

**ФИО соискателя:** Колесников Андрей Эдуардович

**Название диссертации:** Визуализация и оптимизация токсикологических профилей каталитических процессов на примере реакций кросс-сочетания

**Шифр специальности** – 1.4.9 – Биоорганическая химия

**Химические науки**

**Шифр диссертационного совета:** 24.1.092.01

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук

119991, Россия, г. Москва, Ленинский проспект, 47

Тел.: +7 (499) 137-13-79

E-mail: sci-secr@ioc.ac.ru

Дата размещения полного текста диссертации на сайте Института <http://zioc.ru/>

12 сентября 2025 года

Дата приема к защите

18 сентября 2025 года

Дата размещения автореферата на сайте ВАК <https://vak.minobrnauki.gov.ru>

24 сентября 2025 года

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
ИНСТИТУТ ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ ИМ. Н.Д. ЗЕЛИНСКОГО  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

*На правах рукописи*



Колесников Андрей Эдуардович

**ВИЗУАЛИЗАЦИЯ И ОПТИМИЗАЦИЯ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ  
ПРОФИЛЕЙ КАТАЛИТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ НА ПРИМЕРЕ РЕАКЦИЙ  
КРОСС-СОЧЕТАНИЯ**

1.4.9 – Биоорганическая химия

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Москва – 2025

Работа выполнена в Лаборатории металлокомплексных и наноразмерных катализаторов (№30) Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук

НАУЧНЫЙ  
РУКОВОДИТЕЛЬ:

**Анаников Валентин Павлович,**  
доктор химических наук, академик Российской академии наук, заведующий Лабораторией металлокомплексных и наноразмерных катализаторов (№30) ФГБУН Института органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН

ОФИЦИАЛЬНЫЕ  
ОППОНЕНТЫ:

**Лузина Ольга Анатольевна,**  
доктор химических наук, ведущий научный сотрудник Лаборатории физиологически активных веществ ФГБУН Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН

**Неганова Маргарита Евгеньевна,**  
доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник Лаборатории фосфорорганических соединений ФГБУН Института элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН

ВЕДУЩАЯ  
ОРГАНИЗАЦИЯ:

**Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)**

Защита диссертации состоится «26» ноября 2025 г. в 12<sup>30</sup> на заседании диссертационного совета 24.1.092.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Института органической химии им. Н. Д. Зелинского РАН по адресу:  
119991, Россия, г. Москва, Ленинский проспект, д. 47.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИОХ РАН и на официальном сайте института (<http://zioc.ru>). Автореферат размещен на официальном сайте Высшей аттестационной комиссии при Министерстве образования и науки Российской Федерации (<https://vak.minobrnauki.gov.ru>).

Автореферат разослан «\_\_\_\_\_» октября 2025 г.

Ваш отзыв в двух экземплярах, заверенный гербовой печатью, просим направлять ученому секретарю диссертационного совета 24.1.092.01 по адресу:  
119991, Россия, г. Москва, Ленинский проспект, 47.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
24.1.092.01 ИОХ РАН



д.х.н. Газиева Г.А.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность и степень разработанности темы исследования.** Современная химическая наука и промышленность ориентированы на разработку устойчивых, экологически безопасных и экономически эффективных синтетических процессов. На этом фоне критически возрастает значение оценки экологической безопасности химических реакций на всех этапах, особенно таких широко распространенных, как каталитические реакции кросс-сочетания. Несмотря на развитие концепции «зеленой» химии и наличие ряда метрик, большинство существующих подходов либо ограничиваются анализом ресурсоэффективности, либо требуют токсикологических данных, которые в основном основаны на трудоемких *in vivo* исследованиях. Другой важной проблемой остается отставание токсикологических исследований от темпов разработки новых соединений, которые ежегодно синтезируют химики. Кроме того, для многих известных веществ данные о токсичности отсутствуют даже в общепризнанных базах данных, таких как NLM PubChem или Chemical Safety's SDS Database, что затрудняет анализ опасности химических процессов. Дополнительным ограничением является то, что многие метрики строятся на упрощенном представлении о химическом производстве как о замкнутой системе, не взаимодействующей с окружающей средой, что в настоящее время не считается приемлемым. Проведенный анализ литературы показывает, что существующие подходы к оценке токсичности чаще всего рассматривают отдельные вещества, а не химические системы в целом, при этом формально «зеленые» технологии зачастую не проходят токсикологическую оценку. Таким образом, даже при соответствии синтетических методик формальным критериям экологичности они могут оказывать существенное токсическое воздействие на живые организмы и экосистемы.

**Цель** данного исследования заключается в разработке методологии визуализации и оптимизации токсикологических профилей каталитических химических процессов. Под токсикологическим профилем химического процесса в данной работе понимается наглядное представление «токсического потенциала» процесса, одновременно учитывающего массы всех компонентов реакционной системы (исходные вещества, реагенты, растворители, катализатор, продукты реакции) и их токсичность.

Для достижения данной цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Подобрать модельные практически-значимые реакции палладий-катализируемого образования связей C-C и C-N.
2. Провести скрининг цитотоксичности компонентов этих реакций и дать рекомендации по выбору набора наиболее безопасных реагентов.
3. Разработать новые способы визуализации вклада компонентов реакции в общий токсикологический профиль процесса.

4. Провести исследование цитотоксичности смесей компонентов реакции Мизороки-Хека в реальных соотношениях с анализом отклонений от модели аддитивности доз или концентраций для выявления синергетического или антагонистического взаимодействий для более полной оценки экологической безопасности химического процесса.

**Научная новизна.** Проведено системное исследование безопасности реакций каталитического кросс-сочетания. Получены количественные данные по цитотоксичности наиболее распространенных компонентов реакций каталитического кросс-сочетания Соногаширы, Мизороки-Хека и Бахвальда-Хартвига. Впервые продемонстрировано применение биострипов для оценки безопасности реакций Соногаширы и Мизороки-Хека. Предложена новая форма токсикологического профиля – «токсикограмма», позволяющая визуализировать большое число комбинаций реагентов на примере реакции Бахвальда-Хартвига. Впервые проведен анализ цитотоксичности смесей компонентов каталитической реакции в реальных мольных соотношениях на разных стадиях на примере реакции Мизороки-Хека. Показана применимость модели аддитивности доз или концентраций при оценке цитотоксического воздействия компонентов каталитических реакций в составе сложных реакционных смесей на фибробласты кожи человека.

**Теоретическая и практическая значимость.** Полученные в ходе работы данные по цитотоксичности основных классов соединений, используемых в реакциях кросс-сочетания (включая реагенты, катализаторы, основания, растворители, продукты и побочные соединения), позволяют проводить обоснованный выбор условий синтеза с учетом токсикологического профиля процесса. Предложенные методики могут быть использованы для предварительной оценки риска при планировании новых синтетических стратегий и усовершенствования действующих производств. Полученные в ходе исследования результаты подчеркивают необходимость пересмотра существующих подходов к оценке экологической безопасности химических систем, принимая во внимание возможные межмолекулярные взаимодействия в реакционных смесях.

**Положения, выносимые на защиту:**

- Для оценки безопасности реакций Соногаширы и Мизороки-Хека были проанализированы 864 индивидуальные реакции и рассмотрены 2592 биострипа, на основании чего были предложены наиболее безопасные комбинации реагентов.
- Для оценки безопасности 864 реакций Бахвальда-Хартвига впервые предложен и реализован метод «токсикограмм» – новый подход к визуализации токсикологических профилей, позволяющий оптимизировать анализ большого числа индивидуальных путей получения одного продукта, – на основании чего были предложены наиболее безопасные комбинации реагентов.

- Показано, что цитотоксичность смесей компонентов реакции Мизороки-Хека в реальных мольных соотношениях может существенно отличаться от суммы индивидуальных цитотоксических эффектов предположительно за счет межмолекулярных взаимодействий.

- Анализ цитотоксических эффектов 42 реакционных смесей Мизороки-Хека с помощью модели аддитивности доз или концентраций показал, что данная модель может быть использована для предварительной экспресс-оценки безопасности каталитических реакций, при условии наличия значений  $CC_{50}$  для отдельных компонентов. В противном случае рекомендуется определять цитотоксичность всей реакционной смеси на начальной и конечной стадиях реакции.

**Достоверность результатов** обеспечена корректно выбранными **методами и методологией** исследования, включающими использование коллекционных клеточных линий человека различного происхождения (раковых, нормальных, нормальных иммортализованных), свободных от вирусной и микоплазменной контаминации, релевантных для оценки воздействия факторов окружающей среды; применением высококачественных реагентов биохимической степени чистоты, наличием контрольных групп и строгим соблюдением стерильных условий работы. Исследуемые компоненты химических реакций имели высокую степень чистоты, а цитотоксичность определялась с помощью колориметрического теста MTS для оценки метаболической активности клеток, обладающего высокой чувствительностью и воспроизводимостью, с проведением не менее трех независимых экспериментов. Чистота и строение известных соединений, использованных в данной работе, подтверждены методами спектроскопии ЯМР и ГХ-МС на аккредитованном оборудовании. Полученные данные были подвергнуты статистической обработке с целью подтверждения значимости выявленных различий. Используются современные системы сбора и обработки научно-технической информации: электронные базы данных Reaxys (Elsevier, Нидерланды), SciFinder (CAS, США) и Web of Science (Clarivate Analytics, Великобритания), а также полные тексты статей и книг.

**Структура диссертации.** Данная диссертационная работа состоит из введения, литературного обзора, экспериментальной части, обсуждения результатов, выводов, списка основных публикаций по теме диссертационного исследования, списка литературы, благодарностей и трех приложений. Материал работы изложен на 138 страницах и включает 17 рисунков, 21 схему, 6 таблиц, 35 уравнений, 210 библиографических наименований и 3 приложения.

**Соответствие специальности.** Диссертационная работа соответствует п. 6 «Экологические проблемы, вопросы анализа природных токсикантов, ксенобиотиков и охраны окружающей природы» паспорта специальности 1.4.9 – Биоорганическая химия (химические науки).

**Личный вклад автора.** Автор принимал непосредственное участие в постановке научных задач, разработке плана исследований, сборе и анализе литературных данных, обработке полученных результатов и формулировке выводов, а также в подготовке публикаций и тезисов докладов по теме диссертации. Автор провел значительную часть биологических экспериментов, включая культивирование клеточных линий, проведение цитотоксических тестов, расчет цитотоксичности смесей и статистическую обработку данных. В химической части работы автор выполнил основную часть исследований: проведение модельных каталитических реакций, анализ реакционных масс, синтез ряда продуктов реакций каталитического кросс-сочетания. Кроме того, автор осуществлял съемку и интерпретацию спектров ЯМР, анализ данных масс-спектрометрии, построение и обработку биострипов и токсикограмм химических реакций.

**Апробация работы.** По материалам исследования опубликовано 4 статьи в ведущих рецензируемых зарубежных и отечественных научных журналах, индексируемых базами данных Web of Science, Scopus и/или РИНЦ, а также 3 тезиса докладов на всероссийских, региональных и международных научных конференциях. Основные результаты работы докладывались на X Молодежной конференции ИОХ РАН (Москва, 2023), Международной конференции «New Emerging Trends in Chemistry» (Ереван, Республика Армения, 2023) и VI Всероссийской конференции по органической химии (Москва, 2024). Работа выполнена в рамках проекта РНФ № 21-13-00049 и плана научно-исследовательской работы ИОХ РАН.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### 1. Использование биострипов в оценке безопасности реакций каталитического кросс-сочетания

Ниже кратко изложены принципы построения биострипов для оценки безопасности химических реакций. Как было описано ранее [1], биострипы представляют собой графическую визуализацию химической реакции, основанную на цитотоксичности всех компонентов реакции, проявляемой в отношении конкретной клеточной линии. Основная идея применения биострипов заключается в оценке и визуализации токсического воздействия химического процесса на человеческий организм за счет варьирования компонентов одной и той же реакции при сохранении неизменным целевого продукта. Если в качестве показателя токсичности вещества используется полумаксимальная цитотоксическая концентрация ( $CC_{50}$ ), то относительный вклад каждого вещества в «общую цитотоксичность» реакционной системы можно визуализировать, приравняв площадь секторов на диаграмме к «нормализованной цитотоксичности» (NC) каждого соединения (см. Уравнение (1)):

$$NC = \frac{n}{CC_{50}} \quad (1),$$

где  $n$  – количество вещества, участвующего или образующегося в реакции (ммоль), а  $CC_{50}$  – его полумаксимальная цитотоксическая концентрация ( $\text{ммоль} \cdot \text{л}^{-1}$ , мМ), измеренная на конкретной клеточной линии. В данном исследовании клеточные линии были выбраны в соответствии с их значимостью для оценки путей воздействия химических веществ и процессов: FRSN (мезенхимные стволовые клетки из крайней плоти) и DF-1 (мезенхимные стволовые клетки из кожи век) могут быть использованы в качестве модели для оценки кожной токсичности, что является одной из наиболее распространенных форм токсичности, актуальных для работы с химическими веществами в лабораториях или производственных условиях; HEK293T (иммortalизованные клетки почки эмбриона) могут быть использованы в качестве модели для оценки почечной токсичности, что является одной из ключевых проблем при системном воздействии и выведении веществ; CaCo-2 (колоректальная аденокарцинома) могут быть использованы в качестве модели для оценки токсичности для желудочно-кишечного тракта и абсорбции, что имеет важное значение при оценке рисков перорального воздействия (например, случайное проглатывание химических веществ).

Цитотоксические потенциалы (CP) характеризуют токсичность соединений, входящих в реакцию (исходный цитотоксический потенциал, или  $CP_i$ , включающий исходные соединения, катализатор, растворитель и другие реагенты; см. Уравнение (2)) и соединений, покидающих реакцию (конечный цитотоксический потенциал, или  $CP_f$ , включающий продукты, побочные продукты и регенерируемые соединения, такие как катализатор и растворитель; см. Уравнение

(3)). Относительный конечный цитотоксический потенциал ( $CP_{f\_rel}$ ) характеризует токсичность соединений, покидающих реакцию, за исключением целевого продукта (см. Уравнение (4)).

$$CP_i = \sum NC_{in} \quad (2),$$

$$CP_f = \sum NC_{out} \quad (3),$$

$$CP_{f\_rel} = \sum NC_{out} - NC_{product} \quad (4),$$

где *in* и *out* обозначают соединения, входящие в реакцию или покидающие ее, соответственно.

В каждом биострипе длина отдельных секций пропорциональна «нормализованной цитотоксичности» ( $NC$ ; см. Уравнение (1)) соответствующих компонентов: исходных веществ ( $SM$ ), катализаторов ( $CT$ ), дополнительных реагентов ( $R$ ), растворителей ( $S$ ), целевого продукта ( $P$ ) и побочных продуктов ( $BP$ ,  $SP$ ; см. Рисунок 1), для которых предусмотрена буквенная кодировка. Поскольку более низкие значения  $CC_{50}$  соответствуют более высокой цитотоксичности, более длинные секции в биострипе отражают больший вклад соответствующего вещества в «общую цитотоксичность» реакции, которая визуальнo определяется как длина всей полоски.

Цветовая кодировка секций биострипа соответствует значению  $CC_{50}$  соответствующих соединений, измеренному для конкретной клеточной линии. Наибольшая цитотоксичность (наименьшее значение  $CC_{50}$ ) отображается красным цветом, наименьшая цитотоксичность (наибольшее значение  $CC_{50}$ ) – зеленым. Остальные вещества представлены промежуточными оттенками красного, оранжевого, желтого и зеленого в соответствии с процентильным распределением значений  $CC_{50}$  согласно размещенной рядом с биострипами шкалой цитотоксичности.

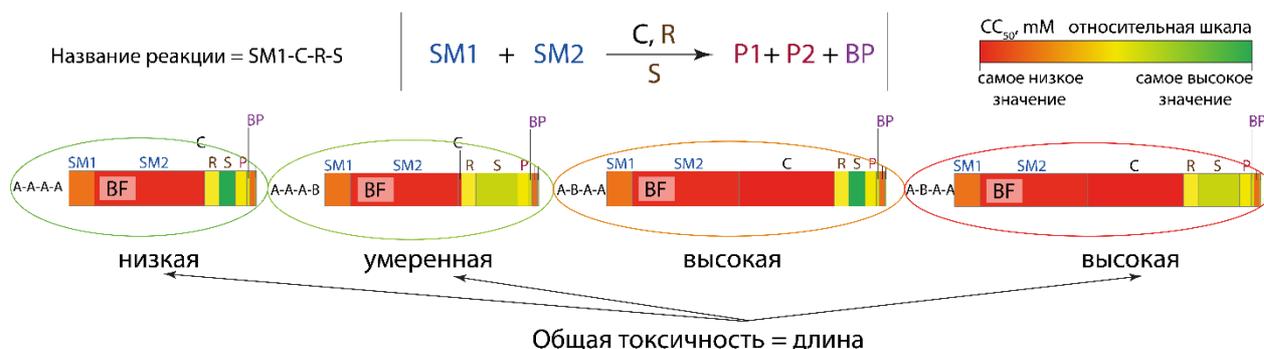


Рисунок 1. Принципиальная схема биострипа. Адаптировано из [1].

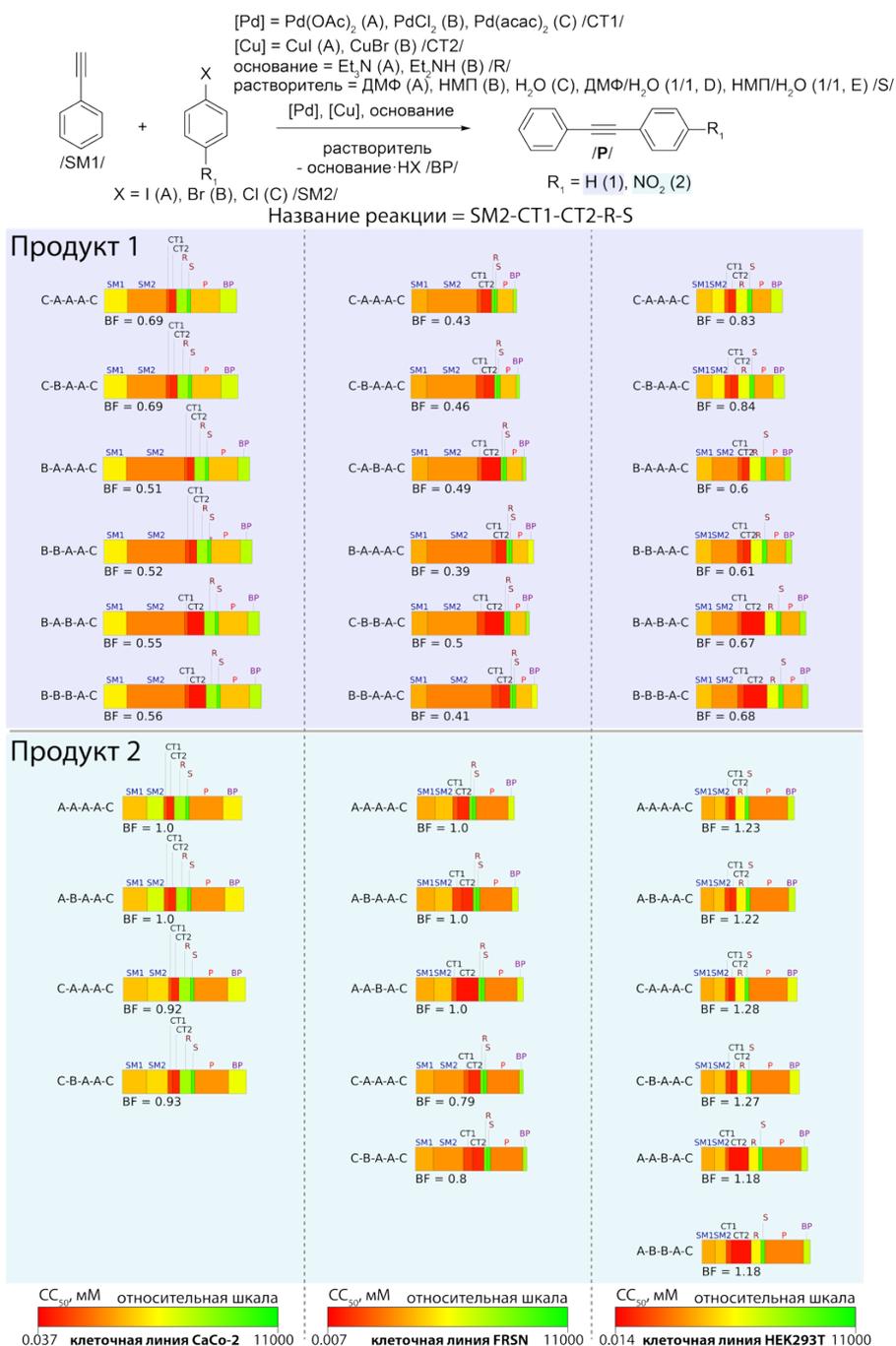
В данной работе биострипы были использованы для оценки экологической безопасности распространенных каталитических реакций Соногаширы и Мизороки–Хека с точки зрения цитотоксичности их компонентов. В частности, были рассмотрены пути синтеза десяти целевых соединений: дифенилацетилен; 1-нитро-4-(фенилэтинил)бензол; 1-нитро-3-((4-нитрофенил)этинил)бензол; 1-((4-метоксифенил)этинил)-3-нитробензол; (*E*)-стильбен; (*E*)-4-нитростильбен; (*E*)-4-хлористильбен; (*E*)-4-хлоро-4'-нитростильбен; (*E*)-4-фторо-4'-нитростильбен; (*E*)-4-метоксистильбен.

Всего было проанализировано 864 индивидуальных реакции и 2592 биострипов, дополненных СР. В этих реакциях варьировались следующие компоненты: исходные вещества (SM1, SM2); катализаторы (СТ1, СТ2); основания (R); растворители (S).

Проанализировав значения СР на трех клеточных линиях, можно отметить, что Pd(acac)<sub>2</sub> в качестве катализатора 1 (СТ1) и Et<sub>2</sub>NH в качестве основания (S) вносят значительный вклад в «общую цитотоксичность» реакции. Неудивительно, что вода оказалась предпочтительным растворителем, поскольку ее расчетная 24-ч СС<sub>50</sub> составила >11 М и была почти на два порядка выше, чем у *N*-метилпирролидона (НМП) для всех протестированных клеточных линий. Тем не менее, токсический эффект при использовании диметилформамида (ДМФ) в качестве растворителя по сравнению с НМП также был ярко выражен. Использование же смесей 1:1 (об./об.) НМП или ДМФ с водой позволило снизить СР.

При выборе исходных соединений (SM) следует учитывать следующие факторы:

1. При синтезе дифенилацетилена в качестве SM2 следует использовать бромбензол (B) или хлорбензол (C) (см. Рисунок 2 (продукт 1));
2. При синтезе 1-нитро-4-(фенилэтинил)бензола и 1-нитро-3-((4-нитрофенил)этинил)бензола предпочтительным является 1-йод-4-нитробензол (A) или 1-хлор-4-нитробензол (C), но вклад 1-бром-4-нитробензола (B) в «общую цитотоксичность» реакции также не очень высок (см. Рисунок 2 (продукт 2));
3. При синтезе 1-((4-метоксифенил)этинил)-3-нитробензола в качестве SM2 можно использовать как 1-йод-4-метоксибензол (A), так и 1-бром-4-метоксибензол (B), хотя (A) может быть предпочтительнее с точки зрения его более низкой цитотоксичности.



**Рисунок 2.** Биострипы для наиболее экологически безопасных путей синтеза дифенилацетилена и 1-нитро-4-(фенилэтинил)бензола по реакции Соногаширы в соответствии с цитотоксичностью компонентов, измеренной на клеточных линиях CaCo-2, FRSN и HEK293T.

Поскольку в изученных реакциях Соногаширы и Мизороки-Хека варьируются одни и те же компоненты, выводы о влиянии компонентов на токсикологический профиль являются общими для обоих процессов. Это обуславливает и одинаковый выбор предпочтительных компонентов (за исключением растворителя, поскольку в этом случае анализируются только ДМФ и НМП): катализатор – Pd(OAc)<sub>2</sub> (A) или PdCl<sub>2</sub> (B); основание – Et<sub>3</sub>N (A); растворитель – НМП (B).



## 2. Влияние соотношения Pd:Cu и степени конверсии на цитотоксические потенциалы в реакции Соногашеры

Была установлена зависимость  $CP_i$ ,  $CP_f$  и  $CP_{f\_rel}$  от молярного соотношения Pd:Cu и конверсии реакции. В качестве модельной реакции рассматривался синтез дифенилацетилена из фенилацетилена и бромбензола с использованием  $Pd(OAc)_2$  и CuI в качестве катализаторов,  $Et_3N$  в качестве основания и диметилформамида в качестве растворителя. Поскольку зависимости оцениваемых метрик от концентраций всех компонентов реакции линейны, функция двух переменных образует плоскость, свойства которой можно описать методами математического анализа. Таким образом, может быть использовано одно уравнение для определения бесконечного множества каталитических реакций, соответствующих выбранным условиям. Полный дифференциал функции  $CP(x,y)$ , где  $CP$  соответствует  $CP_i$ ,  $CP_f$  или  $CP_{f\_rel}$ ,  $x$  – молярному соотношению Pd:Cu в реакции,  $y$  – степени конверсии, рассчитывается следующим образом (см. Уравнение (5)):

$$dCP(x, y) = \frac{\partial CP(x,y)}{\partial x} dx + \frac{\partial CP(x,y)}{\partial y} dy \quad (5)$$

В этом случае физический смысл дифференциала функции заключается в сравнении влияния различных параметров реакции на «скорость изменения» конкретного параметра токсичности ( $CP_i$ ,  $CP_f$  или  $CP_{f\_rel}$ ). Для изученной модельной реакционной системы увеличение доли Pd в молярном соотношении Pd:Cu приводит к снижению  $CP$  и, соответственно, снижению «общей цитотоксичности» процесса.  $CP_f$  и  $CP_{f\_rel}$  обратно коррелировали со степенью конверсии. Примечательно, что  $CP$ , рассчитанные для НЕК293Т, были более устойчивы к изменениям молярного соотношения Pd:Cu и степени конверсии, чем рассчитанные для CaCo-2 и FRSN.

Предложенный подход позволяет проводить количественные сравнения биологических объектов (в данном случае клеточных культур) по их реакции на непрерывно меняющиеся условия в реакционных системах.

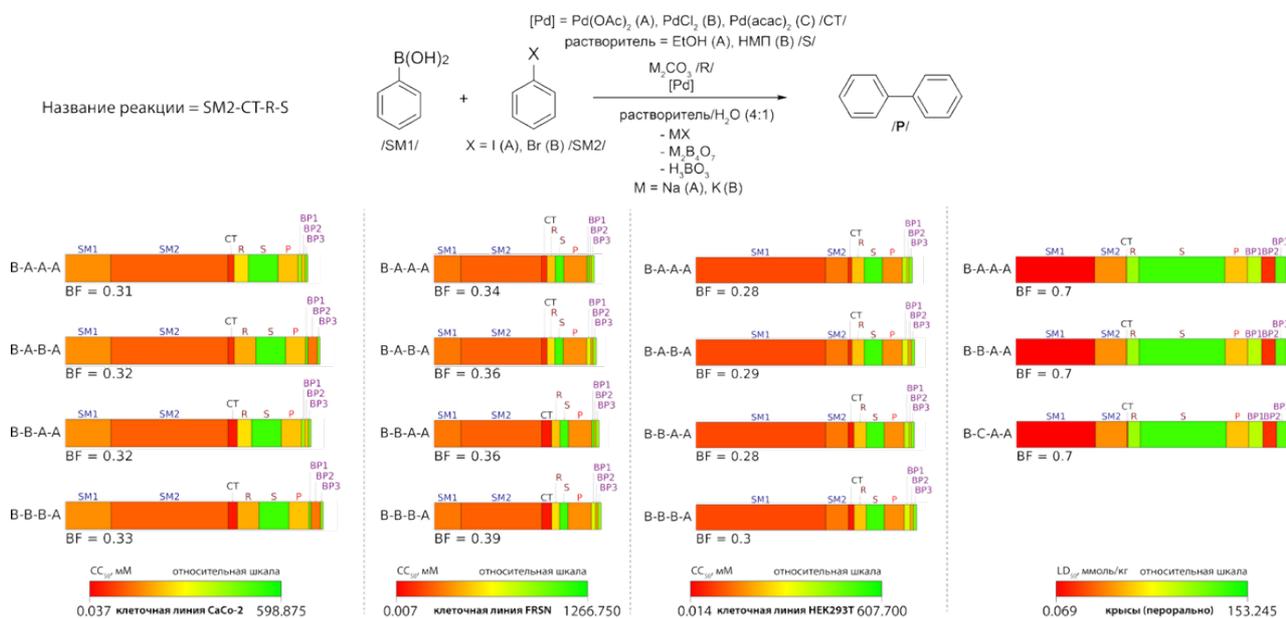
### 3. Использование полуметальных доз для построения биострипов химических реакций

Несмотря на успешное применение для визуализации токсикологического профиля химических процессов биострипов, основанных на данных цитотоксичности, остается актуальной задача расширения этой методологии за счет использования других показателей токсичности. Такой подход открывает возможности для адаптации биострипов к различным моделям токсикологического анализа – от оценки воздействия на живые клетки до прогноза острых эффектов на организм в целом. Таким образом, были проанализированы 24 комбинации реагентов для получения 1,1'-бифенила с помощью биострипов на основе экспериментальных значений 24-ч  $CC_{50}$  и  $LD_{50}$  (полуметальных доз), доступных в базе данных PubChem (см. Рисунок 4). (Цито)токсические потенциалы начальные ( $TP_i$ ), конечные ( $TP_f$ ) и относительные конечные ( $TP_{f\_rel}$ ), рассчитаны на основе цитотоксичности компонентов в трех клеточных линиях человека CaCo-2, HEK293T, FRSN или острой токсичности у крыс при пероральном введении. Токсические потенциалы (TP) были рассчитаны аналогично цитотоксическим потенциалам (CP) по Уравнениям 1-4, при этом значения  $LD_{50}$  выражены в ммоль на килограмм массы тела ( $ммоль \cdot кг^{-1}$ ) для сопоставления с соответствующими значениями 24-ч  $CC_{50}$  в ммоль на литр ( $ммоль \cdot л^{-1}$ ).

Были выделены четыре «наиболее безопасных» комбинации исходных соединений, катализаторов, оснований и растворителей (SM2-CT-R-S) по данным  $CC_{50}$  и три – по данным  $LD_{50}$ ; два из которых совпадают и по данным  $CC_{50}$ , и по данным  $LD_{50}$ : В-А-А-А и В-В-А-А, то есть бромбензол (SM2 = В),  $Pd(OAc)_2$  или  $PdCl_2$  (CT = А или В),  $Na_2CO_3$  (R = А), этанол (S = А). Установлено, что, хотя соли палладия (особенно  $Pd(acac)_2$ ) обладают высокой цитотоксичностью, но низкой острой токсичностью, однако вследствие их малых количеств их вклад в «общую токсичность» реакций незначителен. Бромбензол предпочтительнее йодбензола по токсикологическим характеристикам как самого соединения, так и сопутствующих продуктов. Растворитель этанол демонстрирует меньшую токсичность по сравнению с НМП. Выбор основания не принципиален при использовании данных по цитотоксичности, однако, согласно данным об острой токсичности, предпочтение следует отдать  $Na_2CO_3$  (А) ввиду его меньшей токсичности при пероральном введении крысам.

Таким образом, при рассмотрении 24 комбинаций получения 1,1'-бифенила, биострипы, построенные на данных по цитотоксичности, дают в целом те же выводы, что и расчеты, выполненные на основе данных об острой токсичности у крыс при пероральном введении. Единственным существенным исключением являются соли палладия, применяемые в качестве катализаторов: при анализе по значениям  $CC_{50}$  они рассматриваются как значительно более токсичные по сравнению с результатами на основе  $LD_{50}$ . В связи с этим следует учитывать, что ориентирование исключительно на показатели острой токсичности может создавать иллюзию

относительной безопасности. Мы не предлагаем ограничиваться лишь цитотоксичностью как универсальным критерием безопасности, однако считаем необходимым учитывать ее наряду с другими показателями острой токсичности для более взвешенной оценки безопасности химических процессов.



**Рисунок 4.** Биострипы наиболее экологически безопасных путей синтеза 1,1'-бифенила, согласно данным о цитотоксичности соответствующих соединений на клеточных линиях CaCo-2, FRSN и HEK293T, а также острой токсичности при пероральном введении крысам. 1-я, 2-я, 3-я и 4-я буквы в названиях реакций отражают типы исходного соединения 2 (SM2), катализатора (CT), основания (R) и растворителя (S) соответственно. Цвет секторов биострипов отражает  $CC_{50}$  конкретного вещества, измеренную на конкретной клеточной линии, или  $LD_{50}$ , измеренную у крыс (см. шкалы токсичности под биострипами).

#### 4. Использование токсикограмм для оценки безопасности реакций каталитического кросс-сочетания

Если рассматривать ограниченное количество комбинаций реагентов, биострипы отдельных синтетических путей могут предоставить ценную информацию о вкладе каждого соединения в «общую токсичность» реакции. Однако, если число анализируемых синтетических путей превышает определенное значение (например, несколько десятков на один продукт реакции), представление всех биострипов на одном рисунке становится избыточным, что затрудняет интерпретацию данных и снижает эффективность сравнительного анализа. Для решения этой задачи был разработан новый подход, основанный на токсикограммах (tox-Scare) химических процессов.

Термин «токсикограмма» используется в этом контексте для описания наглядного представления токсикологического профиля химической реакции. Этот график визуализирует

связь между начальными или конечными цитотоксическими потенциалами и комбинациями реагентов для получения рассматриваемого продукта реакции.

В данной работе токсикограммы были использованы для оптимизации реакции Бахвальда-Хартвига с точки зрения токсичности ее компонентов на примере синтеза распространенных синтетических каркасов и строительных блоков – дифениламина (ДФА) и 4-(*n*-толил)морфолина (см. Схему 1).

[Pd] = [Pd(dppb)Cl<sub>2</sub>] (A), [Pd(IPr)(Py)Cl<sub>2</sub>] (B),  
 [Pd(SPhos)(Py)Cl<sub>2</sub>] (C), [Pd(PCy<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (D),  
 [Pd(SPhos)(IPr)Cl<sub>2</sub>] (E), [Pd(IPr)(μ-Cl)Cl]<sub>2</sub> (F) /CT/  
 основание = Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (A), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (B), Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (C),  
 NaO<sup>t</sup>Bu (D), KO<sup>t</sup>Bu (E), K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (F) /R/  
 растворитель = ТГФ (A), <sup>t</sup>BuOH (B),  
 1,4-диоксан (C), толуол (D) /S/  
 X = Cl (A), Br (B), I (C)

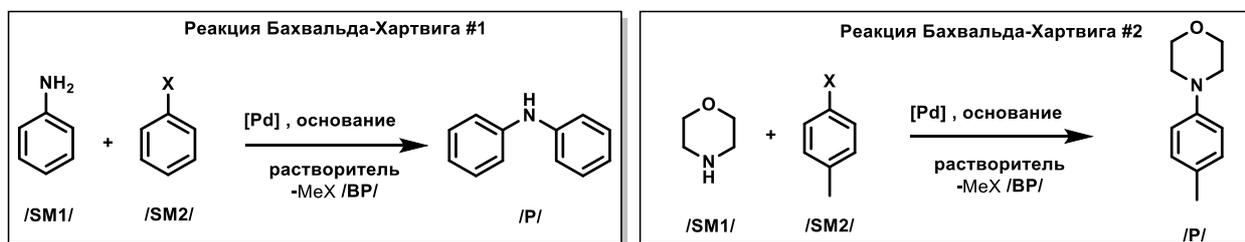
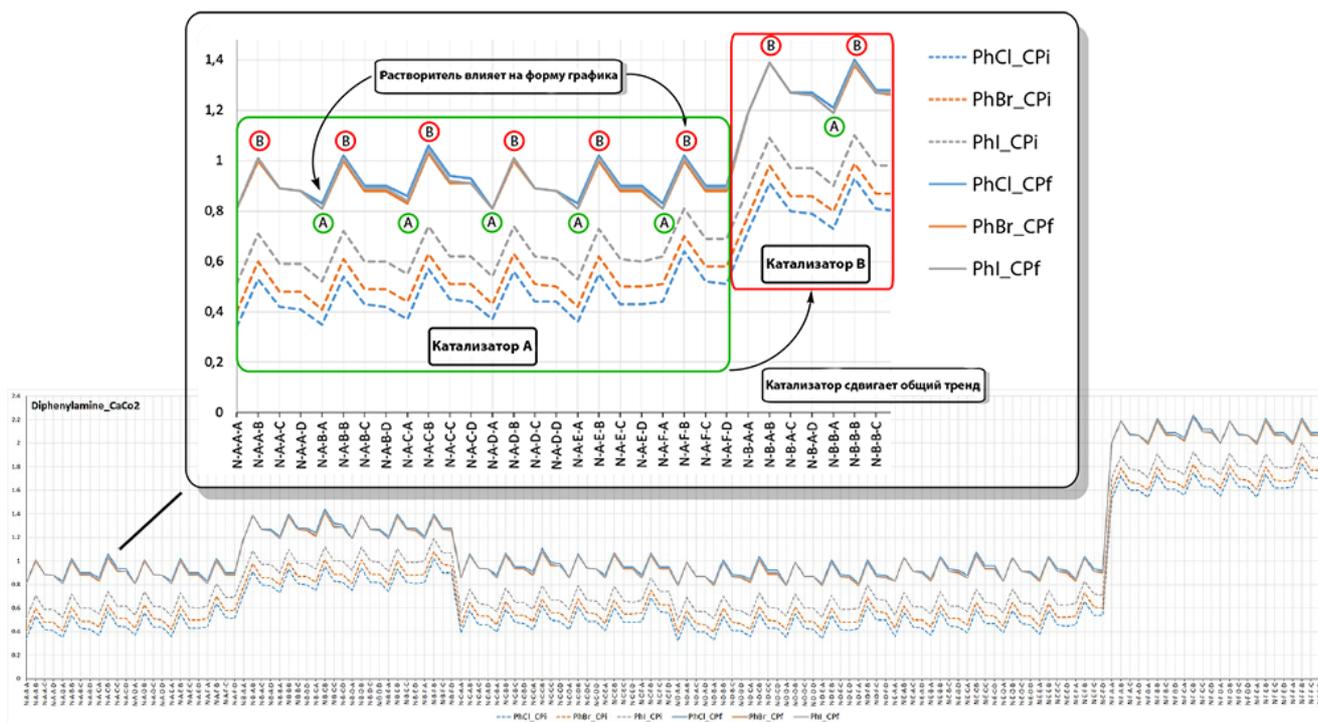


Схема 1. Реакции Бахвальда-Хартвига, изучаемые в данной работе.

На Рисунке 5 проиллюстрирован пример токсикограммы 432 комбинаций реагентов для синтеза ДФА при изменении исходного соединения 2 (SM2) в соответствии с 24-ч  $CC_{50}$  отдельных компонентов реакции, измеренными в клеточной линии CaCo-2; ось *x* соответствует отдельным синтетическим путям, тогда как ось *y* соответствует  $CP$  соответствующей реакции, анилин используется в качестве исходного материала 1 (SM1). Первая, вторая, третья и четвертая буквы в названии реакции представляют тип исходного материала (SM2), катализатора (CT), основания (R) и растворителя (S), соответственно. Значения  $CP_i$  показаны пунктирными линиями, а значения  $CP_f$  – сплошными. Буква N в названии реакции соответствует типу компонентов, который подвергается скринингу с помощью токсикограммы.



**Рисунок 5.** Токсикограмма 432 комбинаций реагентов для синтеза ДФА при изменении исходного соединения 2 (SM2) в соответствии со значениями 24-ч  $CC_{50}$  для отдельных веществ, измеренных на клеточной линии CaCo-2. Ось  $x$  соответствует отдельным синтетическим путям, тогда как ось  $y$  соответствует цитотоксическим потенциалам соответствующих реакций. Первая, вторая, третья и четвертая буквы в названии реакции представляют тип исходного соединения 2 (здесь он обозначен как N, чтобы показать проверяемый параметр), катализатора, основания и растворителя. Хлорбензол, бромбензол и йодбензол, обозначены синим, оранжевым и серым цветом соответственно. Значения  $CP_i$  показаны пунктирными линиями, а значения  $CP_f$  показаны сплошными линиями.

Как видно на вставке, график может подниматься и опускаться, образуя «пики» и «долины». Растворитель, представленный четвертой буквой в названии реакции, значительно влияет на форму графика из-за его большого количества в реакции. Наиболее токсичный растворитель ведет график к локальным «пикам», тогда как наименее токсичный растворитель – в «долины». В качестве растворителя из числа рассмотренных наиболее предпочтительным представляется тетрагидрофуран (A), а наименее предпочтительным – *трет*-бутанол (B). Благодаря своему минимальному количеству в реакции катализатор несущественно изменяет форму графика. Однако он смещает общий тренд из-за резких различий в значениях  $CC_{50}$  внутри группы катализаторов. Катализаторы  $[Pd(I\text{Pr})(\text{Py})Cl_2]$  (B) и  $[Pd(I\text{Pr})(\mu\text{-Cl})Cl]_2$  (F) привели к значительному увеличению  $CP_i$  и  $CP_f$  реакции.

Каждый компонент реакции, анализируемый на графике, имеет цветовую кодировку для ясности. На вставке синяя, оранжевая и серая линии представляют хлорбензол, бромбензол и йодбензол соответственно. Если построенные «линии» следуют схожим или почти идентичным траекториям независимо от изменений в типе компонента, это указывает на то, что эти компоненты имеют схожее влияние на «общую токсичность» исследуемой реакции.

И наоборот, если траектории расходятся, следует обратить внимание на самую нижнюю «линию» на графике, которая соответствует наименее токсичному компоненту среди оцениваемых. Как показано на Рисунке 5, выбор исходного соединения 2 (SM2) менее ограничен, поскольку полученные побочные продукты ( $CP_f$ ) на самом деле не влияют на «общую цитотоксичность» на конечной стадии реакции, но использование хлорбензола (А) (синяя пунктирная линия) или бромбензола (В) (оранжевая пунктирная линия) приводит к немного более низкому  $CP_i$ , чем у йодбензола (С) (серая пунктирная линия).

Таким образом, по результатам анализа токсикограмм 432 вариантов синтеза ДФА из анилина и арилгалогенида, были предложены следующие рекомендации по выбору реагентов с точки зрения их возможного токсического воздействия на живые организмы:

- использования катализаторов  $[Pd(IPr)(Py)Cl_2]$  и  $[Pd(IPr)(\mu-Cl)Cl]_2$  следует избегать из-за их высокого вклада в «общую токсичность» реакции;
- тетрагидрофуран является наименее опасным растворителем среди исследованных;
- выбор арилгалогенидов и оснований допускает большую степень свободы, однако хлорбензол и бромбензол представляются более предпочтительными по сравнению с йодбензолом.

Примечательно, что каждый график следует одному и тому же «тренду», не зависимо от типа рассматриваемого компонента. Важно отметить, что самые низкие «долины», представляющие наименее токсичные комбинации, оставались неизменными на всех графиках. Для более полной оценки экологической безопасности, рекомендуется рассмотреть по крайней мере топ-5 комбинаций с самыми низкими  $CP$ , которые можно определить при поиске самых глубоких «долин» в самых нижних «линиях» на графиках, соответствующих как  $CP_i$ , так и  $CP_f$ .

Подобно обсуждаемым выше реакциям, синтез 4-(*n*-толил)морфолина отличается только исходными соединениями. Здесь морфолин используется в качестве исходного соединения 1 (SM1), тогда как 4-хлортолуол (А), 4-бромтолуол (В) или 4-йодтолуол (С) используются в качестве исходного соединения 2 (SM2). Проанализировав токсикограммы 432 вариантов синтеза 4-(*n*-толил)морфолина, мы можем дать схожие рекомендации по выбору реагентов с точки зрения их возможного токсического воздействия на живые организмы:

- использования катализаторов  $[Pd(IPr)(Py)Cl_2]$  и  $[Pd(IPr)(\mu-Cl)Cl]_2$  следует избегать из-за их высокого вклада в «общую токсичность» реакции;
  - тетрагидрофуран является предпочтительным растворителем среди исследованных.
- Единственным отмеченным различием при выборе растворителя является относительная

безопасность применения *трет*-бутанола при его использовании в определенных комбинациях реагентов.

- Выбор толилгалогенидов и оснований допускает большую степень свободы, хотя 4-бромтолуол является более предпочтительным, чем 4-хлортолуол или 4-йодтолуол.

## 5. Индекс опухолевой селективности

Тестирование компонентов химических реакций на различных клеточных линиях позволяет получить более полную и надежную оценку их безопасности, а также сравнить относительную чувствительность нормальных и раковых клеток. В рамках данного исследования предлагается использовать как дополнительную унифицированную метрику цитотоксичности полученные значения  $CC_{50}$  для расчета «индекса опухолевой селективности» (tSI) соответствующих химических веществ как отношения значений  $CC_{50}$  конкретного вещества, измеренных в раковых и нормальных клетках (см. Уравнение 6):

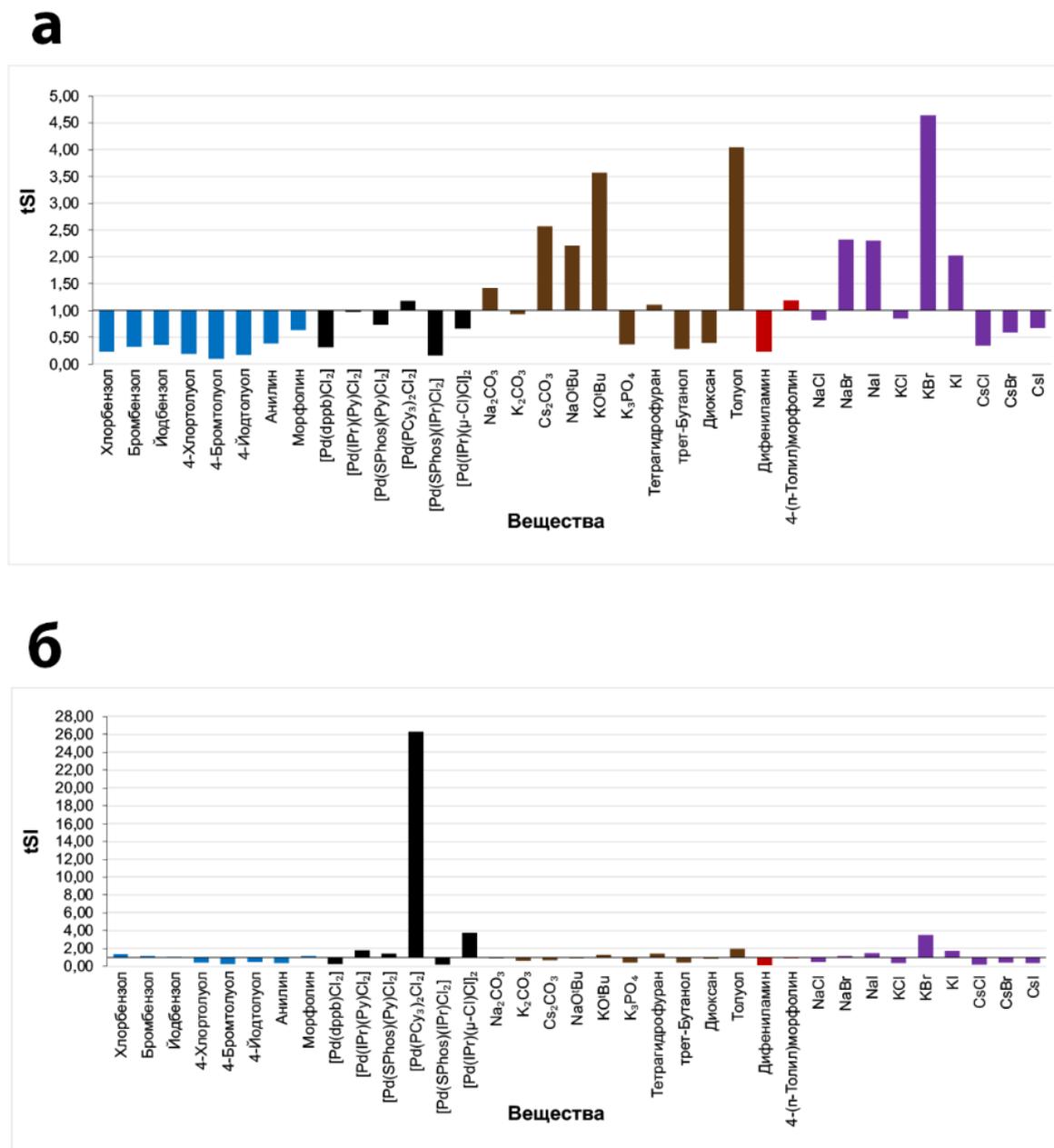
$$tSI = \frac{CC_{50} \text{ (раковые клетки)}}{CC_{50} \text{ (нормальные клетки)}} \quad (6)$$

Значения tSI выше 1 указывают на преимущественное токсическое действие вещества на нормальные клетки, что делает его использование в химических процессах потенциально более опасным с точки зрения воздействия на здоровый организм. Напротив, tSI ниже 1 свидетельствует о большей чувствительности раковых клеток, что в данном исследовании рассматривалось лишь как вспомогательный ориентир, а не как показатель противоопухолевой активности.

На примере реакции Бахвальда-Хартвига были рассмотрены tSI тестируемых веществ (см. Рисунок 6), используя 24-часовые значения  $CC_{50}$ , полученные для клеток CaCo-2 и HEK293T/FRSN. Видно, что относительная чувствительность нормальных клеток к тестируемым химическим веществам различается в зависимости от типа клеточной линии. Когда в качестве нормальной клеточной линии для сравнения используется HEK293T, некоторые основания и растворители, такие как  $Cs_2CO_3$ ,  $NaO^tBu$ ,  $KO^tBu$  и толуол, имеют tSI > 2. В случае использования толуола следует проявлять особую осторожность ввиду его большого количества в реакционной смеси в качестве растворителя.

Помимо реагентов, tSI некоторых сопутствующих продуктов, в частности, NaBr, NaI, KBr и KI, также довольно высоки. Клеточная линия FRSN более чувствительна к арилгалогенидам и большинству протестированных катализаторов, но менее чувствительна к большинству рассматриваемых оснований и галогенидам натрия.

Катализатор  $[Pd(PCy_3)_2Cl_2]$  требует более осторожного использования из-за его высокого значения  $tSI > 26$ . Катализатор  $[Pd(IPr)(\mu-Cl)Cl]_2$  также характеризуется значительно более высокой цитотоксичностью по отношению к клеткам FRSN, чем к клеткам HEK293T, что подтверждается соответствующими значениями  $tSI$  3,76 и 0,67 соответственно.



**Рисунок 6.** Индексы опухелевой селективности ( $tSI$ ) веществ, используемых в реакциях Бахвальда–Хартвига, рассчитанные для линий клеток CaCo-2 и HEK293T (а) и CaCo-2 и FRSN (б). Столбцы на графиках обозначены цветом в соответствии с реакционной ролью веществ: исходные соединения — синим; катализаторы — черным; основания и растворители — коричневым; целевые продукты — темно-красным; сопутствующие продукты — фиолетовым.

## 6. Исследование совокупной цитотоксичности реакционных смесей

Несмотря на то, что концепции биострипов и токсикограмм обеспечивают наглядный визуальный способ определения экологически безопасных вариантов синтеза, следует отметить, что предложенные инструменты не учитывают возможные взаимодействия между реагентами в смесях, что снижает точность принимаемых решений относительно их безопасности. В связи с этим в данной работе представлено первое комплексное исследование цитотоксических эффектов как отдельных компонентов, так и их смесей в рамках широко применяемой каталитической реакции Мизороки-Хека. Под «смесями» в данном контексте понимаются смеси, содержащие компоненты рассматриваемой реакции в их фактических мольных соотношениях, а также реальные реакционные смеси.

В настоящее время в литературе разработан ряд математических подходов к оценке токсичности химических смесей, среди которых наиболее распространена модель аддитивности доз или концентраций (Concentration Addition, CA; см. Уравнение (7)) [2]:

$$CC_{50,mix}(CA) = \left( \sum_{i=1}^n \frac{x_i}{CC_{50,i}} \right)^{-1} \quad (7),$$

где  $CC_{50,mix}$  – полумаксимальная цитотоксическая концентрация смеси, тогда как  $CC_{50,i}$  и  $x_i$  обозначают полумаксимальную цитотоксическую концентрацию  $i$ -го компонента и его мольную долю в смеси, соответственно. Для определения характера токсического воздействия смеси (синергизм, аддитивность или антагонизм) использовался коэффициент отклонения модели (MDR, см. Уравнение (8)) [3].

$$MDR = \frac{\text{Расчетное}}{\text{Экспериментальное}} = \frac{CC_{50,mix}(CA)}{CC_{50,exp}} \quad (8),$$

где  $CC_{50,mix}(CA)$  – прогнозируемая по модели аддитивности доз или концентраций (CA) полумаксимальная цитотоксическая концентрация смеси, а  $CC_{50,exp}$  – экспериментально определенное значение этой концентрации. Критерии интерпретации MDR следующие:  $MDR \leq 0,50$  – антагонизм (токсичность смеси оказывается меньше суммы токсических эффектов отдельных компонентов),  $0,50 < MDR < 2,00$  – аддитивность,  $MDR \geq 2,00$  – синергизм (токсичность смеси оказывается больше суммы токсических эффектов отдельных компонентов) [3].

В качестве модельной реакции рассматривается палладий-катализируемая реакция Мизороки-Хека (см. Схему 2): SM1 (исходное соединение 1 – стирол), SM2 (исходное соединение 2 – PhX, галогенбензол), CT (катализатор – ацетат палладия (II), Pd(OAc)<sub>2</sub>), R (основание – триэтиламин, Et<sub>3</sub>N), S (растворитель – *N*-метил-2-пирролидон, НМП), P (продукт

– (*E*)-стильбен), ВР (сопутствующий продукт – гидрогалогениды триэтиламмония,  $\text{Et}_3\text{N}\cdot\text{HX}$ ), SP (побочный продукт – 1,1-дифенилэтилен). Для более реалистичной оценки общей цитотоксичности реакции Мизороки-Хека были исследованы реакционные смеси, полученные после нагревания при температуре 140 °С в течение 24 часов. При таких стандартных условиях реакции средние значения конверсии, определенные методом  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектроскопии, при загрузке в 1 ммоль составили 94% для йодбензола, 55% – для бромбензола и 0% – для хлорбензола.

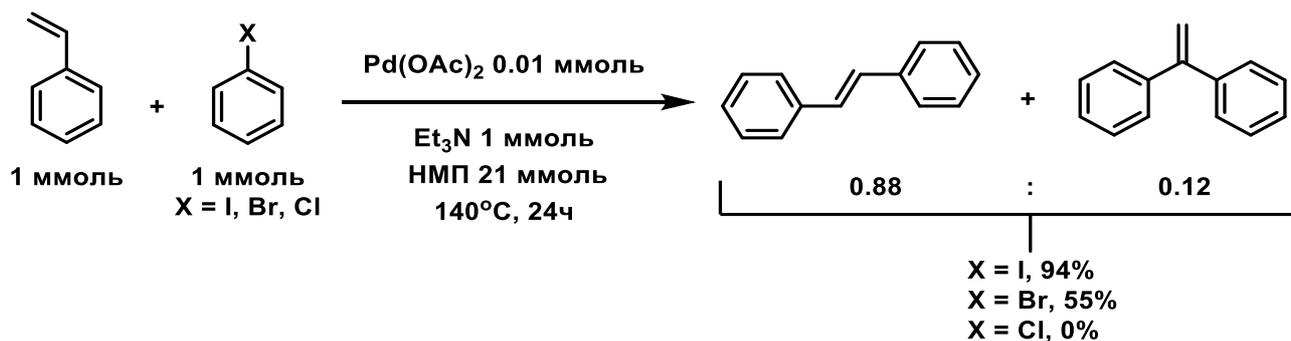


Схема 2. Модельная реакция Мизороки-Хека.

В качестве модельной клеточной линии была выбрана линия DF-1 (мезенхимные стволовые клетки из кожи век). В соответствии с нашими предыдущими исследованиями, цитотоксический потенциал реакции Мизороки-Хека существенно различается в зависимости от стадии. В стандартном протоколе реакции Мизороки-Хека исходная реакционная смесь содержит два исходных вещества (SM1 и SM2), растворитель (S), катализатор (CT) и основание (R) в мольных соотношениях 1:1:21:0,01:1. Реакционная смесь на конечной стадии реакции при 100% конверсии и 100% селективности состоит из целевого продукта (P), сопутствующего продукта (BP), растворителя (S) и катализатора (CT) в мольном соотношении 1:1:21:0,01. Однако в реальных условиях (140 °С, 24 ч), в которых зачастую не достигаются условия полной конверсии и селективности, в смеси на конечной стадии также присутствует побочный продукт (SP) в соотношении 1:7 к целевому, что соответствует следующему составу: P:BP:S:CT:SP = 0,88:1:21:0,01:0,12. С целью выявления потенциальных взаимодействий компонентов, способных повлиять на цитотоксичность смеси, были изучены различные комбинации веществ, соответствующие начальному и конечному этапам реакции. Были рассмотрены следующие смеси, отражающие состав компонентов начальной стадии реакции:

- Исходные вещества (SM1 + SM2);
- Одно исходное вещество и растворитель (SM1/SM2 + S);
- Два исходных вещества и растворитель (SM1 + SM2 + S);

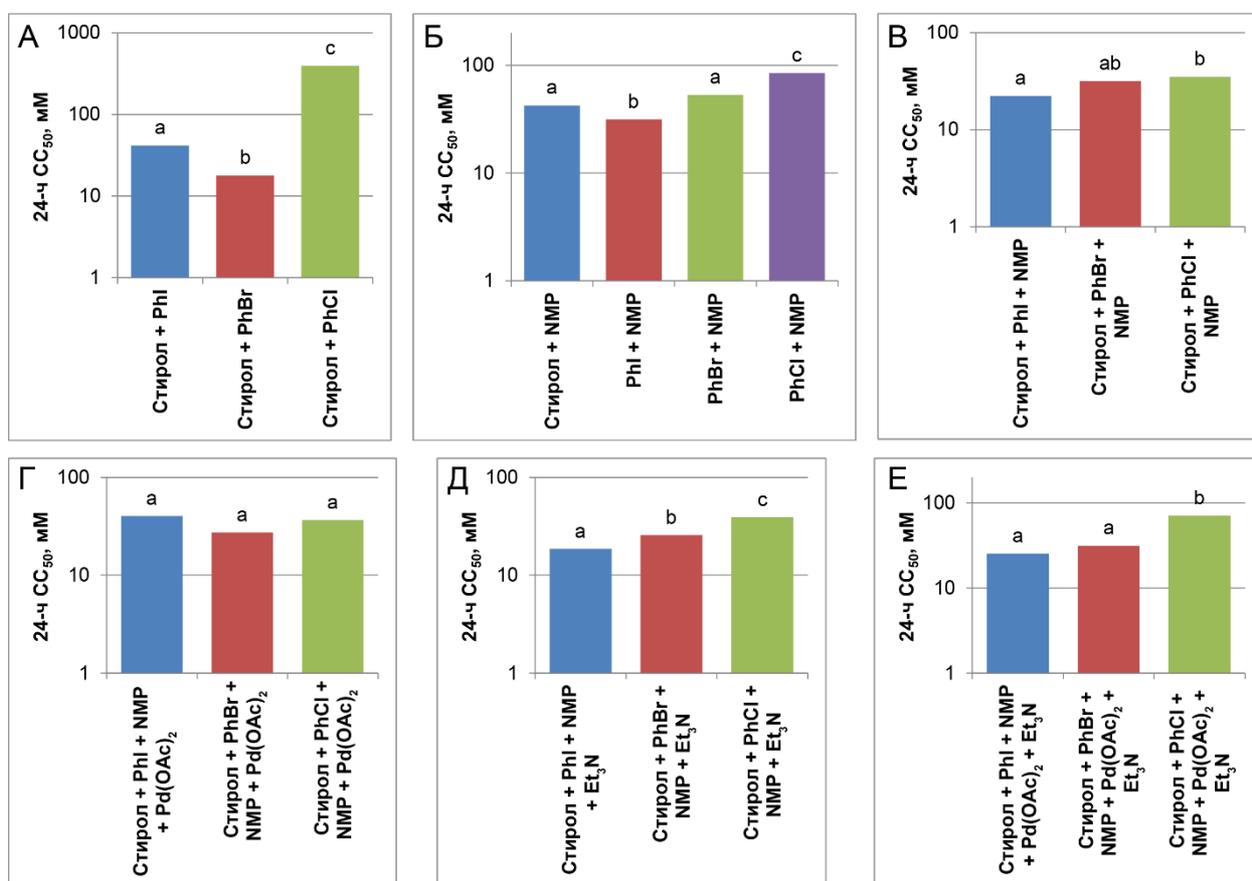
- Исходные вещества, растворитель и катализатор (SM1 + SM2 + S + CT);
- Исходные вещества, растворитель и основание (SM1 + SM2 + S + R);
- Исходные вещества, растворитель, катализатор и основание (SM1 + SM2 + S + CT + R).

Были рассмотрены следующие смеси, отражающие состав компонентов конечной стадии (при 100% конверсии) реакции:

- Целевой продукт и сопутствующий продукт (P + BP);
- Целевой продукт, сопутствующий или побочный продукт с растворителем (P/BP/SP + S);
- Целевой продукт, сопутствующий продукт и растворитель (P + BP + S);
- Целевой продукт, сопутствующий продукт, растворитель и катализатор (P + BP + S + CT);
- Целевой продукт, побочный продукт и растворитель (P + SP + S);
- Целевой продукт, сопутствующий продукт, растворитель, катализатор и побочный продукт (P + BP + S + CT + SP).

Данные смеси были приготовлены таким образом, чтобы максимально точно отражать реальные условия проведения реакции. Смеси растворяли в культуральной среде, тем самым моделируя возможный выброс реакционной смеси в окружающую среду.

Для смесей, отражающих состав компонентов на начальных стадиях реакции, было установлено, что смеси на основе йодбензола демонстрировали наибольшую токсичность в каждой из групп (см. Рисунок 7), за исключением комбинации стирол + йодбензол (SM1 + SM2). Наиболее токсичными оказались следующие смеси: йодбензол + НМП (SM2 + S); стирол + йодбензол + НМП (SM1 + SM2 + S); стирол + йодбензол + НМП + триэтиламин (SM1 + SM2 + S + R), а также полная исходная смесь, включающая стирол, йодбензол, НМП, Pd(OAc)<sub>2</sub> и триэтиламин (SM1 + SM2 + S + CT + R). В противоположность этому, смеси на основе хлорбензола оказались наименее токсичными, за исключением комбинации стирол + хлорбензол + НМП (SM1 + SM2 + S), продемонстрировавшей уровень токсичности, сопоставимый с аналогичной смесью на основе бромбензола. Следует также отметить, что смеси, содержащие исходные вещества, растворитель и катализатор, но не включающие основание (SM1 + SM2 + S + CT), проявляли одинаковый уровень токсичности вне зависимости от используемого галогенбензола.



**Рисунок 7.** Цитотоксичность смесей на начальной стадии реакции: А) SM1 + SM2; Б) SM1/SM2 + S; В) SM1 + SM2 + S; Г) SM1 + SM2 + S + CT; Д) SM1 + SM2 + S + R; Е) SM1 + SM2 + S + CT + R. Различия между смесями в пределах одной группы, обозначенные разными буквами латинского алфавита, являются статистически значимыми согласно двустороннему t-критерию Стьюдента при неравных дисперсиях и уровне значимости  $p < 0,05$ .

При анализе значений MDR (см. Рисунок 8) было установлено, что менее половины всех исследуемых смесей проявляют выраженный синергетический эффект. Представляет интерес тот факт, что смеси на основе йодбензола и хлорбензола в большинстве случаев демонстрируют аддитивное поведение. Однако некоторые смеси с йодбензолом, а именно смеси, состоящие из стирола, йодбензола и НМП (SM1 + SM2 + S), а также стирола, йодбензола, НМП и ацетата палладия(II) (SM1 + SM2 + S + CT), характеризуются значениями MDR, равными 1,95 и 1,98 соответственно, что приближается к нижнему порогу для отнесения к синергизму.

Добавление катализатора к системе, состоящей из исходных соединений и растворителя (SM1 + SM2 + S), приводит к выраженному снижению значения MDR для смеси, содержащей йодбензол, до 1,09. В то же время для смесей на основе других галогенбензолов значения MDR остаются практически неизменными и находятся в пределах диапазона, соответствующего синергетическому эффекту. Единственной группой, продемонстрировавшей значимые

антагонистические взаимодействия, оказались комбинации стирола с йодбензолом или хлорбензолом (SM1 + SM2).

На конечной стадии реакции при условии 100% селективности, то есть при отсутствии побочных продуктов, большинство смесей независимо от природы побочного продукта проявляли схожую цитотоксичность в пределах каждой группы и соответствовали рассчитанным значениям с допустимым уровнем отклонения. Единственным исключением была смесь (*E*)-стильбена и Et<sub>3</sub>N·HI, продемонстрировавшая значение MDR немного ниже 0,50 и наименьшую цитотоксичность в своей группе.

Однако при рассмотрении смесей при 100% конверсии, но с образованием побочного продукта (SP), а именно 1,1-дифенилэтилена, наблюдалось существенное увеличение цитотоксичности смеси, несмотря на то что значение CC<sub>50</sub> для SP было сопоставимо с таковым для целевого продукта (P). Таким образом, при сравнении смесей, содержащих только продукты и растворитель в их реальных молярных соотношениях – P:S = 0,88:21, SP:S = 0,12:21 и P:S:S = 0,88:0,12:21 – наблюдалось значительное увеличение цитотоксичности при наличии побочного продукта. Также был выявлен синергетический эффект. Напротив, уменьшение содержания целевого продукта (P:S = 0,88:21) приводило к снижению цитотоксичности смеси продукта и растворителя по сравнению со случаем (P:S = 1:21).

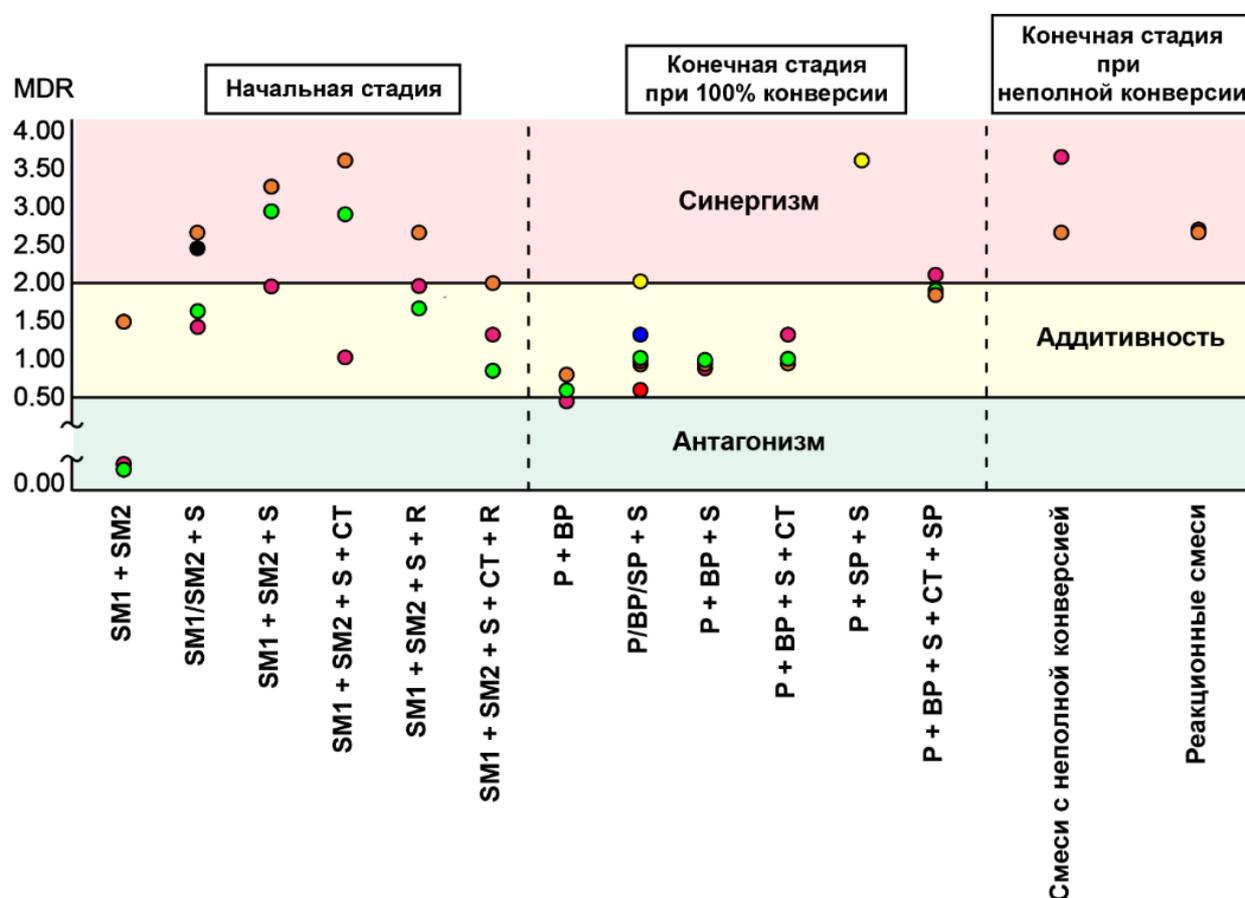
Дополнительное сравнение смесей, полученных на конечной стадии реакции при полной конверсии исходных соединений, содержащих (*E*)-стильбен, гидрогалогениды триэтиламмония, НМП и ацетат палладия(II) (P + BP + S + CT), а также аналогичной смеси с добавлением 1,1-дифенилэтилена (P + BP + S + CT + SP), показало значительное увеличение цитотоксичности при наличии побочного продукта, при этом во втором случае наблюдалась выраженная тенденция к синергизму. Примечательно, что цитотоксичность не зависела от природы образующегося сопутствующего продукта (BP).

Поскольку в случае хлорбензола не наблюдалось образование продукта реакции, для последующих исследований были выбраны реакции с участием йодбензола и бромбензола. Были определены значения 24-ч CC<sub>50</sub> как для реальных реакционных смесей на их основе, так и для «смоделированных», то есть повторяющих состав и реальные соотношения всех компонентов после завершения реакции.

Несмотря на различия в степенях конверсии и используемых исходных соединениях, все исследуемые смеси продемонстрировали одинаковый уровень цитотоксичности. В частности, речь идет о реальных реакционных смесях, содержащих стирол, галогенбензол, НМП, ацетат палладия(II), триэтиламин, (*E*)-стильбен, гидрогалогенид триэтиламмония и 1,1-дифенилэтилен (SM1 + SM2 + S + CT + R + P + BP + SP) – при средней степени конверсии 94% для йодбензола, а также аналогичной смеси с участием бромбензола – при 55% конверсии. Во

всех случаях был зафиксирован выраженный синергетический эффект, а также статистически значимое увеличение цитотоксичности по сравнению с соответствующими смесями при 100% конверсии. Примечательно, что даже наличие всего 6% непрореагировавших исходных веществ в системе на основе йодбензола приводило к значительному увеличению токсичности смеси. Эти результаты указывают на то, что при неполной конверсии в реакции Мизороки–Хека остаточные арилгалогениды вносят значительный вклад в цитотоксичность реакционной смеси.

Сравнение значений 24-ч  $CC_{50}$  реальных реакционных смесей и их «смоделированных» аналогов на основе усредненных данных также выявило интересную тенденцию. В случае бромбензола цитотоксичность смоделированной смеси была достоверно воспроизведена. Однако для йодбензола «смоделированная» смесь продемонстрировала более высокую цитотоксичность, чем соответствующая реальная реакционная смесь.



**Рисунок 8.** Распределение значений MDR для модели СА на различных стадиях реакции. На диаграмме представлена цветовая дифференциация смесей: соединения на основе йода, брома и хлора (или соответствующие побочные продукты) обозначены пурпурным, оранжевым и зеленым цветом соответственно; стирол – черным, (*E*)-стильбен – синим, 1,1-дифенилэтилен – желтым. Смесь, содержащая (*E*)-стильбен в молярном соотношении 0,88 к 21 по отношению к НМП, выделена красным цветом. Обозначения компонентов реакции: SM1 – исходное соединение 1 (стирол), SM2 – исходное соединение 2 (PhX, галогенбензол), CT – катализатор ( $Pd(OAc)_2$ ), R – основание ( $Et_3N$ ), S – растворитель (*N*-метилпирролидон, НМП), P – целевой продукт ((*E*)-стильбен), BP – сопутствующий продукт ( $Et_3N \cdot HX$ ), SP – побочный продукт (1,1-дифенилэтилен). Область выраженного синергизма выделена красным цветом, аддитивные эффекты – желтым, выраженные антагонистические взаимодействия – зеленым.

Синергетический эффект можно объяснить наличием нековалентных взаимодействий в химической системе. Галогенные связи или  $\pi$ -стэкинг, в частности в смесях бромбензола или йодбензола с *N*-метилпирролидоном и триэтиламиноном, вероятно, являются одной из движущих сил формирования более токсичных супрамолекулярных комплексов. Предполагается, что смеси, содержащие гидрогалогениды триэтиламмония, ацетат палладия(II) и ароматические соединения с более распределенным  $\pi$ -электронным облаком (по сравнению со стиролом или 1,1-дифенилэтиленом), такие как (*E*)-стильбен, не вступают с растворителем в выраженные нековалентные взаимодействия с растворителем, способные усиливать токсический эффект. В результате, значение  $CC_{50, \text{mix}}$  на конечной стадии изученной реакции Мизороки-Хека при 100% конверсии и 100% селективности может быть достаточно точно предсказано с помощью модели аддитивности доз или концентраций (см. Уравнение (7)).

Стоит отдельно отметить, что мольная доля, параметр, используемый в модели аддитивности доз или концентраций, выражается через Уравнение 9:

$$x_i = \frac{n_i}{N} \quad (9),$$

где  $n_i$  – количество вещества *i*-го компонента (ммоль);  $N$  – общее количество вещества всех компонентов смеси (ммоль). Таким образом,  $CC_{50, \text{mix}}$  (СА) может быть выражена через СР Уравнением 10:

$$CC_{50, \text{mix}}(\text{CA}) = \left( \sum_{i=1}^n \frac{x_i}{CC_{50, i}} \right)^{-1} = \left( \sum_{i=1}^n \frac{n_i}{N \cdot CC_{50, i}} \right)^{-1} = \frac{N}{\sum_{i=1}^n \frac{n_i}{CC_{50, i}}} = \frac{N}{\text{CP}} \quad (10),$$

где  $CC_{50, \text{mix}}$  – полумаксимальная цитотоксическая концентрация многокомпонентной смеси, рассчитанная по модели аддитивности концентраций;  $x_i$  – мольная доля *i*-го компонента смеси;  $CC_{50, i}$  – полумаксимальная цитотоксическая концентрация *i*-го компонента;  $n_i$  – количество вещества *i*-го компонента (ммоль);  $N$  – общее количество вещества всех компонентов смеси (ммоль); СР – цитотоксический потенциал смеси. Таким образом,  $CC_{50, \text{mix}}$  (СА) и СР находятся в обратной зависимости и оба могут быть использованы для предварительной оценки безопасности химических процессов, отражая нижний пороговый предел токсичности образующейся многокомпонентной смеси. Иными словами, при отсутствии данных о возможных взаимодействиях компонентов (синергизм, антагонизм) модель СА и показатель СР позволяют оценить границы наихудшего реалистичного сценария токсического воздействия, что критически важно для раннего этапа разработки синтетических методов и оптимизации технологических процессов. В то же время следует учитывать, что реальная токсичность смеси может как превышать, так и быть ниже прогнозируемого значения  $CC_{50, \text{mix}}$ , что обусловлено возможными взаимодействиями между компонентами.

## ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

1. Получены количественные данные по цитотоксичности наиболее распространенных компонентов реакций каталитического кросс-сочетания Соногаширы, Мизороки-Хека и Бахвальда-Хартвига.

2. Показано, что биострипы могут быть использованы для эффективной визуализации и оценки токсикологических профилей реакций Соногаширы и Мизороки-Хека при ограниченном количестве комбинаций реагентов.

3. На примере реакции Бахвальда-Хартвига предложены «токсикограммы» химических реакций, применимые для анализа большого количества альтернативных синтетических маршрутов и определения наиболее безопасных комбинаций реагентов.

4. Обнаружено, что суммарное токсическое воздействие компонентов реакции Мизороки-Хека на фибробласты кожи человека может существенно отличаться от суммы индивидуальных цитотоксических эффектов, предположительно за счет сложных межмолекулярных взаимодействий.

5. Показана применимость модели аддитивности доз или концентраций в качестве предварительного инструмента для экспресс-оценки безопасности каталитических реакций, при условии наличия значений  $CC_{50}$  для отдельных компонентов. В противном случае рекомендуется определять цитотоксичность всей реакционной смеси на начальной и конечной стадиях реакции.

6. Показано, что остаточное количество арилгалогенидов может существенно повышать совокупную цитотоксичность реакционных смесей в реакции Мизороки-Хека и обоснована перспектива использования хлораренов в качестве субстратов, не только вследствие их предположительно меньшей индивидуальной цитотоксичности, но и благодаря статистически достоверному снижению совокупной цитотоксичности реакционных смесей при их применении.

## СПИСОК ОСНОВНЫХ ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

- Egorova K. S., **Kolesnikov A. E.**, Posvyatenko A. V., Galushko A. S., Shaydullin R. R., Ananikov V. P. Establishing the main determinants of the environmental safety of catalytic fine chemical synthesis with catalytic cross-coupling reactions // *Green Chem.* – 2024. – Т. 26, № 5. – С. 2825-2841. Импакт-фактор: 9,2.
- Egorova K. S., Posvyatenko A. V., Galushko A. S., **Kolesnikov A. E.** Comparison of assessments of overall toxicity of chemical reactions upon using cytotoxicity and acute toxicity data // *Mendeleev Commun.* – 2024. – Т. 34, № 3. – С. 351-353. Импакт-фактор: 1,7.
- **Kolesnikov A. E.**, Grebennikov N. O., Romanenko K. A., Egorova K. S., Ananikov V. P. Tox-Scapes: A visual and quantitative tool for selecting safer chemical reactions by means of cytotoxicity assessment // *J. Clean. Prod.* – 2025. – Т. 519. – С. 145970. Импакт-фактор: 10,0.
- **Kolesnikov A. E.**, Egorova K. S., Ananikov V. P. Integrated toxicity assessment of complex chemical mixtures in catalytic reactions // *J. Hazard. Mater.* – 2025. – Т. 490. – С. 137784. Импакт-фактор: 11,3.
- **Колесников А. Э.**, Егорова К. С., Анаников В. П. / Оптимизация реакции Бахвальда-Хартвига с точки зрения токсичности ее компонентов // Тезисы докладов X Молодежной конференции ИОХ РАН, Москва, Россия, 29-31 мая 2023 г., с. 82.
- **Kolesnikov A. E.**, Egorova K. S., Posvyatenko A. V., Galushko A. S., Ananikov V. P. / Fast evaluation of the safety of the Heck and Sonogashira reactions using bio-Strips // Тезисы докладов New Emerging Trends in Chemistry Conference (NewTrendsChem-2023), Yerevan, Armenia, September 24-28, 2023, p. 202.
- **Колесников А. Э.**, Егорова К. С., Анаников В. П. / Токсикологический ландшафт реакции Бахвальда-Хартвига // Тезисы докладов VI Всероссийской конференции по органической химии, Москва, Россия, 23-27 сентября 2024 г., с. 218.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Egorova K. S., Posvyatenko A. V., Galushko A. S., Ananikov V. P. Fast evaluation of the safety of chemical reactions using cytotoxicity potentials and bio-Strips // *Chemosphere.* – 2023. – Т. 313. – С. 137378.
2. Loewe S., Muischnek H. Über Kombinationswirkungen // *Arch. Exp. Path. Pharm.* – 1926. – Т. 114, №5-6. – С. 313-326.
3. Belden J. B., Gilliom R. J., Lydy M. J. How well can we predict the toxicity of pesticide mixtures to aquatic life? // *Integr. Environ. Assess. Manag.* – 2007. – Т. 3, № 3. – С. 364-372.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает благодарность своему научному руководителю, академику Российской академии наук, доктору химических наук, заведующему Лабораторией металлокомплексных и наноразмерных катализаторов (№ 30) ИОХ РАН Ананикову Валентину Павловичу за постановку задачи исследования, всестороннюю поддержку в научной работе и мотивацию к достижению поставленных целей;

выдающемуся научному сотруднику, доктору химических наук и кандидату биологических наук Егоровой Ксении Сергеевне за мудрое наставничество, терпение и обучение тонкостям молекулярной и клеточной биологии;

коллегам из ИОХ РАН, а в частности: д.х.н. Кашину А.С., д.м.н. Джемилевой Л.У., к.х.н. Галушко А.С., к.б.н. Посвятенко А.В., к.х.н. Сейткалиевой М.М., к.х.н. Ерохину К.С., к.х.н. Прима Д.О., к.х.н. Сахаровой Л.Т., к.х.н. Шлапакову Н.С., асп. Алексеевой (Корабельниковой) В.А., асп. Шайдуллину Р.Р., ст. Гребенникову Н.О., ст. Мадиевой М., инж. Ерофеевой А.В. и ст.лаб. Казарян Г.С. за помощь в работе, ценные советы и дружескую атмосферу;

своим студентам: Филиппову А.А. (НИУ ВШЭ) и Романенко К.А. (РХТУ им. Д.И. Менделеева) за новые точки роста;

Факультету естественных наук Новосибирского национального исследовательского государственного университета за фундаментальную подготовку и навыки критического мышления;

своим учителям и наставникам: д.х.н., проф. Годовиковой Т.С., к.пед.н., доц. Борисовой А.М., Кошелевой Ж.А., Кондратьевой Е.М., коллективу Международного томографического центра СО РАН, а также группе проф. Стюарта Шрайбера из The Scripps Research Institute (Сан-Диего, США) за первые шаги в науке и открывшиеся возможности;

своей семье: папе Колесникову Эдуарду, брату Колесникову Михаилу, бабушкам Колесниковой Галине и Пасканской Зое, тете Черниковой Марине; и друзьям: Мольковой Елене, Ершову Никите и Гордийчук Ольге за постоянную поддержку.

Особую благодарность автор выражает своей маме, научному руководителю его первого исследования «Грязные руки грозят бедой», врачу-инфекционисту Колесниковой Вере Михайловне за поддержку в любых начинаниях и безграничную любовь.