



Original Article

Variable Temperature NMR Experiment Studying Cyanopyridone Structure

Bui Thai Thanh Thu, Mac Dinh Hung, Pham Quang Trung*

VNU University of Science, 334 Nguyen Trai, Thanh Xuan, Hanoi, Vietnam

Received 14 August 2023

Revised 13 September 2023; Accepted 24 October 2023

Abstract: In this study, we describe the NMR ^1H -NMR, JMOD- ^{13}C -NMR and HSQC at variable temperatures to determine the structure of the pyridone compound with specific conformation, which causes the unavailable signal at 298K. The experiment of different NMR spectra at variable temperatures helps to confirm the structure of the product of a three-component reaction.

Keywords: NMR spectroscopy, sulfur, multicomponent reaction, pyridone.

* Corresponding author.

E-mail address: trungpham781@hus.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.5590>

Ứng dụng phổ NMR nhiệt độ thay đổi trong xác định cấu trúc cyanopyridone

Bùi Thái Thanh Thư, Mạc Đình Hùng, Phạm Quang Trung*

*Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội,
334 Nguyễn Trãi, Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam*

Nhận ngày 14 tháng 8 năm 2023

Chỉnh sửa ngày 13 tháng 8 năm 2023; Chấp nhận đăng ngày 24 tháng 10 năm 2023

Tóm tắt: Trong bài báo này, chúng tôi trình bày việc sử dụng phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ và HSQC với các điều kiện nhiệt độ thay đổi để xác định cấu trúc của các hợp chất có hệ liên hợp đặc biệt và đặc trưng cấu trúc phân tử dẫn đến việc mất các tín hiệu phổ trong điều kiện thường. Phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ và HSQC ở điều kiện nhiệt độ thay đổi đã được khảo sát và góp phần quan trọng trong việc chứng minh cấu trúc của sản phẩm hình thành sau phản ứng đa tác nhân tổng hợp các hợp chất pyridone.

Từ khóa: Phổ cộng hưởng từ hạt nhân, lưu huỳnh, phản ứng đa tác nhân, pyridone.

1. Mở đầu

Các hợp chất dị vòng chứa nguyên tử Nitơ đóng vai trò cực kỳ quan trọng trong lĩnh vực dược phẩm với vai trò là khung cấu trúc cơ bản trong rất nhiều hoạt chất trong thuốc đã được sử dụng. Một trong những hợp chất phổ biến nhất của các dị vòng này là pyridine ($\text{C}_6\text{H}_5\text{N}$), với hơn 7000 cấu trúc thuốc đang được sử dụng có chứa khung pyridine trong phân tử. Các nghiên cứu gần đây đã chứng minh rằng, khung cấu trúc 3-Cyanopyrid-2-ones (Hình 1), với sự có mặt của liên kết $\text{C}=\text{C}$ và hợp phần cyanide CN có tác dụng làm tăng đáng kể các hoạt tính sinh học so với cấu trúc ban đầu của pyridine [1]. Ứng dụng của các hợp chất 3-Cyanopyrid-2-ones được trải dài trong nhiều lĩnh vực, như được sử dụng làm tiền chất trong nghiên cứu phát triển thuốc chống bệnh lao, chống vi khuẩn, chống ung thư và gần đây nhất là các nghiên cứu phát triển thuốc chống SARS-Cov-2. Năm 2021, Sancho và cộng sự cũng công bố các nghiên cứu về phát triển hợp chất

Synuclean-D A ứng dụng trong sàng lọc các thuốc tiềm năng ứng dụng điều trị bệnh Parkinson [2]. Trong nghiên cứu này, ngoài việc đề xuất các con đường tổng hợp hiệu quả, các tác giả còn chứng minh sự cần thiết của khung cấu trúc pyridone tới hiệu quả sinh dược học của Synuclean-D. Cheney cũng công bố nghiên cứu về ảnh hưởng của các nhóm chức cyanide cũng như pyridone tới hoạt tính sinh học của các hợp chất này trong vai trò ức chế Pim-1 kinase [3]. Cấu trúc tinh thể của hợp chất B với Pim-1 chỉ ra rằng nhóm chức pyridone có khả năng ức chế tâm hoạt động của protein kinase. Nhóm tác giả đã sàng lọc và đưa ra khung cấu trúc tối ưu B để có thể phát triển thành các hoạt chất ức chế chọn lọc Pim-1.

Panda và cộng sự dựa vào sàng lọc HTS và phát triển định hướng đã tổng hợp hợp chất cyanopyridone C có nồng độ $\text{IC}_{50}=0.006\text{micromol}$ rất tiềm năng trong phát triển thuốc điều trị lao [4]. Bằng việc sử dụng phản ứng đa tác nhân, Abadi và cộng sự đã tổng hợp thành công các hợp chất 4,6-diaryl-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carbonitriles D [5]. Các hợp chất này cũng có hoạt tính ức chế protein p38 MAP kinase rất tốt với chỉ số IC_{50} ở mức $0.07\ \mu\text{M}$ [5].

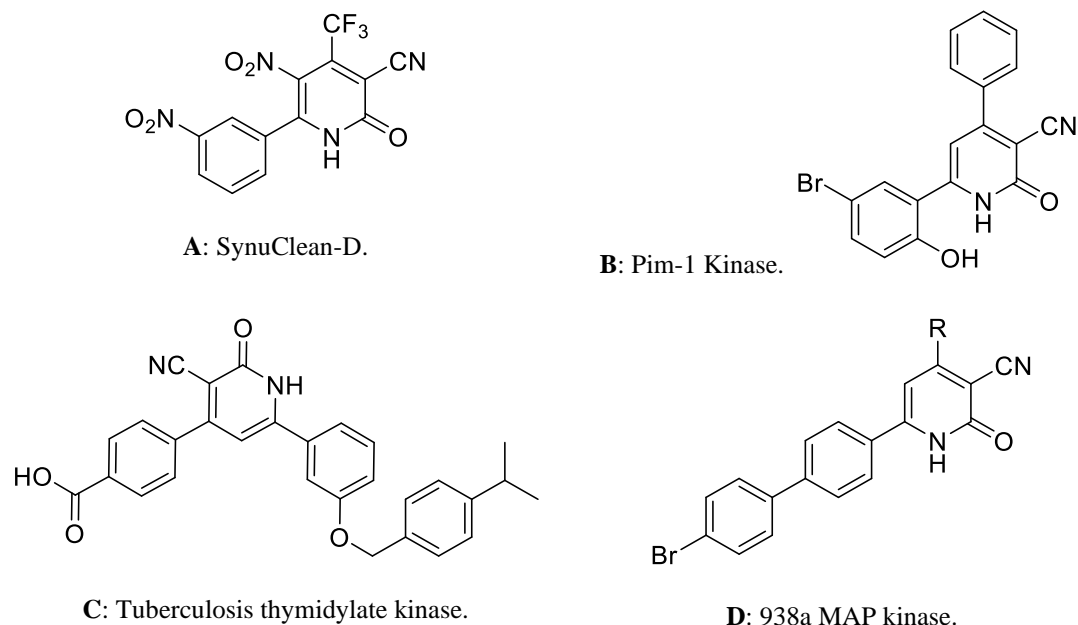
* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: trungpham781@hus.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.5590>

Với sự đa dạng về hoạt tính sinh học và khả năng ứng dụng cao trong lĩnh vực tìm kiếm thuốc mới trong dược phẩm, khung cấu trúc 3-Cyanopyrid-2-ones được nhiều quan tâm của

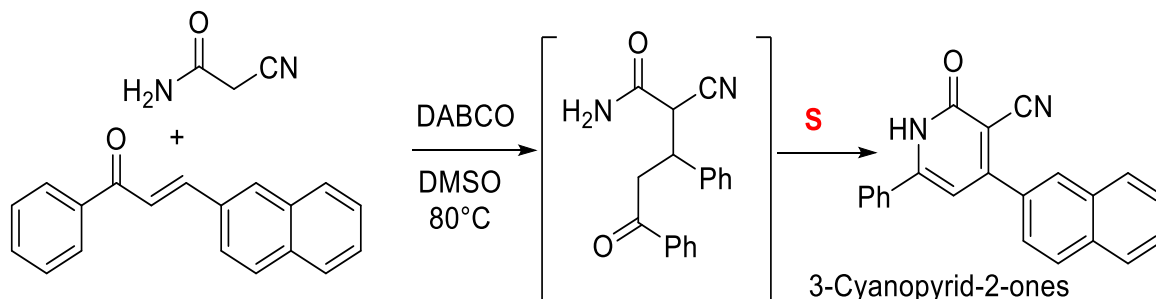
các nhà hóa học với mục đích tìm kiếm, ứng dụng và phát triển các phương pháp tổng hợp hiệu quả để đạt được đa dạng về cấu trúc cũng như có hiệu suất tổng hợp cao.



Hình 1. Các hợp chất tiêu biểu chứa khung 3-Cyanopyrid-2-ones.

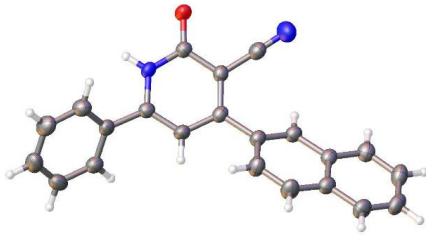
Các hướng nghiên cứu chính trong tổng hợp 3-Cyanopyrid-2-ones có thể được tóm tắt theo các chiến lược sau: i) Tổng hợp khung pyridone bằng các phản ứng cộng đóng vòng; ii) Tổng hợp khung pyridone bằng phản ứng amide hóa; và iii) Nhóm chức CN được đưa vào bằng phản ứng thế halogene trên vòng pyridone [6]. Nhóm nghiên cứu của chúng tôi đã phát triển phản ứng đa tác nhân với lưu huỳnh nguyên tố được

sử dụng làm chất oxi hóa trong tổng hợp pyridone. Phản ứng này cho phép tổng hợp đa dạng các cấu trúc 3-Cyanopyrid-2-ones với các nhóm chức đưa vào có thể được lựa chọn từ bước đầu của phản ứng, đồng thời quy trình phản ứng đơn giản và dễ tinh chế, cho phép thu được dễ dàng các thư viện hợp chất 3-Cyanopyrid-2-ones nhằm ứng dụng trong sàng lọc, thử nghiệm hoạt tính sinh học [7].



Hình 2. Phản ứng đa tác nhân tổng hợp 3-Cyanopyrid-2-one.

Phản ứng được thực hiện theo 2 bước, trong đó bước đầu là phản ứng cộng 1.4-Michael của cyanoacetamide lên chalcone nhằm thu được trung gian **1**, sau đó hỗn hợp được cho thêm lưu huỳnh để xúc tác đồng thời phản ứng amide tạo vòng pyridone và thơm hóa vòng nhằm tạo nối đôi C=C. Nếu không có mặt của lưu huỳnh phản ứng chỉ dừng lại ở bước tạo trung gian, NH₂ của nhóm amide không đủ tính nucleophile để cộng hợp vào nhóm chức cetone để tạo thành vòng 6. Tác dụng của lưu huỳnh trong các phản ứng đa tác nhân đã được công bố trong các báo cáo trước đó của chúng tôi trong việc tổng hợp các dẫn xuất thiophen đa nhóm chức hay các dị vòng chứa nguyên tử N. Sản phẩm thu được của sản phẩm được kết tinh lại trong dung môi DMSO, và được chứng minh cấu trúc một cách rõ ràng bằng phương pháp đơn tinh thể nhiễu xạ tia X (Xray) (Hình 3).



Hình 3. Cấu trúc X-ray của 3-Cyanopyrid-2-one.

Tuy nhiên, khi được thực hiện xác định cấu trúc bằng phổ cộng hưởng từ hạt nhân thì có 2 vấn đề: thứ nhất, peak proton ở vị trí 5 xuất hiện thấp ở độ chuyển dịch 6,5 ppm, thứ 2 là trên phổ ¹³C-NMR cacbon ở vị trí 5 không xuất hiện trên phổ khi thực hiện đo phổ ở điều kiện thường (298 K), mặc dù theo lý thuyết thì cacbon này sẽ có cường độ cao hơn các cacbon bậc bốn trong phân tử.

Phổ ¹³C-NMR và DEPT từ lâu đã trở thành công cụ quen thuộc để xác định cấu trúc phân tử. Trong đó, phổ ¹³C-NMR sẽ cho tín hiệu cộng hưởng của tất cả các hạt nhân cacbon, còn trên phổ DEPT135, các cacbon bậc một và bậc ba sẽ là tín hiệu dương, cacbon bậc 2 bị đảo ngược. Tuy nhiên, việc phải đo hai phổ khác nhau sẽ tốn nhiều thời gian. Ngoài ra, một nhược điểm của phổ DEPT135 là cacbon bậc 4

không xuất hiện trên phổ, nên cũng phần nào gây ra những khó khăn trong việc quy gán. Do đó, chúng tôi sử dụng phép đo phổ hai trong một ¹³C-JMOD, sử dụng nguyên lý tiếng vọng spin để môđun hoá tương tác J (J-modulate spin echo). Phép đo ¹³C-JMOD vừa cho phép quan sát tất cả các hạt nhân cacbon, đồng thời cũng cho các thông tin về số proton gắn kèm thông qua tương tác J_{C-H} trong đó cacbon bậc bốn cũng xuất hiện trên phổ dưới dạng peak âm.

Trong nghiên cứu phổ cộng hưởng từ hạt nhân, kỹ thuật chụp phổ khi nhiệt độ biến thiên (Variable Temperature Nuclear Magnetic Resonance - VT-NMR) được ứng dụng không những để nghiên cứu động học [8], cơ chế phản ứng mà còn đặc biệt để nghiên cứu các tính chất động lực học của phân tử [9]. Khi nhiệt độ thay đổi, linh độ chuyển động nhiệt và khả năng quay nội phân tử cũng bị thay đổi theo dẫn đến các hiện tượng như isome, tautome hoá [10], hoặc thay đổi độ phân cực của liên kết C-H [11], liên kết hydro [12],... làm thay đổi khả năng hồi phục spin của hạt nhân và biến đổi tín hiệu trên phổ. Nhiều nghiên cứu cho thấy, khi nhiệt độ tăng thì thời gian hồi phục theo trục dọc T₁ (longitudinal relaxation time) có thể giảm theo hàm mũ ở nhiệt độ cao [13]. Bên cạnh đó, thời gian hồi phục của proton, đặc biệt là trong môi trường phân cực bị ảnh hưởng mạnh bởi sự hình thành của liên kết hydro. Do đó khi nhiệt độ tăng, các liên kết hydro bị kéo giãn rồi bị phá vỡ có thể làm giảm hiệu ứng chắn lên proton [12].

Trong nghiên cứu này, cấu trúc của phân tử dẫn xuất pyridone được xác định bằng phương pháp NMR nhiệt độ thay đổi. Phổ cộng hưởng từ ¹H-NMR được thực hiện ở các nhiệt độ khác nhau từ 298 K đến 353 K. Đối với carbon, phổ ¹³C-JMOD chúng tôi sử dụng phép đo phổ hai trong một ¹³C-JMOD, sử dụng nguyên lý tiếng vọng spin để môđun hoá tương tác J (J-modulate spin echo). Tuy nhiên, nguyên lý JMOD sử dụng kỹ thuật xoá tương tác (decoupling) không liên tục nên có thể dẫn đến một số tín hiệu bị mất, nhất là những cacbon bậc 4 có tốc độ hồi phục chậm hoặc khi sự phân cực của liên kết C-H bị ảnh hưởng bởi những

yếu tố khác. Bởi vậy, phổ VT ^{13}C -JMOD cũng được đo trong dải nhiệt độ từ 298 K đến 353 K. Tương quan ^1H -NMR, ^{13}C -NMR được xác định bằng phổ HSQC ở nhiệt độ phòng và 353 K.

2. Thục nghiệm

2.1. Nguyên liệu, hóa chất, thiết bị nghiên cứu

Hóa chất, dung môi sử dụng trong nghiên cứu được mua từ công ty Mcklin (TQ), phổ cộng hưởng từ được thực hiện trên máy Bruker 500MHz, Ascend, phổ nhiễu xạ đơn tinh thể đo trên máy D8-Bruker tại Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội (ĐHQGHN).

2.2. Tổng hợp và kết tinh

Hỗn hợp của (E)-3-(naphthalen-2-yl)-1-phenylprop-2-en-1-one (258mg, 1 mmol, 1,0 equiv), 2- cyanoacetamide (0,0883 g, 1,05 equiv), DABCO (0,0224 g, 0,2 equiv) được hoà tan trong 0.2 mL DMSO rồi cho vào ống kín. Phản ứng được thực hiện ở 80 °C trong 2 giờ. Sau đó, lưu huỳnh (0,0064 g, 0,2 equiv) được thêm vào hỗn hợp và phản ứng được tiếp tục ở 120 °C trong 24 giờ. Khi phản ứng kết thúc, hỗn hợp được làm nguội về nhiệt độ phòng. Methanol được thêm vào ống, kết tủa thu được đem lọc và rửa nhiều lần với methanol và dichloromethane. Sản phẩm 2-oxo-4,6-diaryl-1,2-dihydropyridine-3-carbonitrile được tinh chế bằng phương pháp kết tinh lại trong hỗn hợp DMSO/DMF (219mg, 68%).

^1H NMR (293K) (500 MHz, DMSO- d_6) δ 12,78 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 8,15 – 8,00 (m, 3H), 7,94 (d, $J = 7,1$ Hz, 2H), 7,84 (dd, $J = 8,6, 2,0$ Hz, 1H), 7,71 – 7,47 (m, 5H), 6,97 (s, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 164,2, 162,6, 160,3, 152,0, 133,9, 132,9, 131,7, 130,1, 129,4, 129,2, 129,1, 128,8, 128,8, 128,3, 128,2, 128,1, 127,5, 127,4, 127,1, 125,8, 125,0, 117,1, 107,1.

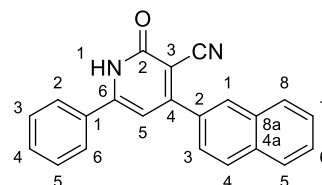
2.3. Phép đo phổ VT- ^{13}C NMR (variable temperature)

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân được thực hiện trên thiết bị phổ kế Avance III HD (Bruker

Biospin), với đầu dò BBFO đa hạt nhân, z-gradient và chức năng tự động tuning, matching. Hệ thống gia nhiệt được tích hợp trong đầu dò, làm mát bằng khí nén và được điều khiển bằng phần mềm Topspin 3.2. Trước tiên, phổ được đo ở nhiệt độ phòng 293 K. Các thông số phép đo ^1H -NMR: xung 30°, acquisition time (AQ) 3,28 s, 16 scan, độ phân giải 65 K, độ rộng phổ 18,9 MHz, lind-broadening 0,3 Hz. Phổ ^{13}C -JMOD: xung 30°, AQ 1,07 s, 4000 scan, độ rộng phổ 300 MHz, (4000 scan) và HSQC (32 scan) được chụp ở nhiệt độ phòng 293 K. Sau đó, nhiệt độ được thay đổi, mỗi bước 10 K trên module VT NMR trong phần mềm Tospin 3.2. Mẫu được ổn định ở nhiệt độ đã định trong 20 phút trước khi tiếp tục ghi phổ ^1H -NMR và ^{13}C -JMOD. Phổ VT-HSQC được đo ở 353 K, 32 lần quét, sử dụng các thông số có sẵn trong thư viện của Bruker.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ở nhiệt độ phòng



Hình 4. 4-(naphthalen-2-yl)-2-oxo-6-phenyl-1,2-dihydropyridine-3-carbonitrile.

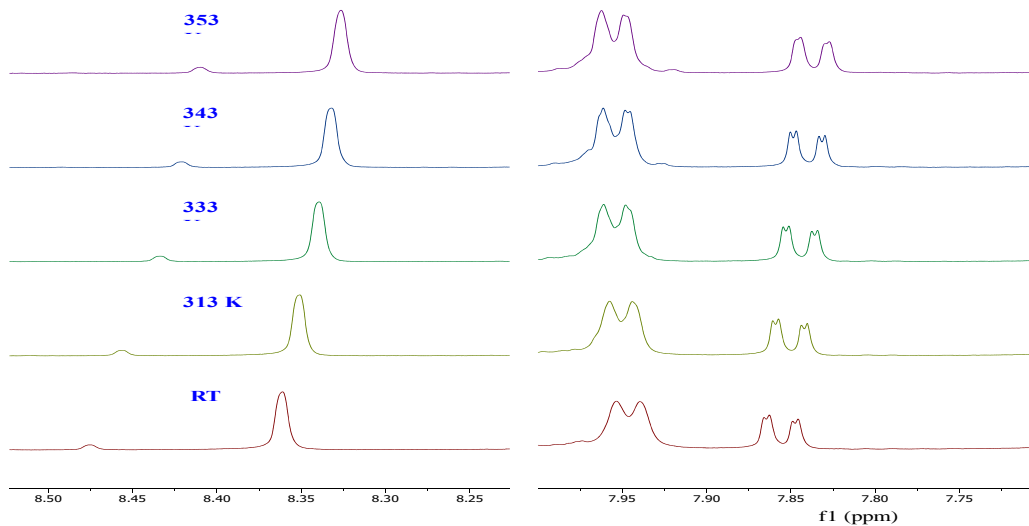
Ở nhiệt độ phòng, phổ ^1H của 2-oxo-4,6-diaryl-1,2-dihydropyridine-3-carbonitrile chia thành ba nhóm tách biệt. Trong vùng thuận từ, xuất hiện ở độ chuyển dịch cao nhất là peak ở 12,78 ppm (singlet, 1H) đặc trưng cho proton của liên kết N-H. Nhóm thứ hai là vùng phổ đặc trưng của vòng thơm gồm peak ở 8,33 ppm (singlet, 1H) tương ứng với proton H11 của nhóm naphthyl không có proton khác ở gần, các proton H9 và H16 lần lượt cho tín hiệu ở 8,1 ppm (doublet, 1H, $J = 8,11$ Hz) và 7,84 ppm (doublet, 1H), còn H13, H14 xuất hiện ở vùng 8,0-8,1 ppm (multiplet, 2H). Hai proton của nhóm phenyl ở vị trí meta H18 và H22 cho peak cộng hưởng ở 7,94 ppm (doublet, 2H).

Cuối cùng, xa hơn một chút về phía tần số thấp là hai multiplet ở 7,47 – 7,71 ppm tương ứng với các proton H17, H18 của nhóm naphthyl (2H) và proton ở vị trí ortho, para của phenyl (3H). Đáng chú ý là proton H5 lại xuất hiện ở vùng tần số thấp, cho peak có cường độ yếu và rộng. Hiện tượng này có thể đến từ hiệu ứng chắn của hai nhóm thế liền kề là phenyl và naphthyl và xảy ra tương tác với các proton ở meta (của phenyl) và H11, H13 (của naphthyl). Cũng không thể loại trừ việc H5 có thể tạo liên kết hydro với nguyên tử oxy cacbonyl của phân tử khác, nhất là trong môi trường dung môi DMSO-d₆ không làm khô và vẫn còn lẫn nước.

Việc quy gán phổ ¹³C lại phức tạp hơn. Các nguyên tử ¹³C của vòng thơm và vòng naphthyl xuất hiện trong vùng phổ từ 125 – 134 ppm còn nguyên tử C6 cho peak cộng hưởng ở 117,01 ppm. Các cacbon bậc 4 của nhóm thế naphthyl (C10, C15) xuất hiện ở 132,9 và C12, C17 cho tín hiệu ở 133,9 ppm dưới dạng 2 peak liền kề. Đặc biệt là các cacbon bậc 4 (C1, C2 và C4) và thậm chí một cacbon bậc 3 (C5) của vòng pyridone không xuất hiện trên phổ ¹³C-JMOD ở nhiệt độ phòng. Lý do cho sự biến mất của các cacbon bậc 4 có thể đến từ tốc độ hồi phục rất chậm đặc trưng khi thiếu vắng các

hạt nhân proton liên kết trực tiếp, và C3, C4 còn liên kết trực tiếp với Nitơ có momen tứ cực, dẫn đến tín hiệu của chúng càng trở nên rộng và thấp hơn bình thường [12, 13]. Tương tự như vậy, C6 của nhóm C-N cũng không thấy xuất hiện trên phổ ¹³C, có thể tín hiệu của C6 bị giãn rộng và bị che bởi tín hiệu của C2, chỉ còn xuất hiện dưới dạng một vai ở peak tại 117,01 ppm. Phổ HSQC ở nhiệt độ phòng cho thấy tương quan trực tiếp (¹J_{C-H}) giữa các proton với ¹³C tương ứng.

Đáng chú ý là proton H5 không xuất hiện liên kết trực tiếp với ¹³C nào trên phổ HSQC, trong khi theo cấu trúc thì phải có tương quan với C5. Nó cho thấy rằng sự có mặt của hai nhóm thế rất cồng kềnh, nhóm phenyl và naphthyl, ở kề bên, khả năng quay xung quanh trục liên kết C1-C12 và C4-C17 (Hình 4) đã có tác dụng cản trở không gian, đã làm thay đổi sự proton hoá của H5 lên C5 dẫn đến tốc độ hồi phục của C5 trở nên rất chậm và sự biến mất của tín hiệu trên phổ ¹³C. Cộng với khả năng H5 đã tạo liên kết hydro với C=O đã dẫn đến mất hiệu ứng nOe, khiến cho không còn tín hiệu trên phổ HSQC.

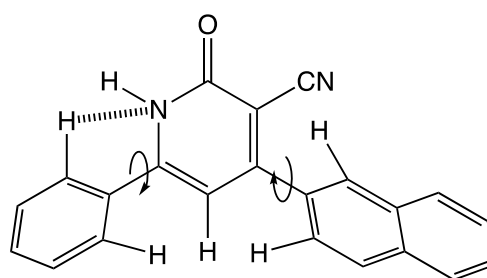


Hình 5. Phổ ¹H-NMR nhiệt độ thay đổi (VT-¹H NMR).

3.2. Phổ $^1\text{H-NMR}$ nhiệt độ thay đổi

Độ chuyển dịch hoá học nói chung dịch về phía tần số thấp, riêng doublet ở 7,94 ppm lại dịch chuyển theo chiều hướng ngược lại. Kết quả khảo sát phổ VT $^1\text{H-NMR}$ khi nhiệt độ biến thiên từ 298 K đến 353 K được trình bày trên Hình 5. Đúng như dự kiến, khi nhiệt độ tăng thì các tính chất động lực học phân tử như linh độ chuyển động nhiệt cũng tăng theo, dẫn đến tốc độ hồi phục nhanh hơn làm cho độ chuyển dịch hoá học và hình dạng tín hiệu bị thay đổi. Độ chuyển dịch của các proton bị dịch về phía tần số thấp [8]. Riêng peak của proton ở vị trí meta của phenyl lại chuyển dịch về phía tần số cao. Cần thấy rằng do các cacbon bậc 4 C1, C4, C12 và C17 đều ở trạng thái lai hoá sp^2 , nên các nhóm thế phenyl và naphthyl cũng có khả năng quay xung quanh các liên kết C1-C12 và C4-C17 [14]. Hiện tượng này cho thấy rằng ngoài sự quay của nhóm phenyl xung quanh liên kết C4-C17 thì còn có sự trao đổi xảy ra ở các vị trí này. Có thể trong môi trường dung dịch, đã xảy ra sự trao đổi giữa các proton C18, C22 với nguyên tử Nitơ, hình thành liên kết

Van der Waals. Khi nhiệt độ tăng, tốc độ quay tăng lên khiến cho liên kết yếu này bị phá vỡ làm cho các proton này bị giảm chắn, dẫn đến độ chuyển dịch hoá học tăng lên. Tương tự như vậy, khi tốc độ quay của các nhóm thế phenyl và naphthyl tăng lên sẽ làm cho sự trao đổi giữa H5 và các proton diễn ra nhanh hơn. Nó cũng làm tăng chiều dài của liên kết hydro giữa H5 với C=O, làm giảm hiệu ứng chắn của oxy [8]. Kết quả là cường độ của H5 tăng lên và đỉnh peak trở nên nhọn, sắc nét hơn.



Hình 6. Giả thiết về sự quay xung quanh liên kết C-C của hai nhóm thế phenyl, naphthyl và sự hình thành liên kết hydro.

Bảng 1. Độ chuyển dịch hoá học của các proton khi nhiệt độ thay đổi

	Nhiệt độ phòng (RT)	313 K	333 K	343 K	353 K
H5	6,986	6,982	6,976	6,972	6,968
H(N-H)	12,772	12,670	12,556	12,497	12,446
H9	8,120	8,117	8,112	8,108	8,105
H11	8,361	8,351	8,339	8,332	8,326
H16	7,854	7,849	7,844	7,839	7,835
H18, H22	7,946	7,950	7,953	7,953	7,955

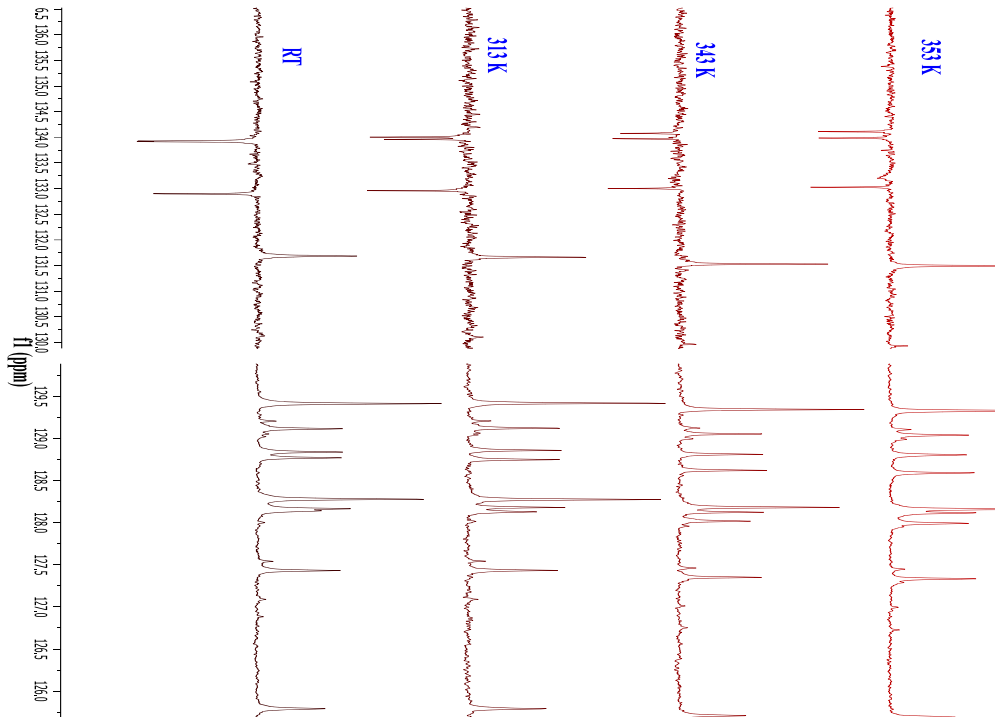
3.3. Phổ $^{13}\text{C-JMOD}$ nhiệt độ thay đổi

Tương tự như ở phổ $^1\text{H-NMR}$, nhiệt độ có ảnh hưởng lớn đến độ chuyển dịch hoá học của các hạt nhân ^{13}C do có sự thay đổi về động lực học phân tử. Nhiều peak của ^{13}C bị che khuất ở nhiệt độ thấp đã bắt đầu tách ra và trở nên sắc nét hơn (Hình 6). Điển hình là các peak ở 133,9 ppm của C12 và C17. Ở nhiệt độ thường, hai peak trên gần như chồng lên nhau, nhưng khi nhiệt độ tăng thì khoảng cách giữa hai peak cũng lớn dần và ở 353 K thì tách ra hoàn toàn.

Có thể lý giải cho hiện tượng này bởi sự khác nhau về tốc độ quay của hai nhóm thế phenyl và naphthyl xung quanh liên kết C-C sp^2 tương ứng. Hiện tượng tương tự cũng được quan sát thấy trên hai peak tại 128,17 và 128,14 ppm, khi peak sau bị lùi nhanh hơn về 128,10 ppm ở 333 K, qua đó tách thành hai tín hiệu riêng biệt. Mặt khác, nhiệt độ tăng cũng khiến các phân tử trở nên linh động hơn, cải thiện một cách rõ rệt khả năng hồi phục của các hạt nhân, đặc biệt là ở những cấu trúc cứng nhắc như cacbon bậc 4.

Ở nhiệt độ phòng, chúng ta sẽ không thể quan sát thấy ba cacbon bậc 4 và C5 của vòng pyridone. Phải đến khi tăng nhiệt độ lên 353 K, tín hiệu của C1, C3 và C4 mới xuất hiện tại 160,12, 162,53 và 164,16 ppm. Tương tự như vậy, C5 cũng chỉ xuất hiện ở 107,11 ppm từ

343 K. Đối với trường hợp này, ngoài sự tăng độ linh động thì còn phải tính đến việc liên kết hydro bị phá vỡ ở nhiệt độ cao đã đưa proton H5 trở lại để phân cực liên kết C5-H5 và làm cho hiệu ứng nOe xuất hiện trở lại trên phổ HSQC.



Hình 7. Phổ VT ^{13}C -JMOD, vùng phổ 130 - 136 ppm và 125 - 130 ppm.

Khi nhiệt độ tăng, hai peak ở 134 ppm dần tách ra. Hiện tượng tương tự xảy ra với hai peak ở 128,1 ppm.

4. Kết luận

Kỹ thuật phổ NMR nhiệt độ thay đổi cho thấy đây là một công cụ rất hữu ích trong xác định cấu trúc và nghiên cứu các tính chất động lực học phân tử của cyanopyridone. Một mặt, nhiệt độ thay đổi dẫn đến sự hồi phục của các hạt nhân cũng bị thay đổi có thể giúp tách các peak bị chồng lấn ra khỏi nhau, như các tín hiệu của C12 và C17, làm tăng độ phân giải phổ. Bên cạnh đó, tăng nhiệt độ cũng giúp cho các cấu trúc cứng nhắc như hạt nhân cacbon bậc 4, các nhóm bị chặn bởi hiệu ứng không gian hay do liên kết phân tử - phân tử (ví dụ như liên kết hydro ở nghiên cứu này) tăng tốc độ hồi phục, để tín hiệu của các hạt nhân này xuất hiện được

trên phổ. Nhất là với trường hợp C5-H5, khi nhiệt độ tăng lên 353 K, liên kết hydro và hiệu ứng chặn không gian bị suy yếu giúp tăng cường hiệu ứng nOe của liên kết, cho tín hiệu rõ ràng về tương quan C-H trên phổ HSQC. Mặt khác, thông qua khảo sát sự hồi phục spin hạt nhân theo nhiệt độ, chúng ta có thể hiểu rõ hơn về các tính chất động lực học của phân tử như sự quay của các nhóm chức, tương tác nội phân tử, ngoại phân tử,...

Lời cảm ơn

Cảm ơn Trung tâm Hỗ trợ Nghiên cứu Châu Á, Đại học Quốc gia Hà Nội (CA.21.04A) đã tài trợ cho nghiên cứu này.

Tài liệu tham khảo

- [1] Y. Ling, Z. Y. Hao, D. Liang, C. L. Zhang, Y. F. Liu, Y. Wang, The Expanding Role of Pyridine and Dihydropyridine Scaffolds in Drug Design, *Drug Des. Dev. Ther.*, Vol. 15, 2021, pp. 4289-4338, <https://doi.org/10.2147/DDDT.S329547>.
- [2] A. Mahia, S. P. Diaz, S. Navarro, J. G. Frutos, I. Pallares, J. Pujols, M. D. D. Villegas, J. A. Galvez, S. Ventura, J. Sancho, Design, Synthesis and Structure-activity Evaluation of Novel 2-pyridone-based Inhibitors of Alpha-synuclein Aggregation with Potentially Improved BBB Permeability, *Bioorg. Chem.*, Vol. 117, 2021, pp. 105472, <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.105472>.
- [3] C. I. Wayne, Y. Sungqi, A. Todd, W. Heli, V. Todd, Y. Nanhua, H. Robert, H. Zhi, Z. W. Jim, Identification and Structure-activity Relationships of Substituted Pyridones as Inhibitors of Pim-1 Kinase, *Bioorg. Chem. Letters*, Vol. 17, 2007, pp. 1679-1683, <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2006.12.086>.
- [4] M. Naik, A. Raichurkar, B. S. Bandodkar, B. V. Varun, S. Bhat, R. Kalkhambkar, K. Murugan, R. Menon, J. Bhat, B. Paul et al., Structure Guided Lead Generation for M. Tuberculosis Thymidylate Kinase (Mtb TMK): Discovery of 3-Cyanopyridone and 1,6-Naphthyridin-2-one as Potent Inhibitors, *J. Med. Chem.*, Vol. 58, 2015, pp. 753-766, <https://doi.org/10.1021/jm5012947>.
- [5] A. M. Serry, S. Luik, S. Laufer, A. H. Abadi, One-Pot Synthesis of 4,6-Diaryl-2-oxo(imino)-1,2-dihydropyridine-3-carbonitrile; a New Scaffold for p38 α MAP Kinase Inhibition, *J. Comb. Chem.*, Vol. 12, 2010, pp. 559-565, <https://doi.org/10.1021/cc1000488>.
- [6] L. N. Duy, N. T. Trang, N. N. N. Ha, R. Pascal, M. D. Hung, N. T. Binh, Direct access to 2-aryl-3-cyanothiophenes by a Base-catalyzed One-pot Two-step Three-component Reaction of Chalcones with Benzoylacetonitriles and Elemental Sulfur, *Org. Chem. Frontiers*, Vol. 9, 2022, pp. 3163-3168, <https://doi.org/10.1039/D2QO00526C>.
- [7] K. Maciol, S. Schüttner, J. Blankenburg, T. J. Frey, Glycidyl Cinnamate: Copolymerization with Glycidyl Ethers, In-Situ NMR Kinetics, and Photocrosslinking, *Macromolecular Chemistry and Physics*, Vol. 224, 2023, pp. 2200366, <https://doi.org/10.1002/macp.202200366>.
- [8] J. J. Allen, Y. Schneider, B. W. Kail, D. R. Luebke, H. Nulwala, Damodaran, Nuclear Spin Relaxation and Molecular Interactions of a Novel Triazolium-Based Ionic Liquid, *The Journal of Physical Chemistry B*, Vol. 117, 2013, pp. 3877-3883, <https://doi.org/10.1021/jp401188g>.
- [9] R. V. Williams, A. J. Aring, M. C. Bonifacio, A. Blumenfeld, 4,6-Barbaralenedicarboxy-2,8-dicarboxylic Anhydride and 1,5-dimethyl-4,6-Semibullvalenedicarboxy-2,8-dicarboxylic Anhydride: Examples of Unusual Barbaralanes and Semibullvalenes that do not Undergo the Cope Rearrangement, They are Locked as the Closed Tautomers, *Journal of Physical Organic Chemistry*, Vol. 30, 2017, pp. e3622, <https://doi.org/10.1002/poc.3622>.
- [10] M. G. Viloca, R. Gelabert, A. G. Lafont, M. Moreno, J. M. Lluch, Temperature Dependence of Proton NMR Chemical Shift As a Criterion To Identify Low-Barrier Hydrogen Bonds, *Journal of the American Chemical Society*, Vol. 120, 1998, pp. 10203-10209, <https://doi.org/10.1021/ja9742141>.
- [11] A. A. Malär, L. A. Völker, R. Cadalbert, L. Lecoq, M. Ernst, A. Böckmann, B. H. Meier, T. Wiegand, Temperature-Dependent Solid-State NMR Proton Chemical-Shift Values and Hydrogen Bonding, *The Journal of Physical Chemistry B*, Vol. 125, 2021, pp. 6222-6230, <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.1c04061>.
- [12] G. D. Smith, O. Borodin, D. Bedrov, W. Paul, X. QiuM, Ediger, ¹³C NMR Spin- Lattice Relaxation and Conformational Dynamics in a 1, 4-Polybutadiene Melt, *Macromolecules*, Vol. 34, 2001, pp. 5192-5199, <https://doi.org/10.1021/ma002206q>.
- [13] J. A. Pople, The Effect of Quadrupole Relaxation on Nuclear Magnetic Resonance Multiplets, *Molecular Physics*, Vol. 1, 1958, pp. 168-174, <https://doi.org/10.1080/00268975800100201>.
- [14] R. Ludwig, F. Weinhold, Farrar, Structure of Liquid N-methylacetamide: Temperature Dependence of NMR Chemical Shifts and Quadrupole Coupling Constants, *The Journal of Physical Chemistry A*, Vol. 101, 1997, pp. 8861-8870, <https://doi.org/10.1021/jp971360k>.
- [15] Z. Dominguez, H. Dang, M. J. Strouse, A. G. Garibay, Molecular “Compasses” and “Gyroscopes”, III. Dynamics of a Phenylene Rotor and Clathrated Benzene in a Slipping-Gear Crystal Lattice, *Journal of the American Chemical Society*, Vol. 124, 2002, pp. 7719-7727, <https://doi.org/10.1021/ja025753v>.