

新型抗凝药物研发进展

王维亭, 郝春华, 赵专友*, 汤立达*

天津药物研究院 药代与药效动力学重点实验室, 天津 300193

摘要: 静脉血栓形成及栓塞是严重危害人类健康的疾病, 是继急性冠脉综合征与脑卒中之后第三大心血管疾病。随着对凝血与血栓形成机制、静脉栓塞发病机制, 及普通肝素、低相对分子质量肝素、华法林等传统用药研究与了解的进一步深入, 以凝血因子靶点 Xa、IIa、IXa, 以及III (TF) /VIIa 特异性抑制为基础的新抗凝药物研发取得了很大进展。同时, 理想的抗凝药物标准为新型药物研发提出了更高的要求, 靶点选择、获益与风险、效应与毒性评价等许多问题更值得关注。综述静脉血栓形成原因与机制, 传统用药, 以及新药研发靶点与研发进展、研发注意事项。

关键词: 血栓形成; 静脉血栓栓塞; 发病机制; 抗凝药物; 靶点

中图分类号: R973.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2011)01-0010-15

New trends of research and development in the novel anticoagulant drugs

WANG Wei-ting, HAO Chun-hua, ZHAO Zhuan-you, TANG Li-da

State Key Laboratory of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract: Venous thromboembolism (VTE) has been estimated to be the third most common vascular disorder after acute coronary syndromes and stroke, with a serious health hazard, resulting in high mortality, morbidity, and expenditures. With further understanding on the mechanism for blood coagulation, thrombosis, VTE, and application of classic anticoagulant drugs such as unfractionated heparin, low molecular heparin, and Warfarin, the novel anticoagulants based on coagulation factor-target e.g. Xa, IIa, IXa, and TF/VIIa had markedly progressed in research and development. While, the ideal standard of anticoagulant drugs makes higher request for research and development of novel anticoagulants, the selection to target, benefit and risk, evaluation for efficacy and toxicity merit more attention. The aetiology and pathogenesis of VTE, classic anticoagulant drugs, and new trends and cautions of research and development in the novel anticoagulant drugs are reviewed in this paper.

Key words: thrombosis; venous thromboembolism (VTE); pathogenesis; anticoagulant drug; target

血栓性疾病是严重危害人类健康的疾病, 根据血栓形成部位、条件与性质, 主要分为动脉血栓与静脉血栓。动脉血栓形成是从动脉血管壁动脉粥样硬化病变与血小板激活开始, 严重临床表现主要为急性心肌梗死、脑卒中; 静脉血栓由静脉血管中多种原因诱发形成, 可导致静脉血栓栓塞 (venous thromboembolism, VTE), 其主要临床表现为深静脉血栓形成 (deep venous thrombosis, DVT) 和肺栓塞 (pulmonary embolism, PE)^[1], VTE 是继急性冠脉综合征与脑卒中之后, 第三大心血管疾病^[2]。动脉血栓的治疗手段是溶栓, 预防动脉血栓形成则

是应用抗血小板聚集药物、抗凝药物; 静脉血栓形成的预防与治疗主要使用抗凝药物。近年来, 随着 VTE 发病率、诊断率的提高及对其危害性认识的增加, 世界各国对 VTE 疾病的治疗与预防更加重视, 美国胸科医师协会 (American College of Chest Physician, ACCP) 2004 年发布了第 7 版《抗栓与溶栓治疗循证指南》^[3]; 中国也先后发布了“肺血栓栓塞症的诊断与治疗指南”与“中国骨科大手术深静脉血栓形成预防专家建议”, 用以指导临床治疗^[4-5]。

静脉血栓形成的诱因较多, 如外科手术、创伤

收稿日期: 2010-10-25

基金项目: 系列化、国际化的国家生物医药国际创新园新药研发综合性大平台建设项目 (2009ZX09301-008)

作者简介: 王维亭 (1974—), 男, 医学硕士, 副研究员, 主要从事心脑血管药理与新药评价研究。Tel: (022)23006858 E-mail: 23006858@163.com

*通讯作者 赵专友 Tel: (022)23006859 E-mail: zhaozy@tjipr.com

汤立达 Tel: (022)23006908 E-mail: tangld@163.net

(大范围或下肢的创伤), 制动、瘫痪(脊髓损伤), 癌症治疗(激素、化疗、放疗), 急性内科疾病(心肌梗死、脑卒中), 心衰或呼吸衰竭, 炎性肠病, 肾病综合征, 骨髓增殖性疾病, 阵发性睡眠性血红蛋白尿症, 遗传或继发性血栓形成倾向, 口服避孕药或激素替代疗法, 雌激素拮抗剂, 静脉曲张, 怀孕, 产褥期, 肥胖, 吸烟, 年龄增长, 有静脉血栓栓塞既往病史等。外科手术, 尤其是髋关节和膝关节置换术、恶性肿瘤根治术后或卒中、骨折、神经外科等制动长期卧床的病人, 可导致静脉系统血流瘀滞、内皮细胞缺氧损伤、血细胞与内皮接触时间延长、内皮产生的天然抗凝物质减少, 同时天然抗凝物质也难与血液混合; 手术机械损伤、静脉置管、静脉刺激药物注射亦可损伤血管内皮, 破坏细胞间的连接, 导致促凝物质释放; 大型手术、组织损伤、高黏滞血症可造成高凝状态^[3,6-7]。

在西方国家, DVT 和 PE 的年发病率分别为 0.1% 和 0.05%, 与脑卒中的相当。据 ACCP 报道, 骨科大手术后 DVT 总发生率较高, 髋关节置换术为 42%~57%、膝关节置换术为 41%~85%、髌部骨折手术为 46%~60%; PE 总发生率分别达 0.9%~28.0%、1.5%~10.0%、3.0%~11.0%。VTE 在中国同样也是常见病、多发病, 且发病率呈迅速上升趋势。中国骨科大手术病人的 DVT 发生率为 20.6%~58.2%, 与西方国家相近^[3-4]。许多疾病亦可伴发 VTE, 如在日本, 据 2000—2008 年统计, 心功能 IV 级心衰病人 DVT 发病率可达 25.5%^[8]。另外, 静脉血栓形成随年龄增长发病率增加, 在年长者中年龄每增加 1 岁, 发病率可提高 1%^[9]。

从 70 年前肝素应用于临床以来, 静脉血栓疾病的治疗与预防有了很大进展, 由于抗凝药物有抗凝效应强弱与出血不良反应大小之间的基本线性关系的存在, 使得寻找出血不良反应低、抗凝效果明确的“更安全、更有效”的新型抗凝药物, 成为近年新药研发的热点, 并取得了显著进展。

1 凝血过程与机制

凝血因子是参与血液凝固过程的各种生物物质的总称, 其正常作用是与血管收缩、血小板激活、血小板聚集一起参与生理性止血。凝血因子分为主要凝血因子与凝血辅因子两大类。根据所参与的凝血过程, 主要凝血因子包括参与内源途径的凝血因子 XII、XI、VIII, 外源途径的 VII、III (组织因子 TF)、IX 因子, 共同途径的 X、V、II、I、XIII 因子,

以及参与所有途径的 IV 因子即 Ca^{2+} 。辅助凝血因子包括 Fitzgerald 因子、Fletcher 因子(激肽释放酶原), 以及 von-Willebrand 因子(血管性假血友病因子)。

大多数凝血因子是蛋白酶, 同时也是酶的作用底物。启动因素激活某一个凝血因子后, 凝血因子便按顺序依次激活(蛋白酶水解), 形成“瀑布”效应反应链(cascade), 这就是“瀑布学说”凝血理论。按照这一凝血理论, 凝血过程按凝血因子启动顺序, 分为内源性、外源性, 以及共同凝血途径。内源性凝血途径由血管受损内膜下胶原纤维或玻璃其他带负电荷的异物表面激活 XII 因子启动; 外源性凝血途径由损伤组织释放的因子 III 启动; 共同凝血途径从 Xa 因子起始。

近年来, 新的凝血机制观点得到认可。1) 内源性途径与外源性途径之间存在着功能的交叉, 外源性的因子 VIIa 和 III 形成的复合物可直接激活 IX 因子, 从而代替了 XI 和 XIIa 因子的功能; 2) “基于细胞的血液凝固模型 (cell-based model of coagulation)” 研究表明, 因子 IXa/VIIIa 激活 X 因子的能力是 TF/VIIa 的 50 倍, 因此, 在 TF 介导的 IIa 因子形成过程中, IX 因子可能处于中枢地位; 3) XII 因子的裂解产物和 IXa 因子也能激活外源性的因子 VII; 4) 凝血酶 (IIa) 除促进纤维蛋白形成外, 还通过激活血小板蛋白酶激活受体 (PAR1, PAR4) 信号转导通路, 激活血小板 (PLT), 促使血小板 α 颗粒释放 V 因子, 还提供血小板因子 3 (PF3) 反应表面, 中和肝素, IIa 还可激活 V、VIII 放大因子, 激活 XIa 因子, 催化 II 因子加速自身 IIa 因子形成等, 因此, 在新的凝血机制观点中, PLT 与 IIa 因子的作用地位得到加强; 5) XIIa 因子不参与生理、病理性血栓形成, 但参与接触性(异物)血栓形成(图 1)^[10-12]。

在血液(血浆)凝固与血栓形成过程中, 参与的凝血途径会有一些差异。血液在试管内的自然凝固、血管支架、人工心脏瓣膜、动脉粥样斑块、体外循环, 以及内置导管引起的血栓形成为内源性凝血途径; 感染、内毒素血症、缺血缺氧等血管内膜损伤, 以及生理性止血过程, 以外源性凝血途径为主; 在静脉血栓形成的动物模型研究中, 结扎下腔静脉血栓形成法以外源性凝血途径为主, 也有内源性途径参与; 在临床试验检验中, 活化部分凝血活酶时间试剂引起的是内源性凝血途径, 凝血酶原时间试剂引起的是外源性凝血途径, 而凝血酶时间

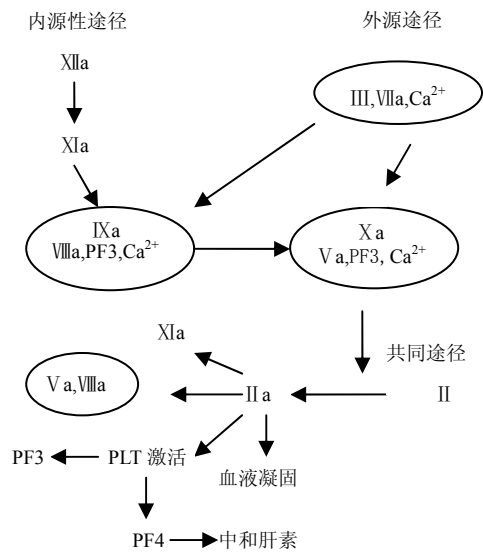


图1 凝血级联反应与凝血机制

Fig. 1 Cascade reaction and mechanism of blood coagulation

试剂引起的是共同凝血途径。一般而言，外源性途径凝血较快，内源性途径凝血较慢。

尽管凝血新机制不断被发现与认可，但“瀑布学说”这一经典凝血理论仍然是指导临床治疗与新药研发的基石。

2 传统临床用药

静脉血栓形成的预防与治疗主要以抗凝为主。传统用药主要包括普通肝素、低相对分子质量肝素，以及华法林。

2.1 普通肝素

普通肝素是 1916 年由美国约翰霍普金斯大学医学院生理系大学生 McLean J 发现的，1937 年由加拿大 Best C H 与 Murray G 首次应用于临床。肝素平均相对分子质量 15 000，对 Xa 因子与 IIIa 因子的作用强度比为 1：1。普通肝素可与抗凝血酶 III (AT-III) 分子中的赖氨酸残基结合而改变其构型，变构后的 AT-III 可与凝血因子 II a、IX a、Xa、XI a、XII a 结合成复合物使其失去活性而起到抗凝作用，因此普通肝素对凝血的 3 个阶段都有抑制作用。口服普通肝素在消化道内不能吸收，静脉注射可即刻发挥抗凝作用。普通肝素激活 PLT 作用较强，能被血小板因子 4 (PF4) 中和，需根据体质量调整剂量。普通肝素的主要不良反应是出血，多由过量所致，轻度为皮肤黏膜出血，重度可为胃肠道、颅内出血。肝素过敏反应表现为血压急剧下降、潮红、呼吸困难、恶心、腹痛、昏厥，甚至死亡。另外，发生肝

素诱导的血小板减少症几率为 1%，还有骨质疏松、嗜酸性粒细胞增多等不良反应。

2.2 低相对分子质量肝素

低相对分子质量肝素是 1976 年 Johnson 发现的，由普通肝素经过解聚和分离所得（一般相对分子质量低于 7 000 为低相对分子质量肝素）。肝素及低相对分子质量肝素的作用在于它们能与 AT-III 特异结合，而后抑制 II a 和 Xa 因子的活性。肝素对凝血酶活性的抑制，需要其肽链上的五聚糖有足够的长度，较短的肽链不能催化此反应，但仍能抑制 Xa 因子，因此低相对分子质量肝素对 Xa 与 II a 因子的抑制作用强度不同。抗 Xa 因子活性对相对分子质量不敏感，抗 II a 因子活性与相对分子质量相关，相对分子质量越大，抗 II a 因子活性越强。不同低相对分子质量肝素抗 II a 因子活性有差异（表 1）。低相对分子质量肝素皮下注射吸收完全，生物利用度高达 90%，半衰期较长，为 3~5 h，血小板减少症发生率较低（约 0.1%），PF4 中和作用弱，不良反应小，一般不需要实验室监测凝血指标。低相对分子质量肝素的主要不良反应有出血，注射部位瘀点、瘀斑，血小板减少等，鱼精蛋白可部分中和低相对分子质量肝素。

表 1 普通肝素、低相对分子质量肝素抗 II a 因子活性差异
Table 1 Difference on anti-II a factor activity between unfractionated heparin and low molecular weight heparin

药物	平均相对分子质量	抗 Xa / 抗 II a 因子活性比例
普通肝素 (unfractionated heparin)	15 000	100 : 100
亭扎肝素 (Tinzaparin, Innohep)	6 750	100 : 50
达肝素 (Fragmin, Deltaparin)	6 000	100 : 40
那屈肝素 (Fraxiparine, Nadroparin calcium)	4 500	100 : 28
依诺肝素 (Enoxaparine, Lovenox)	4 200	100 : 20
磺达肝癸钠 (Fondaparinux)	1 725	100 : 0

2.3 华法林

华法林为维生素 K 拮抗剂，1939 年由 Link K P 发现，1953 年首次用于临床。凝血因子 II、VII、IX、X 在肝中首先合成为前体，无抗凝活性，这些凝血

因子的氨基末端谷氨酸残基需在维生素 K 参与下羧基化,才具有抗凝生物活性。华法林可抑制此羧基化,从而发挥抗凝作用。

华法林口服后很快自肠道吸收,90%与血浆蛋白结合。在肝中被细胞色素 P450 酶系代谢,代谢产物与葡萄糖醛酸结合由尿和粪便排出。半衰期 35~45 h,用药后 20~30 h 显效,3~5 d 后达最大抗凝效果。停药后抗凝作用可持续 4~5 d。临床上有些药物可影响华法林的抗凝作用,有的药物可加强其抗凝作用,有的则能减弱。华法林最常见的不良反应是出血,如皮肤出血、鼻衄、牙龈出血、胃肠道出血等,重者可引起脑出血。

华法林可口服,对于脑卒中等危险患者的长期应用较为方便,但给药方案复杂,停药后抗凝效果还能持续多天,而且可与药物、食物相互作用,产生不可预知的效应,且病人对其反应不同,这与维生素 K 氧化物还原酶及 P450 细胞色素代谢酶基因差异有关,病人需要常规监测。

3 作用靶点与新药研发

普通肝素、低相对分子质量肝素,以及华法林尽管有其缺点,但应用仍然广泛。肝素需要持续检测,有严重不良反应,如出血、血栓形成、骨质疏松、不能口服;低相对分子质量肝素较安全,使用更方便,但不能口服,没有解毒药,不能用于肾衰病人;华法林治疗窗窄,同其他药物及食物相互作用,像普通肝素一样也需要常规检测。由于这 3 种药物的缺陷,使得人们开始寻求新的、更加便利的抗凝药物,主要的代表药物是直接和间接 Xa 因子抑制剂、直接凝血酶抑制剂。这些新的药物具有更加可预测的药动学特性,更高的效应,以及更好的安全性,有的可以口服。

血液凝固的过程是一个级联式的放大反应,理论上讲,多个凝血因子均可作为靶点,但由于级联反应的“交叉对话”因素,以及反应“交叉点”Xa 因子、IIa 因子位于凝血共同途径,目前研究较为广泛,主要作用靶点见图 2。全球较大规模公司 1979—2010 年以 Xa、IIa 因子这 2 两个靶点为研发目标的专利达数百个,其中百时美施贵宝、赛诺菲安万特、拜尔公司、礼来药厂的 Xa 因子抑制剂专利分别达 170、60、40、30 个,辉瑞制药、默克公司的 IIa 因子抑制剂专利分别达 110、90 个^[13]。

3.1 Xa 因子及抑制剂

Xa 因子在凝血级联反应中占据共同途径的起

始位置,它可将 III 因子转变为 IIIa 因子,因此 Xa 因子抑制剂是抗凝血药开发中一个重要方向。Xa

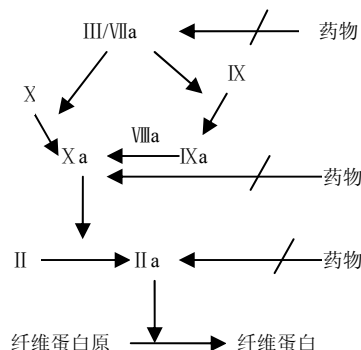


图 2 抗凝药物的主要作用靶点
Fig. 2 Key target for anticoagulant drugs

因子抑制剂按是否依赖于 AT-III 因子可分为间接与直接抑制剂。间接 Xa 因子抑制剂需要 AT-III 因子作为辅助因子,不能抑制凝血酶原酶复合物结合的 Xa 因子,直接 Xa 因子抑制剂直接作用于 Xa 因子分子的活性中心,既抑制血浆中游离的 Xa 因子,也能抑制被凝血酶原酶复合物结合的 Xa 因子。无论是在体内还是在体外条件下,激活凝血所需的 Xa 因子浓度范围要比凝血酶广。因此,直接 Xa 因子抑制剂比凝血酶抑制剂可能具有更为宽广的治疗窗,而后者可降低对凝血功能监测的需求,这正是该类药物优于华法林的一个原因。

3.1.1 磺达肝癸钠 (Fondaparinux) 又称 GSK 576428、ORG 31540、SR 90107、SR 90107A、Quixidar (TM),分子式为 $C_{31}H_{43}N_3O_{49}S_8 \cdot 10Na$,相对分子质量为 1 728 (结构式见图 3),是继肝素及低相对分子质量肝素后,由 FDA 批准适用于多种动静脉血栓症的治疗与预防的药物。磺达肝癸钠属人工合成的特异性活化 Xa 因子抑制物,为 Xa 因子间接抑制剂,机制为通过选择性地与 AT-III 因子结合,使 AT-III 中和已激活的 Xa 因子的作用增强约 300 倍,从而起到抑制 IIIa 因子生成的目的,对已生成的凝血酶无直接作用。

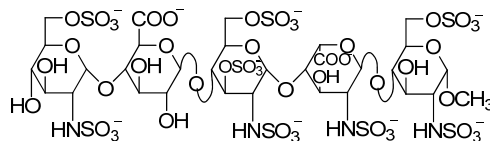


图 3 磺达肝癸钠的结构
Fig. 3 Structure of Fondaparinux
磺达肝癸钠皮下注射后吸收迅速且完全,生物

利用度为 100%。在治疗剂量时,磺达肝癸钠浓度与抑制凝血酶产生率呈线性;在更高浓度时,磺达肝癸钠的抗凝作用出现“平台效应”,这可能与体内 AT-III 得到充分利用有关,因此其治疗窗较宽,不会出现过度抗凝。磺达肝癸钠对 PLT 抑制作用较弱(34 mol/L 时仅抑制 40%),也不激活 PLT,也不能被 PF4 中和,无血小板减少症发生;磺达肝癸钠代谢主要以原型由肾脏排出,少有明显肝损害,皮下注射后 2~3 h 血药浓度可达到峰值,半衰期约为 17 h,可每天 1 次给药,不需要根据体质量调整剂量,也不需要常规监测。

3.1.2 艾卓肝素 (Idraparinux) 为磺达肝素衍生物,第二代戊多糖,比磺达肝癸钠负电荷更多(结构式见图 4),因此与抗凝血酶亲和力更强。半衰期约 80 h,皮下注射,可每周 1 次。艾卓肝素抗凝活性可以预测,因此不需常规检测。有研究显示,2 904 例 DVT 或 PE 病人给予艾卓肝素 2.5 mg,每周 1 次,连续 3 个月或 6 个月,其对 DVT 的效果与华法林相当^[14]。艾卓肝素生物素化衍生物 SSR12517E,也在进行对 PE 治疗作用的 III 期临床研究。

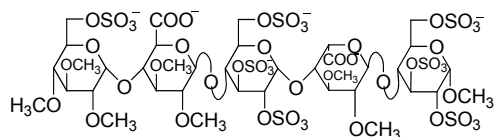


图 4 艾卓肝素的结构

Fig. 4 Structure of Idraparinux

3.1.3 利伐沙班 (Rivaroxaban) 又称 BAY 59-7939、BAY 597939,分子式 $C_{19}H_{18}ClN_3O_5S$,结构式见图 5。由拜耳与强生制药研发公司 (Johnson & Johnson Pharmaceutical Research & Development) 研发,用于预防静脉血栓的形成,目前在加拿大、芬兰、德国、意大利、拉丁美洲、西班牙、英国及中国上市,用于血栓栓塞预防与治疗;作为急性冠脉综合征、肺栓塞治疗在多个国家进行 III 期临床研究。

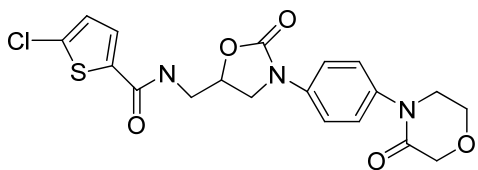


图 5 利伐沙班的结构

Fig. 5 Structure of Rivaroxaban

利伐沙班相对分子质量为 436,作为一种口服的特异性的 Xa 因子抑制剂,能高度选择性和竞争性地与 Xa 因子的活性位点结合,竞争性地抑制游离和结合的 Xa 因子以及凝血酶原活性,对 Xa 因子 k_i 为 0.4 nmol/L;剂量为 5、30 mg 服药 2 h 后, Xa 因子活性抑制率分别 28%、56%;抑制凝血酶的 IC_{50} 为 21 nmol/L。

利伐沙班可以剂量依赖方式延长凝血酶原时间和凝血酶时间。针对 Xa 因子人血浆体外实验结果显示,利伐沙班可有效抗凝,且对血小板聚集无直接影响;但可剂量依赖性地抑制 TF 诱导的血小板聚集, IC_{50} 为 0.06 mol/L,远小于阿哌沙班 (Apixaban) 和依诺肝素,后两者 IC_{50} 分别为 0.51、1.53 mol/L。

采用大鼠动静脉旁路血栓形成模型研究表明,小剂量利伐沙班与阿司匹林合用比用任何单一药物有更强的抗血栓形成作用。利伐沙班剂量依赖性地抑制血栓形成, ED_{50} 为 0.33 mg/kg。利伐沙班 0.01、0.03 mg/kg (iv) 与阿司匹林 3 mg/kg (ig) 联用可使血栓形成分别降低 24%、37%。麻醉大鼠静脉给予利伐沙班可剂量依赖性地抑制 TF 诱导的凝血酶-抗凝血酶 (TAT) 产生,对纤维蛋白原无影响,而美拉加群可增加 TF 诱导的高凝状态,使纤维蛋白原下降。给动静脉短路模型大鼠与兔灌胃利伐沙班,抗血栓形成的 ED_{50} 分别为 5、0.6 mg/kg。

利伐沙班使动物出血时间延长 1 倍的剂量为 5.8 mg/kg,而使动物血栓形成量抑制 50%的剂量为 5 mg/kg,风险效益比为 1.2,优于希美加群、氯吡格雷、依诺肝素,后三者风险效益比分别为 0.4、0.2、0.1。

大鼠、犬静脉注射利伐沙班半衰期为 0.9 h;大鼠灌胃半衰期为 1.2~2.3 h,犬为 0.9 h。人口服半衰期 4~6 h,给药后 2.5~4 h 达到血药峰浓度。最低和最高剂量药物对 Xa 因子活性抑制作用的峰值波动为 22%~68%。利伐沙班在胃肠道容易吸收,大鼠、犬生物利用度分别为 60%、86%,人可达 80%,且不受食物的影响。本品在年轻患者中的半衰期为 5~9 h,而在老年患者中则延长至 11~13 h。多次给予利伐沙班时,药时曲线下面积呈剂量相关性增加,且在稳态 (第 7 天) 时未发现药物蓄积。利伐沙班主要经由两条途径排泄,大鼠 67% 经粪便、25% 经肾脏排泄,犬则分别为 43%、52%。由于药物有一部分经肾脏排泄,所以肾功能不全患者使用时需

慎重。

III期临床研究综合分析 (RECORD1、2、3、4) 显示, 与依诺肝素比较, 利伐沙班能使全关节置换术后病人以症状性静脉血栓形成为观察终点的发生率下降 50% 以上, 疗效显著优于依诺肝素, 安全性与依诺肝素相当, 重度出血事件的发生率均很低^[15-16]。

利伐沙班与肝素、低相对分子质量肝素、间接 Xa 因子抑制剂如磺达肝素等的本质区别在于肝素等需要与 AT-III 结合, 才能使其产生抗 Xa 因子的活性, 而对 Xa 因子无直接作用, 长期应用有导致骨质疏松以及潜在的肝素介导的血小板减少的风险。而利伐沙班不需要 AT-III 参与, 可直接拮抗游离和结合的 Xa 因子。且利伐沙班为口服制剂, 使用较为方便, 更不需像肝素那样定期去监测凝血活酶时间或像低相对分子质量肝素去监测 Xa 因子, 花费额外的检查费用。

利伐沙班已于 2008 年 9、10 月分别在加拿大、欧盟获得上市, 用于择期髋、膝关节置换术成人患者 VTE 的预防。在我国, 利伐沙班也已于 2009 年 3 月 31 日获得国家食品药品监督管理局 (SFDA) 的批准用于择期髋、膝关节置换术成人患者 VTE 的预防。

3.1.4 阿哌沙班 又称 BMS 562247、BMS 562247-01, 分子式 $C_{25}H_{25}N_5O_4$, 结构式见图 6。由 Bristol-Myers Squibb 与 Pfizer 共同研发。

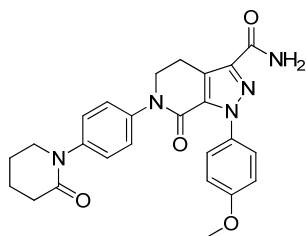


图 6 阿哌沙班的结构

Fig. 6 Structure of Apixaban

2007 年 4 月 Bristol-Myers Squibb 与 Pfizer 两家公司达成协议, Pfizer 出资 60% 达 2.5 亿美元与 Bristol-Myers Squibb 共同研发阿哌沙班。作为脑卒中治疗药, 在亚洲、澳大利亚、加拿大、欧洲、南美、美国进行 III 期临床研究; 作为血栓形成治疗药, 除上述国家与地区外, 还在墨西哥、南非进行 III 期临床研究; 作为急性冠脉综合征的治疗药, 目前在日本进行 III 期临床研究。另外还进行 DVT 与 PE 的临床研究。

临床前研究结果表明, 阿哌沙班对 Xa 因子抑制的 k_i 为 0.08 nmol/L, 兔动静脉短路血栓形成实验表明, 阿哌沙班与肝素或依诺肝素联用, 可明显抑制血栓形成, 增强其抗血栓效果, 出血时间增加较少; 兔动脉血栓模型显示, 阿哌沙班与来卢匹定在 ES_{80} 效应时出血时间分别增加 13.2%、185%, 阿哌沙班 ES_{80} 效应时增加凝血活酶时间 1.6 倍、增加凝血酶原时间 1.5 倍, 对凝血酶时间无影响^[17]。

用健康受试者研究表明, 阿哌沙班 50 mg (*po*, 每日 1 次) 可使凝血活酶时间增加 1.2 倍, 凝血酶原时间增加 2.6 倍, 25 mg (*po*, 每日 1 次, 共 7 d) 可使凝血活酶时间增加 1.2 倍, 凝血酶原时间增加 3.2 倍。阿哌沙班 III 期临床研究将包括 8 个临床试验共计 54 000 例病人参与 (ADVANCE-1, ADVANCE-2, ADVANCE-3, ADO 凝血酶原时间, ARISTOTLE, AVERROES, AMPLIFY, AMPLIFY-EXT)。

ADVANCE-2 试验对 3 221 例膝关节术后病人随机分为阿哌沙班 (2.5 mg, 每日 2 次, *po*) 与依诺肝素 (40 mg, 每日 1 次, *sc*) 两组进行 III 期临床研究, 在有效的 1 973 例有效统计病例中, DVT、非致死性 PE, 以及死亡为主要终点的合计发生率两组分别为 15.1%、24.4%, 阿哌沙班危险度下降 38% ($P < 0.001$), 静脉血栓形成的次要终点发生率分别为 1.1%、2.2%, 相对危险度下降 50% (单侧检验, $P = 0.02$)。重度出血事件发生率分别为 0.6%、0.9%, 轻、中、重总出血事件合计发生率分别为 3.5%、4.8%, 均无明显差别; 肝损害发生率两组均为 2%, 因不良反应治疗终止率相似。另一项 3 625 例病人参加的 III 期临床 (ADVANCE-1) 研究表明, 重度出血事件发生率阿哌沙班略低于依诺肝素, 但无明显统计学差异 (0.7%、1.4%, $P = 0.053$), 总出血事件发生率阿哌沙班 (2.9%) 较依诺肝素低 (4.3%), $P = 0.034$ 。

3.1.5 贝曲沙班 (Betrixaban) 又称 MK-4448、PRT 021、PRT 054021、PRT021、PRT054021, 分子式 $C_{23}H_{22}ClN_5O_3$, 结构式见图 7。由默克与 Portola 公司研发, 作为脑卒中及血栓栓塞治疗药在美国加拿大进行 III 期临床研究。

与其他口服 Xa 因子抑制剂比较, 贝曲沙班有许多优点, k_i 为 0.117 nmol/L, 半衰期为 19 h, 可每天给药 1 次, 生物利用度 47%, 血浆浓度稳定, 峰谷-底比值低, 效应平稳, 药动学特征与药效效应可以预测, 不需要检测与调整剂量。另外, 它是目前

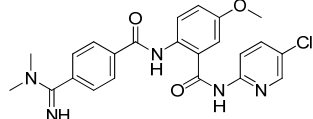


图 7 贝曲沙班的结构

Fig. 7 Structure of Betrixaban

唯一肾排泄最少的药物，主要以原型由胆汁排泄，可用于严重肾功能损害的病人。

小鼠动脉血栓形成模型研究表明，血药浓度大于等于 1 $\mu\text{g/mL}$ 对血栓形成与延伸均有明显抑制作用。

在 EXPLORE-Xa 研究中，对 508 例房颤病人进行中风预防试验，结果表明，贝曲沙班 40、60、80 mg，每日 1 次，治疗 3 个月，以死亡、脑卒中、心肌梗死、其他栓塞为主要治疗目的的发生率与华法林相似。40 mg 贝曲沙班与华法林比较，中、重度出血率分别下降 0.8%、5.5%，60、80 mg 贝曲沙班则与华法林相似，分别为 3.9%、5.5%；轻、中、重全部出血率 40、80 mg 分别为 17.3%、18.9%，低于华法林 (31.5%)。贝曲沙班与华法林比较，腹泻发生率分别为 6%、0.8%，恶心发生率 5.5%、1.6%，便秘发生率 5.2%、2.4%，头痛发生率 5.2%、2.4%，外周水肿发生率 6.8%、7.9%，因不良反应终止治疗发生率为 8.7%~9.4%、6.3%。在 EXPERT 研究中，对 214 例膝关节术后病人预防 DVT、PE 进行研究，其中 175 例效应统计结果显示贝曲沙班 15、40 mg，每日 1 次治疗，术后 10~14 d 血栓发生率分别为 20%、15%，依诺肝素为 10%。中度出血率贝曲沙班 15、40 mg 分别为 0、2.4%，依诺肝素为 4.6%，重度出血率贝曲沙班均为 0，而依诺肝素为 2.3%^[18-19]。

3.1.6 LY517717 由礼来公司研发，主要用于预防髋关节、膝关节置换术后静脉血栓形成。临床前研究表明，LY517717 的 k_i 为 4.6~6.6 nmol/L，口服生物利用度 25%~82%。用大鼠动静脉短路模型研究表明体内有抗血栓形成作用，采用犬实验研究表明无明显出血。健康受试者对 LY517717 耐受性良好，半衰期 25 h，主要通过肠道消除。III 期临床试验中，采用 511 例髋、膝关节置换术患者术后 *po* LY517717 (25、50、75、100、125、150 mg，每日 1 次)，或手术前晚给予依诺肝素 40 mg，每日 1 次，治疗持续 6~10 d，末次给药后 12 h 内，造影评价 DVT、

PE，以及开始给药后 (30 \pm 7) d 内的出血时间，主要效应终点为静脉血栓形成发生率，安全性终点为治疗后 30 d 内的出血率。因为缺乏疗效，LY517717 剂量最低的 3 个组提前终止了研究，100、125、150 mg (每日 1 次) 组与依诺肝素 (40 mg，每日 1 次) 相近，有效率为 17.1%~24.0%，依诺肝素为 22.2%。重度出血率分别下降 0~0.9%、1.1%，轻度出血率分别下降 0~1.0%、2.2%。凝血酶原时间延长作用呈剂量依赖性。

3.1.7 YM150 由 Astellas 研发，用于预防房颤病人心房内的静脉血栓形成与 DVT，抑制 Xa 因子的 k_i 为 31 nmol/L，临床前研究表明，YM150 对动物动、静脉血栓模型均显示显著的抗血栓效果，并不延长出血时间；其代谢产物 YM-222174 也有抗血栓作用；食物不影响其吸收^[20]。

174 例髋关节置换术后患者的 IIIa 临床研究表明，YM150 3、10、30、60 mg，每日 1 次，*po*，对静脉血栓形成有剂量依赖性抑制效果，无重度出血病例，耐受性良好。2006 年 6 月—2007 年 8 月，对 1 141 例髋关节置换术后病人进行了 IIIb 临床研究，结果表明 YM150 *po* 5、10、30、60、120 mg，每日 1 次，可明显降低静脉血栓形成风险 ($P=0.0002$)，静脉血栓发生率分别为 27.4%、31.7%、19.3%、13.3%、14.5%，而 *sc* 依诺肝素 40 mg 的发生率为 18.9%。YM150 安全性好，60 mg 组与依诺肝素组各有 1 例发生重度出血现象^[21]。

3.1.8 依度沙班 (Edoxaban, DU-176b) 分子式 $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{ClN}_7\text{O}_4\text{S}$ ，相对分子质量 548.06，结构见图 8。由 Daiichi Sankyo 公司研发。

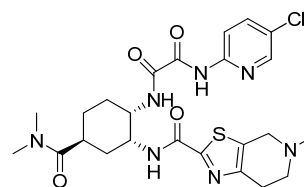


图 8 依度沙班的结构

Fig. 8 Structure of Edoxaban

依度沙班对 Xa 因子的 k_i 为 0.56 nmol/L，对 Xa 因子的选择性是凝血酶的 10 000 倍。口服 1.5 h 对 Xa 因子的抑制达峰值，12 h 恢复正常水平。剂量依赖性延长凝血酶原时间、凝血活酶时间，大鼠、猴生物利用度高，对大鼠动静脉血栓形成有明显抑制作用，出血风险低，治疗窗比肝素、低相对分子质量肝素、华法林宽。与依诺肝素比较，同剂量的

依度沙班对动、静脉血栓抑制效果相似,在大鼠血栓模型中,依度沙班有增强噻氯匹定、组织型纤溶酶原激活剂的效果,提示与其他药物合用可能对临床有益。抗凝血酶的缺乏不影响依度沙班的效果,血浆低抗凝血酶病人应用效果良好。

在日本进行了523例膝关节置换术后病人的静脉血栓形成和栓塞预防研究,结果表明,依度沙班5、15、30、60 mg,每日1次, *po*, 血栓栓塞发病率分别为29.5%、26.1%、12.5%、9.1%,安慰剂组为48.3%,并且与安慰剂组比较中、重度出血未增加。

膝关节置换术后患者的静脉血栓形成预防III期、房颤、髋关节置换术后预防血栓形成的研究也已经完成^[22]。

3.1.9 Letaxaban (TAK-442, 5k) 由Takeda Global Research & Development Center Inc 研发,为tetrahydropyrimidin-2(1*H*)-one 衍生物,结构见图9。Letaxaban 抑制Xa因子的 k_i 为1.8 nmol/L,是凝血酶的440倍。在人体,Letaxaban 0.19、0.55、0.59 μ mol/L 可分别使血液凝固时间、凝血酶原时间、凝血活酶时间延长1倍。兔静脉血栓形成模型,Letaxaban 50、100 mg/kg 静脉推注加输注1 h 可使血栓减小50%、81%,同时Xa因子活性抑制23%~26%、34%~38%,而凝血酶原时间、凝血活酶时间轻度延长,500 mg/kg 对出血时间(BT)无影响,而同剂量的美拉加群与空白对照组比较BT延长3.6倍^[23]。

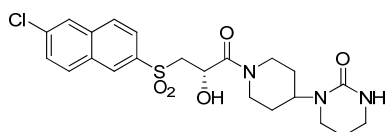


图9 Letaxaban 的结构

Fig. 9 Structure of Letaxaban

$FeCl_3$ 诱导的大鼠颈动脉血栓形成模型,Letaxaban 3 mg/kg (ig),阿司匹林 100 mg/kg (ig),氯吡格雷 3 mg/kg (ig) 单独应用对血栓形成均无明显影响。Letaxaban 与阿司匹林或氯吡格雷联用,可明显延长颈动脉血栓形成时间,同时出血时间未明显延长。血栓弹力图研究显示,阿司匹林可使胶原诱导的大鼠血液凝固过程轻度延长,当再加入100 nmol/L Letaxaban 时,凝固起始过程明显延长。同样Letaxaban 也可使二磷酸腺苷诱导氯吡格雷处理的大鼠血液凝固起始过程明显延长。这便提示Letaxaban 与抗血小板聚集药物有协同作用^[24]。

2007年10月至2008年10月进行了1045例膝关节置换术后患者的预防静脉血栓形成III期临床研究,2008年3月开始了2753例急性冠脉综合征患者参加的血栓形成二级预防研究,2010年6月结束。

3.1.10 Eribaxaban (PD0348292) 由Pfizer 研发,结构式见图10。抑制Xa的 k_i 为0.32 nmol/L。兔动静脉旁路血栓形成模型显示Eribaxaban有良好的抗血栓形成作用^[25]。McBane 等^[26]采用猪静脉支架血栓形成模型,造模前4 h ig 0.4、0.9、4.3 mg/kg Eribaxaban,造模后2 h 采用同位素铟(¹¹¹In)血小板标记与称质量法观察血栓形成。结果表明,Eribaxaban 0.4、0.9、4.3 mg,血栓质量与放射性计数分别为(49±79) mg, (110±145)×10⁶/cm², (5±6) mg, (107±128)×10⁶/cm², 0 mg, (87±125)×10⁶/cm²,而空白对照为(402±226) mg, (584±454)×10⁶/cm²。临床资料显示,膝关节置换术后病人使用Eribaxaban 血栓形成发生率明显降低,0.1 mg 为37.1%,0.5 mg 为28.8%,1.0 mg 为19.2%,2.5 mg 为14.3%,4.0 mg 为1.4%,10.0 mg 为11.1%;依诺肝素30 mg, sc, 每日2次为18.1%^[27]。

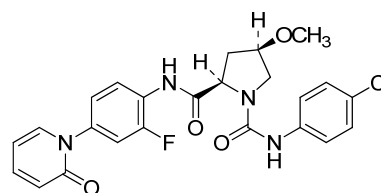


图10 Eribaxaban 的结构

Fig. 10 Structure of Eribaxaban

3.1.11 奥米沙班 (Otamixaban, XRP0673) 由Sanofi-Aventis 研发,抑制Xa因子的 $k_i=0.5$ nmol/L,结构式见图11。2006年6月至2009年9月,在36个国家进行了3241例非ST段急性冠脉综合征病人参加的III期临床研究,结果表明,奥米沙班0.08 mg/kg 静脉推注加0.07、0.105、0.140、0.175 mg/(kg·h),复合终点(死亡、心肌梗死、血运重建)发生率分别为4.6%、3.8%、3.6%、4.3%,而普通肝素的发生率为6.2%^[28]。

2004年9月至2005年7月,在10个国家进行了947例经皮冠脉血栓形成术病人的临床研究,术前给予奥米沙班,剂量分别为0.025 mg/kg+0.035 mg/(kg·h),0.045 mg/kg+0.065 mg/(kg·h),0.08 mg/kg+0.12 mg/(kg·h),0.12 mg/kg+0.16 mg/(kg·h),0.14 mg/kg+0.2 mg/(kg·h),共3 h,肝素给予50~

70 U/kg。结果表明,凝血酶原碎片 F1+2 高剂量组明显降低,较基础值降低 0.3 ng/mL,肝素较基础值降低 0.2 ng/mL。5 个组抗 Xa 因子活性增加,分别为 65、155、393、571、691 ng/mL,出血率分别为 2%、1.9%、3.8%、3.9%、2.6%,肝素为 3.8%,缺血事件发生率为 5.8%、7.1%、3.8%、2.5%、5.1%,肝素为 5.6%^[29]。

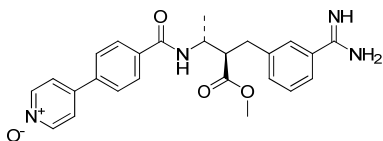


图 11 奥米沙班结构

Fig. 11 Structure of Otamixaban

3.1.12 其他 Razaxaban 也是 Xa 因子抑制剂,兔动脉血栓模型显示,抗血栓 ED₅₀ 为(0.22±0.05) mg/(kg·h) (n=6), 3 mg/kg 可发挥最大作用,凝血活酶时间、凝血酶原时间分别分别延长(2.2±0.1)、(2.3±0.1) 倍, Xa 因子活性抑制率(91±5)%,而凝血酶活性不受影响。10 μmol/L 不影响 ADP、胶原(CG)、凝血酶(Th)诱导的血小板聚集^[30]。由日本 Astellas Pharma 研发的 YM 96765, Portola Pharmaceuticals (美国)研发的 PRT064445, Endotis Pharma 研发的 EP37, Daiichi Sankyo Company (日本)研发的 DT 831j, 均处于临床前研发阶段。由日本 Kissei Pharmaceutical 研发的 KFA1982, 处于 I 期临床。DX-9065a 是一低相对分子质量的 Xa 抑制剂,有 2 个咪基,因与胆酸结合成不溶物而生物利用度低,为 2%~3%,未进入临床研究^[31-32]。813893 由 GlaxoSmithKline 研发,抑制 Xa 的 k_i 为 4~9.7 nmol/L,大鼠生物利用度 91%,犬生物利用度超过 55%,与 P450 无相互作用。采用大鼠下腔静脉血栓模型、颈动脉血栓模型、兔颈静脉血栓模型,均有良好效果,大鼠切尾出血模型未见明显出血。2007 年 2 月进行了约 1 200 例膝关节置换术后病人的血栓形成预防研究,目前已经终止,原因不明^[33]。

3.2 IIa 因子及抑制剂

IIa 因子是丝氨酸蛋白酶,是凝血级联反应中的关键酶,可以将可溶性的纤维蛋白原转变为不溶的纤维蛋白,还可激活凝血因子 V、VIII、XI 和 XII,是抗凝血药开发的重要靶点。随着对 IIa 因子三维结构的了解,陆续开发了一些与凝血酶特异性结合的直接抑制剂。与 Xa 因子不同,IIa 因子具有多效

作用。目前开发的主要为 IIa 因子直接抑制剂。

3.2.1 水蛭素类 包括水蛭素(hirudin)、重组水蛭素及其改构重组体。水蛭素在消化道不吸收,可通过静脉或皮下给药,与凝血酶不可逆地紧密结合,静脉给药半衰期为 60 min,皮下注射半衰期为 120 min。首剂量 0.4 mg/kg,维持量为 0.15 mg/(kg·h)。水蛭素目前被批准应用于血小板减少症的预防和治疗动静脉血栓、替代心肺旁路手术患者所应用的肝素,也可用于急性冠状动脉综合征和关节置换术后有高度血栓危险者。经肾脏排泄,肾功能低下者要慎用。

来匹卢定(Lepirudin)能与凝血酶以 1:1 比例形成高亲和力、不可逆复合物,从而使凝血酶失去凝血活性。来匹卢定通过静脉注射给药,血浆半衰期为 0.5~1 h,通过肾脏清除,因此肾功能损伤的患者需要调整用药剂量。来匹卢定用药安全剂量范围窄,必须进行实验室监测。

比伐卢定(Bivalirudin)由 Medicines 公司研发,2000 年 12 月 15 日 FDA 批准在美国上市,用于经皮冠状动脉成形术患者。比伐卢定为注射剂,抗凝成分是水蛭素衍生物(片断),系一合成二十肽,相对分子质量 2 180。比伐卢定与凝血酶的结合是可逆的,静脉用药 15~20 min 后出现浓度高峰,半衰期为 25 min。可被内生肽与肝脏降解,故肾功能低下者应用较安全。

水蛭素改构重组体,又称水蛭素融合蛋白,为小分子蛋白,在体内代谢快,半衰期短。对水蛭素的改构重组主要侧重 3 个方面:1) 延长半衰期,2) 具有抗凝、溶栓双功能,3) 增加血栓靶向性。水蛭素变体亚型 3 (HV3) 的 C 末端与白蛋白相连,构建成 HLA,注入兔体内后其代谢半衰期延长,可达到(4.60±0.16) d^[34]。将葡激酶和水蛭素构建成 SFH, SFH 不但具有溶栓作用,同时其抗凝活性可以在血栓局部进行靶向性释放,抗凝活性可仅局限于血栓局部,因此 SFH 在体内可发挥更高溶栓效率和降低出血不良反应。构建组织型纤溶酶原激活剂和水蛭素变体的融合蛋白基因,并将其导入了毕赤酵母,也可获得有活性的表达产物 TFXH^[35-36]。将水蛭素 C 端结构域与人胎盘抗凝蛋白(钙磷脂结合蛋白 V, annexin V) 连接在一起,可构建人胎盘抗凝蛋白变体,体外实验已经证明其既保留了人胎盘抗凝蛋白对活化血小板的亲和能力,又增添了水蛭素对凝血酶的抑制活性^[37]。

3.2.2 阿加曲班 (Argatroban) 是合成的左型精氨酸 (*L*-arginine) 衍生物, 是可逆的凝血酶直接抑制剂, 可以同时抑制游离的以及与凝血块结合的凝血酶, 还可以抑制凝血酶诱导的血小板凝聚反应。通过静脉注射, 血浆半衰期为 30~45 min, 需根据凝血活酶时间测定值(维持在正常值的 1.5~2.5 倍)进行用药剂量调整。阿加曲班通过肝脏清除, 严重肝功能受损患者禁用此药。阿加曲班适用于严重肾功能不全和出现肝素诱导的血小板减少症患者。

3.2.3 希美拉加群和美拉加群 希美拉加群 (Ximelagatran) 是第一个进入临床应用的口服直接凝血酶抑制剂, 该药由于无需凝血功能监测以及剂量调整, 因此比现存的口服抗凝药物 (如维生素 K 拮抗剂) 具有明显的优势。在预防和治疗 VTE 的临床试验中, 希美拉加群的疗效优于或等同于华法林。但在安全性评估时有 6% 的患者存在肝毒性, 因此该药于 2006 年被停止使用。

美拉加群 (Melagatran) 是一种类似纤维蛋白肽 A 的二肽, 能与凝血酶活化位点结合而发挥抗凝作用, 结构式见图 12。其口服生物利用率低, 必须经皮下注射。希美拉加群能在体内快速转化为美拉加群, 经口服后, 仅有 20% 的生物利用度, 半衰期为 4~5 h, 约 80% 的美拉加群经由肾脏消除。希美拉加群的抗凝效果可以预测, 而且很少存在与其他食物或药物的交叉反应, 所以无需进行抗凝监测^[38-39]。

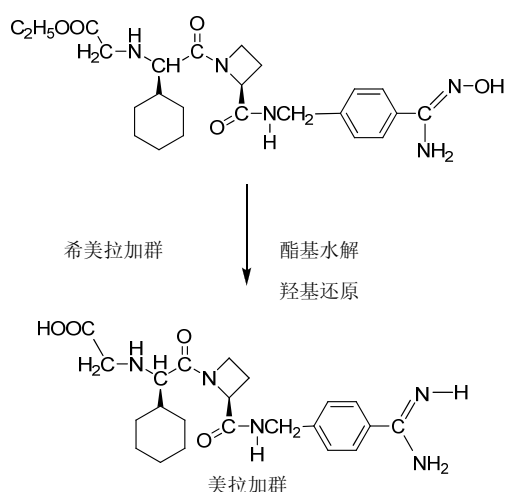


图 12 希美拉加群与美拉加群的结构

Fig.12 Structure of Ximelagatran and Melagatran

3.2.4 达比加群酯 (Dabigatran etexilate) 系达比加群 (Dabigatran) 的前体药物, 结构式见图 13, 是

一种口服直接凝血酶抑制剂。达比加群血浆半衰期为 14~17 h, 主要经由肾脏消除。它是第二个口服直接凝血酶抑制剂, 于 2008 年 3 月在欧盟批准上市, 用于择期全髋关节或膝关节置换术的成年患者 VTE 的一级预防。在 RE-NOVATE 和 RE-MODEL

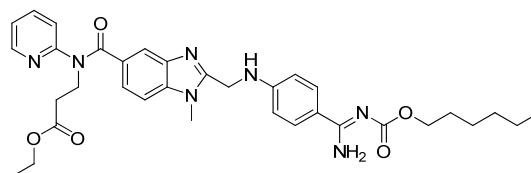


图 13 达比加群酯的结构

Fig.13 Structure of Dabigatran etexilate

临床试验中, *po* 150、220 mg 的达比加群酯均被证明与使用依诺肝素 (40 mg) 在 VTE 预防和死亡率发生率方面具有同等的疗效和安全性^[40]。该类药物的另一个制剂 TGN167, 目前正处于临床研究阶段。

3.2.5 其他 AZD0837 (ARC-2172) 是希美加群的衍生物, 由 Archemix Corp and Nuvelo Inc. 研发, 直接凝血酶抑制剂, 作用迅速、短暂, 目前处于临床前阶段。JNJ 6368661, 由 Johnson & Johnson Pharmaceutical Research & Development LLC (美国) 研发, 目前处于临床前阶段。另外, 由水蛭素的化学衍生物 pegmusirudin 合成的活性小分子 flovagatran, 口服间接凝血酶抑制剂 Odiparcil 均处在临床前研究中。

3.3 IIa 因子受体阻断剂

IIa 因子可以通过细胞表面的凝血酶受体激活多种类型细胞, 如血小板、内皮细胞、平滑肌细胞等。凝血酶通过蛋白酶活化受体-1 (PAR-1) 介导的血小板激活在血栓形成中的地位较为重要, IIa 因子受体抑制剂通过 PAR-1 受体抑制 PLT 活化, 是其抗凝作用的主要机制。凝血酶受体拮抗剂 SCH 602539、SCH 530348 目前处于临床前阶段^[41-42]。

3.4 TF/VIIa 复合物及抑制剂

TF 是细胞因子超家族的一个成员, 存在于脉管系统外的某些细胞表面上。当血管损伤后, TF 可以和血液中的 VII 和 VIIa 因子高特异性、高亲和性结合, 并进一步激活凝血酶。VIIa 因子是一种弱丝氨酸蛋白酶, 但在和 TF 结合后其酶活性可以增强 100 万倍。一旦 TF/VIIa 复合物形成, 可以通过内源、外源 2 种途径触发凝血级联反应。因此, TF/VIIa 复合物成为抗凝药物研发的靶标。

3.4.1 替法可近 (TFPI) 是内皮细胞上发现的生理性 TF 通路抑制剂, 可以预防血栓形成。目前已经开发了基因重组的 TFPI (rTFPI), 在动物模型上显示出预防急性血管内血栓形成的能力。在肝素或阿司匹林存在下, 其活性更强; 与凝血酶直接抑制剂不同, rTFPI 并不引起出血时间的延长^[43-44]。

3.4.2 重组线虫抗凝肽 c2 (rNAPc2) 为特异性 TF/VIIa 复合物抑制剂, 其原型是从钩口线虫中提取的 85 个氨基酸残基组成的多肽。该药物先与 X 或 Xa 结合形成二元复合物, 再与 TF / VIIa 复合物结合, 由于这一过程, 使得其半衰期较长, 超过 50 h^[45-46]。

3.4.3 Hemextin AB 是从非洲眼镜蛇蛇毒中提取的 VIIa 天然抑制物, 由 hemextin A、B 组成。hemextin A 单独应用具中等抗凝活性, hemextin B 单独应用不具有抗凝活性, 但 hemextin B 能增强 Hemextin A 的抗凝作用, 二者能引起 TF / VIIa 复合物的重构, 抑制 Xa 因子的形成。目前仍处于临床前研究^[47]。

3.5 IXa 因子及抑制剂^[10]

“基于细胞的血液凝固模型”已证实 TF 介导的 IIa 因子形成过程中, IXa 因子可能处于中枢地位, 因此理论上讲, IXa 因子抑制剂也应具有一定的抗凝活性, 可以作为靶点之一。

IXai 因子为 IX 因子活性位点竞争性拮抗剂, 犬冠脉血栓模型研究表明, IXai 因子静脉应用可剂量依赖性抑制血栓形成; 兔血管形成术模型、犬心肺转流术模型、大鼠中风模型亦证实 IXai 因子具有良好的抗凝作用, 同时可减少 PLT 与纤维蛋白的沉积。

SB249417 是由 Glaxo-Smith-Kline 研发的单克隆抗体, 可与 IX 因子的 Gla 区域结合抑制其活性。大鼠动脉血栓模型显示 SB249417 可抑制血栓形成, 凝血活酶时间轻度延长; 大鼠中风模型研究表明, SB249417 可减小脑梗死体积、改善神经症状; SB249417 作用迅速, 半衰期为 3.8 d。目前已完成 I 期临床。

RNA aptamers 为寡核苷酸, 与 IXa 的 EGF 区域结合而抑制其活性。体外研究证实 RNA aptamers 与 IXa、IX 有很高的特异性亲和力, 而与 VIII、X、XI、蛋白 C 亲和力低。胆固醇化的 RNA aptamers 对猪抗凝作用温和, 可延长凝血活酶时间; 也可抑制大鼠动脉血栓形成。I 期临床研究表明, RB006 给药后 15 min 可使凝血活酶时间延长 1.1 倍, 而 30、60、90 mg 则分别延长 1.3、2.1、2.9 倍。RB006 的作用

可被其解毒药 RB007 迅速逆转。

由 TransTech Pharma 研发的 TTP889, 是口服直接 IXa 因子抑制剂。大鼠动静脉旁路模型研究表明, TTP889 可明显抑制血栓形成, 使血栓由 (104±43) mg 减小为 (39±18) mg ($P<0.001$)。猪动静脉旁路模型研究表明, TTP889 0.3 mg/kg 作用与 150 U/kg 的肝素相当。261 例全髋关节置换术后病人给予 TTP889 300 mg, 每日 1 次, 连续 3 周, 或安慰剂对照, 在有效的 212 例病人统计中, TTP889 静脉血栓发生率为 32.1%, 安慰剂为 28.2%, 二者无明显差异 ($P=0.58$), 提示其抗血栓作用不明显。其他骨科手术后 VTE 预防的临床试验正在研究中^[38,48-49]。

3.6 V、VIII 因子及抑制剂

V、VIII 因子为血液凝固级联过程中的放大因子, 也是天然抗凝药物活化蛋白 C 的靶点, 因此, 抑制这些因子可能会阻止凝血的发生, 从而抑制血栓的形成。

PTX003 为 β 肽酶, 由美国 University of Minnesota 发明, PepTx 获得专利。PTX003 通过调节 PF4 与血栓调节蛋白相互作用, 刺激凝血酶介导的蛋白 C 产生与活化而产生抗凝作用。目前正处于临床前研发阶段。

4 抗凝药物研发应注意的问题

理想的抗凝药物应具有以下特点^[40,50-51]: 1) 使用方便: 能口服, 每日 1 次, 病人依从性好, 避免静脉用药的疼痛、出血、不方便性; 2) 起效迅速、高效: 用药后作用快, 与非特异性血浆蛋白结合低, 可抑制游离的、血栓块结合的凝血因子, 不但能预防血液凝固、血栓形成, 也能阻止已形成血栓的继续增长, 最好二者兼具; 3) 用药方案简便, 费用低廉: 具有可预测的量效反应与代谢动力学, 与其他药物与食物相互作用少, 治疗窗宽, 无需调整剂量或剂量调整简单, 无需进行常规的凝血功能监测与血小板计数, 不仅应用方便, 亦能减少潜在的花费; 4) 不良反应小: 出血发生率低, 肝毒性、肾毒性小; 5) 抗凝作用能快速逆转 (可逆性): 病人在紧急状态下需要降低机体的抗凝状态时, 抗凝药物的抗凝作用能快速逆转, 如病人需要紧急手术等; 6) 有解毒药。

理想的抗凝药物, 能提高治疗质量, 但是目前尚无同时完全符合上述所有理想条件的抗凝药物。因此, 抗凝药物研发要尽量侧重于尽可能多的几个

方面,以满足临床与社会的需要。研发过程中,可以着重考虑以下几个方面。

4.1 靶点选择

目前最有优势的靶点为Xa因子与IIa因子,这两个靶点比较哪一个更占据优势,一直是研究者关心的问题。Xa因子是共同通路第一个蛋白酶,动物实验研究表明,Xa因子抑制剂较IIa因子抑制剂出血不良反应小,同时Xa因子在凝血级联反应外的作用比IIa因子小得多,但是Xa因子抑制仅防止IIa因子新的生成,对于已经形成的IIa因子无作用;凝血酶直接抑制剂也有优点,作用比较迅速,对已生成的IIa因子也有效,尤其对于高风险血栓形成患者(如房颤患者),一般认为其体内IIa因子水平较高,应用凝血酶直接抑制剂可以使该类病人及时得以治疗^[13]。

可见,哪一个靶点更占优势很难确定。目前认为两个靶点各具优势,而且同一个靶点的不同抑制剂也各具有不同特点,如利伐沙班经肾清除较多,肾功能不良患者慎用,而Betrixaban经肾清除较少,可以用于肾功能不良患者。因此,针对不同因子靶点的不同特色抑制药物,均具有良好的发展前景。传统药物肝素与华法林虽然不良反应大,但均有解毒药,新靶点的抑制剂虽然不良反应大大降低,但解毒药较难解决,这也是需要关注的问题。另外,维生素K途径因涉及的凝血因子较多,量效反应与代谢动力学难以预测,不宜再作为研发方向。

4.2 权衡抗凝获益与风险

抗凝药物研发与其他一般药物研发相比,有其特殊性,一般药物研发首先考虑的是效应问题,而抗凝药物研发,效应问题与其出血不良反应(主要是严重出血)评估占据同等地位。导致出血的主要原因是凝血因子抑制,其次是具有诱发因素如手术、创伤(外伤)、局部损伤(溃疡),血管动脉硬化与粥样斑块形成。

正常机体生理条件下,血栓形成、抗血栓形成与止血、出血处于动态平衡,而在病理条件下,平衡被打破可导致血栓形成,因此需要应用外源性药物进行抗凝干预。一般来讲,外源性药物抗凝作用越强,导致的出血风险也越大,因此应兼顾二者的平衡。血栓栓塞与出血事件相比,获益效应更大(脑出血例外),因为轻中度出血对病人的伤害原则上要小于血栓栓塞。出血除了与凝血因子功能抑制外,尚有其他因素参与,包括小血管收缩、血小板黏附

聚集等功能。生理止血过程包括局部缩血管反应,以及血管内膜损伤、内膜下组织暴露,激活血小板和血浆中的凝血系统,生理止血主要由血小板和某些血浆成分共同参与的外源性凝血途径为主完成的。因此,权衡获益与风险,抗凝药物研发兼顾的因素主要为:1)抗Xa因子与IIa因子强度比值,该比值是关系出血不良反应的重要因素,抗Xa因子越强,抗IIa因子越弱,出血不良反应越小。目前研究的Xa因子直接抑制剂其 k_i 多在纳摩尔级以下,甚至达皮摩尔级;2)生理性IIa活性不受影响,生理性IIa活性正常,则正常生理止血功能不受影响,出血不良反应就弱;3)对血小板功能影响小,不激活血小板,不引起血小板减少,出血反应发生率低。

4.3 考虑口服吸收与生物利用度

对于长期或终生应用抗凝药物的病人,口服用药是必须的,最好每日1次。不仅要考虑药物的溶解度、渗透性,还要考虑胃肠道酶降解等药物不稳定因素,防止药物胃肠道内不稳定的方法是制成药物前体或衍生物,提高药物稳定性。如达比加群口服无效,加入疏水侧链后经体内酶裂解,生成其前体达比加群酯,后者吸收增加、口服效果良好。Xa因子抑制剂早期的化合物,带有阳性电荷,不能吸收,虽静脉应用有效,但口服无效,将其阳性电荷位点用氯噻吩基团取代后,口服有效,最著名的例子就是立伐沙班。另外,肝脏的首过效应也值得关注,首过效应越大,药物被代谢越多,血药浓度越小,药物效应低。

4.4 药物体内分布、结合与效应、不良反应有关

与非特异性血浆蛋白结合率的高低,对药物的游离型浓度有重要影响,游离型药物是有效性药物,因此,与非特异性血浆蛋白结合率低,则有效性药物浓度高;同时,与蛋白结合药物不能经透析清除;药物与食物或其他药物之间相互作用少,药物的代谢动力学特征易于预测,可使药物给药方案简便。抗凝药物是通过凝血因子起作用,而除凝血因子III外,均存在于血液中,因此药物分布尽量只在血管中,血液外越少则毒性越小。

4.5 效应评价要统筹兼顾

效应评价是新药研发关键阶段,可以说是决定新化合物实体能否成为药品的决定环节之一。抗凝药物研发,对其效应评价既要考虑效益与作用特点,也要考虑风险与不良反应,尤其在动物模型研究上,

更应做到统筹兼顾。一般而言,要考虑以下 6 点。

4.5.1 凝血因子功能评价 凝血活酶时间是在体外满足内源性凝血条件后血浆凝固所需的时间,以白陶土激活 XII 因子,以脑磷脂代替血小板提供凝血的催化表面,再加入 Ca^{2+} ,作为反应条件,主要检查内源性途径凝血因子 XII、XI、IX、VIII。凝血酶原时间是在体外满足外源性凝血条件后血浆凝固所需的时间,在血浆中加入 TF (如兔脑组织浸出液)与 Ca^{2+} 启动 VIII 因子,从而启动外源性凝血途径,主要检测 V、VIII、X、II 等因子。凝血因子功能评价可作为效应评价,也可作为筛选指标。

4.5.2 凝血酶功能评价 循环血液中的凝血酶是以无活性的凝血酶原形式存在,正常人体内仅存在极微量有活性的凝血酶。凝血酶是血栓与止血的关键环节,能通过裂解纤维蛋白原形成纤维蛋白单体,活化血小板,在凝血过程中起重要作用。局部凝血酶功能的维持对止血非常关键,因此,凝血酶功能检测亦应作为评价指标。

4.5.3 因子选择性抑制评价 抑制常数 k_i , 以及 IC_{50} 均是常用的指标。

4.5.4 PLT 功能评价 主要包括 PLT 计数与聚集功能。普通肝素可导致血小板减少症,II 型血小板减少症发生后可进一步产生出血、栓塞、死亡,其比例可分别达 53%、44%、33%。根据英国血液病学学会原则,肝素应用 4~14 d 内,PLT 下降超过 50% 以上,或低于实验室正常值和 (或) 病人新发血栓或皮肤过敏,即认定血小板减少症^[52-53]。血小板减少症机制为 PF4 与肝素形成大分子复合物 (H-PF4),产生 IgG,三者结合成 IgG-H-PF4 复合物,与 PLT 膜受体结合,进而激活血小板。低相对分子质量肝素血小板减少症发生率降低,约为 0.1%,而磺达肝癸钠不产生血小板减少症。正在研发的 Xa 直接抑制剂尚未见诱导 PLT 减少症,但 PLT 功能亦应作为评价项目。

4.5.5 静脉血栓形成抑制效应 有多种静脉血栓形成动物模型可以利用,包括结扎法、阻断法、异物法、损伤法、电刺激以及光化学法等等,其中大鼠下腔静脉结扎法是较简便、较快速的评价方法。

4.5.6 出血不良反应评价 要权衡获益与风险,效应评价的同时必须进行出血不良反应评价,在药物发挥效应时,其出血不良反应大小与现有药物的对比,可为临床风险,主要是重度出血提供一定的试验推论。

5 结语

静脉血栓形成及栓塞,尤其 PE、DVT 是严重危害人类健康的疾病。新的凝血与血栓形成机制中,血小板、凝血酶,以及 IXa 因子的作用地位得到重视与认可,使得人们对静脉血栓发病机制的了解更加深入。同时随着临床诊断技术与传统用药应用及认识的进一步提高,以特异性、专一性靶点抑制为基础的抗凝药物研发,尤其以 Xa 因子抑制剂伐伐沙班、IIa 因子抑制剂重组水蛭素及变体、阿加曲班为代表的新型抗凝药物研发层出不穷,并在临床试验、治疗中取得了较大成果。尽管如此,这些成果尚未完全达到理想抗凝药物的要求,目前临床研发阶段的药物虽多,但由于其获益与风险的矛盾与压力,批准上市的依然稀少,还不能满足临床医疗与病人的需求,因此新型抗凝药物研发依然是任重道远。在新型抗凝药物研发中,药物的作用靶点选择、作用筛选、效应评价与不良反应的评估等问题尤其值得重视,这些问题的解决可为更加理想的抗凝药物研发提供参考。

参考文献

- [1] Kroegel C, Reissig A. Principle mechanisms underlying venous thromboembolism: epidemiology, risk factors, pathophysiology and pathogenesis [J]. *Respiration*, 2003, 70(1): 7-30.
- [2] Spencer F A, Emery C, Lessard D, *et al.* The worcester venous thromboembolism study: a population-based study of the clinical epidemiology of venous thromboembolism [J]. *J Gen Intern Med*, 2006, 21(7): 722-727.
- [3] Geerts W H, Pineo G F, Heit J A, *et al.* Prevention of venous thromboembolism: the seventh ACCP conference on antithrombotic and thrombolytic therapy [J]. *Chest*, 2004, 126(Suppl 3): 338S-400S.
- [4] 中华医学会呼吸病学分会. 肺血栓栓塞症的诊断与治疗指南 (草案) [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2001, 24(5): 5-10.
- [5] 邱贵兴, 戴尅戎, 杨庆铭, 等. 中国骨科大手术深静脉血栓形成预防专家建议 [J]. *中国医刊*, 2006, 41(1): 31-35.
- [6] Kakkar A K. *Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice* [M]. 5th ed. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2006: 1361-1367.
- [7] Merli G J. Pathophysiology of venous thrombosis, thrombophilia, and the diagnosis of deep vein thrombosis-pulmonary embolism in the elderly [J]. *Clin Geriatr Med*, 2006, 22(1): 75-92.

- [8] Ota S, Yamada N, Tsuji A, *et al.* Incidence and clinical predictors of deep vein thrombosis in patients hospitalized with heart failure in Japan [J]. *Circ J*, 2009, 73(8): 1513-1517.
- [9] Engbers M J, van Hylckama Vlieg A, Rosendaal F R. Venous thrombosis in the elderly: incidence, risk factors, and risk groups [J]. *J Thromb Haemost*, 2010, 8(10): 2105-2112.
- [10] Howard E L, Becker K C, Rusconi C P, *et al.* Factor IXa inhibitors as novel anticoagulants [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, 27(4): 722-727.
- [11] Monroe D M, Hoffman M. What does it take to make the perfect clot? [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26(1): 41-48.
- [12] Renné T, Pozgajová M, Grüner S, *et al.* Defective thrombus formation in mice lacking coagulation factor X III [J]. *J Exp Med*, 2005, 202(2): 271-281.
- [13] Drahl C. Anticoagulants in the pipeline may overcome the drawbacks of well-entrenched drugs [J]. *Chem Eng News*, 2010, 88(33): 15-22.
- [14] Buller H R, Cohen A T, Davidson B, *et al.* Idraparinux versus standard therapy for venous thromboembolic disease [J]. *N Engl J Med*, 2007, 357(11): 1094-1104.
- [15] Kubitzka D, Becka M, Wensing G, *et al.* Safety, pharmacodynamics, and pharmacokinetics of BAY 59-7939 — an oral, direct Factor Xa inhibitor-after multiple dosing in healthy male subjects [J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2005, 61(12): 873-880.
- [16] Turpie A G, Fisher W D, Bauer K A, *et al.* BAY 59-7939: an oral, direct factor Xa inhibitor for the prevention of venous thromboembolism in patients after total knee replacement. A phase III dose-ranging study [J]. *J Thromb Haemost*, 2005, 3(11): 2479-2486.
- [17] Pinto D J, Orwat M J, Koch S, *et al.* Discovery of 1-(4-methoxyphenyl)-7-oxo-6-(4-(2-oxopiperidin-1-yl)phenyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-pyrazolo[3,4-c]pyridine-3-carboxamide (apixaban, BMS-562247), a highly potent, selective, efficacious, and orally bioavailable inhibitor of blood coagulation factor Xa [J]. *J Med Chem*, 2007, 50(22): 5339-5356.
- [18] Zhang P, Huang W, Wang L, *et al.* Discovery of betrixaban (PRT054021), *N*-(5-chloropyridin-2-yl)-2-(4-(*N,N*-dimethylcarbamimidoyl)benzamido)-5-methoxybenzamide, a highly potent, selective, and orally efficacious factor Xa inhibitor [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2009, 19(8): 2179-2185.
- [19] Turpie A G, Bauer K A, Davidson B L, *et al.* A randomized evaluation of betrixaban, an oral factor Xa inhibitor, for prevention of thromboembolic events after total knee replacement (EXPERT) [J]. *Thromb Haemost*, 2009, 101(1): 68-76.
- [20] Eriksson B I, Turpie A G, Lassen M R, *et al.* A dose escalation study of YM150, an oral direct factor Xa inhibitor, in the prevention of venous thromboembolism in elective primary hip replacement surgery [J]. *J Thromb Haemost*, 2007, 5(8): 1660-1665.
- [21] Eriksson B I, Turpie A G, Lassen M R, *et al.* Prevention of venous thromboembolism with an oral factor Xa inhibitor, YM150, after total hip arthroplasty. A dose finding study (ONY X-2) [J]. *J Thromb Haemost*, 2010, 8(4): 714-721.
- [22] Fuji T, Fujita S, Tachibana S, *et al.* A dose-ranging study evaluating the oral factor Xa inhibitor edoxaban for the prevention of venous thromboembolism in patients undergoing total knee arthroplasty [J]. *J Thromb Haemost*, 2010, 8(11): 2458-2468.
- [23] Kawamura M, Konishi N, Hiroe K, *et al.* Antithrombotic and anticoagulant profiles of TAK-442, a novel factor Xa inhibitor, in a rabbit model of venous thrombosis [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2010, 56(2): 156-161.
- [24] Konishi N, Hiroe K, Kawamura M. Synergistic effect of a factor Xa inhibitor, TAK-442, and antiplatelet agents on whole blood coagulation and arterial thrombosis in rats [J]. *Thromb Res*, 2010, 126(2): 124-129.
- [25] Kohrt J T, Bigge C F, Bryant J W, *et al.* The discovery of (2*R*, 4*R*)-*N*-(4-chlorophenyl)-*N*-(2-fluoro-4-(2-oxo pyridin-1(2*H*)-yl)phenyl)-4-methoxy-pyrrolidine-1, 2-dicarboxamide (PD 0348292), an orally efficacious factor Xa inhibitor [J]. *Chem Biol Drug Des*, 2007, 70(2): 100-112.
- [26] McBane R D 2nd, Leadley RJ Jr, Baxi S M, *et al.* Iliac venous stenting: antithrombotic efficacy of PD0348292, an oral direct Factor Xa inhibitor, compared with antiplatelet agents in pigs [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, 28(3): 413-418.
- [27] Perzborn E. Factor Xa inhibitors- new anticoagulants for secondary haemostasis [J]. *Hamostaseologie*, 2009, 29(3): 260-267.
- [28] Sabatine M S, Antman E M, Widimsky P, *et al.* Otamixaban for the treatment of patients with non-ST-elevation acute coronary syndromes (SEPIA-ACS1 TIMI 42): a randomised, double-blind, active-controlled, phase 2 trial [J]. *Lancet*, 2009, 374(9692): 787-795.
- [29] Cohen M, Bhatt D L, Alexander J H, *et al.* Randomized, double-blind, dose-ranging study of otamixaban, a novel, parenteral, short-acting direct factor Xa inhibitor, in percutaneous coronary intervention: the SEPIA-PCI trial

- [J]. *Circulation*, 2007, 115(20): 2642-2651.
- [30] Wong P C, Crain E J, Watson C A, *et al.* Razaxaban, a direct factor Xa inhibitor, in combination with aspirin and/or clopidogrel improves low-dose antithrombotic activity without enhancing bleeding liability in rabbits [J]. *J Thromb Thrombolysis*, 2007, 24(1): 43-51.
- [31] Fujii Y, Takahashi M, Morita H, *et al.* Characteristics of gastrointestinal absorption of DX-9065a, a new synthetic anticoagulant [J]. *Drug Metab Pharmacokinet*, 2007, 22(1): 26-32.
- [32] Nagata T, Yoshino T, Haginoya N, *et al.* Discovery of N-[(1R, 2S, 5S)-2-[[[(5-chloroindol-2-yl)carbonyl] amino]-5-(dimethylcarbamoyl)cyclohexyl]-5-methyl-4, 5, 6, 7-tetrahydrothiazolo[5, 4-c]pyridine-2-carboxamide hydrochloride: a novel, potent and orally active direct inhibitor of factor Xa [J]. *Bioorg Med Chem*, 2009, 17(3): 1193-1206.
- [33] Abboud M A, Needle S J, Burns-Kurtis C L, *et al.* Antithrombotic potential of GW813893: a novel, orally active, active-site directed factor Xa inhibitor [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2008, 52(1): 66-71.
- [34] 张传领, 于爱平, 靳继德, 等. 水蛭素融合蛋白研究进展 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2007, 15(1): 215-218.
- [35] 于爱平, 石炳兴, 董春娜, 等. 人组织型纤溶原激活剂-水蛭素融合基因的构建及其在毕赤酵母中的表达 [J]. *生物工程学报*, 2005, 21(4): 553-557.
- [36] 于爱平, 张传领, 董春娜, 等. 重组葡激酶和水蛭素融合蛋白的血栓靶向性机制 [J]. *生物工程学报*, 2008, 24(11): 1955-1961.
- [37] [37] 鞠成伟, 王连生, 杨翔, 等. 人胎盘抗凝蛋白变体的抗凝与抗栓作用 [J]. *中华血液学杂志*, 2004, 25(9): 540-543.
- [38] Spyropoulos A C. Investigational treatments of venous thromboembolism [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2007, 16(4): 431-440.
- [39] Pengo V, Pegoraro C, Illiceto S. New trends in anticoagulant therapy [J]. *Isr Med Assoc J*, 2004, 6(8): 479-481.
- [40] Haas S. New oral Xa and IIIa inhibitors: updates on clinical trial results [J]. *J Thromb Thrombolysis*, 2008, 25(1): 52-60.
- [41] Chintala M, Strony J, Yang B, *et al.* SCH 602539, a protease-activated receptor-1 antagonist, inhibits thrombosis alone and in combination with cangrelor in a Folts model of arterial thrombosis in cynomolgus monkeys [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(11): 2143-2419.
- [42] Macaulay T E, Allen C, Ziada K M. Thrombin receptor antagonism -the potential of antiplatelet medication SCH 530348 [J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2010, 11(6): 1015-1022.
- [43] Lwaleed B A, Bass P S. Tissue factor pathway inhibitor: structure, biology and involvement in disease [J]. *J Pathol*, 2006, 208(3): 327-339.
- [44] Sne N, Ondiveeran H K, Fox-Robichaud A. Tifacogin (Chiron Corp/Pharmacia Corp) [J]. *IDrugs*, 2002, 5(1): 91-97.
- [45] Mungall D. rNAPc2. Nuvelo [J]. *Curr Opin Investig Drugs*, 2004, 5(3): 327-333.
- [46] Vlasuk G P, Bradbury A, Lopez-Kininger L, *et al.* Pharmacokinetics and anticoagulant properties of the factor VIIIa-tissue factor inhibitor recombinant nematode anticoagulant protein c2 following subcutaneous administration in man. Dependence on the stoichiometric binding to circulating factor X [J]. *Thromb Haemost*, 2003, 90(5): 803-812.
- [47] Banerjee Y, Mizuguchi J, Iwanaga S, *et al.* Hemextin AB complex, a unique anticoagulant protein complex from *Hemachatus haemachatus* (African *Ringhals cobra*) venom that inhibits clot initiation and factor VIIIa activity [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(52): 42601-42611.
- [48] Eikelboom J W, Zelenkofske S L, Rusconi C P. Coagulation factor IXa as a target for treatment and prophylaxis of venous thromboembolism [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(3): 382-387.
- [49] Eriksson B I, Dahl O E, Lassen M R, *et al.* Partial factor IXa inhibition with TTP889 for prevention of venous thromboembolism: an exploratory study [J]. *J Thromb Haemost*, 2008, 6(3): 457-463.
- [50] Hirsh J, O'Donnell M, Weitz J I. New anticoagulants [J]. *Blood*, 2005, 105(2): 453-463.
- [51] Bounameaux H. The novel anticoagulants: entering a new era [J]. *Swiss Med Wkly*, 2009, 139(5/6): 60-64.
- [52] Dandekar U, Young J, Kalkat M, *et al.* Heparin induced thrombocytopenia type III complicating coronary artery bypass surgery: a tale of caution [J]. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, 2004, 3(1): 121-123.
- [53] Keeling D, Davidson S, Watson H, *et al.* Haemostasis and thrombosis task force of the British committee for standards in haematology: The management of heparin-induced thrombocytopenia [J]. *Br J Haematol*, 2006, 133(3): 259-269.