チエノピリジン系 P2Y₁₂ 受容体阻害剤： 長らく不明だった薬理活性体と活性化メカニズム

第一三共株式会社 薬物動態研究所^{*1)}・第一三共株式会社 研究統括部^{*2)}・横浜薬科大学 薬物動態学研究室^{*3)}
萩原克宣^{*1)}・数井美穂^{*1)}・栗原 厚^{*1)}・安東 治^{*1)}・泉 高司^{*2)}・池田敏彦^{*3)}

Thienopyridine P2Y₁₂ receptor antagonists: unknown pharmacological active metabolites and metabolic activation mechanisms

As sulfa drug was found as the urinary metabolite of Prontosil in past times, early prodrugs were often discovered by chance. The prodrugs later on, however, have been synthesized by chemically modifying the pharmacologically active substance, most frequently, with an intension of increased lipophilicity for an improved intestinal absorption and efficient enzymatic conversion to the active substance in the body. This could be achieved based on plenty of knowledge on the activating enzymes like esterases. In cases where the chemical structures of active metabolites or the mechanisms of metabolic activation are unknown, however, we cannot implement such strategies. The examples are the thienopyridine antiplatelet agents whose active metabolites have not been structurally clarified for long even though their clinical usefulness as the anti-platelet drugs has been well established in human studies. In this article, we describe the mechanisms for metabolic activation of thienopyridines and impact of the differences in the activation mechanism on the clinical outcomes.

プロントシルからサルファ剤が見つかったように、初期のプロドラッグは偶然発見されたものが多い。近年のプロドラッグ開発では、たとえば難吸収性薬物の脂溶性をあげることで消化管吸収率を改善し、酵素の働きでもとの薬物に戻して薬効を発揮させることが意図的に実施された。これは、エステラーゼなど、活性化酵素の特性が十分に解明されてきたからであるといえる。しかしながら、活性化本体の化学構造および活性化メカニズムが不明な場合には、プロドラッグ開発においてこの方法を踏襲することはできない。チエノピリジン系抗血小板薬はその 1 例であり、臨床試験が先行し、後に活性体の構造が明らかとなった。本稿では、チエノピリジン系薬剤の臨床成績にインパクトを及ぼした代謝活性化メカニズムの違いについて紹介する。

Katsunobu Hagihara^{*1)}, Miho Kazui^{*1)}, Atsushi Kurihara^{*1)}, Osamu Ando^{*1)}, Takashi Izumi^{*2)}, Toshihiko Ikeda^{*3)}

Keywords: Thienopyridine, prasugrel, clopidogrel, prodrug, metabolic activation

1. はじめに

近年、心筋梗塞や不安定狭心症などの急性冠症候群が増加の一途をたどっている。これらの治療には、チエノピリジン系抗血小板薬(チクロピジン、クロピドグレル、プラスグレル)が使用される。第1世代のチエノピリジン系抗血小板薬であるチクロピジ

ンは、まれではあるが肝障害、血栓性血小板減少性紫斑病などの重篤な副作用が問題となった¹⁾。その後、副作用の発症頻度が抑えられたクロピドグレルが臨床的に広く用いられるようになったが、治療抵抗性あるいは薬効発現における個体間変動が複数報告された²⁾。

最近上市されたプラスグレルは、その血小板凝集阻害作用がクロピドグレルと比べて迅速かつ強力で、薬効発現における個体間変動も小さいことが臨床試験で確認されている³⁾。

^{*1)} Drug Metabolism & Pharmacokinetics Res. Labs., Daiichi Sankyo Co., Ltd.

^{*2)} Research Function, Daiichi Sankyo Co., Ltd.

^{*3)} Laboratory of Pharmacokinetics, Yokohama University of Pharmacy

一連のチエノピリジン系抗血小板薬は、それ自身は薬理作用を持たないプロドラッグであり、*in vivo* 実験系では強力な血小板凝集阻害作用を示すものの *in vitro* 実験系では活性を示さない。また、薬理活性代謝物の化学構造とその生成メカニズムについては、チトクロム P450(以下CYP)による酸化過程が関与していることを除き、長年、未解明のままであった⁴⁾。2000年になり、クロピドグレルおよびプラスグレルの活性代謝物の化学構造(ピペリジン環上に α - β 不飽和カルボン酸とチオール基を有した構造)が明らかとなった(図1)⁵⁾。その後、チクロピジンの活性代謝物も共通の基本骨格を有することが報告された(図1)^{6,7)}。活性代謝物の有するチオール基は、血小板のP2Y₁₂受容体にジスルフィド結合を介して共有結合すると考えられ、この系統の薬物が単回投与でも長時間薬効が持続する現象を説明することができた。

なお、クロピドグレルおよびのプラスグレル各活

性代謝物は、*in vitro* 試験系においてほぼ同程度の血小板凝集阻害活性を示す⁸⁾。このことは、冒頭で述べたチエノピリジン系薬剤間における臨床用量や臨床薬理プロファイルの違いが、代謝活性化メカニズムの違いに起因することを示唆している。

本稿では、チエノピリジン系抗血小板薬の代謝活性化メカニズムについて、特にクロピドグレルとプラスグレルの違いに着目して比較検討した結果を紹介する。

2. 強力かつ安定した薬理効果を実現するプロドラッグ

プラスグレルは、臨床においてクロピドグレルよりも強力かつ安定した抗血小板作用を示す(図2)⁹⁾。図2に示すように、健常人にクロピドグレル(300mg)を投与後、血液を採取し、ADPを用いた血小板凝集に対する阻害活性を測定したとこ

図1 Chemical structures of active metabolites of thienopyridine antiplatelet agents.

図2 Inhibition of platelet aggregation in healthy volunteers administered 300mg clopidogrel or 60mg prasugrel⁹⁾.

ろ、被験者間に大きなばらつきが見られた。続いて同一被験者にプラスグレル(60mg)を投与したところ全員に血小板凝集阻害活性が認められ、かつそれぞれの個体における活性はクロピドグレルよりも強力なものであった。薬理活性代謝物の活性はほぼ同等でありながら、なぜそのような違いが生じるのか?その原因を探るため、筆者らはまず両薬物の体内動態を比較した。その結果、プラスグレルをラットおよびイヌに経口投与した場合、両動物種ともクロピドグレルに比べて、より高い活性代謝物の血漿中曝露を認めた。図3に示すように、クロピドグレルとプラスグレルは、それぞれのチオラクトン中間体を経由して、活性代謝物を生成することが判明している(図3)^{10,11)}。なお、チオラクトン中間体の生成は、プラスグレルでは加水分解反応によるものであり、クロピドグレルではCYPによる酸化反応によるものである。また、クロピドグレルでは平行してメチルエステル部分の加水分解によるカルボン酸型代謝物への変換も同時進行する。したがって、上述した血漿中活性代謝物曝露の違いは、チオラクトン中間体の生成効率の違いに起因する可能性が考えられた。そこで、両薬物のチオラクトン中間体の門脈血漿中曝露を比較したところ、プラスグレルはラットおよびイヌの門脈中において、クロピドグレ

ルよりも高いチオラクトン中間体曝露を示した¹⁰⁾。本結果は、チエノピリジン系抗血小板薬の血小板凝集阻害作用の違いが、活性代謝物生成効率の違いに由来しており、それは結局、前駆物質であるチオラクトン中間体の生成効率の違いに起因することを強く示唆している。なお、プラスグレルでは未変化体が門脈中に全く検出されなかったことから、プラスグレルは小腸において効率よくチオラクトン中間体へ変換された後、門脈中へ移行することが示された。これらの結果は、これまでのヒト小腸¹²⁾、Caco-2細胞あるいはヒトカルボキシルエステラーゼ(以下hCE)1およびhCE2を用いた*in vitro*試験の結果とも一致する¹³⁾。一方、クロピドグレルに関しては、チオラクトン中間体の門脈中濃度が非常に低く、薬理的には不活性な¹⁴⁾カルボン酸体(ラット)あるいはクロピドグレル未変化体(イヌ)が、門脈中における主要な物質であった。これは、CYP代謝によって起こるクロピドグレルからチオラクトン中間体への変換が、小腸中ではほとんど行われなことに起因するものと考えられる。ラットにおいては、クロピドグレルの吸収過程においてカルボキシルエステラーゼが働き、カルボン酸型代謝物へ不活性化されたものと思われる。イヌ門脈中では、クロピドグレル未変化体が大部分を占め、カルボン酸体は検出さ

れなかったが、これはイヌ小腸中にカルボキシルエステラーゼ活性がないという報告¹⁵⁾と一致する。

プラスグレルおよびクロピドグレルの日本国内における臨床用量は、負荷用量として、それぞれ20mg(0.049mmol)および300mg(0.93mmol)、維持用量として、それぞれ3.75mg(0.0091mmol)および75mg(0.23mmol)である。このように、クロピドグレルの臨床用量はプラスグレルに比べて20～25倍高い。一方、今回の試験においてラットおよびイヌにおけるプラスグレルチオラクトン中間体の門脈血漿中AUCが、クロピドグレルチオラクトン中間体に比べ19～140倍高かったことは、上記臨床用量の違いと符合している。事実、上記臨床用量にてプラスグレルおよびクロピドグレルを服用した被験者において、プラスグレル服用群の方がより高い活性代謝物のAUCとC_{max}を得ることが報告されている¹⁶⁾。また、プラスグレル未変化体がヒト血漿中で検出されないことも¹⁷⁾、今回の動物実験の結果とよく一致している。一方、臨床におけるクロピドグレル未変化体濃度も2ng/mLと低いが、こ

れはチオラクトン中間体への変換だけではなく加水分解によるカルボン酸体への不活性化を同時に受けるためであると考えられる¹⁸⁾。

次に、ヒト肝臓試料(n=20)を用いた代謝活性化の比較を*in vitro*で行った¹⁹⁾。その結果、活性代謝物の生成は、プラスグレルでは、クロピドグレルよりも効率的であり、個体間変動も小さいことが示された(図4-1)。このことは、チオラクトン中間体の生成でも同様であった(図4-2)。したがって、上記活性体生成プロファイルの違いはプラスグレルのより効率的で個体間変動の小さいチオラクトン中間体生成に基づくものであると結論された。この*in vitro*実験の結果は、前述のラットおよびイヌで見られた*in vivo*観察結果に一致するものであり、活性代謝物の生成効率と個体間変動がチオラクトン中間体の生成プロファイルを反映していることを支持している。

今回用いたヒト肝ミクロソーム(N=20)において、クロピドグレルの大半は、チオラクトン中間体生成と平行して進行する加水分解反応によって不活

図3 Metabolic pathways of prasugrel and clopidogrel.

図4-1 Comparison of V/S for the formation of the active metabolites from prasugrel (1 μ M) and clopidogrel (50 μ M), respectively, in individual human liver microsomes (N=20).

V/S : Formation rates divided by substrate concentrations.

図4-2 Comparison of V/S for the formation of the thiolactone metabolites from prasugrel (1 μ M) and clopidogrel (50 μ M), respectively, in individual human liver microsomes (N=20).

V/S : Formation rates divided by substrate concentrations.

性カルボン酸体に変換された。この変換は、hCE1により触媒されるが、hCE1加水分解活性は、いくつかのエステル化合物に対して比較的個体間変動の大きいことが報告されている²⁰⁾。このことから、各個体の hCE1 活性に依存してクロピドグレルチオラクトン中間体の生成レベルが変化している可能性があると考えられる。また、クロピドグレルチオラクトン中間体もそのカルボン酸代謝物(チオラクトンカルボン酸)へ不活性化され、クロピドグレルについてはチオラクトン中間体および活性代謝物の生成量が低い一因となっている¹⁹⁾。

ヒト肝ミクロソームによるクロピドグレルチオラクトン中間体の生成は、CYP1A2、CYP2B6およびCYP2C19活性と正の相関が認められた¹⁹⁾。これらのCYP分子種は肝臓内発現量に個体差があることが知られており、クロピドグレルチオラクトン中間体生成における個体間変動の原因の1つと考えられた。これを裏付ける臨床試験結果もいくつか報告されており、1例として、喫煙によるクロピドグレルの血小板凝集阻害作用増大の報告があげられる²¹⁾。一般的に、喫煙によりCYP1A活性が誘導されることがよく知られていることから、この結果は、クロピドグレルのチオラクトン中間体生成にCYP1A2が関与することと一致する。さらに、ク

ロピドグレルの活性体生成や薬効発現および心血管イベント発生率にCYP2C19の遺伝子多型が関与するという臨床報告が多数なされている²²⁾。この結果は、CYP2C19活性の減弱もしくは欠損によりチオラクトン中間体および活性代謝物の生成が低下し、これにともない血小板凝集阻害能が低下して心血管イベントの増加をもたらすことを示唆している。なお、チオラクトン中間体から活性体への変換過程には、プラスグレル、クロピドグレルいずれにもCYP2C19が一部関与するが、CYP2C19の遺伝子多型(活性低下型変異)は、プラスグレルの薬物動態と薬理作用に有意な影響を及ぼさなかった²³⁾。この結果より、少なくともプラスグレルの代謝活性化の過程におけるCYP2C19の寄与は小さいものと推測される。

以上、動物*in vivo*試験および個体別ヒト肝臓ミクロソームを用いた*in vitro*試験によるチオラクトン中間体生成プロファイルの違いを紹介した。なお、このようなプラスグレルの優れた代謝特性は、心血管イベント発症率の低下につながるものが、大規模臨床試験(TRITON-TIMI-38試験、13,608人)²⁴⁾において明らかにされている(クロピドグレル投与群12.1% vs プラスグレル投与群9.9%)。

3. 早期薬効発現を実現するプロドラッグ

プラスゲレルではクロピドゲレルと比較して経口投与後、より低用量で早期に薬効を発現することが *in vivo* で確認されている(図5)⁸⁾。本メカニズムを解明するため、プラスゲレルの消化管吸収に関する評価を行った。ラットに¹⁴C-プラスゲレルを経口投与後の胆汁および尿中への総放射能排泄率より、プラスゲレルの消化管吸収率は、95%以上であると算出された。一般に、ラットおよびヒトの消化管吸収率は相関するため²⁵⁾、プラスゲレルの消化管吸収率はヒトにおいても良好であると推測される。これは、Caco-2試験においてプラスゲレルが良好な透過性を示した結果とも一致する¹³⁾。また、ヒトに¹⁴C-プラスゲレルを経口投与後のマスバランス試験においても、少なくとも投与されたプラスゲレルの77%が消化管より吸収されることが確認されている¹⁷⁾。

プラスゲレルの消化管吸収率が高いこと、また門脈中に未変化体が検出されないことを考えあわせると、投与されたプラスゲレルは *in vivo* において非常に効率よくチオラクトン中間体へ変換されると考えられる。プラスゲレルをラットに経口投与時の活性代謝物のバイオアベイラビリティは25%である

が¹⁰⁾、この値は、ラットにおけるチオラクトン中間体から活性体への変換効率に近似されるものと考えられる。

プラスゲレルの活性代謝物生成組織としては、小腸および肝臓が考えられる。そこで、プラスゲレル活性代謝物の生成における各組織の寄与をイヌで検討した²⁶⁾。門脈血および循環血中の未変化体、チオラクトン中間体および活性代謝物濃度に基づき、活性代謝物への変換効率を求めた結果を図6に示す。イヌでの吸収率(F_a)は93%以上であり、また、門脈中に未変化体が存在しないことから腸管組織内ではほぼ全量がチオラクトン中間体に変化したと考えられた。また、門脈中のチオラクトン中間体と活性代謝物の比率から、小腸組織から門脈血中にチオラクトン中間体として移行する割合($F_a \cdot F_{g \text{ pras} \rightarrow \text{lactone}}$)は80%、活性代謝物として移行する割合($F_a \cdot F_{g \text{ pras} \rightarrow \text{thiol}}$)は13%と計算された。活性代謝物が肝臓を通過して循環血に移行する割合(活性代謝物の肝アベイラビリティ、 $F_{h \text{ thiol}}$)は75%であることから、経口投与されたプラスゲレルが小腸でプラスゲレル活性代謝物へ変換されて循環血中へ到達する割合は10%と算出される($F_a \cdot F_{g \text{ pras} \rightarrow \text{thiol}} \cdot F_{h \text{ thiol}} = 0.13 \times 0.75 = 0.098$)。イヌにプラスゲレルを経口投与後の活性代謝物のバイオアベイラビリティは25%で

図5 *Ex vivo* effects of prasugrel and clopidogrel on platelet aggregation induced by 3 μ M ADP in rats.⁸⁾

Platelet aggregation in platelet-rich plasma was measured at 15, 30 min, 1, 2, 4 and 6 h after oral administration of prasugrel and clopidogrel. Results are expressed as mean $\pm$ SEM (n=5).

図6 Availability of prasugrel thiolactone and active metabolite in the intestine and the liver in dogs.

F_a : Intestinal absorption of prasugrel.

$F_{g \text{ pras} \rightarrow \text{lactone}}$: Ratio of prasugrel absorbed to prasugrel thiolactone that was produced in the intestine and transferred into the portal blood.

$F_{h \text{ lactone}}$: Hepatic availability of prasugrel thiolactone (ratio of prasugrel in the portal blood transferred through the liver into the circulating blood).

$F_{g \text{ pras} \rightarrow \text{thiol}}$: Ratio of prasugrel absorbed to prasugrel active metabolite that was produced in the intestine and transferred into the portal blood.

$F_{m \text{ lactone} \rightarrow \text{thiol}}$: Ratio of prasugrel thiolactone in the portal blood to prasugrel active metabolite that was produced in the liver and transferred into the circulating blood.

$F_{h \text{ thiol}}$: Hepatic availability of prasugrel active metabolite (ratio of prasugrel active metabolite in the portal blood transferred through the liver into the circulating blood).

あるので、イヌにプラスグレルを経口投与後、循環血中に活性代謝物として移行する量の40%相当(10%/25%)が小腸での生成に由来するものと考えられる。この結果から、小腸と肝臓の両組織がおおよそ2:3の割合でプラスグレル活性代謝物の生成に寄与していることが明らかとなり、小腸における代謝活性化が薬効発現に大きく寄与していることが示された。なお、プラスグレル代謝活性化における小腸の寄与は、クロピドグレルおよびプラスグレルの薬物動態に対するケトコナゾールの影響を調べた臨床試験の結果からも示唆されている²⁷⁾。また、中程度の肝障害が活性代謝物の薬物動態に影響を及ぼさないという事実も小腸の寄与が高いことを支持している²⁸⁾。

4. チェノピリジン系薬剤に共通の代謝活性化メカニズム

ここまで、チェノピリジン骨格からチオラクトン中間体への変換過程には、薬剤間で、特にプラスグレルとクロピドグレル間で大きな違いがあることを述べた。一方、チオラクトン中間体から活性体への変換メカニズムについては、その化学構造上、チェノピリジン系薬剤間で共通していることが推測されていたものの、長期にわたり未解明のままであった。筆者らはプラスグレルを用い、本代謝経路を解明することに成功したので、その概要をここに紹介する。それまでに蓄積されていた実験事実としては、チオラクトン中間体を肝ホモジネートのみとインキュベートしても代謝活性化が起こらないこと(すなわ

ち、チオラクトン環が単純に加水分解されて活性代謝物が生じるのではないこと)、CYPによって代謝活性化が起こること、しかしCYPのみの代謝反応では活性代謝物は生成せず、グルタチオンが必要とされること、したがって、おそらくCYPによって生じた中間代謝物からグルタチオンとの反応により活性代謝物が生じるらしいことなどであった。これらの予検討結果を踏まえ、プラスグレルの代謝活性化経路として以下の仮説を立てた。すなわち、CYPによりチオラクトン中間体からスルフェン酸型の中間代謝物が生成し、続いて、グルタチオンとの反応によりジスルフィド型のグルタチオン抱合体が生成し、これがグルタチオンにより還元されることで活性体が生成するというものである(図7)。前述のように、ミクロソームを用いたCYPのみの反応では活性代謝物が生じず、ここに肝上清画分を添加すると活性代謝物が生成するという結果が本仮説の元となっている。この仮説のポイントは、チオラクトン

中間体の代謝直後に生成する代謝物が(活性代謝物ではなく)スルフェン酸代謝物であり、スルフェン酸代謝物のさらにいくつかのステップ後に活性代謝物が生成するというものである。

グルタチオン存在下、チオラクトン中間体をヒトCYP3A4発現昆虫細胞ミクロソームおよびNADPHとインキュベーションすると、活性代謝物が生成した。グルタチオン非存在下では前述のごとく活性代謝物は検出されないが、この条件下で、スルフェン酸代謝物が生成していることを2-nitro-5-thiobenzoic acid(TNB)を用いてトラップすることにより、確認することができた(図7)²⁹⁾。本結果は、プラスグレルチオラクトン中間体がCYP3A4に酸化された後、活性代謝物が生成する前のステップでスルフェン酸代謝物が生成することを示唆している。

また、ヒト肝ミクロソームにおいて、チオラクトン中間体はグルタチオン抱合体を経て活性代謝物へ

図7 Proposed metabolic pathway from the thiolactone of prasugrel to the pharmacologically active metabolite via a sulfenic acid intermediate. TNB was used to trap a sulfenic acid intermediate forming TNB-prasugrel active metabolite disulfide. GSSG : Oxidized form of glutathione (GSH). TNB : 2-nitro-5-thiobenzoic acid.

図8-1 Schematic diagram of the model for the formation of the glutathione conjugate of prasugrel active metabolite and active metabolite from prasugrel thiolactone in a closed incubation system.

k1 : rate constant of the formation of the glutathione conjugate of prasugrel active metabolite from prasugrel thiolactone.

k2 : rate constant of the formation of the glutathione conjugate of prasugrel active metabolite.

k3 : rate constant of the formation of the glutathione conjugate of prasugrel active metabolite from prasugrel active metabolite.

k4 : rate constant of conversion of prasugrel thiolactone to the metabolites other than the glutathione conjugate of prasugrel active metabolite and prasugrel active metabolite.

図8-2 Formation of the glutathione conjugate of prasugrel active metabolite and prasugrel active metabolite from prasugrel thiolactone in human liver microsomes and cytosols.

Prasugrel thiolactone (10 μ M) was incubated in 1mg/ml human liver microsomes (a) or 1mg/ml human liver microsomes and cytosols (b) supplemented with 5mM glutathione and an NADPH generating system. The concentrations of prasugrel active metabolite (◇) and glutathione conjugate of prasugrel active metabolite (×) were determined over time (mean+SD, n=3). The solid lines represent the simultaneous fitting curves of the concentration-time profiles of prasugrel active metabolite and the glutathione conjugate of prasugrel active metabolite.

変換されるが、ここに肝サイトソルを添加すると、グルタチオン抱合体の生成濃度が低下した一方で、活性代謝物の生成速度が増加した(図8-1、8-2)。これは肝サイトソル中の還元酵素であるグルタレドキシシンおよびチオレドキシシンがグルタチオン抱合体を速やかに還元するためであることを確認してい

る。

一連の試験結果より、プラスグレルの代謝活性化経路として、以下のプロセスが成立する。①カルボキシエステラーゼによるプラスグレルからチオラクトン中間体への加水分解¹³⁾、②CYPによるチオラクトン中間体の酸化によるスルフェン酸代謝物への

変換、③スルフェン酸代謝物とグルタチオンのジスルフィド結合形成によるグルタチオン抱合体の生成、④もう1分子のグルタチオンと活性代謝物グルタチオン抱合体との間でのチオール交換による活性代謝物への還元。なお、プラスグレルと同様の代謝活性化経路が、チクロピジンおよびクロピドグレルに関しても提案されている³⁰⁾。

5. おわりに

チエノピリジン系抗血小板薬の活性代謝物への変換メカニズムについて、共通する点と異なる点をまとめた。活性代謝物の化学構造には共通する構造が存在し、いずれもピペリジン環上に α,β 不飽和カルボン酸とチオール基を有していた。また、これら活性代謝物の *in vitro* 実験系における抗血小板作用はほぼ同等であり、*in vivo* における薬効発現プロフィールの違いは活性化メカニズムの違いによると

考えられた。いずれの薬物も、活性代謝物の前駆物質はチオラクトン中間体であり、これがCYPによる酸化反応によりスルフェン酸型代謝物に変換され、続いてグルタチオンと反応することにより活性代謝物が生成した。一方、親化合物からチオラクトン中間体が生成する代謝反応は、プラスグレルの場合はエステラーゼによる加水分解反応であるのに対し、クロピドグレルとチクロピジンの場合はCYPによる酸化反応であった。したがって、親化合物から活性代謝物が生成する反応は2段階であり、プラスグレルではエステラーゼ→CYPであるのに対して、クロピドグレルとチクロピジンではCYP→CYPであった。エステラーゼと比べてCYPの個体間変動は大きく、このことが臨床的にクロピドグレルと比べてプラスグレルが投与後により速く、個体間変動の少ない血小板凝集阻害作用を示す理由であると考えられた。

文献

- 1) Takikawa H (2005) Lessons from ticlopidine-induced liver injury. *Hepatol Res*, 33:193-194.
- 2) Maree AO, Fitzgerald DJ (2007) Variable platelet response to aspirin and clopidogrel in atherothrombotic disease. *Circulation*, 115:2196-207.
- 3) Small DS, Farid NA, Payne CD, Konkoy CS, Jakubowski JA, Winters KJ, Salazar DE (2010) Effect of intrinsic and extrinsic factors on the clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of prasugrel. *Clin Pharmacokinet*, 49:777-798.
- 4) Rehmel JL, Eckstein JA, Farid NA, Heim JB, Kasper SC, Kurihara A, Wrighton SA, Ring BJ. (2006) Interactions of two major metabolites of prasugrel, a thienopyridine antiplatelet agent, with the cytochromes P450. *Drug Metab Dispos*, 34: 600-607.
- 5) Sugidachi A, Asai F, Ogawa T, Inoue T, Koike H (2000) The *in vivo* pharmacological profile of CS-747, a novel antiplatelet agent with platelet ADP receptor antagonist properties. *Br J Pharmacol*, 129:1439-1446.
- 6) Savi P, Pereillo JM, Uzabiaga MF, Combalbert J, Picard C, Maffrand JP, Pascal M, Herbert JM (2000) Identification and biological activity of the active metabolite of clopidogrel. *Thromb Haemost*, 84:891-896.
- 7) Yoneda K, Iwamura R, Kishi H, Mizukami Y, Mogami K, Kobayashi S (2004) Identification of the active metabolite of ticlopidine from rat in vitro metabolites. *Br J Pharmacol*, 142:551-557.
- 8) Sugidachi A, Ogawa T, Kurihara A, Hagihara K, Jakubowski JA, Hashimoto M, Niitsu Y, Asai F (2007) The greater *in vivo* antiplatelet effects of prasugrel as compared to clopidogrel reflect more efficient generation of its active metabolite with similar antiplatelet activity to that of clopidogrel's active metabolite. *J Thromb Haemost*, 5:1545-1551.
- 9) Brandt JT, Payne CD, Wiviott SD, Weerakkody G, Farid NA, Small DS, et al. (2007) A comparison of prasugrel and clopidogrel loading doses on platelet function: magnitude of platelet inhibition is related to active metabolite formation. *Am Heart J*, 153:66 e9-16.
- 10) Hagihara K, Kazui M, Ikenaga H, Nanba T, Fusegawa K, Takahashi M, Kurihara A, Okazaki O, Farid NA, Ikeda T (2009) Comparison of formation of thiolactones and active metabolites of prasugrel and clopidogrel in rats and dogs. *Xenobiotica*, 39:218-226.
- 11) Kazui M, Nishiya Y, Ishizuka T, Hagihara K, Farid NA, Okazaki O, Ikeda T, Kurihara A (2010) Identification of the human cytochrome P450 enzymes involved in the two oxidative steps in the bioactivation of clopidogrel to its pharmacologically active metabolite. *Drug Metab Dispos*, 38:92-99.
- 12) Kazui M, Ogura Y, Hagihara K, Kubota K, Kurihara A (2015) Raf kinase inhibitor protein, RKIP, as a bioactivation hydrolase of prasugrel, in human intestine. *Drug Metab Dispos*, manuscript in review.
- 13) Williams ET, Jones KO, Ponsler GD, Lowery SM, Perkins EJ, Wrighton SA, Ruterbories KJ, Kazui M, Farid NA. (2008) The biotransformation of prasugrel, a new thienopyridine prodrug, by the human carboxylesterases 1 and 2. *Drug Metab Dispos*, 36:1227-1232.
- 14) Caplain H, Donat F, Gaud C, Necciari J (1999) Pharmacokinetics of clopidogrel. *Semin Thromb Hemost*, 25:25-28.
- 15) Taketani M, Shii M, Ohura K, Ninomiya S, Imai T (2007) Carboxylesterase in the liver and small intestine of experimental animals and human. *Life Sci*, 81:924-932.
- 16) Payne CD, Li YG, Small DS, Ernest CS 2nd, Farid NA,

- Jakubowski JA, Brandt JT, Salazar DE, Winters KJ (2007) Increased active metabolite formation explains the greater platelet inhibition with prasugrel compared to high-dose clopidogrel. *J Cardiovasc Pharmacol*, 50:555-562.
- 17) Farid NA, Smith RL, Gillespie TA, Rash TJ, Blair PE, Kurihara A, and Goldberg MJ (2007) The disposition of prasugrel, a novel thienopyridine, in humans. *Drug Metab Dispos*, 35: 1096-1104.
 - 18) Nirogi RVS, Kandikere VN, Shukla M, Mudigonda K, Maurya S, Boosi R (2006) Quantification of clopidogrel in human plasma by sensitive liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom*, 20: 1695-1700.
 - 19) Hagiwara K, Kazui M, Kurihara A, Yoshiike M, Honda K, Okazaki O, Farid NA, Ikeda T (2009) A possible mechanism for the differences in efficiency and variability of active metabolite formation from thienopyridine antiplatelet agents, prasugrel and clopidogrel. *Drug Metab Dispos*, 37:2145-2152.
 - 20) Yang D, Pearce RE, Wang X, Gaedigk R, Wan YJ, Yan B (2009) Human carboxylesterases HCE1 and HCE2: ontogenic expression, inter-individual variability and differential hydrolysis of oseltamivir, aspirin, deltamethrin and permethrin. *Biochem Pharmacol*, 77:238-247.
 - 21) Bliden KP, Dichiaro J, Lawal L, Singla A, Antonino MJ, Baker BA, Bailey WL, Tantry US, Gurbel PA (2008) The association of cigarette smoking with enhanced platelet inhibition by clopidogrel. *J Am Coll Cardiol*, 52:531-533.
 - 22) Mega JL, Close SL, Wiviott SD, Shen L, Hockett RD, Brandt JT, Walker JR, Antman EM, Macias W, Braunwald E, Sabatine MS (2009) Cytochrome P-450 polymorphisms and response to clopidogrel. *N Engl J Med*, 360:354-362.
 - 23) Hochholzer W, Trenk D, Bestehorn HP, Fischer B, Valina CM, Ferenc M, Gick M, Caputo A, Büttner HJ, Neumann FJ (2006) Impact of the degree of peri-interventional platelet inhibition after loading with clopidogrel on early clinical outcome of elective coronary stent placement. *J Am Coll Cardiol*, 48:1742-1750.
 - 24) Wiviott SD, Braunwald E, McCabe CH, Montalescot G, Ruzyllo W, Gottlieb S, Neumann FJ, Ardissino D, De Servi S, Murphy SA, Riesmeyer J, Weerakkody G, Gibson CM, Antman EM; TRITON-TIMI 38 Investigators (2007) Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med*, 357:2001-2015.
 - 25) Zakeri-Milani P, Valizadeh H, Tajerzadeh H, Azarmi Y, Islambolchilar Z, Barzegar S, Barzegar-Jalali M. (2007) Predicting human intestinal permeability using single-pass intestinal perfusion in rat. *J Pharm Pharm Sci*, 10:368-379.
 - 26) Hagiwara K, Kazui M, Ikenaga H, Nanba T, Fusegawa K, Izumi T, Ikeda T, Kurihara A (2011) The intestine as an important contributor to prasugrel active metabolite formation *in vivo*. *Drug Metab Dispos*, 39:565-570.
 - 27) Farid NA, Payne CD, Small DS, Winters KJ, Ernest CS 2nd, Brandt JT, Darstein C, Jakubowski JA, Salazar DE. (2007) Cytochrome P450 3A inhibition by ketoconazole affects prasugrel and clopidogrel pharmacokinetics and pharmacodynamics differently. *Clin Pharmacol Ther*, 81:735-741.
 - 28) Small DS, Farid NA, Li YG, Ernest CS 2nd, Winters KJ, Salazar DE, Payne CD (2009) Pharmacokinetics and pharmacodynamics of prasugrel in subjects with moderate liver disease. *J Clin Pharm Ther*, 34:575-583.
 - 29) Hagiwara K, Kazui M, Kurihara A, Iwabuchi H, Ishikawa M, Kobayashi H, Tanaka N, Okazaki O, Farid NA, Ikeda T (2010) Biotransformation of prasugrel, a novel thienopyridine antiplatelet agent, to the pharmacologically active metabolite. *Drug Metab Dispos*, 38:898-904.
 - 30) Dansette PM, Libraire J, Bertho G, Mansuy D (2009) Metabolic oxidative cleavage of thioesters: evidence for the formation of sulfenic acid intermediates in the bioactivation of the antithrombotic prodrugs ticlopidine and clopidogrel. *Chem Res Toxicol*, 22:369-373.