

チクロピジン塩酸塩の血小板凝集抑制作用

1. 実験方法

雄性 Wistar 系ラット（体重 200-250g）に被検薬物を投与し、ペントバルビタールナトリウム（30 mg/kg, i. p.）麻酔下、腹部大動脈より 3.13%クエン酸溶液 1 容に対して 9 容の割合で採血し、230g で 7 分遠心分離後、その上清を得て多血小板血漿（PRP）を調製した。また血液を 1500g で 10 分遠心分離し、乏血小板血漿（PPP）を得て、実験に際し PRP の血小板数を PPP を加えて 5×10^5 個/ μ L とした。血小板凝集は、30 度の攪拌下で、PRP450 μ L に凝集惹起剤 50 μ L 添加し、アグレゴメータを用いてインピーダンス法により測定した。凝集惹起剤は、ADP（10 μ M）、コラーゲン（2.5 μ g/mL）、トロンビン（10 NIH 単位/mL）およびアラキドン酸ナトリウム（10mM）を用い、ADP は 10mM CaCl₂ 溶液に、その他は 25mM Tris-HCl-0.13M NaCl 溶液に溶解した。薬物の凝集抑制率は、最大凝集時のインピーダンス変化をコントロール群に比較して算出した。なお、被検薬物は 0.5%アラビアゴム溶液に溶解または懸濁し、ADP 凝集については採血の 3、24 あるいは 48 時間前に、その他の凝集については採血の 3 時間前に経口投与した。

2. 実験結果

①ADP 惹起血小板凝集に対する作用

(n=5)

薬物	投与量 (mg/kg, p. o.)	血小板凝集抑制率(%) 投与後時間					
		3 時間	ED ₅₀ (mg/kg, p. o.)	24 時間	ED ₅₀ (mg/kg, p. o.)	48 時間	ED ₅₀ (mg/kg, p. o.)
チクロピジン	30	41.5	43.5 [13.7-138.0]	20.7	124.0 [37.0-415.3]	9.9	288.7 [88.2-945.3]
	100	68.3		45.5		21.0	
	300	89.2		69.3		52.8	
アスピリン	30	15.1	155.0 [55.0-436.9]	2.9	>300	-	-
	100	32.8		-2.4		-	
	300	70.7		8.5		-	
ジピリダモール	30	24.6	93.7 [28.9-303.7]	1.2	>300	-	-
	100	52.4		3.6		-	
	300	75.0		17.4		-	

②コラーゲン惹起血小板凝集に対する作用

(n=5)

薬物	投与量 (mg/kg, p. o.)	血小板凝集抑制率(%)	ED ₅₀ (mg/kg, p. o.)
チクロピジン	3	28.1	6.1 [2.6-14.5]
	10	62.2	
	30	95.5	
アスピリン	10	20.4	27.3 [11.7-63.7]
	30	49.7	
	100	89.2	
ジピリダモール	30	-8.2	>300
	100	-1.1	
	300	2.5	

※採血の3時間前に経口投与

③トロンビン惹起血小板凝集に対する作用

(n=5)

薬物	投与量 (mg/kg, p. o.)	血小板凝集抑制率(%)	ED ₅₀ (mg/kg, p. o.)
チクロピジン	30	10.7	212.8 [69.9-648.1]
	100	30.8	
	300	59.1	
アスピリン	30	3.6	>300
	100	15.7	
	300	40.9	

※採血の3時間前に経口投与

④アラキドン酸惹起血小板凝集に対する作用

(n=5)

薬物	投与量 (mg/kg, p. o.)	血小板凝集抑制率(%)	ED ₅₀ (mg/kg, p. o.)
チクロピジン	10	45.4	13.9 [3.8-51.2]
	30	61.6	
	100	98.7	
アスピリン	3	46.2	3.7 [1.3-10.6]
	10	72.0	
	30	97.4	

※採血の3時間前に経口投与

チクロピジン塩酸塩の抗血栓作用

—ラットにおける実験的動静脈シャントの血栓性閉塞に対する予防効果—

1. 実験方法

約 18 時間絶食した雄性 Wistar 系ラット（体重 300-400g）をペントバルビタールナトリウム（30 mg/kg, i. p.）で麻酔後、生理食塩水を満たしたポリエチレンチューブ（内径 0.58 mm、外径 0.96 mm、長さ 25cm）の両端をそれぞれの血管に挿入して、ループ状のシャントを作成した。シャント設置の 4 時間後に静脈側のポリエチレンチューブをはずし、血流の有無を観察し、シャントの開存・閉塞を確認した。なお、動物は実験時間中、適宜ペントバルビタールナトリウムを追加して麻酔状態を保った。また、薬物は投与容量が 5mL/kg となるよう 0.5%アラビアゴム溶液に溶解または懸濁し、シャント設置の 3、24 または 48 時間前に経口投与した。（n=10）

2. 実験結果

薬物	投与量 (mg/kg, p. o.)	血小板凝集抑制率(%) 投与後時間					
		3 時間	ED ₅₀ (mg/kg)	24 時間	ED ₅₀ (mg/kg)	48 時間	ED ₅₀ (mg/kg)
コントロール	-	90	-	90	-	90	-
チクロピジン	2.5	80	4.2 [2.7-6.5]	-	6.3 [3.4-11.5]	-	20.5 [12.1-34.7]
	5	30**		60		90	
	10	20**		30**		70	
	20	0***		20**		50	
アスピリン	100	90	>300	-	-	-	-
	300	80	-	-	-	-	
ジピリダモール	30	90	237 [112-500]	90	>300	-	-
	100	80		100			
	300	40*		100			

* : P<0.05、** : P<0.01、*** : P<0.001 対コントロール

チクロピジン塩酸塩の血液粘度低下作用

1. 実験方法

約 18 時間絶食した雄性 Wistar 系ラット（体重約 350g）を 1 群 3 匹とし、薬物経口投与 3 時間後ペントバルビタールナトリウム（30 mg/kg, i. p.）で麻酔し、腹部大静脈よりヘパリン溶液（250 U/mL 単位）0.05mL を含む注射筒内に採血した。血液粘度ならびに膜透過速度の測定は、採血後 5 分以内に行った。血液粘度は、1.2mL の試料について EL 型コーン・プレート回転粘度計を用いて、25~26°C、ずり速度 38.4 scc^{-1} で測定した。膜透過速度は、25-26°C、水柱 20cm 陰圧下で、血液試料 1.5mL をニュークリポアーメンブランフィルター（孔径 5 μm ）を用いて濾過し、約 0.5mL の血液が通過した後の 1 mL の血液が通過する定常速度を測定し、流速 (mL/min) を算出した。なお、薬物は投与容量が 5mL/kg となるよう 0.5% アラビアゴム溶液に懸濁した。

2. 実験結果

薬物	投与量 (mg/kg, p. o.)	血液粘度 (Cp) [対コントロール%]	血液濾過性 (mL/min) [対コントロール%]
コントロール	—	9.5 \pm 0.3 [100]	0.45 \pm 0.03 [100]
チクロピジン	30	8.7 \pm 0.4 [92]	0.55 \pm 0.03 [122]
	100	8.1 \pm 0.2* [85]	0.60 \pm 0.02* [133]
	300	7.6 \pm 0.2** [80]	0.64 \pm 0.03** [142]

* : P<0.05、** : P<001 対コントロール

チクロピジン塩酸塩の胃粘膜障害作用

1. 実験方法

24時間絶食（水は自由に摂取）した8週齢のWstar系雄性ラット（絶食後体重170-190g）に0.5%アラビアゴム溶液に懸濁した被検薬を経口投与した。4時間後に動物を屠殺して胃を摘出し、2%ホルマリン液にて固定した後、大湾に沿って切開し、胃粘膜障害の有無を肉眼的に all or none で判定した。各用量の胃粘膜障害発生率から50%胃粘膜障害発生用量（UD₅₀）を算出した。

2. 実験結果

チクロピジン塩酸塩およびアスピリンのUD₅₀値は各々483および34.6mg/kg, p. o. であり、チクロピジン塩酸塩の胃粘膜障害作用はアスピリンの約1/14であった。

薬物	投与量 (mg/kg, p. o.)	潰瘍発生数/動物数	UD ₅₀ (mg/kg, p. o.) 95%信頼限界
チクロピジン	300	1/6	483 [385-607]
	400	2/6	
	500	3/6	
	600	4/6	
	700	5/6	
アスピリン	20	1/6	34.6 [25.4-47.2]
	30	2/6	
	40	4/6	
	60	5/6	
	80	6/6	

チクロピジン塩酸塩の急性毒性試験

1. 実験方法

約 18 時間絶食した 6 週齢の SD 系雄性ラットを 1 群 10 匹とし、0.5%メチルセルロースに懸濁したチクロピジン塩酸塩およびアスピリンを経口投与し、7 日後の死亡状況から各々の LD₅₀ 値を算出した。なお、投与容量はいずれも 5mL/kg とした。

2. 実験結果

チクロピジン塩酸塩およびアスピリンのラット経口投与における LD₅₀ 値は、各々 1890 mg/kg および 1650 mg/kg であった。