

КОМПЬЮТЕРНЫЙ ДИЗАЙН НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ИНГИБИТОРОВ ФАКТОРОВ СИСТЕМЫ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ

Обзор

© 2019 А.С. Кабанкин¹, Е.И. Синауридзе^{1,2}, Е.Н. Липец^{1,2},
Ф.И. Агауллаханов^{1,2,3,4*}

¹ Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН,
119991 Москва, Россия; электронная почта: ataullakhanov.fazly@gmail.com

² Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии,
онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева, Министерство
здравоохранения России, 117198 Москва, Россия

³ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
физический факультет, 119991 Москва

⁴ Московский физико-технический институт, 141701 Долгопрудный
Московской области, Россия

Поступила в редакцию 05.09.18

После доработки 19.10.18

Принята к публикации 19.10.18

Представлен обзор основных подходов к поиску новых низкомолекулярных ингибиторов факторов свертывания крови IIa, Xa, IXa и XIa, а также результаты этого поиска, проведенного с 2015 по 2018 г. Для каждого из перечисленных факторов за последнее время найдено по несколько ингибиторов с IC₅₀ менее 10 нМ. Некоторые из них находятся на стадии клинических испытаний. Однако ни одно из этих соединений не подходит на роль «идеального» антикоагулянта, поэтому дальнейший поиск таких ингибиторов является актуальной задачей.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: антикоагулянты, низкомолекулярные ингибиторы, факторы свертывания крови, компьютерный дизайн ингибиторов, молекулярный докинг.

DOI: 10.1134/S0320972519020039

Система свертывания отвечает за сохранение крови в жидком текучем состоянии в физиологических условиях, остановку кровотечений при нарушении целостности сосудистой системы и растворение тромбов, выполнивших свою функцию. Нарушения в системе гемостаза являются одной из главных причин смертности и инвалидности в современном мире. Они могут вызывать как неконтролируемые кровотечения, так и образование тромбов, препятствующих кровоснабжению и вызывающих органную недостаточность. Тромбозы возникают при самых различных заболеваниях (атеросклероз, инфаркт, инсульт, травмы, хирургические вмешательства и др.). Проблема становится все более актуальной в связи с ростом средней продолжительности жизни и увеличением количества пожилых людей. Таким образом, разработка эф-

фективных и безопасных антитромботических препаратов исключительно важна.

Система свертывания крови представляет собой сложный каскад ферментативных реакций, который может активироваться по двум путям: внутреннему и внешнему [1–3]. Белки, участвующие в этих реакциях, называются факторами свертывания крови и нумеруются римскими цифрами. В норме они присутствуют в плазме в неактивном виде и активируются при расщеплении одной или нескольких пептидных связей активным фактором, стоящим выше по каскаду. Оба пути сходятся на факторе Xa и далее идут одинаково. Остановка кровотечения осуществляется за счет образования фибринового сгустка при полимеризации мономеров фибрина, возникающих при расщеплении белка фибриногена тромбином (фактором IIa), который образуется из протромбина под действием фактора Xa. Фактор X активируется либо факто-

* Адресат для корреспонденции.

ром IXa, либо комплексом фактора VIIa и тканевого фактора (VIIa–ТФ) (по внешнему пути активации). Фактор IX также активируется комплексом VIIa–ТФ. Основной физиологический активатор системы свертывания – это тканевый фактор (ТФ), белок, содержащийся в окружающих сосуд тканей, и приходящий в контакт с кровью при повреждении сосуда. Этот путь активации называется внешним. Существует также внутренний путь активации, который запускается при контакте фактора XII с инородными для организма материалами. Активированный фактор XIIa при участии высокомолекулярного кининогена запускает дальнейший каскад реакций, в котором последовательно активируются факторы XI, IX и X, превращаясь в XIa, IXa и Xa, соответственно.

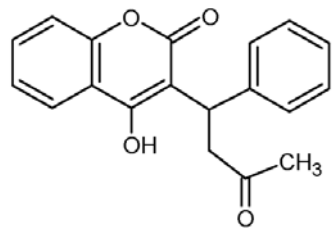
Тромбин является ключевым ферментом системы свертывания, так как он не только приводит к образованию фибрина, но и активирует факторы V, VIII, XI, XIII, протеин C, и тромбоциты. Он участвует в основных положительных и отрицательных обратных связях системы. Тромбин ускоряет свое производство на 3–5 порядков, переводя факторы V и VIII в активные формы, которые входят в состав комплексов протромбиназы (Xa–Va, фосфолипидная поверхность, Ca²⁺) и внутренней теназы (VIIIa–IXa, фосфолипидная поверхность, Ca²⁺). В комплексе с тромбомодулином тромбин замедляет свое образование, активируя протеин C, который способен ингибировать Va и VIIIa.

Чтобы кровь в организме полностью не свернулась и продолжала существовать в жидком состоянии, все активные формы факторов после окончания свертывания должны быстро и необратимо инактивироваться. Это осуществляется присутствующими в крови специфическими ингибиторами активных факторов свертывания (антикоагулянтами). Наиболее значимыми физиологическими антикоагулянтами являются антитромбин III (АТIII), гепарин, ингибитор пути тканевого фактора (ИПТФ), протеины С и S. На сегодняшний день в клинике используется несколько основных антикоагулянтных препаратов с различными механизмами действия. Это полимерные гликозаминогликаны гепарины (нефракционированный и различные низкомолекулярные), которые усиливают действие природного ингибитора АТIII; ингибитор агрегации тромбоцитов аспирин; пептид гирудин, а также гирудиноподобный пептид бивалирудин, ингибирующие тромбин; витамин К-антагонисты (ВКА), среди которых наиболее известен варфарин, снижающие уровень витамина К, необходимого для синтеза полноценных факторов свертывания в печени; а также различные низ-

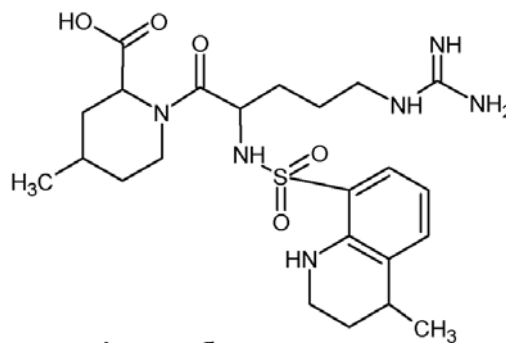
комолекулярные ингибиторы отдельных факторов свертывания, такие как аргатробан, дабигатран, ривароксабан и др. (рис. 1). Указанные препараты достаточно эффективны, но у каждого есть ряд серьезных ограничений, поэтому постоянно ведутся исследования, направленные на поиск и разработку новых эффективных и безопасных антикоагулянтов [4, 5].

Гепарины и варфарин действуют на множество мишеней. Это считается одним из их недостатков, так как не позволяет оценить и спрогнозировать их действие на отдельные звенья коагуляционного процесса. Поэтому сформировалась и доминирует концепция, заключающаяся в том, что в первую очередь надо разрабатывать селективные ингибиторы, действующие на отдельные конкретные факторы свертывания. Именно в этом ключе работает большинство исследователей.

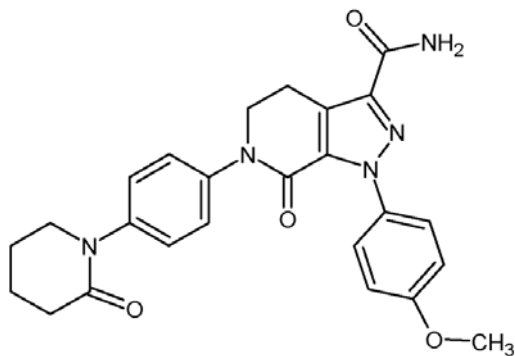
К настоящему времени для применения в клинической практике одобрены следующие низкомолекулярные антикоагулянты: дабигатран этексилат (*dabigatran etexilate*), ривароксабан (*rivaroxaban*), апиксабан (*apixaban*), эдоксабан (*edoxaban*) и бетриксабан (*betrixaban*) [6–12] (рис. 1). Последние четыре препарата в этом списке являются прямыми оральными ингибиторами фактора Xa. Дабигатран этексилат является пролекарством, которое после перорального введения превращается в прямой низкомолекулярный ингибитор тромбина дабигатран. Указанные прямые оральные антикоагулянты (ПОАК) имеют некоторые преимущества перед давно и широко используемым варфарином: удобство применения, ограниченное взаимодействие с другими лекарствами и пищей, отсутствие необходимости постоянного лабораторного мониторинга. Однако и эти препараты не являются идеальными и также имеют ряд ограничений [8, 9, 12]. Отмечен повышенный, по сравнению с варфарином, риск желудочно-кишечных кровотечений. Не взаимодействуя с большинством лекарственных препаратов, ПОАК в то же время являются субстратами для цитохрома P450 (CYP3A4) и транспортного белка Р-гликопротеина (P-gp). Использование активных ингибиторов этих белков повышает концентрацию ПОАК в плазме, сильно увеличивая риск кровотечений. Рекомендуется не использовать ПОАК или же применять их с большой осторожностью для пациентов с почечной и печеночной недостаточностью, с искусственным сердечным клапаном, а также для детей моложе 18 лет и беременных женщин. Для пациентов этих категорий в случае использования ПОАК необходим подбор доз и лабораторный мониторинг, с которым также есть проблемы ввиду неп-



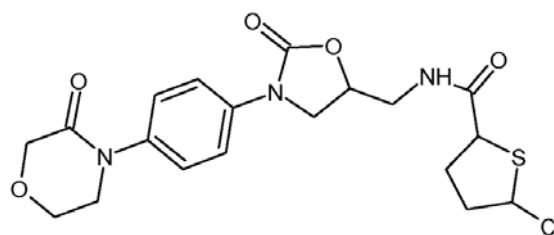
Варфарин



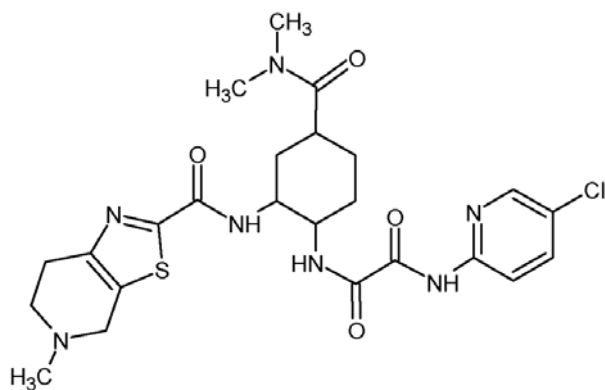
Аргатробан



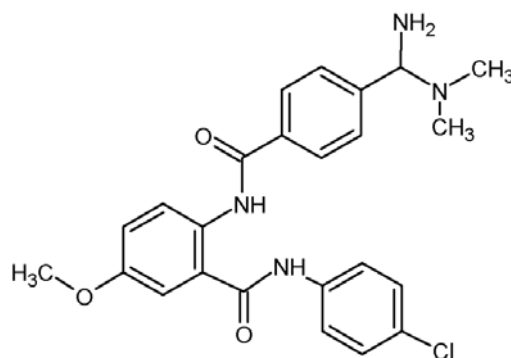
Апиксабан



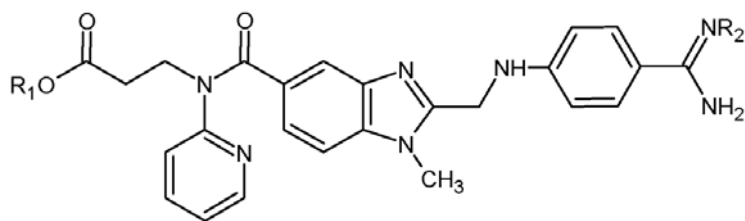
Ривароксабан



Едоксабан



Бетриксабан



Дабигатран (R₁=H, R₂=H)

Дабигатран этексилат (R₁=CH₂-CH₂, R₂=COO-(CH₂)₅-CH₃)

Рис. 1. Используемые и разрешенные для клинического применения низкомолекулярные антикоагулянты

ригодности для ПОАК общепринятых стандартных методик определения антикоагулянтной активности и измерения концентрации антикоагулянта в плазме. Недостатком ПОАК является отсутствие специфических антидотов. Правда в последние годы был предложен и одобрен FDA (*Food and Drug Administration*) антидот для дабигатрана — идаруцизумаб (*idarucizumab*) [13], представляющий собой фрагмент моноклонального антитела. Недостатком ПОАК считается также высокая стоимость.

КОМПЬЮТЕРНЫЙ ДИЗАЙН И ПРОЦЕСС РАЗРАБОТКИ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Начальной стадией процесса разработки любого лекарственного препарата, в том числе и антикоагулянта, является открытие принципиально новой базовой химической структуры (лидера), проявляющей необходимую биологическую активность. Затем с помощью химического синтеза различных производных структуры—лидера и их модификации осуществляется оптимизация новой базовой структуры, направленная на усиление полезной биологической активности и улучшение фармакологического профиля. В современных условиях для открытия новых базовых структур (молекулярный дизайн) преимущественно используют компьютерный виртуальный скрининг. В зависимости от характера имеющейся информации, возможны различные способы реализации виртуального скрининга [14–16].

Если определена трехмерная структура активного центра макромолекулы-мишени, как правило, с помощью рентгеноструктурного анализа, то применяют прямые методы поиска или конструирования потенциального лиганда (новой базовой структуры), соответствующего данному активному центру как ключ замку. Этот подход, известный как конструирование лекарств, основанное на структуре (*SBDD, structure-based drug design*), использует достаточно сложные вычислительные процедуры молекулярного докинга [17–20]. Цель молекулярного докинга — определить наиболее предпочтительную конформацию молекулы лиганда и наиболее выгодное расположение лиганда в активном центре белковой мишени, а также оценить энергию связывания лиганда с мишенью. Современные алгоритмы докинга учитывают конформационную подвижность и лиганда, и белка. Одним из критериев выбора компьютерной программы для проведения молекулярного докинга является возможность используемого в про-

рамме алгоритма докинга воспроизводить ориентацию лиганда в активном центре белка, найденную рентгеноструктурным анализом соответствующего комплекса белок—лиганд. Оценка энергии связывания комплексов лиганд—белок является наиболее сложной проблемой в конструировании потенциальных лигандов. Хотя существуют методы расчета свободной энергии с помощью молекулярной динамики [21], и в настоящее время начинается разработка программ для расчета свободной энергии связывания лиганд-рецепторных комплексов методами статистической механики и квантовой химии [22], на практике энергия связывания чаще аппроксимируется с помощью, так называемых, оценочных функций (*scoring functions*). Используют три вида функций: эмпирические оценочные функции, оценочные функции, основанные на силовых полях, и оценочные функции, основанные на имеющихся данных о структурной информации, полученной из рентгеноструктурных данных для лиганд—белковых комплексов. В случае эмпирических оценочных функций энергия связывания является суммой произвольного числа членов, представляющих вклады разных взаимодействий, важных для связывания лиганда (водородные связи, ионные взаимодействия, липофильные и ароматические взаимодействия, десольватация и др.). Весовые коэффициенты для этих членов получают с помощью множественной линейной регрессии, используя обучающую выборку лиганд-белковых комплексов с известными константами связывания и экспериментально определенной структурой. В этом заключается главный недостаток эмпирических оценочных функций, так как можно ожидать, что эти функции могут хорошо работать лишь для белков, похожих на использованные в обучающей выборке. Силовые оценочные функции базируются на силовых полях, применяемых в молекулярной механике. Вандерваальсовы взаимодействия описываются потенциалом Леннарда—Джонса либо другими подобными функциями, а электростатические взаимодействия — законом Кулона. В последнее время для оценки энергии связывания все большую популярность приобретают оценочные функции, основанные на знаниях структуры. В этом случае нет необходимости в подгонке к экспериментальным значениям энергии связывания белок—лиганд, а используется только структурная информация, содержащаяся в уже изученных комплексах белок—лиганд. Эти данные можно использовать для оценки частоты встречаемости атом-атомных контактов определенного типа на заданных расстояниях между лигандом и белком во всех имеющихся данных

и, используя методы статистической механики, определить парные потенциалы взаимодействия атомов белка i -го типа с атомами лиганда j -го типа. Тогда полная энергия взаимодействия определяется как сумма по всем межатомным взаимодействиям в комплексе белок–лиганд. Вклад сольватации и энтропии при этом учитывается в неявном виде. Возможно эти оценочные функции значительно шире по сравнению с эмпирическими и силовыми оценочными функциями, и они могут быть использованы для оценки свободной энергии связывания разнообразных комплексов белок–лиганд. Тем не менее, когда докинг применяется для скрининга большой базы данных с большим разнообразием соединений и мишеней, которые не были использованы для калибровки оценочных функций, получаемая точность анализа весьма ограничена. Дополнительные трудности при проведении молекулярного докинга связаны с решением вопроса, стоит ли учитывать или игнорировать содержащиеся в центре связывания молекулы кристаллизационной воды, кофактор, ионы металлов.

Если данные о пространственной структуре биомишени отсутствуют, но имеется достаточно представительная выборка лигандов, связывающихся с этой биомишенью, то поиск новых лигандов может быть выполнен непрямими методами. В основе этих методов лежит представление о существовании объективной зависимости между структурой химического соединения и его биологической активностью. Эта зависимость может быть установлена анализом молекулярной структуры и биологической активности уже изученных соединений, образующих обучающую выборку, и далее экстраполирована на новые соединения. Данный подход называется конструированием лекарств, основанным на структуре лиганда (LBDD, *ligand-based drug design*). Поскольку биологическая активность соединения представляет собой суммарный эффект многочисленных процессов, функциональная зависимость биологической активности от молекулярной структуры сложна для описания и не может быть представлена в явной форме. Для аппроксимации такой зависимости используют простую математическую функцию, обычно полином, коэффициенты которого определяют с помощью различных методов многомерного статистического анализа. Процесс нахождения функции, связывающей искомую биологическую активность, выраженную в различных единицах (например, как IC_{50} , т.е. концентрация соединения, вызывающая 50%-ное ингибирование активности), с молекулярной структурой, включает выбор способов представления моле-

кулярной структуры рассматриваемых соединений (молекулярных дескрипторов) и выбор математического метода для построения этой зависимости. К настоящему времени для определения количественной связи структура–активность (KCCA) (QSAR, *quantitative structure-activity relationship*), предложено использовать несколько тысяч разных молекулярных дескрипторов и множество математических методов [23, 24]. Молекулярные дескрипторы – численные характеристики, отражающие структурные особенности соединений. Это могут быть экспериментальные физико-химические характеристики (например, растворимость, коэффициент распределения, температура плавления, химический сдвиг ЯМР и т.д.). Однако экспериментальное определение физико-химических свойств возможно далеко не всегда. Поэтому наиболее широко используются теоретически рассчитываемые дескрипторы, которые могут быть вычислены для любых реально существующих и гипотетических молекул. Теоретические дескрипторы разделяются на несколько групп, соответствующих разным уровням представления структуры молекул: структурные фрагменты, топологические дескрипторы, квантово-химические дескрипторы, дескрипторы пространственной структуры и дескрипторы межмолекулярных взаимодействий.

Особо следует выделить уникальную отечественную компьютерную систему PASS (предсказание спектра биологической активности химических соединений), разработанную в Научно-исследовательском институте биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАМН и не имеющую аналогов по широте охвата разнообразных видов биологической активности [25–27]. На основе анализа взаимосвязей структура–активность в обучающей выборке, содержащей информацию о структуре и биологической активности более 950 000 лекарственных субстанций и биологически активных соединений, система PASS может прогнозировать для новых не тестированных органических соединений более 7000 видов биологической активности со средней точностью ~95%. При этом совершенно не требуется информация о пространственной конфигурации молекул рассматриваемых соединений, а используется обычная структурная формула для автоматического расчета оригинальных молекулярных дескрипторов. Важное место в компьютерном молекулярном дизайне занимают классификационные модели, используемые при дискретном выражении биологического действия в рамках одного вида биологической активности или при дифференциации различных видов биологической активности [23, 24].

В этом случае исходная обучающая выборка состоит из групп (классов) химических соединений, взаимно исключаящих друг друга. Группирование соединений осуществляется на основе качественных признаков, например, активные и неактивные соединения или высокоактивные, умеренно активные, малоактивные и неактивные соединения. Другие примеры – канцерогены и неканцерогены, или высокотоксичные, малотоксичные и нетоксичные соединения и т.п. Классификационные алгоритмы на основе анализа обучающей выборки позволяют определить эффективные решающие правила для классификации новых соединений в ту или иную из заданных групп. Поскольку при классификации не нужны точные экспериментальные значения биологической активности, эти методы во многих случаях более удобны по сравнению с регрессионной техникой. Арсенал используемых в настоящее время классификационных методов достаточно широк: «наивный» Байесовский классификатор, линейный дискриминантный анализ, классификация по ближайшему соседу, искусственные нейронные сети, классификационное и регрессионное дерево, метод опорных векторов (SVM, *support vector machines*), дерево решений (DTs, *decision trees*), случайный лес (RF, *random forest*) и др. [23, 24]. Как следствие использования бинарной классификации появилось эмпирическое «правило пяти» Липински, позволяющее отличать лекарства от «нелекарств» [28]: лекарственная молекула должна удовлетворять определенным условиям: молекулярный вес – не больше 500 дальтон, значение логарифма коэффициента распределения вещества в системе октан – вода ($\log P$) – не больше 5, число доноров водородной связи в молекуле – не больше 5, число акцепторов водородной связи – не больше 10, число вращаемых одинарных связей, не входящих в циклы, – не более 10, площадь полярной поверхности молекулы – не более 140 \AA^2 . В настоящее время это (и ему подобные правила) широко используются в качестве фильтров для исключения ненужных молекул из исследуемых баз химических соединений.

Выявление методами виртуального скрининга химических соединений, обладающих высоким сродством к некоторой мишени, т.е. желательной активностью и селективностью, само по себе недостаточно для получения высококачественных кандидатов для предклинических испытаний. Необходимо также, чтобы отобранные соединения обладали определенным комплексом физико-химических и фармакокинетических свойств, обеспечивающих их биодоступность. Чтобы определить поведение лекар-

ственной молекулы в организме, важно оценить влияние самого биологического организма на лекарственную молекулу, характеризующееся процессами абсорбции, распределения, метаболизма и экскреции. Набор параметров, описывающих эти процессы, в зарубежной научной литературе обозначается как ADME-свойства (ADME, *absorption, distribution, metabolism, excretion*). Впоследствии сюда добавили и токсичность (*toxicity*), так что соответствующая аббревиатура превратилась в ADMET (иначе ADME/Tox). Отмечалось, что отклонение не менее 50% новых химических структур на предклинических испытаниях, было связано с неподходящими ADMET-свойствами. Низкая растворимость в воде может лимитировать степень абсорбции и непосредственно вызывать токсичность, если соединение осаждается в почках. Лекарства должны обладать достаточной липофильностью, чтобы проникать в мембраны и далее к месту действия. Избыточная липофильность означает низкую растворимость и сильное связывание с белками, накопление в тканях и клетках, увеличивающее риск нежелательных токсических воздействий. Предсказание этих свойств химических соединений на как можно более ранней стадии проекта может существенно снизить финансовые затраты и время на разработку новых лекарственных средств, поэтому уже с середины 1990-х гг. начались исследования, имеющие целью построение вычислительных моделей на основе физико-химических и структурных характеристик молекул для предсказания растворимости в воде, липофильности, абсорбции, метаболизма, проникновения через гемато-энцефалический барьер и других характеристик, определяющих транспорт лекарственных молекул к месту действия, а также их токсичность [29–31]. Итоги и перспективы этих исследований рассмотрены в обзорах [32, 33].

Заканчивая этот раздел, следует подчеркнуть, что ни один из рассмотренных методов виртуального скрининга (SBDD и LBDD) не является исключительным и обладающим безусловным преимуществом перед другим. У каждого из этих подходов есть свои достоинства и недостатки. В современных условиях наиболее рациональной представляется стратегия многокритериальной оптимизации, когда одновременно с оптимизацией тем или иным способом сродства к биомишени, оптимизируются и ADMET-свойства.

Методы компьютерного дизайна с успехом применяются и для поиска ингибиторов факторов системы свертывания крови. Центральное место в каскаде коагуляционных реакций занимают фактор Ха и тромбин, поэтому поиску ин-

гибиторов для этих мишеней всегда уделялось и продолжает уделяться большое внимание. Еще в 1990-е гг. был опубликован ряд работ, использующих компьютерный дизайн для выявления ингибиторов тромбина [34]. В настоящем обзоре рассмотрены работы, выполненные в последние годы, причем речь пойдет только о низкомолекулярных ингибиторах.

НОВЫЕ ИНГИБИТОРЫ ТРОМБИНА

Тромбин относится к семейству сериновых протеаз. Активный центр тромбина имеет три кармана: S1, S2 и S3. На дне глубокого и узкого кармана S1 расположен отрицательно заряженный остаток аспарагиновой кислоты (Asp189). Карман S2 содержит остатки пролина и глицина, а карман S3 – остатки Leu 99, Ile 174 и Trp 215. Карман S3 – плоский и доступен растворителю. Молекулярные фрагменты ингибитора (называемые иногда мотивами по аналогии с белками), локализующиеся при связывании в указанных карманах, обозначают как P1, P2 и P3 соответственно. В структуре тромбина, кроме активного сайта, имеются также два анион-связывающих центра, один из которых (экзосайт 1), расположенный вблизи каталитического участка активного центра, ответственен за связывание фибриногена и отвечает за высокую протеолитическую специфичность тромбина. Со вторым участком (экзосайт 2), находящимся на противоположной стороне белковой глобулы, связываются гепарин и другие полисахариды, а также γ' цепи фибриногена.

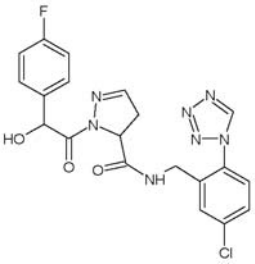
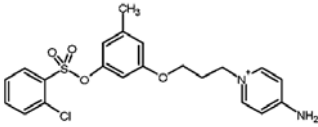
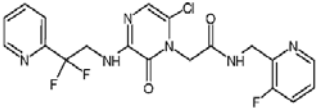
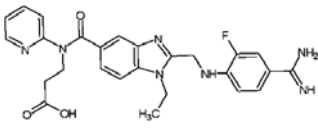
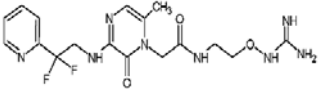
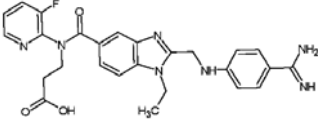
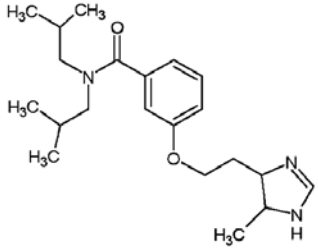
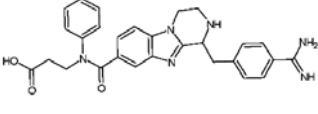
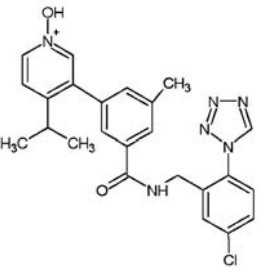
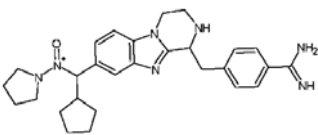
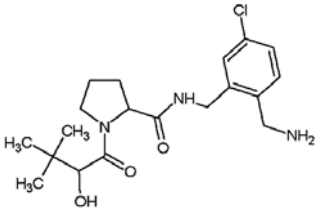
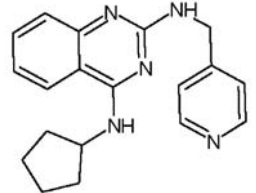
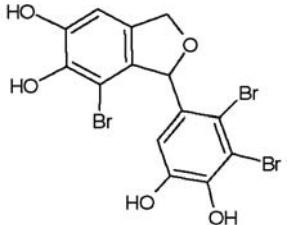
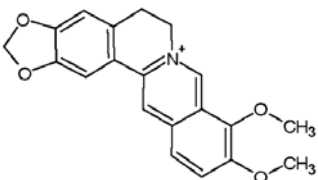
В обзоре Kong et al., опубликованном в 2014 г., приведена патентная информация о прямых ингибиторах тромбина (ПИТ), предложенных с 2002 по 2012 г. [35]. Отмечается, что среди низкомолекулярных ингибиторов тромбина наиболее активны соединения, содержащие аналоги трипептидной группировки D-Phe-Pro-Arg (P3-P2-P1). Эти соединения могут связываться с различными аминокислотами в активном центре тромбина. Типичные ПИТ содержат в области P1 высокоосновные функциональные группы: гуанидин (в аргатробане), бензамид (в дабигатране), алкиламин или 4-аминопиридин. Вместе с тем эти соединения обладают низкой оральной доступностью, так как основные амины сильно протонируются при pH желудочного тракта. Стратегия преодоления этого недостатка заключается в использовании пролекарств со слабоосновными или неосновными группами в области P1, таких как дабигатран этексилат. Позднее было показано, что фрагмент P1 не обязательно должен содержать высокоосновную

функциональную группу для ингибирования тромбина. Встраивание в группу P1 гетероциклзамещенного хлорфенильного фрагмента дает в результате активное соединение **1** (табл. 1) с $IC_{50} = 4$ нМ. Область P2 в трипептиде важна и для ингибирования тромбина, и для проявления оральной биодоступности. Внедрение 3-аминопиразинона в область P2 приводит к соединению **2** (табл. 1), ингибирующему тромбин с константой ингибирования (K_i) равной 5.2 нМ путем образования водородной связи 3-аминопиразинона с Gly216 тромбина. В обзоре [35] (в основном) речь идет о пептидных ингибиторах тромбина, выделенных из кровососущих насекомых, клещей, пиявок, а также из яда змей, ос и секрета кожи жаб.

В обзоре He et al. суммированы сведения о соединениях, разрабатываемых с 2010 г. в качестве орально активных ингибиторов тромбина [36]. Эти соединения получены различными синтетическими путями, а также химической модификацией ингибирующих тромбин соединений, выделенных из природных флавоноидов. В табл. 1 приведены структурные формулы и активности наиболее активных по отношению к тромбину соединений (**3–7**), взятые из указанного обзора. Селективность соединений **4**, **5** к тромбину была показана только относительно трипсина, соединения **6** – относительно факторов свертывания VIIa, IXa, Xa и XIIa. Соединение **3** (шифр RWJ-671 818), проявившее себя как орально активный и селективный относительно других факторов свертывания ингибитор тромбина ($K_i = 1,3$ нМ), передано на клинические испытания.

В этой же работе рассмотрены аллостерические ингибиторы тромбина. Известно, что при соединении лигандов к экзосайтам тромбина 1 или 2 может индуцировать конформационные изменения в его активном центре. Примером является тромбомодулин, который, взаимодействуя с экзосайтом 1, смещает субстратную специфичность тромбина с фибриногена на протеин С. Поскольку существующие ингибиторы тромбина связаны с определенным риском кровотечений, аллостерическое ингибирование тромбина через экзосайты 1 или 2 может быть альтернативой его прямому конкурентному ингибированию, создавая возможность контроля путем неполного ингибирования экзосайта. Были синтезированы и исследованы в качестве аллостерических ингибиторов тромбина, связывающихся с экзосайтом 2, несколько десятков производных моносульфатированного бензофурана и его ди-, три- и тетрамерных гомологов. Самым активным оказался тример с $IC_{50} = 0,67$ мкМ. Но ни один из исследованных аллостерических

Таблица 1. Новые ингибиторы тромбина

№	Структурная формула	Активность	Ссылка	№	Структурная формула	Активность	Ссылка
1		IC ₅₀ = 4 nM	[35]	8		K _i = 0,21 nM	[39]
2		K _i = 5,2 nM	[35]	9		IC ₅₀ = 3,39 nM	[41]
3		K _i = 1,3 nM	[36]	10		IC ₅₀ = 3,52 nM	[42]
4		K _i = 3,5 nM	[36]	11		IC ₅₀ = 7,48 nM	[43]
5		K _i = 0,77 nM	[36]	12		IC ₅₀ = 82,8 nM	[44]
6		K _i = 1,5 nM	[36]	13		IC ₅₀ = 0,019 μM	[45]
7		IC ₅₀ = 1,03 nM	[36]	14		IC ₅₀ = 2,92 μM	[46]

ингибиторов не проявил оральную активность [36].

К настоящему времени выявлено много химических соединений, способных ингибировать тромбин. Молекулы многих соединений имеют сходный или достаточно близкий основной молекулярный каркас (скаффолд — *scaffold*) и отличаются разнообразными заместителями, причем иногда замена одного или нескольких заместителей, не меняя существенно общую структуру молекулы, приводит к резкому изменению ее способности ингибировать тромбин. Таким образом, определение структурных молекулярных характеристик, ответственных за проявление биологической активности, имеет большое значение для молекулярного дизайна активных соединений.

В работе Mena-Ulcia et al. исследована дифференциальная активность 177 непептидных ингибиторов тромбина. Молекулярные структуры, представленные восемью скаффолдами, и активности рассмотренных соединений были взяты из работ, опубликованных ранее. Сначала была подтверждена способность используемой программы молекулярного докинга Glide правильно воспроизводить кристаллические структуры для пяти известных комплексов тромбин—лиганд с кодами 1T4U, 1T4V, 3C27, 2R2M и 3LDX из банка PDB. Затем с помощью программы Glide были определены предпочтительные конформации и энергетически наиболее выгодная ориентация каждого из оставшихся 172 ингибиторов в активном центре тромбина. Далее, используя оптимальные конформации лигандов, определенные на стадии молекулярного докинга, с помощью метода CoMSIA (сравнительный анализ индексов молекулярного сходства), реализованного в коммерческом пакете Sybyl 7.3, была построена предсказательная модель КССА. Для этого исходный набор соединений был разделен случайным образом на две группы: обучающую выборку (134 соединения) и тестовую выборку (34 соединения). На основе этой модели был выполнен прогноз активности тестовых соединений, результат которого представлен в виде графика зависимости между экспериментальными и вычисленными значениями активности тестовых соединений статей [37].

Sinauridze et al., взяв за основу известный ранее скаффолд орцина [38], и подбирая с помощью программы докинга SOL фрагмент P1, связывающийся с карманом S1, обнаружили группу новых высокоэффективных ингибиторов тромбина. В качестве заряженного фрагмента P1 молекулы этих веществ содержали изотиуруниевый, 4-аминопиридиновый или 2-аминотиазолиновый остатки [39]. Диапазон K_i этих

ингибиторов в буферной системе составил от 0,21 до 5,7 нМ, а IC_{50} в плазме — от 0,1 до 1,24 мкМ. Наиболее эффективное соединение **8** представлено в табл. 1.

В последние годы отмечается тенденция ввода атомов фтора и фторсодержащих групп в лекарственные молекулы [40]. Такая модификация молекул изменяет их фармакокинетические свойства, приводя во многих случаях к увеличению биодоступности из-за увеличения проницаемости клеточных мембран для таких соединений. Фторирование может блокировать метаболические пути лекарств на различных сайтах связывания, изменять скорость метаболизма и улучшать метаболическую стабильность.

В работе Li et al. была синтезирована серия новых фторированных 2,5-замещенных производных 1-этил-1H-бензимидазола [41]. Была экспериментально определена способность этих соединений ингибировать тромбин *in vitro*. Часть новых соединений оказалась более активной по сравнению с аргатробаном. Для наиболее активного соединения **9** (табл. 1), молекулярная структура которого отличается от структуры дабигатрана лишь наличием атома F в бензольном кольце, значение IC_{50} равно 3,39 нМ, что сопоставимо с активностью дабигатрана ($IC_{50} = 2,61$ нМ). В большинстве активных соединений место пиридинового кольца занимает бензольное. В любом случае введение заместителей в это кольцо сильно влияет на антикоагулянтную активность. Показано, что электронодонорные заместители снижают, а электроноакцепторные немного повышают антикоагулянтную активность. Положение заместителя в кольце также влияет на активность, которая уменьшается для разных положений заместителя в следующем порядке: *meta*- → *ortho*- → *para*-.

Chen et al. синтезировали ряд структурных аналогов дабигатрана, в которых пиридиновое кольцо заменено бензольным и в разные положения этого кольца введены атомы фтора. Определена антикоагулянтная активность синтезированных соединений *in vitro*. Наиболее активное соединение **10** (табл. 1) с $IC_{50} = 3,52$ нМ содержит атом F в *ortho*-положении бензольного кольца. Атом F в *meta*-положении уменьшает ингибиторную активность примерно в два раза, а в *para*-положении уменьшает незначительно. Введение группы $-CF_3$ в бензольное кольцо уменьшает ингибиторную активность: в *ortho*-положении — в два раза, в *meta*-положении — в 7 раз, в *para*-положении — почти в 60 раз [42].

В работе Chen et al. проведено исследование антитромбиновой активности соединений, имитирующих дабигатран и отличающихся от него заменой бензамидиновой части молекулы

на трициклический скаффолд. Значение IC_{50} для наиболее активного соединения **11** было равно 7,48 нМ. Затем на этой основе были синтезированы и исследованы 22 производных, некоторые из которых проявили достаточно сильное ингибирующее действие на индуцированную тромбином агрегацию тромбоцитов [43].

Ингибиторное действие на тромбин десяти синтезированных производных 4-(1,2,3,4-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-а]пирозин-1-ил)-метил)бензимидамида было оценено в работе [44]. Наиболее активное соединение **12** с $IC_{50} = 82,8$ нМ было выбрано в качестве базовой структуры (лидера), на основании которой был получен ряд производных, большинство из которых показали ингибиторный эффект в отношении индуцированной тромбином агрегации тромбоцитов. Максимальное значение IC_{50} в этом случае оказалось равным 1,95 мкМ.

В работе Lee et al. с помощью высокопроизводительного виртуального скрининга базы соединений ZINC15 (программа докинга DOCK3.6) с использованием структуры тромбина (PDB ID:2CF9-H), найдено новое соединение **13** (шифр JJ1), оказавшееся активным и высокоселективным ингибитором тромбина *in vitro* и *in vivo*. Соединение JJ1 представляет собой новый скаффолд, отличающийся от ранее известных ингибиторов тромбина. Проведено сравнение молекулярной структуры JJ1 с молекулярными структурами 2038 непептидных ингибиторов тромбина, содержащихся в базе Binding DB. Средний коэффициент молекулярного сходства соединения **13** с этими ингибиторами, оцененный с помощью известного коэффициента Танимото, составил $0,12 \pm 0,03$, что свидетельствует о высокой степени новизны структуры JJ1 [45].

Поиск новых ингибиторов тромбина проводили и среди соединений, выделенных из природных источников, например, из трав, используемых в традиционной китайской медицине (ТКМ). Wang et al. использовали модель фармакофора (совокупности стереоэлектронных характеристик, необходимых для оптимального взаимодействия лиганда со специфической мишенью) и молекулярный докинг для виртуального скрининга библиотеки, содержащей 23 023 соединений из ТКМ. С помощью модуля генерации фармакофора на основании 6 до определенной степени разнообразных соединений с IC_{50} от 0,1 нМ до 73 нМ были сформированы 10 моделей. Для их валидации использовали выборку, составленную из 100 известных ингибиторов тромбина и 256 неактивных соединений. Модель фармакофора, которая лучше всех идентифицировала активные соединения (92%), включала акцептор водородной связи, ароматическое коль-

цо и гидрофобную группу. В результате скрининга с помощью этой модели фармакофора базы данных TCMD 2009 (23 023 соединений) были выделены 93 хита, которые были исследованы методом молекулярного докинга (программа Surflex-Dock) с использованием кристаллической структуры тромбина. Для экспериментальной оценки способности ингибировать тромбин были отобраны и синтезированы 23 соединения, наиболее удачным из которых был признан берберин (*berberine*) (**14**) с $IC_{50} = 2,92$ мкМ [46].

Из представленных выше данных можно заключить, что, если отдельно рассматривать группы соединений из различных химических классов, проявившие себя как ингибиторы тромбина, то внутри каждого такого класса возможны определенные заключения о влиянии химической природы и положения различных молекулярных групп на проявляемую активность, что позволяет оптимизировать поиск наиболее активных соединений. Однако одни и те же молекулярные группы в различном молекулярном окружении будут оказывать различное влияние на свойства и активность. Таким образом, заранее сконструировать новую структуру активного ингибитора, основываясь на частных заключениях о влиянии различных химических групп в конкретном окружении на активность, не представляется возможным. Поэтому надо либо использовать найденные ранее частные закономерности связи структура–активность и искать новые более активные соединения в этом же химическом классе, либо проводить поиск новых базовых структур в имеющихся базах соединений методами высокопроизводительного виртуального скрининга с последующей структурной модификацией найденных хитов для выявления и оптимизации наиболее активных соединений.

НОВЫЕ ИНГИБИТОРЫ ФАКТОРА Ха

Фактор Ха – это белок из семейства сериновых протеаз, состоящий из легкой (139 а.о.) и тяжелой (303 а.о.) цепей, связанных дисульфидным мостиком. Место связывания лиганда с ферментом располагается в тяжелой цепи и включает 4 кармана: S1, S2, S3 и S4, с которыми связываются P1, P2, P3 и P4 фрагменты ингибитора соответственно. Поскольку фактор Ха предшествует тромбину в коагуляционном каскаде, его ингибиторы могут быть более эффективны в ослаблении коагуляции, чем ингибиторы самого тромбина. В настоящее время для использования в клинической практике одобрены 4 ингибитора фактора Ха [6–10, 47]: ривароксабан

(*rivaroxaban*), аписабан (*apixaban*), эдоксабан (*edoxaban*) и бетриксабан (*betrixaban*). Однако у этих препаратов, как уже сказано во введении, отмечены разные побочные эффекты и противопоказания, что заставляет искать новые эффективные и безопасные ингибиторы фактора Ха.

В объемном обзоре Patel et al. подведены итоги выполненных в основном до 2015 г. исследований по разработке новых ингибиторов фактора Ха. Представлены структурные формулы химических групп, используемых в качестве центрального скаффолда (11 групп) и мотивов P1 (25 групп) и P4 (25 групп). Приведены также данные о кристаллических структурах комплексов Ха с 33 различными ингибиторами, размещенные в банке PDB с 2010 г. [48]. В настоящем обзоре рассмотрены работы по ингибиторам фактора Ха, опубликованные, начиная с 2015 г.

Виртуальный скрининг двух молекулярных библиотек (базы данных NCI Diversity (США), содержащей 1888 соединений, и базы данных химического факультета Воронежского университета, включающей 14 271 соединений) был проведен с использованием оригинальных программ молекулярного докинга SOL и постдокинга DISCORE в работе [49]. Структура Ха была взята из комплекса PDB ID:3IIT. Большая часть (12 из 17) отобранных по результатам скрининга соединений показала в опытах *in vitro* ингибирующее действие в отношении фактора Ха с примерными константами ингибирования на микромольном уровне. На основе полученных результатов было синтезировано новое соединение **15** (табл. 2), которое при тестировании *in vitro* ингибировало фактор Ха с IC₅₀ равным 0,7 мкМ. Обсуждена физическая природа взаимодействий молекул рассматриваемых соединений с карманами S1, S2, S3 и S4 связывающего сайта фактора Ха.

Yang et al., исходя из результатов предыдущих исследований, испытали *in vitro* в качестве ингибиторов фактора Ха новую серию синтезированных ими соединений, являющихся производными 3,4-диаминобензоила [50]. Большинство этих соединений проявили хорошую и отличную ингибирующую активность. Был выполнен качественный анализ связи структура–активность, прояснивший влияние химического состава групп P1 и P4, связывающихся, соответственно, с карманами S1 и S4, на активность, что привело к открытию нового активного высокоселективного прямого ингибитора Ха **16** (табл. 2) с хорошей активностью *in vivo* (крысы), сравнимой с активностью ривароксабана. Активность соединений возрастала с увеличением объема группы P1 и уменьшалась при замене бензольного кольца в этой группе на пиридино-

вое или тиофеновое кольцо. Замена пиридинового кольца в группе P4 на лактамное кольцо также снижала антикоагулянтную активность. Положение карбоксамидной группы в центральном кольце соединения **16** сильно влияет на активность. Наиболее выгодно расположение этой группы в позиции 5 (см. табл. 2), когда она образует водородные связи с аминокислотными остатками Glu146, Gly216 и Gly218. Замена карбоксамидной группы на сложноэфирную или карбоксикислотную группу уменьшает антикоагулянтную активность.

Аналогично анализ связи структура – биологическая активность для синтезированных производных антраниламида привел к открытию активного орального ингибитора фактора Ха (**17**) с IC₅₀ = 8,7 нМ [51]. Проанализировано влияние химической природы и положения заместителей в группе P1 (табл. 2) на способность ингибировать фактор Ха. Показано, что 4-замещенные производные имеют более высокую ингибирующую активность по сравнению с 3-замещенными производными. Соединения, содержащие малые липофильные заместители в позиции 4 (хлор, метильная или метоксильная группы), были высокоактивны, тогда как ввод объемных заместителей (этильная или изопропильная группы) в эту позицию резко уменьшал активность. Замена 2-аминопиридина на другие циклические системы (3-аминопиридины, 5-членные гетероциклы, бициклические группы) приводила к существенному уменьшению ингибиторной активности.

Используя опубликованные экспериментальные данные по активности трициклических оксазолидинонов с приведенной на рис. 2 общей формулой, проявивших ингибирующее действие в отношении фактора Ха, С. Ху и др. с помощью комбинации различных методов молекулярного моделирования (CoMFA, CoMSIA, молекулярный докинг, молекулярная динамика) построили и исследовали трехмерную модель количественной связи структура – активность (KCCA – 3D-QSAR) [52]. Исходный набор дан-

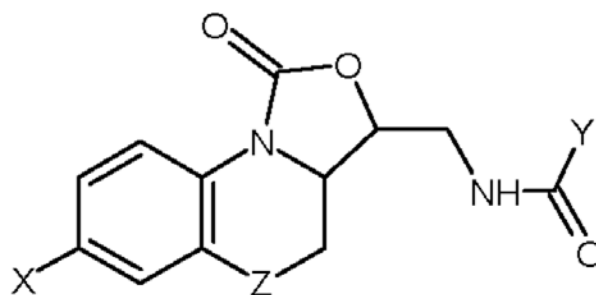
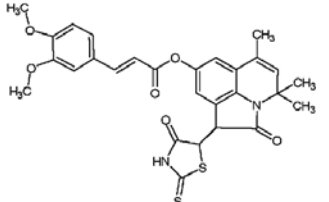
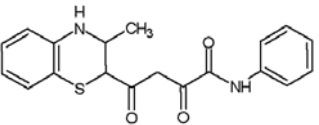
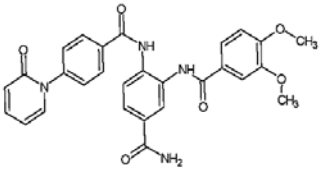
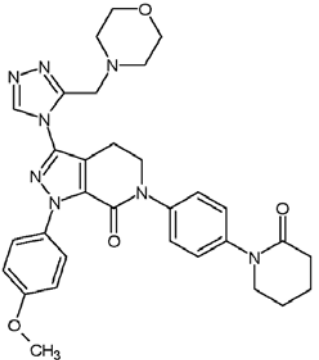
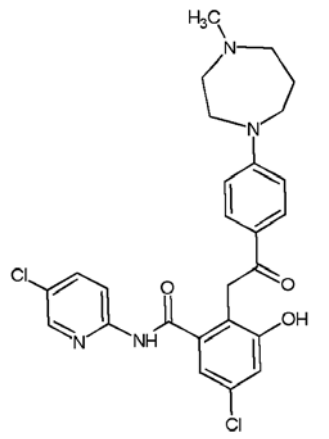
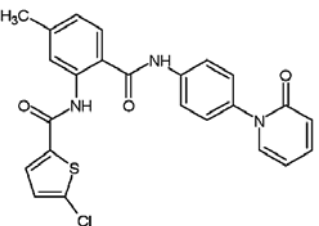
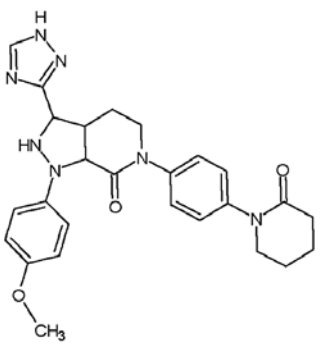
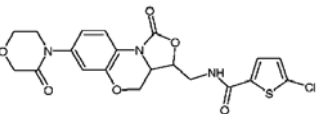
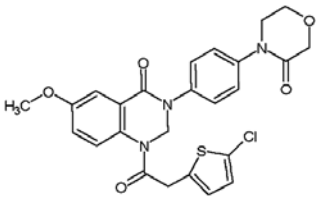


Рис. 2. Общая формула ингибиторов фактора Ха класса трициклических оксазолидинонов

Таблица 2. Новые ингибиторы фактора Ха

№	Структурная формула	Активность	Ссылка	№	Структурная формула	Активность	Ссылка
15		$IC_{50} = 0,7 \mu M$	[49]	20		$IC_{50} = 2,02 nM$	[56]
16		$IC_{50} = 17,1 nM$	[50]	21		$IC_{50} = 0,14 \mu M$	[57]
17		$IC_{50} = 8,7 nM$	[51]	22		$IC_{50} = 25 nM$	[58]
18		$IC_{50} = 0,15 \mu M$	[53]	23		$IC_{50} = 3,33 nM$	[59]
19		$IC_{50} = 21 nM$	[54]				

ных (38 соединений) разделили на две группы: обучающую выборку (31 соединение), на которой строили модель, и тестовую (7 соединений). Модель, построенная методом CoMFA (сравнительный анализ молекулярных полей), имеет следующие статистические характеристики: $R^2 = 0,984$, $Q^2 = 0,511$. Модель CoMSIA (сравнительный анализ индексов молекулярного сходства) дает $R^2 = 0,993$, $Q^2 = 0,700$. Здесь R^2 – коэффициент корреляции для обучающей выборки, Q^2 – коэффициент корреляции при скользящем контроле с исключением по одному. Обе модели удовлетворительно воспроизводят экспериментальные значения pIC_{50} ($-\log IC_{50}$) для соединений тестовой выборки. Методами молекулярного докинга и молекулярной динамики детально исследованы наиболее вероятные способы структурного связывания лигандов в активном сайте белка (структура белка взята из PDB, код 2W26).

Замещая в областях связывания молекулы апиксабана с фактором Ха (P1, P2 и P4) группы апиксабана на различные молекулярные группы, Wang et al. синтезировали 4 серии производных в качестве новых ингибиторов фактора Ха [53]. Проведена экспериментальная оценка ингибиторной активности новых соединений в отношении фактора Ха *in vitro* в плазме человека и кролика. Для наиболее активного соединения **18** (табл. 2) значение IC_{50} составляло 0,15 мкМ. Замена метоксильной группы в области P1 на различные электроноакцепторные группы привела к уменьшению ингибиторной активности в следующем порядке: $-OCH_3 \rightarrow -F \rightarrow -OCHF_2 \rightarrow -Cl \rightarrow OCF_3 \rightarrow -Br$. Ввод заместителей в различные позиции триазольного кольца в области P2 также, как правило, снижал активность.

Синтезирован также ряд производных 2,3-дигидрохиназолин-4(1H)-она [54]. Большинство соединений показали в эксперименте *in vitro* значительную ингибиторную активность в отношении фактора Ха. Для наиболее активного соединения **19** (табл. 2) значение IC_{50} составляло 21 нМ, что свидетельствует о его высокой селективности, поскольку по отношению к тромбину данный ингибитор имеет значение $IC_{50} = 67$ мкМ.

С целью выявления новых ингибиторов фактора Ха в работе Pu et al. проведен виртуальный скрининг базы данных SPECS, содержащей ~220 000 молекул [55]. Первоначальная фильтрация указанной базы была выполнена с помощью известного эмпирического «правила пяти» Липински, отличающего лекарства от «нелекарств» (см. выше). В результате число соединений, отобранных для дальнейшей работы, снизилось до 75 671. Далее проводили скрининг этих соединений с помощью модели фармакофора. Фар-

макофор комплементарен активному центру специфического рецептора и представляет собой умозрительную стереохимическую конструкцию, необходимую для оптимального взаимодействия с рецептором и свойственную активным молекулам. Для генерации модели фармакофора использовали фармакофорный модуль из коммерческого пакета Discovery Studio Version 4.0 (DS 4.0). Из различных публикаций был собран набор из 24 ингибиторов фактора Ха. Обучающую выборку составляли 10 соединений, а остальные 14 рассматривались как тестовые. Было построено 10 моделей фармакофора. С помощью тестовых соединений была выбрана наилучшая модель, которая и использовалась в виртуальном скрининге. В итоге для последующего скрининга методом молекулярного докинга (программный пакет GOLD 5.2.2) были отобраны 10 000 соединений. После этой процедуры осталось 200 соединений, из которых, анализируя способы связывания лигандов и сродство к активному центру фактора Ха (программы SYBYL, DS 4.0, PyMol), авторы, не вдаваясь в детали, предложили для дальнейших экспериментальных исследований 10 новых различающихся базовых структур в качестве новых потенциальных ингибиторов фактора Ха. Приведены структурные формулы этих соединений [55].

В результате виртуального скрининга базы данных NCI Open (260 000 соединений) с использованием комбинации различных методов, идентифицированы новые базовые структуры потенциальных ингибиторов фактора Ха [56]. Из 30 соединений, отобранных для экспериментального тестирования *in vitro*, наиболее активным оказалось соединение **20** (табл. 2) с $IC_{50} = 2,02$ нМ.

Для выявления новых эффективных ингибиторов фактора Ха на основе найденной ранее зависимости структура – активность спроектировали и синтезировали серию новых производных тетрагидропиразолопиридола, содержащих в связываемой рецептором области P2 различные молекулярные группировки (1,3,4-триазол, триазолилметил и другие) [57]. Все соединения проявили ингибиторную активность в отношении фактора Ха *in vitro*. Для наиболее активного соединения **21** (табл. 2) значение IC_{50} было равно 0,14 мкМ.

В работе Wang et al. в качестве базовой структуры был использован антралиламид [58]. Из спроектированных на его основе и синтезированных производных 3 соединения показали при испытании *in vitro* заметное ингибирующее действие на фактор Ха и высокую селективность относительно тромбина. Значение IC_{50} для наиболее активного соединения **22** (табл. 2) было

равно 25 нМ. Методом молекулярного докинга (программа Glide) установлено, что связывание этого соединения с активным центром Ха осуществляется по тому же механизму, что и связывание ривароксабана. Соединение **22** может быть лидером для последующей модификации молекулы с целью усиления антикоагулянтной активности.

Исходя из структуры нескольких активных ингибиторов фактора Ха и структуры белка Ха, Nu et al. спроектировали и синтезировали более 100 новых соединений [59]. В результате скрининга различными методами было отобрано соединение **23** (табл. 2) с шифром DJT06001, антикоагулянтное действие которого было детально исследовано *in vitro* и *in vivo*. Соединение оказалось эффективно в предотвращении образования тромбов в результате прямого и специфического ингибирования фактора Ха. Риск кровотечений при его использовании был сходный или даже более низкий, чем для ривароксабана. Соединение **23** имело более высокую растворимость и биодоступность чем ривароксабан. Значение IC_{50} для ингибирования свободного Ха в плазме оказалось равным 3,33 нМ, а для ингибирования Ха, связанного с протромбиназой, – 2,53 нМ.

НОВЫЕ ИНГИБИТОРЫ ФАКТОРА IXa

Как уже было сказано выше, при внешнем повреждении сосуда образовавшийся комплекс «внешняя теназа» (ТФ–VIIa) активирует факторы IX и X. Фактор IXa катализирует образование Ха из X, однако почти в 50 раз более эффективная активация фактора X осуществляется комплексом «внутренняя теназа» (IXa–VIIIa). Фактор Ха нестабилен в плазме и быстро ингибируется антитромбином и ИПТФ. Напротив, фактор IXa в плазме относительно стабилен и диффундирует от несущих тканевый фактор клеток к активированным тромбоцитам, поэтому фактор IXa рассматривается как очень перспективная мишень для разработки новых эффективных антикоагулянтов [60].

К настоящему времени опубликовано достаточно большое количество статей, в которых в качестве ингибиторов фактора IXa предлагались разные структуры: моноклональные антитела, аптамеры ДНК, а также синтетические низкомолекулярные соединения (например, полизамещенные бензотиофены) [61–63]. Мы рассмотрим лишь работы, опубликованные с 2015 г.

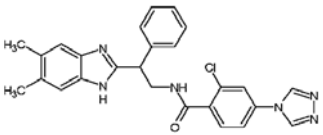
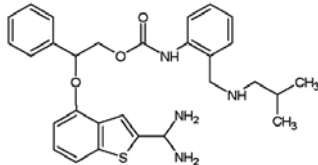
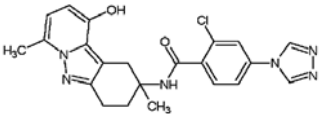
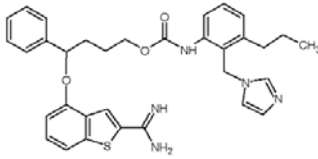
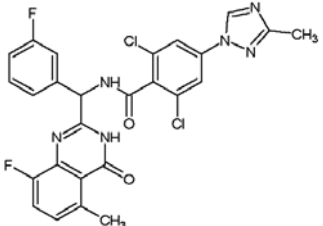
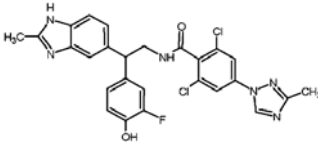
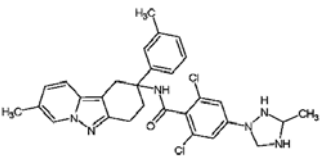
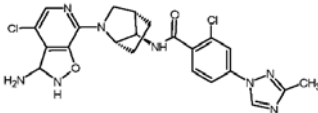
На основе молекулярной структуры двух хи-

водительного скрининга и продемонстрировавших микромолярную активность в отношении фактора IXa, были синтезированы и исследованы различные производные этих соединений, относящиеся к замещенным бензимидазолам (класс А) и замещенным пиразолопиридинам (класс В) [64]. Тестирована способность этих соединений ингибировать фактор IXa, а также фактор Ха для сравнения. Структуры наиболее активных веществ для каждого из этих классов соединений приведены в табл. 3 (соединения **24** и **25**). Ингибирующая активность соединений **24** и **25** по отношению к фактору IXa была выше, чем по отношению к фактору Ха в 24 и 120 раз, соответственно. Проведен анализ связи структура–активность, необходимый для дальнейших исследований при поиске ингибиторов фактора IXa. Удаление обеих метильных групп в бензимидазольном кольце соединения **24** снижало активность. Перенос триазольного кольца из *para*-позиции относительно амидной группы в *ortho*- или *meta*-позицию в обоих соединениях уменьшал активность. Исследовано влияние длины алкильной цепочки в центральной части молекулы **24** и различных замещений в этой области на активность. Ввод заместителя в позицию, смежную с бензамидом, уменьшал активность, тогда как ввод заместителя в позицию, смежную с бензимидазольным кольцом, ее увеличивал. Замена фенильного кольца в этой части на метильную группу снижала активность. Урезание цепочки до одного атома С или увеличение ее до трех атомов С также снижало активность. Соединение **24** является R-энантиомером, который в 30 раз более активен, чем S-энантиомер.

Используя соединение **24** как базовую структуру, Zhang et al. синтезировали серию аналоговых производных в качестве потенциальных кандидатов для ингибирования фактора IXa [65]. Более половины синтезированных соединений показали при тестировании *in vitro* очень высокую селективность при ингибировании фактора IXa относительно ингибирования фактора Ха. Наиболее активное соединение **26** (табл. 3) с $K_i = 1,0$ нМ было почти в 30 000 раз более селективно к IXa, чем к Ха.

В другой работе синтезировали ~40 трициклических соединений, являющихся структурными аналогами соединения **25** (табл. 3) [66]. Некоторые из них показали значительное ингибирующее действие на фактор IXa и были при этом высоко селективными (по сравнению с действием на фактор Ха). Приведенная в табл. 3 структурная формула **27** соответствует не самому активному, но одному из наиболее селективных соединений полученного ряда ($K_i = 1,8$ нМ, ин-

Таблица 3. Новые ингибиторы фактора IXa

№	Структурная формула	Активность	Ссылка	№	Структурная формула	Активность	Ссылка
24		$K_i = 0,016 \mu\text{M}$	[64]	28		$pIC_{50} = 8,70$	[67]
25		$K_i = 0,09 \mu\text{M}$	[64]	29		$pIC_{50} = 10,50$ (CoMFA) 10,66 CoMSIA)	[67]
26		$K_i = 1,0 \text{ nM}$	[65]	30		$IC_{50} = 1,86 \text{ nM}$	[68]
27		$K_i = 1,8 \text{ nM}$	[66]	31		$IC_{50} = 4,9 \text{ nM}$	[69]

гибирующая способность по отношению к фактору IXa в 300 с лишним раз больше, чем в отношении фактора Xa). В работе представлены подробные таблицы, в которых показано влияние на антикоагулянтную активность химической природы заместителей, введенных в различные положения молекулы ингибитора. Однако сделать однозначные выводы сложно, так как влияние каждого заместителя в определенном положении на активность сильно зависит от химической природы заместителей в других положениях.

На основании опубликованных экспериментальных данных о 84 производных амидинобензотиофена, способных ингибировать фактор IXa [62, 63] в работе Gao et al. с помощью методов CoMFA и CoMSIA были определены трехмерные количественные связи структура – активность (KCCA – 3D-QSAR) и трехмерные количественные связи структура – селективность (KCCC – 3D-QSSR) [67]. При построении KCCA для ингибирования фактора IXa в качестве зависимой переменной использовали значения $pIC_{50} = -\lg IC_{50}$. Из исходного массива (84 соединения) случайным образом выбрали 12 сое-

динений (тестовый набор), остальные 72 соединения составили обучающую выборку. При построении KCCC характеристикой селективности (S) служил отрицательный логарифм отношения значений IC_{50} для ингибирования факторов IXa и Xa. В этом случае исходный набор содержал 73 соединения (обучающая выборка – 64 соединения, тестовая – 9 соединений). Наиболее активное соединение исходного набора **28** (табл. 3) имело следующие характеристики: pIC_{50} (для ингибирования фактора IXa) = 8,70, $S = 2,56$. Указанными методами для обучающих выборок получены статистически значимые уравнения, количественно связывающие значения pIC_{50} и S с характеристиками соединений. Исходя из факта успешной проверки вычисленных уравнений, Gao et al. спроектировали и предсказали активность и селективность для 16 новых производных в рассматриваемом химическом ряду. Для всех этих соединений была предсказана более высокая способность ингибировать фактор IXa и более высокая селективность, чем у наилучшего соединения из исходного набора. Для наиболее активного из новых соединений **29** (табл. 3) были предсказаны сле-

дующие характеристики: pIC_{50} (для ингибирования фактора IXa) = 10,50, $S = 4,34$ (CoMFA); pIC_{50} (для ингибирования фактора IXa) = 10,66, $S = 4,41$ (CoMSIA). К сожалению, в работе ничего не сказано об экспериментальной проверке этих результатов [67].

В другой работе после инкубации одного из активных ингибиторов IXa ($IC_{50} = 9,99$ нМ) с микросомами печени (человек, крыса) с помощью специальной технологии были выделены и идентифицированы 3 метаболита, один из которых **30** оказался более активным ингибитором IXa ($IC_{50} = 1,86$ нМ), чем исходное соединение [68].

Ранее [64, 66] трициклические производные пиразинопиридина были идентифицированы как ингибиторы фактора IXa. Заменяв трициклическую часть молекул на более простые химические группы, Sakurada et al. синтезировали серию производных аминобензизоксазола в качестве потенциальных ингибиторов фактора IXa и испытали их в эксперименте. Наиболее активное соединение **31** (табл. 3) обладало высокой ингибирующей способностью относительно фактора IXa ($IC_{50} = 4,9$ нМ) и высокой селективностью по сравнению с ингибированием фактора Xa (более, чем в 6300 раз). Для этого соединения характерны умеренная растворимость в воде, хорошая мембранная проницаемость, микросомальная стабильность, разумный период полураспада (0,8 ч для крыс, 4,7 ч для собак). Соединение получило шифр CFM-184 и является кандидатом для предклинических испытаний [69].

НОВЫЕ ИНГИБИТОРЫ ФАКТОРА XIa

Кроме активации комплексом VIIa-TF, фактор IX может быть активирован фактором XIa. Несмотря на то, что при нормальных физиологических условиях вклад фактора XIa в нормальный гемостаз минимален, активация этого фактора играет важную роль в развитии тромботических осложнений. На основании фундаментальных и эпидемиологических исследований, а также клинических наблюдений, сформировалось мнение, что фактор XIa следует рассматривать как главную и наиболее перспективную мишень для разработки антикоагулянтных лекарств со сниженным риском кровотечений [70, 71]. Начиная с 2010 г., число патентов и публикаций, связанных с разработкой ингибиторов фактора XIa, существенно увеличилось. В обзорах Vane et al. и Al-Norani et al. представлены основные группы веществ, предлагавшихся в качестве ингибиторов фактора XIa: 1) монокло-

нальные антитела; 2) антисмысловые олигонуклеотиды (АСО) – химически модифицированные одноцепочечные последовательности нуклеотидов, которые могут комплементарно связываться со специфическими участками мРНК, влияя на экспрессию гена и модулируя синтез соответствующего белка; 3) полипептиды; 4) синтетические низкомолекулярные соединения (ациклические, моноциклические, бициклические, макроциклические), связывающиеся непосредственно с активным центром фактора XIa; 5) синтетические аллостерические ингибиторы; 6) естественные соединения, выделенные из природных источников (бромфенильные карбаматы) [70, 71]. В настоящем обзоре, как и для факторов, рассмотренных выше, речь пойдет только о синтетических ингибиторах фактора XIa, предложенных в 2015 г. Структуры наиболее эффективных из этих новых ингибиторов представлены в табл. 4.

Как часть программы по изучению структурно разнообразных ингибиторов XIa и на основе выделенных ранее соединений Corte et al. синтезировали и исследовали ряд новых производных, полученных введением разных заместителей в имидазольное кольцо исходных соединений [72]. В табл. 4 приведены структурные формулы двух соединений **32** и **33**, проявивших наибольшую активность при ингибировании фактора XIa. Соединение **32** является S-энантиомером, который существенно более активен ($K_i = 8,4$ нМ) по сравнению с соответствующим рацематом. Для соединения **33** значение $K_i = 3,7$ нМ. Для соединения **32** была исследована кристаллическая структура комплекса S-энантиомера с фактором XIa. Подробно рассмотрено связывание соединения с различными элементами активного центра этого фактора.

Модифицируя мотивы P1 и P2 в найденных ранее соединениях, проявивших себя как активные ингибиторы фактора XIa, Pinto et al. исследовали серию новых производных с целью улучшения общего профиля селективности и оральной биодоступности [73]. Наиболее активным ($K_i = 6,7$ нМ) и высокоселективным оказалось соединение **34**.

В работе Smith et al. было исследовано влияние различных замещений в мотивах P1 и P2 фенилаланиндиамидов на ингибирование фактора XIa, что и привело авторов к открытию соединения **35** с высоким сродством к фактору XIa ($K_i = 2,0$ нМ) [74].

В работе Corte et al. [75], являющейся продолжением исследований, опубликованных в [72], был синтезирован и исследован ряд новых производных, способных ингибировать фактор XIa. Целью исследования было улучшение оральной

Таблица 4. Новые ингибиторы фактора XIa

№	Структурная формула	Активность	Ссылка	№	Структурная формула	Активность	Ссылка
32		$K_i = 8,4 \text{ nM}$	[72]	37		$IC_{50} = 0,77 \text{ }\mu\text{M}$	[76]
33		$K_i = 3,7 \text{ nM}$	[72]	38		$K_i = 0,7 \text{ nM}$	[77]
34		$K_i = 6,7 \text{ nM}$	[73]	39		$K_i = 0,16 \text{ nM}$	[78]
35		$K_i = 2,0 \text{ nM}$	[74]	40		$K_i = 0,02 \text{ nM}$	[79]
36		$K_i = 6,7 \text{ nM}$	[75]	41		$K_i = 1,9 \text{ nM}$	[80]

биодоступности ингибиторов. Одним из наиболее активных ($K_i = 6,7 \text{ nM}$) оказалось соединение **36**, которое является S-энантиомером с хорошей биодоступностью.

Показано, что производное кумарина **37** (эффективно ($IC_{50} = 0,77 \text{ }\mu\text{M}$) ингибирует фактор XIa и демонстрирует достаточную селективность (от умеренной до хорошей) относительно панели родственных сериновых протеаз [76]. Соединение **37** может быть использовано как центральный скаффолд для разработки новых эффективных ингибиторов фактора XIa с отсутствующим или ограниченным риском внутренних кровотечений.

Последовательной оптимизацией серии соединений, содержащих в качестве скаффолдов фенилаланин и тетрагидроизохинолин [77], получили прямой обратимый высокоселективный ингибитор фактора XIa **38**, обозначенный как

BMS-962212. Соединение хорошо растворимо в воде, имеет короткий период полураспада и по своим фармакокинетическим характеристикам пригодно для парентерального введения. Препарат прошел первую фазу клинических испытаний.

Исходя из ациклических производных фенилимидазола, проявивших себя как ингибиторы фактора XIa, Corte et al. спроектировали и исследовали методами молекулярного моделирования и конформационного анализа серию 11-, 12-, 13- и 14-членных макроциклов [78]. Теоретический анализ показал, что лучше всего в активный центр фактора XIa вписываются 12- и 13-членные макроциклы, которые и были синтезированы раскрытием бензильного кольца из области P1 и соединением с орто-позицией фенила из области P2 посредством алкильного и

эфирного линкеров разной длины. Один из 13-членных макроциклов (соединение **39**), являющийся Е-изомером, показал хорошую активность при ингибировании фактора XIa ($K_i = 0,16$ нМ) и высокую селективность. Вместе с тем этот макроцикл обладал очень низкой оральной биодоступностью, что обусловлено, по мнению авторов, высокой полярностью молекулы. В 2017 г. тот же коллектив авторов, используя другую схему макроциклизации, получил еще более активное ($K_i = 0,02$ нМ), высокоселективное вещество **40**, но его оральная биодоступность также оказалась низкой [79].

В поиске активных и орально биодоступных ингибиторов фактора XIa Nu et al. синтезировали и исследовали производные пиридазина [80]. В целом, полученные соединения были идентифицированы как активные и селективные ингибиторы фактора XIa. Фармакокинетические характеристики данных соединений были оценены на собаках. Наиболее активное из полученных соединений **41** ($K_i = 1,9$ нМ) обладало умеренной оральной биодоступностью.

После рассмотрения всех представленных в обзоре структур можно сделать вывод, что ни одно из этих соединений не подходит на роль «идеального» антикоагулянта. В работе R.A. Al-Norani и др. [71] сформулированы основные характеристики, которыми должен обладать такой идеальный антикоагулянт: 1) предсказуемая фармакокинетика; 2) отсутствие токсичности при действии на печень (гепатотоксичность), кости (остеопороз), тромбоциты (тромбоцитопения); 3) быстрая обратимость при использовании эффективных и недорогих антидотов; 4) отсутствие необходимости непрерывного мониторинга, подбора и коррекции дозы; 5) безопасность для особых популяций (беременные женщины, раковые пациенты, дети, пожилые люди и т.п.); 6) доступность в сравнительно недорогой оральной и/или парентеральной форме; 7) эффективность и безопасность действия при любом повышении риска внутреннего кровотечения.

Таким образом, несмотря на определенные достижения в разработке методов антикоагулянтной терапии, поиск новых антикоагулянтных препаратов продолжается, так как в настоящее время нет идеального антикоагулянта, доступного в клинике для предотвращения и терапии тромбозов и тромбозов.

Поскольку тромбоз представляет собой сложный процесс, реализующийся по множеству механизмов, нельзя не упомянуть об исследованиях, в которых для терапии тромбозов использовали комбинацию двух или более антиромботических лекарств. В обзоре Neves et al. [81] обсуждены связи структура–активность и приведены структурные формулы для 163 химических соединений, являющихся дуальными ингибиторами различных факторов свертывания крови: тромбина и XIa, тромбина и VIIa, XIa или IXa, XIa и VIIa, XIa или калликреина плазмы и др. Например, соединение с шифром EP217609 и самой громоздкой структурной формулой среди представленных структур является прямым ингибитором тромбина ($IC_{50} = 11,5$ нМ) и непрямым ингибитором фактора XIa ($IC_{50} = 11,5$ нМ). Это соединение передано на клинические испытания. Ключевая проблема при поиске таких ингибиторов заключается в достижении компромисса между активностями соединения, действующего одновременно на несколько мишеней, представляющих интерес, и его приемлемым фармакокинетическим профилем.

Финансирование

Работа поддержана грантом по программе фундаментальных исследований Президиума РАН «Фундаментальные основы технологии физиологических адаптаций», раздел «Новые ингибиторы тромбина» – грантом РФФИ 16-14-00224.

Конфликт интересов

Авторы работы декларируют отсутствие конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пантелеев М.А., Атауллаханов Ф.И. (2008) Свертывание крови: биохимические основы, *Клиническая онкогематология*, **1**, 50–62.
2. Пантелеев М.А., Васильев С.А., Синауридзе Е.И., Воробьев А.И., Атауллаханов Ф.И. (2012) *Практическая коагулология*, Практическая медицина, Москва.
3. Пантелеев М., Котова Я., Токарев А. (2008) Механизмы регуляции свертывания крови, *Терапевтический архив*, **7**, 88–91.
4. Sinauridze, E.I., Panteleev, M.A., and Ataulakhanov, F.I. (2012) Anticoagulant therapy: basic principles, classic approaches and recent developments, *Blood Coagul. Fibrinolysis*, **23**, 482–493.
5. Broussalis, E., Anna, W., Trinka, E., Mutzenbach, S., and Killer, M. (2014) Latest developments in anticoagulant drug discovery, *Drug Discov. Today*, **19**, 921–935.
6. Ahrens, I., Peter, K., Lip, G.Y.H., and Bode, C. (2012) Development and clinical applications of novel oral anticoagulants. Part I. Clinically approved drugs, *Discov. Med.*, **13**, 433–443.
7. Roca, B., and Roca, M. (2015) The new oral anticoagulants: reasonable alternatives to warfarin, *Cleve Clin. J. Med.*, **82**, 847–854.

8. Adcock, D.M., and Gosselin, R. (2015) Direct oral anticoagulants (DOACs) in the laboratory: 2015 review, *Thromb. Res.*, **136**, 7–12.
9. Mekaj, Y.H., Mekaj, A.Y., Duci, S.B., and Miftari, E.I. (2015) New oral anticoagulants: their advantages and disadvantages compared with vitamin K antagonists in the prevention and treatment of patients with thromboembolic events, *Ther. Clin. Risk. Manag.*, **11**, 967–977.
10. Gomez-Outes, A., Suarez-Gea, M.L., Lecumberri, R., Terleira-Fernandez, A.I., and Vargas-Castrillon, E. (2015) Direct-acting oral anticoagulants: pharmacology, indications, management, and future perspectives, *Eur. J. Haematol.*, **95**, 389–404.
11. Синауридзе Е., Вуймо Т., Атауллаханов Ф. (2017) Дабигатран этексилат: новый антикоагулянт для перорального введения, *Вопросы гематологии/онкологии и иммунологии в педиатрии*, **16**, 1–15.
12. Jorpa, S.A., Saliccioli, J., Adamski, J., Patel, S., Wysokinski, W., McBane, R., Al-Saffar, F., Esser, H., and Shamoun, F. (2018) A practical review of the emerging direct anticoagulants, laboratory monitoring, and reversal agents, *J. Clin. Med.*, **7**, 29.
13. Pollack, C.V., Reilly, P.A., van Ryn, J., Eikelboom, J.W., Glund, S., Bernstein, R.A., Dubiel, R., Huysman, M.V., Hylek, E.M., Kam, C.W., Kamphuisen, P.W., Kreuzer, J., Levy, J.H., Royle, G., Sellke, F.W., Stangier, J., Steiner, T., Verhamme, P., Wang, B., Young, L., and Weitz, J.I. (2017) Idarucizumab for dabigatran reversal — full cohort analysis, *N. Engl. J. Med.*, **377**, 431–441.
14. Hung, C.-L., and Chen, C.-C. (2014) Computational approaches for drug discovery, *Drug Dev. Res.*, **75**, 412–418.
15. Lill, M. (2013) Virtual screening in drug design, *Methods Mol. Biol.*, **993**, 1–12.
16. Baron, R. (Ed.) (2012) *Computational drug discovery and design*, Springer New York, NY.
17. Хельтье Х.-Д., Зиппл В., Роньян Д., Фолькерс Г. (2015) *Молекулярное моделирование. Теория и практика*, БИНОМ. Лаборатория знаний, Москва.
18. De Ruyc, J., Brysbaert, G., Blossey, R., and Lensink, M.F. (2016) Molecular docking as a popular tool in drug design, an *in silico* travel, *Adv. Appl. Bioinform. Chem.*, **9**, 1–11.
19. Chen, Y.-C. (2015) Beware of docking! *Trends Pharmacol. Sci.*, **36**, 78–95.
20. Сулимов В.Б., Сулимов А.В. (2017) *Докинг: молекулярное моделирование для разработки лекарств*, ИИнтелл, Москва, 348 с.
21. Klimovich, P.V., Shirts, M.R., and Mobley, D.L. (2015) Guidelines for the analysis of free energy calculations, *J. Comput. Aided. Mol. Des.*, **29**, 397–411.
22. Sulimov, A.V., Kutov, D.C., Katkova, E.V., Ilin, I.S., and Sulimov, V.B. (2017) New generation of docking programs: Supercomputer validation of force fields and quantum-chemical methods for docking, *J. Mol. Graph. Model.*, **78**, 139–147.
23. Раевский О. (2013) *Свойства химических соединений и лекарств как функции их структуры*, Добросвет, КДУ, Москва.
24. Раевский О. (2015) *Моделирование соотношений «структура–свойство»*, Добросвет, КДУ, Москва.
25. Филимонов Д., Поройков В. (2006) Прогноз спектра биологической активности органических соединений, *Российский химический журнал*, **50**, 66–75.
26. Поройков В., Филимонов Д., Глориозова Т., Лагунин А., Дружиловский Д., Степанчикова А. (2009) Компьютерное предсказание биологической активности химических веществ: виртуальная хемогеномика, *Информационный вестник ВОГиС*, **13**, 137–142.
27. Филимонов Д.А., Лагунин А.А., Глориозова Т.А., Рудик А.В., Дружиловский Д.С., Погодин П.В., Поройков В.В. (2014) Предсказание спектров биологической активности органических соединений с помощью веб-ресурса PASS Online, *Химия гетероциклических соединений*, **3**, 483–499.
28. Lipinski, C.A., Lombardo, F., Dominy, B.W., and Feeney, P.J. (2001) Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **46**, 3–26.
29. Shen, J., Cheng, F., Xu, Y., Li, W., and Tang, Y. (2010) Estimation of ADME properties with substructure pattern recognition, *J. Chem. Inf. Model.*, **50**, 1034–1041.
30. Khakar, P.S. (2010) Two-dimensional (2D) *in silico* models for absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity (ADME/T) in drug discovery, *Curr. Top. Med. Chem.*, **10**, 116–126.
31. Kujawski, J., Bernard, M.K., Janusz, A., and Kuzma, W. (2012) Prediction of log P?: ALOGPS application in medicinal chemistry education, *J. Chem. Educ.*, **89**, 64–67.
32. Matter, H., and Schmider, W. (2006) In-silico ADME modelling. in *Drug discovery and evaluation, safety and pharmacokinetic assays* (Vogel, H.G. ed.), Springer, Heidelberg, pp. 409–436.
33. Wang, Y., Xing, J., Xu, Y., Zhou, N., Peng, J., Xiong, Z., Liu, X., Luo, X., Luo, C., Chen, K., Zheng, M., and Jiang, H. (2015) *In silico* ADME/T modelling for rational drug design, *Q Rev. Biophys.*, **48**, 488–515.
34. Obst, U., Banner, D.W., Weber, L., and Diederich, F. (1997) Molecular recognition at the thrombin active site: structure-based design and synthesis of potent and selective thrombin inhibitors and the X-ray crystal structures of two thrombin-inhibitor complexes., *Chem. Biol.*, **4**, 287–295.
35. Kong, Y., Chen, H., Wang, Y.-Q., Meng, L., and Wei, J.-F. (2014) Direct thrombin inhibitors: patents 2002-2012 (Review), *Mol. Med. Rep.*, **9**, 1506–1514.
36. He, L.-W., Dai, W.-C., and Li, N.-G. (2015) Development of orally active thrombin inhibitors for the treatment of thrombotic disorder diseases, *Molecules*, **20**, 11046–11062.
37. Mena-Ulecia, K., Tiznado, W., and Caballero, J. (2015) Study of the differential activity of thrombin inhibitors using docking, QSAR, molecular dynamics, and MM-GBSA, *PLoS One*, **10**, e0142774. doi: 10.1371/journal.pone.0142774.
38. Lu, T., Tomczuk, B., Illig, C.R., Bone, R., Murphy, L., Spurlino, J., Salemme, F.R., and Soll, R.M. (1998) *In vitro* evaluation and crystallographic analysis of a new class of selective, non-amide-based thrombin inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **8**, 1595–1600.
39. Sinauridze, E.I., Romanov, A.N., Gribkova, I.V., Kondakova, O.A., Surov, S.S., Gorbatenko, A.S., Butylin, A.A., Monakov, M.Y., Bogolyubov, A.A., Kuznetsov, Y.V., Sulimov, V.B., and Ataulakhanov, F.I. (2011) New synthetic thrombin inhibitors: molecular design and experimental verification, *PLoS One*, **6**, e19969, doi: 10.1371/journal.pone.0019969.
40. Hagmann, W. K. (2008) The many roles for fluorine in medicinal chemistry, *J. Med. Chem.*, **51**, 4359–4369.
41. Li, M., and Ren, Y. (2015) Synthesis and biological evaluation of some new 2,5-substituted 1-ethyl-1H-benzimidazole fluorinated derivatives as direct thrombin inhibitors, *Arch. Pharm. (Weinheim)*, **348**, 353–365.
42. Chen, H., and Ren, Y. (2015) Design, synthesis, and anti-thrombotic evaluation of some novel fluorinated thrombin inhibitor derivatives, *Arch. Pharm. (Weinheim)*, **348**, 408–420.
43. Chen, D., Wang, S., Diao, X., Zhu, Q., Shen, H., Han, X., Wang, Y., Gong, G., and Xu, Y. (2015) Design, synthesis and antithrombotic evaluation of novel dabigatran etexilate analogs, a new series of non-peptides thrombin inhibitors, *Bioorg. Med. Chem.*, **23**, 7405–7416.

44. Chen, D., Shi, J., Liu, J., Zhang, X., Deng, X., Yang, Y., Cui, S., Zhu, Q., Gong, G., and Xu, Y. (2017) Design, synthesis and antithrombotic evaluation of novel non-peptide thrombin inhibitors, *Bioorg. Med. Chem.*, **25**, 458–470.
45. Lee, W., Lee, S., Choi, J., Park, J.-H., Kim, K.-M., Jee, J.-G., and Bae, J.-S. (2017) Antithrombotic properties of JJ1, a potent and novel thrombin inhibitor, *Sci. Rep.*, **7**, 14862, doi: 10.1038/s41598-017-13868-1.
46. Wang, X., Zhang, Y., Yang, Y., Wu, X., Fan, H., and Qiao, Y. (2017) Identification of berberine as a direct thrombin inhibitor from traditional Chinese medicine through structural, functional and binding studies, *Sci. Rep.*, **7**, 44040, doi: 10.1038/srep44040.
47. Levy, J.H., Spyropoulos, A.C., Samama, C.M., and Douketis, J. (2014) Direct oral anticoagulants: new drugs and new concepts, *JACC Cardiovasc. Interv.*, **7**, 1333–1351.
48. Patel, N.R., Patel, D.V., Murumkar, P.R., and Yadav, M.R. (2016) Contemporary developments in the discovery of selective factor Xa inhibitors: a review, *Eur. J. Med. Chem.*, **121**, 671–698.
49. Sulimov, V.B., Gribkova, I.V., Kochugaeva, M.P., Katkova, E.V., Sulimov, A.V., Kutov, D.C., Shikhaliyev, K.S., Medvedeva, S.M., Krysin, M.Y., Sinauridze, E.I., and Ataulakhanov, F.I. (2015) Application of molecular modeling to development of new factor Xa inhibitors, *Biomed Res. Int.*, **120802**, doi: 10.1155/2015/120802.
50. Yang, J., Su, G., Ren, Y., and Chen, Y. (2015) Synthesis of 3,4-diaminobenzoyl derivatives as factor Xa inhibitors, *Eur. J. Med. Chem.*, **101**, 41–51.
51. Ishihara, T., Koga, Y., Iwatsuki, Y., and Hirayama, F. (2015) Identification of potent orally active factor Xa inhibitors based on conjugation strategy and application of predictable fragment recommender system, *Bioorg. Med. Chem.*, **23**, 277–289.
52. Xu, C., and Ren, Y. (2015) Molecular modeling studies of [6,6,5] tricyclic fused oxazolidinones as fXa inhibitors using 3D-QSAR, topomer CoMFA, molecular docking and molecular dynamics simulations, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **25**, 4522–4528.
53. Wang, Y., Sun, X., Yang, D., Guo, Z., Fan, X., Nie, M., Zhang, F., Liu, Y., Li, Y., Wang, Y., Gong, P., and Liu, Y. (2016) Design, synthesis, and structure-activity relationship of novel and effective apixaban derivatives as FXa inhibitors containing 1,2,4-triazole/pyrrole derivatives as P2 binding element, *Bioorg. Med. Chem.*, **24**, 5646–5661.
54. Xing, J., Yang, L., Yang, Y., Zhao, L., Wei, Q., Zhang, J., Zhou, J., and Zhang, H. (2017) Design, synthesis and biological evaluation of novel 2,3-dihydroquinazolin-4(1H)-one derivatives as potential fXa inhibitors, *Eur. J. Med. Chem.*, **125**, 411–422.
55. Pu, Y., Liu, H., Zhou, Y., Peng, J., Li, Y., Li, P., Li, Y., Liu, X., and Zhang, L. (2017) In silico discovery of novel FXa inhibitors by pharmacophore modeling and molecular docking, *Nat. Products Bioprospect.*, **7**, 249–256.
56. Lagos, C.F., Segovia, G.F., Nunez-Navarro, N., Faundez, M.A., and Zacconi, F.C. (2017) Novel FXa inhibitor identification through integration of ligand- and structure-based approaches, *Molecules*, **22**, pii: E1588, doi: 10.3390/molecules22101588.
57. Sun, X., Hong, Z., Liu, M., Guo, S., Yang, D., Wang, Y., Lan, T., Gao, L., Qi, H., Gong, P., and Liu, Y. (2017) Design, synthesis, and biological activity of novel tetrahydropyrazolopyridone derivatives as FXa inhibitors with potent anticoagulant activity, *Bioorg. Med. Chem.*, **25**, 2800–2810.
58. Wang, W., Yuan, J., Fu, X., Meng, F., Zhang, S., Xu, W., Xu, Y., and Huang, C. (2016) Novel anthranilamide-based FXa inhibitors: drug design, synthesis and biological evaluation, *Molecules*, **21**, doi: 10.3390/molecules21040491.
59. Hu, X., Xiao, Y., Yu, C., Zuo, Y., Yang, W., Wang, X., Gu, B., and Li, J. (2018) Characterization of a novel selective factor Xa inhibitor, DJT06001, which reduces thrombus formation with low risk of bleeding, *Eur. J. Pharmacol.*, **825**, 85–91.
60. Smiley, D.A., and Becker, R.C. (2014) Factor IXa as a target for anticoagulation in thrombotic disorders and conditions, *Drug Discov. Today*, **19**, 1445–1453.
61. Choudhari, P., and Bhatia, M. (2012) 3D QSAR, pharmacophore identification studies on series of 4-substituted benzothioephene analogs as factor IXa inhibitors, *Pharmacophore*, **3**, 189–198.
62. Wang, S., Beck, R., Blench, T., Burd, A., Buxton, S., Malic, M., Ayele, T., Shaikh, S., Chahwala, S., Chander, C., Holland, R., Merette, S., Zhao, L., Blackney, M., and Watts, A. (2010) Studies of benzothioephene template as potent factor IXa (FIXa) inhibitors in thrombosis, *J. Med. Chem.*, **53**, 1465–1472.
63. Wang, S., Beck, R., Burd, A., Blench, T., Marlin, F., Ayele, T., Buxton, S., Dagostin, C., Malic, M., Joshi, R., Barry, J., Sajad, M., Cheung, C., Shaikh, S., Chahwala, S., Chander, C., Baumgartner, C., Holthoff, H.P., Murray, E., Blackney, M., and Giddings, A. (2010) Structure based drug design: development of potent and selective factor IXa (FIXa) inhibitors, *J. Med. Chem.*, **53**, 1473–1482.
64. Parker, D.L. Jr., Walsh, S., Li, B., Kim, E., and Sharipour, A., Smith, C., Chen, Y.H., Berger, R., Harper, B., Zhang, T., Park, M., Shu, M., Wu, J., Xu, J., Dewnani, S., Sherer, E.C., Hruza, A., Reichert, P., Geissler, W., Sonatore, L., Ellsworth, K., Balkovec, J., Greenlee, W., and Wood, H.B. (2015) Rapid development of two factor IXa inhibitors from hit to lead, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **25**, 2321–2325.
65. Zhang, T., Andre, P., Bateman, T. J., Chen, Y.-H., and Desai, K., Ellsworth, K., Geissler, W.M., Guo, L., Hruza, A., Jian, T., Meng, D., Parker, D.L., Jr., Qian, X., et al. (2015) Development of a novel class of potent and selective FIXa inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **25**, 4945–4949.
66. Meng, D., Andre, P., Bateman, T.J., Berger, R., and Chen, Y.H., Desai K², Dewnani, S., Ellsworth, K., Feng, D., Geissler, W.M., Guo, L., Hruza, A., Jian, T., Li, H., et al. (2015) Development of a novel tricyclic class of potent and selective FIXa inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **25**, 5437–5443.
67. Gao, J.-S., Tong, X.-P., Chang, Y.-Q., He, Y.-X., Mei, Y.-D., Tan, P.-H., Guo, J.-L., Liao, G.-C., Xiao, G.-K., Chen, W.-M., Zhou, S.-F., and Sun, P.-H. (2015) Design and prediction of new anticoagulants as a selective Factor IXa inhibitor via three-dimensional quantitative structure-property relationships of amidinobenzothioephene derivatives, *Drug Des. Devel. Ther.*, **9**, 1743–1759.
68. Zhang, T., Liu, Y., Yang, X., Martin, G.E., Yao, H., Shang, J., Bugianesi, R.M., Ellsworth, K.P., Sonatore, L.M., Nizner, P., Sherer, E.C., Hill, S.E., Knemeyer, I.W., Geissler, W.M., Dandliker, P.J., Helmy, R., and Wood, H.B. (2016) Definitive metabolite identification coupled with automated ligand identification system (ALIS) technology: a novel approach to uncover structure–activity relationships and guide drug design in a factor IXa inhibitor program, *J. Med. Chem.*, **59**, 1818–1829.
69. Sakurada, I., Endo, T., Hikita, K., Hirabayashi, T., Hosaka, Y., Kato, Y., Maeda, Y., Matsumoto, S., Mizuno, T., Nagasue, H., Nishimura, T., Shimada, S., et al. (2017) Discovery of novel aminobenzisoxazole derivatives as orally available factor IXa inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **27**, 2622–2628.
70. Bane, C.E., and Gailani, D. (2014) Factor XI as a target for antithrombotic therapy, *Drug Discov. Today*, **19**, 1454–1458.
71. Al-Horani, R.A., and Desai, U.R. (2016) Factor XIa inhibitors: a review of the patent literature, *Expert. Opin. Ther. Pat.*, **26**, 323–345.

72. Corte, J.R., Fang, T., Hangeland, J.J., Friends, T.J., Rendina, A.R., Luetzgen, J.M., Bozarth, J.M., Barbera, F.A., Rossi, K.A., Wei, A., Ramamurthy, V., Morin, P.E., Seiffert, D.A., Wexler, R.R., and Quan, M.L. (2015) Pyridine and pyridinone-based factor XIa inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **25**, 925–930.
73. Pinto, D.J.P., Smallheer, J.M., Corte, J.R., Austin, E.J.D., and Wang, C., et al. (2015) Structure-based design of inhibitors of coagulation factor XIa with novel P1 moieties, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **25**, 1635–1642.
74. Smith, L.M., Orwat, M.J., Hu, Z., Han, W., and Wang, C., et al. (2016) Novel phenylalanine derived diamides as factor XIa inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **26**, 472–478.
75. Corte, J.R., Fang, T., Pinto, D.J.P.P., Orwat, M.J., Rendina, A.R., Luetzgen, J.M., Rossi, K.A., Wei, A., Ramamurthy, V., Myers, J.E., Sheriff, S., Narayanan, R., Harper, T.W., Zheng, J.J., Li, Y.-X.X., Seiffert, D.A., Wexler, R.R., and Quan, M.L. (2016) Orally bioavailable pyridine and pyrimidine-based factor XIa inhibitors: discovery of the methyl *N*-phenyl carbamate P2 prime group, *Bioorg. Med. Chem.*, **24**, 2257–2272.
76. Obaidullah, A.J., and Al-Horani, R.A. (2017) Discovery of chromen-7-yl furan-2-carboxylate as a potent and selective factor XIa inhibitor, *Cardiovasc. Hematol. Agents Med. Chem.*, **15**, 40–48.
77. Pinto, D.J.P., Orwat, M.J., Smith, L.M., 2nd, Quan, M.L., Lam, P.Y.S., et al. (2017) Discovery of a parenteral small molecule coagulation factor XIa inhibitor clinical candidate (BMS-962212), *J. Med. Chem.*, **60**, 9703–9723.
78. Corte, J.R., Fang, T., Osuna, H., Pinto, D.J.P., Rossi, K.A., Myers, J.E., Sheriff, S., Lou, Z., Zheng, J.J., Harper, T.W., Bozarth, J.M., Wu, Y., Luetzgen, J.M., Seiffert, D.A., Decicco, C.P., Wexler, R.R., and Quan, M.L. (2017) Structure-based design of macrocyclic factor XIa inhibitors: discovery of the macrocyclic amide linker, *J. Med. Chem.*, **60**, 1060–1075.
79. Wang, C., Corte, J.R., Rossi, K.A., Bozarth, J.M., Wu, Y., Sheriff, S., Myers, J.E., Luetzgen, J.M., Seiffert, D.A., Wexler, R.R., and Quan, M.L. (2017) Macrocyclic factor XIa inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **27**, 4056–4060.
80. Hu, Z., Wang, C., Han, W., Rossi, K.A., Bozarth, J.M., Wu, Y., Sheriff, S., Myers, J.E., Luetzgen, J.M., Seiffert, D.A., Wexler, R.R., and Quan, M.L. (2018) Pyridazine and pyridazinone derivatives as potent and selective factor XIa inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **28**, 987–992.
81. Neves, A.R., Correia-da-Silva, M., Sousa, E., and Pinto, M. (2016) Structure-activity relationship studies for multitarget antithrombotic drugs, *Future Med. Chem.*, **8**, 2305–2355.

COMPUTER DESIGN OF LOW MOLECULAR WEIGHT INHIBITORS OF COAGULATION FACTORS

A. S. Kabankin^{1*}, E. I. Sinauridze^{1,2}, E. N. Lipets^{1,2},
and F. I. Ataulakhanov^{1,2,3,4}

¹ Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology,
Russian Academy of Sciences, 119991 Moscow, Russia;
E-mail: rla2001@mail.ru

² Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric
Hematology, Oncology and Immunology, 1179971 Moscow, Russia

³ Lomonosov Moscow State University, Faculty of Physics,
119991 Moscow, Russia

⁴ Moscow Institute of Physics and Technology, 141701 Dolgoprudny,
Moscow Region, Russia

Received September 5, 2018

Revision received October 19, 2018

Accepted October 19, 2018

The work presents an overview of the main approaches to the search for new low molecular weight inhibitors of blood coagulation factors IIa, Xa, IXa, and XIa and the results of this search conducted from 2015 to 2018. For each of these factors, several inhibitors with an IC₅₀ below 10 nM have been found in recent years. Some of them are on the stage of clinical trial. Nevertheless, none of these substances meets the requirements of «ideal» anticoagulant, and the further studies are relevant.

Keywords: anticoagulants, low molecular weight inhibitors, coagulation factors, computer molecular design, molecular docking