	0.74 ±0.06	0.49 ±0.11	0.39 ±0.06	0.31 ±0.03	0.11 ±0.03

Values are mean ± S.E from 7 rabbits.

**Table III**—Inhibitory Effect of Ketoprofen and Ketoprofen Lysinate on the Swelling of Rat Hind Paw Induced by Carrageenin

Drug	Inhibitory %				
	1hr.	2hr.	3hr.	4hr.	5hr.
Ketoprofen(5mg/kg)	35.49* ±5.41**	37.07 ±6.91	47.53 ±5.43	44.57 ±5.18	45.88 ±5.03
Ketoprofen Lysinate (7.9mg/kg)	50.15 ±5.52	39.20 ±4.73	48.86 ±4.37	46.73 ±4.28	43.36 ±4.39

\* : Values are mean ± S.E from 12 rats. \*\* : ±S.E

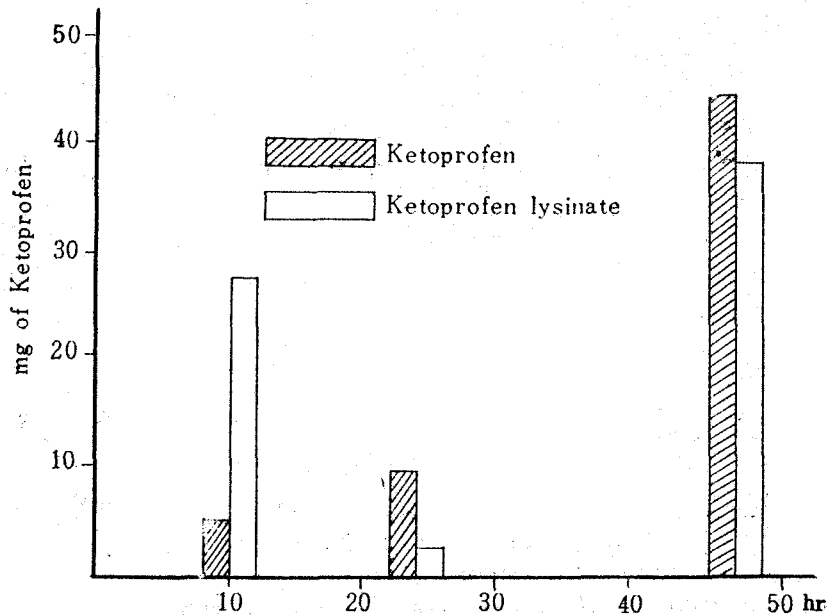
**浮腫抑制作用**: rat에서 carrageenin으로 일으킨 急性右後肢足蹠浮腫抑制作用을 시험한 결과는 다음 Table III과 같다. ketoprofen과 ketoprofen lysinate를 비교한 결과 처음 1시

같은 ketoprofen lysinate가 더 강한 부종억제를 나타내었고 그 후에는 거의 비슷한 수치를 나타내어 차이가 없었다.

**Table IV**—Comparison of Acute Toxicity of Ketoprofen and Ketoprofen Lysinate under Peritoneal Injection in Mouse

Dose	Drugs				
	Ketoprofen		Ketoprofen Lysinate		
	g/kg	Live	Death	Live	Death
1	10	10	0	10	0
2	10	10	0	10	0
3	10	10	0	10	0
4	8	8	2	10	0
5	8	8	2	10	0
6	4	4	6	10	0
7	2	2	8	8	2
8				10	0
9				6	4
10				6	4
11				4	6

急性毒性試驗：急性毒性試驗은 ketoprofen과 ketoprofen lysinate를 각각 복강내 주사하고 24시간까지의 致死率을 측정한 것은 Table IV와 같으며, Behren's法에 의하여 그 LD<sub>50</sub>值를 산출한 결과 ketoprofen은 5.68g/kg이고 ketoprofen lysinate는 10g/kg이었다. 이것을



**Figure 1**—The urinary excretion patterns of ketoprofen and ketoprofen lysinate in rabbits.

ketoprofen의 양으로 환산하면 6.26g/kg에 해당하며 ketoprofen lysinate가 0.6g/kg 정도 높은 안정수치를 나타내었다.

血中濃度測定: 약물은 經口 투여한 다음 30분 후에 측정된 ketoprofen의 혈중농도는 116  $\mu\text{g/ml}$ 이고 ketoprofen lysinate는 156  $\mu\text{g/ml}$ 로 ketoprofen lysinate의 흡수가 현저히 빠름을 나타내었으며 시간이 경과함에 따라 ketoprofen 보다 더 급속한 消失曲線의 下降을 나타내고 6시간 후에는 오히려 ketoprofen 보다 혈중농도가 낮게 됨을 나타냈다.

尿中 Ketoprofen 測定: 토끼에 ketoprofen 50mg/kg, ketoprofen lysinate 78.8mg/kg (=ketoprofen 50mg/kg에 해당)을 경구 투여한 다음 10時間, 24時間 및 48時間後에 각각 採尿하여 측정된 尿中 ketoprofen의 값은 Fig. 5와 같으며, ketoprofen lysinate가 처음 10시간 동안 배설된 양은 ketoprofen 보다 5배나 더 배설되었으며 24시간까지에서는 현저히 줄어들었고 48시간 후까지도 ketoprofen lysinate가 ketoprofen 보다 소량 배설됨을 나타낸 것으로 보아 ketoprofen은 지속성이 있으며, ketoprofen lysinate는 속효성이 있는 것으로 추정되며 이 사실은 혈중농도 곡선과도 일치하였다.

## 結 論

ketoprofen lysinate를 합성하여 그 약리작용을 ketoprofen과 비교 검토한 실험결과로부터 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. ketoprofen lysinate는 ketoprofen과 lysine이 1:1의 비율로 상온에서 용이하게 반응하며 수득률은 약 93%였으며 물에 잘 녹았고 그 융점은 92~942°C였다.
2. 초산법에 의하여 비교한 진통작용은 ketoprofen 보다 2배 이상 강한 작용을 나타내었다.
3. 解熱作用은 ketoprofen과 거의 비슷한 效果를 나타내었으며, 모두 2시간 후에는 정상 체온으로 되었다.
4. 浮腫抑制作用은 처음 1시간에는 ketoprofen 보다 더 강한 억제효과를 나타내었으나, 그 이후는 비슷한 작용을 나타내었다.
5. 血中濃度는 ketoprofen lysinate가 처음 30분에 156  $\mu\text{g/ml}$ 로 ketoprofen의 혈중농도 116  $\mu\text{g/ml}$  보다 현저하게 높은 농도를 나타내었으나 그 후 급속히 감소하여 6시간 경과 때에는 ketoprofen이 24  $\mu\text{g/ml}$ 인데 비하여 ketoprofen lysinate는 19  $\mu\text{g/ml}$ 로서 혈중농도가 더 낮아졌다.
7. 尿中에 배설된 ketoprofen의 양은 ketoprofen lysinate가 처음 10시간 동안 현저히 많았으나 10시간~48시간 사이에 배설된 양은 ketoprofen 보다 현저히 적었다.

## 文 獻

- 1) A. N. Gyory, M. Bloch, H. C. Burry, R. Grahame, *Brit. Med. J.*, **18**, 398 (1972)
- 2) H. Fujimura, K., *Tsurum 日, 藥誌* **70**, 801~818 (1974)
- 3) A. Mukaide, T., *Kameyama 日, 藥理誌* **71**, 553~558 (1975)
- 4) T. Kemeyama, *藥理と治療* **3**, 828~835 (1975)
- 5) J. G. Lombardino, I. G., Offerness E. H., Wiseman *Arzneim. Forsch.*, **25**, 1629~35 (1975)

- 6) H. Fujimura, K., Tsurumi 應用藥理 **8**, 1285~1304 (1974)
- 7) R. Ito, S. Toida, K. Kaneko, *Toho Igakkai Zasshi* **22**, 523~537 (1975)
- 8) Liade Lab., *Span.* 385, 222.
- 9) T. Bruzzese., R. Ferrai., *Ger. Offen.* 2, 508, 895
- 10) D. Sato, T. Inaba, *Janban Kokai*, **7**, 356, 815
- 11) Couston Frank, *Ger. Offen.* 2, 316, 802
- 12) Couston Frank, *ibid.*, 2, 508, 895
- 13) R. Koster, *Federation Proc.*, **22**, 249 (1959)
- 14) C.V. Winder, J. Wax, V. Burn, M. Beer, *Arch. Intern. Pharmacodyn.*, **116**, 261 (1958)
- 15) B. Behrens, *Arch. Exp. Path. Pharmacol.*, **140**, 237 (1929)
- 16) A. Bannier, J.L. Brazier, B. Ridon, *J. Pharm. Sci.*, **69**, 763 (1980)