

口服抗凝药解毒剂的研究进展

孙双勇¹, 郝春华¹, 张蕊¹, 石冰卓², 赵专友¹, 王维亭^{1*}

1. 天津药物研究院新药评价有限公司, 天津 300301

2. 天津医科大学 研究生院, 天津 300070

摘要: 近年来新型口服抗凝药 (NOACs) 取得很大的发展, 逐渐取代传统抗凝药而成为临床一线的首选药物。尽管与传统抗凝药物相比, NOACs 的出血副作用相当或更小, 但依然存在着一定的出血风险。传统抗凝药物的解毒剂对 NOACs 的解毒效果不佳, 为该类药物的使用带来很大的风险和不便。针对 NOACs 的特殊解毒剂正在开发当中, 前期试验已取得不错的结果。这些解毒剂最具有代表性的药物包括 Portola 制药公司的 andexanet alfa、勃林格殷格翰公司的 idarucizumab 以及 Perosphere 公司的 aripazine, 主要针对这 3 种 NOACs 解毒剂的研究进展以及存在的问题进行综述。

关键词: 新型口服抗凝药; 解毒剂; andexanet alfa; idarucizumab; aripazine

中图分类号: R972 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674 - 5515(2016)08 - 1304 - 05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2016.08.043

Research progress on antidotes for oral anticoagulants

SUN Shuang-yong¹, HAO Chun-hua¹, ZHANG Rui¹, SHI Bing-zhuo², ZHAO Zhuan-you¹, WANG Wei-ting¹

1. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research New Drug Evaluation Co. Ltd, Tianjin 300301, China

2. School of Graduate, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Abstract: In recent years, new oral anticoagulants (NOACs) had made great development, and they gradually replaced the traditional anticoagulants to become the first-line drug of choice for clinic. Compared with conventional anticoagulants, their bleeding side effects were close to or less, but they still had a certain risk of bleeding. Traditional anticoagulant antidotes had poor detoxifying effect of NOACs, which led to a great deal of inconvenience and risk for the use of these drugs. Specific antidotes for NOACs were under development, and preliminary tests had achieved good results. Most representative drugs of these antidotes included andexanet alfa of Portola Pharmaceuticals, idarucizumab of Boehringer Ingelheim, and aripazine of Perosphere. This article reviewed research progress and problems of these three NOACs antidotes.

Key words: novel oral anticoagulants; antidotes; andexanet alfa; Idarucizumab; aripazine

近半个世纪以来, 华法林是唯一的口服抗凝药物, 然而它有很多局限性, 如治疗指数窄, 与食物产生相互作用, 需要定期检测等。这些缺点和不足促使人们去开发新型的口服抗凝药物 (NOACs)^[1]。近 10 年以来, NOACs 的开发有了很大进展, 涌现出一批疗效确切、副作用较小的新药。这些 NOACs 通常被划分为两种, 包括直接凝血酶抑制剂和活化的凝血因子 X (FXa) 抑制剂。口服直接凝血酶抑

制剂主要是指达比加群酯, 由德国勃林格殷格翰制药公司开发, 于 2010 年被 FDA 批准用于室颤所引发的脑卒中的预防。口服 FXa 抑制剂主要包括一系列的沙班类药物, 有拜耳和强生公司开发的利伐沙班、百时美施贵宝和辉瑞公司开发的阿哌沙班、日本三共株式会社的依度沙班以及赛诺菲公司的奥米沙班等。与华法林相比, 新型 NOACs 拥有更加稳定的药动学参数、更少的药物相互作用、更短的半

收稿日期: 2016-04-18

基金项目: 天津市应用基础与前沿技术研究计划青年项目 (14JQCNC13300)

作者简介: 孙双勇, 男, 博士, 助理研究员, 主要从事心血管药物新药评价研究。Tel: (022)84845255 E-mail: sunshuangyong@163.com

*通信作者 王维亭, 男, 副研究员, 主要从事心血管药物新药评价研究。Tel: (022)84845239 E-mail: wangwt@tjipr.com

衰期以及更快的起效速度。多项随机对照临床试验的结果均已证实新型 NOACs 在预防中风和抗血栓形成方面都比传统抗凝药物华法林效果更好,并且出血副作用相当或更小^[2-3]。尽管如此,在新型 NOACs 的使用过程中,依然存在着一定的出血副作用,尤其在使用剂量较大时,出血和凝血功能障碍都是不可忽视的严重问题。由于缺乏针对这些药物的解毒药,在严重出血情况下,将无法迅速逆转服药患者的凝血功能障碍,而这些对于一些肾功能不好的老年患者或中风患者,严重的出血甚至会威胁到他们的生命。

帮助使用 NOACs 患者恢复生理性止血的途径有 4 种:(1) 加快抗凝药物的清除速度;(2) 置换出由抗凝药物所抑制的凝血因子;(3) 使用广谱的止血药物;(4) 使用中和抗凝药物活性的特殊解毒药。血液透析或血液滤过能够加快口服 FXa 抑制剂的消除,但是由于这些药物几乎全部与蛋白结合,因此很难消除这些药物,只能恢复患者的部分凝血功能。凝血酶原复合物(PCCs)包含了因子 II、IX、X 等凝血因子,可以通过为患者补充缺乏的凝血蛋白,逆转维生素 K 抑制剂类抗凝药的作用,但对于 NOACs 的作用并不稳定,并且如果使用剂量过多,会促进凝血级联反应,增加血栓形成的风险。

对于控制 NOACs 的严重出血,最有前景的方法是研发出针对这些药物的特殊解毒药,用以中和 NOACs 的抗凝活性。目前几种解毒药已经正在开发当中,已有的试验数据显示它们很有希望进入临床使用,用以解决 NOACs 使用过程中无法控制的问题。这些解毒剂主要包括美国 Portola 制药公司的 andexanet alfa、勃林格殷格翰公司的 idarucizumab 以及 Perosphere 公司的 aripazine,本文主要对这些 NOACs 解毒剂的研发进展以及存在的问题进行阐述。

1 andexanet alfa

andexanet alfa 是一种人源的重组 FXa 变异体,通过对 FXa 修饰后,其拥有与 FXa 抑制剂和肝素-抗凝血酶复合物等较高的亲和性。andexanet alfa 与自身 FXa 一样,可以与 FXa 抑制剂相结合,它与药物的竞争性结合使得血浆内未与蛋白结合的药物浓度降低,从而促进自身 FXa 参与生理止血过程。

1.1 临床前研究

离体人血浆凝血酶生成试验结果显示,andexanet alfa 没有促凝血或抗凝血的活性。在动物实验中,andexanet alfa 可以剂量相关地使服用利伐沙班、阿

哌沙班或贝曲沙班大鼠血浆的国际标准化比值(INR)标准化,使延长的血浆凝固时间恢复正常。家兔服用利伐沙班后,再给予 andexanet alfa, INR 值同样得以纠正,使得其大鼠药效结果得以进一步验证。在另一项大鼠实验中,大鼠被给予非直接 FXa 抑制剂低分子肝素或磺达肝素,静脉注射 andexanet alfa 后可以完全阻止大鼠因断尾所造成的出血^[4]。

1.2 临床研究

在 I 期临床试验中,32 名健康志愿者随机给予不同剂量的 andexanet alfa (30、90、300、600 mg) 或安慰剂,1 d/次,连续给药 28 d。取志愿者血浆后,将 50 ng/mL 利伐沙班加入到血浆样本内,结果显示,andexanet alfa 能够剂量相关性地逆转利伐沙班的抗 FXa 活性^[5]。试验期间没有血栓形成或不良反应等事件的出现。

有关 andexanet alfa 的 II 期临床试验包含 4 个随机、安慰剂控制的试验。已有结果表明 andexanet alfa 能够部分逆转阿哌沙班、利伐沙班、依度沙班和依诺肝素的活性。在阿哌沙班试验中,志愿者口服阿哌沙班,5 mg/次,2 次/d,420 mg andexanet alfa 可以逆转阿哌沙班 92% 的活性,且药效可以持续到给药后 2 h。在利伐沙班试验中,患者每天口服 20 mg 的利伐沙班,连续服用 6 d,然后注射不同剂量的 andexanet alfa 以观察其对利伐沙班的逆转作用。当 andexanet alfa 的注射剂量达到 210、420 mg 时,在给药 2 min 后,FXa 的活性与安慰剂组相比可分别降低 32%、51%。停止服用 andexanet alfa 2 h 后,FXa 的活性恢复至安慰剂组的水平,期间没有发生任何严重的不良反应^[6]。

andexanet alfa 的临床 III 期试验(ANNEXA 试验)正在开展中,主要观察其对服用阿哌沙班和利伐沙班健康志愿者的安全性和有效性。前期招募了 33 名志愿者,其中 24 名静脉注射 andexanet alfa 一次,数据显示 andexanet alfa 给药后能够很快降低阿哌沙班所致的抗凝活性,其中抗 FXa 活性降低了 94%,并且可以使得志愿者凝血活性恢复至接近正常值,药效可持续 1~2 h^[7]。ANNEXA 试验的第 2 部分中,志愿者先一次性静脉注射 400 mg andexanet alfa,然后再静脉输注 2 h 的该药物,用来检测其对阿哌沙班的解毒作用、凝血酶生成的标准化以及药效持续时间,目前这项 III 期临床试验正在开展当中^[8]。

1.3 研究进展及存在的问题

andexanet alfa 已于 2013 年 11 月获得了 FDA

的突破性疗法认证,并于 2015 年 12 月向 FDA 提交了快速审批程序,审批截止日期为 2016 年 8 月 17 日,因此该药有望在今年获得 FDA 的审批成功上市。

尽管促凝血的副作用还没有在临床实验中被观察到,andexanet alfa 与组织因子途径抑制物(TFPI)的结合值得进一步研究。在酶活性测定实验当中,andexanet alfa 能够像 FXa 一样与 TFPI 结合,两者具有相似的亲和性。不同于 FXa-TFPI 复合物,andexanet alfa-TFPI 没有抑制 FXa 的酶活性,当它单独被给药的时候,andexanet alfa-TFPI 的结合不会增加凝血酶的生成。然而,在利伐沙班存在的情况下,andexanet alfa-TFPI 的结合会导致凝血酶生成的增加^[9]。

到目前为止的试验结果显示 andexanet alfa 有能力逆转直接 NOACs 的抗凝血活性,然而,要完成彻底和持续的逆转,则需要更大剂量以及持续给药,这些都为其临床使用带来一定的不便。

2 idarucizumab

idarucizumab 是由勃林格殷格翰开发的特殊解毒药,主要用于逆转达比加群酯的抗凝作用。idarucizumab 为人源性单克隆抗体,它的结构特点类似于凝血酶,可与达比加群酯分子特异性地结合,两者的亲和力是达比加群酯与凝血酶亲和力的 350 倍。由于 idarucizumab 缺乏与凝血酶相似的催化三联体结构,在功能性凝固实验和血小板聚集实验中均没有检测到其催化活性,因此可以逆转达比加群酯的抗凝活性^[10]。

2.1 临床前研究

在前期的动物试验中,大鼠体内注射一次 idarucizumab,在 1 min 内就可以完全逆转 200 ng/mL 达比加群酯的抗凝血活性。在 Grottke 等^[11]的研究中,连续 4 d 给予猪达比加群酯,然后对猪进行钝性肝脏损伤试验,凝血酶原复合物(PCC, 30、60 U/kg)可以使延长了的凝血酶原时间显著降低,但尚未恢复至正常水平;重组人活性凝血因子 VII(rFVIIa, 90、180 μg/kg)对血浆凝固时间没有任何影响;应用 idarucizumab(30、60 mg/kg)后,则可以显著缩短因达比加群酯造成的凝血酶原时间的延长,减少动物的出血。

2.2 临床研究

在 I 期临床试验中,首先研究了 idarucizumab 的药动学,这是一次随机、双盲和安慰剂控制的试

验^[12]。志愿者单次给予 20~8 000 mg idarucizumab,结果显示 idarucizumab 半衰期较短,为 39~54 min,4 h 后血药浓度可降至药物峰浓度的 4%。当给药量大于 600 mg,药物半衰期为 4.5~8.1 h。达稳态后,表观分布容积为 17.6~37.9 L。idarucizumab 主要经肾脏排泄,给药 4 h 后,仍可在尿液中发现药物原形的存在。在试验的第 2、3 部分中,对 idarucizumab 逆转达比加群酯抗凝作用的有效性、安全性及最佳剂量范围进行了研究。结果显示,给予 idarucizumab 前,所有受试者凝血指标均延长,包括凝血酶时间(TT)、校准稀释 TT(dTT)、凝血时间(ECT)、活化部分凝血酶原时间(APTT)、活化凝血时间(ACT)等。志愿者在给予不同剂量的 idarucizumab 后,所有剂量组的 TT、dTT、ECT 和 APTT 均明显下降。随着给药时间的增加,上述指标有所回升,回升程度与给药剂量呈反比。

在另一项随机、双盲、安慰剂对照的双向交叉研究中,共招募了 46 例健康志愿者,用于评价 idarucizumab 对老年人和肾功能受损等特殊人群的有效性和安全性^[13]。所有受试者都连续口服 4 d 相应剂量的达比加群酯,2 h 后静脉输注 idarucizumab,时长 5 min。结果显示,idarucizumab 给药后迅速起效,很快使得延长了的凝血时间恢复至基线水平以下。静脉注射 1 g idarucizumab 2~4 h 后,dTT 会再次延长,而在更高的 2.5~5 g 剂量下,则可使得药效维持至给药后 24 h。

关于 idarucizumab 的 III 期临床试验被命名为 RE-VERSE AD,用于评估 idarucizumab 在患者发生难以控制的出血或需要接受紧急手术时的效果^[14],该项研究将在超过 35 个国家和地区招募 500 多名患者,持续 3 年,目前仍在开展中。前期研究结果显示,对于危及生命的大出血患者和需要紧急手术的患者,idarucizumab 对达比加群酯的平均最大逆转率都能达到 100%。

2.3 研究进展及存在的问题

2015 年 10 月,idarucizumab 被 FDA 正式批准,用于接受达比加群酯治疗的患者,在急诊手术、介入性操作、或出现危及生命或无法控制的出血并发症,需要逆转达比加群酯的抗凝效应时使用。idarucizumab 是第 1 个被 FDA 批准的 NOACs 解毒剂。为了让尽可能多的国家和地区使用到 idarucizumab,勃林格殷格翰公司已经向加拿大卫生部等多个监管机构提交了评估材料,相信在不久的将来,

idarucizumab 也将在国内市场问世。

idarucizumab 是人源性抗体片段,因此存在着一定免疫原性,从而可能会使药物失效。在 Glund 等^[13]的研究中,发现 110 例患者中 13 例存在抗 idarucizumab 抗体,但这些抗体仅与 idarucizumab 的羧基段结合,对与达比加群的结合部位无影响。到目前为止的临床试验结果显示,idarucizumab 耐受性良好,尚无过敏或超敏事件的发生。

3 aripazine

aripazine 是由 Perosphere 公司设计合成的“通用型”解毒药(D-精氨酸化合物)。它是一种水溶性小分子化合物,以非共价氢键结合的方式连接在口服凝血酶、FXa 抑制剂,磺达肝素或低分子肝素上,以阻止它们发挥抗凝作用。

3.1 临床前研究

在离体试验研究中,通过测定抗 FXa 活性的方法,证实 aripazine 可剂量相关性地逆转利伐沙班或阿哌沙班的抗凝作用,且 aripazine 与华法林以及常用的心血管药物和抗癫痫药物不产生相互作用^[15]。在大鼠试验中,大鼠灌胃 0.5 mg/kg 依度沙班,然后给予 20 mg/kg aripazine,通过凝血弹性描记法的测定,aripazine 可在给药 30 min 内将依度沙班的抗凝血活性逆转,降低大鼠的出血时间^[16]。在大鼠断尾出血试验中,大鼠被给予 100 倍临床剂量的达比加群酯、利伐沙班、阿派沙班和依杜沙班,12.5 mg aripazine 使大鼠出血量与对照组相比减少了 90%以上,并且使出血状态恢复至对照组的正常水平范围内,其中,aripazine 对依度沙班的解毒作用效果最佳^[15]。在上述试验当中,aripazine 均没有检测到促凝血活性。

3.2 临床研究

与 aripazine 相关的 I 期临床试验是一项双盲、安慰剂对照的研究^[17],共招募了 80 名健康志愿者,每人首先口服 60 mg 依度沙班,然后静脉注射 100~300 mg aripazine。通过检测全血凝固时间,观察到 aripazine 能够逆转依度沙班的抗凝血活性。aripazine 起效迅速,可以在 10~30 min 使凝血基线恢复至正常值,并且可以持续 24 h。aripazine 在健康志愿者身上具有良好的耐受。临床 II 期试验将使用梯度浓度的 aripazine,进一步使用不同剂量研究它逆转依度沙班的活性,目前正在开展中。临床 III 期实验目前也在积极筹备当中。

3.3 存在的问题

aripazine 是否存在促凝血作用仍然值得探讨,

Lu 等^[18]的实验结果表明,在人血浆内,aripazine 并没有逆转口服 FXa 抑制的作用,却展现出一定的促进血小板活性作用。尽管 aripazine 没有导致产生血小板聚集,它的促凝血作用仍需要进一步观察。

4 结语

尽管 NOACs 解毒药的前期研究结果良好,但这些药物在国内都尚无完全应用于临床。在这些药物批准使用之前,临床医生想要逆转口服抗凝药的抗凝作用,只能使用非特异性的止血药物,如激活的 PCC 或 rFVIIa,或通过血液透析或血液滤过的方法来清除尚无与蛋白高度结合的口服抗凝药。使用解毒药的最终目的就是避免发生出血事故,或因出血造成的器官受损。即使没有特异性解毒药,随机试验已经表明 NOACs 与传统抗凝药物相比,其大出血发生率相似或更低,尤其颅内出血的发生率也更低。NOACs 解毒剂的成功开发,将使得这些药物更加易于控制,临床使用也会更加安全。

参考文献

- [1] Garcia D A, Wallentin L, Lopes R D, et al. Apixaban versus warfarin in patients with atrial fibrillation according to prior warfarin use: results from the apixaban for reduction in stroke and other thromboembolic events in atrial fibrillation trial [J]. *Am Heart J*, 2013, 166(3): 549-558.
- [2] Southworth M R, Reichman M E, Unger E F. Dabigatran and postmarketing reports of bleeding [J]. *N Engl J Med*, 2013, 368(14): 1272-1274.
- [3] Sardar P, Chatterjee S, Wu W C, et al. New oral anticoagulants are not superior to warfarin in secondary prevention of stroke or transient ischemic attacks, but lower the risk of intracranial bleeding: insights from a meta-analysis and indirect treatment comparisons [J]. *PLoS One*, 2013, 8(10): e77694.
- [4] Lu G, DeGuzman F R, Hollenbach S J, et al. A specific antidote for reversal of anticoagulation by direct and indirect inhibitors of coagulation factor Xa [J]. *Nat Med*, 2013, 19(4): 446-451.
- [5] Crowther M A, Kitt M, McClure M, et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled single ascending dose pharmacokinetic and pharmacodynamic study of PRT064445, a universal antidote for factor Xa inhibitors (abstract) [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, 33(5 Suppl): 10.
- [6] Vandana M, Michael K, Genmin L, et al. A phase 2 randomized, double-blind, placebo-controlled trial demonstrating reversal of rivaroxaban induced anticoagulation in healthy subjects by andexanet alfa (PRT064445), an antidote for

- fxa inhibitors (abstract) [J]. *Blood*, 2014, 122(21): 3636.
- [7] Crowther M, Levy G, Lu G, *et al.* ANNEXA-A: a phase 3 randomized, double-blind, placebo-controlled trial, demonstrating reversal of apixaban-induced anticoagulation in older subjects by andexanet alfa (PRT064445), a universal antidote for factor Xa (fXa) inhibitors [J]. *Circulation*, 2014, 130: 2105-2106.
- [8] Crowther M, Gold A, Lu G, *et al.* ANNEXA™-A Part 2: a phase 3 randomized, double-blind, placebo-controlled trial demonstrating sustained reversal of apixaban-induced anticoagulation in older subjects by andexanet alfa (PRT064445), a universal antidote for factor XA (FXA) inhibitors [J]. *J Thromb Haemost*, 2015, 13: 84-85.
- [9] Lu G, Lin J, Coffey G, *et al.* Interaction of andexanet alfa, a universal antidote to fXA inhibitors, with tissue factor pathway inhibitor enhances reversal of fXA inhibitor-induced anticoagulation [J]. *J Thromb Haemost*, 2015, 13: 634-635.
- [10] Schiele F, van Ryn J, Canada K, *et al.* A specific antidote for dabigatran: functional and structural characterization [J]. *Blood*, 2013, 121(18): 3554-3562.
- [11] Grottke O, Honickel M, van Ryn J, *et al.* Idarucizumab, a specific dabigatran reversal agent, reduces blood loss in a porcine model of trauma with dabigatran anticoagulation [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2015, 66(13): 1518-1519.
- [12] Glund S, Moschetti V, Norris S, *et al.* A randomised study in healthy volunteers to investigate the safety, tolerability and pharmacokinetics of idarucizumab, a specific antidote to dabigatran [J]. *Thromb Haemost*, 2015, 113(5): 943-951.
- [13] Glund S, Stangier J, Schmohl M, *et al.* Idarucizumab, a specific antidote for dabigatran: immediate, complete and sustained reversal of dabigatran induced anticoagulation in elderly and renally impaired subjects [J]. *Blood*, 2014, 124: 344.
- [14] Pollack C V, Reilly P A, Eikelboom J, *et al.* Idarucizumab for dabigatran reversal [J]. *N Engl J Med*, 2015, 373(6): 511-520.
- [15] Bakhru S, Laulicht B, Lee C, *et al.* Small molecule antidote for anticoagulants [J]. *Circulation*, 2012, 126: 10021.
- [16] Laulicht B, Bakhru S, Jiang X, *et al.* Antidote for new oral anticoagulants: mechanism of action and binding specificity of PER977 [J]. *J Thromb Haemost*, 2013, 11: 47.
- [17] Ansell J E, Bakhru S H, Laulicht B E, *et al.* Use of PER977 to reverse the anticoagulant effect of edoxaban [J]. *N Engl J Med*, 2014, 371(22): 2141-2142.
- [18] Lu G, Kotha J, Cardenas J M, *et al.* *In vitro* characterization of andexanet alfa (PRT064445), a specific fXa inhibitor antidote versus aripazine (PER977), a non-specific reversal agent [J]. *Circulation*, 2014, 130: 18218.