



Sveučilište u Zagrebu
Fakultet kemijskog
inženjerstva i tehnologije



Interna skripta za Laboratorijske vježbe iz Kemije prirodnih i sintetskih polimera

Ak. god. 2025./2026.

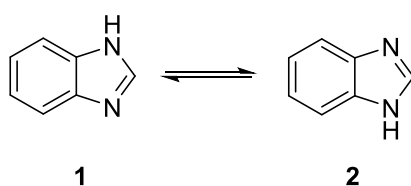
dr. sc. Martina Piškor Benković
mag. appl. chem. Leon Sačer

1. UVOD	2
1.1. Benzimidazol i derivati benzimidazola	2
2. SINTEZA SPOJEVA	4
2.1. Sinteza azida.....	4
2.2. Sinteza 1,2,3-triazola.....	5
3. REAKCIJE DOKAZIVANJA PROTEINA.....	6
3.1. Taložne reakcije dokazivanja proteina	6
4. REFERAT	7
5. LITERATURA.....	8

1. UVOD

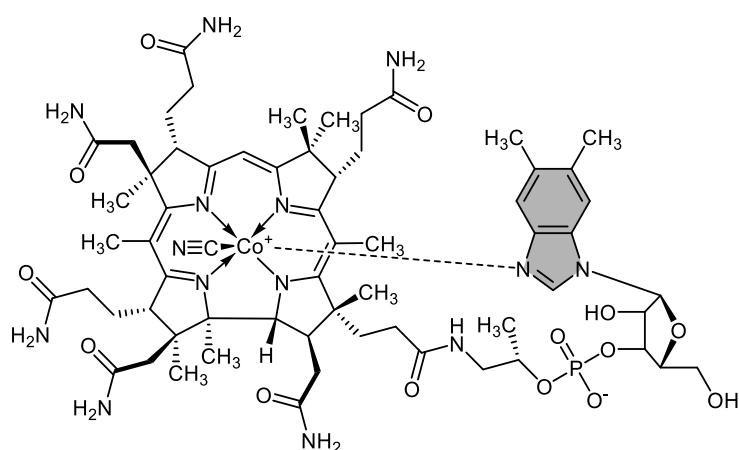
1.1. Benzimidazol i derivati benzimidazola

Benzimidazol je biciklički heterociklički spoj koji se sastoji od fuzioniranog benzenskog prstena i imidazolne jezgre, spojene u položajima 4 i 5. Benzimidazolni prsten sadrži dva atoma dušika amfoterne prirode, koji mogu pokazivati i kisele i bazične karakteristike. Spoj postoji u dva tautomerna oblika (1 i 2) (slika 1), ovisno o tome na kojem se od dva dušikova atoma nalazi vodikov atom. Tautomeri supstituirani na položajima C-5 i C-6 smatraju se ekvivalentnima, dok u slučaju N-supstitucije tautomerija nije moguća, pa se mogu izolirati dva različita izomera.¹



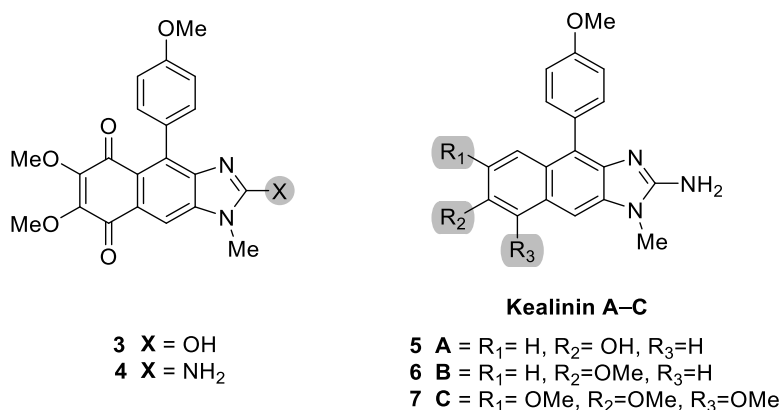
Slika 1. Tautomerne strukture benzimidazola

Terapeutski značaj benzimidazolne jezgre prepoznat je još 1944. godine, kada je Woolley² pretpostavio da bi benzimidazol mogao sudjelovati u biološkim procesima na način sličan purinima.³ Nekoliko godina kasnije, Brink⁴ je identificirao N-ribozil-dimetilbenzimidazol kao produkt razgradnje vitamina B₁₂ (slika 2), gdje ovaj spoj djeluje kao aksijalni ligand kobalta.⁵ Ova otkrića potaknula su sustavna istraživanja benzimidazolnih derivata u svrhu ispitivanja njihovih potencijalnih terapijskih svojstava.



Slika 2. Struktura vitamina B₁₂

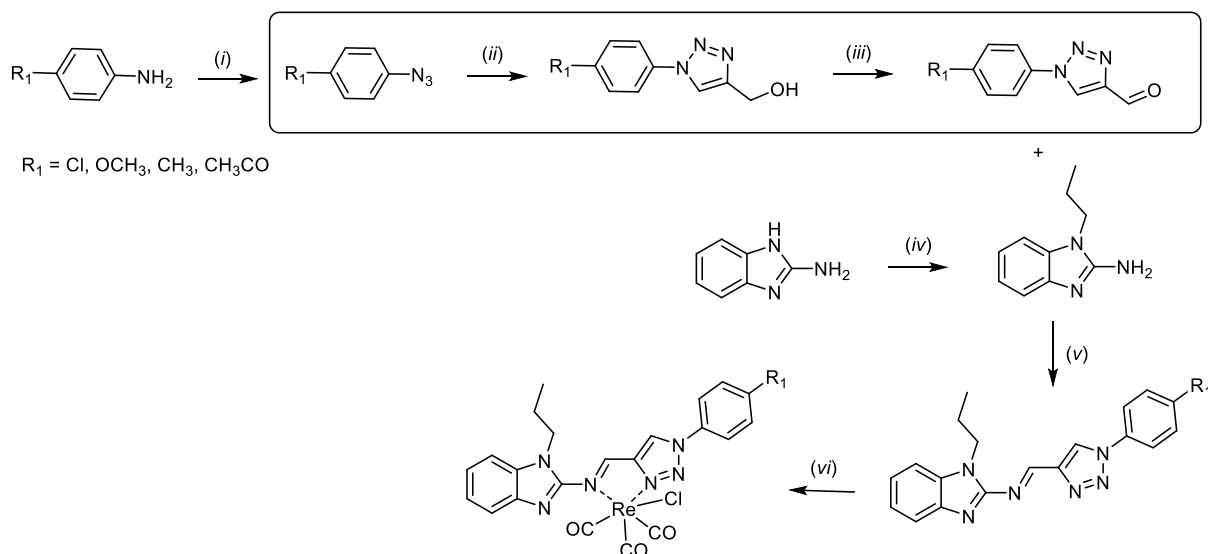
Alkaloidi benzimidazolnih derivata su vrlo rijetki u prirodi, stoga se samo par primjera može pronaći u literaturi. Kealiikvinon (**3**) su 1990. Scheuer i Clardy izolirali u obliku crvenih iglica kao sekundarni metabolit karbonatne leukonoidne spužve roda *Leucetta*. Schmitz i suradnici su 1997. izolirali 2-deoksi-2-aminokealiikvinon (**4**) također iz spužve *Leucetta*. Jedina razlika ovih dviju struktura je prisutnost amino skupine u položaju C-2 kod 2-deoksi-2-aminokealikvinona u odnosu na enolnu skupinu kod kealiikvinona (**6**) (slika 3). Uz to, Proksch i suradnici⁷ izolirali su kealiinin (**5–7**) iz spužvi *Leucetta* i *Clathrina*.



Slika 3. Prirodni spojevi benzimidazola

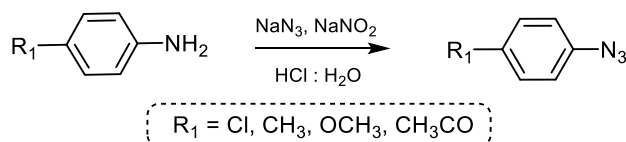
Benzimidazol predstavlja važan strukturni motiv u medicinskoj kemiji zbog česte prisutnosti u spojevima s raznolikim biološkim učincima, među kojima se ističu antitumorsko,⁸ antioksidativno,⁹ protuupalno,¹⁰ antivirusno,¹¹ antihipertenzivno,¹² antimikrobno¹³ i antifungalno¹⁴ djelovanje. Zbog strukturne srodnosti s purinskim bazama adeninom i gvaninom, benzimidazol se često opisuje kao purinski izoster, što mu omogućuje interakciju s biološkim makromolekulama poput DNK i RNK. Njegova sposobnost ostvarivanja vodikovih veza, aromatskih interakcija, hidrofobnih i van der Waalsovih sila te π – π povezivanja čini ga čestim građevnim elementom u dizajnu antitumorskih i drugih farmakološki aktivnih spojeva.

2. SINTEZA SPOJEVA



Shema 1. *Reagensi i uvjeti:* (i) NaN_3 , NaNO_2 , $\text{HCl} : \text{H}_2\text{O} = 1 : 1$; (ii) propargilni alkohol, $\text{Cu}(\text{OAc})_2$, MeOH ; (iii) $(\text{COCl})_2$, DMSO , Et_3N , CH_2Cl_2 ; (iv) $\text{KOH}/\text{K}_2\text{CO}_3$, aceton; (v) ZnO_{np} , EtOH ; (vi) $\text{Re}(\text{CO})_5\text{Cl}$, CHCl_3 .

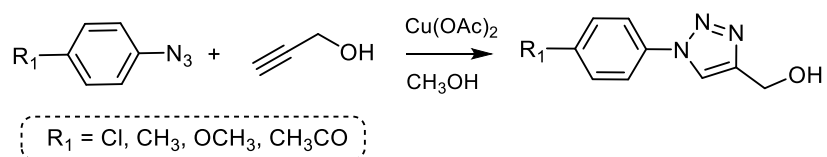
2.1. Sintaza azida



Postupak:

Odgovarajući anilin (1 ekv.) otopi se u 10 mL smjese klorovodične kiseline i vode (1 : 1, v/v). Dobivena otopina se ohladi na 0 °C, a zatim se uz pažljivo hlađenje i uz miješanje postupno dodaje vodena otopina natrijeva nitrita (1.4 ekv. u 4 mL vode), pri čemu se temperatura reakcijske smjese održava ispod 10 °C. Nakon 30 minuta, u reakcijsku smjesu se pažljivo doda otopina natrijeva azida (1.5 ekv. u 4 mL vode), uz kontrolu temperature koja ne smije prijeći 15 °C. Reakcijska smjesa se potom miješa 2–3 sata pri sobnoj temperaturi, a nakon toga se pažljivo neutralizira dodavanjem zasićene vodene otopine natrijeva karbonata (kapaljkom). Nakon dovršetka reakcije, smjesa se prenese u ekstrakcijski lijevak i ekstrahira dva puta dietil-eterom. Kombinirani organski slojevi se suše preko bezvodnog magnezijeva sulfata, zatim profiltriraju i upare pod sniženim tlakom do suhog.

2.2. Sinteza 1,2,3-triazola



Postupak:

Prethodno sintetizirani azid otopi se u 3–4 mL metanola. U otopinu se zatim doda propargilni alkohol (1.5 ekv.) te katalitička količina bakrova(II) acetata. Reakcijska smjesa se miješa na temperaturi refluksa tijekom 2 h, a tijek reakcije se prati tankoslojnom kromatografijom. Nakon završetka reakcije, formirani talog se odvoji filtracijom, ispere s malom količinom hladnog metanola, a zatim s dietil-eterom. Dobiveni kruti produkt suši se na zraku ili pod sniženim tlakom.

3. REAKCIJE DOKAZIVANJA PROTEINA

Proteini su makromolekule građene od aminokiselina koje se međusobno povezuju peptidnim vezama. Postoji velik broj aminokiselina, no ne ulaze sve u onu skupinu koje grade proteine. Samo je 20 aminokiselina koje grade proteine, ostale nazivamo neproteinske aminokiseline, npr. ornitin i citrulin. Aminokiseline također možemo podijeliti na dvije grupe; na esencijalne i neesencijalne. Esencijalne aminokiseline su one koje treba unositi u organizam putem hrane jer ih ljudski organizam ne može sam sintetizirati, dok su neesencijalne one koje organizam sam može sintetizirati.

3.1. Taložne reakcije dokazivanja proteina

Taložne reakcije dokazivanja proteina temelje se na koloidnim svojstvima otopine proteina. U vodi se proteinske molekule otapaju stvarajući koloide. Pod utjecajem različitih čimbenika dolazi do razaranja native konformacije proteina, što dovodi do gubitka njegove biološke funkcije. Taj proces nazivamo denaturacija. Potpuno denaturirani protein poprima različite nasumične konformacije koje su biološki inaktivne. Do denaturacije proteina najčešće dolazi povišenjem temperature, promjenom pH (pri ekstremno niskim i visokim vrijednostima pH), dodatkom organskih otapala, pri povećanoj koncentraciji soli, dodatkom teških metala (Hg^{2+} , Pb^{2+} , Ag^+ , Cd^{2+}) te dodatkom različitih oksidansa i reducensa.

Pribor:

stalak s epruvetama, kapaljke, plamenik, drvena hvataljka

Kemikalije :

- Koncentrirana HCl
- Etanol
- NaOH
- UZORAK: otopina bjelanjka

Priprema uzorka: bjelanjak se u čaši odvoji od žutanjka, te se doda trostruki volumen vode.

Nakon miješanja staklenim štapićem, otopina se profiltrira preko lijevka s filter papirom.

Postupak:

U devet epruveta uliti po 2 mL otopine bjelanjka te tretirati na slijedeći način:

1. epruveta – kuhanjem otopine bjelanjka u epruveti
2. epruveta – u otopinu bjelanjka dodati nekoliko kapi koncentrirane klorovodične kiseline
3. epruveta – u otopinu bjelanjka dodati nekoliko kapi otopine natrijevog hidroksida
4. epruveta – dodati nekoliko kapi etanola i protresti

4. REFERAT

Ime i prezime, studij:

Broj stola: _____

Datum: _____

Naziv vježbe: _____

Jednadžba reakcije:

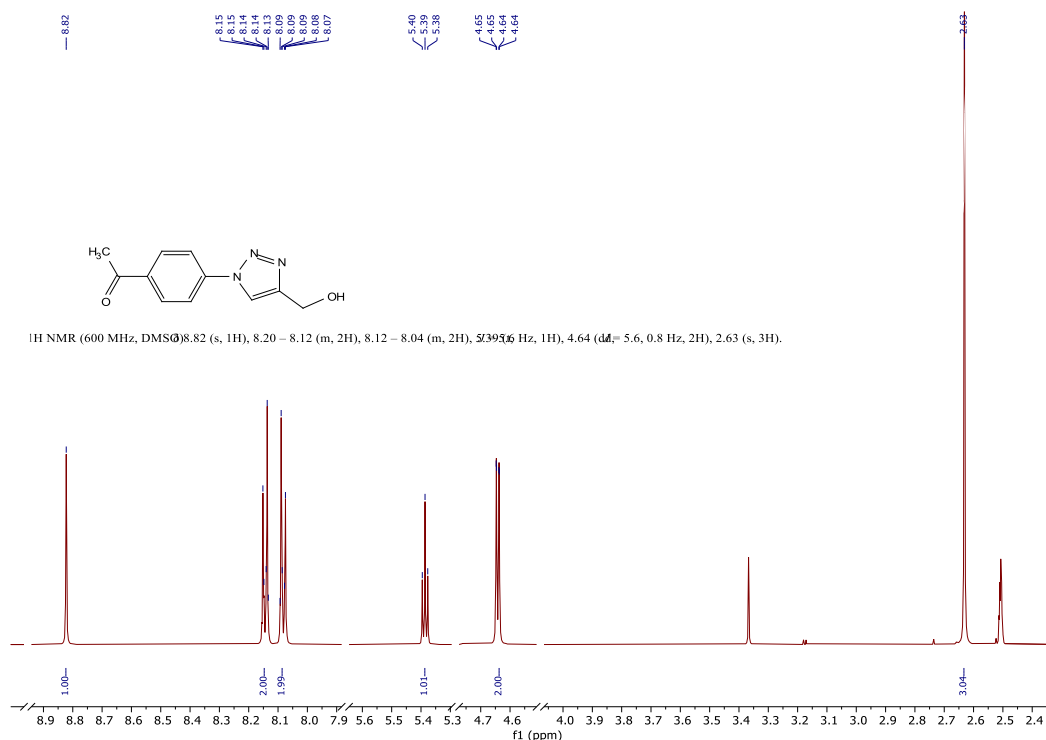
Praćenje tijeka reakcije tankoslojnom kromatografijom:

Račun:

Zaključak:

Referat sinteza:

- Komentirajte dobivena iskorištenja
- Te odgovoriti na pitanja
 1. Pronađite u literaturi primjere drugih reakcijskih uvjeta koji se koriste u sintezi 1,2,3-triazola, potkrijepite to literaturnim navodima
 2. Na NMR spektru 1,2,3-triazola označi koji signal odgovara kojem protonu



Referat dokazivanje proteina:

1. Što je kvaterna struktura proteina, a što tercijska?
2. Što je denaturacija proteina?
3. Opisati opažanja u provedenoj vježbi za svaku epruvetu.

5. LITERATURA

1. R.S. Keri, A. Hiremathad, S. Budagumpi, B.M. Nagaraja, Comprehensive review in current developments of benzimidazole-based medicinal chemistry, *Chem. Biol. Drug Des.* 86 (2014) 19.
2. D.W. Woolley, Some biological effects produced by benzimidazole and their reversal by purines, *J. Biol. Chem.* 152 (1944) 225
3. S.R. Brishty, M.J. Hossain, M.U. Khandaker, M.R.I. Faruque, H. Osman, S.M. Rahman, A comprehensive account on recent progress in pharmacological activities of benzimidazole derivatives, *Front. pharmacol.* 12 (2021) 762807.
4. N.G. Brink, K. Flokers, Vitamin B12. VI. 5,6-dimethylbenzimidazole, a degradation product of vitamin B12, *J. Am. Chem. Soc.* 71 (1949) 2951.
5. Y. Bansal, O. Silakari, The therapeutic journey of benzimidazoles: a review, *Bioorg. Med. Chem.* 20 (2012) 6208.
6. P. Ravi, C. Singh, J. Lovely, Studies in natural products chemistry, the Leucetta alkaloids: Synthetic aspects 63 (2019) 43–79
7. W. Hassan, R. Edrada, R. Ebel, V. Wray, A. Berg, R. van Soest, S. Wiryowidagdo, P. Proksch, New imidazole alkaloids from the indonesian sponge *Leucetta chagosensis*, *J. Nat. Prod.* 67 (2004) 817.
8. R. Katikireddy, S. Marri, R. Kakkerla, M.P.S. Murali Krishna, D. Gandamalla, Y.N. Reddy, Synthesis, anticancer activity and molecular docking studies of hybrid benzimidazole-1,3,4-oxadiazol-2-N-alkyl/aryl amines, *Polycycl. Aromat. Compd.* 42 (2022) 5855.
9. A. Beč, M. Mioč, B. Bertoša, M. Kos, P. Debogović, M. Kralj, M. Hranjec, Design, synthesis, biological evaluation and QSAR analysis of novel *N*-substituted benzimidazole derived carboxamides, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 37 (2022) 1327.
10. A.M. Zubair, M.N.H. Malik, W. Younis, M.A.H. Malik, S. Jahan, I. Ahmed, A. Yuchi, M.N. Mushtaq, R. Tahir, M.B. Sarwar, M. Roman, A.A. Khan, M.N. Tahir, M.T. Khan, H.A.A. Kharl, G. Kamran, A.A. Albegali, A. Imran, Novel acetamide derivatives of 2-aminobenzimidazole prevent inflammatory arthritis in rats via suppression of pro-inflammatory mediators, *Inflammopharmacol.* 30 (2022) 1005.
11. J. Chen, L. Xu, B. Wang, D. Zhang, L. Zhao, Z. Bei, Y. Song, Design, synthesis, and biological evaluation of benzimidazole derivatives as potential Lassa virus inhibitors, *Molecules*, 28 (2023) 1579.
12. H. Iqbal, A.K. Verma, P. Yadav, S. Alam, M. Shafiq, D. Mishra, F. Khan, K. Hanif, A.S. Negi, D. Chanda, Antihypertensive Effect of a Novel Angiotensin II receptor blocker fluorophenyl benzimidazole: contribution of cGMP, voltage-dependent calcium channels and BKCa channels to vasorelaxant mechanisms, *Front. Pharmacol.* 12 (2021) 611109.
13. Y. Ozkay, Y. Tunalı, H. Karaca, I. Işıkdag, Antimicrobial activity of a new combination system of benzimidazole and various azoles, *Arch. Pharm.* 344 (2011) 264.