



Semnan University



Research Article

Synthesis and characterization of mononuclear oxime palladacycles based phosphorus ligands, and evaluation of their catalytic and cytotoxicity activities

Sepideh Samiee^{a,*}, Ahmadreza Shiralinia^a, Elham Hoveizi^b

^aDepartment of Chemistry, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

^bDepartment of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

PAPER INFO

Article history:

Received: 24/Dec/2023

Revised: 12/May/2024

Accepted: 12/May/2024

Keywords:

Oxime palladacycle, Phosphorus ligand, Catalytic activity, Suzuki reaction, Cytotoxicity activity.

ABSTRACT

In the present investigation, a new series of mononuclear oxime palladacycles based on phosphorus ylides with the empirical formula $[\text{Pd}\{N,N'\text{-C}_5\text{H}_4\{\text{C}(\text{H})=\text{NO}\}\text{-2}\}(\text{Ph}_2\text{PCH}_2\text{PPh}_2\text{C}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{C}_6\text{H}_4\text{X})]\text{ClO}_4$ (X = Cl (**1**), Br (**2**), NO₂ (**3**) and OCH₃ (**4**)) were synthesized. These complexes were formed through a cleavage chloro-bridges reaction of the dinuclear palladacycle complex in the presence of phosphorous ligands using sodium perchlorate and dichloromethane solvent. The synthesized complexes were characterized by elemental analysis, ³¹P NMR, ¹H NMR, ¹³C NMR, and FT-IR spectroscopic methods. The obtained results of NMR and IR spectroscopes confirmed the synthesis of new mononuclear palladacycle complexes and the P,C-coordination mode connection for asymmetric phosphorus ylides. In addition, the catalytic activity of the synthesized complexes in the carbon-carbon coupling reaction and cytotoxic effect on A549, HT-29, and 1321N1 cell lines using the MTT-assay method. The results of this research can be promising for the use of these compounds as catalysts in the Suzuki–Miyaura carbon-carbon coupling reaction and anticancer agents.

DOI: <https://doi.org/10.22075/chem.2024.32682.2238>

This is an open access article under the CC-BY-SA 4.0 license. (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)

*.Corresponding author: Associated Professor of Inorganic Chemistry. E-mail address: s.samiee@scu.ac.ir

How to cite this article: Samiee, S., Shiralinia, A., & Hoveizi, E. (2024). Synthesis and characterization of mononuclear oxime palladacycles based phosphorus ligands, and evaluation of their catalytic and cytotoxicity activities. *Applied Chemistry Today*, 19(72), 113-126. (in Persian)

سنتز و شناسایی اکسیم پالاداسیکلیک‌های تک‌هسته‌ای بر پایه لیگاندهای فسفردار و

ارزیابی فعالیت کاتالیزوری و سمیت سلولی آن‌ها

سپیده سمیعی^{۱*}، احمدرضا شیرالی نیا^۱ و الهام حویزی^۲^۱گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران^۲گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۱۰/۰۳ بازنگری مقاله: ۱۴۰۳/۰۲/۲۳ پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۰۲/۲۳	در این پژوهش، یک سری از کمپلکس‌های پالاداسیکلیک تک‌هسته‌ای جدید بر پایه لیگاندهای پیریدین-۲-کربالدهید اکسیم و فسفرالیپیدا با فرمول تجربی $[Pd\{N,N'-C_5H_4\{C(H)=NO\}-2\}(Ph_2PCH_2PPh_2C(H)C(O)C_6H_4X)]ClO_4$ ($X = Cl$ (1), Br (2), NO_2 (3), OCH_3 (4)) سنتز و شناسایی آن‌ها با استفاده از روش‌های اسپکتروسکوپی 1H NMR، ^{31}P NMR، ^{13}C NMR و FT-IR و آنالیز عنصری مورد بررسی قرار گرفت. سنتز این کمپلکس‌ها از روش واکنش شکستن پل‌های کلر دایمر اکسیم پالاداسیکلیک با لیگاندهای فسفردار در حضور سدیم پرکلرات و حلال دی‌کلرومتان انجام شد. نتایج حاصل از اطلاعات طیف‌های NMR و IR شیوه اتصال P, C-کوئوردینه و نهایتاً سنتز کمپلکس‌های پالاداسیکلیک تک‌هسته‌ای جدید را تأیید کرد. علاوه بر این، فعالیت کاتالیزوری کمپلکس‌های سنتز شده به عنوان کاتالیزور در واکنش جفت شدن کربن-کربن سوزوکی و اثرات سایتوتوکسیک بر رده‌های سلولی HT29، A549 و I321N1 با استفاده روش MTT-assay مورد ارزیابی واقع شد. نتایج این پژوهش می‌تواند نوید بخش به کارگیری این کمپلکس‌های پالادیوم (II) به عنوان کاتالیزور در واکنش‌های جفت شدن کربن-کربن سوزوکی-میاورا و عامل ضد سرطان باشد.
کلمات کلیدی: اکسیم پالاداسیکلیک، لیگاند فسفردار، فعالیت کاتالیزوری، واکنش سوزوکی، فعالیت سمیت سلولی.	

DOI: <https://doi.org/10.22075/chem.2024.32682.2238>This is an open access article under the CC-BY-SA 4.0 license. (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)

۱- مقدمه

اکسیم‌ها گروهی از ایمین‌ها می‌باشند که از واکنش هیدروکسیل‌آمین با آلدهید یا کتون‌ها تهیه و با توجه به گروه متصل به نیتروژن ایمینی به سه دسته هیدروکسی اکسیم‌ها، اکسیم اترها و اکسیم استرها طبقه‌بندی می‌شوند [۱-۴]. در این میان، هیدروکسی اکسیم‌ها ترکیب‌های شیمیایی با فرمول کلی $R_1R_2C=NOH$ که R_1 همواره یک گروه آلی است ولی R_2 هیدروژن یا گروه آلی دیگری می‌تواند باشد. نامگذاری اکسیم‌ها به قرن نوزدهم برمی‌گردد و برگرفته از ادغام دو کلمه اکسیژن و ایمین است. در مجموع، اکسیم‌ها لیگاندهای چندمنظوره‌ای هستند که برای طراحی مواد با ویژگی‌های متفاوت می‌توانند مورد استفاده واقع شوند به طوری که تا کنون سنتز و واکنش‌پذیری آن‌ها با یون‌های فلزی مختلف توسط گروه‌های تحقیقاتی مختلف به چاپ رسیده است [۵-۷]. گروه اکسیم یک نیتروژن فعال برای اتصال به یون‌های فلزی دارد که می‌تواند به صورت یک لیگاند تک‌دندانه عمل کند. از سوی دیگر حضور استخلاف‌های دارای اتم دهنده مانند پیریدین، ایمیدازول و یا فنول بر روی زنجیره آلی اکسیم‌ها

امکان کوئوردیناسیون‌های بیشتر را نیز فراهم می‌آورد. همچنین با حذف پروتون گروه OH اکسیم، موقعیت اتصال دیگری از طریق اکسیژن ایجاد شده که در نهایت منجر به تشکیل گستره وسیعی از کمپلکس‌ها با حالت‌های کوئوردیناسیون گوناگون می‌گردد. بر اساس بررسی‌های انجام شده، هیروشی و همکارانش برای اولین بار در سال ۱۹۷۰ با استفاده از لیتیم تتراکلروپالادات (II) و ترکیب‌های آروماتیک مختلفی از آلدوکسیم و کتواکسیم در حلال متانول و در حضور نمک سدیم پرکلرات موفق به سنتز دسته جدیدی از ترکیبات اکسیم پالاداسیکل‌ها شدند [۸]. امروزه با توجه به اهمیت و کاربرد این ترکیبات، تحقیقات بسیار وسیع و گسترده‌ای در زمینه اکسیم پالاداسیکلیک‌ها در حال انجام است. از مهمترین ویژگی و کاربرد این گونه‌ها می‌توان به استفاده از آنها به‌عنوان کاتالیزور در واکنش‌های جفت شدن هک و سوزوکی-میاورا برای تشکیل پیوندهای کربن-کربن و به‌عنوان دارو در درمان بیماری‌های سرطان اشاره کرد [۹-۱۰]. امروزه داروهای ضدسرطان بر پایه پلاتین، به دلیل محدودیت مقدار مؤثر، ایجاد سمیت کبدی و کلیوی، بروز عوارض جانبی در سیستم عصبی بیمار و همچنین بالا رفتن مقاومت دارویی، کمتر از گذشته برای بیماران سرطانی تجویز می‌شوند؛ بنابراین پژوهش‌های بسیاری در حال انجام است تا با سنتز داروهای جدید پلاتین بر این محدودیت‌ها غلبه گردد. تحقیقات انجام شده در این ارتباط نشان می‌دهد که برخی از کمپلکس‌های سنتز شده مانند پالاداسیکل‌ها (ترکیب‌های حلقوی پالادیوم) در شرایط آزمایشگاهی و بالینی فعالیت ضدسرطانی بهتری نسبت به ترکیبات شناخته شده سیس پلاتین نشان می‌دهند [۱۱-۱۳]. در سال ۲۰۱۴، کاپای با انتشار مقاله‌ای مروری و همچنین در سال ۲۰۱۹ با اختصاص دادن یک فصل از کتاب خود خواص ضد سرطانی پالاداسیکل‌ها را بررسی کرد [۱۴ و ۱۵]. به علت شباهت شیمی کوئوردیناسیون پالادیوم با پلاتین، ترکیب‌های پالادیوم می‌توانند گزینه خوبی برای مطالعه داروهای ضدسرطانی باشند [۱۶-۲۱]. در این راستا، ابتدا تعدادی اکسیم پالاداسیکلیک تک‌هسته‌ای جدید بر پایه لیگاندهای پیریدین-۲-کربالدهید اکسیم و فسفرایلیدهای نامتقارن سنتز و سپس با استفاده از روش‌های مختلف اسپکتروسکوپی IR، NMR و آنالیز عنصری مورد شناسایی قرار گرفتند. علاوه بر این، فعالیت کاتالیزوری و اثرات سمیت سلولی این ترکیبات مورد بررسی واقع شدند.

۲- بخش تجربی

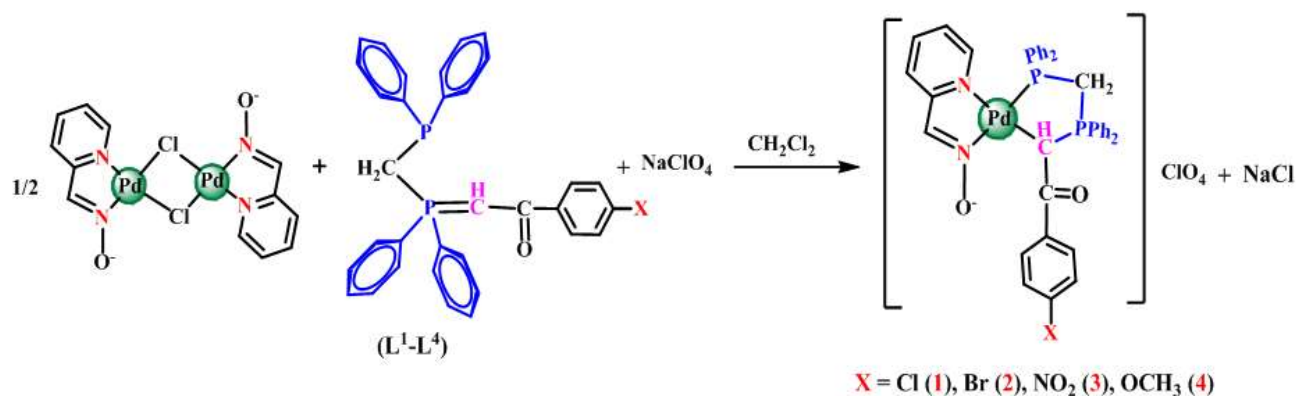
۲-۱- مواد شیمیایی و دستگاه‌ها

پیریدین ۲-کربالدهید اکسیم، پالادیم کلراید (II) و ۱،۲-بیس‌دی‌فنیل‌فسفینومتان از شرکت شیمیایی سیگما-آلدریج و حلال‌های مورد استفاده از شرکت مرک و بدون خالص سازی مجدد مورد استفاده قرار گرفتند. همچنین دیمر پالاداسیکل پیریدین ۲-کربالدهید اکسیم با فرمول عمومی $[Pd\{N,N'-C_5H_4\{C(H)=NO\}-2\}(\mu-Cl)]_2$ و لیگاندهای فسفر ایلید مشتق شده از ۱،۲-بیس‌دی‌فنیل‌فسفینومتان با فرمول عمومی $[Ph_2PCH_2PPh_2C(H)C(O)C_6H_5X]$ بر طبق روش‌های گزارش شده در مقالات سنتز گردید [۱۱ و ۱۸]. طیف‌های IR با تهیه قرص‌های KBr در دامنه $4000-400\text{ cm}^{-1}$ با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر FT-IR ساخت شرکت PerkinElmer مدل Spectrum two ثبت گردید. طیف‌های رزونانس مغناطیسی

هسته‌های (^{31}P , ^{13}C , ^1H -NMR) توسط دستگاه Bruker Avance 250 MHz ثبت و گزارش گردید (برای بررسی ساده‌تر، در طیف‌های ^{13}C NMR و ^{31}P NMR اثر هیدروژن دکوپل شده است). در طیف‌های NMR جابه‌جایی شیمیایی (δ) برحسب ppm و ثابت کوپلاژ (J) برحسب Hz گزارش شده است. لازم به ذکر است که کلیه طیف‌های IR و NMR ترکیبات سنتز شده در بخش اطلاعات تکمیلی آورده شده است. برای انجام آنالیز عنصری (CHN) از دستگاه CHNSO Analyzer ساخت شرکت Elementar مدل Vario EL III و برای اندازه‌گیری نقطه ذوب از دستگاه Thermo Scientific 9200 استفاده شد. سلول‌های سرطانی رده‌های HT29، A549 و 1321N1 از انستیتو پاستور ایران خریداری شد. سلول‌ها در محیط کشت DMEM حاوی ۱۰ درصد سرم گاوی یا (FBS) در فلاسک کشت سلولی 25 cm^2 (SPL کره) و در شرایط مناسب در انکوباتور 37°C و $5\% \text{ CO}_2$ درصد کشت داده شد.

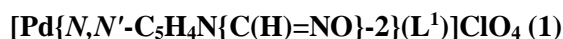
۲-۲- روش کلی سنتز اکسیم پالاداسیکلیک‌های سنتز شده (۱-۴)

به سوسپانسیونی از دایمر پالاداسیکل ($0.4/0\text{ mmol}$, $0.21/0\text{ g}$) در 20 میلی‌لیتر حلال دی‌کلرومتان، به مقدار اضافی $\text{NaClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ($0.28/0\text{ g}$, 0.20 mmol) اضافه گردید. مخلوط واکنش به مدت 30 دقیقه زیر جو نیتروژن هم زده شد. در ادامه، به سوسپانسیون حاصل لیگاند فسفرایلید مربوطه ($0.8/0\text{ mmol}$) افزوده و توسط همزن مغناطیسی به مدت 12 ساعت هم‌زده شد. برای حذف NaCl از محیط واکنش، مخلوط حاصل شده با کاغذ صافی، صاف شد. محلول زیر صافی را به یک پتری دیش منتقل و حجم حلال آن به 3 میلی‌لیتر کاهش یافت. سپس، با افزودن 15 میلی‌لیتر هگزان نرمال به محلول تغلیظ یافته، رسوب زرد رنگی به دست آمد. رسوب تشکیل شده به عنوان محصول در دسیکاتور تحت خلاء خشک گردید (طرح ۱).



طرح ۱- روش سنتز اکسیم پالاداسیکلیک‌های ۱-۴

داده‌های مربوط به کمپلکس‌های سنتز شده (۱-۴) به شرح زیر می‌باشد:



Yield: 71%; m.p. $214\text{--}215^\circ\text{C}$. Anal. Calc. for $\text{C}_{39}\text{H}_{32}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_6\text{P}_2\text{Pd}$: C, 54.22; H, 3.73; N, 3.24. Found: C, 54.31; H, 3.71; N, 3.31%.

[Pd{N,N'-C₅H₄N{C(H)=NO}-2}(L²)}]ClO₄ (2)

Yield: 73%; m.p. 212-214 °C. *Anal. Calc.* for C₃₉H₃₂ClBrN₂O₆P₂Pd: C, 51.56; H, 3.55; N, 3.08. Found: C, 51.63; H, 3.84; N, 3.15%.

[Pd{N,N'-C₅H₄N{C(H)=NO}-2}(L³)}]ClO₄ (3)

Yield: 80%; m.p. 218-220 °C. *Anal. Calc.* for C₃₉H₃₂ClN₃O₈P₂Pd: C, 53.56; H, 3.69; N, 4.81. Found: C, 53.71; H, 3.81; N, 4.88%.

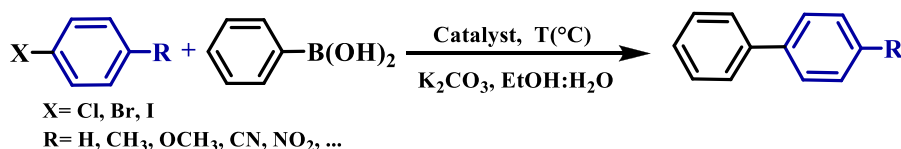
[Pd{N,N'-C₅H₄N{C(H)=NO}-2}(L⁴)}]ClO₄ (4)

Yield: 72%; m.p. 213-215 °C. *Anal. Calc.* for C₄₀H₃₅ClN₂O₇P₂Pd: C, 55.89; H, 4.10; N, 3.26. Found: C, 55.94; H, 4.38; N, 3.41%.

۲-۳- بررسی فعالیت کاتالیزوری اکسیم پالاداسیکلیک های سنتز شده (۴-۱) در واکنش جفت شدن کربن-کربن

سوزوکی-میاورا

در یک بالن ۲۵ mL، مخلوطی از آریل هالید (۰/۵ mmol)، باز K₂CO₃ (۰/۷۵ mmol)، فنیل بورونیک اسید (۰/۶ mmol) و کمپلکس مورد مطالعه در حلال آب-اتانول (۱:۱) در دمای مورد مطالعه، توسط همزن مغناطیسی هم زده شد. پیشرفت واکنش توسط TLC با تانک حلال n-هگزان/اتیل استات (۱۰:۱) دنبال شد. پس از اتمام واکنش و سرد شدن آن، مخلوط با حلال n-هگزان توسط قیف جداکننده دوفازی شد. محلول شفاف را جدا کرده و سپس از طریق تبخیر آهسته محصول مورد نظر به دست آمد. لازم به ذکر است که در این بررسی ها نوع کاتالیزور و باز، حلال و دما بهینه سازی گردید (طرح ۲). در پایان، ساختار بی آریل های سنتز شده با طیف سنجی ¹H NMR و ¹³C NMR شناسایی و تایید گردید.



طرح ۲- شمای واکنش سوزوکی میاورا

۲-۴- بررسی اثرات سمیت سلولی اکسیم پالاداسیکلیک های سنتز شده (۴-۱)

رده های سلول سرطانی (HT29, A549, 1321N1) از موسسه پاستور ایران خریداری گردید. سلول های خریداری شده در فلاسک (SPL, Korea) T25 و در محیط کشت DMEM (Gibco, USA) همراه با ۱۰٪ سرم جنینی گاو FBS (Gibco, USA) و ۱٪ پنی سیلین/استرپتومایسین در انکوباتور (سینا، ایران) با قابلیت تزریق CO₂ به مقدار ۵٪ و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شد. محیط های کشت هر سه روز تعویض شده و سلول ها با استفاده از تریپسین (ایده زیست، ایران) پاساژ داده شد. روش های متعددی جهت سنجش غیرمستقیم میزان تکثیر و زنده ماندن سلول ها وجود دارد که اغلب این روش ها میزان فعالیت یک آنزیم سلولی را درون سلول زنده ارزیابی می کنند. در این پژوهش از آزمون رنگ سنجی MTT استفاده

گردید. پودر MTT با غلظت ۵ mg/mL در PBS تهیه شد. سلول‌ها به تعداد $10^3 \times 10$ cell/well در پلیت ۹۶ خانه کشت داده شد. سپس به منظور چسبیدن سلول‌ها به کف پلیت، پلیت به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار داده و سپس محیط جدید حاوی غلظت‌های مختلف از ترکیبات به هر خانه اضافه شد. بعد از گذشت ۲۴ ساعت، پلیت‌ها برای آزمون MTT آماده شد. برای انجام این آزمون، پس از ۲۴ ساعت، $100 \mu\text{L}$ محلول MTT با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به هر خانه اضافه شد. سپس پلیت‌ها به مدت ۳ الی ۴ ساعت در دمای 37°C نگهداری شدند. پس از گذشت این مدت زمان، پلیت‌ها از انکوباتور خارج شده و محلول رویی سلول‌ها خارج گردید. سپس به هر خانه $100 \mu\text{L}$ DMSO اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه در انکوباتور قرار داده شد. میزان جذب در طول موج ۵۷۰ nm با استفاده از میکروپلیت ریدر (Fax stat, USA) اندازه‌گیری گردید. برای هر غلظت تیماری، ۳ بار تکرار گذاشته شد تا احتمال خطا کاهش یابد.

۳- بحث و نتیجه‌گیری

۳-۱- مطالعات اسپکتروسکوپی

بخشی از داده‌های اسپکتروسکوپی کمپلکس‌های پالادیوم (II) (۴-۱) و لیگاندهای فسفردار مربوطه ($\text{L}^1\text{-L}^4$) که به تشخیص ساختار کمپلکس‌ها کمک زیادی می‌کند، در جدول (۱) نشان داده شده است. در طیف IR، فرکانس گروه کربونیل ($\text{C}=\text{O}$) برای فسفرایلیدها در حدود $1503\text{-}1524 \text{ cm}^{-1}$ ظاهر می‌گردد [۲۵-۲۱] که با کوئوردینه شدن لیگاند به فلز پالادیوم فرکانس کششی گروه کربونیل در کمپلکس‌های سنتز شده (۴-۱) به سمت فرکانس‌های بالاتر ($1610\text{-}1630 \text{ cm}^{-1}$) جابه‌جا شده است. همچنین در طیف‌های IR کمپلکس‌های سنتز شده، فرکانس کششی $\text{C}=\text{N}$ پیریدینی در محدوده $1598\text{-}1602 \text{ cm}^{-1}$ ظاهر شد ولی فرکانس $\text{C}=\text{N}$ اکسیمی به دلیل همپوشانی با فرکانس گروه کربونیل و $\text{C}=\text{N}$ پیریدینی قابل تشخیص نیست. در طیف IR کمپلکس‌های سنتز شده دو نوار در محدوده 1100 و 620 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات یون پرکلرات ظاهر شده است. (شکل ۱-۴-ت، اطلاعات تکمیلی).

در طیف‌های $^3\text{P}\{^1\text{H}\}\text{NMR}$ کمپلکس‌های ۴-۱، پیک مربوط به رزونانس اتم فسفر گروه فسفین (PPh_2) به صورت یک پیک دوتایی در محدوده ۲۵ ppm ظاهر شده که در مقایسه با لیگاند فسفرایلید آزاد (محدوده ۲۹ ppm-) به طور قابل ملاحظه‌ای به سمت میدان‌های پایین‌تر جابه‌جا شده است ($\Delta = 54 \text{ ppm}$). همچنین جابه‌جایی مربوط به رزونانس فسفر گروه فسفونیوم (PCH) کمپلکس‌ها نسبت به لیگاند آزاد مشاهده شده است. رزونانس فسفر گروه فسفونیوم به صورت یک پیک دوتایی در محدوده ۳۳ ppm ظاهر شده که نسبت به لیگاند آزاد (محدوده ۱۱ ppm) به میدان‌های پایین‌تر جابه‌جا گردیده است (۲۲ ppm). علت این امر را می‌توان به اتصال کربن ایلیدی لیگاند فسفرایلید مربوطه به هسته فلز پالادیوم و در نتیجه کاهش چگالی الکترون روی این اتم فسفر نسبت داد (شکل ۵-۸-ت). برای نمونه در طیف $^3\text{P}\{^1\text{H}\}\text{NMR}$ کمپلکس ۴، دو پیک

دوتایی در ناحیه‌های ppm ۶۴/۲۵ و ppm ۵۸/۳۳ ظاهر شده است که به ترتیب مربوط به رزونانس اتم فسفر گروه فسفین (PPh₂) و فسفونیوم (PCH) است که در مقایسه با لیگاند فسفر ایلید L⁴ (۲۹/۶۷ ppm و ۱۱/۱۵ ppm) به میدان‌های پایین‌تر جابه‌جا شده است (شکل ۸ت).

در طیف‌های ¹H NMR کمپلکس‌های سنتز شده ۱-۴ رزونانس PCH به صورت یک پیک یکتایی پهن در محدوده ppm ۵/۷ ظاهر شده که نسبت به لیگاند فسفر ایلید آزاد مربوطه (محدوده ppm ۴/۲) در میدان پایین‌تری واقع شده است. این مطلب نشانگر کوئوردینه شدن ایلید به پالادیوم از طریق کربن ایلیدی و کاهش چگالی الکترون بر روی گروه CH است (شکل ۹ت-۱۲). پروتون‌های گروه PCH₂P به دلیل کوپلاژ با فسفرهای مجاور خود به صورت دو پیک چندتایی در ناحیه ppm ۴/۸ و ppm ۵/۱ مشاهده شده است. علاوه بر این، نواحی ظاهر شده برای پروتون‌های حلقه آروماتیک کمپلکس‌های ۱-۴ مطابقت خوبی با دیگر اکسیم پالاداسیکلیک‌های مشابه دارد [۷ و ۲۱]. در اینجا بایستی خاطر نشان کرد که برای لیگاند پیریدین ۲- کربالدهید اکسیم یک پیک یکتایی پهن مربوط به گروه OH در ppm ۱۱/۷۴ وجود دارد [۲۱] که در طیف‌های ¹H NMR کمپلکس‌های ۱-۴ این پیک مشاهده نگردید.

در طیف‌های ¹³C{¹H}NMR کمپلکس‌های ۱-۴، رزونانس کربن گروه کربونیل در محدوده ppm ۱۹۵-۱۹۶ ظاهر شده است که نسبت به لیگاندهای فسفر ایلید آزاد مربوطه (۱۸۱-۱۸۴ ppm) به سمت میدان‌های پایین‌تر جابه‌جا شده است. علت این امر را می‌توان به کوئوردینه شدن فسفر ایلید به پالادیوم از طریق کربن ایلیدی و در نتیجه کاهش چگالی الکترون روی اتم کربن گروه کربونیل نسبت داد. لازم به ذکر است رزونانس کربن گروه PCH کمپلکس‌ها به صورت یک پیک دوتایی در محدوده ppm ۴۸ ظاهر شده است که نسبت به لیگاند فسفر ایلید آزاد مربوطه به میدان‌های بالاتر جابه‌جا شده است. رزونانس کربن‌های آروماتیک کمپلکس‌ها در محدوده ppm ۱۱۴-۱۶۰ ظاهر شده است. همچنین رزونانس کربن گروه متوکسی (-OCH₃) کمپلکس ۴ به صورت یک پیک یکتایی در ناحیه ppm ۵۶ ظاهر شده است (شکل ۱۳-۱۶ت).

جدول ۱- بخشی از داده‌های اسپکتروسکوپی کمپلکس‌های (۱-۴) و لیگاندهای مربوطه (L¹-L⁴)

	IR	¹ H NMR	³¹ P{ ¹ H} NMR		¹³ C{ ¹ H} NMR	Ref.
	$\nu(\text{CO})$	$\delta(\text{PCH})$	$\delta(\text{PPh}_2)$ ($^2J_{\text{P-P}}$)	$\delta(\text{PCH})$ ($^2J_{\text{P-P}}$)	$\delta(\text{CO})$	
L ¹	1503	4.23(br)	-29.90(63.10)	11.35(63.10)	184.05	[22]
1	1622	5.69(br)	25.40 (43.54)	33.13 (43.53)	196.27	This work
L ²	1502	4.22 (d)	-30.07 (63.67)	11.39(62.98)	183.58	[22]
2	1621	5.70(br)	25.36 (42.56)	33.14 (42.52)	196.37	This work
L ³	1524	4.34(d)	-30.40 (62.50)	11.50(62.50)	181.99	[22]
3	1630	5.75(br)	24.88 (42.52)	33.72 (42.52)	195.73	This work
L ⁴	1507	4.24 (br)	-29.67 (62.36)	11.15(62.36)	184.61	[22]
4	1610	5.70(br)	25.64 (44.55)	33.58 (44.55)	195.86	This work

ν (cm⁻¹), δ (ppm), J (Hz)

بنابراین با توجه به نتایج آنالیزهای IR و NMR و مقایسه آن‌ها با دستاوردهای پژوهشی پیشین [۲۵-۲۱] شیوه اتصال $P-C$ - کوئوردینه برای لیگاند فسفردار (L^1-L^4) و تشکیل حلقه پنج عضوی تایید می‌گردد. علی‌رغم تلاش‌های بسیاری که برای تهیه بلورهای مناسب از کمپلکس‌های ۱-۴ جهت تعیین دقیق ساختار توسط کریستالوگرافی اشعه ایکس انجام شد، اما متأسفانه موفقیتی حاصل نگردید.

۳-۲- مطالعه خواص کاتالیزوری کمپلکس‌های سنتز شده در واکنش سوزوکی-میاورا

بهینه‌سازی واکنش سوزوکی-میاورا با برموبنزن و فنیل بوریک اسید در حضور کمپلکس‌های ۱-۴ (۴۶/۰ مول درصد) به عنوان کاتالیزور، در مدت زمان ۳۰ دقیقه و دمای $60^\circ C$ آغاز شد. از میان کاتالیزورهای ۱، ۲، ۳، ۴، بیشترین بازده (۹۲ درصد) برای کمپلکس ۳ به دست آمد و به‌عنوان کاتالیزور بهینه انتخاب شد. همچنین مقادیر کمتر این کاتالیزور (۴/۰ مول درصد) بررسی شد که بازده خوبی حاصل نشد. در مرحله دوم حلال واکنش بهینه‌سازی شد. از میان حلال‌های مورد استفاده، زوج حلال EtOH:H₂O با نسبت ۱ به ۱ به دلیل بازده بیشتر و سمیت کمتر به عنوان حلال بهینه انتخاب گردید. در مرحله سوم باز مورد استفاده در واکنش بهینه شد از میان بازهای مورد مطالعه (K_2CO_3 ، NaOAc، KOH، Na_2CO_3)، باز K_2CO_3 بهترین عملکرد را داشت و به عنوان باز بهینه انتخاب شد. در مرحله آخر شرایط دمای واکنش بررسی شد که بهترین نتیجه برای دمای $60^\circ C$ و $80^\circ C$ حاصل شد و از میان این دو دمای مناسب دما $60^\circ C$ به عنوان دمای بهینه انتخاب گردید. با توجه به نتایج به دست آمده از جدول (۲)، EtOH:H₂O به‌عنوان بهترین حلال، K_2CO_3 به عنوان باز و ۴۶/۰ درصد مولی از کاتالیزور ۳ در دمای $60^\circ C$ به عنوان شرایط بهینه واکنش انتخاب شد (واکنش ۴، جدول ۲).

جدول ۲- بهینه‌سازی واکنش جفت شدن کربن-کربن سوزوکی-میاورا با برموبنزن و فنیل بوریک اسید در حضور کمپلکس‌های (۱-۴)

Entry	Catalyst (mol%)	T(°C)	Solvent	Base	Yield (%)
1	1 (0.46)	60	EtOH/H ₂ O	K_2CO_3	88
2	2 (0.46)	60	EtOH/H ₂ O	K_2CO_3	90
3	4 (0.46)	60	EtOH/H ₂ O	K_2CO_3	86
4	3 (0.46)	60	EtOH/H₂O	K_2CO_3	92
5	3 (0.04)	60	EtOH/H ₂ O	K_2CO_3	18
6	3 (0.004)	60	EtOH/H ₂ O	K_2CO_3	NC
7	3 (0.46)	60	DMF	K_2CO_3	61
8	3 (0.46)	60	MeOH	K_2CO_3	74
9	3 (0.46)	60	EtOH	K_2CO_3	85
10	3 (0.46)	60	H ₂ O	K_2CO_3	55
11	3 (0.46)	60	EtOH/H ₂ O	—	NC
12	3 (0.46)	60	EtOH/H ₂ O	KOH	63

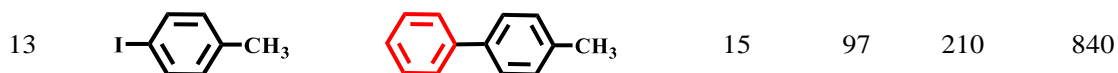
13	3 (0.46)	60	EtOH/H ₂ O	Na ₂ CO ₃	81
14	3 (0.46)	25	EtOH/H ₂ O	K ₂ CO ₃	70
15	3 (0.46)	80	EtOH/H ₂ O	K ₂ CO ₃	92

Reagents and conditions: Ph-Br (0.5 mmol), Ph-B(OH)₂ (0.6 mmol), Base (1 mmol), Solvent (3 mL), Catalyst, Time 30 min, NC (no conversion).

پس از به دست آوردن شرایط بهینه، به‌منظور گسترش دامنه کاربرد کاتالیزور **3** در سنتز ترکیبات بی‌آریل، واکنش سوزوکی برای انواع مختلف آریل هالیدها (کلرید، برمید و یدید) با فنیل بوریک اسید بررسی شد (جدول ۳). آریل یدیدها به دلیل اینکه ید ترک‌کننده بهتری نسبت به برم و کلر است به سرعت و با بازده بالا به محصولات مربوطه تبدیل می‌شوند. نقش استخلاف‌های روی آریل هالید در واکنش سوزوکی نیز بررسی شد. اگر چه جفت شدن آریل کلریدها و آریل برمیدهای حاوی گروه‌های الکترون دهنده نیاز به مدت زمان بیشتری نسبت به آریل یدیدها دارد، اما برای هر دو گروه الکترون کشنده و الکترون دهنده در زمان قابل قبول و با بازده‌های خوب تا عالی انجام شد.

جدول ۳- واکنش‌های جفت شدن سوزوکی-میاورا (آریل هالیدها (کلرید، برمید و یدید) و فنیل بوریک اسید) در حضور کمپلکس **3**

Entry	Aryl halide	Product	Time (min) ^a	Yield (%)	TON ^b	TOF(h ⁻¹) ^c
1			120	62	134	67
2			120	71	154	77
3			120	76	165	82
4			30	95	206	412
5			30	96	208	416
6			30	93	202	404
7			30	94	204	408
8			30	94	204	408
9			30	92	200	400
10			30	89	193	386
11			30	87	189	378
12			15	98	213	852

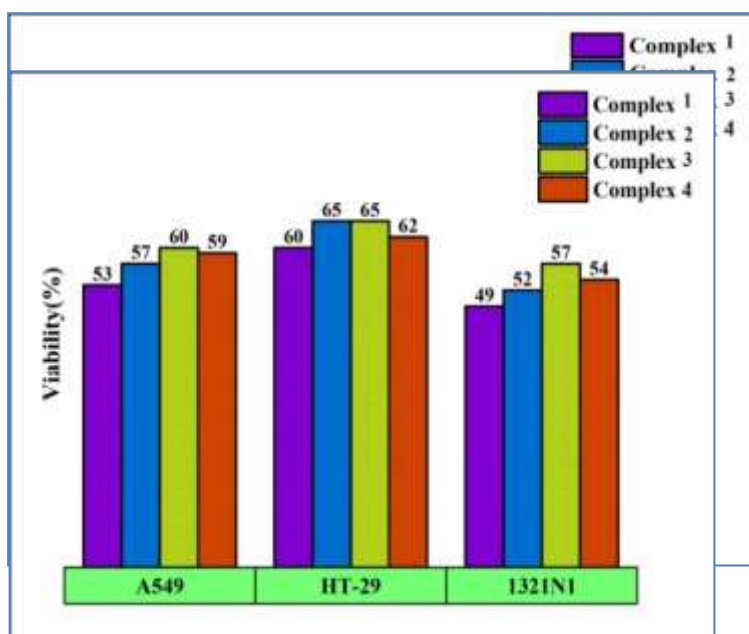


Reaction conditions: Catalyst **3** (2 mg, 0.46 mol%); phenylboronic acid (0.6 mmol); Aryl halides (0.5 mmol); K₂CO₃ (1 mmol); solvent: EtOH/H₂O (1:1, 3 mL); at 60 °C under air.

^aTON: (turnover number, yield of product/per mol of Catalyst). ^bTOF: TON/t (h).

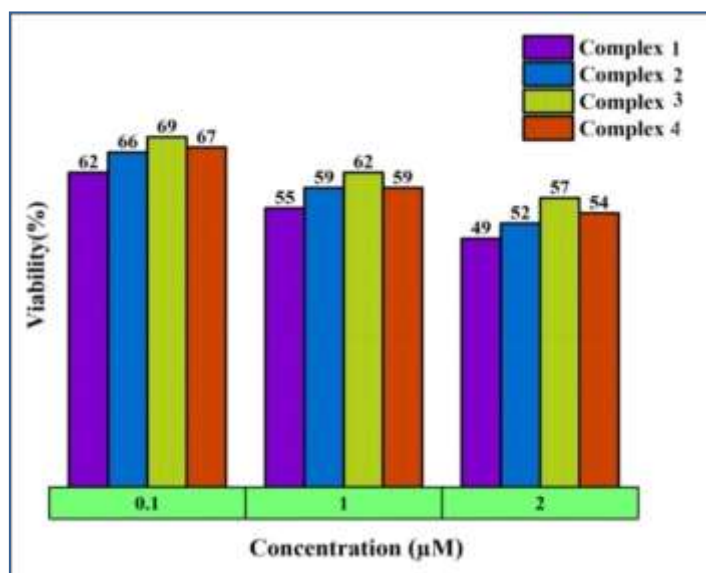
۳-۳- مطالعه اثرات سمیت سلولی کمپلکس‌های سنتز شده

با هدف غلبه بر محدودیت های شناخته شده داروهای ضد سرطانی مبتنی بر پلاتین، تلاش های اخیر بر توسعه عوامل ضد سرطانی جدید حاوی فلزاتی غیر از پلاتین متمرکز شده است. در میان این عوامل، ترکیبات پالادیوم به دلیل پایداری بالا در شرایط فیزیولوژیکی در سالیان اخیر مورد توجه قرار گرفته‌اند. تعداد قابل توجهی از این ترکیبات در شرایط آزمایشگاهی و درون تنی فعالیت ضد تکثیری امیدوارکننده ای را نسبت به چندین تومور داده‌اند [۲۶-۲۸]. در این پژوهش ویژگی سمیت سلولی کمپلکس‌های ۱-۴ با استفاده روش MTT-assay در برابر رده‌های سلولی A549، HT29 و 1321N1 ارزیابی گردید. سمیت سلولی کمپلکس‌های ۱-۴ با غلظت ۲ μM، برای از بین بردن سلول‌های سرطانی A549، HT29 و 1321N1 با استفاده از روش MTT پس از مدت زمان ۲۴ ساعت ارزیابی شد (شکل ۱). نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که سلول‌های تیمار شده، توسط کمپلکس ۱ نسبت به سایر کمپلکس‌های مطالعه شده بیشتر دچار آپوپتوز شده به این معنی که کمپلکس ۱ سمیت بیشتری داشته و این میزان برای رده سلولی 1321N1 بیشتر بود بدین معنی که این رده نسبت به سایر رده‌ها حساسیت بالاتری را داشته است.



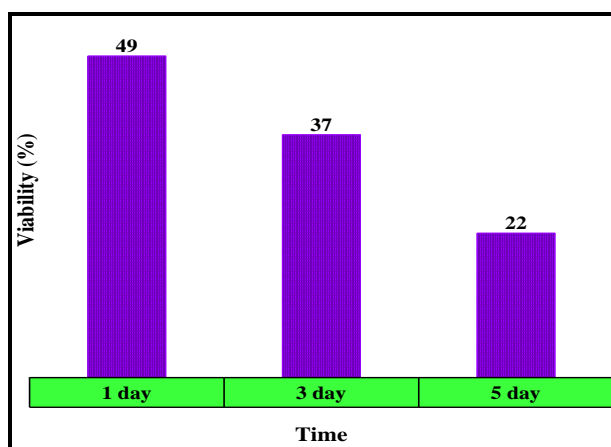
شکل ۱- درصد بقای سلول‌های سرطانی A549، HT29 و 1321N1 تیمار شده با غلظت ۲ μM از کمپلکس‌های ۱-۴ پس از مدت زمان ۲۴ ساعت با روش MTT

درصد بقای سلول‌های سرطانی 1321N1 (شکل ۲) در برابر کمپلکس ۱ در سه غلظت متفاوت (۰/۱، ۱، ۲ μM) پس از مدت زمان ۲۴ ساعت نشان داده شده است. بر اساس نتایج به دست آمده، فعالیت ضد سرطانی کمپلکس‌ها به غلظت وابسته است و هر چه غلظت کمپلکس‌ها بیشتر شود سلول‌های سرطانی بیشتری از بین می‌رود. از بین کمپلکس‌های مورد مطالعه، کمپلکس ۱ نسبت به کمپلکس‌های دیگر اثر سمیت بیشتری بر رده سلولی 1321N1 داشت.



شکل ۲- درصد بقای سلول‌های سرطانی 1321N1 تیمار شده با کمپلکس ۱، در سه غلظت متفاوت (۰/۱، ۱، ۲ μM) با روش MTT پس از مدت زمان ۲۴ ساعت

در شکل (۳) بقای سلول‌های سرطانی 1321N1 تیمار شده با کمپلکس ۱ در روزهای اول، سوم و پنجم بررسی شد. نتایج نشان داد که اثرات سمیت این کمپلکس به زمان وابسته است و هر چه زمان بیشتر شود سلول‌های سرطانی بیشتری از بین می‌رود. مقدار IC_{50} (غلظتی از دارو (ترکیب) است که در آن ۵۰٪ سلول‌ها از بین رفته‌اند و یا از رشد آن‌ها جلوگیری شده است) برای کمپلکس ۱ در برابر رده سلول‌های سرطانی 1321N1، ۲ μM به دست آمد.



شکل ۳- درصد بقای سلول‌های سرطانی 1321N1 در برابر کمپلکس ۱، با غلظت (۲ μM) با روش MTT در روزهای اول، سوم و پنجم

۴- نتیجه گیری

در این پژوهش، چهار اکسیم پالاداسیکلیک‌های تک هسته‌ای جدید حاوی لیگاندهای فسفرایلید سنتز و به وسیله روش‌های اسپکتروسکوپی ^{31}P NMR، ^1H NMR، ^{13}C NMR و FT-IR و آنالیز عنصری شناسایی شد. نتایج حاصل از این تحقیق، شکستن پل‌های کلر دایمر اکسیم پالاداسیکلیک $[\text{Pd}\{\text{N,N}'\text{-C}_5\text{H}_4\{\text{C}(\text{H})=\text{NOH}\}\text{-2}\}(\mu\text{-Cl})_2]$ و اتصال لیگاندهای فسفرایلید از طریق اتم فسفر گروه فسفین و اتم کربن ایلیدی (شیوه اتصال P، C-کوئوردینه) را تایید کرد. در ادامه، کاربرد کمپلکس‌های سنتز شده به عنوان کاتالیزور در واکنش جفت شدن کربن-کربن سوزوکی و اثرات سمیت سلولی بر رده‌های سلولی A549، HT-29 و 1321N1 با استفاده از روش MTT-assay مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که این ترکیبات می‌توانند در زمینه فعالیت کاتالیزوری و ضد سرطانی به نحو مطلوبی مورد استفاده قرار گیرند.

۵- تقدیر و تشکر

بدین‌وسیله نویسندگان مقاله از حمایت‌های پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز تشکر و قدردانی می‌نمایند.

۶- فهرست منابع و مآخذ

- [1] Rappoport, Z., & Liebman, J.F. (2008). *The Chemistry of Hydroxylamines, Oximes and Hydroxamic Acid* (Vol. 1). John Wiley & Sons.
- [2] Alonso, D. A., Nájera, C., & Pacheco, M. C. (2000). Oxime Palladacycles: Stable and Efficient Catalysts for Carbon-Carbon Coupling Reactions. *Organic Letters*, 2 (13), 1823-1826.
- [3] Li, J., Hu, Y., Zhang, D., Liu, Q., Dong, Y., & Liu, H. (2017). Transition Metal-Catalyzed Reactions Involving Oximes. *Advanced Synthesis & Catalysis*, 359, 710-771.
- [4] Tanaka, K., Hashimoto, Y., Morita, N., & Tamura, O. (2022). Directing-group-free palladium-catalyzed C-H arylation of aldoxime using oxime's umpolung properties. *Organic Letters*, 24 (49), 8954-8958.
- [5] Nájera, C., (2016). Oxime-Derived Palladacycles: Applications in Catalysis. *ChemCatChem*, 8, 1865-1881.
- [6] Toiviala, M., Kleemola, V., Maity, S., & Lönnberg, T. (2023). Pd(II)-Mediated Base Pairing by an Acetophenone Oxime Palladacycle within ^{15}N -Labelled Double-Helical Oligonucleotides. *European Journal of Organic Chemistry*, 26(10), e202201443.
- [7] Alinaghi, M., Karami, K., Shahpiri, A., Momtazi-borojeni, A. A., Abdollahi, E., & Lipkowski, J. (2020). A Pd (II) complex derived from pyridine-2-carbaldehyde oxime ligand: Synthesis, characterization, DNA and BSA interaction studies and in vitro anticancer activity. *Journal of Molecular Structure*, 1219, 128479.

- [8] Onoue, H., Minami, K., & Nakagawa, K. (1970). Aromatic metalation reactions by palladium (II) and platinum (II) on aromatic aldoximes and ketoximes. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 43, 3480-3485.
- [9] Abedanzadeha, S., Khaghani Azara, M., & Davaei, B. (2023). Synthesis and characterization of cyclometalated Pd(II) complex bearing tyrosine: Experimental and theoretical study of interaction with biomacromolecules. *Journal of Applied Chemistry*, 68 (18), 217-234.
- [10] Noroozi, N., & Keshtgar, S. (2016). Pd-Catalyzed Carbon-Carbon Bond Formation Reactions, *Journal of Applied Chemistry*, 11 (39), 115-132.
- [11] Vicente, J., Chicote, M. -T., Abellán-López, A., & Bautista D. (2012). A systematic study on the synthesis, reactivity and structure of ortho-palladated aryloximes, including the first cyclopalladated aryloximato and iminoaryloxime complexes. *Dalton Transactions*, 41, 752-762.
- [12] De Souza, R. F., da Cunha, G.A., Pereira, J.C., Garcia, D.M., Bincoletto, C., Goto, R.N., Leopoldino, A.M., da Silva, I.C., Pavan, F.R., Deflon, V.M. (2019). Orthopalladated acetophenone oxime compounds bearing thioamides as ligands: synthesis, structure and cytotoxic evaluation. *Inorganica Chimica Acta*, 486, 617-624.
- [13] Alonso, D.A., Najera, C., & Pacheco, M.C. (2002). Oxime-derived palladium complexes as very efficient catalysts for the Heck-Mizoroki reaction. *Advanced Synthesis & Catalysis*, 344 (2), 172-183.
- [14] Kapdi, A.R., & Fairlamb, I.J. (2014). Anti-cancer palladium complexes: a focus on PdX₂L₂, palladacycles and related complexes. *Chemical Society Reviews*, 43, 4751-4777.
- [15] Bangde, P., Prajapati, D., Dandekar, P., Fairlamb, I. J., & Kapdi, A. R. (2019). *Palladacycles as Potential Anticancer Agents*. Elsevier, Amsterdam, 343-370.
- [16] Fong, T. T. H., Lok, C. N., Chung, C. Y. S., Fung, Y. M. E., Chow, P. K., Wan, P. K., & Che, C.M. (2016). Cyclometalated palladium(II) N-Heterocyclic carbene complexes: anticancer agents for Potent in vitro cytotoxicity and in vivo tumor growth suppression. *Angewandte Chemie International Edition*, 55, 11935-11939.
- [17] Dehghani Mobarake, M., Habibi, M. R., & Faghihi Zarandi, A. (2020). New membrane based on Pd-SiO₂ catalyst on PSS/NaX for hydrogen separation: Design and optimization. *Journal of Applied Chemistry*, 15 (56), 131-148.
- [18] El-bendary, M. M., Saleh, T. S., & Al-Bogami, A. S. (2021). Synthesis and structural characterization of a palladium complex as an anticancer agent, and a highly efficient and reusable catalyst for the Heck coupling reaction under ultrasound irradiation: A convenient sustainable green protocol, *Polyhedron*, 194, 114924.
- [19] Jamiei, N., Ghaffarinejad, A., & Kazemi, H. (2024). Synthesis of palladium silver electrocatalyst by cyclic voltammetry on graphite substrate as high-performance electrocatalyst for electrochemical production of hydrogen in acid aqueous media. *Applied Chemistry Today*, 19 (70), 87-104.

- [20] Dupont, J., Consorti, C. S., & Spencer, J. (2005). The potential of palladacycles: more than just precatalysts. *Chemical Reviews*, 105, 2527-2572.
- [21] Samiee, S., Shiralinia, A., Hoveizi, E., & Gable, R. W. (2019). A new family of oxime palladacycles mixed with unsymmetrical phosphorus ylides; synthesis, structural, cytotoxicity and catalytic activity studies. *Journal of Organometallic Chemistry*, 900, 120927.
- [22] Sabounchei, S. J., Samiee, S., Nematollahi, D., Naghipour, A., & Morales-Morales, D. (2010). Synthesis, characterization and structural studies of new palladium (II) complexes including non-symmetric phosphorus ylides. *Inorganica Chimica Acta*, 363, 3973-3980.
- [23] Ebrahim, M. M., Panchanatheswaran, K., Neels, A., & Stoeckli-Evans, H. (2009). Mercury(II) complexes of stabilized phosphine-phosphonium ylide derived from bis(diphenylphosphino)methane: Synthesis, spectra and crystal structures. *Journal of Organometallic Chemistry*, 649, 643-648
- [24] Sabounchei, S. J., Hosseinzadeh, M., Salehzadeh, S., Maleki, F., & Gable, R.W. (2017). Mononuclear palladium (II) and platinum (II) complexes of P, C-donor ligands: synthesis, crystal structures, cytotoxicity, and mechanistic studies of a highly stereoselective MizorokieHeck reaction. *Inorganic Chemistry Frontiers*, 4, 2107-2118.
- [25] Samiee, S., Kolahi, M., Shirali, L., & Kordi, S. (2020). Synthesis, characterization and biological activity studies of mononuclear Pd(II) complexes derived from unsymmetrical ylides. *Journal of Applied Chemistry*, 15 (56), 225-240.
- [26] Reigosa-Chamorro, F., Raposo, L. R., Munin-Cruz, P., Pereira, M. T., Roma-Rodrigues, C., Baptista, P. V., & Vila, J. M. (2021). In vitro and in vivo effect of palladacycles: targeting A2780 ovarian carcinoma cells and modulation of angiogenesis. *Inorganic Chemistry*, 60(6), 3939-3951.
- [27] Scattolin, T., Voloshkin, V. A., Visentin, F., & Nolan, S. P. (2021). A critical review of palladium organometallic anticancer agents. *Cell Reports Physical Science*, 2, 100446.
- [28] Zanetti, R. D., da Cunha, G. A., Moreira, M. B., Farias, R. L., de Souza, R. F., de Godoy, P. R., & Mauro, A. E. (2023). Orthopalladated N, N-dimethyl-1-phenethylamine compounds containing 2, 6-lutidine: Synthesis, DNA binding studies and cytotoxicity evaluation. *Polyhedron*, 229, 116185.