

Las reacciones clic o de abrochadura

Cristóbal Lárez Velásquez¹, Ricardo R. Contreras²

¹) Grupo de Polímeros, Departamento de Química, Facultad de Ciencias
Universidad de Los Andes, Mérida 5101, Venezuela

²) Laboratorio de Organometálicos, Departamento de Química, Facultad de Ciencias,
Universidad de los Andes, Mérida 5101, Venezuela.

clarez@ula.ve; ricardo.r.contreras@gmail.com

Recibido: 16/04/2023

Aceptado: 28/05/2023

<https://doi.org/10.53766/AVANQUIM/2023.18.01.02>

Resumen

En este trabajo se presenta una visión panorámica de la denominada química clic, mostrándose de manera general los principales tipos de reacciones químicas que se han venido utilizando para desarrollar esta nueva filosofía de trabajo, la cual debería permitir, idealmente, el surgimiento de metodologías más sustentables para la creación de materiales novedosos y sustentables, incluyendo muchos que pueden ser generados en combinación con materiales biológicos a través de reacciones ahora conocidas como reacciones bioortogonales. Igualmente, se presentan algunos ejemplos de aplicaciones específicas de este tipo de reacciones para hacer énfasis en la tremenda importancia que tiene este tema tan actual, lo indica el hecho de que sus creadores han sido reconocidos en el año 2022 con el premio Nobel de Química.

Palabras claves: Catalizadores de cobre; Reacciones bioortogonales; Alquino-azida; Diels-Alder; Premio Nobel de Química

Abstract

Click or buckling reactions. This paper presents a panoramic view of the so-called click chemistry, showing in a general way the main types of chemical reactions that have been used to develop this new work philosophy, which should ideally allow the emergence of more sustainable methodologies for the creation of novel and sustainable materials, including many that can be generated in combination with biological materials through reactions now known as biorthogonal reactions. Some examples of specific applications of such reactions are also presented to emphasize the tremendous importance of this highly topical subject, as indicated by the fact that its creators have been recognized in 2022 with the Nobel Prize in Chemistry.

Keywords: Copper catalysts; Biorthogonal reactions; Alkyne-azide; Diels-Alder; Nobel Prize in Chemistry

Introducción

El término 'reacciones clic' o 'química clic'¹ fue originalmente desarrollado por el químico estadounidense Karl Sharpless, galardonado con el premio Nobel en Química 2001 por sus aportes a la química asimétrica, especialmente por la "epoxidación asimétrica de alcoholes alílicos de Sharpless"^{2,3}. Este premio fue compartido con William S. Knowles⁴ y Ryoji Noyori⁵, quienes contribuyeron de manera decisiva al desarrollo de la hidrogenación asimétrica o enantioselectiva.

Veintiún años después, nuevamente el premio Nobel en Química del año 2021 fue concedido a Karl Sharpless, junto a la investigadora estadounidense Carolyn Bertozzi y el danés Morten Meldal, por los aportes realizados en el desarrollo de la química clic y bioortogonal⁶. De manera resumida se podría decir que, aunque Meldal y sus colaboradores fueron los primeros en publicar la síntesis catalizada por cobre de péptido-triazoles⁷, fue Sharpless quien tuvo una visión más amplia para proponer la filosofía general que define la química clic, estableciendo las características deseables para que una reacción química cumpla con los requerimientos de ésta¹. Por su parte, Bertozzi usó este tipo de reacciones para investigar biomoléculas en la superficie

de las células, como los glicanos, desarrollando reacciones clic en organismos vivos, denominadas reacciones bioortogonales, sin afectar la química normal dentro de las células⁸, lo que condujo la química clic a un nivel más avanzado.

De acuerdo con el enfoque inicial de los pioneros de estas reacciones, el objetivo fundamental de potenciar este tipo de reacciones es la generación de nuevos materiales mediante la unión de pequeñas unidades moleculares a través de enlaces con heteroátomos (C-X-C), siguiendo el ejemplo de la naturaleza, para desarrollar un conjunto en expansión de "bloques" potentes, selectivos y modulares que funcionen de manera confiable en aplicaciones de pequeña y gran escala¹. Estos investigadores denominaron la base de este enfoque "química de clics" y definieron un conjunto de criterios estrictos que un proceso debe cumplir para ser útil en este contexto. Los requerimientos definidos fueron:

- La reacción debe ser modular y amplia en alcance
- Originar rendimientos muy altos
- Generar solo subproductos inofensivos, que puedan ser removidos por métodos no cromatográficos

- Ser estereo-específica, aunque no necesariamente enantio-selectiva

Así, las reacciones deben desarrollarse en condiciones muy simples, idealmente con reactivos y productos insensibles al aire y al agua, con materiales de partida y reactivos fácilmente disponibles, evitando el uso de disolventes o usando disolventes benignos o fácilmente removibles. La purificación del producto debe ser realizada por métodos simples como la cristalización o la destilación y el producto obtenido debe ser estable en condiciones fisiológicas.

La potencialidad de este tipo de reacciones permite ahora abordar de manera entusiasta la generación de una amplia diversidad de materiales y métodos en diversos ámbitos, entre los cuales se pueden mencionar: la exploración de las células y el seguimiento de procesos biológicos, como por ejemplo la identificación de dianas terapéuticas para el tratamiento del cáncer⁹; el desarrollo de nuevos materiales mediante la modificación de polímeros existentes para la generación de dendrímeros, geles, etc., así como la modificación superficial de nanotubos de carbono, fullerenos, etc.¹⁰; preparación de “nanometales”¹¹; mejoramiento de la sensibilidad en la detección de biomarcadores¹²; encapsulación de fármacos, enzimas e incluso microorganismos y células¹³; preparación de fármacos¹⁴; entre muchísimos otros.

Tipos de reacciones químicas usadas para generar procesos clic o de abrochadura

Hasta la fecha se han probado un gran número de reacciones químicas que pueden generar procesos de abrochadura. En esta sección se describen las más estudiadas.

Reacciones de ciclo-adición

- Reacciones de Huisgen o adiciones 1,3-dipolares de azidas a alquinos. Son reacciones que generan heterociclos de cinco miembros y han sido conocidas desde hace más de 100 años¹⁵. Usualmente, las reacciones no catalizadas son lentas y cuando se emplean alquinos asimétricos (que poseen grupos sustituyentes distintos en cada carbono metínico) se obtiene una mezcla de los dos regio-isómeros posibles (figura 1). Sin embargo, el uso de catalizadores tales como compuestos de cobre, y otros metales como rutenio, ha permitido que estas reacciones procedan mucho más rápido y, además, de manera regio-selectiva, aún en condiciones más suaves. Así, este tipo de reacciones es sin duda uno de los procesos catalíticos más impactantes en los avances de la química durante los últimos años, constituyéndose en el ejemplo clásico de la química clic.

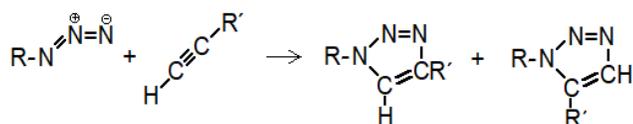


Fig. 1: Reacción general para una ciclo-adición 1,3-dipolar de un compuesto azida a un alquino no simétrico, generando una mezcla de regio-isómeros.

- Cicloadiciones usando óxidos de nitrilo. Aunque los óxidos de nitrilo son difíciles de aislar debido a su gran reactividad, es posible prepararlos *in situ* mediante diversas rutas sintéticas y hacerlos reaccionar con alquinos. Para obtener los óxidos de nitrilo se pueden usar diversas rutas sintéticas, como por ejemplo la reacción de cloruros de imidoilo con una base (figura 2) o la reacción de un aldehído con hidroxilamina y posterior tratamiento de la oxima obtenida con cloramina-T¹⁵.

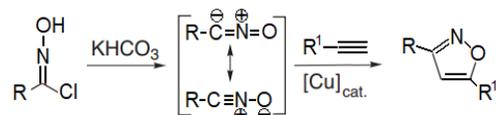


Fig. 2: Reacción general para una ciclo-adición 1,3-dipolar de un óxido de nitrilo (obtenido a partir de un cloruro de imidoilo) a un alquino.

Un excelente ejemplo del uso de estas reacciones para la preparación de sustancias útiles en el área de la química medicinal lo constituye la síntesis de los llamados isoxazoles, los cuales poseen un perfil quimioterapéutico destacado que les permite ocupar una posición relevante en la preparación de antimicrobianos como la Flucloxacilina¹⁶ (figura 3a) y antiinflamatorios no esteroideos como el Valdecoxib¹⁷ (figura 3b). En tal sentido, el desarrollo de métodos de preparación de isoxazoles se ha convertido en un área de mucho interés en los últimos años.

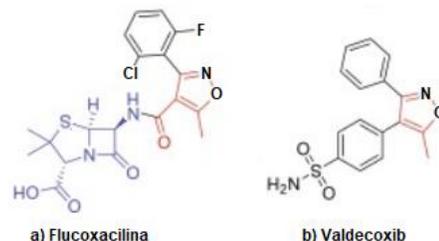


Fig. 3: Estructuras químicas para los productos de la cicloadición de óxidos de nitrilo con alquinos: a) Flucloxacilina y b) Valdecoxib.

- Cicloadiciones usando nitronas. Las nitronas son un tipo de moléculas orgánicas con dipolo 1,3 que han mostrado mucha potencialidad para el desarrollo de reacciones clic. Su principal ventaja es que pueden ser fácilmente sintetizadas a través de diversos métodos (condensación de N-hidroxilaminas monosustituidas con aldehídos, oxidación de aminas secundarias, N,N-hidroxilaminas secundarias, iminas e isoxazolidinas) para producir una gama de productos con un gran variedad estructural. Se clasifican como dipolos de tipo alílico y sus principales reacciones de cicloadición son: (i) reacciones con alquinos terminales catalizadas por Cu, (ii) reacciones con alquinos tensionados y (iii) reacciones con alquenos tensionados (figura 4). En la tabla 1 se muestra la reacción de cicloadición de un D-aminoácido no natural que porta una nitrona endocíclica que se ha unido a un grupo alquino para la marcación de bacterias.

- Reacciones de ciclo-adición promovidas por la tensión en alquinos cíclicos. El uso del ciclooctino, y sus derivados, en la preparación de compuestos de cicloadición 1,3 con azidas se basa fundamentalmente en la reactividad adicional del triple en-

lace C-C que le confiere la tensión anular, lo que permite evitar el uso de catalizadores. La reacción general para generar productos de este tipo se muestra en la figura 4, mientras que en la tabla 1 se presenta una reacción específica de la formación de bis-hemoglobina para su posible aplicación como un transportador de oxígeno libre de cobre.

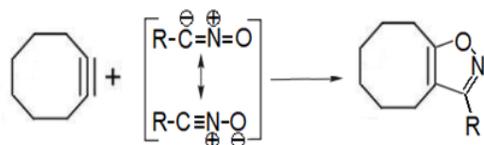


Fig. 4: Reacción general para una ciclo-adición 1,3-dipolar de azida a un alquino cíclico (tensionado).

Las reacciones de ciclo-adición a alquinos se han estudiado para azidas tanto alifáticas como aromáticas, incluyendo también el uso de pseudo alquinos aromáticos, como los llamados arinos, para producir benzotriazoles¹⁸. Algunos ejemplos del uso de azidas y compuestos relacionados para la preparación de materiales prometedores en el área de la medicina y la biotecnología, por ejemplo, se muestran en la tabla 1.

- Catálisis de las reacciones de ciclo-adición 1,3-dipolares a alquinos de azidas y compuestos relacionados

Como se ha mencionado anteriormente, se puede decir que la química clic ha sido 'bioinspirada'. Ello en virtud de que muchos procesos bioquímicos comienzan por unir pequeñas moléculas (un clic) hasta obtener grandes biomoléculas. Un ejemplo se encuentra en la síntesis ribosomal de polipéptidos. En los ribosomas²⁵, los aminoácidos se unen mediante un enlace peptídico, y lo hacen clic a clic, de acuerdo con la información genética obtenida del mRNA, en secuencias que dan como resultado biomoléculas de grandes pesos moleculares, pero que tienen funciones biológicas muy específicas. La reacción inversa, es decir, la ruptura del enlace peptídico para liberar paso a paso los aminoácidos que conforman el esqueleto molecular de un polipéptido, ocurre en las peptidasas²⁶. En el caso de la carboxipeptidasa A, un átomo de zinc (Zn(II), d¹⁰) ofrece el sitio catalíticamente activo para que ocurra un clic inverso, es decir, para que se rompa en enlace peptídico.

Siguiendo el mencionado esquema bioinspirado, con participación de un átomo de metal de transición como sitio catalíticamente activo (tal y como ocurre en las metaloenzimas), se tiene una de las reacciones emblemáticas en la química clic, la cicloadición de azida-alquino (reacción de cicloadición 1,3-dipolar Huisgen²⁷), catalizada por cobre²⁸⁻²⁹ (CuAAC, del inglés *Cu-catalyzed azide-alkyne cycloaddition*). Las reacciones CuAAC comienzan con un alquino como bloque o base estructural, como heteroátomo se dispone de un nitrógeno proveniente de un grupo azida y, por otro lado, uno o varios átomos de cobre (originalmente Cu(I), d¹⁰), que ofrece el sitio catalíticamente activo que facilita la reacción con la cual se obtiene un 1,2,3-triazol 1,4 disustituido, según se puede apreciar en la figura 5.

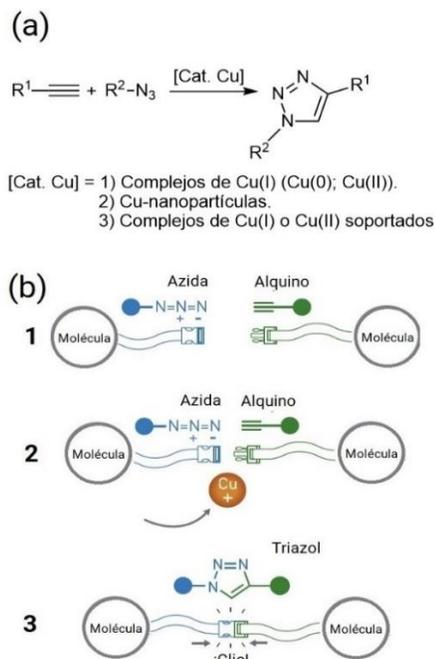


Fig. 5: Reacción de cicloadición de azida-alquino catalizada por cobre (CuAAC) para obtener un 1,2,3-triazol 1,4 disustituido. Algunas de los compuestos de cobre utilizados son: ioduro y bromuro de cobre(I), sulfato y acetato de cobre (II). (b) Visión esquemática de la reacción CuAAC típica de la química clic. La figura 1b fue adaptada del original de ©Johan Jarnestad/The Royal Swedish Academy of Sciences (2022).

En el mecanismo²⁹ propuesto por Sharpless para la reacción CuAAC (figura 6), solo interviene un átomo de cobre(I), implicando la generación de un inusual intermediario tensionado de seis miembros que, además del enlace covalente coordinado N→Cu, posee un sistema de enlaces: -C=C=Cu, terminando este intermediario por aproximarse a una especie de pseudo metalabenceno³⁰. Por su parte, Meldal hace una propuesta mecánica diferente, planteando la participación de complejos dimericos de cobre(I)³¹, lo cual evita la formación de intermediarios como los planteados por Sharpless.

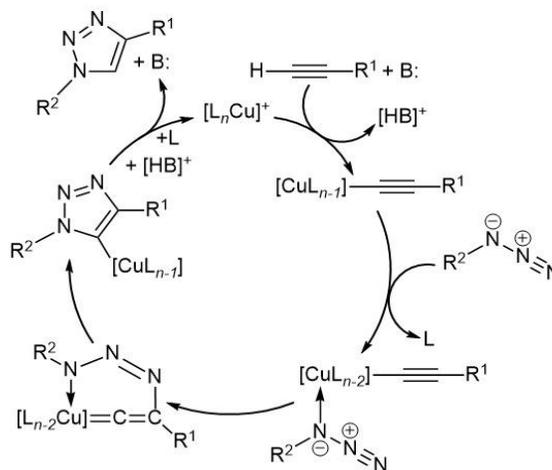


Fig. 6: Mecanismo propuesto por Sharpless para la cicloadición de azida-alquino catalizada por cobre (CuAAC) (figura adaptada de la referencia 29).

caso de la epoxidación, aziridinación o dihidroxilación de olefinas, y la reacción de Michael; 2) en reacciones sobre carbonilos no aldólicos, como en la síntesis de amidas e hidrazonas, heterociclos aromáticos, ureas o tioureas; 3) en la química de sustitución nucleofílica, como la reacción de apertura de anillos heterocíclicos, como sucede con los epóxidos, aziridinas y análogos; y, 4) en cicloadiciones de moléculas insaturadas, especialmente reacciones de cicloadición 1,3-dipolar y transformaciones de Diels-Alder.

Como se mencionó previamente, Carolyn Bertozzi, alrededor del año 2000, comenzó a utilizar la química clic en el estudio de reacciones de interés biológico, proponiendo su uso en reacciones bioortogonales³². Un sistema ortogonal es aquel que posee una geometría perpendicular, y en síntesis orgánica se asocia a una reacción donde, de todos los posibles grupos funcionales capaces de reaccionar en un sustrato, solo reacciona con un grupo específico, es decir, se trata de una reacción completamente dirigida o selectiva. En el caso de la bioortogonalidad, se estaría ante una reacción que ocurre sobre un único sitio químicamente activo asociado a un sistema biológico (biomolécula o célula) y, al final de la reacción, dicho sistema no se ve afectado en cuanto a su funcionalidad. En tal sentido, la cicloadición de azida-alquino, típica de la química clic, fue estudiada *in vitro* en condiciones bioortogonales³³⁻³⁴, es decir, en ausencia del catalizador de cobre, que debido a su citotoxicidad no puede ser utilizado en sistemas biológicos; no obstante, es necesario señalar que recientemente se ha venido estudiando el desarrollo de nanocatalizadores hidrosolubles a base de cúmulos de cobre(I) (Cu₃₀) con tiolatos³⁵, que tienen buena biocompatibilidad.

En la cicloadición de azida-alquino bioortogonal (figura 7a), el heteroátomo lo proporciona el sistema biológico, por ejemplo, una célula que ha sido tratada mediante 'etiquetado metabólico' para incorporar un grupo azido, que se hace reaccionar con el compuesto insaturado, en este caso un ciclooctino funcionalizado, a fin de promover la cicloadición azida-alquino (SPAAC, del inglés *strain-promoted [3 + 2] azide-alkyne cycloaddition*).

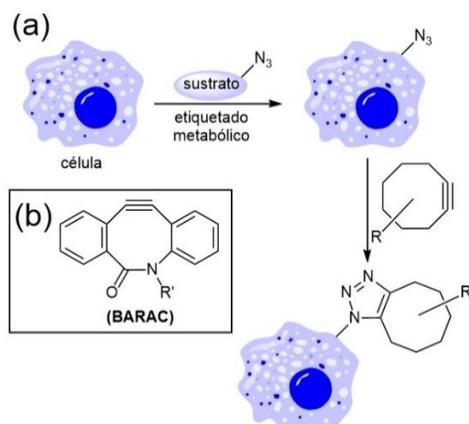


Fig. 7: Reacción bioortogonal de ciclooctino con biomoléculas marcadas con azida en sistemas celulares. (a) Las células, mediante etiquetado metabólico, se tratan con sustratos funcionalizados con un grupo azida. Luego, el grupo azida reaccionan con diferentes tipos de

ciclooctinos. (b) El biarilazaciclooctinona (BARAC), un ciclooctino funcionalizado que ofrece la oportunidad de servir de sonda en la reacción SPAAC utilizada para obtener imágenes de células vivas y animales (figura adaptada de la referencia 34).

Una de las aplicaciones *in vivo* de este tipo de reacciones se encuentra en el uso de 'sondas de ciclooctino', a fin de obtener imágenes de células vivas y animales por fluorescencia, un procedimiento que se basa en el uso de la reacción SPAAC con una biarilazaciclooctinona (BARAC, figura 7b). Esta metodología tiene las ventajas que ofrece el BARAC, especialmente en cuanto sus propiedades cromofóricas, a los parámetros farmacocinéticos y las facilidades sintéticas. En resumen, las reacciones bioortogonales basadas en la química clic se pueden utilizar en la modificación selectiva de biomoléculas o la exploración de células vivas, sin que ello implique un daño fisiológico³⁶⁻³⁷, dando lugar a la posibilidad de rastrear procesos biológicos, explorar células, y estudiar la eficiencia de los agentes antineoplásicos, así como en otras aplicaciones biomédicas³⁸.

Reacciones basadas en tioles

- Reacciones adición vía radicales libre a alquenos y alquinos.

La gran reactividad de los tioles representa una desventaja para el uso de este tipo de reacciones en la química clic debido a la posible generación de diversas reacciones colaterales; sin embargo, una adecuada selección de los reactantes puede favorecer el uso de los tioles en las reacciones clic. Las reacciones de los tioles con alquenos, o hidrotiolación de alquenos (ver figura 8a), son conocidas también desde hace más de 100 años³⁹ y, por la experiencia de tantos años de uso, se sabe que son altamente selectivas hacia algunos grupos funcionales específicos, en condiciones controladas de reacción, con la ventaja adicional de tolerar la presencia de otros grupos funcionales en el medio de reacción⁴⁰.

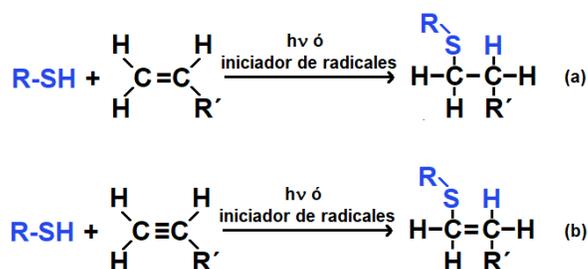


Fig. 8: Reacción general para la adición de un tiol sobre (a) un doble enlace C=C de un alqueno (que usualmente procede por un mecanismo de radicales libres en presencia de luz ultravioleta o un iniciador de radicales); (b) a un triple enlace carbono-carbono (cuyo producto puede seguir adicionando otro radical tiol).

Generalmente, la formación del enlace carbono-azufre resulta en el producto anti-Markovnikov⁴¹, debido a la formación del radical libre intermediario más estable. Similarmente, el triple enlace de los alquinos, especialmente los terminales, también puede experimentar la adición del radical tiol (figura 8b) y, adicionalmente, sufrir una posterior adición en el doble enlace resultante⁴⁰. En la tabla 1 se muestra un ejemplo específico de este tipo de reacciones para la preparación de materiales que

pueden responder a cambios de pH y temperatura, los cuales tienen potencialidad para ser usados en ingeniería de tejidos²³, entre otras aplicaciones.

- **Reacciones de adición nucleofílica.** Entre las reacciones de este tipo que se han aprovechado en la química clic se pueden mencionar la adición de tioles a epóxidos (figura 9a) y a isocianatos (figura 9b), así como la adición de Michael usando tioles (figura 9c); en este último caso, implica el uso de un doble enlace C=C activado mediante la conjugación con grupos atractores de electrones (GAE). En la tabla 1 se muestra la reacción de entrecruzamiento químico de un copolímero de acrilamida y glicidilmetacrilato, sustituido con grupos tioles, con un ditiol; esta reacción permite la preparación de hidrogeles inyectables en condiciones fisiológicas, los cuales mostraron una baja toxicidad²⁴.

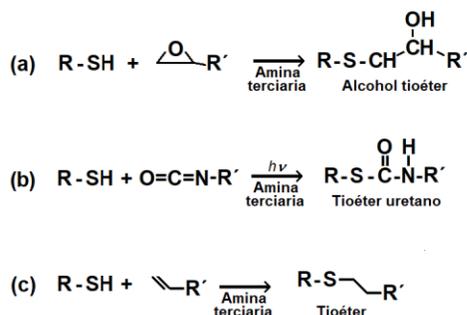


Fig. 9: Reacciones generales para la adición nucleofílica de un tiol sobre (a) un epóxido, (b) un isocianato y (c) a un doble enlace C=C activado por conjugación con un GAE a través de una adición de Michael.

Otros tipos de reacciones

- **Reacciones Diels-Alder.** Las reacciones Diels-Alder fueron desarrolladas por los químicos Otto Diels y Kurt Alder, quienes recibieron por ello el premio Nobel de Química en 1950. Son reacciones de cicloadición entre un dieno conjugado (diene) y un doble enlace (dienófilo) que generan un ciclo de seis miembros que posee una insaturación. La figura 10 muestra un ejemplo de este tipo de reacciones, las cuales son favorecidas cuando el dienófilo porta grupos dadores de electrones mientras que el dieno lleva grupos atractores.

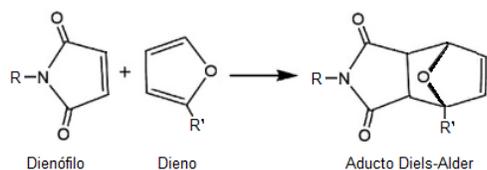


Fig. 10: Ejemplo de una reacción de Diels-Alder.

Este tipo de reacción ha sido usado para la modificación de poliésteres insaturados de anhídrido maleico con antraceno, lo que permite que los poliésteres modificados pasen de ser líquidos altamente viscosos y pegajosos a sólidos transparentes fácilmente moldeables⁴². Igualmente, el entrecruzamiento covalente de algunos biopolímeros modificados para portar dienos

como grupos colgantes, como el quitosano⁴³ y el ácido hialurónico⁴⁴, usando moléculas que llevan dos grupos dienófilos, como por ejemplo el bis-maleimida-polietilenglicol, ha sido ensayado para la preparación de hidrogeles con baja citotoxicidad. La reacción de entrecruzamiento del quitosano portando un dieno y bis-maleimida-polietilenglicol se puede apreciar en la figura 11.

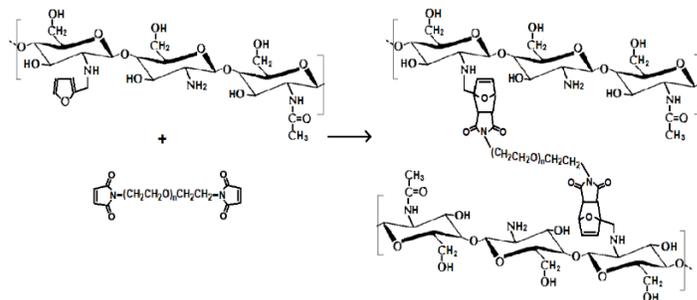


Fig. 11: Reacción Diels-Alder de entrecruzamiento para un quitosano modificado con grupos furánicos (diene) colgantes con el dienófilo bifuncional bis-maleimida-polietilenglicol.

Algunas consideraciones importantes

Se puede decir que el área de la química clic, impulsada por el Premio Nobel en Química 2022, toma un lugar de importancia estratégica dentro del concierto de las metodologías de síntesis de nuevos materiales⁴⁵. Por ejemplo, en el campo de la síntesis de materiales nanoporosos tipo entramado metal-orgánico (MOF por sus siglas en inglés) con aplicaciones catalíticas⁴⁶; también en el desarrollo de membranas de intercambio iónico⁴⁷ (AEM), que tienen potenciales aplicaciones en la construcción de celdas de combustible, baterías y otras tecnologías energéticas.

Por otro lado, el concepto de la química clic se ha extendido con éxito a las reacciones con ciclopentadieno⁴⁸. El uso de ciclopentadieno monoalquilado como reactivo clic es complejo debido a la tendencia que estos compuestos tienen hacia la formación de dímeros e isómeros; no obstante, este obstáculo se supera al generar el compuesto *in situ*. De hecho, el uso de ciclopentadienos funcionalizados y dienófilos de diversa variedad estructural, abre todo un abanico de posibilidades para la química clic. Igualmente, las reacciones de oxidación-clic⁴⁹ bajo el esquema 'one-pot'⁵⁰ constituyen una herramienta verdaderamente útil en síntesis orgánica, como se puede apreciar en el caso de la formación de hidrogeles⁵¹, material de alto interés por sus aplicaciones en biomedicina y otros campos. De la misma manera, y siguiendo en el ámbito de la biomedicina, el desarrollo de inhibidores enzimáticos utilizando la química clic se ha convertido en un área de estudio interesante, especialmente porque a través de la química clic *in situ* el procedimiento se hace mucho más eficiente, como se ha observado en los estudios que involucran a la anhidrasa carbónica II⁵².

El campo de la química inorgánica y de coordinación no escapa a la intervención de la química clic, especialmente a la hora de sintetizar prolifigandos nitrogenados tipo 1,2,3-triazol 1,4 disus-

tituidos, que puedan servir para la síntesis de complejos de metales de transición⁵³. Por ejemplo, en el área de los triazoles, se ha explorado la posibilidad de hacer química clic pero con 1,2,3-triazol 1,5 disustituido⁵⁴, lo que implica cambios en la disponibilidad de los grupos nitrogenados y, en consecuencia, en el reconocimiento molecular, un aspecto particularmente importante a la hora de probar la actividad biológica o la capacidad de coordinar metales de transición. Estas reacciones con selectividad hacia la disustitución 1,5 se han probado utilizando catalizadores de Ru(II) o Ni(II), en lugar del clásico catalizador a base de Cu(I). Finalmente, se ha reportado la síntesis de 1,2,3-triazoles con metodologías de la química clic que cumplen con los criterios de la química verde⁵⁵. Estos pocos ejemplos, así como otros citados previamente, permiten tener una visión clara acerca de la importancia y los alcances de la química clic y sus perspectivas futuras⁵⁶.

Agradecimientos

Los autores agradecen la lectura crítica del material y las recomendaciones realizadas por los profesores Bernardo Fontal y Fernando Bellandi, del Departamento de Química de la Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

Referencias

1. HC Kolb, MG Finn, KB Sharpless. Click chemistry: diverse chemical function from a few good reactions. **Angewandte Chemie International Edition**, **40(11)**, 2004–2021 (2001).
2. KB Sharpless. Searching for new reactivity (Nobel lecture). **Angewandte Chemie International Edition**, **41(12)**, 2024–2032 (2002).
3. A Pfenniger. Asymmetric epoxidation of allylic alcohols: the Sharpless epoxidation. **Synthesis**, **1986(02)**, 89–116. (1986).
4. WS Knowles. Asymmetric Hydrogenations (Nobel Lecture). **Angewandte Chemie International Edition**, **41(12)**, 1998–2007 (2002).
5. R Noyori. Asymmetric catalysis: science and opportunities (Nobel lecture). **Angewandte Chemie International Edition**, **41(12)**, 2008–2022 (2002).
6. <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2022/press-release/> 5 de octubre de 2022. Consultado: 10/04/2023
7. CW Tornøe, C Christensen, M Meldal. Peptidotriazoles on Solid Phase: [1,2,3]-Triazoles by Regiospecific Copper(I)-Catalyzed 1,3-Dipolar Cycloadditions of Terminal Alkynes to Azides. **Journal of Organic Chemistry**, **67(9)**, 3057-3064 (2002).
8. DH Dube, CR Bertozzi. Metabolic oligosaccharide engineering as a tool for glycobiology. **Current Opinion in Chemical Biology**, **7(5)**, 616-625 (2003).
9. SH Lee, OK Park, J Kim, K Shin, CG Pack, K Kim *et al.* Deep tumor penetration of drug-loaded nanoparticles by click reaction-assisted immune cell targeting strategy. **Journal of the American Chemical Society**, **141(35)**, 13829-13840 (2019).
10. WH Binder, R Sachsenhofer. 'Click' chemistry in polymer and materials science. **Macromolecular Rapid Communications**, **28(1)**, 15-54 (2007).
11. Y Luo, J Cai, Y Huang, J Luo. Synthesis of Xylan-Click-Quaternized Chitosan via Click Chemistry and Its Application in the Preparation of Nanometal Materials. **Molecules**, **27(11)**, 3455, 16 páginas (2022).
12. Z Zhang, T Li, Y Sheng, L Liu, HC Wu. Enhanced sensitivity in nanopore sensing of cancer biomarkers in human blood via click chemistry. **Small**, **15(2)**, 1804078 (2019).
13. MR Rojas-Pirela, V Rojas, E Pérez-Pérez, C Lárez-Velásquez. Encapsulación de células usando quitosano: Aspectos químicos y aplicaciones. **Avances en Química**, **16(3)**, 89-103 (2021).
14. X Jiang, X Hao, L Jing, G Wu, D Kang, X Liu, P Zhan. Recent applications of click chemistry in drug discovery. **Expert Opinion on Drug Discovery**, **14(8)**, 779-789 (2019).
15. A Suárez. Reacciones de cicloadición 1, 3-dipolares a alquinos catalizadas por cobre. **Anales de la Real Sociedad Española de Química**, **108(4)**, 306-313 (2012).
16. MI Hossain, MIH Khan, SJ Kim, HV Le. Synthesis of 3, 4, 5-trisubstituted isoxazoles in water via a [3+ 2]-cycloaddition of nitrile oxides and 1, 3-diketones, β -ketoesters, or β -ketoamides. **Beilstein Journal of Organic Chemistry**, **18(1)**, 446-458 (2022).
17. AR Reddy, G Goverdhan, A Sampath, K Mukkanti, PP Reddy, R Bandichhor. Application of [3+2]-cycloaddition in the synthesis of valdecoxib. **Synthetic Communications**, **42(5)**, 639-649 (2012).
18. F Zhang, JE Moses. Benzyne Click Chemistry with *in situ* Generated Aromatic Azides. **Organic Letters**, **11(7)**, 1587–1590 (2009).
19. NM Rachel, JN Pelletier. One-pot peptide and protein conjugation: a combination of enzymatic transamidation and click chemistry. **Chemical Communications**, **52(12)**, 2541–2544 (2016).
20. SJ Yan, YJ Liu, YL Chen, L Liu, J Lin. An efficient one-pot synthesis of heterocycle-fused 1,2,3-triazole derivatives as anti-cancer agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, **20(17)**, 5225–5228 (2010).
21. DA MacKenzie, AR Sherratt, M Chigrinova, AJ Kell, JP Pezacki. Bioorthogonal labelling of living bacteria using unnatural amino acids containing nitrones and a nitron derivative of vancomycin. **Chem. Commun.**, **51**, 12501–12504 (2015).
22. S Singh, IS Dubinsky-Davidchik, R Kluger. Strain-promoted azide-alkyne cycloaddition for protein-protein coupling in the formation of a bis-hemoglobin as a copper-free oxygen carrier. **Organic & Biomolecular Chemistry**, **14(42)**, 10011-10017 (2016).
23. H Ding, B Li, Z Liu, G Liu, S Pu, Y Feng *et al.* Decoupled pH- and thermo-responsive injectable chitosan/PNIPAM hydrogel via thiol-ene click chemistry for potential applications in tissue engineering. **Advanced Healthcare Materials**, **9(14)**, 2000454 (2020).
24. L Gao, X Li, Y Wang, W Zhu, Z Shen, X Li. Injectable thiol-epoxy "click" hydrogels. **Journal of Polymer Science Part A**, **54(17)**, 2651-2655 (2016).
25. WN Lipscomb, N Sträter. Recent advances in zinc enzymology. **Chemical Reviews**, **96(7)**, 2375–2433 (1996).

26. R Huisgen. 1,3-Dipolar Cycloadditions. Past and Future. **Angewandte Chemie International Edition in English**, **2(10)**, 565–598 (1963).
27. VV Rostovtsev, LG Green, VV Fokin, KB Sharpless. A step-wise huisgen cycloaddition process: copper(I)-catalyzed regioselective “ligation” of azides and terminal alkynes. **Angewandte Chemie**, **114(14)**, 2708–2711 (2002).
28. E Haldón, MC Nicasio, PJ Pérez. Copper-catalysed azide–alkyne cycloadditions (CuAAC): an update. **Organic & Biomolecular Chemistry**, **13(37)**, 9528–9550 (2015).
29. KL Dávila, RR Contreras, B Fontal, FJ Torres, L Rincón. An alternative description of aromaticity in metallabenzenes. **Journal of the Mexican Chemical Society**, **61(2)**, 97–101 (2017).
30. M Meldal, CW Tornøe. Cu-catalyzed azide–alkyne Cycloaddition. **Chemical Reviews**, **108(8)**, 2952–3015 (2008).
31. EM Sletten, CR Bertozzi. Bioorthogonal chemistry: fishing for selectivity in a sea of functionality. **Angewandte Chemie International Edition**, **48(38)**, 6974–6998 (2009).
32. NJ Agard, JA Prescher, CR Bertozzi. A strain-promoted [3 + 2] azide–alkyne cycloaddition for covalent modification of biomolecules in living systems. **Journal of the American Chemical Society**, **126(46)**, 15046–15047 (2004).
33. JC Jewett, EM, Sletten, CR. Bertozzi. Rapid Cu-Free Click Chemistry with Readily Synthesized Biarylazacyclooctynones. **Journal of the American Chemical Society**, **132(11)**, 3688–3690 (2010).
34. G Yang, Y Xie, Y Wang, Y Tang, LL Chng, F Jiang, *et al.* Water-soluble Cu₃₀ nanoclusters as a click chemistry catalyst for living cell labeling via azide–alkyne cycloaddition. **Nano Research**, **16(1)**, 1748–1754 (2023).
35. SL Scinto, DA Bilodeau, R Hincapie, W Lee, SS Nguyen, M Xu, *et al.* Bioorthogonal chemistry. **Nature Reviews Methods Primers**, **1(1)**, 30. (2021).
36. D Wu, K Yang, Z Zhang, Y Feng, L Rao, X Chen, *et al.* Metal-free bioorthogonal click chemistry in cancer theranostics. **Chemical Society Reviews**, **51(4)**, 1336–1376 (2022).
37. A Battigelli, B Almeida, A Shukla. Recent advances in bioorthogonal click chemistry for biomedical applications. **Bioconjugate Chemistry**, **33(2)**, 263–271 (2022).
38. M Serafini, T Pirali, GC Tron. Click 1,2,3-triazoles in drug discovery and development: From the flask to the clinic? **Advances in Heterocyclic Chemistry**, **134**, 101–148 (2021).
39. T Posner. Beiträge zur Kenntniss der ungesättigten Verbindungen. II. Ueber die Addition von Mercaptanen an ungesättigte Kohlenwasserstoffe (Aportaciones al conocimiento de los compuestos insaturados. II De la adición de mercaptanos a los hidrocarburos no saturados). **Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft**, **38(1)**, 646–657 (1905).
40. R Ramapanicker y P Chauhan. Click chemistry: mechanistic and synthetic perspectives. En: *Click Reactions in Organic Synthesis*, Editor: S Chandrasekaran, Wiley-VCH, pags. 1–24 (2016).
41. AK Sinha, D Equbal. Thiol-Ene Reaction as a Sharpening Stone of Click Chemistry: Recent Advances in Synthetic Aspects and Mechanistic Studies of Anti-Markovnikov-selective Hydrothiolation of Olefins. **Asian Journal of Organic Chemistry**, **8**, 32–47 (2018).
42. C Lárez-Velásquez. Síntesis, caracterización y degradación térmica de poliuretanos basados en poliésteres insaturados modificados con antraceno. Tesis de Grado, Universidad de los Andes. Mérida, Venezuela (1987).
43. S Li, L Wang, X Yu, C Wang, Z Wang. Synthesis and characterization of a novel double cross-linked hydrogel based on Diels-Alder click reaction and coordination bonding. **Materials Science and Engineering: C**, **82**, 299–309 (2018).
44. SC Owen, SA Fisher, RY Tam, CM Nimmo, MS Shoichet. Hyaluronic acid click hydrogels emulate the extracellular matrix. **Langmuir**, **29**, 7393–7400 (2013).
45. A Badria. Click chemistry: a promising tool for building hierarchical structures. **Polymers**, **14(19)**, 4077 (2022).
46. R Singh, G Singh, N George, G Singh, S Gupta, H Singh, *et al.* Copper-based metal–organic frameworks (MOFs) as an emerging catalytic framework for click chemistry. **Catalysts**, **13(1)**, 130 (2023).
47. W Yang, J Chen, J Yan, S Liu, Y Yan, Q Zhang. Advance of click chemistry in anion exchange membranes for energy application. **Journal of Polymer Science**, **60(4)**, 627–649 (2022).
48. B J Levandowski, RT Raines. Click chemistry with cyclopentadiene. **Chemical Reviews**, **121(12)**, 6777–6801 (2021).
49. B Albada, JF Keijzer, H Zuilhof, F van Delft. Oxidation-induced “one-pot” click chemistry. **Chemical Reviews**, **121(12)**, 7032–7058 (2021).
50. Y Hayashi. Pot economy and one-pot synthesis. **Chemical science**, **7(2)**, 866–880 (2016).
51. AM Jonker, A Borrmann, ERH van Eck, FL van Delft, DWPM Löwik, JCM van Hest. A fast and activatable cross-linking strategy for hydrogel formation. **Advanced Materials**, **27(7)**, 1235–1240 (2014).
52. M Kugler, M Hadzima, R Dzijak, R Rampmaier, P Srb, L Vrzal, *et al.* Identification of specific carbonic anhydrase inhibitors via in situ click chemistry, phage-display and synthetic peptide libraries: comparison of the methods and structural study. **RSC Medicinal Chemistry**, **14**, 144–153 (2023).
53. DI Ugwu, J Conradie. Application of click chemistry in the synthesis of bidentate ligands and their metal complexes. **Polyhedron**, **235**, 116317 (2023).
54. Y Zhao, Z Chai, Q Zeng, WX Zhang. Overview of 1,5-selective click reaction of azides with alkynes or their synthetic equivalents. **Molecules**, **28(3)**, 1400 (2023).
55. A Garg, D Sarma. Click reaction in micellar media: A green and sustainable approach toward 1,2,3-triazoles synthesis. In: *Green Sustainable Process for Chemical and Environmental Engineering and Science*. JP Hayton (Ed.). Chapter 4, pp. 85–112. Amsterdam, Netherlands: Elsevier (2023).
56. MG Finn, HC Kolb, KB Sharpless. Click chemistry connections for functional discovery. **Nature Synthesis**, **1(1)**, 8–10 (2022).