◆原 著◆

CV-4151 (イスボグレル), トロンボキサン A₂ 合成 酵素阻害薬のラット出血時間におよぼす影響 —抗血小板薬, 抗凝固薬および血栓溶解薬との併用効果—

井 村 良 視*, 守 谷 教 彦*, 寺 下 善 一*

Effect of CV-4151 (Isbogrel), a Thromboxane A₂ Synthase Inhibitor, on Bleeding Time in Rats

—Combined Effect with Antiplatelet, Anticoagulant and
Thrombolytic Agents—

Yoshimi IMURA*, Norihiko MORIYA* and Zen-ichi TERASHITA*

Key words: CV-4151, thromboxane A₂ synthase inhibitor, antithrombotic agents,
thrombolytic agents, bleeding time

Effect of CV-4151, a thromboxane A₂ synthase inhibitor, on antithrombotic and thrombolytic agents-induced bleeding time prolongation was examined in rats. CV-4151, ticlopidine, ozagrel and warfarin singly at doses greater than 0.3, 300, 1 and 0.5 mg/kg, p.o. respectively, significantly prolonged bleeding time. Aspirin (10 mg/kg, p.o.) also prolonged bleeding time. Tissue-type plasminogen activator (TPA, 2×10⁴ IU/kg/min i.v. infusion) and urokinase (UK, 4×10⁴ IU/kg/min i.v. infusion) showed significant prolongation of bleeding time. Prolonging effect of CV-4151 on bleeding time was weaker than those of warfarin and thrombolytic agents.

In combined experiments with CV-4151 and other agents, CV-4151 moderately enhanced ticlopidine-induced bleeding time prolongation, and markedly enhanced warfarin-, TPA- and UK-induced bleeding time prolongation. On the other hand, CV-4151 had no effect on aspirin-induced bleeding time prolongation.

Thus, CV-4151 markedly enhanced bleeding time prolongation caused by an oral anticoagulant and thrombolytic agents in rats.

I. 緒 言

血小板で主に生成するアラキドン酸のサイク

ロオキシゲナーゼ (COX) 代謝物の一つである
トロンボキサン A₂ (TXA₂) は強力な血小板凝
集惹起および血管収縮作用を有する¹⁾²⁾。血管内

* 武田薬品工業 (株) 創薬研究本部創薬第二研究所 (〒532 大阪市淀川区十三本町 2-17-85) : Pharmaceutical Research Laboratories II, 2-17-85 Jusohonmachi, Yodogawa-ku, Osaka Japan

皮細胞で主に生成する COX 代謝物であるプロスタサイクリン (PGI_2) は強力な血小板凝集抑制および血管弛緩作用を有する。TXA₂- PGI_2 系の不均衡が種々の血栓症や虚血性疾患の発症に関係していると考えられており³⁾⁴⁾、事実、虚血性心疾患、動脈硬化、糖尿病や脳血栓症の患者では TXA₂ の生成が亢進していることが報告されている⁴⁾。それゆえ、TXA₂ の生成あるいはその作用を抑制することはこれらの疾患における有効な治療法と思われる。COX 阻害薬であるアスピリンは動脈硬化症、心筋梗塞、一過性脳虚血発作の患者において血小板凝集を抑制し、抗血栓作用を示す^{5)~9)}。しかしながら、アスピリンは血小板の COX を阻害するだけでなく、血管内皮細胞での COX も同時に阻害して PGI_2 の生成も阻害するため、その抗血栓作用が十分に発揮されていない可能性がある。TXA₂ 合成酵素阻害薬は特異的に TXA₂ の生成を抑制し、同時に血小板に蓄積した TXA₂ と PGI_2 の共通の前駆物質であるプロスタグランジン (PG) エンドペルオキシサイドの血管内皮細胞への移行により PGI_2 の生成を増加させるのでアスピリンより強力な抗血栓作用を示すことが期待されている^{10)~14)}。

CV-4151 (イスボグレル)、(E)-7-phenyl-7-(3-pyridyl)-6-heptenoic acid は強力かつ特異的な TXA₂ 合成酵素阻害薬である¹⁵⁾¹⁶⁾。CV-4151 は TXA₂ の生成を阻害し、 PGI_2 の生成を増加させることによりウサギでの頸動脈およびラットでの大腿静脈の内皮傷害による血栓の形成を抑制する¹⁷⁾¹⁸⁾。さらに、ラット中大脳動脈血栓モデルおよびイヌでのアラキドン酸の内頸動脈内注入による脳血栓モデルにおいて強力な抗血栓作用を示すことから¹⁹⁾²⁰⁾、新規作用機序を有する抗血栓薬として期待される。

血栓症治療薬は、止血機構にも影響を与えるため出血の副作用は血栓症治療薬共通の重要な問題点である。抗凝固薬および血栓溶解薬は、臨床において重篤な出血を惹起することがある。アスピリンやチクロピジン等の抗血小板薬は前二者に比べ出血傾向が少ないことが知られているが、他の血栓症治療薬との併用により著しく出血時間を延長することが報告されてお

り²¹⁾、併用投与の際には十分な注意が必要である。CV-4151 は推定臨床用量である 100 mg をヒトに投与しても出血時間の延長は認められていないが²²⁾、他剤との併用による効果は未検討である。そこで今回、CV-4151 と既知の血栓症治療薬であるチクロピジン、アスピリン、ワルファリン、組織プラスミノゲンアクチベータ (TPA) およびウロキナーゼ (UK) との併用投与による出血時間延長作用をラットを用いて検討した。また、CV-4151 と同様 TXA₂ 合成酵素阻害薬であるオザグレル (OKY-046) の出血時間延長作用も併せて検討した。

II. 試薬および実験方法

1. 試薬

CV-4151、(E)-7-phenyl-7-(3-pyridyl)-6-heptenoic acid、オザグレル (OKY-046)、(E)-3[4-(1-imidazolylmethyl) phenyl]-2-propenic acid、および TXB₂ は武田薬品工業株式会で合成した。チクロピジン、5-[(2-chlorophenyl) methyl]-4,5,6,7-tetrahydro-thieno [3,2-c] pyridine hydro-chloride、はパナルジン錠 (第一製薬) から抽出した¹⁸⁾。アスピリン (Sigma)、ワルファリン (ワーファリン®、エーザイ)、S-2251 (第一化学)、[³H]-TXB₂ (50 Ci/mmol, New England Nuclear)、TPA (アクチバシン®、協和発酵) および UK (ウロキナーゼ注®、武田薬品) は市販品を用いた。TXB₂ に対する抗体は武田薬品工業株式会で作成した¹⁶⁾。

2. 出血時間の測定

既報に従って出血時間を測定した²³⁾。雄性 Sprague-Dawley ラット (体重 195~400 g) を用いた。ペントバルビタールナトリウム麻酔下 (50 mg/kg, i.p.) に尾部の先端から 5 cm の部分を 37°C に保温した生理食塩水に浸し、5 分後に尾部の先端 2 mm を剃刀の刃で切断した。直ちに尾部を生理食塩水に浸し、出血が 15 秒間以上止まるまでの時間 (出血時間) を測定した。測定は 900 秒で打ち切ったが、統計解析を行う場合には 900 秒以上延長した個体は出血時間を 900 秒として計算した。抗血栓薬は、アラビアゴム懸濁液として測定の前 2 時間前 (CV-4151 およ

びアスピリン), 3時間前(チクロピジン)あるいは20時間前(ワルファリン)に2 ml/kgの用量で経口投与した。TPAおよびUKは生理食塩水に溶解して頸静脈カニューレから最初0.2 mlを注入し, 続いて1.8 ml/rat/hrで1時間持続注入した。出血時間は持続注入開始45分後より測定した。

3. 血液TXA₂生成能の測定 (*ex vivo* 実験)

CV-4151およびアスピリンの経口投与2時間後に麻酔下に採血し, 血液を25°Cで90分間保温してTXA₂を生成させた。その後, 8,000 gで3分間遠心分離し, 得られた血清は測定に供するまで-70°Cで保存した。TXA₂の安定な代謝物であるTXB₂の血清中濃度はラジオイムノアッセイ(RIA)により測定した¹⁶⁾。今回の実験に用いたTXB₂抗体の他のプロスタグランジンに対する交差反応はPGE₁およびPGE₂に対しては0.1%以下, PGF_{2α}に対しては0.6%, 6-keto PGF_{1α}に対しては0.1%およびPGD₂に対しては1.1%である。TXB₂の検出限界は1チューブ50 μlあたり10 pgである。

4. 凝固時間の測定 (*ex vivo* 実験)

ワルファリン投与20時間後に麻酔下にクエン酸ナトリウム(最終濃度: 0.38%)を抗凝固剤として腹部大動脈から採血を行い, 血漿を調製して常法に従ってプロトロンビン時間(PT)を測定した。

5. 血中プラスミン活性の測定 (*ex vivo* 実験)

TPAおよびUKの静脈内注入45分後に上記と同様にして採血を行い, 血漿を調製して常法に従ってプラスミン活性を合成基質S-2251の加水分解を指標として測定した²⁴⁾。

6. 統計処理

データは平均値±標準誤差で表示した。有意差検定はDunnett検定を用いて行い, 危険率5%以下を有意とみなした。

III. 結 果

1. 各種血栓症治療薬の出血時間延長作用

CV-4151, チクロピジン, アスピリン, オザグレルおよびワルファリンの出血時間延長作用をFig. 1Aに, TPAおよびUKの作用をFig.

1Bに示す。CV-4151 (0.1~10 mg/kg, p.o.), チクロピジン (100 および 300 mg/kg, p.o.), アスピリン (1~100 mg/kg, p.o.), オザグレル (0.1~10 mg/kg, p.o.) およびワルファリン (0.25~1 mg/kg, p.o.) はそれぞれ用量に依存して出血時間を延長した。TPA (1~2×10⁴ IU/kg/min, i.v. infusion) およびUK (1~4×10⁴ IU/kg/min, i.v. infusion) も用量に依存して出血時間を延長した。CV-4151の3および10 mg/kg投与群, チクロピジン 300 mg/kg投与群およびオザグレルの3および10 mg/kg投与群において出血時間が900秒以上に延長した個体はそれぞれ1例であったが, ワルファリン (1 mg/kg, p.o.), TPA (2×10⁴ IU/kg/min) およびUK (4×10⁴ IU/kg/min) ではそれぞれ5/5, 5/6 および4/4例であった。CV-4151, チクロピジン, アスピリンおよびオザグレルの出血時間延長作用はワルファリンおよび血栓溶解薬 (TPA, UK) より弱かった。

2. CV-4151, アスピリンおよびオザグレルの血液TXA₂生成抑制作用 (*ex vivo* 実験)

CV-4151は, ラットに0.1, 0.3, 1, 3, および10 mg/kgを経口投与することにより血液TXA₂の生成をそれぞれ63±3 (n=20), 74±8 (n=5), 92±1 (n=13), 100±0.4 (n=5) および95±0.4% (n=14) 抑制した (文献. 18, 19より引用)。アスピリンは, 1, 10 および100 mg/kgの経口投与によりそれぞれ8±12 (n=5), 74±3 (n=5) および96±1% (n=11) 抑制した (文献. 18より引用)。オザグレルの0.1, 0.3, 1 および10 mg/kgはそれぞれ22±7 (n=5), 62±3 (n=5), 83±4 (n=10) および98±1% (n=5) 抑制した (文献. 18, 19より引用)。

3. ワルファリンのPT延長作用 (*ex vivo* 実験)

Fig. 2にワルファリンのPT延長作用を示す。ワルファリンは, 0.25, 0.38, 0.5, および1 mg/kgの経口投与で用量依存的にPTを延長し, その作用は出血時間延長作用を示す0.38 mg/kgから認められた。また, 0.5 mg/kg以上の用量で有意な作用を示した。

Fig. 1 Effect of CV-4151, ticlopidine, aspirin, ozagrel and warfarin (A), and tissue-type plasminogen activator (TPA) and urokinase (UK) (B) on rat tail bleeding time. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ compared with control group. Data shown are mean $\pm$ standard error from 42 (A), and 13 (B) animals for control group and 4~12 animals for the drug-treated groups.

4. TPA および UK の S-2251 分解活性 (ex vivo 実験)

結果を Fig. 3 に示す。対照群の S-2251 分解活性は $0.24 \pm 0.06 \triangle OD_{405nm}/30 \text{ min}$ ($n=15$) であった。TPA の 1×10^4 IU/kg/min を投与したときの S-2251 分解活性は $0.45 \pm 0.07 \triangle OD_{405nm}/30 \text{ min}$ ($n=8$) であり増加傾向を示し

た。 2×10^4 IU/kg/min では有意な作用を示した ($0.64 \pm 0.09 \triangle OD_{405nm}/30 \text{ min}$, $n=8$)。UK は出血時間延長作用を示さない 1×10^4 IU/kg/min から著明な S-2251 分解活性を示した ($1.09 \pm 0.35 \triangle OD_{405nm}/30 \text{ min}$, $n=8$)。

5. CV-4151 と他剤との併用による出血時間延長作用

CV-4151 (0.3 mg/kg) は, チクロピジン (300 mg/kg) の出血時間延長作用を軽度 to 増強した (Fig. 4). CV-4151 (0.3 mg/kg) はアスピリン (100, 300 mg/kg) の作用に無影響であった (Fig. 5). CV-4151 (0.1 mg/kg) はワルファリン (0.38 mg/kg), TPA (1.5×10^4 IU/kg/min)

および UK (2×10^4 IU/kg/min) の出血時間延長作用を著明に増強し, その作用はそれぞれ単独の作用に対して有意であった (Fig. 6, 7).

IV. 考 察

出血は抗血栓薬や血栓溶解薬に共通する副作用であり, その指標として出血時間が測定されている. 今回の実験の目的は, 出血時間延長における新規抗血栓薬である CV-4151 と既知の抗血栓薬および血栓溶解薬との併用効果を調べ, 臨床での CV-4151 と他剤との併用投与による出血の危険性を推察することであった. 実験には感度よく出血時間を測定することができるラット尾部切断法を用いた²³⁾. 先ず, 単独の作用を調べたところ, 抗血小板薬 (CV-4151, チクロピジンおよびアスピリン) は比較的緩和な出血時間延長作用を示したのに対して, 抗凝固薬 (ワルファリン) および血栓溶解薬 (TPA および UK) は顕著な作用を示した (Fig. 1). このことは, 抗血小板剤は他の血栓症治療薬に比べ出血の危険の少ない安全な薬剤であることを示しており, 臨床成績と一致する. 実験に使用した動物がラットであるため, 用いた用量が臨床投与量と著しく異なっている薬物もあるが各薬物の出血時間延長作用を示す用量は, CV-4151,

Fig. 2 Effect of warfarin on prothrombin time in rats *ex vivo*. ** $p < 0.01$ compared with control group. Data shown are mean $\pm$ standard error from 4~6 animals.

Fig. 3 S-2251 hydrolysis by tissue-type plasminogen activator and urokinase in rats *ex vivo*. ** $p < 0.01$ compared with control group. Data shown are mean $\pm$ standard error from 3~11 experiments.

Fig. 4 Effect of CV-4151 on ticlopidine-induced bleeding time prolongation in rats.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ compared with control group. Data shown are mean $\pm$ standard error from 14 animals for control group and 4~8 animals for drug-treated groups.

Fig. 5 Effect of CV-4151 on aspirin-induced bleeding time prolongation in rats.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ compared with control group. Data shown are mean $\pm$ standard error from 20 animals for control group and 6~12 animals for drug-treated groups.

アスピリンおよびオザグレルの *ex vivo* 実験での血液 TXA_2 生成抑制作用を示す抑制と (Fig. 1)¹⁸⁾¹⁹⁾, ワルファリンはプロトロンビン時間を延長する用量と (Fig. 1, 2), また TPA および UK は S-2251 分解活性を示す用量とよく一致しており (Fig. 1, 3), 従ってラット出血時間は

それぞれの薬物本来の作用を反映していると思われる。チクロピジンの *ex vivo* 実験は行わなかったが, 300 mg/kg で血小板凝集を有意に抑制することを既に報告している¹⁸⁾。

今回出血時間の測定に用いたラット尾部切断法では, CV-4151 およびオザグレルなどの

Fig. 6 Effect of CV-4151 on warfarin-induced bleeding time prolongation in rats.

** $p < 0.01$ compared with control group. + $p < 0.05$, ++ $p < 0.01$ compared with single drug treatment-groups. Data shown are mean $\pm$ standard error from 6~19 animals.

Fig. 7 Effect of CV-4151 on TPA- and UK-induced bleeding time prolongation in rats.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ compared with control group. + $p < 0.05$, ++ $p < 0.01$ compared with single drug treatment-groups. Data shown are mean $\pm$ standard error from 6~13 animals.

TXA₂ 合成酵素阻害薬は TXA₂ の生成抑制による抗血小板作用と血管収縮の抑制, および TXA₂ 合成酵素阻害の結果生成が増加する PGI₂ による末梢血管拡張作用により明らかな出血時間延長作用を示すことが Butler および Hoet らによって報告されている²⁵⁾²⁶⁾. このことは, 完全に血液 TXA₂ の生成を抑制する用量のアスピリン (100 mg/kg, p.o.) が顕著な出血時間延長作用を示さなかったことから支持される (Fig. 1A).

CV-4151 は, 抗血小板薬であるチクロピジンの出血時間延長作用を相加的に, 抗凝固薬であるワルファリンおよび血栓溶解薬である TPA, UK の出血時間延長作用を相乗的に増強した (Fig. 4, 6, 7). 以上の結果は, 止血機構には血小板と血管緊張の他に血液凝固・線溶系が重要な役割を果していることを示唆している²³⁾. また, 出血時間延長作用は抗血栓薬の薬効の反映であることを考えると, CV-4151 と抗凝固薬あるいは血栓溶解薬との併用はより著明な抗血栓作用を示す可能性がある. CV-4151 がアスピリンの作用に影響しなかったのは, 後者は TXA₂ 合成酵素より上流に位置するアラキドン酸代謝酵素である COX を抑制し, TXA₂ 合成酵素の基質であるプロスタグランジンエンドペルオキシドの生成を抑制するためと思われる.

今回の実験において CV-4151 は 0.3 mg/kg 以上の用量で出血時間を有意に延長したが臨床では 100 mg/man の投与でも出血時間の著明な延長は認められていない²²⁾. この理由は, ラット尾部出血時間は傷口を生理食塩水に浸すという特殊な条件下で測定しており, そのために測定感度がよくなっていることが原因と考えられる.

結論として, CV-4151 は抗凝固薬および血栓溶解薬のラット尾部出血時間延長作用を著明に増強した. 従って, 臨床で CV-4151 とこれらの薬剤を併用して投与する場合には注意が必要と考えられる.

V. まとめ

TXA₂ 合成酵素阻害薬である CV-4151 (イス

ボグレル) の抗血栓薬および血栓溶解薬による出血時間延長に及ぼす影響について, ラットを用いて検討した. CV-4151 はチクロピジンの出血時間延長作用を相加的に, ワルファリン, TPA および UK の出血時間延長作用を相乗的に増強した. しかし, アスピリンの作用に対しては無影響であった. 本実験で用いた出血時間の測定方法は感度がよいため今回の成績が直接臨床に反映されるとは考えにくい, CV-4151 と他の血栓症治療薬を併用して用いる場合には十分な注意が必要と思われる.

謝 辞: 本実験を遂行するに当たり, 卓越した実験補助を頂きました中川秀和氏, および有益な助言を頂きました西川浩平博士および仲建彦博士に深謝致します.

文 献

- 1) Hamberg, M., Svensson, J. and Samuelsson, B.: Thromboxanes: A new group of biologically active compounds derived from prostaglandin endoperoxides. *Proc Natl Acad Sci USA* **72**: 2994-2998, 1975.
- 2) Moncada, S. and Vane, J.R.: Pharmacology and endogenous roles of prostaglandin endoperoxides, thromboxane A₂ and prostacyclin. *Pharmacol. Rev.* **30**: 293-331, 1979.
- 3) Whittle, B.J.R. and Moncada, S.: Pharmacological interactions between prostacyclin and thromboxanes. *Br. Med. Bull.* **39**: 232-238, 1983.
- 4) Bunting, S., Moncada, S. and Vane, J.R.: The prostacyclin-thromboxane A₂ balance: Pathophysiological and therapeutic implications. *Br. Med. Bull.* **39**: 271-276, 1983.
- 5) Harker, L.A.: Clinical trials evaluating platelet-modifying drugs in patients with atherosclerotic disease and thrombosis. *Circulation* **73**: 206-223, 1986.
- 6) ISIS-2 (Second International Study of Infarct Survival) Collaborative Group: Randomised trial of intravenous streptokinase, oral aspirin, both, or neither among 17, 187 cases of suspected acute myocardial infarction: ISIS-2 *Lancet* **ii**: 349-360, 1988.

- 7) UK-TIA Study Group.: United Kingdom transient ischaemic attack (UK-TIA) aspirin trial: interim results. *Br. Med. J.* **296**: 316-320, 1988.
- 8) The SALT Collaborative Group.: Swedish aspirin low-dose trial (SALT) of 75 mg aspirin as secondary prophylaxis after cerebrovascular ischemic events. *Lancet* **338**: 1345-1349, 1992.
- 9) Weksler, B.B., Tack-Goldman, K., Subramanian, V.A. and Gay, W.A.: Cumulative inhibitory effect of low-dose aspirin on vascular prostacyclin and platelet thromboxane production in patients with atherosclerosis. *Circulation* **71**: 332-340, 1985.
- 10) Deckmyn, H., Van Houtte, E., Verstraete, M. and Vermynen, J.: Manipulation of the local thromboxane and prostacyclin balance *in vivo* by the antithrombotic compounds dazoxiben, acetylsalicylic acid and nafazatrom. *Biochem. Pharmacol.* **32**: 2757-2762, 1983.
- 11) Marcus, A.J., Weksler, B.B., Jaffe, E.A. and Broekman, M.J.: Synthesis of prostacyclin from platelet-derived endoperoxides by cultured human endothelial cells. *J. Clin. Invest.* **66**: 979-986, 1980.
- 12) Schafer, A.I., Crawford, D.D. and Gimbrone, M. A.: Unidirectional transfer of prostaglandin endoperoxides between platelets and endothelial cells. *J. Clin. Invest.* **73**: 1105-1112, 1984.
- 13) Fitzgerald, G.A., Brash, A.R., Oates, J.A. and Pederson, A.K.: Endogenous prostacyclin biosynthesis and platelet function during selective inhibition of thromboxane synthase in man. *J. Clin. Invest.* **71**: 1336-1343, 1983.
- 14) Aiken, J.W., Shebuski, R.J., Miller, O.V. and Gorman, R.R.: Endogenous prostacyclin contributes to the efficacy of a thromboxane synthetase inhibitor for preventing coronary artery thrombosis. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **219**: 299-308, 1981.
- 15) Kato, K., Ohkawa, S., Terao, S., Terashita, Z. and Nishikawa, K.: Thromboxane synthetase inhibitors (TXSI). Design, synthesis and evaluation of a novel series of ω -pyridyl-alkenoic acids. *J. Med. Chem.* **28**: 287-294, 1981.
- 16) Terashita, Z., Imura, Y., Tanabe, M., Kawazoe, K., Nishikawa, K., Kato, K. and Terao, S.: CV-4151 - a potent, selective thromboxane A₂ synthetase inhibitor. *Thromb. Res.* **41**: 223-237, 1986.
- 17) Imura, Y., Terashita, Z. and Nishikawa, K.: The role of thromboxane (TX) A₂ in rabbit arterial thrombosis induced by endothelial damage. *Thromb. Res.* **59**: 195-205, 1990.
- 18) Terashita, Z., Imura, Y., Kawamura, M., Kato, K. and Nishikawa, K.: Effect of thromboxane A₂ synthase inhibitors (CV-4151 and ozagrel), aspirin, and ticlopidine on the thrombosis caused by endothelial cell injury. *Thromb. Res.* **77**: 411-421, 1995.
- 19) Imura, Y., Kiyota, Y., Nagai, Y., Nishikawa, K. and Terashita, Z.: Beneficial effect of CV-4151 (isbogrel), a thromboxane A₂ synthase inhibitor, on rat middle cerebral artery thrombosis model. *Thromb. Res.* **79**: 95-107, 1995.
- 20) 井村良規, 鬼頭 剛: イヌのアラキドン酸注入による一過性脳虚血に対する CV-4151 (イスボグレル, Isbogrel) の効果. *薬理と治療* **23**: 813-820, 1995.
- 21) Sleifgt, P.: Thrombolysis: State of art. *Eup. Heart J.* **14**: 41-47, 1993.
- 22) Kuzuya, T., Kimura, Y., Hoshida, S., Kodama, K., Nakamura, N., Hamanaka, Y., Kitabatake, A., Kamada, T. and Tada, T.: The effect of CV-4151, a selective inhibitor of thromboxane synthetase, on prostanoid formation and platelet aggregation in humans. *Cardiovasc. Drugs. Ther.* **2**: 693-700, 1988.
- 23) Dejana, E., Quintana, A., Callioni, A. and De Gaetano, G.: Bleeding time in laboratory animals. III-Do tail bleeding times in rats only measure a platelet defect? (The aspirin puzzle). *Thromb. Res.* **15**: 199-207, 1979.
- 24) Mattler, L.E. and Bang, N.U.: Serine protease specificity for peptide chromogenic substrates. *Thromb. Haemostas.* **38**: 777-792, 1977.
- 25) Butler, K.D., Maguire, E.D., Smith, J.R., Turnbull, A.A., Wallis, R.B. and White, A.M.: Prolongation of rat tail bleeding time caused by oral doses of a thromboxane synthetase inhibitor which have little effect on platelet aggregation. *Thromb. Haemostas.* **47**: 46-49, 1982.

-
- 26) Hoet, B., Falcon, C., De Reys, S., Arnout, J., Deckmyn H. and Vermylen, J.: R68070, a combined thromboxane/endoperoxide receptor antagonist and thromboxane synthase inhibitor, inhibits human platelet activation *in vitro* and *in vivo*: A comparison with aspirin. *Blood* **75**: 646-653, 1990.
-