

DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-1-139-157

Свертывание крови в XXI веке: новые знания, методы и перспективы для терапии

Н.А. Подоплелова^{1,2}, В.Б. Сулимов^{3,4}, А.С. Ташилова^{3,4}, И.С. Ильин^{3,4},
М.А. Пантелеев^{1,2,5,6}, И.В. Леденева⁷, Х.С. Шихалиев⁷

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

² ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии» РАН, Москва

³ Научно-исследовательский вычислительный центр ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва

⁴ ООО «Димонта», Москва

⁵ ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва

⁶ ФГБОУ ВО «Московский физико-технический институт (государственный университет)», Москва

⁷ ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», Воронеж

Нарушения в системе свертывания крови – лидирующая причина смертности и инвалидности в современном мире. В связи с этим как никогда актуальным становится поиск новых препаратов, способных предотвращать патологическое тромбообразование, не влияя при этом на нормальный гемостаз. Исследования последних десятилетий произвели переворот в понимании принципов работы и регуляции свертывания крови. Кроме того, появились новые, более эффективные подходы к разработке лекарств, в том числе методы компьютерного моделирования, позволяющие значительно сократить затраты времени и ресурсов на поиск новых молекул-кандидатов. В данном обзоре рассмотрены система свертывания крови, природа тромбоза, показана важная роль факторов Ха и XIa и причины, по которым их все чаще выбирают в качестве мишеней для разработки новых антикоагулянтов, а также представлены наиболее интересные из уже существующих ингибиторов, факторов свертывания Ха и XIa.

Ключевые слова: свертывание крови, тромбоз, антикоагулянты, ингибиторы факторов свертывания крови, компьютерный дизайн ингибиторов, молекулярный докинг

Сулимов А.В. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии, 2020; 19 (1): 139–157.

DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-1-139-157

Blood coagulation in the 21st century: existing knowledge, current strategies for treatment and perspective

N.A. Podoplelova^{1,2}, V.B. Sulimov^{3,4}, I.S. Ilin^{3,4}, A.S. Tashilova^{3,4}, M.A. Panteleev^{1,2,5,6},
I.V. Ledeneva⁷, Kh.S. Shikhaliev⁷

¹ Russian Children's Clinical Hospital of the Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

² Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Moscow

³ Research Computing Center, Moscow State University, Moscow

⁴ LLC Dimonta, Moscow

⁵ Lomonosov Moscow State University, Moscow

⁶ Moscow Institute of Physics and Technology (State University), Moscow

⁷ Voronezh State University, Voronezh

Disorders in the blood coagulation system are the leading cause of death and disability in the modern world. So the search for new drugs that can prevent pathological thrombosis, while not affecting normal hemostasis, becomes more relevant than ever. Recent studies has been a revolution in the understanding of the principles of work and the regulation of blood coagulation. In addition, new, more effective approaches to drug development have now appeared. For example computer simulation methods that can significantly reduce the time and resources spent on the search for new candidate molecules. In the review, the blood clotting system, the molecular mechanisms of thrombosis, the role of blood coagulation factors Xa and XIa, and the urgency of developing new inhibitors of these targets are shown, and the most interesting inhibitors of factors Xa and XIa are presented.

Key words: blood coagulation, thrombosis, anticoagulants, inhibitors of coagulation factors, computer design of inhibitors, molecular docking

Sulimov A.V., et al. Pediatric hematology/oncology and immunopathology, 2020; 19 (1): 139–157.

DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-1-139-157

Система свертывания крови представляет собой сложно организованную сеть ферментативных реакций, которая активируется при повреждениях и управляет формированием фибринового сгустка – студенистой субстанции, запечатывающей место ранения. Непрерывно находясь на страже целостности нашей сосудистой системы, механизм свертывания крови часто «ошибается»: в современном мире нет такой области медицины, где тромботические и геморрагические осложнения

не играли бы важной роли, отвечая в совокупности за огромную долю смертности и инвалидности. В онкологии, гематологии, иммунологии такие ситуации распространены особенно широко.

В значительной степени проблемы в терапии нарушений свертывания связаны с большими трудностями его регуляции. Несмотря на то что в этой системе уже 30 лет не открывали новых молекул (открыты несколько новых реакций), за эти годы произошел переворот в представлениях о том, как

© 2020 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Поступила 29.04.2019

Принята к печати 19.08.2019

Контактная информация:

Пантелеев Михаил Александрович, д-р физ.-мат. наук, профессор, зав. лабораторией клеточного гемостаза и тромбоза НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России.

Адрес: 117997, Москва, ГСП-7,

ул. Саморы Машела, 1

E-mail: mapanteleev@yandex.ru

© 2020 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 29.04.2019

Accepted 19.08.2019

Correspondence:

Mikhail A. Panteleev, PhD, DSc, Head of the Laboratory of cellular hemostasis and thrombosis of Dmitriy Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, Immunology Ministry of Healthcare of Russian Federation. Address: Russia 117997, Moscow, Samory Mashela st., 1 E-mail: mapanteleev@yandex.ru

она работает и какие ферменты должны стать оптимальными мишенями для терапии. Сам по себе тромбин – главный фермент свертывания – оказался под сомнением: его ингибирование неизбежно угнетает гемостаз наряду с тромбозом. Даже фактор Ха (также находящийся на пересечении всех ключевых путей) оказался более интригующей мишенью. Совершенно неожиданно такие молекулы, как фактор XIa, оказались в фокусе внимания как потенциальные мишени, ингибирование которых способно подавить тромбоз с небольшим ущербом для гемостаза.

Одновременно в течение этих десятилетий появились новые методы разработки лекарств, наиболее мощный из которых – компьютерный докинг, позволяющий протестировать молекулы – кандидаты на роль ингибиторов путем их помещения в активный сайт фермента-мишени и провести расчет взаимодействий. Этот подход требует соблюдения ряда условий: знания трехмерной структуры белка с высоким разрешением и понимания того, какую точку на поверхности белка надо выбирать. Однако для небольших растворимых внеклеточных мишеней ферментативной природы (все эти условия выполняются в случае белков свертывания) этот подход – мощнейший инструмент быстрого скрининга потенциальных молекул-кандидатов,

В данном обзоре предпринята попытка соотнести линии развития новых представлений о механизмах свертывания, новых методов поиска лекарств и их сочетания, благодаря которому сейчас появляется все больше потенциально интересных молекул, способных в скором будущем изменить лицо антикоагулянтной терапии. Мы детально рассмотрим систему свертывания крови, природу тромбоза, важную роль факторов свертываемости крови Ха и XIa, актуальность разработки соответствующих ингибиторов; представим наиболее интересные ингибиторы факторов Ха и XIa, их структуру и основные характеристики, определяющие их активность при связывании с этими мишенями. Кратко рассмотрим методы молекулярного моделирования, прежде всего докинг, которые все шире применяют на начальной стадии разработки новых лекарств, в том числе новых ингибиторов факторов свертываемости, роль докинга на начальной стадии разработки новых ингибиторов для заданных белков-мишеней, а также детально обсудим структуру активных центров факторов Ха и XIa, где связываются соответствующие лиганды.

Свертывание крови

Традиционно свертывание крови рассматривают как каскад ферментативных реакций (*рисунок 1*), в котором фермент, полученный в результате предыдущей реакции, катализирует следующую [1]. Хотя

некоторые реакции [2, 3] и механизмы [4] до сих пор обсуждаются, все основные элементы этого каскада остаются неизменными на протяжении последних 30 лет. Выделяют два основных способа инициировать свертывание крови: внешний путь (путь тканевого фактора) и внутренний (контактный).

Внешний путь начинается с контакта плазмы крови с трансмембранным белком – тканевым фактором, который в норме отсутствует на клетках крови и эндотелии сосудов. Контакт плазмы с тканевым фактором возможен только при повреждении эндотелия сосуда, например, в результате механической травмы или воспаления. Сериновая протеаза фактор VIIa при связывании с тканевым фактором приобретает ферментативную активность и активирует факторы IX и X. При этом фактор IXa может напрямую активировать фактор X, а тот в свою очередь – протромбин в тромбин. Тромбин посредством частичного протеолиза превращает растворимый белок фибриноген в фибрин, который, полимеризуясь, приводит к желированию плазмы в месте повреждения.

Сами по себе факторы Ха и IXa крайне медленно расщепляют свои субстраты, для полноценной работы им нужно образовать комплексы со своими кофакторами – Va и VIIIa соответственно. При этом образование комплексов происходит на отрицательно заряженных фосфолипидных мембранах, которые в организме предоставляются, по-видимому, активированными тромбоцитами, микровезикулами и липопротеинами плазмы крови. Тромбин способен значительно ускорять собственное производство за счет активации кофакторов Va и VIIIa. Тромбин активирует также фактор XI, который затем обеспечивает дополнительный путь активации фактора IX.

Кроме того, существует альтернативный способ запустить свертывание крови – так называемый внутренний, или контактный, путь, в котором фактор XIIa активирует фактор XI. В данном случае свертывание начинается после автоактивации фактора XII, вызванной контактом с инородной отрицательно заряженной поверхностью, например, стенками пробирок, катетеров, а также мембранами бактерий при инфекциях. Интересно, что дефицит фактора XII не связан с кровоточивостью и, видимо, не играет значительной роли в нормальном гемостазе [6].

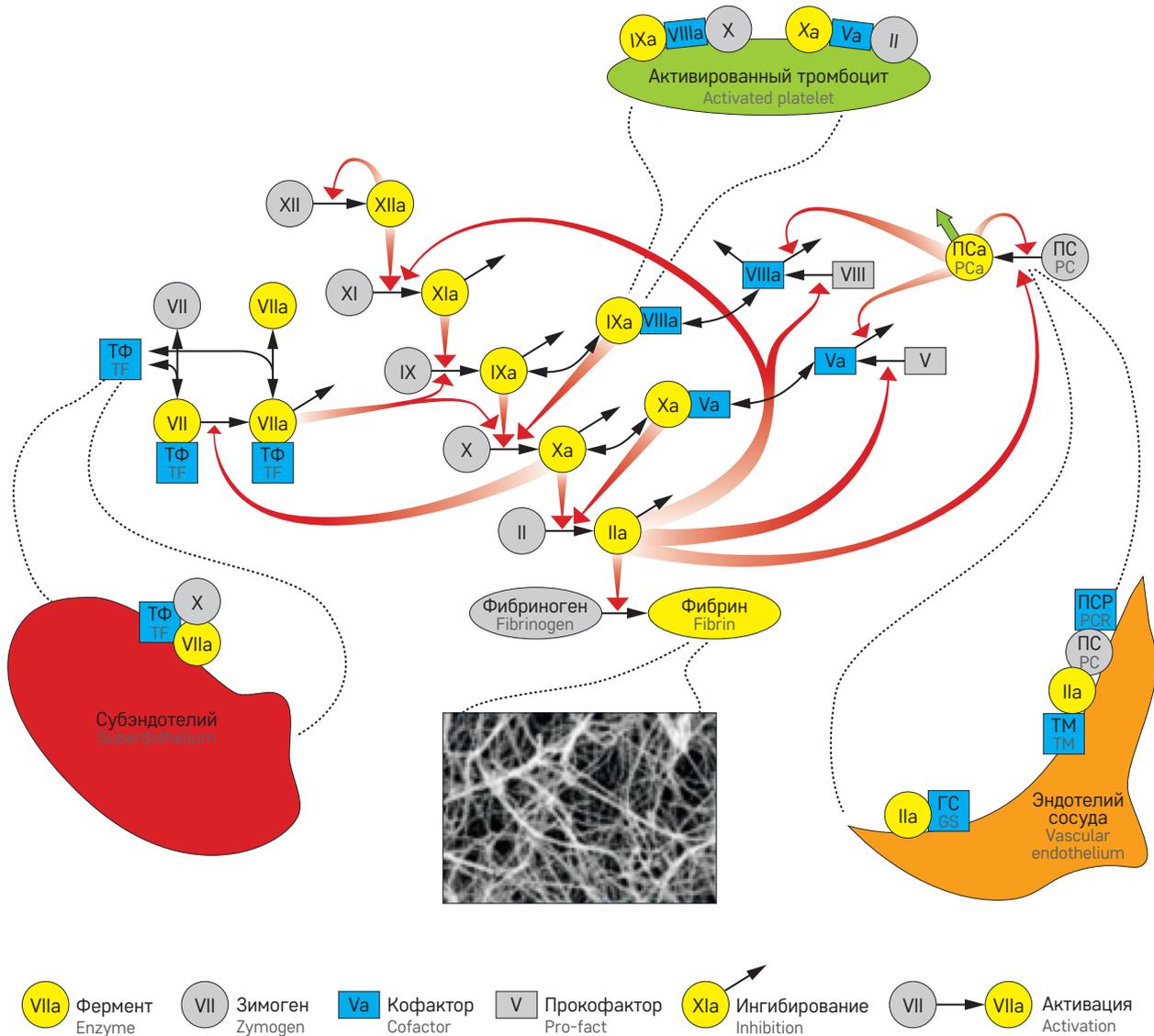
Для предотвращения неконтролируемой активации и свертывания в каскаде присутствует ряд ингибиторов – их больше десятка, при этом часть из них специфична к определенным факторам каскада, а другие могут подавлять активность практически любого фактора. Основными ингибиторами считаются антитромбин III и ингибитор пути тканевого фактора. Антитромбин III может ингибировать практически все основные протеазы свертывания,

Рисунок 1

Схема каскада свертывания [5] (адаптировано с модификациями)

Figure 1

The traditional cascade representation of blood coagulation biochemistry [5] (adapted with modifications)



Физиологическая активация свертывания обусловлена контактом крови с обнажившимся ТФ на субэндотелии. Связывание сериновой протеиназы фактора VIIa с ТФ ведет к переходу VIIa в активную конформацию, которая расщепляет и активирует факторы IX и X. Это запускает каскад свертывания, который завершается активацией фибриногена в фибрин под действием протеиназы тромбина (фактор IIa) и формированием фибринового геля. Каскад свертывания жестко регулируется многочисленными ингибиторами, положительными и отрицательными обратными связями. Все ключевые реакции каскада свертывания проходят на мембранах клеток крови и сосудистого русла: активация происходит на субэндотелии, сборка комплексов тенасы и протромбиназы – на активированных тромбоцитах, путь протеина С и инактивация тромбина антитромбином при участии гепарансульфата – на здоровом эндотелии. Второй путь активации каскада свертывания – контактный, через фактор свертывания XII. Этот путь играет ключевую роль в активации *in vitro*, но его физиологическая и патологическая роли не до конца ясны.

Coagulation is initiated by a contact of blood with a transmembrane protein tissue factor (TF). A low active serine protease factor VIIa binds TF to become a fully functional enzyme that activates factors IX and X. Then factor Xa activates prothrombin into thrombin. Thrombin (factor IIa) produces fibrin that spontaneously polymerizes resulting in gelation of plasma at the site of injury. The coagulation cascade is strongly regulated by different inhibitors, positive and negative feedbacks. The figure is shown that all the major reactions of the coagulation proceed on the membranes of blood cells and the vascular wall: subendothelium is triggered coagulation, activated platelets are source of membrane for assembly of the tenase and prothrombinase complexes, non injured endothelium is support of the protein C pathway and thrombin inactivation by heparan sulfate. Other way triggering coagulation is contact pathway through the activation of factor XII. This pathway plays a key role in the *in vitro* activation, but its physiological and pathological roles are not clear.

а ингибитор пути тканевого фактора специализируется на подавлении активности фактора VIIa. Существует система реакций пути протеина С, которая направлена на деградацию кофакторов Va и VIIIa. Активация пути протеина С запускается тромбином и в значительной степени регулируется несколькими кофакторами, среди которых протеин S, эндо-

телиальный рецептор протеина С и тромбомодулин. Протеин S – кофактор протеина С при инактивации кофакторов Va и VIIIa. Два других белка связывают протеин С и тромбин, увеличивая скорость активации протеина С на поверхности эндотелия.

Каскадное устройство системы свертывания кажется очень логичным и понятным, когда мы

говорим о гомогенной системе. Однако, как только мы переходим к рассмотрению реальных тромбов, картина сильно усложняется [5, 7]. Становится очевидна сильная пространственная неоднородность всех происходящих процессов. Так, активация пути тканевого фактора происходит на поврежденном эндотелии, после чего активированные факторы диффундируют в плазму и связываются с мембранами активированных тромбоцитов. При этом на мембранах протекают прокоагулянтные реакции – такие как активация фактора Xa и тромбина, а сама плазма из-за циркулирующих в ней ингибиторов оказывает антикоагулянтный эффект. Нарушение в балансе между про- и антикоагулянтными реакциями приводит к развитию патологических процессов и неконтролируемому тромбообразованию.

Эти соображения способствовали появлению новых экспериментальных подходов [8], которые в свою очередь сформировали новую картину свертывания крови (рисунок 2), а именно: часть реакций

свертывания отвечает за формирование порогового ответа на повреждения; другие, такие как активация фактора XIa тромбином, служат для распространения сгустка в пространстве, а третьи, как путь протеина C, управляют остановкой роста. Кроме того, долгоживущий фактор XIa способен распространяться потоком и вызывать нежелательное тромбообразование вдали от активатора. Это позволяет предположить, что такие факторы, как фактор XIa, могут быть интересными мишенями для терапии.

Тромбоз: артериальный, венозный, микрососудистый. Мишени для терапии

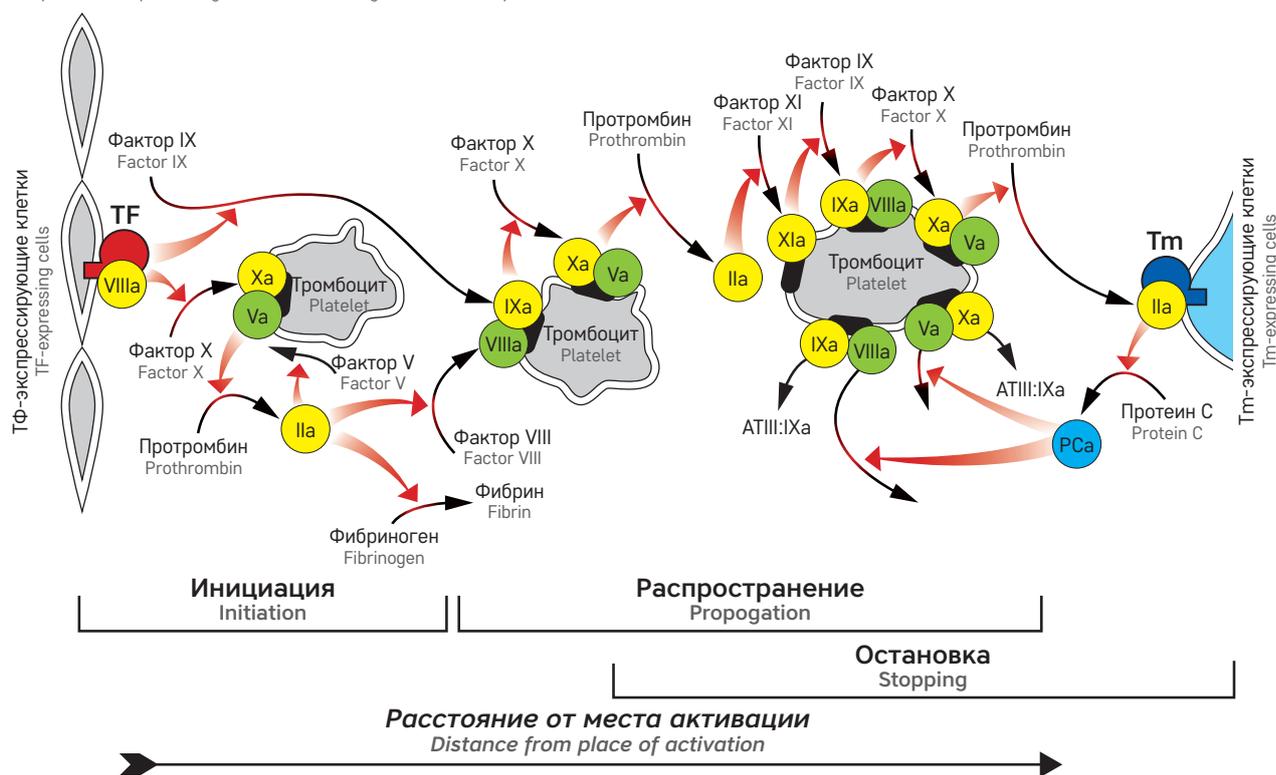
Что известно о роли этих факторов в реальном тромбообразовании? Нарушения в свертывающей системе организма человека остаются лидирующей причиной смертности и инвалидизации в современном мире. Тромбозы сопровождают широкий круг патологических и физиологических состояний человека, таких как атеросклероз, инсульт, инфаркт, бере-

Рисунок 2

Схема пространственной концепции регуляции каскада свертывания [7] (адаптировано с модификациями)

Figure 2

The spatial concept of coagulation cascade regulation [7] (adapted with modifications)



Свертывание активируется клетками, экспрессирующими тканевый фактор (слева) и распространяется вглубь сосуда. Начальная фаза свертывания определяется производством фактора Xa комплексом внешней теназы. Однако фактор Xa не может диффундировать далеко от активатора из-за быстрого ингибирования, поэтому в фазе распространения он образуется благодаря комплексу внутренней теназы. При этом фактор IXa, являющийся лимитирующим компонентом внутренней теназы, производится внешней теназой. В отличие от фактора Xa он слабо ингибируется и может диффундировать на значительные расстояния. При дальнейшем увеличении размеров сгустка дополнительный фактор IXa активируется под воздействием фактора XIa. Наконец, остановка роста тромба происходит под воздействием протеина C, который инактивирует кофакторы Va и VIIIa, останавливая тем самым образование тромбина.

Coagulation is triggered by cells expressing tissue factor (left) and extends into the vessel. The initial phase of coagulation is activation of factor Xa by a complex of the external tenase. However, factor Xa cannot diffuse far from the activator; therefore, most fraction of factor Xa is formed in the propagation phase with the complex of internal tenase involved. Moreover, factor IXa, which is the limiting component of internal tenase, is produced by external tenase. Unlike factor Xa, it is not inhibited and can diffuse over significant distances. With a further increase in clot size, additional factor IXa is activated by factor XIa. Finally, the thrombus growth is stopped by protein C, which inactivates the cofactors Va and VIIIa, thereby stopping the formation of thrombin.

менность, сепсис, посттравматические состояния, а также различные хирургические вмешательства. В клинике применяют различные антикоагуляционные препараты, но поиск новых – более эффективных и безопасных – продолжается [9].

В зависимости от локализации и задействованных механизмов принято выделять артериальный, венозный и микрососудистый тромбозы. Основные клинические проявления артериального тромбоза – это ишемическая болезнь сердца, острый коронарный синдром, инфаркт миокарда и ишемический инсульт. Основной причиной возникновения артериальных тромбов обычно считают разрушение атеросклеротической бляшки, из-за которого на поверхности эндотелия появляются тканевый фактор и фактор фон Виллебранда. В артериях образуются так называемые «белые тромбы», богатые тромбоцитами [10]. Именно поэтому долгое время считалось, что из-за высоких скоростей сдвига основным механизмом образования тромбов в данном случае являются адгезия и агрегация тромбоцитов, а образование фибринового сгустка вторично и необходимо для стабилизации тромба [11, 12]. Важно отметить, что тромбоцитарное и плазменное звенья гемостаза тесно связаны между собой. Например, тромбин является одним из главных активаторов тромбоцитов [13], а фибриноген необходим для агрегации активированных тромбоцитов. И наоборот, активированные тромбоциты предоставляют отрицательно заряженную фосфолипидную поверхность, которая обеспечивает сборку прокоагулянтных комплексов [14–16].

Стандартное лечение пациентов с ишемической болезнью сердца и острым коронарным синдромом – это двойная антитромбоцитарная терапия аспирином и ингибитором рецептора P2Y₁₂ [17]. Однако даже при одновременной терапии двумя антиагрегантами от 2 до 5% пациентов имеют риск рецидива в течение следующего года [18, 19]. Альтернативная стратегия предотвращения тромбоэмболических осложнений у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями заключается в добавлении антикоагулянта в стандартную антиагрегантную терапию. Ранние исследования показали снижение риска инфаркта миокарда и ишемического инсульта у пациентов с острым коронарным синдромом, принимающих аспирин и варфарин. Однако эти пациенты имели повышенный риск кровотечения по сравнению с пациентами, получавшими только аспирин [20]. В более поздних исследованиях было показано, что добавление ривароксабана к стандартной антитромбоцитарной терапии уменьшало смертность у пациентов с острым коронарным синдромом, но также за счет увеличения риска кровотечений [21]. В настоящее время ривароксабан одобрен для применения вместе с антитромбоцитарной терапией для паци-

ентов с острым коронарным синдромом в Европе, но не в Соединенных Штатах.

Венозный тромбоз во многом отличается от артериального по локализации и структуре тромбов, а также по механизмам их образования. В венах, в отличие от артерий, образуются так называемые «красные тромбы», состоящие в основном из полимеризованного фибрина с заключенными в нем эритроцитами. Основы патогенеза венозного тромбоза еще в позапрошлом веке разработал *Р. Вирхов*, описавший природу тромбоза в триаде: изменения в стенке сосудов, снижение скорости тока крови, повышение свертываемости крови [22]. Из этих трех факторов, безусловно, лучше всего изучены механизмы, вызывающие повышенную свертываемость крови, и их влияние на развитие венозного тромбоза.

Интересно, что чаще всего прикрепление венозного тромба к стенке сосуда происходит за счет фибрина [23], при этом стенка сосуда остается неповрежденной. По всей видимости, стимулом для тромбообразования является активация эндотелия под воздействием застоя крови или локального воспаления, а не его физическое повреждение. Активированный эндотелий секретирует фактор фон Виллебранда и р-селектин. Эти белки вызывают адгезию тромбоцитов, моноцитов, нейтрофилов и эритроцитов, а также микровезикул из этих клеток [24]. Под воздействием гипоксии моноциты экспонируют тканевый фактор, вызывающий активацию свертывания. Дополнительным источником тканевого фактора могут быть везикулы из моноцитов и эозинофилов [25, 26]. Кроме того, в мембране эозинофилов были обнаружены окисленные фосфолипиды, которые могут увеличивать генерацию тромбина [27]. Вероятно, определенный вклад в образование венозных тромбов вносят также нейтрофилы. Давно известно, что они могут быть включены в состав растущих тромбов, однако считалось, что их основная роль связана с лизисом сгустка [28, 29]. Последние исследования показали возможность активации контактного пути свертывания нейтрофильными внеклеточными ловушками.

В последние годы появились данные, указывающие на активную роль эритроцитов в развитии венозного тромбоза. Так, эритроциты могут усиливать активацию и агрегацию тромбоцитов [30] и образовывать агрегаты с тромбоцитами [31]. Кроме того, экспрессия фосфатидилсерина на поверхности эритроцитов обеспечивает прокоагулянтную поверхность для активации тромбина [32].

Исторически патогенез тромбоза изучали в основном на крупных сосудах, но в последнее время большое внимание уделяется окклюзии микроциркуляторного русла [33]. Факторы, вызывающие тромбоз микрососудов, аналогичны тем, которые отвечают

за венозный тромбоз: изменения в стенке сосудов, снижение скорости тока крови, повышение свертываемости крови [22]. Однако различия в строении и размерах микро- и макрососудов обуславливают большую чувствительность микрососудов к любым изменениям. Факторами, запускающим микрососудистый тромбоз, могут быть осложнения при широком круге заболеваний: повреждении эндотелия в результате тяжелого сепсиса, васкулите, аномальной васкуляризации в раковых тканях или лучевом поражении. Кроме того, тромбоз может развиваться как следствие нарушения кровотока из-за скопления тромбоцитов, эритроцитов или лейкоцитов. Омечают тесную связь между развитием воспаления и микрососудистым тромбозом. Есть данные о том, что провоспалительные цитокины (например, фактор некроза опухоли- α , интерлейкин-1 и интерлейкин-6) могут вызывать активацию каскада свертывания крови [34].

Образование микротромбов, окклюзия микрососудов и остановка кровотока приводят к гипоксии и образованию активных форм кислорода, которые в свою очередь ведут к дальнейшему повреждению

эндотелия. Таким образом, создается замкнутый круг, приводящий к неблагоприятному исходу. В случае локализованного тромбоза наблюдается инфаркт пораженного органа. При более обширных повреждениях может развиваться синдром полиорганной недостаточности. При этом уровень смертности варьирует в зависимости от клинических условий, обычно превышая 50%.

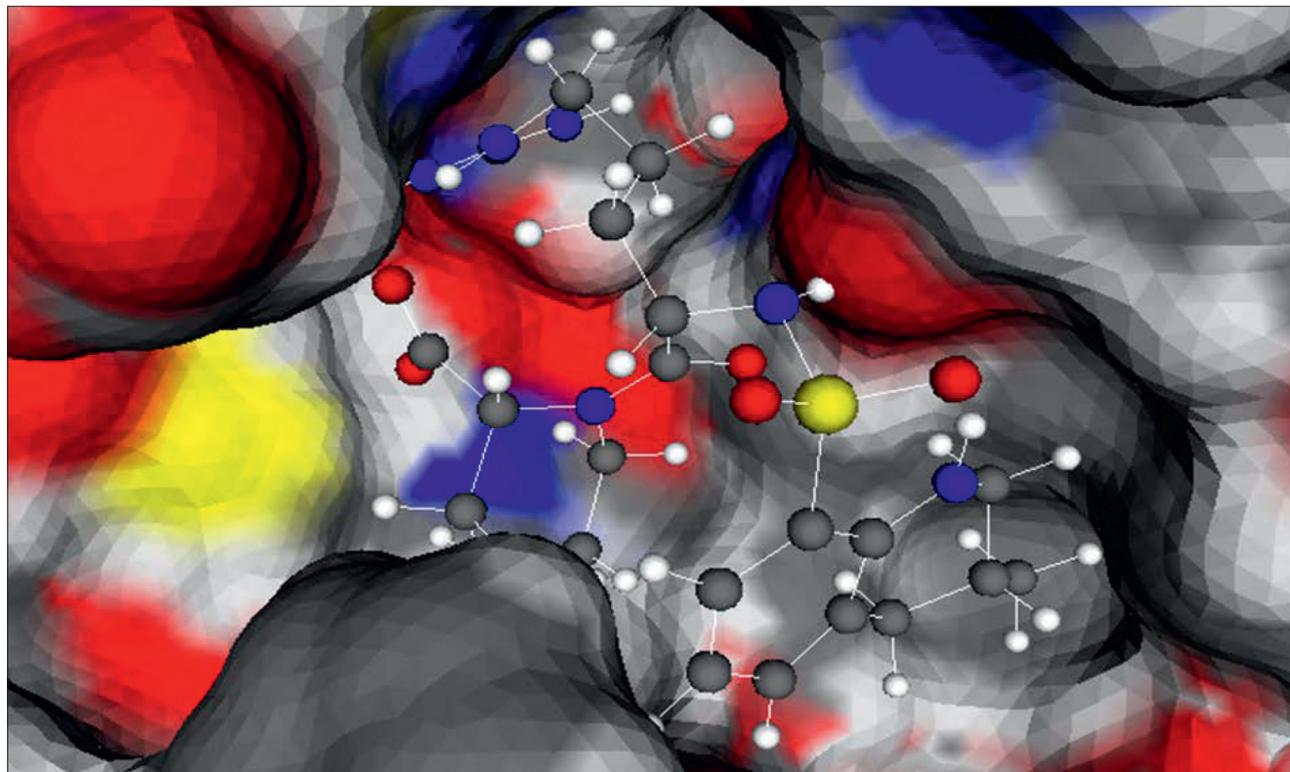
Понимание молекулярных механизмов тромбообразования способствует разработке иных подходов к созданию новых антитромботических препаратов. Существует несколько основных мишеней для разработки новых антикоагулянтов. Во-первых, можно блокировать начальную стадию свертывания, например, воздействуя на комплекс «тканевый фактор-фактор VII». Перспективными в этом плане выглядят ингибиторы контактного пути. Хорошо себя показали в экспериментах на животных инфестин-4 [35] и моноклональные антитела к факторам XII [36] и XI [37]. Кроме того, было показано, что применение олигонуклеотида, который специфично снижает экспрессию фактора XI, успешно снижает риск венозной тромбоэмболии у пациентов, пере-

Рисунок 3

Положение молекулы аргатробана в активном центре тромбина (найдено с помощью программы докинга SOL [49])

Figure 3

The position of the argatroban molecule in the active center of thrombin (the position was found by the SOL docking program [49])



Тромбин изображен в виде триангулированной поверхности, разделяющей белок и окружающий его растворитель – воду. Триангуляция нужна для решения уравнений, учитывающих взаимодействие белка с водой. Отдельные участки поверхности белка окрашены в разные цвета, соответствующие типам атомов белка, находящихся вблизи от этих участков: белый цвет соответствует атомам водорода, синий – азота, красный – кислорода, серый – углерода, желтый – серы.

Thrombin is shown as a triangulated surface which actually represents the solvent excluded surface. Construction of this surface is needed to solve equations that take into account the interaction of protein with water. Individual parts of the surface of the protein are shown in different colors corresponding to the types of protein atoms located close to these areas: white corresponds to hydrogen atoms, blue to nitrogen, red to oxygen, gray to carbon, yellow to sulfur.

несших артропластику колена [38]. Важно отметить, что уменьшение риска тромбоза в случае использования ингибиторов контактного пути не связано с повышенным риском кровотечения.

Другое важное направление разработки антикоагулянтов – блокирование стадий распространения свертывания и образования тромбина, которое можно осуществить, воздействуя на факторы IXa или Xa, или путем инактивации кофакторов Va или VIIIa. Кроме того, можно предотвратить образование фибрина, напрямую ингибируя тромбин. Прямые ингибиторы тромбина также блокируют опосредованную тромбином активацию факторов V, VIII и XI и ослабляют агрегацию тромбоцитов.

Несмотря на активные поиски, идеальный антикоагулянт, который бы селективно ингибировал патологическое тромбообразование с минимальным риском кровотечений, до сих пор не найден.

Докинг и другие методы компьютерного моделирования лекарств

Рассмотрим другую сторону проблемы: как создать ингибитор для новой интересной молекулы-мишени?

Рациональная разработка лекарств, как правило, основана на следующей парадигме: молекула лекарства должна избирательно связаться с определенным местом макромолекулы, участвующей в развитии заболевания, и воздействовать тем самым на течение болезни. Чаще всего такие макромолекулы-мишени – это белки, с их активными центрами должны связываться биологически активные молекулы. В дальнейшем для краткости мы будем называть такие биологически активные молекулы ингибиторам, хотя это могут быть и агонисты, антагонисты и модуляторы рецепторов белковой природы – главное, чтобы связывание этих молекул с белком-мишенью приводило к биологическому эффекту.

Компьютерное молекулярное моделирование начинает играть важную роль на начальной стадии разработки лекарств и опирается на информацию о структуре белков-мишеней, которая собирается в *Protein Data Bank* (PDB) [39]. Среди методов молекулярного моделирования, применяемых для разработки лекарств, центральную роль играет докинг [40, 41], с помощью которого осуществляется позиционирование лиганда (молекулы, которая может связаться с белком) в белке-мишени и дается оценка энергии связывания лиганда с белком, определяющая биологическую активность лиганда [42, 43]. Для примера на *рисунке 3* показано положение аргатробана – прямого ингибитора тромбина в активном центре последнего.

Существует несколько десятков программ докинга; обзоры по программам докинга и результатам соревнований по докингу появляются практически

ежегодно [44, 45]. Последние обзоры представлены в работах [46, 47], причем в обзоре [47] фокус сделан на описании характеристик программ, влияющих на точность докинга: применяемые силовые поля, методы вычисления энергии, модели учета растворителя, алгоритмы поиска наилучшей позы лиганда, глобальной и локальной оптимизации, учет гибкости лиганда и подвижности атомов в активном центре белка и упрощений, сделанных для ускорения докинга. Детально различные программы докинга рассмотрены в статье [48].

Прямые ингибиторы ключевых факторов свертывания

В этом разделе мы рассмотрим существующие и потенциальные молекулы, направленные на инактивацию многообещающих мишеней (в первую очередь, факторов Xa и XIa) в свертывании крови. Многие из них были выявлены благодаря компьютерному докингу, и даже после экспериментального подтверждения методы докинга позволяют глубже их исследовать и модифицировать.

Ингибиторы фактора Xa. Существует более десяти химических классов прямых ингибиторов фактора Xa; большинство из них детально описаны [50, 51]. Кроме того, пять соединений с избирательной активностью против фактора Xa используют в клинической практике для лечения патологий, связанных с повышенным тромбообразованием. Мы не рассматриваем все существующие ингибиторы фактора Xa, так как опубликованы посвященные им специализированные обзоры. В *таблице 1* приведены лишь некоторые наиболее интересные и детально изученные ингибиторы (по крайней мере начато их клиническое тестирование), дана подробная информация касательно их активности и стадии разработки, на которой находится конкретное соединение. Учитывая, что для соединений, представленных в *таблице 1*, как минимум были начаты клинические испытания, очевидно, что их фармакодинамические и фармакокинетические свойства, выявленные на этапе доклинических испытаний, приемлемы для тестирования на людях.

Современные тенденции в области разработки препаратов, связанных с фактором свертывания Xa, характеризуются двумя направлениями. С одной стороны, растет число случаев идентификации новых классов прямых ингибиторов фактора Xa, причем чаще всего с использованием методов молекулярного моделирования [52–56]. Примеры некоторых новых ингибиторов, разработанных с помощью компьютерного моделирования, приведены в *таблице 2*.

Второе направление, связанное с фактором Xa, – разработка средств, используемых для преры-

Таблица 1

Селективные ингибиторы фактора Ха, вошедшие в стадию клинических испытаний (КИ)
(информация о соединениях, не прошедших КИ, из [3])

Table 1

Selective inhibitors of factor Xa, which start the stage of clinical trials (CT)
(information on compounds that did not undergo CT was taken from [3])

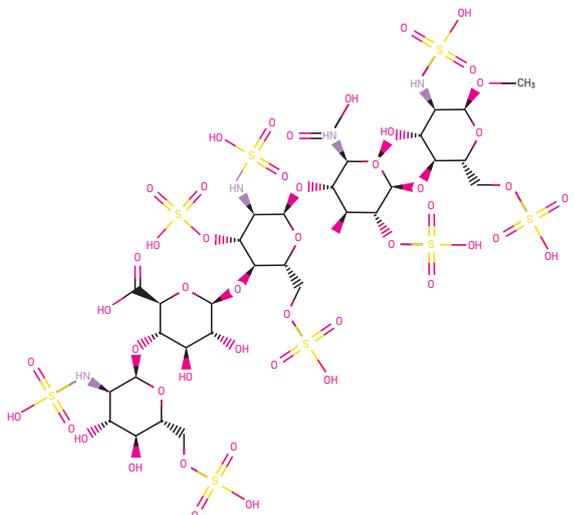
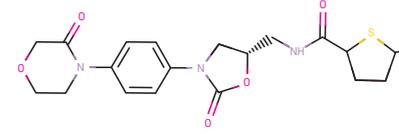
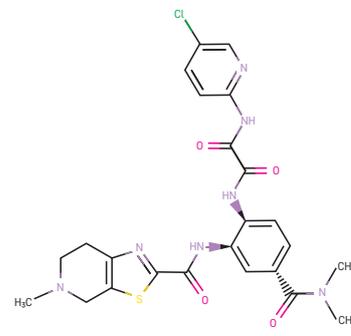
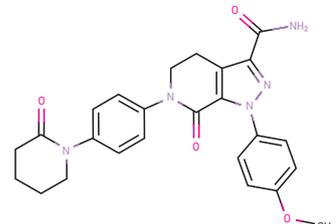
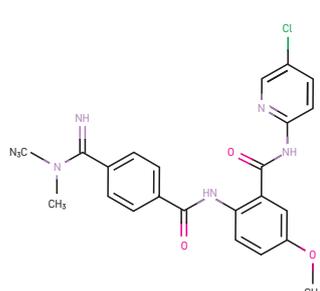
№	Название Name	Структура молекулы ингибитора Molecule structure	Активность в отношении фактора Ха Activity against factor Xa	Стадия разработки Development stage	Способ введения для лекарств Route of administration for drugs
1	Фондапаринукс Fondaparinux		Активность опосредована активацией антитромбина III Activity mediated by activation of antithrombin III	Одобен FDA FDA approved	Парентерально Parenteral
2	Ривароксабан Rivaroxaban		$K_i = 0,4 \text{ nM}$ $IC_{50} = 0,21 \text{ nM}$	Одобен FDA FDA approved	Перорально Oral
3	Эдоксабан Edoxaban		$K_i = 0,56 \text{ nM}$	Одобен FDA FDA approved	Перорально Oral
4	Апиксабан Arixaban		$K_i = 0,8 \text{ nM}$	Одобен FDA FDA approved	Перорально Oral
5	Бетриксабан Betrixaban		$K_i = 0,18 \text{ nM}$ $IC_{50} = 1,5 \text{ nM}$	Одобен FDA FDA approved	Перорально Oral

Таблица 1 (продолжение)

Table 1 (continuation)

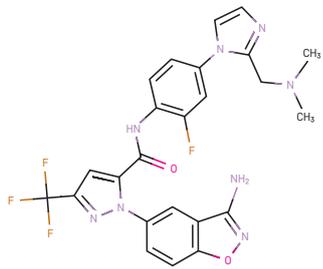
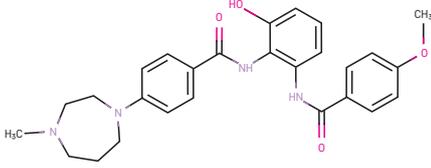
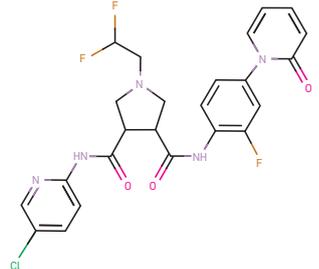
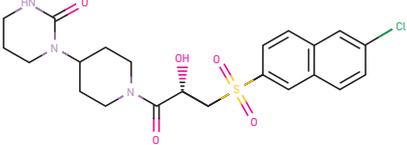
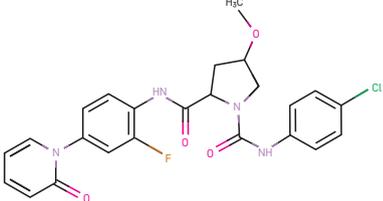
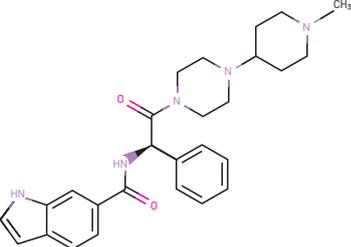
№	Название Name	Структура молекулы ингибитора Molecule structure	Активность в отношении фактора Xa Activity against factor Xa	Стадия разработки Development stage	Способ введения для лекарств Route of administration for drugs
6	Разаксабан Razaxaban		$K_i = 0,19 \text{ nM}$	Разработка прекращена на 2-й фазе КИ из-за плохого соотношения риск/польза Development stopped in Phase 2 CT due to poor risk / benefit ratio	—
7	Дарексабан Darexaban		$IC_{50} = 56,6 \text{ nM}$	Разработка прекращена на 3-й фазе КИ в связи выявленными побочными эффектами Development was stopped at the 3rd phase of CT due to identified side effects	—
8	R1663			Пройдена 1-я фаза КИ в 2012 г. С тех пор новых подробностей о разработке не было Passed the 1st phase of CT in 2012. Since then, there have been no new development details	—
9	Летаксабан Letaxaban		$K_i = 7 \text{ nM}$ $IC_{50} = 28,6 \text{ nM}$	Разработка прекращена после прохождения 2-й фазы КИ Development was stopped after the phase 2 CT	—
10	Эрибаксабан Eribaxaban		$IC_{50} = 0,32 \text{ nM}$	Разработка прекращена после прохождения 2-й фазы КИ Development was stopped after the phase 2 CT	—
11	LY517717		$K_i = 4,6 \text{ nM}$	Разработка прекращена на 2-й фазе КИ Development was stopped on the phase 2 CT	—

Таблица 2

Примеры ингибиторов фактора Xa, разработанных на основе компьютерного дизайна
(структуры молекул и их активность в отношении фактора Xa из [5–9])

Table 2

Factor Xa inhibitors developed by computer design

(the structures of molecules and their activity against factor Xa were taken from [5–9])

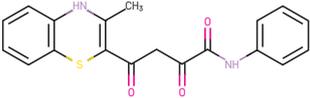
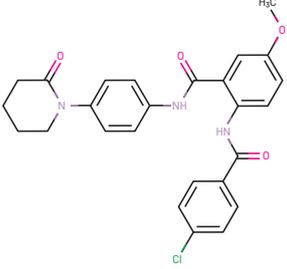
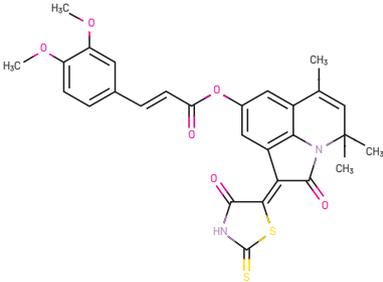
№	Название Name	Структура Molecule structure	Ингибирующая активность Activity against factor Xa	Селективность Selectivity	Подход к разработке Approach to design
1	NSC635393		IC ₅₀ = 2,02 nM	Не исследовалась Not investigated	Виртуальный скрининг на основе формы лиганда, электростатической похожести и докинга Virtual screening based on ligand shape, electrostatic affinity and docking
2	9b		IC ₅₀ = 23 nM	Не влияет на активность тромбина It does not affect thrombin activity	Дизайн виртуальной библиотеки на основе фрагментов. Консенсус докинг для оценки связывания Library design for fragment based screening. Consensus docking evaluation for binding prediction
3	17f		IC ₅₀ = 700 nM	Не исследовалась Not investigated	Виртуальный скрининг на основе докинга Virtual screening based on docking
4	VGY 0224989		IC ₅₀ = 3000 nM	Не ингибирует тромбин, трипсин, фактор IXa и фактор XIa It does not inhibit thrombin, trypsin, factor IXa and factor XIa	Виртуальный скрининг на основе докинга. Квантовохимический постпроцессинг Virtual screening based on docking. Postprocessing of docking results with semiempirical method

Таблица 3

Обратимые ингибиторы FXIa

Table 3

Reversible factor XIa inhibitors

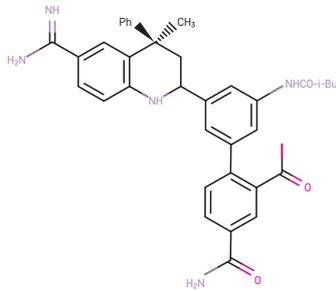
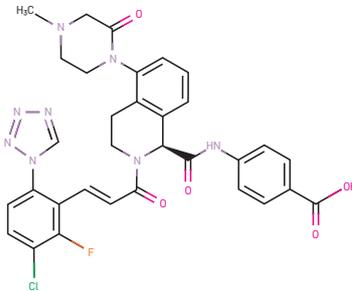
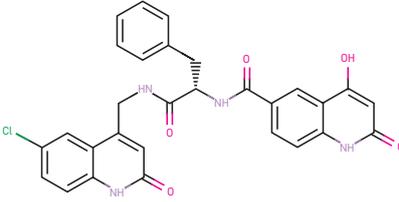
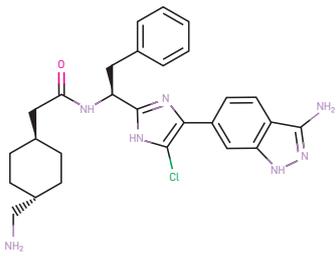
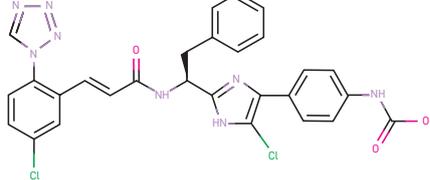
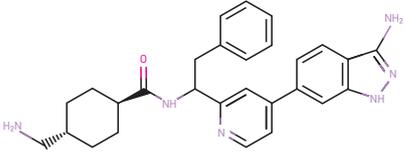
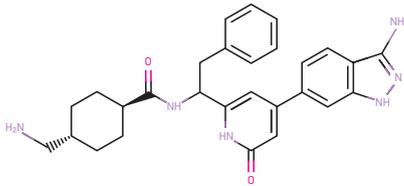
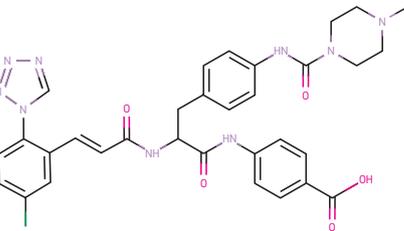
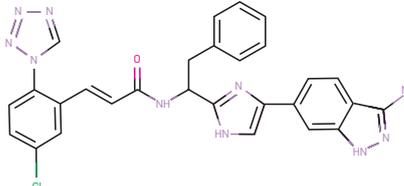
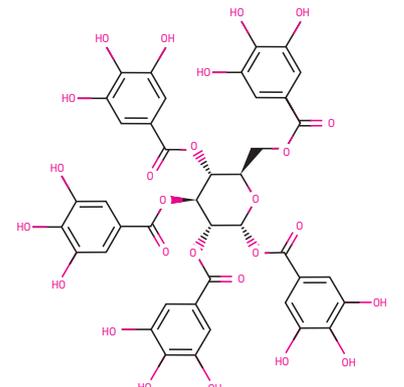
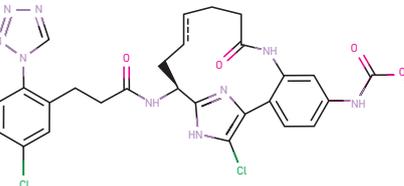
№	Название Name	Структура Molecule structure	Ингибирующая активность Activity against factor XIa	Ссылка Reference
1	BMS-654457		$K_i = 0,2 \text{ nM}$	[58]
2	BMS-962212		$K_i = 0,7 \text{ nM}$	[59]
3	Compound 3		$IC_{50} = 1,0 \text{ nM}$ $K_i = 0,5 \text{ nM}$	[61]
4a	Compound 4a		$K_i = 0,31 \text{ nM}$	[63]
4b	Compound 4b		$K_i = 6,7 \text{ nM}$	[63]
5	Compound 5		$K_i = 2,7 \text{ nM}$	[57, 66]

Таблица 3 (продолжение)

Table 3 (continuation)

№	Название Name	Структура Molecule structure	Ингибирующая активность Activity against factor XIa	Ссылка Reference
6a	Compound 6a		$K_i = 8,4 \text{ nM}$	[60]
6b	Compound 6b		$K_i = 3,7 \text{ nM}$	[60]
7	Compound 7		$K_i = 6,7 \text{ nM}$	[62]
8	Compound 8		$K_i = 2,0 \text{ nM}$	[64]
9	Compound 9		$K_i = 521 \text{ nM}$	[65]
10	Compound 10		$IC_{50} = 1300 \text{ nM}$	[57]

вания антикоагулянтного действия ингибиторов фактора Ха в случае неконтролируемых кровотечений, которые могут возникать при терапии препаратами данного класса. Так, *Andexanet Alfa* – рекомбинантный вариант фактора Ха, который не обладает ферментативной активностью, – получил одобрение FDA для контроля таких жизнеугрожающих состояний [57]. Другой пример такого средства – синтетическое неорганическое соединение *ciraparantag*, способное формировать множественные нековалентные связи с молекулами антикоагулянтов. Разработка подобных агентов свидетельствует о том, что на сегодняшний день не существует идеального антикоагулянтного средства, и поиск новых более безопасных средств для лечения тромботических состояний, в том числе не связанных с ингибированием фактора Ха, остается актуальной задачей.

Ингибиторы фактора XIa. Предполагается, что ингибиторы активированного фактора XI (FXIa) будут сочетать антикоагулянтный и профибринолитический эффекты с низким риском кровотечения. Низкомолекулярные ингибиторы FXIa еще не прошли всех необходимых доклинических и клинических испытаний и не получили разрешение на использование при лечении людей, однако разработки ингибиторов FXIa ведутся.

В работах [58] и [59] описано соединение BMS-654457 (таблица 3, № 1). Кинетические исследования, проведенные *in vitro* с хромогенным субстратом, показали, что это соединение является прямым обратимым и конкурентным ингибитором FXIa с $K_i = 0,2$ нМ и более чем с 1000-кратной селективностью по отношению к связыванию с FXa, FVIIa, FIXa, тромбином, трипсином, урокиназой и плазмином, однако оно не селективно к активированному протеину С и плазменному калликреину. Его активность оценена *in vivo* на кроличьих моделях электролитически индуцированного тромбоза сонных артерий и времени кровотечения кутикулы. BMS-654457 – обратимый и прямой ингибитор, перспективный для антитромботической терапии с широким терапевтическим окном.

В статье [60] описан прямой обратимый и селективный ингибитор FXIa BMS-962212 (таблица 3, № 2), находящийся на первой фазе клинических испытаний и имеющий в экспериментах *in vitro* $K_i = 0,7$ нМ.

Компания *Bristol-Myers Squibb* во второй половине 2018 года анонсировала вторую фазу клинических испытаний с пероральным ингибитором FXIa, BMS-986177. Первая фаза исследования безопасности и переносимости с BMS-986177 завершена, но структура и результаты исследования на данный момент не опубликованы.

В работе *Ola Fjellström* и соавт. [61] с помощью виртуального скрининга, основанного на методах докинга, было найдено очень сильное, селективное относительно FXa, FIXa и FIIa и трипсина соединение (таблица 3, № 3), которое в эксперименте *in vitro* в системе «белок–субстрат–ингибитор» показало активность: $IC_{50} = 1,0$ нМ; $K_i = 0,5$ нМ.

Согласно исследованиям [62] для улучшения биодоступности перорального и селективного относительно FXa, FVIIa, FIXa, FIIa и трипсина ингибитора (таблица 3, № 4 а) с $K_i = 0,31$ нМ (*in vitro* «белок–субстрат–ингибитор»; $t = 25$ °C) с помощью поиска структурных аналогов соединения и замены радикалов был найден новый ингибитор (таблица 3, № 4 б) с $K_i = 6,7$ нМ (*in vitro* «белок–субстрат–ингибитор»; $t = 25$ °C). По результатам исследований, это соединение оказывало умеренное пероральное воздействие на собак ($F\% = 10\%$).

В других исследованиях [58, 63] найдено соединение (таблица 3, № 5), обладающее хорошей ингибирующей активностью *in vitro* «белок–субстрат» ($K_i = 2,7$ нМ) и хорошей антикоагулянтной активностью *in vitro* ($EC_{1,5x} = 5,3$ μМ) в анализе с активированным частичным тромбопластиновым временем, однако оно не показало активности при пероральном приеме у собак. Дальнейший поиск с помощью преобразования химической структуры этого соединения не выявил перорально биодоступных соединений с более высокой активностью.

J.R. Corte, T. Fang и соавт. [64] представили сильнодействующие селективные соединения на основе пиридина и пиридинона с $K_i = 8,4$ нМ и $K_i = 3,7$ нМ соответственно (таблица 3, № 6 а, б). Соединение на основе пиридина обладает более чем 1000-кратной селективностью относительно основных сериновых протеаз, за исключением калликреина и трипсина. При дальнейшем исследовании [65] с помощью замены основного циклогексилметиламина Р1 нейтральным п-хлорфенилтетразолом Р1 открыто соединение № 7 ($K_i = 6,7$ нМ) (см. таблицу 3); его биодоступность при пероральном приеме значительно улучшилась по сравнению с сообщенной ранее (№ 6 а).

Исследование [66] привело к открытию соединения (таблица 3, № 8) с высокой аффинностью к FXIa и хорошей селективностью в отношении сериновых протеаз. Результаты активности на модели тромбоза у кроликов: *in vitro* – $K_i = 2,0$ нМ; *in vivo* – $EC_{50} = 2,8$ μМ.

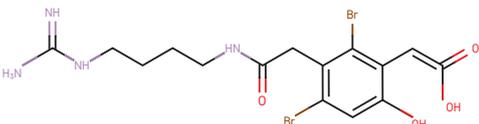
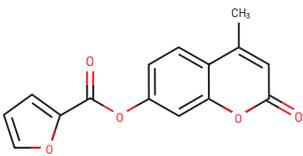
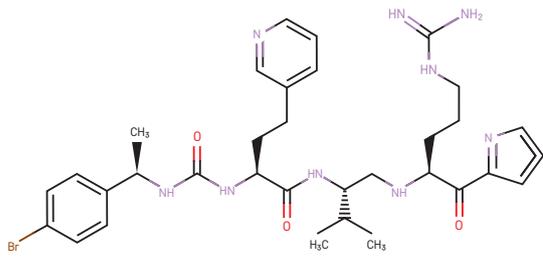
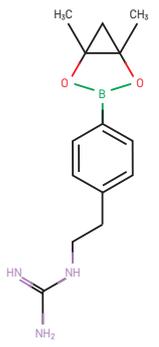
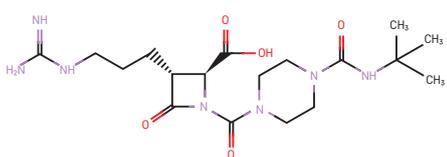
Согласно патентным базам на данный момент в качестве предполагаемых ингибиторов фактора свертывания FXIa, помимо синтетических соединений, рассматриваются и другие группы, в том числе соединения, выделенные из натуральных продуктов [67, 68],

Таблица 4

Ковалентные ингибиторы FXIa

Table 4

Covalent FXIa inhibitors

№	Название Name	Структура Molecule structure	Ингибирующая активность Activity against factor XIa	Ссылка Reference
1	Clavatadin A		IC ₅₀ = 1300 nM	[57]
2	Coumarin derivative		IC ₅₀ = 770 nM	[57]
3	3-pyridylmethyl-2-ketotriazole		IC ₅₀ = 12 nM	[65]
4	Compound 4		IC ₅₀ = 7300 nM	[65]
5	BMS-262084		IC ₅₀ = 2,8 nM	[65, 84]

макроциклические соединения [69, 70], хинолоновые и акридиновые соединения [71], имидазолильные производные [72], дипептидные аналоги [73].

В обзорах [51, 74–76] представлены основные группы веществ, предлагавшихся в качестве ингибиторов фактора XIa: моноклональные антитела; антисмысловые олигонуклеотиды (АСО); полипептиды; синтетические низкомолекулярные соединения (ациклические, моноциклические, бициклические, макроциклические), связывающиеся непосредственно с активным центром фактора XIa; синтетические аллостерические ингибиторы; естественные соединения, выделенные из природных источников.

Al-Horani и *соавт.* [77, 78] опубликовали серию сульфатированных пентагаллоилглюкопиранозидов в качестве аллостерических ингибиторов FXIa. Аллостерические ингибиторы не связываются с активным сайтом FXIa, похожим по своим свойствам на другие сериновые протеазы. Они селективны за счет нацеливания на уникальные свойства FXIa в других сайтах. Например, сульфатированный пентагаллоилглюкопиранозид (таблица 3, № 9) (β -SPGG-1) имеет $K_i = 521$ нМ с 200-кратной селективностью по сравнению с другими соответствующими ферментами.

Макроциклы были признаны важным структурным классом в открытии лекарственных препаратов: показано, что они улучшают аффинность связывания, селективность, метаболическую стабильность и фармакокинетические свойства по сравнению с соответствующими ациклическими предшественниками. Первые раскрытые макроциклические ингибиторы FXIa были описаны *S. Hanessian* и *соавт.* [80]. Согласно [74] ненасыщенный амидный линкер, который включал Е-алкен в 13-членный макроцикл, обеспечивал наномолярную активность к FXIa, который был дополнительно усилен хлоримидазолом (таблица 3, № 10) ($K_i = 0,03$ нМ).

Опубликованы данные (без структур) для нескольких дополнительных ингибиторов FXIa. Так, *M. Sakai* и *соавт.* [81] опубликовали данные для ONO-8610539 – селективного активного ингибитора FXIa ($K_i = 0,9$ нМ). Сообщается, что ONO-8610539 ингибирует образование тромба у кроликов и обезьян, не влияя на объем кровопотери в дозе, на 33% превышающей максимальный антитромботический эффект. DSR-130787, описанный *M. Mori* и *соавт.* [82], – перорально активное пролекарство ингибитора FXIa с $IC_{50} < 10$ нМ. Активная форма DSR-130787 при внутривенном введении кроликам демонстрирует антитромботический эффект, сравнимый с эффектом ингибитора тромбина, дабигатрана или ингибитора FXa, ривароксабана, но с гораздо более низким риском кровотечения.

Несмотря на то что наиболее перспективны для разработки низкомолекулярные ингибиторы FXIa, существуют классы высокомолекулярных ингибиторов [74]: ингибиторы, выделенные из натуральных продуктов; ДНК и РНК-аптамеры – короткие, одноцепочечные олигонуклеотиды (6–30 кДа), которые связывают специфические белковые мишени с высокой селективностью. РНК-аптамеры, нацеленные на FXIa, были идентифицированы с использованием систематической эволюции лигандов путем экспоненциального обогащения (SELEX), антитела и АСО.

На стадии клинических испытаний находится ингибитор *IONIS-FXI_{RX}* (ISIS 416858), представляющий собой синтетический олигомер из 20 нуклеотидов, комплементарных последовательности мРНК FXI человека [74]. Ингибитор уменьшает синтез FXI и имеет отсроченный на несколько дней фармакологический эффект, так как период полураспада FXI составляет 50–70 часов. На первой фазе клинических исследований этот ингибитор исследовали на здоровых добровольцах, кровотечений, связанных с лечением, не наблюдалось. На данный момент *IONIS-FXI_{RX}* находится на второй фазе клинических исследований. Первое клиническое исследование второй фазы было проведено среди пациентов, перенесших плановую артропластику коленного сустава: показано, что при снижении циркулирующего в крови FXI снижается риск возникновения венозной тромбоэмболии.

Второе клиническое исследование второй фазы проведено среди пациентов с терминальной стадией почечной недостаточности. Как и в исследовании случаев артропластики коленного сустава, *IONIS-FXI_{RX}* хорошо переносился и уменьшал уровни FXI в крови в зависимости от дозы. Запланировано еще одно клиническое исследование второй фазы у пациентов с терминальной стадией почечной недостаточности, находящихся на гемодиализе [83].

Компания *Bayer* представила ингибитор BAY 1213790 – полностью человеческое моноклональное тело IgG1, которое блокирует каталитический домен FXIa человека с $IC_{50} = 2$ нМ [84]. В первой фазе клинического исследования антитело оказалось безопасным и хорошо переносимым, без серьезных побочных эффектов, связанных с приемом лекарства. Вторая фаза клинического исследования по профилактике венозной тромбоэмболии у пациентов, перенесших плановую первичную тотальную артропластику коленного сустава, была запланирована в июле 2017 года.

Xlsomab 3G3 от *Aronora Inc.* [85] представляет собой антитело, впервые полученное путем иммунизации мышей с дефицитом FXI рекомбинантным мышинным FXI. *Xlsomab 3G3* находится на первой фазе клинических исследований.

Наконец, в работах [58, 74] представлен обзор по ковалентным ингибиторам FXIa: например, клаватадин А (таблица 4; № 1) – натуральный продукт, выделенный из морской губки [67], является селективным ковалентным ингибитором ($IC_{50} = 1,3$ мкМ).

При связывании клаватадина А со структурой FXIa гуанидиновая единица P1 взаимодействует с Asp189 в кармане S1. Производное кумарина (таблица 4, № 2) ($IC_{50} = 0,77$ мкМ), как недавно сообщили A.J. Obaidullah и R.A. Al-Horani [68], образует ковалентную связь с Ser195. Кетотиазолсодержащее соединение (таблица 2, № 3) ингибирует FXIa с $IC_{50} = 12$ нМ [30] и обладает более чем 100-кратной селективностью к тромбину и 1000-кратной – к FXa. В статье [86] представлены функционализированные боронаты (таблица 4, № 4) в качестве ковалентных ингибиторов FXIa с низкой микромолярной активностью ($IC_{50} = 7,3$ мкМ). Эти ингибиторы напоминают ранние ингибиторы тромбина, которые образуют ковалентную связь между боронной кислотой и Ser195. В работе [74, 79] показано, что BMS-262084 (таблица 4, № 5) представляет собой β -лактаминный ковалентный ингибитор FXIa с $IC_{50} = 2,8$ нМ при экспериментальном исследовании *in vitro* «белок–субстрат–ингибитор». Этот ингибитор экспериментально проверен и на других человеческих сериновых протеазах, участвующих в коагуляции (FXIIa, плазменный калликреин, FVIIa, FIXa, FXa, тромбин) и фибринолизе (ткани активатора плазминогена, урокиназа, плазмин); в результате оказалось, что соединение (№ 1) ингибирует эти белки в 70 раз слабее.

Итак, оставляя в стороне ковалентные ингибиторы, необходимость и безопасность использования которых еще не до конца ясны, можно сказать, что на данный момент представленные низкомолекулярные соединения находятся на стадии улучшения пероральной биодоступности или доклинических испытаний на животных, за исключением ингибитора FXIa – BMS-962212, который прошел первую фазу клинических исследований. BMS-962212 – это активное соединение, растворимое в воде и пригодное для парентерального введения. Первую фазу клиниче-

ских испытаний прошло также BMS-986177, однако структура этого соединения и результаты данного исследования в доступных публикациях не представлены.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мы являемся свидетелями замечательного процесса, когда сочетание представлений о регуляции и физиологии свертывания крови, молекулярных знаний и инновационных подходов фармакологии привело к взрывному появлению новых молекул, в перспективе способных изменить подходы к антикоагулянтной профилактике и терапии. По-видимому, наиболее «горячая» мишень в системе свертывания крови для разработки новых антикоагулянтов – фактор XIa. Несмотря на то что затрачены значительные усилия и открыто сравнительно большое количество ингибиторов этого фактора, ни одно соединение пока не получило разрешения на применение в медицинской практике, а значит, нужны дальнейшие исследования по поиску новых ингибиторов фактора свертываемости крови XIa, в том числе с помощью докинга и других методов молекулярного моделирования.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 18-74-10097)

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Podoplelova N.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8013-1112>

Sulimov V.B. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7102-6107>

Tashilova A.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8701-5472>

Ilin I.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3612-393X>

Panteleev M.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8128-7757>

Ledeneva I.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4277-5838>

Shikhaliev Kh.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6576-0305>

Литература

- Macfarlane R.G. An enzyme cascade in the blood clotting mechanism, and its function as a biochemical amplifier. *Nature* 1964; 202: 498–99.
- Matafonov A., Cheng Q., Geng Y., Verhamme I.M., Umunakwe O., Tucker E.I., et al. Evidence for factor IX-independent roles for factor XIa in blood coagulation. *J Thromb Haemost* 2013; 11: 2118–27.
- Zakharova N.V., Artemenko E.O., Podoplelova N.A., Sveshnikova A.N., Demina I.A., Ataullakhanov F.I., et al. Platelet surface-associated activation and secretion-mediated inhibition of coagulation factor XII. *PLoS One* 2015; 10: e0116665.
- Meijers J.C.M. Feedback controversy stops here. *Blood* 2009; 114: 235.
- Gailani D., Bane C.E., Gruber A. Factor XI and contact activation as targets for antithrombotic therapy. *J Thromb Haemost* 2015; 13: 1383–95.

6. Panteleev M.A., Dashkevich N.M., Ataullakhanov F.I. Hemostasis and thrombosis beyond biochemistry: Roles of geometry, flow and diffusion. *Thromb Res* 2015; 136: 699–711.
7. Panteleev M.A., Ovanesov M.V., Kireev D.A., Shibeko A.M., Sinauridze E.I., Ananyeva N.M., et al. Spatial propagation and localization of blood coagulation are regulated by intrinsic and protein C pathways, respectively. *Biophys J* 2006; 90: 1489–500.
8. Dashkevich N.M., Ovanesov M.V., Balandina A.N., Karamzin S.S., Shestakov P.I., Soshitova N.P., et al. Thrombin activity propagates in space during blood coagulation as an excitation wave. *Biophys J* 2012; 103: 2233–40.
9. Sinauridze E.I., Panteleev M.A., Ataullakhanov F.I. Anticoagulant therapy: basic principles, classic approaches and recent developments. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2012; 23: 482–93.
10. Mackman N. Triggers, targets and treatments for thrombosis. *Nature* 2008; 451: 914–18.
11. Shibeko A.M., Lobanova E.S., Panteleev M.A., Ataullakhanov F.I. Blood flow controls coagulation onset via the positive feedback of factor VII activation by factor Xa. *BMC Syst Biol* 2010; 4: 5.
12. Tokarev A.A., Butylin A.A., Ataullakhanov F.I. Platelet Adhesion from Shear Blood Flow Is Controlled by Near-Wall Rebounding Collisions with Erythrocytes. *Biophys J* 2011; 100: 799–808.
13. Sveshnikova A.N., Balatskiy A.V., Demianova A.S., Shepelyuk T.O., Shakhidzhanov S.S., Balatskaya M.N., et al. Systems biology insights into the meaning of the platelet's dual-receptor thrombin signaling. *J Thromb Haemost* 2016; 14: 2045–57.
14. Podoplelova N.A., Sveshnikova A.N., Kotova Y.N., Eckly A., Receveur N., Nechipurenko D.Y., et al. Blood coagulation factors bound to procoagulant platelets are concentrated in their cap structures to promote clotting. *Blood* 2016; 128: 1745–56.
15. Podoplelova N.A., Sveshnikova A.N., Kurasawa J.H., Sarafanov A.G., Chambost H., Vasil'ev S.A., et al. Hysteresis-like binding of coagulation factors X/Xa to procoagulant activated platelets and phospholipids results from multistep association and membrane-dependent multimerization. *Biochim Biophys Acta* 2016; 1858: 1216–27.
16. Panteleev M.A., Ananyeva N.M., Greco N.J., Ataullakhanov F.I., Saenko E.L. Two subpopulations of thrombin-activated platelets differ in their binding of the components of the intrinsic factor X-activating complex. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 2545–53.
17. Davi G., Patrono C. Platelet Activation and Atherothrombosis. *N Engl J Med* 2007; 357: 2482–94.
18. Bonaca M.P., Bhatt D.L., Steg P.G., Storey R.F., Cohen M., Im K., et al. Ischaemic risk and efficacy of ticagrelor in relation to time from P2Y₁₂ inhibitor withdrawal in patients with prior myocardial infarction: insights from PEGASUS-TIMI 54. *Eur Heart J* 2016; 37: 1133–42.
19. Hiatt W.R., Fowkes F.G.R., Heizer G., Berger J.S., Baumgartner I., Held P., et al. Ticagrelor versus Clopidogrel in Symptomatic Peripheral Artery Disease. *N Engl J Med* 2017; 376: 32–40.
20. Rothberg M.B., Celestin C., Fiore L.D., Lawler E., Cook J.R. Warfarin plus aspirin after myocardial infarction or the acute coronary syndrome: meta-analysis with estimates of risk and benefit. *Ann Intern Med* 2005; 143: 241–50.
21. Mega J.L., Braunwald E., Wiviott S.D., Bassand J.-P., Bhatt D.L., Bode C., et al. Rivaroxaban in patients with a recent acute coronary syndrome. *N Engl J Med* 2012; 366: 9–19.
22. Virchow R.L.K. *Gesammelte Abhandlungen zur wissenschaftlichen Medicin*. Frankfurt am Main: 1856.
23. Friedman M.H., Brinkman A.M., Qin J.J., Seed W.A. Relation between coronary artery geometry and the distribution of early sudanophilic lesions. *Atherosclerosis* 1993; 98: 193–9.
24. von Brühl M.-L., Stark K., Steinhart A., Chandraratne S., Konrad I., Lorenz M., et al. Monocytes, neutrophils, and platelets cooperate to initiate and propagate venous thrombosis in mice in vivo. *J Exp Med* 2012; 209: 819–35.
25. Swystun L.L., Liaw P.C. The role of leukocytes in thrombosis. *Blood* 2016; 128: 753–62.
26. Moosbauer C., Morgenstern E., Cuvelier S.L., Manukyan D., Bidzhekov K., Albrecht S., et al. Eosinophils are a major intravascular location for tissue factor storage and exposure. *Blood* 2007; 109: 995–1002.
27. Uderhardt S., Ackermann J.A., Fillep T., Hammond V.J., Willeit J., Santer P., et al. Enzymatic lipid oxidation by eosinophils propagates coagulation, hemostasis, and thrombotic disease. *J Exp Med* 2017; 214: 2121–38.
28. Longstaff C., Kolev K. Basic mechanisms and regulation of fibrinolysis. *J Thromb Haemost* 2015; 13: S98–105.
29. Longstaff C., Varjú I., Sótonyi P., Szabó L., Krumrey M., Hoell A., et al. Mechanical stability and fibrinolytic resistance of clots containing fibrin, DNA, and histones. *J Biol Chem* 2013; 288: 6946–56.
30. Reimers R.C., Suter S.P., Joist J.H. Potentiation by red blood cells of shear-induced platelet aggregation: relative importance of chemical and physical mechanisms. *Blood* 1984; 64: 1200–6.
31. Goel M.S., Diamond S.L. Adhesion of normal erythrocytes at depressed venous shear rates to activated neutrophils, activated platelets, and fibrin polymerized from plasma. *Blood* 2002; 100: 3797–803.
32. Whelihan M.F., Lim M.Y., Mooberry M.J., Piegore M.G., Ilich A., Wogu A., et al. Thrombin generation and cell-dependent hypercoagulability in sickle cell disease. *J Thromb Haemost* 2016; 14: 1941–52.
33. Kwaan H.C. Microvascular thrombosis: a serious and deadly pathologic process in multiple diseases. *Semin Thromb Hemost* 2011; 37: 961–78.
34. Levi M., Schultz M., van der Poll T. Sepsis and thrombosis. *Semin. Thromb. Hemost* 2013; 39: 559–66.
35. May F., Krupka J., Fries M., Thielmann I., Pragst I., Weimer T., et al. FXIIa inhibitor rHA-Infestin-4: Safe thromboprotection in experimental venous, arterial and foreign surface-induced thrombosis. *Br J Haematol* 2016; 173: 769–78.
36. Larsson M., Rayzman V., Nolte M.W., Nickel K.F., Björkqvist J., Jämsä A., et al. A factor XIIa inhibitory antibody provides thromboprotection in extracorporeal circulation without increasing bleeding risk. *Sci Transl Med* 2014; 6: 222ra17.

37. David T., Kim Y.C., Ely L.K., Rondon I., Gao H., O'Brien P., et al. Factor XIa-specific IgG and a reversal agent to probe factor XI function in thrombosis and hemostasis. *Sci Transl Med* 2016; 8: 353ra112.
38. Büller H.R., Bethune C., Bhanot S., Gailani D., Monia B.P., Raskob G.E., et al. Factor XI antisense oligonucleotide for prevention of venous thrombosis. *N Engl J Med* 2015; 372: 232–40.
39. Berman H.M., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat T.N., Weissig H., et al. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Res* 2000; 28: 235–42.
40. Садовничий В.А., Сулимов В.Б. Суперкомпьютерные технологии в медицине. Суперкомпьютерные технологии в науке, образовании и промышленности. – М.: Изд-во Московского университета 2009; 1: 16–23.
41. Gupta M., Sharma R., Kumar A. Docking techniques in pharmacology: How much promising? *Comput Biol Chem* 2018; 76: 210–17.
42. Сулимов В.Б., Сулимов А.В. Докинг: молекулярное моделирование для разработки лекарств. – М.: ИИнтелл, 2017.
43. Сулимов А.В., Кутов Д.К., Каткова Е.В., Кондакова О.А., Сулимов В.Б. Поиск подходов к улучшению точности расчетов энергии связывания белок-лиганд с помощью докинга. *Известия Академии наук. Серия химическая* 2017: 1913–24.
44. Chen Y.C. Beware of docking! *Trends Pharmacol Sci* 2015; 36: 78–95.
45. Yuriev E., Holien J., Ramsland P.A. Improvements, trends, and new ideas in molecular docking: 2012–2013 in review. *J Mol Recognit* 2015; 28: 581–604.
46. Pagadala N.S., Syed K., Tuszynski J. Software for molecular docking: a review. *Biophys Rev* 2017; 9: 91–102.
47. Sulimov V.B., Kutov D.C., Sulimov A.V. *Advances in Docking*. *Curr Med Chem* 2019; 26: 1–25.
48. Сулимов А.В., Кутов Д.К., Тащилова А.С., Ильин И.С., Подоплелова Н.А. Пантелеев М.А. и др. Современные методы разработки новых лекарственных средств, влияющих на систему гемостаза. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2019; 18: 136–52.
49. Sulimov A.V., Kutov D.C., Oferkin I.V., Katkova E.V., Sulimov V.B. Application of the docking program SOL for CSAR benchmark. *J Chem Inf Model* 2013; 53: 1946–56.
50. Patel N.R., Patel D.V., Murumkar P.R., Yadav M.R. Contemporary developments in the discovery of selective factor Xa inhibitors: A review. *Eur J Med Chem* 2016; 121: 671–98.
51. Кабанкин А.С., Синауридзе Е.И., Липец Е.Н., Атауллаханов Ф.И. Компьютерный дизайн низкомолекулярных ингибиторов факторов системы свертывания крови. *Биохимия* 2019; 84: 191–211.
52. Lagos C.F., Segovia G.F., Nuñez-Navarro N., Faúndez M.A., Zacconi F.C. Novel FXa Inhibitor Identification through Integration of Ligand- and Structure-Based Approaches. *Molecules* 2017; 22: 1588.
53. Pu Y., Liu H., Zhou Y., Peng J., Li Y., Li P., et al. In silico Discovery of Novel FXa Inhibitors by Pharmacophore Modeling and Molecular Docking. *Nat Products Bioprospect* 2017; 7: 249–56.
54. Xing J., Yang L., Li H., Li Q., Zhao L., Wang X., et al. Identification of anthranilamide derivatives as potential factor Xa inhibitors: drug design, synthesis and biological evaluation. *Eur J Med Chem* 2015; 95: 388–99.
55. Sulimov V.B., Gribkova I.V., Kochugava M.P., Katkova E.V., Sulimov A.V., Kutov D.C., et al. Application of Molecular Modeling to Development of New Factor Xa Inhibitors. *Biomed Res Int* 2015; 2015: 120802.
56. Ilin I., Lipets E., Sulimov A., Kutov D., Shikhaliev K., Potapov A., et al. New factor Xa inhibitors based on 1,2,3,4-tetrahydroquinoline developed by molecular modelling. *J Mol Graph Model* 2019; 89: 215–24.
57. Levy J.H., Douketis J., Weitz J.I. Reversal agents for non-vitamin K antagonist oral anticoagulants. *Nat Rev Cardiol* 2018; 15: 273–81.
58. Quan M.L., Wong P.C., Wang C., Woerner F., Smallheer J.M., Barbera F.A., et al. Tetrahydroquinoline derivatives as potent and selective factor Xla inhibitors. *J Med Chem* 2014; 57: 955–69.
59. Wong P.C., Quan M.L., Watson C.A., Crain E.J., Harpel M.R., Rendina A.R., et al. In vitro, antithrombotic and bleeding time studies of BMS-654457, a small-molecule, reversible and direct inhibitor of factor XIa. *J Thromb Thrombolysis* 2015; 40: 416–23.
60. Pinto D.J.P., Orwat M.J., Smith L.M., Quan M.L., Lam P.Y.S., Rossi K.A., et al. Discovery of a Parenteral Small Molecule Coagulation Factor XIa Inhibitor Clinical Candidate (BMS-962212). *J Med Chem* 2017; 60: 9703–23.
61. Fjellström O., Akkaya S., Beisel H.-G., Eriksson P.-O., Erixon K., Gustafsson D., et al. Creating novel activated factor XI inhibitors through fragment based lead generation and structure aided drug design. *PLoS One* 2015; 10: e0113705.
62. Pinto D.J.P., Smallheer J.M., Corte J.R., Austin E.J.D., Wang C., Fang T., et al. Structure-based design of inhibitors of coagulation factor XIa with novel P1 moieties. *Bioorg Med Chem Lett* 2015; 25: 1635–42.
63. Hu Z., Wang C., Han W., Rossi K.A., Bozarth J.M., Wu Y., et al. Pyridazine and pyridazinone derivatives as potent and selective factor XIa inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett* 2018; 28: 987–92.
64. Corte J.R., Fang T., Hangeland J.J., Friends T.J., Rendina A.R., Luetggen J.M., et al. Pyridine and pyridinone-based factor XIa inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett* 2015; 25: 925–30.
65. Corte J.R., Fang T., Pinto D.J.P., Orwat M.J., Rendina A.R., Luetggen J.M., et al. Orally bioavailable pyridine and pyrimidine-based Factor XIa inhibitors: Discovery of the methyl N-phenyl carbamate P2 prime group. *Bioorg Med Chem* 2016; 24: 2257–72.
66. Smith L.M., Orwat M.J., Hu Z., Han W., Wang C., Rossi K.A., et al. Novel phenylalanine derived diamides as Factor XIa inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett* 2016; 26: 472–8.
67. Buchanan M.S., Carroll A.R., Wessling D., Jobling M., Avery V.M., Davis R.A., et al. Clavatadine A, a natural product with selective recognition and irreversible inhibition of factor XIa. *J Med Chem* 2008; 51: 3583–7.
68. Obaidullah A.J., Al-Horani R.A. Discovery of Chromen-7-yl Furan-2-Carboxylate as a Potent and Selective Factor XIa Inhibitor. *Cardiovasc. Hematol. Agents Med Chem* 2017; 15: 40–8.

69. Shi J., Ewing W.R., Nielsen L., Hu Z., Quan M.L. US20170283403A1 – Diamide macrocycles that are fxa inhibitors. 2017.
70. Shi J., Ewing W.R., Pinto D.J.P. WO2017151746A1 – Diamide macrocycles having factor xia inhibiting activity. 2017.
71. Pinto D.J.P., Clarke C.G., Smith I.L.M., Orwat M.J., Jeon Y., Corte J.R. US20160145263A1 – Tetrahydroisoquinolines containing substituted azoles as factor xia inhibitors. 2016.
72. Pinto D.J.P., Smallheer J.M., Corte J.R., Hu Z., Cavallaro C.L., Gilligan P.J., et al. US20120270853A1-Arylpropionamide, arylacrylamide, arylpropynamide, or arylmethylurea analogs as factor xia inhibitors. 2012.
73. Corte J.R., Gilligan P.J., Wang Y., Yang W., Ewing W.R., Pinto D.J.P. MX2015000919A – Dihydropyridone p1 as factor xia inhibitors. 2015.
74. Quan M.L., Pinto D.J.P., Smallheer J.M., Ewing W.R., Rossi K.A., Luettgen J.M., et al. Factor Xla Inhibitors as New Anticoagulants. *J Med Chem* 2018; 61: 7425–47.
75. Bane C.E., Gailani D. Factor XI as a target for antithrombotic therapy. *Drug Discov Today* 2014; 19: 1454–8.
76. Al-Horani R.A., Desai U.R. Factor Xla inhibitors: A review of the patent literature. *Expert Opin Ther Pat* 2016; 26: 323–45.
77. Al-Horani R.A., Desai U.R. Designing allosteric inhibitors of factor Xla. Lessons from the interactions of sulfated pentagalloylglucopyranosides. *J Med Chem* 2014; 57: 4805–18.
78. Al-Horani R.A., Gailani D., Desai U.R. Allosteric inhibition of factor Xla. Sulfated non-saccharide glycosaminoglycan mimetics as promising anticoagulants. *Thromb Res* 2015; 136: 379–87.
79. Wong P.C., Crain E.J., Watson C.A., Schumacher W.A. A small-molecule factor Xla inhibitor produces antithrombotic efficacy with minimal bleeding time prolongation in rabbits. *J Thromb Thrombolysis* 2011; 32: 129–37.
80. Hanessian S., Larsson A., Fex T., Knecht W., Blomberg N. Design and synthesis of macrocyclic indoles targeting blood coagulation cascade Factor Xla. *Bioorg Med Chem Lett* 2010; 20: 6925–8.
81. Sakai M., Hagio T., Koyama S., Gohda M., Suzuki K., Ono T., et al. Antithrombotic effect of ONO-8610539, a new, potent and selective small molecule factor Xla inhibitor, in a monkey model of arteriovenous shunt. *J Thromb Haemost* 2015; 13 (Suppl. 2): 230–1.
82. Mori M., Goto T., Shintome M., Toda M., Taga S., Matsushita K., et al. DSR-130787, a novel orally-active factor XIA inhibitor with low risk of bleeding: P0173-TUE. *J Thromb Haemost* 2015; 13 (Suppl. 2): 570–1.
83. Bethune C., Walsh M., Jung B., Yu R., Geary R.S., Bhanot S. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Ionis-FX-IRx, an Antisense Inhibitor of Factor XI, in Patients with End-Stage Renal Disease on Hemodialysis. *Blood* 2017; 130: 1116.
84. Buchmuller A., Wilmen A., Strassburger J., Schmidt M.V., Laux V. The anti-factor Xla antibody BAY 1213790 is a novel anticoagulant that shows strong antithrombotic efficacy without an increased risk of bleeding in rabbit models. *Res. Pr Thromb Haemost* 2017; 1 (Suppl. 1): 355.
85. Cheng Q., Tucker E.I., Pine M.S., Sisler I., Matafonov A., Sun M., et al. A role for factor Xlla-mediated factor XI activation in thrombus formation in vivo. *Blood* 2010; 116: 3981–9.
86. Lazarova T.I., Jin L., Rynkiewicz M., Gorga J.C., Bibbins F., Meyers H.V., et al. Synthesis and in vitro biological evaluation of aryl boronic acids as potential inhibitors of factor Xla. *Bioorg Med Chem Lett* 2006; 16: 5022–2.