

溶栓剂的研发现状及展望*

李莹,陈斌,何正波

(重庆师范大学 生命科学学院 昆虫与分子生物学研究所 重庆高校生物活性物质工程研究中心
重庆高校动物生物学重点实验室,重庆 400047)

摘要:由血栓引起的血栓性疾病是一种常见的心脑血管疾病。溶栓剂是预防与治疗心脑血管疾病的主要抗血栓药物。本文总结性地概述了目前国内外各种新型溶栓剂的溶栓机理、临床应用效果及其副作用等。其中,第三代溶栓剂组织型纤溶酶原激活剂变体、导向溶栓剂、嵌合体溶栓剂,以及部分天然溶栓剂包括蝙蝠唾液纤溶酶原激活剂、蛇毒纤溶酶原激活剂、水蛭素及其变体等均通过将纤溶酶原激活为纤溶酶溶解血栓。临床实验结果表明它们在延长体内半寿期、增强对血纤维蛋白选择性和溶栓效率等方面有较大的改进,但溶栓治疗后的冠状动脉再堵塞,颅内出血等问题仍是目前未解决的难题,而纳豆激酶及豆豉纤溶酶由于溶栓原理的不同,引起内出血的几率较低。溶栓剂未来的发展方向为如何综合不同药物的优点,使其更加安全与廉价。

关键词:溶栓剂 现状 展望 血栓 纳豆激酶

中图分类号:R961

文献标识码:A

文章编号:1672-6693(2010)01-0069-05

由血栓引起的血栓性疾病是一种常见的心脑血管病,常表现为心肌梗死、缺血性脑梗死、静脉血栓栓塞,是中老年人易发的疾病之一,而且目前青年病人的数量也在上升。据世界卫生组织(WHO)估计,全世界每年死于心脑血管病的人数超过1 200万人。其中在美国,男性急性心肌梗死的死亡率达27%,女性为44%。^[1]在我国,每年需要进行溶栓治疗的人数超过300万,每年死于心脑血管疾病的人数约为200万人,占因病死亡总人数的40.7%,其比例远高于癌症,居各类死因之首^[2]。因此,心脑血管疾病已成为对人类健康的最大威胁之一。溶栓剂是预防与治疗心脑血管疾病的抗血栓药物,主要通过纤溶酶原激活剂激活纤维蛋白溶解酶原转化成纤维蛋白溶解酶,纤维蛋白溶解酶催化血栓的主要基质纤维蛋白水解,还有一些直接作用于纤维蛋白,使其水解,最终达到使血管再通的目的。在制定抗血栓形成的治疗策略时,首先要注意到溶栓剂治疗,因为溶栓剂可去除一个已形成的血栓,这种方法的优点是治疗后两周内死亡率较低。因此,寻找和研制效果好、副作用小的溶栓治疗药物,对于更有效地治疗严重危害人类健康的心脑血管疾病具有十分重要的意义^[3]。本文就溶栓剂的发展及目前新型溶栓剂的类型特点做了总结和概述,展望了溶栓剂进一

步发展的方向。

1 溶栓剂发展概述

从溶栓剂开始作为药物使用到现在,溶栓剂的开发基本分为3代^[4]。

第一代溶栓剂包括链激酶(SK)和尿激酶(UK)。链激酶因治疗后病人体内能保持4~6个月高抗体水平,作为一种细菌蛋白,重复治疗易引起过敏,重者导致病人死亡,因副作用较大,临床应用量逐年减少。而尿激酶近年的销售趋势稳中有升,约占国内溶栓药30%的市场份额。链激酶和尿激酶对栓塞性疾病均有一定的疗效,且价格便宜,已经列入我国国家医保甲类目录。这两个品种的主要不良反应是引起机体广泛出血,尤其是发生颅内出血的危险性很大。它们虽然具有较好的溶栓效果,但缺乏纤维蛋白选择性,除了能激活血栓表面的纤溶酶原外也能激活血浆中游离的纤溶酶原,使 α_2 -抗纤溶酶大量消耗及纤维蛋白原降解,产生全身性出血副作用^[5]。

组织型纤溶酶原激活剂(t-PA)、尿激酶原(pro-UK)和乙酰化纤溶酶原-链激酶激活剂复合物(AP-SAC)和葡激酶属于第二代溶栓剂。t-PA和pro-UK体外和动物实验中都有明显的纤维蛋白亲和性,出

* 收稿日期 2009-03-23 修回日期 2009-05-06

资助项目:重庆市自然科学基金重点项目(No. CSTC2008BA5030)

作者简介:李莹,女,硕士研究生,研究方向为基因工程,通讯作者:陈斌, E-mail: c_bin@hotmail.com

血副作用较小。APSAC 为链激酶的换代产品,在体外无溶栓活性,进入血液后,与纤维蛋白结合后发生脱酰基水解反应,形成有活性的 SK-纤溶酶原复合物,激活纤溶酶原。该类药物的纤溶作用均优于第一代溶栓药。但是总体来讲,无论是第一代还是第二代溶栓药物,都有纤维蛋白特异性差、体内半寿期短、需大剂量连续用药等缺点。

为了克服现有溶栓剂的不足,人们想方设法对现有的溶栓药物进行改造,即第三代溶栓剂,包括 STAR、rt-PA、K1K2Pu、K2P 和 TNK-PA 等,以及正在研制的新型溶栓剂。目前的研究方向是在增强或保持其催化活性的前提下,通过对某些特定氨基酸残基的突变或是通过相关结构域的删除、增加或融合等手段,达到以下目标:1) 提高对纤维蛋白的选择性;2) 提高对纤溶酶原激活剂抑制剂的抗性;3) 延长其在血液循环中的半寿期;4) 导向溶栓性能;5) 抗血栓形成。这些领域还有很多处于实验室研究阶段^[6]。

2 代表性新型溶栓剂

理想的溶栓剂应具备如下特点:高效(梗死动脉再通率高,并达到充分、持续再通)、安全(颅内出血发生率低)、低毒(无抗原性)、用药方便(如弹丸式给药法,且伴随用药简便)、易于获得、成本低廉等。可能的寻找途径:一是寻找符合上述特征的自然来源的溶栓药物,并将其转化为基因工程产品;二是用分子生物学理论和基因工程技术,对现有的溶栓剂进行分子重组和修饰,研制新型溶栓剂,使之符合上述特征。下面介绍几种目前有代表性的新型溶栓剂。

2.1 组织型纤溶酶原激活剂变异体

组织型纤溶酶原激活剂(Tissue type plasminogen activator, t-PA)是最经典的纤溶酶原激活剂,它是一种分子量 70 kD,由 527 个氨基酸残基组成的丝氨酸蛋白酶,基本分为 5 个独立的结构域:F 区、EGF 区、K1、K2 及蛋白酶区。Bennett 等研究发现 F 区、EGF 区和 K2 区的突变对血纤维蛋白的亲合性和刺激作用都有影响^[7]。此外 K2 区对血纤维蛋白的热稳定性及空间结构的维持也有重要贡献。另外 F 区和 EGF 区也与 t-PA 在血液中的清除速率有关^[8]。

目前已应用现代分子生物学技术对 t-PA 的 5 个结构功能区进行改造和优化,研制出了一系列 t-PA 变异体,它们是第三代溶栓剂的代表。其主要特点

为纤维蛋白特异性增强,抗纤溶酶原活化物抑制剂(Plasminogen activator inhibitor, PAI)活性增强,半衰期延长,便于静脉注射使用等。

1) r-PA(Retepase) r-PA 是由德国研制开发的 t-PA 突变体,它删除了 t-PA 中与体内清除有关的 F、E、K1 区,延长了半寿期,并且保留涉及赖氨酸结合、血纤维蛋白结合和依赖于血纤维蛋白的纤溶酶原激活作用的 K2 区^[9]。其特点是对纤维蛋白的结合力较 t-PA 下降 5 倍,从而使药物更易自由扩散到血凝块中,起效迅速,血栓更易被溶解,在同等溶栓能力时,所用剂量比 t-PA 小,但其对陈旧性血栓的溶解能力低于 t-PA;其半衰期较长,间隔 30 min 分两次静脉推注给药即可,且无需随体重调节剂量,给药方便^[10]。

2) Monteplase(E26010) Monteplase 是由日本研制开发的 t-PA 点突变体,其特点是激活纤溶酶原的能力在纤维蛋白存在时较无纤维蛋白时强 14.9 倍,作用持续,不产生抗体,半衰期长达 20 min 以上。动物模型显示其具有良好的再通率^[11]。

3) TNK-tPA(Tenecteplase, metalyse) TNK-tPA 是由美国研制开发的 t-PA 多点突变体,此突变体综合了提高血纤维蛋白专一性和降低对 PAI-1 敏感性的 KHR296-299 AAAA 突变(K),降低体内清除速率、半衰期延长的 Thr103Asn 突变(T)和缺乏高甘露糖侧链的 Asn117Gln 突变(N)^[12]。TNK-tPA 具有许多优良特性如半衰期长,仅需单次弹丸式静脉注射给药,纤维蛋白特异性增加 14 倍;PAI 活性增强 80 倍;几乎不影响机体凝血系统,内在致血栓作用小于其他纤溶酶原激活剂等^[13]。这些决定了其血管再通更迅速、更持久,血栓溶解作用更强、更完全,对富含血小板的血栓其作用更明显,并已得到多种动物实验证实。

4) n-PA(Lanoteplase) n-PA 是由美国研制开发的 t-PA 缺失和点突变体,其特点是对纤维蛋白的亲合力降低,但其溶栓活性增强;肝脏的清除率减慢,半衰期延长,可单次静脉给药,按体重调节剂量;其抗 PAI-1 活性增强,因而再闭塞率降低^[14]。

2.2 导向溶栓剂

导向溶栓是指将传统溶栓药物与抗纤维蛋白抗体或抗血小板表面蛋白抗体相结合形成复合物,因此该复合物既有血栓特异的结合位点,又有溶解血栓的效应位点,从而使溶栓药物导向性地浓集于血栓部位而发挥超强溶栓作用。导向溶栓是新型溶栓剂的研发热点,通常选择抗体和疗效均最强的药物

来进行基因重组,溶栓效力可增强几倍至几十倍,比如将单克隆抗体与来自蛇毒的溶纤酶相联接等,主要不足是这些复合物分子均有潜在的抗原性,价格昂贵,均尚未用于人体。

王红霞等研究用精-甘-天冬-丝氨酸(Arg-Gly-Asp-Ser, RGDS)肽修饰的脂质体作为载体包裹溶栓剂而实现导向溶栓,有较好的临床应用前景。RGDS肽与活化的血小板膜糖蛋白 II b/III a 受体相结合,是血栓形成的最后共同通路。RGDS肽分子量小,是机体内源性存在的物质(纤维蛋白原降解片段),无免疫原性,而脂质体为磷脂双层分子层组成的环行封闭囊泡,对身体无明显的毒副作用,无免疫原性,是用于构建导向溶栓分子复合物的优良选择,目前还在实验研究阶段^[15]。

Runge 等通过二硫键将 t-PA 与抗纤维蛋白的单克隆抗体 59D8 偶联,杂合分子对纤维蛋白亲和性是 UK 的 100 倍,是 t-PA 的 10 倍。体内实验则显示杂合分子的溶栓能力比 t-PA 强 2.8~9.6 倍。此外还将 scuPA-32k 与 59D8 通过分子重组构建了 rscu-PA-32k/59D8 嵌合分子的溶栓能力比 scuPA 提高了 6 倍,体内导向溶栓的性能明显增强,并具有一定的抗栓能力^[16]。

Tanake 等利用膜连蛋白 V(Annexin V)构建了另一类导向型溶栓分子。由于在血栓形成过程中血小板活化后暴露出大量的磷酸酰丝氨酸,而 Annexin V 对磷酸酰丝氨酸具有很强的亲和性。将 Annexin V 和 u-PA 的 B 链通过二硫键偶合到一起得到 Annexin-uPA,体外溶栓实验表明杂合分子的活性与 u-PA 相当,在大鼠肺栓塞的模型中的溶栓实验表明溶栓活性比 u-PA 高 3~4 倍^[17]。

Jiang 等着眼于血栓表面富含活化的血小板,将抗活化的血小板表面糖蛋白 GPIIb/IIIa 的单克隆抗体 SZ51,与低分子量尿激酶原(scuPA-32k)或尿激酶原(scuPA)融合后获得了嵌合分子,体外分析表明两种嵌合分子与血小板具有很高的亲和性^[18]。

另外, Ruef 等将抗纤维蛋白的单克隆抗体 59D8 和抗血小板表面糖蛋白 GPIIb/IIIa 的单克隆抗体 7E3 与尿激酶进行偶联,获得了抗纤维蛋白-抗血小板-尿激酶的偶合蛋白(BAAUC)。偶合分子对血小板、GPIIb/IIIa 以及纤维蛋白的亲和性分别是尿激酶的 10 倍、58 倍和 13 倍。偶合分子不但能高效地溶解富含纤维蛋白的血凝块,而且高效地溶解富含血小板的血栓,从而使导向溶栓的效果更明显、更理想^[19]。

2.3 嵌合体溶栓剂

将分别属于 2 种溶栓剂的不同结构域有选择地进行分子嵌合而构建成新的溶栓剂称为嵌合体溶栓剂,旨在结合 2 种溶栓剂的优点而提高溶栓效能,并减少或消除不良反应,是研制新型溶栓药物的又一新方向。现有的 K1K2Pu 嵌合体(Amediplase)为意大利 Menarini 公司研制开发,它是由 t-PA 分子上 K1 三角域和 K2 三角域(Ser1-Gln3, Asp87-Phe274)与单链尿激酶(scu-PA)分子上的丝氨酸蛋白酶域(Ser138-Leu411)构建而成的嵌合体。K1K2Pu 嵌合体兼有 t-PA 和 scu-PA 两种分子的优点,其半衰期较 t-PA 和 scu-PA 延长 6~20 倍,溶栓活性增强 3~16 倍,且不溶解纤维蛋白原,不激活全身溶栓系统。这些特性已在多种动物栓塞模型上得以证实,并开始进行 II 期临床试验^[20]。

2.4 天然溶栓剂

指的是天然存在的、非人工合成的具有溶栓活性的物质,可来源于微生物、动植物等。

1) 葡萄球菌激酶(Staphylokinase, Sak) Sak 是由金黄色葡萄球菌(Staphylococcus aureus)分泌的一种具有血纤维蛋白专一性,应用于临床并不会引起系统激活和出血副作用,是一个比较理想的纤溶酶原激活剂。由于其来源少且制剂纯度不高,现采用基因重组技术制成重组葡萄球菌激酶,即 r-Sak。r-Sak 不能直接将纤溶酶原转化为纤溶酶,而是与纤溶酶原形成复合物,该复合物无活性,只有在血栓表面微量纤溶酶的作用下,转变成 Sak-纤溶酶复合物,才能激活游离的纤溶酶原转化为纤溶酶而溶解血栓。r-Sak 的半衰期短,需 2 次静脉注射给药。作为来自细菌的蛋白, r-Sak 用于临床最大的缺陷是具有较强的抗原性。病人在用药一周后,会发生抗体介导的中和反应,抗原性较高导致了 STAR 在临床上不能连续注射,限制了其应用。如何降低该蛋白的抗原性就显得比较重要。近两年的研究发现其重组突变体 SY161 免疫原性降低,而溶栓效力不变,可弥补这一不足,现正处于 II 期临床试验阶段^[21]。此外, r-Sak 是目前分子量较小的溶栓药物,还可制成口服制剂用于血栓病的预防。国产 r-Sak 已初步完成了其 II 期临床试验^[22]。

2) 蝙蝠唾液纤溶酶原激活剂(DSPA, bat-PA) DSPA 是吸血蝙蝠唾液中的一种能促使伤口出血、血液流动的因子,其中 DSPA α 1 和 DSPA α 2 与人 t-PA 具有 85% 的同源性,但它们不含 K2 区和纤溶酶作用部位,在动物溶栓试验中, DSPA α 1 优于 t-PA,

其溶栓活性提高了 2.5 倍,半衰期延长了 3 倍,清除速率减慢了 4~8 倍。DSPA β 缺失 F 区,DSPA γ 缺失 F 和 E 区,与 t-PA 相比,这两种形式的纤溶酶原激活剂具有相当高的纤维蛋白特异性及较强的抗纤溶酶原激活剂抑制剂作用^[23]。虽具有潜在的免疫刺激性,但无变态反应发生。德国 PAION 公司研制开发了重组 DSPA α 1,商品名为 desmoteplase,半衰期长达 2.8 h,可确保单次静脉推注给药,其用于急性缺血性脑卒中溶栓治疗的 II 期临床试验证实,剂量为 125 mg/kg 的 desmoteplase 安全、有效,目前正处于 III 期临床试验阶段^[24]。

3) 蚓激酶(e-PA, Lumbrokinase) 正蚓科蚯蚓的水提取物有直接溶解纤维蛋白及纤溶酶原激活作用,被称为蚓激酶(e-PA)。中国科学院生物物理所研制了其口服胶囊制剂并已上市,目前国内外主要研究方向是将各种同工酶分离纯化,开发成水针剂型,并利用基因重组技术来生产 e-PA。我国已对脑梗塞患者完成了其胶囊制剂的 III 期临床试验,临床上主要用于防治缺血性脑血管疾病、纤维蛋白原增高及血小板凝集率增高等患者。国外动物实验发现 e-PA 对直径 3 mm 的微小移植血管具有良好的抗栓效应^[25]。

4) 蛇毒纤溶酶原激活剂(TSV-PA) 是我国首次发现的一种天然纤溶酶原激活剂,现已研制出重组产品。它是从竹叶青蛇毒中分离得到的专一激活纤溶酶原的蛋白酶,是一种典型的蛇毒丝氨酸蛋白酶,目前尚处于实验研究阶段。TSV-PA 只含有 t-PA 和尿激酶的催化结构域而不含有其他结构域,因此它只对纤溶酶原高度特异,缺乏与 PAI-1 相互作用的序列,具有天然抗 PAI-1 的能力^[26]。重组 TSV-PA 在兔脑血栓模型中显示了其良好的体内溶栓活性,对 AMI 的疗效有待进一步研究。

5) 水蛭素(Hirudin) 首先从欧洲医蛭的唾液中分离出来的,现在用重组 DNA 技术生产。水蛭素是含有 65 个氨基酸残基的小分子多肽,具有特异直接抑制凝血酶功能,不受活化的血小板影响。水蛭素和含 20 个氨基酸的水蛭肽均可用于冠脉形成术患者 4 312 例临床应用表明,水蛭肽或水蛭素组的出血及其它副作用的发生率均比肝素组低。水蛭素与拮抗剂 Integrelin 小剂量联合疗法,可使冠脉血流由单独使用水蛭素的 26 min 提高到 92 min,使血管再阻塞率下降至 25%。尽管水蛭素临床应用还不多,但由于它可延长或防止血管重新栓塞,比肝素具有更大优点,因此很有发展前景^[27]。

6) 纳豆激酶(Nattokinase, NK) 1987 年由须见洋行从日本传统食品纳豆中分离到的一种具有强烈纤溶活性的酶^[28]。该酶具有强大的溶栓效力,其溶栓时并不激活纤溶酶原,而是直接作用于纤维蛋白,同时能激活内皮细胞产生纤溶酶原激活剂而间接溶栓,其纤溶活性为纤溶酶的 4 倍以上。该酶可使重组 PAI-1 失活,其失活后引起的间接纤溶效果比直接纤溶效果强。它半衰期长,可静脉注射,临床用法简便;此外,它具有抗胰酶水解能力,且分子量小,是一个单链蛋白质,易于被消化道吸收^[29]。因此不仅可以静脉注射,制成口服剂型效果也好,并已经动物实验证实。而且,它来源于食品,无抗原性,安全性好,对纤维蛋白原不敏感,不水解血浆纤维蛋白质,故不易引起出血倾向;可用细菌进行液体发酵生产,造价低廉,若利用基因工程技术构建基因工程菌的方法还可大幅度提高产量,是一种十分理想的溶血栓药物。

7) 豆豉纤溶酶 我国研究人员从豆豉中分离出多种具有高度纤溶活性的酶,其半衰期长,无毒副作用,不引起内出血,具有十分重要的开发价值。其中,彭勇等从豆豉中首次筛选出具有纤溶酶活性的一株解淀粉芽孢杆菌 DC-4,发酵液纤溶活性达 520 IU/ml。DC-4 分泌的纤溶酶对纤维蛋白具有较高的底物特异性,能高效地溶解体外血栓,并且不水解血细胞。DC-4 纤溶酶分子量为 28 kD,与纳豆激酶的氨基酸同源性 86.5%,核苷酸同源性为 80%。豆豉纤溶酶在分子水平和生化特性上均与 NK 和 CK 存在差异,是一种新的纤溶酶^[30]。

3 展望

近年来,我国人口老龄化程度日益加剧,生活水平的逐步提高,血栓性疾病的发生率不断上升,我国的抗血栓药物市场销售规模自 2001 年以来一直稳步增长,2004 年市场增长率为 20.01%,2005 年抗血栓药物销售同比增长了 17.92%;到 2008 年,市场规模已扩充至 30 亿元以上^[31]。另外,抗血栓药物虽然品种繁多,但是离真正的安全、高效、低毒还有一定的距离。随着对溶栓剂分子空间结构和功能区域的研究,许多具有高效溶栓能力的新一代溶栓剂相继被开发出来,使用溶栓剂后带来的出血倾向,以及溶栓剂使用后再栓塞形成的趋势也在一定程度上得到克服。可是,应用现代分子生物学设计出的溶栓剂的高昂价格却不是我国普通民众所能够接受的。因此,研究开发低成本溶血栓药物具有显

著的经济效益和重大的社会意义。理想的溶栓剂是综合各种优点于一体的完美结合,将几个理想的溶栓剂的优点综合到一起的一种广阔发展前景的溶栓剂。这也正是大多数溶栓实验室现在需要去做的,总之,对溶栓剂的设计和开发有待于进一步探索。

参考文献:

- [1] American Heart Association. Statistical supplement[R]. Dallas :American Heart Association ,1997.
- [2] 刘永军. 基因工程产品 reteplase[OL]. (2002-07-23) [2009-03-01]. <http://www.hx863.com>.
- [3] Haber E ,Quertermous T ,Matsueda G R ,et al. Innovative approaches to plasminogen activator therapy[J]. Science , 1989 ,243(4887) :51-56.
- [4] Verstrete M. Third-generation thrombolytic drugs[J]. Drugs , 2000 ,109(1) :52-58.
- [5] 黄柄辉 ,陈春麟. 临床溶栓药 UK 与 SK 生化、药理和临床应用比较[J]. 生化药物杂志 ,1990 ,52(2) :19-22.
- [6] 焦建伟 ,茹炳根. 溶栓剂研究的新进展[J]. 生物工程研究进展 ,2002 ,22(1) :30-32.
- [7] Bennett W F ,Paoni N F ,Keyt B A. Isolation of baculovirus-derived secreted and full-length b-amyloid precursor protein[J]. Biol Chem ,1991 ,266 :5191-5201.
- [8] Noble S ,McTavish D. Reteplase[J]. Drugs ,1996 ,52(4) :589-605.
- [9] Verdraete M ,Lijnen H R ,Collen D. Thrombolytic agents development[J]. Drugs ,1995 ,50(1) :29-33.
- [10] Topol E J ,Ohman E M ,Armstrong P W ,et al. Survival outcomes 1 year after reperfusion therapy with either alteplase or reteplase for acute myocardial infarction :results from the global utilization of streptokinase and t-PA for occluded coronary arteries (GUSTO) III Trial[J]. Circulation , 2000 ,102 :1761-1765.
- [11] Inoue T ,Nishiki R ,Kageyama M ,et al. Long-term benefits of alteplase before coronary angioplasty in acute myocardial infarction[J]. Am J Cardiol ,2005 ,95(4) :506-508.
- [12] Keyt B A ,Paoni N F ,Rifino C J ,et al. A faster-acting and more potent form of tissue plasminogen activator[J]. Proc Natl Acad Sci USA ,1994 ,91 :3670-3674.
- [13] Cohen M ,Arjomand H ,Pollack C V. The evolution of thrombolytic therapy and adjunctive antithrombotic regimens in acute ST-segment elevation myocardial infarction [J]. Am J Emerg Med ,2004 ,22 :14-23.
- [14] Zeymer U ,Neuhaus K L. Lanoteplase :a viewpoint by uwe zeymer and karl-ludwig neuhaus[J]. BioDrugs ,2000 ,13 (3) :225-226.
- [15] 王红霞 ,杨慧 ,郝刚 ,等. 脂质体作为溶栓药物载体靶向抗血栓的实验研究[J]. 首都医科大学学报 ,2004 ,25 (3) :290-294.
- [16] Runge M S ,Harker L A ,Bode C ,et al. Enhanced thrombolytic and antithrombotic potency of a fibrin-targeted plasminogen activator in baboons[J]. Circulation ,1996 ,94 (6) :1412-1422.
- [17] Okabayashi K ,Tsujikawa M ,Morita M ,et al. Secretory production of recombinant urokinase-type plasminogen activator-annexin V chimeras in pichia pastoris[J]. Gene ,1996 ,177(1-2) :69-76.
- [18] Jiang P C ,Ruan C G ,Ru B G. Construction and expression of antibody targeted plasminogen activator[J]. Enzyme Microb Tech ,2000 ,27(10) :755-760.
- [19] Ruef J ,Nordt T K ,Peter K ,et al. A bispecific antifibrinolytic antiplatelet urokinase conjugate (BAAUC) induces enhanced clot lysis and inhibits platelet aggregation[J]. Thromb Haemost ,1999 ,82(1) :109-114.
- [20] 杨慧 ,董小黎 ,宋爱利 ,等. 溶栓剂构建新思路[J]. 中华老年心脑血管病杂志 ,2003 ,5(5) :354-355.
- [21] Toombs C F. New directions in thrombolytic therapy[J]. Curr Opin Pharmacol ,2001 ,1(2) :164-168.
- [22] Chen Y ,Song G ,Jiang F ,et al. Crystal structure of a staphylokinase variant :A model for reduced antigenicity [J]. Eur J Biochem ,2002 ,269 :705-711.
- [23] Verdraete M ,Lijnen H R ,Collen D. Thrombolytic agents development[J]. Drugs ,1995 ,50(1) :29-33.
- [24] Hacke W ,Albers G ,Al-rawi Y ,et al. The desmoteplase in acute ischemic stroke trial(DIAS) :a phase II MRI-based 9-hour window acute stroke thrombolysis trial with intravenous desmoteplase[J]. Stroke ,2005 ,36(1) :66-73.
- [25] Hwang C M ,Kim D I ,Huh S H ,et al. In vivo evaluation of lumbrinase ,a fibrinolytic enzyme extracted from lumbricus rubellus ,in a prosthetic vascular graft[J]. Cardiovasc Surg(Torino) ,2002 ,43(6) :891-894.
- [26] Zhang Y ,Isnera W ,Xiong Y ,et al. Purification ,characterization and molecular cloning[J]. BiolChem ,1995 ,270 :10246-10255.
- [27] Steven R D. Clinical utility of subcutaneous hirudins[J]. Am J Health-Syst Pharm ,2003 ,60(15) :527-531.
- [28] Sumih ,Hamadah ,Tsushimah. A novel fibrinolytic enzyme (nattokinase) in the vegetable cheese natto :a typical and popular soybean food in the Japanese diet[J]. Experientia , 1987 ,43(10) :1110-1111.
- [29] Sumih ,Hamadah ,Nakanishik ,et al. Enhancement of the fibrinolytic activity in plasma by oral administration of nattokinase[J]. ActaHaemato ,1990 ,84(1) :139-143.

[30] Peng Y ,Huang Q ,Zhang R H ,et al. Purification and characterization of a fibrinolytic enzyme produced by bacillus amyloliquefaciens DC-4 screened from douchi ,a traditional chinese soybean food[J]. *Comp Biochem Phys B* ,2003 ,

134 :45-52.

[31] 北京中经纵横经济研究院.《中国脑血栓项目市场调查报告(专项)》[R]. 北京 :北京中经纵横经济研究院 , 2009.

Recent Development and Perspective of Thrombolytic Drugs

LI Ying , CHEN Bin , HE Zheng-bo

(Institute of Entomology and Molecular Biology , Chongqing Engineering Research Center of Bioactive Substances , Chongqing Key Laboratory of Animal Biology , College of Life Science , Chongqing Normal University , Chongqing 400047 , China)

Abstract : Arterial thrombosis is the underlying cause of a wide variety of cerebro-cardiovascular diseases. All the currently used thrombolytic agents are very efficient in restoring the blood flow. The recent development in thrombolytic drugs , including the third-generation thrombolytic agents and natural thrombolytic agents , is presented in this article. The thrombolytic mechanism , adverse reaction and the clinical application of these drugs are especially introduced. Most of the third-generation thrombolytic agents are variants of tissue type plasminogen activator , such as reteplase , alteplase , tenecteplase and lanoteplase. All of them and some natural thrombolytic agents including staphylokinase , lumbrokinase and hirudin are plasminogen activators , which can convert plasminogen into plasmin and thus degrade fibrin. They have showed considerable potential with higher potency , specific thrombolytic activity , fibrin selectivity and longer half-life time , but all these agents suffer from a number of inadequacies including resistance to reperfusion , occurrence of coronary reocclusion and bleeding complications. The thrombolytic mechanism of nattokinase and fibrinolytic enzyme in douchi are specific , and they won 't cause bleeding complications. The further development of thrombolytic agents is how they can get safer and cheaper.

Key words : thrombolytic drug ; recent development ; perspective ; cerebro-cardiovascular ; nattokinase

(责任编辑 欧红叶)