利非斯特有关物质的合成

蒋港龙[1,2]，张晓雯[1,2]，孟冬朔[1,2]，刁文爽[1,2]，刘　育[1,2]*
（1. 中国医药工业研究总院有限公司，上海医药工业研究总院有限公司，科技成果转化中心，上海 201203；
2. 上海制药工艺工程研究中心，上海 201203）

摘要：为优化利非斯特（**1**）原料药的质量控制，基于原研工艺合成了 5 个工艺杂质，分别是（*S*）-2- 氨基 -3-［3-（甲磺酰基）-苯基］丙酸盐酸盐（有关物质 A）、5,7- 二氯 -1,2,3,4- 四氢异喹啉 -2,6- 二羧酸 -6-（3*H*-［1,2,3］噻唑并［4,5-*b*］吡啶 -3- 基）-酯 -2-（叔丁基）酯（有关物质 B）、（*S*）-2-（5,7- 二氯 -1,2,3,4- 四氢异喹啉 -6- 甲酰胺基）-3-［3-（甲磺酰基）苯基］丙酸乙酯盐酸盐（有关物质 C）、（*S*）-2-（5,7- 二氯 -1,2,3,4- 四氢异喹啉 -6- 甲酰胺基）-3-［3-（甲磺酰基）苯基］丙酸盐酸盐（有关物质 D）及 2-（苯并呋喃 -6- 羰基）-5,7- 二氯 -1,2,3,4- 四氢异喹啉 -6- 甲酸（有关物质 E），其中有关物质 B 与有关物质 C 未见文献报道。另外，合成了对映异构体（*R*）-**1**，过程中得到 7 个对应的异构体中间体，可作为 **1** 原料药质量控制的杂质对照品。

关键词：利非斯特；有关物质；对映异构体；合成
中图分类号：R988.1　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1001-8255(2023)10-1442-08
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2023.10.007

Synthesis of the Related Substances of Lifitegrast

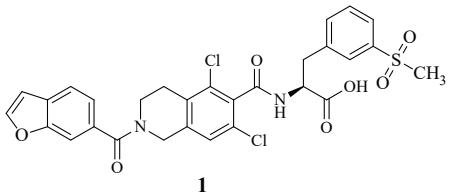
JIANG Ganglong[1,2], ZHANG Xiaowen[1,2], MENG Dongshuo[1,2], DIAO Wenshuang[1,2], LIU Yu[1,2]*
(*1. Incubation Center of S&T Achievements, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry Co., Ltd., China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203; 2. Shanghai Engineering Research Center of Pharmaceutical Process, Shanghai 201203*)

ABSTRACT: To perform the quality control of lifitegrast(**1**), five process impurities were prepared. These substances were (*S*)-2-amino-3-[3-(methylsulfonyl)phenyl]propanoic acid hydrochloride(related substance A), 6-(3*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*b*]pyridin-3-yl)-2-(*tert*-butyl) 5,7-dichloro-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-2,6-dicarboxylate(related substance B), ethyl (*S*)-2-(5,7-dichloro-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-6-carboxamido)-3-[3-(methylsulfonyl)phenyl]-propanoate hydrochloride(related substance C), (*S*)-2-(5,7-dichloro-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-6-carboxamido)-3-[3-(methylsulfonyl)phenyl]propanoic acid hydrochloride(related substance D), 2-(benzofuran-6-carbonyl)-5,7-dichloro-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-6-carboxylic acid(related substance E). The related substances B and C had not been reported in the literature. Meanwhile, seven corresponding isomeric intermediates were synthesized in the preparation of (*R*)-**1**. They could be used as the reference substances for the quality control of **1**.

Key Words: lifitegrast; related substance; enantiomeric isomer; synthesis

利非斯特（lifitegrast，**1**，结构如图 1 所示），又称立他司特，化学名为（*S*）-2-［2-（苯并呋喃 -6- 羰基）-5,7- 二氯 -1,2,3,4- 四氢异喹啉 -6- 甲酰胺基］-3-［3-（甲磺酰基）苯基］丙酸，其滴眼液由 Shire 公司（商品名为 Xiidra®）研发并于 2016 年 7 月在美国上市，是近 10 年来首个用于治疗干眼病的淋巴细胞功能相关抗原 1(lymphocyte function associated antigen-1，LFA-1) 拮抗药，同时也是 FDA 批准治疗干眼症的唯一处方药。**1** 已在全球多个国家上市[1—11]，包括美国、加拿大和澳大利亚，但在中国仍未获批准。本研究对 **1** 的有关物质进行制备，为

收稿日期：2023-07-17
作者简介：蒋港龙(1997—)，男，硕士，从事药物合成的研究。
通信作者：刘　育(1981—)，男，研究员，从事创新药物及药物合成工艺研究。
E-mail：liuyu_tianjin@163.com



1

图 1　1 的化学结构式

Fig.1　Chemical Structure of **1**

其质量控制提供对照品。

目前，**1** 的原料药以及制剂的质量标准尚未被药典收录。2021 年，张欣等[12]报道采用色谱 - 质谱法分析其原料药的强制降解产物，但未进行有关物质的合成。**1** 的合成路线主要有 2 条，原研路线[2,4]以 (*S*)-3- 溴苯丙氨酸 (**3**) 为原料，经保护氨基、砜基化反应、缩合反应、脱 Boc 保护基、缩合反应、还原氢化等 8 步反应得到 **1**[图 2，反应条件如下：a. $NaHCO_3$，Boc_2O；b. $MeSO_2Na$，CuI，L- 脯氨酸，K_2CO_3，DMSO；c. 苯甲醇，1- 乙基 -(3- 二甲基氨基丙基）碳二亚胺盐酸盐（EDCl），4- 二甲胺基吡啶（DMAP）；d. HCl/ 二噁烷；e. 2-(7- 氮杂苯并三氮唑）-*N*,*N*,*N*',*N*'- 四甲基脲六氟磷酸酯（HATU），TEA，*N*,*N*- 二甲基甲酰胺（DMF）；f. 氯化亚砜、DMF，*N*,*N*- 二异丙基乙胺（DIPEA）、DCM；h. K_2CO_3 溶液，MeOH；i. HCl 的 EA 溶液]。

在合成关键中间体 (*S*)-2- 氨基 -3-[3-(甲磺酰基）苯基] 丙酸苄酯盐酸盐 (**2**) 以及目标终产物 **1** 的过程中，还发现以下有关物质：(*S*)-2- 氨基 -3-[3-(甲磺酰基）苯基] 丙酸盐酸盐（有关物质 A）、5,7- 二氯 -1,2,3,4- 四氢异喹啉 -2,6- 二羧酸 -6-(3*H*-[1,2,3] 噻唑并 [4,5-*b*] 吡啶 -3- 基）酯 -2-(叔丁基)-

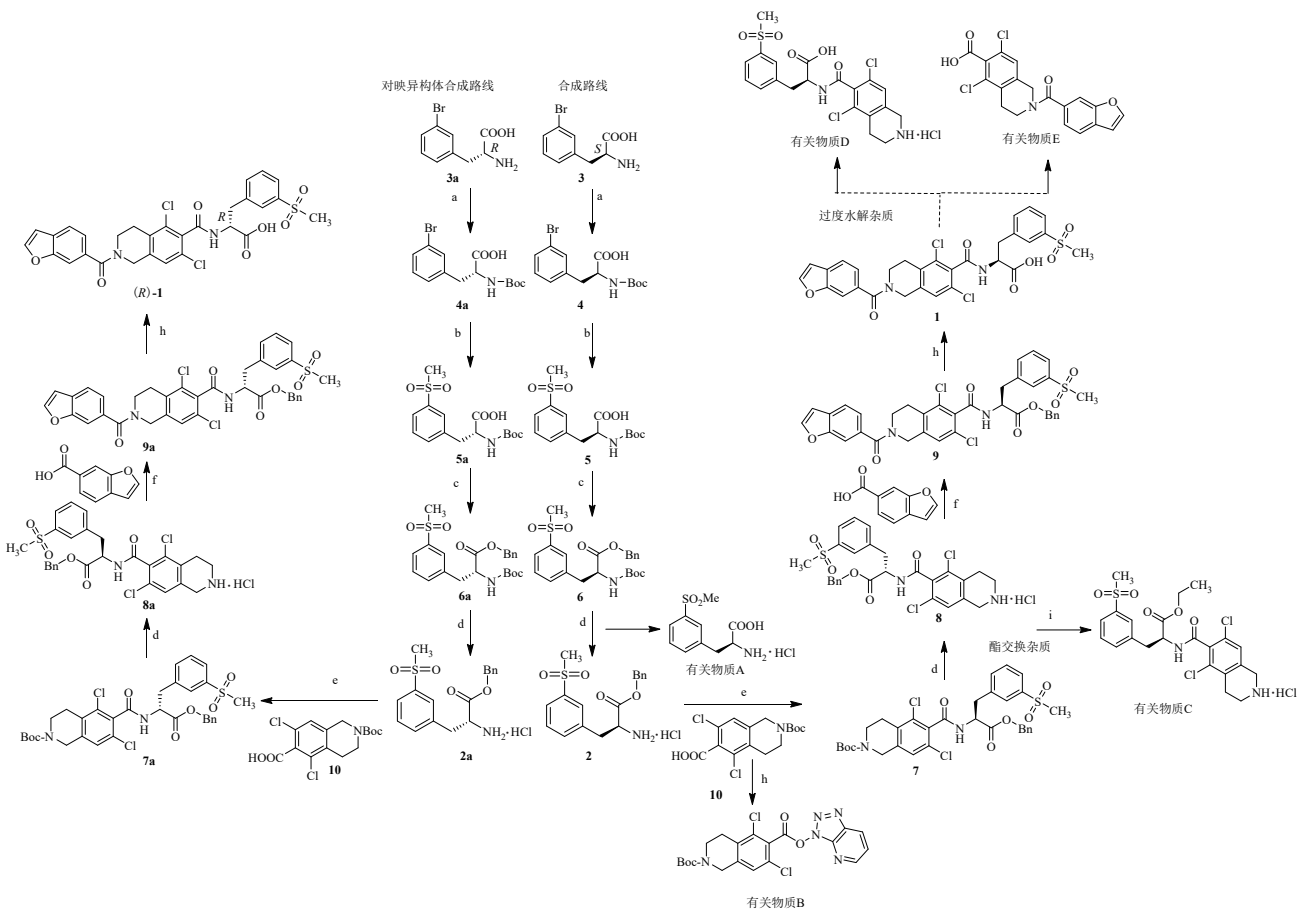


图 2　1 的合成及相关工艺杂质

Fig.2　Synthesis of **1** and Its Related Process Impurities

酯（有关物质 B）、（*S*）-2-（5,7- 二氯 -1,2,3,4- 四氢异喹啉 -6- 甲酰胺基）-3-［3-（甲磺酰基）苯基］丙酸乙酯盐酸盐（有关物质 C）、（*S*）-2-（5,7- 二氯 -1,2,3,4- 四氢异喹啉 -6- 甲酰胺基）-3-［3-（甲磺酰基）苯基］丙酸盐酸盐（有关物质 D）及 2-（苯并呋喃 -6- 羰基）-5,7- 二氯 -1,2,3,4- 四氢异喹啉 -6- 甲酸（有关物质 E），其中有关物质 B、C 未见文献报道。

有关物质 A，可能是由于（*S*）-2-［（叔丁氧羰基）-胺基］-3-［3-（甲基磺酰基）苯基］丙酸（**5**）与苄醇缩合时反应不完全，在产物 **6** 脱除 Boc 基团时，剩余的 **5** 也脱除 Boc 基团，生成有关物质 A。本研究以化合物 **5** 为原料，脱 Boc 保护基得有关物质 A（图 3）。

有关物质 B，可能是化合物 **7** 的中间态产物。由 **2** 生成 **7** 的反应中，2-（叔丁氧基羰基）-5,7- 二氯 -1,2,3,4- 四氢异喹啉 -6- 甲酸（**10**）的羰基活性有限，无法在碱性条件下与化合物 **2** 缩合得到化合物 **7**，因此需要用缩合剂 HATU 进行活化。经检测，该步反应产物中发现了有关物质 B。本研究参考文献 [4]，以三乙胺做缚酸剂，以 **10** 为原料，与 HATU 缩合制得有关物质 B（图 3）。

有关物质 C，可能是在由 **7** 生成 **8** 的过程中，化合物 **8** 在酸性加热条件下与乙酸乙酯发生酯交换，产生有关物质 C。本研究以 **10** 和（*S*）-2- 氨基 -3-［3-（甲基磺酰基）苯基］丙酸乙酯盐酸盐（**11**）为原料，经 HATU 缩合得到有关物质 C（图 3）。

本研究通过碱性强制降解试验得到有关物质 D、E。在强碱条件下 **1** 会彻底降解，并未得到有关物质 D、E。而通过对碱性强弱的控制，使 **1** 部分的酰胺键断裂，分别得到有关物质 D、E。因此，本研究根据 D、E 的结构，分别设计合成路线 [4]（图 3）。以 **10** 为原料，与 HATU 缩合生成有关物质 B，B 与 **13** 缩合制得有关物质 D；有关物质 E 的合成，将苯并呋喃 -6- 羧酸（**12**）使用氯化亚砜制备成苯并呋喃 -6- 酰氯后，在碱性条件下与化合物 **10** 发生酰胺缩合得到有关物质 E。

由于目标产物 **1** 为 *S* 构型，为了更好地控制关键中间体 **2** 以及 **1** 的质量，本研究以原研工艺路线中起始物料的对映异构体（*R*）-3- 溴 - 苯丙氨酸（**3a**）为原料，经原研路线的 8 步反应，过程中相应得到

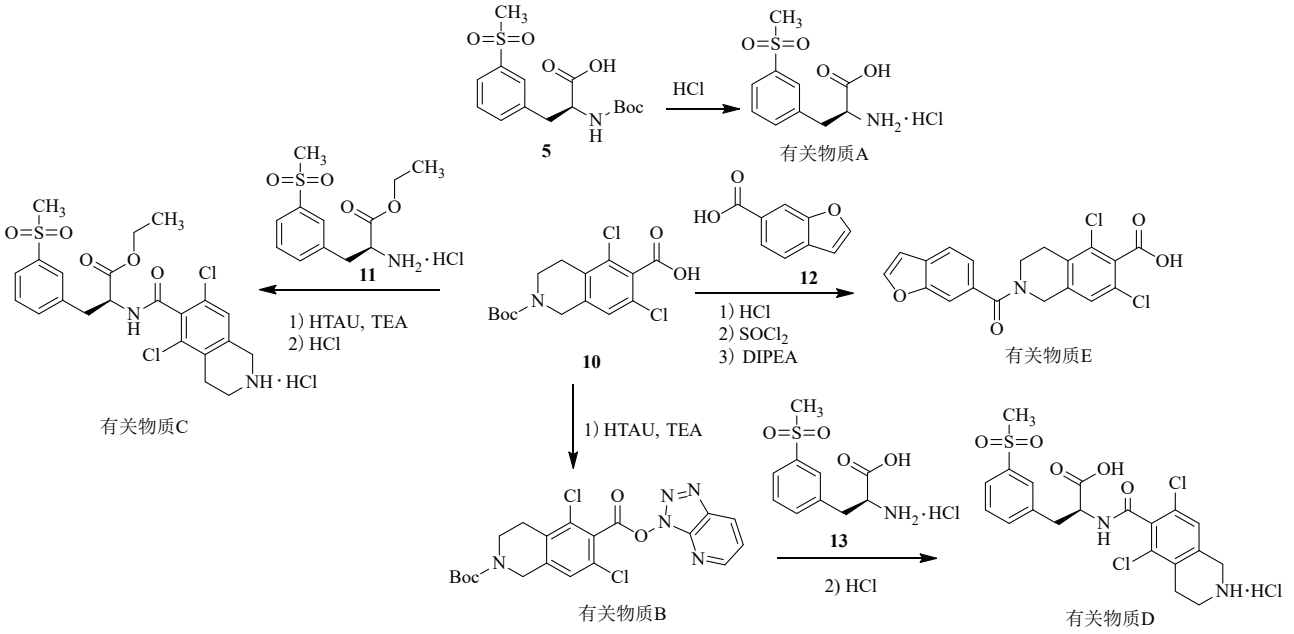


图 3　有关物质 A ～ E 的合成路线

Fig.3　Synthetic Routes of Related Substances A－E

7 个 *R* 构型的对映异构体中间体（图 2），终产品（*R*）**-1** 纯度大于 99.5%，*ee* 值大于 96.8%。

实验部分

（*S*）-2- 氨基 -3-［3-（甲磺酰基）苯基］丙酸盐酸盐（有关物质 A）

将 **5**（参考文献[4]自制，4.0 g，11.65 mmol）和二噁烷（10 mL）加至 100 mL 三口烧瓶中，搅拌下滴加 4.0 mol/L 盐酸的二噁烷溶液（11.60 mL），冰浴搅拌 4 h，白色固体析出后过滤，滤饼用二噁烷（20 mL×2）洗涤，于 50 ℃干燥后得白色粉末有关物质 A（3.1 g，95.14%）。纯度为 95.61%［HPLC 归一化法：色谱柱 Welch Ultimate XB-C_{18} 柱（4.6 mm×250 mm，4.5 μm）；流动相 A 为乙腈，B 为 0.05% 三氟乙酸溶液，梯度洗脱（0—50 min，B 80%—10%；50—51 min，B 10%—80%；51—60 min，B 80%）；柱温 30 ℃；检测波长 220 nm；流速 1.0 mL/min。相对保留时间 0.29］。mp 264.3 ～ 266.1 ℃。^{1}H NMR（600 MHz, DMSO-d_6）δ: 8.61（s, 2H）, 7.89（s, 1H）, 7.84（d, *J*=7.7 Hz, 1H）, 7.67（d, *J*=7.7 Hz, 1H）, 7.62（t, *J*=7.7 Hz, 1H）, 4.25（s, 1H）, 3.31（dd, *J*=20.7、7.8 Hz, 2H）, 3.21（s, 3H）；ESI-MS（*m*/*z*）: 243.90［M+H］$^+$。

5,7- 二氯 -1,2,3,4- 四氢异喹啉 -2,6- 二羧酸 -6-（3*H*-［1,2,3］噻唑并［4,5-*b*］吡啶 -3- 基）酯 -2-（叔丁基）酯（有关物质 B）

依次将 **10**（上海华默西医药科技有限公司，4.0 g，11.55 mmol）、HATU（4.40 g，11.55 mmol）、三乙胺（5.85 g）和 DMF（45 mL）加至 100 mL 三口烧瓶中，搅拌 30 min 后加水（100 mL），用乙酸乙酯（100 mL）萃取，有机相用饱和氯化钠溶液（100 mL×2）洗涤，再经无水硫酸钠干燥后减压浓缩，得白色固体有关物质 B（7.58 g，99.16%），纯度为 95.32%（HPLC 条件同有关物质 A，相对保留时间 1.90）。mp 169.8 ～ 172.5 ℃。^{1}H NMR（600 MHz, DMSO-d_6）δ: 8.94（dd, *J*=4.5、1.3 Hz, 1H）, 8.75 ～ 8.82（m, 1H）, 7.79（s, 1H）, 7.72（dd, *J*=8.4、4.5 Hz, 1H）, 4.67（s, 2H）, 3.67（t, *J*=5.7 Hz, 2H）, 2.87（t, *J*=5.9 Hz, 2H）, 1.45（s, 9H）；ESI-MS（*m*/*z*）: 486.07［M+Na］$^+$。

（*S*）-2-（5,7- 二氯 -1,2,3,4- 四氢异喹啉 -6- 甲酰胺基）-3-［3-（甲磺酰基）苯基］丙酸乙酯盐酸盐（有关物质 C）

依次将化合物 **10**（4.0 g，11.55 mmol）、HATU（4.39 g）、三乙胺（4.68 g）和 DMF（50 mL）加至 100 mL 三口烧瓶中，搅拌 10 min，加入 **11**（上海华默西医药科技有限公司，3.91 g，12.70 mmol），反应 5 h，加水（20 mL），用乙酸乙酯（100 mL）萃取，有机相依次用 10% 枸橼酸水溶液（50 mL×2）、1 mol/L 氢氧化钠溶液（50 mL）洗涤，经无水硫酸钠干燥后减压浓缩，得到灰色固体（5.82 g）。将该固体溶于二噁烷（10 mL）中，滴加 4.0 mol/L 的盐酸二噁烷溶液（11.5 mL）。冰浴搅拌 3 h，有固体析出。过滤，滤饼用二噁烷（20 mL×2）洗涤，50 ℃干燥得白色固体有关物质 C（4.8 g，77.53%），纯度为 99.81%（HPLC 条件同有关物质 A，相对保留时间 0.56）。mp 207.5 ～ 210.8 ℃。^{1}H NMR（600 MHz, DMSO-d_6）δ: 9.18（d, *J*=8.1 Hz, 1H）, 7.87（s, 1H）, 7.78（d, *J*=7.8 Hz, 1H）, 7.68（d, *J*=7.7 Hz, 1H）, 7.57（t, *J*=7.7 Hz, 1H）, 7.30（s, 1H）, 4.83（ddd, *J*=10.3、8.2、5.1 Hz, 1H）, 4.10 ～ 4.17（m, 2H）, 4.06（s, 2H）, 3.29（dd, *J*=14.1、5.0 Hz, 1H）, 3.18（dd, *J*=11.2、5.1 Hz, 2H）, 3.16（s, 3H）, 3.06（dd, *J*=14.1、10.4 Hz, 1H）, 2.72（s, 2H）, 1.91（s, 1H）, 1.19（t, *J*=7.1 Hz, 3H）；ESI-MS（*m*/*z*）: 499.00［M+H］$^+$。

（*S*）-2-（5,7- 二氯 -1,2,3,4- 四氢异喹啉 -6- 甲酰胺基）-3-［3-（甲磺酰基）苯基］丙酸盐酸盐（有关物质 D）

依次将化合物 **10**（2.0 g，5.78 mmol）、HATU（2.20 g）、三乙胺（4.13 g）和 DMF（20 mL）加至 50 mL 烧瓶中，搅拌 10 min，加入 **13**（1.78 g，6.35 mmol），继续搅拌 3 h。反应完毕后加水（20 mL），用乙酸乙酯（100 mL）萃取，有机相用饱和氯化钠溶液（50 mL×2）洗涤，再经无水硫酸钠干燥后减压浓缩得到深棕色油状物。将该油状物溶于二噁烷（10 mL）中，滴加 4.0 mol/L 的盐酸二噁烷溶液（6.5 mL），冰浴搅拌 4 h，有固体析出。过滤，滤饼用二噁烷（20 mL×2）洗涤后于 45 ℃干燥得白

色固体有关物质 D(2.53 g，86.24％)，纯度为 96.47％（HPLC 条件同有关物质 A，相对保留时间 0.32）。mp 182.5 ～ 183.8 ℃。^{1}H NMR(600 MHz, DMSO-d_6) δ: 8.96(d, *J*=8.0 Hz, 1H), 7.87(s, 1H), 7.76(d, *J*=7.8 Hz, 1H), 7.68(d, *J*=7.7 Hz, 1H), 7.57(t, *J*=7.7 Hz, 1H), 7.38(s, 1H), 4.73(td, *J*=9.5、4.7 Hz, 1H), 4.20(s, 2H), 3.31(t, *J*=5.6 Hz, 2H), 3.17(s, 1H), 3.15(s, 3H), 3.03(dd, *J*=14.0、10.0 Hz, 1H), 2.87(s, 2H), 1.91(s, 1H)；ESI-MS(*m/z*): 471.81[M+H]$^+$。

2-（苯并呋喃 -6- 羰基）-5,7- 二氯 -1,2,3,4- 四氢异喹啉 -6- 甲酸（有关物质 E）

在 0 ℃和 N_2 保护下中，将 **12**（上海乐研医药股份有限公司，0.95 g，5.84 mmol）溶于二氯甲烷（5 mL）中，并加入催化量 DMF。冰浴条件下滴加氯化亚砜（0.5 mL），室温搅拌 2 h。反应液于 45 ℃减压浓缩，浓缩物溶于二氯甲烷（10 mL）并在 N_2 中保存，备用。

室温、N_2 保护条件下，将化合物 **10**(1.5 g, 5.31 mmol) 溶于二氯甲烷（10 mL）中，并加入 DIPEA（3.43 g）的二氯甲烷溶液（20 mL），0 ℃搅拌下缓慢加入上述含化合物 **12** 的备用液（10 mL，5.84 mmol），室温反应 0.5 h 后，用冰水淬灭。经乙酸乙酯（30 mL）萃取，有机相用饱和氯化钠溶液（20 mL）洗涤，再经无水硫酸钠干燥后减压浓缩，得白色固体有关物质 E(1.82 g，87.85％)，纯度为 97.35％（HPLC 条件同有关物质 A，有机相用相对保留时间 1.05）。mp 283.1 ～ 285.4 ℃。^{1}H NMR(600 MHz, DMSO-d_6) δ: 8.12(d, *J*=2.2 Hz, 1H), 7.75(d, *J*=8.0 Hz, 2H), 7.42 ～ 7.59(m, 1H), 7.36(d, *J*=4.9 Hz, 1H), 7.00 ～ 7.10(m, 1H), 4.74(d, *J*=5.4 Hz, 2H), 3.58(m, 2H), 2.85(t, *J*=5.5 Hz, 2H)；ESI-MS(*m/z*): 389.82[M+H]$^+$。

（*R*）-3-[（3- 溴苯基）-2-（叔丁氧羰基）胺基]- 丙酸（4a）

将 **3a**(12.5 g，51.25 mmol)、二噁烷（100 mL）加至 250 mL 三口烧瓶中，搅拌 10 min。将碳酸氢钠（12.8 g）溶于水（100 mL）中，缓慢滴加至三口烧瓶中，滴毕室温搅拌 10 min。再缓慢滴加二碳酸二叔丁酯（12.5 g，56.38 mmol），室温反应 3 h，TLC[展开剂：二氯甲烷和甲醇（体积比 5 ∶ 1)] 跟踪反应。反应液于 45 ℃减压蒸除溶剂，加水（50 mL），然后用饱和枸橼酸溶液调至 pH 2，经二氯甲烷（200 mL）萃取，有机相用饱和氯化钠溶液（200 mL×2）洗涤，减压蒸除溶剂得无色油状物，加石油醚（300 mL）搅拌得白色固体，抽滤，滤饼用石油醚（50 mL×2）洗涤、烘干，得白色固体 **4a**(16.83 g，95.48 ％)，mp 126.8 ～ 128.4 ℃。纯度为 99.21％[HPLC 归一化法：色谱柱 Welch Ultimate XB C_{18} 柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相 A 为乙腈，B 为 0.05％三氟乙酸溶液，梯度洗脱（0—50 min，B 80％—10％；50—51 min，B 10％—80％；51—60 min，B 80％）；流速 1.0 mL/min；检测波长 220 nm；柱温 30 ℃。相对保留时间 0.89]。[α]$_D^{20}$ 14.0°（*c* 1，MeOH）。^{1}H NMR(400 MHz, DMSO-d_6) δ: 12.66(s, 1H), 7.44(d, *J*=8.9 Hz, 1H), 7.39(dt, *J*=8.1、3.0 Hz, 1H), 7.25(d, *J*=6.4 Hz, 2H), 7.13(d, *J*=8.5 Hz, 1H), 4.06 ～ 4.13(m, 1H), 3.03(dd, *J*=13.8、4.3 Hz, 1H), 2.80(dd, *J*=13.7、10.7 Hz, 1H), 1.32(s, 9H)；ESI-MS(*m/z*): 366.03[M+23]$^+$。

（*R*）-2-[（叔丁氧羰基）胺基]-3-[3-（甲磺酰基）苯基]丙酸（5a）

室温、N_2 保护条件下，依次将化合物 **4a**(15 g, 43.61 mmol)、L- 脯氨酸（8.10 g）、碘化亚铜（6.63 g）、甲基磺酸钠（17.35 g，170.10 mmol）、碳酸钾（3.10 g）以及二甲基亚砜（120 mL）加至 250 mL 三口烧瓶中，于 105 ℃搅拌 4 h，TLC[展开剂：二氯甲烷和甲醇（体积比 20 ∶ 1)] 跟踪反应。降至室温，加水（200 mL），用饱和枸橼酸水溶液调至 pH 2，有固体析出，过滤，滤饼用二氯甲烷（20 mL×2）洗涤，分液，用二氯甲烷（200 mL）萃取，有机相用饱和氯化钠溶液（200 mL）洗涤，经无水硫酸钠干燥后减压蒸除溶剂，得金黄色油状物 **5a**(14.67 g, 98.03％)，纯度为 98.10％（HPLC 条件同化合物 **4a**，相对保留时间 0.75）。mp 128.1 ～ 132.7 ℃。[α]$_D^{20}$ 8.9°（*c* 1，MeOH）。^{1}H NMR(400 MHz, DMSO-d_6) δ: 12.70(s, 1H), 7.80 ～ 7.86(m, 1H),

7.77(d, *J*=7.5 Hz, 1H), 7.60(dd, *J*=15.9、7.6 Hz, 2H), 7.20(d, *J*=8.5 Hz, 1H), 4.16(td, *J*=10.4、4.5 Hz, 1H), 3.33(s, 1H), 3.18(s, 3H), 2.94(dd, *J*=13.7、10.6 Hz, 1H), 1.30(s, 9H)；ESI-MS(*m*/*z*): 244.20[M－Boc]$^+$。

(*R*)-2-[(叔丁氧羰基)胺基]-3-[3-(甲磺酰基)苯基]丙酸苄酯(6a)

室温条件下，将化合物**5a**(11 g，32.04 mmol)、DMAP(0.40 g)、EDCl(上海乐研医药股份有限公司，6.15 g)和二氯甲烷(40 mL)加至250 mL三口烧瓶中，搅拌均匀后滴加苯甲醇(3.81 g，35.24 mmol)，滴毕搅拌3 h，TLC[展开剂：二氯甲烷和甲醇(体积比10∶1)]跟踪反应，加水(40 mL)，用饱和枸橼酸溶液调至pH 2，用二氯甲烷(100 mL)萃取，有机相依次用5%碳酸氢钠溶液(100 mL)、饱和氯化钠溶液(100 mL)洗涤，经无水硫酸钠干燥后减压蒸除溶剂，得黄色油状物**6a**(11.40 g，95.81%)。纯度为94.56%(HPLC条件同化合物**4a**，相对保留时间1.18)。$[\alpha]_D^{20}$ 7.1°(*c* 1，MeOH)。^{1}H NMR(600 MHz, DMSO-d_6) δ: 7.84(s, 1H), 7.78(d, *J*=7.7 Hz, 1H), 7.61(d, *J*=7.6 Hz, 1H), 7.56(t, *J*=7.7 Hz, 1H), 7.45(d, *J*=8.1 Hz, 1H), 7.35(dd, *J*=14.9、7.6 Hz, 3H), 7.20～7.24(m, 1H), 5.12(s, 2H), 4.27～4.36(m, 1H), 3.17～3.19(m, 1H), 3.16(s, 3H), 3.01(dt, *J*=19.4、9.7 Hz, 1H), 1.31(s, 9H)；ESI-MS(*m*/*z*): 333.99[M－Boc]$^+$。

(*R*)-2-氨基-3-[3-(甲磺酰基)苯基]丙酸苄酯盐酸盐(2a)

室温下，将**4a**(12 g，27.68 mmol)溶于二氯甲烷(30 mL)中，冰浴搅拌15 min，于0 ℃加入4.0 mol/L的盐酸二噁烷溶液(30 mL)，反应5 h。过滤，滤饼用二氯甲烷(20 mL)洗涤后于45 ℃减压干燥，得白色粉末**2a**(9.78 g，95.53%)，纯度为97.37%(HPLC条件同化合物**4a**，相对保留时间0.53)。mp 158.4～159.8 ℃。$[\alpha]_D^{25}$ 2.6°(*c* 1，MeOH)。^{1}H NMR(400 MHz, DMSO-d_6) δ: 8.64(s, 3H), 7.89(s, 1H), 7.83(dt, *J*=6.2、2.8 Hz, 1H), 7.57(t, *J*=6.4 Hz, 2H), 7.33～7.41(m, 3H), 7.24～7.30(m, 2H), 5.16(q, *J*=12.4 Hz, 2H), 4.44(t, *J*=6.8 Hz, 1H), 3.33(s, 1H), 3.23～3.29(m, 1H), 3.16(s, 3H)；ESI-MS(*m*/*z*): 334.11[M+H]$^+$。

(*R*)-6-[[1-(苄氧基)-3-[3-(甲磺酰基)苯基]-1-氧代丙-2-基]胺基甲酰基]-5,7-二氯-3,4-二氢异喹啉-2(1*H*)-羧酸叔丁酯(7a)

室温下，将化合物**10**(上海华默西医药科技有限公司，4 g，11.55 mmol)、HATU(4.40 g)、DMF(30 mL)加至100 mL三口烧瓶中，搅拌30 min，缓慢滴加TEA(5.85 g)，滴加搅拌10 min，TLC[展开剂：石油醚和乙酸乙酯(体积比10∶1)]跟踪反应，滴加化合物**2a**(4.49 g，12.13 mmol)的DMF溶液(30 mL)，滴毕搅拌5 h。加水(40 mL)，用饱和枸橼酸水溶液调至pH 2，再用乙酸乙酯(100 mL)萃取，有机相依次用10%枸橼酸水溶液(100 mL×2)、5%碳酸氢钠溶液(100 mL)、饱和氯化钠溶液(100 mL×2)洗涤，经无水硫酸钠干燥后减压蒸除溶剂，得金色油状物**7a**(7.10 g，92.88%)，纯度为96.34%(HPLC条件同化合物**4a**，相对保留时间1.69)。$[\alpha]_D^{20}$ 8.0°(*c* 1，MeOH)。^{1}H NMR(600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.76(s, 1H), 7.71(d, *J*=7.5 Hz, 1H), 7.36(dd, *J*=15.2、7.6 Hz, 2H), 7.30(t, *J*=6.0 Hz, 3H), 7.25(dd, *J*=7.3、1.9 Hz, 2H), 6.99(s, 1H), 5.20(dd, *J*=13.8、6.4 Hz, 1H), 5.11(q, *J*=12.0 Hz, 2H), 4.44(s, 2H), 3.55(d, *J*=5.7 Hz, 2H), 3.33(dd, *J*=14.2、5.7 Hz, 1H), 3.20(dd, *J*=14.2、6.7 Hz, 1H), 2.90(s, 3H), 2.70(t, *J*=5.5 Hz, 2H), 1.40(s, 9H)；ESI-MS(*m*/*z*): 661.05[M－H]$^-$。

(*R*)-2-(5,7-二氯-1,2,3,4-四氢异喹啉-6-甲酰胺基)-3-[3-(甲磺酰基)苯基]丙酸苄酯盐酸盐(8a)

室温下，将化合物**7a**(6 g，9.07 mmol)溶于二氯甲烷(25 mL)后加至100 mL三口烧瓶中，冰浴搅拌30 min，加入4 mol/L盐酸二噁烷溶液(10 mL)，搅拌中有白色固体析出，反应4 h。抽滤，滤饼用二氯甲烷(20 mL)洗涤后于45 ℃减压干燥，得米白色固体**8a**(4.95 g，91.25%)，纯度为98.28%(HPLC条件同化合物**4a**，相对保留时间1.50)。mp 102.3～104.5℃。$[\alpha]_D^{20}$ 8.7°(*c* 1，MeOH)。^{1}H NMR(600 MHz, DMSO-d_6) δ: 9.29(d, *J*=8.1 Hz, 1H), 7.88(d, *J*=10.5 Hz, 1H), 7.78(d, *J*=7.8 Hz, 1H),

7.67(d, *J*=7.7 Hz, 1H), 7.56(t, *J*=7.7 Hz, 1H), 7.34～7.43(m, 6H), 5.18(s, 2H), 4.94(ddd, *J*=10.6、8.3、5.0 Hz, 1H), 4.24(s, 2H), 3.35(d, *J*=4.1 Hz, 2H), 3.33(d, *J*=4.8 Hz, 1H), 3.14(s, 3H), 3.08(dd, *J*=14.1、10.6 Hz, 1H), 2.87(d, *J*=17.0 Hz, 2H)；ESI-MS(*m/z*): 561.00[M+H]$^+$。

(*R*)-2-[2-(苯并呋喃-6-羰基)-5,7-二氯-1,2,3,4-四氢异喹啉-6-甲酰胺基]-3-[3-(甲磺酰基)苯基]丙酸苄酯(9a)

室温、N_2保护条件下，将**12**(上海乐研医药股份有限公司，1 g，6.17 mmol)、二氯甲烷(20 mL)和3滴DMF加至50 mL三口烧瓶中，搅拌15 min，于0 ℃缓慢滴加二氯亚砜(0.88 g)，冰浴搅拌20 min，室温反应3 h，减压蒸除溶剂，剩余物于N_2下保存，备用。

室温、N_2保护下，依次将化合物**8a**(4.06 g，6.48 mmol)、DIPEA(2.39 g)、二氯甲烷(20 mL)加至100 mL三口烧瓶中，于0 ℃搅拌15 min。控温于5 ℃以下，缓慢滴加上一步制得的苯并呋喃-6-酰氯的二氯甲烷(10 mL)，滴毕室温反应0.5 h。TLC[展开剂：二氯甲烷和甲醇(体积比5∶1)]跟踪反应，加冰水(20 mL)，用二氯甲烷(100 mL)萃取，有机相用饱和氯化钠溶液(100 mL)洗涤，经无水硫酸钠干燥后减压蒸除溶剂，得棕色固体**9a**(4.25 g，97.66%)。纯度为99.26%(HPLC条件同化合物**4a**，相对保留时间1.48)。mp 126.7～128.4 ℃。$[\alpha]_D^{20}$ 8.6°(*c* 1，MeOH)。^{1}H NMR(600 MHz, DMSO-d_6) δ: 9.18(d, *J*=7.9 Hz, 1H), 8.12(d, *J*=2.1 Hz, 1H), 7.89(s, 1H), 7.76(dd, *J*=18.2、7.8 Hz, 2H), 7.65～7.72(m, 2H), 7.56(t, *J*=7.7 Hz, 1H), 7.27～7.42(m, 7H), 7.05(d, *J*=1.3 Hz, 1H), 5.16(d, *J*=12.6 Hz, 2H), 4.94(td, *J*=10.2、5.2 Hz, 1H), 4.74(s, 2H), 3.63(dd, *J*=43.4、27.6 Hz, 2H), 3.33～3.36(m, 1H), 3.14(s, 3H), 3.08(dd, *J*=13.9、10.7 Hz, 1H), 2.74(d, *J*=14.1 Hz, 2H)；ESI-MS(*m/z*): 704.90[M+H]$^+$。

(*R*)-2-[2-(苯并呋喃-6-羰基)-5,7-二氯-1,2,3,4-四氢异喹啉-6-甲酰胺基]-3-[3-(甲磺酰基)苯基]丙酸[(*R*)-1]

将化合物**9a**(3 g，4.25 mmol)、甲醇(50 mL)和1 mol/L碳酸钾溶液(17 mL)加至100 mL三口烧瓶中，室温搅拌2 h，加水(100 mL)，用甲苯(50 mL)萃取，有机相用1 mol/L盐酸调至pH 2。用乙酸乙酯(100 mL)萃取，有机相用饱和氯化钠溶液(100 mL)洗涤，经无水硫酸钠干燥后减压蒸除溶剂，得米白色固体。将该固体溶于1 mol/L碳酸钾溶液(20 mL)中，用乙酸乙酯(100 mL)萃取除杂，水相用1 mol/L的盐酸调至pH 2，有大量固体析出。抽滤，滤饼于45 ℃减压干燥得固体(*R*)-**1**(2.40 g，91.71%)。mp 152.9～154.9 ℃。$[\alpha]_D^{20}$ 5.5°(*c* 1，DMSO)。纯度为99.58%(HPLC条件同化合物**4a**，相对保留时间1.00)，*ee*值96.81%[HPLC归一化法：色谱柱Welch Ultimate XB C_{18}柱(4.6 mm×250 mm，5 μm)；流动相三氟乙酸溶液与甲醇(体积比5∶95)，等度洗脱；柱温25 ℃；检测波长220 nm；流速0.7 mL/min。相对保留时间0.90]。^{1}H NMR(600 MHz, DMSO-d_6) δ: 8.99(d, *J*=6.9 Hz, 1H), 8.12(d, *J*=2.2 Hz, 1H), 7.88(s, 1H), 7.76(dd, *J*=16.7、7.9 Hz, 2H), 7.66～7.73(m, 2H), 7.57(t, *J*=7.7 Hz, 1H), 7.32(d, *J*=12.0 Hz, 1H), 7.05(d, *J*=1.4 Hz, 1H), 4.76～4.84(m, 2H), 4.67(s, 1H), 3.38～3.49(m, 1H), 3.30(dt, *J*=17.9、9.0 Hz, 2H), 3.15(s, 3H), 3.04(dd, *J*=13.8、10.6 Hz, 1H), 2.78(s, 2H)；ESI-MS(*m/z*): 614.90[M+H]$^+$。

参考文献：

[1] MARLIN S D, SPRINGER T A. Purified intercellular adhesion molempcule-1 (ICAM-1) is a ligand for lymphocyte function-associated antigen 1 (LFA-1)[J]. *Cell*, 1987, **51**(5): 813-819.

[2] BURDICK D J, PARIS K, WEESE K, *et al*. *N*-Benzoyl amino acids as LFA-1/ICAM inhibitors 1: amino acid structure-activity relationship[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2003, **13**(6): 1015-1018.

[3] PFLUGFELDER S C, STERN M, ZHANG S, *et al*. LFA-1/ICAM-1 interaction as a therapeutic target in dry eye disease[J]. *J Ocul Pharmacol Ther*, 2017, **33**(1): 5-12.

[4] PEREZ V L, PFLUGFELDER S C, ZHANG S, *et al*. Lifitegrast, a novel integrin antagonist for treatment of dry eye disease[J]. *Ocul Surf*, 2016, **14**(2): 207-215.

[5] KEATING G M. Lifitegrast ophthalmic solution 5%: a

review in dry eye disease [J]. *Drugs*, 2017, **77**(2): 201-208.

[6] ZHONG M, GADEK T R, BUI M, *et al*. Discovery and development of potent LFA-1/ICAM-1 antagonist SAR 1118 as an ophthalmic solution for treating dry eye [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2012, **3**(3): 203-206.

[7] AHUJA S, ALSANTE K M. Handbook of isolation and characterization of impurities in pharmaceuticals [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2007, **65**(2): 257-258.

[8] KUMAR N, DEVINENI S R, DUBEY S K, *et al*. Potential impurities of anxiolytic drug, clobazam: identification, synthesis and characterization using HPLC, LC-ESI/MS^n and NMR [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2017, **137**: 268-278.

[9] SHIRAZI S M H, MOKHTARI J, MIRJAFARY Z. Synthesis and characterization of epoxide impurities of abiraterone acetate [J]. *Steroids*, 2022, **180**: 108988.

[10] FDA. International conference on harmonisation; revised guidance on Q3B(R) impurities in new drug products; availability. Notice [J]. *Fed Regist*, 2003, **68**(220): 64628-64629.

[11] GÖRÖG S. Chemical and analytical characterization of related organic impurities in drugs [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2003, **377**(5): 852-862.

[12] 张 欣, 刘凌宪, 刘发贵, 等. 色谱-质谱法分析立他司特中强制破坏后的降解产物[J]. 海峡药学, 2021, **33**(11): 80-85.

广告索引

封二：Sievers 分析仪（威立雅）

封三：鲁南厚普制药有限公司

封底：苏州海顺包装材料有限公司

1419、1466 页：公益广告