含噻吩并[3,2-*c*]吡啶 α -氨基磷酸酯类衍生物的合成及生物活性的研究马姣丽^a 朱文娟^a 李 静^a 纪 朋^b 朱智志^b 廖新成^{*,a}^(a) 郑州大学化学与分子工程学院 郑州 450052)^(b) 河南中烟工业有限责任公司 郑州 450016)

摘要 以 3-噻吩甲醛和氨基乙醛缩二甲醇为原料, 经亲核加成、还原、取代、成环、甲酰化反应, 得到 2-醛基噻吩并[3,2-*c*]吡啶(**4**), 然后与亚磷酸酯、芳香胺发生类 Mannich 反应得到一系列新型含有噻吩并[3,2-*c*]吡啶环的 α -氨基磷酸酯类衍生物 **6a**~**6p**. 所有目标化合物的结构均经 ¹H NMR, ¹³C NMR, ³¹P NMR, IR 和 MS 确证. 初步的生物活性测定试验表明, 在 50 μ g/mL 浓度下, 大部分目标化合物对食管癌细胞(EC109)、人体肝癌细胞(HepG2)表现出较好的抑癌活性, 其中化合物 **6k** 和 **6o** 对人体肝癌细胞的抑制率超过 90%.

关键词 α -氨基磷酸酯; 噻吩并[3,2-*c*]吡啶; 合成

Synthesis and Biological Activities of α -Aminophosphonates Derivatives Containing Thieno[3,2-*c*]pyridineMa, Jiaoli^a Zhu, Wenjuan^a Li, Jing^a Ji, Peng^b Zhu, Zhizhi^b Liao, Xincheng^{*,a}^(a) College of Chemistry and Molecular Engineering, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052)^(b) Henan Tobacco Industry Co., LTD., Zhengzhou 450016)

Abstract A series of novel α -aminophosphonate derivatives containing thieno[3,2-*c*]pyridine (**6a**~**6p**), which have never been reported in literature, were synthesized from thieno[3,2-*c*]pyridine-2-carbaldehyde, phosphate ester and aromatic amine by the Mannich-type reaction. Thieno[3,2-*c*]pyridine-2-carbaldehyde (**4**) was produced via nucleophilic addition reaction, reduction, substitution reaction, cyclization, formylation using 3-thiophene formaldehyde and 2,2-dimethoxyethanamine as the starting material. The structures of all compounds have been confirmed by ¹H NMR, ¹³C NMR, ³¹P NMR, IR and MS techniques. The preliminary results of biological tests indicated that most of the title compounds exhibit relatively good anticancer activity against EC109, HepG2 at the concentration of 50 μ g/mL, especially compounds **6k** and **6o** have more than 90% inhibitory rate against HepG2.

Keywords α -aminophosphonate; thieno[3,2-*c*]pyridine; synthesis

噻吩并吡啶类化合物在结构上类似于喹啉与异喹啉, 是一类具有重要的生理活性和药用价值的杂环化合物, 目前已经证实许多含有噻吩并吡啶环的化合物具有杀菌^[1]、除草^[2]及抗血栓活性^[3]等用途, 正因为噻吩并吡啶化合物具有这种独特的结构及表现出来的众多生物活性, 所以它们的合成引起了人们广泛的研究兴趣. 同时, α -氨基磷酸酯具有抗植物病毒^[4]、抗菌^[5]、抑制酶活性^[6]及调节植物生长^[7,8]等生物活性, 其合成方法和生物活性一直是人们研究的热点之一. 根据活性叠加原理, 我们设计合成了一系列含噻吩并[3,2-*c*]吡啶 α -氨基磷酸酯类衍生物, 利用 ¹H NMR, ¹³C NMR, ³¹P NMR 和 IR 对

其进行表征, 并初步测定了上述化合物对食管癌细胞、人体肝癌细胞两种癌细胞的抑癌活性. 目标化合物的合成路线如 Scheme 1 所示.

1 结果与讨论

1.1 化合物的合成

通过文献查阅, 由醛、胺和亚磷酸酯三组分合成 α -氨基磷酸酯的方法可分为两种: 一是采用亚胺加成法, 即先使醛和胺反应成亚胺, 再和亚磷酸酯反应生成目标产物^[9], 实验发现这样产率低, 时间较长, 合成的亚胺

* E-mail: lxc66@zzu.edu.cn; xiaojiaoli1986@163.com

Received January 19, 2013; revised March 5, 2013; published online March 14, 2013.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 21171149).

国家自然科学基金(No. 21171149)资助项目.

5a: $R^1 = \text{CH}_3$, 5b: $R^1 = \text{Et}$, 5c: $R^1 = i\text{-C}_3\text{H}_7$

$R^1 = \text{CH}_3$, $R^2 = \text{H}$ (6a), $o\text{-CH}_3$ (6b), $m\text{-CH}_3$ (6c), $p\text{-Cl}$ (6d), $o\text{-Cl}$ (6e), $p\text{-NO}_2$ (6f); $R^1 = \text{Et}$, $R^2 = p\text{-CH}_3$ (6g), $o\text{-CH}_3$ (6h), $m\text{-CH}_3$ (6i), $o\text{-Cl}$ (6j);

$R^1 = i\text{-C}_3\text{H}_7$, $R^2 = \text{H}$ (6k), $p\text{-CH}_3$ (6l), $o\text{-CH}_3$ (6m), $m\text{-CH}_3$ (6n), $p\text{-Cl}$ (6o), $p\text{-NO}_2$ (6p)

Scheme 1

不稳定, 易分解, 不易提纯; 另外一种方法是由醛、胺和亚磷酸酯三组分进行“一锅煮”反应直接得到目标产物, 该方法已经有大量的文献报道^[10-16], 采用“一锅煮”法大部分要使用有机溶剂和金属催化剂, 在此我们用甲苯作溶剂采用了“一锅煮”^[10-12]的方法, TLC 跟踪反应, 使操作步骤更为简便。

1.2 化合物的图谱分析

1.2.1 红外光谱

IR 图谱中, 在 3430 cm^{-1} 附近的宽吸收峰氨基的 N—H 伸缩振动峰, 3100 cm^{-1} 附近为芳环的 C—H 伸缩振动吸收峰, $2976, 2926\text{ cm}^{-1}$ 附近为甲基和亚甲基的 C—H 伸缩振动吸收峰, $1660, 1600, 1450\text{ cm}^{-1}$ 附近是芳环的骨架振动吸收峰, 1230 cm^{-1} 附近为 P=O 的伸缩振动吸收峰, 1105 cm^{-1} 附近为 P—O—C 的伸缩振动吸收峰, $890, 793, 650\text{ cm}^{-1}$ 可归属为芳环 C—H 的面外弯曲振动。

1.2.2 核磁共振氢谱

以 6k~6p 为例, 由于 P 原子与芳环的空间位阻使 P—O—C 键旋转受阻, 磷酸酯的两个异丙基分别处于苯环的屏蔽区和去屏蔽区, 核磁不等价, 四个甲基和次甲基裂分为多重峰, 在 6g~6j 和 6a~6f 中也有此现象, P 原子 α 碳上的氢的化学位移在 $4.66\sim 4.96$ 之间, 由于 CH—NH 间的自旋耦合作用, 与氮相连的氢出现 dd 峰, 在 $\delta 4.75\sim 5.35$ 之间, $\delta 6.70\sim 9.00$ 为芳环和杂环上氢的共振吸收。

1.2.3 质谱

ESI-MS 图谱中, 所有目标化合物均给出了 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 大部分出现了 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 峰和 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 对于化合物 6k~6p 和 6g~6j, 都是先脱去两分子乙烯或丙烯, 再脱去磷酸分子。

1.3 化合物的生物活性

为了考查噻吩并[3,2-c]吡啶环和不同取代基团对化

合物生物活性的影响, 采用 MTT 比色法对所合成的目标化合物进行了抑癌作用的试验, 以 DMSO 为溶剂将目标化合物配制成浓度为 5 mg/mL 的溶液, 采用溶液梯度稀释法设 3 个浓度梯度, 分别为 $50, 10, 5\text{ }\mu\text{g/mL}$, 定量测定其对食管癌细胞(EC109), 人体肝癌细胞(HepG2)两种癌细胞的抑癌效果, 以 5-氟尿嘧啶作为阳性对照药物。测试发现浓度越大化合物的抑癌效果越好。6a~6p 在浓度为 $50\text{ }\mu\text{g/mL}$ 时的抑癌活性结果见表 1。

表 1 化合物 6a~6p 的抑癌性数据(抑制率/%)

Table 1 Anticancer activity of compounds 6a~6p (inhibitory ratio/%)

Compd.	EC109	HepG2
6a	6.8	35.2
6b	9.6	35.9
6c	79.9	76.9
6d	49.0	69.4
6e	51.2	69.2
6f	61.8	33.9
6g	61.3	74.4
6h	59.0	72.0
6i	88.4	89.7
6j	84.9	78.6
6k	86.2	91.7
6l	80.2	76.5
6m	68.8	62.0
6n	77.4	64.8
6o	86.6	92.0
6p	70.3	61.9
5-Fluorouracil	54.5	54.2

初步生物活性测定结果表明(见表 1): 在 $50\text{ }\mu\text{g/mL}$ 浓度下, 所有目标化合物食管癌细胞、人体肝癌细胞均表现出不同程度的抑制作用。其中化合物 6i ($R^1 = \text{Et}$, $R^2 = m\text{-CH}_3$), 6o ($R^1 = i\text{-C}_3\text{H}_7$, $R^2 = p\text{-Cl}$) 对食管癌细胞抑癌效果尤为突出, 抑制率分别达到 88.4% , 86.6% ; 远远高于对照药剂 5-氟尿嘧啶; 而对人体肝癌细胞的抑制作用, 化合物 6o ($R^1 = i\text{-C}_3\text{H}_7$, $R^2 = p\text{-Cl}$) 的抑癌效果最好,

抑制率高达 92.0%, 其次是化合物 **6k** ($R^1=i\text{-C}_3\text{H}_7$, $R^2=\text{H}$)和 **6i** ($R^1=\text{Et}$, $R^2=m\text{-CH}_3$), 抑制率分别为 91.7%和 89.7%, 以上结果为今后研究该类化合物结构与活性的关系提供了一定的实验数据, 有一定的参考价值, 进一步的结构优化与研究正在进行中。

2 结论

用甲苯作溶剂, 由胺、醛和亚磷酸酯“一锅煮”发生类 Mannich 反应合成 α -氨基膦酸酯, TCL 跟踪反应, 比先由胺和醛反应生成亚胺, 然后亚胺和亚磷酸酯反应更简便, 且产率较高。并用 ^1H NMR, ^{13}C NMR, ^{31}P NMR, IR 和 MS 对产物结构进行了表征。研究了目标化合物的抑癌活性, 大部分化合物具有一定的抑癌活性, 其中化合物 **6k** 和 **6o** 对人体肝癌细胞的抑制超过 90%高于其目标化合物, 具有进一步研究的价值, 这为今后继续从事含噻吩并[3,2-*c*]吡啶 α -氨基膦酸酯衍生物的结构优化与研究奠定了基础。

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

XTA4 型显微熔点测定仪(温度未经校正); Bruker DPX-400 型超导核磁共振仪(TMS 作内标); Bruker Esquire 3000 型离子阱液相质谱仪; Shimadzu-408 型红外光谱测定仪; Waters Micromass 公司 Q-ToF MicroTM 高分辨质谱仪; 柱层析硅胶(200~300 目); 青岛海洋化工厂分厂; 薄层层析硅胶(GF254); 甲苯用无水硫酸镁干燥; 本实验所用其它药品均为国产分析纯试剂。

3.2 实验方法

3.2.1 2,2-二甲基-*N*-[(3-噻吩基)甲基]乙胺(**1**)的制备

称取 22.4 g 3-噻吩甲醛, 26.6 g 氨基乙醛缩二甲醇, 0.2 g 对甲苯磺酸, 200 mL 无水乙醇, 回流 3 h。冷却至 5 $^{\circ}\text{C}$, 加入 7.6 g 硼氢化钠, 回流 30 min, 减压蒸馏, 加水溶解, 用乙酸乙酯(300 mL $\times$ 2)萃取, 合并有机相后用无水硫酸钠干燥, 浓缩得黄色油状液体化合物 **1**。

3.2.2 *N*-(2,2-二甲氧基)-4-甲基-*N*-[(3-噻吩基)甲基]苯磺酰胺(**2**)的合成

取 35 g 化合物 **1**, 200 mL 乙酸乙酯于 500 mL 圆底烧瓶中, 在 0 $^{\circ}\text{C}$ 下加入 15.8 g 三乙胺, 30 g 对甲苯磺酰氯, 溶解后在常温下搅拌 12 h。反应结束后, 依次用蒸馏水, 0.1 mol/L 盐酸, 饱和碳酸钠洗, 蒸去溶剂, 所得粘稠油状液体经柱层析分离, 得白色晶体化合物 **2**。

3.2.3 噻吩并[3,2-*c*]吡啶(**3**)的合成

取 10 g 化合物 **2**, 30 mL 1,4-二氧六环于 100 mL 圆底烧瓶中, 加入 15 mL 浓盐酸, 回流 12 h。冷至室温, 用

二氯甲烷萃取, 水相用碳酸氢钠中和后用二氯甲烷萃取, 合并有机相, 蒸去溶剂, 得褐色油状液体, 用柱层析纯化, 得 1.5 g 黄色晶体化合物 **3**^[17]。

3.2.4 2-醛基噻吩并[3,2-*c*]吡啶(**4**)的制备

取 13.5 g 化合物 **3** 溶解在 200 mL 四氢呋喃中, 在 -78 $^{\circ}\text{C}$ 下缓慢滴加 44 mL 2.5 mol $\cdot\text{L}^{-1}$ 正丁基锂的正己烷溶液, 滴加完毕后搅拌 5 min, 然后逐滴加入 8 g 二甲基甲酰胺, 滴加完毕后继续在 -78 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌 1 h, 撤去冷阱, 室温搅拌 16 h, 反应液用 0.1 mol/L 的盐酸洗涤, 然后用饱和 NaHCO_3 洗涤, CH_2Cl_2 萃取(100 mL $\times$ 2), 合并有机相, 蒸去溶剂, 用柱层析纯化, 得土黄色粉末固体化合物 **4**^[18]。

3.2.5 亚磷酸二异丙酯(**5c**)的制备

量取 46 mL 无水异丙醇置于 100 mL 干燥的三口烧瓶中, 冰盐浴(温度 $<5^{\circ}\text{C}$), 缓慢滴加 18 mL 三氯化磷, 2.0 h 滴加完毕, 继续低温反应 2 h, 撤去冰浴, 待反应体系恢复至室温, 蒸出溶剂, 减压蒸馏, 收集 80~85 $^{\circ}\text{C}$ (1.35 kPa)的馏分, 收率: 88.7%。同法制得亚磷酸二甲酯和亚磷酸二乙酯^[19]。

3.2.6 目标化合物含噻吩并[3,2-*c*]吡啶 α -氨基膦酸酯 **6a**~**6p** 的合成

取 1.63 g (0.01 mol) 化合物 **4** 于 100 mL 圆底烧瓶中, 加入 20 mL 无水甲苯, 1.09 mL (0.012 mol) 苯胺, 3.17 mL (0.015 mol) 亚磷酸二异丙酯 **5c**, 回流 12 h, 蒸去溶剂, 用柱层析纯化, 得黄色油状液体 **6k**^[10]。其余目标化合物均参照此法合成。

O,O'-二甲基- α -苯基氨基- α -噻吩并[3,2-*c*]吡啶-2-基甲基膦酸酯(**6a**): 黄色粘稠状物质, 产率 60%。 ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 9.47 (s, 1H, ArH), 8.38 (d, $J=6.88$ Hz, 1H, ArH), 8.26 (d, $J=6.48$ Hz, 1H, ArH), 7.74 (s, 1H, ArH), 6.98 (d, $J=15.08$ Hz, 2H, ArH), 6.68 (d, $J=7.96$ Hz, 2H, ArH), 6.51 (t, $J=13.20$ Hz, 1H, ArH), 5.88 (t, $J=14.60$ Hz, 1H, CH), 4.90 (dd, $J=5.36, 21.48$ Hz, 1H, NH), 3.53 (s, 6H, 2OCH₃); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 167.43, 159.40, 151.41, 148.19, 140.51, 137.13, 135.03, 129.23, 120.38, 117.22, 113.34, 52.51, 47.46; ^{31}P NMR (CDCl_3 , 162 MHz) δ : 11.80; IR (KBr) ν : 3430, 2974, 1662, 1454, 1400, 1234, 1051, 825, 763, 584 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 349.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 371.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. HRMS calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{NaO}_3\text{PS}$ 371.0595, found 371.0593。

O,O'-二甲基- α -(2-甲基苯基)氨基- α -噻吩并[3,2-*c*]吡啶-2-基甲基膦酸酯(**6b**): 黄色粘稠状物质, 产率 57%。 ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 9.36 (s, 1H, ArH), 8.35 (d, $J=5.44$ Hz, 1H, ArH), 7.96 (d, $J=5.52$ Hz, 2H, ArH), 7.67 (d, $J=6.24$ Hz, 1H, ArH), 7.05 (s, 1H, ArH), 6.70 (d,

$J=8.80$ Hz, 1H, ArH), 6.18 (s, 1H, ArH), 5.77 (s, 1H, CH), 4.83 (dd, $J=5.2, 22.52$ Hz, 1H, NH), 3.55 (s, 6H, 2OCH_3), 2.50 (s, 3H, ArCH_3); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 159.04, 151.43, 148.25, 147.77, 140.29, 136.80, 135.12, 129.07, 120.38, 119.22, 114.52, 54.08, 47.59, 22.63; ^{31}P NMR (CDCl_3 , 162 MHz) δ : 11.34; IR (KBr) ν : 3432, 3333, 3129, 2362, 1659, 1611, 1453, 1400, 1234, 1077, 757, 569 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 363.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{NaO}_3\text{PS}$ 385.0752, found 385.0748.

O,O'-二甲基- α -(3-甲基苯基)氨基- α -噻吩并[3,2-*c*]吡啶-2-基甲基磷酸酯(**6c**): 黄色粘稠状物质, 产率 55%. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 9.42 (s, 1H, ArH), 8.38 (d, $J=6.40$ Hz, 1H, ArH), 8.24 (d, $J=6.44$ Hz, 1H, ArH), 7.71 (s, 1H, ArH), 6.85 (t, $J=15.36$ Hz, 1H, ArH), 6.51 (s, 1H, ArH), 6.46 (d, $J=7.92$ Hz, 1H, ArH), 6.33 (d, $J=7.36$ Hz, 1H, ArH), 5.79 (t, $J=14.64$ Hz, 1H, CH), 4.89 (dd, $J=5.56, 21.56$ Hz, 1H, NH), 3.57 (s, 6H, 2OCH_3), 2.07 (s, 3H, ArCH_3); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 159.20, 151.45, 148.07, 140.35, 138.34, 135.11, 129.14, 120.37, 118.30, 114.08, 110.49, 52.56, 49.06, 21.68; ^{31}P NMR (CDCl_3 , 162 MHz) δ : 11.64; IR (KBr) ν : 3431, 2966, 2251, 2125, 1660, 1453, 1400, 1234, 1054, 823, 761, 615, 587 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 363.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 385.0 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 361.0 $[\text{M}-\text{H}]^-$. HRMS calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{NaO}_3\text{PS}$ 385.0752, found 385.0751.

O,O'-二甲基- α -(4-氯代苯基)氨基- α -噻吩并[3,2-*c*]吡啶-2-基甲基磷酸酯(**6d**): 黄色粘稠状物质, 产率 52%. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 9.48 (s, 1H, ArH), 8.41 (d, $J=6.48$ Hz, 1H, ArH), 8.27 (d, $J=6.44$ Hz, 1H, ArH), 7.72 (s, 1H, ArH), 6.74 (d, $J=8.52$ Hz, 2H, ArH), 6.46 (d, $J=8.44$ Hz, 2H, ArH), 6.34 (t, $J=13.68$ Hz, 1H, CH), 4.96 (dd, $J=5.72, 21.64$ Hz, 1H, NH), 3.54 (s, 6H, 2OCH_3); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 158.57, 151.47, 147.20, 147.09, 140.52, 136.97, 135.14, 128.80, 120.39, 119.98, 114.75, 52.56, 47.44; ^{31}P NMR (CDCl_3 , 162 MHz) δ : 11.52; IR (KBr) ν : 3425, 2251, 1662, 1597, 1494, 1400, 1237, 1053, 824, 762, 626, 572 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 383.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 381.5 $[\text{M}-\text{H}]^-$. HRMS calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{ClN}_2\text{NaO}_3\text{PS}$ 405.0205, found 405.0201.

O,O'-二甲基- α -(2-氯代苯基)氨基- α -噻吩并[3,2-*c*]吡啶-2-基甲基磷酸酯(**6e**): 黄色粘稠状物质, 产率 51%. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 9.39 (s, 1H, ArH), 8.25 (d, $J=6.08$ Hz, 1H, ArH), 8.04 (d, $J=6.40$ Hz, 1H, ArH), 7.81 (s, 1H, ArH), 6.97 (t, $J=15.80$ Hz, 1H, ArH), 6.54~6.61 (m,

3H, ArH), 5.53 (s, 1H, CH), 4.96 (d, $J=22.60$ Hz, 1H, NH), 3.50 (s, 6H, 2OCH_3); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 159.40, 151.22, 147.86, 141.33, 138.01, 135.12, 129.20, 119.77, 117.56, 110.89, 50.80, 47.46; ^{31}P NMR (CDCl_3 , 162 MHz) δ : 11.87; IR (KBr) ν : 3435, 3333, 3184, 2925, 1661, 1613, 1454, 1400, 1166, 1074, 783, 586 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 363.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{ClN}_2\text{NaO}_3\text{PS}$ 405.0205, found 405.0203.

O,O'-二甲基- α -(4-硝基苯基)氨基- α -噻吩并[3,2-*c*]吡啶-2-基甲基磷酸酯(**6f**): 黄色粘稠状物质, 产率 50%. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 9.51 (s, 1H, ArH), 8.41 (d, $J=24.04$ Hz, 1H, ArH), 7.77 (s, 1H, ArH), 7.58 (s, 1H, ArH), 7.19~7.29 (m, 3H, ArH), 6.99 (s, 1H, CH), 5.04 (d, $J=15.88$ Hz, 1H, NH), 3.49 (s, 6H, 2OCH_3); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 159.94, 151.13, 149.09, 140.36, 138.80, 135.57, 129.10, 119.90, 117.61, 114.34, 110.41, 53.34, 47.86; ^{31}P NMR (CDCl_3 , 162 MHz) δ : 10.89; IR (KBr) ν : 3431, 3330, 2962, 1661, 1597, 1446, 1400, 1237, 1050, 974, 768, 683, 598 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 394.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{NaO}_5\text{PS}$ 416.0446, found 416.0445.

O,O'-二乙基- α -(4-甲基苯基)氨基- α -噻吩并[3,2-*c*]吡啶-2-基甲基磷酸酯(**6g**): 黄色粘稠状物质, 产率 61%. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 8.98 (s, 1H, ArH), 8.37 (s, 1H, ArH), 7.68 (s, 1H, ArH), 7.50 (s, 1H, ArH), 6.94 (d, $J=8.24$ Hz, 2H, ArH), 6.63 (d, $J=8.36$ Hz, 2H, ArH), 5.11 (dd, $J=6.16, 24.44$ Hz, 1H, NH), 4.78~4.82 (m, 1H, CH), 3.96~4.14 (m, 4H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 2.18 (s, 3H, ArCH_3), 1.21~1.25 (m, 6H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 147.25, 145.01, 144.11, 143.58, 143.45, 141.92, 129.86, 128.68, 120.90, 117.23, 114.09, 63.60, 53.84, 20.39, 16.30; ^{31}P NMR (CDCl_3 , 162 MHz) δ : 17.90; IR (KBr) ν : 3436, 3333, 3179, 2960, 1663, 1615, 1452, 1400, 1238, 1162, 1098, 929, 785, 714, 594 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 391.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 413.2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. HRMS calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3\text{PS}$ 391.1245, found 391.1242.

O,O'-二乙基- α -(2-甲基苯基)氨基- α -噻吩并[3,2-*c*]吡啶-2-基甲基磷酸酯(**6h**): 黄色粘稠状物质, 产率 63%. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 8.97 (s, 1H, ArH), 8.37 (d, $J=4.00$ Hz, 1H, ArH), 7.67 (d, $J=5.36$ Hz, 1H, ArH), 7.49 (d, $J=3.68$ Hz, 1H, ArH), 7.01 (t, $J=15.52$ Hz, 1H, ArH), 6.47~6.57 (m, 3H, ArH), 5.12 (dd, $J=5.00, 24.56$ Hz, 1H, NH), 4.77~4.82 (m, 1H, CH), 3.94~4.22 (m, 4H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 2.21 (s, 3H, ArCH_3), 1.22~1.29 (m, 6H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 147.09,

145.78, 145.19, 143.83, 142.13, 139.20, 129.21, 120.86, 120.32, 114.77, 110.82, 63.61, 53.45, 21.54, 16.34; ^{31}P NMR (CDCl_3 , 162 MHz) δ : 19.71; IR (KBr) ν : 3425, 2997, 1662, 1400, 1226, 1052, 824, 762, 627 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 391.3 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 389.0 $[\text{M} - \text{H}]^-$. HRMS calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{NaO}_3\text{PS}$ 413.1065, found 413.1060.

O,O'-二乙基- α -(3-甲基苯基)氨基- α -噻吩并[3,2-*c*]吡啶-2-基甲基膦酸酯(**6i**): 黄色粘稠状物质, 产率 59%. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 8.97 (s, 1H, ArH), 8.37 (d, $J=4.00$ Hz, 1H, ArH), 7.67 (d, $J=5.36$ Hz, 1H, ArH), 7.49 (d, $J=3.68$ Hz, 1H, ArH), 7.01 (t, $J=15.52$ Hz, 1H, ArH), 6.47~6.57 (m, 3H, ArH), 5.12 (dd, $J=5.00$, 24.56 Hz, 1H, NH), 4.77~4.82 (m, 1H, CH), 3.94~4.22 (m, 4H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 2.21 (s, 3H, ArCH_3), 1.22~1.29 (m, 6H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 147.09, 145.78, 145.19, 143.83, 142.13, 139.20, 129.21, 120.86, 120.32, 114.77, 110.82, 63.61, 53.45, 21.54, 16.34; ^{31}P NMR (CDCl_3 , 162 MHz) δ : 19.71; IR (KBr) ν : 3432, 3331, 3131, 1660, 1612, 1453, 1400, 1168, 776, 590 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 391.2 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 413.2 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. HRMS calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3\text{PS}$ 391.1245, found 391.1244.

O,O'-二乙基- α -(2-氯代苯基)氨基- α -噻吩并[3,2-*c*]吡啶-2-基甲基膦酸酯(**6j**): 黄色粘稠状物质, 产率 55%. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 8.96 (s, 1H, ArH), 8.39 (d, $J=5.16$ Hz, 1H, ArH), 7.66 (d, $J=5.40$ Hz, 1H, ArH), 7.51 (d, $J=3.72$ Hz, 1H, ArH), 7.02 (t, $J=16.12$ Hz, 1H, ArH), 6.67~6.74 (m, 2H, ArH), 6.55~6.58 (m, 1H, ArH), 5.41 (t, $J=16.76$ Hz, 1H, CH), 5.11 (dd, $J=7.80$, 24.64 Hz, 1H, NH), 3.96~4.24 (m, 4H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 1.21~1.28 (m, 6H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 147.33, 146.96, 145.42, 142.76, 142.50, 135.00, 130.32, 121.22, 119.05, 113.88, 111.81, 63.99, 53.19, 16.43; ^{31}P NMR (CDCl_3 , 162 MHz) δ : 19.22; IR (KBr) ν : 3431, 3330, 3168, 2987, 1661, 1597, 1446, 1400, 1050, 974, 768, 683, 598 cm^{-1} ; ESI-MS m/z (%): 411.2 $[\text{M} + \text{H}]^+$. HRMS calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{ClN}_2\text{O}_3\text{PS}$ 411.0699, found 411.0694.

O,O'-二异丙基- α -苯基氨基- α -噻吩并[3,2-*c*]吡啶-2-基甲基膦酸酯(**6k**): 黄色粘稠状物质, 产率 65%. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 9.01 (s, 1H, ArH), 8.41 (s, 1H, ArH), 7.70 (s, 1H, ArH), 7.50 (d, $J=3.40$ Hz, 1H, ArH), 7.15 (t, $J=14.60$ Hz, 2H, ArH), 6.76 (t, $J=15.50$ Hz, 1H, ArH), 6.69 (d, $J=8.00$ Hz, 2H, ArH), 5.31 (dd, $J=8.40$, 24.80 Hz, 1H, NH), 5.01~5.09 (m, 2H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 4.66~4.71 (m, 1H, CH), 1.12~1.36 (m, 12H, $2\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 146.88,

146.09, 145.97, 145.10, 143.91, 142.13, 129.25, 120.81, 120.74, 119.12, 113.78, 72.48, 53.95, 24.01; ^{31}P NMR (CDCl_3 , 162 MHz) δ : 17.75; IR (KBr) ν : 3436, 3334, 3192, 1660, 1612, 1468, 1454, 1234, 1170, 1104, 995, 781, 746, 590 cm^{-1} ; ESI-MS m/z (%): 405.2 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 427.2 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. HRMS calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3\text{PS}$ 405.1402, found 405.1400.

O,O'-二异丙基- α -(4-甲基苯基)氨基- α -噻吩并[3,2-*c*]吡啶-2-基甲基膦酸酯(**6l**): 黄色粘稠状物质, 产率 63%. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 9.00 (s, 1H, ArH), 8.40 (s, 1H, ArH), 7.70 (s, 1H, ArH), 7.51 (s, 1H, ArH), 7.16 (t, $J=14.84$ Hz, 2H, ArH), 6.70 (d, $J=8.00$ Hz, 2H, ArH), 5.14 (dd, $J=6.72$, 24.48 Hz, 1H, NH), 5.02~5.08 (m, 2H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 4.89~4.93 (m, 1H, CH), 2.41 (s, 3H, ArCH_3), 1.23~1.33 (m, 12H, $2\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 147.11, 145.90, 145.77, 145.23, 143.59, 142.22, 129.38, 120.98, 120.90, 119.42, 113.93, 64.00, 53.53, 51.99, 16.43; ^{31}P NMR (CDCl_3 , 162 MHz) δ : 19.35; IR (KBr) ν : 3436, 3333, 3124, 1661, 1609, 1499, 1454, 1241, 1163, 1050, 1023, 879, 786, 751, 693, 592 cm^{-1} ; ESI-MS m/z (%): 419.2 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 441.3 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. HRMS calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_3\text{PS}$ 419.1558, found 419.1557.

O,O'-二异丙基- α -(2-甲基苯基)氨基- α -噻吩并[3,2-*c*]吡啶-2-基甲基膦酸酯(**6m**): 黄色粘稠状物质, 产率 58%. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 9.00 (s, 1H, ArH), 8.45 (s, 1H, ArH), 7.84 (d, $J=6.40$ Hz, 2H, ArH), 7.50 (s, 1H, ArH), 7.29 (d, $J=6.48$ Hz, 1H, ArH), 6.71 (d, $J=8.56$ Hz, 2H, ArH), 5.05 (dd, $J=7.20$, 24.78 Hz, 1H, NH), 4.75~4.78 (m, 2H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 4.68~4.72 (m, 1H, CH), 2.26 (s, 3H, ArCH_3), 1.21~1.35 (m, 12H, $2\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 147.07, 146.26, 145.90, 144.01, 142.24, 139.27, 129.01, 120.46, 117.03, 114.60, 110.23, 68.54, 53.78, 52.00, 22.66; ^{31}P NMR (CDCl_3 , 162 MHz) δ : 17.13; IR (KBr) ν : 3432, 3330, 2984, 1663, 1598, 1446, 1400, 1239, 1052, 973, 819, 570 cm^{-1} ; ESI-MS m/z (%): 419.2 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 441.2 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. HRMS calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_3\text{PS}$ 419.1558, found 419.1555.

O,O'-二异丙基- α -(3-甲基苯基)氨基- α -噻吩并[3,2-*c*]吡啶-2-基甲基膦酸酯(**6n**): 黄色粘稠状物质, 产率 59%. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 8.99 (s, 1H, ArH), 8.39 (s, 1H, ArH), 7.68 (s, 1H, ArH), 7.50 (s, 1H, ArH), 7.04 (t, $J=15.24$ Hz, 1H, ArH), 6.49~6.60 (m, 3H, ArH), 5.06 (dd, $J=7.28$, 24.84 Hz, 1H, NH), 4.75~4.78 (m, 2H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 4.68~4.70 (m, 1H, CH), 2.24 (s, 3H, ArCH_3), 1.23~1.37 (m, 12H, $2\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100

MHz) δ : 146.91, 146.14, 146.01, 144.05, 142.33, 139.18, 129.21, 120.23, 117.07, 114.77, 110.82, 72.79, 54.03, 52.47, 21.57; ^{31}P NMR (CDCl_3 , 162 MHz) δ : 17.31; IR (KBr) ν : 3435, 3288, 2979, 2928, 1663, 1604, 1489, 1448, 1241, 1176, 1104, 993, 891, 771, 719, 692, 601 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 419.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 441.2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. HRMS calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_3\text{PS}$ 419.1558, found 419.1555.

O,O'-二异丙基- α -(4-氯代苯基)氨基- α -噻吩并[3,2-*c*]吡啶-2-基甲基膦酸酯(**6o**): 黄色粘稠状物质, 产率 52%. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 8.97 (s, 1H, ArH), 8.37 (d, $J=5.56$ Hz, 1H, ArH), 7.66 (d, $J=5.56$ Hz, ArH), 7.46 (d, $J=3.72$ Hz, 1H, ArH), 7.07 (d, $J=8.84$ Hz, 2H, ArH), 6.60 (d, $J=8.88$ Hz, 2H, ArH), 4.96 (s, 1H, CH), 4.98 (dd, $J=7.60, 32.92$ Hz, 1H, NH), 4.63 ~ 4.80 (m, 2H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.11 ~ 1.35 (m, 12H, $2\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 146.87, 145.40, 144.75, 143.25, 142.52, 136.06, 129.21, 123.91, 121.00, 117.09, 115.00, 72.92, 54.13, 52.58, 23.79; IR (KBr) ν : 3433, 3330, 3172, 2981, 2932, 1708, 1660, 1602, 1494, 1451, 1237, 1175, 997, 892, 820, 727, 653, 595 cm^{-1} ; ^{31}P NMR (CDCl_3 , 162 MHz) δ : 17.17; ESI-MS m/z : 439.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{ClN}_2\text{O}_3\text{PS}$ 439.1012, found 439.1013.

O,O'-二异丙基- α -(4-硝基苯基)氨基- α -噻吩并[3,2-*c*]吡啶-2-基甲基膦酸酯(**6p**): 黄色粘稠状物质, 产率 49%. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 9.00 (s, 1H, ArH), 8.40 (d, $J=5.44$ Hz, 1H, ArH), 8.05 (s, 1H, ArH), 7.70 (d, $J=5.52$ Hz, 1H, ArH), 7.51 (d, $J=2.64$ Hz, 1H, ArH), 7.28 (s, 1H, ArH), 6.70 (d, $J=8.56$ Hz, 2H, ArH), 5.85 (d, $J=6.72$ Hz, 1H, CH), 5.12 (dd, $J=7.76, 24.60$ Hz, 1H, NH), 4.63 ~ 4.81 (m, 2H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.23 ~ 1.25 (d, $J=6.24$ Hz, 12H, $2\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 146.91, 146.00, 145.87, 144.89, 143.30, 142.11, 126.18, 120.81, 120.57, 119.00, 112.48, 87.95, 64.78, 8.61; ^{31}P NMR (CDCl_3 , 162 MHz) δ : 16.33; IR (KBr) ν : 3436, 3333, 3131, 2928, 1662, 1606, 1452, 1239, 1176, 1106, 999, 843, 752, 592 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 450.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 477.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. HRMS calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_5\text{PS}$ 450.1253, found 450.1248.

致谢 本文目标化合物的生物活性测试实验由郑州大学药学院药理学测试中心协助测定完成, 在此对他们的帮助表示诚挚的谢意!

References

- [1] Zhou, H. B.; Cui, Z. P.; Liu, J. C. *J. Huazhong Normal Univ. (Nat. Sci.)* **2005**, 39(3), 343 (in Chinese). (周红斌, 崔泽平, 刘建超, 华中师范大学学报(自然科学版), **2005**, 39(3), 343.)
- [2] Liu, J. C.; He, H. W. *Chin. J. Appl. Chem.* **2010**, 27(10), 1161 (in Chinese). (刘建超, 贺红武, 应用化学, **2010**, 27(10), 1161.)
- [3] Pu, X. F.; Liu, P.; Fu, X. L. *Drugs Clin.* **2012**, 27(1), 43 (in Chinese). (卜晓斐, 刘鹏, 付晓丽, 现代药物与临床, **2012**, 27(1), 43.)
- [4] Song, B. A.; Jiang, M. G.; Wu, Y. L.; He, X. Q.; Yang, S.; Jin, L. H.; Liu, G. Y. *Chin. J. Org. Chem.* **2003**, 23, 967 (in Chinese). (宋宝安, 蒋木庚, 吴扬兰, 何湘琼, 杨松, 金林红, 刘刚, 有机化学, **2003**, 23, 967.)
- [5] Li, J. P.; Liu, R. J.; Hou, Y. *Chin. J. Appl. Chem.* **2008**, 25(10), 1243 (in Chinese). (李建平, 刘锐杰, 侯瑛, 应用化学, **2008**, 25(10), 1243.)
- [6] TanaKa, F.; Kincshita, K.; Tanimura, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 2332.
- [7] Cao, L.; Wang, Y. G.; Song, X. J. *Chin. J. Org. Chem.* **2005**, 25(8), 1007 (in Chinese). (曹蕾, 汪焱钢, 宋新建, 有机化学, **2005**, 25(8), 1007.)
- [8] Zhang, G. P.; Wang, W.; Song, B. A. *Chin. J. Org. Chem.* **2007**, 27(2), 279 (in Chinese). (张国平, 王伟, 宋宝安, 有机化学, **2007**, 27(2), 279.)
- [9] Arsanious, M. H. N.; Isaac, Y. A.; Boulos, L. S. *Heteroat. Chem.* **2001**, 12, 594.
- [10] Liao, X. C.; Liu, L.; Guo, Y. C.; Cao, S. X.; Rong, C. L.; Zhao, Y. F. *Chin. J. Org. Chem.* **2006**, 26(2), 233 (in Chinese). (廖新成, 刘伦, 郭艳春, 曹书霞, 荣垂林, 赵玉芬, 有机化学, **2006**, 26(2), 233.)
- [11] Wu, X. L.; Gao, W. X.; Ma, B.; Wang, Z.; Han, C.; Cao, S. X.; Liao, X. C. *Chin. J. Org. Chem.* **2009**, 29(9), 1429 (in Chinese). (武现丽, 高伟霞, 马兵, 王珍, 韩超, 曹书霞, 廖新成, 有机化学, **2009**, 29(9), 1429.)
- [12] Song, B. A.; Jiang, M. G.; Wu, Y. L.; He, X. Q.; Yang, S.; Jin, L. H.; Liu, G.; Hu, D. Y. *Chin. J. Org. Chem.* **2003**, 23, 961 (in Chinese). (宋宝安, 蒋木庚, 吴扬兰, 何湘琼, 杨松, 金林红, 刘刚, 胡德禹, 有机化学, **2003**, 23, 961.)
- [13] Bhagat, S.; Chakraborti, A. K. *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 1263.
- [14] Bhagat, S.; Chakraborti, A. K. *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 6029.
- [15] Li, J. P.; Chou, J. K.; Li, H. J. *Chin. J. Org. Chem.* **2011**, 19(1), 78 (in Chinese). (李建平, 仇记宽, 李会娟, 有机化学, **2011**, 19(1), 78.)
- [16] Zhang, G. P.; Xia, Y. *Chin. J. Org. Chem.* **2010**, 30(3), 449 (in Chinese). (张国平, 夏燕, 有机化学, **2010**, 30(3), 449.)
- [17] James, H. W.; Michael, L. D.; Robert, T. V. *J. Heterocycl. Chem.* **1993**, 30(1), 289.
- [18] Zhijian, L.; Joann, B.; Tom, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, 15(23), 5311.
- [19] Wang, Z.; Wu, X. L.; Gao, W. X.; Zhang, Q.; Ge, H. Y.; Liao, X. C. *Chem. Reag.* **2009**, 31(12), 981 (in Chinese). (王珍, 武现丽, 高伟霞, 张谦, 葛会玉, 廖新成, 化学试剂, **2009**, 31(12), 981.)

(Cheng, F.)