

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

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Научный руководитель:

академик РАН, д.х.н. Анаников Валентин Павлович

Москва – 2025

Оглавление

Список сокращений	3
1. Введение.....	5
2. Литературный обзор	9
2.1 Исследование токсичности химических веществ	9
2.1.1 Определение и классификация токсичности, основные количественные показатели.....	9
2.1.2 Модельные системы, используемые для исследования токсичности химических веществ	12
2.1.3 Экотоксикология и проблема исследования токсичности смесей химических веществ	21
2.1.4. Выводы по разделу.....	23
2.2 Методы оценки безопасности химических веществ и процессов	24
2.2.1 «Зеленая» химия	24
2.2.2 Метрики, основанные на массе.....	26
2.2.3 Метрики воздействия на человека и окружающую среду	29
2.2.4 Токсикологические профили химических реакций	36
2.2.5 Выводы по разделу.....	38
2.3 Реакции каталитического кросс-сочетания	39
2.3.1 Реакции кросс-сочетания, катализируемые палладием.....	39
2.3.2 Использование других переходных металлов	46
2.3.3 Активация связи C-H	49
2.3.4 Использование альтернативных растворителей.....	52
2.4 Заключение по литературному обзору.....	55
3. Экспериментальная часть.....	56
3.1 Реактивы и материалы	56
3.2 Общие синтетические методики.....	56
3.2.1. Синтез сопутствующих продуктов реакций каталитического кросс-сочетания	57
3.2.1.1 Синтез $\text{Et}_3\text{N}\cdot\text{HI}$ и $\text{Et}_2\text{NH}\cdot\text{HI}$	57
3.2.1.2 Синтез $\text{Et}_3\text{N}\cdot\text{HBr}$	57
3.2.2 Общий метод получения 1-нитро-4-(фенилэтинил)бензола, 1-нитро-3-((4-нитрофенил)этинил)бензола, 1-((4-метоксфенил)этинил)-3-нитробензола).....	57
3.2.3 Общий метод получения (E)-4-нитростильбена, (E)-4-хлорстильбена, (E)-4-хлор-4'-нитростильбена, (E)-4-фтор-4'-нитростильбена, (E)-4-метоксистильбена)	58
3.3 Аналитические методы	58
3.4 Исследование цитотоксичности	59
3.4.1 Культивирование клеточных линий.....	59
3.4.2 Колориметрический тест для оценки метаболической активности клеток – MTS	60
3.4.3 Обработка данных и статистический анализ.....	60

3.4.4 Построение биофильей химических реакций и расчет цитотоксических потенциалов	61
3.4.5 Подготовка смесей для исследований цитотоксичности	61
3.4.6 Математические модели, используемые для предсказания и оценки цитотоксичности смесей.....	62
4. Обсуждение результатов	63
4.1 Использование биострипов в оценке безопасности реакций каталитического кросс-сочетания.....	63
4.1.1 Реакция Соногаширы	66
4.1.2 Реакция Мизороки–Хека	71
4.1.3 Влияние соотношения Pd:Cu и степени конверсии на цитотоксические потенциалы в реакции Соногаширы	74
4.1.4 Использование полуметальных доз для построения биострипов химических реакций	78
4.1.5 Заключение по разделу	81
4.2 Использование токсикограмм для оценки безопасности реакций каталитического кросс-сочетания.....	82
4.2.1 Индекс опухолевой селективности.....	88
4.2.2 Заключение по разделу	92
4.4 Исследование совокупной цитотоксичности реакционных смесей.....	93
4.4.1 Случай 100% конверсии	93
4.4.2 Случай неполной конверсии	98
4.4.3 Заключение по разделу	105
Основные результаты и выводы	106
Благодарности.....	107
Список основных публикаций по теме диссертационного исследования.....	119
Приложение 1. Экспериментальные значения 24-часовых полумаксимальных цитотоксических концентраций индивидуальных компонентов реакций каталитического кросс-сочетания	120
Приложение 2. Токсикограммы реакций Бахвальда-Хартвига	125
.....	126
Приложение 3. Экспериментальные и расчетные значения 24-часовых полумаксимальных цитотоксических концентраций реакционных смесей.....	135

Список сокращений

В настоящей работе использованы символы и сокращения в соответствии с рекомендациями Комиссии по номенклатуре Международного союза чистой и прикладной химии (IUPAC), а также следующие обозначения:

АЕ – атом-экономичность	LD ₅₀ – полуметальная доза
Е-фактор – экологический фактор	LC ₅₀ – полуметальная концентрация
МІ – массовая интенсивность	ED ₅₀ – полуюффективная доза
RMІ – реакционная массовая интенсивность	ЕС ₅₀ – полуюффективная концентрация
RME – реакционная массовая эффективность	IC ₅₀ – полумаксимальная ингибирующая концентрация
PMІ – массовая интенсивность процесса	CC ₅₀ – полумаксимальная цитотоксическая концентрация
LCA – оценка жизненного цикла	NOAEL – доза без наблюдаемых неблагоприятных эффектов
MCM – модель, описывающая распределение химических соединений между различными экологическими средами	LOAEL – минимальная доза, вызывающая наблюдаемый неблагоприятный эффект
PER – персистентность	MTS – тест на метаболическую активность с использованием тетразолиевого красителя MTS
ACCU – биоаккумуляция	ЯМР – ядерный магнитный резонанс
AP – потенциал закисления	ГХ-МС – газовая хроматография–масс-спектрометрия
ODP – потенциал разрушения озонового слоя	ДМФ – диметилформамид
SFP – потенциал образования смога	НМП – N-метилпирролидон
GWP – потенциал глобального потепления	
INHTP – потенциал токсичности для человека при вдыхании	
INGTP – потенциал токсичности для человека при проглатывании	
ADP – потенциал истощения абиотических ресурсов	

1. Введение

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.

2. Литературный обзор

2.1 Исследование токсичности химических веществ

В данной главе рассматриваются понятие токсичности и основные количественные параметры, используемые при оценке воздействия химических веществ на различные объекты: от отдельных молекул до целых экосистем. Особое внимание уделяется сравнительному анализу экспериментальных *in vitro* и *in vivo* методов определения токсичности. Глава закладывает теоретическую базу для последующего рассмотрения аспектов (эко)токсикологической безопасности химических реакций в контексте «зеленой» химии.

2.1.1 Определение и классификация токсичности, основные количественные показатели

В литературе существует несколько определений термина «токсичность». Наиболее распространенное рассматривает токсичность как «способность химического агента оказывать неблагоприятное воздействие на организм» [1]. В другой трактовке токсичность определяется как «способность вещества вызывать неблагоприятные эффекты при введении в живой организм, независимо от того, произошло это случайно или преднамеренно» [2]. Также существует подход, описывающий токсичность как «неблагоприятное отклонение от нормального состояния организма, которое может быть необратимым» [3]. В данном контексте под нормальным состоянием понимаются значения, соответствующие статистическим параметрам нормального распределения, что требует четкого разграничения между отклонениями и нормой с использованием надежных экспериментальных методик [3].

Распространено мнение, что оценка токсичности химических соединений представляет собой простую задачу, основанную на измерении конкретных параметров. Однако результаты этих измерений зависят от множества факторов, включая длительность воздействия, дозу, способ введения вещества, используемые аналитические методы, а также природу биологического объекта, подвергающегося воздействию.

С точки зрения продолжительности воздействия токсичность делится на острую и хроническую [1]. Так, острая токсичность определяется теми неблагоприятными последствиями, которые возникают после введения в желудок или нанесения на кожу однократной дозы вещества или периодического воздействия вещества в течение 24 часов или с вдыхаемым воздухом в течение 4 часов. В отличие от этого, хроническая токсичность развивается медленно, проявляясь через сублетальные эффекты, возникающие в результате длительного воздействия, как правило, малых доз токсиканта. Продолжительность такого воздействия часто соответствует значительной части предполагаемой продолжительности жизни модельного организма.

Организация экономического сотрудничества и развития (Organisation for Economic Co-operation and Development, OECD, ОЭСР) разработала специальные руководства для проведения *in vivo* тестов на острую, субхроническую и хроническую токсичность, а также на токсичность, связанную с репродуктивным здоровьем, канцерогенность и иммунотоксичность. Помимо этого, разработаны *in vitro* тесты, которые в ряде случаев позволяют избежать использования лабораторных животных [4].

Как правило, при описании токсичности веществ обычно подразумевается их острая токсичность. Для ее оценки используются следующие количественные показатели:

- LD₅₀: полулетальная доза, то есть доза, при которой погибает 50 % популяции.
- LC₅₀: полулетальная концентрация, то есть концентрация, при которой погибает 50 % популяции.
- ED₅₀: полуэффективная доза, то есть доза, при которой у 50 % популяции наблюдается необходимый эффект.
- EC₅₀: полуэффективная концентрация, то есть концентрация, при которой у 50 % популяции наблюдается необходимый эффект.
- LD_{Lo}: минимальная летальная доза, то есть доза, при которой погибают наиболее чувствительные особи данного вида.
- LC_{Lo}: минимальная летальная концентрация, то есть концентрация, при которой погибают наиболее чувствительные особи данного вида.
- LD₁₀₀: абсолютно летальная доза, то есть доза, при которой погибает 100 % особей.
- LC₁₀₀: абсолютно летальная концентрация, то есть концентрация, при которой погибает 100 % особей.

Показатели, связанные с отдельными дозами, как правило, выражаются в миллиграммах вещества на килограмм массы тела лабораторного животного, тогда как показатели, связанные с концентрацией химических веществ, нормализуются по отношению к окружающей среде (например, миллиграммы вещества на литр культуральной среды или м³ воздуха).

Для различных ингибирующих процессов часто используется показатель IC₅₀, представляющий собой полумаксимальную ингибирующую концентрацию, то есть концентрацию, при которой вещество ингибирует конкретный процесс (например, ферментативную реакцию или рост клеточной культуры) на 50 %. Следует отметить, что указанные дозы и концентрации существенно зависят от пути введения вещества. Также для полной оценки отдаленных последствий воздействия нелетальных количеств химического вещества на организм используются различные индексы раздражения и сенсибилизации кожи, глаз и слизистых оболочек, наряду с показателями NOAEL (доза, не оказывающая явного нежелательного эффекта) и LOAEL (наименьшая доза, вызывающая наблюдаемый нежелательный эффект [2, 5, 6]).

Существуют различные подходы для классификации химических соединений в контексте их опасности для живых организмов. Как правило, они предусматривают серию испытаний на разных биологических системах [7-14], в результате которых исследователи получают количественные параметры, которые в дальнейшем можно использовать для построения классификации токсичности. В качестве примера в Таблице 1 представлена классификация токсичности пестицидов Всемирной организации здравоохранения [15].

Тем не менее, 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 [16] или Chemical Safety's SDS Database [17], что затрудняет анализ общей токсичности химических процессов.

Таблица 1. Классификации токсичности пестицидов ВОЗ [15].

Рейтинг	Описание	LD ₅₀ , г·кг ⁻¹ массы тела	
		Перорально	При контакте с кожей
1	Чрезвычайно токсично	≤ 0,005	< 0,050
2	Высоко токсично	0,005-0,050	0,050-0,200
3	Умеренно токсично	0,050-2,000	0,200-2,000
4	Слабо токсично	> 2,000	> 2,000
5	Острая токсичность маловероятна	> 5,000	> 5,000

2.1.2 Модельные системы, используемые для исследования токсичности химических веществ

Исследования безопасности химических веществ для человека требуют использования систем, максимально приближенных к человеческому организму. Важное значение при этом имеют сходства в абсорбции, метаболизме и экскреции исследуемого вещества. Выбор таких систем обычно определяется характером поставленной задачи. Так, вопросы, связанные с определением ингибирующего действия на конкретные белковые структуры, требуют применения менее сложных экспериментальных систем. Напротив, более обширные задачи требуют использования более сложных экспериментальных подходов.

Ключевые уровни биологической организации, на которых может проводиться исследование токсичности, охватывают целые организмы (мыши, крысы, кролики, собаки, обезьяны и, в отдельных случаях, люди при случайном воздействии), отдельные органы и ткани, клетки и органеллы (чаще всего в клеточных культурах), а также отдельные молекулы, такие как нуклеиновые кислоты, белки и липиды (см. Рисунок 1).

In vitro системы, такие как клеточные культуры или изолированные белки, особенно эффективны на этапе предварительных широкомасштабных скринингов, когда необходимо протестировать большое количество химических веществ. В качестве *in vivo* моделей традиционно используются лабораторные животные, среди которых наиболее распространены грызуны, такие как крысы и мыши, а показатели LD₅₀, измеренные при пероральном введении, зачастую считаются наиболее надежными показателями токсичности веществ. Кроме того, могут быть применены *ex vivo* системы, которые включают изучение органов или тканей животных после введения им одной или нескольких доз исследуемого вещества [3]. Исследования на уровне органов и тканей позволяют получить данные о накоплении и

распределении химических веществ в организме. На уровнях целых организмов, клеточных культур и отдельных молекул возможно получение количественных показателей, таких как LD₅₀, LC₅₀, IC₅₀, NOAEL и LOAEL.

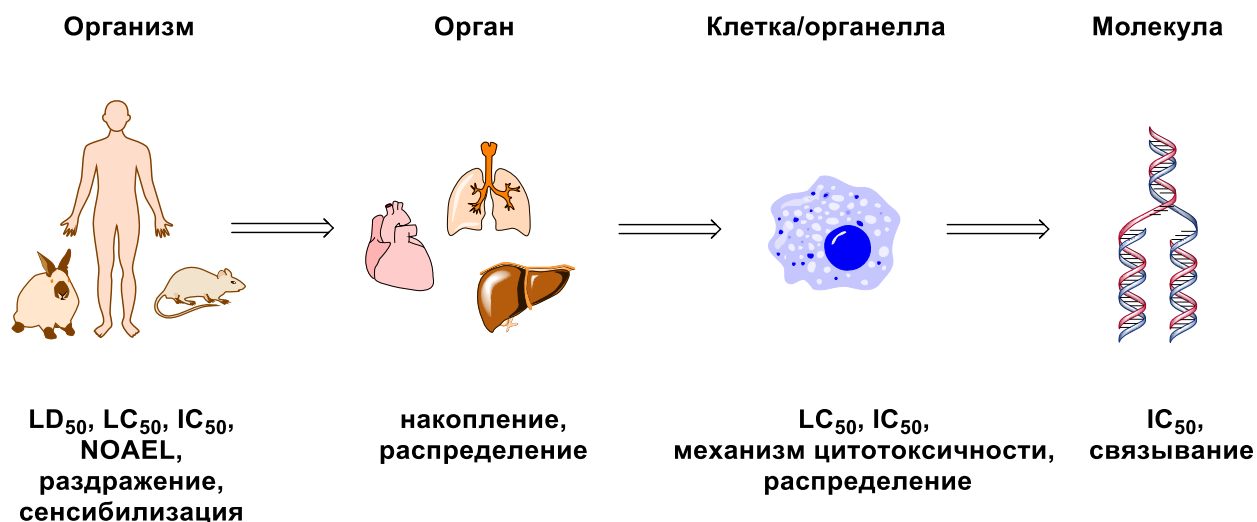


Рисунок 1. Оцениваемые параметры и ключевые уровни токсикологических исследований: от организмов до отдельных молекул. Адаптировано из [18].

Сравнение *in vitro* и *in vivo* исследований (см. Таблицу 2) подчеркивает недостаточность использования только *in vitro* методов для полноценного составления токсикологического профиля вещества. К основным преимуществам *in vitro* методов можно отнести их относительную простоту и низкую стоимость. Однако эти методы не обеспечивают достоверных данных о метаболизме токсиканта и долгосрочных последствиях его воздействия. Кроме того, результаты *in vitro* экспериментов сложно экстраполировать на уровень целого организма. Стандартизация *in vitro* исследований также представляет определенные трудности, поскольку даже незначительные изменения условий или состава среды могут значительно повлиять на результаты эксперимента. Тем не менее, такой подход играет важную роль на начальных этапах оценки токсичности веществ. Однако даже в случае *in vivo* исследований во многих опубликованных работах отсутствует информация об условиях проведения эксперимента и методах измерения токсичности, что затрудняет сравнение результатов, даже если они получены на одном и том же организме.

Таблица 2. Сравнение *in vivo* и *in vitro* подходов. Адаптировано из [3].

Параметр	<i>In vivo</i>	<i>In vitro</i>
Уровень изучения	Весь организм	Ткань, клетка, органелла, молекула
Типы исследовательских задач	Более сложные	Простые
Исследуемые пути воздействия	Множество	Одно
Учет метаболизма	Обычно не требует отдельных исследований метаболизма	Метаболические исследования следует проводить отдельно
Путь введения	Свободный выбор	Ограниченный
Продолжительность жизни	Относительно длинная	Ограниченная
Выбор объекта	Относительно широкий	Более ограниченный
Обобщение результатов	Возможно	Затруднено
Экстраполяция на человека	Относительно возможна из-за сходства биохимических и физиологических процессов, а также механизмов токсичности	Затруднена
Предсказательная способность	Относительно высокая (до 70% токсичности для человека)	Ограниченная (потенциально высокая для отдельных параметров)
Технические требования	В целом низкие	Могут быть очень высокими (много нестандартных, плохо воспроизводимых методик)
Затраты (ресурсы и время)	Высокие	Обычно гораздо ниже

2.1.2.1 Исследования *in vitro*

Как видно из Таблицы 2, ключевым преимуществом *in vitro* систем является их относительная простота, скорость получения результатов и меньшие затраты ресурсов. В настоящее время применяются такие *in vitro* модели, как изолированные белки, субклеточные органеллы, клеточные культуры (включая первичные, вторичные и стволовые клетки), срезы тканей, целые органы и эмбрионы [3].

In vitro исследования позволяют получить значения таких показателей, как EC_{50} , LC_{50} и IC_{50} , а также данные о патологических процессах, наблюдаемых в органах и тканях (см. Таблицу 3). Так, особые клеточные культуры используются при изучении токсичности для отдельных органов-мишеней, метаболизма, кинетики, влияния на рост клеток, мутагенности, канцерогенности и экотоксичности. При этом в метаболических исследованиях применяют систему различных ферментов, в то время как микроорганизмы используются для оценки мутагенности и экотоксичности.

Таблица 3. Области применения исследований *in vitro* [2, 3].

Параметр/процесс	Система
Токсичность для органов-мишеней	Клеточные культуры (печень, почки, нервная система, иммунная система, легкие), срезы тканей (нервная система, легкие)
Метаболизм	Ферменты, микросомы, клеточные культуры
Кинетика	Клеточные культуры (исследования абсорбции, клиренса)
Токсичность (жизнеспособность/ингибирование роста)	Клеточные культуры, срезы тканей
Генотоксичность/мутагенность	Клеточные культуры, бактерии
Канцерогенность	Клеточные культуры, бактерии, <i>in silico</i> методы
Репродуктивная токсичность	Клеточные, эмбриональные культуры; целые эмбрионы, зачатки конечностей (органогенез)
Разъедание/раздражение	Органы, оплодотворенные яйцеклетки
Экотоксикология (жизнеспособность/ингибирование роста)	Клеточные культуры, бактерии, водоросли, <i>Daphnia magna</i> , <i>ex vivo</i> системы

Одним из наиболее популярных методов в *in vitro* скринингах токсичности является колориметрический тест с использованием тетразолиевых красителей МТТ (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолий) или МТС (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-5-(3-карбоксиметоксифенил)-2-(4-сульфофенил)-2H-тетразолий) для оценки метаболической активности клеток [19-21]. Этот метод основывается на способности НАДФ-Н-зависимых клеточных оксидоредуктаз восстанавливать желтые тетразолиевые соли до пурпурных формазанов (см. Схему 1). Активность этих ферментов связывают с количеством жизнеспособных клеток в культуре, что может быть использовано для определения полумаксимальной цитотоксической концентрации (CC₅₀) химических веществ.

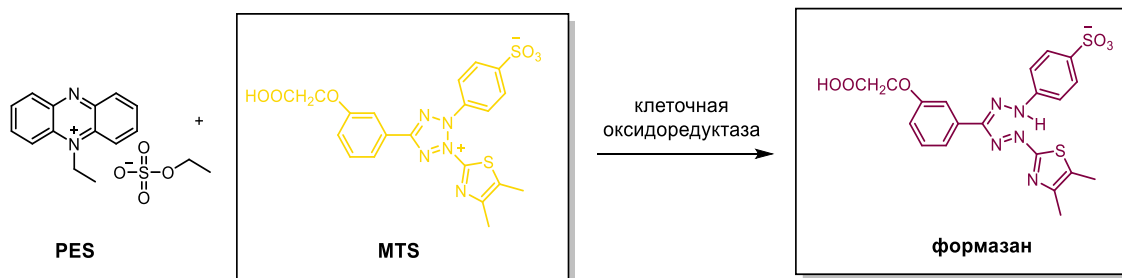


Схема 1. Восстановление МТС (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-5-(3-карбоксиметоксифенил)-2-(4-сульфофенил)-2H-тетразолия) клеточными оксидоредуктазами в присутствии PES (феназина этосульфата) до пурпурного формазанового продукта с максимумом поглощения при 490 нм.

Схема эксперимента представлена на Рисунке 2. Эксперимент проводят в 96-луночных планшетах с плоским дном, в которых предварительно культивируют клетки до достижения ими 70 % степени монослоя. На Рисунке 2 в качестве примера приведено исследование цитотоксичности металлокомплексного соединения. Для подготовки градиента концентрации используется стоковый раствор изучаемого соединения. Градиент наносят на клетки (лунки, обозначенные «КС + клетки»), однако поскольку растворы многих комплексных соединений окрашены и могут влиять на оптическую плотность, тот же градиент соединений наносят в соответствующие контрольные лунки без клеток (лунки, обозначенные «КС без клеток»). Для усреднения каждая точка измеряется в трех повторениях. Граничные лунки заполняются деионизированной водой, чтобы избежать эффектов испарения. По завершении инкубации в течение установленного времени (например, 24 часа) в тестовые и контрольные лунки добавляют раствор MTS. Спустя 4 часа измеряют оптическую плотность при длинах волн 492 и 650 нм. Разницу между этими значениями используют в дальнейших расчетах для устранения фонового поглощения. Примерная кривая концентрация-оптическая плотность показана на Рисунке 2. С использованием специализированных программных пакетов производится расчет значений полумаксимальной цитотоксической концентрации (CC_{50}) или полумаксимальной ингибирующей концентрации (IC_{50}). На том же рисунке показано типичное изображение микропланшета после инкубации – пурпурный цвет соответствует лункам с живыми клетками, которые восстанавливают желтый MTS до пурпурного формазана в присутствии феназина этосульфата (PES), выступающего в роли переносчика электронов и способствующего более равномерному восстановлению тетразолия и увеличению чувствительности метода для клеточных культур с низкой метаболической активностью (см. Схему 1).

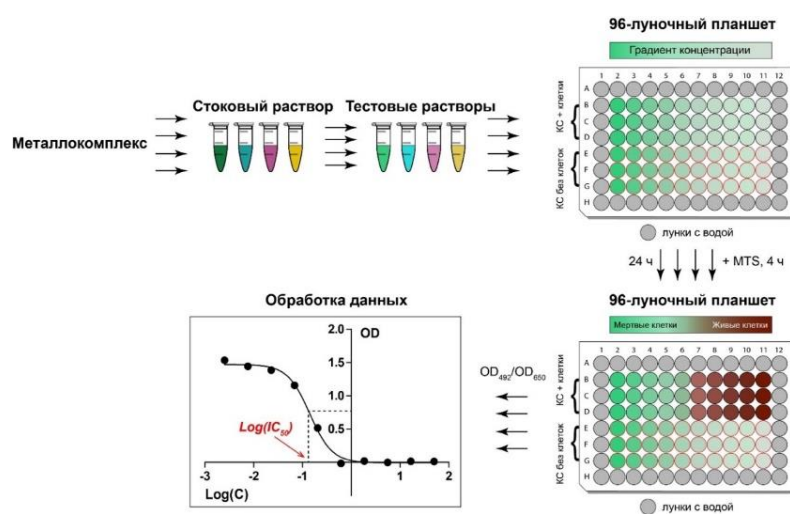


Рисунок 2. Схема эксперимента: MTS-тест. Адаптировано из [18].

2.1.2.2 Исследования *in vivo*

Исследования *in vivo* позволяют получить такие ключевые количественные показатели, как NOAEL, LOAEL, LD₅₀, LC₅₀, LD_{Lo} и LC_{Lo}. Однако количество видов животных, используемых для исследований *in vivo*, ограничено главным образом этическими соображениями. В настоящее время в таких экспериментах применяются в основном грызуны, кролики, собаки, минисвины и нечеловеческие приматы. Проведение подобных исследований требует обязательного получения разрешения локального комитета по биоэтике и соблюдения определенных правил обращений с лабораторными животными, строго регулируемых национальным и международным законодательством [22].

В Таблице 4 приведены примеры использования *in vivo* подхода для оценки острой, субхронической и хронической токсичности. Например, тесты на острую токсичность предполагают однократное введение вещества в организм животного с последующим наблюдением за его поведением, физиологическими изменениями и смертностью в течение определенного периода. Исследования хронической токсичности требуют длительного воздействия на животное, иногда в течение большей части его жизни, что позволяет выявить отдаленные эффекты, включая канцерогенность и влияние на репродуктивную функцию. Процесс проведения этих тестов включает как объективные методы (например, функциональные исследования, измерение массы тела, анализ биохимических показателей крови и мочи, патологическое исследование тканей), так и субъективные оценки.

Последние включают наблюдение за реакцией на раздражители и проявлением боли, а также изменением поведения животных. Субъективность этих оценок связана с человеческим фактором, поскольку интерпретация наблюдений может варьироваться в зависимости от опыта и квалификации исследователя. Для минимизации этой субъективности в исследованиях используются стандартизированные протоколы, такие как оценка по шкале Дрейза [23] в случае тестирования на кожное раздражение или методика Магнуссона и Клигмана [24] при исследовании сенсibiliзирующего потенциала химических веществ.

Несмотря на высокую информативность исследований *in vivo*, их результаты не всегда могут быть полностью экстраполированы на человека, что связано с межвидовыми различиями в метаболизме, индивидуальной вариабельностью среди животных и влиянием условий проведения эксперимента, что может снижать надежность полученных данных. Кроме того, такие исследования характеризуются высокой стоимостью и трудоемкостью, особенно в случае длительных тестов, что ограничивает универсальность этого подхода.

Таким образом, для формирования комплексного и достоверного токсикологического профиля вещества необходимо сочетание как *in vitro*, так и *in vivo* методов исследования. Тем не менее, в ряде случаев — например, при анализе ингибирующего потенциала вещества в отношении конкретной молекулярной мишени или при сравнении токсичности соединений одного класса — ограничение исследования *in vitro* методами может быть обоснованным и достаточным. Такой подход позволяет повысить эффективность исследования за счет сокращения временных и финансовых затрат при сохранении его релевантности и достоверности в рамках поставленных целей.

Таблица 4. Применение *in vivo* подхода в исследованиях токсичности. На основе данных из [1, 2, 23-25].

Тип токсичности	Измеряемый параметр	Описание метода
Острая токсичность		
Острая токсичность при пероральном введении	LD ₅₀	Определяется доза, при которой погибает половина всей популяции при пероральном введении
Раздражение глаз	Субъективная оценка	Осматриваются роговица, радужка, конъюнктив и веки, и наблюдаемые эффекты оцениваются по числовой шкале
Раздражение кожи и сенсибилизация	Субъективная оценка	Исследуются первичное раздражение, кожная сенсибилизация, фототоксичность и фотосенсибилизация, при этом наблюдаемые эффекты оцениваются по числовой шкале
Острая токсичность при вдыхании	LC ₅₀	Как правило оцениваются смертность и неблагоприятные эффекты на дыхательную систему и другие органы летучего или мелкодисперсного агента
Субхроническая токсичность		
90-дневные испытания	NOAEL	При пероральном введении агента исследуются внешний вид животного, потребление пищи, масса тела, поведение, частота дыхания, электрокардиограмма, электроэнцефалограмма, а также проводится анализ крови, мочи и фекалий. Подобные тесты также могут предоставить информацию о пораженных органах и местах накопления химического вещества
Длительное трансдермальное воздействие повторяющимися дозами	Субъективная оценка	Тесты проводятся в течение 21-28 дней, и наблюдаемые эффекты ранжируются по числовой шкале
Ингаляционное воздействие продолжительностью 28-90 дней	LC _{Lo}	Оцениваются неблагоприятные эффекты летучего или мелкодисперсного агента на дыхательную систему и другие органы. Изучается сопутствующее изменение морфологии тканей, однако подобные тесты являются сложными из-за трудностей в подготовке стабильных аэрозолей
Хроническая токсичность		
Хроническая токсичность и канцерогенность	NOAEL, LD _{Lo} /LC _{Lo} , субъективная оценка	Испытуемые вещества вводятся перорально или посредством ингаляции. Продолжительность эксперимента зависит от вида тестируемых животных (2 года для крыс или мышей). Исследуются внешний вид, потребление пищи, масса тела, поведение, частота дыхания, электрокардиограмма, электроэнцефалограмма, а также проводится анализ крови, мочи и фекалий
Репродуктивная токсичность и тератогенность	NOAEL, LD _{Lo} / LC _{Lo} , субъективная оценка	Тесты проводят на одном или нескольких поколениях испытуемых животных. Оцениваются индекс фертильности, количество живорожденных по сравнению с общим числом особей, продолжительность беременности, состояние помета и выживаемость, а также другие показатели

2.1.3 Экотоксикология и проблема исследования токсичности смесей химических веществ

Экологическая токсикология изучает токсические эффекты химических веществ и их смесей на экосистемы, в особенности на растения и животных. Для оценки экологической токсичности применяются как *in vitro*, так и *in vivo* модели. Основными показателями, характеризующими экотоксичность, являются NOEC (концентрация, при которой не наблюдается эффекта) и LC₅₀ [2, 3].

При экотоксикологических исследованиях рассматриваются следующие аспекты:

1. физико-химические свойства вещества, такие как растворимость, летучесть, адсорбция и десорбция;
2. химические свойства, включая стабильность, возможные пути разложения и выведения;
3. воздействие на бактерий, простейших и других микроорганизмов;
4. влияние на многоклеточные организмы, такие как рыбы и дождевые черви.

Законодательство многих стран в сфере регулирования безопасности химических веществ преимущественно основано на оценке токсичности отдельных соединений. Однако с учетом того, что человек и окружающая среда подвергаются воздействию множества химических соединений одновременно, в научном и общественном дискурсе возрастает обеспокоенность потенциальными неблагоприятными эффектами их совокупного влияния в составе сложных химических смесей. Существующие эмпирические данные по экотоксикологии химических веществ и их смесей касаются преимущественно различных стойких загрязнителей окружающей среды [26], включая пестициды [27-31], тяжелые металлы [32, 33], продукты бытовой химии и фенольные соединения [34, 35], а также фармацевтические препараты [29, 30, 36, 37]. Большинство исследований в этой области сосредоточено на токсичности бинарных смесей [36, 38], исследуемых на водных организмах, начиная от таких простых, как *Daphnia magna* [30, 37, 39], и заканчивая позвоночными видами, такими как рыбы *Danio rerio* [27, 28, 40, 41]. Несмотря на значимость подобных исследований для оценки воздействия отдельных химических соединений и их смесей на экосистемы, они зачастую не охватывают потенциальные риски для здоровья человека, обусловленные воздействием более сложных химических систем, формирующихся в ходе лабораторных или промышленных процессов. Такие многокомпонентные смеси могут проявлять кумулятивные или синергетические токсические эффекты, прогнозирование которых на основании токсичности отдельных компонентов представляется затруднительным.

В настоящее время разработан ряд математических подходов к оценке токсичности химических смесей, среди которых наиболее распространены модель аддитивности доз или концентраций (Concentration Addition, CA; см. Уравнение (1)) и модель независимого действия (Independent Action, IA; см. Уравнение (2)). Несмотря на ограниченную применимость моделей CA и IA к сложным смесям, модель CA широко используется для предварительного анализа безопасности и оценки рисков, поскольку требует меньшего объема исходных данных.

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

$$CC_{50,mix}(IA) = 1 - \prod_{i=1}^n (1 - CC_{50,i}) \quad (2),$$

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.

Европейская комиссия в 2012 году сформулировала следующие выводы касательно изучения токсичности смесей химических веществ [42]:

- При определенных условиях химические вещества могут действовать совместно таким образом, что общий уровень токсичности смеси изменяется.
- Химические вещества с общими механизмами действия взаимодействуют, приводя к комбинированным эффектам, превышающим эффекты каждого компонента смеси. Эти эффекты могут быть описаны с помощью модель аддитивности доз или концентраций.
- В отношении химических веществ с различными механизмами действия (независимо действующих) отсутствуют убедительные доказательства того, что их смеси представляют опасность для здоровья человека или окружающей среды, если концентрации отдельных компонентов не превышают их NOEC.
- Взаимодействия (включая антагонизм и синергизм) обычно проявляются при средних или высоких уровнях концентраций или доз (относительно минимальных пороговых значений). При низких концентрациях/дозах они либо маловероятны, либо токсикологически незначительны.
- Одним из основных пробелов в знаниях в области оценки химических смесей является недостаток информации об их воздействии, а также ограниченное количество веществ, для которых имеются достаточные сведения о механизме их действия. В настоящее время отсутствует согласованный перечень механизмов действия, а также установленный набор

критериев для их характеристики или прогнозирования в отношении химических веществ с недостаточно изученными свойствами.

- В случае отсутствия информации о механизме действия следует отдавать предпочтение модели аддитивности доз или концентраций перед моделью независимого действия. Прогнозирование возможных взаимодействий требует глубокого анализа и, следовательно, должно рассматриваться в каждом конкретном случае отдельно.

2.1.4. Выводы по разделу

Токсичность химических соединений определяется множеством факторов, включая дозу, путь введения, условия эксперимента и особенности биологического объекта. Методы *in vitro* позволяют оперативно и с относительно низкими затратами проводить первичный анализ токсичности, однако их применение не дает полной информации о метаболизме соединений и возможных системных эффектах. В свою очередь, исследования *in vivo*, несмотря на существующие этические и экономические ограничения, остаются важным инструментом для прогнозирования токсичности на уровне целого организма. Современные токсикологические исследования сосредоточены не только на индивидуальных химических соединениях, но и на их смесях, поскольку взаимодействие компонентов может существенно изменять токсикологический профиль химического процесса.

2.2 Методы оценки безопасности химических веществ и процессов

В данном разделе рассматривается концепция «зеленой» химии, а также различные способы оценки экологической безопасности химических веществ и процессов. Особое внимание уделено метрикам, основанным на массе, таким как количество образуемых отходов и эффективное использование ресурсов, а также метрикам, оценивающим воздействие на окружающую среду и здоровье человека.

2.2.1 «Зеленая» химия

«Зеленая» химия – это отрасль химии, занимающаяся проектированием, разработкой и внедрением химических продуктов и процессов, которые сокращают или исключают использование и образование опасных веществ [43]. Сама концепция была сформулирована Полом Анастасом и Джоном Уорнером в 1998 году [44] в виде двенадцати принципов (см. Таблицу 5), которые до сих пор остаются актуальными [45]. Как показывают недавние обзорные статьи и монографии, именно «зеленая» химия играет ключевую роль в снижении экологических и токсикологических рисков химических процессов [46-49], хотя некоторые из них иллюстрируют применение этих принципов для довольно ограниченных типов химических соединений или химических процессов [50-53]. Тем не менее, концепция «зеленой» химии стимулировала создание количественных метрик, позволяющих комплексно анализировать влияние их на человека и окружающую среду. Этой теме посвящены следующие разделы данной главы.

Таблица 5. Принципы «зеленой» химии [44].

Принцип	Пояснение
Предотвращение образования отходов	Лучше не допускать образования отходов, чем заниматься их переработкой или уничтожением
Атом-экономичность	Методы синтеза должны разрабатываться таким образом, чтобы в состав конечного продукта включалось как можно больше атомов реагентов, использованных в ходе синтеза
Снижение опасности процессов и продуктов синтеза	Во всех практически возможных случаях следует стремиться к использованию или синтезу веществ, нетоксичных или малотоксичных для человека и окружающей среды
Разработка более безопасных химических веществ	Технологии должны обеспечивать создание новых материалов, обладающих наилучшими функциональными характеристиками и наименьшей токсичностью
Использование более безопасных вспомогательных реагентов	Использование вспомогательных реагентов (растворителей, экстрагентов и т.д.) в химических процессах следует по возможности избегать. Если это невозможно, при выборе реагентов ключевым фактором является их токсичность
Энергоэффективность	Следует отдавать себе отчет в экологических и экономических последствиях, связанных с затратами энергии в химических процессах. Желательно осуществлять синтез при комнатной температуре и атмосферном давлении
Использование возобновляемого сырья	Во всех случаях, когда это технически возможно и экономически допустимо, следует отдавать предпочтение возобновляемому сырью
Уменьшение числа промежуточных стадий	Следует минимизировать или вообще отказаться от ненужных промежуточных стадий, например, введение/снятие защитных групп, поскольку они влекут за собой использование дополнительных реагентов и, как следствие, образование дополнительных отходов
Использование каталитических процессов	Каталитические процессы с наибольшей селективностью предпочтительнее по сравнению со стехиометрическими реакциями
Биоразлагаемость	Химические продукты желательно применять такие, чтобы по окончании нужды в них они не сохранялись в окружающей среде, а разлагались до безопасных веществ
Мониторинг процессов в реальном времени	Следует развивать аналитические методы, обеспечивающие мониторинг и контроль образования опасных продуктов реакции в режиме реального времени
Предотвращение возможных аварий	Вещества, используемые в химических процессах, следует выбирать так, чтобы свести к минимуму возможные аварии, включая разливы, взрывы и пожары

2.2.2 Метрики, основанные на массе

Основная цель любых метрик – сравнение. Если существует несколько экономически выгодных способов производства продукта, какой из них наносит наименьший вред окружающей среде, т.е. является самым экологичным? Метрики, разработанные для ответа на этот вопрос, делятся на две группы: метрики, основанные на массе, и метрики, основанные на воздействии.

В этом разделе рассматриваются метрики, основанные на массе, их преимущества и ограничения. Такие метрики обычно используются для количественной оценки эффективности химических процессов с учетом принципов устойчивого развития [54-56].

Первоначальной метрикой эффективности реакции, основанной на массе, был процентный выход, который отображал количество конечного продукта. Однако это значение не дает полного представления о химическом процессе и его воздействии на человека и окружающую среду. Исторически первыми «зелеными» метриками химических реакций стали критерий атом-экономичности (АЕ), введенный Barry Trost в 1991 году [57], и экологический фактор (Е-фактор), предложенный Roger Sheldon в 1992 году [58] (см. Уравнения (3) и (4), соответственно).

АЕ определяет процент атомов реагентов, вошедших в состав конечного продукта. Он рассчитывается как отношение молекулярной массы продукта к сумме молекулярных масс всех реагентов, участвующих в реакции (см. Уравнение (3)). При расчете учитываются только используемые реактивы и не учитываются промежуточные продукты, которые образуются на одной стадии и расходуются на следующей.

$$AE = \frac{M_{w\text{продукта}}}{M_{w\text{реагентов}}} \cdot 100\% \quad (3),$$

где $M_{w\text{продукта}}$ – молекулярная масса целевого продукта ($\text{г} \cdot \text{моль}^{-1}$), а $M_{w\text{реагентов}}$ – суммарная молекулярная масса всех реагентов, непосредственно участвующих в синтезе целевого продукта ($\text{г} \cdot \text{моль}^{-1}$).

Е-фактор, в свою очередь, представляет собой отношение отходов, образующихся при получении целевого продукта, к его массе (см. Уравнение (4)).

$$E - \text{фактор} = \frac{m_{\text{отходов}}}{m_{\text{продукта}}} \quad (4),$$

где $m_{\text{отходов}}$ – масса отходов, образующихся при получении целевого продукта (кг или т), а $m_{\text{продукта}}$ – масса целевого продукта (кг или т).

Введение Е-фактора и концепции атом-экономичности стимулировало пересмотр многих промышленных химических процессов [59-61]. Это также способствовало разработке новых подходов и метрик для оценки эффективности использования ресурсов как на отдельных технологических этапах, так и для всего процесса в целом. Группа James Clark в своей работе [62] обобщила более 60 подобных показателей. В этой части раздела рассмотрены наиболее распространенные из них.

Массовая интенсивность (Mass intensity, MI)

Массовая интенсивность отражает полный расход реагентов, растворителей, катализаторов и вспомогательных веществ для производства целевого продукта на конкретной технологической стадии или на всем процессе (см. Уравнение (5)).

$$MI = \frac{m_{\text{всех используемых соединений}}}{m_{\text{продукта}}} \quad (5),$$

где $m_{\text{всех используемых соединений}}$ — масса всех соединений, использованных в производстве целевого продукта (кг или т), а $m_{\text{продукта}}$ — масса целевого продукта (кг или т).

Также эта метрика связана с Е-фактором уравнением (6):

$$MI = E - \text{фактор} + 1 \quad (6)$$

Реакционная массовая интенсивность (Reaction mass intensity, RMI)

Данная метрика похожа на MI, но учитывает только массу материалов, непосредственно вовлеченных в химическую реакцию. Растворители и вспомогательные вещества исключаются (см. Уравнение (7)):

$$RMI = \frac{m_{\text{реагентов}}}{m_{\text{продукта}}} \quad (7),$$

где $m_{\text{реагентов}}$ — масса всех материалов, непосредственно вовлеченных в химическую реакцию получения продукта (кг или т), а $m_{\text{продукта}}$ — масса целевого продукта (кг или т).

Реакционная массовая эффективность (Reaction mass efficiency, RME)

Данная метрика оценивает, насколько эффективно используется масса исходных веществ для получения целевого продукта (см. Уравнение (8)). Чем выше значение RME, тем больше продукта получается из меньшего количества материалов, что указывает на высокую эффективность процесса и минимизацию образования отходов.

$$\text{RME (\%)} = \frac{m_{\text{продукта}}}{m_{\text{реагентов}}} \cdot 100\% \quad (8),$$

где $m_{\text{реагентов}}$ — масса всех материалов, непосредственно вовлеченных в химическую реакцию получения продукта (кг или т), а $m_{\text{продукта}}$ — масса целевого продукта (кг или т).

Массовая интенсивность процесса (Process mass intensity, PMI)

PMI определяется как общая масса материалов, используемых для производства определенной массы продукта. Материалы включают сами реагенты, растворители, вспомогательные вещества, используемые для очистки, а также катализаторы (см. Уравнение (9)).

$$\text{PMI} = \frac{m_{\text{всех используемых материалов}}}{m_{\text{продукта}}} \quad (9),$$

где $m_{\text{всех используемых материалов}}$ — масса всех материалов, использованных в производстве целевого продукта, включая воду и различные вспомогательные материалы (кг или т), а $m_{\text{продукта}}$ — масса целевого продукта (кг или т).

В связи с наличием множества подобных метрик, появилась необходимость в стандартизации их использования. В рамках консорциума CHEM21 в Университете Йорка в Великобритании был разработан «Инструментарий метрик» (Metrics Toolkit) [63]. Важно отметить, что эти метрики сравнивают массу желаемого продукта с массой образующихся отходов, не учитывая степень их опасности. Процесс с меньшим количеством отходов может выглядеть более безопасным по массовым показателям, но быть менее экологичным, если отходы обладают высокой токсичностью. Это ограничение делает массовые метрики непригодными для выбора наиболее безопасного синтетического пути [64].

Главное преимущество метрик, основанных на массе, – простой расчет на основе доступных данных с небольшим количеством допущений. Для компаний, выпускающих тысячи продуктов, такие показатели зачастую являются единственным практичным инструментом для мониторинга воздействия на окружающую среду.

2.2.3 Метрики воздействия на человека и окружающую среду

Как было сказано ранее, массовые метрики играют важную роль в оценке химических процессов в контексте «зеленой» химии, поскольку они позволяют количественно измерить использование сырья и образование отходов, что важно для повышения эффективности и устойчивости производства. Однако их главный недостаток заключается в ограниченной способности учитывать токсичность веществ для человека или окружающей среды.

Для решения данной проблемы был разработан аналитический инструмент, который отражает общее воздействие продукта, процесса или деятельности человека на окружающую среду: от добычи сырья и производства до утилизации отходов, – оценка жизненного цикла (Life Cycle Assessment, LCA).

Современная практика LCA, регулируемая Международной организацией по стандартизации (International Organization for Standardization, ISO) [65], состоит из четырех взаимосвязанных этапов:

1. Четкое определение цели и объема исследования.
2. Составление перечня соответствующих затрат энергии, материалов и выбросов в окружающую среду.
3. Оценка потенциального воздействия на окружающую среду, связанного с выявленными затратами и выбросами.
4. Интерпретация результатов.

В частности, третий этап LCA включает в себя так называемые «метрики окружающей среды и здоровья человека», которые учитывают возможное воздействие того или иного химического вещества или процесса на климат, экосистемы и отдельные живые организмы [64].

Для каждого химического вещества рассчитывается потенциал риска P по отношению к равному количеству некоего эталонного соединения, поэтому потенциал риска не имеет единицы измерения. В свою очередь индекс риска для каждого вещества или смеси веществ можно рассчитать по уравнению (10):

$$I = \sum_i P_i \cdot m_i \quad (10),$$

где P_i – безразмерный потенциал риска, а m_i – масса вещества, выброшенного в окружающую среду или контактирующего с живым организмом (обычно кг или т), соответственно.

Для нескольких метрик необходимо рассчитать концентрации вещества в воздухе, воде, почве и осадочных породах. В промышленных условиях инженеры-технологи имеют доступ к фактическим или прогнозируемым объемам выбросов для каждого химического вещества; точность таких данных сильно влияет на точность выводов LCA. Для приблизительного определения этих концентраций используется модель, описывающая распределение химических соединений между различными экологическими средами (Multimedia Compartmental Model, MCM, также известная как модель летучести), разработанная в работе [66, 67] и основанная на законе Генри, коэффициенте распределения в системе октанол-вода (K_{ow}) и коэффициенте сорбции почвы (K_{oc}) для каждого химического вещества. В этом разделе будут рассмотрены наиболее распространенные метрики воздействия.

Потенциал закисления (Acidification Potential, AP)

Эта метрика оценивает способность газообразного химического соединения вызывать кислотные дожди в сравнении с эквивалентной массой SO_2 [68]. Если это вещество является сильной кислотой Бренстеда или способно превращаться в сильную кислоту Бренстеда путем окисления и гидратации в атмосфере, то AP рассчитывается по уравнению (11):

$$AP = \frac{\frac{\alpha}{M_w}}{\frac{\alpha_{SO_2}}{M_{w,SO_2}}} \quad (11),$$

где M_w – молекулярная масса газообразного соединения ($г \cdot моль^{-1}$), α – число диссоциирующих протонов в образующейся сильной кислоте, а M_{w,SO_2} – молекулярная масса диоксида серы ($г \cdot моль^{-1}$) α_{SO_2} – число диссоциирующих протонов в образующейся сильной кислоте (H_2SO_4).

Индекс закисления, I_{AP} , рассчитывается по уравнению (12):

$$I_{AP} = \sum_i AP_i \cdot m_i \quad (12),$$

где AP_i – потенциал закисления, а m_i – масса i -го вещества, выброшенного в атмосферу (кг или т), соответственно. Рассчитанные значения AP для многих распространенных газообразных соединений можно найти в работах Гине и соавторов [4].

Потенциал разрушения озонового слоя (Ozone Depletion Potential, ODP)

Данный потенциал оценивает способность газообразных или летучих галогенсодержащих соединений разрушать озоновый слой по сравнению с эталонным веществом – CCl_3F (фреон-11, CFC-11). В стационарных условиях данный потенциал принято рассчитывать по уравнению (13):

$$ODP = \frac{\Delta_{O_3}}{\Delta_{O_3, CFC-11}} \quad (13),$$

где Δ_{O_3} (%) – уменьшение концентрации озона в атмосфере в зависимости от количества вещества, выбрасываемого в атмосферу с некой скоростью V (гигаграммы·год⁻¹), а $\Delta_{O_3, CFC-11}$ (%) – то же для эталонного соединения при такой же скорости.

Индекс разрушения озонового слоя, I_{ODP} , рассчитывается по уравнению (14):

$$I_{ODP} = \sum_i ODP_i \cdot m_i \quad (14),$$

где ODP_i – потенциал разрушения озонового слоя, а m_i – масса i -го вещества, выброшенного в атмосферу (кг или т), соответственно. Экспериментальные значения ODP можно найти в нескольких литературных источниках [4, 66, 69, 70].

Потенциал образования смога (Smog Formation Potential, SFP)

Эта метрика измеряет способность летучего химического вещества вносить вклад в формирование озона в результате фотохимических реакций в атмосфере на уровне земли. Математически это выражается как отношение максимальной добавочной реактивности (Maximum Incremental Reactivity, MIR) вещества, то есть отношению количество озона, производимого из определенного количества химического вещества, к MIR для стандартной смеси реактивных органических газов (ROG), таких как метан, этилен, бензол и толуол (см. Уравнение (15)).

$$SFP = \frac{MIR}{MIR_{ROG}} \quad (15),$$

где MIR – максимальная добавочная реактивность вещества ($\Gamma_{\text{O}_3} \cdot \Gamma_{\text{смеси газов}}^{-1}$), а MIR_{ROG} – максимальная добавочная реактивность стандартной смеси реактивных органических газов ($\Gamma_{\text{O}_3} \cdot \Gamma_{\text{смеси газов}}^{-1}$).

Индекс образования смога, I_{SFP}, рассчитывается по уравнению (16):

$$I_{\text{SFP}} = \sum_i \text{SFP}_i \cdot m_i \quad (16),$$

где SFP_{*i*} – потенциал образования смога, а m_{*i*} – масса *i*-го вещества, выброшенного в атмосферу (кг или т), соответственно. MIR для стандартной смеси ROG составляет 3.10. Значения MIR для некоторых соединений были измерены в [71] и доступны в нескольких обзорах [66, 68].

Потенциал глобального потепления (Global Warming Potential, GWP)

Потенциал глобального потепления оценивает насколько парниковый газ способствует глобальному потеплению через радиационный форсинг по сравнению с углекислым газом за определенный период времени. Потенциалы многих химических веществ были рассчитаны ранее [4, 72]. Однако в случае летучих органических соединений, для которых не существует опубликованного GWP, принято использовать косвенный расчет, предполагающий немедленное окисление веществ до CO₂ и поэтому учитывающий молекулярную массу и количество углеродов в молекуле этого вещества [66] (см. Уравнение (17)).

$$\text{GWP} = \frac{\frac{\text{NC}}{M_w}}{\frac{\text{NC}_{\text{CO}_2}}{M_{w,\text{CO}_2}}} \quad (17),$$

где NC – количество атомов углерода в молекуле вещества (шт), M_w – молекулярная масса вещества (г·моль⁻¹), а NC_{CO₂} – количество атомов углерода в молекуле углекислого газа (шт), M_{w,CO₂} – молекулярная масса углекислого газа (г·моль⁻¹)

Индекс глобального потепления, I_{GWP}, рассчитывается по уравнению (18):

$$I_{\text{GWP}} = \sum_i \text{GWP}_i \cdot m_i \quad (18),$$

где GWP_{*i*} – потенциал разрушения озонового слоя, а m_{*i*} – масса *i*-го вещества, выброшенного в атмосферу (кг или т), соответственно.

Потенциал токсичности для человека при проглатывании (Human Toxicity by Ingestion Potential, INHTP)

Показатель оценивает токсичность вещества для человека при его попадании внутрь. Он рассчитывается как отношение концентрации вещества в воде к значению LD_{50} при пероральном введении крысам, в сравнении с аналогичным показателем для толуола [4, 66] (см. Уравнение (19)).

$$INGTP = \frac{\frac{C_w}{LD_{50}}}{\frac{C_{w,tol}}{LD_{50,tol}}} \quad (19),$$

где C_w – концентрация вещества в воде, рассчитанная с помощью модели МСМ ($mg \cdot l^{-1}$), LD_{50} – полуметальная доза вещества, определенная при пероральном введении крысам ($mg \cdot kg^{-1}$), а $C_{w,tol}$ – аналогичная концентрация толуола в воде ($mg \cdot l^{-1}$), LD_{50} – полуметальная доза толуола, определенная при пероральном введении крысам ($mg \cdot kg^{-1}$).

Индекс токсичности для человека при проглатывании, I_{INGTP} , рассчитывается по уравнению (20):

$$I_{INGTP} = \sum_i INGTP_i \cdot m_i \quad (20),$$

где $INGTP_i$ – потенциал токсичности для человека при проглатывании, а m_i – масса i -го вещества, попавшего в организм человека при проглатывании (mg), соответственно.

Потенциал токсичности для человека при вдыхании (Human Toxicity by Inhalation Potential, INHTP)

Данный показатель используется для оценки токсичности вещества для человека при вдыхании его паров или аэрозолей. Подобно потенциалу $INGTP$, данная метрика применяет МСМ модель для расчета концентрации токсиканта в воздухе и использует значения LC_{50} , измеренные на крысах при 4-часовом эксперименте. Аналогичные измерения проводят для эталонного вещества – толуола [66] (см. Уравнение 21).

$$INHTP = \frac{\frac{C_a}{LC_{50}}}{\frac{C_{a,tol}}{LC_{50,tol}}} \quad (21),$$

где C_a – концентрация вещества в воздухе, рассчитанная по МСМ модели ($mg \cdot m^{-3}$), LC_{50} – полуметальная концентрация для вещества, определенная при ингаляции крысам в течение 4 часов ($mg \cdot m^{-3}$), а $C_{a,tol}$ – аналогичная концентрация толуола в воздухе ($mg \cdot m^{-3}$), $LC_{50,tol}$ –

полулетальная концентрация толуола, определенная при ингаляции крысам в течение 4 часов ($\text{мг} \cdot \text{м}^{-3}$).

Индекс токсичности для человека при вдыхании, I_{INHTR} , рассчитывается по уравнению (22):

$$I_{\text{INHTR}} = \sum_i \text{INHTR}_i \cdot m_i \quad (22),$$

где INHTR_i – потенциал токсичности для человека при вдыхании, а m_i – масса i -го вещества (мг), попавшего в организм человека при вдыхании, соответственно.

Персистентность (Persistence, PER)

Персистентность, то есть устойчивость органического химического вещества в окружающей среде, можно смоделировать с помощью Индекса Бетлинга (Boethling Index, BI) [73] – модели аэробного биоразложения, которая приблизительно определяет время жизни химического вещества на основе типа и количества функциональных групп в молекуле. Значение, полученное из уравнения (23) с использованием данных из работы [73], дает приблизительное представление о времени жизни соединения в почве, где 5 = часы, 4 = дни, 3 = недели, 2 = месяцы, 1 оценивается как «очень долго».

$$\text{BI} = 3.199 - 0.00221 \cdot M_w + \sum_i (a_i \cdot f_i) \quad (23),$$

где M_w – молекулярная масса вещества ($\text{г} \cdot \text{моль}^{-1}$), a_i и f_i – количество и тип функциональных групп в молекуле, соответственно.

Для оценки персистентности летучих органических соединений в атмосфере можно воспользоваться модифицированным Индексом Бетлинга, разработанным в работе [74].

Биоаккумуляция (Bioaccumulation, ACCU)

Биоаккумуляция органического химического вещества может быть оценена по его коэффициенту распределения в системе октанол-вода, K_{ow} или $\lg K_{ow}$. (см. Уравнение (24)). Принято считать, что соединения с $\lg K_{ow} = 3.5$ или ниже имеют низкий потенциал биоаккумуляции; вещества с $\lg K_{ow}$ от 3.5 до 4.3 имеют умеренный потенциал биоаккумуляции, а вещества с $\lg K_{ow}$ более 4.3 считаются имеющими высокий потенциал биоаккумуляции [66].

$$\text{ACCU} = \lg K_{ow} = \lg \frac{C_o}{C_w} \quad (24),$$

где C_o – равновесная концентрация вещества в октанол-е ($\text{моль} \cdot \text{л}^{-1}$), а C_w – равновесная концентрация вещества в воде ($\text{моль} \cdot \text{л}^{-1}$).

Потенциал истощения абиотических ресурсов (Abiotic Depletion Potential, ADP)

Данный потенциал отражает степень истощения определенных природных ресурсов в процессе их использования человеком. Абиотические ресурсы включают в себя минералы, металлы, нефть, уголь, природный газ и другие ресурсы, которые не восстанавливаются на протяжении человеческой жизни. При расчете учитываются только материалы, участвующие в химическом процессе (растворители, реагенты, катализаторы, осушители и т.д.) и вызывающие истощение ресурсов (см. Уравнение (25)).

$$ADP = \frac{\frac{DR}{R^2}}{\frac{DR_{ref}}{R_{ref}^2}} (25),$$

где DR – скорость добычи ресурса ($\text{т} \cdot \text{год}^{-1}$), R – конечный запас ресурса (т), DR_{ref} – скорость добычи эталонного ресурса ($\text{т} \cdot \text{год}^{-1}$), R_{ref} – конечный запас эталонного ресурса (т). Значения этих потенциалов можно найти в литературе [4] для каждого элемента, обладающего заметным риском истощения.

Индекс истощения абиотических ресурсов, I_{ADP} , рассчитывается по уравнению (26):

$$I_{ADP} = \sum_i ADP_i \cdot m_i (26),$$

где ADP_i – потенциал истощения абиотических ресурсов, а m_i – масса i -го вещества, используемого в технологическом процессе (т), соответственно.

Таким образом, метрики воздействия на человека и окружающую среду представляют собой важный инструмент для комплексной оценки безопасности химических процессов, позволяя количественно анализировать их влияние как на экосистемы (кислотные дожди, разрушение озонового слоя, глобальное потепление), так и на здоровье человека (токсичность при вдыхании и проглатывании). Хотя эти метрики зависят от доступности экспериментальных данных и не всегда учитывают синергетические эффекты смесей, их интеграция с массовыми показателями и моделями распределения веществ (например, MCM) создает основу для более точного прогнозирования экологических рисков.

2.2.4 Токсикологические профили химических реакций

Недавно была предложена концепция токсикологических профилей (tox-Profiles) [75, 76], которые иллюстрируют относительный вклад веществ, участвующих или образующихся в реакции, в «общую токсичность» процесса. Метод основан на использовании доступных в научной литературе и базах данных токсикологических показателей. На сегодняшний день данный подход успешно применен к анализу ряда химических процессов [76-79].

Как правило, самыми доступными являются данные токсичности *in vitro* – полумаксимальные цитотоксические концентрации (CC_{50} , см. 2.1.2.1 Исследования *in vitro*). Чтобы учесть не только токсичность вещества, но и его количество в реакции, исследователи предлагают расчет «нормализованной цитотоксичности» (NC) для каждого соединения (см. Уравнение (27)):

$$NC = \frac{n}{CC_{50}} \quad (27),$$

где n – количество вещества, участвующего или образующегося в реакции (как правило, ммоль), а CC_{50} – его полумаксимальная цитотоксическая концентрация (как правило, ммоль·л⁻¹ или мМ), определенная на модельной клеточной линии [76].

На диаграммах вклад каждого вещества соответствует площади секторов, которые приравнены к «нормализованной цитотоксичности». Дополнительно используется цветовая кодировка секторов, которая отражает относительное распределение значений CC_{50} : наиболее токсичному веществу соответствует красный цвет, наименее токсичному – зеленый, а всем остальным – промежуточные оттенки желтого.

В качестве примера на Рисунке 3 приведен биофиль реакции Сузуки получения бифенила (продукт, Р) из работы [80]. В качестве исходных веществ были выбраны йодбензол и фенилборная кислота, катализатора – ацетат палладия(II), растворителя – водный раствор этанола, сопутствующих продуктов – йодид калия, тетраборат калия и борная кислота, и вспомогательного реагента, основания – карбонат калия.

Для данной реакции наибольший вклад в токсикологический профиль процесса вносят йодбензол и бифенил. Их сектора имеют наибольшую площадь. В то же время борная кислота и $Pd(OAc)_2$ занимают наименьшие по площади сектора, что говорит о наименьшем вкладе в общую токсичность. При этом, несмотря на высокую токсичность катализатора, его доля в общей токсичности остается минимальной из-за его малого количества в реакционной смеси. Аналогично, растворитель, присутствующий в большом количестве, вносит незначительный вклад из-за своей низкой индивидуальной токсичности.

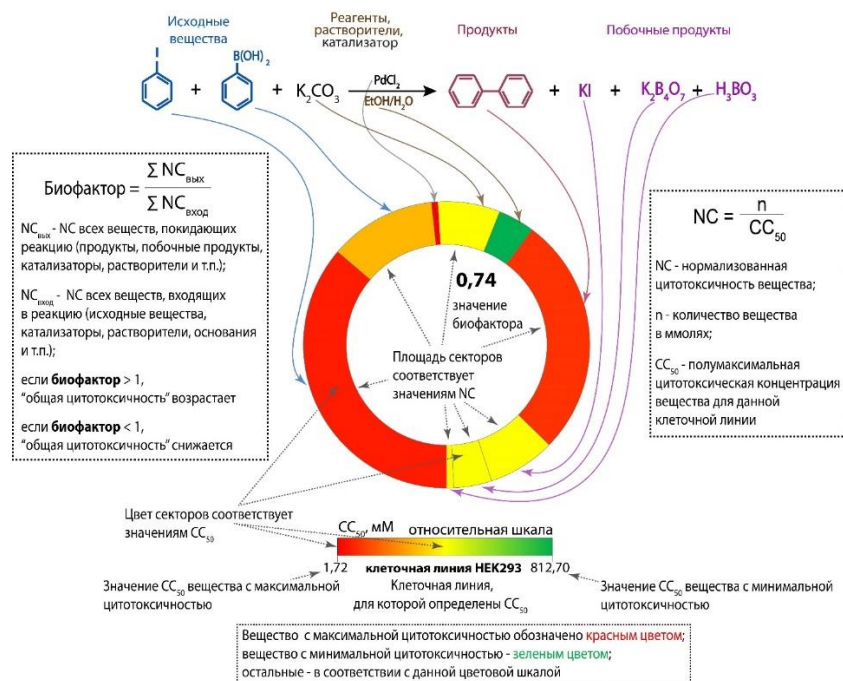


Рисунок 3. Концепция биопрофиля на примере реакции Сузуки из [80].

Исследователи предложили новые количественные метрики на основе «нормализованной цитотоксичности»: биофактор (BF; см. Уравнение. (28)) показывает изменение «общей цитотоксичности» в ходе реакции, являясь отношением суммы NC веществ, покидающих реакцию, к сумме NC веществ, входящих в нее; начальный цитотоксический потенциал, или CP_i , включающий исходные соединения, катализатор, растворитель и другие реагенты (см. Уравнение (29)); конечный цитотоксический потенциал, или CP_f , включающий продукты, побочные продукты и регенерируемые соединения, такие как катализатор и растворитель (см. Уравнение (30)); относительный конечный цитотоксический потенциал (CP_{f_rel}) характеризует токсичность соединений, покидающих реакцию, за исключением целевого продукта (см. Уравнение (31)).

$$BF = \frac{\sum NC_{out}}{\sum NC_{in}} = \frac{\sum \frac{n}{CC_{50}}(out)}{\sum \frac{n}{CC_{50}}(in)} \quad (28),$$

$$CP_i = \sum NC_{in} \quad (29),$$

$$CP_f = \sum NC_{out} \quad (30),$$

$$CP_{f_rel} = \sum NC_{out} - NC_{product} \quad (31),$$

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

Таким образом, данный подход создает основу для сравнительного анализа различных маршрутов синтеза целевого продукта и выбора наименее токсичного варианта на основе объективных количественных показателей.

2.2.5 Выводы по разделу

Современные подходы к оценке экологической безопасности химических процессов, рассмотренные в данном разделе, демонстрируют эволюцию от простых массовых метрик к комплексным системам анализа, сочетающим экологические и токсикологические параметры. Если традиционные показатели типа E-фактора и атомной экономичности позволяют оценить эффективность использования ресурсов, то более совершенные методы – оценка жизненного цикла и токсикологические профили – дают возможность комплексного анализа воздействия на окружающую среду и здоровье человека. Особую ценность представляет интеграция различных подходов: массовые метрики эффективно дополняются показателями воздействия, а визуализация токсикологических профилей позволяет наглядно оценить вклад каждого компонента реакции. Несмотря на существующие ограничения (недостаток данных по токсичности, сложность учета синергетических эффектов), развитие этих методов открывает новые перспективы для создания действительно «зеленых» химических процессов.

2.3 «Зеленые» тренды в реакциях каталитического кросс-сочетания

В данном разделе предпринята попытка рассмотреть вопросы, связанные с разработкой новых методологий для реакций каталитического кросс-сочетания с учетом современных экологических проблем, описанных выше. Однако следует подчеркнуть, что экологичность указанных систем, как правило, оценивается преимущественно с позиций предполагаемого снижения воздействия – например, за счет уменьшения количества растворителей или перехода к использованию возобновляемых катализаторов. При этом реальный вклад каждого компонента реакционной системы в общую токсичность практически не подвергается систематическому анализу. Особенно это актуально для сложных многокомпонентных смесей, формирующихся в ходе протекания реакций, где возможны синергетические токсические эффекты.

2.3 Реакции каталитического кросс-сочетания

Реакции каталитического кросс-сочетания стали одним из важнейших достижений химической науки XX века, открыв новые возможности для одностадийного образования связей C-X ($X = C, N, O, S$), которые широко встречаются в природных и синтетических органических соединениях. Заметный прогресс в этой области стал возможен благодаря разработке новых фосфиновых лигандов и созданию палладиевых комплексов, используемых в качестве предшественников активных каталитических систем. В последние десятилетия катализ с использованием комплексов и наночастиц переходных металлов зарекомендовал себя как один из самых надежных синтетических методов, отличающийся высокой воспроизводимостью [81]. Примечательно, что как гомогенные, так и гетерогенные реакции, катализируемые палладием, включая реакции образования связи C-C, такие как реакция Сузуки-Мияуры [82, 83], Кумады [84], Негиши [85], Стилле [86], Хека [87, 88], Соногаширы [89], а также реакция образования связи C-N Бахвальда-Хартвига [90, 91], стали незаменимым инструментом в синтезе фармацевтических препаратов [92], агрохимикатов [93], новых материалов и других продуктов тонкой органической химии [94, 95].

2.3.1 Реакции кросс-сочетания, катализируемые палладием

Несмотря на формальное соответствие ряду принципов «зеленой» химии, лабораторное и промышленное использование реакций каталитического кросс-сочетания часто сопряжено с существенными экологическими и токсикологическими рисками. В частности, необходимость использования органических растворителей, токсичных органометаллических реагентов, а также необходимость в дополнительных лигандах и основаниях оттягивают токсикологический профиль таких систем. Особый интерес вызывает возможность проведения палладий-катализируемых реакций в водных и водно-органических средах, а также с использованием гетерогенных и наноразмерных катализаторов. Было показано, что такие реакции могут протекать в воде при достаточно мягких условиях с использованием простых солей палладия без каких-либо лигандов [96]. Это привело к открытию палладиевого нанокатализа и широкому применению его в органическом синтезе [97]. Примером такой системы послужил синтез обширного ряда замещенных бифенилов при комнатной температуре в водной среде, катализируемый хлоридом или ацетатом палладия (II) (см. Схему 2а). Установлено, что данное превращение может также эффективно протекать в присутствии металлического палладия в

форме палладиевой черни, представляющей собой наночастицы, без добавления лигандов (см. Схему 2б) [98].

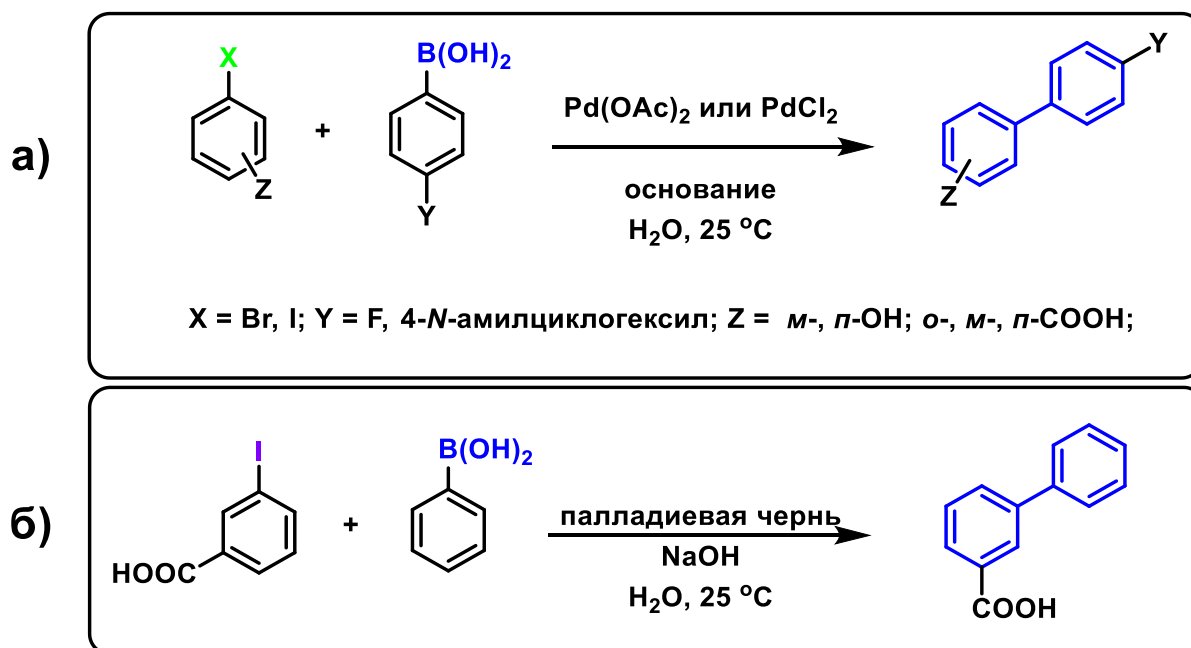


Схема 2. Синтез бифениловых соединений с помощью палладиевого нанокатализа: а) Использование солей двухвалентного палладия; б) Использование наночастиц палладия в виде палладиевой черни.

Как уже отмечалось, палладий является ценным и ограниченным ресурсом, а его применение в катализе ведет к его рассеиванию. В связи с этим активно развиваются подходы к иммобилизации палладия на различных твердых носителях [99-102]. При этом подложка может выступать не только в роли инертного носителя, но и функционально замещать лиганд, существенно влияя на активность и селективность иммобилизованных наночастиц палладия.

Так, наночастицы палладия, иммобилизованные на сополимере винилимидазола и винилкапролактама без использования дополнительных лигандов, проявили высокую каталитическую активность в реакции Сузуки, проводимой в водно-этанольной среде (см. Схему 3). В той же работе была продемонстрирована возможность многократного использования катализатора: его активность сохранялась на протяжении восьми последовательных циклов реакции между фенолборной кислотой и *n*-бромацетофеноном [103].

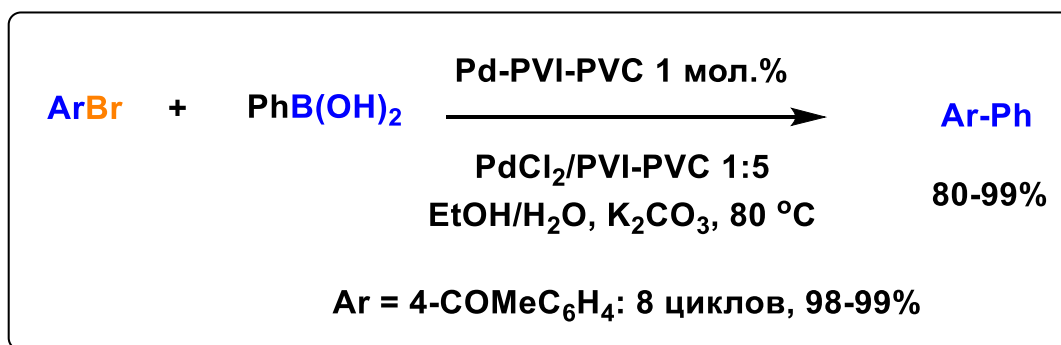


Схема 3. Реакция Сузуки, катализируемая наночастицами палладия, иммобилизованными на сополимере винилимидазола и винилкапролактама.

Хорошо известные катализаторы гидрирования также проявляют высокую эффективность в реакциях Сузуки. Эти системы легко выделяются из реакционной смеси обычной фильтрацией, при этом сохраняют стабильную каталитическую активность на протяжении как минимум пяти циклов [103]. В частности, палладиевая чернь, примененная без добавления лигандов, была успешно использована в промышленном синтезе двух фармацевтических препаратов (см. Схему 4), при этом масса полученных интермедиатов и конечных соединений достигала 0,5–1 кг, а выход варьировался в диапазоне 67–93%.

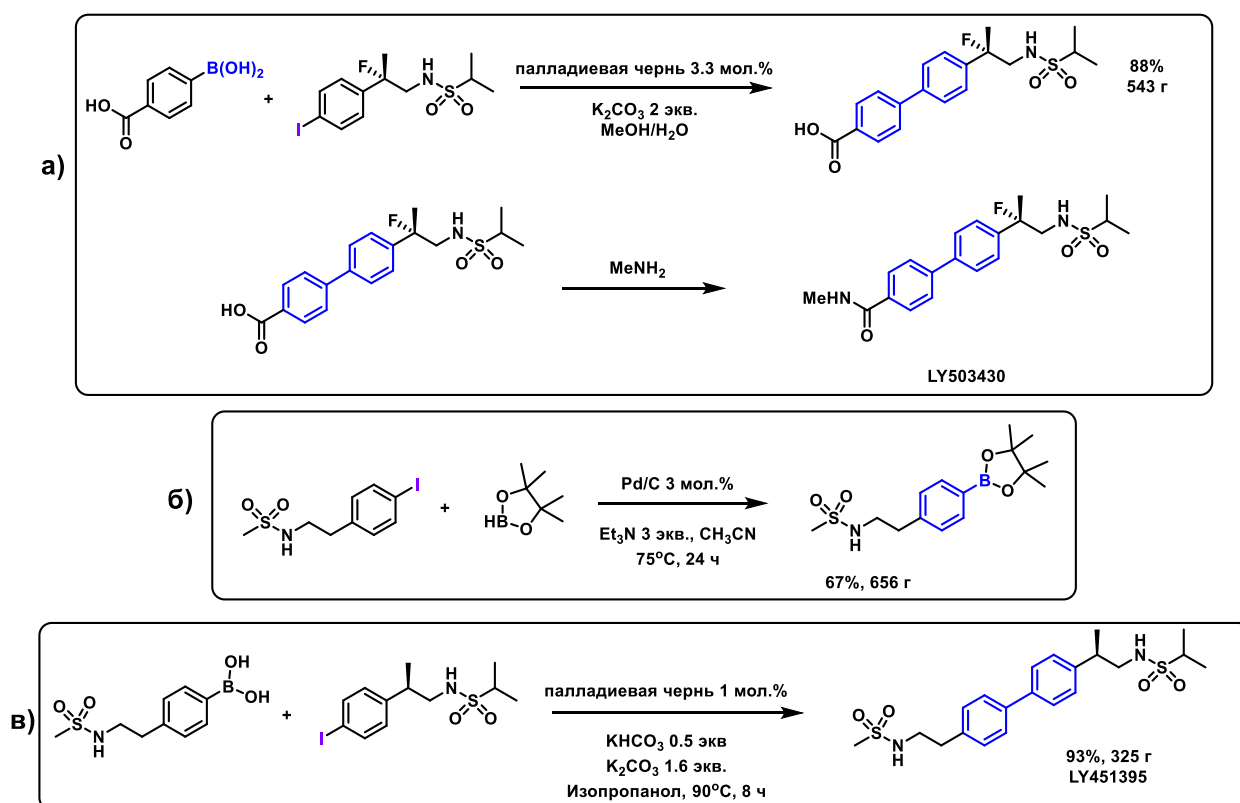
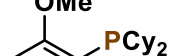


Схема 4. Использование реакции Сузуки в промышленном синтезе: а) Препарата для лечения болезни Паркинсона, б) органической борной кислоты-интермедиата, в) препарата для лечения болезни Альцгеймера.



EvanPhos



TPGS-750M

Важные промышленные фунгициды боскалид, флуксапироксад и биксафен были синтезированы в воде при загрузке $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ всего 0,005 мол.%, что является ультранизким значением для реакции Сузуки [111]. Однако, даже арилхлориды реагировали при этих условиях с высокими выходами (см. Схему 5).



Было показано, что в водных растворах Kolliphor® EL, известного неионогенного поверхностно-активного вещества на основе полиэтоксилированного касторового масла, используемого для стабилизации эмульсий фармацевтических препаратов [112], образуются наномицеллы, которые могут служить нанореакторами для палладий-катализируемых реакций кросс-сочетания [113]. В этой системе реакция Сузуки протекает даже при комнатной температуре [114].

Так, наномицеллы на основе сурфактанта PiNap-750M используют в синтезе некоторых органических полупроводников [115] с выходами 80-93% (см. Схему 6). В другой работе [116] использование мицелл на основе TPGS-1000 и низких загрузок палладия в 0,5 мол.% в виде наночастиц, полученных с помощью бактерий *Desulfovibrio alaskensis*, обеспечило выход продукта более 99%. Гидрогели на основе 1,3:2,4-дибензилденесорбитола, модифицированного ацилгидразидом агарозы, содержащие 1 мол.% палладия в водно-этанольной среде, продемонстрировали высокую эффективность в реакции Сузуки. Эти катализаторы обеспечивали количественные выходы биариллов и сохраняли активность на протяжении десяти последовательных циклов регенерации [117].

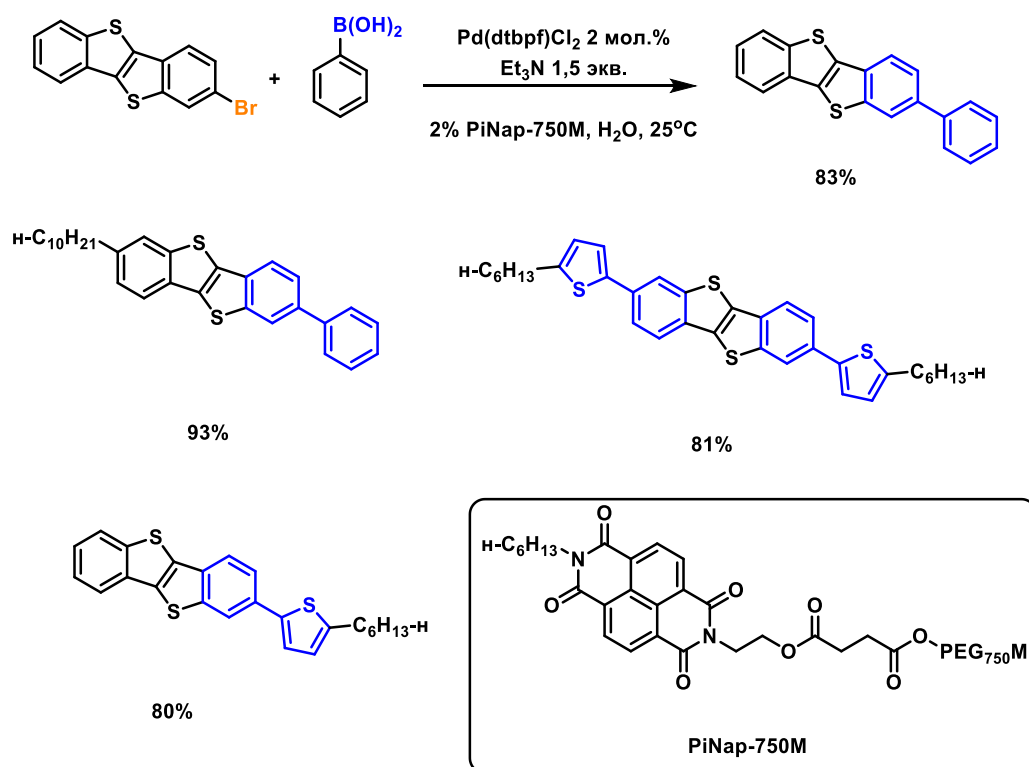


Схема 6. Синтез органических полупроводников и сурфактант PiNap-750M.

В работе [118] Сонидегиб, препарат для лечения рака кожи, был получен в среде воды и тетрагидрофурана с использованием мицеллообразующего сурфактанта TPGS-750M, при этом необходимое количество палладия составляло всего 0,5 мол.% (см. Схему 7).

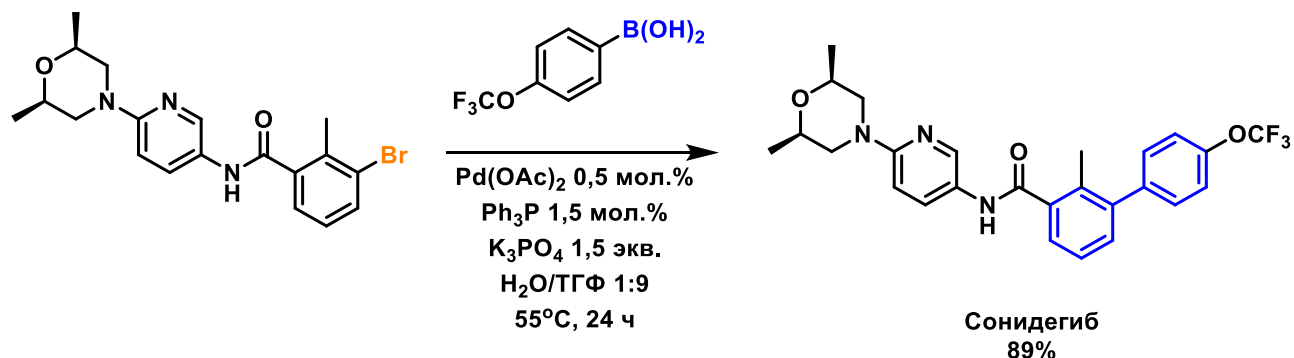


Схема 7. Использование реакции Сузуки для синтеза Сонидегиба, препарата для лечения рака кожи.

Наночастицы палладия, зафиксированные на композитном материале из оксида графена и стали, эффективно катализировали реакции Сузуки и Стилле в водно-этанольной среде, при этом выходы достигали 97% [119]. Кроме того, магнитные наночастицы железа, модифицированные небольшим количеством палладия (0,08 мол.%) и лигандом SPhos (дициклогексил(2',6'-диметокси[1,1'-бифенил]-2-ил)фосфин), применялись в реакции Сузуки в условиях проточного реактора. В водной среде, содержащей 2 мас.% сурфактанта TPGS-750M, выходы реакции достигали 95% [120]. Практическая значимость данного подхода была подтверждена при синтезе промежуточных каркасов фармацевтических веществ в количествах до 20 г за один рабочий цикл (см. Схему 8) [121].



Схема 8. Использование проточного реактора в реакции Сузуки.

Палладиевые наночастицы, закрепленные на оксидах титана и цинка даже при низкой загрузке металла до 0,3 мол.% обеспечивали выходы биариллов до 96% в водно-этанольной среде в реакции Сузуки. Катализаторы демонстрировали стабильность и поддавались регенерации, что подчеркивает их соответствие принципам устойчивого синтеза [122].

Ряд работ описывает применение металл-органических каркасных структур (МОКС), модифицированных палладием, в качестве эффективных гетерогенных катализаторов в реакциях кросс-сочетания. Например, палладиевый катализатор, связанный с лантанидным МОКС, содержащим наночастицы Fe_3O_4 , был протестирован в реакции Сузуки и показал выдающиеся результаты, обеспечив число оборотов реакции (TOF) 42886 ч^{-1} , что является одним из самых высоких значений, зафиксированных для этой реакции, демонстрируя высокую эффективность данного подхода в органическом синтезе [123].

В работе [124] описана реакция Сузуки с вовлечением традиционно низко реакционноспособных арилхлоридов в водном метанольном растворе под воздействием микроволнового излучения с использованием наночастиц (НЧ) палладия на восстановленном оксиде графена при загрузке 0,5 мол.%, при этом выходы достигали 95%. Данный подход позволил синтезировать интермедиаты важных препаратов для лечения гипертонии (Ирбесартан) и промышленных фунгицидов (Флуксапироксад) (см. Схему 9).

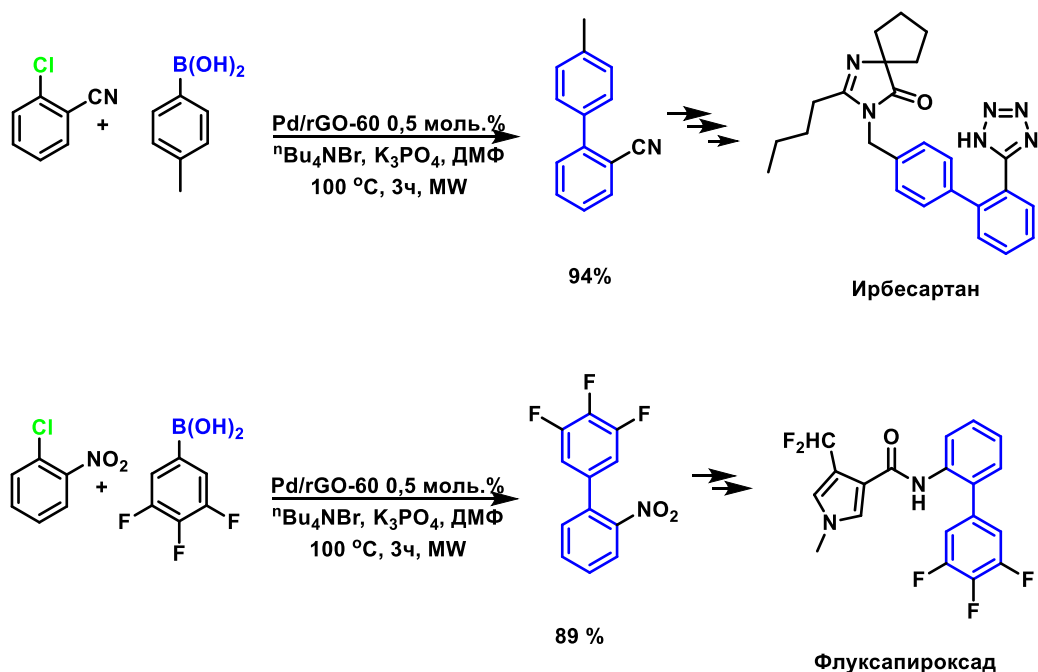


Схема 9. Получение ключевых интермедиатов для Ирбесартана и Флуксапироксада в условиях микроволнового синтеза.

Катализаторы на основе магнитных наночастиц палладия, иммобилизованные на гибридной подложке из оксида графена и стали, продемонстрировали высокую эффективность в реакциях Сузуки и Стилле, протекающих в смеси воды и этанола; при этом выходы целевых продуктов достигали 97% [125]. Катализатор сохранял свою эффективность в течение как минимум пяти циклов.

2.3.1.1. Заключение по разделу

Соединения палладия несмотря на свою высокую каталитическую эффективность, противоречат принципам «зеленой» химии из-за своей токсичности, дефицитности и сложности регенерации. Однако прогресс в разработке иммобилизованных систем (на полимерах, магнитных носителях) и наночастиц Pd позволил значительно снизить количество используемого металла, минимизировать отходы и повысить безопасность процессов. Внедрение водных сред и мицеллярных систем (например, TPGS-750M) дополнительно сокращает потребность в токсичных органических растворителях.

2.3.2 Использование других переходных металлов

Ввиду дороговизны палладия и токсичности его соединений предпринимались попытки использовать в качестве катализаторов альтернативные переходные металлы. Например, наночастицы золота, закрепленные на композитном материале на основе оксида графена, альгината стронция и карбоксиметилцеллюлозы, показали исключительную эффективность в реакции Сузуки с арильодидами при очень низкой загрузке катализатора (0,005 мол.%), сохраняя активность в течение шести циклов и обеспечивая выходы продуктов до 98% [126]. Соединения двухвалентного кобальта, иммобилизованные на хитозане с помощью фуранового хелатирующего фрагмента, были исследованы в реакциях Сузуки и Хека в водной среде (см. Схему 10), и также показали высокую каталитическую активность [127].

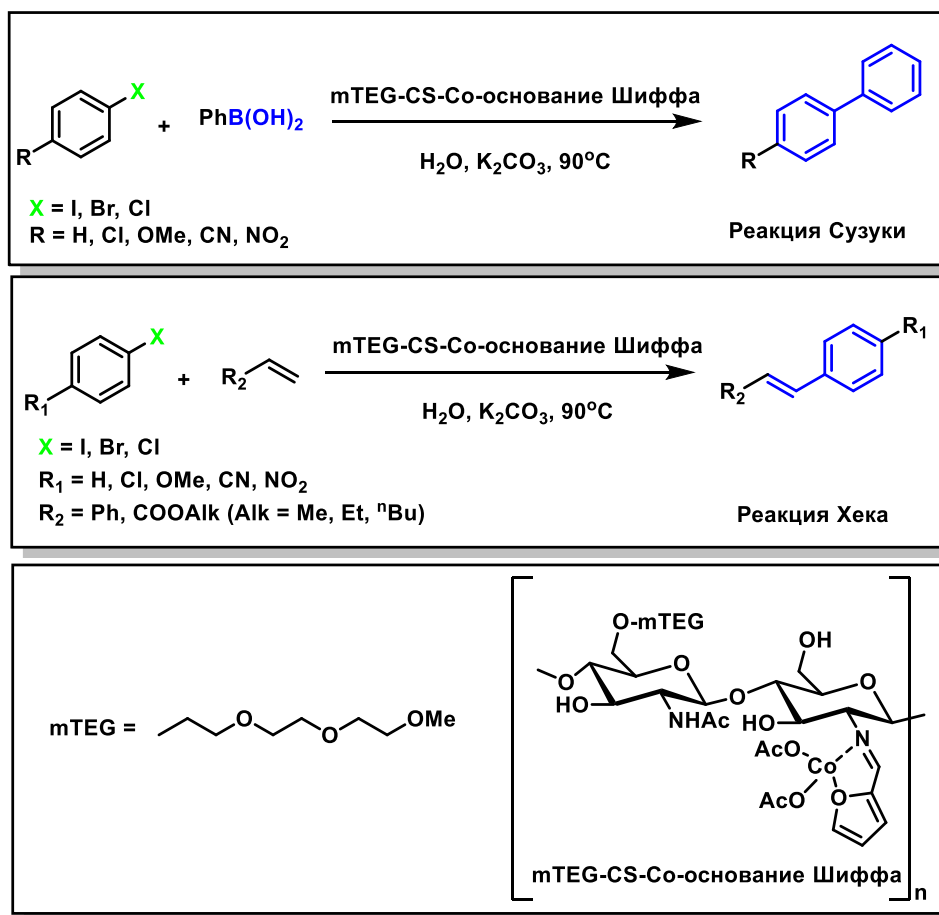


Схема 10. Использование соединений двухвалентного кобальта в реакциях Сузуки и Хека.

Высокую каталитическую активность в реакции Сузуки при сверхнизком содержании катализатора (150 м.д.) продемонстрировали нанокластеры $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$, осажденные на поверхности оксида графена. Альтернативный подход к реакции Соногаширы был реализован с использованием комплекса хлорида железа(III) с 1,10-фенантролином, примененного в аэробных условиях в водной среде. Такая система оказалась эффективной для широкого спектра функционализированных арилйодидов, включая соединения с гетероарильными и стерически затрудненными заместителями, а также для терминальных гетероарилалкинов [128]. Кроме того, реакция Сузуки была успешно проведена без участия палладия с использованием комплекса меди(I), иммобилизованного на политиофен-функционализированных магнитных углеродных нанотрубках [129].

Система $\text{ZnCl}_2/[\text{BMIm}]\text{BF}_4$ одновременно служила катализатором и растворителем в тандеме реакций Сузуки-Пикетти-Шпенглера, что позволило синтезировать фармакологически ценные полифункциональные 6-арилфенантридины [130].

В последние годы никельсодержащие катализаторы приобрели особую популярность в реакциях формирования связей углерод-углерод и углерод-гетероатом [131, 132]. В частности, был разработан композитный катализатор на основе никеля, синтезированный из азид-модифицированного каркаса, комплекса $\text{Ni}(\text{cod})_2$ и трифенилфосфина. Эта система сочетала высокую активность с возможностью регенерации, подтверждая потенциал никеля как доступной и устойчивой альтернативы палладию в реакциях кросс-сочетания [133]. Комплекс хлорида никеля с ферроцендифосфином показал высокую эффективность в реакции Сузуки с широким спектром арилгалогенидов, включая малоактивные хлорарены. Реакции проводились в водной среде с применением TPGS-750M в качестве мицеллообразующего агента при умеренной температуре и практически стехиометрическом соотношении реагентов. Катализатор также демонстрировал активность в случае стерически затрудненных субстратов, что подчеркивает его универсальность (см. Схему 11) [134].

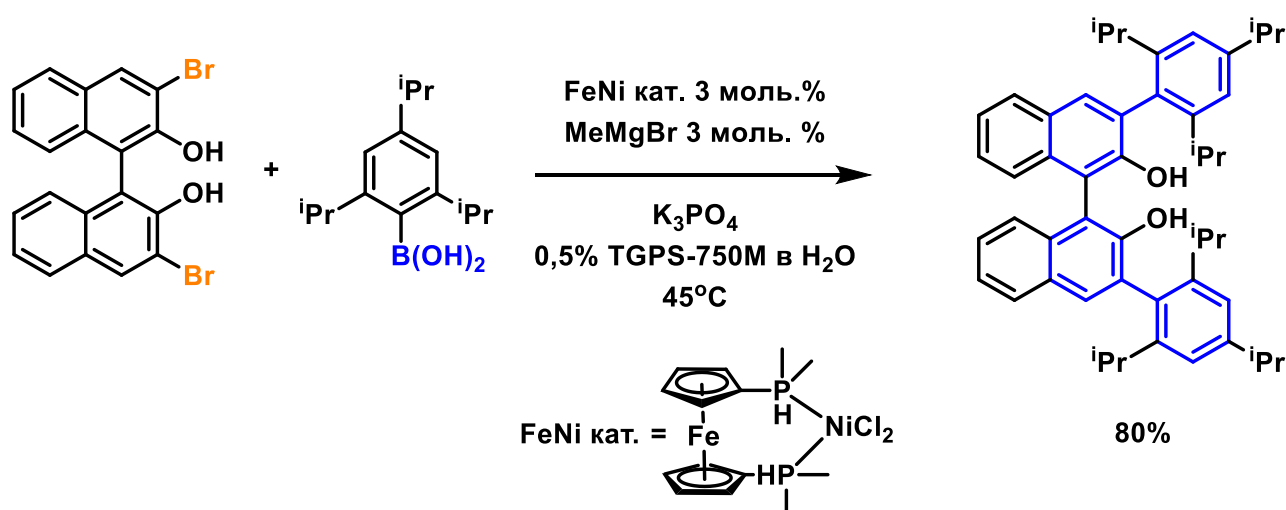


Схема 11. Использование никелевого катализатора для синтеза стерически затрудненных продуктов.

Каталитическая система $\text{NiCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ и CuI в водном растворе PEG-400, была применена в реакции Соногаширы для синтеза различных ацетиленов [135], при этом эффективность системы сохранялась на протяжении шести циклов. Более того, катализатор на основе только наночастиц никеля, описанный в работе [136] показал схожую активность в реакции Соногаширы, но уже без вовлечения соединений меди.

2.3.2.1. Заключение по разделу

Замена палладия на более доступные и менее токсичные металлы соответствует ключевым принципам «зеленой» химии. Никель- и медь-содержащие системы, особенно в водных средах, показывают потенциал для создания экономических и экологических процессов. Однако необходимо преодолеть ограничения, такие как ограниченная субстратная совместимость, чтобы эти методы стали полноценной альтернативой палладиевому катализу.

2.3.3 Активация связи С-Н

Важным этапом в развитии стратегии каталитического кросс-сочетания является переход к реакциям активации связи С-Н в аренах. Эти трансформации включают *in situ* металлизацию по С-Н-связи, последующее взаимодействие металла с электрофильным партнером и последующее восстановительное элиминирование с образованием целевого продукта. Такой подход, известный как прямое арилирование, позволяет существенно сократить число стадий синтеза, тем самым делая процесс более соответствующим принципам «зеленой» химии [137-139]. Эффективность и селективность реакции обеспечиваются наличием направляющей группы, при этом катализаторами служат комплексы благородных металлов, а также меди. В частности, С-Н-арилирование, катализируемое медью, было реализовано для бензоксазола и пентафторбензола [140], а арилирование 6-метоксибензотиофена *n*-йодометоксибензолом с участием комплекса $\text{NiCl}_2(\text{bipy})$ в 2-метилтетрагидрофуране, выступающем в роли устойчивого растворителя (см. Схему 13), впервые описанного в работе [163].

Прямое арилирование бензола арилгалогенидами в условиях фотокатализа с участием иридиевого комплекса реализуется по механизму гомолитического ароматического замещения [141]. При этом использование комплексов рутения в качестве катализаторов позволяет проводить реакцию в «экологически безопасных» растворителях [142]. Примером «зеленого» подхода является С-Н-арилирование 6-метоксибензотиофена *n*-йодометоксибензолом, катализируемое комплексом $\text{NiCl}_2(\text{bipy})$ в 2-метил-тетрагидрофуране, выступающем в роли «устойчивого» растворителя. Этот процесс был использован для синтеза ключевого интермедиата, применяемого в производстве фармацевтического препарата Ралоксифен для профилактики остеопороза (см. Схему 12) [143].

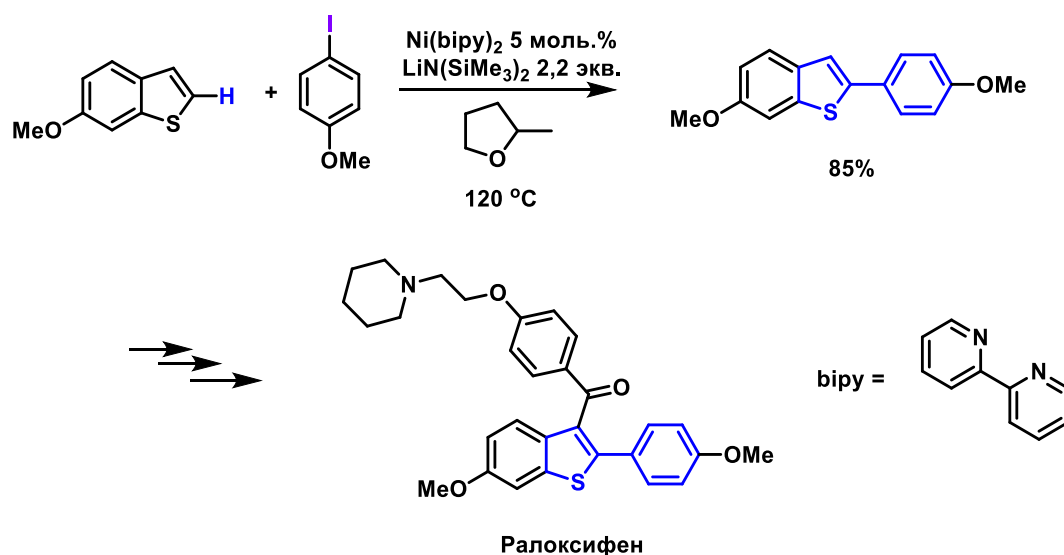


Схема 12. Получение интермедиата препарата Ралоксифена.

Кроме того, арилирование 2-фенилпиридина и ряда других фенилсодержащих гетероароматических соединений осуществлялось с использованием циклометаллированного комплекса рутения(II), демонстрируя высокую селективность и эффективность

Помимо С-Н-арилирования, все большую популярность приобретают реакции С-Н-алкилирования, особенно с использованием направляющих групп. Так, было показано, что алкилирование ароматических соединений с ацетамидной направляющей эффективно катализируется палладием на углеродном носителе [144], а хинолин *N*-оксидов – сульфатом железа(II) [145]. Арилирование 2-фенилпиридина, а также ряда фенилпроизводных гетероароматических соединений, было успешно реализовано с использованием циклометаллированного комплекса рутения(II) в качестве катализатора [146].

Как правило, в таких реакциях наиболее распространены такие растворители как ароматические углеводороды, нитрометан и диметилформамид (ДМФ) [147-150], зачастую не соответствующие принципам «зеленой» химии из-за своей токсичности. В данном контексте более предпочтительными являются условия, в которых реакция проводится в диметилсульфоксиде, обладающем лучшими экологическими характеристиками. В частности, в работе [151] данный растворитель использовали в реакции медь-катализируемого аминирования бензамидов вторичными аминами, а также сульфонидами, при выборе 8-аминохинолин в качестве направляющей группы (см. Схему 13).

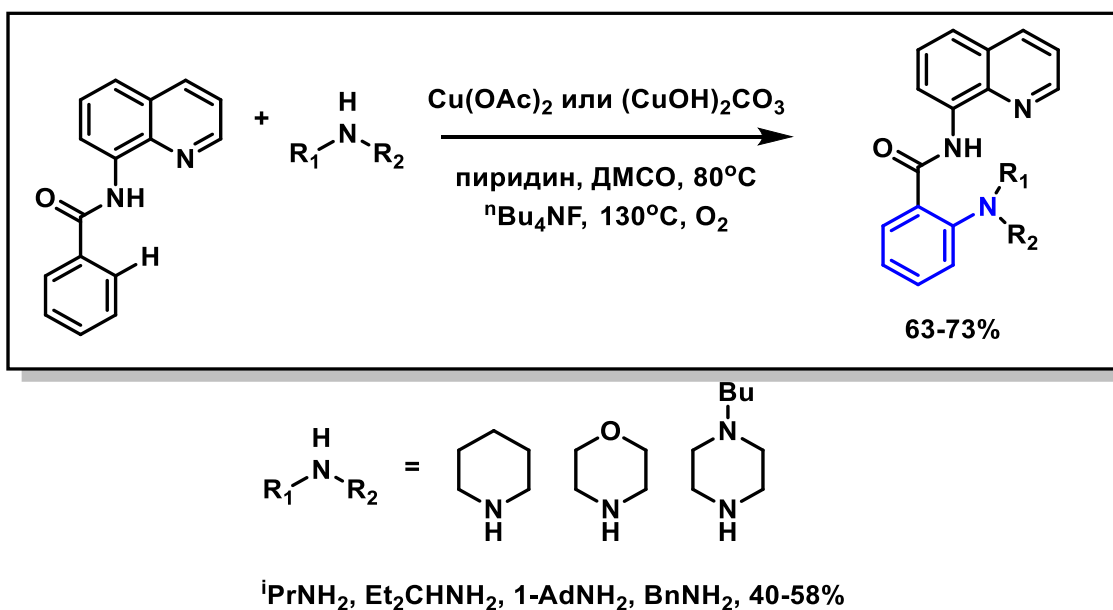


Схема 13. Пример реакции аминирования, катализируемой солями двухвалентной меди.

В работе [152] описана бидентатная направляющая группа для амидирования замещенных бензамидов в присутствии катализатора на основе двухвалентной меди (см. Схему 14). Тем не менее, из-за трудностей в достижении региоспецифичности в СН-аминировании катализ на основе благородных металлов, в частности трехвалентном рутении [153, 154] и иридии [155, 156], продолжает играть важную роль в этом подходе.

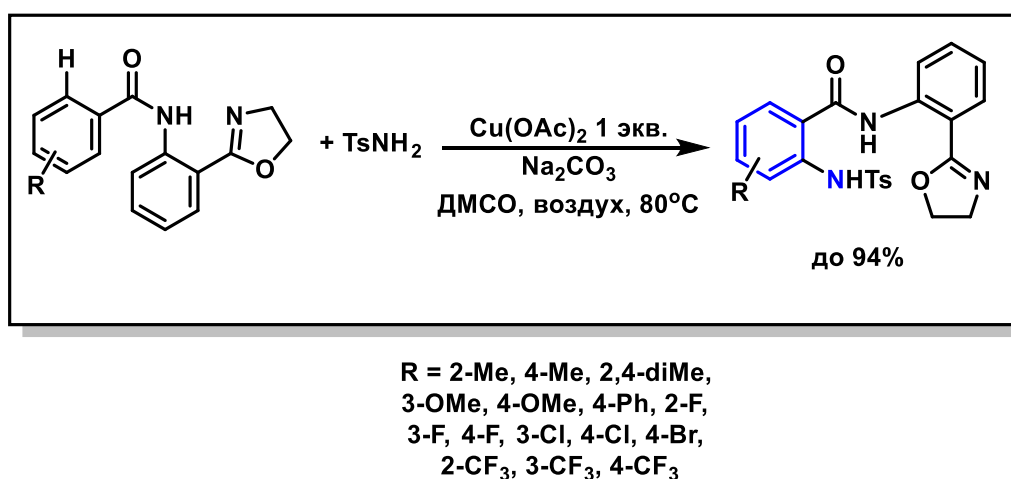


Схема 14. Пример бидентантной направляющей группы для медь-катализируемой реакции СН-аминирования.

2.3.3.1. Заключение по разделу

Прямое функционализирование связей С-Н – яркий пример эффективного синтетического подхода, устраняющего необходимость в префункционализированных реагентах и сокращающего образование отходов. Использование направляющих групп и катализаторов на основе меди или рутения в «зеленых» растворителях минимизирует токсичные побочные продукты. Этот метод особенно важен для фармацевтики, где сокращение стадий синтеза напрямую снижает экологическую нагрузку.

2.3.4 Использование альтернативных растворителей

В последние годы значительное внимание уделяется разработке и применению экологически более безопасных растворителей в синтетической практике. Например, в работе [157] широко исследовали применение альтернативных растворителей в распространенных реакциях каталитического кросс-сочетания (см. Схему 15). Особый интерес вызывает цирен (дигидролевоглюкозенон) – растворитель, получаемый из целлюлозы. Он обладает физическими свойствами, сходными с диметилформамидом, но при этом считается нетоксичным для человека. Цирен продемонстрировал свою эффективность в реакции Сузуки, обеспечивая высокие выходы продукта и хорошую масштабируемость процесса [158]. Так, в работе [159] авторы установили, что при правильном подборе подобных растворителей не наблюдается снижение выхода целевого продукта в каталитических реакциях. В частности, в работе [160] была рассмотрена модельная реакция Сузуки, для которой выход продуктов зависел в большей степени от природы реагентов, а не от выбора растворителя.

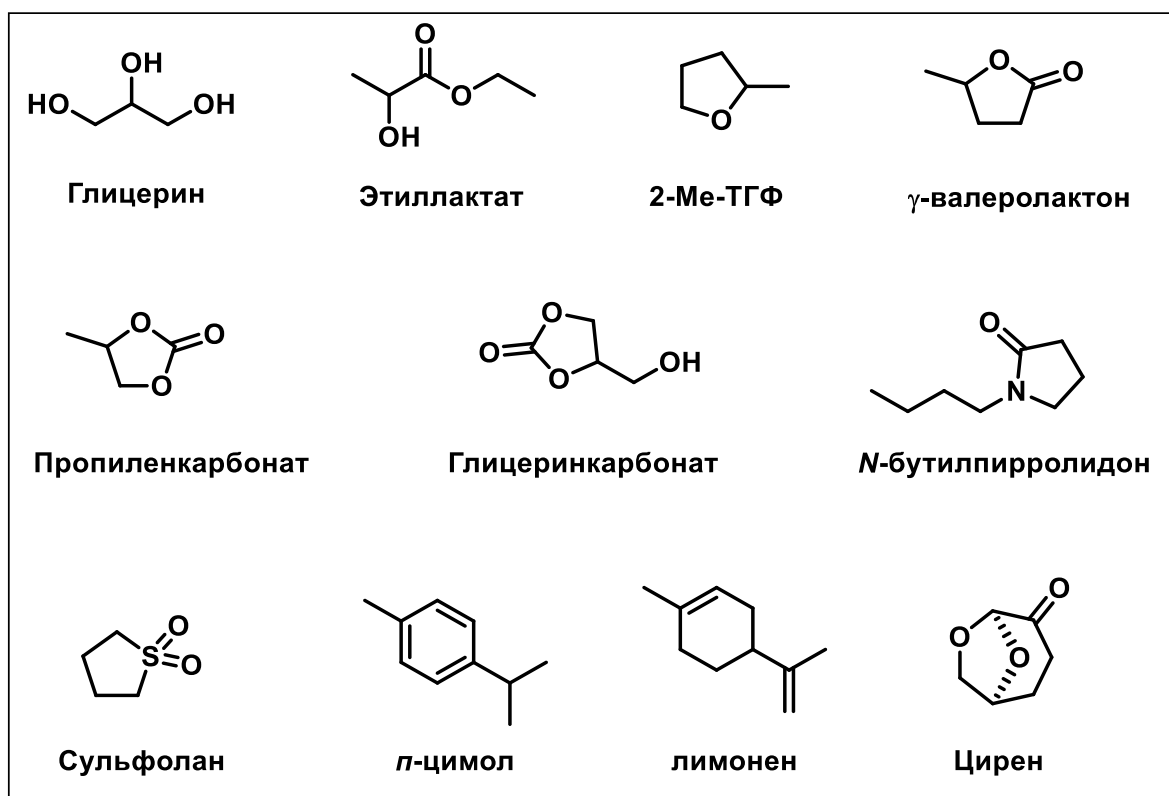


Схема 15. Альтернативные растворители, пригодные для реакций каталитического кросс-сочетания.

В обзоре [161] дополнительно рассмотрены такие растворители как вода, полиэтиленгликоли и ионные жидкости, предлагаемые в качестве замены традиционных органических сред. В частности, в работе [162] рассматривают реакцию Сузуки при 100 °С при загрузке 0,1-1,0 мол.% PdCl₂. Среди протестированных эвтектических смесей наибольшую эффективность продемонстрировала система на основе хлорида холина и этиленгликоля. Эта смесь не только обеспечивала высокие выходы продуктов, но и могла быть легко отделена от реакционной массы вместе с катализатором и повторно использована в течение пяти последовательных циклов без существенной потери активности.

Стоит упомянуть, что в последнее время предпочтение отдается отказу от использования растворителей в химических реакциях. Очевидно, что такой подход характеризуется более низкими E-фактором и другими метриками, основанными на массе [163]. В некоторых работах [164-166] приведено множество примеров использования такого подхода в реакциях каталитического кросс-сочетания в образовании связей углерод-углерод и углерод-гетероатом. Перспективу представляет механохимический синтез. В частности, такая обработка с применением микроволнового облучения в реакции Сузуки может проводиться в смеси реагентов, при этом сохраняется толерантность к кислороду воздуха и высокие выходы. Другим примером устойчивой каталитической системы является магнитно-извлекаемый палладиевый катализатор, который успешно применялся для синтеза биарильных соединений в отсутствие растворителя. При этом выход целевого продукта оставался высоким (93%) даже после десяти последовательных циклов, начиная с первоначальных 99% [167]. В работе [168] продемонстрировали использование механохимической поликонденсации Сузуки для получения поли(фениленов). В то же время в работе [169] провели реакцию Сузуки в механохимической мельнице в присутствии минимального количества палладия (0,05 мол.%).

2.3.4.1 Заключение по разделу

Разработка и внедрение альтернативных «зеленых» растворителей стало важным направлением устойчивой химии. Применение более безопасных соединений, таких как цирен, γ -валеролактон, 2-метилтетрагидрофуран и др., позволяет заменить традиционные токсичные растворители без потери эффективности реакций, включая реакции кросс-сочетания. Отмечается, что выбор растворителя часто не оказывает критического влияния на выход продукта, что расширяет возможности использования менее опасных и биоразлагаемых жидкостей. Альтернативные растворители – перспективное направление, но их широкое внедрение в каталитические реакции требует решения вопросов доступности, химической совместимости и технологической адаптации. Кроме того, перспективным направлением является проведение реакций в отсутствие растворителей, что минимизирует образование отходов и снижает экологическую нагрузку химических процессов.

2.4 Заключение по литературному обзору

Настоящий обзор посвящен известным методам оценки экологической безопасности химических процессов с фокусом на реакциях каталитического кросс-сочетания. Были рассмотрены современные подходы к определению токсичности, включая *in vitro* и *in vivo* методы, а также их основные преимущества и ограничения. Установлено, что существующие методы оценки токсичности зачастую не позволяют оценить общую токсичность даже самых простых химических реакций. Это связано с ограниченностью доступных экспериментальных данных, включая показатели LD₅₀, определяемые на млекопитающих, а также с отсутствием информации об условиях экспериментов и применяемых методологиях измерения токсичности.

При анализе подходов «зеленой» химии отмечено, что, несмотря на значительный прогресс в области устойчивого развития, используемые метрики имеют значительные ограничения. Они преимущественно ориентированы на снижение отходов, использование возобновляемых ресурсов и предварительную оценку влияния на окружающую среду и человека, которые часто базируются на ограниченных экспериментальных данных или упрощенных математических моделях.

В области реакций каталитического кросс-сочетания основное внимание уделено разработке возобновляемых катализаторов и альтернативных растворителей. Эти инициативы направлены главным образом на повышение устойчивости процессов и предотвращение истощения абиотических ресурсов. Эти направления безусловно отражают важные тренды в контексте «зеленой» химии, направленные на снижение потребления ресурсов и минимизацию отходов. Однако следует отметить, что абсолютное большинство описанных подходов оценивается исключительно с позиций предполагаемой экологической безопасности, основанной на снижении расхода растворителей, уменьшении загрузки катализаторов или использовании возобновляемого сырья. При этом систематические исследования, направленные на количественную оценку вклада каждого компонента таких реакционных систем – включая растворители, катализаторы, подложки и вспомогательные реагенты – в общую токсичность, практически отсутствуют.

Таким образом, несмотря на кажущуюся «экологичность», ни одна из описанных систем на сегодняшний день не может быть признана объективно безопасной без комплексного токсикологического анализа.

3. Экспериментальная часть

3.1 Реактивы и материалы

Использованные в работе химические вещества были приобретены в ABCR (Германия), Acros Organics (США), Alfa Aesar (США), Fluorochem (Великобритания), Sigma-Aldrich (Германия), Carl Roth (Германия) или Химкрафт (Россия), предварительной очистки реагентов не проводилось. 4-(*n*-Толил)морфолин [170], $[Pd(IPr)PyCl_2]$ (дихлор[1,3-бис(2,6-диизопропилфенил)имидазол-2-илиден]пиридилпалладий (II)) [171], $[Pd(IPr)(\mu-Cl)Cl]_2$ (бис[1,3-бис(2,6-диизопропилфенил)-1,3-дигидро-2*H*-имидазол-2-илиден]ди- μ -хлордипалладий) [172], $[Pd(SPhos)(IPr)Cl_2]$ ((SP-4-1)-[1,3-бис(2,6-диизопропилфенил)-1,3-дигидро-2*H*-имидазол-2-илиден]дихлор[дициклогексил(2',6'-диметокси[1,1'-бифенил]-2-ил)фосфин-КР]палладий) [173], и $[Pd(SPhos)(Py)Cl_2]$ ([дициклогексил(2',6'-диметокси[1,1'-бифенил]-2-ил)фосфин-КР]дихлор(пиридин)палладий) [171] были синтезированы по известным методикам. Автор выражает благодарность инж.-исслед. Доронину М.М. за любезно предоставленный свежеперегнаный 1,1-дифенилэтилен; инж.-исслед. Шайдуллину Р.Р. и лаб. Гребенникову Н.О. за помощь в синтезе и выделении продуктов реакций кросс-сочетания для токсикологических исследований.

3.2 Общие синтетические методики

Контроль за ходом реакций осуществляли с помощью тонкослойной хроматографии при 254 нм на пластинках «Silica gel 60 F254 aluminium sheets» фирмы Merck (Германия). Для колоночной хроматографии использовали силикагель марки «Silica 60 0.04-0.63 mm for column chromatography» (Macherey-Nagel, Германия). Строение и чистота продуктов подтверждены с помощью спектроскопии ЯМР и ГХ-МС.

3.2.1. Синтез сопутствующих продуктов реакций каталитического кросс-сочетания

3.2.1.1 Синтез $\text{Et}_3\text{N}\cdot\text{HI}$ и $\text{Et}_2\text{NH}\cdot\text{HI}$

$\text{Et}_3\text{N}\cdot\text{HCl}$ (13,76 г; 0,1 моль) или $\text{Et}_2\text{NH}\cdot\text{HCl}$ (10,96 г; 0,1 моль) и NaI (15,0 г; 0,1 моль) растворяли в 20 мл этанола, после чего полученные растворы смешивали при комнатной температуре. Образовавшийся осадок NaCl отфильтровывали, а оставшийся раствор упаривали. Осадок сушили в течение 4 ч под вакуумом. Выход целевых продуктов был количественным. Спектры ^1H -ЯМР соответствовали ранее описанным [174], чистота продуктов составила более 99%.

3.2.1.2 Синтез $\text{Et}_3\text{N}\cdot\text{HBr}$

В круглодонную колбу с магнитным якорем загружали триэтиламин (1,39 мл, 10,0 ммоль) и при интенсивном перемешивании по капле добавляли водный раствор бромистоводородной кислоты (1,13 мл, 48% масс., $d = 1,49$ г/мл, 10,0 ммоль) для предотвращения закипания смеси. После 1 ч перемешивания при комнатной температуре белый осадок отфильтровывали, промывали дважды холодным диэтиловым эфиром сушили в течение 4 ч под вакуумом. В результате получили 1,0 г (54%) целевого продукта в виде белого порошка. Спектр ^1H -ЯМР продукта соответствовал ранее описанному [175], чистота составила более 99%.

3.2.2 Общий метод получения 1-нитро-4-(фенилэтинил)бензола, 1-нитро-3-((4-нитрофенил)этинил)бензола, 1-((4-метоксфенил)этинил)-3-нитробензола)

Смесь арилгалогенида (3 ммоль), фенилацетилена (3 ммоль), Et_3N (0,304 г, 3 ммоль), Cu_2O (0,06 моль%, 9 мг) и Pd/C (1% масс., 0,06 моль%, 65 мг) перемешивали при 40 °С в ацетонитриле (15 мл) в течение 6 ч. Затем смесь охлаждали до комнатной температуры и добавляли холодную воду (20 мл). Образовавшийся осадок отфильтровывали. Желаемые продукты очищали колоночной хроматографией на силикагеле с элюентом толуол:гексан (1:2). Получили 0,36 г (54%) 1-нитро-4-(фенилэтинил)бензола, 0,41 г (51%) 1-нитро-3-((4-нитрофенил)этинил)бензола, 0,44 г (58%) 1-((4-метоксфенил)этинил)-3-нитробензола в виде желтых кристаллических порошков. Спектры ^1H -ЯМР продуктов соответствовали ранее описанным [176, 177], чистота – более 99%.

3.2.3 Общий метод получения (*E*)-4-нитростильбена, (*E*)-4-хлорстильбена, (*E*)-4-хлор-4'-нитростильбена, (*E*)-4-фтор-4'-нитростильбена, (*E*)-4-метоксистильбена)

Смесь арилгалогенида (3 ммоль), олефина (3 ммоль), Et₃N (0,304 г, 3 ммоль) и Pd/C (1% масс., 0,03 моль%, 32 мг) перемешивали при 140 °С в диметилформамиде (15 мл) в течение 6 ч. Затем смесь охлаждали до комнатной температуры и добавляли холодную воду (20 мл). Образовавшийся осадок отфильтровывали. Желаемые продукты очищали колоночной хроматографией на силикагеле с элюентом толуол:гексан (1:2). Получили 0,53 г (79%) (*E*)-4-нитростильбена, 0,57 г (88%) (*E*)-4-хлорстильбена, 0,63 г (82%) (*E*)-4-хлор-4'-нитростильбена, 0,62 г (85%) (*E*)-4-фтор-4'-нитростильбена, 0,61 г (95%) (*E*)-4-метоксистильбена в виде желтых кристаллических порошков. Спектры ¹H-ЯМР продуктов соответствовали ранее описанным [178-180], чистота – более 99%.

3.2.4 Модельная реакция Мизороки-Хека для исследования цитотоксичности сложных смесей

В пробирку с завинчивающейся крышкой с тefлоновой септой (DURAN Group, Германия), оснащенную магнитным якорем, загружали галогенбензол (1 ммоль), стирол (0,10 г, 1 ммоль), триэтиламин (0,10 г, 1 ммоль), ацетат палладия(II) (2 мг, 0,01 ммоль) и *N*-метилпирролидон (2,09 г, 21 ммоль), в результате чего общий объем реакционной смеси составлял 2,30 мл. Реакционную смесь перемешивали при 140 °С в течение 24 часов, после чего охлаждали до комнатной температуры. Каждую реакцию проводили в 4-9 повторениях.

3.3 Аналитические методы

Спектры ЯМР регистрировали на спектрометре Bruker Fourier 300 HD (Bruker, Германия) при частотах 300,1 МГц для ¹H при комнатной температуре. В качестве внутреннего стандарта использовали остаточный сигнал протиевого растворителя [181]. Спектры ЯМР обрабатывали в программном пакете MestreNova 12.0.0 (Mestrelab Research S.L., Испания).

ГХ-МС измерения производили на газовом хроматографе Agilent 7890A с масс-детектором Agilent 5975C (энергия электронного удара – 70 эВ) и колонкой HP-5MS (30 м×0,25 мм×0,25 мкм) фирмы Agilent Technologies (США). В качестве газа-переносчика (постоянная объемная скорость потока составляла 1 мл·мин⁻¹) использовали гелий.

3.4 Исследование цитотоксичности

Стоковые растворы индивидуальных соединений готовили в сверхчистой деионизированной воде (Milli-Q®; Millipore, США) или диметилсульфоксиде (ДМСО, биохимическая степень чистоты; Servicebio Technology, Китай). Для минимизации вклада токсичности растворителя, стоковые растворы разбавляли культуральной средой минимум в 50 раз.

Автор выражает благодарность д.х.н., в.н.с. Егоровой К.С. и к.б.н., н.с. Посвятенко А.В. за помощь в определении цитотоксичности химических веществ и их смесей.

3.4.1 Культивирование клеточных линий

В работе были использованы следующие свободные от вирусной контаминации и микоплазмы коллекционные клеточные линии человека, предоставленные Институтом цитологии РАН: CaCo-2 (колоректальная аденокарцинома) HEK293T (иммortalизованные клетки почки эмбриона), FRSN (мезенхимные стволовые клетки из крайней плоти), DF-1 (мезенхимные стволовые клетки из кожи век).

Работу с клеточными культурами проводили в соответствии со стандартными протоколами и соблюдением стерильных условий в ламинарном боксе БМБ-II-«Ламинар-С»-1,2 NEOTERIC (ЗАО «Ламинарные системы», Россия). Клетки культивировали в полистироловых апиrogenных чашках Петри с обработанной поверхностью (Corning, США, или Eppendorf, Германия) в среде DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium; Gibco, Thermo Fisher Scientific, США; HEK293T и CaCo-2); DMEM/F-12 1:1 (Dulbecco's Modified Eagle Medium/Nutrient Mixture F-12; Gibco, Thermo Fisher Scientific, США; FRSN и DF-1) с добавлением 10% (HEK293T, FRSN, DF-1) или 15% (CaCo-2) эмбриональной бычьей сыворотки (FBS, Gibco, Thermo Fisher Scientific, США) и 100 ед.·л⁻¹ пенициллина и стрептомицина (Gibco, Thermo Fisher Scientific, США) в инкубаторе Binder CB 53 (BINDER, Германия) при температуре 37 °C, концентрации CO₂ 5% и влажности 95%. Пассаж клеток проводили с интервалом 3–4 суток (CaCo-2, HEK293T) или 4–6 суток (FRSN, DF-1): клетки промывали фосфатно-солевым буфером (PBS; Sigma-Aldrich, Германия), затем инкубировали с предварительно подогретым до 37°C раствором трипсина-ЭДТА (Gibco, Thermo Fisher Scientific, США) в течение 3 мин при 37°C (0,25% для CaCo-2, FRSN, DF-1; 0,05% для HEK293T). Подсчет клеток проводился на автоматическом счетчике клеток LUNA-II™ с одноразовыми предметными стеклами (Logos Biosystems, Aligned Genetics, Республика Корея) при окрашивании трипановым синим (Gibco, Thermo Fisher Scientific, США) для оценки жизнеспособности клеток.

3.4.2 Колориметрический тест для оценки метаболической активности клеток – MTS

Цитотоксичность веществ и смесей исследовали методом MTS [182]. Перед экспериментом клетки рассаживали в стерильные полистироловые 96-луночные микропланшеты с плоским обработанным дном (Corning, США или Wuxi NEST Biotechnology, Китай), по 10000 (HEK293T), 8000 (FRSN, DF-1) или 6000 (CaCo-2) клеток в 100 мкл культуральной среды на лунку. Крайние лунки заполняли 200 мкл деионизированной воды, чтобы компенсировать эффекты испарения. Перед экспериментом клетки культивировали до 70% монослоя (46-48 ч для HEK293T, FRSN и DF-1, 64-66 ч для CaCo-2), после чего инкубировали с концентрационными градиентами исследуемых веществ или их смесей в течение 24 ч. Такие же концентрационные градиенты веществ или их смесей вносили в пустые лунки на том же планшете, чтобы учесть возможное воздействие веществ на оптическую плотность. Для каждого вещества/смеси проводили не менее трех независимых экспериментов. 1% раствор Triton X-100TM (Sigma-Aldrich, США) в культуральной среде и чистую культуральную среду использовали в качестве положительного и отрицательного контроля, соответственно. После инкубации в лунки добавляли 20 мкл реагента MTS (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-5-(3-карбоксиметоксифенил)-2-(4-сульфофенил)-2H-тетразолий, CellTiter[®] 96 Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay, Promega, США) и инкубировали клетки еще 4 часа. Оптическую плотность измеряли при 492 и 650 нм на спектрофотометре Multiskan GOTM (Thermo Fisher Scientific, США); разницу между полученными значениями использовали в последующих расчетах, чтобы вычесть фоновое поглощение.

В случаях, когда низкая растворимость отдельных веществ в водных культуральных средах затрудняла установление соответствующего градиента концентраций для оценки цитотоксичности, ее определяли на основе максимальной концентрации данного вещества, при которой не наблюдалось подавления жизнеспособности клеток. Такой подход позволял избежать недооценки вклада этих соединений в токсичность смеси, даже если точное значение CC_{50} не могло быть измерено с достаточной точностью.

3.4.3 Обработка данных и статистический анализ

Расчеты 24-часовых полумаксимальных цитотоксических концентраций (24-ч CC_{50}) проводили в программе Prism 8 (GraphPad, США) с использованием нелинейных регрессионных моделей типа $\log(\text{inhibitor})$ vs. response. Статистический анализ проводили в программе Microsoft Excel 2013 (Microsoft, США).

Использовали двусторонний t-тест для независимых выборок с неодинаковыми дисперсиями со статистической значимостью при $p < 0,05$; 95 % доверительные интервалы рассчитывали по t-распределению Стьюдента.

3.4.4 Построение биофильей химических реакций и расчет цитотоксических потенциалов

Обработка данных и расчеты могут быть выполнены с использованием программного обеспечения, такого как Microsoft Excel (Microsoft, США), OriginPro (OriginLab Corporation, США) или LibreOffice (The Document Foundation, Германия). В данной работе построение биострипов и расчеты цитотоксических потенциалов проводились с использованием специальных скриптов на языке Python, разработанных совместно с коллегами из Лаборатории металлокомплексных и наноразмерных катализаторов № 30 ИОХ РАН [183] вне рамок данного исследования, а построение токсикограмм – с использованием Microsoft Excel (Microsoft, США). Обработка биострипов и токсикограмм может быть выполнена в соответствующем графическом программном обеспечении, включая Adobe Illustrator (Adobe Systems, США), CorelDRAW (Corel Corporation, Канада) или ChemDraw Professional (PerkinElmer Informatics, США).

3.4.5 Подготовка смесей для исследований цитотоксичности

Для исследований цитотоксичности смесей в стерильные пластиковые пробирки объемом 1,5 мл (SSI Bio, США) добавляли соединения в соответствующем мольном соотношении и разводили культуральной средой до конечного объема 1300 мкл. В случаях, когда требовалось введение очень малых количеств вещества (например, ацетата палладия(II)), использовали его стоковый раствор в *N*-метилпирролидоне.

Для анализа реальных реакционных смесей реакции Мизороки–Хека аликвоту объемом 100 мкл (при использовании йодбензола в качестве исходного соединения) или 200 мкл (при использовании бромбензола) переносили из реакционной пробирки в пластиковые пробирки объемом 1,5 мл (SSI Bio, США) и разводили культуральной средой до конечного объема 1300 мкл.

3.4.6 Математические модели, используемые для предсказания и оценки цитотоксичности смесей

Для смеси, состоящей из n компонентов, суммарная токсичность может быть выражена следующим уравнением:

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

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 действия смеси (синергизм, аддитивность или антагонизм) использовался коэффициент отклонения модели (MDR, см. Уравнение (32)).

$$MDR = \frac{\text{Расчетное}}{\text{Экспериментальное}} = \frac{CC_{50,mix}(CA)}{CC_{50,exp}} \quad (32),$$

где $CC_{50,mix}(CA)$ – прогнозируемая по модели аддитивности доз и концентраций (CA) полумаксимальная цитотоксическая концентрация смеси, а $CC_{50,exp}$ – экспериментально определенное значение этой концентрации.

Критерии интерпретации MDR следующие:

- $MDR \leq 0,50$ – антагонизм,
- $0,50 < MDR < 2,00$ – аддитивность,
- $MDR \geq 2,00$ – синергизм.

4. Обсуждение результатов

В предыдущих разделах диссертационной работы были подробно рассмотрены современные подходы к оценке экологической безопасности химических веществ и процессов, а также проанализированы ключевые концепции «зеленой» химии. Показано, что несмотря на накопленный массив экспериментальных данных, существующие методы в значительной степени ограничены анализом индивидуальных соединений и не учитывают синергетические, антагонистические или аддитивные взаимодействия, неизбежно возникающие в многокомпонентных реакционных системах.

В рамках настоящего исследования для оценки экологической безопасности был целенаправленно выбран ряд классических модельных реакций каталитического кросс-сочетания, включающих наиболее типичные комбинации исходных веществ, растворителей, катализаторов и оснований, применяемые как в лабораторной практике, так и в промышленных процессах. Такой подход позволяет выйти за пределы анализа отдельных «зеленых» реакций, формально считающихся безопасными, и сосредоточиться на разработке более универсальной методологии визуализации и оценки токсикологического профиля химических процессов.

4.1 Использование биострипов в оценке безопасности реакций каталитического кросс-сочетания

Прежде всего, кратко изложим принципы построения биострипов для оценки безопасности химических реакций. Концепция «токсикологических профилей» (tox-Profiles) химических реакций была впервые предложена нашей исследовательской группой в 2020 году (см. п. 2.2.4 Токсикологические профили химических реакций в Литературном обзоре). С тех пор данный подход претерпел значительное развитие. Автор принимал участие в тестировании и совершенствовании онлайн-сервиса «Build-a-bio-Strip» [183], созданного вне рамок данного диссертационного исследования и направленного на автоматизацию построения биострипов и расчета цитотоксических потенциалов химических реакций на основе как имеющихся экспериментальных данных по токсичности, так и предсказанных значениях LD₅₀ (перорально, крысы) с помощью модели LDToxDB [184].

В своем настоящем виде биострипы [79] представляют собой графическую визуализацию химической реакции, основанную на цитотоксичности всех компонентов реакции, проявляемой в отношении конкретной клеточной линии. Основная идея заключается в оценке общего токсикологического воздействия за счет варьирования компонентов одной и той же реакции при сохранении неизменным целевого продукта.

В каждом биострипе длина отдельных секций пропорциональна «нормализованной цитотоксичности» (NC; см. Уравнение (27)) соответствующих компонентов: исходных веществ, катализаторов, дополнительных реагентов, растворителей, целевого продукта и побочных продуктов (см. Рисунок 5), 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 всего биострипа.

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 [185], 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 [186], 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 [187], что имеет важное значение при оценке рисков перорального воздействия (например, случайное проглатывание химических веществ).

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 со шкалой цитотоксичности, размещенной под биострипами и обозначенны цветом в соответствии с процентильным распределением значений CC_{50} .

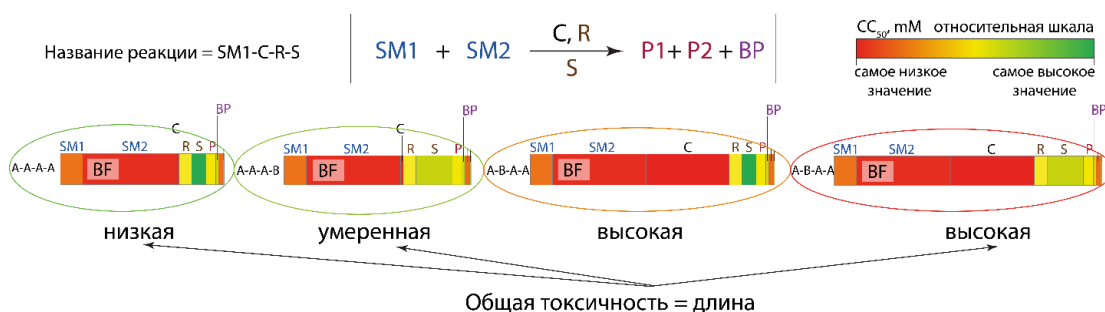


Рисунок 5. Принципиальная схема биострипа. Адаптировано из [79].

В данной работе биострипы были использованы для оценки экологической безопасности распространенных каталитических реакций Соногаширы и Мизороки–Хека с точки зрения цитотоксичности их компонентов. Результаты, обсуждаемые в данном разделе, представлены в списке основных публикаций по теме диссертации [S1, S5].

В частности, были рассмотрены пути синтеза десяти целевых соединений (см. Схему 16):

1. дифенилацетилен;
2. 1-нитро-4-(фенилэтинил)бензол;
3. 1-нитро-3-((4-нитрофенил)этинил)бензол;
4. 1-((4-метоксифенил)этинил)-3-нитробензол;
5. (*E*)-стильбен;
6. (*E*)-4-нитростильбен;
7. (*E*)-4-хлористильбен;
8. (*E*)-4-хлоро-4'-нитростильбен;
9. (*E*)-4-фторо-4'-нитростильбен;
10. (*E*)-4-метоксистильбен.

Всего было проанализировано 864 индивидуальных реакции и 2592 биострипов, дополненных цитотоксическим потенциалом СР. В этих реакциях варьировались следующие компоненты:

1. исходные вещества (SM1, SM2);
2. катализаторы (CT1, CT2);
3. основания (R);
4. растворители (S).

Для всех веществ были определены их 24-часовые полумаксимальные цитотоксические концентрации (24-ч CC_{50}) на трех клеточных линиях человека различного происхождения: СаСо-2 (колоректальная аденокарцинома), FRSN (мезенхимальные стволовые клетки из крайней плоти) и НЕК293Т (эмбриональная почка). Точные данные (количества в реакции и значения 24-ч CC_{50}), использованные для построения биострипов, представлены в Приложении 1.

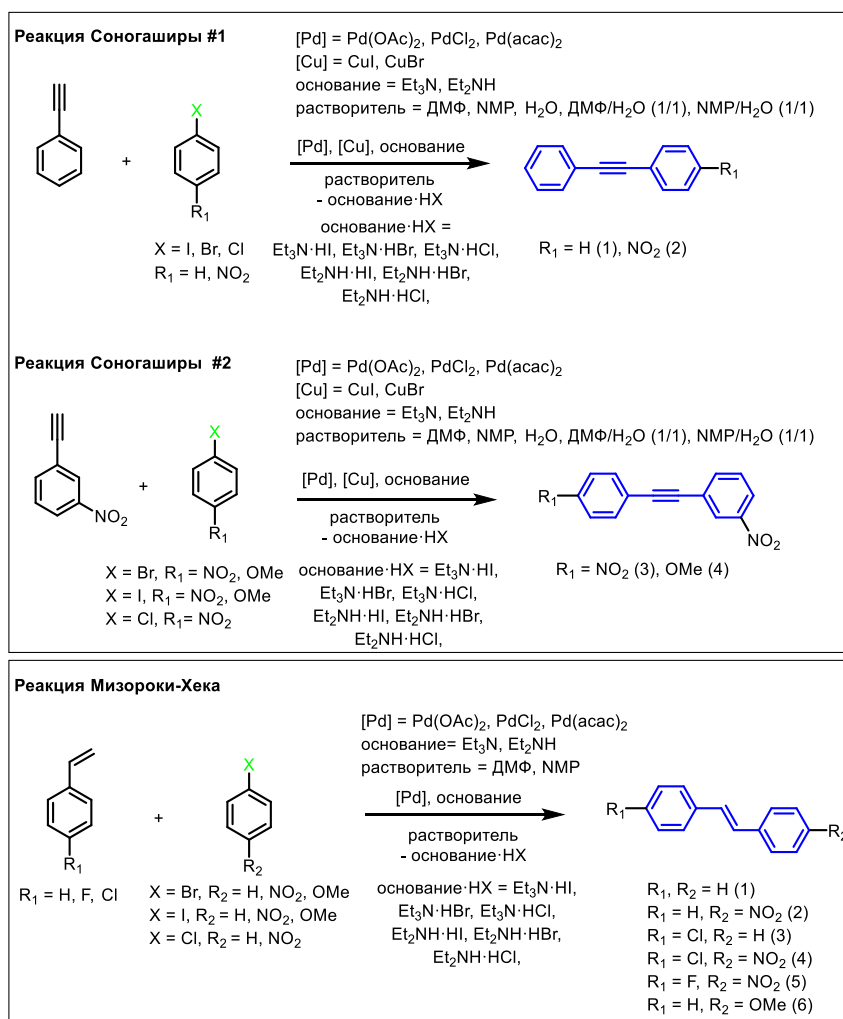


Схема 16. Реакции Соногаширы и Мизороки-Хека, изучаемые в данной работе.

4.1.1 Реакция Соногаширы

Как упоминалось выше, были проанализированы различные комбинации реагентов для получения дифенилацетилена; 1-нитро-4-(фенилэтинил)бензола; 1-нитро-3-((4-нитрофенил)этинил)бензола и 1-((4-метоксифенил)этинил)-3-нитробензола с помощью реакции Соногаширы. Во всех этих реакциях использовали одни и те же общие вещества:

1. катализатор 1 (СТ1: ацетат палладия (II), $Pd(OAc)_2$ (А); хлорид палладия (II), $PdCl_2$ (В) или ацетилацетонат палладия (II), $Pd(acac)_2$ (С));
2. катализатор 2 (СТ2: хлорид меди (I), CuI (А) или бромид меди (I), $CuBr$ (В));
3. основание (R: триэтиламин, Et_3N (А) или диэтиламин, Et_2NH (В));
4. растворитель (S: диметилформамид, ДМФ (А), *N*-метилпирролидон, НМП (В), вода, H_2O (С), смесь диметилформамида и воды, ДМФ/ H_2O (1/1 (об./об.), D), смесь *N*-метилпирролидона и воды НМП/ H_2O (1/1 (об./об.), E)).

Таким образом, реакции отличаются только исходными соединениями. В случае дифенилацетилен в качестве исходного соединения 1 (SM1) использовался фенилацетилен, тогда как в качестве исходного вещества 2 (SM2) использовался йодбензол (А), бромбензол (В) или хлорбензол (С).

В случае 1-нитро-4-(фенилэтинил)бензола в качестве SM1 использовался фенилацетилен, а в качестве SM2 использовался 1-йод-4-нитробензол (А), 1-бром-4-нитробензол (В) или 1-хлор-4-нитробензол (С).

В случае 1-нитро-3-((4-нитрофенил)этинил)бензола в качестве SM1 использовался 1-этинил-3-нитробензол, а в качестве SM2 – 1-йод-4-нитробензол (А), 1-бром-4-нитробензол (В) или 1-хлор-4-нитробензол (С). В случае 1-((4-метоксифенил)этинил)-3-нитробензола в качестве SM1 использовался 1-этинил-3-нитробензол, а в качестве SM2 – 1-йод-4-метоксибензол (А) или 1-бром-4-метоксибензол (В).

Рассчитанные СР для реакций подробно приведены в дополнительных материалах к работе [S1]. Наиболее экологически безопасные синтетические пути, о чем свидетельствуют самые низкие СР, показаны на Рисунке 6 (дифенилацетилен (продукт 1), 1-нитро-4-(фенилэтинил)бензол (продукт 2)) и Рисунке 7 (1-нитро-3-((4-нитрофенил)этинил)бензол (продукт 3), 1-((4-метоксифенил)этинил)-3-нитробензол (продукт 4)). На этих рисунках представлены биострипы, соответствующие реакциям с пятью самыми низкими $СР_i$, $СР_f$ и $СР_{f_rel}$. Поскольку для каждого продукта рассматривается 180 (120 для 1-((4-метоксифенил)этинил)-3-нитробензола) синтетических путей в трех клеточных линиях, биострипы для всех реакций не показаны, поскольку такие рисунки были бы слишком перегружены и неинформативны.

Проведенный анализ биострипов и СР показал, что следующие реагенты являются предпочтительными с точки зрения «общей цитотоксичности» во всех рассматриваемых реакциях Соногаширы:

1. катализатор 1 – $Pd(OAc)_2$ (А) или $PdCl_2$ (В);
2. катализатор 2 – CuI (А) или $CuBr$ (В);
3. основание – Et_3N (А);
4. растворитель – вода (С).

Проанализировав значения СР на трех клеточных линиях, можно утверждать, что $\text{Pd}(\text{acac})_2$ в качестве катализатора 1 и Et_2NH в качестве основания вносят значительный вклад в «общую цитотоксичность» реакции. Неудивительно, что вода оказалась предпочтительным растворителем, поскольку ее расчетная 24-ч CC_{50} составила >11 М и была почти на два порядка выше, чем у НМП для всех протестированных клеточных линий. Тем не менее, токсический эффект при использовании 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 следует учитывать следующие наблюдения:

1. При синтезе дифенилацетилена в качестве SM2 следует использовать бромбензол (В) или хлорбензол (С) (см. Рисунок 6 (продукт 1));
2. При синтезе 1-нитро-4-(фенилэтинил)бензола и 1-нитро-3-((4-нитрофенил)этинил)бензола предпочтительным является 1-йод-4-нитробензол (А) или 1-хлор-4-нитробензол (С), но вклад 1-бром-4-нитробензола (В) в «общую цитотоксичность» реакции также не очень высок (см. Рисунок 6 (продукт 2) и Рисунок 7 (продукт 3));
3. При синтезе 1-((4-метоксифенил)этинил)-3-нитробензола в качестве SM2 можно использовать как 1-йод-4-метоксибензол (А), так и 1-бром-4-метоксибензол (В), хотя А может быть предпочтительнее с точки зрения его более низкой цитотоксичности (см. Рисунок 7 (продукт 4)).

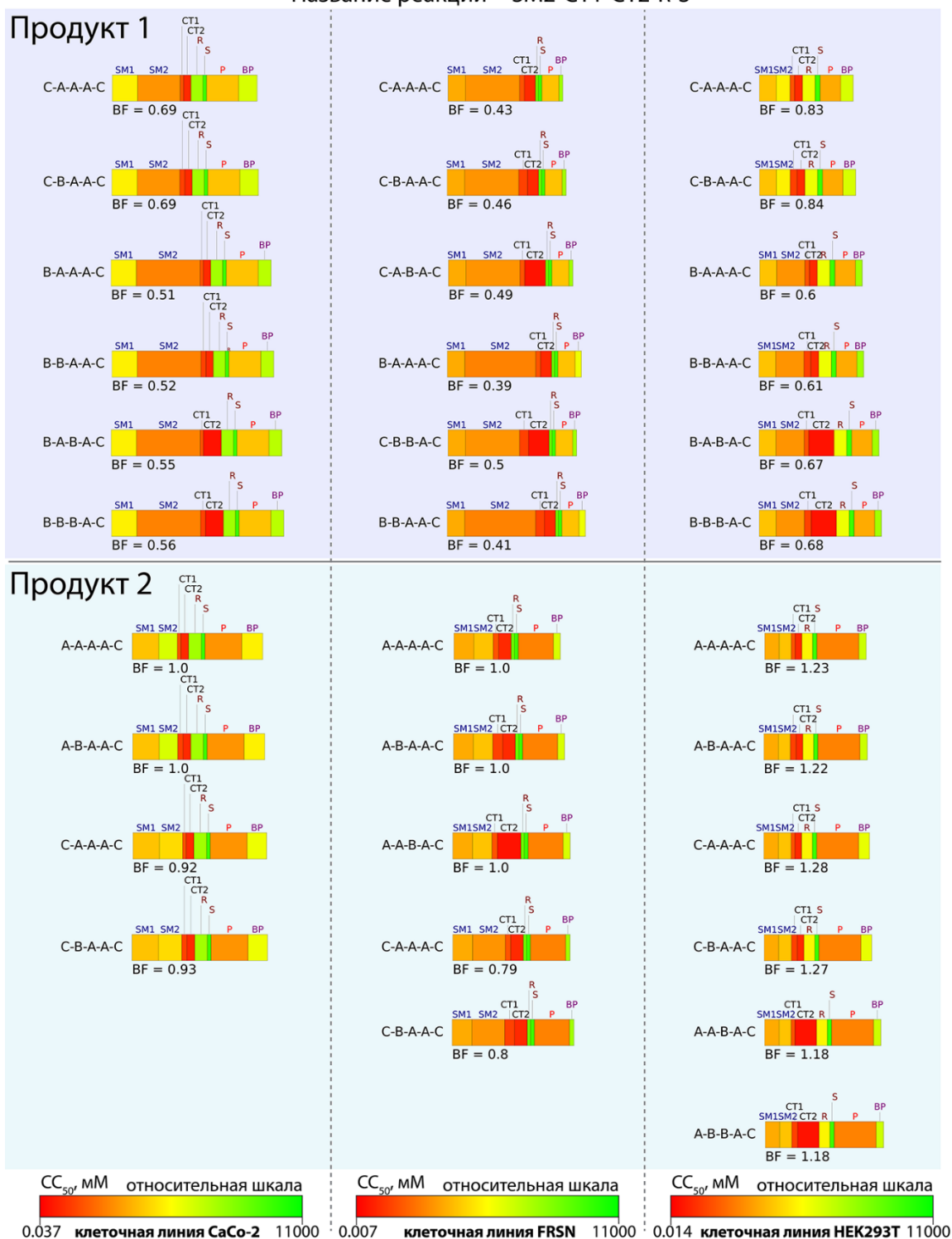


Рисунок 6. Биострипы для наиболее экологически безопасных путей синтеза дифенилацетилена (продукт 1) и 1-нитро-4-(фенилэтинил)бензола (продукт 2) по реакции Соногаширы в соответствии с цитотоксичностью компонентов, измеренной на клеточных линиях CaCo-2, FR5N и HEK293T.

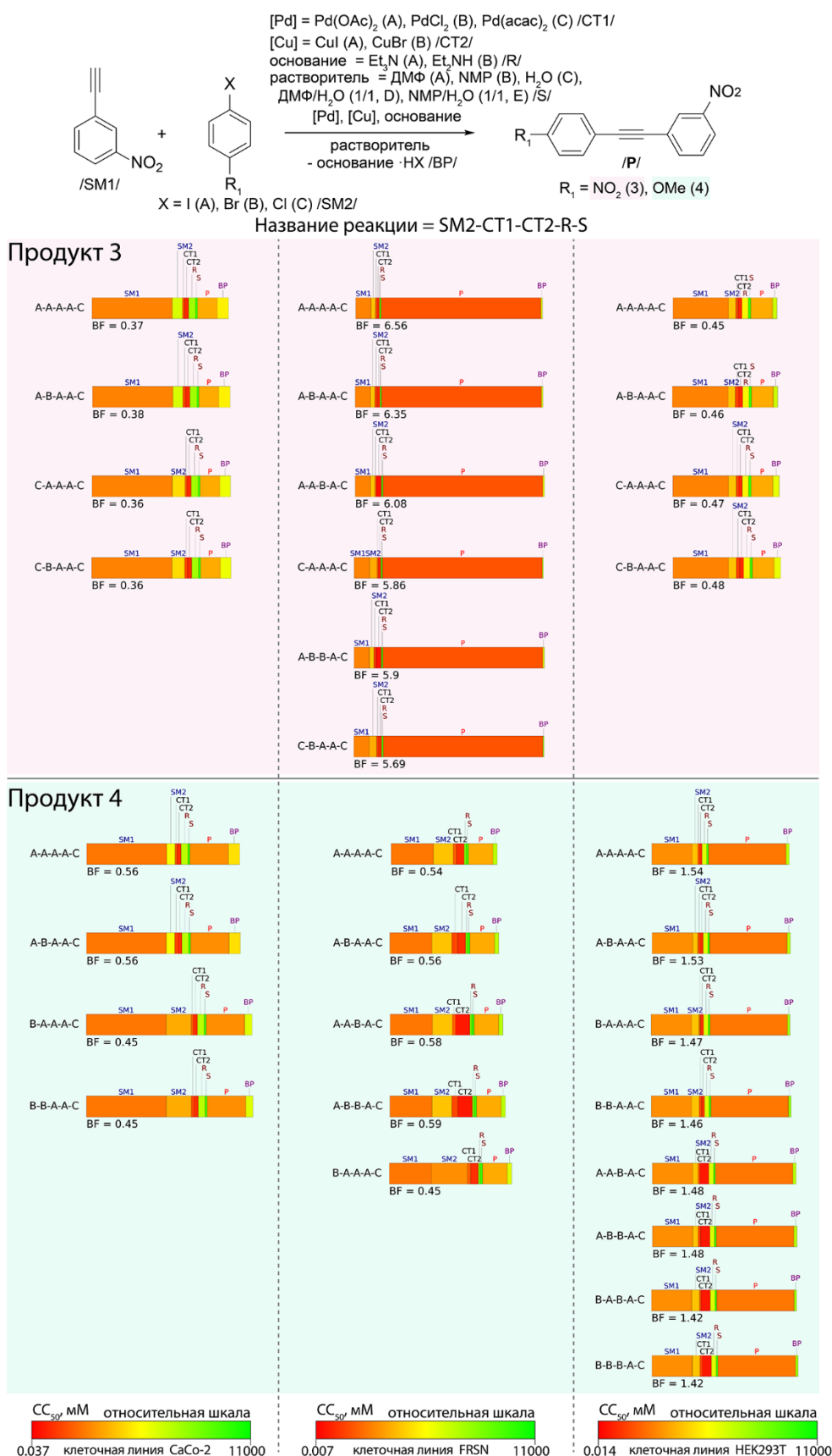


Рисунок 7. Биострипы для наиболее экологически безопасных путей синтеза 1-нитро-3-((4-нитрофенил)этинил)бензола (продукт 3) и 1-((4-метоксифенил)этинил)-3-нитробензола (продукт 4) по реакции Соногаширы в соответствии с цитотоксичностью компонентов, измеренной на клеточных линиях CaCo-2, FRSN и HEK293T.

4.1.2 Реакция Мизороки–Хека

В этой работе были рассмотрены синтетические пути получения следующих продуктов по реакции Мизороки–Хека: (*E*)-стильбена, (*E*)-4-нитростильбена, (*E*)-4-хлорстильбена, (*E*)-4-хлор-4'-нитростильбена, (*E*)-4-фтор-4'-нитростильбена и (*E*)-4-метоксистильбена.

В этих реакциях используются одни и те же общие вещества:

1. катализатор (СТ: $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (А), PdCl_2 (В) или $\text{Pd}(\text{acac})_2$ (С));
2. основание (R: Et_3N (А) или Et_2NH (В));
3. растворитель (S: ДМФ (А) или НМП (В)).

Подобно обсуждаемым выше реакциям Соногаширы, синтетические пути отличаются только с точки зрения используемых исходных соединений. В случае (*E*)-стильбена в качестве SM1 используется стирол, а в качестве SM2 – йодбензол (А), бромбензол (В) или хлорбензол (С). В случае (*E*)-4-нитростильбена в качестве SM1 используется стирол, а в качестве SM2 – 1-йод-4-нитробензол (А), 1-бром-4-нитробензол (В) или 1-хлор-4-нитробензол (С). В случае (*E*)-4-хлорстильбена в качестве SM1 используется 4-хлорстирол, а в качестве SM2 – йодбензол (А), бромбензол (В) или хлорбензол (С). В случае (*E*)-4-хлор-4'-нитростильбена в качестве SM1 использовался 4-хлорстирол, а в качестве SM2 – 1-йод-4-нитробензол (А), 1-бром-4-нитробензол (В) или 1-хлор-4-нитробензол (С). В случае (*E*)-4-фтор-4'-нитростильбена в качестве SM1 использовался 4-фторстирол, а в качестве SM2 – 1-йод-4-нитробензол (А), 1-бром-4-нитробензол (В) или 1-хлор-4-нитробензол (С). В случае (*E*)-4-метоксистильбена в качестве SM1 использовался стирол, а в качестве SM2 – 1-йод-4-метоксибензол (А) или 1-бром-4-метоксибензол (В).

Рассчитанные СР для реакций подробно приведены в дополнительных материалах к работе [S1]. Наиболее перспективные синтетические пути, о чем свидетельствуют самые низкие СР, показаны на Рисунке 8 ((*E*)-стильбен (продукт 1), (*E*)-4-нитростильбен (продукт 2), (*E*)-4-хлорстильбен (продукт 3), (*E*)-4-хлор-4'-нитростильбен (продукт 4), (*E*)-4-фтор-4'-нитростильбен (продукт 5) и (*E*)-4-метоксистильбен (продукт 6)).

Поскольку в изученных реакциях Соногаширы и Мизороки-Хека варьируются одни и те же компоненты, справедливы те же соображения о влиянии этих компонентов на «общую цитотоксичность» реакций, и те же самые компоненты реакции кажутся предпочтительными (за исключением растворителя, поскольку в этом случае анализируются только ДМФ и НМП):

- катализатор - $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (А) или PdCl_2 (В);
- основание - Et_3N (А);
- растворитель - НМП (В).

При выборе исходных соединений следует учитывать следующее:

- при синтезе (*E*)-стильбена и (*E*)-4-хлорстильбена бромбензол (В) или хлорбензол (С) кажутся предпочтительнее SM2, хотя допустимо использовать и йодбензол (А) (см. Рисунок 8 (продукты 1 и 3));
- при синтезе (*E*)-4-нитростильбена, (*E*)-4-хлор-4'-нитростильбена и (*E*)-4-фтор-4'-нитростильбена предпочтительным является 1-йод-4-нитробензол (А) или 1-хлор-4-нитробензол (С), но также может быть выбран 1-бром-4-нитробензол (В) (см. Рисунок 8 (продукты 2, 4 и 5));
- при синтезе (*E*)-4-метоксистильбена в качестве SM2 можно использовать как 1-йод-4-метоксибензол (А), так и 1-бром-4-метоксибензол (В), хотя (А) представляется более предпочтительным из-за его более низкой цитотоксичности (см. Рисунок 8 (продукт 6)).

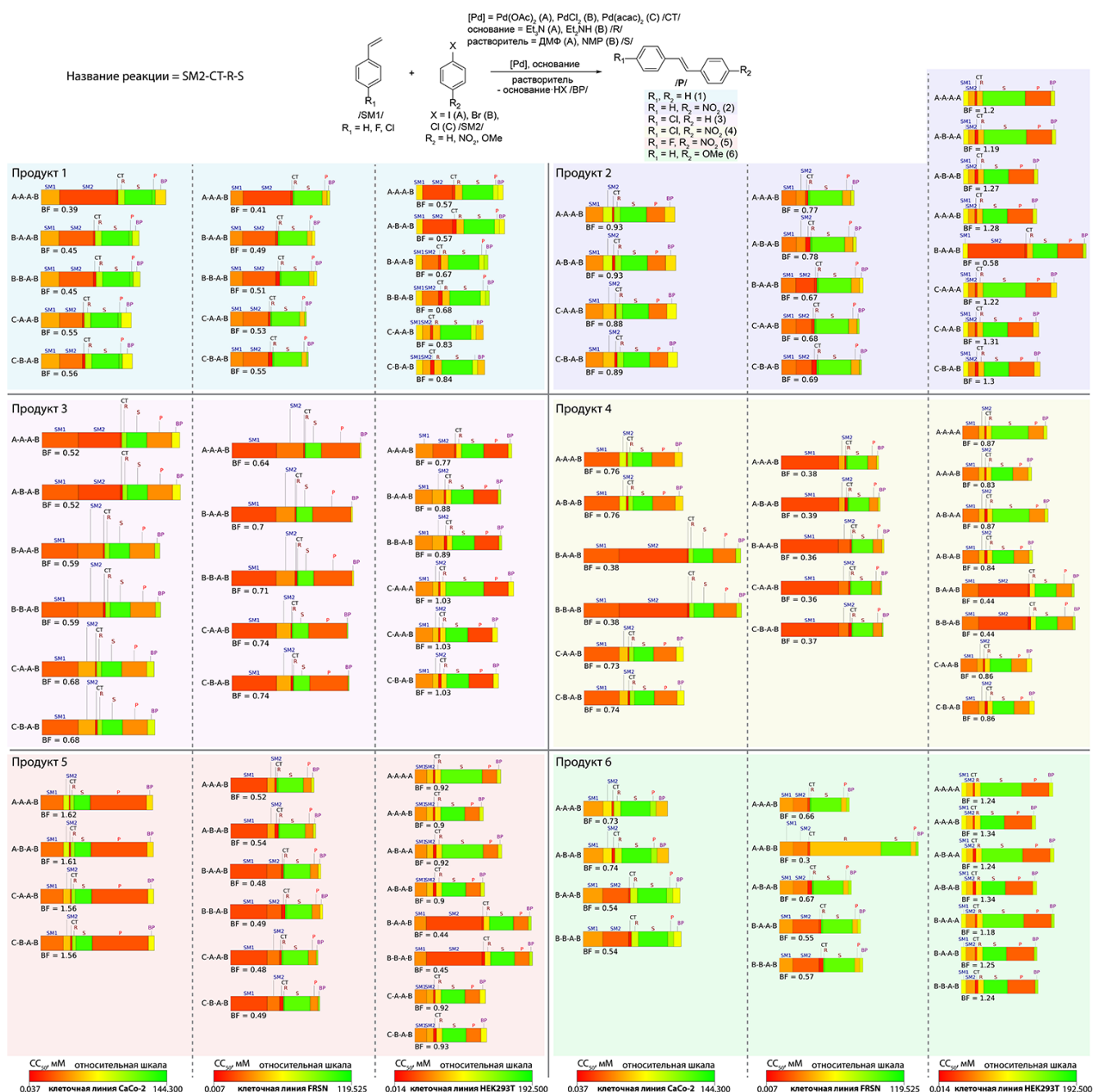


Рисунок 8. Биострипы для наиболее экологически безопасных путей синтеза (*E*)-стильбена (продукт 1), (*E*)-4-нитrostильбена (продукт 2), (*E*)-4-хлорстильбена (продукт 3), (*E*)-4-хлор-4'-нитrostильбена (продукт 4), (*E*)-4-фтор-4'-нитrostильбена (продукт 5) и (*E*)-4-метоксистильбена (продукт 6) по реакции Мизороки-Хека в соответствии с цитотоксичностью компонентов, измеренной на клеточных линиях CaCo-2, FRSN и HEK293T.

В заключение, с точки зрения вклада тестируемых химических веществ в «общую цитотоксичность» рассматриваемых синтетических путей можно дать следующие общие рекомендации. При выборе реакционных соединений следует в первую очередь обратить внимание на выбор катализаторов и растворителей. Рассматриваемые в данной работе распространенные палладиевые и медные катализаторы существенно влияют на общую цитотоксичность данной реакции из-за их высокой цитотоксичности во всех клеточных линиях. В этом случае токсический эффект перевешивает тот факт, что в реакциях используются низкие количества этих веществ. Это наблюдение согласуется с более ранними представлениями об экологической опасности катализаторов на основе металлов [188]. Для растворителя наблюдается противоположное: в какой-то момент количество химического вещества в реакции становится фактором, определяющим его NC , даже для веществ с умеренной цитотоксичностью, особенно когда разные варианты демонстрируют заметно отличающиеся значения CC_{50} . Неудивительно, что вода является лучшим выбором из-за ее очень низкой (хотя и не нулевой) цитотоксичности по сравнению с распространенными органическими растворителями.

4.1.3 Влияние соотношения Pd:Cu и степени конверсии на цитотоксические потенциалы в реакции Соногаширы

В рассматриваемых реакциях Соногаширы используются бикаталитические системы, состоящие из солей палладия и меди. Поскольку соединения палладия и меди обладают высокой цитотоксичностью, но тем не менее различаются по своей цитотоксичности по отношению к изучаемым линиям клеток, изменение соотношения этих катализаторов может повлиять на потенциал токсичности реакции. Результаты, обсуждаемые в данном разделе, представлены в списке основных публикаций по теме диссертации [S1, S5].

Примечательно, что в синтетической химии наблюдается тенденция к снижению содержания меди, что предполагает «более экологичные» протоколы Соногаширы (см. Раздел 2.3 «Зеленые» тренды в реакциях каталитического кросс-сочетания). Поэтому мы проанализировали влияние молярного соотношения Pd:Cu в диапазоне от 0:0,02 до 0,02:0 на цитотоксические потенциалы в реакции Соногаширы. Это влияние оценивалось в течение всего периода реакции, от начала (при 0% конверсии) до конца (при 100% конверсии). Таким образом, 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 ДМФ 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, мы можем использовать 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 (33)):

$$dCP(x,y) = \frac{\partial CP(x,y)}{\partial x} dx + \frac{\partial CP(x,y)}{\partial y} dy \quad (33)$$

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}). Здесь x соответствует молярному соотношению Pd:Cu в реакции, а y – степени конверсии. Уравнения для плоскостей, образующих двумерное пространство зависимости потенциала цитотоксичности от молярного соотношения Pd:Cu и конверсии реакции, приведены в Таблице 6.

Таблица 6. Зависимость CP_i , CP_f и CP_{f_rel} от молярного соотношения Pd:Cu и конверсии реакции на примере синтеза дифенилацетилена.

Параметр	Функция	Дифференциал функции
CaCo-2		
CP_i	$CP_i(x,y) = -1.12173x + 0.00000y + 1.06613$	$d(CP_i) = -1.12173dx + 0.00000dy$
CP_f	$CP_f(x,y) = -1.12173x - 0.00159y + 1.06613$	$d(CP_f) = -1.12173dx - 0.00159dy$
CP_{f_rel}	$CP_{f_rel}(x,y) = -1.12173x - 0.00250y + 1.06613$	$d(CP_{f_rel}) = -1.12173dx - 0.00250dy$
FRSN		
CP_i	$CP_i(x,y) = -1.85921x + 0.00000y + 1.09291$	$d(CP_i) = -1.85921dx + 0.00000dy$
CP_f	$CP_f(x,y) = -1.85921x - 0.00199y + 1.09291$	$d(CP_f) = -1.85921dx - 0.00199dy$
CP_{f_rel}	$CP_{f_rel}(x,y) = -1.85921x - 0.00249y + 1.09291$	$d(CP_{f_rel}) = -1.85921dx - 0.00249dy$
HEK293T		
CP_i	$CP_i(x,y) = -0.69199x + 0.00000y + 0.33524$	$d(CP_i) = -0.69199dx + 0.00000dy$
CP_f	$CP_f(x,y) = -0.69199x - 0.00062y + 0.33524$	$d(CP_f) = -0.69199dx - 0.00062dy$
CP_{f_rel}	$CP_{f_rel}(x,y) = -0.69199x - 0.00103y + 0.33524$	$d(CP_{f_rel}) = -0.69199dx - 0.00103dy$

Визуальная зависимость CP_f и CP_{f_rel} от соотношения Pd:Cu и от конверсии показана на Рисунке 9. Очевидно, что конверсия не оказала влияния на CP_i ни в одной из клеточных линий (коэффициент при dy был равен 0), тогда как увеличение молярного соотношения Pd:Cu привело к снижению CP_i с коэффициентом наклона -1,12173 для клеток CaCo-2, -1,85921 для клеток FRSN и -0,69199 для клеток HEK293T. Для CP_f и CP_{f_rel} наблюдались обратные корреляции с молярным соотношением Pd:Cu и конверсией для всех клеточных линий. Для всех CP наблюдались следующие коэффициенты dx (то есть молярного соотношения Pd:Cu): -1,12173, -1,85921 и -0,69199 (для клеток CaCo-2, FRSN и HEK293T соответственно). Соотношение этих коэффициентов равно 1,6:2,7:1. Таким образом, цитотоксические потенциалы, измеренные в линиях клеток CaCo-2 и FRSN, соответственно, в 1,6 и 2,7 раза более чувствительны к молярному соотношению Pd:Cu, чем измеренные в линии клеток HEK293T. Тем не менее, для всех клеточных линий более высокие соотношения Pd привели к более низким значениям CP.

В случае конверсии соответствующие коэффициенты dy для CP_f равны -0,00159, 0,00199 и 0,00062 для клеток CaCo-2, FRSN и HEK293T, соответственно. Их соотношение равно 2,6:3,2:1, что делает CP_f , измеренный в линиях клеток CaCo-2 и FRSN, в 2,6 и 3,2 раза более чувствительным к конверсии, чем измеренный в линии клеток HEK293T. Для CP_{f_rel} коэффициенты dy составили -0,00250, -0,00249 и -0,00103 для клеток CaCo-2, FRSN и HEK293T соответственно, а их соотношение составило 2,4:2,4:1. Таким образом, CP_{f_rel} , измеренный в линиях клеток CaCo-2 и FRSN, в 2,4 раза более чувствителен к конверсии, чем измеренный в линии клеток HEK293T.

Подводя итог, можно сказать, что 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} также обратно коррелировали со степенью конверсии. Примечательно, что CP, рассчитанные для HEK293T, были более устойчивы к изменениям молярного соотношения Pd:Cu и степени конверсии.

Предложенный подход позволяет проводить однозначные и количественные сравнения биологических объектов (в данном случае клеточных культур) по их реакции на непрерывно меняющиеся условия в реакционных системах. Результаты таких сравнений могут быть представлены как в виде строгих математических функций (Таблица 6), так и в виде графиков, наглядно отображающих установленные зависимости (Рисунок 9).

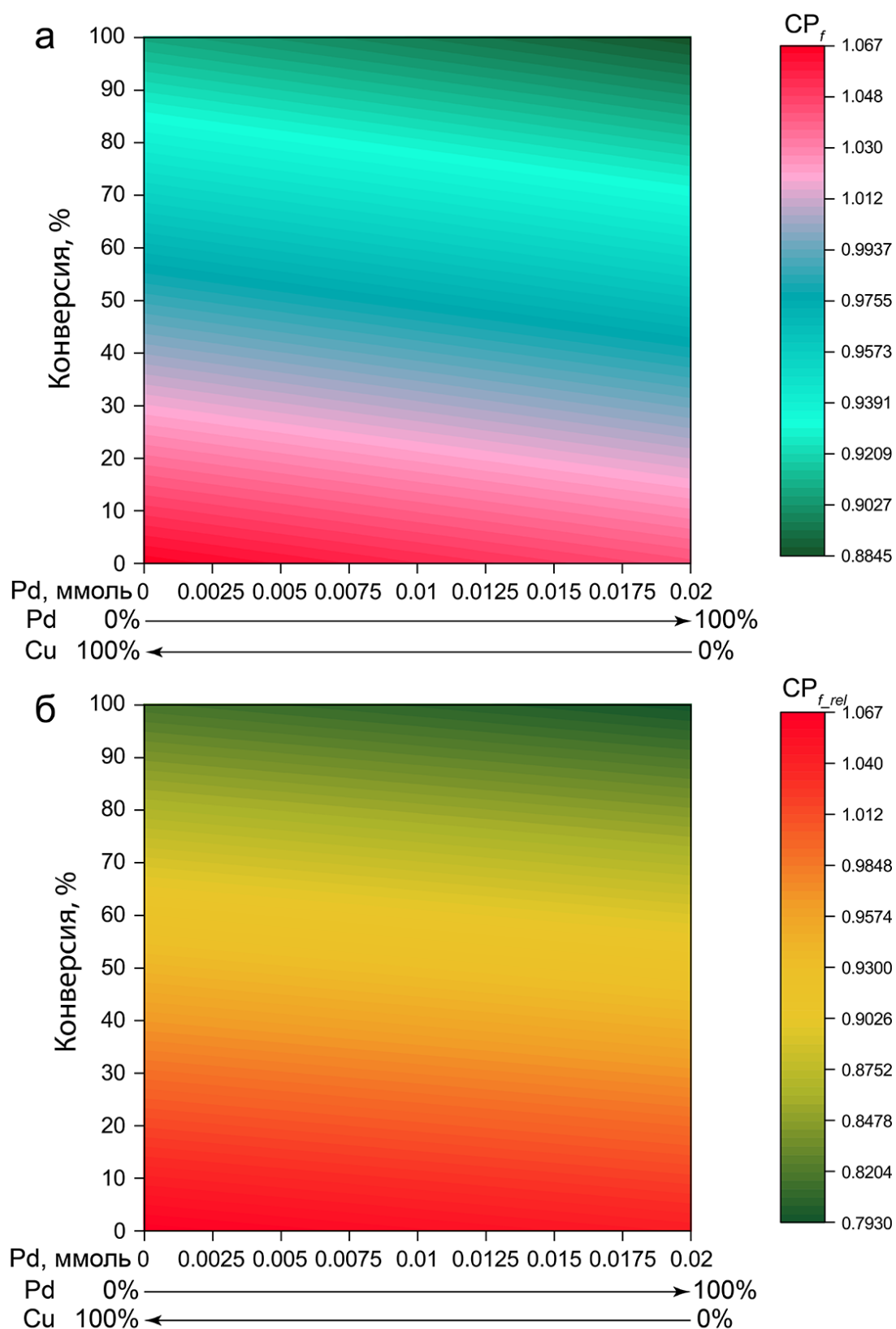


Рисунок 9. Зависимость (а) CP_f и (б) $CP_{f,rel}$ от соотношения Pd:Cu и конверсии на примере синтеза дифенилацетилена из фенилацетилена и бромбензола с использованием $Pd(OAc)_2$ и CuI в качестве катализаторов, Et_3N в качестве основания и ДМФ в качестве растворителя, рассчитанные для CaCo-2. Цветовая легенда приведена справа. Ось x показывает содержание Pd в реакции (суммарное содержание Pd и Cu принято за 0,02 ммоль), тогда как ось y показывает степень конверсии. Конечные CP при 0% конверсии были равны начальным CP реакции.

4.1.4 Использование полуметаллических доз для построения биострипов химических реакций

Несмотря на успешное применение биострипов, основанных на данных цитотоксичности, для визуализации токсикологического профиля химических процессов, 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 из фенилборной кислоты и галогенбензолов с помощью биострипов на основе экспериментальных значений 24-ч CC_{50} и LD_{50} , доступных в базе данных PubChem. Результаты, обсуждаемые в данном разделе, представлены в списке основных публикаций по теме диссертации [S2].

(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), 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 ($ммоль \cdot л^{-1}$).

В рассмотренных реакциях варьировались следующие компоненты:

- исходное соединение 2 (SM2: йодбензол (A) или бромбензол (B));
- катализатор (CT: $Pd(OAc)_2$ (A), $PdCl_2$ (B) или $Pd(acac)_2$ (C));
- основание (R: Na_2CO_3 (A) или K_2CO_3 (B));
- растворитель (S: этанол (A) или *N*-метилпирролидон (НМП, B)).

Были выделены четыре «наиболее безопасных» комбинации реагентов по данным CC_{50} и три – по данным LD_{50} . Из них два варианта совпадают для всех исследуемых биологических объектов: реакции с использованием бромбензола (B) в качестве исходного вещества 2 (SM2), $Pd(OAc)_2$ (A) или $PdCl_2$ (B) в качестве катализатора (CT), Na_2CO_3 (A) как реагента (R), и этанола (A) как растворителя (S) (реакции B-A-A-A и B-B-A-A). (см. Рисунок 10).

Наиболее заметное расхождение между результатами, полученными на основе данных по цитотоксичности и острой токсичности, наблюдается в отношении катализаторов: $Pd(OAc)_2$, $PdCl_2$ и особенно $Pd(acac)_2$, которые демонстрируют наивысшую цитотоксичность среди

исследованных соединений, тогда как их острая токсичность при пероральном введении крысам существенно ниже и варьируется в пределах от приблизительно 7 до 23 ммоль/кг массы тела. С учетом малых количеств указанных соединений, применяемых в реакции, их вклад в «общую токсичность» незначителен, что предлагает более свободный выбор катализатора.

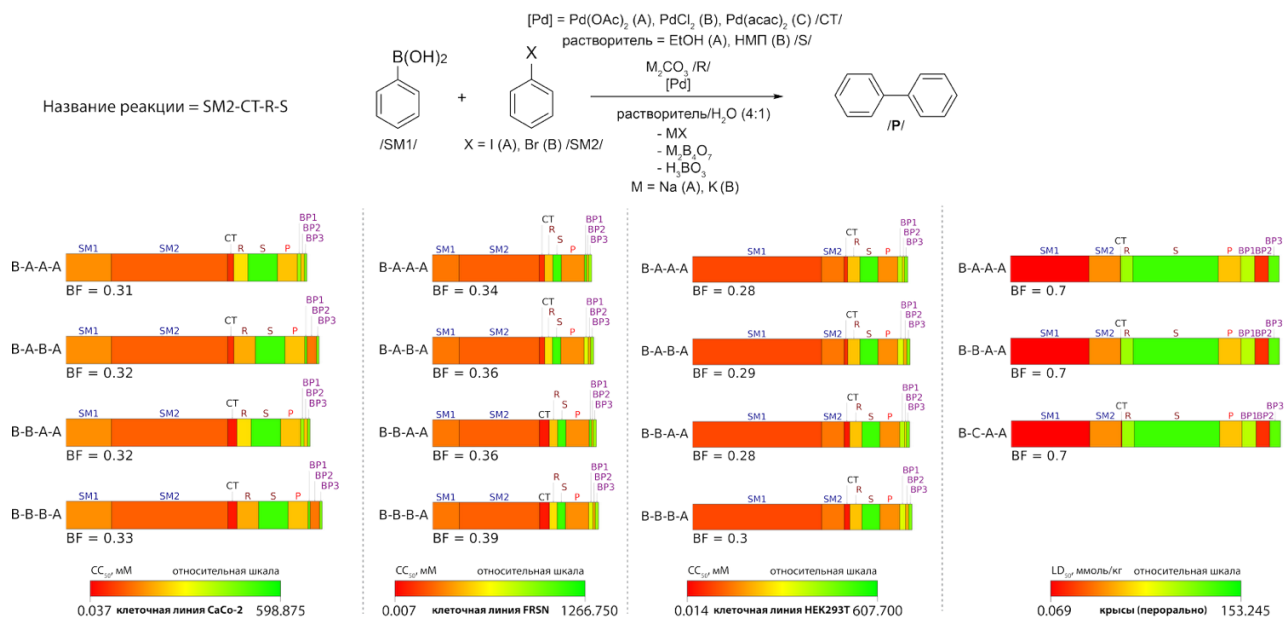


Рисунок 10. Биострипы наиболее экологически безопасных путей синтеза 1,1'-бифенила, согласно данным о цитотоксичности соответствующих соединений на клеточных линиях CaCo-2, FRSN и HEK293T, а также острой токсичности при пероральном введении крысам. 1-я, 2-я, 3-я и 4-я буквы в названиях реакций отражают типы исходного соединения 2 (SM2), катализатора (CT), основания (R) и растворителя (S) соответственно. Цвет секторов биострипов отражает CC₅₀ конкретного вещества, измеренную на конкретной клеточной линии, или LD₅₀, измеренную у крыс (см. шкалы токсичности под биострипами).

Во всех случаях, касающихся исходного соединения 2, предпочтение отдается бромбензолу (B) по сравнению с йодбензолом (A). Это связано с двумя факторами: во-первых, бромбензол демонстрирует меньшую токсичность по сравнению с йодбензолом во всех исследованных биологических системах (хотя в линиях клеток CaCo-2 и FRSN разница не значима); во-вторых, побочные продукты реакции – бромиды и иодиды – также различаются по степени токсичности. В частности, KBr менее токсичен, чем KI, а NaBr демонстрирует меньшую или сравнимую токсичность по сравнению с NaI. Эти различия учитываются в значениях TR_i, TR_f и TR_{f,rel} соответствующих реакций (см. Рисунок 11).

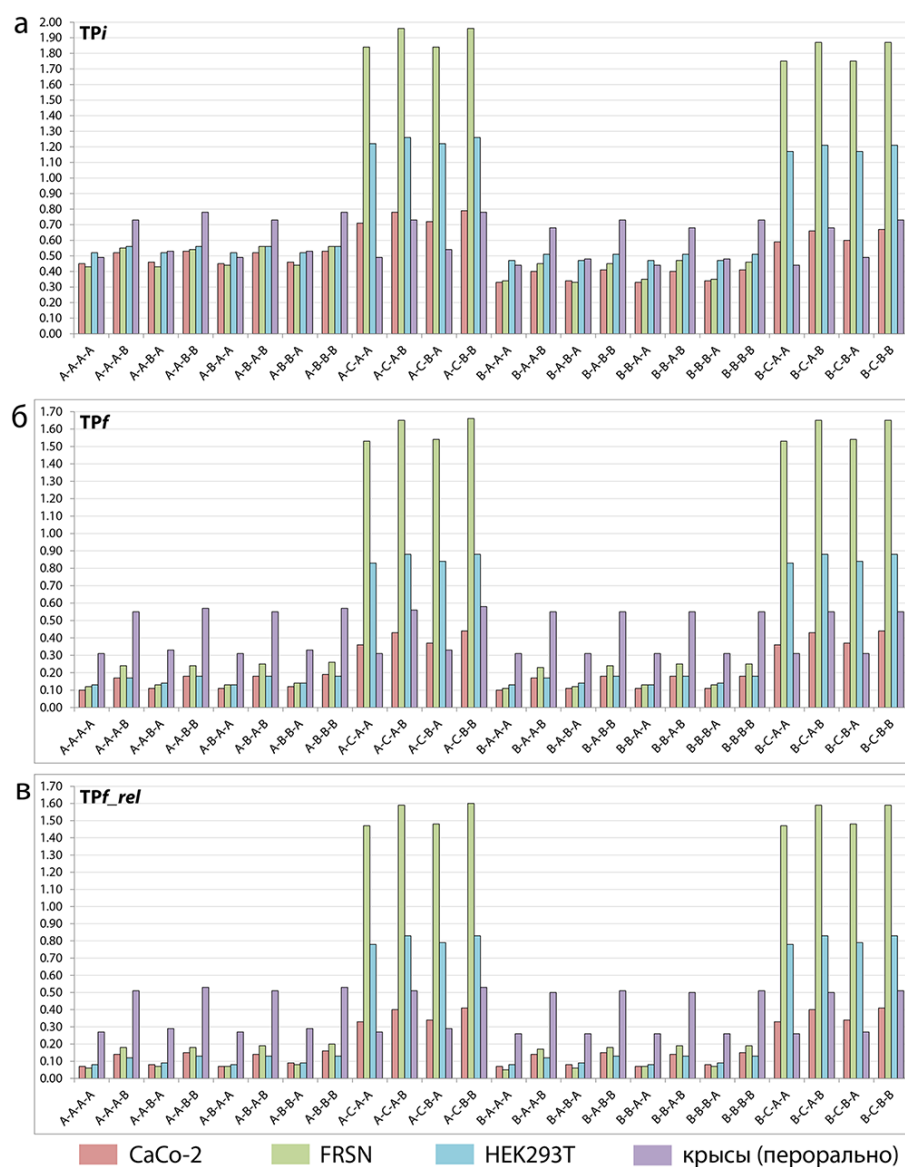


Рисунок 11. Токсические потенциалы (TP) 24 вариантов синтеза 1,1'-бифенила, рассчитанные для клеточных линий CaCo-2, FRSN и HEK293T, а также для крыс при пероральном введении. Первая, вторая, третья и четвертая буквы в обозначениях реакций соответствуют, соответственно, типу исходного вещества 2 (SM2), катализатора (CT), реагента (R) и растворителя (S). TP_i – начальный токсический потенциал; TP_f – конечный токсический потенциал; TP_{f_rel} – относительный конечный токсический потенциал.

Выбор основания [Na₂CO₃ (A) или K₂CO₃ (B)] несущественен при использовании данных по цитотоксичности, однако согласно данным об острой токсичности предпочтение следует отдать Na₂CO₃ (A) ввиду его меньшей токсичности при пероральном введении крысам.

Что касается растворителя, анализ всех биострипов показал, что наиболее предпочтительным вариантом является этанол (A). Несмотря на то, что *N*-метилпирролидон (НМП) проявляет умеренную токсичность во всех исследованных биологических объектах, его высокая

концентрация в реакционной среде, как растворителя, делает это соединение потенциально опасным с точки зрения экологической нагрузки.

При сравнении значений токсичности (24-часовые CC_{50} и LD_{50}), полученных на трех линиях клеток различного происхождения [CaCo-2 (колоректальная аденокарцинома), HEK293T (эмбриональная почка человека) и FRSN (мезенхимальные стволовые клетки крайней плоти)], а также у крыс при однократном пероральном введении, можно отметить, что помимо различий в токсичности $Pd(OAc)_2$, $PdCl_2$ и $Pd(acac)_2$, наблюдаются также различия в чувствительности к $Na_2B_4O_7$ и $K_2B_4O_7$ – сопутствующим продуктам исследуемых реакций. Тем не менее, учитывая сходные значения их острой токсичности, влияние этих солей на «общую токсичность» представляется незначительным.

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.

4.1.5 Заключение по разделу

1. Получены количественные данные по цитотоксичности наиболее распространенных компонентов реакций каталитического кросс-сочетания Соногаширы и Мизороки-Хека.
2. Показано, что биострипы могут быть использованы для эффективной визуализации и оценки токсикологических профилей реакций Соногаширы и Мизороки-Хека.
3. При рассмотрении 24 комбинаций получения 1,1'-бифенила по реакции Сузуки, 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, однако цитотоксичностью как универсальным критерием безопасности, однако считаем необходимым учитывать ее наряду с другими показателями острой токсичности для более взвешенной оценки безопасности химических процессов.

4.2 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-Scape) 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.

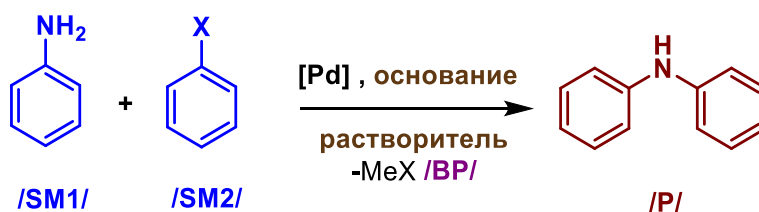
В данном исследовании токсикограммы были использованы для оптимизации реакции Бахвальда-Хартвига с точки зрения токсичности ее компонентов на примере синтеза распространенных синтетических каркасов и строительных блоков – дифениламина (ДФА) и 4-(*n*-толил)морфолина (см. Схему 8). ДФА и его производные находят применение в парфюмерии, производстве резины и эластомеров, производстве красителей, фармацевтике, фотографии, химикатах и т.д. [189]. Препараты на основе морфолина обладают обширной биологической активностью, включая анальгезирующую, противовоспалительную, противомикробную, антинеопластическую и противораковую активность [190]. Результаты, обсуждаемые в данном разделе, представлены в списке основных публикаций по теме диссертации [S3, S6-S7].

Были исследованы следующие наиболее распространенные реагенты в реакции аминирования Бахвальда-Хартвига [191] (см. Схему 17):

- Исходное соединение 2 (SM2): хлорбензол (A), бромбензол (B) и йодбензол (C) для ДФА; 4-хлортолуол (A), 4-бромтолуол (B) и 4-йодтолуол (C) для 4-(*n*-толил)морфолина;
- Катализатор (CT): $[Pd(dppb)Cl_2]$ (A), $[Pd(IPr)(Py)Cl_2]$ (B), $[Pd(SPhos)(Py)Cl_2]$ (C), $[Pd(PCy_3)_2Cl_2]$ (D), $[Pd(SPhos)(IPr)Cl_2]$ (E) и $[Pd(IPr)(\mu-Cl)Cl]_2$ (F);
- Основание (R): Na_2CO_3 (A), K_2CO_3 (B), Cs_2CO_3 (C), NaO^tBu (D), KO^tBu (E) и K_3PO_4 (F);
- Растворитель (S): тетрагидрофуран (A), *трет*-бутанол (B), 1,4-диоксан (C) и толуол (D).

[Pd] = [Pd(dppb)Cl₂] (A), [Pd(IPr)(Py)Cl₂] (B),
 [Pd(SPhos)(Py)Cl₂] (C), [Pd(PCy₃)₂Cl₂] (D),
 [Pd(SPhos)(IPr)Cl₂] (E), [Pd(IPr)(μ-Cl)Cl]₂ (F) **/CT/**
основание = Na₂CO₃ (A), K₂CO₃ (B), Cs₂CO₃ (C),
 NaO^tBu (D), KO^tBu (E), K₃PO₄ (F) **/R/**
растворитель = ТГФ (A), ^tBuOH (B),
 1,4-диоксан (C), толуол (D) **/S/**
X = Cl (A), Br (B), I (C)

Реакция Бахвальда-Хартвига #1



Реакция Бахвальда-Хартвига #2

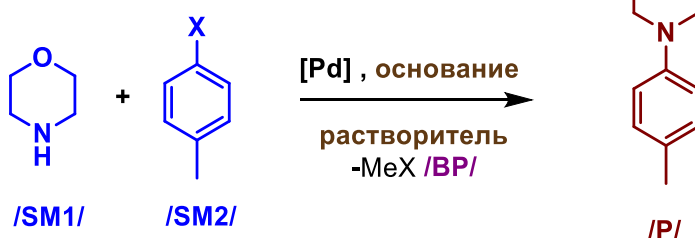


Схема 17. Реакции Бахвальда-Хартвига, изучаемые в данной работе.

Среди катализаторов были рассмотрены палладиевые комплексы с фосфиновыми, N-гетероциклическими и смешанными лигандами, в том числе димерный комплекс [Pd(IPr)(μ-Cl)Cl]₂ (см. Схему 18).

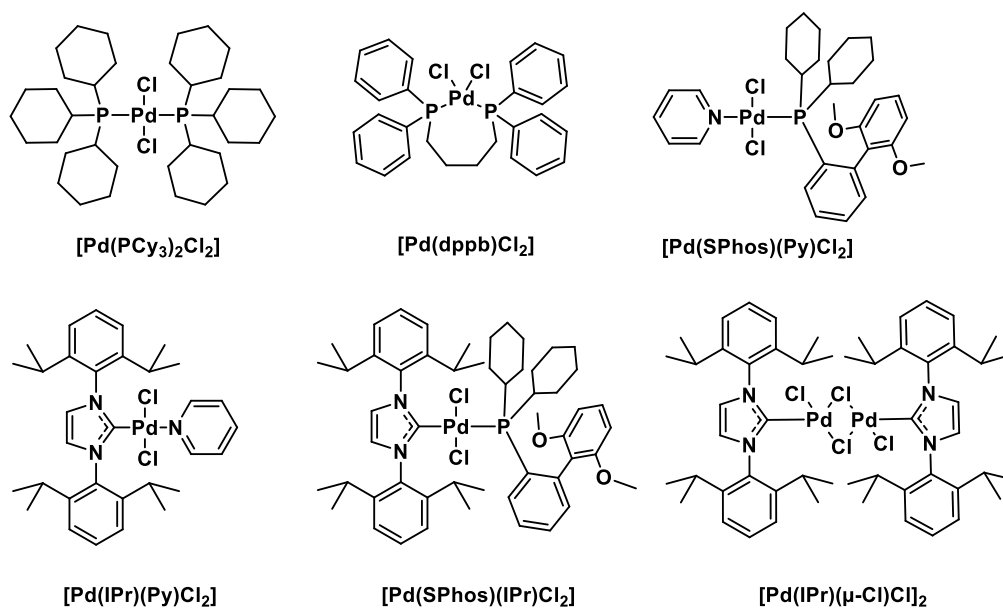


Схема 18. Катализаторы, используемые в реакциях Бахвальда-Хартвига.

На Рисунке 12 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. Рассчитанные CP для реакций подробно приведены в дополнительных материалах к работе [S3].

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 не существенно изменяет форму графика. Однако он смещает общий тренд из-за резких различий в значениях CC_{50} внутри группы катализаторов. Катализаторы $[Pd(IPr)(Py)Cl_2]$ (B) и $[Pd(IPr)(\mu-Cl)Cl]_2$ (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, внимание следует направить на самую нижнюю «линию» на графике, которая соответствует наименее токсичному компоненту среди оцениваемых. Как показано на Рисунке 12, 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 (A) (синяя пунктирная линия) или бромбензола (B) (оранжевая пунктирная линия) приводит к немного более низкому CP_i , чем у йодбензола (C) (серая пунктирная линия).

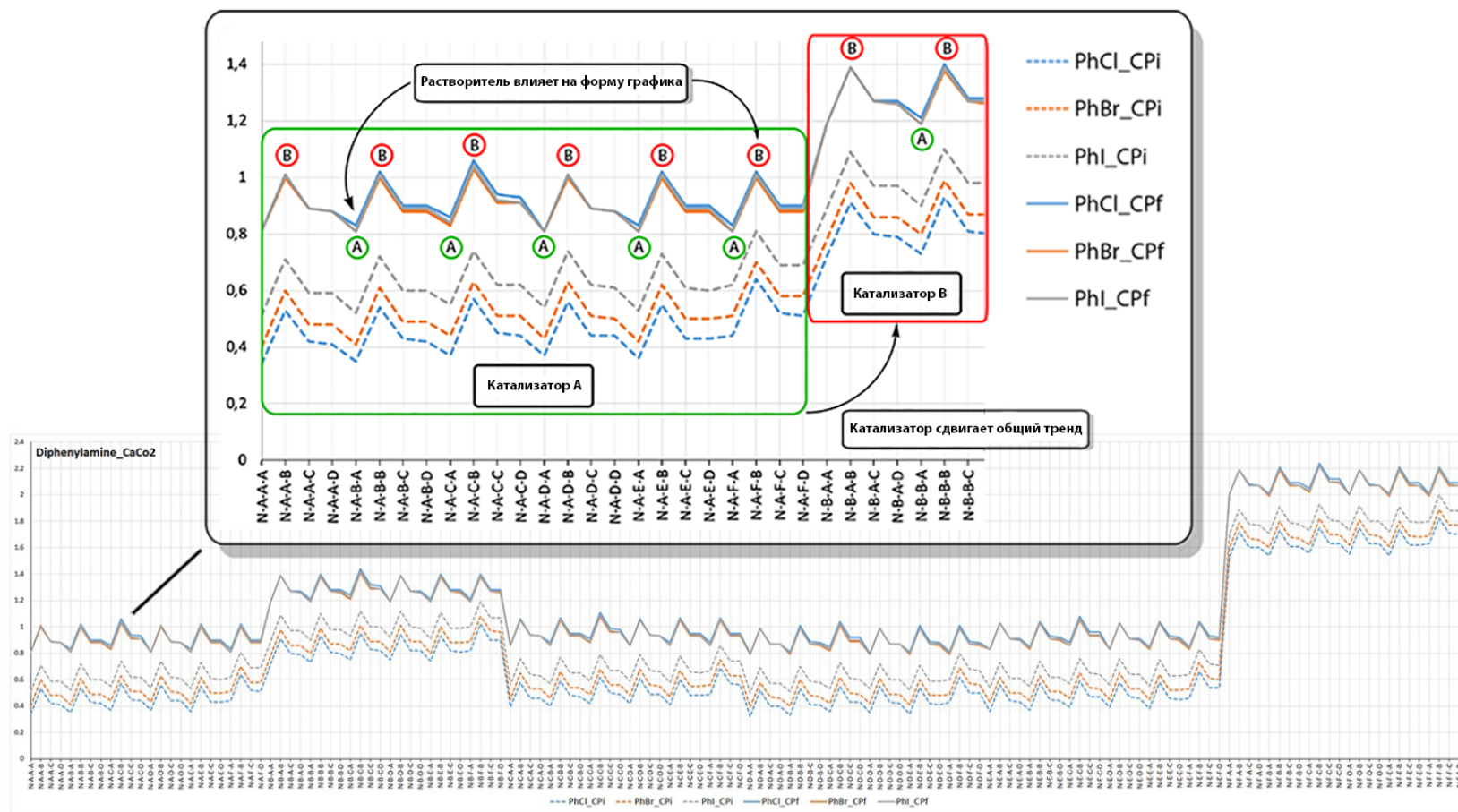


Рисунок 12. Токсикограмма 432 комбинаций реагентов для синтеза ДФА при изменении исходного соединения 2 (SM2) в соответствии со значениями 24-ч CC_{50} для отдельных веществ, измеренных на клеточной линии CaCo-2. Ось x соответствует отдельным синтетическим путям, тогда как ось y соответствует цитотоксическим 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.

При изменении катализатора (СТ) токсикограмма демонстрирует схожую картину; однако Рисунок S2a в Приложении 2 подчеркивает резкие различия в значениях CC_{50} внутри группы катализаторов. В частности, самые верхние оранжевые и зеленые «линии», соответствующие катализаторам $[Pd(IPr)(Py)Cl_2]$ (B) и $[Pd(IPr)(\mu-Cl)Cl]_2$ (F) соответственно, подчеркивают их значительное влияние на «общую цитотоксичность» реакции.

Чтобы лучше понять выбор компонентов реакции, таких как основание, была проанализирована токсикограмма по параметру R (см. Рисунок S3a в Приложении 2). С точки зрения CP_i , применение K_3PO_4 кажется более опасным, чем других оснований. Однако, с точки зрения CP_f , все соединения обладают схожим вкладом в общую токсичность. Примечательно, что описанное выше влияние катализатора на смещение графика и роль растворителя в образовании «пииков» и «долин» остаются.

В случае растворителя (см. Рисунок S4a в Приложении 2) нижние синие «линии» представляют тетрагидрофуран (ТГФ, A). В этих графиках сильное влияние катализатора на положение линии снова заметно. Однако здесь «пики» и «долины» сформированы в первую очередь основаниями, поскольку их различия в CC_{50} более выражены, чем у исходных соединений 2 (SM2). И снова K_3PO_4 (F) кажется менее предпочтительным, поскольку он образует самые высокие «пики» на этом графике.

Токсикограмма для клеточной линии НЕК293Т дает схожие, хотя и не идентичные, выводы (см. Рисунок S1-S4б в Приложении 2). Заметная разница наблюдается для воздействия растворителя, при этом толуол (D, желтые линии) вносит наибольший вклад в общую токсичность, тогда как остальные три растворителя дают сопоставимые значения CP_i и CP_f .

Уменьшение разброса данных для токсичности растворителей на клеточной линии FRSN привело к «более гладкой» токсикограмме для синтеза ДФА (см. Рисунок S4в в Приложении 2). Толуол (D, желтые «линии») вносит наибольший вклад в общую токсичность, тогда как остальные три растворителя дают сопоставимые значения CP_i и CP_f . Примечательно, что увеличение значений CP было в основном связано с повышенной цитотоксичностью комплексов палладия, при этом $[Pd(IPr)(\mu-Cl)Cl]_2$ (F, зеленая «линия») демонстрирует наиболее выраженную цитотоксичность. В случае основания не наблюдалось никаких различимых предпочтений, как и для исходного соединения 2 (SM2).

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

- Использование 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 СР, которые можно определить при поиске самых глубоких «долин» в самых нижних «линиях» на графиках, соответствующим как CP_i , так и CP_f .

Биострипы наиболее экологически безопасных синтетических маршрутов, о чем свидетельствуют самые низкие СР на трех клеточных линиях, которые относятся к самым глубоким «долинам» на графиках, показаны на Рисунке S5 в Приложении 2.

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 варианта синтеза синтеза 4-(*n*-толил)морфолина (см. Рисунки S6-S9 в Приложении 2), мы можем дать схожие рекомендации по выбору реагентов с точки зрения их возможного токсического воздействия на живые организмы:

- Использование 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 кажется более безопасным, чем 4-хлор- или 4-йодтолуол.

Подробная информация о наиболее перспективных комбинациях, о чем свидетельствуют самые низкие значения СР в обеих клеточных линиях, соответствующие «долинам» на соответствующих графиках, представлена на Рисунке S10 Приложения 2.

Важно отметить, что в этом конкретном случае наиболее перспективные синтетические пути не могли быть идентифицированы посредством анализа СР во всех трех клеточных линиях одновременно. Однако эта идентификация была возможна посредством попарного сравнения данных для HEK293T и FRSN или FRSN и CaCo-2.

4.2.1 Индекс опухолевой селективности

Тестирование химических веществ на различных клеточных линиях позволяет получить более полную и надежную оценку потенциального токсического воздействия химических реакций, в которых эти вещества участвуют, на клетки и ткани различного происхождения. В связи с этим представляется разумным использовать полученные данные о цитотоксичности этих веществ для оценки их индивидуального воздействия как на опухолевые, так и на нормальные клетки.

Согласно полученным результатам, катализаторы в реакции Бахвальда-Хартвига проявили самую высокую цитотоксичность, причем $[Pd(IPr)(\mu-Cl)Cl]_2$ был наиболее токсичным, в то время как тетрагидрофуран и 1,4-диоксан были наименее токсичными веществами во всех реакциях. Однако исходные соединения продемонстрировали большую токсичность на клетках CaCo-2 и FRSN, чем на клетках HEK293T. Напротив, для некоторых оснований (CS_2CO_3 , tBuONa , tBuOK) наблюдалось обратное. Что касается сопутствующих продуктов, хлориды показали большую токсичность в клетках CaCo-2 независимо от используемого металла; то же самое наблюдалось для солей цезия. Напротив, в клетках FRSN наблюдаются более однородные данные в пределах каждого набора растворителей, оснований и сопутствующих продуктов. Эти, казалось бы, незначительные различия, по-видимому, транслировались в более выраженные различия в СР соответствующих синтетических маршрутов. Тем не менее, согласно Рисунку 13, все три линии клеток разного происхождения демонстрируют схожую чувствительность к компонентам реакций Бахвальда-Хартвига, поскольку все три «линии» на графике следуют схожим трендам.

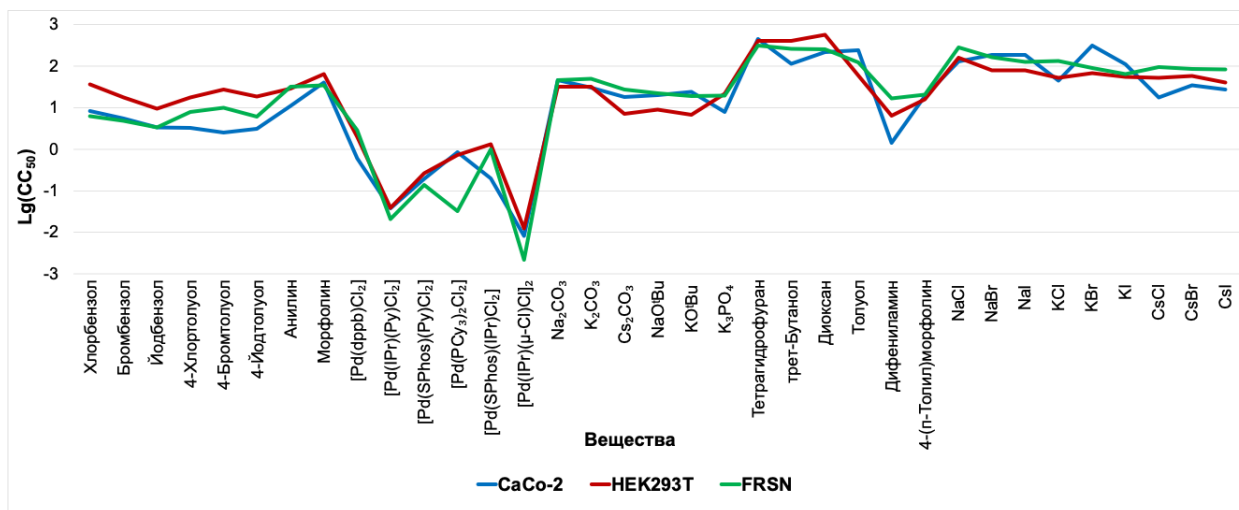


Рисунок 13. На оси x представлены названия компонентов реакции, а на оси y – соответствующие значения CC_{50} в логарифмическом масштабе для трех линий клеток человека (CaCo-2, колоректальная аденокарцинома; FRSN, мезенхимальные стволовые клетки, полученные из крайней плоти; HEK293T, эмбриональная почка).

На сегодняшний день предложено несколько индексов селективности для лекарственных соединений и противораковых препаратов. Среди наиболее распространенных – индекс селективности (SI), который часто представляется как отношение значений CC_{50} конкретного препарата, измеренных в нормальных и опухолевых клетках [192]. При расчете SI происхождение сравниваемых клеточных линий, очевидно, имеет первостепенное значение: нормальные и раковые клетки одного и того же происхождения должны обеспечивать более адекватное сравнение, чем клетки, полученные из разных тканей или даже организмов. Подобно SI, опухолевые и нормальные клетки одного и того же происхождения могут использоваться для получения более обоснованных значений tSI. Однако даже разные опухоли одного и того же происхождения могут иметь разную чувствительность к данному химическому веществу из-за различий в их мутациях и затронутых сигнальных путях [193, 194]. Поэтому даже одинаковое происхождение клеток не гарантирует надежности для сравнения цитотоксичности. Тем не менее, такие индексы селективности могут использоваться в широких предварительных скринингах, которые позволяют выбирать вещества-кандидаты для более прицельных исследований.

В рамках данного исследования большой интерес представляет токсический потенциал рассматриваемых веществ, чем их противораковая активность. В связи с этим предлагается использовать полученные значения CC_{50} для расчета «индекса опухолевой селективности» (tSI) соответствующих химических веществ, определяемого как отношение значений CC_{50} конкретного вещества, измеренных в раковых и нормальных клетках (см. Уравнение 33):

$$tSI = \frac{CC_{50} \text{ (раковые клетки)}}{CC_{50} \text{ (нормальные клетки)}} \quad (33)$$

Значения tSI выше 1 указывают на преимущественное токсическое действие вещества на нормальные клетки, что делает его применение 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. Расчитанные значения tSI для каждого соединения приведены в Приложении 1.

На примере реакции Бахвальда-Хартвига были рассмотрены tSI тестируемых веществ (см. Рисунок 14), 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 HEK293T используется в качестве нормальной клеточной линии для сравнения, 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 (см. Рисунок 14с).

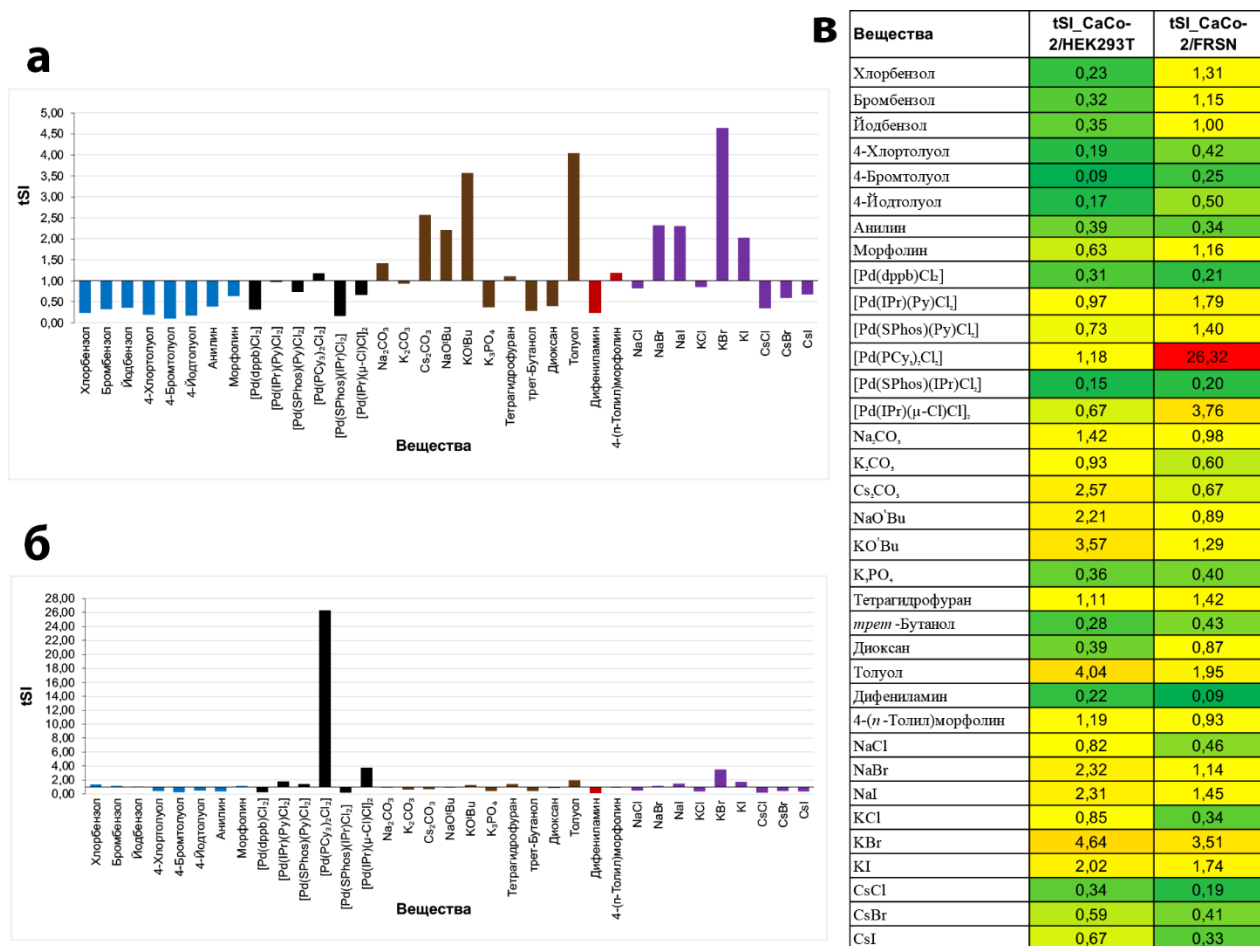


Рисунок 14. Индексы опухолевой селективности (tSI) веществ, используемых в реакциях Бахвальда–Хартвига, рассчитанные для линий клеток CaCo-2 и HEK293T (а) и CaCo-2 и FRSN (б). Сравнение tSIs в этих двух линиях клеток показано на (в). Столбцы на графиках обозначены цветом в соответствии с реакционной ролью веществ: исходные соединения — синим; катализаторы — черным; основания и растворители — коричневым; целевые продукты — темно-красным; сопутствующие продукты — фиолетовым.

На основании проведенного анализа индекс опухолевой селективности (tSI) может быть использован в качестве дополнительного критерия для принятия решений при выборе между веществами, которые, согласно данным токсикограмм, обладают сходным уровнем токсического воздействия. Рекомендуется проводить тестирование на максимально возможном числе линий клеток, что позволит получить более надежные данные и облегчить выбор наиболее экологически безопасных химических соединений. Вещества с высокими значениями tSI, как показано, следует по возможности избегать как в рамках проектирования синтетических маршрутов, так и при выборе реагентов.

4.2.2 Заключение по разделу

Предложена новая форма токсикологического профиля – «токсикограмма», позволяющая визуализировать большое число комбинаций реагентов на примере реакции Бахвальда-Хартвига. Данный подход представляет собой масштабируемый и наглядный инструмент, позволяющий быстро и интуитивно оценивать потенциальную опасность химических реакций для окружающей среды на основании оперативно доступных данных о цитотоксичности. Были проанализированы 864 реакции Бахвальда-Хартвига, что позволило выявить конкретные катализаторы, в частности $[\text{Pd}(\text{IPr})(\text{Py})\text{Cl}_2]$ и $[\text{Pd}(\text{IPr})(\mu\text{-Cl})\text{Cl}]_2$, которые вносят существенный вклад в общую токсичность. Напротив, использование тетрагидрофурана в качестве растворителя приводит к снижению этой токсичности. Хотя влияние исходных соединений и оснований оказалось менее значимым, их более осознанный выбор также может способствовать снижению общего токсического воздействия химической реакции на человека и окружающую среду. Дополнительно, применение индексов опухолевой селективности (tSI) позволил оценить токсическое действие вещества на нормальные клетки, что делает его использование в химических процессах потенциально более опасным с точки зрения воздействия на здоровый организм.

4.4 Исследование совокупной цитотоксичности реакционных смесей

Несмотря на то, что предложенные концепции биострипов и токсикограмм обеспечивают наглядный визуальный способ определения экологически безопасных вариантов синтеза, следует отметить, что эти 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. Полученные результаты способствуют развитию более эффективных методов оценки безопасности химических процессов. Результаты, обсуждаемые в данном разделе, представлены в списке основных публикаций по теме диссертации [S4].

4.4.1 Случай 100% конверсии

В качестве модельной реакции рассматривается палладий-катализируемая реакция Мизороки-Хека (см. Схему 19): SM1 (исходное соединение 1 – стирол), SM2 (исходное соединение 2 – PhX, галогенбензол), CT (катализатор – ацетат палладия (II), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$), R (основание – триэтиламин, Et_3N), S (растворитель – *N*-метил-2-пирролидон, НМП), P (продукт – (*E*)-стильбен), BP (сопутствующий продукт – гидрогалогениды триэтиламмония, $\text{Et}_3\text{N}\cdot\text{HX}$), SP (побочный продукт – 1,1-дифенилэтилен).

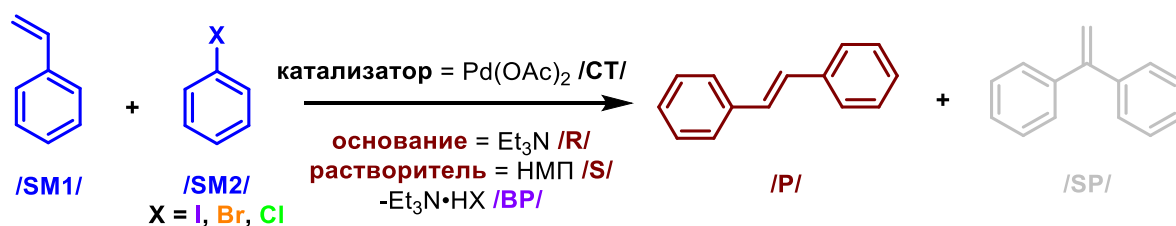


Схема 19. Модельная реакция Мизороки-Хека.

В качестве модельной клеточной линии была выбрана линия DF-1 (мезенхимные стволовые клетки из кожи век), релевантная для оценки воздействия факторов окружающей среды [185]. 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 °C, 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 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 водосодержащей культуральной среде, моделируя возможный выброс реакционной смеси в окружающую среду.

Экспериментальные и расчетные данные по токсичности смесей подробно даны в Приложении 3.

На первом этапе были определены значения 24-ч CC_{50} для двенадцати индивидуальных компонентов, входящих в реакцию (см. Схему 19). Как было рассмотрено ранее, синергизм и антагонизм трактуются как явления, при которых токсичность смеси оказывается соответственно выше или ниже суммы токсических эффектов отдельных компонентов. Биологически значимыми и воспроизводимыми считаются отклонения от модели аддитивности доз и концентраций (CA) более чем в два раза [195]. Следует отметить, что смеси с MDR (коэффициент отклонения модели), приближающимся к 2,00 (синергизм) или 0,50 (антагонизм), также могут обладать соответствующими эффектами. Однако, во избежание ложноположительных результатов, в настоящем исследовании в качестве порогов были установлены $MDR \geq 2,00$ для синергизма и $MDR \leq 0,50$ для антагонизма.

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 15), 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, $Pd(OAc)_2$ 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 соединения, растворитель и катализатор, но не включающие основание (SM1 + SM2 + S + CT), проявляли одинаковый уровень токсичности вне зависимости от используемого галогенбензола.

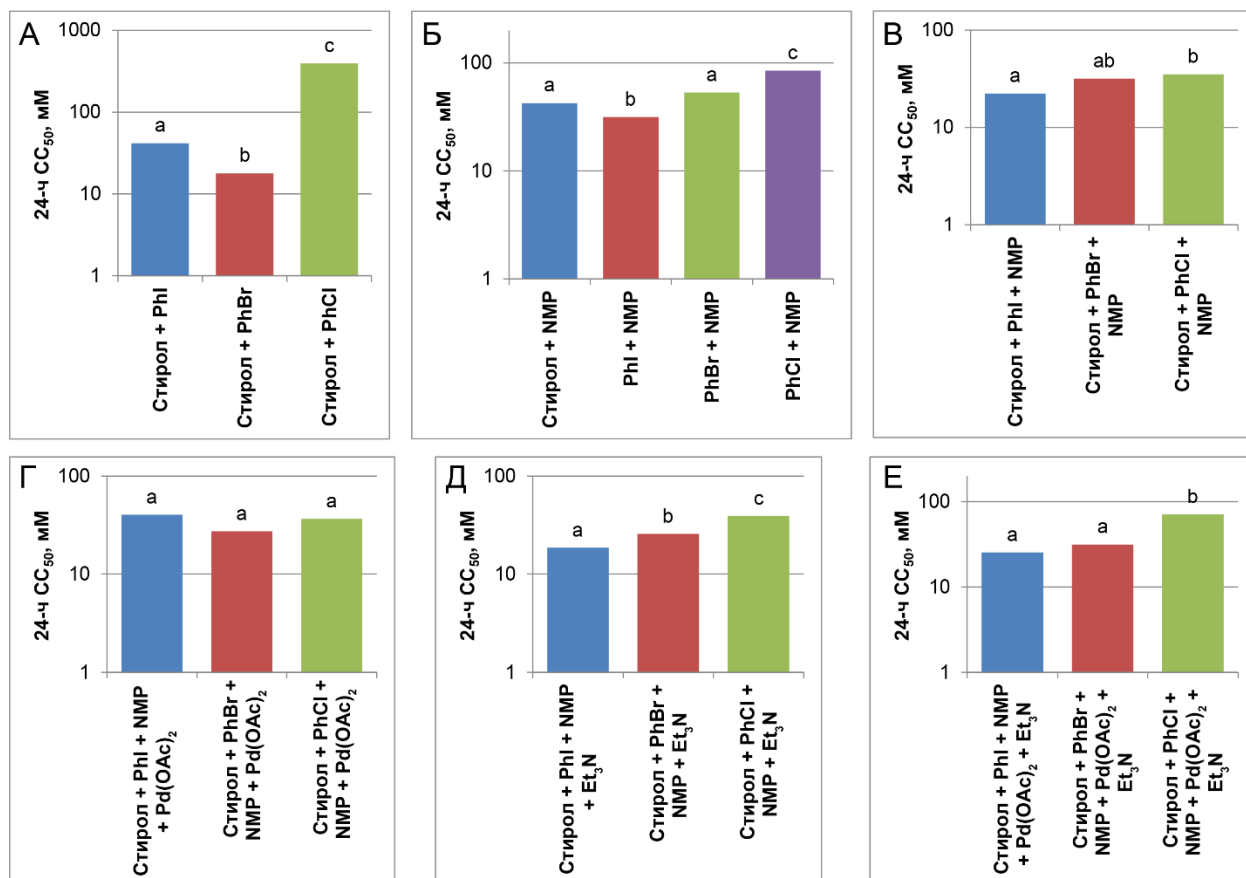


Рисунок 15. Цитотоксичность смесей на начальной стадии реакции: А) SM1 + SM2; Б) SM1/SM2 + S; В) SM1 + SM2 + S; Г) SM1 + SM2 + S + CT; Д) SM1 + SM2 + S + R; Е) SM1 + SM2 + S + CT + R. Различия между смесями в пределах одной группы, обозначенные разными буквами латинского алфавита, являются статистически значимыми согласно двустороннему t-критерию Стьюдента при неравных дисперсиях и уровне значимости $p < 0,05$.

При анализе значений MDR (см. Рисунок 16) 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 содержащие стирол, йодбензол и НМП (SM1 + SM2 + S), а также стирол, йодбензол, НМП и ацетат 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, содержащей исходные соединения и растворитель (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. Единственными смесями, продемонстрировавшими значимые антагонистические взаимодействия, оказались комбинации стирола с йодбензолом или хлорбензолом (SM1 + SM2).

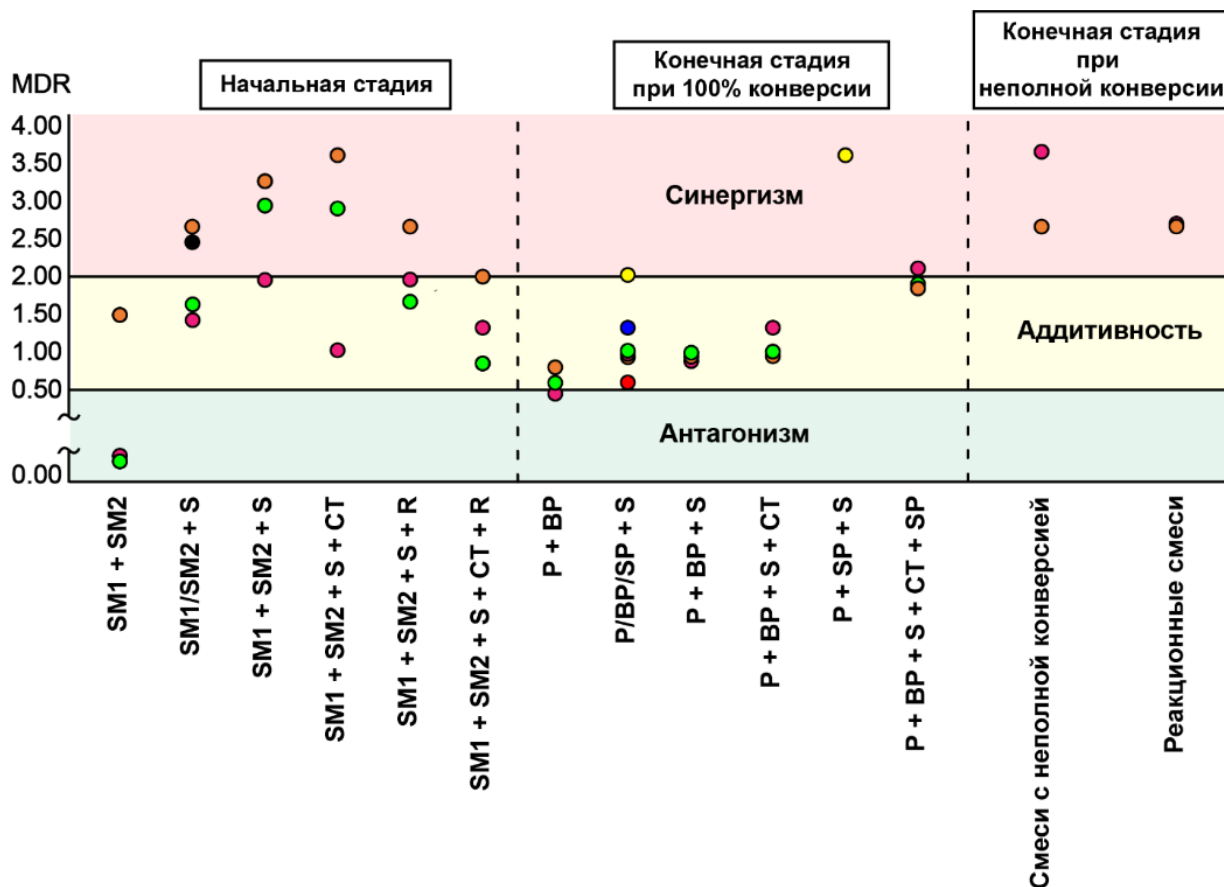


Рисунок 16. Распределение значений MDR для модели СА на различных стадиях реакции. На диаграмме представлена цветовая дифференциация смесей: соединения на основе иода, брома и хлора (или соответствующие побочные продукты) обозначены пурпурным, оранжевым и зеленым цветом соответственно; стирол — черным, (*E*)-стильбен — синим, 1,1-дифенилэтилен — желтым. Смесью, 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 (Et₃N), S — растворитель (НМП), P — целевой продукт ((*E*)-стильбен), BP — сопутствующий продукт (Et₃N·HX), SP — побочный продукт (1,1-дифенилэтилен). Область выраженного синергизма выделена красным цветом, аддитивные эффекты — желтым, выраженные антагонистические взаимодействия — зеленым.

На конечной стадии реакции при условии 100% селективности, то есть при отсутствии побочных продуктов, большинство модельных смесей независимо от природы побочного продукта проявляли схожую цитотоксичность в пределах каждой группы (см. Рисунок 17А-В) и соответствовали рассчитанным значениям с допустимым уровнем отклонения. Единственным исключением была смесь (*E*)-стильбена и Et₃N·HI, продемонстрировавшая значение MDR немного ниже 0,50 и наименьшую цитотоксичность в своей группе (см. Рисунок 16).

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 CC₅₀ 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 (см. Рисунок 17В). Также был выявлен синергетический эффект (см. Рисунок 16). 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, отражающих состав компонентов 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 (см. Рисунок 17Г), при этом во втором случае наблюдалась выраженная тенденция к синергизму. Примечательно, что цитотоксичность не зависела от природы образующегося сопутствующего продукта (BP).

4.4.2 Случай неполной конверсии

Для более реалистичной оценки общей цитотоксичности реакции Мизороки-Хека были исследованы реакционные смеси, полученные после нагревания при температуре 140 °С в течение 24 часов (см. Схему 20). При таких стандартных условиях реакции средние значения конверсии, определенные методом ¹H-ЯМР-спектроскопии, при загрузке в 1 ммоль исходного соединения составили 94% для йодбензола, 55% – для бромбензола и 0% – для хлорбензола.

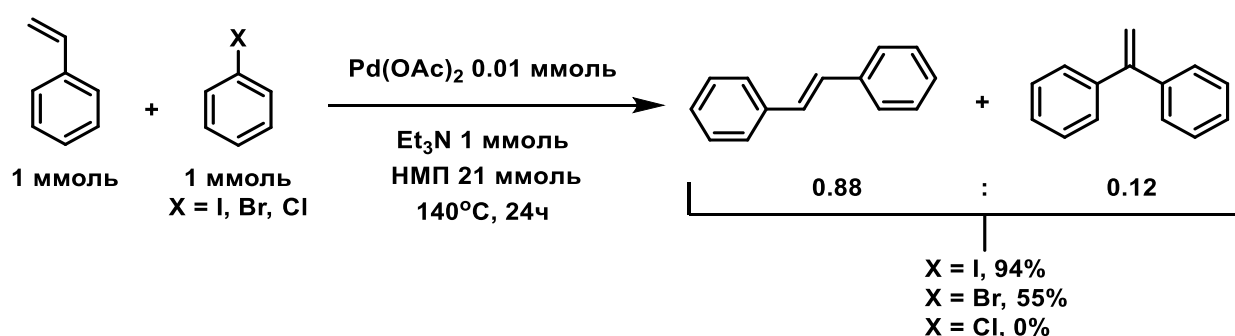


Схема 20. Реакция Мизороки–Хека при типичных условиях.

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_{50} 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 (см. Рисунок 17Г). В частности, речь идет о реальных реакционных смесях, содержащих стирол, галогенбензол, НМП, ацетат палладия(II), триэтиламин, (*E*)-стильбен, гидрогалогенид триэтиламония 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 (см. Рисунок 17Д-Е). Примечательно, что даже наличие всего 6% непрореагировавших исходных веществ в системе на основе иодбензола приводило к значительному увеличению общей токсичности. Эти результаты указывают на то, что при неполной конверсии в реакции Мизороки–Хека остаточные арилгалогениды вносят значительный вклад в формирование общей токсичности реакционной смеси.

Сравнение значений 24-ч CC_{50} между реальными реакционными смесями и их «смоделированными» аналогами на основе усредненных данных также выявило интересную тенденцию (см. Рисунок 17Д-Е). В случае бромбензола цитотоксичность смоделированной смеси была достоверно воспроизведена. Однако для йодбензола смоделированная смесь продемонстрировала более высокую токсичность, чем соответствующая реальная реакционная смесь.

Как известно, палладий-катализируемая реакция Мизороки–Хека представляет собой систему, находящуюся в динамическом равновесии между наночастицами, кластерами и молекулярными комплексами палладия [196]. В случае йодбензола это равновесие существенно смещено в сторону образования молекулярных комплексов с различным составом, по сравнению с бромбензолом. Можно предположить, что различие в цитотоксичности между реальной реакционной системой, подвергнутой нагреванию при 140 °С, и «смоделированной» смесью, инкубированной с клетками при 37 °С, объяснима формированием «коктейльных» систем с различным составом, что и приводит к различиям в их цитотоксичности, что, конечно, требует дальнейшего экспериментального подтверждения.

Из-за термодинамически затрудненной стадии окислительного присоединения в случае использования хлорбензола в качестве исходного соединения в реакции Мизороки–Хека образование целевого продукта не наблюдалось. Тем не менее, арилхлориды часто

рассматриваются в качестве альтернативы бромзамещенным и йодзамещенным аналогам благодаря ряду преимуществ [197]. На сегодняшний день разработаны многочисленные эффективные подходы к вовлечению хлораренов в данную реакцию [198]. В рамках настоящей работы продемонстрирована целесообразность использования хлораренов в реакциях каталитического кросс-сочетания не только с точки зрения более низкой индивидуальной цитотоксичности хлорбензола, но и за счет существенного снижения токсичности реакционных смесей на его основе.

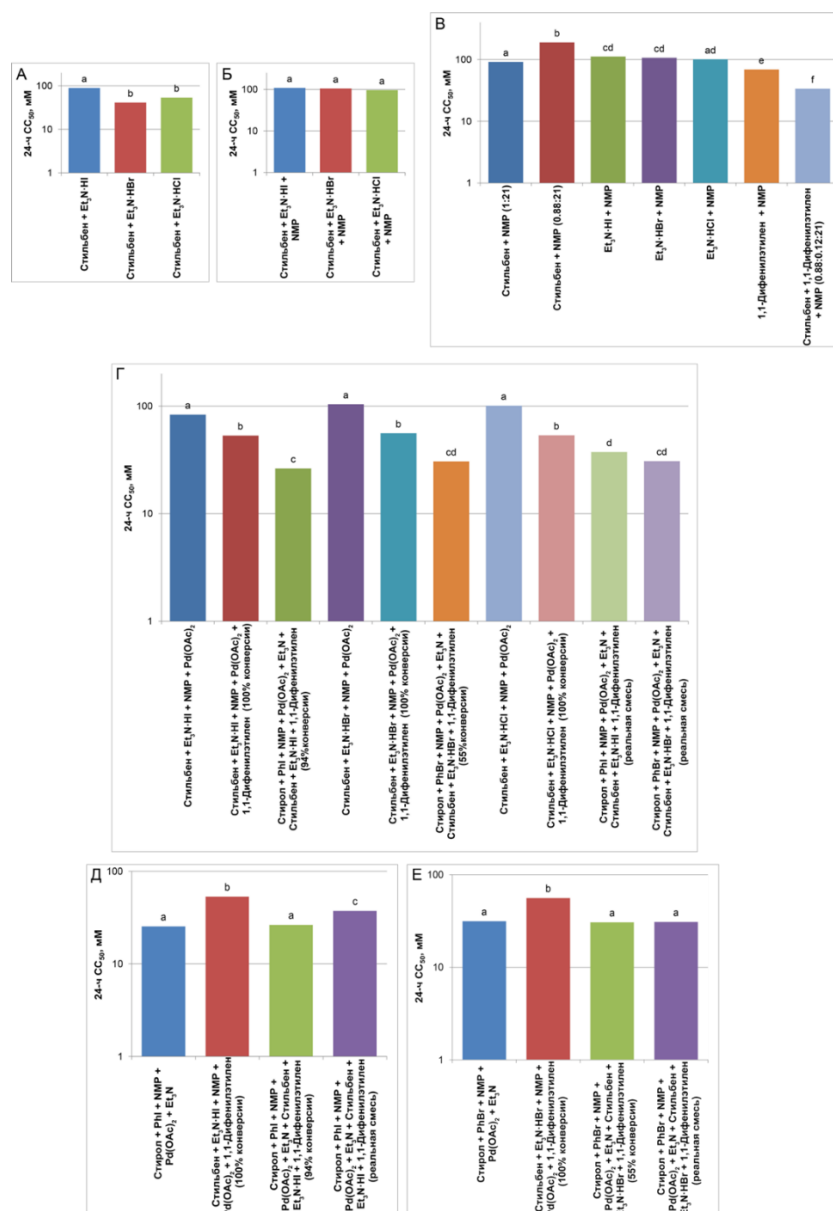


Рисунок 17. Данные по цитотоксичности смесей на конечной стадии реакции: А) P + BP; Б) P + BP + S; В) P/BP/SP + S, P + SP + S; Г) P + BP + S + CT (100% конверсия), P + BP + S + CT + SP (100% конверсия), «смоделированные» и реальные реакционные смеси при неполной конверсии; Д) SM1 + SM2 + S + CT + R, P + BP + S + CT + SP (100% конверсия), «смоделированные» и реальные реакционные смеси при неполной конверсии для йодбензола; Е) SM1 + SM2 + S + CT + R, P + BP + S + CT + SP (100% конверсия), «смоделированные» и реальные реакционные смеси при неполной конверсии для бромбензола. Разные буквы латинского алфавита обозначают статистически значимые различия между смесями внутри каждой группы согласно двустороннему t-критерию с учетом неравных дисперсий при уровне значимости $p < 0.05$.

Исходя из экспериментальных данных предполагается, что взаимодействие небольших ароматических систем, таких как галогенбензолы или стирол с триэтиламином и НМП (*N*-метил-2-пирролидоном) играет ключевую роль в развитии выраженного токсического эффекта по отношению к фибробластам кожи человека. *N*-метил-2-пирролидон, известный в фармакологии как агент, усиливающий проникновение лекарственных соединений через кожу, способен формировать комплексы с молекулами лекарственных препаратов за счет водородных связей и π - π -стэкинговых взаимодействий между амидной группой НМП и ароматическими системами лекарств [199].

В ходе формирования супрамолекулярных систем галогенные связи [200] могут либо дополнять водородные связи, либо подавлять их, в зависимости от их относительной силы. В литературе описаны иерархические процессы самосборки, в которых наблюдаются подобные механизмы [201-203]. Донорная способность атомов галогенов в таких связях уменьшается в ряду $I > Br > Cl > F$, что соответствует возрастанию положительного характера σ -дыр по мере увеличения поляризуемости и уменьшения электроотрицательности атома [204, 205].

Энергия галогенных связей сильно варьируется в зависимости от природы взаимодействующих компонентов: от примерно $10 \text{ кДж}\cdot\text{моль}^{-1}$ (например, $N\cdots Cl$) [206] до $150 \text{ кДж}\cdot\text{моль}^{-1}$, как в случае комплекса $I_2\cdots I$ [207]. Благодаря своей значительной энергии определенные галогенные связи могут преобладать над другими типами нековалентных взаимодействий, включая π - π -стэкинг, диполь-дипольные взаимодействия и гидрофобные силы [208]. Например, Hobza [209] недавно определил энергию стабилизации системы йодбензол $\cdots$ триметиламин в $24,3 \text{ кДж}\cdot\text{моль}^{-1}$, что сопоставимо с энергией сильных водородных связей.

Таким образом, можно предположить, что галогенные связи, в частности в смесях бром- или йодбензола с *N*-метилпирролидоном ($O\cdots X$) и триэтиламином ($N\cdots X$), являются одной из движущих сил формирования более токсичных супрамолекулярных комплексов (см. Схему 21). Отсутствие или выраженное ослабление таких взаимодействий в системах на основе хлорбензола, вероятно, связано с меньшей выраженностью σ -дыр у атома хлора. Кроме того, водородные связи между хлорбензолом и НМП также не могут эффективно формироваться.

Предполагается, что стирол и 1,1-дифенилэтилен способны участвовать в π - π -взаимодействиях с НМП, а также вступать как в π - π -стэкинг, так и в галогенные взаимодействия с галогенбензолами. Это может объясняться более высокой поляризуемостью атомов брома и йода, которая позволяет им формировать более сильные взаимодействия с π -электронными облаками ароматических колец. Подобные взаимодействия описаны для димеров

бромбензол–бензол [210]. Следовательно, в таких системах вероятно возникновение конкурирующих нековалентных взаимодействий, что в свою очередь может приводить к различной степени усиления токсического эффекта, что, в свою очередь, требует дополнительных расчетов и экспериментальных подтверждений.

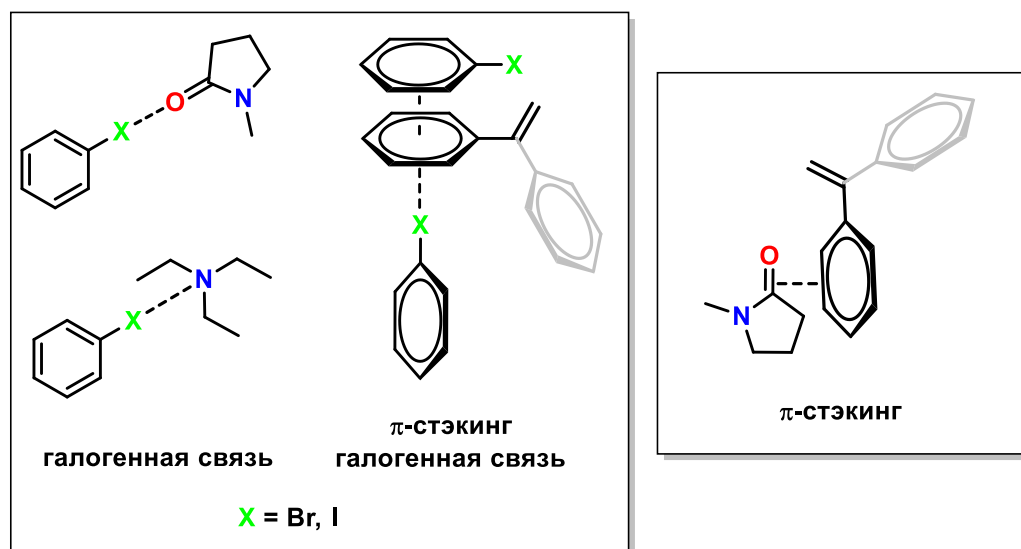


Схема 21. Возможные нековалентные взаимодействия, способствующие усиленному токсическому эффекту, наблюдаемому в человеческих фибробластах из кожи век (DF-1).

Предполагается, что смеси, содержащие гидрогалогениды триэтиламмония, ацетат палладия(II) и ароматические соединения с более распределенным π -электронным облаком (по сравнению со стиролом или 1,1-дифенилэтиленом), такие как (*E*)-стильбен, не вступают в сильные нековалентные взаимодействия с растворителем, способные усиливать токсический эффект.

В результате, значение CC_{50} смеси на конечной стадии изученной реакции Мизороки-Хека при 100% конверсии и 100% селективности может быть достаточно точно предсказано с помощью модели аддитивности концентраций (CA).

Стоит также отметить, что мольная доля, параметр, используемый в модели аддитивности доз или концентарций, выражается через мольную доля, параметр, используемый в модели аддитивности доз или концентраций, выражается через Уравнение 34:

$$x_i = \frac{n_i}{N} \quad (34),$$

где n_i – количество вещества i -го компонента (ммоль); N – общее количество вещества всех компонентов смеси (ммоль).

Тогда $CC_{50,mix}$ (CA) может быть выражена через СР уравнением 35:

$$CC_{50,mix}(CA) = \left(\sum_{i=1}^n \frac{x_i}{CC_{50,i}} \right)^{-1} = \left(\sum_{i=1}^n \frac{n_i}{N \cdot CC_{50,i}} \right)^{-1} = \frac{N}{\sum_{i=1}^n \frac{n_i}{CC_{50,i}}} = \frac{N}{CP} \quad (35),$$

где $CC_{50,mix}$ – 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, $CC_{50,mix}$ (CA) 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 $CC_{50,mix}$, что обусловлено возможными взаимодействиями между компонентами.

4.4.3 Заключение по разделу

1. 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.
2. 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.
3. 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.

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.

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 и кандидату биологических наук Егоровой Ксении Сергеевне за мудрое наставничество, терпение и обучению 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.

Список литературы

1. Dictionary of toxicology. / Hodgson E., Mailman R. B., Roe R. M., Chambers J. E. – London, San Diego, Waltham, Oxford: Elsevier, 2015.
2. A textbook of modern toxicology. / Hodgson E. – Hoboken, NJ, USA: Wiley, 2010.
3. A guide to practical toxicology: Evaluation, prediction, and risk. / Woolley D., Woolley A. – 2nd изд. – New York, USA: CRC Press, 2008.
4. Handbook on Life Cycle Assessment. / Guinée J. B. – Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2002.
5. Compendium of chemical terminology. Gold book. / IUPAC – Research Triangle Park, NC: International Union of Pure and Applied Chemistry, 2014.
6. Hazardous chemicals handbook. / Carson P., Mumford C. – 2nd изд. – Oxford, Woburn: Butterworth-Heinemann, 2002.
7. Tarazona J. V., Fresno A., Aycard S., Ramos C., Vega M. M., Carbonell G. Assessing the potential hazard of chemical substances for the terrestrial environment. Development of hazard classification criteria and quantitative environmental indicators // Sci. Total. Environ. – 2000. – Т. 247, № 2-3. – С. 151-164.
8. Xin X., Huang G., Zhang B. Review of aquatic toxicity of pharmaceuticals and personal care products to algae // J. Hazard. Mater. – 2021. – Т. 410. – С. 124619.
9. Ankley G. T., Bennett R. S., Erickson R. J., Hoff D. J., Hornung M. W., Johnson R. D., Mount D. R., Nichols J. W., Russom C. L., Schmieder P. K., Serrano J. A., Tietge J. E., Villeneuve D. L. Adverse outcome pathways: A conceptual framework to support ecotoxicology research and risk assessment // Environ. Toxicol. Chem. – 2010. – Т. 29, № 3. – С. 730-741.
10. Gałuszka A., Migaszewski Z. M., Konieczka P., Namieśnik J. Analytical Eco-Scale for assessing the greenness of analytical procedures // TrAC Trends Anal. Chem. – 2012. – Т. 37. – С. 61-72.
11. Gao X., Abdul Raman A. A., Hizaddin H. F., Bello M. M., Buthiyappan A. Review on the inherently safer design for chemical processes: Past, present and future // J. Clean. Prod. – 2021. – Т. 305. – С. 127154.
12. Matich E. K., Chavez Soria N. G., Aga D. S., Atilla-Gokcumen G. E. Applications of metabolomics in assessing ecological effects of emerging contaminants and pollutants on plants // J. Hazard. Mater. – 2019. – Т. 373. – С. 527-535.
13. Liu L., Wu Q., Miao X., Fan T., Meng Z., Chen X., Zhu W. Study on toxicity effects of environmental pollutants based on metabolomics: A review // Chemosphere. – 2022. – Т. 286 (2). – С. 131815.
14. Martínez-Gómez C., Vethaak A. D., Hylland K., Burgeot T., Köhler A., Lyons B. P., Thain J., Gubbins M. J., Davies I. M. A guide to toxicity assessment and monitoring effects at lower levels of biological organization following marine oil spills in european waters // ICES J. Mar. Sci. – 2010. – Т. 67, № 6. – С. 1105-1118.
15. WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification. – 2019 изд. – Geneva: World Health Organization, 2020. – 92 с.
16. Wen H., Deng H., Li B., Chen J., Zhu J., Zhang X., Yoshida S., Zhou Y. Mitochondrial diseases: from molecular mechanisms to therapeutic advances // Sig. Transduct. Target. Ther. – 2025. – Т. 10, № 1. – С. 9.
17. Mons U., Müezzinger A., Schöttker B., Dieffenbach A. K., Butterbach K., Schick M., Peasey A., De Vivo I., Trichopoulou A., Boffetta P., Brenner H. Leukocyte telomere length and all-cause, cardiovascular disease, and cancer mortality: Results from individual-participant-data meta-analysis of 2 large prospective cohort studies // Am. J. Epidemiol. – 2017. – Т. 185, № 12. – С. 1317-1326.
18. Egorova K. S., Ananikov V. P. Toxicity of metal compounds: Knowledge and myths // Organometallics. – 2017. – Т. 36, № 21. – С. 4071-4090.
19. Scherließ R. The MTT assay as tool to evaluate and compare excipient toxicity in vitro on respiratory epithelial cells // Int. J. Pharm. – 2011. – Т. 411, № 1-2. – С. 98-105.

20. Hansen M. B., Nielsen S. E., Berg K. Re-examination and further development of a precise and rapid dye method for measuring cell growth/cell kill // *J. Immunol. Methods.* – 1989. – T. 119, № 2. – C. 203-210.
21. Niles A. L., Moravec R. A., Riss T. L. Update on in vitro cytotoxicity assays for drug development // *Expert Opin. Drug Discov.* – 2008. – T. 3, № 6. – C. 655-669.
22. Guide for the care and use of laboratory animals. / Sciences N. A. o. – 8th изд. – Washington, DC, USA: The National Academies Press, 2011.
23. Toxicologist's pocket handbook. / Derelanko M. J. – Boca Raton: CRC Press, 2000. – 231 c.
24. Schlede E., Eppler R. Testing for skin sensitization according to the notification procedure for new chemicals: the Magnusson and Kligman test // *Contact Dermatitis.* – 1995. – T. 32, № 1. – C. 1-4.
25. Sax's dangerous properties of industrial materials. / Lewis R. J. – Hoboken, NJ: Wiley, 2004.
26. Kim S., Kang K., Kim H., Seo M. In vitro toxicity screening of fifty complex mixtures in HepG2 cells // *Toxics.* – 2024. – T. 12, № 2. – C. 126.
27. de Sousa Teixeira J. R., de Souza A. M., de Macedo-Sampaio J. V., Menezes F. P., Pereira B. F., de Medeiros S. R. B., Luchiari A. C. Embryotoxic effects of pesticides in zebrafish (*Danio Rerio*): Diflubenzuron, pyriproxyfen, and its mixtures // *Toxics.* – 2024. – T. 12, № 2. – C. 160.
28. Falfushynska H., Khatib I., Kasianchuk N., Lushchak O., Horyn O., Sokolova I. M. Toxic effects and mechanisms of common pesticides (Roundup and chlorpyrifos) and their mixtures in a zebrafish model (*Danio rerio*) // *Sci. Total. Environ.* – 2022. – T. 833. – C. 155236.
29. Keshavarz M. H., Shirazi Z., Davoodi Z. Simplified toxicity assessment in pharmaceutical and pesticide mixtures: Leveraging interpretable structural parameters // *Comput. Toxicol.* – 2024. – T. 30. – C. 100312.
30. Sigurnjak Bureš M., Ukić Š., Cvetnić M., Prevarić V., Markić M., Rogošić M., Kušić H., Bolanča T. Toxicity of binary mixtures of pesticides and pharmaceuticals toward *Vibrio fischeri*: Assessment by quantitative structure-activity relationships // *Environ. Pollut.* – 2021. – T. 275. – C. 115885.
31. Yang G., Chen C., Wang Y., Peng Q., Zhao H., Guo D., Wang Q., Qian Y. Mixture toxicity of four commonly used pesticides at different effect levels to the epigeic earthworm, *Eisenia fetida* // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* – 2017. – T. 142. – C. 29-39.
32. Kilpi-Koski J., Penttinen O.-P., Väisänen A. O., van Gestel C. A. M. Toxicity of binary mixtures of Cu, Cr and As to the earthworm *Eisenia andrei* // *Ecotoxicology.* – 2020. – T. 29, № 7. – C. 900-911.
33. Lin X., Gu Y., Zhou Q., Mao G., Zou B., Zhao J. Combined toxicity of heavy metal mixtures in liver cells // *J. Appl. Toxicol.* – 2016. – T. 36, № 9. – C. 1163-1172.
34. Guilherme de Oliveira K. M., de Sousa Carvalho E. H., dos Santos Filho F., R., Sivek T. W., Thá E. L., de Souza I. R., de Sousa Coelho L. D., Bertelli Pimenta M. E., Rodrigues de Oliveira G. A., de Oliveira D. P., Cestari M. M., Leme D. M. Single and mixture toxicity evaluation of three phenolic compounds to the terrestrial ecosystem // *J. Environ. Manag.* – 2021. – T. 296. – C. 113226.
35. Lee I., Ji K. Identification of combinations of endocrine disrupting chemicals in household chemical products that require mixture toxicity testing // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* – 2022. – T. 240. – C. 113677.
36. Ukić Š., Sigurnjak M., Cvetnić M., Markić M., Novak Stankov M., Rogošić M., Rasulev B., Lončarić Božić A., Kušić H., Bolanča T. Toxicity of pharmaceuticals in binary mixtures: Assessment by additive and non-additive toxicity models // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* – 2019. – T. 185. – C. 109696.
37. Ge S., Tian W., Lou Z., Wang X., Zhuang L.-L., Zhang J. Long-term toxicity assessment of antibiotics against *Vibrio fischeri*: Test method optimization and mixture toxicity prediction // *J. Hazard. Mater.* – 2024. – T. 469. – C. 133933.
38. Arreguin-Rebolledo U., Castelhana Gebara R., Valencia-Castañeda G., Rico-Martínez R., Frías-Espéricueta M. G., Longo E., Páez-Osuna F. Toxicity of binary-metal mixtures (As, Cd, Cu, Fe, Hg, Pb and Zn) in the euryhaline rotifer *Proales similis*: Antagonistic and synergistic effects // *Mar. Pollut. Bull.* – 2024. – T. 198. – C. 115819.

39. Zhang W., Li Q., Yang Y., Yu Y., Li S., Liu J., Xiao Y., Wen Y., Wang Q., Lei N., Gu P. Joint toxicity mechanisms of perfluorooctanoic acid and sulfadiazine on submerged macrophytes and periphytic biofilms // *J. Hazard. Mater.* – 2023. – T. 458. – C. 131910.
40. Jakobs G., Krüger J., Schüttler A., Altenburger R., Busch W. Mixture toxicity analysis in zebrafish embryo: A time and concentration resolved study on mixture effect predictivity // *Environ. Sci. Eur.* – 2020. – T. 32, № 1. – C. 143.
41. Nilén G., Larsson M., Hyötyläinen T., Keiter S. H. A complex mixture of polycyclic aromatic compounds causes embryotoxic, behavioral, and molecular effects in zebrafish larvae (*Danio rerio*), and in vitro bioassays // *Sci. Total. Environ.* – 2024. – T. 906. – C. 167307.
42. Toxicity and assessment of chemical mixtures. / Scientific Committee on Consumer Safety: European Commission, 2012.
43. Horváth I. T., Anastas P. T. Innovations and green chemistry // *Chem. Rev.* – 2007. – T. 107, № 6. – C. 2169-2173.
44. Green chemistry: Theory and practice. / Anastas P. T., Warner J. C. – Oxford, UK: Oxford University Press, 1998.
45. Sheldon R. A. The E factor 25 years on: The rise of green chemistry and sustainability // *Green Chem.* – 2017. – T. 19, № 1. – C. 18-43.
46. Anastas P., Eghbali N. Green chemistry: Principles and practice // *Chem. Soc. Rev.* – 2010. – T. 39, № 1. – C. 301-312.
47. Handbook of green chemistry and technology. Blackwell Science Ltd, 2002.
48. Matlin S. A., Cornell S. E., Krief A., Hopf H., Mehta G. Chemistry must respond to the crisis of transgression of planetary boundaries // *Chem. Sci.* – 2022. – T. 13, № 40. – C. 11710-11720.
49. Colberg J., Hii K. K., Koenig S. G. Importance of green and sustainable chemistry in the chemical industry // *Org. Process Res. Dev.* – 2022. – T. 26, № 8. – C. 2176-2178.
50. James S. L., Adams C. J., Bolm C., Braga D., Collier P., Frišić T., Grepioni F., Harris K. D. M., Hyett G., Jones W., Krebs A., Mack J., Maini L., Orpen A. G., Parkin I. P., Shearouse W. C., Steed J. W., Waddell D. C. Mechanochemistry: Opportunities for new and cleaner synthesis // *Chem. Soc. Rev.* – 2012. – T. 41, № 1. – C. 413-447.
51. Lasso J. D., Castillo-Pazos D. J., Li C.-J. Green chemistry meets medicinal chemistry: A perspective on modern metal-free late-stage functionalization reactions // *Chem. Soc. Rev.* – 2021. – T. 50, № 19. – C. 10955-10982.
52. Beil S., Markiewicz M., Pereira C. S., Stepnowski P., Thöming J., Stolte S. Toward the proactive design of sustainable chemicals: Ionic liquids as a prime example // *Chem. Rev.* – 2021. – T. 121, № 21. – C. 13132-13173.
53. Kar S., Sanderson H., Roy K., Benfenati E., Leszczynski J. Green chemistry in the synthesis of pharmaceuticals // *Chem. Rev.* – 2022. – T. 122, № 3. – C. 3637-3710.
54. Sheldon R. A. Metrics of green chemistry and sustainability: Past, present, and future // *ACS Sustainable Chem. Eng.* – 2018. – T. 6, № 1. – C. 32-48.
55. Tobiszewski M., Przychodzeń W., Bystrzanowska M., Milewska M. J. Organic syntheses greenness assessment with multicriteria decision analysis // *Green Chem.* – 2021. – T. 23, № 23. – C. 9583-9588.
56. Yue K., Zhou Q., Bird R., Zhu L., Zhang D., Li D., Zou L., Yang J., Fu X., Georges G. P. Trends and opportunities in organic synthesis: Global state of research metrics and advances in precision, efficiency, and green chemistry // *Org. Lett.* – 2023. – T. 25, № 13. – C. 2167-2171.
57. Trost B. M. The atom economy - A search for synthetic efficiency // *Science.* – 1991. – T. 254, № 5037. – C. 1471-1477.
58. Sheldon R. A. Organic synthesis; past, present and future // *Chem. Ind. (London).* – 1992. – C. 903-906.
59. Sheldon R. A. The E Factor: Fifteen years on // *Green Chem.* – 2007. – T. 9, № 12. – C. 1273-1283.
60. Sheldon R. A. E factors, green chemistry and catalysis: An Odyssey // *Chem. Commun.* – 2008. № 29. – C. 3352-3365.

61. Trost B. M. Atom economy - A challenge for organic synthesis: Homogeneous catalysis leads the way // *Angew. Chem., Int. Ed.* – 1995. – Т. 34, № 3. – С. 259-281.
62. Summerton L., Constandinou A. Beyond mass-based metrics: Evaluating the greenness of your reaction // *Green and sustainable medicinal chemistry: Methods, tools and strategies for the 21st century pharmaceutical industry* / Summerton L. и др. Royal Society of Chemistry, 2016.
63. McElroy C. R., Constantinou A., Jones L. C., Summerton L., Clark J. H. Towards a holistic approach to metrics for the 21st century pharmaceutical industry // *Green Chem.* – 2015. – Т. 17, № 5. – С. 3111-3121.
64. Mercer S. M., Andraos J., Jessop P. G. Choosing the greenest synthesis: A multivariate metric green chemistry exercise // *J. Chem. Educ.* – 2012. – Т. 89, № 2. – С. 215-220.
65. ISO 1404:2006. Environmental management - Life Cycle Assessment - Requirements and guidelines. – Geneva, Switzerland, 2006.
66. Green engineering: Environmentally conscious design of chemical processes. / Allen D. T., Shonnard D. R. – Upper Saddle River, NJ, USA: Prentice-Hall, 2001.
67. Handbook of physical-chemical properties and environmental fate for organic chemicals. / Mackay D., Shiu W.-Y., Ma K.-C., Lee S. C. – 2nd изд. – Boca Raton: CRC Press, 2006.
68. Environmental Life Cycle Assessment of products. / Heijungs R., Guinée J., Huppes G., Lankreijer H. A., Udo de Haes A., Wegener Sleswijk A. M. M., Ansems P. G., van Duin R., de Goede H. P. – Leiden, The Netherlands: CML, 1992.
69. Scientific assessment of ozone depletion: 1998 / WMO Global Ozone Research and Monitoring Project. – Geneva, Switzerland, 1999.
70. Scientific Assessment of Ozone Depletion: 1991 / WMO Global Ozone Research and Monitoring Project. – Geneva, Switzerland, 1992.
71. Carter W. P. L. Development of ozone reactivity scales for volatile organic compounds // *J. Air Waste Manag. Assoc.* – 1994. – Т. 44, № 7. – С. 881-899.
72. Climate change 2001: The scientific basis. / Change I. P. o. C. – Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press, 2001.
73. Boethling R. S., Howard P. H., Meylan W., Stiteler W., Beauman J., Tirado N. Group contribution method for predicting probability and rate of aerobic biodegradation // *Environ. Sci. Technol.* – 1994. – Т. 28, № 3. – С. 459-465.
74. Kwok E. S. C., Atkinson R. Estimation of hydroxyl radical reaction rate constants for gas-phase organic compounds using a structure-reactivity relationship: An update // *Atmos. Environ.* – 1995. – Т. 29, № 14. – С. 1685-1695.
75. Egorova K. S., Galushko A. S., Ananikov V. P. Introducing tox-Profiles of chemical reactions // *Angew. Chem., Int. Ed.* – 2020. – Т. 59, № 50. – С. 22296-22305.
76. Egorova K. S., Galushko A. S., Dzhemileva L. U., D'yakonov V. A., Ananikov V. P. Building bio-Profiles for common catalytic reactions // *Green Chem.* – 2021. – Т. 23, № 17. – С. 6373-6391.
77. Pentsak E. O., Dzhemileva L. U., D'Yakonov V. A., Shaydullin R. R., Galushko A. S., Egorova K. S., Ananikov V. P. Comparative assessment of heterogeneous and homogeneous Suzuki-Miyaura catalytic reactions using bio-Profiles and bio-Factors // *J. Organomet. Chem.* – 2022. – Т. 965-966. – С. 122319.
78. Egorova K. S., Galushko A. S., Dzhemileva L. U., D'yakonov V. A., Ananikov V. P. Application of bio-Profiles of chemical reactions for analysis of solvent impact on overall toxicity of C–C cross-coupling process // *Dokl. Chem.* – 2022. – Т. 504, № 2. – С. 106-117.
79. 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.
80. Егорова К. С. Исследование биологической активности ионных жидкостей с целью дизайна биологически активных ионных конъюгатов и построения биопрофилей химических реакций: дисс. ... д-ра хим. наук : 1.4.9 / Егорова Ксения Сергеевна. – М., 2022. – 295 с.
81. Science of synthesis: Cross coupling and Heck-type reactions / Larhed M., Molander G. A., Wolfe J.: Thieme, 2012. – 1052 с.

82. Miyaura N., Suzuki A. Stereoselective synthesis of arylated (E)-alkenes by the reaction of alk-1-enylboranes with aryl halides in the presence of palladium catalyst // *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* – 1979. № 19. – C. 866-867.
83. Miyaura N., Yamada K., Suzuki A. A new stereospecific cross-coupling by the palladium-catalyzed reaction of 1-alkenylboranes with 1-alkenyl or 1-alkynyl halides // *Tetrahedron Lett.* – 1979. – T. 20, № 36. – C. 3437-3440.
84. Tamao K., Sumitani K., Kumada M. Selective carbon-carbon bond formation by cross-coupling of Grignard reagents with organic halides. Catalysis by nickel-phosphine complexes // *J. Am. Chem. Soc.* – 1972. – T. 94, № 12. – C. 4374-4376.
85. King A. O., Okukado N., Negishi E.-i. Highly general stereo-, regio-, and chemo-selective synthesis of terminal and internal conjugated enynes by the Pd-catalyzed reaction of alkynylzinc reagents with alkenyl halides // *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* – 1977. № 19. – C. 683-684.
86. Milstein D., Stille J. K. A general, selective, and facile method for ketone synthesis from acid chlorides and organotin compounds catalyzed by palladium // *J. Am. Chem. Soc.* – 1978. – T. 100, № 11. – C. 3636-3638.
87. Heck R. F., Nolley J. P. Palladium-catalyzed vinylic hydrogen substitution reactions with aryl, benzyl, and styryl halides // *J. Org. Chem.* – 1972. – T. 37, № 14. – C. 2320-2322.
88. Mizoroki T., Mori K., Ozaki A. Arylation of olefin with aryl iodide catalyzed by palladium // *Bull. Chem. Soc. Jpn.* – 1971. – T. 44, № 2. – C. 581.
89. Sonogashira K., Tohda Y., Hagihara N. A convenient synthesis of acetylenes: catalytic substitutions of acetylenic hydrogen with bromoalkenes, iodoarenes and bromopyridines // *Tetrahedron Lett.* – 1975. – T. 16, № 50. – C. 4467-4470.
90. Guram A. S., Buchwald S. L. Palladium-catalyzed aromatic aminations with in situ generated aminostannanes // *J. Am. Chem. Soc.* – 1994. – T. 116, № 17. – C. 7901-7902.
91. Paul F., Patt J., Hartwig J. F. Palladium-catalyzed formation of carbon-nitrogen bonds. Reaction intermediates and catalyst improvements in the hetero cross-coupling of aryl halides and tin amides // *J. Am. Chem. Soc.* – 1994. – T. 116, № 13. – C. 5969-5970.
92. Magano J., Dunetz J. R. Large-scale applications of transition metal-catalyzed couplings for the synthesis of pharmaceuticals // *Chem. Rev.* – 2011. – T. 111, № 3. – C. 2177-2250.
93. Devendar P., Qu R.-Y., Kang W.-M., He B., Yang G.-F. Palladium-catalyzed cross-coupling reactions: A powerful tool for the synthesis of agrochemicals // *J. Agric. Food Chem.* – 2018. – T. 66, № 34. – C. 8914-8934.
94. Corbet J. P., Mignani G. Selected patented cross-coupling reaction technologies // *Chem. Rev.* – 2006. – T. 106, № 7. – C. 2651-2710.
95. Nicolaou K. C., Bulger P. G., Sarlah D. Palladium-catalyzed cross-coupling reactions in total synthesis // *Angew. Chem., Int. Ed.* – 2005. – T. 44, № 29. – C. 4442-4489.
96. Beletskaya I. P. // *New aspects of organic chemistry* / Yoshida Z., Ohshiro Y. – Tokyo: Kodansha, 1992. – C. 31.
97. Cheprakov A. V., Ponomareva N. V., Beletskaya I. P. Palladium catalyzed carbonylation of iodoarenes in aqueous solubilized systems // *J. Organomet. Chem.* – 1995. – T. 486, № 1-2. – C. 297-300.
98. Bumagin N. A., Bykov V. V., Beletskaya I. P. Synthesis of diaryls from phenylboric acid and aryl iodides in an aqueous medium // *Bull. Acad. Sci. USSR, Chem. Sci.* – 1989. – T. 38, № 10. – C. 2206-2206.
99. Uozumi Y., Danjo H., Hayashi T. Cross-coupling of aryl halides and allyl acetates with arylboron reagents in water using an amphiphilic resin-supported palladium catalyst // *J. Org. Chem.* – 1999. – T. 64, № 9. – C. 3384-3388.
100. Uozumi Y., Kobayashi Y. The Sonogashira reaction in water via an amphiphilic resin-supported palladium-phosphine complex under copper-free conditions // *Heterocycles*. – 2003. – T. 59, № 1. – C. 71.
101. Suzuka T., Okada Y., Oshiro K., Uozumi Y. Copper-free Sonogashira coupling in water with an amphiphilic resin-supported palladium complex // *Tetrahedron*. – 2010. – T. 66, № 5. – C. 1064-1069.

- 102.** Hirai Y., Uozumi Y. Clean synthesis of triarylamine: Buchwald-Hartwig reaction in water with amphiphilic resin-supported palladium complexes // *Chem. Commun.* – 2010. – T. 46, № 7. – C. 1103-1105.
- 103.** Selivanova A. V., Tyurin V. S., Beletskaya I. P. Palladium nanoparticles supported on poly(N-vinyl-imidazole-co-N-vinylcaprolactam) as an effective recyclable catalyst for the Suzuki reaction // *ChemPlusChem.* – 2014. – T. 79, № 9. – C. 1278-1283.
- 104.** Kuntz E. G. // *Chemtech.* – 1987. – T. 17. – C. 570-575.
- 105.** Beletskaya I. P., Cheprakov A. V. Aqueous transition metal catalysis in organic synthesis in water // *Synthesis in water* / Grieco P. A. – London, Weinheim, New York, Tokyo, Melbourne, Madras: Blackie Academic and Professional, 1998. – C. 141-222.
- 106.** Casalnuovo A. L., Calabrese J. C. Palladium-catalyzed alkylations in aqueous media // *J. Am. Chem. Soc.* – 1990. – T. 112, № 11. – C. 4324-4330.
- 107.** Fleckenstein C. A., Plenio H. Aqueous cross-coupling: Highly efficient Suzuki–Miyaura coupling of N-heteroaryl halides and N-heteroarylboronic acids // *Green Chem.* – 2007. – T. 9, № 12. – C. 1287-1291.
- 108.** Fleckenstein C., Roy S., Leuthäuser S., Plenio H. Sulfonated N-heterocyclic carbenes for Suzuki coupling in water // *Chem. Commun.* – 2007. № 27. – C. 2870-2872.
- 109.** Wu W.-Y., Chen S.-N., Tsai F.-Y. Recyclable and highly active cationic 2,2'-bipyridyl palladium(II) catalyst for Suzuki cross-coupling reaction in water // *Tetrahedron Lett.* – 2006. – T. 47, № 52. – C. 9267-9270.
- 110.** Landstrom E. B., Handa S., Aue D. H., Gallou F., Lipshutz B. H. EvanPhos: A ligand for ppm level Pd-catalyzed Suzuki–Miyaura couplings in either organic solvent or water // *Green Chem.* – 2018. – T. 20, № 15. – C. 3436-3443.
- 111.** Orecchia P., Slavcheva Petkova D., Goetz R., Rominger F., Hashmi A. S. K., Schaub T. Pd-Catalysed Suzuki–Miyaura cross-coupling of aryl chlorides at low catalyst loadings in water for the synthesis of industrially important fungicides // *Green Chem.* – 2021. – T. 23, № 20. – C. 8169-8180.
- 112.** Polyoxyl castor oil // *Meyler's side effects of drugs: The international encyclopedia of adverse drug reactions and interactions* / Aronson J. K. Elsevier, 2015. – C. 7674.
- 113.** Handa S., Fennewald J. C., Lipshutz B. H. Aerobic oxidation in nanomicelles of aryl alkynes in water at room temperature // *Angew. Chem., Int. Ed.* – 2014. – T. 53, № 13. – C. 3432-3435.
- 114.** Mattiello S., Rooney M., Sanzone A., Brazzo P., Sassi M., Beverina L. Suzuki-Miyaura micellar cross-coupling in water, at room temperature, and under aerobic atmosphere // *Org. Lett.* – 2017. – T. 19, № 3. – C. 654-657.
- 115.** Sanzone A., Mattiello S., Garavaglia G. M., Calascibetta A. M., Ceriani C., Sassi M., Beverina L. Efficient synthesis of organic semiconductors by Suzuki–Miyaura coupling in an aromatic micellar medium // *Green Chem.* – 2019. – T. 21, № 16. – C. 4400-4405.
- 116.** Era Y., Dennis J. A., Wallace S., Horsfall L. E. Micellar catalysis of the Suzuki Miyaura reaction using biogenic Pd nanoparticles from *Desulfovibrio alaskensis* // *Green Chem.* – 2021. – T. 23, № 22. – C. 8886-8890.
- 117.** Slavík P., Kurka D. W., Smith D. K. Palladium-scavenging self-assembled hybrid hydrogels - reusable highly-active green catalysts for Suzuki-Miyaura cross-coupling reactions // *Chem. Sci.* – 2018. – T. 9, № 46. – C. 8673-8681.
- 118.** Takale B. S., Thakore R. R., Kong F. Y., Lipshutz B. H. An environmentally responsible 3-pot, 5-step synthesis of the antitumor agent sonidegib using ppm levels of Pd catalysis in water // *Green Chem.* – 2019. – T. 21, № 23. – C. 6258-6262.
- 119.** Feizi Mohazzab B., Jaleh B., Issaabadi Z., Nasrollahzadeh M., Varma R. S. Stainless steel mesh-GO/Pd NPs: catalytic applications of Suzuki–Miyaura and Stille coupling reactions in eco-friendly media // *Green Chem.* – 2019. – T. 21, № 12. – C. 3319-3327.
- 120.** Wood A. B., Nandiwale K. Y., Mo Y., Jin B., Pomberger A., Schultz V. L., Gallou F., Jensen K. F., Lipshutz B. H. Continuous flow Suzuki–Miyaura couplings in water under micellar conditions in a CSTR cascade catalyzed by Fe/ppm Pd nanoparticles // *Green Chem.* – 2020. – T. 22, № 11. – C. 3441-3444.

121. Wood A. B., Plummer S., Robinson R. I., Smith M., Chang J., Gallou F., Lipshutz B. H. Continuous slurry plug flow Fe/ppm Pd nanoparticle-catalyzed Suzuki–Miyaura couplings in water utilizing novel solid handling equipment // *Green Chem.* – 2021. – T. 23, № 19. – C. 7724-7730.
122. Das M. K., Bobb J. A., Ibrahim A. A., Lin A., AbouZeid K. M., El-Shall M. S. Green synthesis of oxide-supported Pd nanocatalysts by laser methods for room-temperature carbon-carbon cross-coupling reactions // *ACS Appl. Mater. Interfaces.* – 2020. – T. 12, № 21. – C. 23844-23852.
123. Xiong G., Chen X.-L., You L.-X., Ren B.-Y., Ding F., Dragutan I., Dragutan V., Sun Y.-G. La-Metal-Organic Framework incorporating Fe₃O₄ nanoparticles, post-synthetically modified with Schiff base and Pd. A highly active, magnetically recoverable, recyclable catalyst for C-C cross-couplings at low Pd loadings // *J. Catal.* – 2018. – T. 361. – C. 116-125.
124. Zhang Q., Mao Z., Wang K., Phan N. T. S., Zhang F. Microwave-assisted aqueous carbon-carbon cross-coupling reactions of aryl chlorides catalysed by reduced graphene oxide supported palladium nanoparticles // *Green Chem.* – 2020. – T. 22, № 10. – C. 3239-3247.
125. Blanco M., Mosconi D., Tubaro C., Biffis A., Badocco D., Pastore P., Otyepka M., Bakandritsos A., Liu Z., Ren W., Agnoli S., Granozzi G. Palladium nanoparticles supported on graphene acid: A stable and eco-friendly bifunctional C–C homo- and cross-coupling catalyst // *Green Chem.* – 2019. – T. 21, № 19. – C. 5238-5247.
126. Thomas M., Sheikh M. U. D., Ahirwar D., Bano M., Khan F. Gold nanoparticle and graphene oxide incorporated strontium crosslinked alginate/carboxymethyl cellulose composites for o-nitroaniline reduction and Suzuki-Miyaura cross-coupling reactions // *J. Colloid Interface Sci.* – 2017. – T. 505. – C. 115-129.
127. Sobhani S., Hosseini Moghadam H., Skibsted J., Sansano J. M. A hydrophilic heterogeneous cobalt catalyst for fluoride-free Hiyama, Suzuki, Heck and Hirao cross-coupling reactions in water // *Green Chem.* – 2020. – T. 22, № 4. – C. 1353-1365.
128. Thawarkar S., Khupse N. D., Kumar A. Comparative investigation of the ionicity of aprotic and protic ionic liquids in molecular solvents by using conductometry and NMR spectroscopy // *Chemphyschem.* – 2016. – T. 17, № 7. – C. 1006-1017.
129. Akbarzadeh P., Koukabi N., Kolvari E. Polythiophene-functionalized magnetic carbon nanotube-supported copper(I) complex: a novel and retrievable heterogeneous catalyst for the "phosphine- and palladium-free" Suzuki-Miyaura cross-coupling reaction // *Mol. Divers.* – 2020. – T. 24, № 4. – C. 1125-1137.
130. Villamizar-Mogotocoro A.-F., Bonilla-Castañeda S.-M., Kouznetsov V. V. Efficient synthesis of new 6-arylphenanthridines based on microwave-assisted Suzuki–Miyaura cross-coupling and Pictet–Spengler dehydrogenative cyclization in a zinc chloride/[Bmim]BF₄ mixture // *Green Chem.* – 2022. – T. 24, № 20. – C. 7996-8004.
131. Satpute D. P., Vaidya G. N., Lokhande S. K., Shinde S. D., Bhujbal S. M., Chatterjee D. R., Rana P., Venkatesh A., Nagpure M., Kumar D. Organic reactions in aqueous media catalyzed by nickel // *Green Chem.* – 2021. – T. 23, № 17. – C. 6273-6300.
132. Beletskaya I. P., Ananikov V. P. Transition-metal-catalyzed C-S, C-Se, and C-Te bond formations via cross-coupling and atom-economic addition reactions. Achievements and challenges // *Chem. Rev.* – 2022. – T. 122, № 21. – C. 16110-16293.
133. Elumalai P., Mamlouk H., Yiming W., Feng L., Yuan S., Zhou H. C., Madrahimov S. T. Recyclable and reusable heteroleptic nickel catalyst immobilized on metal-organic framework for Suzuki-Miyaura coupling // *ACS Appl. Mater. Interfaces.* – 2018. – T. 10, № 48. – C. 41431-41438.
134. Handa S., Slack E. D., Lipshutz B. H. Nanonickel-catalyzed Suzuki-Miyaura cross-couplings in water // *Angew. Chem., Int. Ed.* – 2015. – T. 54, № 41. – C. 11994-11998.
135. Wei T., Zhang T., Huang B., Tuo Y., Cai M. Recyclable and reusable NiCl₂(PPh₃)₂/CuI/PEG-400/H₂O system for the Sonogashira coupling reaction of aryl iodides with alkynes // *Appl. Organomet. Chem.* – 2015. – T. 29, № 12. – C. 846-849.
136. Moghaddam F. M., Tavakoli G., Rezvani H. R. A copper-free Sonogashira reaction using nickel ferrite as catalyst in water // *Catal. Commun.* – 2015. – T. 60. – C. 82-87.

137. Lyons T. W., Sanford M. S. Palladium-catalyzed ligand-directed C-H functionalization reactions // *Chem. Rev.* – 2010. – T. 110, № 2. – C. 1147-1169.
138. Wencel-Delord J., Droge T., Liu F., Glorius F. Towards mild metal-catalyzed C-H bond activation // *Chem. Soc. Rev.* – 2011. – T. 40, № 9. – C. 4740-4761.
139. Kuhl N., Hopkinson M. N., Wencel-Delord J., Glorius F. Beyond directing groups: Transition-metal-catalyzed C-H activation of simple arenes // *Angew. Chem., Int. Ed.* – 2012. – T. 51, № 41. – C. 10236-10254.
140. Do H.-Q., Daugulis O. Copper-catalyzed arylation of heterocycle C-H bonds // *J. Am. Chem. Soc.* – 2007. – T. 129, № 41. – C. 12404-12405.
141. Cheng Y., Gu X., Li P. Visible-light photoredox in homolytic aromatic substitution: Direct arylation of arenes with aryl halides // *Org. Lett.* – 2013. – T. 15, № 11. – C. 2664-2667.
142. Ackermann L. Phosphine oxides as preligands in ruthenium-catalyzed arylations via C-H bond functionalization using aryl chlorides // *Org. Lett.* – 2005. – T. 7, № 14. – C. 3123-3315.
143. Mohr Y., Hisler G., Grousset L., Roux Y., Quadrelli E. A., Wisser F. M., Canivet J. Nickel-catalyzed and Li-mediated regiospecific C-H arylation of benzothiophenes // *Green Chem.* – 2020. – T. 22, № 10. – C. 3155-3161.
144. Ferlin F., Anastasiou I., Carpisassi L., Vaccaro L. Aerobic waste-minimized Pd-catalysed C-H alkenylation in GVL using a tube-in-tube heterogeneous flow reactor // *Green Chem.* – 2021. – T. 23, № 17. – C. 6576-6582.
145. Ferlin F., Zangarelli A., Lilli S., Santoro S., Vaccaro L. Waste-minimized synthesis of C2 functionalized quinolines exploiting iron-catalysed C-H activation // *Green Chem.* – 2021. – T. 23, № 1. – C. 490-495.
146. Findlay M. T., Hogg A. S., Douglas J. J., Larrosa I. Improving the sustainability of the ruthenium-catalysed N-directed C-H arylation of arenes with aryl halides // *Green Chem.* – 2023. – T. 25, № 6. – C. 2394-2400.
147. Nadres E. T., Daugulis O. Heterocycle synthesis via direct C-H/N-H coupling // *J. Am. Chem. Soc.* – 2012. – T. 134, № 1. – C. 7-10.
148. Wang X., Jin Y., Zhao Y., Zhu L., Fu H. Copper-catalyzed aerobic oxidative intramolecular C-H amination leading to imidazobenzimidazole derivatives // *Org. Lett.* – 2012. – T. 14, № 2. – C. 452-455.
149. Liu X., Sheng H., Zhou Y., Song Q. Palladium-catalyzed C-H bond activation for the assembly of N-aryl carbazoles with aromatic amines as nitrogen sources // *Chem. Commun.* – 2020. – T. 56, № 11. – C. 1665-1668.
150. Morofuji T., Ikarashi G., Kano N. Photocatalytic C-H amination of aromatics overcoming RedOx potential limitations // *Org. Lett.* – 2020. – T. 22, № 7. – C. 2822-2827.
151. Roane J., Daugulis O. A general method for aminoquinoline-directed, copper-catalyzed sp^2 C-H bond amination // *J. Am. Chem. Soc.* – 2016. – T. 138, № 13. – C. 4601-4607.
152. Shang M., Sun S.-Z., Dai H.-X., Yu J.-Q. Cu(II)-Mediated C-H amidation and amination of arenes: Exceptional compatibility with heterocycles // *J. Am. Chem. Soc.* – 2014. – T. 136, № 9. – C. 3354-3357.
153. Vu H. M., Yong J. Y., Chen F. W., Li X. Q., Shi G. Q. Rhodium-catalyzed C(sp^2)-H amidation of azine with sulfonamides // *J. Org. Chem.* – 2020. – T. 85, № 7. – C. 4963-4972.
154. Dong Y., Sun S., Yu J.-T., Cheng J. Rhodium(III)-catalyzed direct C-7 sulfonamidation and amination of indolines with arylsulfonamides and trifluoroacetamide // *Tetrahedron Lett.* – 2019. – T. 60, № 20. – C. 1349-1352.
155. Xiong H., Gu Y., Zhang S., Lu F., Ji Q., Liu L., Ma P., Yang G., Hou W., Xu H. Iridium-catalyzed C-H amidation of s-tetrazines // *Chem. Commun.* – 2020. – T. 56, № 34. – C. 4692-4695.
156. Xu H. B., Yang J. H., Chai X. Y., Zhu Y. Y., Dong L. Iridium(III)-Catalyzed C-H amidation/cyclization of NH-sulfoximines with N-alkoxyamides: Formation of thiadiazine 1-oxides // *Org. Lett.* – 2020. – T. 22, № 5. – C. 2060-2063.
157. Sherwood J., Clark J. H., Fairlamb I. J. S., Slattery J. M. Solvent effects in palladium catalysed cross-coupling reactions // *Green Chem.* – 2019. – T. 21, № 9. – C. 2164-2213.

158. Wilson K. L., Murray J., Jamieson C., Watson A. J. B. Cyrene as a bio-based solvent for the Suzuki–Miyaura cross-coupling // *Synlett*. – 2018. – T. 29, № 05. – C. 650-654.
159. Sydnés M. O. Green bio-based solvents in C-C cross-coupling reactions // *Curr. Green Chem.* – 2019. – T. 6, № 2. – C. 96-104.
160. Sherwood J. Suzuki-Miyaura cross coupling is not an informative reaction to demonstrate the performance of new solvents // *Beilstein J. Org. Chem.* – 2020. – T. 16. – C. 1001-1005.
161. Andrade M. A., Martins L. M. D. R. S. New trends in C-C cross-coupling reactions: The use of unconventional conditions // *Molecules*. – 2020. – T. 25, № 23. – C. 5506.
162. Marset X., Khoshnood A., Sotorriós L., Gómez-Bengoa E., Alonso D. A., Ramón D. J. Deep eutectic solvent compatible metallic catalysts: Cationic pyridiniophosphine ligands in palladium catalyzed cross-coupling reactions // *ChemCatChem*. – 2017. – T. 9, № 7. – C. 1269-1275.
163. Sheldon R. A. Green chemistry and resource efficiency: Towards a green economy // *Green Chem.* – 2016. – T. 18, № 11. – C. 3180-3183.
164. Griбанov P. S., Chesnokov G. A., Dzhevakov P. B., Kirilenko N. Y., Rzhhevskiy S. A., Ageshina A. A., Topchiy M. A., Bermeshev M. V., Asachenko A. F., Nechaev M. S. Solvent-free Suzuki and Stille cross-coupling reactions of 4- and 5-halo-1,2,3-triazoles // *Mendeleev Commun.* – 2019. – T. 29, № 2. – C. 147-149.
165. Chesnokov G. A., Griбанov P. S., Topchiy M. A., Minaeva L. I., Asachenko A. F., Nechaev M. S., Bermesheva E. V., Bermeshev M. V. Solvent-free Buchwald–Hartwig amination with low palladium loadings // *Mendeleev Commun.* – 2017. – T. 27, № 6. – C. 618-620.
166. Rzhhevskiy S. A., Topchiy M. A., Bogachev V. N., Minaeva L. I., Cherkashchenko I. R., Lavrov K. V., Sterligov G. K., Nechaev M. S., Asachenko A. F. Solvent-free palladium-catalyzed C–O cross-coupling of aryl bromides with phenols // *Mendeleev Commun.* – 2021. – T. 31, № 3. – C. 409-411.
167. Baran T., Sargin İ., Kaya M., Mulerčikas P., Kazlauskaitė S., Menteş A. Production of magnetically recoverable, thermally stable, bio-based catalyst: Remarkable turnover frequency and reusability in Suzuki coupling reaction // *Chem. Eng. J.* – 2018. – T. 331. – C. 102-113.
168. Grätz S., Wolfrum B., Borchardt L. Mechanochemical Suzuki polycondensation - from linear to hyperbranched polyphenylenes // *Green Chem.* – 2017. – T. 19, № 13. – C. 2973-2979.
169. Li X., Liu Y., Zhang L., Dong Y., Liu Q., Zhang D., Chen L., Zhao Z., Liu H. A novel electromagnetic mill promoted mechanochemical solid-state Suzuki–Miyaura cross-coupling reaction using ultra-low catalyst loading // *Green Chem.* – 2022. – T. 24, № 15. – C. 6026-6035.
170. Grebennikov N. O., Boiko D. A., Prima D. O., Madiyeva M., Minyaev M. E., Ananikov V. P. Boosting the generality of catalytic systems by the synergetic ligand effect in Pd-catalyzed C-N cross-coupling // *J. Catal.* – 2024. – T. 429. – C. 115240.
171. Guillet S. G., Voloshkin V. A., Saab M., Beliš M., Van Hecke K., Nagra F., Nolan S. P. Understanding existing and designing novel synthetic routes to Pd-PEPPSI-NHC and Pd-PEPPSI-PR₃ pre-catalysts // *Chem. Commun.* – 2020. – T. 56, № 44. – C. 5953–5956.
172. Chernenko A. Y., Pasyukov D. V., Astakhov A. V., Tafeenko V. A., Chernyshev V. M. Reactions of Pd-PEPPSI complexes with protic acids // *Russ. Chem. Bull.* – 2018. – T. 67, № 7. – C. 1196–1201.
173. Schmid T. E., Jones D. C., Songis O., Diebolt O., Furst M. R. L., Slawin A. M. Z., Cazin C. S. J. Mixed phosphine/N-heterocyclic carbene palladium complexes: Synthesis, characterization and catalytic use in aqueous Suzuki–Miyaura reactions // *Dalton Trans.* – 2013. – T. 42, № 20. – C. 7345–7353.
174. Aoyagi N., Furusho Y., Endo T. Cyclic amidine hydroiodide for the synthesis of cyclic carbonates and cyclic dithiocarbonates from carbon dioxide or carbon disulfide under mild conditions // *Tetrahedron*. – 2019. – T. 75, № 52. – C. 130781.
175. Ding L., Sun X., Huang C., Li J., Chen B. Structure–reactivity relationships in the ionic-liquid-catalyzed oxidation of cumene: Cation effects // *J. Mol. Liq.* – 2024. – T. 400. – C. 124563.
176. Hajipour A. R., Hosseini S. M., Mohammadsaleh F. DABCO-functionalized silica–copper(i) complex: A novel and recyclable heterogeneous nanocatalyst for palladium-free Sonogashira cross-coupling reactions // *New J. Chem.* – 2016. – T. 40, № 8. – C. 6939-6945.

177. Murata S., Iwamura H. Magnetic interaction between the triplet centers in ethynylenebis(phenylnitrenes) and 1,3-butadiyne-1,4-diylbis(phenylnitrenes) // *J. Am. Chem. Soc.* – 1991. – T. 113, № 15. – C. 5547-5556.
178. Takemoto S., Shibata E., Nakajima M., Yumoto Y., Shimamoto M., Matsuzaka H. Ruthenium-sulfonamide-catalyzed direct dehydrative condensation of benzylic C-H bonds with aromatic aldehydes // *J. Am. Chem. Soc.* – 2016. – T. 138, № 45. – C. 14836-14839.
179. Merad J., Grant P. S., Stopka T., Sabbatani J., Meyrelles R., Preinfalk A., Matyasovsky J., Maryasin B., González L., Maulide N. Direct stereodivergent olefination of carbonyl compounds with sulfur ylides // *J. Am. Chem. Soc.* – 2022. – T. 144, № 27. – C. 12536-12543.
180. Faggyas R. J., Grace M., Williams L., Sutherland A. Multibond forming tandem reactions of anilines via stable aryl diazonium salts: One-pot synthesis of 3,4-dihydroquinolin-2-ones // *J. Org. Chem.* – 2018. – T. 83, № 20. – C. 12595-12608.
181. Babij N. R., McCusker E. O., Whiteker G. T., Canturk B., Choy N., Creemer L. C., De Amicis C. V., Hewlett N. M., Johnson P. L., Knobelsdorf J. A., Li F., Lorschbach B. A., Nugent B. M., Ryan S. J., Smith M. R., Yang Q. NMR chemical shifts of trace impurities: Industrially preferred solvents used in process and Green chemistry // *Org. Process Res. Dev.* – 2016. – T. 20, № 3. – C. 661-667.
182. Khalef L., Lydia R., Filicia K., Moussa B. Cell viability and cytotoxicity assays: Biochemical elements and cellular compartments // *Cell Biochem. Funct.* – 2024. – T. 42, № 3. – C. e4007.
183. Boichenko D. S., Kolomoets N. I., Boiko D. A., Galushko A. S., Posvyatenko A. V., Kolesnikov A. E., Egorova K. S., Ananikov V. P. Build-a-bio-Strip: An online platform for rapid toxicity assessment in chemical synthesis // *J. Chem. Inf. Model.* – 2024. – T. 64, № 22. – C. 8373-8378.
184. Feinstein J., Sivaraman G., Picel K., Peters B., Vázquez-Mayagoitia Á., Ramanathan A., MacDonell M., Foster I., Yan E. Uncertainty-informed deep transfer learning of perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substance toxicity // *J. Chem. Inf. Model.* – 2021. – T. 61, № 12. – C. 5793-5803.
185. Fu M., Yang Y., Zhang X., Lei B., Chen T., Chen Y. In vitro profiling of toxicity effects of different environmental factors on skin cells // *Toxics.* – 2024. – T. 12, № 2. – C. 108.
186. Waly M. I., Al Moundhri M. S., Ali B. H. Effect of curcumin on cisplatin- and oxaliplatin-induced oxidative stress in human embryonic kidney (HEK) 293 cells // *Ren. Fail.* – 2011. – T. 33, № 5. – C. 518-523.
187. Angelis I. D., Turco L. Caco-2 cells as a model for intestinal absorption // *Curr. Protoc. Toxicol.* – 2011. – T. 47, № 1. – C. 20.26.21-20.26.15.
188. Egorova K. S., Ananikov V. P. Which metals are green for catalysis? Comparison of the toxicities of Ni, Cu, Fe, Pd, Pt, Rh, and Au salts // *Angew. Chem., Int. Ed.* – 2016. – T. 55, № 40. – C. 12150-12162.
189. Drzyzga O. Diphenylamine and derivatives in the environment: A review // *Chemosphere.* – 2003. – T. 53, № 8. – C. 809-818.
190. Kourounakis A. P., Xanthopoulos D., Tzara A. Morpholine as a privileged structure: A review on the medicinal chemistry and pharmacological activity of morpholine containing bioactive molecules // *Med. Res. Rev.* – 2020. – T. 40, № 2. – C. 709-752.
191. Ingoglia B. T., Wagen C. C., Buchwald S. L. Biaryl monophosphine ligands in palladium-catalyzed C-N coupling: An updated user's guide // *Tetrahedron.* – 2019. – T. 75, № 32. – C. 4199-4211.
192. Badisa R. B., Darling-Reed S. F., Joseph P., Cooperwood J. S., Latinwo L. M., Goodman C. B. Selective cytotoxic activities of two novel synthetic drugs on human breast carcinoma MCF-7 cells // *Anticancer Res.* – 2009. – T. 29, № 8. – C. 2993-2996.
193. Szakács G., Annereau J.-P., Lababidi S., Shankavaram U., Arciello A., Bussey K. J., Reinhold W., Guo Y., Kruh G. D., Reimers M., Weinstein J. N., Gottesman M. M. Predicting drug sensitivity and resistance: Profiling ABC transporter genes in cancer cells // *Cancer Cell.* – 2004. – T. 6, № 2. – C. 129-137.
194. Jaeger S., Duran-Frigola M., Aloy P. Drug sensitivity in cancer cell lines is not tissue-specific // *Mol. Cancer.* – 2015. – T. 14. – C. 40.

195. 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. – T. 3, № 3. – C. 364-372.
196. Galushko A. S., Prima D. O., Burykina J. V., Ananikov V. P. Comparative study of aryl halides in Pd-mediated reactions: Key factors beyond the oxidative addition step // *Inorg. Chem. Front.* – 2021. – T. 8, № 3. – C. 620-635.
197. Sakai H. A., Liu W., Le C. C., MacMillan D. W. C. Cross-electrophile coupling of unactivated alkyl chlorides // *J. Am. Chem. Soc.* – 2020. – T. 142, № 27. – C. 11691-11697.
198. Lee G. S., Kim D., Hong S. H. Pd-catalyzed formal Mizoroki-Heck coupling of unactivated alkyl chlorides // *Nat. Commun.* – 2021. – T. 12, № 1. – C. 991.
199. Cilurzo F., Vistoli G., Selmin F., Gennari C. G. M., Musazzi U. M., Franzé S., Lo Monte M., Minghetti P. An insight into the skin penetration enhancement mechanism of N-methylpyrrolidone // *Mol. Pharmaceutics.* – 2014. – T. 11, № 3. – C. 1014-1021.
200. Cavallo G., Metrangolo P., Milani R., Pilati T., Priimagi A., Resnati G., Terraneo G. The halogen bond // *Chem. Rev.* – 2016. – T. 116, № 4. – C. 2478-2601.
201. Corradi E., Meille S. V., Messina M. T., Metrangolo P., Resnati G. Halogen bonding versus hydrogen bonding in driving self-assembly processes // *Angew. Chem., Int. Ed.* – 2000. – T. 39, № 10. – C. 1782-1786.
202. Aakeröy C. B., Chopade P. D., Desper J. Avoiding “synthon crossover” in crystal engineering with halogen bonds and hydrogen bonds // *Cryst. Growth Des.* – 2011. – T. 11, № 12. – C. 5333-5336.
203. Aakeröy C. B., Fasulo M., Schultheiss N., Desper J., Moore C. Structural competition between hydrogen bonds and halogen bonds // *J. Am. Chem. Soc.* – 2007. – T. 129, № 45. – C. 13772-13773.
204. Messina M. T., Metrangolo P., Panzeri W., Ragg E., Resnati G. Perfluorocarbon-hydrocarbon self-assembly. Part 3. Liquid phase interactions between perfluoroalkylhalides and heteroatom containing hydrocarbons // *Tetrahedron Lett.* – 1998. – T. 39, № 49. – C. 9069-9072.
205. Metrangolo P., Panzeri W., Recupero F., Resnati G. Perfluorocarbon-hydrocarbon self-assembly: Part 16. ¹⁹F NMR study of the halogen bonding between halo-perfluorocarbons and heteroatom containing hydrocarbons // *J. Fluor. Chem.* – 2002. – T. 114, № 1. – C. 27-33.
206. Xu K., Ho D. M., Pascal R. A. Azaaromatic chlorides: A prescription for crystal structures with extensive nitrogen-chlorine donor-acceptor interactions // *J. Am. Chem. Soc.* – 1994. – T. 116, № 1. – C. 105-110.
207. Müller M., Albrecht M., Gossen V., Peters T., Hoffmann A., Raabe G., Valkonen A., Rissanen K. Anion- π Interactions in salts with polyhalide anions: Trapping of I₄²⁻ // *Chem. Eur. J.* – 2010. – T. 16, № 41. – C. 12446-12453.
208. Wendler K., Thar J., Zahn S., Kirchner B. Estimating the hydrogen bond energy // *J. Phys. Chem. A.* – 2010. – T. 114, № 35. – C. 9529-9536.
209. Řezáč J., Riley K. E., Hobza P. Benchmark calculations of noncovalent interactions of halogenated molecules // *J. Chem. Theory Comput.* – 2012. – T. 8, № 11. – C. 4285-4292.
210. Reid S. A., Nyambo S., Muzangwa L., Uhler B. π -Stacking, C-H/ π , and halogen bonding interactions in bromobenzene and mixed bromobenzene-benzene clusters // *J. Phys. Chem. A.* – 2013. – T. 117, № 50. – C. 13556-13563.

Список основных публикаций по теме диссертационного исследования

Статьи в реферируемых и рецензируемых журналах:

- [S1] 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.
- [S2] 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.
- [S3] 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.
- [S4] 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.

Тезисы устных и постерных докладов на научных конференциях:

- [S5] 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.
- [S6] 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.
- [S7] 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.

Приложение 1. Экспериментальные значения 24-часовых полумаксимальных цитотоксических концентраций индивидуальных компонентов реакций каталитического кросс-сочетания

Вещества	M _w , г·моль ⁻¹	Количество вещества в реакции, ммоль ^б	24-ч CC ₅₀ , mM ^а				tSI (CaCo-2/ HEK293T)	tSI (CaCo-2/ FRSN)
			CaCo-2	HEK293T	FRSN	DF-1		
Исходные соединения 1 (SM1)								
Фенилацетилен	102,14	1,00	13,907 (11,268-16,545)	28,960 (18,033-39,887)	19,513 (11,123-27,902)	-	0,48	0,71
1-Этинил-3-нитробензол	147,13	1,00	2,492 (0,798-4,186)	4,441 (2,164-6,718)	5,524 (2,102-8,946)	-	0,56	0,45
Стирол	104,15	1,00	10,416 (6,474-14,357)	46,606 (17,818-75,394)	12,773 (8,254-17,292)	>16 ^б	0,22	0,82
4-Фторстирол	122,14	1,00	4,961 (2,751-7,171)	18,634 (8,087-29,181)	3,959 (1,003-6,914)	-	0,27	1,25
4-Хлорстирол	138,59	1,00	3,882 (2,711-5,052)	12,073 (9,238-14,909)	2,007 (1,169-2,845)	-	0,32	1,93
Анилин	93,129	1,00	11,032 (6,089-15,975)	28,567 (24,105-33,029)	32,03 (21,50-42,56)	-	0,39	0,34
Морфолин	87,1	1,00	40,284 (27,463-53,105)	63,597 (40,515-86,679)	34,75 (26,97-42,53)	-	0,63	1,16
Исходные соединения 2 (SM2)								
Хлорбензол	112,55	1,00	8,274 (7,014-9,533)	36,047 (30,006-42,087)	6,300 (1,317-11,284)	96,585 (56,409-136,761)	0,23	1,31
Бромбензол	157,01	1,00	5,546 (4,449-6,643)	17,497 (12,613-22,380)	4,803 (1,874-7,732)	100,673 (59,798-141,547)	0,32	1,15
Йодбензол	204,01	1,00	3,349 (1,595-5,104)	9,543 (6,517-12,568)	3,333 (1,915-4,750)	3,318 (1,480-5,155)	0,35	1,00
4-Хлортолуол	126,58	1,00	3,258 (2,345-4,171)	17,477 (7,053-27,900)	7,805 (4,896-10,714)	-	0,19	0,42
4-Бромтолуол	171,03	1,00	2,527 (0,984-4,069)	27,633 (21,673-33,594)	9,913 (6,911-12,915)	-	0,09	0,25
4-Йодтолуол	218,03	1,00	3,090 (2,192-3,988)	18,333 (6,274-30,393)	6,151 (5,279-7,023)	-	0,17	0,50
1-Бром-4-нитробензол	202,01	1,00	>2 ^б	>4 ^б	>10 ^б	-	0,50	0,20

1-Йод-4-нитробензол	249,01	1,00	>20 ^В	>35 ^В	>20 ^В	-	0,57	1,00
1-Хлор-4-нитробензол	157,55	1,00	>16 ^В	>33 ^В	11,846 (3,789-19,904)	-	0,48	1,35
1-Бром-4-метоксибензол	187,04	1,00	7,915 (4,567-11,263)	24,195 (13,868-34,522)	6,500 (2,858-10,143)	-	0,33	1,22
1-Йод-4-метоксибензол	234,04	1,00	23,464 (15,107-31,821)	34,293 (27,562-41,023)	11,793 (10,574-13,013)	-	0,68	1,99
Катализаторы 1 (СТ1)								
PdCl ₂	177,33	0,01	0,698 (0,522-0,875)	0,724 (0,347-1,102)	0,385 (0,305-0,465)	-	0,96	1,81
Pd(OAc) ₂	224,50	0,01	1,035 (0,421-1,650)	1,096 (0,640-1,553)	0,709 (0,510-0,908)	1,424 (0,539-2,310)	0,94	1,46
Pd(acac) ₂	304,64	0,01	0,037 (0,026-0,049)	0,014 (0,009-0,019)	0,007 (0,005-0,009)	-	2,64	5,29
[Pd(dppb)Cl ₂]	603,8	0,01	0,614 (0,153-1,075)	> 2 ^В	> 2,87 ^В	-	0,31	0,21
[Pd(IPr)(Py)Cl ₂]	645,02	0,01	0,0375 (0,0175-0,0575)	0,0387 (0,0241-0,0534)	0,0210 (0,0203-0,0216)	-	0,97	1,79
[Pd(SPhos)(Py)Cl ₂]	666,96	0,01	0,196 (0,127-0,264)	0,268 (0,046-0,490)	0,140 (0,0403-0,239)	-	0,73	1,40
[Pd(PCy ₃) ₂ Cl ₂]	738,18	0,01	0,858 (0,367-1,349)	0,727 (0,211-1,243)	0,0326 (0,0287-0,0365)	-	1,18	26,32
[Pd(SPhos)(IPr)Cl ₂]	976,457	0,01	0,201 (0,146-0,256)	1,324 (0,0851-2,562)	> 1 ^В	-	0,15	0,20
[Pd(IPr)(μ-Cl)Cl] ₂	1131,838	0,01	0,00824 (0,00434-0,0121)	0,01238 (0,00265-0,02212)	0,00219 (0,00168-0,00270)	-	0,67	3,76
Катализаторы 2 (СТ2)								
CuBr	143,45	0,01	0,197 (0,134-0,260)	0,195 (0,165-0,225)	0,164 (0,093-0,235)	-	1,01	1,20
CuI	190,45	0,01	0,479 (0,237-0,722)	0,623 (0,397-0,850)	0,306 (0,140-0,472)	-	0,77	1,57
Основания (R)								
Et ₂ NH	73,138	1,00	13,785 (3,492-24,077)	11,255 (1,261-21,249)	23,963 (18,375-29,552)	-	1,22	0,58
Et ₃ N	101,19	1,00	29,270 (17,623-40,917)	38,997 (30,689-47,304)	119,525 (103,494-135,556)	7,151 (4,836-9,467)	0,75	0,24
Na ₂ CO ₃	105,99	1,00	45,423	32,063	46,313	-	1,42	0,98

			(31,753-59,094)	(24,104-40,022)	(39,130-53,497)			
K ₂ CO ₃	138,21	1,00	29,997 (23,581-36,413)	32,360 (25,446-39,274)	49,953 (24,034-75,873)	-	0,93	0,60
Cs ₂ CO ₃	325,82	1,00	18,278 (13,713-22,842)	7,113 (5,302-8,923)	27,244 (18,986-35,502)	-	2,57	0,67
NaO ^t Bu	96,105	1,00	19,92 (15,12-24,72)	9,028 (3,680-14,37)	22,404 (12,217-32,591)	-	2,21	0,89
KO ^t Bu	112,212	1,00	24,245 (17,065-31,425)	>6,8 ^B	18,847 (13,549-24,144)	-	3,57	1,29
K ₃ PO ₄	212,27	1,00	7,949 (4,393-11,505)	21,813 (19,606-24,020)	19,628 (14,695-24,560)	-	0,36	0,40
<i>Растворители (S)</i>								
Вода	18,02	110,80 (55,40)	>11000	>11000	>11000	-	1	1
Диметилформамид (ДМФ)	73,09	25,83 (12,92)	>35 ^B	>139 ^B	>34 ^B	-	0,25	1,03
N-метилпирролидон	99,13	21,00 (10,50)	144,300 (108,218-180,382)	192,500 (161,918-223,082)	118,167 (86,989-149,345)	143,05 (108,68-177,42)	0,75	1,22
Тетрагидрофуран	72,11	36,93	443,500 (310,016-576,984)	> 400 ^B	313,15 (251,45-374,85)	-	1,11	1,42
<i>трет</i> -Бутанол	74,123	31,34	112,423 (69,633-155,214)	> 400 ^B	261,7 (228,1-295,3)	-	0,28	0,43
1,4-Диоксан	88,11	35,07	218,647 (110,555-326,739)	> 560 ^B	252,333 (162,344-342,322)	-	0,39	0,87
Толуол	92,14	37,55	240,825 (173,556-308,094)	59,597 (34,611-84,582)	123,233 (118,201-128,265)	-	4,04	1,95
<i>Основные и побочные продукты (P или SP)</i>								
Дифенилацетилен	178,23	1,00	>11 ^B	>24 ^B	19,790 (10,992-28,588)	-	0,56	0,46
1-Нитро-4-(фенилэтинил)бензол	223,23	1,00	>10 ^B	>10 ^B	>11 ^B	-	0,91	1,00
1-Нитро-3-((4-нитрофенил)этинил)бензол	268,23	1,00	10,101 (6,978-13,224)	11,360 (10,679-12,041)	0,535 (0,169-0,902)	-	18,88	0,89
1-((4-Метоксифенил)этинил)-3-нитробензол	253,26	1,00	5,150 (1,163-9,136)	2,317 (1,175-3,459)	9,493 (4,860-14,127)	-	0,54	2,22
(E)-Стильбен	180,25	1,00	>58 ^B	>58 ^B	>33 ^B	> 34 ^B	1,00	1,76
(E)-4-Хлорстильбен	214,69	1,00	5,634 (2,796-8,473)	8,409 (2,821-13,998)	2,336 (0,891-3,782)	-	0,67	2,41

(E)-4-Нитростильбен	225,25	1,00	>10 ^В	>9 ^В	22,287 (20,685-23,888)	-	1,11	0,45
(E)-4-Фтор-4'-нитростильбен	243,24	1,00	>2 ^В	>15 ^В	18,167 (15,695-20,638)	-	0,13	0,11
(E)-4-Хлор-4'-нитростильбен	259,69	1,00	>6 ^В	>13 ^В	>13	-	0,46	0,46
(E)-4-Метоксистильбен	210,28	1,00	>34 ^В	>8 ^В	33,720 (26,234-41,206)	-	4,25	1,01
1,1-Дифенилэтилен	180,25	1,00	-	-	-	> 28 ^В	-	-
Дифениламин	169,23	1,00	1,441 (0,286-2,597)	6,448 (4,381-8,515)	16,753 (3,740-29,765)	-	0,22	0,09
4-(<i>n</i> -Толил)морфолин	177,247	1,00	> 19	> 16	> 20,48	-	1,19	0,93
Сопутствующие продукты (ВР)								
Et ₂ NH·HCl	109,60	1,00	>13 ^В	80,518 (70,500-90,535)	>95 ^В	-	0,16	0,14
Et ₂ NH·HBr	154,05	1,00	38,833 (27,087-50,580)	>36 ^С	42,133 (31,963-52,304)	-	1,08	0,92
Et ₂ NH·HI	201,05	1,00	9,903 (6,404-13,401)	87,748 (71,546-103,949)	66,827 (60,219-73,434)	-	0,11	0,15
Et ₃ N·HCl	137,6	1,00	>19 ^В	>39 ^В	>86 ^В	31,673 (23,453-39,892)	0,49	0,22
Et ₃ N·HBr	182,104	1,00	27,290 (14,732-39,848)	72,057 (61,478-82,636)	53,413 (51,322-55,505)	39,21 (35,55-42,87)	0,38	0,51
Et ₃ N·HI	229,104	1,00	17,823 (12,807-2,839)	56,670 (42,050-71,290)	55,937 (40,497-71,376)	51,16 (41,26-61,06)	0,31	0,32
NaCl	58,44	1,00	> 130 ^Г	158,93 ^Д (122,64-195,23)	282,86 ^Ж (254,84-310,89)	-	0,82	0,46
NaBr	102,89	1,00	185,880 (107,519-264,241)	80,040 (64,682-95,398)	163,100 (137,261-188,939)	-	2,32	1,14
NaI	149,89	1,00	184,733 (167,782-201,684)	80,103 (77,624-82,583)	127,267 (89,611-164,922)	-	2,31	1,45
KCl	74,55	1,00	45,03 ^Е (25,56-64,49)	52,95 ^Е (33,86-72,03)	133,933 ^З (115,119-152,748)	-	0,85	0,34
KBr	119,01	1,00	314,733 (256,230-373,237)	67,760 (42,527-92,993)	89,727 (55,567-123,886)	-	4,64	3,51
KI	166,00	1,00	112,300 (103,109-121,491)	55,627 (49,419-61,835)	64,477 (57,074-71,880)	-	2,02	1,74
CsCl	168,36	1,00	17,688 (15,668-19,707)	52,297 (37,976-66,617)	94,607 (65,541-123,672)	-	0,34	0,19

CsBr	212,81	1,00	34,535 (30,465-38,605)	58,418 (47,685-69,150)	84,757 (62,806-106,707)	-	0,59	0,41
CsI	259,81	1,00	27,293 (14,467-41,118)	40,437 (27,602-53,272)	83,138 (75,238-91,037)	-	0,67	0,33

^aРассматривается 100% конверсия. Для ясности в расчетах использовалось максимально возможное количество побочного продукта. ^bВ скобках указаны 95% доверительные интервалы. ^bТочное значение не удалось измерить из-за технических трудностей (недостаточная растворимость в культуральной среде или превышение значения об./об. в культуральной среде). ^r Учитывая нативную концентрацию 110,34 мМ в культуральной среде (DMEM), не удалось подобрать математическую модель для определения точного значения CC₅₀. ^d Учитывалась нативная концентрация 110,34 мМ в культуральной среде (DMEM). ^e Учитывалась нативная концентрация 5,33 мМ в культуральной среде (DMEM). ^ж Учитывалась нативная концентрация 120,6 мМ в культуральной среде (DMEM/F-12). ^з Учитывалась нативная концентрация 4,16 мМ в культуральной среде (DMEM/F-12). tSI, индекс опухолевой селективности.

Приложение 2. Токсикограммы реакций Бахвальда-Хартвига

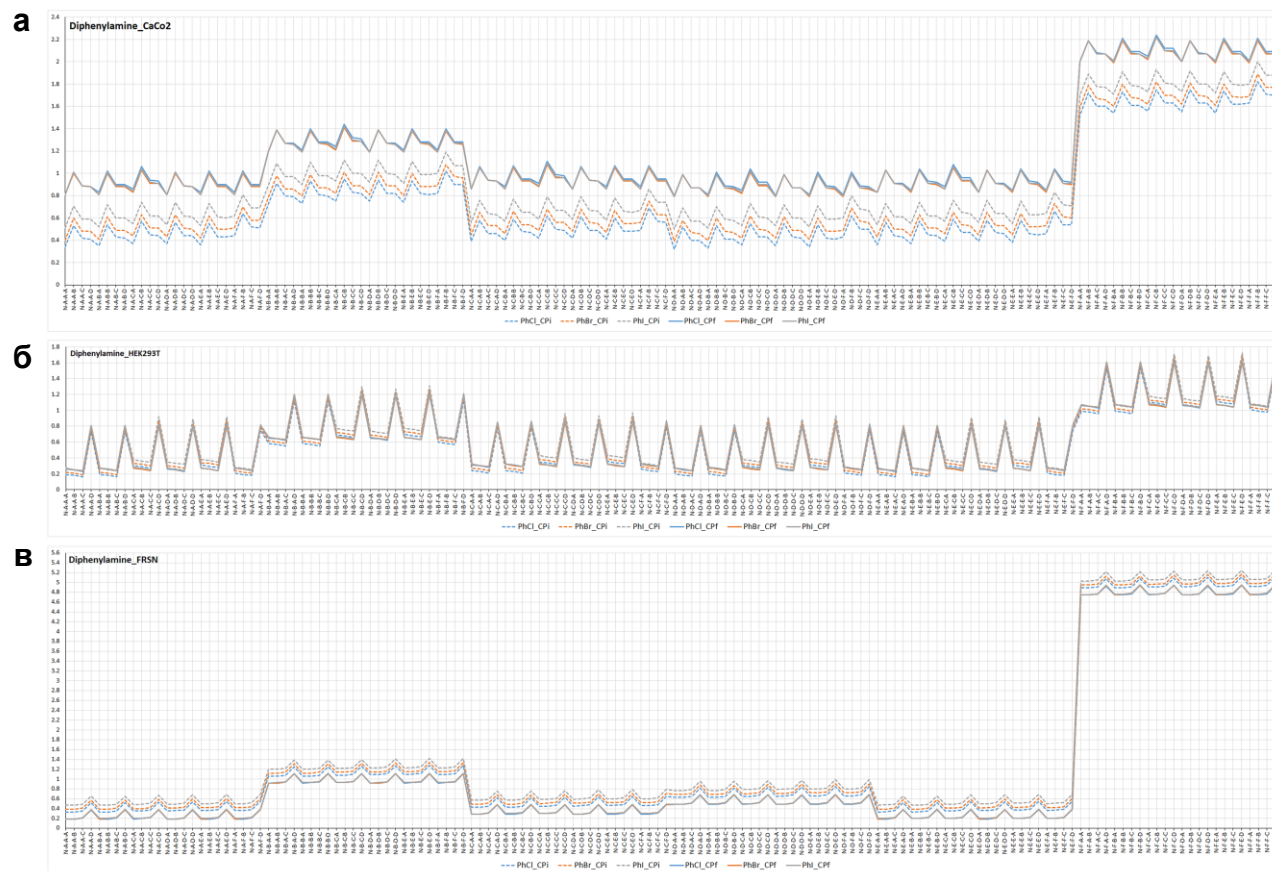


Рисунок S1. Токсикограмма 432 путей синтеза ДФА при изменении исходного соединения 2 (SM2) в соответствии с 24-часовыми значениями CC_{50} отдельных веществ, измеренными на клеточных линиях CaCo-2 (а), HEK293T (б) и FRSN (в). Ось x соответствует отдельным синтетическим путям, тогда как ось y соответствует 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), катализатор, основание и растворитель соответственно. CP_i показаны пунктирными линиями, а CR_i показаны сплошными линиями.

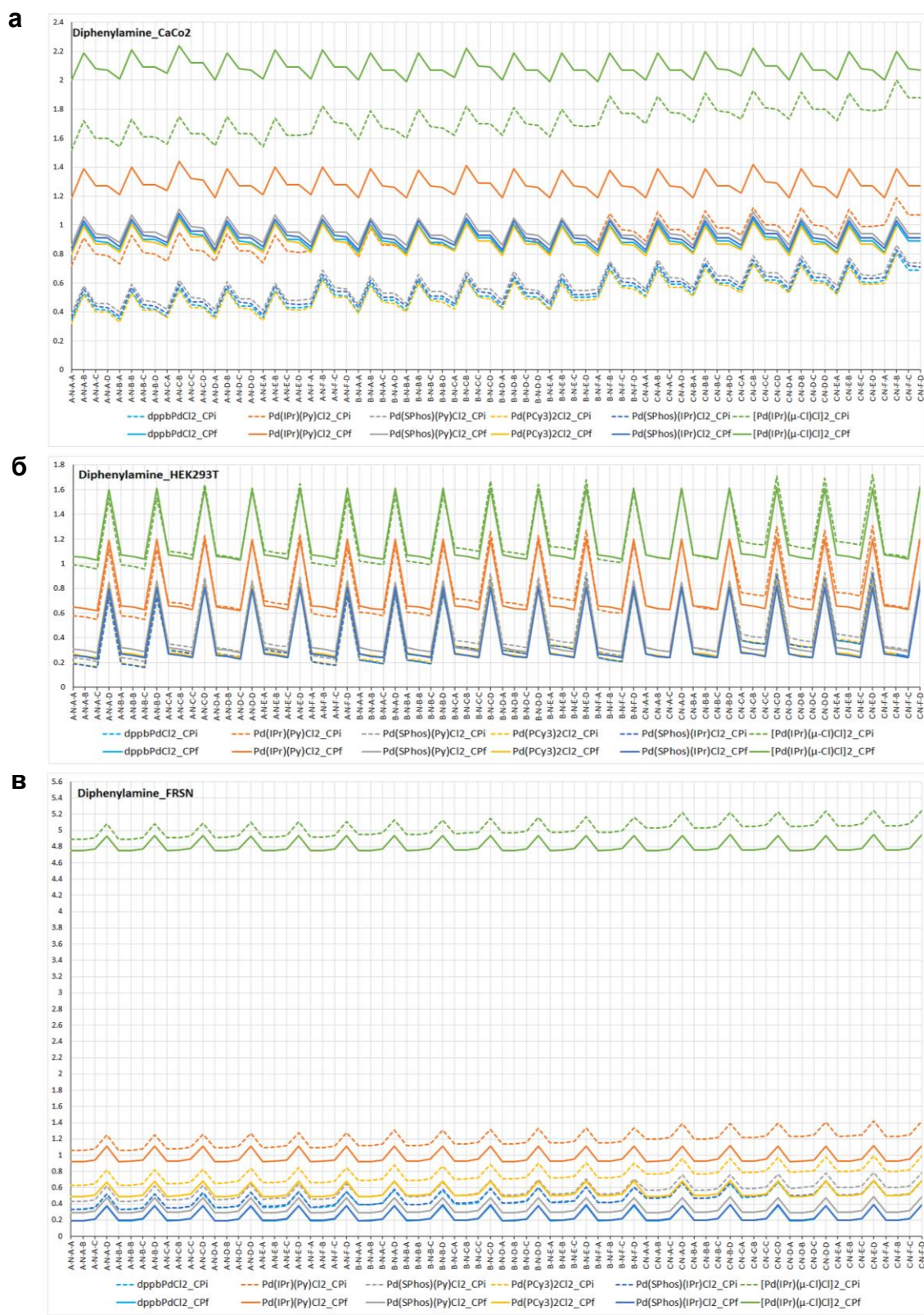


Рисунок S2. Токсикограмма 432 путей синтеза ДФА при изменении катализатора (СТ) в соответствии с 24-часовыми значениями CC_{50} отдельных веществ, измеренными на клеточных линиях CaCo-2 (а), HEK293T (б) и FRSN (в). Ось x соответствует отдельным синтетическим путям, тогда как ось y соответствует цитотоксическим потенциалам соответствующих реакций. Первая, вторая, третья и четвертая буквы в названии реакции представляют тип исходного соединения 2, катализатор (здесь он обозначен как N, чтобы показать проверяемый параметр), основание и растворитель соответственно. CP_i показаны пунктирными линиями, а CP_f показаны сплошными линиями.



Рисунок S3. Токсикограмма 432 путей синтеза ДФА при изменении основания (R) в соответствии с 24-часовыми значениями CC_{50} отдельных веществ, измеренными на клеточных линиях CaCo-2 (a), HEK293T (б) и FRSN (в). 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, катализатор, основание (здесь оно обозначено как N, чтобы показать проверяемый параметр) и растворитель соответственно. CP_i показаны пунктирными линиями, а CP_f показаны сплошными линиями.

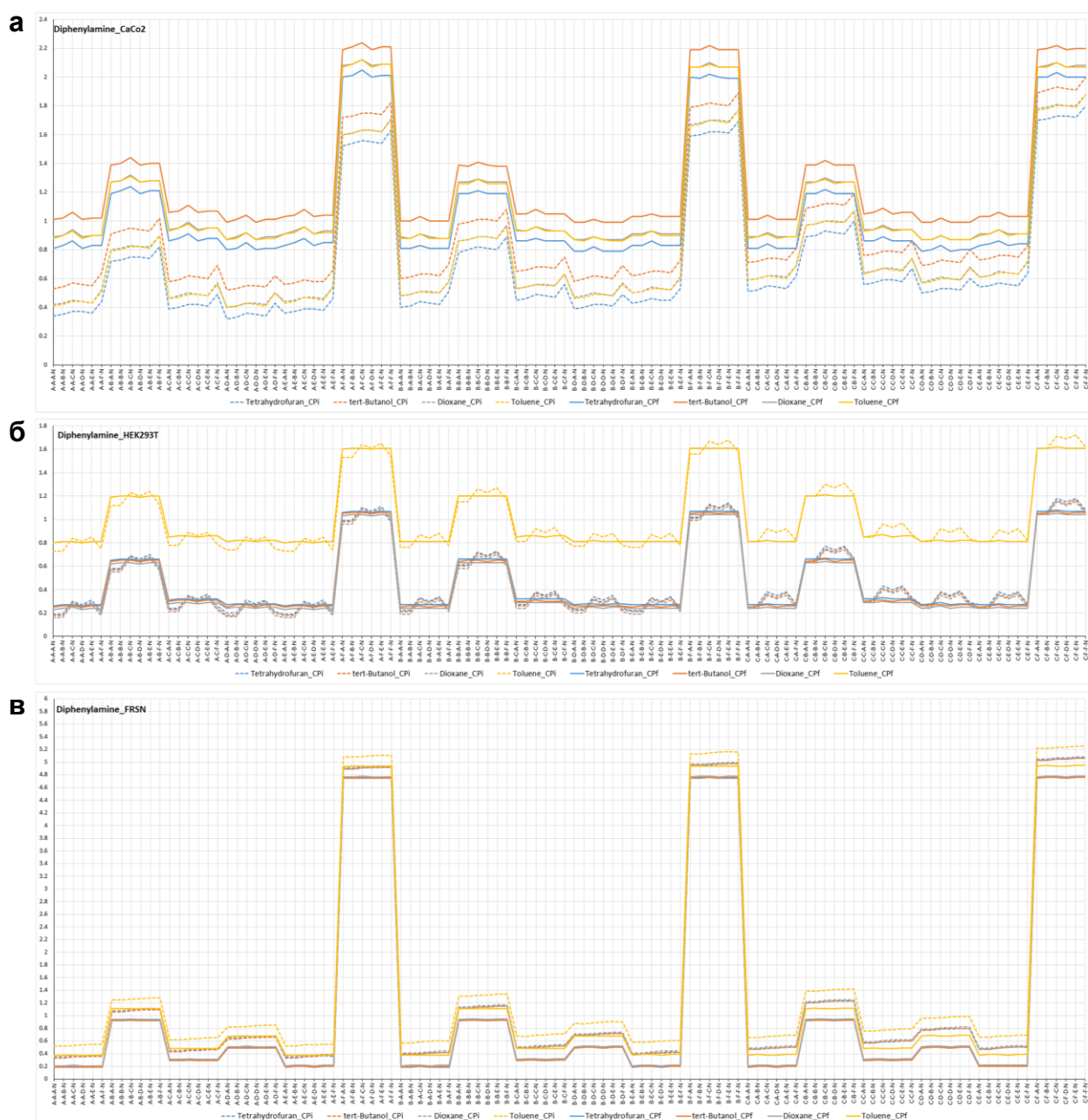


Рисунок S4. Токсикограмма 432 путей синтеза ДФА при изменении растворителя (S) в соответствии с 24-часовыми значениями CC_{50} отдельных веществ, измеренными на клеточных линиях CaCo-2 (а), HEK293T (б) и FRSN (в). Ось x соответствует отдельным синтетическим путям, тогда как ось y соответствует цитотоксическим потенциалам соответствующих реакций. Первая, вторая, третья и четвертая буквы в названии реакции представляют тип исходного соединения 2, катализатор, основание и растворитель (здесь он обозначен как N, чтобы показать проверяемый параметр) соответственно. CP_i показаны пунктирными линиями, а CP_f показаны сплошными линиями.

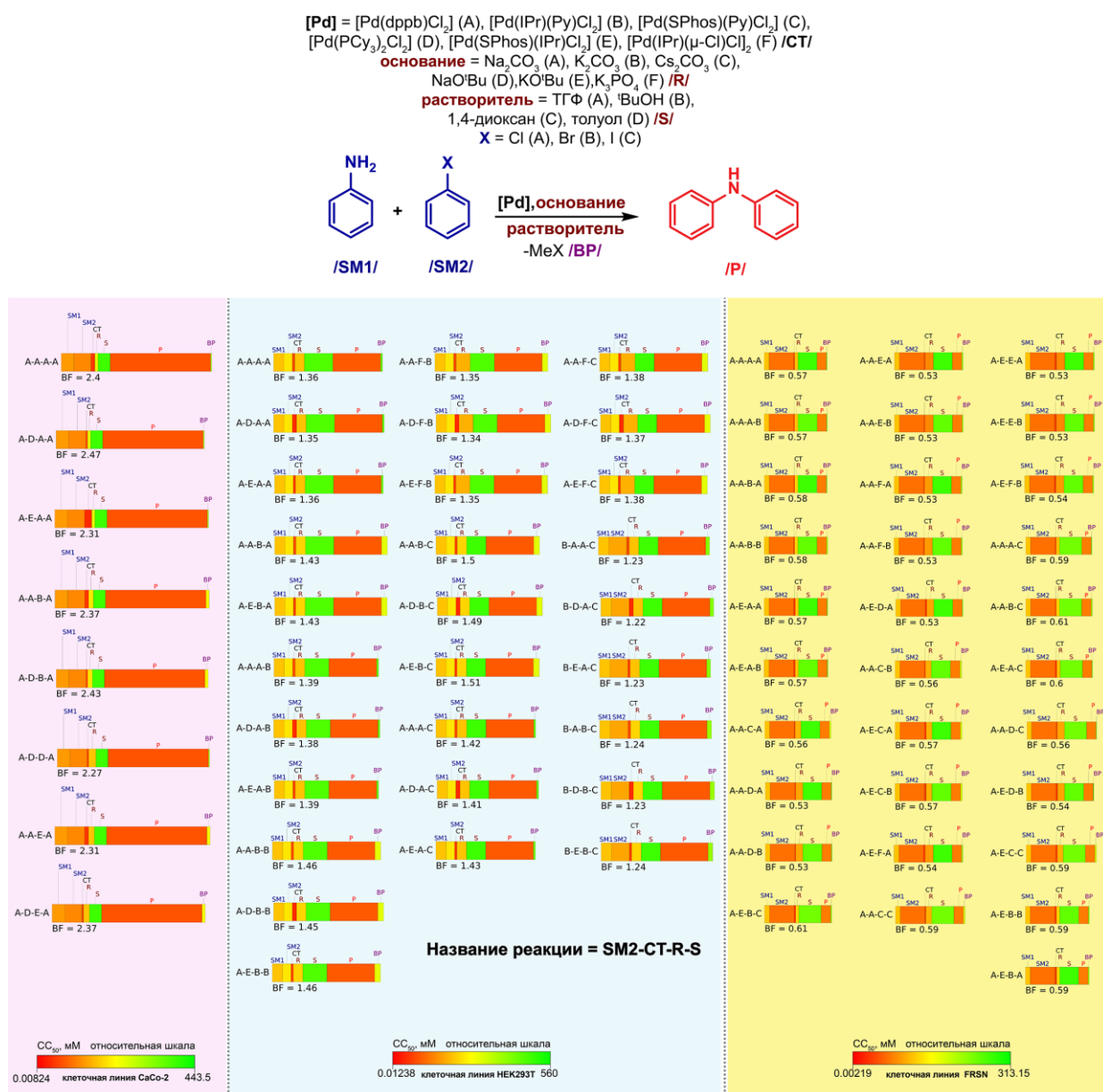


Рисунок S5. Биострипы для наиболее безопасных путей синтеза дифениламина (топ-5 реакций), в соответствии с цитотоксичностью компонентов реакции Бахвальда-Хартвига. Области с биострипами для клеточной линии CaCo-2 обозначены розовым, для HEK293T – синим и FRSN – желтым

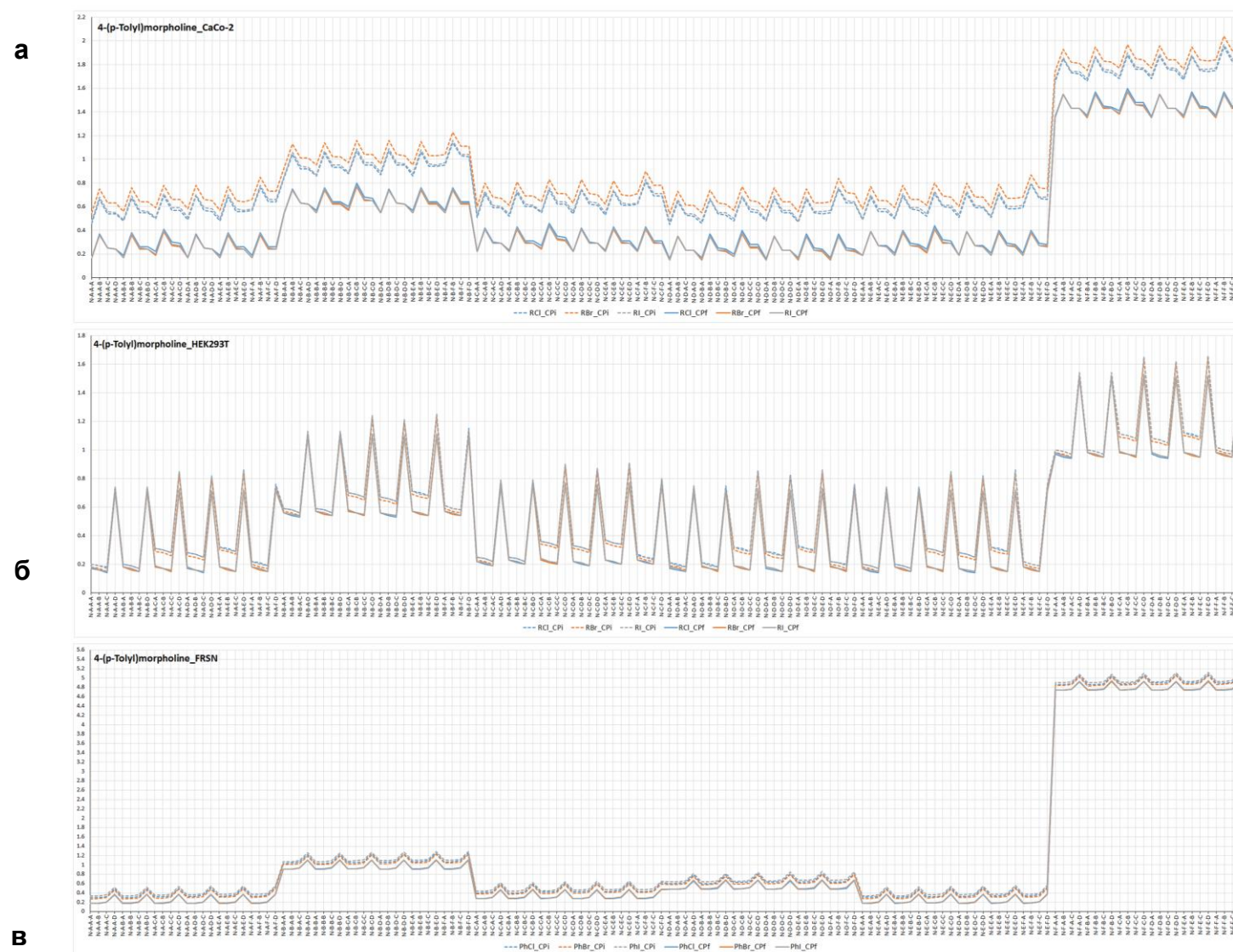


Рисунок S6. Токсикограмма 432 путей синтеза 4-(*n*-толил)морфолина при изменении исходного соединения 2 (SM2) в соответствии с 24-часовыми значениями CC_{50} отдельных веществ, измеренными на клеточных линиях CaCo-2 (а), HEK293T (б) и FRSN (в). Ось *x* соответствует отдельным синтетическим путям, тогда как ось *y* соответствует цитотоксическим потенциалам соответствующих реакций. Первая, вторая, третья и четвертая буквы в названии реакции представляют тип исходного соединения 2 (здесь оно обозначено как N, чтобы показать проверяемый параметр), катализатор, основание и растворитель соответственно. CP_i показаны пунктирными линиями, а CP_f показаны сплошными линиями.

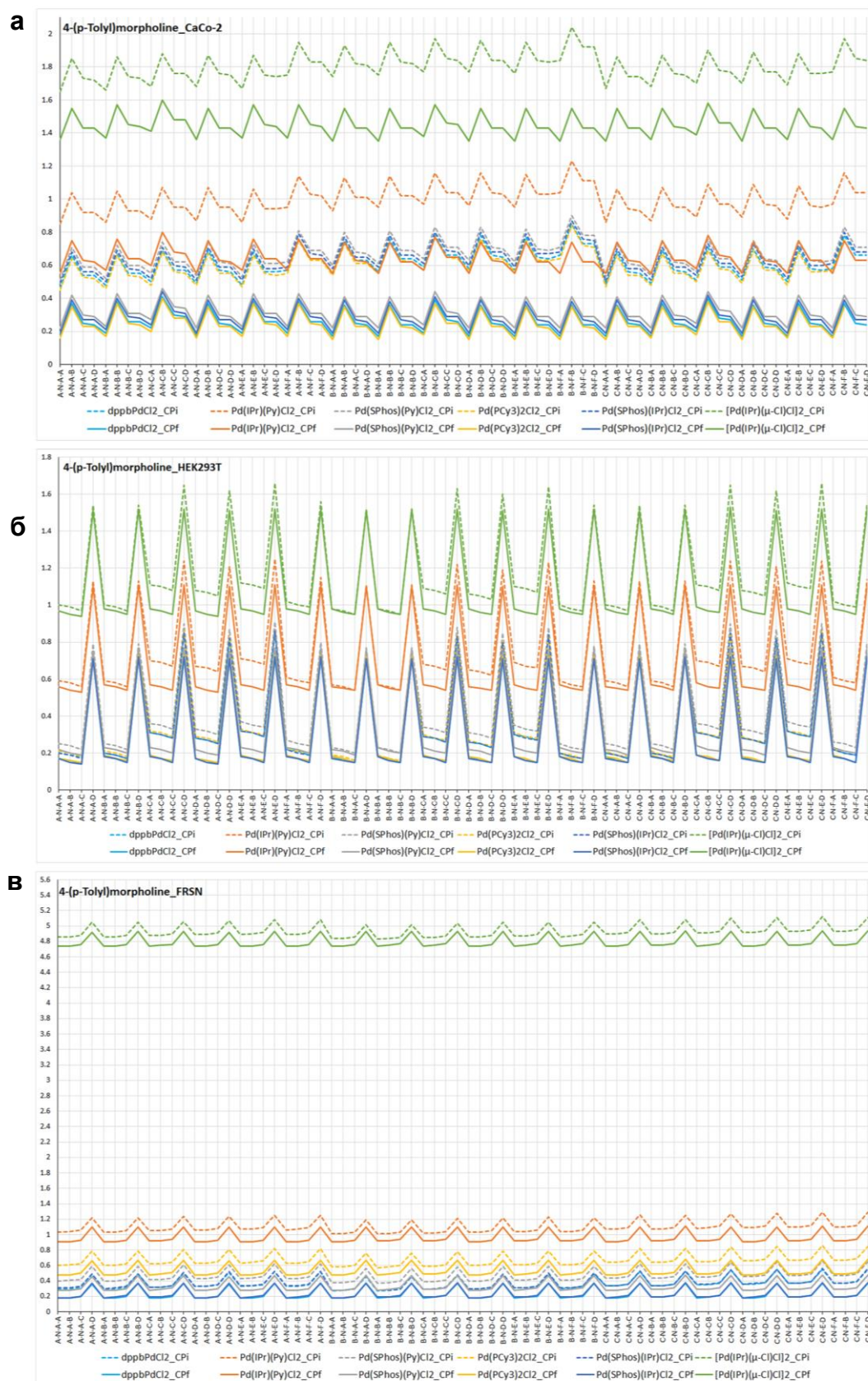


Рисунок S7. Токсикограмма 432 путей синтеза 4-(*n*-толил)морфолина при изменении катализатора (СТ) в соответствии с 24-часовыми значениями CC_{50} отдельных веществ, измеренными на клеточных линиях CaCo-2 (а), HEK293T (б) и FRSN (в). Ось *x* соответствует отдельным синтетическим путям, тогда как ось *y* соответствует цитотоксическим потенциалам соответствующих реакций. Первая, вторая, третья и четвертая буквы в названии реакции представляют тип исходного соединения 2, катализатор (здесь оно обозначено как N, чтобы показать проверяемый параметр), основание и растворитель соответственно. CP_i показаны пунктирными линиями, а CP_f показаны сплошными линиями.

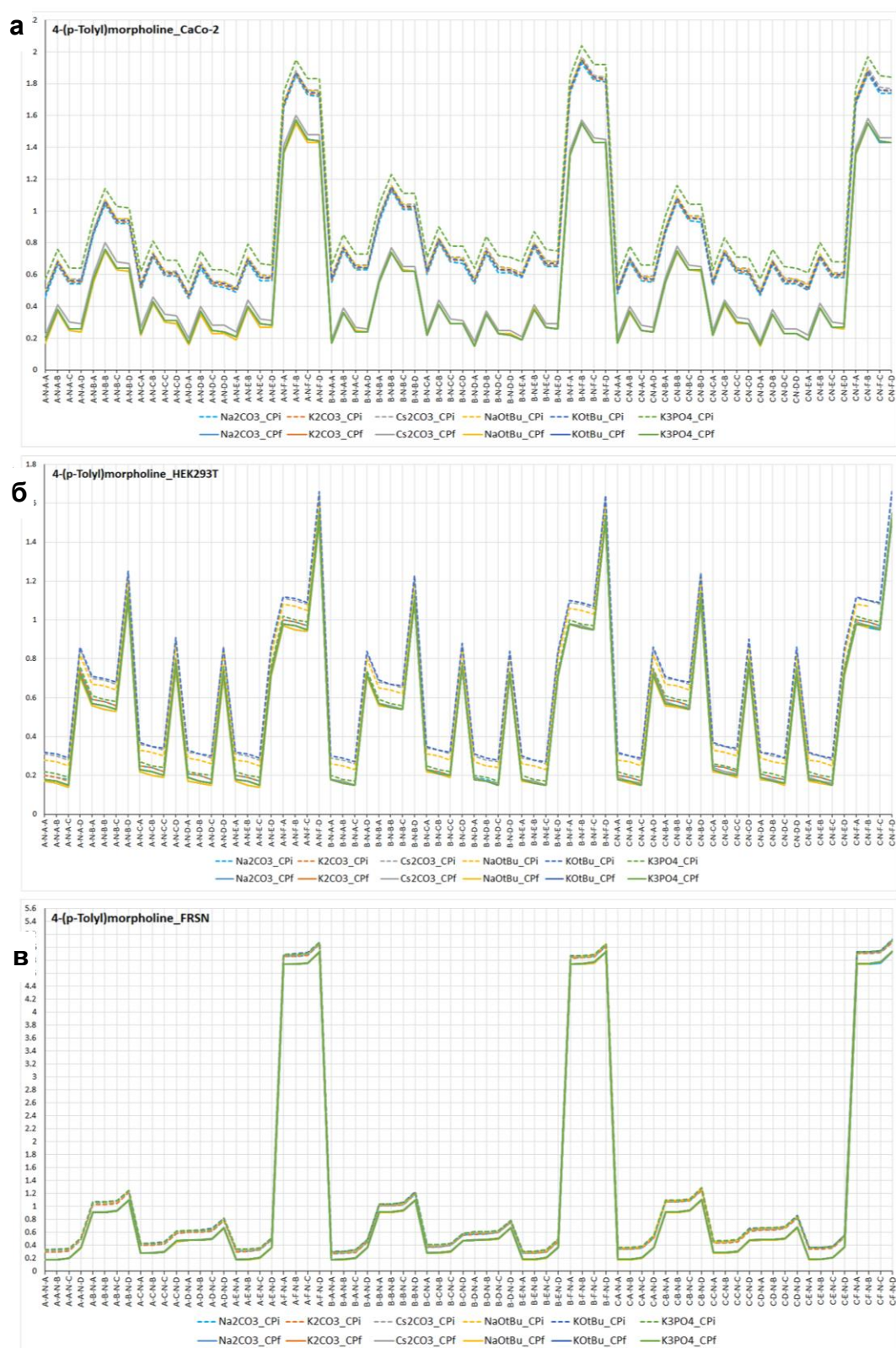


Рисунок S8. Токсикограмма 432 путей синтеза 4-(*n*-толил)морфолина при изменении основания (R) в соответствии с 24-часовыми значениями CC_{50} отдельных веществ, измеренными на клеточных линиях CaCo-2 (а), HEK293T (б) и FRSN (в). Ось x соответствует отдельным синтетическим путям, тогда как ось y соответствует цитотоксическим потенциалам соответствующих реакций. Первая, вторая, третья и четвертая буквы в названии реакции представляют тип исходного соединения 2, катализатор, основание (здесь оно обозначено как N, чтобы показать проверяемый параметр) и растворитель соответственно. CP_i показаны пунктирными линиями, а CP_f показаны сплошными линиями.

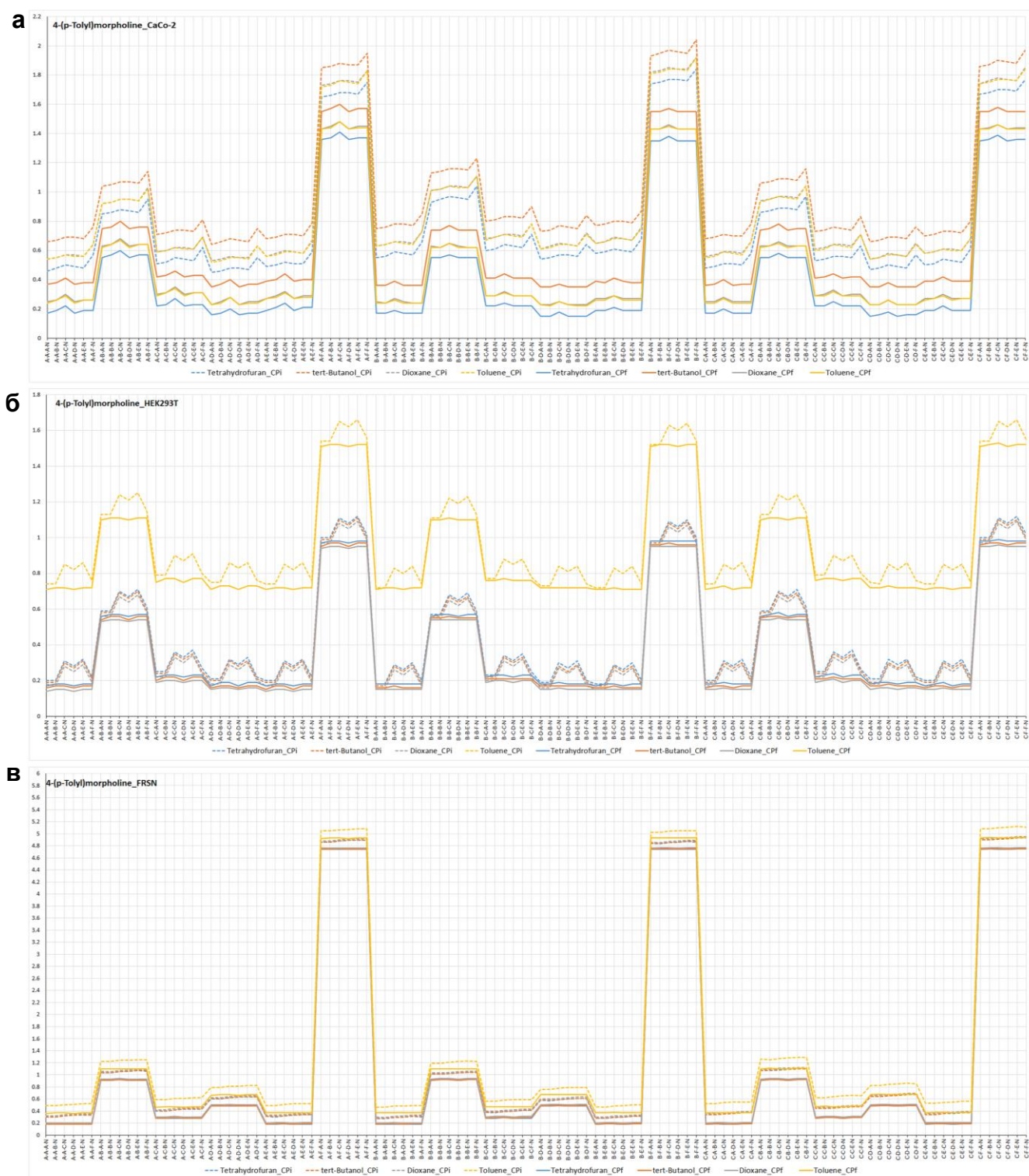


Рисунок S9. Токсикограмма 432 путей синтеза 4-(*n*-толил)морфолина при изменении растворителя (S) в соответствии с 24-часовыми значениями CC_{50} отдельных веществ, измеренными на клеточных линиях CaCo-2 (а), HEK293T (б) и FRSN (в). Ось x соответствует отдельным синтетическим путям, тогда как ось y соответствует цитотоксическим потенциалам соответствующих реакций. Первая, вторая, третья и четвертая буквы в названии реакции представляют тип исходного соединения 2, катализатор, основание и растворитель (здесь оно обозначено как N, чтобы показать проверяемый параметр) соответственно. CP_i показаны пунктирными линиями, а CF_i показаны сплошными линиями.

[Pd] = [Pd(dppb)Cl₂] (A), [Pd(IPr)(Py)Cl₂] (B), [Pd(SPhos)(Py)Cl₂] (C),
 [Pd(PCy₃)₂Cl₂] (D), [Pd(SPhos)(IPr)Cl₂] (E), [Pd(IPr)(μ-Cl)Cl₂] (F) /CT/
основание = Na₂CO₃ (A), K₂CO₃ (B), Cs₂CO₃ (C),
 NaO^tBu (D), KO^tBu (E), K₃PO₄ (F) /R/
растворитель = ТГФ (A), ^tBuOH (B),
 1,4-диоксан (C), толуол (D) /S/
X = Cl (A), Br (B), I (C)

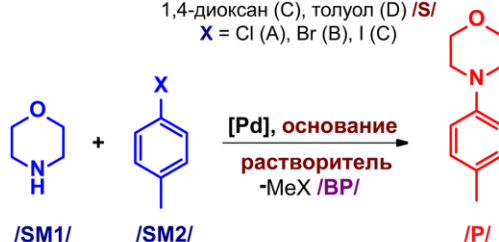


Рисунок S10. Биострипы для наиболее безопасных путей синтеза 4-(*n*-толил)морфолина (топ-5 реакций), в соответствии с цитотоксичностью компонентов реакции Бахвальда-Хартвига. Области с биострипами для клеточной линии CaCo-2 обозначены розовым, для HEK293T – синим и FRSN – желтым.

Приложение 3. Экспериментальные и расчетные значения 24-часовых полумаксимальных цитотоксических концентраций реакционных смесей

Смеси реагентов ^а	CC ₅₀ _exp, mM ^а	CC ₅₀ _CA, mM ^б	Молярное соотношение ^в	Теоретическое молярное соотношение реагентов								Реальное молярное соотношение реагентов								CC ₅₀ _exp_average, mM ^г	CC ₅₀ _CA_average, mM ^г	MDR ^е
				(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)			
Стирол (1) + Йодбензол (2)	66,010	5,264	1:1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	1,14	-	-	-	-	-	-	41,656 (23,607-59,706)	5,425	0,130
	42,900	5,459	1:1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	1,02	-	-	-	-	-	-			
	36,960	5,524	1:1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	0,98	-	-	-	-	-	-			
	73,800	5,491	1:1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-			
	53,790	5,395	1:1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	1,06	-	-	-	-	-	-			
	15,340	5,207	1:1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	1,18	-	-	-	-	-	-			
	19,230	5,599	1:1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	0,95	-	-	-	-	-	-			
Стирол (1) + Бромбензол (2)	25,220	5,459	1:1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	1,02	-	-	-	-	-	-	17,857 (13,671-22,043)	27,169	1,521
	17,840	26,598	1:1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	0,90	-	-	-	-	-	-			
	19,550	27,975	1:1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	1,04	-	-	-	-	-	-			
	16,180	26,932	1:1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	0,93	-	-	-	-	-	-			
Стирол (1) + Хлорбензол (2)	544,900	27,264	1:1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	0,98	-	-	-	-	-	-	393,057 (251,468-534,647)	27,528	0,070
	475,800	27,640	1:1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	1,02	-	-	-	-	-	-			
	289,500	27,296	1:1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	0,98	-	-	-	-	-	-			
	33,220	27,477	1:1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-			
	220,700	27,543	1:1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	1,01	-	-	-	-	-	-			
	581,300	28,098	1:1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	1,07	-	-	-	-	-	-			
	429,300	27,411	1:1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-			
Стирол (1) + Йодбензол (2) + НМП (3)	209,900	27,444	1:1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	22,245 (15,848-28,643)	43,426	1,952
	17,730	40,663	1:1:21	1	1	21	-	-	-	-	-	1	1,02	18,21	-	-	-	-	-			
	27,510	44,541	1:1:21	1	1	21	-	-	-	-	-	1	1,02	21,01	-	-	-	-	-			
	21,640	46,859	1:1:21	1	1	21	-	-	-	-	-	1	0,92	20,80	-	-	-	-	-			
Стирол (1) + Бромбензол (2) + НМП (3)	22,100	41,641	1:1:21	1	1	21	-	-	-	-	-	1	0,94	17,51	-	-	-	-	-	31,604 (21,501-41,707)	103,557	3,277
	19,130	102,468	1:1:21	1	1	21	-	-	-	-	-	1	0,84	19,10	-	-	-	-	-			
	35,660	105,906	1:1:21	1	1	21	-	-	-	-	-	1	1,06	21,85	-	-	-	-	-			
	27,620	103,322	1:1:21	1	1	21	-	-	-	-	-	1	1,06	19,75	-	-	-	-	-			
	37,830	103,044	1:1:21	1	1	21	-	-	-	-	-	1	1,06	19,54	-	-	-	-	-			
Стирол (1) + Хлорбензол (2) + НМП (3)	37,780	103,044	1:1:21	1	1	21	-	-	-	-	-	1	1,06	19,54	-	-	-	-	-	35,020 (28,596-41,444)	104,576	2,986
	32,770	107,557	1:1:21	1	1	21	-	-	-	-	-	1	1,13	23,58	-	-	-	-	-			
	40,670	103,698	1:1:21	1	1	21	-	-	-	-	-	1	0,93	20,17	-	-	-	-	-			
	31,570	103,148	1:1:21	1	1	21	-	-	-	-	-	1	0,93	19,75	-	-	-	-	-			
Стирол (1) + НМП (2) ^А	35,070	103,902	1:1:21	1	1	21	-	-	-	-	-	1	1,11	20,38	-	-	-	-	-	42,350 (34,050-50,650)	103,476	2,443
	42,810	104,880	1:21	1	21	-	-	-	-	-	-	1	20,82	-	-	-	-	-	-			
	38,030	103,879	1:21	1	21	-	-	-	-	-	-	1	20,06	-	-	-	-	-	-			
	49,540	104,994	1:21	1	21	-	-	-	-	-	-	1	20,91	-	-	-	-	-	-			
Йодбензол (1) + НМП (2)	39,020	100,150	1:21	1	21	-	-	-	-	-	-	1	17,54	-	-	-	-	-	-	31,457 (22,251-40,662)	45,207	1,437
	33,720	45,009	1:21	1	21	-	-	-	-	-	-	1	18,33	-	-	-	-	-	-			
	33,470	45,009	1:21	1	21	-	-	-	-	-	-	1	18,33	-	-	-	-	-	-			
	27,180	45,602	1:21	1	21	-	-	-	-	-	-	1	18,71	-	-	-	-	-	-			
Бромбензол (1) + НМП (2)	46,390	140,092	1:21	1	21	-	-	-	-	-	-	1	18,94	-	-	-	-	-	-	52,963 (35,526-70,399)	140,198	2,647
	62,330	140,142	1:21	1	21	-	-	-	-	-	-	1	19,29	-	-	-	-	-	-			
	62,180	140,522	1:21	1	21	-	-	-	-	-	-	1	22,40	-	-	-	-	-	-			
	40,950	140,037	1:21	1	21	-	-	-	-	-	-	1	18,57	-	-	-	-	-	-			
Хлорбензол (1) + НМП (2)	76,650	140,224	1:21	1	21	-	-	-	-	-	-	1	22,87	-	-	-	-	-	-	84,458 (74,832-94,085)	140,265	1,661
	85,240	140,274	1:21	1	21	-	-	-	-	-	-	1	23,31	-	-	-	-	-	-			

Смеси реагентов ^a	CC _{50_exp} , mM ^a	CC _{50_CA} , mM ^b	Молярное соотношение ^b	Теоретическое молярное соотношение реагентов								Реальное молярное соотношение реагентов								CC _{50_exp_average} , mM ^c	CC _{50_CA_average} , mM ^d	MDR ^e
				(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)			
	77,870	140,261	1:21	1	21	-	-	-	-	-	-	1	23,19	-	-	-	-	-	-			
	95,890	140,266	1:21	1	21	-	-	-	-	-	-	1	23,24	-	-	-	-	-	-			
	86,640	140,300	1:21	1	21	-	-	-	-	-	-	1	23,54	-	-	-	-	-	-			
	16,280	45,912	1:1:21:0,01	1	1	21	0,01	-	-	-	-	1	1,02	22,48	0,01	-	-	-	-			
Стирол (1) + Йодбензол (2) + НМП (3) + Pd(OAc) ₂ (4)	33,670	43,138	1:1:21:0,01	1	1	21	0,01	-	-	-	-	1	0,68	14,71	0,01	-	-	-	-	40,247 (25,489-55,005)	43,857	1,090
	47,390	44,036	1:1:21:0,01	1	1	21	0,01	-	-	-	-	1	1,02	21,54	0,02	-	-	-	-			
	52,670	43,353	1:1:21:0,01	1	1	21	0,01	-	-	-	-	1	1,02	21,01	0,02	-	-	-	-			
	53,000	43,353	1:1:21:0,01	1	1	21	0,01	-	-	-	-	1	1,02	21,01	0,02	-	-	-	-			
	38,470	43,353	1:1:21:0,01	1	1	21	0,01	-	-	-	-	1	1,02	21,01	0,02	-	-	-	-			
	21,540	99,981	1:1:21:0,01	1	1	21	0,01	-	-	-	-	1	1,06	19,54	0,01	-	-	-	-			
Стирол (1) + Бромбензол (2) + НМП (3) + Pd(OAc) ₂ (4)	21,880	95,390	1:1:21:0,01	1	1	21	0,01	-	-	-	-	1	0,88	16,28	0,01	-	-	-	-	27,223 (16,647-37,798)	98,834	3,631
	30,400	99,981	1:1:21:0,01	1	1	21	0,01	-	-	-	-	1	1,06	19,54	0,01	-	-	-	-			
	35,070	99,981	1:1:21:0,01	1	1	21	0,01	-	-	-	-	1	1,06	19,54	0,01	-	-	-	-			
	40,060	99,796	1:1:21:0,01	1	1	21	0,01	-	-	-	-	1	0,93	19,54	0,01	-	-	-	-			
Стирол (1) + Хлорбензол (2) + НМП (3) + Pd(OAc) ₂ (4)	34,670	99,768	1:1:21:0,01	1	1	21	0,01	-	-	-	-	1	1,11	19,54	0,01	-	-	-	-	36,525 (32,631-40,419)	99,782	2,732
	36,240	99,768	1:1:21:0,01	1	1	21	0,01	-	-	-	-	1	1,11	19,54	0,01	-	-	-	-			
	35,130	99,796	1:1:21:0,01	1	1	21	0,01	-	-	-	-	1	0,93	19,54	0,01	-	-	-	-			
	18,910	36,637	1:1:21:1	1	1	21	1	-	-	-	-	1	1,02	21,22	1,03	-	-	-	-			
Стирол (1) + Йодбензол (2) + НМП (3) + Et ₃ N (4) ^Δ	19,330	36,873	1:1:21:1	1	1	21	1	-	-	-	-	1	1,02	21,43	1,03	-	-	-	-	18,487 (15,712-21,261)	36,637	1,982
	17,220	36,401	1:1:21:1	1	1	21	1	-	-	-	-	1	1,02	21,01	1,03	-	-	-	-			
	19,590	66,245	1:1:21:1	1	1	21	1	-	-	-	-	1	1,06	21,01	1,03	-	-	-	-	25,660 (18,730-32,590)	66,347	2,586
Стирол (1) + Бромбензол (2) + НМП (3) + Et ₃ N (4)	18,240	66,245	1:1:21:1	1	1	21	1	-	-	-	-	1	1,06	21,01	1,03	-	-	-	-			
	30,050	66,245	1:1:21:1	1	1	21	1	-	-	-	-	1	1,06	21,01	1,03	-	-	-	-			
	24,280	66,860	1:1:21:1	1	1	21	1	-	-	-	-	1	1,06	21,43	1,03	-	-	-	-			
	35,890	66,245	1:1:21:1	1	1	21	1	-	-	-	-	1	1,06	21,01	1,03	-	-	-	-			
	25,910	66,245	1:1:21:1	1	1	21	1	-	-	-	-	1	1,06	21,01	1,03	-	-	-	-			
	39,570	66,045	1:1:21:1	1	1	21	1	-	-	-	-	1	0,93	21,01	1,03	-	-	-	-	39,083 (37,902-40,264)	66,149	1,693
Стирол (1) + Хлорбензол (2) + НМП (3) + Et ₃ N (4)	38,620	66,045	1:1:21:1	1	1	21	1	-	-	-	-	1	0,93	21,01	1,03	-	-	-	-			
	39,060	66,356	1:1:21:1	1	1	21	1	-	-	-	-	1	0,93	21,22	1,03	-	-	-	-	25,369 (20,854-29,884)	36,401	1,435
Стирол (1) + Йодбензол (2) + НМП (3) + Pd(OAc) ₂ (4) + Et ₃ N (5)	37,120	37,592	1:1:21:0,01:1	1	1	21	0,01	1	-	-	-	1	0,68	19,61	0,01	1,37	-	-	-			
	26,310	36,450	1:1:21:0,01:1	1	1	21	0,01	1	-	-	-	1	1,02	21,36	0,01	1,03	-	-	-			
	20,910	37,224	1:1:21:0,01:1	1	1	21	0,01	1	-	-	-	1	1,02	22,06	0,01	1,03	-	-	-			
	24,750	33,723	1:1:21:0,01:1	1	1	21	0,01	1	-	-	-	1	1,19	21,01	0,01	1,03	-	-	-			
	24,950	36,838	1:1:21:0,01:1	1	1	21	0,01	1	-	-	-	1	1,02	21,71	0,01	1,03	-	-	-			
	17,070	36,352	1:1:21:0,01:1	1	1	21	0,01	1	-	-	-	1	1	20,89	0,01	1,01	-	-	-			
	31,220	36,627	1:1:21:0,01:1	1	1	21	0,01	1	-	-	-	1	1,02	21,39	0,01	1	-	-	-			
	24,050	36,696	1:1:21:0,01:1	1	1	21	0,01	1	-	-	-	1	1	21,34	0,01	1,04	-	-	-			
	21,940	36,103	1:1:21:0,01:1	1	1	21	0,01	1	-	-	-	1	0,97	20,34	0,01	1,01	-	-	-			
Стирол (1) + Бромбензол (2) + НМП (3) + Pd(OAc) ₂ (4) + Et ₃ N (5)	42,140	63,033	1:1:21:0,01:1	1	1	21	0,01	1	-	-	-	1	1,11	19,61	0,01	1,03	-	-	-	31,408 (26,595-36,221)	65,201	2,076
	36,270	66,660	1:1:21:0,01:1	1	1	21	0,01	1	-	-	-	1	1,11	22,06	0,01	1,03	-	-	-			
	26,000	64,629	1:1:21:0,01:1	1	1	21	0,01	1	-	-	-	1	1,11	20,66	0,01	1,03	-	-	-			
	28,050	65,147	1:1:21:0,01:1	1	1	21	0,01	1	-	-	-	1	1,11	21,01	0,01	1,03	-	-	-			
	28,090	65,147	1:1:21:0,01:1	1	1	21	0,01	1	-	-	-	1	1,11	21,01	0,01	1,03	-	-	-			
	21,340	65,608	1:1:21:0,01:1	1	1	21	0,01	1	-	-	-	1	1	20,91	0,01	1	-	-	-			
	35,200	65,922	1:1:21:0,01:1	1	1	21	0,01	1	-	-	-	1	1,05	21,36	0,01	1,01	-	-	-			
	31,430	65,237	1:1:21:0,01:1	1	1	21	0,01	1	-	-	-	1	1,01	21,53	0,01	1,05	-	-	-			
	34,150	65,427	1:1:21:0,01:1	1	1	21	0,01	1	-	-	-	1	1,01	21,04	0,01	1,01	-	-	-			
	84,190	62,778	1:1:21:0,01:1	1	1	21	0,01	1	-	-	-	1	0,93	19,61	0,01	1,03	-	-	-	70,736 (53,055-88,417)	64,774	0,916
Стирол (1) + Хлорбензол (2) + НМП (3) + Pd(OAc) ₂ (4) + Et ₃ N (5)	58,800	65,420	1:1:21:0,01:1	1	1	21	0,01	1	-	-	-	1	0,93	21,36	0,01	1,03	-	-	-			
	56,750	64,385	1:1:21:0,01:1	1	1	21	0,01	1	-	-	-	1	0,93	20,66	0,01	1,03	-	-	-			
	106,300	64,906	1:1:21:0,01:1	1	1	21	0,01	1	-	-	-	1	0,93	21,01	0,01	1,03	-	-	-			
	79,190	64,906	1:1:21:0,01:1	1	1	21	0,01	1	-	-	-	1	0,93	21,01	0,01	1,03	-	-	-			
	71,300	64,906	1:1:21:0,01:1	1	1	21	0,01	1	-	-	-	1	0,93	21,01	0,01	1,03	-	-	-			

Смеси реагентов ^a	CC ₅₀ _exp, mM ^a	CC ₅₀ _CA, mM ^b	Молярное соотношение ^b	Теоретическое молярное соотношение реагентов								Реальное молярное соотношение реагентов								CC ₅₀ _exp_average, mM ^c	CC ₅₀ _CA_average, mM ^d	MDR ^e
				(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)			
Стильбен (1) + Et ₃ N·HI (2)	74,170	64,906	1:1:21:0,01:1	1	1	21	0,01	1	-	-	-	1	0,93	21,01	0,01	1,03	-	-	-	89,407 (68,914-109,899)	40,883	0,457
	35,190	65,988	1:1:21:0,01:1	1	1	21	0,01	1	-	-	-	1	1,01	21,07	0,01	0,99	-	-	-			
	113,000	40,750	1:1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	0,98	-	-	-	-	-	-			
	79,000	40,842	1:1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-			
	60,410	40,864	1:1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-			
	80,130	41,023	1:1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	1,04	-	-	-	-	-	-			
	102,100	40,974	1:1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	1,03	-	-	-	-	-	-			
	101,800	40,842	1:1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-			
Стильбен (1) + Et ₃ N·HBr (2)	47,380	36,406	1:1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	0,99	-	-	-	-	-	-	41,413 (28,546-54,281)	36,406	0,879
	38,790	36,406	1:1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	0,99	-	-	-	-	-	-			
	38,070	36,406	1:1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	0,99	-	-	-	-	-	-			
Стильбен (1) + Et ₃ N·HCl (2)	75,740	32,768	1:1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	1,05	-	-	-	-	-	-	53,536 (34,416-72,656)	32,780	0,612
	40,000	32,768	1:1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	1,05	-	-	-	-	-	-			
	37,850	32,798	1:1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-			
	57,940	32,791	1:1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	1,01	-	-	-	-	-	-			
	56,150	32,776	1:1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	1,03	-	-	-	-	-	-			
Стильбен (1) + НМП (2)	97,560	123,835	1:21	1	21	-	-	-	-	-	-	1	19,67	-	-	-	-	-	-	91,443 (78,279-104,607)	123,969	1,356
	88,530	123,288	1:21	1	21	-	-	-	-	-	-	1	19,01	-	-	-	-	-	-			
	88,240	124,784	1:21	1	21	-	-	-	-	-	-	1	20,91	-	-	-	-	-	-			
	139,200	126,428	0,88:21	1	23,86	-	-	-	-	-	-	1	23,40	-	-	-	-	-	-			
Стильбен (1) + НМП (2)	196,100	126,281	0,88:21	1	23,86	-	-	-	-	-	-	1	23,15	-	-	-	-	-	-	189,543 (161,624-217,461)	126,336	0,667
	206,300	126,281	0,88:21	1	23,86	-	-	-	-	-	-	1	23,15	-	-	-	-	-	-			
	105,600	132,079	1:21	1	21	-	-	-	-	-	-	1	20,62	-	-	-	-	-	-			
Et ₃ N·HI (1) + НМП (2)	113,500	132,480	1:21	1	21	-	-	-	-	-	-	1	21,51	-	-	-	-	-	-	111,300 (105,200-117,400)	132,379	1,189
	112,900	132,480	1:21	1	21	-	-	-	-	-	-	1	21,51	-	-	-	-	-	-			
	113,200	132,480	1:21	1	21	-	-	-	-	-	-	1	21,51	-	-	-	-	-	-			
	93,300	128,012	1:21	1	21	-	-	-	-	-	-	1	21,54	-	-	-	-	-	-			
Et ₃ N·HBr (1) + НМП (2)	102,300	127,706	1:21	1	21	-	-	-	-	-	-	1	21,04	-	-	-	-	-	-	106,520 (94,260-118,790)	127,788	1,200
	118,000	127,706	1:21	1	21	-	-	-	-	-	-	1	21,04	-	-	-	-	-	-			
	104,600	127,911	1:21	1	21	-	-	-	-	-	-	1	21,38	-	-	-	-	-	-			
	114,400	127,602	1:21	1	21	-	-	-	-	-	-	1	20,88	-	-	-	-	-	-			
	84,460	123,732	1:21	1	21	-	-	-	-	-	-	1	21,52	-	-	-	-	-	-			
Et ₃ N·HCl (1) + НМП (2)	106,900	123,471	1:21	1	21	-	-	-	-	-	-	1	21,18	-	-	-	-	-	-	100,692 (88,718-112,666)	123,523	1,227
	107,600	123,471	1:21	1	21	-	-	-	-	-	-	1	21,18	-	-	-	-	-	-			
	105,200	123,471	1:21	1	21	-	-	-	-	-	-	1	21,18	-	-	-	-	-	-			
	99,300	123,471	1:21	1	21	-	-	-	-	-	-	1	21,18	-	-	-	-	-	-			
Дифенилэтил ен (1) + НМП (2)	85,420	139,779	0,12:21	1	175	-	-	-	-	-	-	1	174,56	-	-	-	-	-	-	68,878 (51,179-80,577)	139,787	2,029
	61,550	139,795	0,12:21	1	175	-	-	-	-	-	-	1	175,47	-	-	-	-	-	-			
	80,860	139,779	0,12:21	1	175	-	-	-	-	-	-	1	174,56	-	-	-	-	-	-			
	61,340	139,795	0,12:21	1	175	-	-	-	-	-	-	1	175,47	-	-	-	-	-	-			
	62,500	139,795	0,12:21	1	175	-	-	-	-	-	-	1	175,47	-	-	-	-	-	-			
	61,600	139,779	0,12:21	1	175	-	-	-	-	-	-	1	174,56	-	-	-	-	-	-			
Стильбен (1) + Дифенилэтил ен (2) + НМП (3)	32,150	124,139	0,88:0,12:21	1	0,14	23,86	-	-	-	-	-	1	0,13	23,52	-	-	-	-	-	33,627 (27,740-39,513)	124,030	3,688
	32,370	123,976	0,88:0,12:21	1	0,14	23,86	-	-	-	-	-	1	0,13	23,27	-	-	-	-	-			
	36,360	123,976	0,88:0,12:21	1	0,14	23,86	-	-	-	-	-	1	0,13	23,27	-	-	-	-	-			
Стильбен (1) + Et ₃ N·HI (2) + НМП (3)	99,790	118,195	1:1:21	1	1	21	-	-	-	-	-	1	0,98	21,67	-	-	-	-	-	108,063 (88,862-127,265)	117,510	1,087
	115,100	117,238	1:1:21	1	1	21	-	-	-	-	-	1	0,98	20,61	-	-	-	-	-			
	109,300	117,096	1:1:21	1	1	21	-	-	-	-	-	1	0,98	20,46	-	-	-	-	-			
Стильбен (1) + Et ₃ N·HBr (2) + НМП (3)	110,200	112,938	1:1:21	1	1	21	-	-	-	-	-	1	1,07	20,61	-	-	-	-	-	104,388 (89,075-119,701)	113,468	1,087
	88,930	113,561	1:1:21	1	1	21	-	-	-	-	-	1	0,99	20,46	-	-	-	-	-			
	113,600	113,718	1:1:21	1	1	21	-	-	-	-	-	1	0,99	20,61	-	-	-	-	-			
	93,410	113,561	1:1:21	1	1	21	-	-	-	-	-	1	0,99	20,46	-	-	-	-	-			

Смеси реагентов ^a	CC ₅₀ _exp, mM ^a	CC ₅₀ _CA, mM ^b	Молярное соотношение ^b	Теоретическое молярное соотношение реагентов								Реальное молярное соотношение реагентов								CC ₅₀ _exp_average, mM ^c	CC ₅₀ _CA_average, mM ^d	MDR ^e
				(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)			
	115,800	113,561	1:1:21	1	1	21	-	-	-	-	-	1	0,99	20,46	-	-	-	-	-			
Стильбен (1) + Et ₃ N·HCl (2) + НМП (3)	93,370	109,845	1:1:21	1	1	21	-	-	-	-	-	1	1,09	21,21	-	-	-	-	-	95,914 (81,901-109,927)	110,179	1,149
	115,000	110,305	1:1:21	1	1	21	-	-	-	-	-	1	0,98	20,46	-	-	-	-	-			
	88,490	110,134	1:1:21	1	1	21	-	-	-	-	-	1	0,98	20,30	-	-	-	-	-			
	95,940	110,305	1:1:21	1	1	21	-	-	-	-	-	1	0,98	20,46	-	-	-	-	-			
	86,770	110,305	1:1:21	1	1	21	-	-	-	-	-	1	0,98	20,46	-	-	-	-	-			
Стильбен (1) + Et ₃ N·HI (2) + НМП (3) + Pd(OAc) ₂ (4)	64,920	115,175	1:1:21:0,01	1	1	21	0,01	-	-	-	-	1	1,10	23,27	0,01	-	-	-	-	83,450 (54,970-111,930)	113,926	1,365
	100,000	113,676	1:1:21:0,01	1	1	21	0,01	-	-	-	-	1	0,94	20,73	0,01	-	-	-	-			
	105,200	113,676	1:1:21:0,01	1	1	21	0,01	-	-	-	-	1	0,94	20,73	0,01	-	-	-	-			
	36,550	113,676	1:1:21:0,01	1	1	21	0,01	-	-	-	-	1	0,94	20,73	0,01	-	-	-	-			
	93,530	113,676	1:1:21:0,01	1	1	21	0,01	-	-	-	-	1	0,94	20,73	0,01	-	-	-	-			
	100,500	113,676	1:1:21:0,01	1	1	21	0,01	-	-	-	-	1	0,94	20,73	0,01	-	-	-	-			
Стильбен (1) + Et ₃ N·HI (2) + НМП (3) + Pd(OAc) ₂ (4) + Дифенилэтилен (5) при 100% конверсии	47,890	112,553	0,88:1:21:0,01:0,12	1	1,14	23,86	0,01	0,14	-	-	-	1	1,07	22,86	0,01	0,14	-	-	-	53,190 (48,057-58,323)	113,227	2,129
	49,860	113,054	0,88:1:21:0,01:0,12	1	1,14	23,86	0,01	0,14	-	-	-	1	1,15	24,34	0,01	0,15	-	-	-			
	60,710	113,820	0,88:1:21:0,01:0,12	1	1,14	23,86	0,01	0,14	-	-	-	1	1,25	26,37	0,01	0,17	-	-	-			
	55,360	113,273	0,88:1:21:0,01:0,12	1	1,14	23,86	0,01	0,14	-	-	-	1	1,15	24,12	0,01	0,13	-	-	-			
	49,610	113,440	0,88:1:21:0,01:0,12	1	1,14	23,86	0,01	0,14	-	-	-	1	1,10	24	0,01	0,13	-	-	-			
	55,710	113,221	0,88:1:21:0,01:0,12	1	1,14	23,86	0,01	0,14	-	-	-	1	1,10	23,76	0,01	0,13	-	-	-			
Стирол (1) + Йодбензол (2) + Et ₃ N (3) + Pd(OAc) ₂ (4) + НМП (5) + Стильбен (6) + Et ₃ N·HI (7) + Дифенилэтилен (8) при 94% конверсии	14,500	100,076	0,06:0,06:0,06:0,01:21:0,8272:0,94:0,1128	1	1	1	0,17	350	13,79	15,67	1,88	1	1,02	1,03	0,17	358,93	13,87	15,91	2,02	26,342 (18,681-34,002)	99,776	3,788
	22,670	99,996	0,06:0,06:0,06:0,01:21:0,8272:0,94:0,1128	1	1	1	0,17	350	13,79	15,67	1,88	1	1,02	1,03	0,17	357,87	13,87	15,91	2,02			
	28,310	99,368	0,06:0,06:0,06:0,01:21:0,8272:0,94:0,1128	1	1	1	0,17	350	13,79	15,67	1,88	1	1,02	1,03	0,17	355,25	14,73	15,91	2,02			
	36,490	99,712	0,06:0,06:0,06:0,01:21:0,8272:0,94:0,1128	1	1	1	0,17	350	13,79	15,67	1,88	1	1,02	1,03	0,17	354,20	13,87	15,91	2,02			
	28,220	99,753	0,06:0,06:0,06:0,01:21:0,8272:0,94:0,1128	1	1	1	0,17	350	13,79	15,67	1,88	1	1,02	1,03	0,17	354,72	13,87	15,91	2,02			
	27,860	99,753	0,06:0,06:0,06:0,01:21:0,8272:0,94:0,1128	1	1	1	0,17	350	13,79	15,67	1,88	1	1,02	1,03	0,17	354,72	13,87	15,91	2,02			
Стильбен (1) + Et ₃ N·HBr (2) + НМП (3) + Pd(OAc) ₂ (4)	102,600	108,873	1:1:21:0,01	1	1	21	0,01	-	-	-	-	1	1,19	21,09	0,01	-	-	-	-	103,878 (92,020-115,736)	109,900	1,058
	98,320	110,157	1:1:21:0,01	1	1	21	0,01	-	-	-	-	1	0,99	20,73	0,01	-	-	-	-			
	120,500	110,157	1:1:21:0,01	1	1	21	0,01	-	-	-	-	1	0,99	20,73	0,01	-	-	-	-			
	96,970	110,157	1:1:21:0,01	1	1	21	0,01	-	-	-	-	1	0,99	20,73	0,01	-	-	-	-			
	101,000	110,157	1:1:21:0,01	1	1	21	0,01	-	-	-	-	1	0,99	20,73	0,01	-	-	-	-			
Стильбен (1) + Et ₃ N·HBr (2) + НМП (3) + Pd(OAc) ₂ (4) + 1,1-Дифенилэтилен (5) при 100% конверсии	54,480	110,623	0,88:1:21:0,01:0,12	1	1,14	23,86	0,01	0,14	-	-	-	1	1,07	24,48	0,01	0,15	-	-	-	56,007 (48,067-63,947)	109,683	1,958
	59,680	109,625	0,88:1:21:0,01:0,12	1	1,14	23,86	0,01	0,14	-	-	-	1	1,22	24,62	0,01	0,15	-	-	-			
	53,860	108,802	0,88:1:21:0,01:0,12	1	1,14	23,86	0,01	0,14	-	-	-	1	1,13	22,73	0,01	0,14	-	-	-			

Смеси реагентов ^a	CC _{50_exp} , mM ^a	CC _{50_CA} , mM ^b	Молярное соотношение ^b	Теоретическое молярное соотношение реагентов								Реальное молярное соотношение реагентов								CC _{50_exp_average} , mM ^c	CC _{50_CA_average} , mM ^d	MDR ^e
				(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)			
Стирол (1) + Бромбензол (2) + Et ₃ N (3) + Pd(OAc) ₂ (4) + НМП (5) + Стильбен (6) + Et ₃ N·HBr (7) + Дифенилэтил ен (8) при 55% конверсии	32,760	82,577	0,45:0,45:0,45:0,01:21:0,484:0,55:0,066	1	1	1	0,02	46,67	1,08	1,22	0,15	1	1	1,03	0,02	45,39	1,08	1,14	0,14	30,570 (28,777-32,363)	82,436	2,697
	31,820	82,539	0,45:0,45:0,45:0,01:21:0,484:0,55:0,066	1	1	1	0,02	46,67	1,08	1,22	0,15	1	1	1,03	0,02	45,52	1,08	1,22	0,14			
	29,520	82,321	0,45:0,45:0,45:0,01:21:0,484:0,55:0,066	1	1	1	0,02	46,67	1,08	1,22	0,15	1	1	1,03	0,02	45,39	1,08	1,29	0,14			
	28,560	82,449	0,45:0,45:0,45:0,01:21:0,484:0,55:0,066	1	1	1	0,02	46,67	1,08	1,22	0,15	1	1	1,03	0,02	45,39	1,08	1,22	0,14			
	29,150	82,321	0,45:0,45:0,45:0,01:21:0,484:0,55:0,066	1	1	1	0,02	46,67	1,08	1,22	0,15	1	1	1,03	0,02	45,39	1,08	1,29	0,14			
	31,610	82,411	0,45:0,45:0,45:0,01:21:0,484:0,55:0,066	1	1	1	0,02	46,67	1,08	1,22	0,15	1	1	1,03	0,02	45,52	1,08	1,29	0,14			
Стильбен (1) + Et ₃ N·HCl (2) + НМП (3) + Pd(OAc) ₂ (4)	100,100	106,828	1:1:21:0,01	1	1	21	0,01	-	-	-	-	1	1,05	21,09	0,01	-	-	-	-	100,835 (91,344-110,326)	105,811	1,049
	101,000	106,398	1:1:21:0,01	1	1	21	0,01	-	-	-	-	1	1,05	20,73	0,01	-	-	-	-			
	108,400	103,620	1:1:21:0,01	1	1	21	0,01	-	-	-	-	1	1,31	20,73	0,01	-	-	-	-			
	93,840	106,398	1:1:21:0,01	1	1	21	0,01	-	-	-	-	1	1,05	20,73	0,01	-	-	-	-			
Стильбен (1) + Et ₃ N·HCl (2) + НМП (3) + Pd(OAc) ₂ (4) + 1,1-Дифенилэтил ен (5) при 100% конверсии	68,600	108,140	0,88:1:21:0,01:0,12	1	1,14	23,86	0,01	0,14	-	-	-	1	1,20	26,67	0,01	0,17	-	-	-	53,540 (43,542-63,538)	106,664	1,992
	55,750	105,448	0,88:1:21:0,01:0,12	1	1,14	23,86	0,01	0,14	-	-	-	1	1,31	24,48	0,01	0,15	-	-	-			
	47,410	105,734	0,88:1:21:0,01:0,12	1	1,14	23,86	0,01	0,14	-	-	-	1	1,12	22,73	0,01	0,14	-	-	-			
	57,200	107,219	0,88:1:21:0,01:0,12	1	1,14	23,86	0,01	0,14	-	-	-	1	1,13	24,24	0,01	0,13	-	-	-			
	40,590	106,721	0,88:1:21:0,01:0,12	1	1,14	23,86	0,01	0,14	-	-	-	1	1,13	23,76	0,01	0,13	-	-	-			
	51,690	106,721	0,88:1:21:0,01:0,12	1	1,14	23,86	0,01	0,14	-	-	-	1	1,13	23,76	0,01	0,13	-	-	-			
Спустя 24ч при 140 °С																						
Стирол (1) + Йодбензол (2) + Et ₃ N (3) + Pd(OAc) ₂ (4) + НМП (5) + Стильбен (6) + Et ₃ N·HI (7) + Дифенилэтил ен (8) при 90-97% конверсии	31,480	93,306	0,1:0,1:0,1:0,01:21:0,792:0,9:0,108	1	1	1	0,1	210	7,92	9	1,08	1	1,01	1,01	0,09	213,49	8,01	9,10	1,09	37,423 (31,117-43,728)	99,355	2,655
	39,360	100,062	0,06:0,06:0,06:0,01:21:0,8272:0,94:0,1128	1	1	1	0,17	350	13,79	15,67	1,88	1	1,01	1,04	0,17	356,12	13,94	15,84	1,90			
	39,310	105,977	0,03:0,03:0,03:0,01:21:0,8536:0,97:0,1164	1	1	1	0,33	700	28,45	32,33	3,88	1	1	1,07	0,33	692,74	27,96	31,77	3,81			
	39,540	98,074	0,07:0,07:0,07:0,01:21:0,8184:0,93:0,1116	1	1	1	0,14	300	11,69	13,29	1,59	1	1	1,01	0,14	299,14	11,60	13,18	1,58			
Стирол (1) + Бромбензол (2) + Et ₃ N (3) + Pd(OAc) ₂ (4) + НМП (5) + Стильбен (6) + Et ₃ N·HBr (7) + Дифенилэтил ен (8)	34,370	85,485		1	1	1	0,02	51,22	1,27	1,44	0,17	1	1,01	1,01	0,02	51,27	1,26	1,43	0,17	30,798 (20,079-41,516)	84,081	2,730
	53,630	84,882	0,42:0,42:0,42:0,01:21:0,5104:0,58:0,0696	1	1	1	0,02	50	1,22	1,38	0,17	1	1	1,03	0,02	50,46	1,22	1,38	0,17			
	53,510	95,146	0,22:0,22:0,22:0,01:21:0,6864:0,78:0,0936	1	1	1	0,05	95,45	3,12	3,55	0,43	1	1,02	1,04	0,05	97,22	3,15	3,59	0,43			
	28,550	89,361	0,32:0,32:0,32:	1	1	1	0,03	65,63	1,87	2,13	0,26	1	0,99	1,03	0,03	65,90	1,85	2,11	0,25			

Смеси реагентов ^а	CC ₅₀ _exp, mM ^а	CC ₅₀ _CA, mM ^б	Молярное соотношение ^в	Теоретическое молярное соотношение реагентов								Реальное молярное соотношение реагентов								CC ₅₀ _exp_average, mM ^г	CC ₅₀ _CA_average, mM ^д	MDR ^е
				(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)			
ен (8) при 43-78% конверсии			+ 0,01:21:0,5984: 0,68:0,0816																			
	21,770	86,109	0,4:0,4:0,4:0,01: 21:0,528:0,6:0,072	1	1	1	0,03	52,50	1,32	1,50	0,18	1	1,01	1	0,03	53,12	1,32	1,50	0,18			
	19,810	78,245	0,57:0,57:0,57: 0,01:21:0,3784: 0,43:0,0516	1	1	1	0,02	36,84	0,66	0,75	0,09	1	1,02	1,04	0,02	37,17	0,66	0,76	0,09			
	18,300	79,882	0,53:0,53:0,53: 0,01:21:0,4136: 0,47:0,0564	1	1	1	0,02	39,62	0,78	0,89	0,11	1	0,99	1,03	0,02	39,79	0,77	0,88	0,11			
	28,040	83,024	0,47:0,47:0,47: 0,01:21:0,4664: 0,53:0,0636	1	1	1	0,02	44,68	0,99	1,13	0,14	1	1,01	1	0,02	45,17	0,99	1,13	0,14			
	19,200	74,599	0,67:0,67:0,67: 0,01:21:0,2904: 0,33:0,0396	1	1	1	0,01	31,34	0,43	0,49	0,06	1	1,02	1,04	0,02	31,61	0,43	0,49	0,06			

^а Экспериментальные 24-часовые полумаксимальные цитотоксические концентрации индивидуальных смесей. ^б Данные, предсказанные моделью аддитивности доз и концентраций (см. Уравнение (1)) с учетом реального молярного соотношения реагентов. ^в Молярное соотношение веществ в реакции, рассчитанное по количеству соответствующих веществ в смеси. ^г Усредненные экспериментальные 24-часовые полумаксимальные цитотоксические концентрации смесей, указанные с 95% доверительными интервалами в скобках. ^д Усредненные 24-часовые полумаксимальные цитотоксические концентрации смесей, предсказанные моделью аддитивности доз и концентраций (см. Уравнение (1)) с учетом реального молярного соотношения реагентов. ^е Коэффициент отклонения модели СА (см, Уравнение 32). Смеси, показывающие сильное синергетические взаимодействие, выделены красным цветом, а антагонистические – зеленым.