

- [22] 刘晓刚,邓宇斌,蔡辉. 碱性成纤维细胞生长因子与猴骨髓间充质干细胞增殖及向神经元前体细胞分化:不同质量浓度对诱导剂隐丹参酮作用有差异吗? [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(10):1813-1816.
- [23] 陈亚男. 红景天苷通过 ERK1/2 和 PI_3K/AKT/mTOR 信号通

路介导小鼠骨髓间充质干细胞向神经元样细胞定向分化的研究[D]. 兰州:兰州大学, 2014.

- [24] 张俊虎,王建交,郑永日,等. 神经干细胞的鉴定[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(27):5108-5112.

(收稿日期:2016-12-28, 修回日期:2017-03-19)

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2019.03.007

◇ 药学研究 ◇

达比加群在家兔中的药代动力学及其对实验室检查的影响

张培哲¹, 曹邦明¹, 李佳俊², 张弛¹, 夏明¹, 杨向军¹

作者单位:¹ 苏州大学附属第一医院心内科, 江苏 苏州 215000; ² 苏州大学药学院, 江苏 苏州 215000

通信作者:杨向军,男,主任医师,博士生导师,研究方向为心律失常, E-mail: yang_xiangjun@163.com

摘要:目的 通过在新西兰大白兔中单剂量服用达比加群酯,对比不同时间点的达比加群血药浓度变化、不同血药浓度时的实验室检查结果,探讨达比加群的药代动力学特征及其对实验室检查结果的影响。**方法** 18只新西兰大白兔采用随机数字表法分为5 mg/kg组、10 mg/kg组和对照组三组,每组6只,分别灌胃5 mg/kg、10 mg/kg达比加群酯溶液和等体积的溶剂,于给药前,给药后0.5、1、1.5、2、3、4、6、8、12、24 h取血,通过液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)检测达比加群血药浓度计算药代动力学参数并分析组间差异;通过检测达比加群浓度(蛇静脉酶发色底物法测定, ECA)、部分凝血酶原时间(APTT)、凝血酶时间(TT),与LC-MS/MS结果做相关性分析,同时对ECA与LC-MS/MS进行Bland-Altman偏倚性分析。**结果** 达比加群在各实验组中药代动力学参数:5 mg/kg组: $t_{\max} = (2.42 \pm 0.66) \text{ h}$ 、 $C_{\max} = (131.07 \pm 49.95) \text{ ng/mL}$ 、 $AUC_{0 \rightarrow \infty} = (814.56 \pm 366.86) \text{ ng} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $AUC_{0 \rightarrow \infty} = (902.79 \pm 426.86) \text{ ng} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $MRT = (5.69 \pm 1.74) \text{ h}$ 、 $t_{1/2} = (8.12 \pm 1.98) \text{ h}$; 10 mg/kg组: $t_{\max} = (2.83 \pm 1.13) \text{ h}$ 、 $C_{\max} = (309.99 \pm 189.12) \text{ ng/mL}$ 、 $AUC_{0 \rightarrow \infty} = (1732.26 \pm 605.15) \text{ ng} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $AUC_{0 \rightarrow \infty} = (1887.63 \pm 616.99) \text{ ng} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $MRT = (5.69 \pm 1.83) \text{ h}$ 、 $t_{1/2} = (8.47 \pm 2.87) \text{ h}$,两实验组 t_{\max} 、 MRT 和 $t_{1/2}$ 均差异无统计学意义($P > 0.05$)。实验室检查结果:与对照组相比,给药后TT-时间曲线随药-时曲线有类似的变化。APTT与达比加群呈低度相关($R^2 = 0.224$); TT与达比加群浓度呈高度相关($R^2 = 0.780$)但有过高的敏感性; ECA检测达比加群的血药浓度呈高度相关($R^2 = 0.882$), Bland-Altman偏倚性分析提示 ECA低估药物浓度。**结论** 达比加群的药代动力学是可预测的且在体内抗凝效果无时间延迟; APTT不适合作为定量检测达比加群的指标,但其值显著升高提示高浓度的达比加群; TT可作为达比加群的定性指标; ECA可在一定程度上作为达比加群定量的指标,但需进一步的研究。

关键词:达比加群; 药代动力学; 蛇静脉酶发色底物法测定; 部分凝血酶原时间; 凝血酶时间

Pharmacokinetics of Dabigatran in rabbits and its effect on laboratory assessment

ZHANG Peizhe¹, CAO Bangming¹, LI Jiajun², ZHANG Chi¹, XIA Ming¹, YANG Xiangjun¹

Author Affiliations: ¹ Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou, Jiangsu 215000, China; ² College of Pharmaceutical Sciences, Soochow University, Suzhou, Jiangsu 215000, China

Abstract: Objective To compare the plasma concentrations of Dabigatran at different time points and the effect of laboratory assessment at different plasma concentrations after oral administration single dose of Dabigatran etexilate in the New Zealand White rabbits and investigate the pharmacokinetics profile of Dabigatran and its effect on laboratory test results. **Methods** 18 New Zealand White rabbits were divided randomly into three groups: 5 mg/kg group, 10 mg/kg group and control group. Then 5 mg/kg, 10 mg/kg of dabigatran etexilate and an equal volume of solvent was administered *via* oral gavage, respectively. The blood samples were collected before administration and 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24 h after dosing. The blood samples were analyzed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) and pharmacokinetic parameters were calculated and t-test was used to analyze the differences between groups. Then the correlations between the results of laboratory tests of ECA, APTT, TT and the results of LC-MS/MS were ana-

lyzed. The Bland-Altman bias plots analysis were performed by ECA and LC-MS/MS. **Results** The pharmacokinetic parameters of Dabigatran in each experimental group: 5 mg/kg group: $t_{\max} = (2.42 \pm 0.66) \text{ h}$, $C_{\max} = (131.07 \pm 49.95) \text{ ng/mL}$, $AUC_{0 \rightarrow t} = (814.56 \pm 366.86) \text{ ng} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$, $AUC_{0 \rightarrow \infty} = (902.79 \pm 426.86) \text{ ng} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$, $MRT = (5.69 \pm 1.74) \text{ h}$, $t_{1/2} = (8.12 \pm 1.98) \text{ h}$; 10 mg/kg group: $t_{\max} = (2.83 \pm 1.13) \text{ h}$, $C_{\max} = (309.99 \pm 189.12) \text{ ng/mL}$, $AUC_{0 \rightarrow t} = (1732.26 \pm 605.15) \text{ ng} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$, $AUC_{0 \rightarrow \infty} = (1887.63 \pm 616.99) \text{ ng} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$, $MRT = (5.69 \pm 1.83) \text{ h}$, $t_{1/2} = (8.47 \pm 2.87) \text{ h}$. There was no significant difference in t_{\max} , MRT and $t_{1/2}$ between the two experimental groups ($P > 0.05$). Laboratory assessment results: compared with the control group, the TT-time curve after administration showed a similar change with the drug-time curve. APTT and Dabigatran concentration was with weak correlation ($R^2 = 0.224$). TT and dabigatran concentration was strong correlated ($R^2 = 0.780$) with high sensitivity. ECA and dabigatran concentration was high correlated ($R^2 = 0.882$) and the Bland-Altman bias plots analysis suggested that ECA underestimates the drug concentration. **Conclusion** The pharmacokinetics of dabigatran is predictable and there is no lag time between plasma concentrations and anticoagulant effect *in vivo*. APTT cannot be used as a quantification of Dabigatran test. However, the significant elevation suggests a high concentration of Dabigatran. TT can be used as a qualitative indicator of Dabigatran. To some extent, ECA can be used as a quantification of Dabigatran, which further study is needed.

Key words: Dabigatran; Pharmacokinetics; ECA; APTT; TT

长期以来维生素 K 拮抗剂如华法林长期应用于口服抗凝治疗,但其治疗窗窄、受食物药物影响大、需定期检测及调整药物剂量、高出血风险等缺点和不足而限制临床应用^[1],甚至在治疗窗内仍有高达 6% 的严重出血事件发生^[2]。近来新型口服抗凝药物克服以上不足成为抗凝治疗新选择,其中达比加群为合成的非肽类小分子、可逆性、特异性直接凝血酶抑制剂,能抑制游离型和与纤维蛋白单体结合的凝血酶的活性^[3],因此比华法林和低分子肝素更好的发挥抗凝效果。其前体药物达比加群酯无生物学活性,口服后经 CES1 和 CES2 两种酯酶水解后可迅速转化为有抗凝活性的达比加群^[4]。RE-LY 研究表明两种剂量的达比加群酯两天 2 次口服抗凝效果不劣于华法林且安全性更高,使更多的国家批准应用于临床的抗凝治疗^[5]。目前达比加群的具体治疗窗尚未界定,且不良事件的发生与血药谷浓度相关^[6],比华法林有更高的胃肠道出血风险^[2],亦有其出血致死性事件的报道^[7],故仍需观察达比加群的药理学特性及通过实验室检查结果评估其抗凝作用。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 药品和试剂 达比加群酯胶囊 150 mg (商品名为泰毕全,批号 507056) 购自勃林格殷格翰公司(德国),部分凝血酶原时间(APTT)试剂(批号 114873RE)、凝血酶时间(TT)试剂(批号 114393)、STA-ECA 主试剂(批号 114814RE)及相关定标品(批号 114288)和质控品(批号 114289)均购自 stago 公司(法国),达比加群(批号 1-JYS-153-1)和达比加群-d3(批号 2-NOT-148-1)均购自 TRC 公司(加拿大),羧甲基纤维素钠,二甲基亚砜(DMSO),乙酸

铵、甲酸、乙腈为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为市售分析纯。

1.1.2 主要仪器 API 4000 三重四极杆串联质谱仪(美国 AB SCIEX 公司);1200 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);STA Compact System 全自动凝血仪(法国 stago 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 实验动物及分组 18 只雄性新西兰大白兔,普通级,体质量 2.3 ~ 3.0 kg,均购自苏州大学实验动物中心(实验动物生产许可证 SYXK(苏)2012-0062),实验前均常规饲养 1 周。实验前禁食 12 h,自由饮水。本研究中对于大白兔的处理符合动物伦理学标准。

1.2.2 溶液配制 达比加群酯溶于 0.4% DMSO 和 0.5% 羧甲基纤维素钠配制成悬浮液,每次实验前晚配制,4 °C 保存,现配现用。其他试剂配制参考各自说明书。

1.2.3 实验过程及标本处理 将实验动物采用随机数字表法分为对照组、5 mg/kg 组和 10 mg/kg 组,每组 6 只。5 mg/kg 组和 10 mg/kg 组分别灌胃 5 mg/kg 和 10 mg/kg 的达比加群酯溶液,对照组灌胃等体积的溶剂,分别于给药前、给药后 0.5、1、1.5、2、3、4、6、8、12、24 h 通过兔耳中央动脉采血 2.7 mL,置于 3.2% 枸橼酸钠抗凝管中(1:9)混匀后 1 500 × g 离心 20 min 后取血浆分装立即冻存于 -70 °C 直至检测。LC-MS/MS 检测前室温溶解,其他实验室检查检测前均 37 °C 孵育 15 min。

1.2.4 药代动力学检测 采用 LC-MS/MS 法检测达比加群药物浓度,最小检测浓度 1 ng/mL。达比加群标准品用空白兔血浆配制成浓度范围为 0 ~ 5 000 ng/mL 的定标品,达比加群-d3(内标品)配制

表 1 各实验组的主要药代动力学参数/ $\bar{x} \pm s$

组别	兔数	t_{\max}/h	$C_{\max} (ng/mL)$	$AUC_{0 \rightarrow 4}/ng \cdot h^{-1} \cdot mL^{-1}$	$AUC_{0 \rightarrow \infty}/ng \cdot h^{-1} \cdot mL^{-1}$	MRT/h	$t_{1/2}/h$
5 mg/kg 组	6	2.42 ± 0.66	131.07 ± 49.95	814.56 ± 366.86	902.79 ± 426.86	5.69 ± 1.74	8.12 ± 1.98
10 mg/kg 组	6	2.83 ± 1.13	309.99 ± 189.12	1 732.26 ± 605.15	1 887.63 ± 616.99	5.69 ± 1.83	8.47 ± 2.87
P 值		0.453	0.049	0.01	0.009	0.998	0.628

成 100 ng/mL 的溶液,检测过程参考 Stangier 等^[8]方法并适量修改。取 50 μ L 待检测标本或定标品加入 50 μ L 内标物混匀后再加入 20 μ L 的 0.2 N NaOH 37 $^{\circ}$ C 孵育 2 h,然后加入 30 μ L 的 0.2 N HCl 和 200 μ L 的甲醇充分混匀 2 min 后 13 000 $\times g$ 离心 10 min,取 10 μ L 上清进行 LC-MS/MS 上机检测。色谱条件:色谱柱 Venusil MP C₁₈ (2.1 mm \times 150 mm, 5.0 μ m),流动相 A 液 (5 mmol/L 乙酸铵-0.1% 甲酸溶液)和流动相 B 液 (乙腈-0.1% 甲酸溶液)梯度洗脱:0 ~ 1 min, 5% 流动 B 液;0 ~ 1 min, 5% 流动 B 液;1 ~ 1.5 min, 95% 流动 B 液;1.5 ~ 3.5 min, 95% 流动 B 液;3.5 ~ 3.6 min, 5% 流动 B 液,流速 0.3 mL/min。质谱分析采用电喷雾离子化源正离子和多反应监测模式扫描,用于定量分析的离子对分别为达比加群 m/z 472.0 \rightarrow 289.0 和达比加群-d3 m/z 475.6 \rightarrow 292.2,总体分析时间 5 min。

1.2.5 实验室检查结果检测 采用 STA Compact System 全自动血凝仪检测 APTT、TT 及达比加群浓度[蛇静脉酶发色底物法(ECA)],具体步骤参照各自说明书,每次检测前均做定标和质控。

1.3 统计学方法 采用 WinNonlin 软件 (Pharsight, V6.2.1) 应用非房室模型计算药代动力学参数,采用 SPSS 24.0 软件进行数据比较分析。观测数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组药代动力学参数分析采用独立样本 t 检验,相关性分析采用 Spearman 相关性分析,Bland-Altman 偏倚性分析采用 Bland-Altman 偏倚分析图表示,规定 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 药代动力学检测结果 两实验组主要药代动力学参数见表 1,平均药物浓度-时间曲线见图 1。

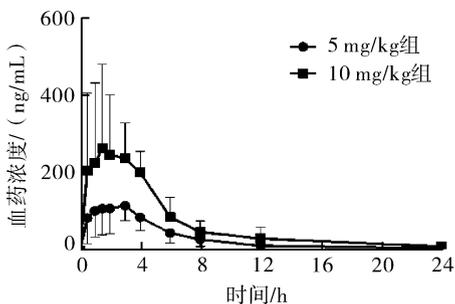


图 1 平均血药浓度-时间曲线

2.2 各组 TT 比值随时间变化曲线 与对照组相比,给药后 TT-时间曲线随药-时曲线有类似的变化,提示达比加群在体内抗凝效果无时间延迟(图 2)。

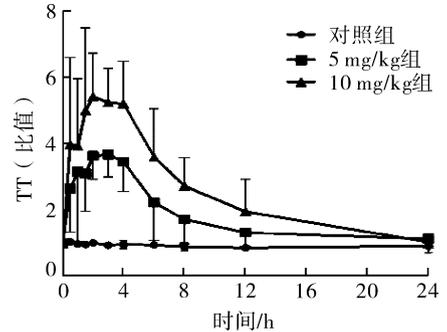


图 2 TT 随时间变化曲线

2.3 实验室结果与 LC-MS/MS 相关性分析 相关性分析提示 APTT 与 LC-MS/MS 检测的血药浓度呈低度相关($R^2 = 0.224$,图 3)且高浓度时易超出仪器检测上限;TT 与 LC-MS/MS 检测血药浓度呈高度相关($R^2 = 0.780$,图 4),低浓度时即显著延长;ECA 检查结果与 LC-MS/MS 检测结果相关性分析提示两者呈高度相关($R^2 = 0.882$,图 5),但高浓度时(LC-MS/MS 检测结果 > 300 ng/mL)无法得出 ECA 结果,Bland-Altman 偏倚性分析图显示绝大多数 ECA 检查结果低于 LC-MS/MS 的检测结果(图 6)。

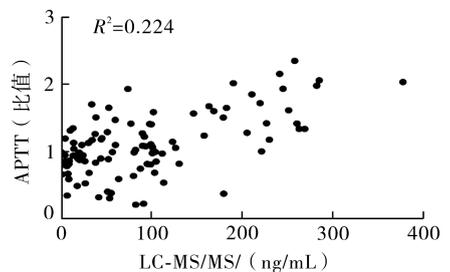


图 3 APTT 与 LC-MS/MS 对应的散点图

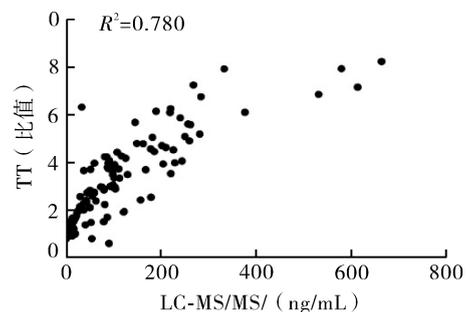


图 4 TT 与 LC-MS/MS 对应的散点图

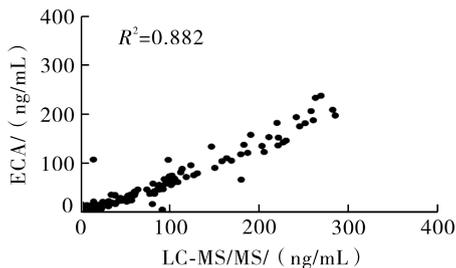


图5 ECA与LC-MS/MS对应的散点图

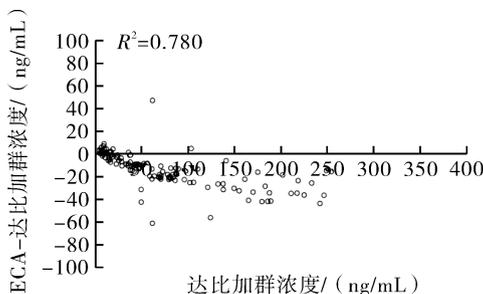


图6 Bland-Altman 偏倚性分析图

3 讨论

达比加群为新型小分子非肽类可逆性直接凝血酶抑制剂,其药理学特征是可预测和可重复的,很少受食物药物影响且治疗窗广,无需常规监测药物浓度,但在临床中出现一些特殊情况如怀疑药物过量、急诊手术、致死性大出血等情况时,有效的实验室检查检测其抗凝效果仍十分必要^[1,9]。而RE-LY研究表明口服达比加群酯的不良事件的发生与血药谷浓度相关^[6,10],故检测药物谷浓度可一定程度的避免不良事件的发生。

Stangier等^[11]和Blech等^[12]均指出与葡萄糖醛酸结合(结合型)的达比加群和游离型的达比加群有同样的药理学活性,也有研究指出对比游离型的达比加群,结合型的达比加群对APTT有类似的延长作用^[13],同时Stangier^[14]亦指出达比加群的葡萄苷酸化并不影响其临床疗效,因此总体达比加群浓度可能更精确的反应体内的抗凝效果。本实验采用LC-MS/MS检测总达比加群的血药浓度,结果表明达比加群在新西兰大白兔中的药代动力学特性与其他动物和人相似^[14-15],提示达比加群在不同物种间有相似的药代动力学且是可预测的,这也为在新西兰大白兔模型中研究达比加群抗凝效果提供一定的理论依据。同时各组TT-时间曲线显示出与药-时曲线类似的趋势,提示达比加群的抗凝效果无时间延迟,这也与其他研究结果一致^[11]。虽然LC-MS/MS为药物检测金标准^[16],但其仪器设备昂贵,操作及维修保养要求高,很难在大多数实验室普

及^[1],故本研究同时采用ECA检测达比加群的血浆药物浓度^[17]并探讨两者检测结果的相关性。研究表明ECA检测不受待检测血样中凝血酶原和纤维蛋白原含量的影响,利用ECA检测达比加群的血浆药物浓度可有效的排除凝血因子缺乏时的影响^[18]。本实验相关性分析显示LC-MS/MS与ECA呈高度相关性,提示ECA可在一定程度上作为达比加群定量的指标,与Sinigoj等^[10]和Hawes等^[19]的研究结果一致,Bland-Altman偏倚性分析显示ECA低估药物浓度,与其他研究结果相符^[17],提示ECA不能反映总体的达比加群血药浓度,而Skeppholm等^[20]分别比较ECA与游离型和总体的达比加群血药浓度,得出ECA在人血浆中检测的为总达比加群血药浓度的结论,与本研究的结果不一致,这可能是由于种属间的差异及应用不同的定标品和质控品引起,目前尚缺乏相关的研究证实ECA反映哪一种达比加群血药浓度。

APTT与LC-MS/MS检测的血药浓度相关性分析提示两者有一定的敏感性,但相关性弱,且变异性大,正常范围的APTT值亦不能排除存在达比加群,因此其不适合作为定量检测达比加群的指标,但APTT的显著延长,甚至超过仪器检测上限,提示存在高血药浓度,而TT与达比加群浓度有很好的剂量相关性,低浓度的达比加群即引起TT显著延长,故在排除其他引起TT值延长的情况,TT可作为达比加群的定性指标,这也与其他研究结果相符^[8,11],虽然本研究TT值未超仪器检测上限,但以人为研究对象的研究中,TT在高浓度时易超出检测上限^[21-22],故结合临床实际,TT不适合作为达比加群定量的指标。

本实验对象为新西兰大白兔,考虑不同物种间可能存在差异,为此本实验APTT和TT均采用比值以减少实验误差,但不同实验室及不同检测试剂所测结果间存在较大差异^[22],应用本实验结果解释临床资料时需慎重。

综上所述,达比加群的药代动力学是可预测的且在体内抗凝效果无时间延迟;APTT不适合作为定量检测达比加群的指标,但其值显著升高提示高浓度的达比加群;TT可作为达比加群的定性指标;ECA可在一定程度上作为达比加群定量的指标,但需进一步的研究和探讨。

参考文献

- [1] LIPPI G, FAVALORO EJ. Recent guidelines and recommendations for laboratory assessment of the direct oral anticoagulants

- (DOACs): is there consensus? [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2015, 53(2):185-197.
- [2] RUFF CT, GIUGLIANO RP, BRAUNWALD E, et al. Comparison of the efficacy and safety of new oral anticoagulants with warfarin in patients with atrial fibrillation; a meta-analysis of randomised trials[J]. *Lancet*, 2014, 383(9921):955-962.
- [3] AGENOW, EIKELBOOM J, LIP GY. Dabigatran in clinical practice; contemporary overview of the evidence [J]. *Int J Cardiol*, 2016, 220:417-428.
- [4] LAIZURE SC, PARKER RB, HERRING VL, et al. Identification of carboxylesterase-dependent dabigatran etexilate hydrolysis [J]. *Drug Metab Dispos*, 2014, 42(2):201-206.
- [5] CONNOLLY SJ, WALLENTIN L, EZEKOWITZ MD, et al. The long-term multicenter observational study of dabigatran treatment in patients with atrial fibrillation (RELY-ABLE) study[J]. *Circulation*, 2013, 128(3):237-243.
- [6] REILLY PA, LEHR T, HAERTTER S, et al. The effect of dabigatran plasma concentrations and patient characteristics on the frequency of ischemic stroke and major bleeding in atrial fibrillation patients; the RE-LY Trial (Randomized Evaluation of Long-Term Anticoagulation Therapy) [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2014, 63(4):321-328.
- [7] CANO EL, MIYARES MA. Clinical challenges in a patient with dabigatran-induced fatal hemorrhage [J]. *Am J Pharmacother*, 2012, 10(2):160-163.
- [8] STANGIER J, STAHL H, RATHGEN K, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the direct oral thrombin inhibitor dabigatran in healthy elderly subjects [J]. *Clin Pharmacokinet*, 2008, 47(1):47-59.
- [9] BONAR R, FAVALORO EJ, MOHAMMED S, et al. The effect of dabigatran on haemostasis tests; a comprehensive assessment using in vitro and ex vivo samples [J]. *Pathology*, 2015, 47(4):355-364.
- [10] SINIGOJ P, MALMSTROM RE, VENE N, et al. Dabigatran concentration; variability and potential bleeding prediction in "real-life" patients with atrial fibrillation [J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2015, 117(5):323-329.
- [11] STANGIER J, RATHGEN K, STAHL H, et al. The pharmacokinetics, pharmacodynamics and tolerability of dabigatran etexilate, a new oral direct thrombin inhibitor, in healthy male subjects [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2007, 64(3):292-303.
- [12] BLECH S, EBNER T, LUDWIG-SCHWELLINGER E, et al. The metabolism and disposition of the oral direct thrombin inhibitor, dabigatran, in humans [J]. *Drug Metab Dispos*, 2008, 36(2):386-399.
- [13] EBNER T, WAGNER K, WIENEN W. Dabigatran acylglucuronide, the major human metabolite of dabigatran; in vitro formation, stability, and pharmacological activity [J]. *Drug Metab Dispos*, 2010, 38(9):1567-1575.
- [14] STANGIER J. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of the oral direct thrombin inhibitor dabigatran etexilate [J]. *Clin Pharmacokinet*, 2008, 47(5):285-295.
- [15] LI J, FANG J, ZHONG F, et al. Development and validation of a liquid chromatography/tandem mass spectrometry assay for the simultaneous determination of dabigatran etexilate, intermediate metabolite and dabigatran in 50uL rat plasma and its application to pharmacokinetic study [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2014, 973C:110-119.
- [16] ANTOVIC JP, SKEPPHOLM M, EINTREI J, et al. Evaluation of coagulation assays versus LC-MS/MS for determinations of dabigatran concentrations in plasma [J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2013, 69(11):1875-1881.
- [17] GOSSELIN RC, DWYRE DM, DAGER WE. Measuring dabigatran concentrations using a chromogenic ecarin clotting time assay [J]. *Ann Pharmacother*, 2013, 47(12):1635-1640.
- [18] LANGE U, NOWAK G, BUCHA E. Ecarin chromogenic assay-a new method for quantitative determination of direct thrombin inhibitors like hirudin [J]. *Pathophysiol Haemost Thromb*, 2003, 33(4):184-191.
- [19] HAWES EM, DEAL AM, FUNK-ADCOCK D, et al. Performance of coagulation tests in patients on therapeutic doses of dabigatran; a cross-sectional pharmacodynamic study based on peak and trough plasma levels [J]. *J Thromb Haemost*, 2013, 11(8):1493-1502.
- [20] SKEPPHOLM M, HJEMDAHL P, ANTOVIC JP, et al. On the monitoring of dabigatran treatment in "real life" patients with atrial fibrillation [J]. *Thromb Res*, 2014, 134(4):783-789.
- [21] VAN RYN J, STANGIER J, HAERTTER S, et al. Dabigatran etexilate-a novel, reversible, oral direct thrombin inhibitor; interpretation of coagulation assays and reversal of anticoagulant activity [J]. *Thromb Haemost*, 2010, 103(6):1116-1127.
- [22] HELIN TA, PAKKANEN A, LASSILA R, et al. Laboratory assessment of novel oral anticoagulants; method suitability and variability between coagulation laboratories [J]. *Clin Chem*, 2013, 59(5):807-814.

(收稿日期:2017-02-20,修回日期:2017-04-11)