

凝血因子VIIa及其抑制剂的研究进展

邵卓欣, 郑佳彤, 朱婉妮, 陈思雪, 林锦锟, 刘广渠*

湖州学院生命健康学院, 浙江 湖州

收稿日期: 2026年5月10日; 录用日期: 2026年5月25日; 发布日期: 2026年8月4日

摘要

凝血因子VIIa (FVIIa)是外源性凝血途径的关键启动因子,可与组织因子(TF)结合形成复合物,启动凝血级联反应,其异常激活与血栓形成、肿瘤进展等病理过程密切相关,是抗凝与抗肿瘤领域的重要靶点。文章系统综述了FVIIa的结构功能、TF-FVIIa复合物激活机制,总结国内外FVIIa抑制剂的研发进展、分子设计策略及构效关系,分析临床转化瓶颈与未来发展方向。研究表明,FVIIa依靠 γ -羧基谷氨酸(Gla)、表皮生长因子样(EGF)、丝氨酸蛋白酶三个结构域协同完成膜结合、TF识别与催化激活;目前已开发出PCI-27483、KB-FVIIa-004、mAb4F5等代表性抑制剂,但受出血风险、口服生物利用度低、靶点特异性不足、临床试验终点未达标等问题限制,尚无药物成功上市;基于结构的药物设计、构象限制、特异性氢键与静电互补调控等策略,可显著提升抑制剂活性、选择性与成药性。研究为开发高选择性、低出血风险的FVIIa靶向药物提供了理论参考与研究思路。

关键词

FVIIa, 抑制剂, TF-FVIIa

Research Progress on Coagulation Factor VIIa and Its Inhibitors

Zhuoxin Shao, Jiatong Zheng, Wannu Zhu, Sixue Chen, Jinkun Lin, Guangqu Liu*

School of Life and Health Sciences, Huzhou College, Huzhou Zhejiang

Received: May 10, 2026; accepted: May 25, 2026; published: August 4, 2026

Abstract

Coagulation factor VIIa (FVIIa) is a key initiator of the extrinsic coagulation pathway. It can bind to tissue factor (TF) to form a complex and initiate the coagulation cascade. Its abnormal activation is closely related to pathological processes such as thrombosis and tumor progression, making it

*通讯作者。

文章引用: 邵卓欣, 郑佳彤, 朱婉妮, 陈思雪, 林锦锟, 刘广渠. 凝血因子 VIIa 及其抑制剂的研究进展[J]. 药物化学, 2026, 14(3): 221-231. DOI: 10.12677/hjmce.2026.143022

an important target in the fields of anticoagulation and antitumor therapy. This paper systematically reviews the structure and function of FVIIa, the activation mechanism of the TF-FVIIa complex, summarizes the research progress, molecular design strategies, and structure-activity relationships of FVIIa inhibitors globally, and analyzes the clinical translation bottlenecks and future development directions. Studies have shown that FVIIa relies on three domains—the γ -carboxyglutamic acid (Gla) domain, the epidermal growth factor-like (EGF) domain, and the serine protease domain—to collaboratively complete membrane binding, TF recognition, and catalytic activation. At present, representative inhibitors including PCI-27483, KB-FVIIa-004, and mAb4F5 have been developed, but none of them has been successfully marketed due to limitations such as bleeding risk, low oral bioavailability, insufficient target specificity, and failure to meet clinical trial endpoints. Strategies including structure-based drug design, conformational restriction, specific hydrogen bonding, and electrostatic complementarity can significantly improve the activity, selectivity, and druggability of inhibitors. This research provides theoretical references and research ideas for the development of highly selective FVIIa-targeted drugs with low bleeding risk.

Keywords

FVIIa, Inhibitor, TF-FVIIa

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

凝血因子 VIIa (FVIIa)是外源性凝血途径的启动因子,通过与组织因子(TF)结合激活下游凝血级联反应,在生理性止血与病理性血栓形成中发挥关键作用[1]。靶向 FVIIa 已成为兼顾抗凝与止血平衡的重要策略,但现有抑制剂面临选择性不足与出血风险等挑战[2]。研究发现, FVIIa 的活性位点存在构象可塑性,这为设计全新的、口服利用度高的抗凝药物提供了理论依据[3]。近年来,结构生物学揭示了 TF-FVIIa 复合物独特的变构激活机制,为高选择性抑制剂设计提供了新思路[4]。本文系统综述 FVIIa 的结构功能与 TF-FVIIa 复合物的变构调控机制,总结小分子抑制剂及多肽类抑制剂的研究进展,并探讨基于结构的理性设计策略,以期为新型抗凝药物的研发提供参考。

2. FVIIa 的结构域

FVIIa 通过多种机制发挥促凝血作用,其中与 TF 结合并启动外源性凝血途径是其经典途径[5]。它和 TF 相互结合后,生成 TF-FVIIa 复合物,这类复合物可以快速激活凝血因子 X 与凝血因子 IX,分别转化为活化凝血因子 Xa 和活化凝血因子 IXa,还能进一步促成凝血酶的大量生成以及纤维蛋白凝块的成型[6]。该生理反应属于止血流程里的起始步骤,对血管出现损伤后快速完成凝血有着十分重要的意义[7]。上述经典凝血途径的启动,与 FVIIa 的特定结构域密不可分, FVIIa 的三维结构如图 1 所示(数据来源于 Protein Data Bank)。

FVIIa 与 FXa、FIXa 等分子具有结构相似性,均含有 γ -羧基谷氨酸(Gla)结构域、表皮生长因子样(EGF)结构域及丝氨酸蛋白酶结构域[8]。成熟的 FVIIa 为糖蛋白,由一个 Gla 结构域、两个 EGF 结构域和一个丝氨酸蛋白酶结构域所组成[8]。这些结构域的规整排布能保障 FVIIa 拥有完整生理功能,各类结构域相互配合,可赋予 FVIIa 专属的结合特性与催化作用。



Figure 1. FVIIa structure

图 1. FVIIa 的结构

2.1. Gla 结构域

Gla 结构域是 FVIIa 与磷脂膜结合的关键区域, 血管损伤时细胞膜表面暴露的磷脂酰丝氨酸和磷脂酰乙醇胺, 可为 FVIIa 提供特异性结合平台[9]。该结构域可结合三个镁离子与四个钙离子等多种金属离子[10], 这些金属离子能介导 FVIIa 与带负电荷的磷脂头部基团相互作用, 从而将 FVIIa 稳固锚定在细胞膜表面[9]。这种膜结合作用是 FVIIa 与 TF 形成有效复合物, 继而激活下游凝血因子的重要前提[7]。此外, 尽管 Gla 结构域的氨基酸序列具有高度保守性, 但研究证实其对磷脂酸等不同磷脂的结合存在选择性, 这类特质能够精细调控自身在生理状态下的膜定位与生物活性[11]。

2.2. EGF 结构域

FVIIa 包含两个 EGF 结构域, 即 EGF1 和 EGF2 [10], 这些结构域主要参与 FVIIa 与 TF 的结合。具体而言, EGF1 结构域能够结合一个钙离子, 这可能在 FVIIa 与 TF 的结合过程中发挥结构稳定作用或构象调节作用。TF 作为 FVIIa 的辅助因子, 其与 FVIIaEGF 结构域的相互作用是启动凝血级联反应的关键一步[4]。

2.3. 丝氨酸蛋白酶结构域

丝氨酸蛋白酶结构域是 FVIIa 的催化核心, 包含活性位点, 负责通过蛋白水解方式裂解并激活凝血级联中的其他因子[10]。在 FVII 被蛋白水解激活为 FVIIa 后, 该结构域变得活跃。它含有一个钠离子结合位点, 但由于钠离子和水在 X 射线晶体结构中电子密度的相似性, 区分其存在具有挑战性。FVIIa 的蛋白酶结构域具有显著的构象可塑性[12], 当 FVIIa 与 TF 结合时, 会发生显著的变构激活, 使其催化活性大幅增强, 这种构象变化是 FVIIa 高效激活其底物的基础[4]。Tesmer 等[3]通过原子模拟与 X 射线晶体学相结合的手段, 进一步解析了 FVIIa 活性位点的动态构象转换过程, 揭示了 S₁ 口袋¹从“塌陷”到“开放”的可逆转换机制, 这种构象可塑性在丝氨酸蛋白酶家族中可能具有普遍性。综合运用 NMR、X 射线晶体学、冷冻电镜等多种结构生物学手段, 可更全面地揭示 FVIIa 这类复杂蛋白的动态结构与功能

¹本文采用 Schechter-Berger 标准命名: P₁/P₂/P₃/P'为底物位点, S₁/S₂/S₃/S'为 FVIIa 对应结合口袋; 无'为剪切键 N 端, 带'为 C 端, 数字相同位点一一配对。

关联，为阐明其变构调控机制提供重要方法学支撑[13]。

3. TF-FVIIa 复合物的形成

FVII 在血液中通常以无活性的酶原形式循环存在，当血管损伤导致膜结合的 TF 暴露时，FVIIa 与 TF 结合形成 1:1 的复合物，这个复合物是启动外源性凝血途径的关键，TF-FVIIa 复合物在磷脂膜上的形成是凝血级联反应的关键一步。TF-FVIIa 复合物的形成将 FVIIa 从一种内在活性较差的酶转变为一种活跃的蛋白，能够有效地激活下游凝血酶原，如 FX 和 FIX [14]。Sedzro 等[4]的冷冻电镜研究已经解析了膜上 TF-FVIIa 与 FX 模拟物结合的复合物结构，揭示了其独特的变构机制。本研究还发现，TF 中一个富含丝氨酸的环区必须发生构象重排，才能允许 FX 的结构域在膜结合的 TF-FVIIa 复合物上正确定位并与之结合，这一发现为长期存在的 TF “加密/解密” 现象提供了分子层面的结构学解释。Banerjee 等[15]的分子动力学模拟研究表明，胆固醇和 TF 棕榈酰化主要通过增强蛋白质 - 蛋白质相互作用和蛋白质 - 脂质相互作用增强了 TF-FVIIa-FXa 三元复合物的结构刚性、稳定性和紧凑性。此外，磷脂酰丝氨酸的存在对复合物的稳定性至关重要，即使有胆固醇和棕榈酰化也无法完全替代磷脂酰丝氨酸的作用。

4. FVIIa 抑制剂的研究进展

针对 FVIIa 进行的靶向抑制，已经成了抗凝研究当中的一条重要路线。现阶段关于 FVIIa 抑制剂的研究体系也逐步完善，围绕 FVIIa 的激活和调控、新型抑制剂开发和抑制剂的临床转化等方向展开，研究内容正从基础探索向临床应用稳步推进，得益于结构生物学与药物筛选技术的发展，多种具有研究价值的候选抑制剂已被成功开发，为后续药物研发提供了重要支撑。

4.1. FVIIa 的激活和调控

FVIIa 的激活与调控机制是抑制剂研发的重要理论基础，相关研究围绕其构象可塑性及与 TF 的相互作用展开。Madsen 和 Olsen [12]采用原子模拟技术，阐明了 FVIIa 蛋白酶结构域存在构象柔性 - 刚性轴，未激活状态下的酶原会表现出比较明显的构象波动，而一旦与 TF 结合之后，这种状态就能被稳定在刚性更强的活性构象上，这些发现为阐释 FVIIa 的激活过程提供了结构理论依据。Zhang 等[16]进一步解析了 TF-FVIIa-BPTI 突变体三元复合物的高分辨率晶体结构，从而在原子水平上揭示了 TF 诱导 FVIIa 形成活性构象的分子机制，这些结果也为理性设计变构抑制剂提供了结构模板。

在上述研发基础上，研究者通过蛋白质工程构建了可不依赖 TF 即可维持高活性的可溶性 FVIIa 变体 (FVIIaDVQ²) [17]。其中，Sorensen 等[17]获得的 TF 非依赖型活化变体，为研究 FVIIa 的构象变化与活性调节规律以及不依赖 TF 时的催化特性提供了关键工具，针对该超活性变体开发的特异性抗体 mAb4F5 (见 4.2 节)，也进一步阐明 FVIIa 在不同状态下的结构与活性调控机制。

4.2. 新型抑制剂

随着结构生物学与药物筛选技术的发展，多种结构明确、作用机制清晰的 FVIIa 抑制剂相继被报道，代表性抑制剂主要包括小分子抑制剂与生物大分子抑制剂两大类。

4.2.1. PCI-27483

PCI-27483 属于苯酚类小分子 FVIIa 抑制剂(图 2)，能选择性抑制外源性凝血通路的启动因子 FVIIa，阻断凝血级联反应以发挥抗凝作用。临床前研究显示，适宜剂量下其抗凝效果能与临床常用的依诺肝素相当，I/II 期临床试验中，该药能将国际标准化比值控制到目标范围，验证了它延长凝血时间的抗凝活性[18]。与此

²FVIIa 的特定突变体，由关键氨基酸替换构建，存在特定构象差异，是 FVIIa 抑制剂研发中的重要研究对象。

同时, PCI-27483 可阻断 TF-FVIIa 复合物介导的下游信号通路, 抑制肿瘤的生长。Hisada 和 Mackman [19] 系统阐述了 TF 在肿瘤发生发展中的作用, 揭示了 TF-FVIIa 通路促进肿瘤增殖与转移的分子机制。动物实验中, PCI-27483 在胰腺肿瘤模型中能呈现出明显的肿瘤生长抑制效果[18], 基于这类研究成果, 该药已进入晚期胰腺癌患者的 I/II 期临床试验, 与吉西他滨联合使用, II 期临床研究进一步证实了它的抗肿瘤效果, 联合用药耐受性良好, 只是在延长患者生存期上, 未体现出优于吉西他滨单药的作用[20]。由此可见, PCI-27483 具备抗凝与抗肿瘤的双重作用, 为 FVIIa 抑制剂从抗凝领域向肿瘤治疗的拓展提供了药理学依据。

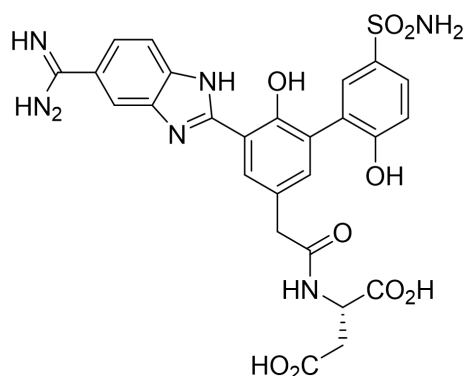


Figure 2. PCI-27483

图 2. PCI-27483

4.2.2. KB-FVIIa-004

KB-FVIIa-004 是从免疫 FVIIa 的美洲驼淋巴细胞构建的噬菌体库中筛选得到的抗 FVIIa 单域抗体。Ferrière 等[21]研究表明, 该抗体可特异性结合游离状态的 FVIIa, 同时又不会影响到已经与 TF 结合的 FVIIa 的活性, 这种选择性结合的特征有助于将病理性血栓形成和生理性止血过程区分开来, 也为开发高选择性的抗凝药物提供了一条新思路。Peyron 等[22]总结了驼源单域抗体在凝血与血栓领域的应用潜力, 肯定了其在诊断与治疗中的价值。但作为生物大分子, KB-FVIIa-004 也存在口服生物利用度低、潜在免疫原性及生产成本较高等问题, 这些问题在一定程度上限制了它的临床转化与规模化应用[21]。

4.2.3. mAb4F5

mAb4F5 是一种专门针对超活性变体 FVIIaDVQ 设计出来的抑制性抗体。Jiang 等[23]解析了 mAb4F5 与 FVIIaDVQ 形成的复合物晶体结构, 结果显示这种抗体可阻止激活环 N-末端插入激活口袋(图 3), 从而将 FVIIaDVQ 锁定在一个没有催化活性的酶原样构象上, 抑制效率能达到百分之九十九以上。mAb4F5 作为研究 FVIIa 变构调控的一种工具抗体, 它的结合机制能为设计低免疫原性的 FVIIa 变体提供结构与分子层面的基础。不过这种抗体对野生型 FVIIa 以及其它变体的抑制效果偏弱, 它对正常生理凝血过程到底能起到多大的调控作用, 仍然需要进一步的系统评价。

4.3. FVIIa 抑制剂的临床转化

FVIIa 抑制剂迟迟未上市, 原因是多方面的(表 1)。其中核心障碍是出血风险, 作为生理性凝血级联的关键启动因子[12], 即便是选择性的 FVIIa 抑制剂也有可能在一定程度上干扰到正常的凝血功能, 从而导致出血风险升高。如何在有效抗凝和最大程度避免出血这两者之间找到一个平衡点, 成了 FVIIa 抑制剂开发面临的核心挑战[24]。第二个方面的原因在于, 不少小分子抑制剂可能存在口服生物利用度差、代谢稳定性低或者清除速度较快等问题, 很难在体内达到有效的暴露量或者维持治疗所需的浓度。举个例子, 一些亲和力较高的 FVIIa 抑制剂可能因为 P₁ 位点需要碱性基团与 S₁ 结合口袋中的 Asp189 相互作用, 这种

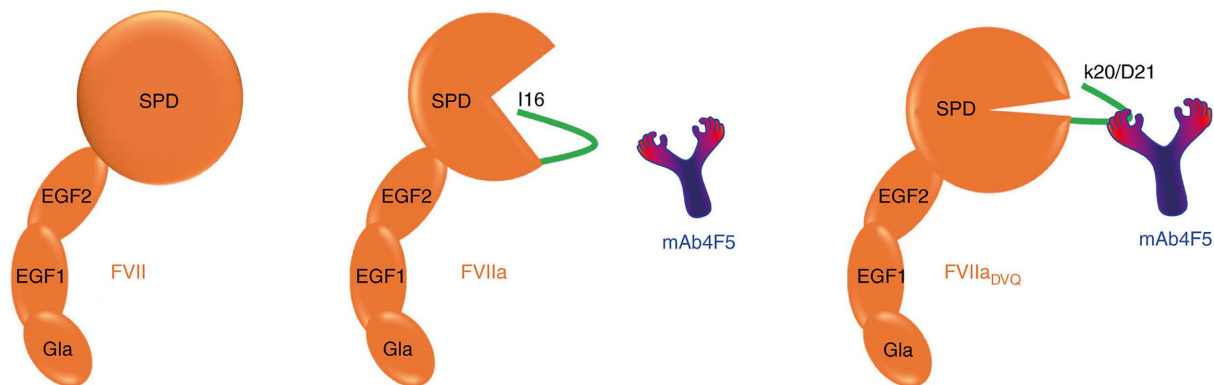


Figure 3. Schematic diagram of the inhibitory mechanism of mAb4F5 [23]
图 3. mAb4F5 抑制机制的示意图[23]

结构上的要求反而限制了它们的膜渗透性和口服活性[25]。值得注意的是，FVIIa 的 S_1 口袋可在不结合碱性 P_1 基团的“塌陷”状态下保持稳定，这一构象特征为突破传统 P_1 基团依赖的口服利用度限制提供了全新思路[3]。更复杂的一点是，TF-FVIIa 复合物本身具有多效性的生理与病理作用，除了参与凝血过程之外，它还涉及细胞信号传导、炎症反应以及血管生成等多种环节[23]，这就使得抑制剂的效应变得难以预测，也有可能带来一些意想不到的副作用。除此之外，现有的抑制剂很难做到特异性地抑制病理性凝血，同时又保留生理性的止血功能，它们在靶向特异性方面仍然存在不足[21]。最后一个方面的困难在于，FVIIa 抑制剂的临床试验设计比较繁琐，需要在疗效和安全性之间反复权衡，比如胰腺癌患者往往病情比较复杂，体内会同时存在高凝状态和出血倾向，这种矛盾的局面使得临床试验的难度进一步增加[20]。然而，上述多重障碍的深层根源可能在于：现有 FVIIa 抑制剂过度聚焦活性位点，忽视了靶点在不同病理背景下的生物学异质性。以 PCI-27483 为例，其临床失败并非源于活性不足，而是无法在肿瘤患者高凝与出血并存的矛盾中实现“病理 - 生理分离”，未来应转向靶向 TF-FVIIa 复合物的病理构象或变构位点。

Table 1. Reasons why FVIIa inhibitors are not marketed
表 1. FVIIa 抑制剂未上市的原因

原因类别	具体问题与机制
出血风险	FVIIa 为止血关键启动因子，抑制剂可能干扰凝血，需平衡疗效与出血风险
成药性不佳	小分子抑制剂口服利用度、代谢稳定性差； P_1 位点结构限制膜渗透性与口服活性
靶点多效性导致效应复杂	TF-FVIIa 复合物参与多生理病理过程，抑制剂效应难预测，易有副作用
靶点特异性不足	现有抑制剂无法特异性抑制病理作用、保留生理性止血功能
临床试验设计难度高	平衡疗效与安全性，适应症患者病情复杂，增加试验难度

5. FVIIa 抑制剂的分子设计

FVIIa 的选择性抑制能大幅降低凝血酶、FXa 抑制这类传统抗凝方式带来的出血隐患，在血栓类疾病的治疗中具备很高的应用价值[26]。想要实现这类治疗效果，开发高选择性、高效的 FVIIa 抑制剂成为核心挑战。FVIIa 作为丝氨酸蛋白酶，其活性位点主要由 S_1 、 S_2 、 S_3 三个特征口袋组成[27]，这为基于结构的药物设计提供了理论基础。例如，苯并咪唑类结构凭借其刚性骨架、氢键结合能力及代谢稳定性，被证实是匹配该活性口袋特征的优良分子[28]。本节将系统阐述 FVIIa 抑制剂的分子设计策略，内容涵盖先导化合物的发现、关键药效团的构效关系，以及以提升选择性与成药性为目标的优化路径。

5.1. 先导化合物的发现与优化

在 FVIIa 抑制剂研发中, 基于结构的药物设计是助力先导化合物转化为候选药物的关键手段, 该方法通过解析靶点 - 配体复合物三维结构, 系统指导分子结构优化, 以改善化合物活性、选择性与类药性。Priestley 等[29]以苯基吡咯烷为先导骨架, 利用分子模拟设计新型大环抑制剂, 筛选出对 TF-FVIIa 亲和力和达亚纳摩尔级($K_i = 1.6 \text{ nM}$)的高活性、高选择性化合物。在对先导化合物的优化过程中, Richter 等[30]通过多轮分子模拟与结构修饰, 使化合物达到亚纳摩尔抑制活性, 同时优化了代谢稳定性与膜通透性。这些研究在活性、选择性及药代特性层面, 验证了结构导向优化策略的实用价值, 也为口服 FVIIa 抑制剂的研发筑牢了研究基础。

除此之外, 基于片段的合理设计、性质导向的结构优化, 都是先导化合物演变的重要途径。Klingler 等[31]以苯并咪唑 - 胍结构作为核心的 P_1 结合片段, 借助经过系统优化的连接子将它和脲基母核相连, 得到了一批纳摩尔活性水平(FVIIa $K_i = 23 \sim 35 \text{ nM}$)的化合物, 显著提升了对 FVIIa 与凝血酶的选择性。为降低因 P_1 强碱性引发的脱靶隐患, Riggs 等[32]以 5-胍基苯并咪唑为改造起点, 采用碱性较弱的 5-氮杂吡啶替代原有的胍基, 再依托片段生长的改造方式, 最终得到了活性和选择性更为协调的非胍基新型先导化合物。这些研究共同表明, 合理搭配药效团、精细调控关键基团特性、优化分子连接单元, 可顺利把活性片段改造为具备良好选择性和类药性前景的 FVIIa 抑制剂候选分子。

5.2. 影响 FVIIa 抑制活性的关键结构

基于大量 FVIIa 抑制剂的结构与活性研究, 其抑制活性主要取决于分子各片段与 S_1 、 S_2 和 S_3 口袋的精确互补。丝氨酸蛋白酶拥有一个较深的 S_1 口袋, 其底部的酸性残基 Asp189 在催化过程中可与底物中碱性 Arg 侧链形成盐桥[33]。因此, 基于结构的药物设计原则要求抑制剂分子必须包含一个碱性的 P_1 基团(如脒基或氨基吡啶), 与 Asp189 形成关键盐桥[25]。Sahadeo 等[33]发现 S_1 口袋中的 Ser190 对于 FVIIa 的功能至关重要, 一些 FVIIa 抑制剂显示出与 Ser190 的氢键相互作用, 该相互作用显示出抗凝血活性的显著提升。此外, 一类代表性化合物为 2-芳基取代-4H-3,1-苯并恶嗪-4-酮类衍生物, 其中典型化合物为 2-(2,6-二氟苯基)-7-硝基-4H-3,1-苯并恶嗪-4-酮(图 4), 通过苯并恶嗪内酯选择性酰化 FVIIa 的 Ser195 起作用, 得出影响抑制剂活性的两个主要因素是存在于 2-芳基环上的电负性基团和位于 5、6、7 和 8 位的苯并恶嗪酮环。Shrader 等[34]在研究高选择性 FVIIa 抑制剂时发现, 在抑制剂分子的 P_3 区域引入一个羟基, 能够与 FVIIa 中 Lys192 的骨架羰基形成独特的氢键网络。这一相互作用被证实是赋予该系列抑制剂对 FVIIa 优异效力和选择性的关键结构基础。这充分说明, 针对 S_3 口袋进行精心的极性相互作用设计, 是优化 FVIIa 抑制剂结合亲和力与选择性的有效策略。

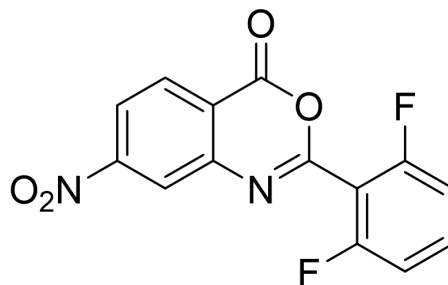


Figure 4. 2-(2,6-Difluorophenyl)-7-nitro-4H-3,1-benzoxazin-4-one

图 4. 2-(2,6-二氟苯基)-7-硝基-4H-3,1-苯并恶嗪-4-酮

5.3. 高选择性 FVIIa 抑制剂设计

FVIIa 抑制剂的研发初衷, 是通过调控凝血级联更上游的启动环节, 在保持抗凝效果的同时降低出血

风险。与之相比,FXa 处于共同通路的起始位置,其在凝血放大节中发挥核心作用,已成为当前抗凝药物(如直接Xa 抑制剂利伐沙班、阿哌沙班)的重要靶点[35]。同样,处于级联终点的凝血酶亦是成熟靶点,以其为靶点的小分子直接抑制剂(如达比加群酯)也已广泛应用[36]。然而,这类以FXa 和凝血酶为靶点的抗凝药物在临床应用中伴随出血风险,因此研究者将目光转向其上游靶点FVIIa,以期通过更早期的干预实现更安全的抗凝治疗。这种靶点上移的思路,核心是区分病理性血栓和生理性止血,也已在上游靶点FXIa 中得到验证[37]。III 期临床试验结果显示,FXIa 抑制剂asundexian 联合抗血小板治疗可将非心源性栓塞性缺血性卒中患者的再发卒中风险降低26%,且未增加大出血风险[38]。此外,针对房颤患者,abelacimab、asundexian 和milvexian 等多种FXIa 抑制剂正处于不同阶段的临床开发中[39]。FXIa/FVIIa 抑制剂这类全新抗栓药物,在II 期临床中已显示出减少出血风险的潜力,为FVIIa 抑制剂的设计提供了“止血-抗分离”的成功范例[40]。实现这种分离的分子基础在于:FVIIa 的活性高度依赖TF 的时空表达——生理状态下TF 受严格调控,仅短暂暴露于血管损伤处;而病理状态下,TF 持续高表达且呈“解密”构象,与FVIIa 形成更稳定的复合物。此外,FVIIa 的S₁ 口袋可呈现独特的“塌陷”构象,该构象仅出现在TF 结合后的活性态中,为变构抑制剂区分病理与生理状态提供了结构靶点[41]。这证明,精准调控凝血上游环节,是打破传统抗凝治疗安全局限的核心研究方向。因此,针对更上游的起始靶点FVIIa,开发高选择性抑制剂具有重要的临床价值与研发需求。

FXa、FVIIa 等丝氨酸蛋白酶结构高度相似,提高选择性是避免干扰正常凝血功能、降低脱靶毒性的核心挑战,目前已出现多种理性设计策略以解决此问题。构象限制设计是其中的策略之一,通过在分子中引入刚性环结构,可固定其构象,减少与非靶蛋白的非特异性结合,从而提升对FVIIa 的选择性。Glunz 等[42]基于该策略,通过引入构象限制,将分子稳定在特定的阻转异构构型(图5),使分子中的甲基能够与FVIIa 的S₂ 口袋发生特异性相互作用。所制备的大环抑制剂经NMR 表征证实主要以所需构象存在,显著提高其选择性。Shrader 等[34]开发了一类苯并咪唑衍生物(图6),虽然这类TF-FVIIa 抑制剂安全性良好,但其体内保留时间较短。该研究证实基于苯并咪唑母核优化可获得高选择性FVIIa 抑制剂,其较高的安全性体现了上游靶点潜在的出血风险优势[43]。

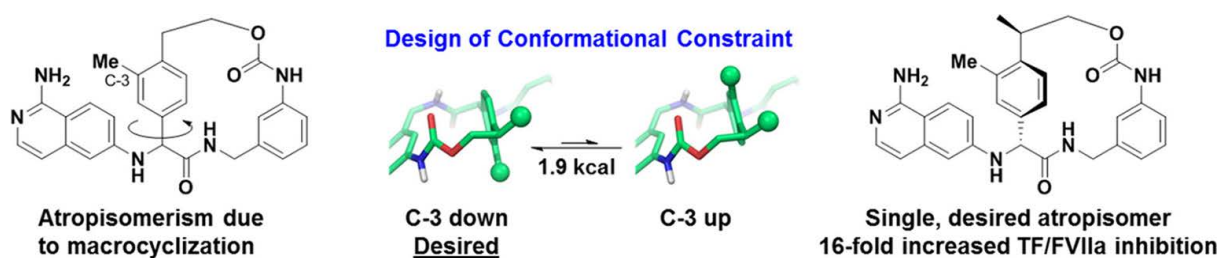


Figure 5. Conformational design limitations [42]

图5. 构象设计限制[42]

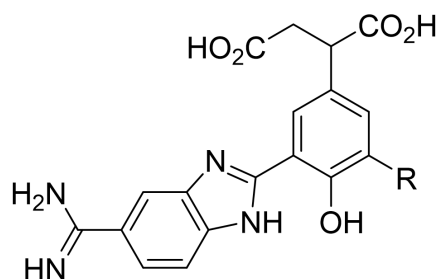


Figure 6. Benzimidazole derivative

图6. 苯并咪唑衍生物

除此之外,和活性位点特有残基形成新增氢键,是提升选择性的有效方式。Shrader 等[34]发现,在5-氨基-2-(2-羟基联苯-3-基)-苯并咪唑衍生物的结构优化过程中,在联苯基远端芳环的特定位置引入2'-羟基,能够同时大幅提升化合物对 FVIIa 的抑制作用与靶点选择性。机制研究显示,该羟基可作为关键极性基团和 FVIIa 活性口袋内 Lys192 残基形成特异性氢键,通过稳定配体靶点复合物构象、强化结合定向性,实现精准的靶向抑制,减少与其他丝氨酸蛋白酶的非特异性结合。

随着结构生物学与计算药物设计的发展,FVIIa 抑制剂的选择性设计,已从简单的极性基团修饰,进阶到对靶点静电匹配特性的精细调控与运用。Kadono 等[44]在 2.6 Å 分辨率下解析了人源 FVIIa 可溶性 TF 与高选择性肽类抑制剂的三元复合物晶体结构,从原子水平揭示了静电相互作用在选择性识别中的核心作用。研究结果证实,抑制剂分子在结合界面处发生的电荷反转,可与 FVIIa 活性位点区域形成高度匹配的静电互补分布,既能实现对 FVIIa 的专属识别,又能规避和 FXa、凝血酶等同源蛋白酶的交叉结合,该作用机制也是抑制剂具备超高选择性的重要结构依据。

这类理性设计思路足以说明,借助构象限制、优化极性作用、静电适配的方式,能将 FVIIa 抑制剂改良成活性强、选择性好且成药潜力佳的候选分子,也为研制更安全新型抗凝药物筑牢了基础。

6. 总结

本文系统梳理了 FVIIa 的结构功能、TF-FVIIa 复合物的作用机制以及 FVIIa 抑制剂的研究与分子设计进展。FVIIa 作为外源性凝血途径的起始因子,通过 Gla 结构域锚定磷脂膜、EGF 结构域结合 TF、丝氨酸蛋白酶结构域发挥催化作用,三者协同实现凝血启动与信号传导,且该靶点活性区域存在 S₁ 口袋可逆开合的构象可塑性,是介导其激活状态转变的关键结构基础。国内外已形成小分子抑制剂、单域抗体、特异性抗体等多条研发路线,但出血风险、成药性不佳、靶点选择性不足、临床试验设计复杂等问题,成为临床转化的主要障碍。基于结构的理性设计、片段优化、构象限制及氢键/静电互补调控,是提升抑制剂效力与安全性的核心手段。FVIIa 抑制剂在抗凝、抗肿瘤及肿瘤相关血栓防治中具有重要应用前景,未来需依托冷冻电镜、分子模拟等技术深化变构调控机制研究,靶向病理状态下特有构象开展药物研发,聚焦“病理凝血-生理止血分离”开发高选择性分子,结合制剂改良与多学科优化,突破临床转化瓶颈,推动 FVIIa 靶向药物早日应用于疾病治疗。

基金项目

浙江省大学生创新创业训练计划项目(项目编号: S202513287051)。

参考文献

- [1] Wolberg, A.S. and Mast, A.E. (2012) Tissue Factor and Factor VIIa—Hemostasis and beyond. *Thrombosis Research*, **129**, S1-S4. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2012.02.017>
- [2] Sakariassen, K.S. and Örnning, L. (2007) Validation of the Human Tissue Factor/FVIIa Complex as an Antithrombotic Target and the Discovery of a Synthetic Peptide. *Future Cardiology*, **3**, 249-262. <https://doi.org/10.2217/14796678.3.3.249>
- [3] Tesmer, L., Matter, H., Klingler, O., Schudok, M., Hessler, G., Mehdipour, A.R., *et al.* (2026) Nonstandard Factor VIIa Binding Mode Reveals S1 Pocket Plasticity in Trypsin-Like Proteases. *ChemMedChem*, **21**, e202500846. <https://doi.org/10.1002/cmdc.202500846>
- [4] Sedzro, J.C., Photenhauer, A.L., Birkle, F., Meze, K., Mortenson, A., Duckworth, C., *et al.* (2025) Cryo-EM Structure of the Tissue Factor/Factor VIIa Complex with a Factor X Mimetic Reveals a Novel Allosteric Mechanism. *Blood*, **146**, 2833-2842. <https://doi.org/10.1182/blood.2025029430>
- [5] Wood, J.P. (2021) Factor VIIa Is Not Just a Factor X Activator. *Blood*, **137**, 3324-3325. <https://doi.org/10.1182/blood.2021010839>
- [6] Muller, M.P., Mortenson, A., Sedzro, J.C., Wen, P., Morrissey, J.H. and Tajkhorshid, E. (2025) Membrane-Bound Model

- of the Ternary Complex between Factor VIIa/Tissue Factor and Factor X. *Blood Advances*, **9**, 729-740. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2024014845>
- [7] Luchini, A., Tidemand, F.G., Araya-Secchi, R., Campana, M., Cárdenas, M. and Arleth, L. (2022) Structural Model of Tissue Factor (TF) and TF-Factor VIIa Complex in a Lipid Membrane: A Combined Experimental and Computational Study. *Journal of Colloid and Interface Science*, **623**, 294-305. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2022.04.147>
- [8] Mashayekhi, A. and Ghasemi, E. (2022) Coagulation Factor VII: Genetic, Molecular, and Clinical Characteristics. *Trends in Medical Sciences*, **2**, e128397. <https://doi.org/10.5812/tms-128397>
- [9] Sengupta, T., Koklic, T., Lentz, B.R. and Majumder, R. (2021) Phosphatidylserine and Phosphatidylethanolamine Regulate the Structure and Function of FVIIa and Its Interaction with Soluble Tissue Factor. *Bioscience Reports*, **41**, BSR20204077. <https://doi.org/10.1042/bsr20204077>
- [10] Vadivel, K., Schmidt, A.E., Cascio, D., Padmanabhan, K., Krishnaswamy, S., Brandstetter, H., et al. (2021) Structure of Human Factor VIIa-Soluble Tissue Factor with Calcium, Magnesium and Rubidium. *Acta Crystallographica Section D Structural Biology*, **77**, 809-819. <https://doi.org/10.1107/s2059798321003922>
- [11] Muller, M.P., Morrissey, J.H. and Tajkhorshid, E. (2022) Molecular View into Preferential Binding of the Factor VII Gla Domain to Phosphatidic Acid. *Biochemistry*, **61**, 1694-1703. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.2c00266>
- [12] Madsen, J.J. and Olsen, O.H. (2021) Conformational Plasticity-Rigidity Axis of the Coagulation Factor VII Zymogen Elucidated by Atomistic Simulations of the N-Terminally Truncated Factor VIIa Protease Domain. *Biomolecules*, **11**, Article 549. <https://doi.org/10.3390/biom11040549>
- [13] Cerofolini, L., Fragai, M., Ravera, E., Diebold, C.A., Renault, L. and Calderone, V. (2019) Integrative Approaches in Structural Biology: A More Complete Picture from the Combination of Individual Techniques. *Biomolecules*, **9**, Article 370. <https://doi.org/10.3390/biom9080370>
- [14] Sorensen, A.B., Madsen, J.J., Frimurer, T.M., Overgaard, M.T., Gandhi, P.S., Persson, E., et al. (2019) Allosteric in Coagulation Factor VIIa Revealed by Ensemble Refinement of Crystallographic Structures. *Biophysical Journal*, **116**, 1823-1835. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2019.03.024>
- [15] Banerjee, S. and Sen, P. (2023) A Molecular Dynamics Simulation Study to Understand the Effect of Cholesterol and Tissue Factor Palmitoylation on Tissue Factor-Factor VIIa-Factor Xa Ternary Complex in Different Lipid Environments. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, **21**, 917-932. <https://doi.org/10.1016/j.jtha.2022.12.020>
- [16] Zhang, E., St. Charles, R. and Tulinsky, A. (1999) Structure of Extracellular Tissue Factor Complexed with Factor VIIa Inhibited with a BPTI Mutant. *Journal of Molecular Biology*, **285**, 2089-2104. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1998.2452>
- [17] Sorensen, A.B., Tuneew, I., Svensson, L.A., Persson, E., Østergaard, H., Overgaard, M.T., et al. (2020) Beating Tissue Factor at Its Own Game: Design and Properties of a Soluble Tissue Factor-Independent Coagulation Factor VIIa. *Journal of Biological Chemistry*, **295**, 517-528. <https://doi.org/10.1074/jbc.ra119.009183>
- [18] Ramanathan, R.K., Chadha, M., Gressler, V., Shah, S., Loury, D., Hamdy, A., et al. (2011) Phase I/II Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Study of PCI-27483, a Coagulation Factor VIIa (FVIIa) Inhibitor, in Patients with Advanced Pancreatic Cancer Receiving Treatment with Gemcitabine. *Journal of Clinical Oncology*, **29**, e14610. https://doi.org/10.1200/jco.2011.29.15_suppl.e14610
- [19] Hisada, Y. and Mackman, N. (2019) Tissue Factor and Cancer: Regulation, Tumor Growth, and Metastasis. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, **45**, 385-395. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1687894>
- [20] Ramanathan, R.K., Thomas, G.W., Khorana, A.A., Shah, S., Zhou, C., Wong, S., et al. (2019) A Phase 2 Study of PCI-27483, a Factor VIIa Inhibitor in Combination with Gemcitabine for Advanced Pancreatic Cancer. *Oncology*, **96**, 217-222. <https://doi.org/10.1159/000495988>
- [21] Ferrière, S., Kaweck, C., Ottavi, J., Denis, C.V., Kauskot, A., Christophe, O.D., et al. (2019) A Single-Domain Antibody That Blocks Factor VIIa Activity in the Absence but Not Presence of Tissue Factor. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, **17**, 2035-2046. <https://doi.org/10.1111/jth.14615>
- [22] Peyron, I., Kizlik-Masson, C., Dubois, M.D., Atsou, S., Ferrière, S., Denis, C.V., et al. (2020) Camelid-Derived Single-Chain Antibodies in Hemostasis: Mechanistic, Diagnostic, and Therapeutic Applications. *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis*, **4**, 1087-1100. <https://doi.org/10.1002/rth2.12420>
- [23] Jiang, L., Xie, X., Li, J., Persson, E. and Huang, M. (2019) Crystal Structure, Epitope, and Functional Impact of an Antibody against a Superactive FVIIa Provide Insights into Allosteric Mechanism. *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis*, **3**, 412-419. <https://doi.org/10.1002/rth2.12211>
- [24] Wurtz, N.R., Parkhurst, B.L., Jiang, W., DeLucca, I., Zhang, X., Ladziata, V., et al. (2016) Discovery of Phenylglycine Lactams as Potent Neutral Factor VIIa Inhibitors. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, **7**, 1077-1081. <https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.6b00282>

- [25] Wurtz, N.R., Parkhurst, B.L., DeLucca, I., Glunz, P.W., Jiang, W., Zhang, X., *et al.* (2017) Neutral Macrocyclic Factor VIIa Inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **27**, 2650-2654. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.04.008>
- [26] Choudhari, P. and Bhatia, M. (2012) Development of N-Phenyl-3-Pyridin-2-yl Imino Derivatives as Anticoagulants Potential Factor VIIa Inhibitors. *Journal of the Chilean Chemical Society*, **58**, 1667-1673.
- [27] Banner, D.W., D'Arcy, A., Chène, C., Winkler, F.K., Guha, A., Konigsberg, W.H., *et al.* (1996) The Crystal Structure of the Complex of Blood Coagulation Factor VIIa with Soluble Tissue Factor. *Nature*, **380**, 41-46. <https://doi.org/10.1038/380041a0>
- [28] Venugopal, S., Kaur, B., Verma, A., Wadhwa, P. and Sahu, S.K. (2023) A Review on Modern Approaches to Benzimidazole Synthesis. *Current Organic Synthesis*, **20**, 595-605. <https://doi.org/10.2174/1570179420666221010091157>
- [29] Priestley, E.S., Cheney, D.L., DeLucca, I., Wei, A., Luetttgen, J.M., Rendina, A.R., *et al.* (2015) Structure-Based Design of Macrocyclic Coagulation Factor VIIa Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, **58**, 6225-6236. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00788>
- [30] Richter, J.M., Cheney, D.L., Bates, J.A., Wei, A., Luetttgen, J.M., Rendina, A.R., *et al.* (2017) Design and Synthesis of Novel Meta-Linked Phenylglycine Macrocyclic FVIIa Inhibitors. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, **8**, 67-72. <https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.6b00375>
- [31] Klingler, O., Matter, H., Schudok, M., Bajaj, S.P., Czech, J., Lorenz, M., *et al.* (2003) Design, Synthesis, and Structure-Activity Relationship of a New Class of Amidinophenylurea-Based Factor VIIa Inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **13**, 1463-1467. [https://doi.org/10.1016/s0960-894x\(03\)00168-9](https://doi.org/10.1016/s0960-894x(03)00168-9)
- [32] Riggs, J.R., Hu, H., Kolesnikov, A., Leahy, E.M., Wesson, K.E., Shrader, W.D., *et al.* (2006) Novel 5-Azaindole Factor VIIa Inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **16**, 3197-3200. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2006.03.049>
- [33] Sahadeo, K.S., Balkrishna, C.P., Suresh, P.V., Manish, B.N. and Sudesh, B.M. (2017) Factor VIIa and Factor IXa Inhibitors as Anticoagulants: A Review. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, **51**, 1-8. <https://doi.org/10.5530/ijper.51.1.1>
- [34] Shrader, W.D., Kolesnikov, A., Burgess-Henry, J., Rai, R., Hendrix, J., Hu, H., *et al.* (2006) Factor VIIa Inhibitors: Gaining Selectivity within the Trypsin Family. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **16**, 1596-1600. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2005.12.040>
- [35] 陈浩, 王永庆, 孟玲, 等. 凝血因子 Xa 抑制剂研究进展[J]. 药学与临床研究, 2013, 21(6): 655-659.
- [36] 赵冰, 于敏, 莫炜. 小分子直接凝血酶抑制剂研究进展[J]. 药物生物技术, 2015, 22(1): 64-68.
- [37] 雷洋, 边原, 廖健婷, 等. 基于凝血因子 XI 的血栓防治新药研究进展[J]. 医药导报, 2025, 44(3): 452-458.
- [38] Sharma, M., Dong, Q., Hirano, T., Kasner, S.E., Saver, J.L., Masjuan, J., *et al.* (2026) Asundexian for Secondary Stroke Prevention. *New England Journal of Medicine*, **394**, 1467-1479. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2513880>
- [39] Raffo, C., Di Leo, G. and Capodanno, D. (2025) Factor XI Inhibitors and Atrial Fibrillation: Imminent Breakthrough or False Start? *European Heart Journal Supplements*, **27**, iii46-iii53. <https://doi.org/10.1093/eurheartjsupp/suaf015>
- [40] Barnes, G.D. (2025) New Targets for Antithrombotic Medications: Seeking to Decouple Thrombosis from Hemostasis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, **23**, 1146-1159. <https://doi.org/10.1016/j.jtha.2024.12.003>
- [41] Chatterjee, A., Paul, S., Mukherjee, T., Gupta, S., Parashar, D., Sahu, B., *et al.* (2025) Beyond Coagulation: Coagulation Protease Factor VIIa in Cytoprotective Response. *International Immunopharmacology*, **150**, Article 114218. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2025.114218>
- [42] Glunz, P.W., Mueller, L., Cheney, D.L., Ladziata, V., Zou, Y., Wurtz, N.R., *et al.* (2016) Atropisomer Control in Macrocyclic Factor VIIa Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, **59**, 4007-4018. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b00244>
- [43] Kolesnikov, A., Rai, R., Young, W.B., Mordenti, J., Liu, L., Torkelson, S., *et al.* (2006) Factor VIIa Inhibitors: Improved Pharmacokinetic Parameters. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **16**, 2243-2246. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2006.01.037>
- [44] Kadono, S., Sakamoto, A., Kikuchi, Y., Oh-Eda, M., Yabuta, N., Koga, T., *et al.* (2005) Structure of Human Factor VIIa/Tissue Factor in Complex with a Peptide-Mimetic Inhibitor: High Selectivity against Thrombin by Introducing Two Charged Groups in P2 and P4. *Acta Crystallographica Section F: Structural Biology and Crystallization Communications*, **61**, 169-173. <https://doi.org/10.1107/s1744309105000047>