

Sinteza kvaternih amonijevih soli triazola s potencijalnim citotoksičnim djelovanjem

Andabak, Marija

Undergraduate thesis / Završni rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of Chemistry / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:182:310275>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-22**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Department of Chemistry, Osijek](#)



Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku

Odjel za kemiju

Preddiplomski studij kemije

Marija Andabak

**Sinteza kvaternih amonijevih soli triazola s poencijalnim
citotoksičnim djelovanjem**

Završni rad

Mentor: izv.prof. dr. sc. Dean Marković

Neposredna voditeljica: dr.sc. Marija Jozanović

Osijek, 2016. godina

Sažetak

Kvaterni amonijevi kationi jesu poliatomski pozitivno nabijeni ioni strukture NR_4^+ , gdje R predstavlja alkilnu ili arilnu skupinu. Zadatak ovog rada bio je provesti reakciju između alkil halogenida, odnosno u našem slučaju korišten je 1-bromooktadekan, i heterocikla 1H-1,2,4-triazola s ciljem dobivanja kvaterner amonijeve soli. Triazoli su skupina heterocikličkih spojeva molekularne formule $\text{C}_2\text{H}_3\text{N}_3$ sačinjenih od peteročlanog prstena u kojem se nalaze dva atoma ugljika i tri atoma dušika. Dobivenu kvaternu amonijevu sol smo okarakterizirali ^1H i ^{13}C NMR spektrima, masenim spektrom i IR spektrom te pretpostavili njezinu moguću primjenu kao antifungalno sredstvo.

Ključne riječi: kvaterna amonijeva sol, triazoli, antifungicidi

Abstract

Quaternary ammonium cations are polyatomic positively charged ions of the structure NR_4^+ , where R represents alkyl or aryl group. The aim of this study was to perform a reaction between an alkyl halide, in our case was used 1-bromooktadekan, and heterocyclic 1H-1,2,4-triazole to get a quaternary ammonium salt. Triazoles are a group of heterocyclic compounds of the molecular formula $\text{C}_2\text{H}_3\text{N}_3$ composed of a five-membered ring containing two carbon atoms and three nitrogen atoms. The resulting quaternary ammonium salt, we characterized with the ^1H and ^{13}C NMR spectra, mass spectra and infrared spectra and assumed its possible application as an antifungal agent.

Key words: Quaternary ammonium salts, triazoles, antifungal agents

Sadržaj

Sadržaj

1. Uvod.....	5
2. Literaturni pregled.....	6
2.1. Kvaterne amonijeve soli.....	6
2.2. Triazoli.....	7
2.2.1. 1,2,4-triazol.....	8
2.3. Antifungicidno djelovanje triazola.....	10
2.4. Alkiliranje 1,2,4-triazola.....	10
3. Eksperimentalni dio.....	11
3.1. Priprema kvaterne amonijeve soli.....	11
3.2. Instrumentalne metode.....	12
3.2.1. ^1H i ^{13}C NMR.....	12
3.2.2. Masena spektrometrija.....	12
3.2.3. Elementarna analiza.....	13
3.2.4. IR spektroskopija.....	13
4. Rezultati eksperimentalnog rada.....	14
4.1. Karakterizacija.....	14
4.2. Snimljeni spektri kvaterne amonijeve soli.....	16
5. Diskusija rezultata eksperimentalnog rada.....	18
6. Zaključak.....	20
7. Literatura.....	21

1. Uvod

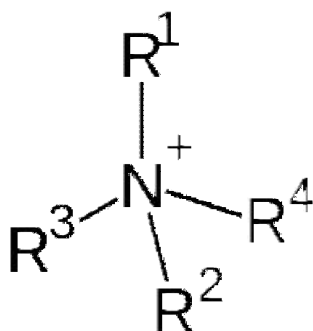
Zadatak ovog rada bio je provesti reakciju između alkil halogenida, odnosno u našem slučaju korišten je 1-bromooktadekan, i heterocikla 1H-1,2,4-triazola s ciljem dobivanja kvarterne amonijeve soli. Sintezu smo vršili u atmosferi dušika, pri temperaturi od 120°C, zagrijavanjem preko uljne kupelji i mješajući na magnetnoj mješalici. Reakcijskoj smjesi dodan je natrijev hidrogenkarbonat (NaHCO_3) i acetonitril kao otapalo.

Nakon provedenog eksperimentalnog dijela i dobivenih rezultata, nastao je produkt koji je izoliran dodatkom heksana u reakcijsku smjesu te filtracijom dobivene otopine. U radu smo nadalje okarakterizirali nastali produkt elementarnom analizom, ^1H i ^{13}C NMR spektrima masenim spektrom te IR spektrom. Rad je podijeljen u nekoliko poglavlja. Iza uvoda slijedi literaturni pregled u kojem su opisane kvarterne amonijeve soli i njihova svojstva. Nakon toga slijedi opis 1H-1,2,4-triazola, koji je naš polazni spoj, u kojem su navedena njegova fizikalna i kemijska svojstva, nomenklatura i opis moguće sinteze. Spomenuti će se i potencijalna citotoksična i antifungalna djelovanja triazola i njihovih derivata među koje spadaju i dobivene kvaterne amonijeve soli. Treće poglavlje ovog rada pripada eksperimentalnom dijelu, gdje je detaljno opisan postupak te su navedene sve korištene kemikalije. Nakon toga slijede rezultati eksperimentalnog rada i diskusija dobivenih rezultata. U ovom poglavlju nalaze se i prilozi (^1H i ^{13}C NMR spektri, maseni spektar i IR spektar). Na kraju se nalazi zaključak i korištena literatura.

2. Literaturni pregled

2.1. Kvaterne amonijeve soli

Kvaterni amonijevi kationi su poliatomski pozitivno nabijeni ioni strukture NR_4^+ , gdje R predstavlja alkilnu ili arilnu skupinu. (Slika 1.)



Slika 1. Strukturna opća formula kvaternih amonijevih soli

Za razliku od amonijeva iona NH_4^+ , te primarnih, sekundarnih ili tercijarnih amonijevih kationa, kvaterni amonijev kationi su trajno nabijeni, neovisno o pH otopine u kojoj se nalaze. Kvaterne amonijeve soli ili kvaterni amonijevi spojevi su soli kvaternih amonijevih kationa.

Kvaterne amonijeve soli pripremaju se alkilacijom tercijarnih amina. Taj proces se u starijoj literaturi često naziva Menšutkina¹ reakcija, no danas se češće koristi izraz kvaternizacija. Reakcija se može koristiti za proizvodnju spojeva s nejednakim dužinama lanaca, na primjer kod kationskih tenzida jedna alkilna grupa na aminu je uglavnom duža nego ostale.

Kvaterni amonijevi kationi su nereaktivni u usporedbi s jakim elektrofilima, oksidansima ili kiselinama. Također, stabilniji su u usporedbi s većinom nukleofila. To je posljedica stabilnosti hidroksidnih soli kao što je tetrametilamonijev hidroksid i tetrabutilamonijev

¹ Reakcija nazvana po ruskom kemičaru Nikoli Menšutkin koji je opisao proces 1890. godine

hidroksid. Zbog njihove otpornosti, mnogi neuobičajeni anioni su izolirani kao kvaterne amonijeve soli. Primjeri su tetrametilamonijev pentafluoroksenat koji sadrži visokoreaktivni pentafluoroksenat (XeF_5^-) ion. Sa izrazito jakim bazama, kvaterni amonijevi kationi se mogu raspasti. Podliježu Sommelet-Hauserovoj pregradnji i Stevensovoj pregradnji, kao i dealkilaciji pod određenim uvjetima. Sommelet-Hauserova pregradnja je reakcija pregradnje određenih benzilnih kvaternih amonijevih soli. Reagens je natrijev amid ili drugi alkalometalni amid, a reakcijski produkt je *N,N*-dialkilbenzilamin s novom alkilnom skupinom na orto poziciji aromatičnog prstena. Stevensova pregradnja je reakcija prevođenja kvaternih amonijevih soli u odgovarajuće amine uz prisutnost jake baze u 1,2-pregradnji.[1]

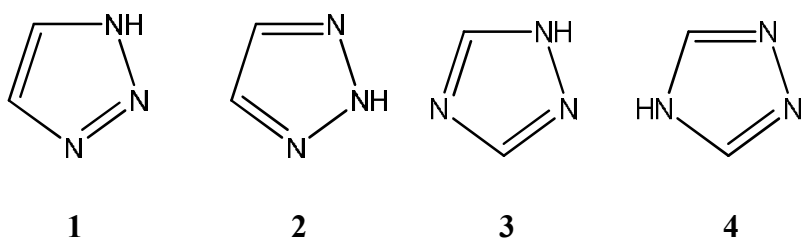
Kvaterne amonijeve soli se primjenjuju kao dezificijensi, tenzidi, omekšivači tkanina, kod kojih su najčešće zastupljene kloridne soli kao i antistatički agensi npr. šamponi.

Kvaterne amonijeve soli također su pokazale antimikrobna svojstva. Neke amonijeve soli, posebice one koje sadrže duge alkilne lance koriste se kao antimikrobi i dezificijensi. Neki od primjera su tetraetilamonijev bromid, didecildimetilamonijev klorid, domifen bromid, cetilpiridinijev klorid i dr. Smatra se i da su kvaterne amonijeve soli dobre protiv gljivica, ameba te virusa s ovojnicom. Način djelovanja je uništavanje stanične membrane. Kvaterne amonijeve soli, letalne su za mnoge organizme. Iznimke su endospore, *Mycrobacterium tuberculosis* i virusi bez ovojnice. [2] [3]

Područje našeg interesa u ovom radu biti će potencijalno citotoksično djelovanje kvaternih amonijevih soli triazola.

2.2. Triazoli

Triazoli su skupina heterocikličkih spojeva molekularne formule $\text{C}_2\text{H}_3\text{N}_3$ sačinjenih od peteročlanog prstena u kojem se nalaze dva atoma ugljika i tri atoma dušika. Razlikujemo dvije vrste izomera prema relativnoj poziciji tri dušikova atoma. Svaki od ovih izomera ima dva tautomera koje razlikujemo prema tome koji dušik ima vodik vezan na sebe:



Slika 2. Strukture cikličkih aromatskih spojeva triazola izomera- 1,2,3-triazola: 1H-1,2,3-triazol (**1**), 2H- 1,2,3-triazol (**2**) i 1,2,4-triazola: 1H-1,2,4-triazol (**3**), 4H-1,2,4-triazol (**4**)

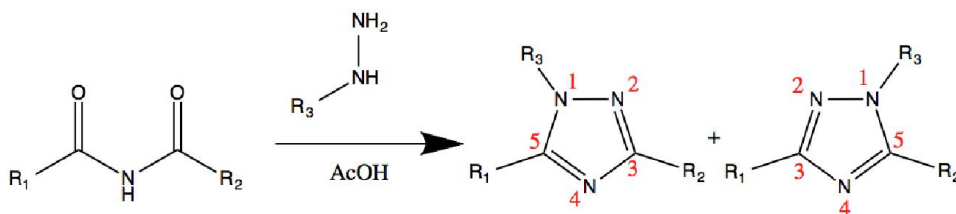
Triazoli su aromatski spojevi slični azolima pirazolima i imidazolima, ali sadržavaju dodatni atom dušika u prstenastoj strukturi. Kao i azoli, triazoli imaju široku primjenu kao antifungicidi. [4]

2.2.1. 1,2,4-triazol

1,2,4-triazol je jedan od izomernih kemijskih spojeva triazola molekularne formule $C_2H_3N_3$. Triazoli imaju peteročlani prsten s dva atoma ugljika i tri atoma dušika te pripadaju skupini aromatskih heterocikla. Derivati 1,2,4-triazola imaju vrlo široku primjenu, a najznačajnija bi bila primjena triazola kao antifungicida.

Također, 1,2,4-triazol je korišten u pripravi rizatriptana, lijeka korištenog u suzbijanju migrenskih glavobolja. Neke od metoda sinteze 1,2,4-triazola jesu Einhorn-Brunnerova reakcija ili Pellizzarijeva reakcija. Einhorn-Brunnerova² reakcija je reakcija imida i alkilhidrazina kojom nastaje izomerna smjesa 1,2,4-triazola.(Slika 3.) [4]

² dobila ime po njem. kemičarima Alfredu Einhornu i Karlu Brunneru koji su opisali postupak 1905. i 1914. godine



Slika 3. Einhorn-Brunnerova reakcija

(izvor: Potts K. T. (1961). "The Chemistry of 1,2,4-Triazoles.". *Chemical Reviews* 61 (2): 87–127)

Pellizzarijeva³ reakcija je organska reakcija amida s hidrazinom gdje se formira 1,2,4-triazol.(Slika 4.) [5]



Slika 4. Pellizzarijeva reakcija

(izvor: Pellizzari, G. *Gazz. Chim. Ital.* 1911, 41, 20.)

Razlika između Einhorn-Brunnerove reakcije i Pellizzarijeve reakcije je ta što mehanizam Pellizzarijeve reakcije nije regioselektivan. Sama reakcija zahtijeva visoke temperature, dugo vrijeme reakcije i daje vrlo mala iskorištenja. Korištenje mikrovalnog zračenja je pokazalo povećanje iskorištenja i skraćanje vremena same reakcije.[4]

³ reakcija dobila ime po Guido Pellizzariju koji je reakciju opisao 1911.

Svojstva 1H-1,2,4-triazola nalaze se u Tablici 1:

Formula	C ₂ H ₃ N ₃
Molarna masa	69,065 g/mol
Talište	120-121 °C
Boja i agregatno stanje	Smeđa krutina
pK _a	10,3

Tablica 1: Svojstva 1H-1,2,4-triazola

(izvor: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1H-1_2_4-Triazole)

2.3. Antifungicidno djelovanje triazola

Antifungicidi koji sadržavaju triazole inhibiraju enzim lanosterol 14 α -demetilazu koji je potreban za prevođenje lanosterola u ergosterol. Ergosterol je jedna od glavnih komponenti gljivične membrane. Izloženost gljivica triazolima uzrokuje trošenje ergosterola i nakupljanje 14 α -metiliranih sterola. Iz toga razloga, mnoge glavne funkcije ergosterola su poremećene, uključujući i strukturu membrane. Također, poremećene su i funkcije poput prijenosa hranjivih tvari i sinteze hitina. Samim time inhibiran je rast i razvoj gljivica. [7]

2.4. Alkiliranje 1,2,4-triazola

Izazov selektivnog alkiliranja jednog dušikovog atoma u polidušičnom heteroatomnom spoju često se javlja u heterocikličkoj kemiji. U slučaju nesupstituiranog 1,2,4-triazola, dobivaju se dva tautomera pošto se alkiliranje može odviti na oba dušikova atoma. Omjer

izomera, a ponekada i dialkiliranog kationa što je slučaj u provedenom eksperimentu, varira ovisno o prirodi alkilirajućeg agensa i uvjetima reakcije.

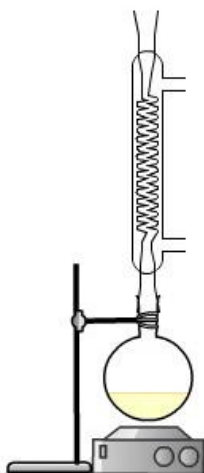
Kod 1,2,4-triazola, N-alkiliranje i aciliranje obično se javlja na N-1. Ipak, 4-alkil derivati mogu se prirediti kvaternizacijom 1-acetil-1,2,4-triazola. Pri alkiliranju 1,2,4-triazola, javlja se omjer od 9:1, N-1:N-3 izomera u konačnom produktu. Izomer koji se javlja manjim udjelom lako se može ukloniti iz smjese, npr. jednostavnom destilacijom što govori o velikoj razlici u fizikalnim svojstvima ova dva izomera. [8]

3. Eksperimentalni dio

U eksperimentalnom dijelu je predstavljen postupak sinteze kvaterne amonijeve soli 1H-1,2,4-triazola, korištene kemikalije kao i uvjeti reakcije.

3.1. Priprema kvaterne amonijeve soli

U okruglu tikvicu od 10 mL stavljen je 1H-1,2,4-triazol (207 mg, 3 mmol), zajedno s NaHCO_3 (304 mg, 3,61 mmol), bromooktadekanom (1,75 g, 5,25 mmol) i acetonitrilom (2,5 mL). Tikvica je postavljena u zatvoreni sustav atmosfere dušika uz spiralno hladilo te je sadržaj miješan na temperaturi od 120°C na magnetnoj miješalici. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom(TLC). Smjesa otapala za TLC je diklormetan : metanol = 10 : 0,25. Nakon završetka reakcije otapalo je evaporirano te je dodano 5-10 mL metanola. Smjesa zatim evaporirana, a u tikvicu je dodano 5-10 mL heksana kako bi se otopile nečistoće iz taloga. Talog se zatim odfiltrira preko sinter lijevka, a ostatak heksana se evaporira. Nastali suhi talog se odvažuje nakon čega se računa masa dobivenog produkta i iskorištenje reakcije.



Slika 5. Aparatura korištena u eksperimentalnom dijelu

3.2. Instrumentalne metode

3.2.1. ^1H i ^{13}C NMR

^1H NMR spektri snimljeni su na Bruker Avance spektrometru 300 MHz, odnosno 75.48 MHz za ^{13}C NMR, u d-kloroformu (CDCl_3), na Institutu "Ruđer Bošković" u Centru za NMR. Kemijski pomaci su izraženi kao parts per million (ppm), delta vrijednosti relativne prema tetrametilsilanu (TMS). Za izradu i analizu spektara korišten je program MestRe-C 2.3a, Copyright C 1995-2000, Departamento de Química Orgánica, Universidad de Santiago de Compostela.

3.2.2. Masena spektrometrija

Za izvođenje masene spektrometrije upotrijebljen je API 2000 LC-ESI-MS/MS sustav (AB SCIEX, Foster City, CA, US) s ionskim raspršivačem kao ionskim izvorom (ESI) i HPLC

sustavom serije 1290 (Agilent Technologies, Waldbronn, Njemačka), na Prehrambeno-tehnološkom fakultetu u Osijeku.

3.2.3. Elementarna analiza

Elementarna analiza napravljena je pomoću CHNS/O analizatora 2400 (Perkin Elmer, Massachusetts, SAD) na Poljoprivrednom fakultetu u Osijeku.

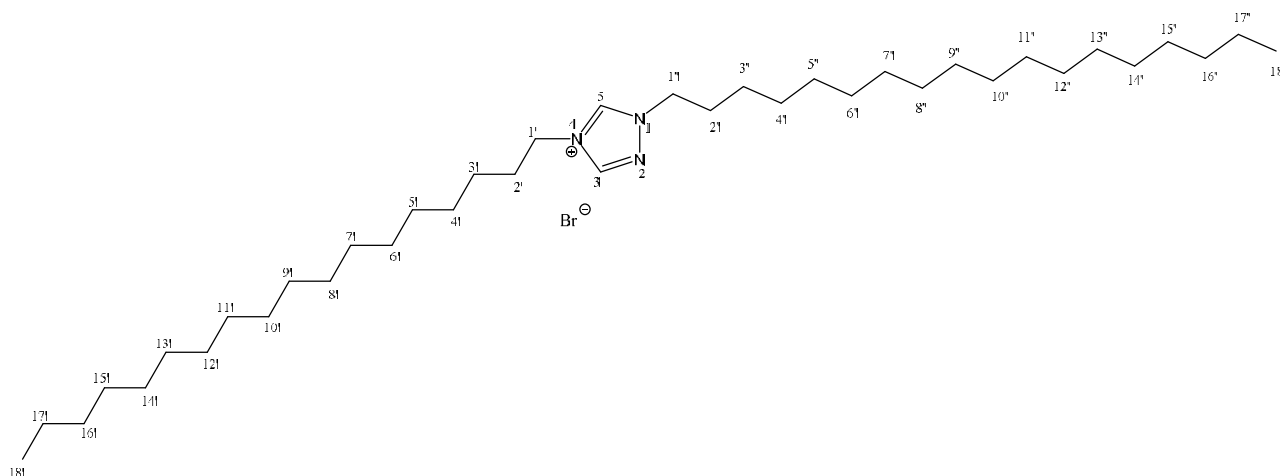
3.2.4. IR spektroskopija

IR spektri snimljeni su na SHIMADZU IR solution 1.30 FTIR-8400 S spektrofotometru u valnom području od 400 do 4000 cm^{-1} uz razlučenje od 4 cm^{-1} . Program IR-SOLUTION koristio se za prikupljanje i obradu podataka.

4. Rezultati eksperimentalnog rada

4.1. Karakterizacija

1,4-dioktadecil-1H-1,2,4-triazolij bromid



Mr= 575.018, (1.124g, 1.955 mmol), smeđi prah, 74.5%, t.t.= 102,7 – 106,2,

¹H NMR (300 MHz; CDCl₃): δ 11.86 (1H, s, H-C(3)), 8.83 (1H, s, H-C(5)), 4.56 (2H, t, J= 7.2 Hz, H₂-C (1')), 4.52 (2H, t, J= 7.2 Hz, H₂-C (1'')), 2.04-1.98 (4H, m, H₂-C (2'), H₂-C (2'')), 1.39-1.19 (60H, m, H₂-C (3'-17'), H₂-C (3''-17'')), 0.88 (6H, t, J= 6.6 Hz, H₃-C (18'), H-C(18'')). **¹³C NMR** (75,48 MHz; CDCl₃): δ 143.3, 53.0, 48.8, 30.2, 29.7 (3C atoma), 29.6 (2C atoma), 29.5, 29.4, 29.35, 29.3, 28.9, 28.8, 26.2, 26.1, 22.7, 14.0. **IR** (KBr, cm⁻¹): 3000 (C-H aromatski), 2950, 2850 (C-H iz CH₂), 1600,1550 (C=N), 1450, 1400 (aromatski kostur), 1150 (C-N), 700, 600 (triazolski prsten)

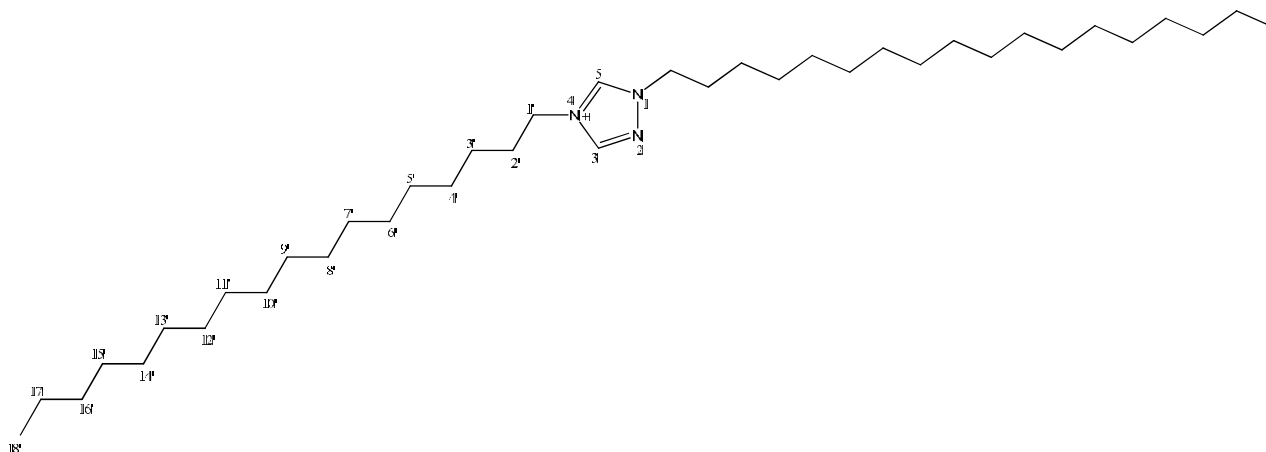
Elementarna analiza (C, H, N) za C₃₈H₇₆N₃ (%):

Izračunato: C = 79.37, H = 13.32, N = 7.31

Pronađeno: C = 69.92, H = 12.23, N = 6.35

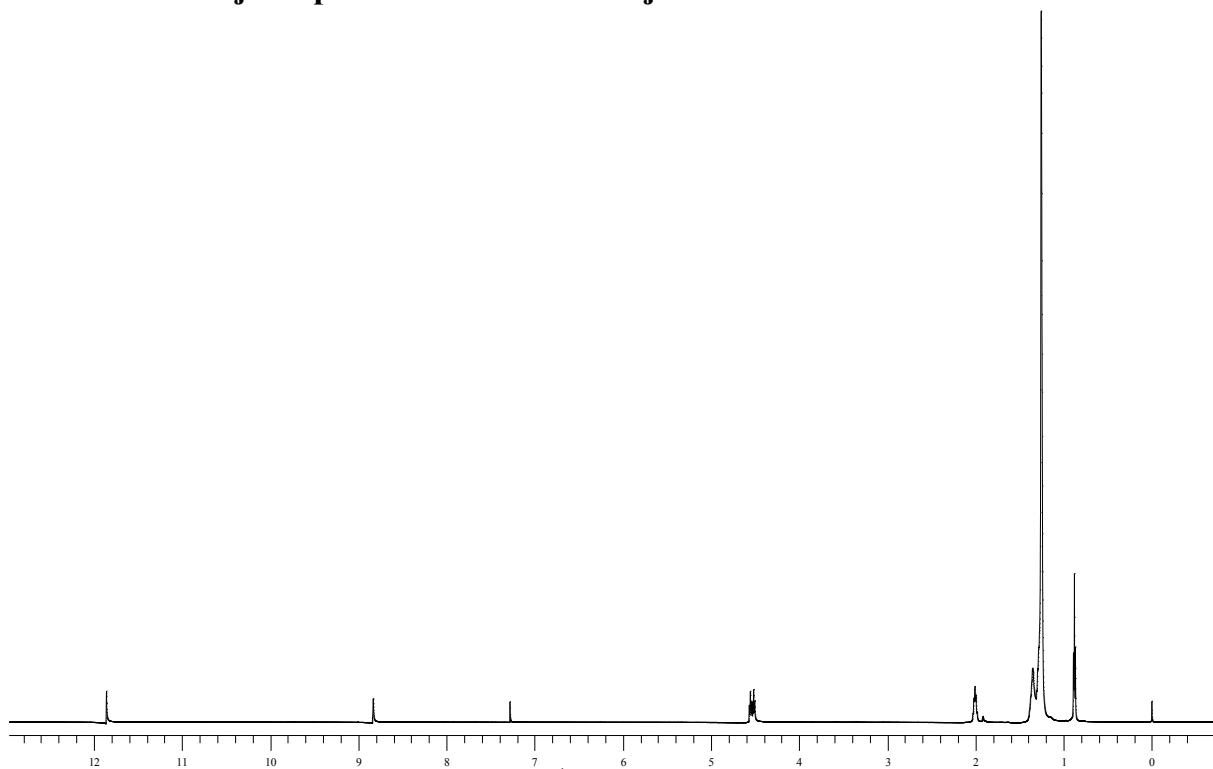
m(1H-1,2,4-triazol)/g	m(C ₁₈ H ₃₇ Br)/g	m (produkt)/g	Talište(produkt)/°C	Iskorištenje(%)
0,2072	1,7503	1,124	102,7 – 106,2	74,47

Tablica 2: Rezultati reakcije iz eksperimentalnog rada

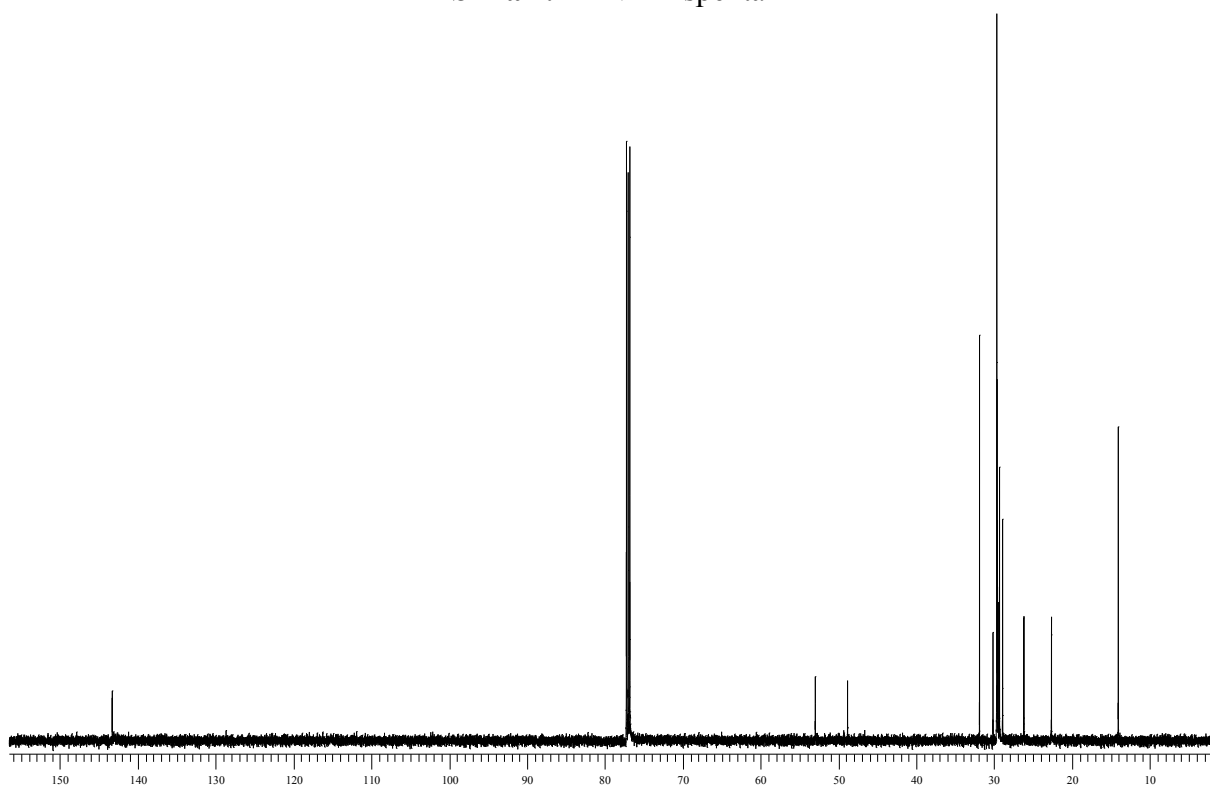


Slika 6. Struktura 1,4-dioktadecil-1H-1,2,4-4-triazolija

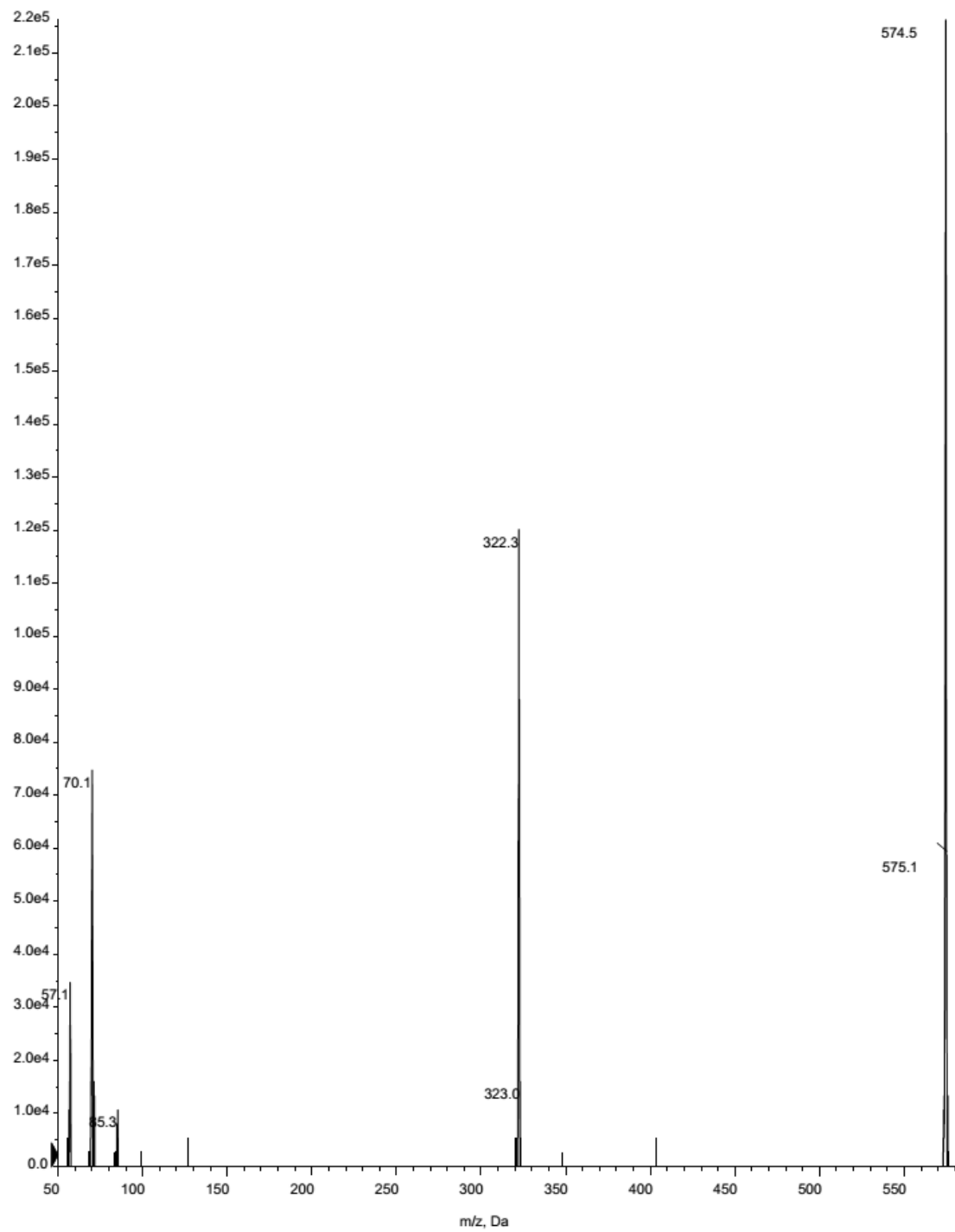
4.2. Snimljeni spektri kvaterne amonijeve soli



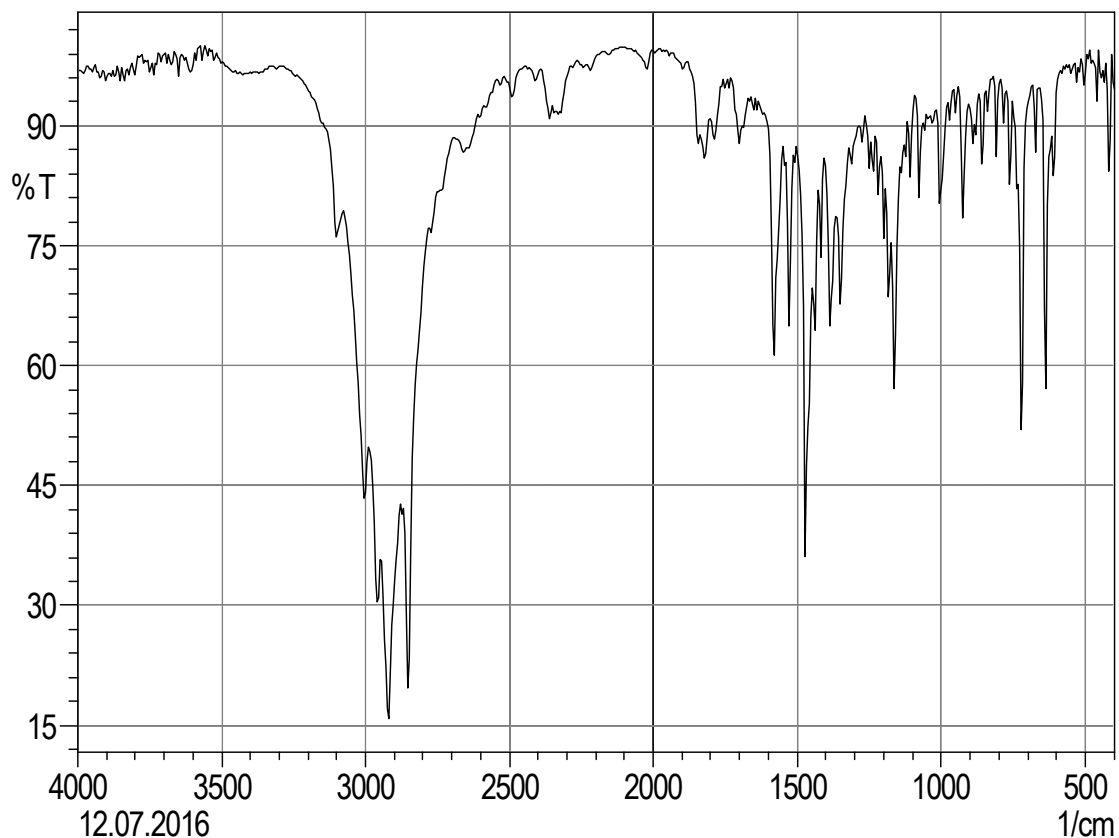
Slika 7. ^1H NMR spektar



Slika 8. ^{13}C NMR spektar



Slika 9. MS spektar



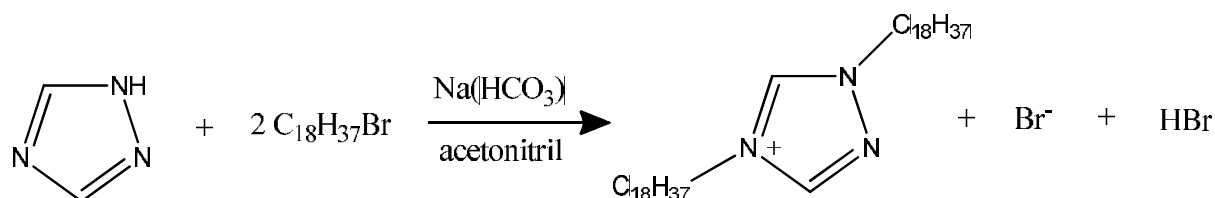
Slika 10. IR spektar

5. Diskusija rezultata eksperimentalnog rada

U ovom radu proveden je postupak alkiliranja 1H-1,2,4-triazola alkilhalogenidom bromooktadekanom te je kao produkt dobivena kvaterna amonijeva sol. Samim postupkom u uvjetima atmosfere inertnog plina dušika i pri temperaturi od 120°C dobili smo 1,124 g disupstituiranog produkta. Pri izolaciji samog produkta iz reakcijske smjese smo dobili još jedan produkt i to u obliku bijelog praha. Taj produkt dobiven je nakon otapanja reakcijske smjese u metanolu (5-10 mL), nakon čega je metanol evaporiran. U tikvici je ostao bijeli prah mase 0,443 g. Analizom je ustanovljeno kako taj dobiveni produkt nije ono što smo u radu

imali za cilj dobiti, odnosno nije kvaterna amonijeva sol. Kao razlog nastajanja dva različita produkta, različitih svojstava, možemo pretpostaviti alkiliranje triazola na nekom drugom dušikovom atomu, na primjer na N-3 mjestu. Kao što je već navedeno u radu, ovisno o mjestu na kojem je triazol alkiliran javljaju se vrlo različita fizikalna svojstva izomera te je postupak uklanjanja neželjenog izomera vrlo jednostavan. Alkiliranje triazola na različitim mjestima uvelike ovisi o prirodi alkilirajućeg agensa kao i o uvjetima reakcije.[8] [9]

Reakcija nastanka našeg produkta prikazana je Slikom 11.



Slika 11. Jednadžba reakcije 1H-1,2,4-triazola i bromooktadekana

Natrijev hidrogenkarbonat NaHCO_3 zadužen je za deprotoniranje triazola kako bi došlo do aktiviranja supstrata za nukleofini napad na alkil halogenid. Nakon deprotoniranja, alkilni lanac može se vezati na dušikov atom. Kao otapalo korišten je acetonitril jer je on nepolarno aprotično otapalo pogodno za ovu vrstu reakcije jer ne stvara vodikove veze s reaktantima.

Danas je poznata primjena triazola kao antifungicidalnih sredstava i herbicida. Osim toga, vrlo je zanimljivo područje istraživanja njihova primjena u medicini i farmaciji. Derivati triazola proučavani su kao antikonvulzivi, inhibitori 5-lipoksigenaze kao i lijekovi za suzbijanje raka. Ovako raznolika primjena ostavlja mnogo prostora znanstvenicima za daljnja istraživanja ovih spojeva. [9]

6. Zaključak

U ovom je radu provedena reakcija alkiliranja heterocikličnog spoja 1H-1,2,4-triazola alkilhalogenidom bromooktadekanom s ciljem dobivanja kvaterne amonijeve soli triazola. Reakcija se provodila u posebnim uvjetima u atmosferi inertnog plina dušika, zagrijavanjem reakcijske smjese preko uljne kupelji na 120°C. Kao aktivator reakcije korišten je natrijev hidrogenkarbonat, a kao otapalo acetonitril. Napredovanje reakcije praćeno je tankoslojnom kromatografijom. Nakon provedenog eksperimentalnog dijela, analizom produkta ustanovljeno je kako je nastala kvaterni amonijeva sol triazola, gdje je 1H-1,2,4-triazol alkiliran na 1. i 4. dušikovom atomu. Iskorištenje reakcije iznosilo je 74,5%. Reakcijom smo, također, dobili još jedan produkt za koji se analizom ustanovilo da nije disupstituirani triazol. Triazoli i njihovi derivati pokazuju dobra svojstva kao antifungicidi i herbicidi te su područje koje se još uvijek uvelike istražuje.

7. Literatura

[1] Smith, Michael B.; March, Jerry (2001), *Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure* (5th ed.), New York, NY: Wiley-Interscience

[2] Jia, Zhishen; Shen, Dongfeng; Xu, Weiliang (2001). "Synthesis and antibacterial activities of quaternary ammonium salt of chitosan"

[3] Abedon, Stephen T. "Specific Antimicrobials". Ohio State University. Retrieved December 2008.

[4] K. T. Potts, *The chemistry of triazoles*, Department of Organic Chemistry, University of Adelaide, Adelaide, Australia. Retrieved April 1960.

[5] Pellizzari, G. *Gazz. Chim. Ital.* 1911, *41*, 20

[6] Podaci o 1H-1,2,4-triazolu skinuti sa stranice :
https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1H-1_2_4-Triazole (14.7.2016)

[7] *Clin Microbiol Rev.* 1999 Jan; 12(1): 40–79. Current and Emerging Azole Antifungal Agents, Daniel J. Sheehan, Christopher A. Hitchcock and Carol M. Sibley

[8] *Heterocyclic Chemistry*, Fifth Edition, John A. Joule, Keith Mills, 589-592

[9] *Synthesis of N-Substituted 1,2,4-Triazoles*, *Organic Preparations and Procedures International*, 43:319–347, 2011, Stefanie C. Holm & Bernd F. Straub

[10] *Strukture i aparture crtane su programima* : ChemDraw Ultra, Version 12.0.2.1076
Copyright © 1986-2010 CambridgeSoft i Edraw Max, Version 8.3.2 Copyright by EdrawSoft