〔19〕中华人民共和国专利局

[11]公开号 CN 1034205A

〔12〕发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 88108598.7

[51] Int.Cl⁴
C07D401 / 04

〔43〕公开日 1989 年 7 月 26 日

[22]申请日 88.12.10

[30]优先权

[32]87.12.11 [33]JP [31]314,790 / 87

[32]88.11.7 [33]JP [31]280,610 / 88

[71]申请人 大日本制药株式会社

地址 日本大阪府

[72]发明人 松本纯一 南田明 广濑修次
中野纯次 中村信一

[74]专利代理机构 中国专利代理有限公司

代理人 孟八一 杨 钢

A61K 31 / 47 A61K 31 / 495//
(C07D 401 / 04,215 : 56,241 : 04)
(C07D 401 / 04,215 : 56,207 : 09)

说明书页数: 31 附图页数:

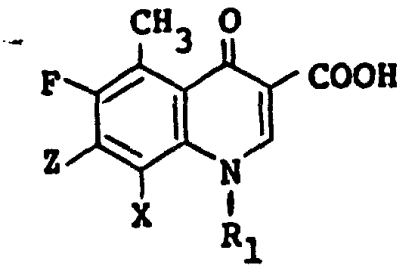
[54]发明名称 新颖喹啉衍生物及其制备方法和含有这类衍生物的抗菌剂

[57]摘要

本文介绍 1-取代的-6-氟-5-甲基-7-(哌嗪基或吡咯烷基)-1,4-二氢-4-氧喹啉-3-羧酸及其制备方法。该酸用来治疗细菌感染病。

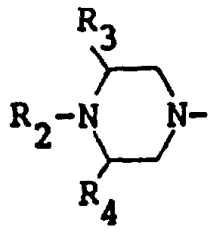
权　利　要　求　书

1. 一种式（Ⅰ）喹啉衍生物或其在药物上可接受的酯，或所述衍生物或酯的在药物上可接受的盐的制备方法，式（Ⅰ）为：

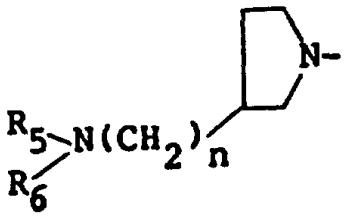


(I)

式中：R_1 是具有1至5个碳原子的低级烷基、具有3至6个碳原子的环烷基、或任意取代的苯基，x是氢原子或卤原子，Z是下式：

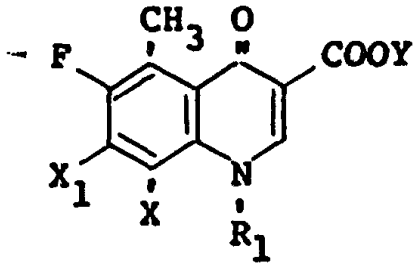


或



式中：R_2、R_3、R_4、R_5 和 R_6 是相同的或不同的，各自表示氢原子或具有1至5个碳原子的低级烷基，n是0或1，该方法包括：

（i）式（Ⅱ）化合物与式（Ⅲ）化合物反应，式（Ⅱ）为：



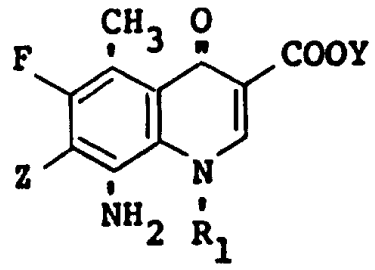
(II)

式中：X_1 是卤原子，Y是氢原子或具有1至5个碳原子的低级烷基，R_1 和X的定义同上。

式（Ⅲ）为：　　Z－H　　（Ⅲ）

其中Z的定义同上，如有必要，水解得到的化合物，

（ｉｉ）将式（ＩＶ）化合物重氮化并且卤化如此得到的重氮盐化合物，如有必要，水解得到的化合物，式（ＩＶ）为：

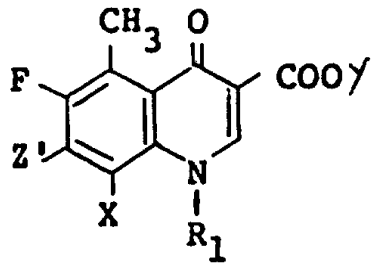


(IV)

式中：R_1、Y和Z的定义同上，

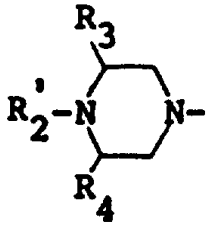
或

（ｉｉｉ）去除式（Ｖ）化合物中的保护基，如有必要，水解得到的化合物，式（Ｖ）为：

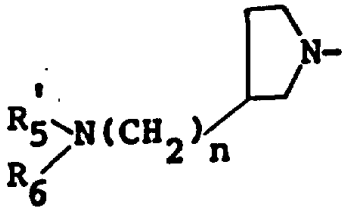


(V)

式中：R_1、X和Y的定义同上，Z'为：



或

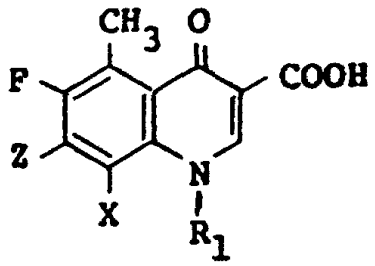


式中：R_2'和R_5'表示保护基，R_3、R_4、R_6和n的定义同上，以及

（ｉＶ）如有必要，将如此制得的化合物转化为其在药物上可

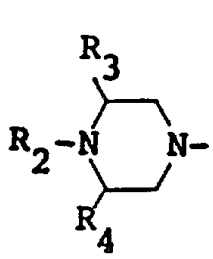
接受的盐。

2. 一种式（Ⅰ）喹啉衍生物或其在药物上可接受的酯，或所述衍生物或酯的在药物上可接受的盐的制备方法，式（Ⅰ）为：

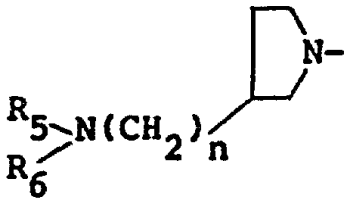


(I)

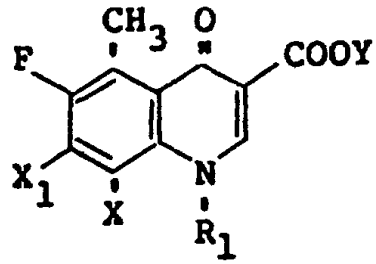
式中：R_1 是具有1至5个碳原子的低级烷基、具有3至6个碳原子的环烷基，或任意取代的苯基，X是氢原子或卤原子，Z是下式：



或



式中：R_2、R_3、R_4、R_5 和 R_6 是相同的或不同的，各自表示氢原子或具有1至5个碳原子的低级烷基，n是0或1，该方法包括式（Ⅱ）化合物与式（Ⅲ）化合物反应。式（Ⅱ）为：



(II)

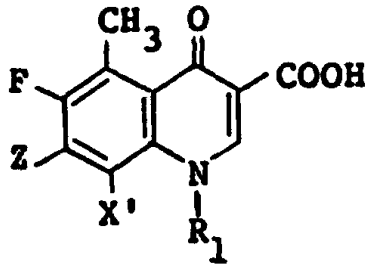
式中：X_1 是氢原子，Y是氢原子或具有1至5个碳原子的低级烷基，R_1 和X的定义同上，

式（Ⅲ）为：　　Z－H　　（Ⅲ）

式中：Z的定义同上，如有必要，水解得到的化合物，将如此制得

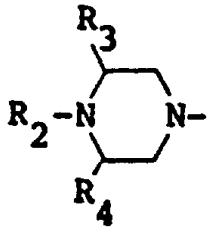
的化合物任意转化为其在药物上可接受的盐。

3. 一种式（Ⅰ'）喹啉衍生物或其在药物上可接受的酯，或所述衍生物或酯的在药物上可接受盐的制备方法，式（Ⅰ'）为：

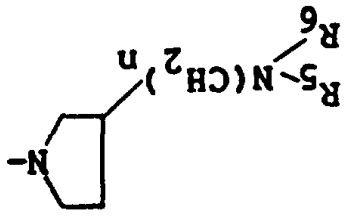


(I')

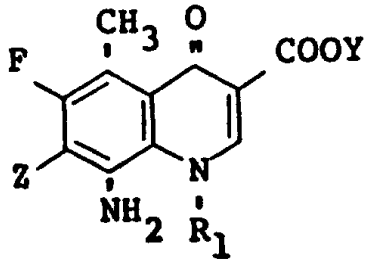
式中：R_1 是具有1至5个碳原子的低级烷基，具有3至6个碳原子的环烷基或任意取代的苯基，X' 是氢原子或卤原子，Z 是下式：



或



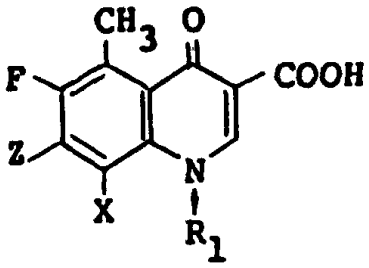
式中：R_2、R_3、R_4、R_5 和 R_6 是相同的或不同的，各自表示氢原子或具有1至5个碳原子的低级烷基，n是0或1，该方法包括重氮化式（Ⅳ）化合物并卤化如此制得的重氮盐化合物，如有必要，水解得到的化合物，将如此制得的化合物任意转化为其在药物上可接受的盐，式（Ⅳ）为：



(IV)

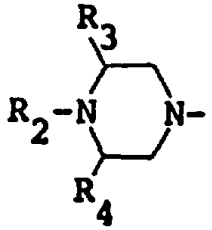
式中：R_1 和Z的定义同上，Y是氢原子或具有1至5个碳原子的低级烷基。

4. 一种式（Ⅰ）喹啉衍生物或其在药物上可接受的酯，或所述衍生物或酯的在药物上可接受盐的制备方法，式（Ⅰ）为：

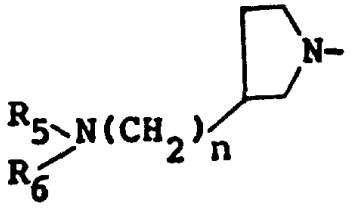


(I)

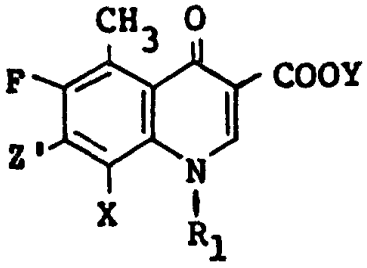
式中：R_1 是具有1至5个碳原子的低级烷基，具有3至6个碳原子的环烷基，或任意取代的苯基，X是氢原子或卤原子，Z是下式：



或

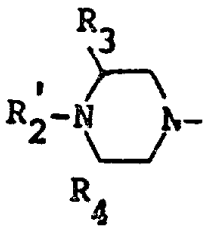


式中：R_2,R_5 表示氢原子，R_3 、R_4 和R_6 是相同的或不同的，各自表示氢原子或具有1至5个碳原子的低级烷基，n是0或1，该方法包括去除式（Ⅴ）化合物的保护基，如有必要，水解得到的化合物，将由此得到的化合物任意转化为其在药物上可接受的盐，式（Ⅴ）为：

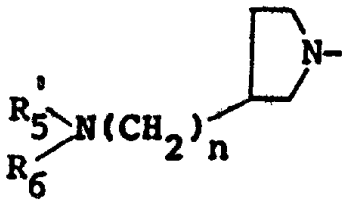


(V)

式中：R^1 和X的定义同上，Y是氢原子或具有1至5个碳原子的低级烷基，Z^1 为：



或



式中：R_2' 和 R_5' 表示保护基，R_3 、R_4 、R_6 和 n 的定义同上。

5. 一种药物组合物，其中包括权利要求 1 定义的化合物作为活性组分和在药物上可接受的载体。

6. 一种治疗细菌感染症的方法，该方法包括给温血动物施以有效量的权利要求 1 定义的化合物。

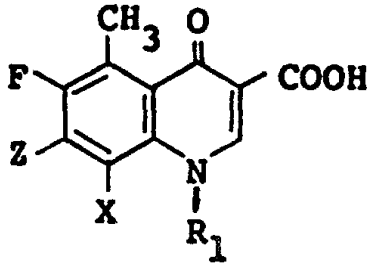
7. 用以治疗细菌感染症的权利要求 1 定义的化合物用途。

说　　明　　书

新颖喹啉衍生物及其制备方法和含有这类衍生物的抗菌剂

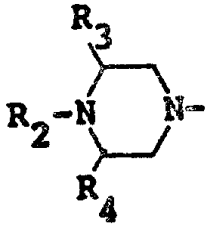
本发明涉及新颖的具有极好抗菌活性的喹啉衍生物及其制备方法和含有所述喹啉衍生物的抗菌剂。

本发明化合物是由下述通式（Ⅰ）表示的喹啉衍生物或其酯，或是该衍生物或酯的盐。通式（Ⅰ）为：

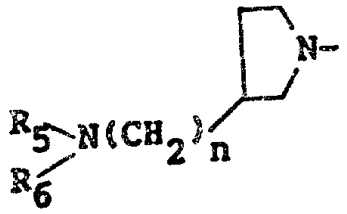


... (I)

式中：R_1 是具有1至5个碳原子的低级烷基、具有3至6个碳原子的环烷基、或任意取代的苯基，X是氢原子或卤原子，Z是：



或



式中：R_2、R_3、R_4、R_5 和 R_6 是相同的或不同的，各自表示氢原子或具有1至5个碳原子的低级烷基，n是0或1。

在上述式（Ⅰ）中，卤原子的实例是氟和氯，尤以氟为佳。烷基可以是直链或支链的，例如，可以是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基或戊基。

式（Ⅰ）化合物及其酯，以及它们的盐类，通称为本发明的化合物。

本发明化合物还可以水合物形态存在，因此，这些水合物也包括在本发明化合物范围内。

本发明化合物包括具有不对称碳原子（例如，在式（Ⅰ）中，当R_3是具有1至5个碳原子的烷基时，与该烷基键合的碳原子即为不对称碳原子）的那些化合物，因此，它们以旋光活性体存在，故它们包括D异构体、L异构体及其混合物。

本发明的某些化合物具有多个不对称碳原子（例如，当R^3和R^4都是具有1至5个碳原子的烷基时，与R^3和R^4键合的两个碳原子），因此，它们可以不同构型的立体异构体形式存在。这些立体异构体及其混合物也包括在本发明化合物的范围内。

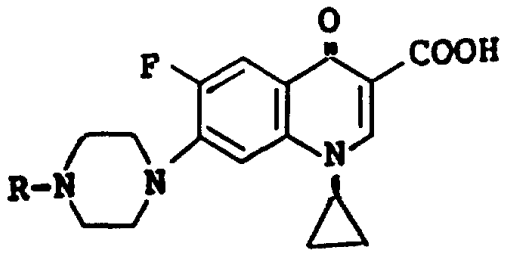
式（Ⅰ）化合物的酯包括脂族酯，尤其是具有1至5个碳原子的低级烷基酯，例如甲酯和乙酯；以及包括其醇部分很易在体内分离并且转化为化合物（Ⅰ）的酯类，例如乙酸基甲酯、新戊酰羟甲酯、乙酯基羟乙酯、胆碱酯、氨乙酯（例如，二甲基氨乙酯或哌啶子基乙酯）、5－二氢茚基酯、2－苯并〔c〕呋喃酮基和羟烷基酯（例如2－羟乙酯和2，3－二羟丙酯）。

式（Ⅰ）化合物的盐或其酯的盐应理解为式（Ⅰ）化合物或其酯与药物上可接受的酸或碱之间形成的盐。所述盐的实例包括式（Ⅰ）化合物或其酯与下述物质形成的盐，例如，无机酸（如盐酸和磷酸）；有机酸（如乙酸、乳酸、草酸、琥珀酸、甲磺酸、马来酸、丙二酸和葡糖酸）；酸性氨基酸（如天冬氨酸和谷氨酸）；金属（如钠、钾、钙、镁、锌和银）；有机碱（如二甲胺、三乙胺、

二环已基胺和苄胺）；以及与碱性氨基酸如赖氨酸和精氨酸形成的盐。

首先概括地论述涉及在本技术领域内药理有效化合物的现有技术。

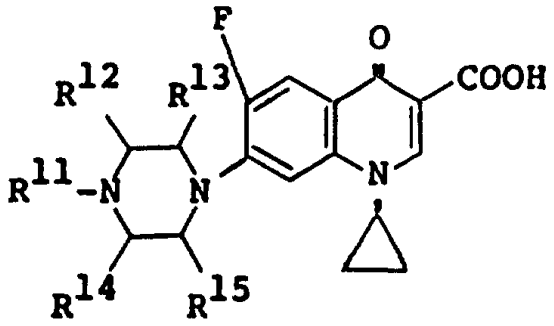
欧洲专利公开７８，３６２号及其相应的日本专利公开７４６６７／１９８３号介绍了由下述式（１０）表示的１－环丙基－６－氟－１，４－二氢－４－氧－７－哌嗪基－喹啉－３－羧酸及其在药物上可接受的酸成盐或水合物，



(10)

式中：R是H、CH_3、C_2H_5或$HOCH_2CH_2^-$，

欧洲专利公开１１３０９３号及其相应的日本专利公开１３０８８０／１９８４号介绍了由下述式（１１）表示的化合物及其在药物上可接受的酸成盐、碱金属或碱土金属盐或水合物，

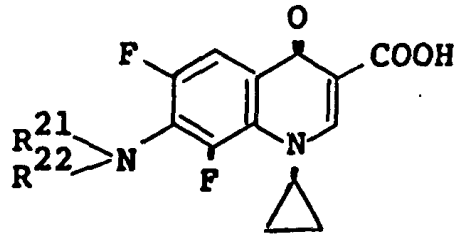


(11)

式中R^{11}是H或任意OH取代的具有1至１２个碳原子的烷基，R^{12}、R^{13}、R^{14}和R^{15}是相同的或不同的，各自表示具有１至４个碳原子的烷基，其前提是R^{12}至R^{15}中至少有一个

是烷基。

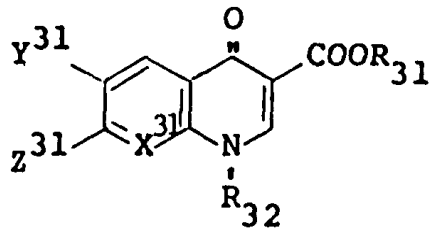
美国专利4，５５６，６５８号及其相应的日本专利公开２１２４７４／１９８４号介绍了由下述通式（１２）表示的化合物及其在药物上有用的盐，



(12)

式中：$\begin{matrix} R^{21} \\ R^{22} \end{matrix}\!\!>\!N$ 表示包括任意取代的哌嗪基或吡咯烷基的基团。

美国专利4，６６５，０７９号及其相应的日本专利公开２１４７７３／１９８５号介绍了由下述通式（１３）表示的化合物，或其在药物上可接受的酸成盐，



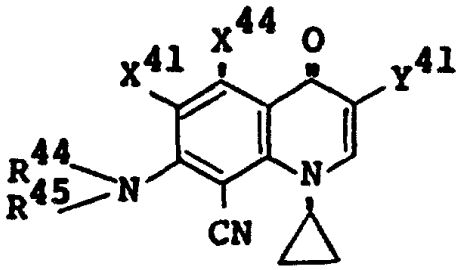
(13)

式中：Z^{31} 表示具体的吡咯烷基或螺一氨基或其它杂环基，X^{31} 是CH、CCl、CF、N等，Y^{31} 是H、F、Cl、Br，R_{31} 是H、C_{1-6} 烷基或阳离子，以及 R_{32} 是 C_{1-4} 烷基、乙烯基、卤烷基、C_{2-4} 羟烷基或 C_{3-6} 环烷基。

从式（１０）、（１１）、（１２）和（１３）可看出在这些化合物中，在喹啉环５位无取代基。

欧洲专利公开２７６７００号及其相应的日本专利公开

201170／1988号介绍了由下述通式（14）表示的化合物，及其在药物上有用的水合物、盐或酯，



(14)

式中，Y^{41}是COOH、CN、酯基团或酰胺基，X^{41}是H、NO_2、烷基或卤素，X^{44}是H、卤素或烷基，以及$\begin{matrix}R^{44}\\R^{45}\end{matrix}>N$表示一任意取代的杂环基。

本发明化合物在体外试验中显示了极好的抗菌活性和广谱抗菌作用。它们不仅对含绿脓杆菌（Pseudomonas aerugi－nosa）和Seratia 属的革兰氏阴性菌具有极有效的对抗作用，而且对含链球菌（Streptococci）和抗甲氧西林的Staphylococcus aureus 革兰氏阳性菌也极有效。就此而言，常规的喹啉型抗菌剂的活性相对较低。此外，它们均具有很强的抗无葡萄糖发酵菌、厌氧菌以及支原菌属（Mycoplasma）、衣原体（Chlamydia）和分支杆菌属（Mycobacterium）作用，而对这些菌几乎没有有效的对抗药物。

本发明化合物对由各种细菌引起的局部或全身感染，在体内起到极好的保护作用，并且对动物的一般毒性试验中，其毒性较低。

因此，本发明化合物可用作口服或注射用抗菌剂。

本发明的目的之一，提供新颖的式（I）喹啉衍生物，及其在药物上可接受的酯和盐。

本发明的目的之二，提供新颖的喹啉衍生物（I_）及其在药物上可接受的酯和盐，它们在体外和体内对革兰氏阳性和革兰氏阴性

菌都具有极好抗菌活性。

本发明的目的之三，提供具有广谱抗菌作用的化合物，它们支原菌属和Chlamydia菌均显示出极好抗菌活性。

本发明的目的之四，提供了所述新颖化合物的制备方法。

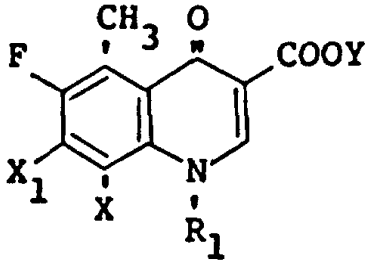
本发明的目的之五，提供一种药物用组合物，该组合物包括有效量的式（Ⅰ）化合物，或其在药物可接受的酯或盐。

本发明的目的之六，提供一种温血动物受细菌感染的治疗方法，该方法包括给动物施用本发明化合物或药物组合物。

根据下述论述，本发明的其它目的及其一些优点，是显而易见的。

本发明化合物的制备方法详述如下。

通过由通式（Ⅱ）表示的化合物与由通式（Ⅲ）表示的化合物反应可制备本发明化合物，通式（Ⅱ）为：



(II)

式中：X_1 是卤原子，Y是氢原子或者具有1至5个碳原子的低级烷基，R_1 和X如式（Ⅰ）所定义。通式（Ⅲ）为：

$$Z - H \qquad (Ⅲ)$$

式中：Z如上定义。

在10至180℃下，于惰性溶剂中搅拌起始化合物（Ⅱ）和（Ⅲ）10分钟至24小时即可进行该反应。所述惰性溶剂的例子包括醇类（如乙醇）、醚类（如二噁烷）、四氢呋喃和1，2－二

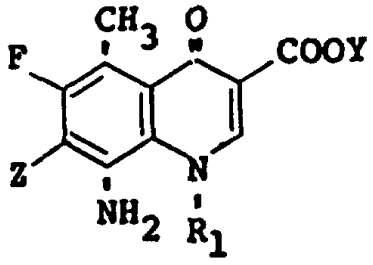
甲氧基乙烷、芳烃（如苯、甲苯和二甲苯）、乙腈、二甲基甲酰胺、二甲亚砜、吡啶和水。

最好在酸受体存在下，用与起始化合物（Ⅱ）等摩尔量或稍过量的式（Ⅲ）起始化合物实施上述反应。如有必要，可以采用过量起始化合物（Ⅲ），使其兼用作酸受体。所述酸受体为碳酸氢钠、碳酸钠、碳酸钾、三乙胺、二异丙基乙胺、1，8－二氮杂双环〔5、4、0〕十一碳烯－7（DBU）和吡啶。

如有可能，可以由下文反应C所述保护基保护的形式使用用于该反应的起始化合物（Ⅲ），在反应后，用常规方法除去保护基。

可用参照实施例1至3所述方法或基本上按照这些方法制备起始化合物（Ⅱ）。

通过将式（ⅠⅤ）表示的化合物重氮化并将所得重氮盐卤化，可制备本发明化合物，式（ⅠⅤ）为：



(IV)

式中：R_1、Y和Z的定义同上。

在酸或无酸（如盐酸、硫酸、磷酸或硝酸）存在下，于水、有机溶剂（如乙醇、四氢呋喃，二噁烷，乙腈或乙酸）或其与水混合物中，通常在冷却下搅拌化合物（ⅠⅤ）和重氮化剂，以实施该重氮化反应。

重氮化剂的例子为亚硝酸、亚硝酸盐（如亚硝酸钠）、有机亚硝酸衍生物如亚硝酸异戊酯或亚硝酸叔丁酯，以及亚硝基硫酸。

在0－150℃下，于如上所述的溶剂中，搅拌得到的重氮化合物（分离或不分离）和卤化剂，并且在氟化情况下，通过将得到的重氮盐分解，以实施上述卤化反应。

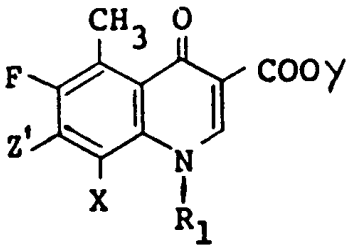
卤化剂的例子为氯化亚铜、盐酸铜、四氟硼酸、六氟磷酸和六氟硅酸。

通过将重氮盐直接或在稀释剂或有机溶剂中加热至50至170℃，实施上述分解。稀释剂的例子为砂、硫酸钡和氟化钠。溶剂的例子为石油醚、环已烷、正庚烷、苯、甲苯、二甲苯、联苯、氯仿、四氯甲烷、乙酸乙酯、二噁烷或喹啉。

如有可能，可以由下文反应C中所述保护基保护的形式使用用于该反应的起始化合物（ＴＶ），在反应后，用常规方法除去保护基。

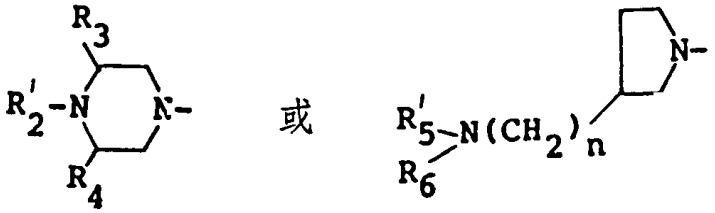
可用参照实施例4至5的方法或基本上按照这些方法制备起始化合物（ＩＶ）。

通过去除加溶（还称作水解）的保护基或还原由下述通式（Ｖ）表示的化合物可制备本发明化合物，式（Ｖ）为：



(V)

式中：R_1、X和Y的定义同上，Z'如下表示：



式中：R_2' 和 R_5' 表示保护基，R_3 、R_4 、R_6 和n的定义同上。

该保护基可以是能被去除，而又不破坏由该反应形成的本发明化合物结构的任一保护基。通常在肽、氨基糖、核酸或β内酰胺化合物化学领域中用作保护氨基保护基均可用于本发明。

根据保护基的性质，经加溶（包括水解）或还原可解离这些氨基保护基。

可由加溶消除的保护基的具体例子包括酰基（如：甲酰基、乙酰基和三氟乙酰基）；取代或未取代的烷氧基羰基（如：乙酯基、叔丁氧基羰基、苄氧基羰基、对甲氧苄基氧羰基和β－（对甲苯磺酰）－乙酯基）；三苯甲基，三甲硅烷基，邻硝基苯亚磺酰；二苯氧膦基；以及四氢吡喃基。

在有或无催化剂（如：酸或碱）存在下，在0至150℃下，于溶剂中实施该反应。

酸的实例为无机酸（如：盐酸、氢溴酸、硫酸和磷酸）；有机酸（如：乙酸、三氟乙酸、甲酸和甲苯磺酸）；路易斯酸（如：三溴化硼和氯化铝）。碱的实例为氢氧化物（如：氢氧化钠和氢氧化钡）；碳酸盐（如：碳酸钠和碳酸钾），碱金属醇盐（如：甲醇钠和乙醇钠）；以及乙酸钠。通常将水用作溶剂。根据该化合物的性质，可使用其它溶剂，如：乙醇、二噁烷、乙二醇二甲醚、苯或乙酸，或这类溶剂与水的混合溶剂。

可由还原消除的保护基实例包括芳基磺酰基（如：对甲苯磺酰基）；苯基或苄氧基取代的甲基，（如：苄基、三苯甲基或苄氧甲基）；芳基甲酯基（如：苄氧基羰基和对甲氧苄基氧羰基）；以及卤代乙酯基（如：β，β，β－三氯乙酯基和β－碘代乙酯基）。

根据被消除的保护基性质，该反应可采用不同的反应条件，例如，在催化剂（如：铂、钯或阮内镍）的存在下，在10至60℃于惰性溶剂中，用氢气流处理该化合物（催化还原）；或者通常在－50至－20℃下，用于液态氨中的金属钠处理；或者用在乙酸或 醇（如：甲醇）中的金属（如：锌）处理该化合物,可实施消除保护基的反应。所述催化还原中溶剂的实例包括乙二醇二甲醚、二噁烷、二甲基甲酰胺、乙醇、乙酸乙酯和乙酸。

起始化合物（Ⅴ）是一种新颖化合物，可由上述反应A和B制得。

如果用以上方法得到的本发明化合物是酯，可以采用常规方法水解酯部分而将其转化为式（Ⅰ）化合物。如有必要，可用常规方法酯化式（Ⅰ）化合物，形成式（Ⅰ）化合物的酯。

用酸处理式（Ⅰ）化合物或其酯，或者用碱或金属盐处理化合物（Ⅰ）,可制得式（Ⅰ）化合物或其酯的在药物上可接受的盐。适于形成盐的酸包括盐酸、磷酸、乳酸、草酸、琥珀酸、甲磺酸、马来酸、丙二酸、葡糖酸、天冬氨酸和谷氨酸。适于形成盐的碱或金属盐包括金属氢氧化物（如：氢氧化钠和氢氧化钾）；金属碳酸盐（如：碳酸钠和碳酸钾）；氯化锌；硫酸锌；硝酸锌和硝酸银。

可用常规方法离析和提纯按上述方法制备的本发明化合物，并且根据分离和提纯条件，可以盐或游离酸的形式得到上述化合物。它们可彼此转化，产生所需状态的本发明化合物。

可用常规方法(如分级结晶或色谱法)分离本发明化合物的立体异构体。采用具有相应构型的起始化合物，通过上述这些反应，有可能产生具有特定构型的本发明化合物。

用公知方法可分离本发明化合物的旋光异构体。

由此得到的化合物（Ⅰ）及其酯，以及它们的盐都是新的化合物，并且它们具有很高抗菌性，因此作为抗菌剂是极有价值的。化合物（Ⅰ）及其盐不仅可用作人类和动物的药物，而且可用作鱼药、农药和食品防腐剂。化合物（Ⅰ）的酯作为合成化合物（Ⅰ）的起始原料，当然是极为重要的，这些酯在体内容易　转化为化合物（Ⅰ）时，可反映出相同作用，并且也可用作抗菌剂。

当本发明化合物用作人的抗菌剂时，虽然施用的剂量随患者年龄、体重和病症、用药途径等而改变。但推荐的日服用剂量为5mg至5ｇ，每日一次或分几次服用。这些化合物可口服或胃肠道外施用

可以服用得到的粉末型本发明化合物，但是通常以药物制剂和药物上可接受的佐药混在一起的剂型施以该化合物。药物制剂的具体例子为片剂、溶液、胶囊、粒剂、细粒剂、丸剂、粉剂、糖浆、针剂和软膏。这些药物制剂可用众所周知的方法制备。口服佐药是那些通常用于配制药物制剂的物质，并不与本发明化合物反应，例如,淀粉、甘露糖醇、晶状纤维素、ＣＭＣＮａ　　、水、乙醇等。针剂佐药是那些通常用于针剂范围的物质，例如水、等渗氯化钠溶液葡萄糖溶液和输液。

以上液体制剂和软膏还可用于耳鼻喉科或眼科的局部治疗。

下述实施例更具体说明本发明化合物的制备方法。

参照实施例１

１－环丙基－６，７，８－三氟－５－甲基－１，４－二氢－４－氧喹啉－３－羧酸：

（1）用亚硫酰氯（27.5g）和二甲基甲酰胺（0.5ml）处理32g已知化合物2，3，4，5－四氟－6－甲基苯甲酸，得到30.8g2，3，4，5－四氟－6－甲基苯甲酰氯，b.P.77－80℃（19mmHg）。

（2）上述化合物（30.8g）与乙氧基镁丙二酸二乙酯反应得到2，3，4，5－四氟－6－甲基苯甲酰基丙二酸二乙酯（43，9g）。将水（400ml）和对甲苯磺酸－水合物（0.40g）加到上述酯中，该混合物回流2小时，冷却后，用饱和的碳酸氢钠水溶液中和，用氯仿提取。将提取液干燥，减压蒸发。残余物经硅胶色谱提纯，得到2，3，4，5－四氟－6－甲基苯甲酰基乙酸乙酯（23.5g），b.p.122－128℃（5mmHg）。

（3）将上述化合物（6.0g）、乙酐（5.5g）和原甲酸乙酯（4.8g）的混合物回流3小时，减压蒸干。将残余物溶于异丙醚（70ml），在室温下加入环丙胺（1.23g），搅拌该混合物1小时。将正已烷加到该混合物中，滤出沉淀的晶体，从正已烷再结晶得到3－环丙基氨基－2－（2，3，4，5－四氟－6－甲基苯甲酰）丙烯酸乙酯（7.4g）m.p.76－77℃。

（4）将上述化合物（7.40g）溶于水四氢呋喃（70ml）冰冷却下，加入叔丁氧化钾（2.4g），搅拌1小时后，将冰水加到该混合物中，收集沉淀的晶体，从乙酸乙酯再结晶得到1－环丙基－6，7，8－三氟－5－甲基-1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸乙酯（5.5g），m.p.176－177℃。

（5）将浓硫酸、冰乙酸和水（1：8：6）的混合溶液（50ml）加到上述化合物（5.2g）中，该混合物在搅拌下，于100℃加热1小时，冷却后，加入水，收集沉淀的晶体，从乙腈结晶，得到1－环丙基－6，7，8－三氟－5－甲基－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（4.2g），m.p.242－243℃。

参照实施例2

6，7，8－三氟－1－（2，4－二氟苯基）－5－甲基－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸：

（1）采用参照实施例1（3）介绍的相同方法，使2，3，4，5－四氟－6－甲基苯甲酰－乙酸乙酯（6.0g）、乙酐（5.5g）、原甲酸乙酯（4.8g）和2，4－二氟苯胺（2.78g）反应。从正己烷再结晶得到3－（2，4－二氟苯胺基）－2－（2，3，4，5－四氟－6－甲基苯甲酰）丙烯酸乙酯（7.9g），m.p.69－71℃。

（2）采用参照实施例1（4）介绍的相同方法，用叔丁氧化钾处理上述化合物（7.5g），从乙酸乙酯再结晶得到6，7，8－三氟－1－（2，4－二氟苯基）－5－甲基－1，4-二氢－4－氧喹啉－3－羧酸乙酯（6.5g），m.p.152－154℃。

（3）采用参照实施例1（5）介绍的相同方法处上述化合物（6.0g），得到6，7，8－三氟－1－（2，4－二氟苯基）－5－甲基－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（5.1g），

m．p．217－219℃。

参照实施例3

1－环丙基－6，7－二氟－5－甲基－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸：

（1）在氟化钾存在下，使200g已知化合物2，4，5，6－四氟间苯二氰与丙二酸二乙酯（160g）反应，得到油状的2，5，6－三氟－4－（二乙氧基羰基甲基）间苯二氰（332g）。

（2）用60%硫酸水解上述化合物（181g），得到4－羧甲基－2，5，6－三氟间苯二酸（125g），m．p．212－214℃。

（3）在三乙胺存在下，于140℃加热溶于二甲亚砜的上述化合物（28g），得到3，4，6－三氟－2－甲苯酸（13g），m．p．114－115℃。

（4）用亚硫酰氯处理上述化合物（24g），得到3．4，6－三氟－2－甲苯酰氯，b．p．98－100℃（40mmHg）。

在无水甲苯中使该化合物和丙二酸二乙酯钠反应，得到（3，4，6－三氟－2－甲基苯甲酰）丙二酸二乙酯。

将水和催化量的对甲苯磺酸加到该化合物中，使该混合物回流4小时，得到油状的（3，4，6－三氟－2－甲基苯甲酰）乙酸乙酯（15．2g），b．p．112－116℃（3mmHg）。

（5）用原甲酸乙酯和乙酐处理上述化合物（5．0g），得到3－乙氧基－2－（3，4，6－三氟－2－甲基苯甲酰）丙烯酸乙酯，然后与环丙胺反应，得到3－环丙基氨基－2－（3，4，6－三氟－2－甲基苯甲酰）丙烯酸乙酯（4．5g），m．p．

79－80℃。

（6）将上述化合物（4.25g）溶于四氢呋喃（35ml），在冰冷却下加入叔丁氧化钾（1.53g），在室温下搅拌该混合物15分钟，加入冰水（100ml），收集沉淀的晶体。将氯仿和水加到该晶体中，分离氯仿层，用无水硫酸钠干燥，减压蒸发氯仿，从乙腈再结晶残余物，得到1－环丙基－6，7－二氟－5－甲基－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸乙酯（3.59g），m.p.198－200℃。

（7）将上述化合物（3.30g）、冰乙酸（8ml）、水（6ml）和浓硫酸（1ml）的混合物在搅拌下，于120℃加热1小时，冷却后，将水（50ml）加到该混合物中，收集沉淀的晶体，用水洗涤，从乙腈再结晶得到1－环丙基－6，7－二氟－5－甲基－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（2.85g），m.p.229－231℃。

实施例1

1－环丙基－6，8－二氟－5－甲基－7－（顺式－3，5－二甲基－1－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸。

将1－环丙基－6，7，8－三氟－5－甲基－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（0.50g）、顺式－2，6－二甲基哌嗪（0.61g）和吡啶（30ml）的混合物回流4小时，蒸发溶剂，将乙醇加到残余物中，滤出沉淀的晶体，该晶体溶于3%乙酸水溶液，用活性炭处理该溶液，用1N氢氧化钠水溶液将*PH*值调节至约8.0，再用冰冷却。收集沉淀的晶体，用水洗涤，干燥，得到1－环丙基－6，8－二氟－5－甲基－7－（顺式－3，5

－二甲基－1－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（0.42g），m.p.200－202℃。〔盐酸盐，m.p.290－295℃（分解）〕。

实施例2

1－环丙基－6，8－二氟－5－甲基－7－（3－甲基－1－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸：

采用与实施例1介绍的相同方法，使1－环丙基－6，7，8－三氟－5－甲基－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（0.50g）和2－甲基哌嗪（0.54g）反应，得到1－环丙基－6，8－二氟－5－甲基－7－（3－甲基－1－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（0.40g），m.p.188－191℃。

实施例3

1－环丙基－6，8－二氟－5－甲基－7－（1－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸：

采用与实施例1介绍的相同方法，使1－环丙基－6，7，8－三氟－5－甲基－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（0.5g）和无水哌嗪（0.50g）反应，得到1－环丙基－6，8－二氟－5－甲基－7－（1－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（0.42g），m.p.210－21℃。

实施例4

7－（3－氨基－1－吡咯烷基）－1－环丙基－6，8－二氟－5－甲基－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸：

采用与实施例1介绍的相同方法，使1－环丙基－6，7，8－三氟－5－甲基－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（0．50g）和3－氨基吡咯烷（0．7ml）反应，得到7－（3－氨基－1－吡咯烷基）－1－环丙基－6，8－二氟－5－甲基－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（0．43g），m．p．232－234℃。

实施例5

7－（3－氨基甲基－1－吡咯烷基）－1－环丙基－6，8－二氟－5－甲基－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸：

采用与实施例1介绍的相同方法，使1－环丙基－6，7，8－三氟－5－甲基－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（0．50g）和3－氨基甲基－吡咯烷（0．50g）反应，得到7－（3－氨基甲基－1－吡咯烷基）－1－环丙基－6，8－二氟－5－甲基－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（0．42g），该化合物在109－112℃下熔融并固化，然后在178－179℃下熔化。

实施例6

1－环丙基－6，8－二氟－5－甲基－7－（4－甲基－1－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸：

采用与实施例1介绍的相同方法，使1－环丙基－6，7，8－三氟－5－甲基－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸和1－甲基－哌嗪反应，得到1－环丙基－6，8－二氟－5－甲基－7－（4－甲基－1－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－

羧酸,m．p．228－229℃。

实施例7

6，8－二氟－1－（2，4－二氟苯基）－5－甲基－7－（1－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸：

采用与实施例1介绍的相同方法，使6，7，8－三氟－1－（2，4－二氟苯基）－5－甲基－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（0．50g）和无水哌嗪（0．50g）反应，得到6，8－二氟－1－（2，4－二氟苯基）－5－甲基－7－（1－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（0．40g），m．p．274－277℃。

实施例8

6，8－二氟－1－（2，4－二氟苯基）－5－甲基－7－（3－甲基－1－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸：

采用与实施例1介绍的相同方法，使6，7，8－三氟－1－（2，4－二氟苯基）－5－甲基－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（0．50g）和2－甲基哌嗪（0．50g）反应，得到6，8－二氟－1－（2，4－二氟苯基）－5－甲基－7－（3－甲基－1－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（0．32g），m．p．236－238℃。

实施例9

6，8－二氟－1－（2，4－二氟苯基）－5－甲基－7－（顺式－3，5－二甲基－1－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧

喹啉－3－羧酸：

采用按实施例1介绍的相同方法，使6，7，8－三氟－1－（2，4－二氟苯基）－5－甲基－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（0.50g）和顺式－2，6－二甲基哌嗪（0.50g）反应，得到6，8－二氟－1－（2，4－二氟苯基）－5－甲基－7－（顺式－3，5－二甲基－1－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（0.51g），m.p.134－136℃，240－243℃。

实施例10

1－环丙基－6－氟－5－甲基－7－（1－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸：

将1－环丙基－6，7－二氟－5－甲基－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（300mg）、无水哌嗪（660mg）和吡啶（5ml）的混合物回流45分钟，减压蒸发溶剂，把乙腈加到残余物中，用冰冷却，滤出沉淀的晶体并溶于4%无水氢氧化钠，用10%乙酸水溶液把该溶液的*PH*值调节至8，用冰冷却。收集沉淀的晶体，用水洗涤，干燥得到1－环丙基－6－氟－5－甲基－7－（1－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（332mg），m.p.223－234℃。

用实施例10介绍的相同方法，得到下述实施例11至15的化合物。

实施例11

1－环丙基－6－氟－5－甲基－7－（4－甲基－1－哌嗪

基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸，m．p．229－230．

实施例12

1－环丙基－6－氟－5－甲基－7－（3－甲基－1－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸，m．p．208－211℃。

实施例13

1－环丙基－6－氟－5－甲基－7－（顺式－3，5－二甲基－1－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸，m．p．245－246℃。

实施例14

7－（3－氨基－1－吡咯烷基）－1－环丙基－6－氟－5－甲基－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸，m．p．268－271℃。

实施例15

7－（3－氨基甲基－1－吡咯烷基）－1－环丙基－6－氟－5－甲基－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸，m．p．207－210℃。

实施例16

1－环丙基－6－氟－5－甲基－7－（1－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸：

（1）采用与实施例10介绍的相同方法，使1－环丙基－6，

7－二氟－5－甲基－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸和1－乙酰基－哌嗪反应，得到7－（4－乙酰基－1－哌嗪基）－1－环丙基－6－氟－5－甲基－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸，m．p．276－277℃。

（2）将上述化合物和20%盐酸的混合物回流5小时，用活性炭处理该混合物并且减压蒸发，把乙腈加到残余物中，滤出沉淀的晶体，得到1－环丙基－6－氟－5－甲基－7－（1－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸，m．p．233－234℃。

参照实施例4

7－（4－乙酰基－1－哌嗪基）－8－氨基－1－环丙基－6－氟－5－甲基－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸：

（1）在冰冷却低于12℃下，将发烟硝酸（40ml）和乙酐（80ml）的混合溶液滴入7－（4－乙酰基－1－哌嗪基）－1－环丙基－6－氟－5－甲基－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（20g）和乙酐（200ml）的混合物中，将该混合物搅拌30分钟，加入冰水，收集沉淀的晶体，用水洗涤，从氯仿－乙醇再结晶，得到7－（4－乙酰基－1－哌嗪基）－1－环丙基－6－氟－5－甲基－8－硝基－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（13．3g），m．p．243－244℃。

（2）在5%钯－炭（80mg）作催化剂的情况下．于60℃，氢化溶于冰乙酸（20ml）的上述化合物（0．55g），在吸收了理论量氢气后，滤出催化剂，减压蒸干滤液，将水和氯仿加入残余物中，分离氯仿层并减压蒸发，从氯仿－乙醇再结晶该残余物，

得到7－（4－乙酰基－1－哌嗪基）－8－氨基－1－环丙基－6－氟－5－甲基－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（0．35g），m．p．140－142℃。

参照实施例5

8－氨基－1－环丙基－6－氟－5－甲基－7－（4－甲基－1－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸：

（1）采用与参照实施例4（1）介绍的相同方法，用发烟硝酸（3．4ml）和乙酐（21ml）处理1－环丙基－6－氟－5－甲基－7－（4－甲基－1－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（1．7g），从氯仿－乙醇再结晶，得到1－环丙基－6－氟－5－甲基－7－（4－甲基－1－哌嗪基）－8－硝基－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（0．7g），m．p．238－240℃。

（2）采用与参照实施例4（2）介绍的相同方法，氢化上述化合物（0．61g），得到8－氨基－1－环丙基－6－氟－5－甲基－7－（4－甲基－1－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（0．38g），m．p．211－212℃。

实施例17

8－氯－1－环丙基－6－氟－5－甲基－7－（1－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸：

（1）在65℃下加热亚硝酸叔丁酯（0．42g）和乙腈（30ml）的混合物，加入氯化亚铜（0．38g），将7－（4－乙酰基－1－哌嗪基－8－氨基－1－环丙基－6－氟－5

－甲基－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（1．0g）加到该混合物中，在65℃下搅拌该混合物35分钟，滤出不溶物质后将滤液在减压下蒸干，把水和氯仿加到残余物中，分离氯仿层，用硫酸钠干燥并减压蒸发，经柱层析提纯该残余物，用氯仿－乙醇再结晶，得到7－（4－乙酰基－1－哌嗪基）－8－氯－1环丙基－6－氟－5－甲基－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（0．31g），m．p．214－215℃。

（2）将上述化合物（0．25g）和15%盐酸的混合物回流5小时，用活性炭处理该混合物，减压蒸发，从乙醇－水使该残余物再结晶，得到8－氯－1－环丙基－6－氟－5－甲基－7－（1－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（0．16g），m．p．＞300℃。

实施例18

8－氯－1－环丙基－6－氟－5－甲基－7－（4－甲基－1－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸：

采用实施例17（1）介绍的相同方法处理8－氨基－1－环丙基－6－氟－5－甲基－7－（4－甲基－1－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（1．8g），得到8－氯－1－环丙基－6－氟－5－甲基－7－（4－甲基－1－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（0．62g），m．p．225－227℃（分解）。

实施例19

1－环丙基－6，8－二氟－5－甲基－7－（4－甲基－1

－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸：

将亚硝酸钠（0.43g）的水（2ml）溶液加入8－氨基－1－环丙基－6－氟－5－甲基－7－（4－甲基－1－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（0.2g）和1N盐酸（33ml）的混合物中，在0℃冷却。在低于5℃下，将60%六氟磷酸（2ml）加到该混合物中，搅拌10分钟，收集沉淀的晶体，依次用乙醇、氯仿和醚洗涤。在搅拌下，于80℃加热晶体和正已烷（50ml）的混合物，收集晶体，加入水和氯仿，在中和水层后，分离氯仿层，用硫酸钠干燥，减压蒸发溶剂，经柱层析提纯残余物，得到1－环丙基－6，8－二氟－5－甲基－7－（4－甲基－1－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸（0.07g），m.p.228－229℃。

实施例20

本发明化合物	250g
淀　粉	50g
乳　糖	35g
滑石粉	15g

将上述化合物与乙醇混合成粒，用常规方法充填进1000颗胶囊。

实施例21

本发明化合物	250g
淀　粉	54g
羧甲基纤维素钙	40g

微晶纤维素　　５０ｇ

硬脂酸镁　　６ｇ

将上述化合物与乙醇混合成粒，用现有公知方法制成片剂，由此得到１０００片片重４００ｍｇ的片剂。

实施例２２

本发明化合物　　５０ｇ

乳　酸　　１２０ｇ

将上述化合物溶于蒸馏水，足以制成１０升溶液，用氢氧化钠水溶液将该溶液的*PH*值调节至约４，然后注入安瓿（１０ｍｌ），制成注射液。

本发明化合物的化学治疗效能及其它一些性质见下文实施例２３－２８所述。被试验的化合物包括：

化合物１：１－环丙基－６，８－二氟－５－甲基－７－（顺式－３，５－二甲基－１－哌嗪基）－１，４二氢－４－氧喹啉－３－羧酸，

化合物２：１－环丙基－６，８－二氟－５－甲基－７－（１－哌嗪基）－１，４－二氢－４－氧喹啉－３－羧酸，

化合物３：７－（３－氨基－１－吡咯烷基）－１－环丙基－６，８－二氟－５－甲基－１，４－二氢－４－氧喹啉－３－羧酸，

化合物４：１－环丙基－６－氟－５－甲基－７－（顺式－３，５－二甲基－１－哌嗪基）－１，４－二氢－４－氧喹啉－３－羧酸，

化合物5：1－环丙基－6－氟－5－甲基－7－（1哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸，

化合物A：1－环丙基－6－氟－7－（1－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸盐酸盐〔ciprofloxacin〕，

化合物B：1－环丙基－6，8－二氟－7－（1－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸，

化合物C：1－环丙基－6，8－二氟－7－（顺式－3，5－二甲基－1－哌嗪基）－1，4－二氧喹啉－3－羧酸，

化合物D：8－氰基－1－环丙基－6－氟－5－甲基－7－（1－哌嗪基）－1，4－二氢－4－氧喹啉－3－羧酸。

实施例23

体外抗菌活性列于表1，表中数据表示最小抑制浓度（MIC）（μg／ml）（根据游离碱计算）。该最小抑制浓度由Japan Society of Chemotherapy（Chemotherapy，29（1），76（1981）建议采用Mueller—Hinton琼脂的双倍琼脂稀释法测定，将Mueller—Hinton肉汤中培养过夜的1全环试验生物接种在陪替氏培养皿中10ml含药琼脂层上，细菌接种体含约10^6克隆单位。在37℃保温20小时后，观察细菌生长，MIC即为阻止可见细菌生长的最低药物浓度。

表 1. 体外抗菌活性

菌株 \ 化合物		1	2	3	4	5	A	B	C	D
革兰氏阳性	S. aureus 209 JC-1	0.05	0.025	0.0125	0.025	0.05	0.1	0.1	0.1	0.1
	S. aureus Terajima	0.05	0.025	0.0125	0.025	0.025	0.1	0.1	0.1	0.1
	S. aureus No. 80	0.0125	0.0125	0.0125	0.05	0.0125	0.39	0.2	0.1	0.1
	S. epidermidis No. 8	0.025	0.025	0.0125	0.05	0.025	0.1	0.1	0.1	0.1
	化脓菌 A65	0.2	0.39	0.2	0.1	0.39	0.2	0.39	0.78	1.56
革兰氏阴性	大肠杆菌NIHJC-2	0.025	0.0063	0.0125	0.0125	0.0125	0.0063	0.0063	0.0125	0.0125
	大肠杆菌P-5101	0.025	0.0063	0.0125	0.025	0.0125	0.0063	0.0063	0.0125	0.0125
	S. marcescens S-9	0.39	0.1	0.05	0.39	0.2	0.05	0.05	0.2	0.39
	P. aeruginosa 12	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.78	0.39

实施例 24

抗衣原体活性列于表2，表中数据表示最小抑制浓度（MIC）（μg／ml）（根据游离碱计算）。

最小抑制浓度（MIC）的测定如下，在补充以4%胎牛血清和0．03%L－谷氨酰胺的伊格尔最小基本培养基（EMEM）（流量）中新鲜培养McCoy细胞。这些细胞受胰蛋白酶作用，并以1－2×10⁵细胞／ml的细胞浓度悬浮于相同培养基中，用滴管吸取1ml该细胞悬浮液 放入带有盖片（直径（12mm）的平底塑料管（直径14mm）内。这些管子在36℃下于含5% CO_2 的空气中保温20小时。将0．5ml衣原体悬浮液（约1－4×10³包涵体形成单位）加入每个管中，然后在1500×g离心60分钟。这些管子在36℃下保温1小时。该培养基为以8%胎牛血清、0．03%L--谷氨酰胺、1μg／ml放线菌酮和0．5%葡萄糖补充的（毫升）EMEM,但各管培养基中所含药物的浓度不同。在36℃下进--步保温40－48小时后，在盖玻璃上的细胞沾染吉姆萨溶液，用放大倍率200－400的显微镜观察到盖玻璃上细胞中的包涵体。该MIC的定义即为在盖片上所有细胞中没有包涵体时所需药物的最低浓度。

表 2．抗衣原体活性

化合物 / 生物	1	2	3	A	B	C	D
C. Trachomatics G/ur 931	0.013	0.05	0.013	1	0.39	0.2	1.56
C. Trachomatics G/ur 1242	0.025	0.10	0.013	1	0.39	0.2	3.13
C. Trachomatics G/ur 1317	0.013	0.10	0.013	2	0.39	0.2	3.13
C. Trachomatics G/ur 1448	0.025	0.10	0.013	1	0.39	0.2	3.13

实施例25

抗支原体活性列于表3，表中数据表示最小抑制浓度（MIC）（μg／ml）（根据游离碱计算）。

用双倍琼脂稀释法测定最小抑制浓度（MIC），所用培养基为Chanock肉汤和琼脂〔补充以20%马血清和10%新鲜酵母提取液的PPLD肉汤和琼脂（Difco）〕用Chanock肉汤将2－3天的生物肉汤培养物稀释至细胞浓度约10^6细胞／ml，在采用多层接种器（Cathra International）的陪替氏培养皿中，于10ml含药药Chanoch琼脂上沾染1全环（约1微米）生物 稀释液，这些陪替氏培养皿在37℃下，为支原体肺炎和另一支原体spp，保温7和2天。根据M.buccale，M. fermemtans，M. hominis，M. orale 和 M. salivarium，采用Gaspak厌氧系统（BBL），在厌氧下完成保温，但是，对于另一支原体spp.，则要求有氧条件。

该MIC的定义为检测不到生物生长时所需最低化合物浓度。

表3. 抗支原体活性

生物 \ 化合物	1	A	C
M. pneumoniae Mac	0.05	0.78	0.2
A. laidlawii PG-8	0.05	0.39	0.39
M. arginini G-230	0.025	0.39	0.39
M. buccale CH-20249	0.025	0.39	0.2
M. fermentans PG-18	0.025	0.2	0.1
M. hominis PG-21	0.05	1.56	0.2
M. orale CH-19299	0.2	1.56	0.78
M. salivarium PG-20	0.1	3.13	0.78
M. hyorhinis BST-7	0.025	0.39	0.1

实施例２６

在鼠体内抗全身感染效力列于表4。

化合物各自悬浮在０．４%羧甲基纤维素中，在下文所示条件下，给经各种试验生物感染的鼠口服各悬浮液，用ｐ值分析计算半数有效剂量（ED_{50}）。表中数字表示ED_{50}（ｍｇ／ｋｇ）值（根据游离碱计算）。

试验条件：

鼠：雄性鼠（ｓｔｄ—ｄｄｙ），体重约２０ｇ，

感染：生脓链球菌Ａｂ５（Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ Ｐｙｏｇｅｎｅｓ Ａ６５）

每个小鼠用悬浮于脑心浸液肉汤的3×10^{7}细胞受腹膜内感染。

绿脓假单胞菌１２（Ｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ ａｅｒｕｇｉｎｏｓａ １２）

每个小鼠用悬浮于tryptosoy肉汤(含4%粘蛋白）的约5×10^{3}细胞受腹膜内感染。

投药法：

投药两次，即在感染后即刻和６小时投药。

观察：７天

表 4.　在小鼠体内抗全身感染效力

生物 \ 化合物	1	2	4	A	B	D
化脓菌 A65	5.01	8.36	7.74	23.9	13.0	>50
P. aeruginosa 12	1.46	1.05	1.88	2.78	1.22	1.64

实施例２７

给雄性鼠（ｄｄｙ）口服含各种浓度的本发明每种化合物的悬浮液，剂量为每１０ｇ体重口服０．１ｍｌ。７天后计算死鼠数目，根据Behrens－Kaerber 法计算半数致死剂量值（LD_{50}，ｍｇ／ｋｇ），结果列于表５。

表５　　小鼠的急性口服毒性

化合物	LD_{50} (mg/kg)
1	>2000
2	>2000
3	>2000
4	>2000
5	>2000

实施例２８

给小鼠口服剂量为５ｍｇ／ｋｇ的含化合物１悬浮液，口服后２４小时内收集尿，采用大肠杆菌Ｋｐ作为指示生物，通过薄层小环平皿法测定尿中化合物含量。

表６．小鼠的尿分泌

化合物	1
浓　度	7.5 g/ml
体　积	14.0 ml
重　量	0.105 mg
２４小时含尿回收率	12.7 %