

## Методы синтеза иммуностимулирующего препарата плериксафор

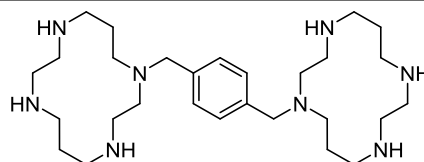
Нина К. Ратманова<sup>1</sup>, Иван А. Андреев<sup>1,2</sup>, Игорь В. Трушков<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева, ул. Саморы Машела, 1, Москва 117997, Россия

<sup>2</sup> Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского РАН, Ленинский пр., 47, Москва 119991, Россия; e-mail: trush@ioc.ac.ru

Поступило 28.11.2019

Принято 3.12.2019



Plerixafor (Mozobil®, AMD3100)

В мини-обзоре рассмотрены известные методы синтеза иммуностимулирующего препарата плериксафор (Мозобаил®, AMD3100). Представленные сведения охватывают период с момента опубликования в 1987 г. первой работы, посвященной синтезу плериксафора и изучению электрохимических свойств его диникелевых(II) и димедных(II) комплексов, по настоящее время.

**Ключевые слова:** AMD3100, Мозобаил®, плериксафор, циклам, онкоиммунология, хемокиновый рецептор CXCR4.

В последние годы в качестве одной из молекулярных мишеней для адресной терапии гематологических злокачественных опухолей служит хемокиновый рецептор CXCR4 – сопряженный с G-белком рецептор, регулирующий клеточную миграцию. Рецептор CXCR4 участвует в метастазировании опухолей и прогрессировании ВИЧ-инфекции. Рецептор CXCR4 и его специфический лиганд – фактор стромальных клеток 1 $\alpha$  (SDF-1 $\alpha$ , также известный как CXCL12) – играют важную роль в фиксации гемопоэтических стволовых клеток к строме костного мозга.<sup>1,2</sup>

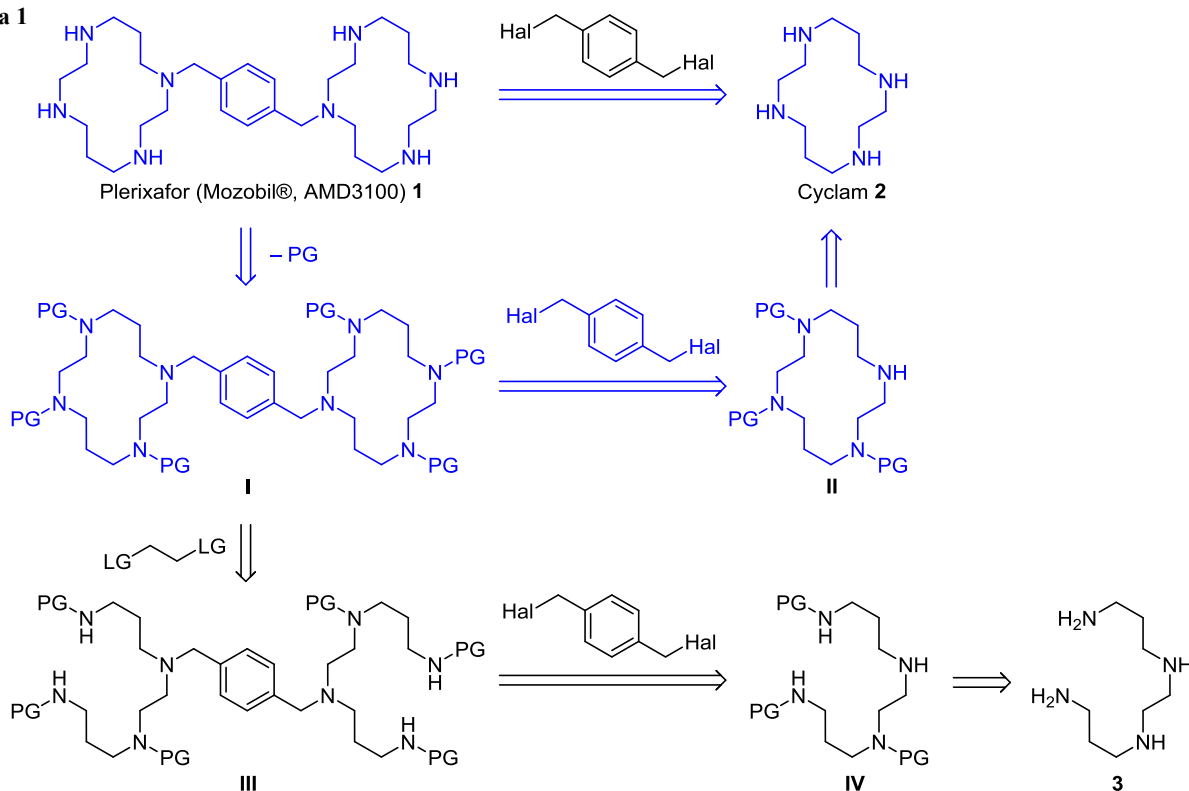
Первым вошедшим в медицинскую практику селективным антагонистом хемокинового рецептора CXCR4 стал плериксафор (также известный как Мозобаил®, AMD3100), разработанный компанией AnogMED<sup>3</sup> и одобренный Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration, FDA, США) в 2008 г. Механизм действия плериксафора основан на блокировании связывания рецептора CXCR4 с его специфическим лигандом SDF-1 $\alpha$ , что приводит к увеличению количества гемопоэтических стволовых клеток, циркулирующих в системном кровотоке, и, как следствие, к замедлению развития онкологического заболевания.<sup>4,5</sup>

Плериксафор (1,4-бис[(1,4,8,11-тетраазациклотетрадекан-1-ил)метил]бензол (1)) представляет собой поли-

амин, состоящий из двух молекул циклама (1,4,8,11-тетраазациклотетрадекана (2)), соединенных *para*-ксилиленовым линкером. Ретросинтетический анализ плериксафора представлен на схеме 1. Большинство существующих стратегий синтеза плериксафора можно обобщить следующим образом: на первой стадии к трем атомам азота циклама 2 вводят защитные группы (часто реакция сопровождается образованием побочных продуктов – ди- и тетразащитенных производных). Далее взаимодействием тризамещенных цикламов II (2 экв.) с *para*-ксилилендигалогенидом (1 экв.) получают гексазащитенное производное плериксафора I. Удаление защитных групп завершает синтез лекарственного препарата. Гексазащитенное производное I также можно получить из ациклического тетрамина 3 в результате обработки *para*-ксилилендигалогенидом интермедиата IV и последующей реакции соединения III с двухуглеродным синтоном LG(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>LG. Недавно был описан синтез плериксафора 1 прямым взаимодействием циклама 2 с *para*-ксилилендигалогенидом.<sup>6</sup>

В работе 1987 г., посвященной изучению электрохимических свойств диникелевых и димедных комплексов с лигандами на основе *N,N*-связанного бисциклама, Чамполини, Фабрици и соавторы впервые описали синтез плериксафора.<sup>7</sup> В качестве защитных групп использовались *para*-толуолсульфонильные

Схема 1



функции. Тризамещенный тетраазамакроцикл **4** был получен в результате обработки циклама **2** TsCl в присутствии Et<sub>3</sub>N (схема 2). Следует отметить, что реакция циклама с 3 экв. TsCl приводила к образованию целевого продукта в смеси с побочными ди- и тетразамещенными производными. Однако выделить необходимый продукт из полученной смеси не удалось. Тогда молярное соотношение TsCl – циклам **2** изменили на 2:1, что предотвратило образование тетразамещенного циклама. Тритозилциклам **4** алкилировали *para*-

ксилилендибромидом (0.5 экв.) в присутствии Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> по незащищенному атому азота. Удаление защитных групп с гексазамещенного бистетраазамакроцикла **5** согласно ранее описанной процедуре<sup>8</sup> завершало синтез плериксафора **1**. К сожалению, авторы не привели данные о выходе на стадии удаления защитных групп, поэтому оценить суммарную эффективность синтеза не представляется возможным.

Аналогичный подход использовали позже Бриджер с сотр.<sup>9</sup> Алкилирование тритозилциклама **4** *para*-ксилилендибромидом в присутствии K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> протекало быстрее (в течение 18 ч) и с большим выходом (67%, схема 3). Целевой продукт **1** был выделен после обработки бистетраазамакроцикла **5** концентрированной HBr в AcOH в форме октагидробромида дигидрата. В этой работе была установлена высокая активность производных бисциклама в ингибировании репликации ВИЧ,<sup>9</sup> что стимулировало дальнейшее интенсивное развитие методов синтеза плериксафора **1** и его аналогов.

Схема 2

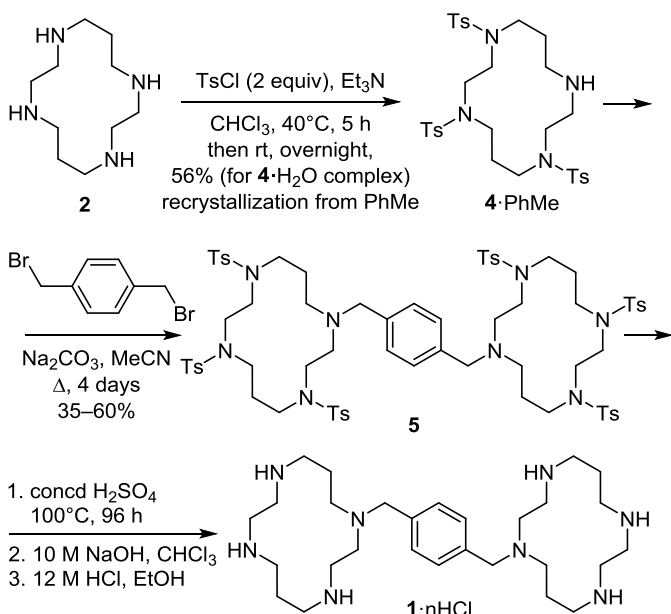
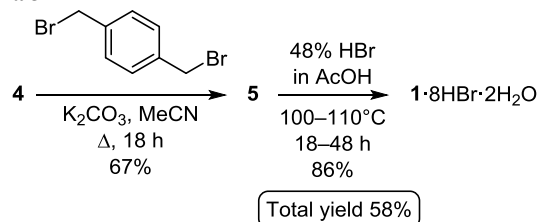
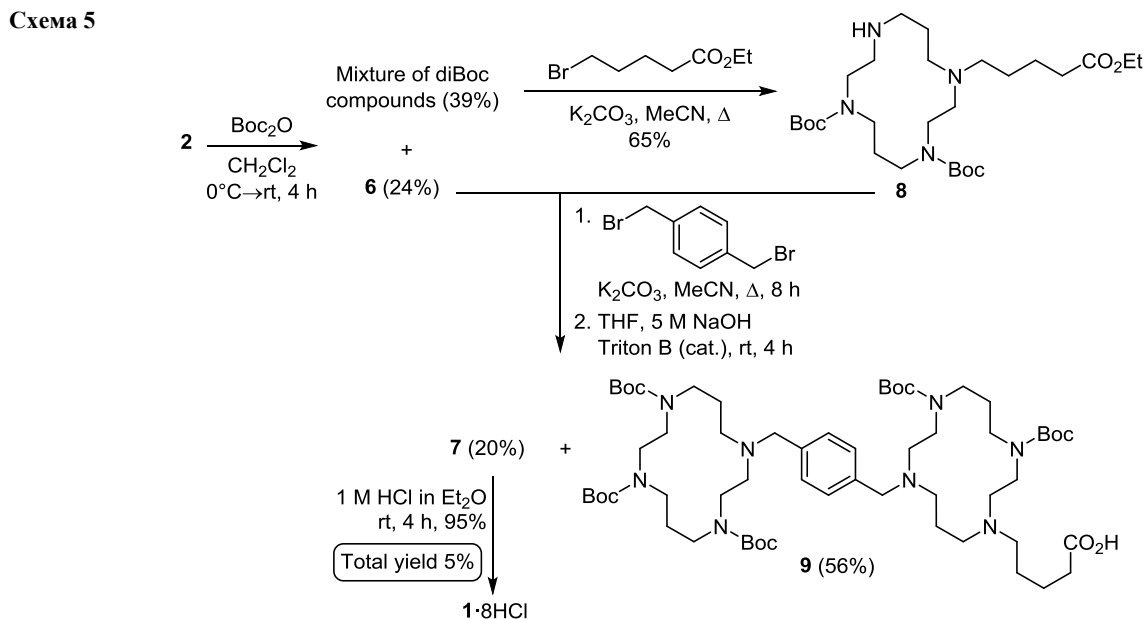
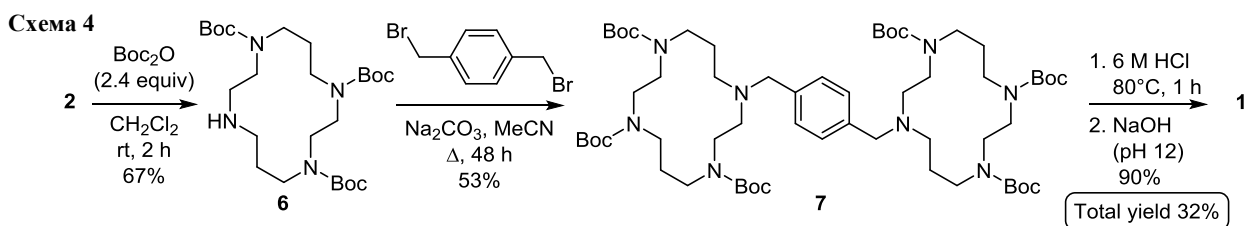


Схема 3



Первый шаг в этом направлении был сделан Гиляром с сотр.,<sup>10</sup> которые в целях предотвращения побочных реакций, протекающих при введении и удалении



тозильной группы, использовали Вос-защитную группу. Циклам **2** был превращен в тризащищенный тетраазамакроцикл **6** при обработке Вос<sub>2</sub>O (2.4 экв.) в разбавленном растворе (схема 4), однако, как и при действии TsCl, наряду с целевым соединением **6** были получены побочные продукты – ди- и тетраацелированные производные циклама. Последующие алкилирование тетраазамакроцикла **6** *para*-ксилилендибромидом и удаление защитных групп действием HCl завершили синтез плериксафора **1**.

Гексазащищенный бисциклам **7** был получен также как побочный продукт в синтезе бисмакроцикла **9** из дизащищенного макроцикла **8** и был аналогичным образом превращен в плериксафор **1** (схема 5).<sup>11</sup> Суммарный выход целевого продукта **1**, выделенного в форме гидрохлорида, составил всего 5%.

Исследователи из компании AnorMED показали, что избежать образования моно-, ди- и тетразащищенных производных циклама можно при использовании трифторацетильной защитной группы.<sup>12</sup> При обработке циклама **2** CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>Et (4 экв.) в присутствии Et<sub>3</sub>N они

селективно получили тризащищенный циклам **10** с почти количественным выходом (схема 6). Последующие алкилирование и удаление защитных групп в мягких условиях в соединении **11** привели к целевому продукту **1** в форме свободного основания с высоким суммарным выходом. Аналогичная цепочка превращений была применена для получения комплекса плериксафора **1** с <sup>64</sup>Cu(II).<sup>13</sup>

С целью подавления образования побочных моно-, ди- и тетразащищенных производных циклама было предложено использовать триденатные защитные группы. Ранним примером использования такой стратегии служит работа, посвященная моно-*N*-функционализации циклических и линейных тетрааминов, в которой в качестве защитной группы использовался Cr(CO)<sub>3</sub>.<sup>14</sup> Исходный циклам **2** при обработке Cr(CO)<sub>6</sub> формировал триденатный комплекс **12**, который был селективно алкилирован *para*-ксилилендибромидом в присутствии Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> по незащищенному атому азота (схема 7). Окислительное удаление защитной группы в кислой среде привело к образованию целевого бисмакроцикла **1** с высоким суммарным выходом.

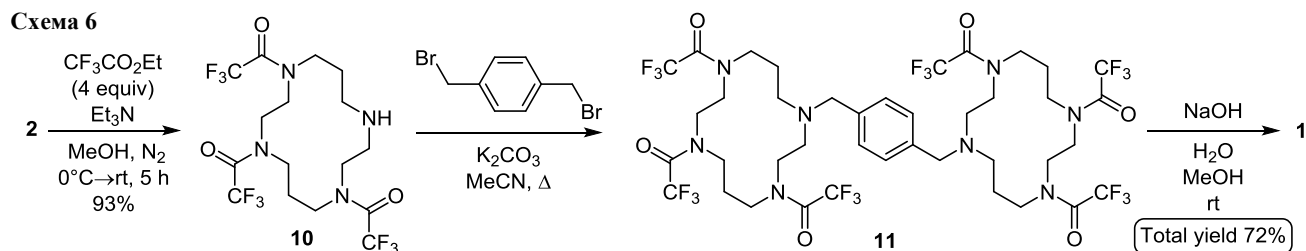
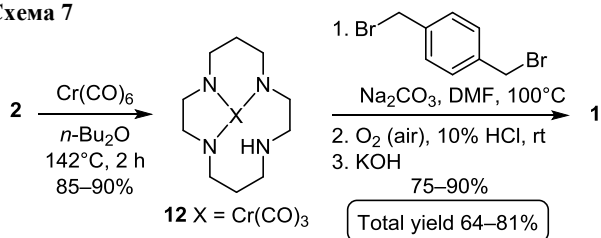


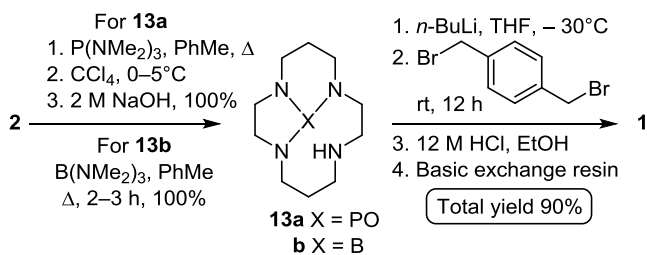
Схема 7



Учитывая высокую токсичность и канцерогенность  $\text{Cr}(\text{CO})_6$ , Андель с сотр. предложили модифицированный подход, состоящий в использовании для защиты циклама **2** стехиометрических количеств  $\text{P}(\text{NMe}_2)_3$ <sup>15</sup> или  $\text{B}(\text{NMe}_2)_3$ <sup>16</sup> и приводящий к тризамещенным цикламам **13a,b** с количественными выходами (схема 8).<sup>17</sup> Реакции бор- и фосфорилзащищенных цикламов **13a,b** с *para*-ксилилендибромидом приводили к бистетраазамакроцикламу, которые после удаления защитных групп действием  $\text{HCl}$  в  $\text{EtOH}$  с высоким суммарным выходом образовывали целевой плериксафор **1**.

Триденатная фосфорильная защита была исполь-

Схема 8



зована также в эффективном одореакторном синтезе плериксафора **1**.<sup>18</sup> При взаимодействии циклама **2** со стехиометрическим количеством  $\text{POCl}_3$  в присутствии  $\text{Et}_3\text{N}$  был получен тризамещенный тетраамин **13a** (схема 9). Затем к реакционной смеси были добавлены  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  и *para*-ксилилендибромид. После кипячения в течение 12 ч растворитель упарили, а остаток обработали  $\text{HCl}$ , что привело к удалению защитных групп и образованию целевого продукта **1** в форме октагидрохлорида.

Схема 9

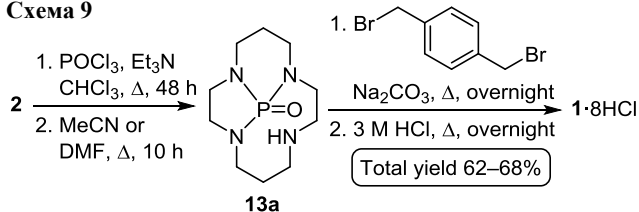
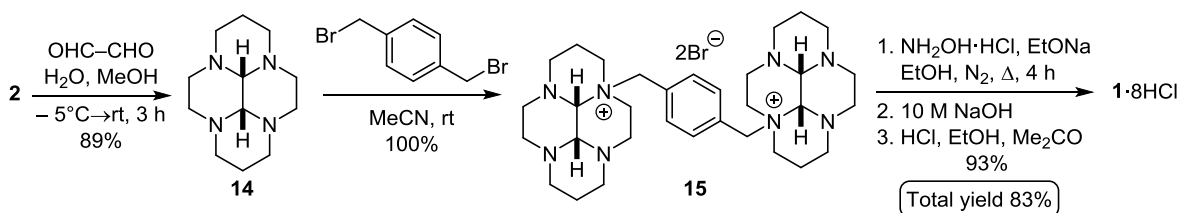


Схема 10



Другой метод синтеза бистетраазамакроциклов основан на использовании тетраазамакроциклических бисаминалей.<sup>19</sup> Так, Андель с сотр. описали конденсацию циклама **2** с глиоксалем, приводящую к бисаминалю **14** с *cis*-конфигурацией центрального двухуглеродного мостика (схема 10). *cis*-Конфигурация обуславливает "сложенную" геометрию молекулы и определяет реакционную способность атомов азота: два атома азота, чьи неподеленные электронные пары локализованы на "выпуклой" стороне молекулы, являются более сильными нуклеофилами. Кроме того, селективность моноалкилирования бисаминалей **14** *para*-ксилилендибромидом в  $\text{MeCN}$  обеспечивается моментальным осаждением бисчетвертичной аммониевой соли **15** в момент образования. Для удаления глиоксалевого защитного остатка использовали избыток гидроксиламина. Плериксафор **1** был получен с высоким суммарным выходом в форме октагидрохлорида.

Аналогичная стратегия использования бисаминалей для синтеза бистетраазамакроциклов была предложена Гиляром с сотр.<sup>20</sup> В отличие от вышеописанных методов, в качестве исходного субстрата вместо дорогого циклама **2** выступал более доступный ациклический тетраамин **16**. Его конденсация с пировиноградным альдегидом приводила к трициклическому бисаминалю, циклизация которого с 1,3-дибромпропаном формировала тетрациклическое производное циклама **17** (схема 11). Последующее алкилирование *para*-ксилилендибромидом в условиях реакции Финкельштейна вело к образованию бисчетвертичной аммониевой соли **18**. Следует отметить, что алкилирование протекало селективно по атому азота, расположенному на "выпуклой" стороне молекулы и связанному с несущим метильную группу атомом углерода аминального мостика. Другой атом азота, соединенный с третичным атомом углерода, не реагирует, так как частично

Схема 11

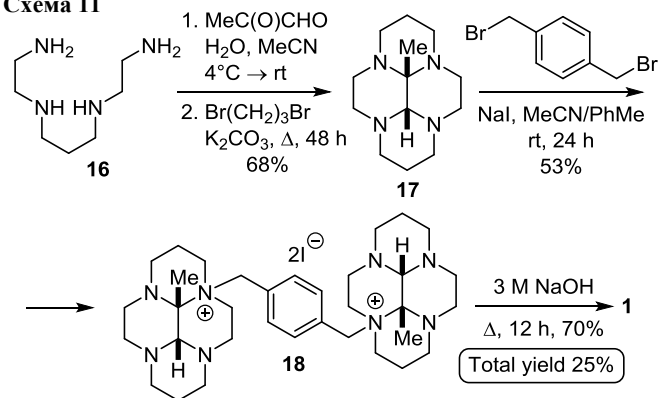


Схема 12

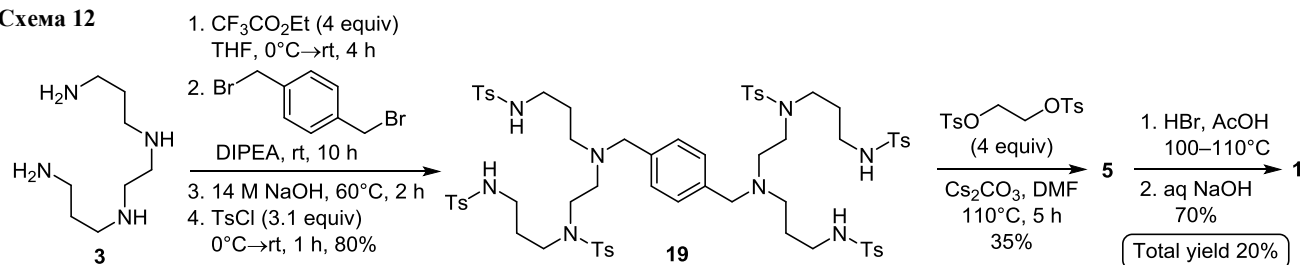
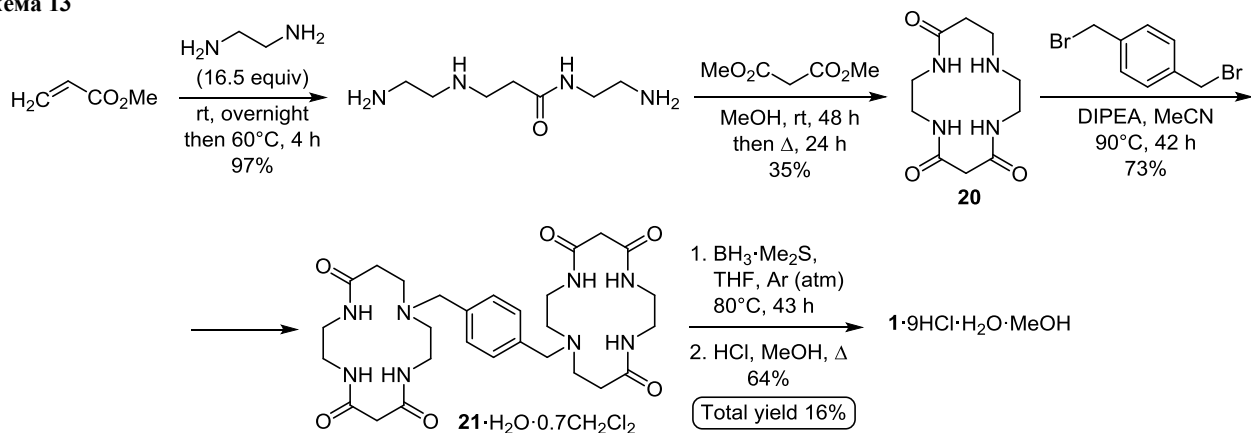


Схема 13



заслонен метильной группой. Удаление бисамиальной защиты, завершающее синтез целевого продукта **1**, достигалось действием водной щелочи без использования гидроксиламина.

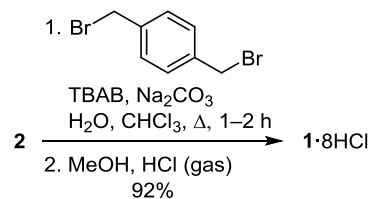
Родственный ациклический тетраамин **3** также выступал в качестве исходного субстрата в синтезе плериксафора **1**.<sup>21</sup> При обработке амина **3**  $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{Et}$  (4 экв.) был получен защищенный по двум первичным и одному вторичному атомам азота продукт, алкилирование которого *para*-ксилилендибромидом с удалением трифторацетильных групп действием водной щелочи и введением тозилых защитных групп сформировали гексазащищенный интермедиат **19** (схема 12). Все четыре стадии были проведены однореакторным методом. В результате реакции интермедиата **19** с избытком дитозилата этиленгликоля в присутствии  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  был получен бисмакроцикл **5**. Удаление защитных групп и щелочная обработка октагидробромида завершили синтез целевого продукта **1** в форме свободного основания.

Предложенный Хегедусом и Ахматовичем элегантный четырехстадийный синтез позволил получить плериксафор **1** без использования дорогостоящего циклама **2** и защитных групп из легкодоступных метилакрилата, этилендиамина и диметилмалоната.<sup>22</sup> Ключевой триоксоциклам **20**, содержащий только одну свободную аминогруппу, был алкилирован *para*-ксилилендибромидом (схема 13). Целевой продукт **1** был получен в форме сольвата после восстановления шести амидных функций в соединении **21** до аминов и обработки метанольным раствором HCl. Показано, что эта методика применима для синтеза плериксафора в мультиграммовых количествах и является эффек-

тивной альтернативой существующим стратегиям с использованием защитных групп.

Наконец, в недавней работе был представлен одностадийный синтез плериксафора **1** с высоким выходом.<sup>6</sup> Циклам **2** алкилировали *para*-ксилилендибромидом в условиях межфазного катализа с использованием ТВАВ (схема 14). Авторы утверждают, что этот метод не только исключает стадии введения и удаления защитных групп, но и позволяет получать целевой продукт **1** в форме октагидробромида в мультиграммовых количествах с чистотой 99.6%, а следовательно, является наиболее эффективным способом получения плериксафора **1**. К сожалению, нам не удалось воспроизвести результаты, сообщенные в этой работе.

Схема 14



Таким образом, к настоящему времени предложено довольно много оригинальных методов синтеза плериксафора. Подавляющее большинство существующих стратегий требуют защиты исходного циклама по трем атомам азота. Получают развитие и более экономичные однореакторные методологии, а также стратегии, исключающие использование защитных групп и, как следствие, сокращающие количество синтетических стадий и тем самым приводящие к уменьшению себестоимости продукта. Высокая стои-

мость противоопухолевой терапии с применением плериксафора и приближающееся окончание действия ограничений оригинального патента стимулируют дальнейшие исследования в этой области.

#### Список литературы

1. Grande, F.; Giancotti, G.; Ioele, G.; Occhiuzzi, M. A.; Garofalo, A. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, 139, 519.
2. Peng, D.; Cao, B.; Zhou, Y.-J.; Long, Y.-Q. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, 149, 148.
3. Bridger, G. J.; Abrams, M. J.; Henson, G. W.; Macfarland, R. T.; Calandra, G. B. WO Patent 2003011277A2.
4. De Clercq, E. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2003**, 2, 581.
5. De Clercq, E. *Antiviral Chem. Chemother.* **2019**, 27. <https://doi.org/10.1177/2040206619829382>.
6. Narayana, P. V.; Seelam, N.; Prasanna, B. *Org. Prep. Proced. Int.* **2018**, 50, 588.
7. Ciampolini, M.; Fabbri, L.; Perotti, A.; Poggi, A.; Seghi, B.; Zanobini, F. *Inorg. Chem.* **1987**, 26, 3527.
8. Buttafava, A.; Fabbri, L.; Perotti, A.; Poggi, A.; Poli, G.; Seghi, B. *Inorg. Chem.* **1986**, 25, 1456.
9. Bridger, G. J.; Skerlj, R. T.; Thornton, D.; Padmanabhan, S.; Martellucci, S. A.; Henson, G. W.; Abrams, M. J.; Yamamoto, N.; De Vreese, K.; Pauwels, R.; De Clercq, E. *J. Med. Chem.* **1995**, 38, 366.
10. Brandès, S.; Gros, C.; Denat, F.; Pullumbi, P.; Guillard, R. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1996**, 133, 65.
11. Dessolin, J.; Galea, P.; Vlieghe, P.; Chermann, J.-C.; Kraus, J.-L. *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 229.
12. Yang, W.; Giandomenico, C. M.; Sartori, M.; Moore, D. A. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 2481.
13. Jacobson, O.; Weiss, I. D.; Szajek, L.; Farber, J. M.; Kiesewetter, D. O. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, 17, 1486.
14. Yaouanc, J.-J.; Le Bris, N.; Le Gall, G.; Clement, J.-C.; Handel, H.; des Abbayes, H. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1991**, 206.
15. Filali, A.; Yaouanc, J.-J.; Handel, H. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1991**, 30, 560.
16. Bernard, H.; Yaouanc, J.-J.; Clément, J. C.; des Abbayes, H.; Handel, H. *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 639.
17. Gardinier, I.; Roignant, A.; Oget, N.; Bernard, H.; Yaouanc, J. J.; Handel, H. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 7711.
18. Guillaume, D.; Marshall, G. R. *Synth. Commun.* **1998**, 28, 2903.
19. Le Baccon, M.; Chuburu, F.; Toupet, L.; Handel, H.; Soibinet, M.; Déchamps-Olivier, I.; Barbier, J.-P.; Aplincourt, M. *New J. Chem.* **2001**, 25, 1168.
20. Boschetti, F.; Denat, F.; Espinosa, E.; Tabard, A.; Dory, Y.; Guillard, R. *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 7042.
21. Xu, D.; Mattner, P. G.; Prasad, K.; Repic, O.; Blacklock, T. J. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 5301.
22. Achmatowicz, M.; Hegedus, L. S. *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 6435.