薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
119 (11) 850-860 (1999)

塩酸サルポグレラートによる血小板凝集抑制作用の速度論的解析と
その処方設計への応用

—未変化体及び活性代謝物 (M-1) の血小板膜上 5-HT₂ 受容体への
可逆的阻害を考慮した PK/PD モデルの構築—

清水孝子,^{a, 1)} 山田安彦,^{* a} 田下明子,^a 山本康次郎,^{a, 2)}

小瀧 一,^b 澤田康文,^c 伊賀立二^a

東京大学医学部附属病院薬剤部,^a 東京大学医科学研究所附属病院薬剤部,^b
九州大学薬学部薬剤学教室^c

Pharmacokinetic Analysis of Antiplatelet Effect of Sarpogrelate
Hydrochloride and Its Application to Drug Dosage Regimen
—Modeling Based on Reversible Inhibition of 5-HT₂ Serotonergic
Receptor in the Platelet Membrane by Sarpogrelate
Hydrochloride and Its Metabolite—

Takako SHIMIZU,^{a, 1)} Yasuhiko YAMADA,^{* a} Akiko TASHITA,^a

Koujiro YAMAMOTO,^{a, 2)} Hajime KOTAKI,^b

Yasufumi SAWADA,^c and Tatsuji IGA^a

Department of Pharmacy, University of Tokyo Hospital, Faculty of Medicine,
University of Tokyo,^a 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8655, Japan,
Department of Pharmacy, The Research Hospital, The Institute of Medical
Science, The University of Tokyo,^b 4-6-1 Shirokanedai, Minato-ku, Tokyo
108-0071, Japan, and Department of Pharmaceutics, Faculty of
Pharmaceutical Sciences, University of Kyushu,^c 3-1-1
Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-0054, Japan

(Received February 26, 1999)

Sarpogrelate hydrochloride is an antiplatelet drug, and expected to be useful in the treatment of chronic arterial occlusive diseases. Sarpogrelate and its active metabolite (M-1) are potent inhibitors of human platelet aggregation, and selectively inhibit 5-HT₂-serotonergic receptors on human platelets. However, the plasma concentrations of these inhibitors do not correlate to the inhibitory effect on platelet aggregation after administration. Sarpogrelate disappears from the plasma more rapidly in comparison to the duration of its pharmacological effect, and the plasma concentration of M-1 is very low (<1/10 of sarpogrelate). In this paper, we describe a pharmacokinetic-pharmacodynamic model for ascertaining the antiplatelet effects of sarpogrelate and M-1, by considering both the competitive reversible inhibition and the association/dissociation process of these drugs at the 5-HT₂ receptors on platelets (Most data used for analysis were obtained from the literatures, except for the serum protein binding rate of M-1).

The developed model was well fitted to the actual data, and suggested that M-1 was more effective for the inhibition of platelet aggregation than sarpogrelate.

On the basis of these findings, a new method was developed for predicting inhibitory effects on platelet aggregation after oral administration of sarpogrelate hydrochloride. This method is useful for planning a rational dosage regimen of sarpogrelate hydrochloride and predicting the duration of antiplatelet activity after the discontinuance of the drug.

Key words—sarpogrelate hydrochloride; 5-HT₂-receptor PK/PD model; active metabolite; platelet aggregation

緒 言

血小板凝集を促進する要因の1つとして、セロトニンが関与する機序が知られており、その作用点は血小板膜上の5-HT₂受容体である。³⁻⁵⁾ 塩酸サルポグレラートは、5-HT₂受容体の高い親和性を示し、セロトニンの結合を可逆的に阻害して血小板凝集を抑制し、抗血小板薬として臨床で用いられている。^{6,7)} しかし、Fig. 1に示すように、塩酸サルポグレラート100 mg単回投与後の血小板凝集抑制作用の持続時間は約12時間であるのに対して、未変化体の血漿中濃度は約6時間で消失しており、未変化体の血漿中濃度と薬理効果の相関性は低いと考えられる。⁸⁾

また、活性代謝物(M-1)の5-HT₂受容体への親和性は未変化体よりも高いことが報告されており、⁹⁻¹¹⁾ その血漿中濃度は未変化体の約1/10と低いながらも、M-1が塩酸サルポグレラートの薬効発現に大きく関与しているものと考えられているが、詳細は明らかではない。

本研究では、塩酸サルポグレラートの未変化体及びM-1各々の体内動態と血小板膜上の5-HT₂受容体への結合解離速度を考慮した、pharmacokinetic-pharmacodynamic model (PK/PDモデル)を構築し、塩酸サルポグレラートの抗血小板作用(血小板凝集抑制作用)を解析した。次いで血小板凝集抑制作用発現に対する未変化体と活性代謝物の寄与について推定した。さらに、抗血小板薬は臨床において虚血性諸症状の改善に用いられるが、安定した治療効果の維持、

Fig. 1. The Plasma Concentration of Sarpogrelate (○) and M-1 (●), the Collagen-Induced Platelet Aggregation (▲), after Oral Administration of 100 mg Sarpogrelate Hydrochloride ($n=6$, Mean $\pm$ S.D.)⁸⁾

手術前後の出血のリスクの回避や血液凝固能の調整には慎重な投与設計が必要であるため,¹²⁾ 構築した PK/PD モデルに基づいて塩酸サルボグレラートの適正な処方設計支援への応用の可能性を検討した。

実 験 の 部

セロトニンが血小板膜上の 5-HT₂ 受容体に作用すると、血小板内のカルシウム濃度が上昇し、血小板の凝集を促進する。¹³⁻¹⁶⁾ 塩酸サルボグレラートと M-1 は、その 5-HT₂ 受容体に競合的に結合し、セロトニンの結合を阻害するとされている。そこで、塩酸サルボグレラートの未変化体と M-1 の血漿中非結合型薬物が競合して血小板膜上の 5-HT₂ 受容体に可逆的に結合し、両薬物の受容体結合阻害が相加的に血小板凝集抑制作用に関与すると仮定して、各々の受容体結合解離速度を考慮した微分方程式を算出し、これらに基づいた PK/PD モデルを構築した。なお、本解析に用いた体内動態データと薬力学データは文献より収集したが、M-1 の血清中蛋白非結合型分率 (fu^M) については既知の報告値が得られなかったため、限外濾過法による蛋白結合率の測定を行った。

1. 塩酸サルボグレラートの体内動態及び薬力学パラメータの抽出

1-1. 文献値の収集 塩酸サルボグレラート常用量投与時の未変化体及び M-1 の血漿中薬物濃度推移と、その血漿中薬物濃度推移に対応した、コラーゲン惹起の血小板凝集に対する抑制率の経時変化を同一文献より得た。⁸⁾ また、未変化体及び M-1 各々の、5-HT₂ 受容体への解離定数 (K^D 及び K^M),⁹⁾ 未変化体の血清中蛋白非結合型分率 (fu^D)¹⁷⁾ を文献より収集した。

1-2. M-1 の蛋白結合率の測定 ヒト血清を用いた *in vitro* 実験により、M-1 の蛋白結合率

Fig. 2. The Method of Ultrafiltration and Measurement of Concentration in the Filtrate

Table 1. The Condition of HPLC

Apparatus		
Pump	L-7100	(Hitachi)
Injector	77251	(Rheodyne)
Column oven	L-7300	(Hitachi)
Fluorescence detector	L-7480	(Hitachi)
Integrator	D-7500	(Hitachi)
Condition for analysis		
Column	Speriorex ODS 4.6 mm I.D. × 250 mm (Shiseido)	
Column temperature	35°C	
Mobile phase	CH ₃ CN/H ₂ O (375 : 625, v/v, containing PIC B-7 (Nippon Waters))	
Flow rate	1 ml/min	
Wavelength of fluorescent detection	Ex 270 nm	Em 300 nm

を限外濾過法にて測定した (Fig. 2).

a) 試料の調製——丹羽ら¹⁷⁾による, 未変化体の蛋白結合率測定時の条件でヒト血清を調製した. さらに M-1 のメタノール溶液を, ヒト血清中濃度 (C_i) が各々 1 又は 10 μ M になるように添加し, 室温で 5 分間放置した.

b) 限外濾過法による測定——遠心用限外濾過器 (MPS-3, Amicon) に, 調製した 1 ml の試料を加え, 1000× g で 10 分間遠心分離し, 得られた濾液中の M-1 の濃度 (C_f) を Table 1 に示す条件で HPLC により測定した.

なお, 限外濾過器からの M-1 の回収率 (β) は, 約 70% であった.

c) 蛋白結合率の算出——以上の測定結果から, 次式により M-1 の蛋白結合率を算出した.

$$\text{蛋白結合率 (\%)} = \frac{C_i - C_f \times 100 / \beta}{C_i} \times 100 \quad (1)$$

2. 血小板膜上の 5-HT₂ 受容体への結合占有率の算出

2-1. PK/PD モデルの構築 未変化体 (D) 及び M-1 (M) の血小板膜上の 5-HT₂ 受容体 (R) に対する PK/PD モデルの模式図を Fig. 3 に示した.

血小板凝集抑制作用 (E) は, アンタゴニスト (D と M) により血小板膜上のすべての 5-HT₂ 受容体が占有された場合 (R_t) に最大効果 ($E_{\max}$) を示し, 効果の発現率 (ε , ただし $\varepsilon_{\max} = 1$) は, R_t に対する D の占有率 (Φ_D) と M-1 の占有率 (Φ_M) による効果の和 ($\Phi_D + \Phi_M$) として現れると仮定した. すなわち, ε の経時変化は式 (2) で表すことができる.

$$\frac{d(\varepsilon)}{d(t)} = \frac{d(\Phi_D)}{d(t)} + \frac{d(\Phi_M)}{d(t)} \quad (2)$$

一方, 塩酸サルボグレラート投与後の血小板凝集抑制率は, D あるいは M の血漿中濃度推移に比べてやや持続的な傾向が認められる (Fig. 1).⁸⁾ そこで, 本解析では, D 及び M の R への結合速度と解離速度を考慮した. なお, 受容体への結合速度定数 K_{on} に対する解離速度定数 K_{off} の比 (K_{off}/K_{on}) が, 受容体結合解離定数 K_i に相当する.

D 及び M が R に競合的に結合すると考えると, 複合体 (DR, MR) 形成の経時変化は, 各々, 式 (3), (4) で表すことができる.

$$\begin{aligned} \frac{d(DR)}{d(t)} &= K_{on}^D \cdot d(D \cdot R) - K_{off}^D \cdot d(DR) \\ &= K_{on}^D \cdot d(D(R_t - (DR + MR))) - K_{off}^D \cdot d(DR) \end{aligned} \quad (3)$$

Fig. 3. The Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Model for Ascertaining the Antiplatelet Effect of Sarpogrelate and M-1 Considering the Reversible Competitive Inhibition for 5-HT₂ Serotonergic Receptor on the Platelet Membrane

$$\begin{aligned} \frac{d(MR)}{d(t)} &= K_{on^M} \cdot d(M \cdot R) - K_{off^M} \cdot d(MR) \\ &= K_{on^M} \cdot d(M(R_t - (DR + MR))) - K_{off^M} \cdot d(MR) \end{aligned} \quad (4)$$

式 (3), (4) の両辺を R_t で割ると, D と M 各々の 5-HT₂ 受容体占有率の経時変化を示す式 (5), (6) が得られる.

$$\frac{d(\Phi_D)}{d(t)} = K_{on^D} \cdot d(D(1 - (\Phi_D + \Phi_M))) - K_{off^D} \cdot d(\Phi_D) \quad (5)$$

$$\frac{d(\Phi_M)}{d(t)} = K_{on^M} \cdot d(M(1 - (\Phi_D + \Phi_M))) - K_{off^M} \cdot d(\Phi_M) \quad (6)$$

血漿中非結合型薬物が, 血小板膜上の 5-HT₂ 受容体に直接作用すると仮定し, 式 (2), (5), (6) より, 塩酸サルポグレラート投与後の D 及び M の血漿中非結合型濃度推移を入力関数とした血小板凝集抑制率の経時変化 (ϵ) を表すモデル式 (式 (7)) を構築した.

$$\begin{aligned} \frac{d(\epsilon)}{d(t)} &= \frac{d(\Phi_D)}{d(t)} + \frac{d(\Phi_M)}{d(t)} \\ &= (K_{on^D} \cdot C_D(t) + K_{on^M} \cdot C_M(t))(1 - \epsilon(t)) \\ &\quad - (K_{off^D} \cdot \Phi_D(t) + K_{off^M}(\epsilon(t) - \Phi_D(t))) \end{aligned} \quad (7)$$

ここで, C_D , C_M は, D , M の血漿中非結合型濃度を示す.

なお, $C_D(t)$, $C_M(t)$ は, 塩酸サルポグレラート 100 mg 単回投与時の D 及び M の血漿中薬物

濃度推移の実測値⁸⁾をグラフから読み取り, 式 (8), (9) に示す, 1-コンパートメントモデルを非線形最小二乗法 (MULTI)¹⁸⁾により解析したデータを挿入した.

D の血漿中非結合型濃度推移:

$$C_D(t) = A^D \cdot P \cdot fu^D \cdot (\exp(-ke^D \cdot t) - \exp(-ka^D \cdot t)) \quad (8)$$

M の血漿中非結合型濃度推移:

$$C_M(t) = A^M \cdot P \cdot fu^M \cdot (\exp(-ke^M \cdot t) - \exp(-ka^M \cdot t)) \quad (9)$$

ここで, A ($10^6 \cdot l^{-1}$) は $ka \cdot F / (Mw \cdot Vd \cdot (ka - ke))$, P は投与量 (mg), fu は血漿中非結合型分率, ke は消失速度定数 (h^{-1}), ka は吸収速度定数 (h^{-1}) (M の場合は生成速度定数) である. また, 比例定数 A 中の F はアベイラビリティ, Mw は分子量, Vd は分布容積 (l) に相当する. D の血漿中濃度-時間曲線下面積 (AUC) は, 常用量の範囲内で用量比例性が認められている.¹⁹⁾ そこで本解析では, M-1 についても常用量の範囲で線形であると仮定し, 塩酸サルボグレラート 25, 50 及び 100 mg 投与後の血小板凝集抑制率の時間推移の実測値について, 非線形最小二乗法 (MULTI (RUNGE))²⁰⁾により, 式 (7) を用いた同時フィッティングを行い, K_{on} , K_{off} を求めた.

2-2. PK/PD モデルに基づいた解析 本解析により構築した PK/PD モデルを用いて, 塩酸サルボグレラート投与後の血小板凝集抑制作用発現への D 及び M 各々の寄与率の時間推移を算出し, これらについて考察した. さらに, 種々の投与法におけるシミュレーションから血小板凝集抑制率の推移を予測し, 増量あるいは減量時の投与設計への応用やコンプライアンスが及ぼす影響等の適正使用情報構築への適用について検討した.

結 果

1. 血小板膜上の 5-HT₂ 受容体への結合阻害モデルによる血小板凝集抑制率の解析

本解析結果ならびに文献より収集・算出した塩酸サルボグレラートの体内動態及び薬力学パラメータを Table 2 にまとめて示した. また, そのときの血小板凝集抑制率の同時フィッティングラインを Fig. 4 に示す. フィッティングラインは, 各々の投与量における実測値にほぼ対応する値を示し, 構築した PK/PD モデルにより, 塩酸サルボグレラート投与後の血小板凝集抑制率を解析できる可能性が示唆された.

2. 血小板凝集抑制作用への活性代謝物の寄与

Fig. 5 に, 100 mg 単回投与時の血小板凝集抑制率の時間推移における未変化体及び M-1 の寄与について, Table 2 に示すパラメータを用いて, 式 (5), (8) 及び式 (6), (9) より得られた予測ラインを示した. これより, 塩酸サルボグレラート投与による血小板凝集抑制作用の発現においては, 投与後 1 時間前後までは未変化体による寄与が大きいとその効果の消失は速く, 相対的には, 血漿中濃度は低いながらも, 活性代謝物の寄与が大きく持続的であることが示唆さ

Table 2. The Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Parameters of Sarpogrelate Hydrochloride and Its Metabolite (M-1)

	A ($10^6 \cdot l^{-1}$)	ke (h^{-1})	ka (h^{-1})	fu	K_i (nM)	K_{on} ($nM^{-1} \cdot h^{-1}$)	K_{off} (h^{-1})
Sarpogrelate (D)	49.95 ± 85.05	1.37 ± 0.44	2.14 ± 1.01	$0.02^{17)}$	$17.9^9)$	0.04 ± 0.02	0.716 ± 0.03
M-1 (M)	2.66 ± 0.27	0.34 ± 0.02	1.51 ± 0.18	0.03 ± 0.01	$1.16^9)$	0.146 ± 0.02	0.169 ± 0.03

Fig. 4. The Fitting Lines of the Collagen-Induced Platelet Aggregation Time Courses After Oral Administration of 25, 50 and 100 mg Sarpogrelate Hydrochloride (●: The Surveyed Value, Mean $\pm$ S.D.⁸⁾)

れた。

3. 血小板凝集抑制作用の解析と処方設計への応用

本解析で構築した PK/PD モデルを用いて、塩酸サルポグレラートを、1日3回投与した場合のくり返し投与時の血小板凝集抑制率のシミュレーション結果を、Fig. 6 に示す。

1回に 50, 100, 150 mg を投与した場合を比較すると、各々の定常状態におけるピーク値は、投与後2時間で約 48, 67, 77%, トラフ値は約 28, 41, 48% であり、1回 100 mg 以上の増量による影響 (100 mg から 150 mg に増量した場合の変動値: ピーク値で 15%, トラフ値で 17%) はそれほど小さくなく、減量による血小板凝集抑制作用の減弱 (100 mg から 50 mg に減量した場合)

Fig. 5. The Calculated Lines of Sarpogrelate and M-1 Contribution to Inhibitory Effects on the Platelet Aggregation after Oral Administration of 100 mg Sarpogrelate Hydrochloride

Fig. 6. The Simulated Lines of Inhibitory Effects on the Platelet Aggregation in the Repetitive Oral Administration of Sarpogrelate Hydrochloride (50, 100, 150 mg, Three Times a Day)

合の変動値：ピーク値で 28%，トラフ値で 32%）が大きいことが示された。また，増量あるいはくり返し投与による蓄積は認められず，この投与量の範囲では投与中止後 24—36 時間で血小板凝集抑制作用が消失すると考えられた。

次に，塩酸サルポグレラートを 1 回 100 mg，1 日 3 回服用した場合と，1 日 2 回服用した場合の血小板凝集抑制率の推移を Fig. 7 に示す。投与回数の減少により，血小板凝集抑制率の日内変動が約 2 倍大きくなっており，また，1 日のうち最も効果が小さくなる時の血小板凝集抑制率は約 14% まで低下しており，患者の 1 回の飲み忘れが治療効果に影響を及ぼす可能性が認められた。

Fig. 7. The Simulated Lines of Inhibitory Effects on the Platelet Aggregation after Oral Administration of Sarpogrelate Hydrochloride (▲: Schedule of Administration (h), Dosage of 100 mg/Time)

考 察

セロトニン⁹⁾は血小板あるいは血管平滑筋膜上の 5-HT₂ 受容体に作用して血小板凝集や血管収縮を惹起し、末梢循環障害に影響を及ぼす。セロトニン単独での血小板凝集作用は弱い⁹⁾が、血管内皮障害などにより流出するコラーゲンの存在によりその作用は増強する。塩酸サルボグレラートは、5-HT₂ 受容体の選択的拮抗薬であり、本邦では、慢性動脈閉塞症に基づく潰瘍、疼痛、及び冷感などの虚血性諸症状の改善に適応を有する薬剤として臨床で用いられている。この薬剤の血小板凝集抑制作用は可逆的であるが、未変化体の血漿中濃度推移との相関性は低い。また、塩酸サルボグレラートには活性代謝物 (M-1) が存在する。これも 5-HT₂ 受容体に選択的に作用し未変化体よりも親和性が高いことが報告されているが、その血漿中濃度推移は低く、薬効発現への寄与に関する詳細は明らかではない。M-1 も含めた、血小板膜上の受容体への結合動態の検討は、処方設計上の有用な情報源となりうると考えられる。本研究では、塩酸サルボグレラート投与後の未変化体及び M-1 の 5-HT₂ 受容体結合占有率と血小板凝集抑制作用の関係について検討し、これに基づいた PK/PD モデルの構築を試みた。

今回の解析では、既存の K_i 値としてラット尾動脈のデータを用いた。この他にラット脳又はウサギ血小板の受容体に対する K_i 値も報告されており^{10, 21)} 未変化体、M-1 とともにラット尾動脈の値と同様の傾向を示している。さらに、5-HT による血管収縮に対する阻害と血小板のコラーゲン凝集に対する阻害の間に明確な相関が存在すること⁶⁾ ラット及びヒトの血小板のコラーゲン凝集に対する IC_{50} がほぼ同等であるとの報告⁹⁾ から適当な値であると判断した。

解析の結果、未変化体及び M-1 いずれの血漿中濃度推移とも相関性の低かった血小板凝集抑制率の推移 (実測値) は、両薬物の 5-HT₂ 受容体への結合解離速度を考慮した競合阻害モデルから算出した各々の受容体結合占有率の総和と良い相関を示した。すなわち、本モデルにより塩酸サルボグレラートの血小板凝集抑制作用を理論的に解析できることが示唆され、未変化体及び M-1 の血漿中非結合型濃度推移を入力関数とした予測式を構築することができた。

これらの予測式を用いて、種々の用法・用量で塩酸サルボグレラートを投与した場合について検討した結果、塩酸サルボグレラートの血小板凝集抑制作用にノンコンプライアンスが及ぼす影響が大きいことが示され、適切な薬効発現のためには規則正しい服薬が重要な薬物であることが確認できた。また、外科的手術へ移行した患者において必要な休薬期間は、常用量の範囲において約2日間であることが示唆された。

また、100 mg 単回投与時の血小板凝集抑制率の時間推移における未変化体及び M-1 の寄与について解析した結果、塩酸サルボグレラート投与による血小板凝集抑制作用の発現においては、投与後1時間前後までは未変化体による寄与が大きいとその効果の消失は速く、相対的には、血漿中濃度は低いながらも、活性代謝物の寄与が大きく持続的であることが示唆された。今回、M-1 の血漿中濃度推移に関するデータは、塩酸サルボグレラート 100 mg 単回投与のものしか得られなかった。このため、未変化体と同様に常用量の範囲で線形であると仮定して1コンパートメントモデルに当てはめた解析を行ったが、今後 M-1 の体内動態を詳細に検討する必要がある。M-1 の蛋白結合率についても文献情報としては得られなかったため、今回は限外濾過法による測定を行ったが、本薬剤のように活性代謝物が薬理作用発現に大きく影響を及ぼす場合、未変化体と同様にできる限り詳細なデータが医薬品情報として得られることが重要である。また、受容体への結合解離速度定数については、動物実験による K_i 値を便宜的に当てはめて得られた値であり、これらについても、未変化体、M-1 の体内動態に関する詳細データをもとに、各々の K_{on} , K_{off} を確認する必要があると思われる。しかしながら、これらの仮定のもとで構築した PK/PD モデルで行った連続投与時の血小板凝集抑制率のシミュレーションによる、1回 50, 100, 150 mg 投与時の定常状態における投与後2時間のピーク値 (48, 67, 77%) は、閉塞性動脈硬化症患者を対象に1回 25 mg 又は 100 mg を1日3回、4週間投与した場合の血小板凝集抑制率²²⁾の2週間後及び4週間後の投与後1.5時間の平均値 (26.3, 83.6%) とほぼ類似の傾向を示しており、健常時と病態時の違いについて考慮する必要はあるが、本解析による血小板凝集抑制作用の評価はほぼ妥当であると考えられた。

本研究に基づく予測方法は、塩酸サルボグレラートの適正な処方設計支援並びに服薬指導における医薬品情報の構築に有用であると考えられる。

引用文献及び注

- 1) 現帝京大学医学部附属市原病院薬剤部.
- 2) 現群馬大学医学部臨床薬理学教室.
- 3) Leysen E. J., Gommeren W., Clerck de F., *Eur. J. Pharmacol.*, **88**, 125—130 (1983).
- 4) Geaney P. D., Schachter M., Elliot M. J., Grahame-Smith G. D., *Eur. J. Pharmacol.*, **97**, 87—93 (1984).
- 5) Van Nueten M. J., Janssen J. A. P., van Beek J., Xhonneux R., Verbeuren T. J., Vanhoutte M. P., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **218**, 217—230 (1981).
- 6) Kikumoto R., Hara H., Ninomiya K., Osakabe M., Sugano M., Fukami H., Tamao Y., *J. Med. Chem.*, **33**, 1818—1823 (1990).
- 7) Nishio H., Inoue A., Nakata Y., *Arch. Int. Pharmacodyn.*, **331**, 189—202 (1996).
- 8) 磯貝行秀, 横瀬琢男, 池本 卓, 前田俊彦, 秋山雅昭, 臨床医薬, **7**, 1227—1233 (1991).
- 9) Hara H., Osakabe M., Kitajima A., Tamao Y., Kikumoto R., *Thromb. Haemostas.*, **65**, 415—420 (1991).

- 10) Maruyama K., Kinami J., Sugita Y., Takada Y., Sugiyama E., Tsutsumi H., Nagatomo T., *J. Pharmacobio-Dyn.*, **14**, 177—181 (1991).
- 11) Qi R., Ozaki Y., Satoh K., Kurota K., Asazuma N., Yatomi Y., *Thromb. Res.*, **81**, 43—54 (1996).
- 12) 清水孝子, 山田安彦, 片島正貴, 田下明子, 山本康次郎, 小瀧 一, 澤田康文, 伊賀立二, *病院薬学*, **24**, 333—339 (1998).
- 13) 島田浩志, 原 啓人, 玉尾嘉邦, *薬理と治療*, **19**, S599—S603 (1991).
- 14) Affolter H., Erne P., Burgisser E., Pletscher A., *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **325**, 337—342 (1984).
- 15) Erne P., Pletscher A., *Br. J. Pharmacol.*, **84**, 545—549 (1985).
- 16) MacIntyre E. D., Pollock K. W., Shaw M. A., Bushfield M., Macmillan J. L., McNicol A., *Adv. Exp. Med. Biol.*, **192**, 127—144 (1985).
- 17) 丹羽卓朗, 山本美奈子, 小松貞子, 飯田成宇, *薬理と治療*, **19**, 161—168 (1991).
- 18) Yamaoka K., Tanigawara Y., Nakagawa T., Uno T., *J. Pharmacobio-Dyn.*, **4**, 879—885 (1981).
- 19) 磯貝行秀, 横瀬琢男, 池本 卓, 前田俊彦, 秋山雅昭, 原 啓人, 北島安喜子, 井沢修, *臨床医薬*, **7**, 1177—1192 (1991).
- 20) Yamaoka K., Nakagawa T., *J. Pharmacobio-Dyn.*, **6**, 595—606 (1983).
- 21) Tsuchihashi H., Yagi N., Kimura M., Shirota K., Kinami J., Nagatomo T., *J. Pharmacobio-Dyn.*, **14**, 461—466 (1991).
- 22) 山口 寛, 古川欽一, *臨床医薬*, **7**, 1235—1241 (1991).