

·特约综述·

抗血小板药: 现状、挑战及趋势

丁忠仁

(复旦大学上海医学院, 上海 200032)

作者简介: 丁忠仁, 药理学博士, 复旦大学上海医学院研究员, PI, 中国心血管药理专业委员会委员, 美国血液学会(ASH)、国际血栓与止血学会(ISTH)会员; 2008年首批首轮入选“上海高校特聘教授(东方学者)”; 中国国家自然科学基金委(NSFC)、英国医学理事会(MRC)同行评议专家; 长期从事血小板激活机制、抗血小板药的研究, 多篇文章发表在 *Circulation*、*J Thromb Haemost*、*Thromb Haemost* 上; 抗血小板、抗血栓药物的研究在国内有较高的知名度, 多次为国内著名的药企、科研院所、高校提供抗血栓药物(以抗血小板药为主)新药筛选、药效、安全性评价; E-mail: dingzr@fudan.edu.cn.



摘要: 动脉血栓性疾病冠心病和缺血性中风危害极大, 为人类健康的首位杀手, 抗血小板药效果肯定, 但现有抗血小板药存在疗效不稳定、不满意、有出血副作用等问题。我们仍然需要抗血栓效果更好、出血副作用更小的抗血小板药。研发具有新的作用机制的抗血小板药、研究血小板激活的机制、发现新的抗血小板药的靶点有助于研发更加安全、有效的抗血小板新药。本文拟就现有的抗血小板药、正在研发阶段的抗血小板药作简要介绍。

关键词: 抗血小板药; 冠心病; 血栓形成; 反向激动剂; 氯吡格雷; 替格瑞洛

中图分类号: R9 文献标志码: A 文章编号: 1672-3554(2018)04-0481-12

Antiplatelet: Current State, Challenge and Chance

DING Zhong-ren

(School of Basic Medical Sciences, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Abstract: Antiplatelet therapy has been established as a cornerstone in the management of arterial thrombotic diseases including ischemic heart disease, the No.1 killer worldwide. Despite the proven benefits of currently available antiplatelet drugs, there are still recurrent ischemic events; morbidity and mortality are still high. Moderate efficacy, response variability, and the bleeding risk are the major challenge; there is still much room for further improvement of antiplatelet treatment and development of novel antiplatelet agents with increased efficacy and safety profile. Intensive study on the mechanism underlying platelet activation, exploration of new antiplatelet agents with novel mechanism, and seeking novel targets for antiplatelet R & D should provide new chance for more efficacious and safer antiplatelet drugs. This review will summarize the current state of antiplatelet agents marketed and under development, the challenge and chance for R & D of novel antiplatelet agents.

Key words: antiplatelet drugs; coronary disease; thrombosis; inverse agonist; clopidogrel; ticagrelor

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2018, 39(4): 481-492]

心血管疾病是人类的首位杀手, 2016年全球心血管疾病的死亡人数是1 765万, 远远超过肿瘤

(各种肿瘤)的人数(893万)。心血管疾病中, 仅仅是缺血性心脏病(冠心病)的死亡人数(948万)

收稿日期: 2018-05-02

基金项目: 国家自然科学基金(81173053, 81373411); 上海市科委新药创新项目(11431920103)

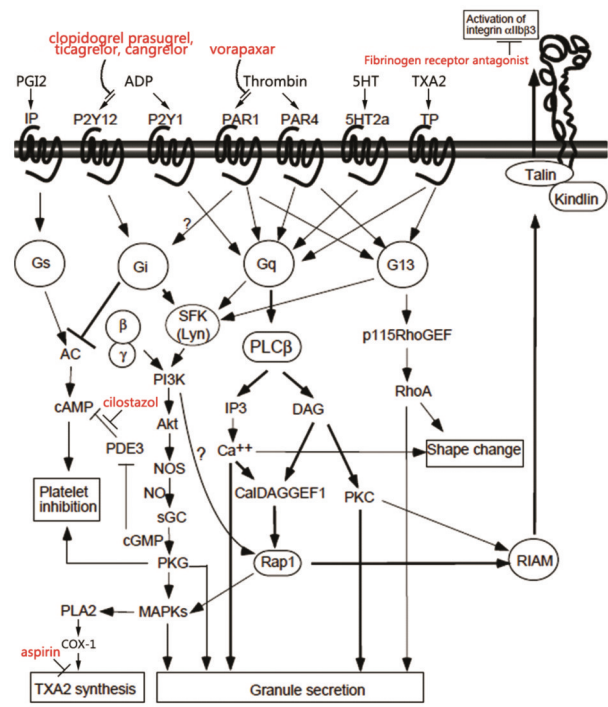
就超过全部肿瘤的死亡人数^[1]。在中国,缺血性心脏病(冠心病)和缺血性中风的死亡人数远高于全部肿瘤的死亡人数^[2],美国的情况类似^[3]。急性冠脉综合征、缺血性中风的共同的病理学基础是血小板异常激活引起的动脉血栓形成,抗血小板治疗效果肯定。动脉粥样斑块破裂是血小板异常激活的最常见诱因,发病3~6h内支架植入具有立竿见影的效果。支架作为血管内异物,本身有激活血小板、诱发血栓形成的风险。置入支架后,为防止支架内血栓(stent thrombosis)形成,需长期、甚至终生服用抗血小板药,所以抗血小板药市场巨大。下面综述现在市场上主要的几种抗血小板药物的概况,并对其研发趋势进行展望。

1 抗血小板药物分类

抗血小板药通过抑制血小板功能发挥作用。根据作用靶点不同,市场主流的抗血小板药可以分为5类(表1、图1)。

表1 市场上主流的抗血小板药	
Table 1 Marketed antiplatelet drugs	
• Cyclooxygenase inhibitor:	aspirin
• P2Y ₁₂ receptor antagonists:	
Thienopyridine:	ticlopidine
	clopidogrel
	prasogrel
	ticagrelor
	cangrelor
• Phosphodiesterase inhibitor:	cilostazole
• Fibrinogen receptor antagonist:	abciximab
	tirofiban
	efgartidime
• Thrombin receptor PAR-1 antagonist:	vorapaxar

国内的市场上的丹参多酚酸盐注射液、恩必普,虽然不叫抗血小板药,但他们分别用于治疗稳定型心绞痛、缺血性中风,这些属于典型的抗血小板药的适应证,因此,该药也可归为抗血小板药。我们发现丹参多酚酸盐(来源于中药丹参,主要成分丹参酸B)有P2Y₁₂受体拮抗和磷酸二酯酶抑制的作用,临床应用丹参多酚酸盐可增强二联抗血



Adopted from Li et al. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010^[4].

图1 血小板G蛋白偶联受体及现有主流抗血小板药的作用靶点

Fig.1 Platelet GPCRs and the targets of marketed antiplatelet drugs

小板药(阿司匹林联用氯吡格雷)的抗血小板作用^[5]。

恩必普最初由芹菜种子提取,也可化学合成。我们的研究发现恩必普对多种激动剂诱导的人血小板激活有抑制作用,主要作用机制为抑制cPLA2介导的血小板TXA2合成和磷酸二酯酶^[6]。恩必普抗血小板作用的浓度比较高,目前临床使用的剂量很难达到有效的抗血小板浓度。

2 环氧酶抑制剂阿司匹林

阿司匹林(aspirin),即乙酰水杨酸(acetylsalicylic acid),1853年首次合成,1899年用于临床,最开始作为解热镇痛抗炎药使用,上世纪80年代被美国FDA批准作为抗血小板药使用。作为一个百年老药,目前仍然是临床应用最广的药物之一。

阿司匹林作为抗血小板药,对冠心病、缺血性

中风有效,可降低心肌梗死的发生率和死亡率。对 NSTEMI-ACS 病人, AHA/ACC 指南推荐所有病人发病后应尽快口服非肠溶型阿司匹林片^[7]。对 STE-ACS 病人, AHA/ACC 与 ESC 也均推荐在急诊 PCI 前服用阿司匹林。

阿司匹林抑制血小板 PGH₂ 合成酶 (prostaglandin synthase) 的环氧化酶 (cyclooxygenase, COX) 活性, 抑制血栓烷 A₂ (thromboxane A₂) 的生成 (图 2)。血栓烷 A₂ 激活血小板膜的 TP 受体激活血小板。

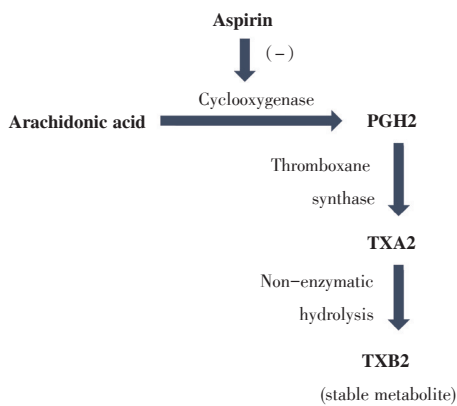


图 2 阿司匹林通过抑制血小板 PGH₂ 合成酶而阻断 TXA₂ 的生成

Fig.2 Aspirin inhibits platelets PGH₂ synthase and block TXA₂ production

3 P2Y₁₂ 受体拮抗剂

ADP 受体 P2Y₁₂ 主要分布在血小板^[8], 在血小板激活过程中起着中心作用^[9], 所以 P2Y₁₂ 受体是一个非常理想的抗血小板药物靶点。事实上, P2Y₁₂ 受体是目前最成功的抗血小板药物的靶点, 针对 P2Y₁₂ 受体抗血小板药物最多, 已有 5 个获得美国 FDA 审批, 即噻氯匹定 (ticlopidine)、氯吡格雷 (clopidogrel)、普拉格雷 (prasugrel)、替格瑞洛 (ticagrelor)、坎格瑞洛 (cangrelor)。除第一代的噻吩吡啶类的噻氯匹定因副作用大已退出市场外, 其余 4 个, 尤其是 3 个口服的 P2Y₁₂ 受体拮抗剂氯吡格雷、普拉格雷和替格瑞洛, 临床广泛使用, 是现今临床应用最广的抗血小板药物。

现有 P2Y₁₂ 受体拮抗剂类抗血小板药物, 根据化学结构分为 3 类, 即噻吩吡啶类、环戊基三唑并

噻啶替格瑞洛和稳定的 ATP 衍生物坎格瑞洛 (表 1)。

噻吩吡啶 (thienopyridine) 类 P2Y₁₂ 拮抗剂是临床应用最广、获得美国 FDA 批准最多的一类抗血小板药物, 包括: 噻氯匹啶、氯吡格雷、普拉格雷。它们均为药物前体 (prodrug), 本身无活性, 经肝药酶代谢后, 生成的活性代谢物才有抗血小板活性。活性代谢物均含有巯基, 可以和血小板 P2Y₁₂ 受体细胞外半胱氨酸相互作用, 不可逆地阻断 ADP 和 P2Y₁₂ 受体结合, 抑制 ADP 诱导的血小板激活, 所以该类抗血小板药物的作用是不可逆的、长久的, 直到新的血小板生成为止 (图 3)。因为需要在肝脏代谢生成活性代谢物发挥作用, 所以该类药物受肝药酶变异影响较大。

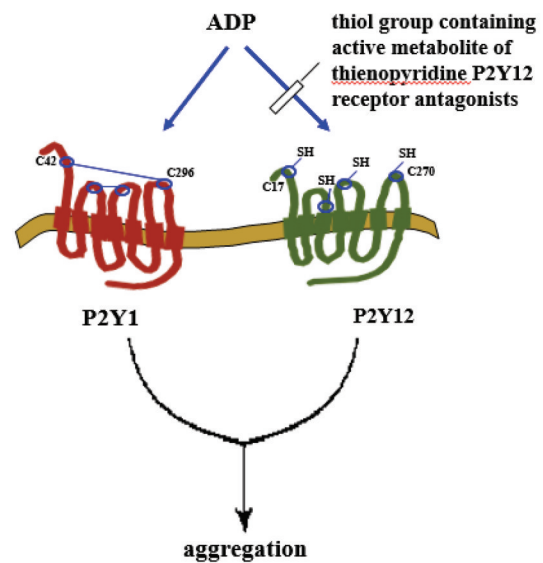


图 3 噻吩吡啶类 P2Y₁₂ 受体拮抗剂抗血小板的作用机制
Fig.3 Antiplatelet mechanism of thienopyridine P2Y₁₂ receptor antagonists

作为 G 蛋白偶联受体, P2Y₁₂ 受体有 4 个细胞外半胱氨酸 (C17, C97, C175, C270), 分别位于受体的 N 末端、第一个细胞外环、第二个细胞外环和第三个细胞外环。C97 和 C175 为受体功能所必需, 突变后影响受体和激动剂的结合 (图 3)^[10-11], Savi 等^[11] 研究认为 C97 是噻吩吡啶类 P2Y₁₂ 受体拮抗剂氯吡格雷的靶点, 研究发现 P2Y₁₂ 受体以同源寡聚体的形式存在于细胞膜的脂筏中, 可以结合 P2Y₁₂ 受体激动剂、被激动剂激活。氯吡格雷的活性代谢物和 P2Y₁₂ 受体结合后, 将寡聚体解聚成二

聚体和单个受体,并移出脂筏,抑制受体功能,发挥抗血小板作用^[11]。

Savi等^[11]在氯吡格雷的作用机制方面做了许多优秀的工作,但P2Y₁₂受体寡聚体解聚并不能解释氯吡格雷活性代谢物的抗血小板作用。我们对氯吡格雷和普拉格雷的活性代谢物的研究显示,二者的活性代谢物和血小板体外孵育90 s就能阻断ADP诱导的血小板聚集,但10 min的孵育对血小板P2Y₁₂的寡聚体都没有影响,寡聚体的解聚需要60 min的作用时间^[11-12]。

3.1 噻氯吡啶

噻氯吡啶(ticlopidine, Ticlid, 抵克立得,其结构式如图4)是最早的噻吩吡啶类P2Y₁₂受体拮抗剂,1991年获得美国FDA审批,因严重的血液系统副作用(白细胞减少、血小板减少),已经和更新的同为噻吩吡啶类的抗血小板药被氯吡格雷取代,临床上不再使用。

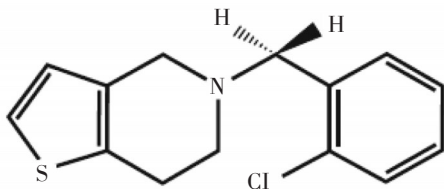


图4 噻氯吡啶结构式

Fig.4 Molecular structure of ticlopidine

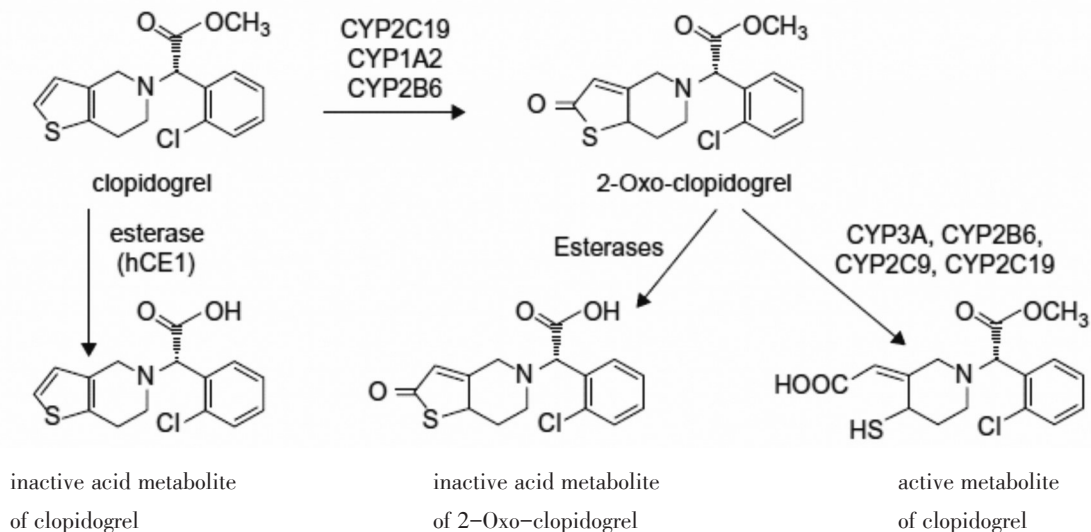


图5 氯吡格雷经两步反应在肝内代谢成含巯基的活性代谢物^[15]

Fig.5 Clopidogrel is metabolized into active metabolite containing thiol-group in liver via two steps reaction^[15]

3.2 氯吡格雷

氯吡格雷(clopidogrel, Plavix, 波立维)为第二代噻吩吡啶类P2Y₁₂受体拮抗剂,1997年获得美国FDA批准,口服有效,临床上仍在广泛使用。作为经典的拮抗P2Y₁₂受体的抗血小板药,氯吡格雷和同为噻吩吡啶类的普拉格雷、更新的环戊基三唑并嘧啶类P2Y₁₂受体拮抗剂替格瑞洛一样,作为抗血小板药物治疗急性冠脉综合征(ACS),均获得欧洲心脏病学会(ESC)、美国心脏协会/美国心脏病学会(AHA/ACC)的I类推荐^[7,13-14]。

体内85%的药物被肝脏脂酶快速代谢水解成羧酸衍生物,其余的15%经过两步细胞色素P450(主要是CYP2C19)催化的氧化反应,生成含有巯基的活性代谢物发挥抗血小板作用(图5)。

氯吡格雷作为药物前体(prodrug),本身无活性。在体内代谢成含巯基的活性代谢物,特异性、不可逆地和血小板P2Y₁₂受体结合,阻断二磷酸腺苷(ADP)和受体的结合,阻断ADP诱导的血小板聚集、腺苷酸环化酶抑制、cAMP下降,发挥抗血小板作用。因为对ADP的P2Y₁受体没有作用,所有的P2Y₁₂受体拮抗剂都不影响ADP诱导的血小板变形。

氯吡格雷对其他血小板激动剂(如TXA₂类似物U46619、胶原、低浓度的凝血酶)诱导的血小板聚集也有抑制作用,因为这些激动剂激活血小板时,诱导血小板致密颗粒内储存的高浓度的ADP(可达mmol浓度级)释放,具有放大血小板激活的

作用。氯吡格雷对剪切力诱导的血小板聚集也有抑制作用。

因为氯吡格雷抑制血小板功能,所以它可增加凝血时间(凝血时间可延长2~3倍)。它和阿司匹林合用,可增加抗血小板、抗血栓作用,因为二者分别阻断ADP和花生四烯酸/TXA₂这两种血小板激活的放大途径,但出血副作用也增加。

3.3 普拉格雷

普拉格雷(prasugrel, Effient)为第三代噻吩吡啶类P2Y₁₂受体拮抗剂,2009年获得美国FDA批准,和氯吡格雷一样,为药物前体,本身无活性,在体内代谢成含有巯基的活性代谢物发挥作用,不可逆地抑制血小板P2Y₁₂受体,抑制ADP诱导的血小板激活。与氯吡格雷相比,经肠道吸收后的普拉格雷全部被代谢激活,而且活性代谢物的生成只需要一步反应,故活性代谢物生成得更快、更多,所以抗血小板作用起效更快、作用更强,个体反应性差异也更小(受CYP2C19变异影响更小),但出血副作用也更多。

对于植入支架的ACS(急性冠脉综合征, acute coronary syndrome)病人,双联抗血小板治疗(阿司匹林联用P2Y₁₂受体拮抗剂)时,如果病人没有出血的高危风险、没有中风和TIA(transient ischemic attack, 短暂性脑缺血发作)病史,联用普拉格雷比氯吡格雷好^[16]。

非常值得注意的是,对于糖尿病人心血管并发症的防治,普拉格雷的效果更好,出血副作用和氯吡格雷组相似^[17]。

3.4 替格瑞洛

替格瑞洛(ticagrelor, Brilinta, 倍林达, AZD6140)化学结构上属于环戊基三唑并嘧啶类,直接起作用,口服有效,肠道吸收快,不需要体内代谢激活,比氯吡格雷起效更快、更一致。半衰期7~8 h,故每天2次口服。可逆性地抑制ADP和P2Y₁₂受体结合,停药后血小板功能恢复快。

对于置入冠脉支架的急性冠脉综合征患者,有研究显示,与氯吡格雷相比,普拉格雷或替格瑞洛治疗能够更好地减少缺血性事件的复合终点发生和支架内血栓形成的发生^[13]。对于接受PCI治疗的急性心肌梗死的病人,在1230病人参加的多中心、随机设计的临床研究(PRAGUE-18)中,替格瑞洛的疗效、出血副作用和普拉格雷相似,二者并无优劣之分^[18]。

对于糖尿病人心血管并发症的防治,替格瑞洛的疗效优于普拉格雷和氯吡格雷,可能与替格瑞洛的反向激动剂活性(inverse agonist activity)有关^[19]。

对于PCI后的东亚人群,Choi等^[20]的研究发现替格瑞洛90 mg,每日1次,也有很好的抗血小板作用,提示替格瑞洛的维持剂量可以90 mg每日1次给药。每日1次给药相对于每日2次给药将大大提高病人的用药依从性,并降低费用。

除了出血副作用外,替格瑞洛呼吸抑制的发生率高于氯吡格雷(13.8% vs 7.8%)^[21],6.5%的病人因为替格瑞洛呼吸抑制的副作用停药^[22]。

3.5 坎格雷洛

坎格雷洛(cangrelor, AR-C68831MX)2015年获得美国FDA审批,直接起作用,静脉给药后立即起效,可逆性抑制ADP与P2Y₁₂受体结合,对ADP诱导血小板聚集抑制作用明显。作用短暂,血浆半衰期小于10 min,停药后血小板功能可在1~2 h内恢复。

对需要抗血小板治疗,不能口服给药(恶心、口服吸收不好)的ACS病人,坎格雷洛可作为一线抗血小板药物。没有用过P2Y₁₂受体拮抗剂的病人,可以代替纤维蛋白原受体拮抗剂类抗血小板药。

对接受PCI、没有用过P2Y₁₂受体拮抗剂的非ST段抬高的急性冠脉综合征(NST-ACS)病人可考虑应用坎格雷洛^[7]。其围手术期死亡、心肌梗死、支架内血栓形成、IDR(ischaemia-driven revascularisation, 因为缺血需要进行血管再通手术)的发生率均低于氯吡格雷(3.8% vs 4.7%, $P = 0.007$),出血副作用也高于氯吡格雷(0.9% vs 0.6%, $P = 0.007$)^[7]。

我们的工作^[23-25]显示,坎格雷洛为一中性P2Y₁₂受体拮抗剂,没有反向激动剂活性,对于高表达的、自发激活的P2Y₁₂受体(如II型糖尿病人的血小板)的抑制作用低于具有反向激动剂活性的P2Y₁₂受体拮抗剂AR-C78511,抗血小板、抗血栓作用不如AR-C78511^[25]。

4 磷酸二酯酶抑制剂西洛他唑

除扩血管作用外,西洛他唑(cilostazole, Pletal, 培达, 结构式如图6)还可以抑制磷酸二酯酶

3 (phosphodiesterase 3, PDE3), 升高血小板和其他细胞内的 cAMP, 发挥抗血小板和扩血管作用。虽然已有大量的临床试验研究西洛他唑的抗血小板作用, 但作为抗血小板药, 欧盟和美国 FDA 仅批准其用于间歇性跛行 (intermittant claudication) 的治疗。

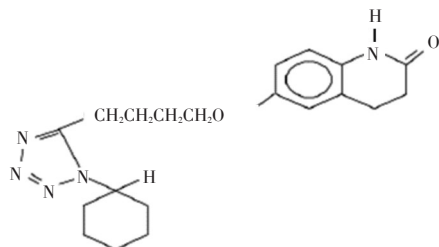


图6 西洛他唑结构式

Fig.6 Molecular structure of cilostazol

对于间歇性跛行, 西洛他唑有改善症状的作用。对于对中风的二级预防, 两个对亚洲人群的多中心、双盲、安慰剂对照的临床研究 (CSPS 和 CSPS2) 表明, 与阿司匹林相比, 西洛他唑疗效相同或更好, 但出血副作用更低^[26-28]。对 PCI (percutaneous coronary intervention) 或溶栓后的 ACS 病人, 在亚洲人群的研究显示, 在标准双联抗血小板疗法 (DAPT, 阿司匹林 + P2Y₁₂受体拮抗剂) 的基础上, 加用西洛他唑的三联抗血小板疗法 (TAPT), 具有更好的抗血栓、降低 (或不增加) 出血副作用的临床效果^[29-32]。

需要说明的是, 三联抗血小板疗法优越性的临床实验主要在亚洲完成, 而且样本量不是非常大。因此, 作为磷酸二酯酶抑制剂, 西洛他唑抗血小板治疗冠心病需要进一步临床研究。

西洛他唑口服有效, 不良反应少见, 包括头痛、心悸和腹泻。也有报道西洛他唑可增加非持续性室性心动过速。作为抗血小板药物, 出血副作用低于阿司匹林和 P2Y₁₂受体拮抗剂。

5 纤维蛋白原受体拮抗剂

多种激动剂激活血小板的最后结果都是引起纤维蛋白原受体 GPIIb/IIIa (也称 α IIB β 3) 活化, 由静息态变成可结合纤维蛋白原、vWF 的活化态,

使血小板黏附、聚集, 形成血栓。因为纤维蛋白原受体 GPIIb/IIIa 位于血小板信号转导途径的最后共同通路 (图 1), 所以拮抗纤维蛋白受体拮抗剂的抗血小板、抗血栓作用最强, 出血副作用也最大。

获得 FDA 审批的该类抗血小板药物有三个: 阿昔单抗 (Abciximab, ReoPro)、依替巴肽 (eptifibatid, integrilin)、替罗非班 (tirofiban, Aggrastat)。仅可以静脉注射给药, 口服无效。

随着新型 P2Y₁₂受体拮抗剂如普拉格雷、替格瑞洛的常规应用, 纤维蛋白原受体拮抗剂类抗血小板药物临床应用明显减少, ESC 仅推荐用于接受 PCI 的病人紧急情况下或出现血栓并发症时使用^[7]。

AHA/ACC 推荐的适应证是: (1) ST 段抬高的心肌梗死病人 (行急诊 PCI); (2) 高危的非 ST 段抬高的心肌梗死病人 (如肌钙蛋白呈阳性)。

6 凝血酶受体 PAR1 拮抗剂沃拉帕沙

沃拉帕沙 (Vorapaxar, Zontivity, SCH530348) 口服有效, 拮抗凝血酶受体 PAR1 (protease-activated receptor 1), 2014 年获得美国 FDA 批准, 用于既往有心肌梗死和 PAD (peripheral arterial disease, 外周动脉血管病) 的高危病人的二级预防。对于既往有心肌梗死和 PAD 的高危病人, 在阿司匹林联用氯吡格雷的基础上联用沃拉帕沙, 可进一步降低支架内血栓形成, 但出血风险相应增加^[33]。有中风、短暂性脑缺血发作、颅内出血的病人禁用。

7 现有抗血小板药存在的问题、挑战与对策

7.1 现有抗血小板药存在的问题

上述五类抗血小板药临床效果肯定, 但也存在不足, 包括: ①口服抗血小板药物阿司匹林、氯吡格雷起效缓慢。对于 STEMI 病人, 甚至替格瑞洛 (不需代谢, 直接起作用) 负荷剂量口服, 也需要 2 h 多才能达到有效的抗血小板效果^[34-35]。②多数口服抗血小板药物如阿司匹林、氯吡格雷抗血小板作用、抗血栓作用温和, 抗血小板治疗不能完全防止临床血栓事件的发生。③病人对阿司匹

林、氯吡格雷的反应性个体间差异大,用药后有些病人血小板功能抑制明显,有些不明显,即存在“阿司匹林抵抗(aspirin resistance)”、“氯吡格雷抵抗(clopidogrel resistance)”。反应明显者容易出现出血副作用,反应不明显者易发血栓事件,达不到抗血栓的效果。阿司匹林抵抗原因很多,最近的一项对糖尿病人研究发现,和普通的阿司匹林相比,肠溶阿司匹林生物利用度降低,肠溶性是阿司匹林抵抗的一个重要原因^[36]。和“阿司匹林抵抗”一样,氯吡格雷的抗血小板作用个体间差异较大,部分病人应用氯吡格雷后,血小板功能抑制不明显,称“氯吡格雷抵抗(clopidogrel resistance)”。“氯吡格雷抵抗”的原因很多,与代谢激活氯吡格雷的肝药酶(最重要的是CYP2C19)活性降低、血小板P2Y₁₂受体表达水平增加等有关。④现有抗血小板药给药途径单一,市场上还没有既可口服、又能注射的抗血小板药。⑤出血副作用。现有抗血小板药物均有程度不同的出血副作用,尤其是纤维蛋白原受体拮抗剂类抗血小板药物。一方面,严重的出血副作用(如颅内出血)可以致命,比血栓本身的危害更严重;许多研究发现,PCI后大出血显著增加病人的死亡率^[37]。另一方面,出血副作用限制了通过增加剂量提高抗血小板、抗血栓效果的可能。

理想的抗血小板药物应该具有以下特点:①用药方便,既可口服、又可注射;②抗血小板作用变异小,作用可预知;③起效迅速;④作用可逆,停药后血小板功能迅速恢复;⑤抗血小板、抗血栓作用强,出血副作用尽可能小(或没有),治疗窗口大。

7.2 抗血小板新药研发的最大挑战

出血副作用是现有抗血小板药物的最大问题,也是研发新的抗血小板药物的最大挑战^[33]。理论上很难避免抗血小板药物的出血副作用,因为血小板参与正常的生理性止血,血小板功能的抑制必然影响血小板的止血功能,带来出血副作用。然而我们仍然希望能够研发一些新的抗血小板药物,希望这些抗血小板药物具有更好的抗血小板、抗血栓作用和尽可能小(或没有)的出血副作用。

7.3 研发更加安全有效的抗血小板新药的对策

7.3.1 研发具有新的作用机制的抗血小板药 临床研究发现,将作用于不同靶点的抗血小板药联

用,可以取得更好的临床效果^[29,32]。具有多种作用靶点的抗血小板可能具有更好的抗血小板、抗血栓作用,而出血不增加或降低出血副作用^[38-40]。

7.3.2 研究血小板激活、血栓形成的新机制 对血小板激活、血栓形成机制的进一步研究,可以为抗血小板药的研发提供新的思路。对于突变或高表达引起的GPCR自发激活,反向激动剂的具有治疗学优势。血小板P2Y₁₂自发激活活性的报道,为以P2Y₁₂受体为靶点的反向激动剂的研发提供了新的思路^[19,24-25]。

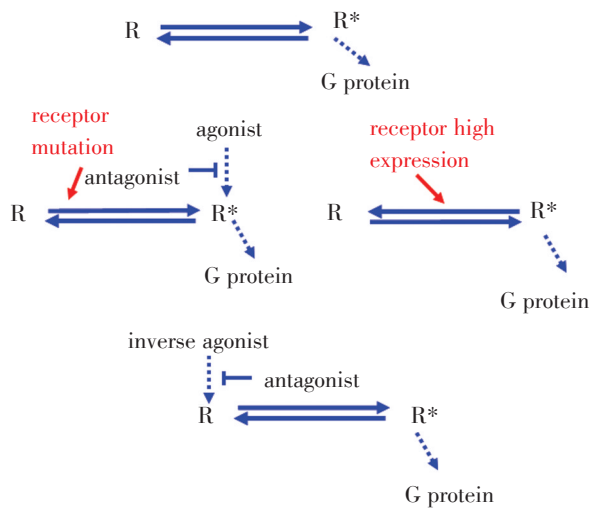
7.3.3 发现新的潜在的抗血小板药靶点 理论上讲,参与血小板激活的所有信号分子,都有可能是潜在的抗血小板药的靶点,但能否成为成功的安全、有效的抗血小板药的靶点,则需要做大量的工作。如前所述,以血小板ADP受体P2Y₁₂受体、凝血酶受体PAR-1、纤维蛋白原受体 α IIb β 3的抗血小板药均已上市。我们发现白细胞表达的模式识别受体NOD2在血小板表达也有表达,促进血小板激活和血栓形成,以NOD2受体为靶点的抗血小板药可能对于感染、炎症相关的心血管性疾病具有更好的作用^[41]。考虑到抗白介素-1的抗体(卡纳单抗)抗炎治疗动脉血栓性疾病III期临床实验的成功^[42],NOD2受体可能是一个不错的抗血小板药的靶点。

8 研发中的药物

8.1 双靶点抗血小板药物

临床试验显示,在双联抗血小板治疗(DAPT;阿司匹林联用P2Y₁₂受体拮抗剂)基础上联用磷酸二酯酶抑制剂西洛他唑的三联抗血小板疗法(TAPT),可改善抗血栓作用/出血副作用平衡,达到提高(或保持疗效)、不增加(或降低)出血副作用的临床效果^[30-32,43]。三联抗血小板治疗需要同时应用针对上述3个不同靶点的3种抗血小板药物,我们发现一种小分子化合物BF061可同时作用于P2Y₁₂受体、磷酸二酯酶。在小鼠肠系膜动脉FeCl₃损伤血栓模型上,BF061的抗血栓作用和氯吡格雷相似,但出血副作用更小^[40];McMaster大学激光损伤的小鼠提睾肌动脉血栓模型进一步证实了BF061的抗血栓作用^[40]。

BF061本身水溶性小,口服吸收差,血药浓度低。制备成固相分散体后,水溶性、口服吸收率、



There is a balance between resting state (R) and active state (R*) of GPCR. Only active state couples to G protein leading to downstream signaling while resting state does not. Basal activity of GPCR can be observed because of the existence of R*. Increased active state R* can be achieved by 1) balance right-shift caused by agonist binding to R*; 2) balance right-shift caused by receptor gain of function mutation; 3) receptor high expression which increases both resting and active states of receptor. Under the 2nd and 3rd conditions, the receptors are activated in the absence of agonists, such activation is called constitutive activation. Inverse agonist, which is antagonist with inverse agonist activity, left-shifts the balance and hence inhibits receptor constitutive activation caused by receptor high expression or gain of function mutation. Antagonist binds the resting and active state equally and does not shift the balance. Neutral antagonist, exerts its role by blocking agonist binding to receptor, does not left-shift the balance due to lack of inverse agonist activity, and thus cannot inhibit the constitutive activation caused by receptor high expression or gain of function mutation^[25].

图7 G蛋白偶联受体的二态激活模型

Fig.7 Two-state model of GPCR activation

血药浓度明显提高,大鼠灌胃给药可以达到有效的抗血小板、抗血栓作用浓度。动静脉短路的大鼠血栓模型显示,在达到和氯吡格雷相似的抗血栓效果时,大鼠BF061固相分散体灌胃,在抗血栓的剂量下不增加出血^[38]。

8.2 阻断 $G\alpha_{13}-\beta_3$ 相互作用的多肽

Shen等^[44]发现,与纤维蛋白原受体拮抗剂依

替巴肽相比,抑制血小板 $G\alpha_{13}-\beta_3$ 相互作用的多肽静脉注射,抑制激光损伤诱导的小鼠动脉血栓作用相似,但出血副作用不明显。

8.3 GP1b受体拮抗剂

Lei等^[45]报道,香港李氏大药厂研发的血小板GP1b受体拮抗剂Anfibatide在抑制小鼠动脉血栓(肠系膜动脉 $FeCl_3$ 损伤血栓模型、小鼠提睾肌动脉血栓模型)的同时,不增加出血。Anfibatide来源于蛇毒,主要抑制GP1b-vWF的相互作用,作为治疗血栓性血小板减少性紫癜的孤儿药(orphan drug)已获得美国FDA审批,作为抗血小板药已进入临床试验。

8.4 GPCR反向激动剂

根据受体激活的二态模型,静息态受体(R)和激活态受体(R*)之间存在动态平衡,激动剂对激活态受体有更强的结合能力,使其更稳定,导致平衡右移,表现出受体激活的效应。拮抗剂拮抗激动剂和受体的结合发挥拮抗作用。GPCR突变、高表达可引起受体的自发激活(constitutive activation,图7)。受体的自发激活与激动剂和受体的结合无关,所以传统的(中性的)受体拮抗剂无效,而反向激动剂(本身为受体拮抗剂,但有反向拮抗剂活性)因为可以使平衡左移,对自发激活的受体有拮抗作用。和不具有反向拮抗剂活性的受体拮抗剂相比,反向拮抗剂理论上具有治疗学优势,临床有效的GPCR受体拮抗剂都有程度不同的反向拮抗剂活性^[46-47]。关于反向激动剂的作用,可进一步参考Katzung主编的*Basic & Clinical Pharmacology*^[48]。

9 对血小板激活的新机制及其在出血与血栓形成中的作用研究

血小板激活的机制、参与血小板激活的受体等信号分子在病理性血栓形成、生理性止血过程中的作用非常复杂,明确这些信号分子的作用,有针对性地选择靶点研发抗血小板药,应该有助于找到更加安全、有效的抗血小板药物。

9.1 封闭血管损伤部位暴露的胶原的revacept

如图8所示,血小板胶原受体GPVI受体缺陷,出血很少,理论上以GPVI为靶点的抗血小板药物,出血副作用应该很小。Revacept由德国AdvanceCOR研发,是胶原受体GPVI细胞外部分和

人IgG的Fc段的融合蛋白,和血管内皮损伤后暴露的胶原结合,阻断血小板在损伤血管处的黏附。临床试验显示revacept有很好的抗血小板、抗血栓作用,出血副作用不明显^[53]。Revacept设计的一个巧妙之处在于,它仅在血管损伤的局部阻断血小板的黏附、激活,并不影响循环血液中的血小板,应该也是其出血副作用小的一个重要原因。

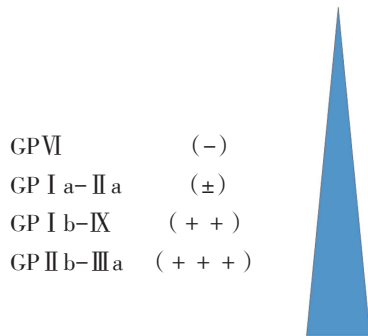


图8 血小板黏附分子缺陷引起的出血倾向

Fig.8 Hemorrhage inclination induced by platelet adhesion molecule defection

9.2 凝血酶受体PAR4受体拮抗剂BMS-986120

凝血酶是人血小板的强激动剂,主要通过PAR1和PAR4两种GPCR激活血小板。和PAR1相比,PAR4对凝血酶的亲和性低,需要高浓度的凝血酶才能活化、激活血小板。PAR1受体拮抗剂沃拉帕沙作为抗血小板药2014年已获得美国FDA审批通过,抗血小板、抗血栓效果好,但出血副作用也很明显。Bristol-Myers Squibb公司最近研发了一种小分子化合物BMS-986120,在猴动脉血栓模型的研究发现,该PAR4受体拮抗剂具有很好的抗血小板、抗血栓作用,出血副作用很小,

和氯吡格雷相比,治疗窗口很大^[54]。I期临床试验显示正常人口服BMS-986120后,高剪切力下体外血栓形成显著减少,凝血功能不变^[55]。BMS-986120正在进行II期临床试验^[56],有望成为一种安全、有效的抗血小板新药。

10 寻找新的抗血小板药靶点

白细胞表达的模式识别受体NOD2主要参与宿主抵抗细菌的先天免疫。我们发现NOD2在血小板上也有表达,并参与血小板激活、动脉血栓形成,与脓毒血症时血小板反应性增高有关^[41]。我们的初步研究表明NOD2受体拮抗剂GSK669有良好的抗血小板作用(待发表资料),针对血小板NOD2受体的抗血小板药可能对感染相关的血栓性疾病具有更好的疗效。

11 小结

冠心病是人类的第一位死亡原因,死于冠心病的人数超过全部肿瘤死亡人数的总和。冠状动脉粥样斑块破裂导致的心血小板大量激活,形成冠脉内血栓,引起急性冠脉综合征。PCI置入支架,血管再通,效果立竿见影,但需长期使用抗血小板药预防支架内血栓形成。现有抗血小板药效果肯定,但仍有抗血栓效果不够满意、存在出血副作用问题。继续寻找抗血小板、抗血栓效果稳定、出血副作用小的新型抗血小板药,有望进一步降低冠心病的死亡率。通过研究具有新的作用机制的抗血小板药、血小板的激活新机制、寻找新的抗血小板药的靶点,有望获得更加安全、有效的抗血小板新药,部分临床前和临床研究阶段的抗血小板药已经表现出很好的前景。

参考文献

- [1] GBD 2016 causes of Death. Collaborators. Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980-2016: A systematic analysis for the global burden of disease study 2016 [J]. Lancet, 2017, 390(10100): 1151-1210.
- [2] Zhou M, Wang H, Zhu J, et al. Cause-specific

mortality for 240 causes in China during 1990-2013: A systematic subnational analysis for the global burden of disease study 2013 [J]. Lancet, 2016, 387(10015): 251-272.

- [3] Benjamin EJ, Virani SS, Callaway CW, et al. Heart disease and stroke statistics-2018 update: A report from the american heart association [J]. Circulation, 2018, 137(12): e67-e492.

- [4] Li Z, Delaney MK, O'Brien KA, et al. Signaling during platelet adhesion and activation [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(12): 2341-2349.
- [5] Liu L, Li J, Zhang Y, et al. Salvianolic acid B inhibits platelets as a P2Y12 antagonist and PDE inhibitor: evidence from clinic to laboratory [J]. *Thromb Res*, 2014, 134(4): 866-876.
- [6] Ye J, Zhai L, Zhang S, et al. dl-3-n-butylphthalide inhibits platelet activation via inhibition of cPLA2-mediated TXA2 synthesis and phosphodiesterase [J]. *Platelets*, 2015, 26(8): 736-744.
- [7] Roffi M, Patrono C, Collet JP, et al. 2015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: Task force for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC) [J]. *Eur Heart J*, 2016, 37(3): 267-315.
- [8] Hollopeter G, Jantzen HM, Vincent D, et al. Identification of the platelet ADP receptor targeted by antithrombotic drugs [J]. *Nature*, 2001, 409(6817): 202-207.
- [9] Dorsam RT, Kunapuli SP. Central role of the P2Y12 receptor in platelet activation [J]. *J Clin Invest*, 2004, 113(3): 340-345.
- [10] Ding Z, Kim S, Dorsam RT, et al. Inactivation of the human P2Y12 receptor by thiol reagents requires interaction with both extracellular cysteine residues, Cys17 and Cys270 [J]. *Blood*, 2003, 101(10): 3908-3914.
- [11] Savi P, Zachary JL, Delesque-Touchard N, et al. The active metabolite of Clopidogrel disrupts P2Y12 receptor oligomers and partitions them out of lipid rafts [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(29): 11069-11074.
- [12] Ding Z, Bynagari YS, Mada SR, et al. Studies on the role of the extracellular cysteines and oligomeric structures of the P2Y receptor when interacting with antagonists [J]. *J Thromb Haemost*, 2009, 7(1): 232-234.
- [13] Amsterdam EA, Wenger NK, Brindis RG, et al. 2014 AHA/ACC Guideline for the management of patients with non-ST-elevation acute coronary syndromes: A report of the American college of cardiology/American heart association task force on practice guidelines [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2014, 64(24): e139-228.
- [14] Valgimigli M, Bueno H, Byrne RA, et al. 2017 ESC focused update on dual antiplatelet therapy in coronary artery disease developed in collaboration with EACTS: The task force for dual antiplatelet therapy in coronary artery disease of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) [J]. *Eur Heart J*, 2018, 39(3): 213-260.
- [15] Cattaneo M. ADP Receptor antagonists [M]// *Platelets*, 2007: 1127-1144.
- [16] Levine GN, Bates ER, Bittl JA, et al. 2016 ACC/AHA guideline focused update on duration of dual antiplatelet therapy in patients with coronary artery disease: A report of the American college of cardiology/American heart association task force on clinical practice guidelines [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2016, 68(10): 1082-1115.
- [17] Wiviott SD, Braunwald E, Angiolillo DJ, et al. Greater clinical benefit of more intensive oral antiplatelet therapy with prasugrel in patients with diabetes mellitus in the trial to assess improvement in therapeutic outcomes by optimizing platelet inhibition with prasugrel-Thrombolysis in Myocardial Infarction 38 [J]. *Circulation*, 2008, 118(16): 1626-1636.
- [18] Motovska Z, Hlinomaz O, Miklik R, et al. Prasugrel versus ticagrelor in patients with acute myocardial infarction treated with primary percutaneous coronary intervention: clinical perspective [J]. *Circulation*, 2016, 134(21): 1603-1612.
- [19] Aungraheeta R, Conibear A, Butler M, et al. Inverse agonism at the P2Y12 receptor and ENT1 transporter blockade contribute to platelet inhibition by ticagrelor [J]. *Blood*, 2016, 128(23): 2717-2728.
- [20] Choi KN, Jin HY, Shin HC, et al. Comparison of the antiplatelet effects of once and twice daily low-dose ticagrelor and clopidogrel after percutaneous coronary intervention [J]. *Am J Cardiol*, 2017, 120

- (2): 201–206.
- [21] Wallentin L, Becker RC, Budaj A, et al. Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes [J]. *N Engl J Med*, 2009, 361(11): 1045–1057.
- [22] Bonaca MP, Bhatt DL, Cohen M, et al. Long-term use of ticagrelor in patients with prior myocardial infarction [J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(19): 1791–1800.
- [23] Ding Z, Kim S, Kunapuli SP. Identification of a potent inverse agonist at a constitutively active mutant of human P2Y₁₂ receptor [J]. *Mol Pharmacol*, 2006, 69(1): 338–345.
- [24] Zhang Y, Ye J, Hu L, et al. Increased platelet activation and thrombosis in transgenic mice expressing constitutively active P2Y₁₂ [J]. *J Thromb Haemost*, 2012, 10(10): 2149–2157.
- [25] Hu L, Chang L, Zhang Y, et al. Platelets express activated P2Y₁₂ receptor in patients with diabetes [J]. *Circulation*, 2017, 136(9): 817–833.
- [26] Kernan WN, Ovbiagele B, Black HR, et al. Guidelines for the prevention of stroke in patients with stroke and transient ischemic attack: A guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association [J]. *Stroke*, 2014, 45(7): 2160–2236.
- [27] Huang Y, Cheng Y, Wu J, et al. Cilostazol as an alternative to aspirin after ischaemic stroke: A randomised, double-blind, pilot study [J]. *Lancet Neurol*, 2008, 7(6): 494–499.
- [28] Shinohara Y, Katayama Y, Uchiyama S, et al. Cilostazol for prevention of secondary stroke (CSPS 2): An aspirin-controlled, double-blind, randomised non-inferiority trial [J]. *Lancet Neurol*, 2010, 9(10): 959–968.
- [29] Han Y, Li Y, Wang S, et al. Cilostazol in addition to aspirin and clopidogrel improves long-term outcomes after percutaneous coronary intervention in patients with acute coronary syndromes: A randomized, controlled study [J]. *Am Heart J*, 2009, 157(4): 733–739.
- [30] Lee SW, Park SW, Kim YH, et al. A randomized, double-blind, multicenter comparison study of triple antiplatelet therapy with dual antiplatelet therapy to reduce restenosis after drug-eluting stent implantation in long coronary lesions results from the DECLARE-LONG II (drug-eluting stenting followed by cilostazol treatment reduces late restenosis in patients with long coronary lesions) trial [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2011, 57(11): 1264–1270.
- [31] Chen KY, Rha SW, Li YJ, et al. Triple versus dual antiplatelet therapy in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention [J]. *Circulation*, 2009, 119(25): 3207–3214.
- [32] Tang YD, Wang W, Yang M, et al. Randomized comparisons of double-dose clopidogrel or adjunctive cilostazol versus standard dual antiplatelet in patients with high post-treatment platelet reactivity: Results of the CREATIVE trial (clopidogrel response evaluation and anti-platelet intervention in high thrombotic risk PCI patients) [J]. *Circulation*, 2018, 118(4): 357–369.
- [33] Singh M, Bhatt DL, Stone GW, et al. Antithrombotic approaches in acute coronary syndromes: Optimizing benefit vs bleeding risks [J]. *Mayo Clin Proc*, 2016, 91(10): 1413–1447.
- [34] Bergmeijer TO, Godschalk TC, Janssen PWA, et al. How long does it take for clopidogrel and ticagrelor to inhibit platelets in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention? A detailed pharmacodynamic analysis: Time Course of Platelet Reactivity in STEMI (TOPS) [J]. *Semin Thromb Hemost*, 2017, 43(4): 439–446.
- [35] Franchi F, Rollini F, Angiolillo DJ. Antithrombotic therapy for patients with STEMI undergoing primary PCI [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2017, 14(6): 361–379.
- [36] Bhatt DL, Grosser T, Dong JF, et al. Enteric coating and aspirin nonresponsiveness in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2017, 69(6): 603–612.
- [37] Doyle BJ, Rihal CS, Gastineau DA, et al. Bleeding, blood transfusion, and increased mortality after percutaneous coronary intervention: Implications for contemporary practice [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2009, 53(22): 2019–2027.
- [38] Chen L, Han L, Hu L, et al. Preparation and characterization of solid dispersion of novel dual

- antiplatelet agent BF061 for oral use [J]. *J Drug Deliv Sci Tec*, 2018, 43(31): 8-18.
- [39] Pan C, Wei X, Ye J, et al. BF066, a novel dual target antiplatelet agent without significant bleeding [J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e40451.
- [40] Hu L, Fan Z, Du H, et al. BF061, a novel antiplatelet and antithrombotic agent targeting P2Y receptor and phosphodiesterase [J]. *Thromb Haemost*, 2011, 106(6): 1203-1214.
- [41] Zhang S, Zhang S, Hu L, et al. Nucleotide-binding oligomerization domain 2 receptor is expressed in platelets and enhances platelet activation and thrombosis [J]. *Circulation*, 2015, 131(13): 1160-1170.
- [42] Ridker PM, Everett BM, Thuren T, et al. Antiinflammatory therapy with canakinumab for atherosclerotic disease [J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(12): 1119-1131.
- [43] Suh JW, Lee SP, Park KW, et al. Multicenter randomized trial evaluating the efficacy of cilostazol on ischemic vascular complications after drug-eluting stent implantation for coronary heart disease: Results of the CILON-T (Influence of Cilostazol-based triple antiplatelet therapy ON ischemic complication after drug-eluting stent implantation) trial [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2011, 57(3): 280-289.
- [44] Shen B, Zhao X, O'Brien KA, et al. A directional switch of integrin signalling and a new anti-thrombotic strategy [J]. *Nature*, 2013, 503(7474): 131-135.
- [45] Lei X, Rehemian A, Hou Y, et al. Anfibatide, a novel GPIIb complex antagonist, inhibits platelet adhesion and thrombus formation in vitro and in vivo in murine models of thrombosis [J]. *Thromb Haemost*, 2014, 111(2): 279-289.
- [46] Bond RA, Ijzerman AP. Recent developments in constitutive receptor activity and inverse agonism, and their potential for GPCR drug discovery [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2006, 27(2): 92-96.
- [47] Milligan G. Constitutive activity and inverse agonists of G protein-coupled receptors: A current perspective [J]. *Mol Pharmacol*, 2003, 64(6): 1271-1276.
- [48] Katzung BG. Introduction: The nature of drugs & drug development & regulation. in: Katzung BG, Trevor AJ, eds. *basic & clinical pharmacology* [J]. *Pharmacology*, 14(8): 1-19.
- [49] Parker WA, Storey RF. Ticagrelor: Agonising over its mechanisms of action [J]. *Blood*, 2016, 128(23): 2595-2597.
- [50] Zocca P, van der Heijden LC, Kok MM, et al. Clopidogrel or ticagrelor in acute coronary syndrome patients treated with newer-generation drug-eluting stents: CHANGE DAPT [J]. *EuroIntervention*, 2017, 13(10): 1168-1176.
- [51] Writing Committee for the TSG, Berwanger O, Nicolau JC, et al. Ticagrelor vs Clopidogrel after fibrinolytic therapy in patients with ST-elevation myocardial infarction: A randomized clinical trial [J]. *JAMA Cardiol*, 2018, 12(4): 35-46.
- [52] Serebruany VL, Fortmann SD, Cherepanov V, et al. Excess ticagrelor mortality in the food and drug administration adverse event reporting system: Time to recount PLATO trial deaths [J]. *Am J Med*, 2017, 130(6): e245-e246.
- [53] Ungerer M, Rosport K, Bultmann A, et al. Novel antiplatelet drug revacept (Dimeric Glycoprotein VI-Fc) specifically and efficiently inhibited collagen-induced platelet aggregation without affecting general hemostasis in humans [J]. *Circulation*, 2011, 123(17): 1891-1899.
- [54] Wong PC, Seiffert D, Bird JE, et al. Blockade of protease-activated receptor-4 (PAR4) provides robust antithrombotic activity with low bleeding [J]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(371): eaaf5284.
- [55] Wilson SJ, Ismat FA, Wang Z, et al. PAR4 (Protease-Activated Receptor 4) antagonism with BMS-986120 inhibits human ex vivo thrombus formation [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2018, 38(2): 448-456.
- [56] Safety and efficacy study of a protease activated receptor-4 antagonist being tested to reduce the chances of having additional strokes or "mini strokes" [R/OL]. [2018-04-01]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02671461>.

(编辑 刘清海)