

## 7-(7-氨基-5-氮杂螺[2,4]庚烷-5-基)-1-环丙基-6-氟-8-甲氧基-1,4-二氢-4-氧代喹啉-3-羧酸及其类似物的合成与抗菌作用

戚建军, 郭慧元\*, 刘明亮, 孙兰英

(中国医学科学院, 中国协和医科大学 医药生物技术研究所, 北京 100050)

**摘要:** 目的 寻找新的广谱、高效、低毒喹诺酮类抗菌药物。方法 设计合成 7-(7-氨基-5-氮杂螺[2,4]庚烷-5-基)-1-环丙基-6-氟-8-甲氧基-1,4-二氢-4-氧代喹啉-3-羧酸及其类似物, 测定其体内外活性。结果 共合成了 20 个新化合物, 经 <sup>1</sup>H NMR, MS 和 HRMS 确证其结构。其中 5 个目标化合物(22 ~ 26) 有广谱活性, 尤其对革兰氏阳性菌具有很强的活性。其中化合物 24 对所试的 13 株革兰氏阳性菌的 MIC 值均 ≤ 0.03 mg·L<sup>-1</sup>, 其活性优于对照药克林沙星和加替沙星, 对所试的 6 株革兰氏阴性菌, 其活性相当于或低于对照药。结论 化合物(22 ~ 26) 值得进一步评价。

**关键词:** 氟喹诺酮; 合成; 抗菌作用

中图分类号: R916.41; R916.693

文献标识码: A

文章编号: 0513 - 4870(2004)03 - 0184 - 06

## Synthesis and antibacterial activity of 7-(7-aminomethyl-5-azaspiro[2,4]hept-5-yl)-1-cyclopropyl-6-fluoro-8-methoxy-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid and its analogues

QI Jian-jun, GUO Hui-yuan\*, LIU Ming-liang, SUN Lan-ying

(Institute of Medicinal Biotechnology, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

**Abstract:** **Aim** To find new antibacterial agents of quinolone with high activity and low toxicity. **Methods** To design and synthesize 7-(7-aminomethyl-5-azaspiro[2,4]hept-5-yl)-1-cyclopropyl-6-fluoro-8-methoxy-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid and its analogues, and to study their antibacterial activity *in vitro* and *in vivo*. **Results** Twenty new compounds (2 - 11, 17 - 26) were obtained including five targeted compounds (22 - 26). The structures of the compounds were confirmed by <sup>1</sup>H NMR, MS and HRMS. Compounds 22 - 26 showed broad spectrum of antibacterial activity against Gram positive and Gram negative organisms. Especially for compound 24, the relevant MIC values for 13 strains of Gram positive organisms were < 0.001 - 0.03 mg·L<sup>-1</sup>, including 4 strains of *S. pneumoniae*, 2 strains of *S. pyogenes*, 3 strains of *S. aureus* and 2 strains of *Enterococci* which exhibited more potent activity than contrast agents (clinafloxacin and gatifloxacin). The MIC values of 24 for 6 strains Gram positive organisms were 0.01 - 1 mg·L<sup>-1</sup>, which exhibited equal or lower activity than contrast agents. They were more effective than ciprofloxacin and gatifloxacin against intraperitoneal infections caused by *S. pneumoniae* and *S. aureus* in mice. **Conclusion** Compounds (23, 24 and 26) showed excellent antibacterial activity *in vitro* and *in vivo* and should be worth further investigation.

**Key words:** fluoroquinolones; synthesis; antibacterial activity

喹诺酮类药物已成为临床上广泛应用的广谱、

高效、低毒的抗感染药物之一。但由于该类药物对某些病原体(如链球菌、铜绿假单胞菌、支原体、衣原体等)的活性相对较弱,以及对幼龄动物的软骨组织损害等缺点,因此,寻找更有效的或毒副作用更小的

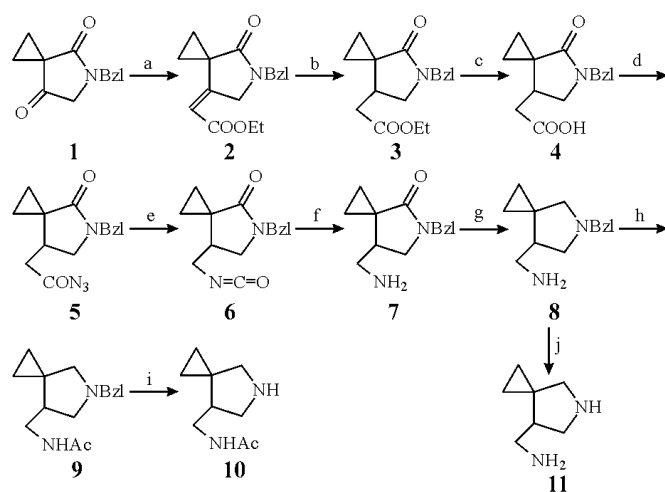
收稿日期: 2003-05-21.

\* 通讯作者 Tel / Fax: 86 - 10 - 63047865,

E-mail: hyguo@public.fhnet.cn.net

新喹诺酮的研究仍是目前的热点领域之一<sup>[1]</sup>。构效关系研究表明<sup>[2]</sup>, C7-位取代基对抗菌谱、抗菌活性和药代动力学均有较大影响。因此,对 C7-位取代基的化学修饰是获得更优秀的新喹诺酮类抗菌药的重要途径之一。基于此,作者设计合成了7-(7-氨基-5-氮杂螺[2,4]庚烷-5-基)-1-环丙基-6-氟-8-甲氧基-1,4-二氢-4-氧代喹啉-3-羧酸及其类似物,并对它们的体内外抗菌活性进行了初步评价。

以5-苄基-4,7-二氧代-5-氮杂螺[2,4]庚烷(1)为起始原料,按图1所示路线制得7-(乙酰)氨基-5-氮杂螺[2,4]庚烷(10和11)。然后按图2所示路线,用10或11分别与5个7-卤代喹诺酮类化合物(12~16)发生亲核取代反应,分别得化合物17~21。最后水解即得目标物22~26。上述工作共合成20个新化合物,其结构均通过<sup>1</sup>H NMR, MS及HRMS确证。化合物17~26的化学结构及理化性质见表1。



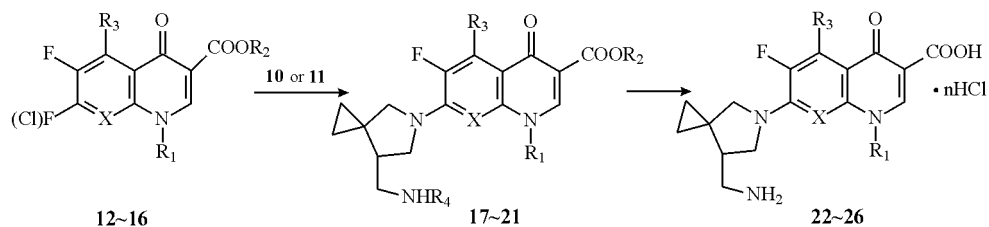
a: NaH, (EtO)<sub>2</sub>POCH<sub>2</sub>COOEt, THF; b: Ni/H<sub>2</sub>, EtOH; c: ① NaOH/H<sub>2</sub>O, EtOH, ② HCl/H<sub>2</sub>O; d: ① Et<sub>3</sub>N, CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>, ClCOOBr, ② Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/H<sub>2</sub>O; e: toluene; f: 6 mol·L<sup>-1</sup> HCl; g: LiAlH<sub>4</sub>, THF; h: Et<sub>3</sub>N, AcCl, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; i: 10% Pd/C, H<sub>2</sub>, EtOH, 506.6 kPa (5 atm); j: 5% Pd/C, H<sub>2</sub>, MeOH, 9118.8 kPa (90 atm)

Scheme 1 Route of synthesis of 7-(acetyl)aminomethyl-5-azaspiro[2,4]heptane

Table 1 Physical constants and spectral data of compounds 17 - 26

Compd. <sup>a</sup>	Mp/ °C	Yield/ %	<sup>1</sup> H NMR/ δ(CF <sub>3</sub> COOD)	EIMS and HRMS
17	224 - 226	85.9	0.61 - 1.02(4H, m, 1', 2'-H), 1.60(3H, d, J = 7.5 Hz, 3-CH <sub>3</sub> ), 2.07(3H, s, COCH <sub>3</sub> ), 2.60 - 2.75(1H, m, 7'-H), 3.20 - 5.10(9H, m, 2, 3, 4', 6'-H and 7'-CH <sub>2</sub> N), 7.95(1H, d, J = 12.0 Hz, 8-H), 9.18(1H, s, 5-H)	429(M <sup>+</sup> ), 387, 357, 342; C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>5</sub> Calcd: 429.1700, Found: 429.1729
18	267 - 270	98.0	0.80 - 1.22(4H, m, 1', 2'-H), 1.41 - 1.72(4H, m, cycl. <sup>b</sup> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 2.41 - 2.46(1H, m, 7'-H), 2.60(3H, s, COCH <sub>3</sub> ), 3.61 - 4.63(7H, m, 4', 6'-H and 7'-CH <sub>2</sub> N, cycl. <sup>b</sup> CH), 9.13(1H, s, 2-H)	446(M <sup>+</sup> ), 402, 374, 359; C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> F <sub>2</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> Calcd: 446.1766, Found: 446.1770
19	98 - 103	77.9	0.68 - 1.09(10H, m, 1', 2'-H and 2 × CH <sub>3</sub> ), 1.12 - 1.44(4H, m, cycl. <sup>b</sup> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 2.13 - 2.28(1H, m, 7'-H), 2.40 - 2.50(4H, m, 2 × OCH <sub>2</sub> ), 2.60 - 4.32(7H, m, 4', 6'-H and 7'-CH <sub>2</sub> N, cycl. <sup>b</sup> CH), 3.60(3H, s, OCH <sub>3</sub> ), 7.85(1H, d, J = 13.5 Hz, 5-H), 9.20(1H, s, 2-H)	484(M <sup>+</sup> - 73, -OCOEt), 384(M <sup>+</sup> - 173, -B(OCOEt) <sub>2</sub> )
20	100 - 105	54.0	0.60 - 1.00(4H, m, 1', 2'-H), 1.46(3H, t, J = 7.5 Hz, CH <sub>3</sub> ), 2.20 - 2.60(1H, m, 7'-H), 3.20 - 4.60(8H, m, 4', 6'-H, 7'-CH <sub>2</sub> N, OCH <sub>2</sub> ), 7.10 - 7.40(2H, m, Ar H), 7.50 - 7.70(1H, m, Ar H), 8.15(1H, d, J = 10.2 Hz, 5-H), 9.10(1H, s, 2-H)	472(M <sup>+</sup> ), 442, 414; C <sub>24</sub> H <sub>23</sub> F <sub>3</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub> Calcd: 472.1722, Found: 472.1766
21	219(dec)	58.1	0.81 - 1.42(8H, m, 1', 2'-H, cycl. <sup>b</sup> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 1.50(3H, t, J = 6.0 Hz, CH <sub>3</sub> ), 2.41 - 2.44(1H, m, 7'-H), 3.40 - 4.65(7H, m, 4', 6'-H and 7'-CH <sub>2</sub> N, cycl. <sup>b</sup> CH), 4.75(2H, q, J = 6.0 Hz, OCH <sub>2</sub> ), 8.05(1H, d, J = 11.7 Hz, 5-H), 9.02(1H, s, 2-H)	400(M <sup>+</sup> ), 370, 357, 342; C <sub>21</sub> H <sub>25</sub> FN <sub>4</sub> O <sub>3</sub> Calcd: 400.1911, Found: 400.1961
22	235 - 237	64.0	0.67 - 0.92(4H, m, 1', 2'-H), 1.61(3H, d, J = 7.5 Hz, CH <sub>3</sub> ), 2.54 - 2.66(1H, m, 7'-H), 3.11 - 5.04(9H, m, 2, 3, 4', 6'-H and 7'-CH <sub>2</sub> N), 7.82(1H, d, J = 12.0 Hz, 8-H), 9.05(1H, s, 5-H)	387(M <sup>+</sup> ), 357, 329, 285; C <sub>20</sub> H <sub>22</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>4</sub> Calcd: 387.1594, Found: 387.1593
23	> 250	44.2	0.90 - 1.22(4H, m, 1', 2'-H), 1.40 - 1.71(4H, m, cycl. <sup>b</sup> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 2.46 - 2.54(1H, m, 7'-H), 3.51 - 4.73(7H, m, 4', 6'-H and 7'-CH <sub>2</sub> N, cycl. <sup>b</sup> CH), 9.27(1H, s, 2-H)	404(M <sup>+</sup> ), 374, 360, 346; C <sub>20</sub> H <sub>22</sub> F <sub>2</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub> Calcd: 404.1660, Found: 404.1632
24	195 - 200	75.6	0.80 - 1.60(8H, m, 1', 2'-H, cycl. <sup>b</sup> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 2.46 - 2.59(1H, m, 7'-H), 3.40 - 4.60(7H, m, 4', 6'-H and 7'-CH <sub>2</sub> N, cycl. <sup>b</sup> CH), 3.75(3H, s, OCH <sub>3</sub> ), 7.20(2H, br, NH <sub>2</sub> ), 8.03(1H, d, J = 13.2 Hz, 5-H), 9.26(1H, s, 2-H)	401(M <sup>+</sup> ), 385, 357, 343; C <sub>21</sub> H <sub>24</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>4</sub> Calcd: 401.1751, Found: 401.1778
25	195 - 200	69.3	0.68 - 1.09(4H, m, 1', 2'-H), 2.27 - 2.62(1H, m, 7'-H), 3.11 - 4.63(6H, m, 4', 6'-H and 7'-CH <sub>2</sub> N), 7.12 - 7.46, 7.42 - 7.70(3H, 2 × m, Ar H), 8.15(1H, d, J = 10.2 Hz, 5-H), 9.10(1H, s, 2-H)	444(M <sup>+</sup> - HCl), 416, 387, 342; C <sub>22</sub> H <sub>19</sub> F <sub>3</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub> <sup>c</sup> Calcd: 444.1409, Found: 444.1433
26	265 - 270	93	0.82 - 1.10, 1.19 - 1.61(8H, m, 1', 2'-H, cycl. <sup>b</sup> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 2.41 - 2.54(1H, m, 7'-H), 3.45 - 4.64(7H, m, 4', 6'-H and 7'-CH <sub>2</sub> N, cycl. <sup>b</sup> CH), 8.07(1H, d, J = 10.2 Hz, 5-H), 9.10(1H, s, 2-H)	372(M <sup>+</sup> - HCl), 328, 314; C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> FN <sub>4</sub> O <sub>3</sub> <sup>c</sup> Calcd: 372.1598, Found: 372.1656

<sup>a</sup>The structure are shown in Scheme 2; <sup>b</sup>cycl.: cyclopropyl; <sup>c</sup>The molecular formula of free base



12, 17 and 22:  $\text{XR}_1 = \text{O} \begin{array}{c} | \\ \text{C} \\ | \\ \text{C} \end{array}$ ,  $\text{R}_2 = \text{R}_3 = \text{H}$ ,  $\text{R}_4 = \text{Ac}$ ,  $n = 0$ ; 13, 18 and 23:  $\text{X} = \text{CF}$ ,  $\text{R}_1 = \text{cyclopropyl}$ ,  $\text{R}_2 = \text{H}$ ,  $\text{R}_3 = \text{NH}_2$ ,  $\text{R}_4 = \text{Ac}$ ,  $n = 0$ ; 14, 19 and 24:  $\text{X} = \text{COMe}$ ,  $\text{R}_1 = \text{cyclopropyl}$ ,  $\text{R}_2 = \text{B}(\text{OCOEt})_2$ ,  $\text{R}_3 = \text{R}_4 = \text{H}$ ,  $n = 0$ ; 15, 20 and 25:  $\text{X} = \text{N}$ ,  $\text{R}_1 = 2,4\text{-difluorophenyl}$ ,  $\text{R}_2 = \text{Et}$ ,  $\text{R}_3 = \text{R}_4 = \text{H}$ ,  $n = 1$ ; 16, 21 and 26:  $\text{X} = \text{N}$ ,  $\text{R}_1 = \text{cyclopropyl}$ ,  $\text{R}_2 = \text{Et}$ ,  $\text{R}_3 = \text{R}_4 = \text{H}$ ,  $n = 1$

Scheme 2 Route of synthesis of the title compounds 22 - 26

对 5 个目标化合物 22 ~ 26 采用试管二倍稀释法测定了它们对 13 株革兰氏阳性菌和 6 株革兰氏阴性菌的最低抑菌浓度,并与加替沙星和克林沙星对照,结果见表 2。由表 2 可见,目标化合物具有广谱活性,总体上说,对革兰氏阳性菌的活性相当于或优于对照药。对革兰氏阴性菌的活性低于或相当于对照药。特别是化合物 24 对 13 株革兰氏阳性菌的 MIC 值均  $< 0.001 \sim 0.03 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,其活性是克林沙星(MIC 值为  $0.06 \sim 0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )的 2 ~ 128 倍,是加

替沙星(MIC 值为  $0.12 \sim 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )的 8 ~ 128 倍。在此基础上,又测定了口服化合物 23, 24 和 26 对小鼠腹腔感染肺炎链球菌 9798 和金葡菌 15 的保护效果,并与环丙沙星和加替沙星作对照,结果见表 3。由表 3 可见,它们的体内活性也明显优于对照药。其中,化合物 24 对肺炎链球菌 9798 的体内活性是加替沙星的 1.7 倍,环丙沙星的 9.5 倍。对金葡菌 15 的体内活性是加替沙星的 4.2 倍,环丙沙星的 12.6 倍。

Table 2 *In vitro* antibacterial activities of the title compounds 22 - 26

Organism	MIC / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$						CLFX <sup>a</sup>	GTFX <sup>b</sup>
	22	23	24	25	26			
<i>S. pneumoniae</i> 31108	0.25	0.03	0.03	1	0.25	0.25	0.5	
<i>S. pneumoniae</i> 9618	0.25	0.002	0.002	0.03	0.03	0.06	0.25	
<i>S. pneumoniae</i> 9757	0.5	0.005	0.03	1	0.25	0.12	0.5	
<i>S. pneumoniae</i> 97100	0.06	<0.001	<0.001	0.03	0.03	0.06	0.12	
<i>S. Pyogenes</i> 961	0.03	0.002	0.002	0.03	0.03	0.06	0.12	
<i>S. Pyogenes</i> 9119	0.03	0.002	0.002	0.06	0.03	0.25	0.12	
<i>S. hemolyticus</i> 15	0.25	0.002	0.03	0.12	0.03	0.06	0.25	
<i>E. faecalis</i> 755	0.12	0.002	0.005	0.06	0.25	0.12	0.5	
<i>E. faecium</i> 9427	0.5	0.03	0.03	1	0.25	0.25	0.5	
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	0.03	0.25	0.03	0.25	0.06	0.25	0.25	
<i>S. aureus</i> 15	0.25	0.12	0.03	0.06	0.002	0.12	0.25	
<i>S. aureus</i> 9776	0.12	1	0.03	1	0.06	0.12	0.25	
<i>S. epidermidis</i> 9710	0.25	0.12	0.03	0.06	0.002	0.12	0.25	
<i>E. coli</i> 26	0.06	0.06	0.01	1	0.03	0.005	0.002	
<i>P. aeruginosa</i> 17	2	8	1	2	2	0.25	1	
<i>K. pneumoniae</i> 14	0.12	0.06	0.03	0.06	0.03	0.005	0.002	
<i>P. vulgaris</i> 9	4	1	0.5	1	1	0.12	0.25	
<i>S. sonnei</i> 51592	0.01	0.12	0.06	1	0.06	0.006	0.002	
<i>S. typhi</i> H901	0.25	0.12	0.03	0.06	0.01	0.005	0.005	

<sup>a</sup> CLFX: clinafloxacin; <sup>b</sup> GTFX: gatifloxacin

**Table 3 Therapeutic effect of compounds 23, 24 and 26 against experimental intraperitoneal infections due to gram positive bacteria in mice**

Organism	Challenge dose CFU/ mouse	Compd.	ED <sub>50</sub> / mg·kg <sup>-1</sup>	95 % confidence limits
<i>S. pneumoniae</i> 9798	9.5 × 10 <sup>4</sup>	23	1.33	0.61 - 2.86
		24	3.07	2.07 - 4.55
		26	1.68	0.73 - 3.89
		CPF <sup>a</sup>	29.06	21.32 - 39.60
		GTF <sup>b</sup>	5.30	3.27 - 8.59
<i>S. aureus</i> 15	7.0 × 10 <sup>5</sup>	23	0.76	0.30 - 1.95
		24	0.39	0.18 - 0.81
		26	0.90	0.40 - 1.99
		CPF <sup>a</sup>	4.92	3.10 - 7.81
		GTF <sup>b</sup>	1.65	1.22 - 2.23

<sup>a</sup> CPF<sup>a</sup>: ciprofloxacin; <sup>b</sup> GTF<sup>b</sup>: gatifloxacin

## 实验部分

熔点测定使用 X6 精密熔点测定仪,温度未校正;核磁共振氢谱使用 Mercury-300 核磁共振仪测定,TMS 为内标;质谱用 VG ZAB-2fz 质谱仪测定。化合物 1,13,15,16 和对照品克林沙星、加替沙星分别按文献<sup>[3-8]</sup>制备。化合物 12,14 和对照品环丙沙星分别由北京双鹤药业公司、浙江新昌制药厂和天津中央制药厂友情提供。

### 1 5-苄基-4-氧代-7-乙氧羰基亚甲基-5-氮杂螺[2,4]庚烷(2)

60%的氢氧化钠(8.0 g,0.2 mol)分散于无水四氢呋喃(280 mL)中,在氮气保护下,于-15~-10℃滴加膦酸乙酸三乙酯(45.0 g,0.2 mol),滴完再于室温搅拌1.5 h,加入化合物 1(41.0 g,0.2 mol)溶于无水四氢呋喃(80 mL)的溶液,再于室温搅拌2 h,加入乙酸乙酯(1 L)稀释,用饱和食盐水洗3次,无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥,蒸去溶剂,残余物用硅胶柱分离纯化,环己烷和乙酸乙酯梯度洗脱,得 2。浅黄色结晶,mp 70~72℃,重 41.3 g(产率 80.4%)。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ:1.19~1.79(7H,m,-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>和 CH<sub>3</sub>),4.10(2H,q,J=7.0 Hz,OCH<sub>2</sub>),4.47(2H,s,NCH<sub>2</sub>Ph),4.69(2H,s,6-H),5.30(1H,s,=CH),7.26~7.36(5H,m,Ar H)。EIMS(*m/z*):285(M<sup>+</sup>),256(M<sup>+</sup>-29,-Et),240(M<sup>+</sup>-45,-OEt),212(M<sup>+</sup>-73,-COOEt),91(基峰,PhCH<sub>2</sub><sup>+</sup>)。HRMS:MF:C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>3</sub>,Calcd:285.1365,Found:285.1362。

### 2 5-苄基-4-氧代-7-乙氧羰基甲基-5-氮杂螺[2,4]庚烷(3)

化合物 2(5.0 g,17.5 mmol),活性镍(2.5 g)和

EtOH(100 mL)于反应釜中,室温 303.96 kPa(3 atm)氢压下搅拌氢化 4 h,滤去催化剂,蒸干溶剂,得 3。浅黄色油状物,重 4.9 g(产率 97.3%)。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ:0.72~1.16(4H,m,CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>),1.21(3H,t,J=7.1 Hz,CH<sub>3</sub>),2.25~2.28(2H,m,CH<sub>2</sub>CO),2.63~2.67(1H,m,7-H),2.98~3.03,3.55~3.61(2H,2×m,6-H),4.08(2H,q,J=7.1 Hz,OCH<sub>2</sub>),4.49(2H,s,CH<sub>2</sub>Ph),7.22~7.36(5H,m,Ar H)。EIMS(*m/z*):287(M<sup>+</sup>),258(M<sup>+</sup>-29,-Et),242(M<sup>+</sup>-45,-OEt),200(M<sup>+</sup>-87,-CH<sub>2</sub>COOEt),91(基峰,PhCH<sub>2</sub><sup>+</sup>)。HRMS:MF:C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub>,Calcd:287.1521,Found:287.1522。

### 3 5-苄基-4-氧代-7-羧甲基-5-氮杂螺[2,4]庚烷(4)

化合物 3(4.5 g,15.7 mmol)5% NaOH 水溶液(35 mL)和 EtOH(35 mL),室温搅拌 3 h,减压浓缩至 1/2 体积,加水(35 mL),用稀盐酸调至 pH 3~4,CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 提取,饱和食盐水洗涤,无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥,蒸去溶剂,得 4。白色固体,mp 130~131℃,重 3.8 g(产率 93.6%)。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ:0.74~1.19(4H,m,CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>),2.29~2.32(2H,m,CH<sub>2</sub>CO),2.61~2.65(1H,m,7-H),2.99~3.05,3.56~3.62(2H,2×m,6-H),4.49(2H,s,CH<sub>2</sub>Ph),7.21~7.35(5H,m,Ar H)。EIMS(*m/z*):259(M<sup>+</sup>),214(M<sup>+</sup>-45,-COOH),200(M<sup>+</sup>-59,-CH<sub>2</sub>COOH),91(基峰,PhCH<sub>2</sub><sup>+</sup>)。HRMS:MF:C<sub>15</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>3</sub>,Calcd:259.1208,Found:285.1219。

### 4 5-苄基-4-氧代-7-叠氮羰基甲基-5-氮杂螺[2,4]庚烷(5)

化合物 4(10.0 g,38.6 mmol)溶于丙酮(50 mL),于-5~0℃依次滴加三乙胺(4.8 g,48.0 mmol)、氯甲酸异丁酯(6.4 g,47.0 mmol)。滴完搅拌反应 1 h,同温下再滴加叠氮化钠(5.6 g,86.2 mmol)和水(2.5 mL)的溶液,约 30 min 加毕,同温下继续搅拌 1 h,加冰水(150 mL),用甲苯提取,饱和食盐水洗涤,无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥,减压蒸去溶剂,得 5。黄色油状物,重 10.9 g(产率 99.4%),无需精制,直接用于下步反应。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ:0.71~1.24(4H,m,CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>),2.32~2.38(1H,m,7-H),2.86~3.60(4H,m,6-H,CH<sub>2</sub>CO),4.50(2H,s,CH<sub>2</sub>Ph),7.22~7.37(5H,m,Ar H)。

### 5 5-苄基-4-氧代-7-异氰酸甲基-5-氮杂螺[2,4]庚烷(6)

化合物 5(10.9 g,38.4 mmol)和无水甲苯(100 mL),加热回流 2.5 h,减压蒸去溶剂得 6,黄色油状

物,重 9.5 g (产率 96.5%) ,无需精制,直接用于下步反应。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 0.67 ~ 1.14 (4H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.27 ~ 2.33 (1H, m, 7-H), 2.70 ~ 3.47 (4H, m, 6-H, CH<sub>2</sub>NCO), 4.25 ~ 4.62 (2H, m, CH<sub>2</sub>Ph), 7.19 ~ 7.34 (5H, m, Ar H)。

#### 6 5-苄基-4-氧代-7-氨基-5-氮杂螺[2,4]庚烷(7)

化合物 6 (9.0 g, 35.2 mmol) 和 8 mol·L<sup>-1</sup> 盐酸 (70 mL), 搅拌加热回流 30 min, 加水 (50 mL), 乙酸乙酯洗两次 (50 mL × 2), 水层用氢氧化钠水溶液调至 pH 8 ~ 9, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 提取 (30 mL × 3), 饱和食盐水洗涤, 无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 减压蒸去溶剂, 得 7, 黄色油状物, 重 5.1 g (产率 62.9%)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 0.76 ~ 1.20 (6H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>), 2.43 ~ 2.61 (1H, m, 7-H), 2.93 ~ 3.40 (4H, m, 6-H, CH<sub>2</sub>N), 4.05 ~ 4.81 (2H, m, CH<sub>2</sub>Ph), 7.18 ~ 7.36 (5H, m, Ar H)。EIMS (*m/z*): 230 (M<sup>+</sup>), 200 (M<sup>+</sup> - 30, -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 91 (基峰, PhCH<sub>2</sub><sup>+</sup>)。

#### 7 5-苄基-7-氨基-5-氮杂螺[2,4]庚烷(8)

化合物 7 (5.1 g, 22.1 mmol) 溶于无水四氢呋喃 (25 mL), 将其缓慢滴加到用冰浴冷却的四氢锂铝 (4.1 g, 110 mmol) 和无水四氢呋喃 (120 mL) 的悬浮液中, 滴完于室温搅拌 30 min, 再加热回流 5 h。于冰浴冷却下依次缓慢滴加水 (4 mL), 15% NaOH (4 mL) 和水 (12 mL), 室温搅拌 20 min, 滤去不溶物, 蒸干四氢呋喃, 残物用 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 萃取, 饱和食盐水洗涤, 无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 浓缩得 8, 无色油状物, 重 3.8 g (产率 79.3%)。无需精制, 直接用于下步反应。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 0.34 ~ 0.71 (4H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.75 (2H, br, NH<sub>2</sub>), 1.89 ~ 2.10 (1H, m, 7-H), 2.44 ~ 2.62 (5H, m, 4-H, 6-H, CH<sub>2</sub>N), 3.07 ~ 3.12 (1H, m, 6-H), 3.56, 3.62 (2H, 2 × s, CH<sub>2</sub>Ph), 7.22 ~ 7.35 (5H, m, Ar H)。EIMS (*m/z*): 186 (M<sup>+</sup> - 30, -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 158 (M<sup>+</sup> - 58, -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>=CH<sub>2</sub>), 91 (基峰, PhCH<sub>2</sub><sup>+</sup>)。

#### 8 5-苄基-7-乙酰胺甲基-5-氮杂螺[2,4]庚烷(9)

将化合物 8 (12.3 g, 56.9 mmol)、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (200 mL) 和三乙胺 (9.5 mL, 68.0 mmol) 混合, 于室温滴加 AcCl (4.47 g, 57.0 mmol), 加毕, 继续搅拌 0.5 h, 饱和食盐水洗涤, 无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 蒸去溶剂, 残物用硅胶柱分离, 得 9, 浅黄色油状物, 重 10.3 g (产率 70%)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 0.45 ~ 0.72 (4H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.98 (3H, s, CH<sub>3</sub>CO), 2.00 ~ 2.15 (1H, m, 7-H), 2.47 (1H, d, *J* = 9 Hz, 6-H), 2.79 (1H, d, *J* = 9 Hz,

6-H), 2.84 ~ 2.89 (2H, m, 4-H), 3.06 ~ 3.20 (2H, m, CH<sub>2</sub>N), 3.64, 3.67 (2H, 2 × s, CH<sub>2</sub>Ph), 7.12 (1H, br, NH), 7.26 ~ 7.34 (5H, m, Ar H)。EIMS (*m/z*): 258 (M<sup>+</sup>), 186 (M<sup>+</sup> - 72, -CH<sub>2</sub>NHCOCH<sub>3</sub>), 158 (M<sup>+</sup> - 100, -CH<sub>2</sub>NHCOCH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>=CH<sub>2</sub>), 91 (基峰, PhCH<sub>2</sub><sup>+</sup>)。HRMS: MF: C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O, Calcd: 258.173 2, Found: 258.173 8。

#### 9 7-乙酰氨基甲基-5-氮杂螺[2,4]庚烷(10)

化合物 9 (3.0 g, 11.6 mmol), 10% Pd/C (0.55 g) 和乙醇 (50 mL), 在反应釜中于 506.6 kPa (5 atm) 氢压下室温搅拌 15 h, 滤除催化剂, 蒸去溶剂, 得 10, 黄色油状物, 重 1.8 g (产率 89.6%)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 0.53 ~ 0.95 (4H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.00 (3H, s, CH<sub>3</sub>CO), 2.10 ~ 2.20 (1H, m, 7-H), 2.77 ~ 3.40 (6H, m, 4-H, 6-H, CH<sub>2</sub>N), 4.35 (1H, br, NH), 6.56 (1H, br, NH)。EIMS (*m/z*): 167 (M<sup>+</sup> - 1), 140 (M<sup>+</sup> - 28, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 96 (M<sup>+</sup> - 72, -CH<sub>2</sub>NHAc), 68 (基峰, M<sup>+</sup> - 100, -CH<sub>2</sub>NHAc, -CH<sub>2</sub>=CH<sub>2</sub>)。HRMS: MF + H: C<sub>9</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>O, Calcd: 169.134 1, Found: 169.135 8。

#### 10 7-氨基-5-氮杂螺[2,4]庚烷(11)

化合物 8 (2.3 g, 10.6 mmol), 甲醇 (40 mL) 和 5% Pd/C (1.0 g), 于反应釜中, 90 °C, 9 118.8 kPa (90 atm) 氢气压下氢化 24 h, 滤去催化剂, 浓缩得 11, 浅黄色油状物, 重 0.8 g (产率 44.7%)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 0.41 ~ 0.92 (4H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.75 ~ 1.84 (1H, m, 7-H), 2.50 ~ 3.43 (9H, m, 4-H, 6-H, CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, NH)。HRMS: MF: C<sub>7</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>, Calcd: 126.115 7, Found: 126.115 5。

#### 11 9-氟-3-(S)-甲基-10-(7-乙酰氨基甲基-5-氮杂螺[2,4]庚烷-5-基)-7-氧代-2,3-二氢-7H 吡啶并[1,2,3-de][1,4]苯并噁嗪-6-羧酸(17)

化合物 12 (1.8 g, 6.4 mmol), 二甲亚砜 (12 mL), 三乙胺 (2 mL) 和 10 (1.7 g, 10.4 mmol) 于 90 °C 搅拌 1.5 h, 降至室温, 滤出固体, 水充分洗涤, 干燥得 17。物理常数和光谱数据见表 1。下同。

#### 12 5-氨基-1-环丙基-6,8-二氟-7-(7-乙酰氨基甲基-5-氮杂螺[2,4]庚烷-5-基)-1,4-二氢-4-氧代喹啉-3-羧酸(18)

同上法, 由 13 和 10 制得。

#### 13 1-环丙基-6-氟-7-(7-氨基-5-氮杂螺[2,4]庚烷-5-基)-8-甲氧基-1,4-二氢-4-氧代喹啉-3-羧酸-硼-二丙酸酐(19)

化合物 14 (1.6 g, 3.6 mmol), 乙腈 (18 mL), 三乙

胺(0.9 mL, 6.6 mmol)和11(1.2 g, 6.6 mmol),于室温搅拌15 h,减压蒸干,残物用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 溶解,饱和食盐水洗涤,无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,蒸去溶剂,残物用硅胶板分离纯化,得19。

14 1-(2,4-二氟苯基)-6-氟-7-(7-氨基-5-氮杂螺[2,4]庚烷-5-基)-1,4-二氢-4-氧代-1,8-萘啶-3-羧酸乙酯(20)

化合物15(1.1 g, 2.8 mmol)、吡啶(16 mL)和11(0.8 g, 5.1 mmol)室温搅拌3 h,过滤,滤饼用乙酸乙酯(60 mL)溶解,水充分洗涤,无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,蒸干溶剂,得20。

15 1-环丙基-6-氟-7-(7-氨基-5-氮杂螺[2,4]庚烷-5-基)-1,4-二氢-4-氧代-1,8-萘啶-3-羧酸乙酯(21)

同上法,由16和11制得。

16 9-氟-3(5)-甲基-10-(7-氨基-5-氮杂螺[2,4]庚烷-5-基)-7-氧代-2,3-二氢-7H吡啶并[1,2,3-de][1,4]苯并噁嗪-6-羧酸(22)

化合物17(1.0 g, 2.3 mmol)和14% NaOH水溶液(10 mL),搅拌加热回流15 h,冷至室温,用醋酸调pH至10~11,过滤,滤液用醋酸进一步调至pH 7.0,搅拌0.5 h,滤出固体,将固体用30%醋酸水溶液溶解滤去少量不溶物,用氨水调至pH 7.0,过滤,滤饼用水洗涤,干燥,得22。

17 5-氨基-1-环丙基-6,8-二氟-7-(7-氨基-5-氮杂螺[2,4]庚烷-5-基)-1,4-二氢-4-氧代喹啉-3-羧酸(23)

同上法由18制得。

18 1-环丙基-6-氟-7-(7-氨基-5-氮杂螺[2,4]庚烷-5-基)-8-甲氧基-1,4-二氢-4-氧代喹啉-3-羧酸(24)

化合物19(0.9 g, 1.6 mmol)和5% NaOH水溶液(5 mL),室温搅拌1.5 h,过滤,滤液用醋酸调pH至7.0,滤出固体,用水充分洗涤,干燥得24。

19 1-(2,4-二氟苯基)-6-氟-7-(7-氨基-5-氮杂螺[2,4]庚烷-5-基)-1,4-二氢-4-氧代-1,8-萘啶-3-羧酸盐(25)

化合物20(0.3 g, 0.7 mmol)、1 mol·L<sup>-1</sup>盐酸(5 mL)和乙醇(5 mL),加热回流3 h,减压蒸出约一半溶剂后降至室温,滤出固体,用乙醇洗涤,干燥得25。

20 1-环丙基-6-氟-7-(7-氨基-5-氮杂螺[2,4]庚烷-5-基)-1,4-二氢-4-氧代-1,8-萘啶-3-羧酸盐(26)

同上法由21制得。

## 21 体外抗菌活性测定

将各种试验菌接种于pH 8.0,经过灭菌的MH(DIFCO)培养基2 mL中,于37℃培养18 h,用MH汤稀释成1/200,作为试验菌液备用。采用试管二倍稀释法,将待测各化合物分别用少量适当溶剂溶解后,以二倍递减浓度稀释,分别加入上述备用菌液0.1 mL,于37℃培养18 h,观察其生成情况,记录抑制细菌生成的最低浓度,即最低抑菌浓度(MIC),结果见表2。

## 22 体内抗菌活性测定

选用健康ICR品系小白鼠,♀♂各半,体重18~21 g,随机分组,每组10只,分别经ip用5%胃膜素稀释的使动物感染100%致死量的肺炎链球菌9798和金葡菌15的感染菌液,感染后1 h分别一次ig预先配制的适当浓度的各药液0.2 mL。观察动物死亡数,用Bliss程序分别计算各样品对小鼠感染后的半数保护剂量(ED<sub>50</sub>)。结果见表3。

致谢:中国医科院药研所代测核磁共振谱和质谱;本所药理室代测体内外抗菌活性。

## References:

- [1] Zhang ZP. New progress for research of quinolones [J]. *Chin J Antibiot* (中国抗生素杂志), 1999, 24(1): 61-68.
- [2] Guo HY, Gu HE. Advances on chemistry of pyridonecarboxylic acid [J]. *World Notes on Antibiot* (国外医药抗生素分册), 1999, 20(3): 97-108.
- [3] Isao H, Shohgo A, Masazumi I, et al. Azaspiro n, m alkanes and diazaspiron, n-alkanes [P]. *EP pat*: 0529688, 1993-03-03.
- [4] Qi JJ, Li SY, Liu ML, et al. Synthesis of sparfloxacin [J]. *Chin J Pharm* (中国医药工业杂志), 2001, 32(9): 387-389.
- [5] Liu ML, Sun LY, Wei YG, et al. Synthesis of tosufloxacin p-tosylate [J]. *Chin J Pharm* (中国医药工业杂志), 2003, 34(4): 157-158.
- [6] Isao H. 1, 8-Naphthyridine derivatives [P]. *Jpn Pat*: 85172981, 1985-09-06.
- [7] Qi JJ, Tian ZM, Guo HY. Synthesis of clinafloxacin [J]. *Chin J Pharm* (中国医药工业杂志), 2001, 31(8): 337-338.
- [8] Liu JY, Tian ZM, Guo HY. An attempted new synthesis of gatifloxacin [J]. *Chin J Pharm* (中国医药工业杂志), 2001, 32(10): 433-437.