

Nuić, Laura

Undergraduate thesis / Završni rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:357852>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-26**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Kemijski odsjek

Laura Nuić

Studentica 3. godine Preddiplomskog sveučilišnog studija KEMIJA

KLIK-KEMIJA: CIKLOADICIJA AZIDA I ALKINA

Završni rad

Rad je izrađen u Zavodu za organsku kemiju

Mentor rada: izv. prof. dr. sc. Vesna Petrović Peroković
Neposredni voditelj rada: dr. sc. Željka Car

Zagreb, 2019.

Datum predaje prve verzije Završnog rada:

05. srpnja 2019.

Datum ocjenjivanja Završnog rada i polaganja Završnog ispita:

20. rujna 2019.

Mentor rada: izv. prof. dr. sc. Vesna Petrović Peroković

Potpis:

Sadržaj

§ SAŽETAK.....	VII
§ 1. UVOD	1
1.1. Klik-kemija	1
1.2. Triazolni prsten i 1,2,3-triazoli	3
1.2.1. <i>Strukturne osobitosti triazola</i>	3
1.2.2. <i>Biološka aktivnost triazola</i>	4
§ 2. CIKLOADICIJA AZIDA I ALKINA.....	8
2.1. Sinteza 1,2,3-triazola.....	8
2.1.1. <i>Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija azida i alkina.....</i>	8
2.1.2. <i>Bakrom(I) katalizirana 1,3-dipolarna cikloadicija azida i alkina (CuAAC).....</i>	10
2.1.2.1. <i>Obilježja CuAAC reakcije.....</i>	10
2.1.2.1. <i>Mehanizam CuAAC reakcije.....</i>	12
2.1.3. <i>Rutenijem katalizirana 1,3-dipolarna cikloadicija azida i alkina (RuAAC)</i>	13
2.1.3.1. <i>Obilježja RuAAC reakcije.....</i>	13
2.1.3.2. <i>Mehanizam RuAAC reakcije</i>	14
2.1.4. <i>Cikloadicija azida i alkina potaknuta napetošću prstena (SPAAC)</i>	15
2.2. Trokomponentne bakrom(I) katalizirane klik-reakcije.....	16
2.2.1. <i>Trokomponentne katalizirane reakcije i njihovi produkti</i>	16
2.2.2. <i>Reakcijski uvjeti.....</i>	18
2.2.3. <i>Reakcijski mehanizam</i>	19
2.2.4. <i>Bakrovi katalizatori</i>	21
2.3. Zaključak	23
2.4. Popis kratica.....	24
§ 3. LITERATURNI IZVORI.....	XXV

§ Sažetak

Pojam klik-kemije uveden je u organsku kemiju početkom 21. stoljeća. Uključuje različite vrste reakcija nastajanja veze ugljik-heteroatom, koje nazivamo klik-reakcijama. Da bi se neka reakcija smatrala klik-reakcijom mora zadovoljiti određene uvjete, primjerice mora biti primjenjiva na različite supstrate, stereospecifična, odvijati se u nezahhtjevnim uvjetima, rezultirati visokim iskorištenjem produkta koji se jednostavno izoliraju i odvajaju od eventualno nastalih nusprodukata nekromatografskim putem i slično.

Mnoge reakcije zadovoljavaju definirane uvjete, no 1,3-dipolarna cikloadicija azida i terminalnih alkina kojom nastaje triazolni prsten zaslužuje posebnu pažnju. Razlog tome su jednostavni reakcijski uvjeti i iznimno široki spektar primjene različitih supstrata. Azidi i alkini su stabilni u širokom rasponu organskih reakcijskih uvjeta i u biološkom okruženju, a ipak su visokoenergetske funkcijske skupine. Njihovo ireverzibilno spajanje u triazole izrazito je egzotermno.

Reakcija azida i alkina doživjela je puni potencijal otkrićem bakrom(I) katalizirane azid-alkinske cikloadicije zbog poboljšanja regioselektivnosti i značajnog povećanja brzine reakcije. Cikloadicija azida i alkina katalizirana bakrom(I) naširoko se rabi u različitim područjima organske sinteze kao što su biokonjugacija, sinteza oligonukleotida, označavanje DNK, sinteza naprednih materijala itd.

Otkriće azid-alkinske cikloadicije katalizirane bakrom(I) otvorilo je vrata k istraživanju trokomponentnih klik-reakcija koje su se zbog jednostavnosti pokazale vrlo pogodne za biološka ispitivanja.

§ 1. UVOD

1.1. Klik-kemija

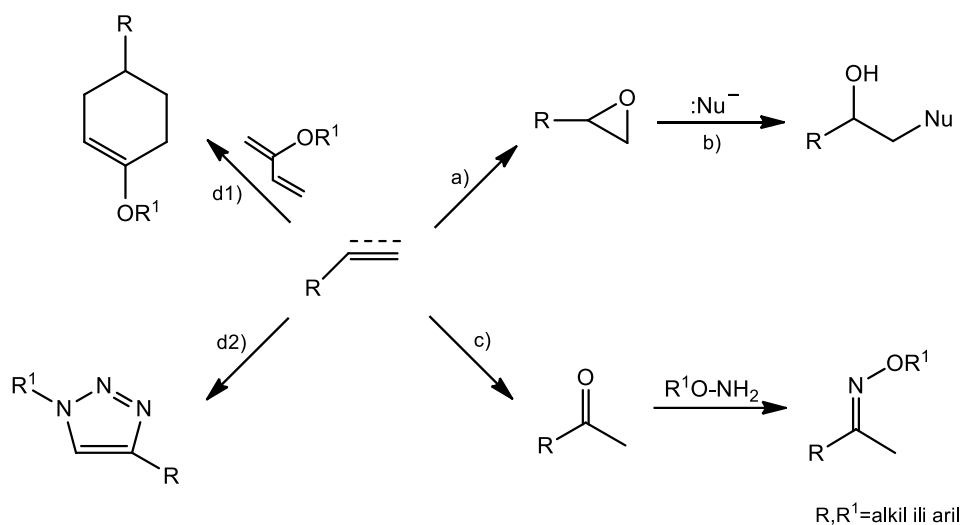
Pojam klik-kemija pojavljuje se prvi put početkom 21.stoljeća (2001. godine) zahvaljujući istraživanjima K. B. Sharplessa, M. G. Finna i H. C. Kolba (slika 1) te postaje jedan od najpopularnijih pristupa u organskoj sintezi. Klik-kemija predstavlja novi pristup u širokom području kemije, odnosno obuhvaća široku paletu kemijskih reakcija nastajanja veze ugljik-heteroatom kojima se brzo i pouzdano dolazi do produkata spajanjem više manjih jedinica.^{1,2}



Slika 1. K. B. Sharpless, M. G. Finn i H. C. Kolb¹

Sharpless i suradnici definirali su niz uvjeta koje neka reakcija mora zadovoljiti kako bi se smatrala klik-reakcijom. Riječ je o modularnim stereospecifičnim (ne nužno i enantio-selektivnim) reakcijama širokog raspona primjene i visokog iskorištenja koje se odvijaju u jednostavnim uvjetima (idealnim se smatra neosjetljivost na kisik i vodu) dajući lako uklonjive neškodljive nusprodukte. Polazni materijali u klik-reakcijama moraju biti pristupačni, a otapala neškodljiva i lako uklonjiva, dok produkti moraju biti stabilni, a njihova izolacija jednostavna, metodama kao što su kristalizacija i filtracija, odnosno nekromatografskim metodama.^{1,2} Klik-reakcije uključuju sve navedeno jer su termodinamički povoljne. Energija koja se oslobađa tijekom klik-reakcija obično iznosi više od 20 kcal mol⁻¹ ($\Delta G > 20$ kcal mol⁻¹).¹

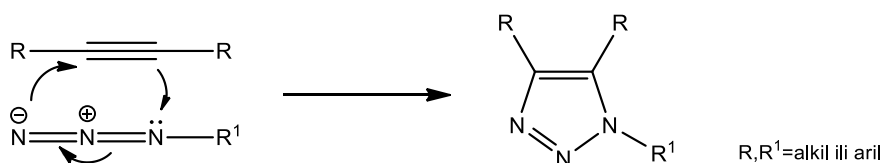
Postoji nekoliko tipova reakcija koje možemo smatrati reakcijama klik-kemije. To su cikloadicije nezasićenih spojeva (posebno 1,3-dipolarna cikloadicija kao i Diels-Alderove reakcije), reakcije nukleofilne supstitucije (reakcije otvaranja prstena napetih heterocikličkih elektrofila kao, primjerice, epoksida, aziridina, aziridinijevih iona i episulfonijevih iona), reakcije na karbonilnim spojevima nealdolnog tipa (nastanak urea, tiourea, aromatskih heterocikla, oksim-etera, hidrazona i amida) te adicija na nezasićene ugljik-ugljik veze (epoksidacija, dihidroksilacija, aziridinicija, adicije sulfenil-halogenida i Michaelova adicija) (shema 1).^{1,3}



Shema 1. Primjeri reakcija koje zadovoljavaju kriterije klik-kemije:

- a) adicije na nezasićenu vezu ugljik-ugljik; b) reakcije nukleofilnog otvaranja prstena;
- c) reakcije na karbonilnim spojevima nealdolnog tipa;
- d) cikloadicijske reakcije: 1) Diels-Alderova cikloadicija, 2) 1,3-dipolarna cikloadicija

Najzastupljenija od svih reakcija klik-kemije i nedvojbeno njezin pravi primjer jest Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija azida i alkina pri čemu nastaje 1,2,3-triazolni prsten (slika 2). Triazolni strukturni motiv od posebnog je značaja za razvoj lijekova zbog svog specifičnog biološkog djelovanja.¹⁻³

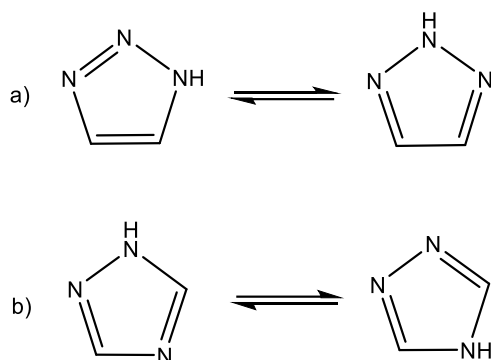


Slika 2. Općeniti prikaz Huisgenove ciklizacije

1.2. Triazolni prsten i 1,2,3-triazoli

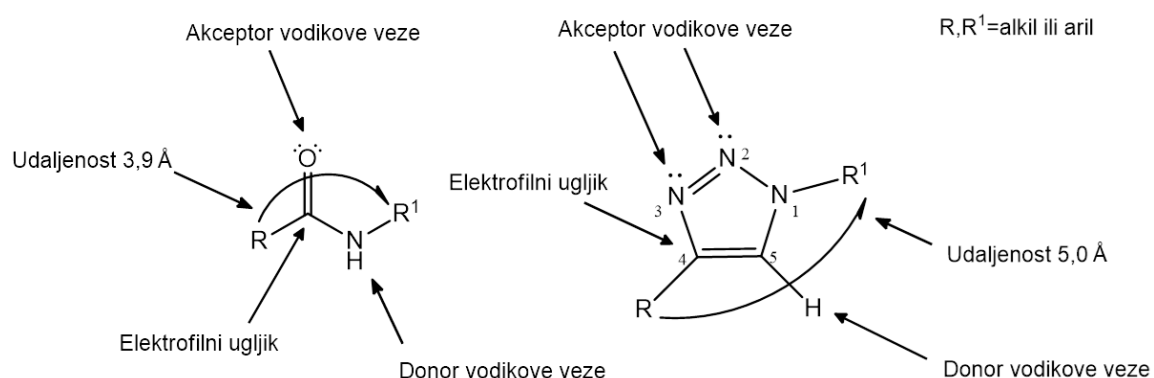
1.2.1. Strukturne osobitosti triazola

Triazoli su organski heterociklički aromatski spojevi koji se sastoje od peteročlanog prstena izgrađenog od dva atoma ugljika i tri atoma dušika. Razlikujemo dva konstitucijska izomera triazola: 1,2,3-triazol i 1,2,4-triazol, koji se međusobno razlikuju u položaju dušikovih atoma unutar prstena.^{4,5} 1,2,3-triazol se pojavljuje u dva tautomerna oblika, 1H- i 2H-oblik, dok 1,2,4-triazol postoji u 1H- i 4H-obliku (slika 3).



Slika 3. Tautomerni oblici: a) 1,2,3-triazola i b) 1,2,4-triazola

1,2,3-triazoli nastali reakcijom 1,3-dipolarne cikloadicije prema konceptu klik-kemije oponašaju razmještaj atoma i elektronske sposobnosti peptidne veze (slika 4)⁶ uz prednosti poput njihove inertnosti u različitim hidrolitičkim, oksidacijskim i redukcijским uvjetima, rezistencije na metaboličku razgradnju te veliku aromatsku stabilnost.⁷



Slika 4. Prikaz sličnosti između amida i 1,2,3-triazola

1,2,3-triazoli posjeduju jaki dipolni moment (~ 5 Debye)³ što je posljedica djelovanja sp^2 hibridiziranih atoma dušika N-2 i N-3 (slika 4) kao akceptora vodikove veze.^{3,4,6,8} Udaljenost između atoma ugljika u 1,4-disupstituiranom triazolu iznosi $5,0 \text{ \AA}$ u odnosu na $3,9 \text{ \AA}$ u amidnim vezama, što je ukupno povećanje od $1,1 \text{ \AA}$ zbog prisutnosti dodatnog dušikovog atoma u triazolnom prstenu.^{6,8}

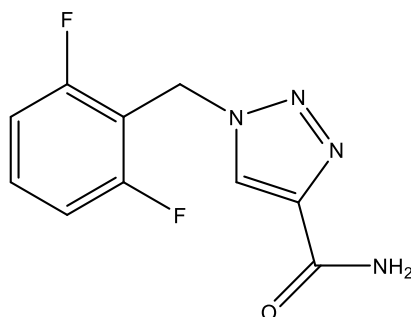
Iako nisu pronađeni u prirodi,⁴ istraživanja pokazuju mogućnost njihove široke primjene u biološkim istraživanjima. 1,2,3-triazolni derivati imaju sve značajniju primjenu u različitim područjima suvremene kemije, razvoju lijekova, biokonjugata, polimera i materijala. Primjenjuju se u industriji kao boje, inhibitori korozije, agrokemikalije, fotostabilizatori, fotografski materijali itd.⁹⁻¹¹

Najčešće se primjenjuju u medicini jer pokazuju širok spektar biološke aktivnosti poput antibakterijskog, antifungalnog, antivirusnog, antialergijskog, anti-HIV djelovanja i mnogih drugih.^{6,12}

1.2.2. Biološka aktivnost triazola

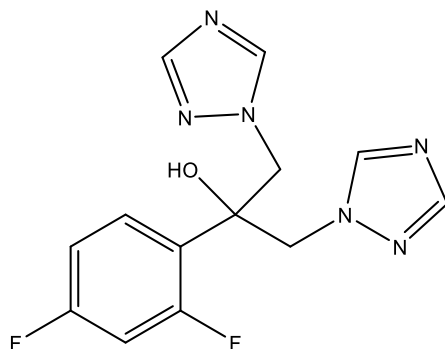
Triazoli i njihovi derivati privlače sve veću pažnju istraživača zbog njihove biološke aktivnosti. S obzirom da su 1,2,3-triazolni derivati inertni na metaboličku razgradnju i imaju sposobnost stvaranja vodikovih veza, važni su strukturni motivi u strukturi potencijalno biološki aktivnih spojeva, a mogu pridonijeti i povećanju njihove topljivosti.⁴

Postoji mali broj lijekova koji u svojoj strukturi sadrže 1,2,3-triazolni prsten, a nalaze se na tržištu ili su u posljednjoj fazi kliničkih ispitivanja.⁴ Jedan od lijekova dostupnih na tržištu je Rufinamid[®], antikonvulzivni lijek koji se koristi u liječenju Lennox-Gastaut sindroma, posebno teškog oblika epilepsije (slika 5).¹³



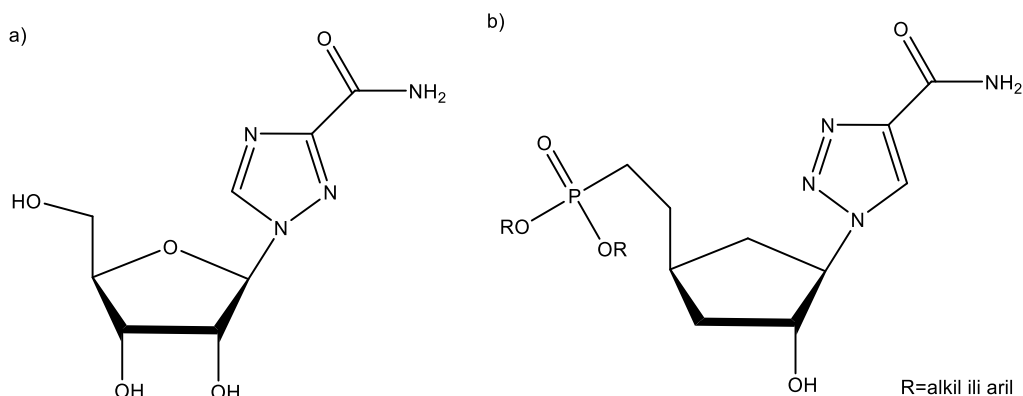
Slika 5. Strukturna formula antikonvulzivnog lijeka Rufinamida[®]

Flukonazol (slika 6), antifungalni 1,2,4-triazolni lijek, vrlo je uspješan u liječenju infekcija uzrokovanih gljivicama vrste *Candida*, no zbog učestale primjene došlo je do razvijanja otpornosti.^{4,14} Možemo uočiti da se ovdje radi o 1,2,4-triazolu što je drugi izomerni oblik triazolnog prstena (slika 3).



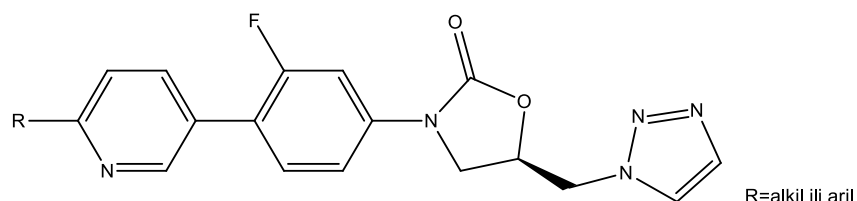
Slika 6. Strukturna formula antifungalnog lijeka flukonazola

Nukleozidni analozi ribavirina (slika 7) pokazuju antivirusnu aktivnost na mnoge viruse uključujući i virus hepatitisa C (HCV).⁴



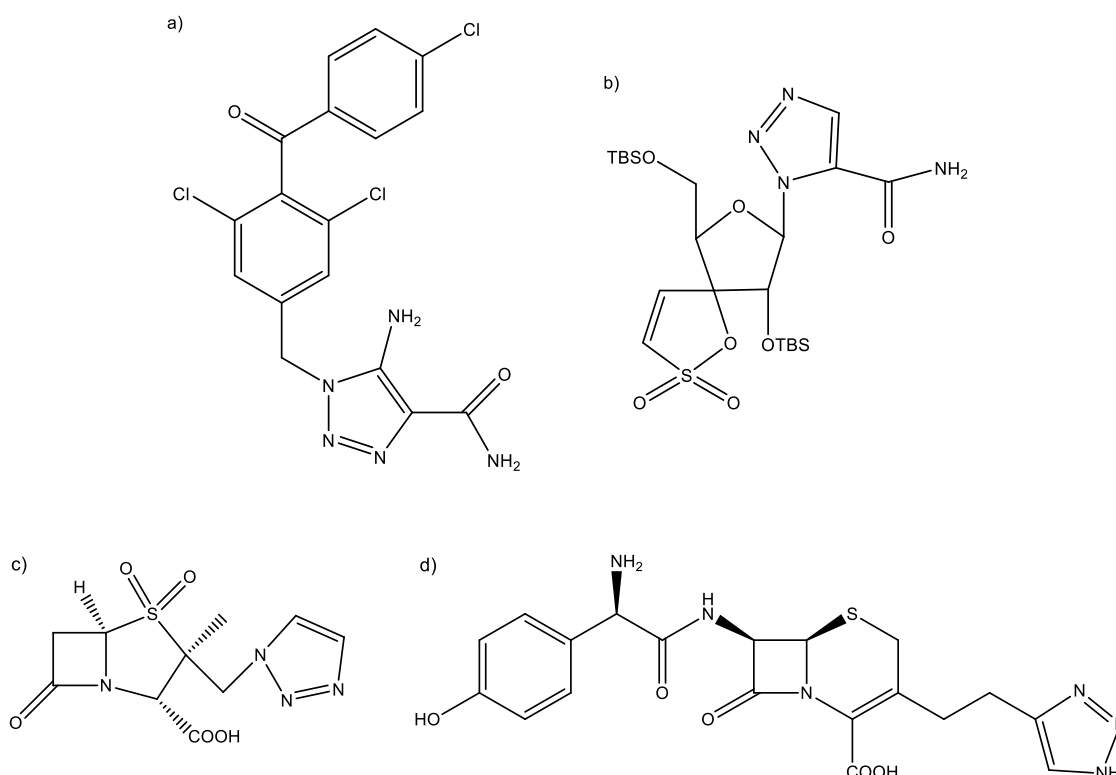
Slika 7. Strukturne formule a) antivirousnog lijeka ribavirina i b) nukleozidnog analoga ribavirina

Klasa antibiotika oksazolidinona (slika 8) posebno je korisna u liječenju infekcija uzrokovanih Gram-pozitivnim bakterijama uključujući *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp* i *Streptococcus pneumoniae*, dok im je antibakterijsko djelovanje protiv Gram-negativnih bakterija kao i mikrobakterija nešto skromnije.⁴



Slika 8. Strukturna formula lijeka iz klase antibiotika oksazolidinona

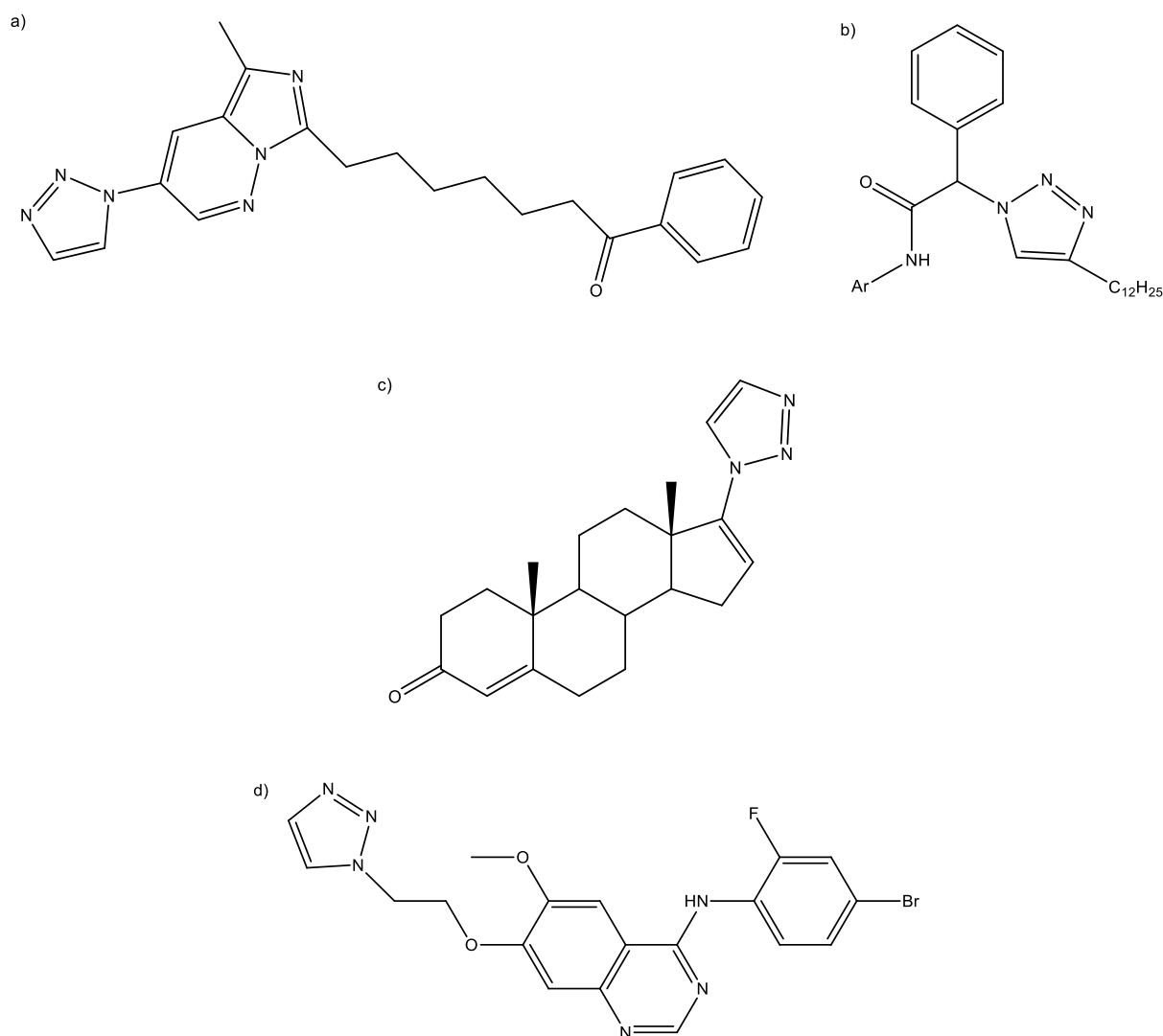
Ostali lijekovi temeljeni na strukturi 1,2,3-triazola su: karboksiamidotriazol (CAI) koji pokazuje antitumorsko djelovanje te je korišten u pokusima u liječenju raka pluća, raka dojke, raka bubrega i raka jajnika;^{4,15} *tert*-butildimetilsililspiroaminoooksatioldioksid (TSAO) i njegovi derivati koji su inhibitori reverzne transkriptaze; tazobaktam, β -laktamski antibiotik koji inhibira djelovanje bakterijskog enzima β -laktamaze i dodaje se određenim antibioticima kako bi ih učinio manje osjetljivim na bakterijsku otpornost^{4,7,16} te cefalosporin cefatrizin čija je inhibicija bakterija *Esterichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus mirabilis* i *Salmonella* dokazana brojnim testiranjima (slika 9).^{4,17}



Slika 9. Strukturne formule lijekova s 1,2,3-triazolnim strukturnim motivom:

- a) karboksiamidotriazol (CAI), b) *tert*-butildimetilsililspiroaminoooksatioldioksid (TSAO),
c) tazobaktam i d) cefatrizin

Potruga za novim biološki aktivnim spojevima koji sadrže 1,2,3-triazolni prsten u svojoj strukturi i dalje se nastavlja. Strukturne formule biološki aktivnih spojeva poput sintetiziranih derivata 1,2,3-triazola koji posjeduju anti-HIV i antitumorsko djelovanje te inhibitora receptora tirozin-kinaze i spojeva koji imaju hipokolesterolemični učinak prikazane su na slici 10.⁴



Slika 10. Strukturne formule spojeva koji sadrže 1,2,3-triazolni prsten i pokazuju različita biološka djelovanja: a) anti-HIV djelovanje, b) hipokolesterolemični učinak, c) antitumorsko djelovanje i d) inhibitori receptora tirozin-kinaze

§ 2. CIKLOADICIJA AZIDA I ALKINA

2.1. Sinteza 1,2,3-triazola

2.1.1. Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija azida i alkina

Pravu čar klik-kemije predstavljaju heteroatomne cikloadicijske reakcije kao što su Diels-Alderova reakcija i nedvojbeno 1,3-dipolarna cikloadicija koje je definirana na temelju rada Rolfa Huisgena te se zbog toga često naziva Huisgenovom cikloadicijom.¹

Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija fuzijska je reakcija dipolarofila s 1,3-dipolom uz nastajanje peteročlanog prstena. Dipolarofili su organski spojevi koji u svojoj strukturi sadrže dvostruku ili trostruku vezu, a mogu biti alkeni, alkini i molekule koje imaju odgovarajuću heteroatomnu funkcijsku skupinu (poput karbonila i nitrila). 1,3-dipoli su organski spojevi koji u svojoj strukturi sadrže jedan ili više heteroatoma i mogu se prikazati pomoću rezonantne strukture.¹⁸ 1,3-dipol uvijek je ambivalentni spoj koji pokazuje elektrofilnu i nukleofilnu aktivnost na položajima 1 i 3.¹⁹ Elektron-odvlačeće skupine na dipolarofilu favoriziraju interakciju njegove LUMO orbitale s HOMO orbitalom dipola što dovodi do formiranja novih veza, dok elektron-donorske skupine na dipolarofilu pretežito favoriziraju inverznu interakciju.¹⁸

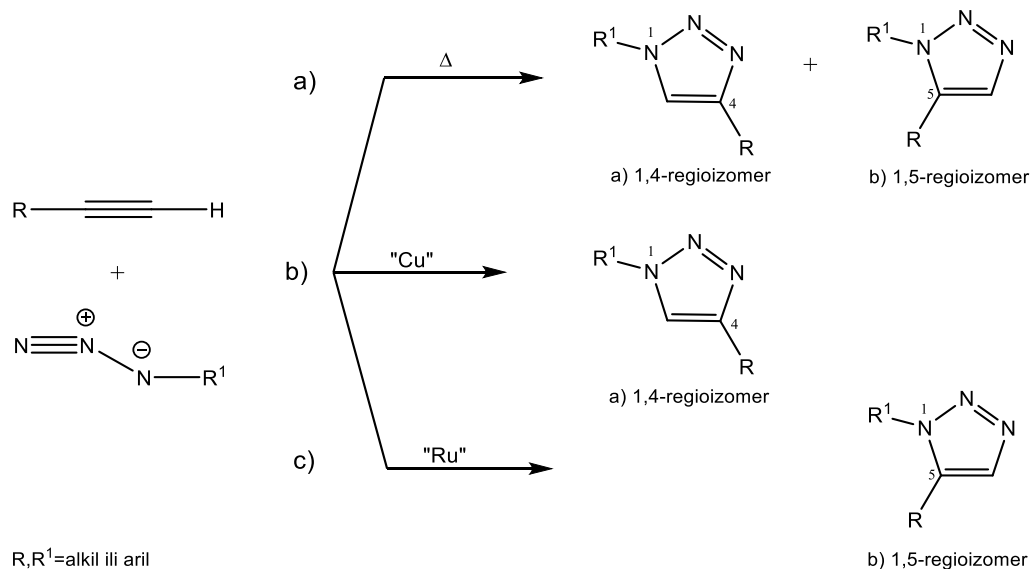
Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija azida i alkina vrlo je egzotermna reakcija (od -50 kcal mol⁻¹ do -65 kcal mol⁻¹) s relativno visokom energijom aktivacije (25 - 26 kcal mol⁻¹ za reakciju metil-azida i propina) što značajno utječe na brzinu reakcije te je za neaktivirane reaktante čak i na višim temperaturama vrlo spora^{2,20} (na temperaturama od 80 - 120 °C potrebno je 12 sati za cikloadicijsku reakciju²¹). Reakcija je u odsutnosti pogodnog katalizatora prilično spora zbog toga što azidi i alkini reagiraju vrlo selektivno, odnosno inertni su prema većini funkcijskih skupina i stabilni su u velikom broju otapala pri različitim temperaturama i vrijednostima pH.^{2,3} Ukoliko u reakciji sudjeluju nesimetrični alkini, energetske vrijednosti dviju mogućih HOMO-LUMO interakcija reaktanata vrlo su slične ($25,7$ kcal mol⁻¹ i $26,0$ kcal mol⁻¹)²² što je razlog nastanka smjese dvaju regioizomera, 1,4- i 1,5-disupstituiranog 1,2,3-triazola.^{2,20,23,24}

Nekatalizirana Huisgenova cikloadicija zbog zahtjevnih reakcijskih uvjeta i nastanka smjese dvaju regioizomera nije u potpunosti u skladu s načelima klik-kemije.²³

Prava revolucija dogodila se kada su Sharpless i Meldal, neovisno jedan o drugome, sintetizirali 1,2,3-triazolni prsten uz monovalentni atom bakra kao katalizator te dobili samo 1,4-disupstituirani triazolni prsten i time omogućili regioselektivnu sintezu 1,2,3-triazola. Upotreba bakra kao katalizatora dramatično poboljšava regioselektivnost i značajno povećava brzinu reakcije.⁶ Azid-alkinska cikloadicija katalizirana bakrom(I) (CuAAC, engl. *Copper Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition*²) odvija se 10^7 do 10^8 puta brže od nekatalizirane 1,3-dipolarne cikloadicije te s visokim iskorištenjem, a može se provoditi i u širokom rasponu temperatura i pH vrijednosti (4-12).^{6,22-24} Moguća je upotreba raznovrsnih otapala te reaktanata sa širokim spektrom funkcijskih skupina. Čisti produkti izolirani su jednostavnim metodama poput filtracije ili ekstrakcije bez potrebe za kromatografijom ili rekristalizacijom.^{22,23}

Primjenom pogodnih katalizatora reakcija se ubrzava, regioselektivnost se povećava i produkti nastaju u većem iskorištenju. Upotreba bakra kao katalizatora u reakciji 1,3-dipolarne cikloadicije azida i alkina omogućava selektivnu sintezu 1,4-disupstituiranog regioizomera 1,2,3-triazola, dok upotreba rutenija kao katalizatora omogućava sintezu 1,5-disupstituiranog regioizomera 1,2,3-triazola (shema 2).^{9,21,23} Reakcije u kojima se koriste katalizatori u potpunosti zadovoljavaju kriterije klik-kemije.

Azid-alkinske cikloadicije katalizirane bakrom i srebrom najučinkovitije su regioselektivne metode za sintezu 1,4-disupstituiranih 1,2,3-triazola, dok upotrebom natrijevih, litijevih ili magnezijevih soli nastaju 1,5-disupstituirani 1,2,3-triazoli. Međutim, takve reakcije imaju problema s nepoželjnim kemijskim otpadom. Druga metoda za sintezu 1,5-disupstituiranih regioizomera uključuje upotrebu izrazito skupih rutenijevih kompleksa što nije ekonomično.⁹ Sve se više pažnje posvećuje razvoju novih katalitičkih sustava gdje su uspješno korišteni nikal, cink, aluminij, kalij, iridij, paladij, rodij i mnogi drugi katalizatori u sintezi 1,2,3-triazola.^{21,25}



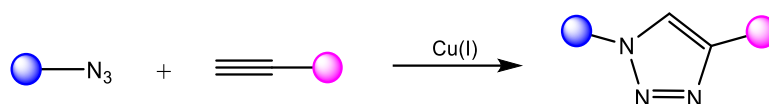
Shema 2. Prikaz regioselektivnosti Huisgenove 1,3-dipolarne cikloadicije azida i alkina pri različitim uvjetima: a) pri povišenoj temperaturi, b) bakrom katalizirana reakcija i c) rutenijem katalizirana reakcija

Od svih nabrojanih, bakrom(I) katalizirana Huisgenova cikloadicija predstavlja jednu od najpopularnijih i najučinkovitijih reakcija unutar koncepta klik-kemije.

2.1.2. Bakrom(I) katalizirana 1,3-dipolarna cikloadicija azida i alkina (CuAAC)

2.1.2.1. Obilježja CuAAC reakcije

Uvođenje bakra kao katalizatora predstavlja ključ poboljšanja Huisgenove cikloadicije. Bakrom(I) katalizirana azid-alkinska cikloadicija, CuAAC, kojom regioselektivno nastaju 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazoli, često je primjenjivana metoda u sintetskoj organskoj kemiji, medicinskoj kemiji i kemiji materijala. Primjenjuje se u dizajnu novih lijekova, biokonjugaciji, kemiji polimera i razvoju novih materijala, supramolekularnoj kemiji, označavanju DNK i sintezi oligonukleotida, povezivanju glikozidnih klastera i dendrimera, pripremi stacionarnih faza za kolone za HPLC i dr. Brzo uključivanje CuAAC reakcija u gotovo sva područja kemije prilično je jedinstven slučaj i prikazuje njenu svestranost. Azid-alkinska cikloadicija katalizirana bakrom utjelovljuje koncept klik-kemije u potpunosti te je postala sinonim brze i jednostavne sintetske metode sa širokim područjem primjene.² Općenito, CuAAC reakciju moguće je prikazati shemom 3.



Shema 3. Bakrom(I) katalizirana azid-alkinska cikloadicija, CuAAC

Važan aspekt bakrom katalizirane Huisgenove cikloadicije azida i alkina je izvor bakra(I). Direktni izvori bakrovih(I) iona mogu biti soli bakra(I) ili kompleksi bakra(I). Bakar(I) je moguće pripremiti i *in situ* redukcijom soli bakra(II) uz dodatak redukcijskog sredstva u suvišku. Također, bakar(I) može se dobiti i reakcijom disproporcioniranja između elementarnog bakra i soli bakra(II).⁶ Ovisno o reakcijskim uvjetima izabire se i odgovarajući bakrov katalizator.

Bakar(I) je termodinamički nestabilan te se relativno lako oksidira u bakar(II) koji je katalitički inaktivan.² Reakcija sa solima bakra(I) kao što su bakrov-jodid, CuI, ili bakrov-bromid, CuBr, najčešće se provodi u organskom otapalu u inertnoj atmosferi zbog činjenice da je bakar(I) osjetljiv na prisutnost kisika. U odsutnosti baze, reakcije sa solima bakra(I) imaju tendenciju da se odvijaju sporo najvjerojatnije zbog težine stvaranja međuproducta, bakrovog acetilida. Korištenje aaminskih baza poput diizopropiletilamina (DIPEA) i 2,6-lutidina pozitivno utječe na brzinu reakcije zbog stabiliziranja oksidacijskog stanja bakra(I).^{2,6,24}

U slučaju polarnih supstrata najčešće se kao katalizator primjenjuje sustav Cu(II)/Na-askorbat gdje natrijev askorbat djeluje kao blago redukcijsko sredstvo koje reducira stabilne soli bakra(II), najčešće bakrov sulfat pentahidrat, CuSO₄·H₂O, do oksidacijskog stanja (I). Reakcije u kojima se koristi navedeni katalitički sustav, odnosno *in situ* priprava bakrovih(I) iona, ne zahtijevaju inertnu atmosferu te se najčešće provode u vodenom mediju čime se otklanja potreba za bazom i smanjuje zagađivanje okoliša.

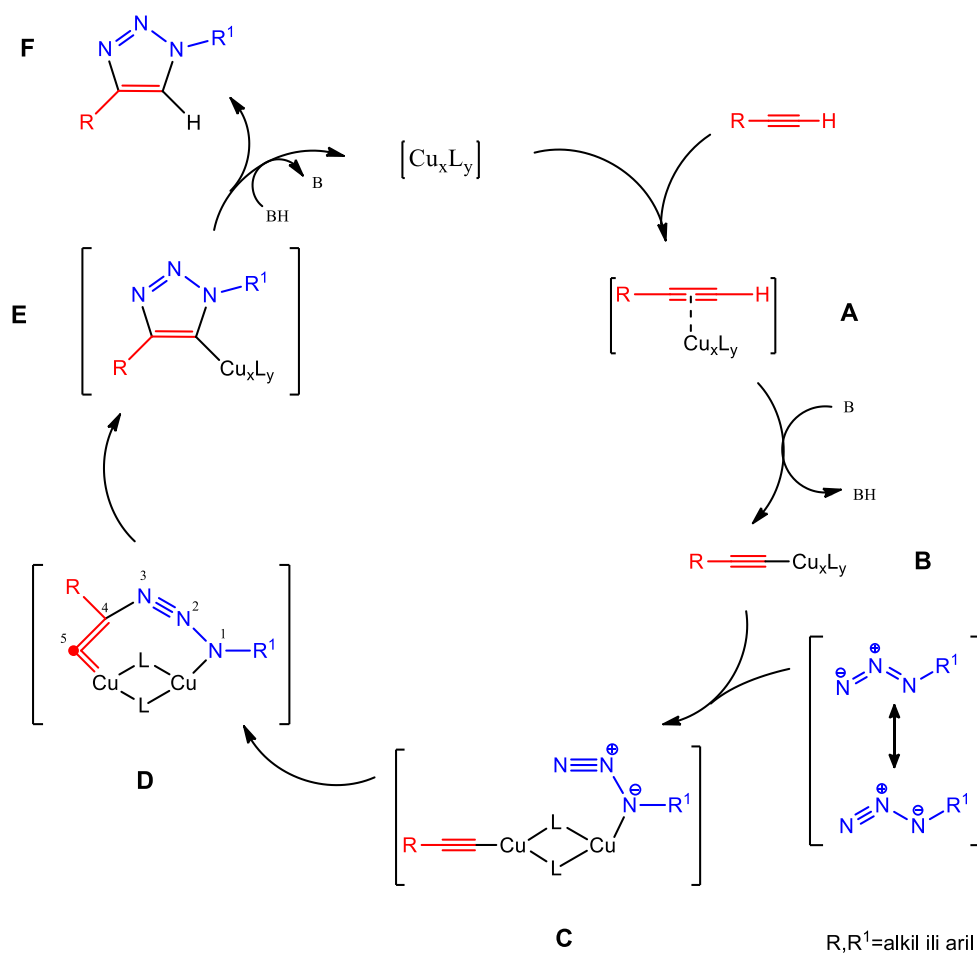
Upotreba elementarnog bakra u obliku bakrene žice ili praha također katalizira nastajanje 1,2,3-triazola. Prednost postupka leži u tome što je lako ukloniti bakar iz reakcijske smjese, a nedostatak je potreba za većim količinama bakra kako bi se reakcija katalizirala. Korištenje nanočestica bakra ili nano bakrovog praška predstavlja alternativu gore navedenom, ali komercijalna nedostupnost i visoka cijena ograničava korištenje navedenih izvora bakra.⁶

Također, u reakcijama CuAAC mogu se upotrijebiti i kompleksi bakra(I) s različitim ligandima gdje ligandi štite bakar(I) od oksidacije zbog čega se reakcija može provoditi u prisutnosti kisika. Ligandi mogu djelovati i kao akceptori protona zbog čega nije potrebna upotreba baza. Najčešći ligand koji se upotrebljava u organskoj sintezi i biokonjugaciji je

tris[(1-benzil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil]amin (TBTA) dok se batofenantrolin i N^1 -(2-(dimetilamino)etil)- N^1,N^2,N^2 -trimetiletan-1,2-diamin (PMEDTA) upotrebljavaju u kemiji polimera.²

2.1.2.1. Mehanizam CuAAC reakcije

Svestranost azid-alkinske cikloadicije katalizirane bakrom(I) koja se odvija u vodenim i organskim otapalima unutar širokog raspona temperatura i pH vrijednosti izazvala je veliki interes i za objašnjenjem mehanizma reakcije. Energija aktivacije u izvornoj Huisgenovoj cikloadiciji azida i alkina je velika i reakcija nije mogla započeti bez povišenja temperature. Upotrebom bakra(I) kao katalizatora smanjuje se energija aktivacije za oko 11 kcal mol⁻¹ čime je omogućeno ubrzanje reakcije te je postignuta regioselektivnost.^{6,22}



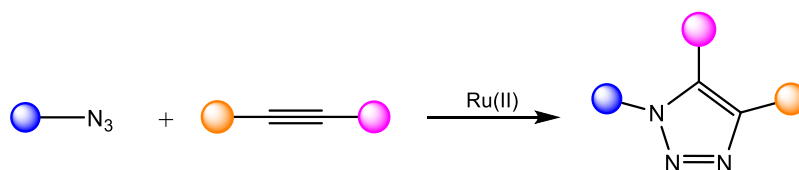
Schema 4. Pretpostavljeni mehanizam 1,3-dipolarne cikloadicije azida i alkina katalizirane bakrovim(I) ionima

Mehanizam azid-alkinske cikloadicije katalizirane bakrom, CuAAC, započinje reakcijom bakrovih(I) iona s π -elektronima trostruke veze terminalnih alkina pri čemu nastaje π -kompleks bakra(I) i alkina (shema 4, A). Vezanjem bakra u π -kompleks odnosno koordinacijom bakrovih(I) iona na trostruku vezu ugljik-ugljik smanjuje se pK_a protona terminalnog alkina što omogućuje deprotoniranje i nastanak bakrova(I) acetilida (shema 4, B). Nastali međuprodukt, bakrov(I) acetilid, koordinira azid pri čemu nastaje azid-acetilidni kompleks (shema 4, C). Nukleofilni napad terminalnog dušika N-3 azida na atom ugljika C-4 azid-acetilidnog kompleksa dovodi do stvaranja šesteročlane metalocikličke strukture (shema 4, D). Pregradnjom šesteročlane metalocikličke strukture nastaje bakrov triazolil, odnosno triazol koji je supstituiran bakrom (shema 4, E). Protoniranjem triazolila oslobađa se bakar te nastaje željeni produkt 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazol (shema 4, F).^{2,6} Pretpostavlja se da azid i alkin nisu koordinirani istim bakrovim atomom već da u reakciji sudjeluju barem dva bakrova atoma zbog činjenice da se radi o reakciji drugog reda s obzirom na bakar(I) te da acetilidi najčešće koordiniraju barem dva bakrova atoma.²

2.1.3. Rutenijem katalizirana 1,3-dipolarna cikloadicija azida i alkina (RuAAC)

2.1.3.1. Obilježja RuAAC reakcije

Potruga za potencijalnim katalizatorima Huisgenove cikloadicije azida i alkina otvorila je nova vrata u svijetu sinteze 1,2,3-triazola. Fokin i njegovi suradnici²⁰ su 2008. godine otkrili mogućnost regiosektivne sinteze 1,5-disupstituiranih 1,2,3-triazola pomoću kompleksa pentametilklopentadienil rutenijeva(II) klorida [Cp^*RuCl] kao katalizatora 1,3-dipolarne cikloadicije azida i alkina. Za razliku od bakrom(I) katalizirane azid-alkinske cikloadicije CuAAC, njezina srodna reakcija, rutenijem katalizirana azid-alkinska cikloadicija, RuAAC, omogućava i sudjelovanje neterminalnih alkina prilikom čega nastaju potpuno supstituirani 1,2,3-triazoli, odnosno 1,4,5-trisupstituirani 1,2,3-triazoli. Također, uočeno je da geometrija azida značajno utječe na ishod cikloadicije. Općenito, RuAAC reakciju moguće je prikazati shemom 5.²⁰

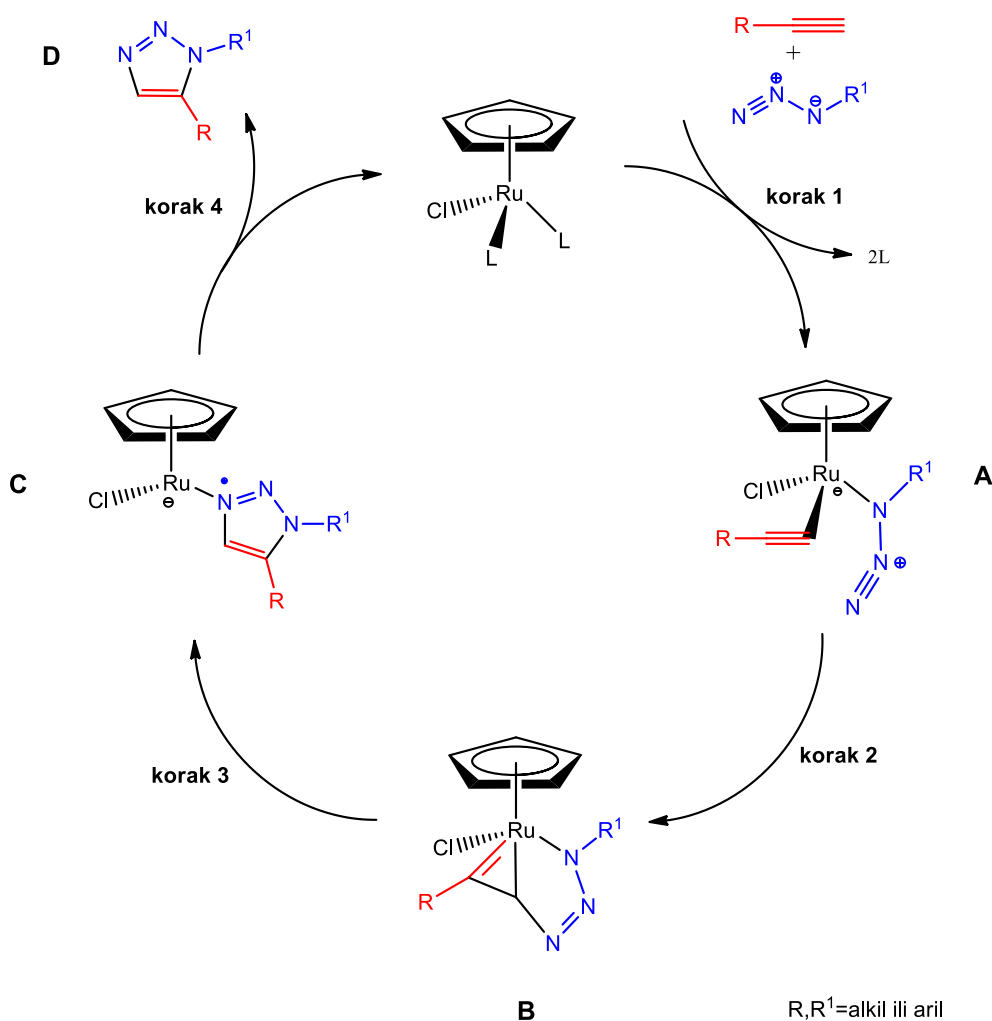


Shema 5. Rutenijem katalizirana azid-alkinska cikloadicija, RuAAC

Azid-alkinska cikloadicija katalizirana $[\text{Cp}^*\text{RuCl}]$ kompleksima provodi se u različitim suhim aprotičnim otapalima poput tetrahidrofurana, dioksana, toluena, benzena, *N,N*-dimetilformamida i 1,2-dikloretana, jer korištenjem protičnih otapala dolazi do snižavanja iskorištenja reakcije i stvaranja nusprodukata. Reakcija se može provoditi u prisutnosti kisika te na temperaturama od sobne do 110°C .

2.1.3.2. Mehanizam RuAAC reakcije

Pretpostavljeni mehanizam azid-alkinske cikloadicije katalizirane rutenijem, RuAAC, ne uključuje nastajanje rutenijevog acetilida, već postoji korak oksidativnog sparivanja azida i alkina. Regioselektivnost reakcije određena je korakom oksidativnog sparivanja.²⁰

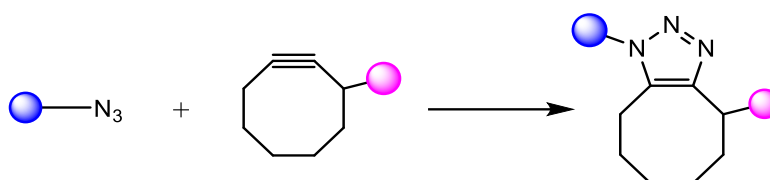


Shema 6. Pretpostavljeni mehanizam 1,3-dipolarne cikloadicije azida i alkina katalizirane rutenijevim kompleksima

Prema predloženom mehanizmu u prvom koraku izmjenom liganada na $[\text{Cp}^*\text{RuCl}]$ kompleksu dolazi do vezanja molekula primarnog alkina i azida na metalni centar (shema 6, korak 1). Nastali "zwitterionski" kompleks (shema 6, A) podliježe oksidativnom sparivanju azida i alkina (shema 6, korak 2) gdje alkin djeluje kao nukleofil pri čemu nastaje šesteročlani ciklički kompleks s rutenijem (shema 6, B). Zatim slijedi reduktivna eliminacija (shema 6, korak 3) kojom se oslobađava "zwitterionski" kompleks rutenija i triazolnog prstena, vezanog preko atoma dušika (shema 6, C). U posljednjem koraku dolazi do regeneracije katalizatora vezanjem liganada na kompleks (shema 6, korak 4) te posljedično nastaje željeni produkt 1,5-disupstituirani 1,2,3-triazol (shema 6, D).²⁰

2.1.4. Cikloadicija azida i alkina potaknuta napetošću prstena (SPAAC)

Azid-alkinska cikloadicija potaknuta napetošću prstena (eng. *strain-promoted azide-alkyne cycloaddition*, SPAAC) predstavlja klik-reakciju koja koristi oslobođenu energiju napetog prstena za provođenje reakcije čime je izbjegnuta potreba za katalizatorom. Navedena metoda razvila se kako bi se izbjegla štetnost prijelaznih metala u biološkim sustavima.²⁶ Osnova SPAAC reakcije je cikloadicija između ciklooktina i azida. Općenito, SPAAC reakciju moguće je prikazati shemom 7.



Shema 7. Azid-alkinska cikloadicija potaknuta napetošću prstena, SPAAC

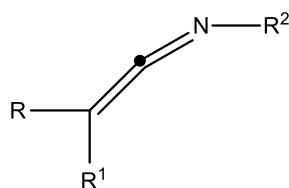
Cikloadicija azida i alkina potaknuta napetošću prstena, SPAAC, aktivira alkine uvođenjem istih u ciklooktin. Dodavanje elektron-odvlačeće skupine kao supstituenta, u susjedstvu trostruke veze, povećava kutnu napetost ciklooktina i samim time tendenciju otpuštanja napetosti prstena, odnosno dolazi do oslobađanja energije koja služi kao pokretačka sila za cikloadiciju s azidom.^{26,27}

Iako SPAAC reakcija predstavlja netoksičan pristup provođenju cikloadicije azida i alkina, rijetko se koristi zbog manjih brzina reakcije i iskorištenja u odnosu na CuAAC. Ipak, upravo zbog navedene netoksičnosti, derivati cikloooktina poput difluorcikloooktina (DIFO), dibenzilcikloooktina (DIBO) i biarilazacikloooktina (BARAC) pokazali su se veoma uspješnim za ispitivanje ovih reakcija u živim sustavima.²⁷

2.2. Trokomponentne bakrom(I) katalizirane klik-reakcije

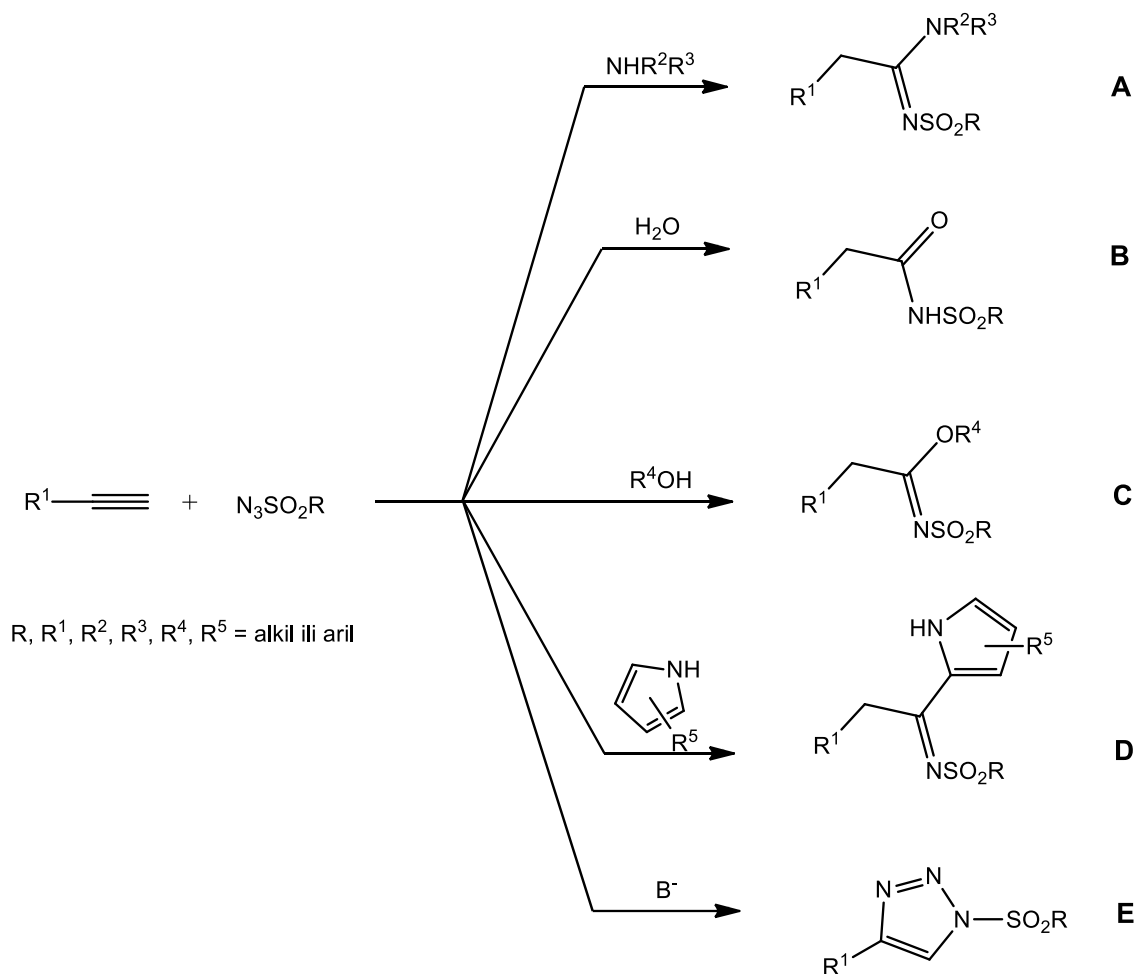
2.2.1. Trokomponentne katalizirane reakcije i njihovi produkti

Chang i njegovi suradnici 2005. godine prvi su put objavili saznanja o trokomponentnim bakrom kataliziranim reakcijama. Osim azida i alkina treća komponenta u ovoj reakciji je nukleofil. Upotrebom sulfonil- ili fosforil-azida i terminalnih alkina u CuAAC reakcijama, ovisno o uvjetima i trećoj nukleofilnoj komponenti koja sudjeluje u reakciji, nastaju raznovrsni spojevi. Utvrdili su da se navedeni tip reakcija zbiva preko ketenimina (slika 11) nastalog *in situ* reakcijom sulfonil-azida²⁸ ili fosforil-azida²⁹ i terminalnog alkina.



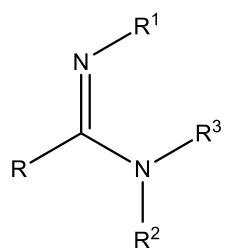
Slika 11. Općenita strukturna formula reaktivnog međuprodukta ketenimina

Nastali ketenimin podložan je adiciji različitih nukleofila poput amina, vode, alkohola ili heterocikličkih spojeva pri čemu nastaju amidini (shema 8, A), amidi (shema 8, B), imidati (shema 8, C) i heterociklički adukti (shema 8, D). Međutim, ovisno o vrsti baze i temperature, u trokomponentnim bakrom kataliziranim reakcijama sulfonil-azida i terminalnih alkina mogu nastati i 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazoli (shema 8, E).²⁸



Shema 8. Trokomponentne bakrom(I) katalizirane reakcije

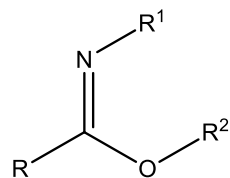
Amidini predstavljaju derivate oksokiselina u kojima je hidroksilna skupina zamijenjena amino-skupinom ili supstituiranom amino-skupinom, a okso-skupina zamijenjena je imino-skupinom ili supstituiranom imino-skupinom (slika 12). Amidini su spojevi koji su široko zastupljeni u organskoj sintezi kao međuprodukti i građevne jedinice kod sinteze heterocikličkih spojeva i metalnih kompleksa te kao farmakofori i strukturne komponente biološki aktivnih spojeva.²⁸



$R, R^1, R^2, R^3 = \text{alkil ili aril}$

Slika 12. Općenita strukturna formula amidina

Imidati (karboksiimidati, imido-estri) organski su spojevi (slika 13) koji se mogu smatrati esterima karboksimidne kiseline ($RC(=NR^1)OH$) i alkohola.³⁰ Imidati su poznati farmakofori i sintetske građevne jedinice.²⁸

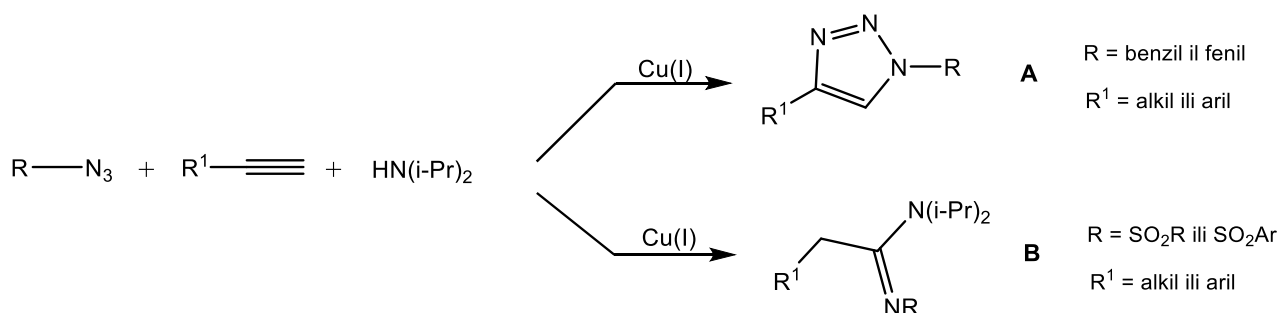


R,R¹,R²=alkil ili aril

Slika 13. Općenita strukturna formula imidata

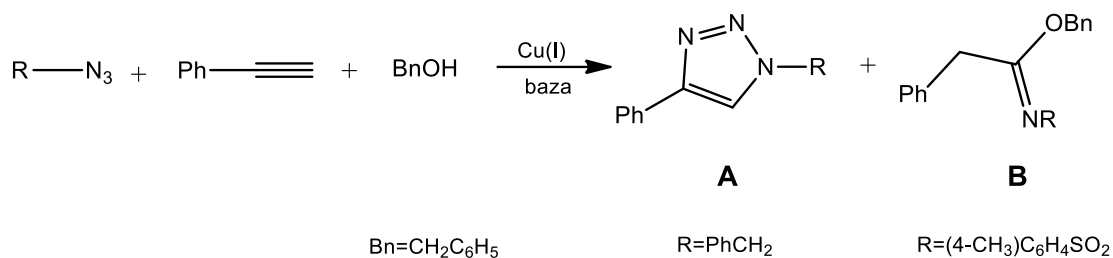
2.2.2. Reakcijski uvjeti

Vrsta produkta koji nastaje u trokomponentnoj bakrom kataliziranoj azid-alkinskoj cikloadiciji ovisi o tipu azida koji sudjeluje u reakciji. Reakcijom benzil- ili fenil-azida s terminalnim alkinima u prisutnosti diizopropilamina nastaju očekivani 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazoli (shema 9, A), dok korištenjem *N*-sulfonil-azida pretežno nastaju amidini (shema 9, B).²⁸



Shema 9. Sinteza 1,4-disupstituiranih 1,2,3-triazola i *N*-sulfonilamidina bakrom(I) kataliziranim klik-reakcijama

U trokomponentnim klik-reakcijama gdje su alkoholi upotrijebljeni kao nukleofili primijećen je isti tip selektivnosti (shema 10). Korištenjem benzil-azida i etinilbenzena u prisutnosti alkohola gotovo u potpunosti nastaje odgovarajući triazol (shema 10, A), dok korištenjem sulfonil-azida u istima uvjetima nastaje imidatni produkt (shema 10, B). Dobivanje imidata u zadovoljavajućim iskorištenjima zahtjeva prisutnost baze. U reakcijama sa sulfonil-azidima temperatura i upotreba baze imaju značajan utjecaj na selektivnost reakcije. Nastajanje triazola favorizirano je pri nižim temperaturama i u prisutnosti slabijih baza, dok nastanku imidata pogoduju više temperature i jače baze.²⁸

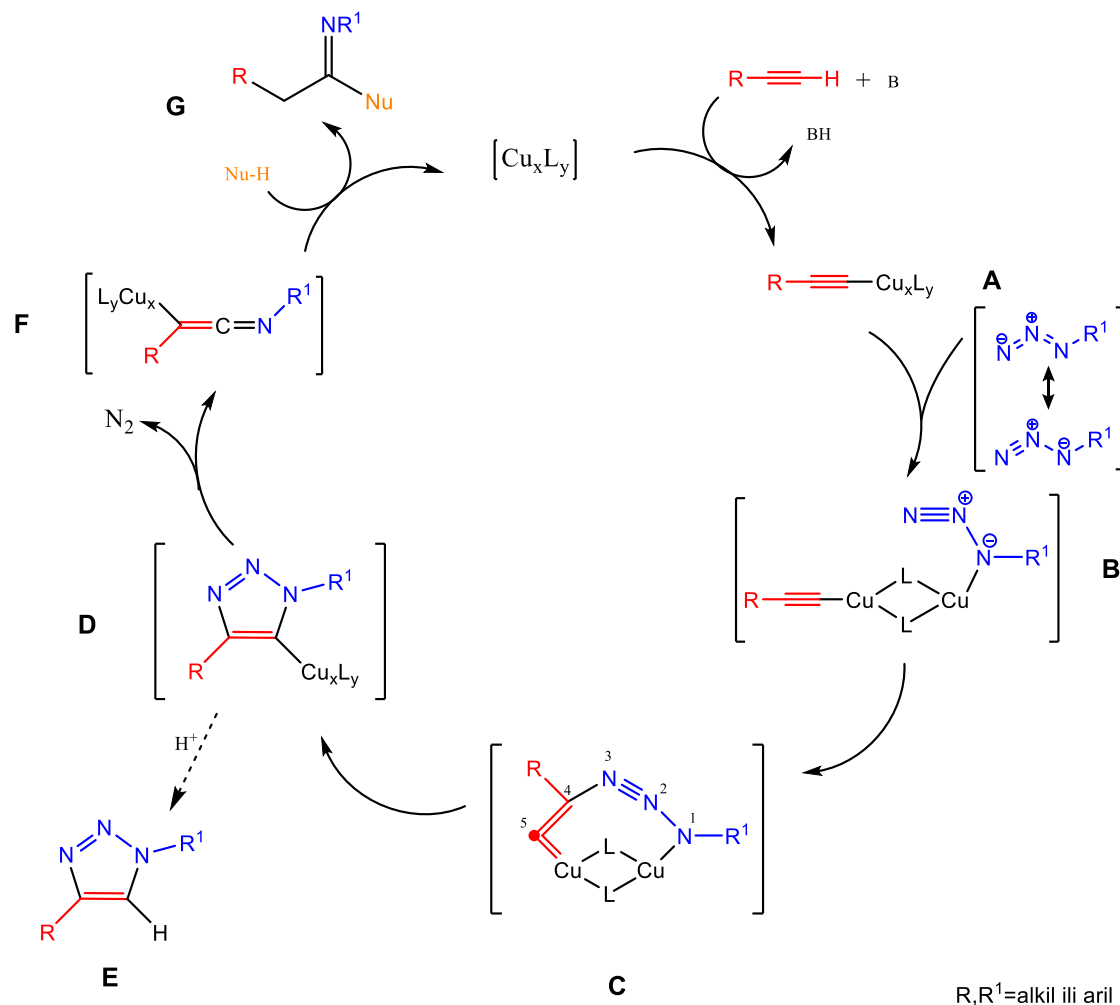


Shema 10. Trokomponentna bakrom(I) katalizirana klik-reakcija azida, alkina i benzilnog alkohola

Fosforil-azidi reagiraju na analogan način dajući odgovarajuće amidine, imidate i amide, ali sulfonil-azidi su se pokazali reaktivnijim u ispitivanim reakcijama.²⁸

2.2.3. Reakcijski mehanizam

Mehanizam bakrom kataliziranih trokomponentnih reakcija sulfonil-azida, terminalnih alkina i nukleofila detaljno je opisan na temelju provedenih istraživanja mehanizma koja su pokazala da kod navedenih reakcija zaista nastaje ketenimin kao međuprodukt (shema 11). Utvrđeno je da elektron-odvlačeći supstituenti na reaktantima ubrzavaju reakciju i to manje ako se nalaze na alkinu odnosno više ako su na azidu. Računalnim metodama dokazano je da zbog nižih energijskih barijera prijelaznih stanja, sulfonil-azidi lakše reagiraju s bakrovim acetilidima nego alkil-azidi.²⁸



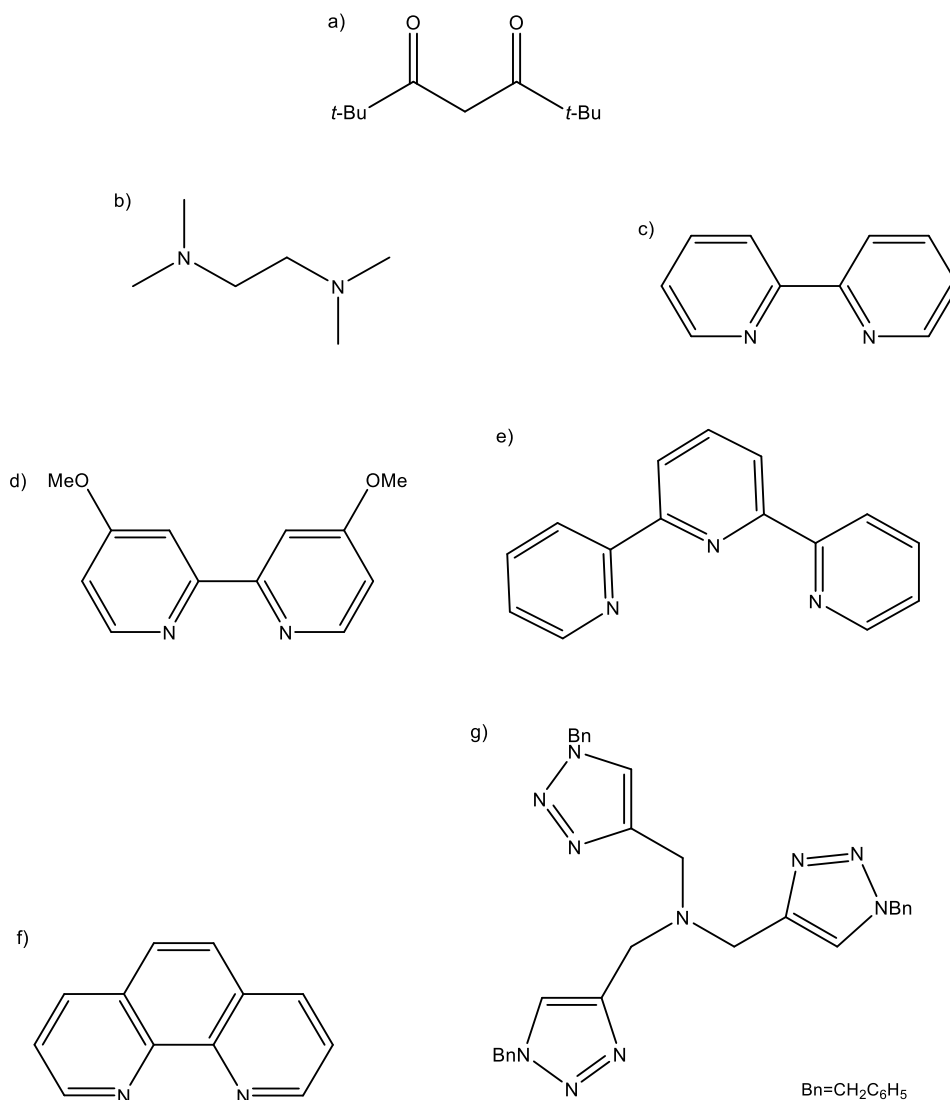
Shema 11. Pretpostavljeni mehanizam bakrom(I) katalizirane trokomponentne reakcije

Početni koraci pretpostavljenog mehanizama bakrom katalizirane trokomponentne reakcije alkina, sulfonil-azida i nukleofila identični su kao i kod bakrom(I) katalizirane azid-alkinske 1,3-dipolarne cikloadicije koja uključuje aril- ili alkil-azide. U prvom koraku nastaje bakrov acetilid (shema 11, A) koji potom stupa u reakciju sa sulfonil-azidom pri čemu nastaje azid-acetilidni kompleks (shema 11, B). Zatim, azid-acetilidni kompleks ciklizira dajući šesteročlani bakrov prsten (shema 11, C). Pregradnjom nastalog šesteročlanog bakrovog prstena nastaje peteročlani triazolilni derivat (shema 11, D). Nastali triazolilni oblik podliježe pregradnji i otvaranju prstena što uzrokuje nastajanje keteniminskog međuprodukta (shema 11, F) i otpuštanja molekule dušika. Energija aktivacije za otvaranje prstena je za 84 kJ mol⁻¹ manja kod sulfonil-triazolila u odnosu na alkil-triazolil što pogoduje katalizi. Završni korak podrazumijeva adiciju nukleofila kao što su amini, alkoholi, voda ili heterocikli pri čemu nastaju odgovarajući amidini, imidati, amidi odnosno novi heterociklički spojevi.²⁸

Bakrov triazolil predstavlja ključni međuprodukt iz kojeg, ovisno o vrsti baze i temperature reakcije, protoniranjem može nastati triazol (shema 11, E) ili keteniminski međuprodukt koji reagirajući s nukleofilima daje odgovarajuće produkte (shema 8).²⁸

2.2.4. Bakrovi katalizatori

Uspoređen je utjecaj različitih liganda i oksidacijskih stanja bakra na ishod trokomponentnih klik-reakcija. Neočekivano, kod reakcija nastajanja amidina i imidata, nije uočena razlika u iskorištenjima primjenom bakar(II) ili bakar(I) katalizatora. Kod reakcija nastajanja amida uočena su znatno veća iskorištenja uz bakar(I) kao katalizator. Također, utvrđeno je da svi testirani ligandi, prikazani na slici 14, osim tris[(1-benzil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil] (TBTA) u određenoj mjeri inhibiraju reakcije nastajanja *N*-sulfonilamidina, *N*-sulfonilamida i *N*-sulfonilimidata. Reakcije uz ligand TBTA imale su nešto veća iskorištenja u slučaju *N*-sulfonilamidina i *N*-sulfonilimidata.²⁸



Slika 14. Strukturne formule testiranih liganda bakrovih katalizatora:

- a) 2,2,6,6-tetrametilheptan-3,5-dion, b) *N,N,N',N'*-tetrametiletilendiamin (TEMED),
c) 2,2'-bipiridin, d) 4,4'-dimetoksi-2,2'-bipiridin, e) 2,6-bis(2-piridil)piridin, f) *o*-fenantrolin,
g) tris[(1-benzil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil] (TBTA)

Svestrane trokomponentne bakrom(I) katalizirane reakcije omogućavaju jednostavnu pripremu niza produkata pogodnih za biološka ispitivanja čija priprema inače podrazumijeva višestupnjevitu i složenu sintezu. Navedene selektivne reakcije zbivaju se pri blagim reakcijskim uvjetima (sobna temperatura, prisutnost kisika i vode) bez steričkog i elektronskog utjecaja supstituenata na ishod reakcije i u jednom reakcijskom koraku.²⁸

2.3. Zaključak

Sintetski pristup poznat pod nazivom klik-kemija moćan je alat u postupku sinteze novih spojeva na relativno brz i jednostavan način. Koristi se u istraživanju novih lijekova i materijala, biokonjugaciji, makromolekularnom inženjerstvu, razvoju nanomaterijala, označavanju DNK i sintezi oligonukleotida. U vrlo kratkom vremenskom periodu klik-kemija je imala značajan i raznolik utjecaj na otkrivanje i razvoj novih lijekova. Razlog tome leži u činjenici da je primjenom klik-reakcija omogućena brza priprema velikog broja novih spojeva s boljim i selektivnijim djelovanjem. Klik-kemija ne zamjenjuje postojeće metode pripreme lijekova, već ih dopunjuje i proširuje.

Cikloadicije su se pokazale kao najbrže i najisplativije reakcije, a reakcijski uvjeti i reagensi uvijek se mogu mijenjati i unapređivati. Zbog širokog spektra industrijske primjene i bioloških aktivnosti, 1,2,3-triazoli privukli su veliku pažnju. Među brojnim sintetskim pristupima pripreme triazola, Huisgenova cikloadicija azida i alkina jedna je od najčešće korištenih metoda. Međutim, kada se koriste nesimetrični alkini, niska regioselektivnost cikloadicije postaje glavni nedostatak. Otkrićem azid-alkinske cikloadicije katalizirane bakrom(I), CuAAC kojom nastaju 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazoli, interes za triazole i njihovom primjenom dramatično je porastao.

Pristupi pripreme 1,5-disupstituiranih 1,2,3-triazola, konstitucijskih izomera 1,4-disupstituiranih 1,2,3-triazola, razlikuju se od CuAAC. Među njima posebno se ističe rutenijem katalizirana azid-alkinska cikloadicija, RuAAC.

Daljnje razumijevanje ove zanimljive kemijske transformacije može pridonijeti njezinom poboljšanju čime bi sintetska moć klik-reakcija još više došla do izražaja.

2.4. Popis kratica

DNK	Deoksiribonukleinska kiselina
HCV	Virus hepatitis C
CAI	Karboksiamidotriazol
TSAO	<i>Tert</i> -butildimetilsililspiroaminooksatioldioksid
HIV	Virus humane imunodeficijencije
LUMO orbitala	Najniža nepopunjena molekulska orbitala (engl. <i>Lowest Unoccupied Molecular Orbital</i>)
HOMO orbitala	Najviša popunjena molekulska orbitala (engl. <i>Highest Occupied Molecular Orbital</i>)
CuAAC	Azid-alkinska cikloadicija katalizirana bakrom(I) (engl. <i>Copper Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition</i>)
HPLC	Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (engl. <i>High Performance Liquid Chromatography</i>)
DIPEA	Diizopropilamin
TBTA	Tris[(1-benzil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil]
PMEDTA	<i>N</i> ¹ -(2-(dimetilamino)etil)- <i>N</i> ¹ , <i>N</i> ² , <i>N</i> ² -trimetiletan-1,2-diamin
RuAAC	Azid-alkinska cikloadicija katalizirana rutenijem (engl. <i>Ruthenium Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition</i>)
[Cp*RuCl]	Pentametilklopentadienil rutenijev(II) klorid
SPAAC	Azid-alkinska cikloadicija potaknuta napetošću prstena (engl. <i>Strain-Promoted Azide-Alkyne Cycloaddition</i>)
DIFO	Difluorciklooktin
DIBO	Dibenzilciklooktin
BARAC	Biarilazaciklooktin
TEMED	<i>N,N,N',N'</i> -tetrametiletildiamin

§ 3. LITERATURNI IZVORI

1. H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **40** (2001) 2004-2021.
2. D. Saftić, L. Krstulović, M. Bajić, B. Žinić, *Kem. Ind.* **64** (2015) 481-498.
3. H. C. Kolb, K. B. Sharpless, *Drug Discovery Technol.* **8** (2003) 1128-1137.
4. S. G. Agalave, S. R. Maujan, V. S. Pore, *Chem. Asian J.* **6** (2011) 2696-2718.
5. <https://sh.m.wikipedia.org/wiki/Triazol> (datum pristupa 03. kolovoza 2019.)
6. V. D. Bock, H. Hiemstra, J. H. van Maarseveen, *Eur. J. Org. Chem.* **2006** (2006) 51-68.
7. Amol H. Kategaonkar, P.V. Shinde, Atul H. Kategaonkar, S. K. Pasale, B. B. Shingate, M. S. Shingare, *Eur. J. Med. Chem.* **45** (2010) 3142-3146.
8. W. S. Horne, M. K. Yadav, C. D. Stout, M. R. Ghadiri, *J. Am. Chem. Soc.* **126** (2004) 15366-15367.
9. A. H. Banday, V. J. Hruby, *Synlett* **25** (2014) 1859-1862.
10. F. Friscourt, G. Boons, *Org. Lett.* **12** (2010) 4936-4939.
11. J. Barluenga, C. Valdes, G. Beltran, M. Escribano, F. Aznar, *Angew. Chem. Int. Ed.* **45** (2006) 6893-6896.
12. D. Amantini, F. Fringuelli, O. Piermatti, F. Pizzo, E. Zunino, L. Vaccaro, *J. Org. Chem.* **70** (2005) 6526-6529.
13. <https://de.wikipedia.org/wiki/Rufinamid> (datum pristupa 17. kolovoza 2019.)
14. <https://en.wikipedia.org/wiki/Fluconazole> (datum pristupa 17. kolovoza 2019.)
15. <https://www.drugbank.ca/drugs/DB11960> (datum pristupa 17. kolovoza 2019.)
16. <https://en.wikipedia.org/wiki/Tazobactam> (datum pristupa 17. kolovoza 2019.)
17. H. C. Neu, K. P. Fu, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **15** (1979) 209-212.
18. <https://www.organic-chemistry.org/namedreactions/huisgen-1,3-dipolar-cycloaddition.shtm> (datum pristupa 24. kolovoza 2019.)
19. R. Huisgen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2** (1963) 633-696.
20. B. C. Boren, S. Narayan, L. K. Rasmussen, L. Zhang, H. Zhao, Z. Lin, G. Jia, V. V. Fokin, *J. Am. Chem. Soc.* **130** (2008) 8923-8930.
21. R. Chen, L. Zeng, Z. Lai, S. Cui, *Adv. Synth. Catal.* **361** (2019) 989-994.
22. F. Himo, T. Lovell, R. Hilgraf, V. V. Rostovtsev, L. Noodleman, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, *J. Am. Chem. Soc.* **127** (2005) 210-216.

23. <https://www.organic-chemistry.org/namedreactions/click-chemistry.shtm> (datum pristupa 24. kolovoza 2019.)
24. V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **41** (2002) 2596-2599
25. S. Fukuzawa, H. Oki, *Org. Lett.* **10** (2008) 1747-1750.
26. X. Ning, J. Guo, M. A. Wolfert, G. J. Boons, *Angew. Chem. Int. Ed.* **47** (2008) 2253-2255.
27. https://en.wikipedia.org/wiki/Click_chemistry (datum pristupa 02. rujna 2019.)
28. L. Krstulović, D. Saftić, J. Matic, M. Bajić, B. Žinić, *Kem. Ind.* **64** (2015) 499-512.
29. P. Lu, Y. Wang, *Chem. Soc. Rev.* **41** (2012) 5687-5705.
30. <https://en.wikipedia.org/wiki/Carboximidate> (datum pristupa 02. rujna 2019.)