

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

SÍNTESE DE MIMÉTICOS DA UREASE DE *CANAVALIA*

ENSIFORMIS

E AVALIAÇÃO MECANÍSTICA DA DECOMPOSIÇÃO DA

UREIA

Leticia Klein Sebastiany*

Tese apresentada como parte dos requisitos para
obtenção do título de DOUTORA EM
CIÊNCIAS, área de concentração: QUÍMICA
INORGÂNICA.

Orientadora: Prof. Dra. Caterina Gruenwaldt Cunha Marques Netto.

***Bolsista CNPq**

São Carlos - SP

2020



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Química

Folha de Aprovação

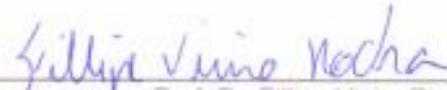
Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Tese de Doutorado da candidata Leticia Klein Sebastiany, realizada em 20/02/2020:



Profa. Dra. Catarina Gruenwaldt Cunha Marques Netto
UFSCar



Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista
UFSCar



Prof. Dr. Filipe Vieira Rocha
UFSCar



Prof. Dr. Benedito dos Santos Lima Neto
IQSC/USP



Profa. Dra. Sofia Nikolaou
FFCLRP/USP

Agradecimentos

Eu agradeço primeiramente à Deus por toda sabedoria, força e determinação.

Aos meus familiares: Suzana Klein Sebastiany, Noé Luiz Sebastiany, Laura Klein Sebastiany, Luciana Klein Sebastiany, Luiz Augusto Klein Sebastiany, ao Adriel Martins Lima e à Vera Maria Tavares, por todo incentivo e por estarem sempre comigo me apoiando em tudo.

À minha orientadora Caterina G. C. M Netto, por toda dedicação, compreensão e todo conhecimento compartilhado durante a realização deste trabalho.

Aos meus colegas e amigos do laboratório: Caio, Eduardo, Milena, Katiana, Vanessa, Celis, Tamires, Adriana, Gregory, João, Gabriel, Analu, Letícia, Jocely, Carlos André, Rafael, Beatriz, Wilmer, Legna, Kátia, Luciano, Angel e July por todo companheirismo, amizade e conhecimentos compartilhados.

Ao Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista pelo compartilhamento do espaço físico do laboratório.

Ao Prof. Dr. Gilberto e à Luciana pelas análises de RMN;

Ao Prof. Dr. Kleber Thiago de Oliveira pela disponibilidade em manter seu laboratório de porta abertas.

Ao Prof. Dr. Rafael de Freitas pelas análises magnéticas dos complexos;

À todo departamento de química da UFSCar.

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES).

Lista de Abreviaturas

δ - Deslocamento químico

d - Dubleto

dd – Dubleto de dubleto

DHO – Dihidroorotase

DMF - Dimetilformamida

dt – Dubleto de tripleto

ϵ - Absortividade molar

ESI – *Electron Spray Ionization*

LUMO - *Lowest Occupied Molecular Orbital*

HOMO - *Highest Occupied Molecular Orbital*

HSQC – *Heteronuclear Single Quantum Correlation*

HMBC – *Heteronuclear Multiple Bond Correlation*

HRMS – *High Resolution Mass Spectrometry*

IV – Infravermelho

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

PTBA – Perclorato de tetrabutilamônio

s– Singleto

SPU - *Sporosarcina pasteurii*

TGA – Thermo Gravimetric Analysis

TIM - Triosefosfato IsoMerase

t - Tripleto

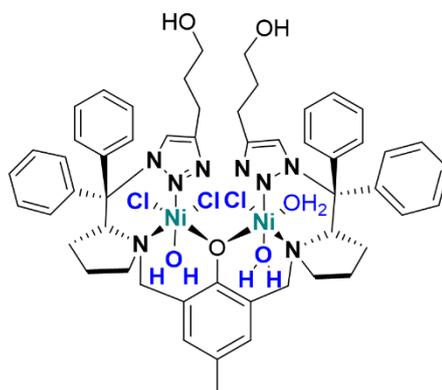
TCLM – Transferência de Carga Ligante – Metal

THF – Tetrahidrofurano

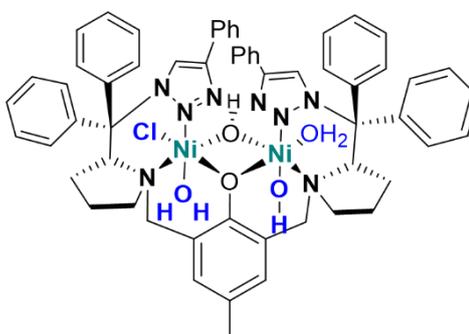
TMS – Tetrametilsilano

Nomes dos complexos e estruturas propostas

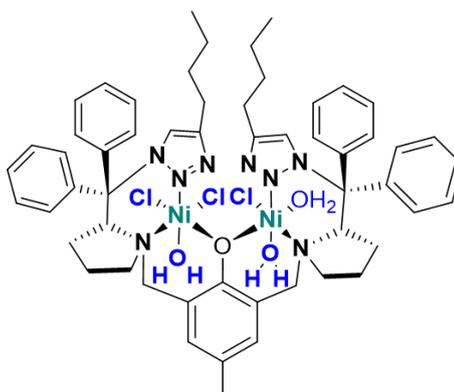
BTP(Ni-Ni)



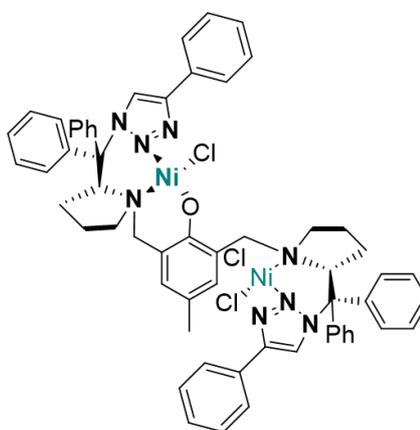
BTPh(Ni-Ni)



BTB(Ni-Ni)



2BTPh(Ni-Ni)



Lista de tabelas

TABELA 1: Rendimentos das reações dos complexos, cores e solubilidade dos complexos sintetizados.....	55
TABELA 2: Dados de condutividade molar dos complexos em metanol e diclorometano.	56
TABELA 3: Análise elementar (C, N, H) dos complexos.....	69
TABELA 4: Estiramentos de algumas ligações dos complexos e dos ligantes..	75
TABELA 5: Comprimentos de onda e absortividade molar das bandas apresentadas nos espectros eletrônicos dos complexos.	84
TABELA 6: Dados cristalográficos e refinamento para a estrutura 1-((1-benzilpirrolidin-2-il)difenilmetil)-4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol.	207
TABELA 7: Resumo das ligações e os comprimentos selecionados para 1-((1-benzilpirrolidin-2-il)difenilmetil)-4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol.	209
TABELA 8: Resumo dos ângulos das ligações selecionados para 1-((1-benzilpirrolidin-2-il)difenilmetil)-4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol.	211

Lista de Figuras

FIGURA 1: Sítio ativo da Urease <i>Sporosarcina pasteurii</i> (SPU) ⁵	1
FIGURA 2: Esquemas das propostas mecánísticas de hidrólise da ureia pela urease ³²	7
FIGURA 3: Estrutura cristalina da urease <i>Sporosarcina pasteurii</i> (SPU) inibida pelo íon fluoreto, substituindo a ponte hidroxó, entre os dois átomos de níquel, e a ureia coordenada ao sítio ativo ³⁸	8
FIGURA 4: Estrutura cristalina do complexo derivado de ligante pirazolato com a ureia coordenada ao centro metálico ⁴⁹	11
FIGURA 5: Estrutura cristalina do complexo binuclear de Ni(II) derivado de ligante pirazolato e carbamato coordenado (esquerda) e do complexo com isocianato coordenado (direita) ⁵⁰	12
FIGURA 6: Estrutura cristalina do complexo $[\text{Ni}_2(\text{H}_2\text{O})_4(\text{bdptz})](\text{OTs})_4$, mimético da urease ⁵¹	13
FIGURA 7: Estruturas dos complexos binucleares de níquel miméticos da urease ⁵³	14
FIGURA 8: Esquema das estruturas dos miméticos. Os ligantes bistriazólicos variaram o grupo R em fenil, n-butil e n-propanol, enquanto que a esfera de coordenação dos centros de níquel foram completadas aleatoriamente com água, íon hidroxó ou cloreto, dependendo do complexo.	16
FIGURA 9: Representação Ortep do 1-((1-benzilpirrolidin-2-il) difenilmetil)-4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol (30% de elipsoide).	45
FIGURA 10: RMN ¹ H 2,6-bis((2-((4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)difenilmetil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.	46

FIGURA 11: RMN ¹³ C 2,6-bis((2-((4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)difenilmetil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.....	46
FIGURA 12: RMN HMBC espectro na região alifática 2,6-bis((2-((4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)difenilmetil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.	48
FIGURA 13: RMN HMBC espectro na região alifática e aromática 2,6-bis((2-((4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)difenilmetil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.	49
FIGURA 14: HMBC espectro na região aromática 2,6-bis((2-((4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)difenilmetil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.	50
FIGURA 15: RMN HSQC espectro na região alifática 2,6-bis((2-((4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)difenilmetil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol	51
FIGURA 16: RMN HSQC espectro na região aromática 2,6-bis((2-((4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)difenilmetil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.	52
FIGURA 17: Estrutura do α ciano-4-hidroxicinâmico (α - CHCA).	58
FIGURA 18: Espectro de massas do complexo BTP <i>h</i> (Ni-Ni).	60
FIGURA 19: Padrão isotópico do complexo BTP <i>h</i> (Ni-Ni) e simulação.	61
FIGURA 20: Espectro de massas do complexo BTP(Ni-Ni).	63
FIGURA 21: Padrão isotópico do complexo BTP(Ni-Ni) e simulação.	63
FIGURA 22: Espectro de massas do complexo BTB(Ni-Ni).....	65
FIGURA 23: Padrão isotópico do complexo BTB(Ni-Ni) e simulação.....	66
FIGURA 24: Espectro de massas do complexo BTB(Ni-Ni).....	68
FIGURA 25: Padrão isotópico do complexo 2BTP <i>h</i> (Ni-Ni) e simulação.	68
FIGURA 26: Padrão isotópico do complexo 2BTP <i>h</i> (Ni-Ni) e simulação.	68
FIGURA 27: Termograma do complexo BTP <i>h</i> (Ni-Ni).....	71
FIGURA 28: Termograma do complexo BTP(Ni-Ni).	72

FIGURA 29: Termograma do complexo BTB(Ni-Ni).	73
FIGURA 30: Termograma do complexo 2 BTPh(Ni-Ni).....	74
FIGURA 31: Espectros vibracionais BTPh e BTPh (Ni-Ni).	77
FIGURA 32: Espectros vibracionais BTP e BTP (Ni-Ni).	79
FIGURA 33: Espectros vibracionais BTB e BTB (Ni-Ni).	80
FIGURA 34: Espectros vibracionais BTPh e 2BTPh (Ni-Ni).	81
FIGURA 35: Espectro eletrônico na região do UV-Vis do complexo 2BTPh(Ni-Ni) e do ligante BTPh, obtidos em diclorometano.	85
FIGURA 36: Espectro eletrônico na região do UV-Vis do complexo 2BTPh(Ni-Ni), obtido em diclorometano.	85
FIGURA 37: Espectro eletrônico na região do UV-Vis do complexo 2BTPh(Ni-Ni), obtido em diclorometano.	86
FIGURA 38: Espectro eletrônico na região do UV-Vis do complexo 2BTPh(Ni-Ni), obtido em tetrahydrofurano, diclorometano e clorofórmio.	87
FIGURA 39: Espectros eletrônicos na região do UV-Vis do complexo BTB(Ni-Ni) e do ligante BTB, obtidos em diclorometano.	88
FIGURA 40: Espectro eletrônico na região do UV-Vis do complexo BTB(Ni-Ni), obtido em diclorometano.	88
FIGURA 41: Espectro eletrônico na região do UV-Vis do complexo BTB(Ni-Ni), obtido em diclorometano.	89
FIGURA 42: Espectro eletrônico na região do UV-Vis do complexo BTPh(Ni-Ni) e do ligante BTPh(Ni-Ni), obtido em diclorometano.	89
FIGURA 43: Espectro eletrônico na região do UV-Vis do complexo BTPh(Ni-Ni), obtido em diclorometano.	90

FIGURA 44: Espectro eletrônico na região do UV-Vis do complexo BTPPh(Ni-Ni), obtido em diclorometano.....	90
FIGURA 45: Espectro eletrônico na região do UV-Vis do complexo BTP(Ni-Ni) e do ligante BTP, obtidos em diclorometano.	91
FIGURA 46: Espectro eletrônico na região do UV-Vis do complexo BTP(Ni-Ni), obtido em diclorometano.....	92
FIGURA 47: Espectro eletrônico na região do UV-Vis do complexo BTP(Ni-Ni), obtido em diclorometano.....	92
FIGURA 48: Espectro eletrônico na região do UV-Vis do complexo BTPPh(Ni-Ni), obtido em diclorometano (esquerda) e tetrahydrofurano (direita).	93
FIGURA 49: Espectro eletrônico na região do UV-Vis do complexo BTP(Ni-Ni), obtido em diclorometano (esquerda) e clorofórmio (direita).....	95
FIGURA 50: Esquema proposto para a oxidação eletroquímica do ligante BTPPh adaptado da literatura ⁸¹	96
FIGURA 51: Voltamograma cíclico do ligante BTPPh (esquerda) e do complexo 2BTPPh(Ni-Ni) (direita) obtidos em diclorometano PTBA como eletrólito, eletrodo de trabalho de carbono vítreo.....	96
FIGURA 52: Esquema proposto para a oxidação eletroquímica do complexo 2BTPPh(Ni-Ni) adaptado da literatura ⁸¹	97
FIGURA 53: Voltamogramas cíclicos do ligante BTB (esquerda), e do complexo BTB(Ni-Ni) (direita) obtidos em diclorometano PTBA como eletrólito, eletrodo de carbono vítreo.....	98
FIGURA 54: Esquema do mecanismo proposto da oxidação eletroquímica do complexo BTB(Ni-Ni).	99

FIGURA 55: Voltamogramas cíclicos do ligante BTPPh, e do complexo BTPPh(Ni-Ni), em diclorometano PTBA como eletrólito, eletrodo de carbono vítreo.....	100
FIGURA 56: Voltamogramas cíclico do ligante BTP (esquerda) e do complexo BTP(Ni-Ni) (direita) obtidos em diclorometano PTBA como eletrólito, eletrodo de carbono vítreo.....	102
FIGURA 57: Esquema proposto do mecanismo eletroquímico de oxidação do complexo BTP(Ni-Ni) adaptado ⁸¹	103
FIGURA 58: Espectroeletróquímica do complexo 2BTPPh(Ni-Ni), ($18,3 \mu\text{molL}^{-1}$), aplicando potencial de 1,8V em solução de diclorometano PTBA.	104
FIGURA 59: Espectroeletróquímica do complexo 2BTPPh(Ni-Ni), ($0,76 \text{ mmolL}^{-1}$), aplicando potencial de 1,4V em solução de diclorometano PTBA.	105
FIGURA 60: Espectroeletróquímica do complexo BTB(Ni-Ni), ($0,081 \text{ mmolL}^{-1}$), sem aplicação de potencial (esquerda) e aplicando potencial de 1,1V (direita) solução de diclorometano PTBA ($0,1 \text{ molL}^{-1}$).	106
FIGURA 61: Espectroeletróquímica do complexo BTB(Ni-Ni), ($4,21 \text{ mmolL}^{-1}$), aplicando potencial de 1,4V, solução de diclorometano PTBA ($0,1 \text{ molL}^{-1}$)...	107
FIGURA 62: Espectroeletróquímica do complexo BTPPh(Ni-Ni), ($0,081 \text{ mmolL}^{-1}$), aplicando potencial de 1,1V solução de diclorometano PTBA ($0,1 \text{ molL}^{-1}$).	108
FIGURA 63: Espectroeletróquímica do complexo BTPPh(Ni-Ni), aplicando potencial de 1,5V solução de diclorometano PTBA ($0,1 \text{ molL}^{-1}$).....	108
FIGURA 64: Espectroeletróquímica do complexo BTP(Ni-Ni), ($0,074 \text{ mmolL}^{-1}$), aplicando potencial de 1,1V solução de diclorometano PTBA ($0,1 \text{ molL}^{-1}$). ...	109
FIGURA 65: Espectroeletróquímica do complexo BTP(Ni-Ni) ($4,88 \text{ mmolL}^{-1}$), aplicando potencial de 1,5V solução de diclorometano PTBA ($0,1 \text{ molL}^{-1}$)....	110

FIGURA 66: Gráfico do inverso da susceptibilidade magnética dos complexos em função da temperatura.	111
FIGURA 67: Curvas de magnetização em função do campo magnético.	112
FIGURA 68: Gráficos da comparação das reações de decomposição da ureia por todos os complexos, com 4,5 μmol de ureia (esquerda) e 9,0 μmol (direita) e temperatura de 5°C.	114
FIGURA 69: Gráficos da comparação das reações de decomposição da ureia por todos os complexos, com 4,5 μmol de ureia (esquerda) e 9,0 μmol de ureia (direita) e temperatura de 20°C.	116
FIGURA 70: Gráficos da comparação das reações de decomposição da ureia por todos os complexos, com 4,5 μmol de ureia (esquerda) e 9,0 μmol de ureia (direita) e temperatura de 32°C.	116
FIGURA 71: Gráfico da reação de decomposição da ureia pelo complexo BTPH(Ni-Ni) (0,054 μmol), com 9,0 μmol de ureia e temperatura de 20°C. ...	119
FIGURA 72: Gráfico da reação de decomposição da ureia pelo complexo BTPH(Ni-Ni) (0,024 μmol), com 9,0 μmol de ureia e temperatura de 20°C. ...	119
FIGURA 73: Gráfico da reação de decomposição da ureia pelo complexo BTPH(Ni-Ni) (4,8 nmol), com 9,0 μmol de ureia e temperatura de 20°C.	120
FIGURA 74: Gráfico da Comparação das reações de decomposição da ureia pela urease de Jack bean (<i>Canavalia ensiformis</i>), com 4,5 μmol de ureia (esquerda) e 9,0 μmol de ureia (direita) e temperatura de 32°C.	121
FIGURA 75: Gráfico da reação da catálise anidra, 9,0 μmol de ureia, complexo 2BTPH(Ni-Ni).	123
FIGURA 76: Gráfico da reação da catálise com 7,9% de água em relação ao teor total de solventes, 9,0 μmol de ureia, complexo 2BTPH(Ni-Ni) à 20°C.	124

FIGURA 77: Gráfico da comparação das reações de decomposição da ureia por todos os complexos, com 9,0 μmol de ureia, 20°C, 52,63% de água.....	125
FIGURA 78: Aplicação de tetrahidrofurano na reação de decomposição da ureia (9,0 μmol) pelo complexo BTPH(Ni-Ni) (0,27 μmol).....	126
FIGURA 79: Uma reação feita para cada tempo da catálise 0,27 μmol do complexo BTPH(Ni-Ni), 9,0 μmol de ureia.	127
FIGURA 80: Comparação entre os espectros vibracionais do complexo BTPH(Ni-Ni), BTPH(Ni-Ni) ureia e BTPH(Ni-Ni) ureia/água.	130
FIGURA 82: Comparação entre os espectros vibracionais do complexo BTPH(Ni-Ni) e BTPH(Ni-Ni)(NH ₃).	131
FIGURA 83: Comparação entre os espectros vibracionais do complexo BTPH(Ni-Ni) e BTPH(Ni-Ni)(NH ₃).	132
FIGURA 84: Gráfico da quantificação de amônia formada pela reação de decomposição da ureia pelo complexo BTPH(Ni-Ni), iniciada em condição anidra, seguida da adição de água.....	134
FIGURA 85: Gráfico da amônia formada, em que para a reação primeiramente foi adicionada a água e após 10 segundos, a ureia.	136
FIGURA 86: Gráfico da condutividade do complexo pela adição de alíquotas de água.....	138
FIGURA 87: Comparação entre os espectros de massas do complexo BTB(Ni-Ni) solubilizado em acetonitrila (1); Complexo solubilizado em acetonitrila com adição de alíquotas de água (2 e 3); Complexo com ureia em acetonitrila (4); Complexo com ureia em acetonitrila e água (5).....	139
FIGURA 88: Espectro de massas do complexo BTB(Ni-Ni) solubilizado em acetonitrila e adição de água.....	140

FIGURA 89: Simulação do padrão isotópico e estrutura proposta do cátion do complexo, na análise do complexo BTB(Ni-Ni).....	141
FIGURA 90: Simulação do padrão isotópico e estrutura proposta do cátion do complexo, na análise do complexo BTB(Ni-Ni) em acetonitrila.....	141
FIGURA 91: Espectro de massas do complexo BTB(Ni-Ni) solubilizado em acetonitrila e adição de água.....	142
Figura 92: Simulação do padrão isotópico do pico atribuído ao cátion do complexo BTB(Ni-Ni) solubilizado em acetonitrila e adição de água.	143
FIGURA 93: Espectro de massas do complexo BTB(Ni-Ni) solubilizado em acetonitrila e adição de ureia.	144
Figura 94: Simulação do padrão isotópico e estrutura proposta do cátion do complexo solubilizado em acetonitrila e adição de ureia.	145
FIGURA 95: Espectro de massas do complexo BTB(Ni-Ni) solubilizado em acetonitrila e adição de ureia com água.	145
Figura 96: Simulação do padrão isotópico e estrutura proposta do cátion do complexo solubilizado em acetonitrila e adição de água e ureia.	146
FIGURA 97: Reciclagem do complexo com adições consecutivas de solução de ureia.	147
FIGURA 98: Reciclagem do complexo BTPH(Ni-Ni) (0,27 μmol), pela adição de alíquota de 150 μL água aos 80 segundos de reação à 20°C.....	148
FIGURA 99: Gráfico da decomposição ureia pela aplicação do cloreto de níquel como catalisador.	149
FIGURA 100: Espectro ^{15}N RMN da proposta do mecanismo de decomposição da ureia, espectro vermelho – ureia; espectro azul - isocianato.....	151

FIGURA 101: Gráfico da influência do pH na reação de decomposição da ureia pelo complexo BTPH(Ni-Ni) em tampão fosfato (52,63%), pH= 8,0 (esquerda) e pH= 6 (direita) (52,63%) à 20°C.....	152
FIGURA 102: gráfico da avaliação de ureia livre após a reação de decomposição da ureia pelo complexo BTP(Ni-Ni) e prosseguimento da reação pela Urease de Jack bean em tampão fosfato pH= 7,0 à 20°C.....	154
FIGURA 103: Reação de degradação da formamida pelo complexo BTPH(Ni-Ni) (0,27 μmol) à 20°C em THF.....	156
FIGURA 103: Espectros eletrônicos do complexo 2BTPH(Ni-Ni) solubilizado em THF e adicionada alíquota de água (linha preta) e com a adição de ureia (linha vermelha).	158
FIGURA 104: Análise cinética da banda atribuída à transferência de carga em 349nm do complexo 2BTPH(Ni-Ni) na presença de ureia (linha vermelha) e na presença de água (linha preta).	158
FIGURA 105: Esquema da proposta mecânica de decomposição da ureia pelos complexos binucleares de níquel.	160
FIGURA 106: RMN ^1H Éster prolina.....	162
FIGURA 107: RMN ^1H N-benzil prolina metil éster.....	162
FIGURA 108: RMN ^1H 1-benzilpirrolidina-2-il difenil metanol.	163
FIGURA 109: RMN ^1H 2-(azidodifenilmetil)-1-benzilpirrolidina.	163
FIGURA 110: RMN ^1H 1-((1-benzilpirrolidin-2-il)difenilmetil)-4-fenil-1H-1,2,3-triazol.....	164
FIGURA 111: RMN ^{13}C 1-((1-benzilpirrolidin-2-il)difenilmetil)-4-fenil-1H-1,2,3-triazol.....	164
FIGURA 112: HSQC (espectro da região alifática)1-((1-benzilpirrolidin-2-il)difenilmetil)-4-fenil-1H-1,2,3-triazol.	165

FIGURA 113: HSQC (espectro na região aromática) 1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-4-fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol.	165
FIGURA 114: RMN ¹ H 1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol.	166
FIGURA 115: RMN ¹³ C 1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol.	166
FIGURA 116: HSQC (espectro na região alifática) 1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol.	167
FIGURA 117: HSQC (espectro na região aromática) 1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol.	167
FIGURA 118: RMN HMBC (espectro na região alifática) 1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol.	168
FIGURA 119: RMN HMBC (espectro na região aromática) 1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol.	168
FIGURA 120: RMN ¹ H 3-(1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)propan-1-ol.	169
FIGURA 121: RMN ¹³ C 3-(1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)propan-1-ol.	169
FIGURA 122: RMN HSQC (espectro na região alifática) 3-(1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)propan-1-ol.	170
FIGURA 123: HSQC (espectro na região aromática) 3-(1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)propan-1-ol.	170
FIGURA 124: HMBC (espectro na região alifática) 3-(1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)propan-1-ol.	171
FIGURA 125: HMBC (espectro na região aromática) 3-(1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)propan-1-ol.	171

FIGURA 126: RMN ^1H -3-(1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)fenol.	172
FIGURA 127: RMN ^{13}C : 3-(1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)fenol.	172
FIGURA 128: RMN HSQC (espectro na região alifática) 3-(1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)fenol.	173
FIGURA 129; RMN HSQC (espectro na região aromática) 3-(1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)fenol.	173
FIGURA 130: RMN HMBC (espectro na região alifática) 3-(1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)fenol.	174
FIGURA 131: RMN HMBC (espectro na região aromática) 3-(1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)fenol.	174
FIGURA 132: RMN ^1H 1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-4-fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol.	175
FIGURA 133: RMN ^{13}C 1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-4-fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol.	175
FIGURA 134: RMN HSQC (espectro na região alifática) 1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-4-fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol.	176
FIGURA 135: RMN HSQC (espectro na região aromática) 1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-4-fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol.	176
FIGURA 136: RMN HMBC (espectro na região alifática) 1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-4-fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol.	177
FIGURA 137: RMN HMBC (espectro na região aromática) 1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-4-fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol.	177
FIGURA 138: RMN ^1H 4- butil-1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol.	178

FIGURA 139: RMN ^{13}C 4- butil-1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol.	178
FIGURA 140: RMN HSQC (espectro na região alifática) 4- butil-1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol.	179
FIGURA 141: RMN HSQC (espectro na região aromática) 4- butil-1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol.	179
FIGURA 142: HMBC-RMN 4- butil-1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol.	180
FIGURA 143: RMN ^1H 3-(1-difenil(pirrolidina-2-il)metil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)propan-1-ol.	180
FIGURA 144: RMN ^{13}C 3-(1-difenil(pirrolidina-2-il)metil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)propan-1-ol.	181
FIGURA 145: RMN HSQC (espectro na região alifática) 3-(1-difenil(pirrolidina-2-il)metil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)propan-1-ol.	181
FIGURA 146: RMN HSQC (espectro na região aromática) 3-(1-difenil(pirrolidina-2-il)metil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)propan-1-ol.	182
FIGURA 147: RMN HMBC (espectro na região alifática)3-(1-difenil(pirrolidina-2-il)metil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)propan-1-ol.	182
FIGURA 148: RMN HMBC (espectro na região aromática) 3-(1-difenil(pirrolidina-2-il)metil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)propan-1-ol.	183
FIGURA 149: RMN ^1H 3-(1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)fenol.	183
FIGURA 150: RMN ^{13}C 3-(1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)fenol.	184
FIGURA 151: RMN HSQC (espectro na região alifática)3-(1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)fenol.	184

FIGURA 152: RMN HSQC (espectro na região aromática) 3-(1-(difetil(pirrolidina-2-il)metil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)fenol.	185
FIGURA 153: RMN HMBC (espectro na região alifática) 3-(1-(difetil(pirrolidina-2-il)metil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)fenol.	185
FIGURA 154: RMN HMBC (espectro na região aromática) 3-(1-(difetil(pirrolidina-2-il)metil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)fenol.	186
FIGURA 155: RMN ¹ H 2,6-bis((2-(difetil(4-fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)metil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.....	186
FIGURA 156: RMN ¹³ C 2,6-bis((2-(difetil(4-fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)metil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.....	187
FIGURA 157: RMN HSQC (espectro na região alifática) 2,6-bis((2-(difetil(4-fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)metil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.	187
FIGURA 158: RMN HSQC (espectro na região aromática) 2,6-bis((2-(difetil(4-fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)metil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.	188
FIGURA 159: RMN HMBC (espectro na região alifática) 2,6-bis((2-(difetil(4-fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)metil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.	188
FIGURA 160: RMN HMBC (espectro na região aromática) 2,6-bis((2-(difetil(4-fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)metil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.	189
FIGURA 161: RMN ¹ H 2,6-bis((2-((4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)difetilmetil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.....	189
FIGURA 162: RMN ¹³ C 2,6-bis((2-((4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)difetilmetil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.....	190
FIGURA 163: RMN HSQC espectro na região alifática 2,6-bis((2-((4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)difetilmetil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.	190

FIGURA 164: RMN HSQC espectro na região aromática 2,6-bis((2-((4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)difenilmetil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.	191
FIGURA 165: RMN HMBC espectro na região alifática 2,6-bis((2-((4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)difenilmetil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.	191
FIGURA 166: RMN HMBC espectro na região aromática 2,6-bis((2-((4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)difenilmetil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.	192
FIGURA 167: RMN ¹ H 3,3'-((((2-hydroxy-5-metil-1,3-fenilene)bis(metilene))bis(pirrolidina-1,2-diil))bis(difenilmetilene))bis(1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1,4-diil))bis(propan-1-ol).	192
FIGURA 168: RMN ¹³ C 3,3'-((((2-hydroxy-5-metil-1,3-fenilene)bis(metilene))bis(pirrolidina-1,2-diil))bis(difenilmetilene))bis(1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1,4-diil))bis(propan-1-ol).	193
FIGURA 169: RMN HSQC espectro na região alifática 3,3'-((((2-hydroxy-5-metil-1,3-fenilene)bis(metilene))bis(pirrolidina-1,2-diil))bis(difenilmetilene))bis(1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1,4-diil))bis(propan-1-ol).	193
FIGURA 170: RMN HSQC espectro na região aromática 3,3'-((((2-hydroxy-5-metil-1,3-fenilene)bis(metilene))bis(pirrolidina-1,2-diil))bis(difenilmetilene))bis(1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1,4-diil))bis(propan-1-ol).	194
FIGURA 171: RMN HMBC espectro na região alifática 3,3'-((((2-hydroxy-5-metil-1,3-fenilene)bis(metilene))bis(pirrolidina-1,2-diil))bis(difenilmetilene))bis(1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1,4-diil))bis(propan-1-ol).	194
FIGURA 172: RMN HMBC espectro na região aromática 3,3'-((((2-hydroxi-5-metil-1,3-fenileno)bis(metileno))bis(pirrolidina-1,2-diil))bis(difenilmetilene))bis(1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1,4-diil))bis(propan-1-ol).	195

FIGURA 173: RMN ¹ H do 3,3'-((((2-hidroxi-5-metil-1,3-fenileno)bis(metileno))bis(pirrolidina-1,2-diil))bis(difenilmetileno))bis(1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1,4-diil))difenol.....	195
FIGURA 174: RMN ¹³ C 3,3'-((((2-hidroxi-5-metil-1,3-fenileno)bis(metileno))bis(pirrolidina-1,2-diil))bis(difenilmetileno))bis(1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1,4-diil))difenol.....	196
FIGURA 175: HSQC espectro na região alifática 3,3'-((((2-hidroxi-5-metil-1,3-fenileno)bis(metileno))bis(pirrolidina-1,2-diil))bis(difenilmetileno))bis(1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1,4-diil))difenol.....	196
FIGURA 176: HSQC espectro na região aromática 3,3'-((((2-hidroxi-5-metil-1,3-fenileno)bis(metileno))bis(pirrolidina-1,2-diil))bis(difenilmetileno))bis(1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1,4-diil))difenol.....	197
FIGURA 177: HMBC espectro na região alifática 3,3'-((((2-hidroxi-5-metil-1,3-fenileno)bis(metileno))bis(pirrolidina-1,2-diil))bis(difenilmetileno))bis(1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1,4-diil))difenol.....	197
FIGURA 178: HMBC espectro na região aromática 3,3'-((((2-hidroxi-5-metil-1,3-fenileno)bis(metileno))bis(pirrolidina-1,2-diil))bis(difenilmetileno))bis(1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1,4-diil))difenol.....	198
FIGURA 179: Espectro de massas do 1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol.....	199
FIGURA 180: Espectro de massas do 3-(1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)propan-1-ol.....	199
FIGURA 181: Espectro de massas do 3-(1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)fenol.....	200
FIGURA 182: Espectro de massas 1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-4-fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol.....	200

FIGURA 183: Espectro de massas 4-butil-1-(difenil(pirrolidina-2-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol.....	201
FIGURA 184: Espectro de massas 3-(1-(difenil (pirrolidin-2-il) metil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il) propanol.....	201
FIGURA 185: Espectro de massas 3-(1-(difenil(pirrolidin-2il)metil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)fenol.....	202
FIGURA 186: Espectro de massas 2,6-bis((2-(difenil(4-fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1il)metil)pirrolidin-1-il)metil)-4-metilfenol.....	202
FIGURA 187: Espectro de massas 3,3'-((((2-hidroxi-5-metil-1,3-fenileno)bis(metileno))bis (pirrolidina-1,2-diil))bis(difenilmetileno))bis(1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1,4-diil))bis(propan-1-ol).	203
FIGURA 188: Espectro de massas 2,6-bis ((4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)difenilmetil)pirrolidina-1-metil)-4-metilfenol.....	203
FIGURA 189: Padrão isotópico do 3,3'-((((2-hidroxi-5-metil-1,3-fenileno)bis(metileno))bis(pirrolidina-1,2-diil))bis(difenilmetileno))bis(1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1,4-diil))difenol.....	204

Resumo

SÍNTESE DE MIMÉTICOS DA UREASE DE *CANAVALLIA ENSIFORMIS* E AVALIAÇÃO MECANÍSTICA DA DECOMPOSIÇÃO DA UREIA

A urease é uma metaloenzima que pode ser encontrada em diversos organismos, estando associada à fatores de virulência como por exemplo, a pielonefrite. Deste modo, torna-se necessária a aplicação de inibidores da enzima de modo à controlar ou cessar sua atividade. A proposta de eficientes inibidores requer primeiramente o conhecimento mecanístico da hidrólise da ureia, em que para simplificar o estudo do mecanismo da reação, podem ser utilizados miméticos desta enzima. Neste trabalho, quatro miméticos da urease foram desenhados, sintetizados, caracterizados e estudados frente à hidrólise de ureia. Estes miméticos foram compostos de complexos binucleares de níquel com ligantes bistriazóis inéditos previamente sintetizados, modelados de modo que após a complexação, o centro metálico se torne mais semelhante ao sítio ativo da enzima. Todas as caracterizações feitas (Espectrometria de massas, análise elementar, análise termogravimétrica, infravermelho, UV-Vis, voltametria cíclica, espectroeletróquímica, análises magnéticas), convergem para as estruturas propostas para cada mimético. Observou-se que todos os complexos eram capazes de decompor a ureia para formação de amônia, no entanto, a reação apresenta perfil de decaimento da concentração de amônia, sugerindo que a amônia formada esteja sendo perdida via coordenação ou volatilização. O intermediário da reação foi determinado por ^{15}N RMN, observando-se o surgimento de um pico em 244 ppm que pode ser atribuído ao isocianato, característico de um mecanismo de eliminação. Foi possível ainda a detecção da espécie ativa do complexo na reação, que se trata do aquo complexo, sugerindo-se que o mecanismo ocorra via esfera externa, visto que a ureia não é coordenada em solução ao complexo. Este mecanismo se difere de

mecanismos já propostos, no entanto o intermediário está de acordo com outros estudos de miméticos de urease, os quais também possuem mecanismo de reação diferente do enzimático.

Palavras-chave: Miméticos enzimáticos, Urease, proposta mecanística.

Abstract

SYNTHESIS OF *CANAVALIA ENSIFORMIS* UREASE MIMETICS AND MECHANISTIC EVALUATION OF UREA DECOMPOSITION

Urease is a metalloenzyme found in many different organisms, which is also associated to virulence factors, such as pielonefritis. Hence, the study of urease inhibitors is necessary to control its activity. For a better design of urease inhibitors it is necessary to understand its hydrolysis mechanism and enzyme biomimetics arise as a simple alternative to study some aspects of enzymes. In this work, four urease mimics were designs, synthesized, characterized and evaluated in urea's hydrolysis. These mimetic compounds were based on dinuclear nickel complexes using new bis-triazole ligands, which were designed to render a similar environment than ureases's active site. All characterizations (Mass Spectrometry, Elemental Analysis, Thermogravimetric, Infrared, UV-Vis, Cyclic Voltammetry, Electrochemical Spectrum, Magnetic Analysis), converge to the proposed structures for each mimetic. It was observed that all complexes could form ammonia from urea, exhibiting decay in ammonia concentration over reaction time, suggesting that ammonia was being lost by volatilization or coordination. The reaction intermediate was determined by ^{15}N NMR, observing the appearance of a peak at 244 ppm that can be attributed to the isocyanate, characteristic of an elimination mechanism. It was also possible to detect the active species of the complex in the reaction, which is the aquo complex, suggesting that the mechanism occurs via the external sphere, since urea is not coordinated in solution to the complex. This mechanism differs from proposed mechanisms for urease and other mimetic complexes, but the reaction intermediate is in agreement with the mechanism of other mimetic complexes.

Keywords: Enzymatic mimetics, Urease, mechanistic proposal.

Sumário

1	Introdução.....	1
2	Objetivos.....	16
2.1	Objetivo geral	16
2.2	Objetivos específicos	16
3	Procedimento experimental.....	17
3.1	Síntese dos ligantes bis triazólicos	17
3.1.1	Síntese do éster metílico de <i>L</i> -prolina (1).....	17
3.1.2	Síntese de proteção do éster metílico de <i>L</i> -prolina (2).....	18
3.1.3	Reação de Grignard para obtenção do 1-benzilpirrolidin-2-il difenilmetanol (3).....	19
3.1.4	Síntese do 2- (azidodifenilmetil) -1-benzilpirrolidina (4).	20
3.1.5	Síntese do 3-(1-((benzilpirrolidin2-il)difenilmetil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-propanol (5).	21
3.1.6	Síntese do 3-(1-(difenil (pirrolidin-2-il) metil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il) propanol (6).	22
3.1.7	Síntese do 1-((1-benzilpirrolidina-2-il) difenilmetil)-4-fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol (7).	23
3.1.8	Síntese do 1- (difenil (pirrolidin-2-il) metil)-4-fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol (8). 25	
3.1.9	Síntese do 1-((1-benzilpirrolidin-2-il) difenilmetil)-4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol (9).	26
3.1.10	Síntese do 4-butil 1- (difenil (pirrolidin-2-il) metil) -1,2,3-triazol (10). 27	

3.1.11 Síntese do 3-(1-((1-benzil pirrolidin-2-il)difenilmetil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)fenol (11).	28
3.1.12 Síntese do 3-(1-(difenil(pirrolidin-2il)metil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)fenol (12).	29
3.1.13 Síntese do 2,6 Bis (clorometil)-4-metilfenol (13).	30
3.1.14 Síntese do 3,3'-((((2-hydroxy-5-metil-1,3-fenileno)bis(metileno))bis(pirrolidin-1,2diil))bis (difenilmetileno))bis(1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1,4-diil))bis(propan-1-ol) (14).	31
3.1.15 Síntese do 2,6-bis((2-(difenil(4-phenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)metil)pirrolidin-1-il)metil)-4-metilfenol (15).	32
3.1.16 Síntese do 2,6-bis((2-((4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)difenilmetil)pirrolidin-1-il)metil)-4-metilfenol (16).	33
3.1.17 Síntese do 3,3'-((((2-hydroxi-5-metil-1,3 fenileno)bis (metileno))bis(pirrolidin-1,2-diil))bis(difenilmetileno)) bis(1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1,4-diil))difenol (17).	35
3.2 Sínteses dos complexos binucleares de Níquel	37
3.2.1 Procedimento experimental das análises eletroquímicas dos ligantes e dos complexos sintetizados	37
3.2.2 Procedimento experimental das análises espectroeletroquímicas dos complexos sintetizados.....	38
3.3 Procedimento das reações de catálise	38
3.4 Coordenação da amônia ao complexo	39
3.5 Reciclagem dos complexos	39
3.6 Reciclagem dos complexos aplicando alíquotas de água	40
3.7 Teste de decomposição da ureia pelo cloreto de níquel hexahidratado .	40

4	Técnicas de caracterização aplicadas para análise dos ligantes e dos complexos.....	41
4.1	Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	41
4.2	Condutividade molar.....	41
4.3	Análise elementar CHN	41
4.4	Espectroscopia eletrônica de absorção na região ultravioleta-visível (UV-Vis).....	41
4.5	Espectroscopia na região do infravermelho	42
4.6	Espectrometria de Massas	42
4.7	Voltametria Cíclica	43
4.8	Análise termogravimétrica (TGA).....	43
4.9	Difração de raios-X.....	43
5	Resultados e discussão	44
5.1	Ligantes Bis triazóis.....	44
5.2	Complexos binucleares de níquel.....	53
5.3	Caracterização dos complexos	55
5.3.1	Condutividade molar dos complexos	55
5.3.2	Espectrometria de massas	57
5.3.3	Análise elementar C, H, N	69
5.3.4	Análise termogravimétrica (TGA)	71
5.3.5	Espectroscopia vibracional na região do IR	75
5.3.6	Espectroscopia eletrônica UV-Vis	82
5.3.7	Voltametria cíclica dos ligantes bis triazóis e dos complexos binucleares de níquel.....	95

5.3.8	Espectroeletróquímica.....	103
5.3.9	Análises das propriedades magnéticas dos complexos	110
6	Testes de decomposição da ureia pelos complexos binucleares de níquel.	113
6.1	Avaliação do perfil estequiométrico das reações de decomposição da ureia	118
6.2	Hidrólise da ureia pela urease de Jack bean (<i>Canavalia ensiformis</i>)...	120
6.3	Influência da proporção de água na decomposição da ureia pelos miméticos da urease	122
6.4	Avaliação da influência do solvente na catálise.....	126
6.5	Reações individuais de decomposição da ureia para cada tempo analisado.	127
6.6	Avaliação da coordenação da ureia ao complexo	128
6.7	Coordenação da amônia no complexo	131
6.8	Catálise Anidra seguida da adição de água	133
6.9	Titulação da solução do complexo BTP(Ni-Ni) com água.....	137
6.10	Avaliação da espécie ativa do complexo na decomposição da ureia ...	138
6.11	Reciclagem do catalisador.....	147
6.12	Catálise da decomposição da ureia pela com cloreto de níquel hexahidratado como catalisador	149
6.13	Reação de catálise acompanhada por ¹⁵ N RMN	150
6.14	Influência do pH na reação de decomposição da ureia	152
6.15	Teste de detecção de ureia livre.....	154
6.16	Reação de hidrólise da formamida	155
6.17	Análise cinética da catálise	156

6.18	Proposta mecanística da decomposição da ureia pelos complexos	159
7	Conclusão	161
8	Apêndice	162
8.1	Espectros de Massas dos compostos preparados	199
8.2	Dados cristalográficos do 1-((1-benzilpirrolidin-2-il)difenilmetil)-4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol	205
9	Referências	212

1 Introdução

As enzimas são biocatalisadores proteicos que exibem elevada seletividade e que podem acelerar reações bioquímicas em até 10^{20} vezes¹. A seletividade enzimática é resultado da interação do substrato com o sítio ativo, região em que a reação química ocorre, a qual é complementar em tamanho, carga e hidrofobicidade ao substrato².

Dentre as diversas enzimas existentes nos distintos organismos vivos, pode-se destacar a urease, devido à sua importância na bioquímica, teoria da evolução, em processos de fixação de nitrogênio em plantas e medicina. Por exemplo, a urease foi a primeira enzima a ser cristalizada em 1926³, e deste modo verificou-se que seu sítio ativo é composto por dois centros de níquel conectados por uma hidroxila coordenada em ponte e por uma lisina carbamilada, também coordenada em ponte entre os centros metálicos⁴. Há dois resíduos de histidina coordenados ao Ni(I) e outros dois resíduos de histidina e um aspartato coordenados ao Ni(II). A esfera de coordenação é completada por três moléculas de água, de acordo com a FIGURA 1.

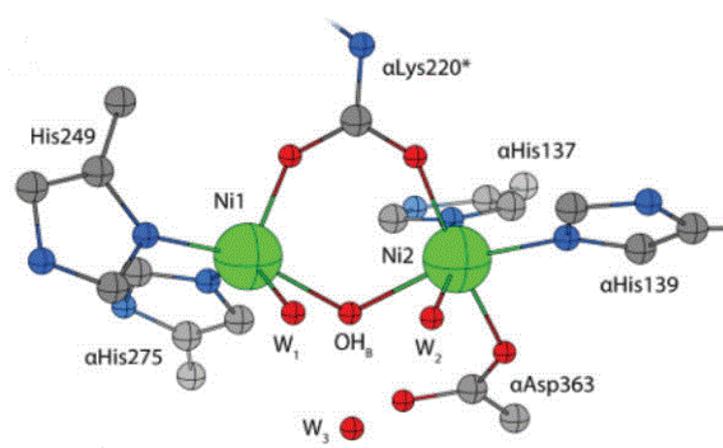


FIGURA 1: Sítio ativo da Urease *Sporosarcina pasteurii* (SPU)⁵.

Este centro bimetálico de níquel confere a versatilidade de coordenação e geometria necessária para realizar a hidrólise da ureia e promove seletividade

em catálises biológicas por estas enzimas⁶. A hidrólise da ureia permite a formação de amônia e carbamato. O carbamato, por sua vez, decompõe-se espontaneamente em dióxido de carbono e em outra molécula de amônia⁷.

É interessante notar que o enovelamento das ureases, de um modo geral é característico das amidohidrolases, devido a presença de um barril ($\alpha\beta$)₈ (barril TIM que inclui um padrão alternado de oito estruturas secundárias de α -hélices e folhas β em um único domínio)⁸ ligeiramente distorcido, em que se localiza o sítio ativo, Como este barril é comum a esta família de enzimas, é plausível entender que a família de amidohidrolases relacionada com a urease possivelmente provém de um ancestral comum que tinha uma estrutura similar e função bioquímica parecida. Desta forma, a sequência de aminoácidos que caracteriza este barril é requerida para que o mecanismo básico destas enzimas seja semelhante, apesar das distintas especializações (hidrólise de amida, éster, halogênio e outros grupos funcionais em centros de carbono e fósforo)^{9,10}.

Outro fator interessante da urease é a sua presença em células vegetais e alguns insetos (células eucarióticas), em fungos, bactérias (células procarióticas) e arqueobactérias¹¹ mas não sendo encontradas em seres humanos^{12,13}, indicando que esta enzima pode ter uma origem antiga, talvez até atuando na evolução abiótica da vida. De fato, existem genes de proteínas carreadoras de níquel (UreG), associadas ao operon da urease, no ancestral universal comum¹⁴. A UreG é tida como responsável de niquelação de proteínas, mostrando um papel fundamental do níquel e de enzimas associadas à urease na história evolutiva da vida na Terra^{15, 16}.

Entretanto, a urease é mais conhecida por seu papel na agricultura e medicina, visto que a ureia é amplamente aplicada como fertilizante nos solos e a urease está associada à fatores de virulência em patogêneses e em doenças não associadas à formação de amônia, como por exemplo, a fibrose cística^{17,18}. No

caso da agricultura, o uso de ureia como fertilizante é devido ao seu elevado teor de nitrogênio (45%), atuando como fonte deste elemento para fixação em plantas¹⁹. A fixação é dependente da urease, visto que a ureia é uma molécula estável e praticamente não é hidrolisada espontaneamente. Deste modo, esta enzima participa do processo de fixação de nitrogênio nas plantas, cuja função consiste na hidrólise da ureia para formação de amônia, tornando facilitado tal processo. A hidrólise da ureia é promovida por uma alta atividade biológica na superfície do solo, levando a cerca de 30 a 44% em perda de amônia por volatilização do nitrogênio aplicado²⁰. Estas perdas, encarecem o processo de fertilização devido a diminuição da eficiência na fixação de nitrogênio provocada pela volatilização da amônia e além disto, esta emissão de gases, contribui para a poluição atmosférica²¹.

Já no caso da medicina, a urease está envolvida em patologias, atuando como fator de virulência em diversos micro-organismos, permitindo que infecções se estabeleçam em organismos infectados²². Com isto, esta enzima é considerada um alvo de ataque em patogêneses, tais como pielonefrite^{12,23} e úlcera péptica²⁴ devido a formação de amônia, pois esta acarreta na elevação do pH do meio durante o crescimento microbiano e conseqüentemente facilita a formação de cálculos²⁵ e na adesão das bactérias ao epitélio²⁶. No caso da úlcera péptica causada por *H. Pylori*, a infecção a longo prazo aumenta o risco de desenvolvimento de câncer de estômago pelo paciente. Desta forma, verifica-se a necessidade de controlar a atividade da urease, tanto para minimizar perdas de amônia por volatilização no solo, quanto para evitar o desenvolvimento de doenças, observando-se, portanto, a necessidade de desenvolvimento de inibidores desta enzima.

Alguns compostos orgânicos têm sido testados como inibidores da urease na agricultura, tais como: benzoiltioureia e benzimidazol. Estes compostos

foram testados juntamente com a ureia em três tipos de solo da Amazônia, e foi avaliada a redução de perdas de amônia por volatilização nestes solos que contém a urease. Nos três tipos de solos testados para os dois compostos, comparados ao controle com aplicação apenas de ureia, verificou-se que em apenas um tipo de solo ocorreu a diminuição da perda de amônia por volatilização, sendo de 22 e 10%, para os compostos benzimidazol e benzoiltiourea, respectivamente. Nos demais tipos de solo praticamente não foi detectada a diminuição da volatilização da amônia. Além de não apresentar eficiência na inibição da atividade da urease, tais compostos foram solubilizados em solventes orgânicos nos testes, inviabilizando a aplicação na agricultura²⁷.

Estudos da aplicação de inibidores da urease para controlar a atividade desta enzima em bactérias como *P.mirabilis* foram realizados em camundongos, de modo a avaliar a cura de infecções ascendentes do trato urinário. Neste estudo foram aplicadas a hidroxiiureia e a tiourea por apresentarem atividade inibitória da urease *in vitro*. Nos testes realizados, verificou-se a diminuição do número de bactérias nos rins, do número de lesões dos tecidos, bem como do número de bactérias excretadas, quando aplicada a hidroxiiureia como inibidor da atividade da urease. Apesar de a hidroxiiureia impedir o estabelecimento de infecções, não foi capaz de curar as infecções já existentes e o tratamento dos camundongos foi eficaz quando iniciado no dia da infecção, sendo que um atraso de 24 horas tornou a administração do inibidor quase inútil. A tiourea, apresentou-se como um inibidor mais fraco, sendo ainda menos eficaz, visto que os experimentos foram conduzidos nas mesmas condições que os testes da hidroxiiureia. No caso da hidroxiiureia, apesar de se mostrar eficiente no tratamento de infecções ascendentes do trato urinário influenciadas pela urease, este composto é uma droga extremamente tóxica e também está associada à inibição da síntese do DNA²⁸.

É interessante notar que o estudo de inibidores de urease está associado tanto à proposta de novos inibidores para esta enzima, quanto para a proposta de mecanismos reacionais²⁹, visto que a proposta de inibidores eficientes para a urease exige o conhecimento estrutural e o mecanismo da reação de decomposição da ureia no sítio ativo da enzima.

O mecanismo de reação da urease foi um tema muito debatido durante anos, tendo-se base na estrutura do sítio ativo e em como este interage com os inibidores para propor os mecanismos. O sítio ativo das ureases provenientes dos distintos organismos vivos são essencialmente similares, sendo composto por dois átomos de níquel, em que um destes apresenta-se hexa-coordenado, formando uma geometria pseudo octaédrica, enquanto que o outro se apresenta penta-coordenado³⁰.

Sugere-se que o mecanismo da urease ocorra via hidrólise devido a sua capacidade em decompor substratos derivados da ureia, tais como formamida, acetamida e metilureia para formação de amônia, visto que a detecção de amônia através da decomposição destes substratos só é possível se ocorrer hidrólise³¹. Entretanto, como mencionado anteriormente, o mecanismo de reação da catálise da hidrólise da ureia teve diversos mecanismos propostos³².

Essencialmente, quatro tipos de mecanismo foram propostos (FIGURA 2). Independentemente da proposta, a ureia inicialmente se coordena ao sítio ativo ao Ni (1) pela carbonila, entretanto, as demais etapas de ataque nucleofílico se distinguem em alguns aspectos. Por exemplo, como pode ser visto na FIGURA 2 A, a hidroxila coordenada ao Ni(2) é a responsável pelo ataque nucleofílico à carbonila, enquanto que a histidina (320) atua como fonte de protons para auxiliar na formação de amônia. Esta proposta mecanística envolve dois problemas, sendo um deles referente à ausência de uma base com pKa aproximadamente 9 para desprotonar a molécula de água coordenada ao

níquel (2). O segundo problema está relacionado à função da His α 323 como um ácido geral, que deve ser protonado em pH 8 (pH ideal da catálise), mesmo que tenha $pK_a = 6,5^6$. Para solucionar esta questão, é proposto o fenômeno conhecido como protonação reversa, o qual implica para a urease, que o resíduo His320 deva ser protonado por catálise e outro grupo com pK_a próximo 9 deva ser desprotonado. Este fenômeno, no entanto, resulta em somente 0,3% do total de urease presente em condições ótimas de catálise³³.

Já para o mecanismo B da FIGURA 2, o ataque à carbonila é realizado pela hidroxila em ponte aos átomos de níquel, o qual também seria responsável pela protonação do grupo amido da ureia e formação da amônia. Para esta proposta mecanística foi estudada a estrutura da urease de *B. pasteurii* inibida pelo $(NH_2)_2PO(OPh)$, fenilfosforodiamidato (PPD)⁶, o qual consiste em um substrato “fraco” da urease, cujos produtos são o diamidofosfato (DAP) e o fenol. A coordenação do DAP ao sítio ativo não representa de forma confiável o estado de transição da reação de hidrólise da ureia, sendo a geometria do DAP tetraédrica e o outro produto, fenol se trata de um grupo volumoso que não encaixa no sítio ativo fechado. Deste modo, a hidrólise deste substrato não ocorre do mesmo modo que a ureia, pois a geometria do PPD é distinta à da ureia e o grupo abandonador será o fenol, e não a amônia, deste modo, a borda do sítio ativo deverá ser aberta para liberação deste grupo impedido³⁴, dificultando a possibilidade de tal proposta.

No caso do mecanismo C, o grupo hidroxila em ponte ataca a carbonila, entretanto, a protonação da ureia ocorre pela histidina 320. Finalmente, no mecanismo D, há a formação de ácido ciânico como intermediário e não de carbamato³². Este mecanismo foi analisado por cálculos teóricos³⁵, indicando a sua possibilidade de ocorrer, entretanto, o isocianato não é um substrato da urease³¹ e este mecanismo foi logo descartado.

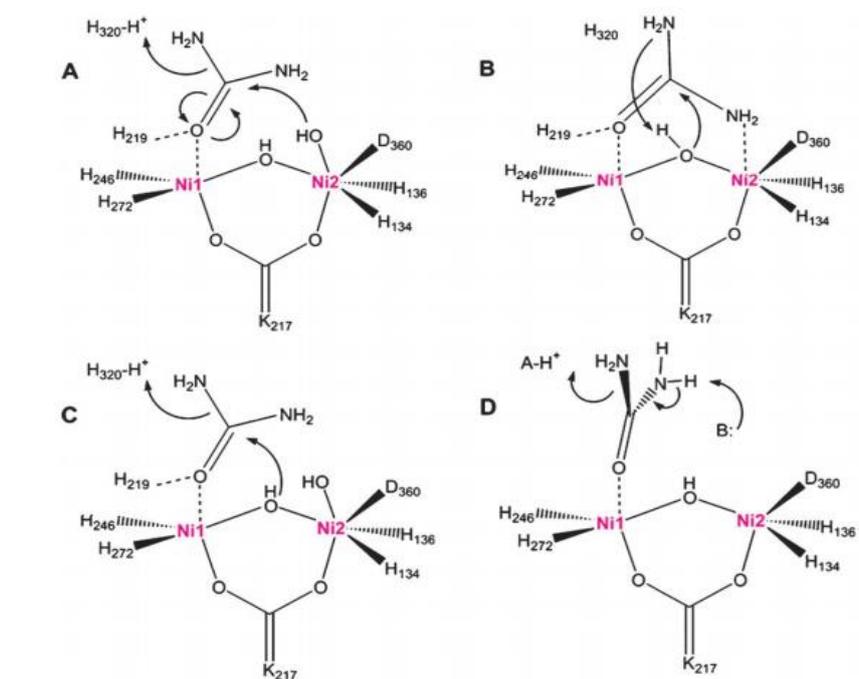


FIGURA 2: Esquemas das propostas mecanísticas de hidrólise da ureia pela urease³².

O mecanismo mais aceito envolve a atuação da hidroxila em ponte para o ataque nucleofílico, visto que a urease é inibida quando esta hidroxila é substituída⁶. Além disto, como a urease faz parte da superfamília de amidrohidrolases apresentando um barril TIM (característico desta classe), o seu mecanismo deve ocorrer de maneira similar. A enzima dihidroorotase (DHO) é o caso mais bem documentado desta família, a qual é responsável pela síntese de nucleotídeos a base de piridimidina. Em seu sítio ativo existem dois átomos de zinco coordenados de maneira similar aos níqueis na urease. A DHO foi cristalizada em um pH em que a reação inversa e direta possuíam uma constante de equilíbrio igual a um (1), possibilitando a visualização da interação entre o substrato e produto com o centro metálico ao mesmo tempo³⁶. Verificou-se que o substrato dihidroorotato interage pela carbonila da amida ao metal tetracoordenado, servindo para polarizar a ligação amida e tornar o carbono carbonílico mais eletrofílico. O ataque à este carbono foi postulado de ocorrer pelo hidróxido em ponte devido à sua orientação favorável³⁶, além da estrutura

do complexo da enzima com o produto de reação, pela difração de Raios-X, mostrar a ausência deste hidróxido em ponte³⁷. Desta forma, a urease também estaria associada à este mecanismo, porém, apenas este ano foi obtida uma estrutura de Raios-X da urease coordenada à ureia (FIGURA 3). No entanto, para viabilizar a obtenção desta estrutura foi feita a inibição da enzima com o íon fluoreto, o qual substitui a hidroxila em ponte, impedindo o prosseguimento da hidrólise da ureia³⁸. Deste modo, afirmar o mecanismo da urease com este estudo gera alguns questionamentos, visto que o inibidor pode substituir a espécie que promove a ativação do substrato, além de também poder gerar algum efeito eletrônico ou estérico no centro metálico que altere a reatividade do sítio ativo. Ademais, na dihidroorotase, o aspartato 250 parece ter um papel importante no auxílio das etapas de protonação e desprotonação do substrato, enquanto que na urease, o resíduo responsável por esta protonação seria a His320.³⁴

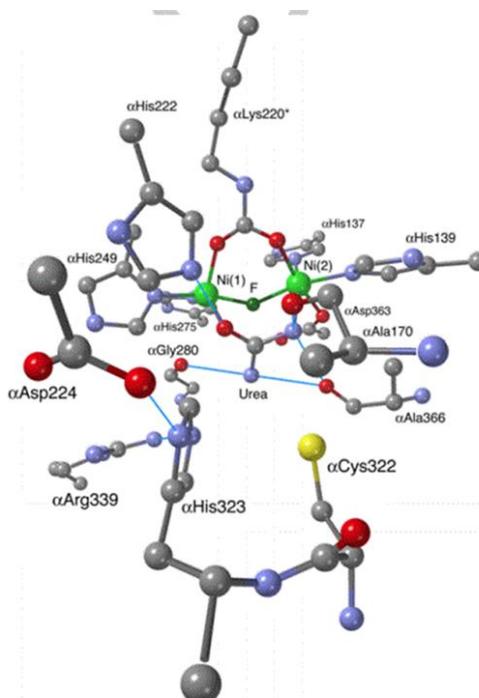


FIGURA 3: Estrutura cristalina da urease *Sporosarcina pasteurii* (SPU) inibida pelo íon fluoreto, substituindo a ponte hidroxila, entre os dois átomos de níquel, e a ureia coordenada ao sítio ativo³⁸.

Verificou-se também que a troca do centro metálico é mais impactante no caso da urease, em que a sua troca por Fe^{2+} ³⁹, Co^{2+} ou Mn^{2+} causa um grande impacto na atividade, observando-se apenas 2% da atividade específica da urease^{40,32}. A troca por Zn^{2+} e Cu^{2+} inativa completamente a enzima⁴⁰. Entretanto, a dihidroorotase é pouco afetada pela troca do Zn^{2+} por cobalto ou manganês, observando-se 84 % e 24% da atividade inicial, respectivamente. A DHO é mais afetada com a troca por Ni^{2+} e Cu^{2+} , inativando-se completamente⁴¹. Desta forma, observa-se que a presença de níquel na urease é muito importante e a sua função específica ainda não pôde ser elucidada.

Observa-se, portanto, que a elevada complexidade estrutural da urease e a alta velocidade da reação promovida por esta enzima, dificultam o estudo mecanístico desta reação. Para auxiliar no entendimento do mecanismo, foi proposto o uso de miméticos enzimáticos, os quais visam imitar a coordenação dos centros metálicos com o uso de complexos moleculares⁴². A química biomimética viabiliza a obtenção de compostos de baixo peso molecular e inferior complexidade estrutural quando comparada à elevada complexidade estrutural enzimática⁴³. A vantagem do uso de biomiméticos está atrelada à facilidade de modificação estrutural de modo à satisfazer determinados requisitos de acordo com as necessidades observadas experimentalmente. Estes modelos, portanto, facilitam o estudo de sistemas biológicos, sendo mais simples a compreensão dos mecanismos envolvidos nas reações que catalisam, pela obtenção de informações eletrônicas e espectroscópicas nestes processos⁴⁴. Desta forma, o conhecimento estrutural do sítio ativo enzimático permite a obtenção de moléculas análogas a estas regiões para alcançar uma determinada similaridade com a enzima mimetizada com relação à catálise. Os estudos de análogos enzimáticos têm progredido a fim de se avaliar e melhorar a atividade catalítica mimética. Esta melhora está associada à maior resistência destes miméticos a variadas temperaturas e pHs, visto que as enzimas exigem

condições específicas para efetuar reações de catálise⁴⁵. Apesar da eficiência da urease na catálise da hidrólise da ureia, favorecida por sua estrutura, tanto pela funcionalidade do sítio ativo, como também pela segunda esfera de coordenação, o aumento da temperatura nestas reações pode promover a desnaturação desta enzima, ocasionada pela perda do enovelamento de sua estrutura, e conseqüentemente, há o comprometimento de suas atividades catalíticas⁴⁶. Portanto, aspectos como a estabilidade do mimético nas condições reacionais e a seletividade pelo substrato são relevantes no estudo de síntese de análogos enzimáticos⁴⁷ e a partir da análise estrutural do mimético e da sua funcionalidade permite-se a avaliação dos mecanismos envolvidos nas reações catalisadas.

Um aspecto importante de ser levado em consideração ao se desenhar biomiméticos é a segunda esfera de coordenação, a qual é composta por resíduos de aminoácidos que desempenham funções importantes em tais reações. Estes resíduos podem atuar como fonte de prótons e também promover a interação entre o sítio ativo e o substrato, como pôde ser verificado pela existência de uma histidina ou cisteína auxiliar na urease. O auxílio da segunda esfera de coordenação para interações mais seletivas e efetivas entre o sítio ativo e o substrato ocorre por meio de interações intermoleculares, tais como: ligações de hidrogênio (entre espécies eletronegativas nestes aminoácidos e no substrato), interações hidrofóbicas (geralmente no interior da enzima) e forças de van der Waals. Além da atuação como fontes de prótons e promover interação mais efetiva entre a enzima e o substrato, a segunda esfera de coordenação também pode gerar a espécie ativa da reação e estabilizar o grupo abandonador da reação⁴⁸.

Tendo isto em vista, miméticos de urease foram muito estudados na década de 90 para avaliar o mecanismo da decomposição da ureia. No entanto,

em muitos casos não é observada a reprodução exata do sítio ativo da enzima nativa, mas estes miméticos ainda são capazes de decompor a ureia e formar amônia. Exemplos destes miméticos são complexos bimetalícos de níquel (II) que apresentam ligantes pirazolatos coordenados a estes centros metálicos. A ureia é capaz de se coordenar ao centro metálico destes complexos pelo oxigênio do grupo carbonila, conforme a estrutura cristalina obtida (FIGURA 4) e em meio etanólico promover a hidrólise deste substrato via etanólise⁴⁹.

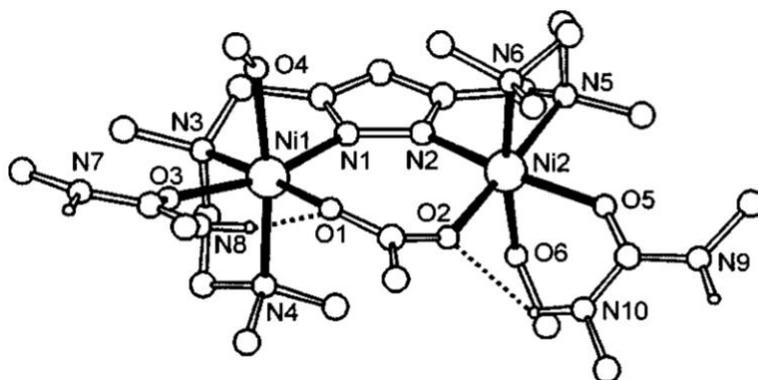


FIGURA 4: Estrutura cristalina do complexo derivado de ligante pirazolato com a ureia coordenada ao centro metálico⁴⁹.

Outros complexos binucleares de níquel (II), miméticos da urease, que apresentam ligantes pirazolatos coordenados, foram sintetizados e aplicados juntamente com excesso de solução de ureia em metanol ou água, sob aquecimento, para avaliar a decomposição deste substrato. Nos testes realizados, não foi detectada a formação de amônia, sendo assim, tais complexos não são miméticos reacionais da urease. No entanto, ao se utilizar carbamato de amônio juntamente com o complexo foi possível a obtenção da estrutura cristalina do carbamato coordenado ao complexo (FIGURA 5, esquerda), além disso, foi verificada a formação de amônia em quantidades estequiométricas a partir da decomposição do carbamato coordenado. Para o mesmo complexo também foi utilizado o cianato de potássio, e verificada a coordenação do isocianato em

ponte entre os dois átomos de níquel e de modo monodentado à apenas um dos níqueis pelo nitrogênio⁵⁰ (FIGURA 5, direita).

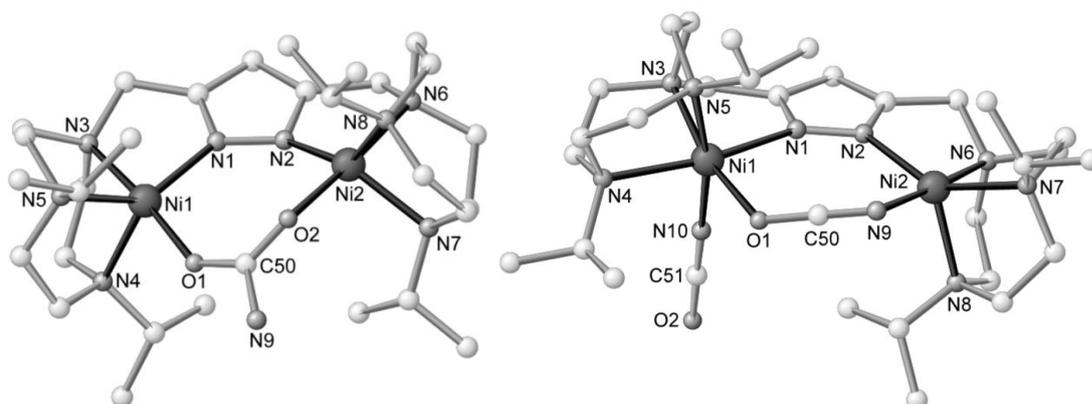


FIGURA 5: Estrutura cristalina do complexo binuclear de Ni(II) derivado de ligante pirazolato e carbamato coordenado (esquerda) e do complexo com isocianato coordenado (direita)⁵⁰.

A coordenação do carbamato em ponte entre os dois átomos de níquel pelos átomos de oxigênio se assemelha à estrutura do sítio ativo da urease que apresenta a coordenação em ponte do grupo carboxilato da lisina carbamilada. A coordenação do isocianato ao complexo, além do modo monodentado pelo nitrogênio à um dos níqueis coincidentemente também é coordenado de modo a conectar os dois átomos de níquel. Devido à verificação da coordenação de moléculas estreitas como o isocianato, sugere-se a possibilidade de ativação de nucleófilos de solvente como a água ou metanol de modo à atingir estreita proximidade com o substrato. Assim, este trabalho propõe a reatividade solvolítica dos complexos coordenados com cianato, uma vez que a formação intermediária e a subsequente hidrólise do cianato foram propostas como um modelo mecanístico alternativo da urease⁵⁰.

Complexos binucleares de níquel (II) $[\text{Ni}_2(\text{H}_2\text{O})_4(\text{bdptz})](\text{OTs})_4$, $[\text{Ni}_2(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})_3(\text{bdptz})](\text{OTs})_3$ e $[\text{Ni}_2(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})_2(\text{bdptz})]_2(\text{OTs})_4$, onde bdptz é o ligante: 1,4-bis(2,2'-dipiridilmetil)-ftalazina e OTs: *p*-toluenosulfonato,

também foram sintetizados como miméticos enzimáticos da urease. A FIGURA 6 representa a estrutura de um destes miméticos.

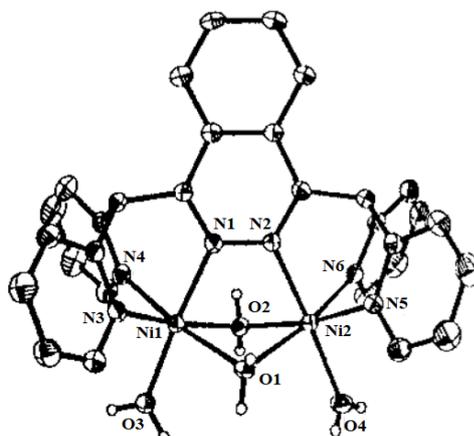


FIGURA 6: Estrutura cristalina do complexo $[Ni_2(H_2O)_4(bdptz)](OTs)_4$, mimético da urease⁵¹.

Estes complexos foram coordenados com moléculas de água e/ou íons hidróxidos e avaliada a atividade catalítica da hidrólise da picolinamida. Foi verificado que os complexos que contém íons hidróxidos coordenados apresentam a hidrólise deste substrato, e os complexos que apresentam moléculas de água coordenadas são inativos. Para a proposta mecanística, deste modo, sugere-se que a amida se coordena ao níquel pelo oxigênio do grupo carbonila e o ataque nucleofílico ao carbono eletrofílico da carbonila é promovido pela hidroxila coordenada ao centro metálico, liberando amônia nesta reação⁵¹.

Mais recentemente, outros grupos reportaram a síntese de um complexo mononuclear de cobalto capaz de realizar a reação de eliminação da ureia. Entretanto, ele não pode ser considerado nem um mimético estrutural e nem reacional, visto que não mimetiza o sítio ativo da enzima e não é capaz de realizar a hidrólise da ureia. Neste caso, foi detectado o isocianato coordenado

ao centro metálico do mimético, evidenciando a rota de eliminação⁵². Verifica-se desta forma, que até hoje em dia não foi possível mimetizar a urease.

Visando tentar obter um mimético funcional da urease, em nosso grupo foram sintetizados complexos binucleares de níquel (FIGURA 7), os quais se diferem pelo ligante auxiliar: cloreto ou acetato⁵³. Ambos os complexos foram capazes de decompor a ureia para formação de amônia. Entretanto, ao se avaliar qual intermediário de reação formado, detectou-se isocianato, deste modo, a reação ocorre via eliminação. Apesar destes complexos não serem miméticos da urease em questão de mecanismo, observou-se que a ordem de adição dos reagentes influenciava a reação, em que se a ureia coordenar aos centros metálicos antes da água, nenhuma reação é observada. Desta forma, sugere-se que a reação ocorra via esfera externa, sendo o aquo-complexo, a espécie ativa da reação⁵³. A influência da labilidade da água coordenada aos centros metálicos foi tida como um importante fator de reatividade via esfera externa, sugerindo-se que talvez a urease necessite ativar seu substrato também via esfera externa. Esta hipótese foi levantada devido à inatividade enzimática ao trocar-se o centro metálico por qualquer metal mais lábil que o níquel.

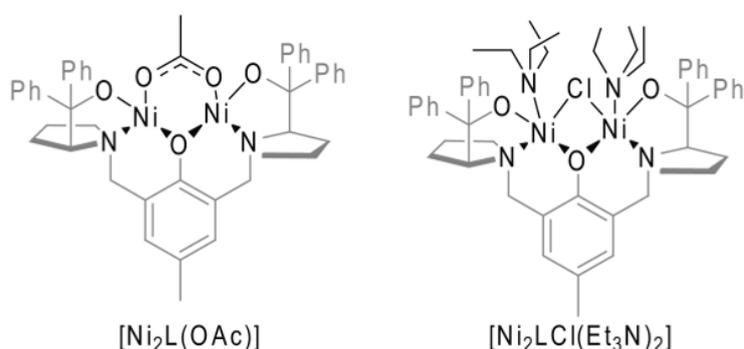


FIGURA 7: Estruturas dos complexos binucleares de níquel miméticos da urease⁵³.

O trabalho anterior do grupo não mimetizava nem a primeira, nem a segunda esfera de coordenação da urease. Desta forma, neste trabalho, foi proposta a síntese de miméticos da urease mais similares com relação à primeira esfera de coordenação, e também o aumento da segunda esfera de coordenação com grupos hidrofílicos e hidrofóbicos, em relação à estes miméticos já estudados pelo grupo, com a finalidade de avaliar a influência destes grupos em interações com o substrato e assim, a reatividade dos complexos na catálise. Além disso, propõe-se uma composição de ligantes lábeis tais como íons cloreto, hidróxidos e moléculas de água, de modo à favorecer a reatividade dos miméticos, tanto em etapas de substituição destes ligantes pelo substrato durante a reação, ou ainda, o favorecimento da formação de espécies ativas dos complexos.

2 Objetivos

2.1 Objetivo geral

Síntese de complexos binucleares de níquel a partir de derivados Bis-triazólicos inéditos, como mostrado na FIGURA 8. Avaliação da capacidade destes complexos em mimetizar a enzima urease de *Canavalia ensiformis*.

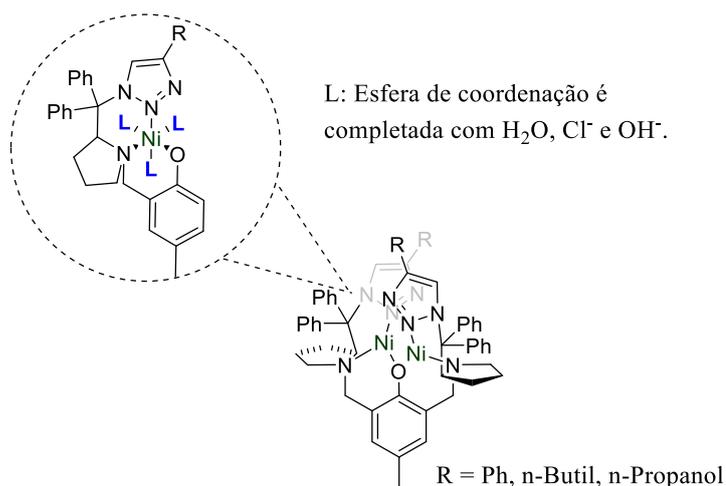


FIGURA 8: Esquema das estruturas dos miméticos. Os ligantes bistriazólicos variaram o grupo R em fenil, n-butil e n-propanol, enquanto que a esfera de coordenação dos centros de níquel foram completadas aleatoriamente com água, íon hidróxido ou cloreto, dependendo do complexo.

2.2 Objetivos específicos

- Síntese, purificação e caracterização dos ligantes Bis-(N,N triazol)-*P*-metil-Fenol;
- Síntese dos complexos dinucleares de níquel pela coordenação do níquel aos ligantes bis-triazólicos e caracterização;
- Análise da reação de decomposição da ureia pelos complexos formados; Avaliação da relação estrutura vs atividade e proposta mecanística da reação de decomposição da ureia pelos miméticos.

3 Procedimento experimental

3.1 Síntese dos ligantes bis triazólicos

Em algumas etapas das sínteses dos ligantes foi necessária a utilização de solventes anidros, deste modo, tais solventes foram previamente tratados como relatado a seguir:

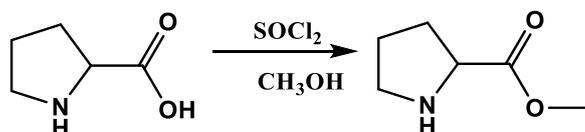
O metanol foi destilado juntamente com magnésio metálico ativado (5,00 gramas) e quantidade catalítica de iodo. Manteve-se esta mistura sob refluxo durante duas horas, sob atmosfera inerte. Após este período em refluxo, o solvente foi recolhido e mantido em peneira molecular 4Å e atmosfera inerte.

Para a destilação do THF foi utilizado sódio metálico e benzofenona mantidos sob atmosfera de argônio e sob refluxo até obtenção de coloração azul escuro, permanecendo por mais duas horas em refluxo. Após este período em refluxo, o solvente foi recolhido em Schlenk e mantido sob atmosfera inerte e peneira molecular 4Å.

O diclorometano também foi destilado para análises dos complexos. Para esta destilação foi utilizado CaH₂ juntamente com o diclorometano, e mantido em refluxo durante duas horas sob atmosfera inerte. Após este período, o solvente foi recolhido e mantido sob atmosfera inerte e peneira molecular 4Å. A acetonitrila também foi destilada desta mesma forma.

3.1.1 Síntese do éster metílico de *L*-prolina (1).

A metodologia desta síntese está descrita na literatura⁵⁴.

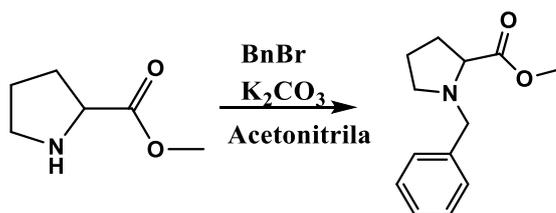


Sob atmosfera inerte, foram adicionados aproximadamente 50 mL de metanol anidro em um balão previamente flambado. À este solvente, adicionou-se, gota a gota, e sob banho de gelo, 1,799mL (24 mmol) de cloreto de tionila. Logo após, adicionou-se 2,862g (24 mmol) de *L*-prolina. A reação foi mantida sob agitação e temperatura ambiente durante 24 horas. O produto foi obtido após a remoção do solvente por evaporação à vácuo, obtendo-se em líquido viscoso incolor. Rendimento: 98%.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 2,00 (m, 2H), 2,10 (m, 1H), 3,35 (m, 2H), 3,76 (s, 3H), 4,41ppm (dd, 1H).

3.1.2 Síntese de proteção do éster metílico de *L*-prolina (2).

A metodologia desta síntese está descrita na literatura^{54,55}.

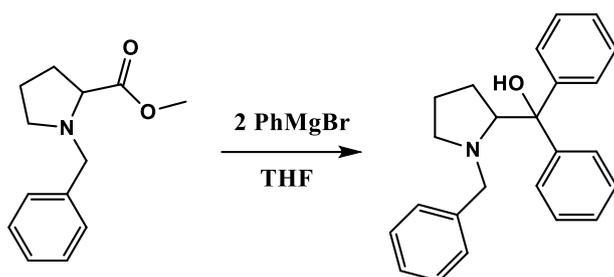


Em balão contendo 3,207g (24 mmol) de éster metílico de *L*-prolina foram adicionados 50 mL de acetonitrila e 6,944g (48 mmol) de carbonato de potássio para desprotonação e neutralização de excesso de ácido clorídrico obtido na reação de esterificação de *L*-prolina e posteriormente foram adicionados 2,945 mL (24 mmol) de brometo de benzila gota a gota. A reação foi mantida sob agitação e à temperatura ambiente durante 24 horas. Filtrou-se e produto foi obtido por meio de cromatografia em coluna de sílica aplicando-se mistura de solvente de 20% acetato de etila e 80% hexano, após ser recolhido todo o produto, o solvente foi removido completamente por evaporação à vácuo obtendo-se o produto líquido viscoso incolor. Rendimento: 70,5%.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 1,82 (m, 1H), 1,95 (m, 2H), 2,16 (m, 1H), 2,43 (m, 1H), 3,08 (m, 1H), 3,29 (m, 1H), 3,61 (d, 1H), 3,67 (s, 3H), 3,92 (d, 1H), 7,30 (m, 3H), 7,35 ppm (m, 2H).

3.1.3 Reação de Grignard para obtenção do 1-benzilpirrolidin-2-il difenilmetanol (3).

A metodologia desta síntese está descrita na literatura⁵⁶.



Em Schlenk de 100 mL flambado, foram adicionados 0,849g (34 mmol) de magnésio metálico, 30 mL de THF anidro, iodo (em quantidade catalítica) e 3,659 mL (34 mmol) de bromo benzeno (gota a gota) em banho de gelo à 0°C. Após o completo consumo do magnésio, foi adicionado 3,8284g (17 mmol) de benzilprolinato de metila, gota a gota. A reação foi mantida à temperatura ambiente, sob agitação e atmosfera de nitrogênio durante aproximadamente 18 horas. Após esse período, foram adicionadas alíquotas de solução saturada de cloreto de amônio e extração com diclorometano (3x 15 mL), secagem com MgSO_4 e filtração. O produto foi purificado por meio de cromatografia em coluna de sílica gel aplicando-se 10% acetato de etila e 90% hexano. O solvente foi removido completamente por evaporação à vácuo obtendo-se o produto como um sólido branco cristalino. Rendimento: 56,5%

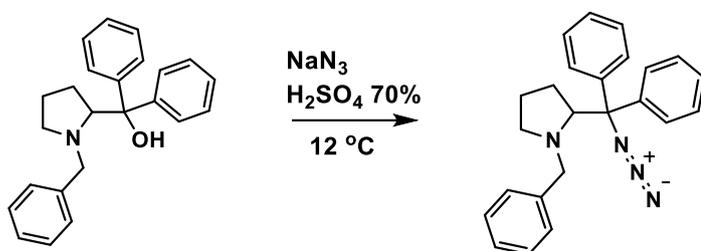
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 1,55 (m, 2H), 1,68 (m, 1H), 1,88 (m, 1H), 2,28 (m, 1H), 2,85 (m, 1H), 2,95 (d, 1H), 3,16 (d, 1H), 3,90 (dd, 1H), 4,86 (s, 1H), 7,08 (m, 8H), 7,20 (m, 3H), 7,50 (d, 2H), 7,65 ppm (d, 2H).

RMN ^{13}C : δ 24,14; 29,81; 55,55; 60,46; 70,68; 77,94; 125,54; 125,63; 126,19; 126,39; 126,83; 128,06; 128,15; 128,56; 139,68; 146,67; 148,07 ppm.

Infravermelho: 3052 cm^{-1} (v C-H aromático), 3437 cm^{-1} (v O-H), 1443 cm^{-1} (v C=C aromático), 2958 cm^{-1} (v C-H alifático), 1095 cm^{-1} (v C-N), 1175 cm^{-1} (v C-O).

3.1.4 Síntese do 2- (azidodifenilmetil) -1-benzilpirrolidina (4).

A síntese do 2- (azidodifenilmetil) -1-benzilpirrolidina apresenta-se descrita na literatura⁵⁷.



Em Schlenk sob banho de gelo à 0°C foram adicionados 4 mL de clorofórmio e 250 mg (0,72 mmol) do 1-benzilpirrolidin-2-il difenilmetanol. À esta solução foi adicionado 1 mL (gota a gota) de solução 70% ácido sulfúrico, posteriormente 236,25 mg (5 equivalentes) de azida de sódio foram adicionados e a reação foi mantida sob agitação e temperatura entre $12\text{-}15^\circ\text{C}$ durante aproximadamente 48 horas. Após esse período, a reação foi neutralizada com solução de NaHCO_3 , extração com diclorometano (15 x3), secagem com MgSO_4 e filtração. O solvente foi completamente removido por evaporação à vácuo. O produto obtido consiste em um líquido viscoso e incolor. Rendimento: 93,3%

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 7,46 (d, $J = 7,4$ Hz, 2H); 7,38 (d, $J = 7,4$ Hz, 2H); 7,26 (m, 6H); 7,16 (m, 5H); 3,95 (dd, $J = 9,5; 3,3$ Hz, 1H); 3,73 (d, $J = 12,9$ Hz, 1H); 3,26 (d, $J = 13,0$ Hz, 1H); 2,70 (m, 1H); 2,19 (m, 1H); 1,98 (m, 1H); 1,75 (m, 1H); 1,45 (m, 1H); 1,19 ppm (m, 1H).

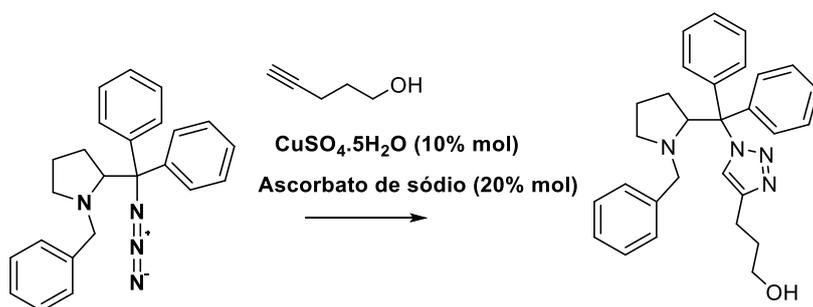
MS de alta resolução (ESI+) (m/z): [M+H] calculado para C₂₄H₂₄N₄: 369.2074; encontrado: 369.2082.

IV (cm⁻¹): 3062 (ν C-H aromático), 2965 (ν C-H alifático), 2099 (νN=N=N), 1501 (ν C=C aromático), 1124 cm⁻¹ (νC-N).

RMN ¹³C: δ 20,65; 25,02; 28,67; 54,56; 55,52; 56,31; 72,34; 124,61; 124,99; 125,22; 125,57; 126,28; 126,48; 128,97; 129,47; 130,53; 134,30; 141,06; 145,12; 146,48ppm.

3.1.5 Síntese do 3-(1-((benzilpirrolidin2-il)difenilmetil)-1H-1,2,3-triazol-4-propanol (5).

As sínteses dos triazóis realizadas neste trabalho foram feitas de acordo com a metodologia descrita na literatura⁵⁸.



Em balão de 50 mL, sob atmosfera de nitrogênio foram adicionados 1,000g (2,708 mmol) de 2- (azidodifenilmetil) -1-benzilpirrolidina, 5 mL de acetonitrila, 0,252 mL (2,708 mmol) de pentin-1-ol, 0,067g (0,270 mmol) de CuSO₄·5H₂O (10% em mol), seguida de adição de 0,107g (0,541 mmol) de ascorbato de sódio (20% em mol) previamente solubilizado em 5 mL de água destilada. A reação foi mantida à 35°C, sob agitação durante 22 horas. O produto foi obtido por extração com salmoura e acetato de etila (15 x3) e purificação em coluna de sílica gel 60 mesh, aplicação da mistura de solventes 20% acetato de

etila e 80% hexano. A seguir, o solvente foi completamente removido por evaporação à vácuo, sendo obtido um sólido amarelo claro. Rendimento: 61,3%

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 1,25 (m, 1H), 1,75 (m, 1H), 1,81 (m, 2H), 2,20 (m, 1H), 2,30 (m, 2H), 2,46 (m, 1H), 2,71 (t, 2H), 3,27 (d, 1H), 3,58 (t, 2H), 3,86 (d, 1H), 4,84 (dd, 1H), 6,80 (dd, 2H), 7,19 (s, 1H), 7,12 (m, 3H), 7,23 (m, 7H), 7,44 ppm (dd, 2H).

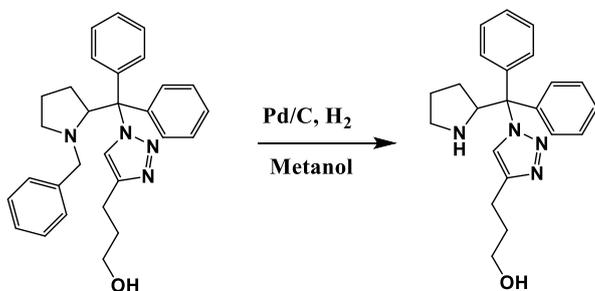
RMN ^{13}C : δ 22,14; 23,53; 31,34; 31,83; 55,18; 61,83; 62,41; 70,45; 77,55; 123,52; 126,52; 127,67; 127,76; 128,02; 128,05; 128,60; 128,83; 130,21; 140,42; 140,56; 145,93ppm.

MS de alta resolução (ESI+) (m/z): [M+H] calculado para $\text{C}_{29}\text{H}_{33}\text{N}_4\text{O}$: 453.2654; encontrado: 453.2642.

Infravermelho: 3284 cm^{-1} (ν O-H), 3060 cm^{-1} (ν C-H aromático), 2914 cm^{-1} (ν C-H alifático), cm^{-1} (ν), 1492 cm^{-1} (ν C=C aromático), 1456 cm^{-1} (ν C-N aromático) 1116 cm^{-1} (ν C-N).

3.1.6 Síntese do 3-(1-(difenil (pirrolidin-2-il) metil)-1H-1,2,3-triazol-4-il) propanol (6).

As reações de desproteção dos triazóis foram feitas de acordo com a metodologia descrita na literatura⁵⁹.



Em balão de 50 mL foram adicionados 30 mL de metanol anidro, 0,5326g do 3-(1-((benzilpirrolidin 2-il) difenilmetil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-propanol e 0,150g de Pd/C. A seguir foi borbulhado H₂ na reação e mantida sob atmosfera de H₂ durante 20 horas à temperatura ambiente. O produto foi obtido por filtração em celite e o solvente foi completamente removido por evaporação à vácuo, sendo obtido um sólido amarelo claro. Rendimento: 90,3%.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7,23 (m, 8H); 7,03 (dd, *J* = 6,6; 3,0 Hz, 2H); 6,99 (s, 1H), 4,89 (dd, *J* = 8,2; 6,7 Hz; 1H); 3,58 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H); 2,78 (m, 2H); 2,67 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H); 2,12 (m, 1H); 1,78 (m, 2H); 1,58 (m, 2H); 1,22 ppm (m, 1H).

RMN ¹³C: δ 145,03; 140,40; 139,67; 128,28; 127,31; 127,16; 127,04; 126,96; 122,59; 75,49; 63,83; 60,57; 45,27; 30,97; 24,54; 27,93; 20,99 ppm.

MS de alta resolução (ESI+) (*m/z*): [M+H] calculado for C₂₂H₂₇N₄O: 363.2185; encontrado: 363.2192.

Infravermelho: 3302 cm⁻¹ (ν O-H), 3054 cm⁻¹ (ν C-H aromático), 2944 cm⁻¹ (ν C-H alifático), 1494 cm⁻¹ (ν C=C aromático), 1446 cm⁻¹ (ν C-N aromático), 1116 cm⁻¹ (ν C-N).

3.1.7 Síntese do 1-((1-benzilpirrolidina-2-il) difenilmetil)-4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol (7).



Em balão de 50 mL sob N₂, foram adicionados 4 mL de acetonitrila, 0,711g de 2- (azidodifenilmetil) -1-benzilpirrolidina, 0,210 mL de fenil acetileno e 0,048g de CuSO₄.5H₂O e 0,076g de ascorbato de sódio solubilizado em 4mL de água destilada. A reação foi mantida à 40°C, durante 22 horas. O produto foi obtido por extração com salmoura e acetato de etila (15 x3) e purificação em coluna de sílica gel 60 mesh, usando-se a mistura de solventes 10% acetato de etila e 90% hexano como eluente. A seguir o solvente foi completamente removido por evaporação à vácuo, sendo obtido um sólido amarelo claro. Rendimento: 57,9%.

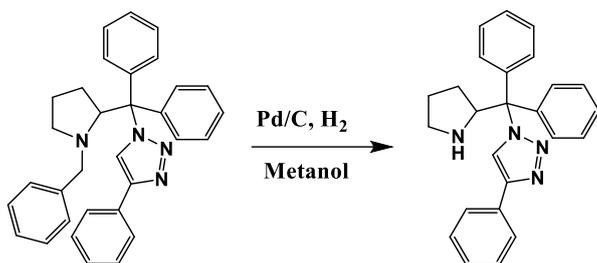
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7,70 ppm (m, 3H); 7,49 (m, 2H); 7,31 (m, 4H); 7,24 (m, 7H); 7,11 (m, 3H); 6,83 (m, 2H); 4,91 (dd, *J* = 9,2; 2,7 Hz, 1H); 3,91 (d, *J* = 12,5 Hz, 1H), 3,31 (d, *J* = 12,7 Hz, 1H); 2,46 (m, 1H); 2,32 (m, 1H); 2,18 (m, 1H); 1,81 (m, 1H); 1,27 (m, 1H); 0,23 ppm (m, 1H).

RMN ¹³C: δ 140,49; 130,79; 130,08; 128,95; 128,76; 128,65; 128,12; 128,04; 127,98; 127,82; 127,80; 127,72; 126,53; 125,63; 122,25; 77,78; 70,46; 62,41; 55,09; 31,48; 23,58 ppm.

MS de alta resolução (ESI+) (*m/z*): [M+H] calculado para C₃₂H₃₁N₄: 471,2548; encontrado: 471,2521.

Infravermelho: 3060 cm⁻¹ (ν C-H aromático), 2914 cm⁻¹ (ν C-H alifático), cm⁻¹ (ν), 1494 cm⁻¹ (ν C=C aromático), 1456 cm⁻¹ (ν C-N aromático) 1115 cm⁻¹ (ν C-N).

3.1.8 Síntese do 1- (difenil (pirrolidin-2-il) metil)-4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol (8).



Em balão de 50 mL foram adicionados 10 mL de metanol destilado conforme descrito anteriormente e mantido sob peneira molecular 4Å, 0,377g do 3-(1-((benzylpirrolidina 2-il) difenilmetil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-propanol e 0,113g de Pd/C. A seguir foi borbulhado H₂ na reação, a qual foi mantida sob atmosfera de H₂ durante 20 horas à temperatura ambiente, O produto foi obtido por filtração em celite e o solvente foi completamente removido por evaporação à vácuo, sendo obtido um sólido amarelo claro. Rendimento: 72,18%

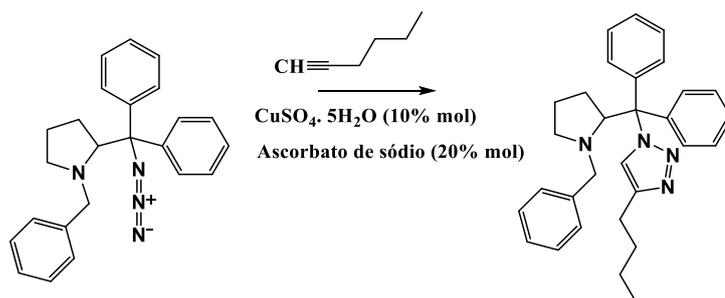
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7,79 (m, 2H); 7,56 (s, 1H); 7,37 (m, 10H); 7,30 (m, 1H); 7,20 (m, 2H); 5,04 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H); 2,93 (m, 2H); 2,27 (m, 1H); 1,72 (m, 2H); 1,36 ppm (m, 1H).

RMN ¹³C: δ 146,27; 141,05; 140,51; 130,49; 129,34; 128,80; 128,54; 128,39; 128,32; 128,16; 128,12; 125,66; 122,31; 77,22; 65,20; 46,51; 29,02; 25,71 ppm.

MS de alta resolução (ESI+) (*m/z*): [M+H] calculado para C₂₅H₂₅N₄: 381,2079; encontrado: 381,2066.

IV (cm⁻¹): 3308 (ν N-H), 3065 (C-H aromático), 2865 (ν C-H alifático), 1497 (ν C=C aromático), 1447 (ν C-N aromático).

3.1.9 Síntese do 1-((1-benzilpirrolidin-2-il) difenilmetil)-4-butil-1H-1,2,3-triazol (9).



E m balão de 50 mL sob N₂, foram adicionados 4 mL de acetonitrila, 1,015g (2,75 mmol) de 2- (azidodifenilmetil) -1-benzilpirrolidina, 0,298 mL (2,75 mmol) de 1- hexino, 0,068g (0,275 mmol) de CuSO₄.5H₂O e 0,108g (0,55 mmol) de ascorbato de sódio solubilizado em 4mL de água destilada. A reação foi mantida à 40°C, durante 22 horas. O produto foi obtido por extração com salmoura e diclorometano (15 x3), secagem do excesso de água com sulfato de magnésio anidro. Após a filtração a purificação feita em coluna de sílica gel 60 mesh, utilizando como eluente 90% hexano e 10% acetato de etila. A seguir o solvente foi completamente removido por evaporação à vácuo, sendo obtido um sólido branco. Rendimento: 49,6%.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7,51 (m, 2H); 7,30 (m, 8H); 7,25 (s, 1H); 7,19 (m, 3H); 6,88 (m, 2H); 4,92 (dd, *J* = 9,4; 2,7 Hz, 1H); 3,94 (d, *J* = 12,6 Hz, 1H); 3,34 (d, *J* = 12,7 Hz, 1H); 2,67 (t, 2H); 2,37 (m, 1H); 2,27 (m, 1H); 1,83 (m, 1H); 1,59 (m, 2H); 1,30 (m, 3H); 0,89 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H); 0,25 ppm (m, 1H);

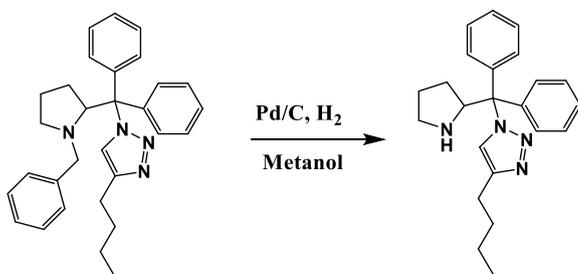
RMN ¹³C: δ 147,00; 140,63; 130,20; 128,91; 128,67; 127,97; 127,63; 127,54; 126,47; 123,16; 77,03; 70,49; 62,45; 55,26; 31,59; 25,41; 23,64; 22,27; 13,82 ppm.

MS de alta resolução (ESI+) (m/z): [M+H] calculado para C₃₀H₃₄N₄: 451,2861; encontrado: 451,2838.

IV (cm⁻¹): 3415 (v O-H), 3060(v C-H aromático), 2951(v C-H alifático), 1492 (v C=C aromático), 1442(v C-N aromático), 1115(v C-N alifático).

3.1.10 Síntese do 4-butil 1- (difetil (pirrolidin-2-il) metil) - 1,2,3-triazol (10).

Em balão de 50 mL foram adicionados 10 mL de metanol anidro, 0,610g do 1-((1-benzilpirrolidin-2-il) difenilmetil)-4-butil-1*H*-1,2,3-triazol e pd/C (0,183g 10% em massa). A seguir foi borbulhado H₂ na reação e mantida sob atmosfera de H₂ durante 20 horas à temperatura ambiente, O produto puro foi obtido por filtração em celite, lavado com metanol (20 mL) e o solvente foi completamente removido por evaporação à vácuo, sendo obtido um sólido branco. Rendimento: 99,7%.

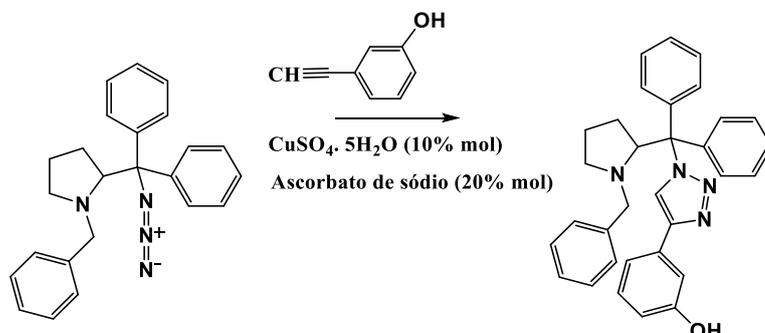


RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7,29 (m, 6H); 7,20 (m, 2H); 7,05 (m, 2H); 7,00 (s, 1H); 4,85 (dd, *J* = 8,3; 6,6 Hz, 1H); 2,74 (dd, *J* = 7,3; 5,4 Hz, 2H); 2,59 (t, 2H); 2,09 (m, 1H); 1,54 (m, 4H); 1,25 (m, 2H); 1,17 (m, 1H); 0,82 ppm (t, 3H).

¹³C RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 146,81; 141,72; 141,17; 129,32; 128,15; 128,03; 127,97; 127,70; 123,07; 76,41; 64,87; 46,39; 31,43; 29,00; 25,63; 25,31; 22,26; 13,76 ppm.

MS de alta resolução (ESI+) (m/z): $[M+H]$ calculado para $C_{23}H_{29}N_4$: 361,2392; encontrado: 361,2376.

3.1.11 Síntese do 3-(1-((1-benzil pirrolidin-2-il)difenilmetil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)fenol (11).



Em balão de 50 mL, sob atmosfera de nitrogênio foram adicionados 1,107 g (2,99 mmol) de 2-(azidodifenilmetil)-1-benzilpirrolidina, 5 mL de acetonitrila, 0,326 mL (2,99 mmol) de 3- etinil fenol, 0,074g (0,299 mmol) de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, posteriormente, 0,118g (0,598 mmol) de ascorbato de sódio previamente solubilizado em 5 mL de água destilada. A reação foi mantida à $35^\circ C$, sob agitação durante 23 horas. O produto foi obtido por extração com salmoura e acetato de etila (15 x3) e purificação em coluna de sílica gel 60 mesh, aplicação de eluente 10% acetato de etila e 90% hexano. A seguir o solvente foi completamente removido por evaporação à vácuo, sendo obtido um sólido branco. Rendimento: 74,6%.

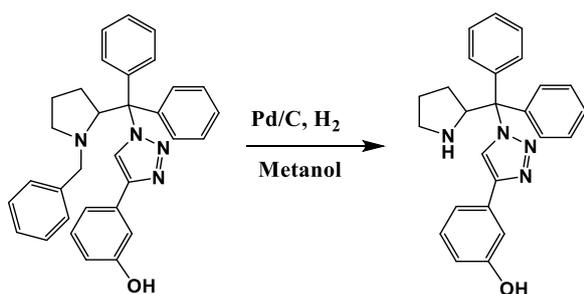
RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,67 (s, 1H); 7,48 (m, 2H); 7,38 (dd, 1H); 7,30 (m, 3H); 7,23 (m, 6H); 7,15 (s, 1H); 7,10 (m, 5H); 6,82 (dd, 2H); 6,77 (m, 1H); 4,89 (dd, $J = 8,9; 2,0$ Hz, 1H); 3,88 (d, $J = 12,6$ Hz, 1H); 3,30 (d, $J = 12,7$ Hz, 1H); 2,44 (m, 1H); 2,31 (m, 1H); 2,20 (m, 1H); 1,78 (m, 1H); 1,23 (m, 1H); 0,19 ppm (m, 1H).

RMN ^{13}C : δ 156,78; 146,20; 140,45; 131,75; 130,09; 130,00; 129,61; 128,95; 128,64; 128,19; 128,07; 127,87; 127,83; 127,76; 126,56; 122,57; 117,61; 115,49; 112,78; 78,05; 70,45; 62,40; 55,22; 31,46; 23,63 ppm.

MS de alta resolução (ESI+) (m/z): $[\text{M}+\text{H}]$ calculado para $\text{C}_{32}\text{H}_{31}\text{N}_4\text{O}$: 487.2498; encontrado: 487.2470.

IV (cm^{-1}): 3430 (v O-H), 3146 (C-H aromático), 2965 (v C-H alifático), 1587 (v C=C aromático), 1449 (v C-N aromático), 1253 (v C-O).

3.1.12 Síntese do 3-(1-(difenil(pirrolidin-2il)metil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)fenol (12).



Em balão de 50 mL foram adicionados 10 mL de metanol anidro, 0,553g (1,13 mmol) do 3-(1-((1-benzilpirrolidin-2-il)difenilmetil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)fenol e 0,165 g de Pd/C (10% em massa). A seguir foi borbulhado H₂ na reação e mantida sob atmosfera de H₂ durante 24 horas à temperatura ambiente, a remoção do catalisador foi feita através de filtração em celite e lavagem com metanol, a purificação foi feita através de coluna cromatográfica de sílica gel 60 mesh aplicando-se como eluente 80% acetato de etila e 20% hexano, o solvente foi completamente removido por evaporação à vácuo, sendo obtido um sólido branco. Rendimento: 41%.

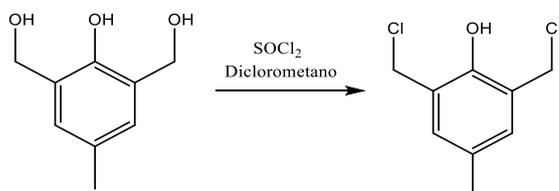
RMN ^1H (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ 8,33 (s, 1H), 7,36(m, 7H); 7,30 (m, 4H); 7,24 (m, 1H); 7,18 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H); 6,71 (ddd, $J = 7,9; 2,4, 1,1$ Hz, 1H); 5,13 (dd, $J = 8,1; 5,3$ Hz, 1H); 2,74 (m, 1H); 2,33 (m, 1H); 2,13 (m, 1H); 1,51 (m, 1H); 1,42 (m, 1H); 0,79 ppm (m, 1H).

RMN ^{13}C (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ 158,15; 145,71; 142,13; 141,60; 132,34; 130,28; 129,90; 128,84; 128,33; 127,96; 122,99; 116,61; 115,30; 112,38; 77,23; 62,45; 46,84; 29,12; 25,94 ppm.

MS de alta resolução (ESI+) (m/z): $[\text{M}+\text{H}]$ calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{25}\text{N}_4\text{O}$: 397.2028; encontrado: 397.2005.

IV (cm^{-1}): 3408 (v O-H), 2958 (v N-H), 3146 (v C-H aromático), 2850 (v C-H alifático), 1594 (v C=C aromático), 1449 (v C-N aromático), 1217(v C-O fenol).

3.1.13 Síntese do 2,6 Bis (clorometil)-4-metilfenol (13).

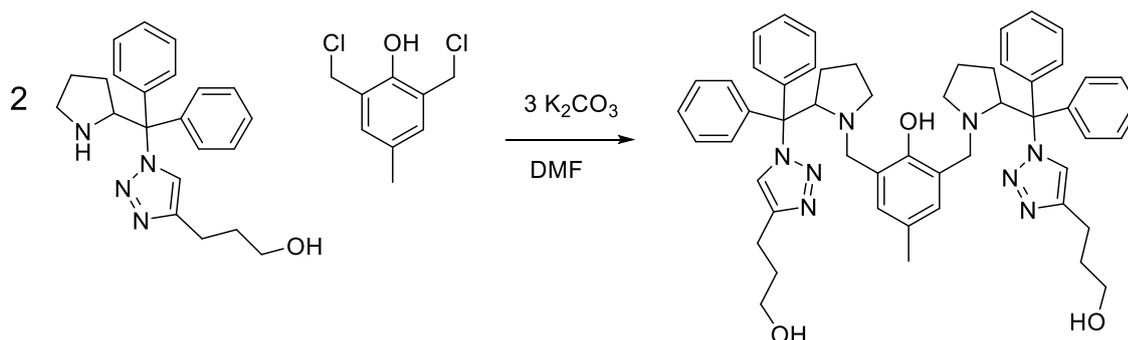


A síntese do 2,6-bis (clorometil)-4-metilfenol é descrita pela literatura⁶⁰. Em balão de 100 mL, previamente flambado, mantido sob atmosfera de argônio e em banho de gelo à 0°C foram adicionados 30 mL de diclorometano anidro, 1,51 mL (20,82 mmol) de cloreto de tionila previamente destilado e posteriormente 1,00g (5,95 mmol) de álcool oxiuvitínico. A reação foi mantida sob agitação, à temperatura ambiente por 18 horas. Em seguida, foi adicionado gelo à reação, a qual foi neutralizada para $\text{pH}=7,00$ com solução saturada de bicarbonato de sódio. Após extração com diclorometano (15 x3), secagem com

sulfato de magnésio e filtração, a solução foi concentrada sob vácuo e foi adicionado hexano até turvação. A solução foi mantida em freezer a -20°C para cristalização, sendo obtidos cristais incolores após filtração, lavagem com hexano e secagem. Rendimento: 37,62%.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7,11ppm (s, 2H); 4,68 (s, 4H); 2,30 (s, 3H).

3.1.14 Síntese do 3,3'-((((2-hydroxy-5-metil-1,3-fenileno)bis(metileno))bis(pirrolidin-1,2diil))bis(difenilmetileno))bis(1H-1,2,3-triazol-1,4-diil))bis(propan-1-ol) (14).



Para a síntese dos ligantes bis triazóis foram feitas reações de substituição nucleofílica bimolecular de acordo com a literatura⁶¹. Em balão de 50,0 mL foram adicionados 3-(1-(difenil (pirrolidin-2-il) metil)-1H-1,2,3-triazol-4-il) propanol (0,384g 1,06mmol), 4 mL de dimetilformamida, 2,6-bis(clorometil)-4-metilfenol (0,109g, 0,53mmol) e carbonato de potássio (0,445g, 3,18mmol). A reação foi mantida sob atmosfera inerte, à temperatura ambiente e sob agitação por 20 horas. Após a reação se finalizar, foram adicionados 10 mL de salmoura à reação e feita a extração com diclorometano (3x 15 mL), a fase orgânica foi seca com MgSO₄ anidro, seguida de filtração simples. O solvente foi completamente removido sob vácuo e a purificação foi feita através de coluna

cromatográfica composta por sílica gel (60 mesh) aplicando-se a mistura de solvente 40% hexano/ 60% acetato de etila como eluente. Foi obtido um sólido branco, 49% de rendimento.

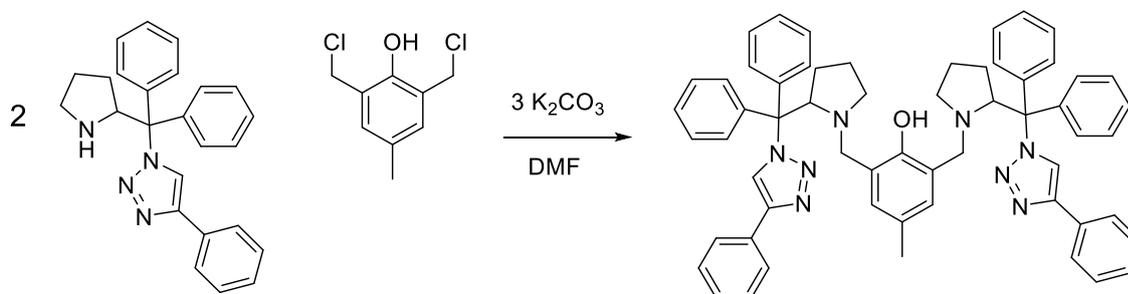
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 7,38 (m, 3H); 7,27 (m, 17H); 7,02(s, 1H), 6,97 (m, 1H); 6,49 (s, 2H); 5,04 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H), 4,95 (m, 1H), 3,86 (d, $J = 12,6$ Hz, 1H), 3,60 (m, 2H), 3,49 (m, 5H), 2,70 (m, 2H); 2,61 (m, 2H); 2,23 (m, 5H); 2,09 (s, 3H), 1,75 (m, 9H), 1,37 (m, 1H); 0,41 ppm (m, 1H).

RMN ^{13}C RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 162,46; 152,46; 146,16; 141,48; 139,52; 130,23; 129,05; 128,69; 128,48; 128,34; 128,08; 127,99; 127,78; 127,66; 126,63; 124,10; 123,87; 123,15; 77,50; 76,00; 70,92; 65,37; 61,80; 61,26; 58,05; 53,85; 46,41; 36,40; 32,05; 31,35, 30,43; 28,72; 25,49; 23,39; 22,00; 21,87; 20,57 ppm.

MS de alta resolução (ESI+) (m/z): $[\text{M}+\text{H}]$ calculado para $\text{C}_{53}\text{H}_{61}\text{N}_8\text{O}_3$: 857.4866; encontrado: 857.4822.

IV (cm^{-1}): 3437 (v O-H), 3299 (v O-H), 3060 (vC-H aromático), 2937 (vC-H alifatico), 1478 (v C=C aromático), 1670 (v C-N aromático), 1224(v C-O).

3.1.15 Síntese do 2,6-bis((2-(difenil(4-phenil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)metil)pirrolidin-1-il)metil)-4-metilfenol (15).



Em balão de 50,0 mL foram adicionados 1- (difenil (pirrolidin-2-il) metil)-4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol (0,550g, 1,341mmol), 4 mL de

dimetilformamida, 2,6-bis(clorometil)-4-metilfenol (0,138g, 0,670mmol) e carbonato de potássio (0,563g 4,023mmol). A reação foi mantida sob atmosfera inerte, à temperatura ambiente e sob agitação por 24 horas. Após a reação se finalizar, foram adicionados 15mL de salmoura à reação e feita a extração com diclorometano (3x 15 mL). A fase orgânica foi seca com MgSO₄ anidro e filtrada. O solvente foi completamente removido sob vácuo e a purificação feita através de coluna cromatográfica composta por alumina neutra, aplicando-se como eluente a mistura de solvente 80% hexano/ 20% acetato de etila. Foi obtido um sólido branco, 39% de rendimento.

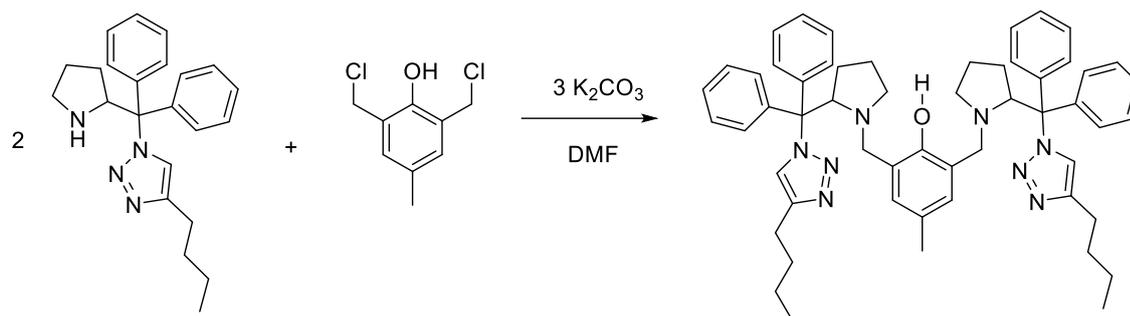
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7,70 (m, 6H); 7,40 (dd, *J* = 7,8; 1,7 Hz, 4H); 7,29 (m, 14H); 7,19 (m, 9H); 6,41 (s, 2H); 4,96 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H); 3,82 (d, *J* = 13,2 Hz, 2H); 3,53 (d, *J* = 13,1 Hz, 2H); 2,28 (m, 4H); 2,15 (m, 2H); 2,02 (s, 3H); 1,84 (m, 2H); 1,34 (m, 2H); 0,42 ppm (m, 2H).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): δ 152,80; 146,37; 140,62; 130,80; 129,60; 129,10; 128,72; 128,07; 127,95; 127,78; 126,91; 125,68; 124,19; 122,38; 77,96; 77,24; 70,97; 57,72; 53,50; 30,78; 23,38; 20,48 ppm.

MS de alta resolução (ESI+) (*m/z*): [M+H] calculado para C₅₉H₅₇N₈O: 893,4655; encontrado: 893,4627.

IV (cm⁻¹): 3286 (ν O-H), 3058 (ν C-H aromático), 2964 (ν C-H alifático), 1490 (ν C=C aromático), 1675, 1609 (ν C-N aromático), 1226 (ν C-O).

3.1.16 Síntese do 2,6-bis((2-((4-butil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)difenilmetil)pirrolidin-1-il)metil)-4-metilfenol (16).



Em Schlenk de 50,0 mL foram adicionados 4-butil-1-(difênil (pirrolidin-2-il) metil)-1,2,3-triazol (0,352g 0,979mmol), 4 mL de dimetilformamida, (0,102g 0,498 mmol) 2,6-bis(clorometil)-4-metilfenol e carbonato de potássio (0,411g 2,93mmol). A reação foi mantida sob atmosfera inerte, à temperatura ambiente e sob agitação por 24 horas. Após a reação se finalizar, foram adicionados 10 mL de salmoura à reação e feita a extração com diclorometano (3x 15 mL). A fase orgânica foi seca com MgSO₄ anidro e filtrada. O solvente foi completamente removido sob vácuo e a purificação feita através de coluna cromatográfica composta por alumina neutra aplicando-se a mistura de solventes: hexano 80% / acetato de etila 20% como eluente. Foi obtido sólido branco, 42% de rendimento.

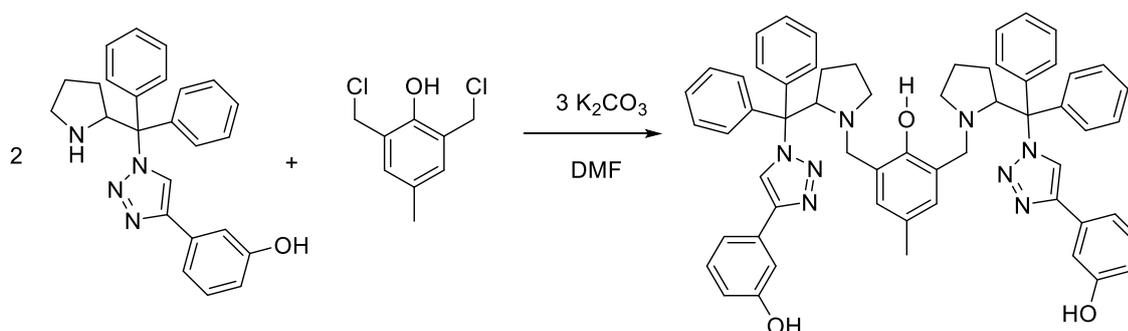
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 9,11 (s, 1H), 7,43 (m, 5H), 7,29 (m, 15H), 7,18 (s, 2H), 6,44 (s, 2H), 4,95 (dd, *J* = 8,6; 3,2 Hz; 2H); 3,83 (d, *J* = 13 Hz, 2H); 3,58 (d, *J* = 13,0 Hz, 2H); 2,66 (dd, *J* = 8,4; 7,0 Hz, 4H); 2,35 (m, 4H); 2,22 (m, 2H); 2,12 (s, 3H); 1,86 (m, 2H); 1,59 (m, 4H); 1,41 (m, 2H); 1,30 (m, 4H); 0,87 (m, 6H); 2,11 (m, 2H).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): δ: 152,70; 147,06; 140,77; 129,83; 129,65; 128,93; 128,82; 127,96; 127,87; 127,62; 126,77; 124,20; 123,22; 77,34; 77,13; 57,71; 53,60; 31,46; 30,85; 25,39; 23,39; 22,25; 20,50; 13,81 ppm.

MS de alta resolução (ESI+) (*m/z*): [M+H] calculado para C₅₅H₆₄N₈O: 853,5281; encontrado: 853,5267.

IV (cm^{-1}): 3273 (ν O-H), 3058 (ν C-H aromático), 2865 (ν C-H alifático), 1613, 1553, 1600 (ν C-N aromático), 1497 (ν C=C aromático), 1223 (ν C-O).

3.1.17 Síntese do 3,3'-((((2-hidroxi-5-metil-1,3 fenileno)bis(metileno)) bis(pirrolidin-1,2-diil))bis(difenilmetileno)) bis(1*H*-1,2,3-triazol-1,4-diil)difenol (17).



Em Schlenk de 50 mL foram adicionados 3-(1-(difenil(pirrolidin-2-yl)metil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)fenol (0,150g 0,378mmol), 4 mL de dimetilformamida, 2,6-bis(clorometil)-4-metilfenol (0,038g 0,189 mmol) e carbonato de potássio (0,158g 1,134mmol). A reação foi mantida sob atmosfera inerte, à temperatura ambiente e sob agitação por 24 horas. Após a reação se finalizar, foram adicionados 15mL de salmoura à reação e feita a extração com diclorometano (3x 15 mL). A fase orgânica foi seca com MgSO_4 anidro e filtrada. O solvente foi completamente removido sob vácuo e a purificação feita através de coluna cromatográfica composta por alumina aplicando-se como eluente a mistura dos solventes diclorometano 90%/metanol 10%. Foi obtido um sólido branco, 39% de rendimento.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 7,73 (s, 2H), 7,34 (m, 10H), 7,20 (m, 11H), 7,06 (m, 1H), 6,98 (m, 4H), 6,68 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H), 6,46 (s, 2H), 5,02 (s, 2H), 3,94 (s, 2H), 3,49 (d, $J = 13,4$ Hz, 2H), 2,24 (m, 4H), 2,08 (m, 2H), 2,02 (s, 3H), 1,77 (m, 2H), 1,33 (m, 2H), 0,40 (m, 2H).

RMN ^{13}C (400 MHz, CDCl_3): δ 157,04; 152,44; 146,42; 131,42; 130,19; 129,79; 128,70; 128,54; 128,19; 127,82; 126,86; 124,20; 122,44; 117,46; 113,30; 78,16; 70,54; 57,96; 53,63; 53,44; 30,34; 23,33; 20,57 ppm.

MS de alta resolução (ESI+) (m/z): [M+H] calculado para $\text{C}_{59}\text{H}_{57}\text{N}_8\text{O}_3$: 925,4554; encontrado: 925,4429.

IR (cm^{-1}): 3523 (v O-H), 3058 (v C-H aromático), 2957 (v C-H alifático), 1590 (v C-H alifático) 1490 (v C=C aromático), 1588, 1598 (v C-N aromático), 1221 (v C-O).

3.2 Sínteses dos complexos binucleares de Níquel

Em Schlenk de 50 mL foram adicionados 79 mg de $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (3:1) e mantido sob vácuo, com brando aquecimento até observação da mudança da coloração do sal de níquel de verde para amarelo (remoção das moléculas de água de hidratação). Em outro Schlenk de 50 mL foram adicionados 100 mg do devido ligante bis triazol, 4 mL de metanol anidro e 6 mg de metóxido de sódio, mantendo-se o sistema sob agitação e atmosfera inerte (Argônio) à 50°C, durante duas horas.

Após este período, arrefeceu-se a reação, e o ligante desprotonado foi adicionado ao Schlenk contendo NiCl_2 mantido sob atmosfera inerte, então, a reação foi mantida sob agitação e atmosfera inerte à 50°C, durante 48 horas. Após esse período, evaporou-se o solvente da reação até secura, adicionou-se 5 mL de diclorometano e a mistura foi centrifugada para remoção do cloreto de níquel em excesso. O sobrenadante isolado foi submetido à secagem sob vácuo e lavado novamente com acetato de etila para remoção de eventuais moléculas de ligante livre e novamente foi feita a secagem dos complexos.

3.2.1 Procedimento experimental das análises eletroquímicas dos ligantes e dos complexos sintetizados

A velocidade de varredura aplicada foi de 100 mVs^{-1} . Os ensaios foram realizados com eletrodo de trabalho de carbono vítreo, eletrodo de referência de $\text{Ag}|\text{AgCl}$ 0,01 M em diclorometano (destilado na presença de CaH_2 e mantido sob peneira molecular 4Å e atmosfera inerte) e eletrodo auxiliar de platina. A concentração dos complexos e dos ligantes foi de 1 mmolL^{-1} . O eletrólito suporte foi TBAPF_6 (hexafluorofosfato de tetrabutílamônio) 0,1 M. A faixa de varredura de trabalho foi entre 0,0 V e +1,8V.

3.2.2 Procedimento experimental das análises espectroeletrônicas dos complexos sintetizados

Os espectros eletrônicos dos complexos foram registrados a cada minuto, durante a aplicação de potencial no sistema. Os potenciais aplicados correspondem aos observados ao final de cada processo de oxidação dos voltamogramas cíclicos. As medidas foram feitas em diclorometano (anidro), Perclorato de tetrabutylamônio (PTBA) foi usado como eletrólito, eletrodo de trabalho em tela de platina, eletrodo de referência Ag|AgCl e contra eletrodo de platina.

3.3 Procedimento das reações de catálise

Após a síntese e caracterização dos complexos, foram feitas as reações catalíticas. Primeiramente foram preparadas as soluções de ureia em água (60 mmolL⁻¹), dos complexos em diclorometano (2,8 mmolL⁻¹), hipoclorito de sódio (2,5%), citrato de sódio (0,387 molL⁻¹)/NaOH (0,46 molL⁻¹), salicilato de sódio (2,75 mol.L⁻¹)/nitroprussiato de sódio (2,8 mg; 9,39 μmol). A amônia formada foi detectada pelo método de Berthelot.

Para as reações de decomposição da ureia foram utilizadas: uma alíquota de 100 μL da solução do complexo, 700 μL de acetonitrila e a solução de ureia foi aplicada em duas condições distintas nos volumes de 150 μL e 75 μL. A reação foi mantida sob vigorosa agitação a fim de tornar a reação mais homogênea possível, sempre adicionando a solução de ureia por último, iniciando-se então a contagem do tempo reacional. Foi estudada a influencia da temperatura na reação utilizando-se três temperaturas distintas: 5°C, 20°C, 32°C. Alíquotas de 100 μL da reação foram retiradas nos tempos de 10, 20, 30, 60, 120, 240 e 480s e adicionadas em uma mistura das soluções de hipoclorito de sódio (250 μL) e citrato/NaOH (250 μL). Após a adição da alíquota da reação nesta mistura, foi adicionada uma alíquota de 300 μL da solução de salicilato de

sódio/nitroprussiato de sódio. Após 15 minutos foi feita a análise por espectroscopia eletrônica na região do UV-visível em 650 nm.

A quantificação da amônia formada foi possível através de uma curva de calibração com sete pontos ($R^2 = 0,9906$), aplicando-se o mesmo método, para solução de concentração conhecida de cloreto de amônio. Para cada condição das reações de catálise foram feitas reações controle (sem acréscimo dos complexos), pois pode haver mínima formação de amônia, estas quantidades foram determinadas pelo método de Berthelot e descontadas dos valores obtidos para todas as reações, em cada tempo. Todas as reações foram feitas em triplicata.

3.4 Coordenação da amônia ao complexo

Em kitassato de 125 mL foram adicionados 20 mL de solução de hidróxido de amônio e em seguida tampado com septo e mantido à 50°C. Em Schlenk de 50 mL foram adicionados 10 mg do complexo BTPPh(Ni-Ni) solubilizados em diclorometano anidro (2 mL) e mantido sob agitação. O kitassato e o Schlenk foram conectados por meio de uma mangueira (curta) gerando assim um sistema de saturação de amônia no Schlenk que contém a solução do complexo. Após três minutos (aproximadamente) observou-se a turvação da solução do complexo e secou-se o solvente e foi feita a análise por espectroscopia vibracional na região do infra-vermelho.

3.5 Reciclagem dos complexos

Nesta análise foram feitas sucessivas adições da solução de ureia à reação nos tempos em que a detecção de amônia é cessada. Foi aplicado o complexo BTPPh(Ni-Ni) (0,27 μ mol) solubilizado em diclorometano (100 μ L) e acetonitrila foi aplicada como solvente da reação e de transferência de fase (700 μ L) e alíquotas de 9 μ mol de solução de ureia foram adicionadas no sistema reacional

nos tempos de 90, 190, 290 e 390 segundos e as alíquotas de 100µL da reação foram retiradas nos tempos de 10, 60, 100, 160, 200, 260, 300, 360, 400 e 460 segundos. A reação ocorreu à 20°C sob agitação.

3.6 Reciclagem dos complexos aplicando alíquotas de água

A reação de decomposição de ureia foi feita aplicando o complexo BTPPh(Ni-Ni) (0,27 µmol), 9 µmol de ureia. Alíquotas de 100 µL da reação foram retiradas nos tempos de 10, 20, 30 e 60s após esse período (o qual sabe-se que a amônia não é detectada) foi adicionada uma alíquota de 150 µL água em 80 segundos de reação, após essa adição, alíquotas de 100 µL da reação foram retiradas novamente em 90, 100 e 110 segundos de reação para detecção de amônia. A reação ocorreu à 20°C sob agitação constante.

3.7 Teste de decomposição da ureia pelo cloreto de níquel hexahidratado

Para esta reação foram utilizados 9,0 µmol de ureia, 0,27µmol de cloreto de níquel hexahidratado, o sal foi solubilizado em água e o solvente da reação acetonitrila, o teste foi realizado em triplicata. A detecção de amônia realizada pelo método de Berthelot, anteriormente descrito.

4 Técnicas de caracterização aplicadas para análise dos ligantes e dos complexos.

4.1 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os compostos sintetizados foram caracterizados por ^1H RMN, ^{13}C RMN, HMBC e HSQC, sendo as análises feitas em um espectrômetro BRUKER DRX 400, usando solventes deuterados (CDCl_3 e MeOD) no preparo das amostras. Os deslocamentos químicos foram referenciados pelo sinal do TMS ($\delta=0$), com unidades atribuídas em ppm. Os espectros são encontrados no apêndice desta tese.

4.2 Condutividade molar

Os valores de condutividade molar dos complexos foram obtidos no condutivímetro Meter Lab modelo CDM230 de soluções $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em diclorometano (anidro) e metanol (anidro).

4.3 Análise elementar CHN

A análise química elementar dos compostos sintetizados, foi feita para determinação dos teores de carbono, nitrogênio e hidrogênio, sendo utilizado o equipamento Carlo-Erba, modelo: EA 1108 encontrado no Departamento de química da Universidade Federal de São Carlos.

4.4 Espectroscopia eletrônica de absorção na região ultravioleta-visível (UV-Vis).

Os espectros de absorção na região UV-visível foram obtidos na região de 190 a 800 nm utilizando um espectrofotômetro equipamento HP – Hewlett Packard 8452 A. Para a obtenção dos espectros foi utilizada cubeta de quartzo, cujo caminho óptico corresponde à $1,0 \text{ cm}$.

4.5 Espectroscopia na região do infravermelho

A obtenção dos espectros vibracionais foi feita na região de 200 a 4000 cm^{-1} . As medidas foram feitas em espectrofotômetro de infravermelho por transformada de Fourier da marca Bomem-Michelson FT modelo MB-102. Sendo utilizadas pastilhas de brometo de potássio (KBr) como solvente para as amostras dos compostos.

4.6 Espectrometria de Massas

Os espectros de massas de alta resolução dos compostos foram obtidos usando ionização elétrons spray em um espectrômetro de massas de alta resolução MAXIS HD – Bruker Daltonics, Nebulização: 0.3 Bar, fluxo de gás seco: 4 L/min, temperatura: 180°C, HV: 4500 V.

A determinação da massa dos complexos foi realizada em espectrômetro de massas MALDI-TOF (matrix-assisted laser desorption / ionization – Time Of Flight) em que as amostras foram adicionadas em placa e em seguida acrescentada a matriz (ácido α ciano-4-hidroxicinâmico) sobre a amostra dos complexos BTPPh(Ni-Ni), BTP(Ni-Ni), BTB(Ni-Ni) e 2BTPPh(Ni-Ni). O equipamento usado Bruker auto flexspeed no Departamento de química da Universidade Federal de São Carlos.

As análises das massas de espécies ativas dos complexos na reação de decomposição da ureia, foram feitas em espectrômetro de massas Waters Xevo G2-XS QTof, localizado no Instituto de Química da Universidade de São Paulo (USP), com analisador quadrupolo/tempo de vôo. Foi realizada infusão direta da amostra com fluxo variando entre 1 e 10 mL.L^{-1} , com ionização por Eletrospray (IES) no modo positivo com varredura na faixa de 50 – 2000 Da.

4.7 Voltametria Cíclica

As análises eletroquímicas foram realizadas com o auxílio do potenciostato EG&G Princeton Applied Research Model 273A. As medidas foram realizadas em diclorometano (anidro e mantido sob atmosfera inerte) com PTBA 1,0 mmol L⁻¹ como eletrólito suporte em uma cela eletroquímica convencional de três eletrodos. Os eletrodos utilizados foram o eletrodo de trabalho de carbono vítreo, eletrodo auxiliar de platina e eletrodo de referência Ag/AgCl.

4.8 Análise termogravimétrica (TGA)

As análises termogravimétricas dos complexos foram feitas para analisar a estabilidade térmica dos complexos. Estas análises foram realizadas em um equipamento NETZSCH, modelo TG 209 F3, sob atmosfera de nitrogênio com taxa de aquecimento 10°C/min e varredura entre 25°C e 800°C, sendo utilizado porta amostra de alumina Al₂O₃.

4.9 Difração de raios-X

A estrutura do composto 1-((1-benzilpirrolidin-2-il) difenilmetil)-4-butil-1*H*-1,2,3-triazol foi obtida em parceria com o Prof. Rafael Gomes da Silveira. O equipamento utilizado foi o difratômetro Rigaku XtaLAB Mini com gerador de raios-X operando a 50 kV e 12 mA, com grafite Mo-K de radiação monocromática ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$) usando o programa Olex2, localizado no Instituto de Física da USP em São Carlos. Para solução das estruturas, foi utilizado o ShelXT1 e refinado com pacote ShelXL por meio da minimização dos quadrados mínimos.

5 Resultados e discussão

5.1 Ligantes Bis triazóis

Os ligantes desempenham funções importantes na catálise, pois além de gerar estabilidade ao centro metálico, principalmente aos metais que possuem variados estados de oxidação, são também capazes de promover interações com o substrato, auxiliando em etapas de formação e estabilização de intermediários⁶².

A escolha das estruturas dos ligantes foi baseada na mimetização dos grupos coordenados ao sítio ativo da urease. Estes ligantes, portanto, deverão ser capazes de ser coordenados à dois centros metálicos de níquel, unidos por uma ponte fenolato, os demais pontos de coordenação: a pirrolidina e o triazol deverão mimetizar a coordenação de aminoácidos presentes na enzima, tais como a histidina que possui um anel imidazólico coordenado ao centro metálico. Anéis triazólicos podem ser considerados análogos à imidazóis que compõem aminoácidos como a histidina, presentes em sítios ativos de diversas metaloenzimas assim como a urease. Triazóis são uma classe importante de ligantes que possui diversas funcionalidades, apesar de serem obtidos apenas sinteticamente.

Os compostos obtidos, do 1 ao 4 já estão relatados na literatura e apenas um dos triazóis obtidos (composto 7) já apresenta a estrutura relatada. Os espectros de RMN ¹H destes compostos estão apresentados no apêndice, sendo os deslocamentos químicos e os valores das integrais condizentes com os dados da literatura.

Para o composto (9) foi possível a obtenção de monocristais, sendo assim, foi viabilizada a análise estrutural pela técnica de difração de raios-X, em que os dados foram tratados pelo colega de laboratório Rafael Gomes da Silveira. Os

cristais foram obtidos pela evaporação lenta da mistura de solventes (90% hexano e 10% acetato de etila). A FIGURA 9 apresenta a estrutura desta molécula.

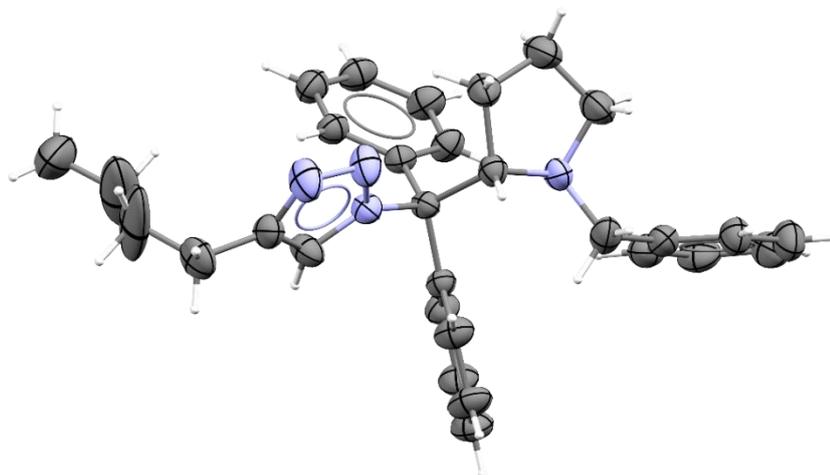


FIGURA 9: Representação Ortep do 1-((1-benzilpirrolidin-2-il) difenilmetil)-4-butil-1*H*-1,2,3-triazol (30% de elipsoide).

A estrutura cristalina obtida confirma a regioseletividade da reação de ciclo adição 1,4 dipolar, sendo verificada a formação do 1,2,3 triazol 1,4 dissustituído, estando em concordância com as demais técnicas de caracterização realizadas.

Os compostos sintetizados que não apresentam a estrutura relatada, foram caracterizados por RMN ^1H , RMN ^{13}C , HSQC RMN e HMBC RMN, os quais estão apresentados no apêndice. Os valores das integrais dos hidrogênios nos espectros RMN ^1H estão condizentes com a quantidade de hidrogênios das estruturas propostas, assim como as de carbono. As correlações obtidas nas análises dos espectros bidimensionais estão em conformidade com as estruturas propostas. Foi verificada também pelos espectros, a regioseletividade na reação de obtenção dos triazóis, sendo formados apenas 1,2,3 triazóis 1,4 dissustituídos conforme observado no apêndice. Os ligantes bistriazóis também

apresentaram as caracterizações condizentes com as estruturas propostas. A atribuição dos hidrogênios e dos carbonos dos ligantes bis triazóis (apêndice) foi feita de acordo com a análise para o ligante 16 (FIGURAS 10 e 11), a seguir:

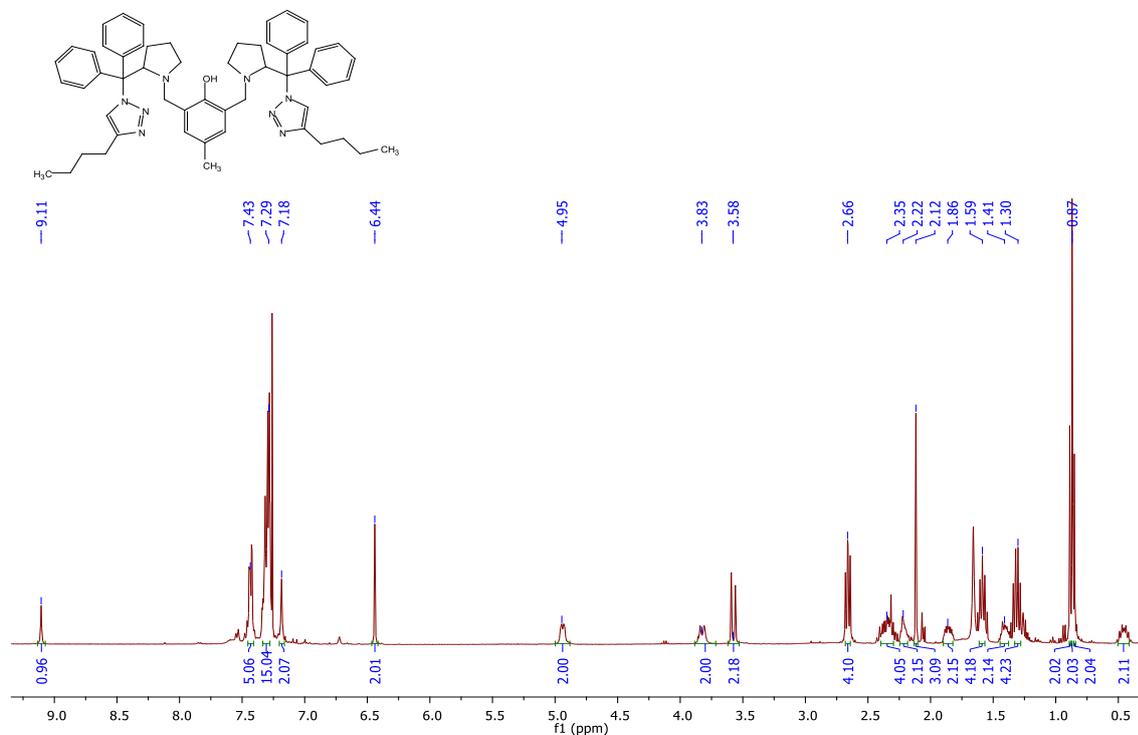


FIGURA 10: RMN ^1H 2,6-bis((2-((4-butyl-1H-1,2,3-triazol-1-yl)difenilmetil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.

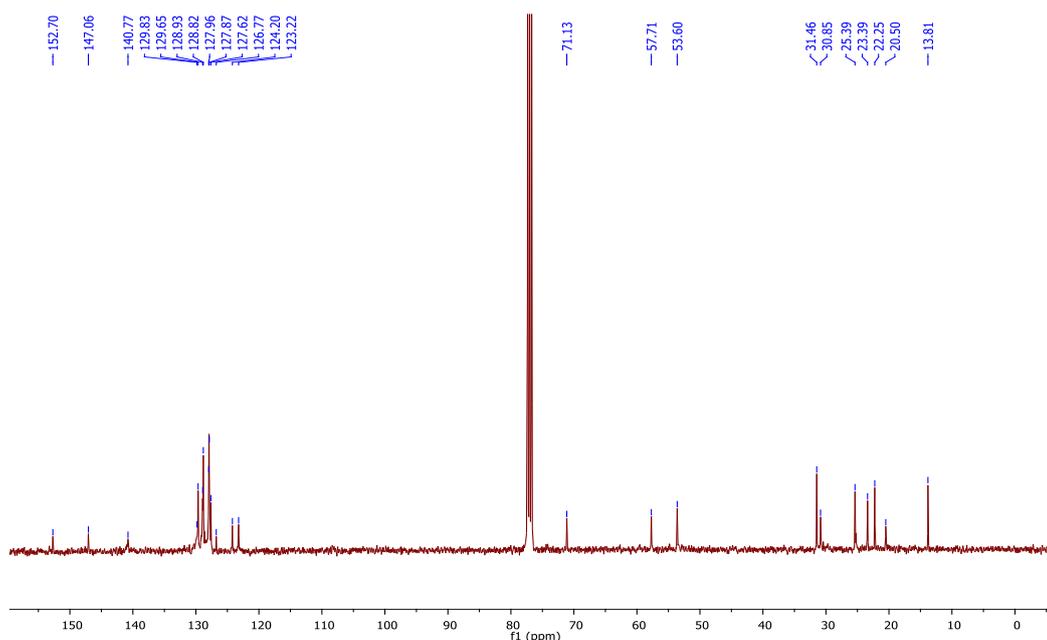


FIGURA 11: RMN ^{13}C 2,6-bis((2-((4-butyl-1H-1,2,3-triazol-1-yl)difenilmetil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.

De acordo com o espectro de ^1H RMN, os hidrogênios alifáticos dos substituintes dos anéis triazólicos foram inicialmente atribuídos, sabendo-se que a multiplicidade do pico das metilas (terminais) é um tripleto referente à seis hidrogênios e apresentam-se em regiões mais blindadas do espectro em 0,87 ppm. A metila substituinte em posição *para* em relação ao fenol apresenta a multiplicidade como singleto, e integral correspondente à 3 hidrogênios em 2,12 ppm. Os hidrogênios ligados aos carbonos quirais são os mais desblindados da região alifática com deslocamento químico em 4,95 ppm e integral do tripleto correspondente à dois hidrogênios. A partir desta atribuição prévia destes hidrogênios, foi possível a atribuição dos carbonos em que estes hidrogênios estão ligados, pela correlação entre os espectros bidimensionais RMN HMBC (FIGURAS 12, 13 e 14), e ao espectro RMN HSQC (FIGURAS 15 e 16) foi possível a atribuição dos demais hidrogênios e carbonos dos ligantes.

De acordo com as análises das correlações dos espectros bidimensionais RMN HMBC, os hidrogênios (1 e 16) ligados aos carbonos quirais estão acoplados aos carbonos 10 e 12 e ainda por esta correlação, juntamente com RMN HSQC foi possível a atribuição dos hidrogênios 4, 13, 10 e 12 e os respectivos carbonos ligados à estes hidrogênios. O carbono 4 acopla-se com o hidrogênio 2, apesar de baixa intensidade no sinal (FIGURA 12), os carbonos quaternários alifáticos encobertos pelo sinal do clorofórmio (FIGURA 13) também acoplam-se com o hidrogênio 2. Pelo espectro HMBC, o singleto em 2,12 ppm (11) não está acoplado a carbonos alifáticos, sugerindo deste modo que se refere à metila ligada ao anel aromático.

Pelo espectro de RMN HMBC, os hidrogênios 9 e 21 estão acoplados aos carbonos 8, 7, 20 e 19. Através da determinação destes carbonos foi feita a correlação pelo espectro de RMN HSQC e atribuiu-se os respectivos hidrogênios ligados a tais carbonos, as integrais e as multiplicidades dos picos

também condizem com essa atribuição. Pela determinação dos hidrogênios 8 e 20, foi verificado o acoplamento com os carbonos 6 e 18 pelo espectro de RMN HMBC, deste modo foram atribuídos os carbonos e hidrogênios dos substituintes (butil) dos anéis triazólicos.

Os espectros bidimensionais foram divididos entre a região alifática e aromática para facilitar a visualização e atribuição dos picos.

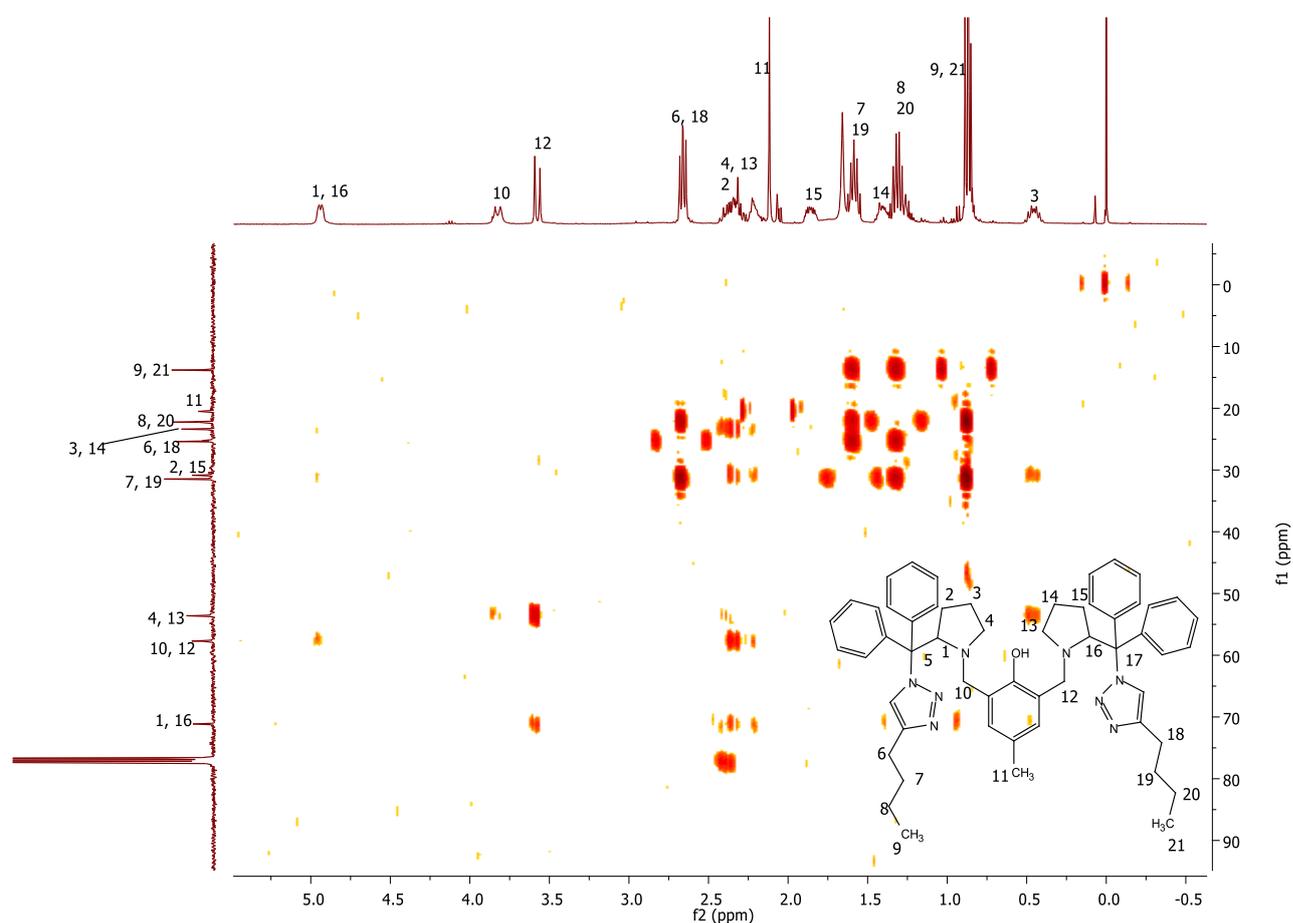


FIGURA 12: RMN HMBC espectro na região alifática 2,6-bis((2-((4-butil-1H-1,2,3-triazol-1-il)difenilmetil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.

O singlete alifático (11) em 2,12 ppm está acoplado aos carbonos 37 e 39 do anel aromático do grupo fenol e pela correlação ao HSQC foram

determinados os hidrogênios ligados à esses carbonos, que estão acoplados ao carbono quaternário 41. O singlete em 7,18 ppm (referente à dois hidrogênios) 34 e 54 acoplam-se apenas com os carbonos quaternários (pelo HSQC não acoplam com outros hidrogênios) vicinais 35 e 55, portanto este singlete em 7,18 ppm foi atribuído aos hidrogênios dos anéis triazólicos.

Os carbonos quaternários alifáticos 5 e 17 estão encobertos pelo sinal do carbono do clorofórmio e estão acoplados aos hidrogênios aromáticos 23, 27, 29, 33 e 43, 47, 49, 53 respectivamente. Estes hidrogênios estão sobrepostos, portanto não é possível a atribuição precisa, uma vez que possuem praticamente os mesmos deslocamentos químicos. Conforme observado na FIGURA 13:

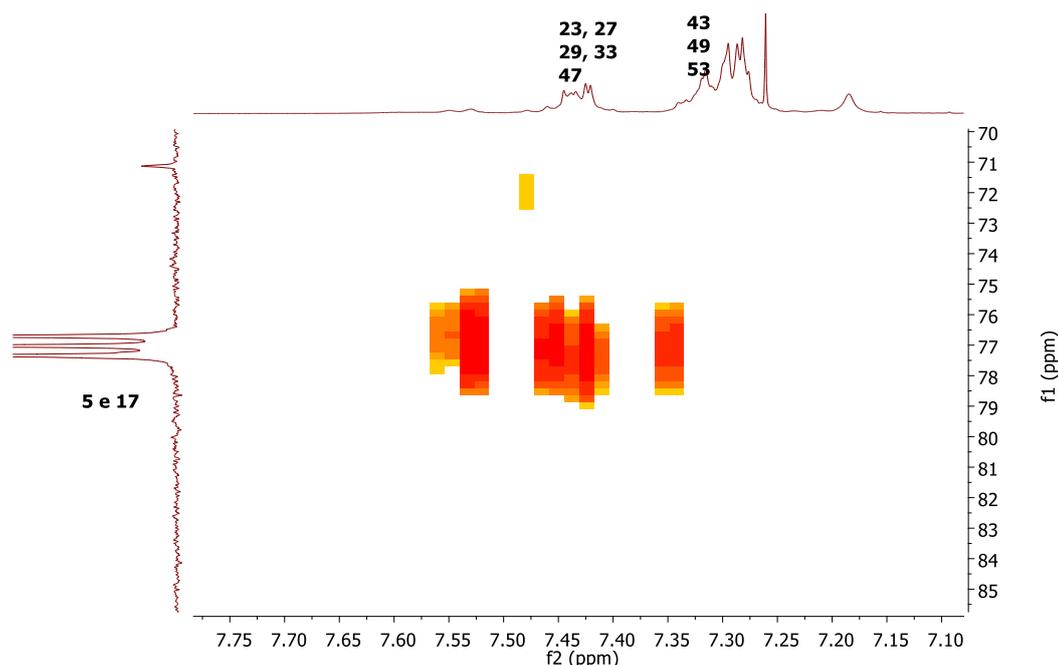


FIGURA 13: RMN HMBC espectro na região alifática e aromática 2,6-bis((2-((4-butil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)difenilmetil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.

Os carbonos quaternários 22, 28, 42 e 48 estão muito próximos no espectro e estão acoplados aos hidrogênios aromáticos 24, 26, 34, 32, 44, 46, 52 e 50 no espectro de RMN HMBC (FIGURA 14). Estes hidrogênios também

possuem deslocamentos químicos semelhantes entre si e estão sobrepostos no espectro, deste modo é dificultada a atribuição precisa destes hidrogênios. Ainda pelo HMBC, há o acoplamento dos carbonos 23 e 27 com o hidrogênio 25, os carbonos 29 e 33 também estão acoplados ao hidrogênio 31, os carbonos 43 e 47 acoplam-se ao hidrogênio 45 e os carbonos 49 e 53 estão acoplados ao hidrogênio 51. Há também o acoplamento entre os carbonos e prótons 24 e 26; 30 e 32; 44 e 46; 50 e 52 respectivamente, conforme observado no espectro abaixo.

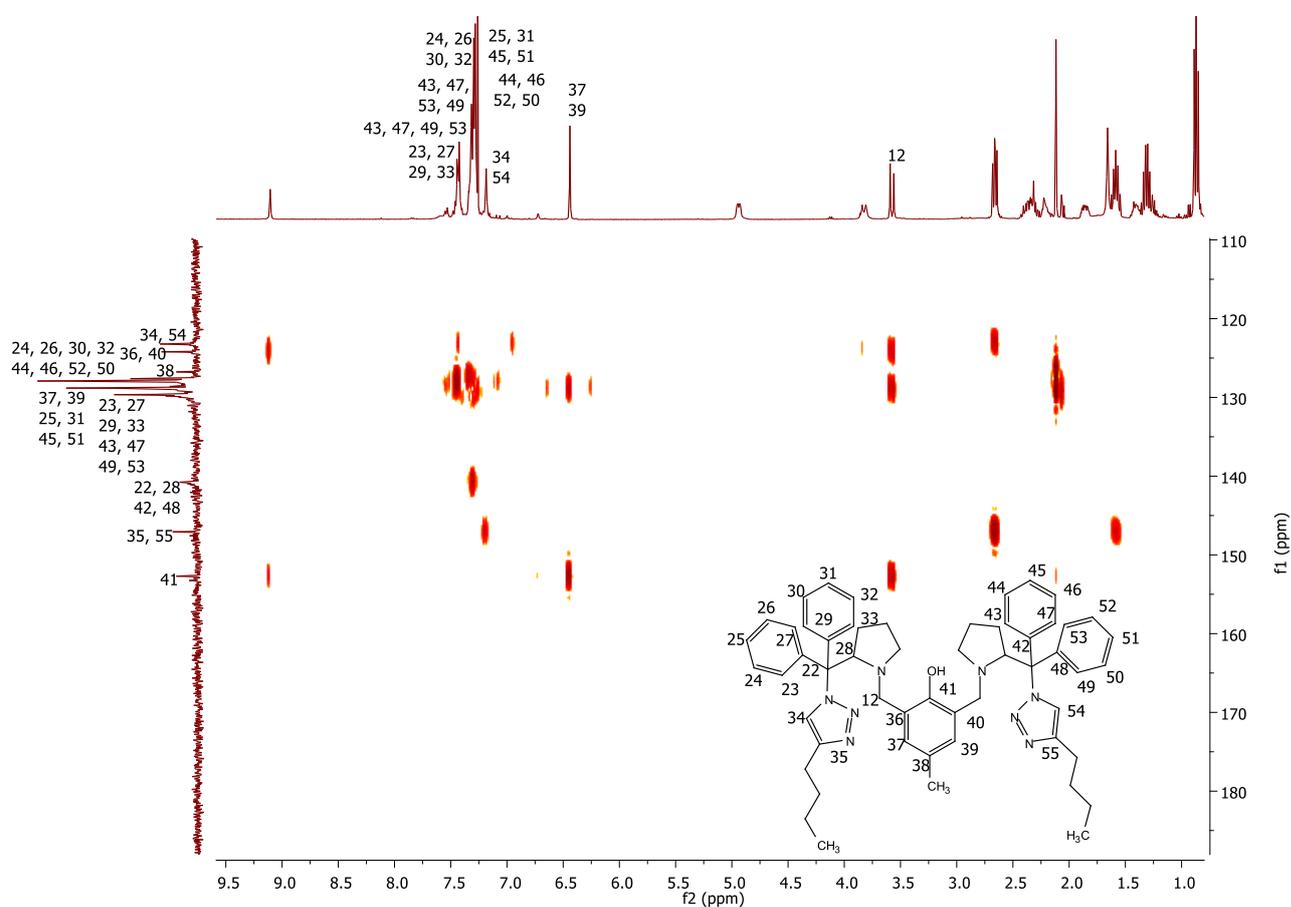


FIGURA 14: HMBC espectro na região aromática 2,6-bis((2-((4-butil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)difenilmetil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.

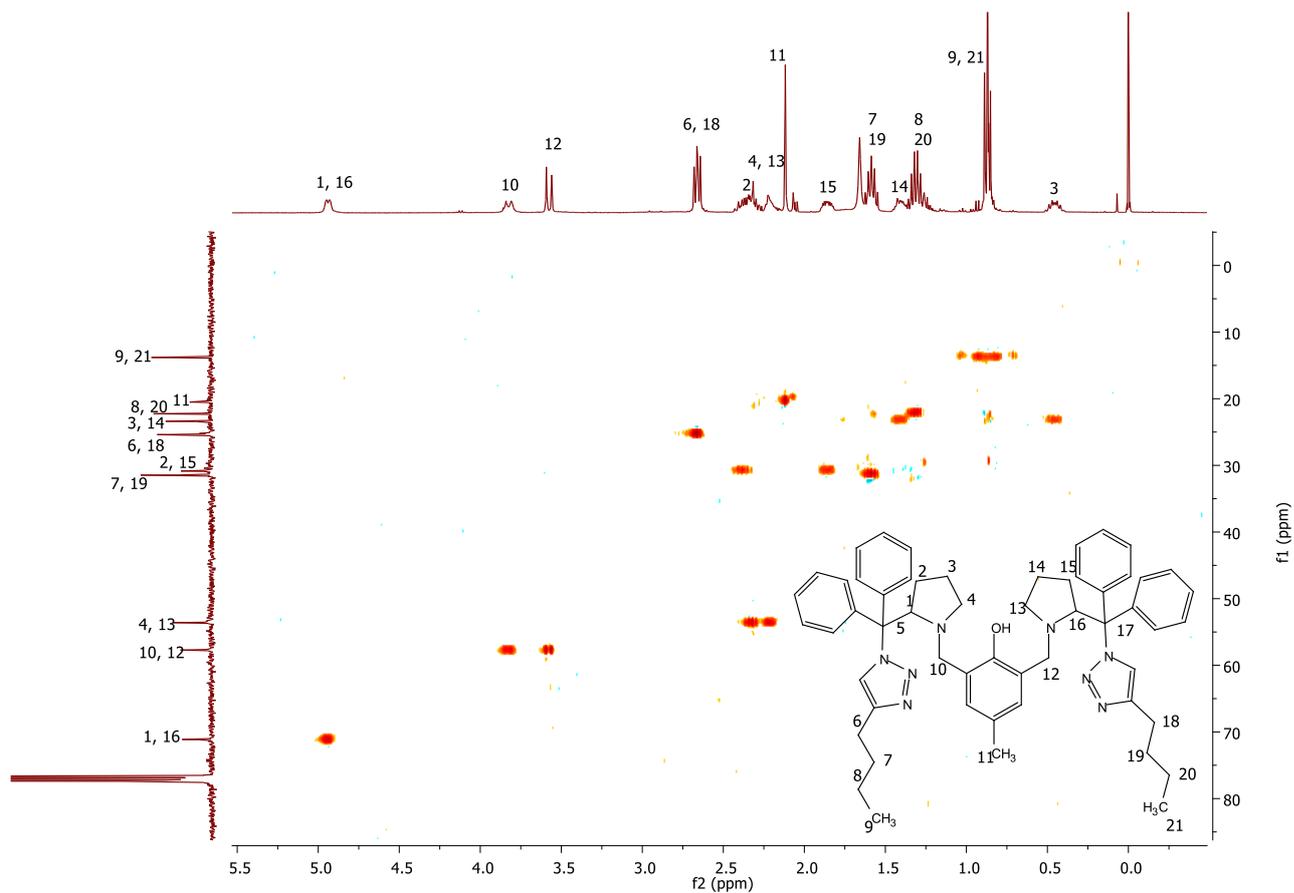


FIGURA 15: RMN HSQC espectro na região alifática 2,6-bis((2-((4-butil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)difenilmetil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol

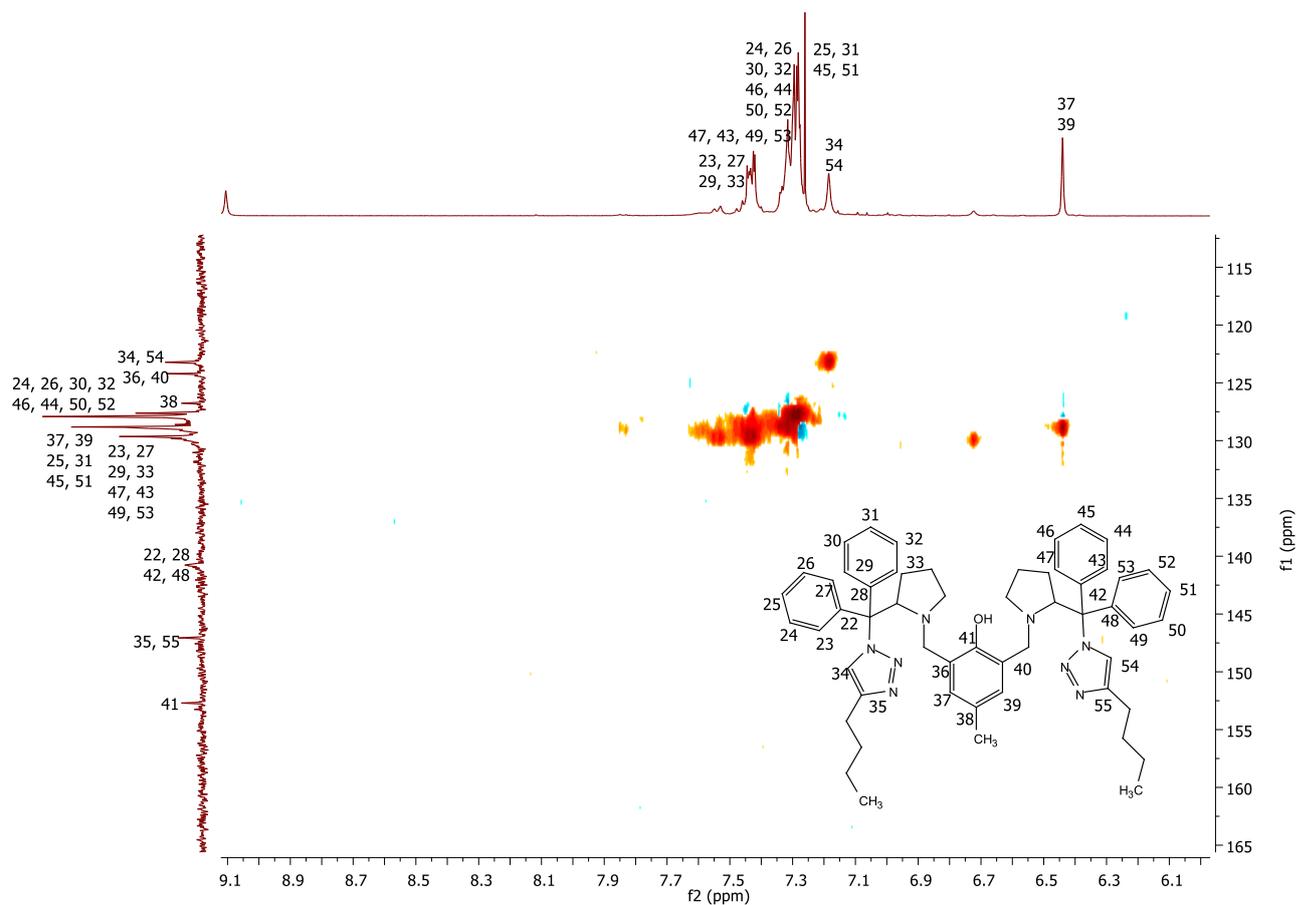


FIGURA 16: RMN HSQC espectro na região aromática 2,6-bis((2-((4-butil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)difenilmetil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.

Os demais ligantes bis triazóis, apresentaram espectros de ^1H RMN, ^{13}C RMN e os bidimensionais semelhantes entre si, observando-se alterações devido aos substituintes dos anéis triazólicos. Deste modo, as atribuições dos hidrogênios e carbonos dos ligantes foram feitas do mesmo modo que para o ligante 2,6-bis((2-((4-butil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)difenilmetil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol confirmando assim a estrutura dos ligantes sintetizados. Todos os espectros dos demais ligantes estão apresentados no apêndice desta tese.

5.2 Complexos binucleares de níquel

Nas sínteses dos complexos com o ligante BTPPh foi verificada a formação de dois complexos distintos em sínteses independentes, sendo que na primeira síntese o complexo apresentou coloração verde e na segunda síntese, o complexo formado apresentou coloração laranja. Foram repetidas estas sínteses e observado que durante a secagem à vácuo do sal de níquel hidratado, pelo mesmo período de tempo, algumas vezes o sal atingiu coloração amarelo pálido, nestas, o complexo obtido apresentava coloração verde. Em outras repetições desta reação, quando o sal de níquel apresentou coloração amarela tendendo discretamente para a cor laranja, o complexo obtido era de coloração laranja. Deste modo, sugere-se que a etapa de secagem das águas de hidratação influencia na coloração dos complexos, e conseqüentemente na geometria destes, uma vez que a água também pode coordenar ao centro metálico.

O sal hidratado de cloreto de níquel, foi submetido à alto vácuo e aquecimento brando com o auxílio de uma pistola de aquecimento para remoção das águas de hidratação, deste modo, a temperatura não foi controlada. O processo de remoção das moléculas de água pode ocorrer em duas etapas, sendo que a primeira perda de massa ocorre na faixa entre 24 e 120°C e esta perda de massa (30%) é correspondente à quatro moléculas de água. A temperatura necessária para a desidratação completa do complexo atinge valores superiores à 250°C⁶³, sendo assim, possivelmente o sal de níquel não foi completamente desidratado, mas para a obtenção do complexo 2BTPPh(Ni-Ni), provavelmente houve maior desidratação do sal de níquel, devida diferença da coloração do sal de níquel entre as sínteses dos complexos 2BTPPh(Ni-Ni) e BTPPh(Ni-Ni) durante o processo de secagem do NiCl₂.6H₂O,

A secagem completa das águas de hidratação, descarta a possibilidade de coordenação destas moléculas na primeira etapa da reação, em que há a

coordenação das moléculas de solvente, que posteriormente são substituídas pelo ligante. Sendo o níquel (II) de configuração d^8 , pode apresentar complexos com geometria octaédrica, quadrado planar, tetraédrica e bipirâmide trigonal, dependendo também da natureza do ligante, então a presença de moléculas de água pode influenciar na geometria do complexo, variando a composição dos sítios lábeis.

Para todas as sínteses realizadas dos complexos binucleares de níquel com os demais ligantes: BTB e BTP, foi verificada apenas a formação de complexos verdes escuros, deste modo, devem apresentar apenas um tipo de geometria (as quais serão discutidas nas caracterizações dos complexos). Indicando também que além da influência da disponibilidade de moléculas de água no meio reacional, as sínteses também dependem do substituinte do ligante, visto que o ligante BTPPh além de ser mais rígido, apresenta maior impedimento estérico para a complexação aos dois centros metálicos, conectados via ponte fenolato portanto é possibilitada a formação deste complexo com geometria distinta, o qual, possivelmente apresenta diferentes modos de coordenação que minimizam o efeito estérico dos substituintes do ligante na complexação aos metais.

O ligante 3,3'-((((2-hidroxi-5-metil-1,3 fenileno)bis (metileno)) bis(pirrolidin-1,2-diil))bis(difenilmetileno))bis(1*H*-1,2,3-triazol-1,4-diil)difenol (17) foi sintetizado, purificado e caracterizado. A partir disso foi feita a síntese do complexo de maneira similar aos outros complexos. No entanto, este complexo é pouco solúvel em diclorometano, então tornou-se dificultada a purificação deste, visto que para remoção do excesso de cloreto de níquel o complexo deveria ser solúvel em solvente orgânico. Deste modo, foi feita a purificação apenas da parte solúvel em diclorometano deste complexo, separando-se esta solução, secando e lavando com acetato de etila para remoção de possível ligante residual.

Após a secagem deste complexo, observou-se novamente a baixa solubilidade em diclorometano (sendo que esta amostra já havia sido solúvel em diclorometano). Deste modo, todas as caracterizações em solução foram feitas em metanol, cujo solvente pode coordenar-se aos centros metálicos, se diferenciando das análises feitas em estado sólido. Foi verificado assim que as caracterizações deste complexo não são correspondentes entre si, dificultando a definição da estrutura deste complexo. Portanto não serão acrescentadas tais caracterizações neste trabalho e este complexo não será avaliado frente ao estudo como mimético na decomposição da ureia.

A TABELA 1 apresenta os rendimentos das reações dos complexos e algumas propriedades físicas destes complexos sintetizados:

Complexos	Rendimento	Cor	Solubilidade
BTP(Ni-Ni)	74,4%	Verde	Diclorometano e metanol
BTPH(Ni-Ni)	58,3%	Verde	Diclorometano e metanol
BTB(Ni-Ni)	62,8%	Verde	Diclorometano e metanol
2BTPH(Ni-Ni)	45,9%	Laranja	Diclorometano e metanol

TABELA 1: Rendimentos das reações dos complexos, cores e solubilidade dos complexos sintetizados.

5.3 Caracterização dos complexos

5.3.1 Condutividade molar dos complexos

As medidas de condutividade molar dos complexos foram feitas em diclorometano e metanol destilados e mantidos sob peneira molecular. As concentrações dos complexos foram de $10^{-3} \text{ molL}^{-1}$. Os dados estão apresentados na TABELA 2.

Conductividade molar (μScm^{-1})		
Complexos	Diclorometano	Metanol
BTB(Ni-Ni)	2,861	186,1
BTPH(Ni-Ni)	2,489	137,1
BTP(Ni-Ni)	2,307	250,4
2 BTPH(Ni-Ni)	2,387	46,8

TABELA 2: Dados de condutividade molar dos complexos em metanol e diclorometano.

Os valores de condutividade molar obtidos em diclorometano indicam que os complexos são neutros, sendo que os valores obtidos estão abaixo da faixa de eletrólito 1:1 ($12-77 \mu\text{Scm}^{-1}$ em diclorometano). Através disso, pode-se inferir que pode haver três ligantes que contribuem cada um com uma carga negativa, sendo estes íons cloretos, hidróxidos ou metóxidos, além do ligante sintetizado (bistriazol) que contribui com uma carga negativa do fenolato. A condutividade dos complexos é alterada quando a análise é feita em metanol. O complexo BTP(Ni-Ni) torna-se eletrólito 3:1 de acordo com a faixa ($240-350 \mu\text{Scm}^{-1}$ em metanol). Para os complexos BTPH(Ni-Ni) e BTB(Ni-Ni) foi verificado também o aumento da condutividade quando solubilizados em metanol, tornando-se ambos eletrólitos 2:1, de acordo com a faixa ($87-204 \mu\text{Scm}^{-1}$ em metanol). Tal aumento da condutividade pode ser atribuído à labilização de ligantes aniônicos coordenados e em seguida a coordenação do metanol (neutro).

Apenas o complexo 2 BTPPh(Ni-Ni) apesar de aumentar a condutividade quando solubilizado em metanol, ainda se mantém neutro (abaixo da faixa de eletrólito 1:1), indicando que este solvente pode labilizar alguns ligantes aniônicos (cloretos) que completam a esfera de coordenação de algumas moléculas do complexo em solução, não havendo a troca completa para todas as espécies de uma molécula de metanol por um íon cloreto. Foi feito um teste qualitativo adicionando às soluções dos complexos em metanol (anidro) uma alíquota de solução de Ag(NO₃) (nitrato de prata) solubilizado em acetonitrila, e foi observada a precipitação instantânea de um sólido branco que provavelmente é cloreto de prata. Esta precipitação foi observada para todos os complexos, inclusive para o 2BTPPh(Ni-Ni), indicando assim que o aumento da condutividade das soluções dos complexos em metanol é atribuída à substituição do íon cloreto coordenado por moléculas de metanol.

Os íons cloretos são ligantes π doadores, quando coordenados ao metal as doações combinadas σ e π destes ligantes dão o metal mais carga negativa, que diminui a atração entre o metal e os ligantes, devida repulsão entre os elétrons π do ligante e os elétrons dos orbitais d do metal, tornando este tipo de ligação menos favorável⁶⁴. Deste modo, é favorecida a troca deste ligante pelo metanol que é um solvente coordenante.

5.3.2 Espectrometria de massas

A razão massa carga de espécies dos complexos foi determinada pela técnica de espectrometria de massas MALDI-TOF, por ser branda quanto à ionização das amostras. Esta técnica é baseada na ionização química da amostra, cujo preparo consiste na mistura do composto à solução da matriz. Uma gota da solução do complexo (1 μ L) solubilizado em diclorometano foi adicionada na placa, e sobre esta amostra foi adicionada a solução da matriz. A matriz é um composto orgânico, geralmente um ácido capaz de absorver a energia do laser

aplicado. Neste trabalho foi utilizado o ácido α ciano-4-hidroxicinâmico (α - CHCA) (peso molecular: 189 g mol^{-1}) como matriz.

Quando a matriz cristaliza na secagem, a amostra no interior da matriz também cocristaliza, logo após, a dessorção da amostra é realizada com o feixe de laser gerando íons protonados isoladamente na amostra. Estes íons são acelerados sob potencial fixo, onde são separados de acordo com sua relação massa/carga (m/z). Os analitos carregados são detectados e então medidos usando tipos diferentes de analisadores, neste caso, o TOF (Time Of Flight). Durante a análise de MALDI-TOF, a relação m/z de um íon é medida pela determinação do tempo exigido para que o composto viaje o comprimento do tubo de vôo⁶⁵.

A estrutura do ácido α ciano-4-hidroxicinâmico (matriz) utilizado nas análises, apresenta pontos de coordenação, como pode ser visto na FIGURA 17. Sugere-se que os complexos possuam ligantes lábeis que completam a esfera de coordenação, podendo ser tais ligantes: íons cloreto, metanol, metóxido (conforme sugerido pela condutividade). Estes ligantes lábeis podem ser facilmente substituídos pela molécula da matriz usada como fonte de ionização química para a análise. A análise de alguns espectros de massas de complexos relatados na literatura também apresenta picos atribuídos à matriz coordenada ao centro metálico⁶⁶.

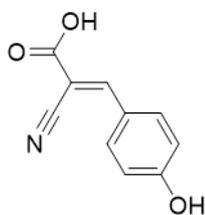


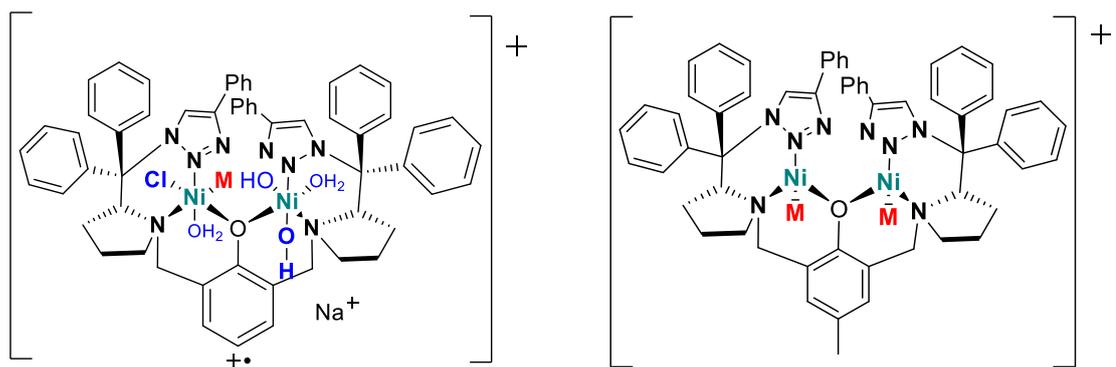
FIGURA 17: Estrutura do α ciano-4-hidroxicinâmico (α - CHCA).

Conforme é observado nos espectros abaixo, os valores de m/z são condizentes com a substituição de ligantes lábeis por moléculas da matriz (α - CHCA). A geometria dos complexos, pelos quais a matriz apresenta-se coordenada, está ilustrada de forma arbitrária, sendo que, a matriz pode coordenar-se inclusive de modo bidentado aos centros metálicos. Desta forma, considera-se para a atribuição das massas que o ácido α ciano-4-hidroxicinâmico esteja desprotonado.

Para todos os espectros de massas obtidos, foi determinada a m/z de cátions do complexo, os complexos BTPH(Ni-Ni), BTP(Ni-Ni), BTB(Ni-Ni) e 2BTPH(Ni-Ni) apresentam o pico do íon do respectivo complexo (ligante e dois equivalentes de Níquel (II)), acrescida da massa de duas moléculas do ácido α ciano-4-hidroxicinâmico desprotonadas coordenadas.

5.3.2.1 BTPH(Ni-Ni)

O espectro de massas obtido para o complexo BTPH(Ni-Ni) (FIGURA 18) apresenta picos de cátions do complexo formados durante o procedimento de análise. Sendo este complexo neutro, foi necessária a aplicação da matriz (α - CHCA) para ionização do complexo, a qual é solubilizada em metanol e água. A troca dos ligantes lábeis do complexo gera a mistura de íons do complexo no espectro de massas e dificulta a atribuição de cada pico, sendo assim, foram determinados os cátions dos complexos para apenas alguns picos.



$m/z=1308,316$

$m/z=1383,3901$

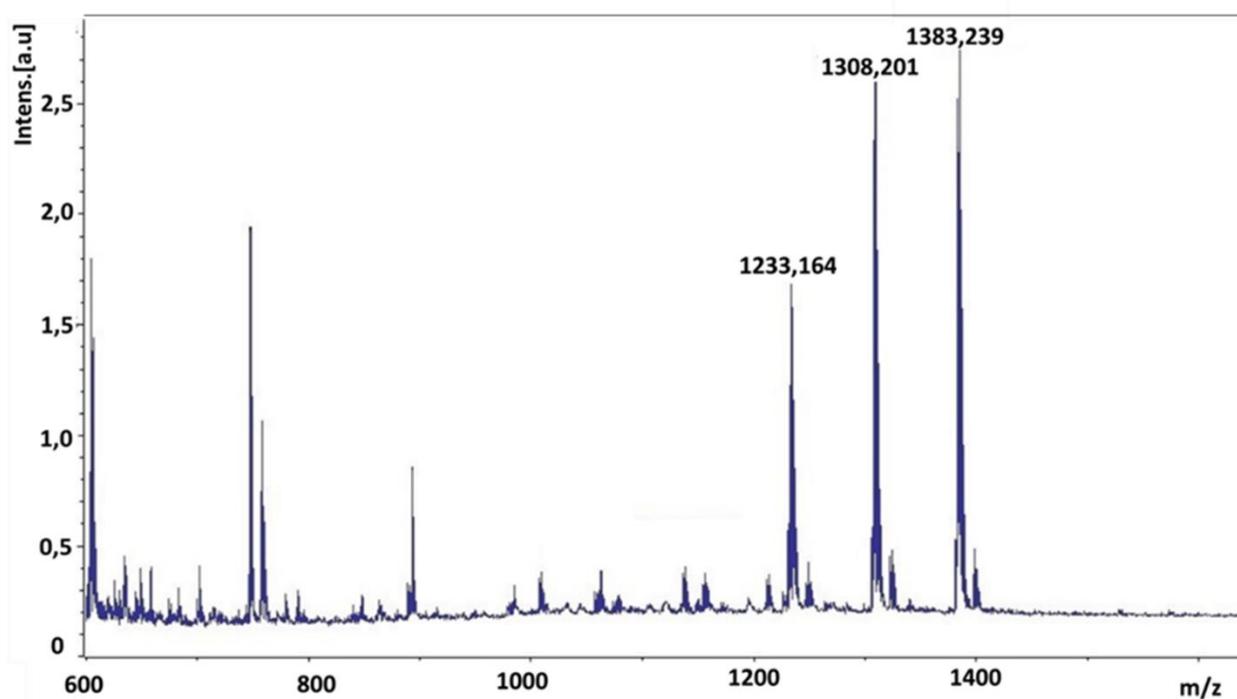


FIGURA 18: Espectro de massas do complexo BTPPh(Ni-Ni).

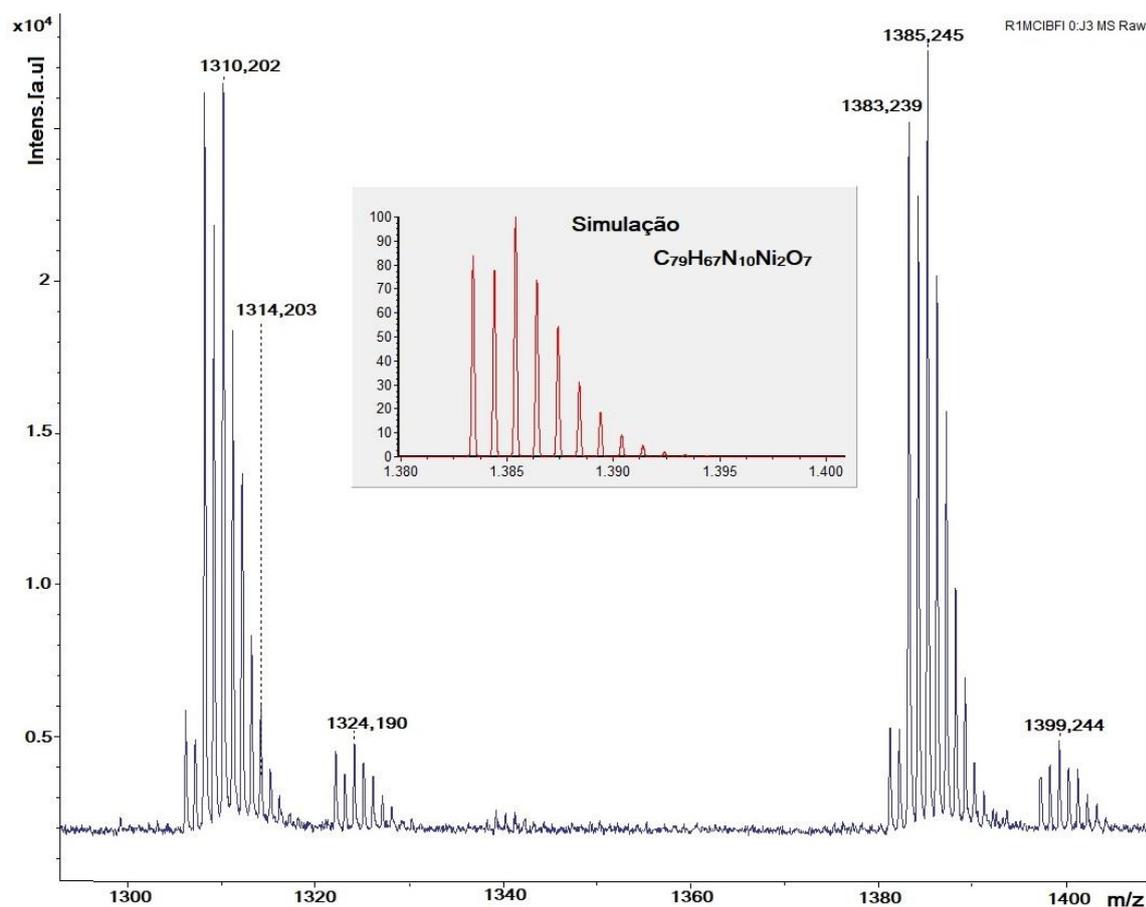
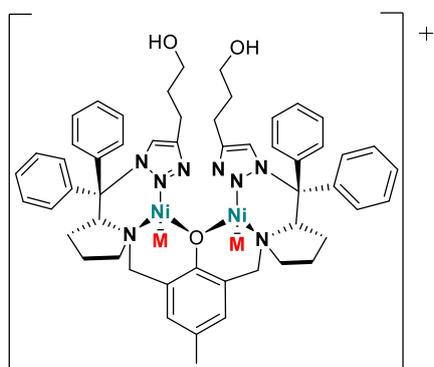


FIGURA 19: Padrão isotópico do complexo BTPPh(Ni-Ni) e simulação.

Conforme observado no espectro de massas, a precisão nas casas decimais do valor da m/z para alguns picos não é exata, tal comportamento pode ser atribuído à irregularidade na cristalização da amostra ao ser adicionada na placa juntamente com a matriz ionizante, deste modo, quando o feixe incide sobre a amostra para ser dessorvida da superfície da placa há perda na resolução durante a análise. Tal irregularidade na cristalização pode estar associada à aplicação de água na solução da matriz, tornando o sistema imiscível, visto que para esta análise, o uso exclusivo de solventes orgânicos viabilizam maior homogeneidade na cristalização e conseqüente maior resolução nas análises⁶⁷.

5.3.2.2 BTP(Ni-Ni)

O espectro de massas obtido para o complexo BTP(Ni-Ni) (FIGURA 20) apresenta o pico do cátion do complexo mais intenso, com duas moléculas da matriz (α - CHCA) desprotonadas coordenadas aos centros metálicos, gerando um íon com carga 1+. O padrão isotópico dos picos de cada complexo condiz com a estrutura contendo dois centros metálicos de níquel, a massa do respectivo ligante de cada complexo e duas moléculas da matriz desprotonadas coordenadas, conforme verificado, o padrão isotópico dos complexos e a respectiva simulação do padrão isotópico.



$$m/z = 1347,411$$

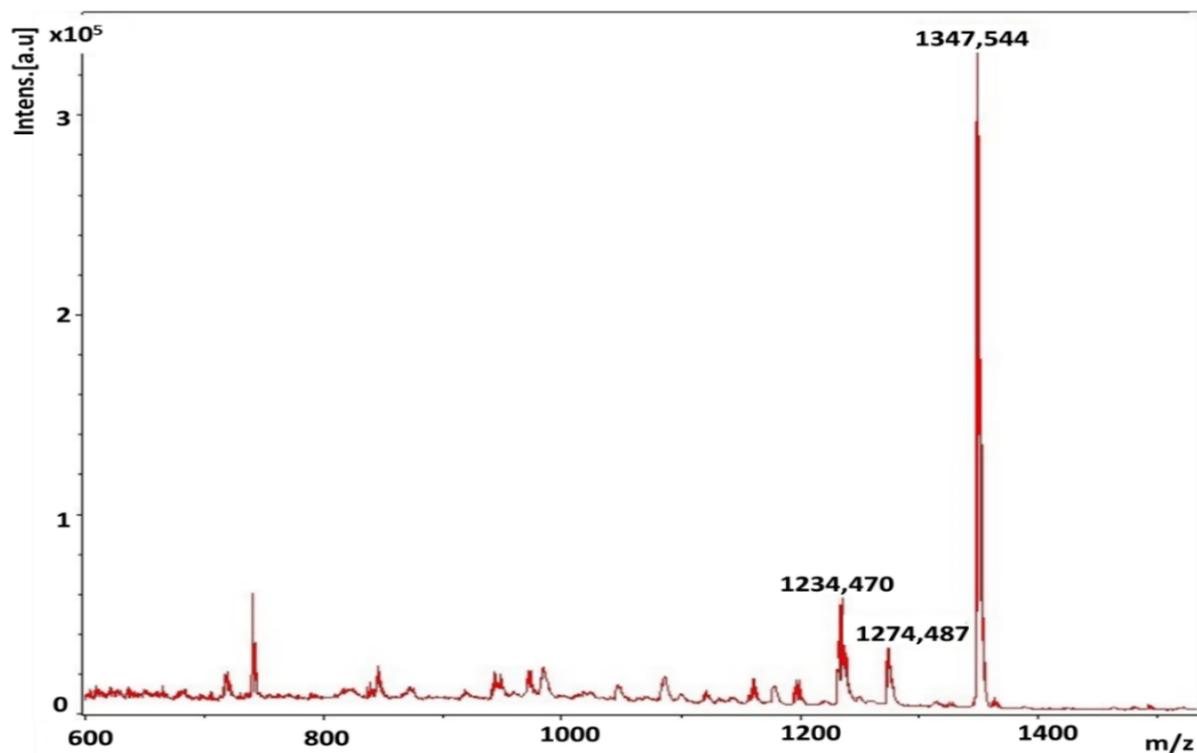


FIGURA 20: Espectro de massas do complexo BTP(Ni-Ni).

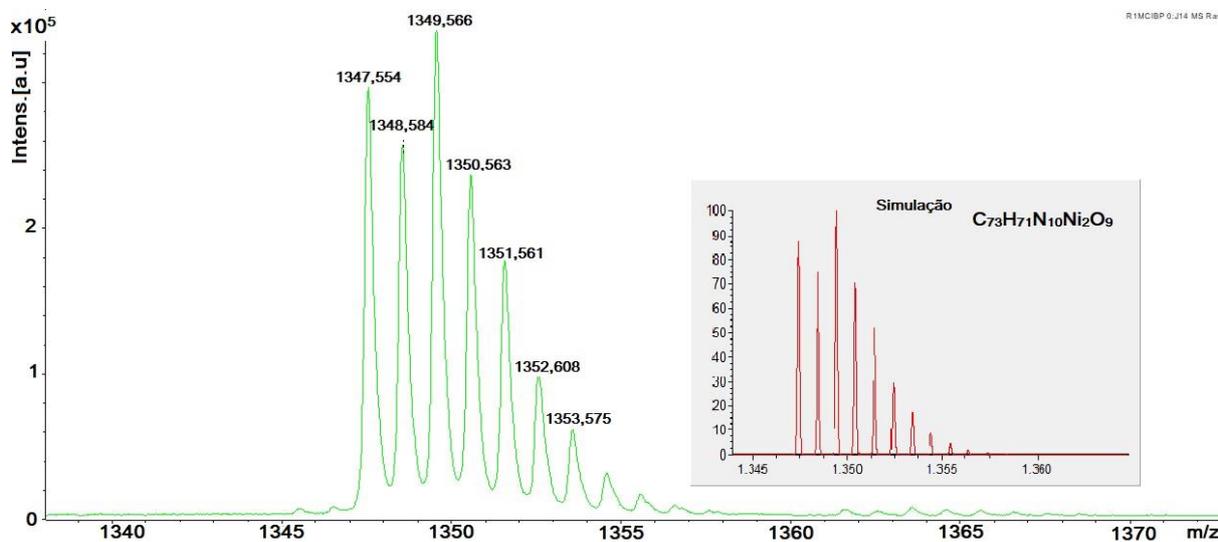
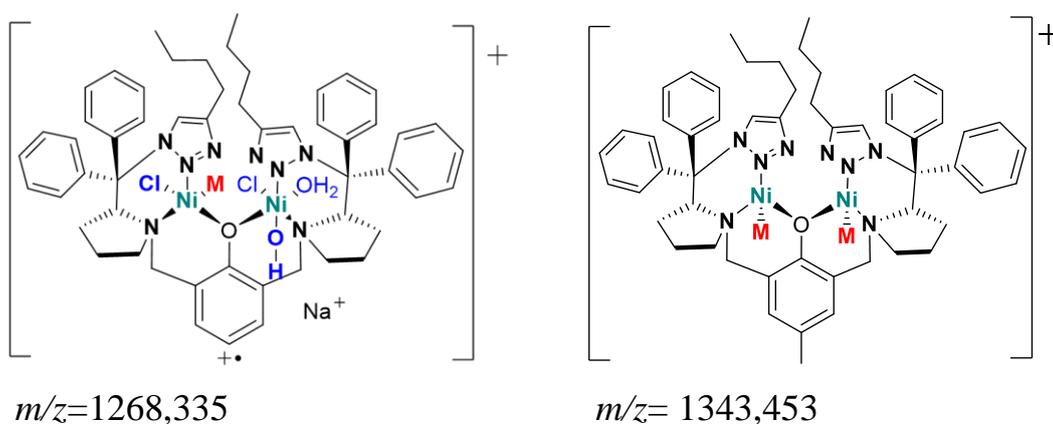


FIGURA 21: Padrão isotópico do complexo BTP(Ni-Ni) e simulação.

5.3.2.3 BTB(Ni-Ni)

O espectro de massas do complexo BTB(Ni-Ni), FIGURA 22, também apresenta mistura de cátions do complexo e dentre estes têm-se também o pico da m/z de dois equivalentes da matriz (α - CHCA) desprotonada coordenada ao complexo. Alguns picos apresentados nos espectros com m/z abaixo de 800 podem ser atribuídos à matriz, que pode polimerizar ou formar íons adutos, quando combinados com íons como o sódio.



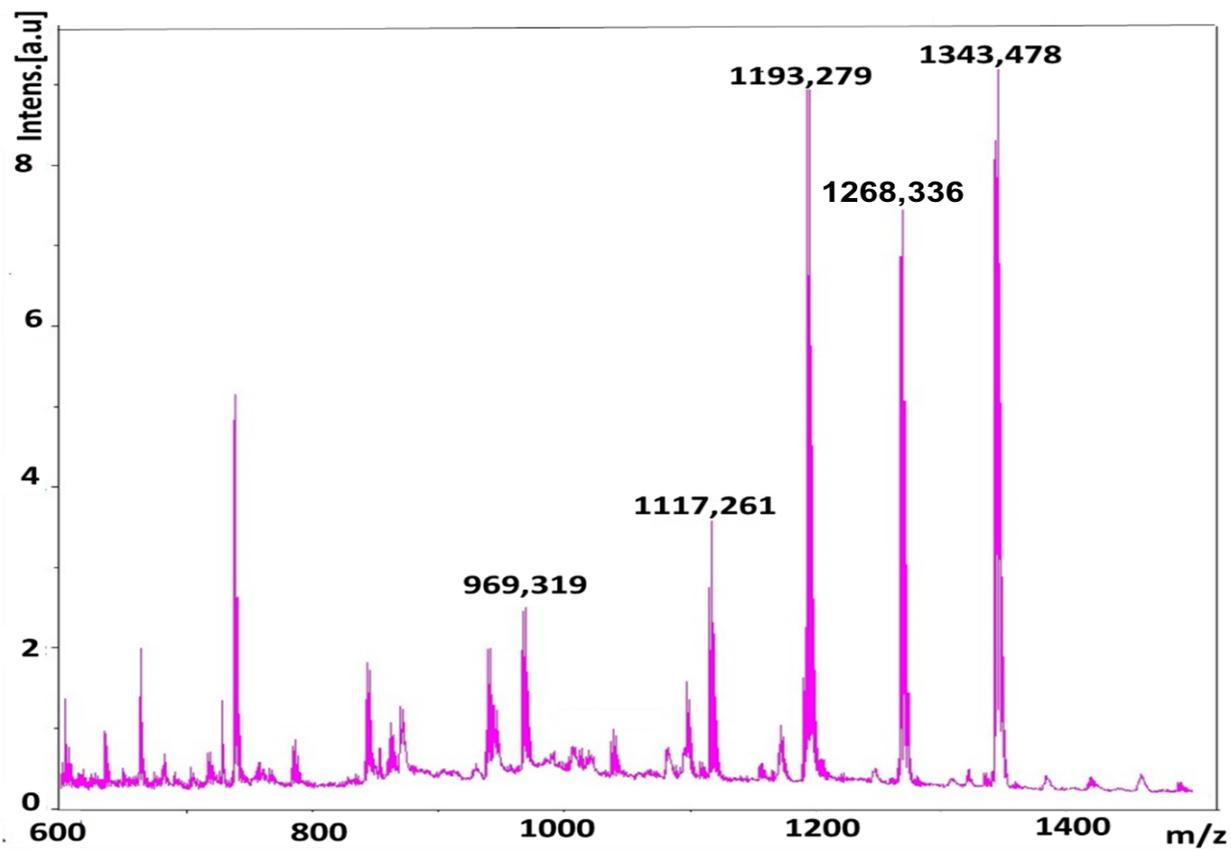


FIGURA 22: Espectro de massas do complexo BTB(Ni-Ni).

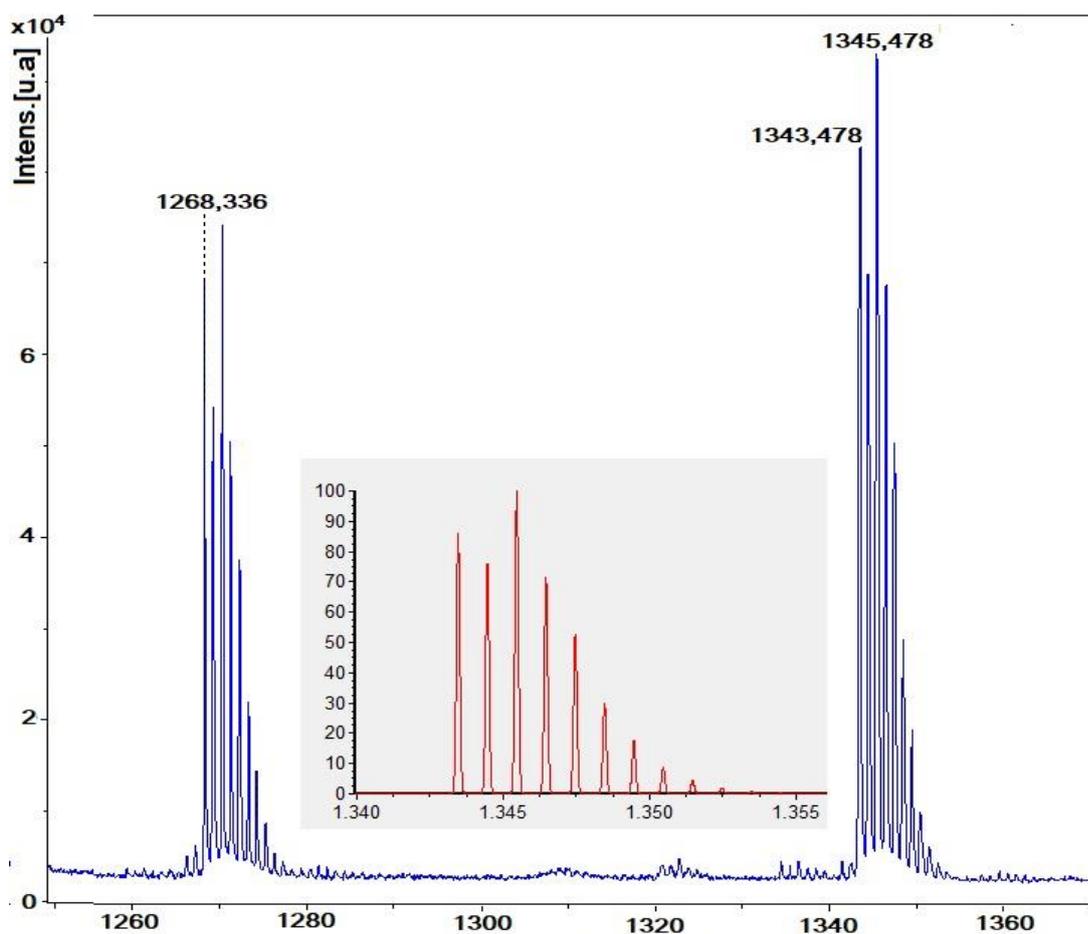


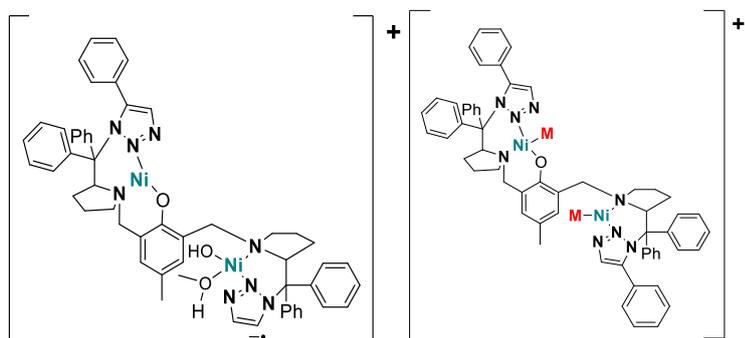
FIGURA 23: Padrão isotópico do complexo BTB(Ni-Ni) e simulação.

A espécie do cátion do complexo atribuída ao pico cuja $m/z = 1268,336$ apresenta um íon sódio interagindo na estrutura. Estes íons, mesmo que em teores muito baixos, por já estarem na forma iônica, são facilmente detectados durante a análise. Íons sódio podem interferir na análise como contaminantes, oriundos de fontes distintas como soluções tampão, sais não voláteis e detergentes, por exemplo⁶⁸.

5.3.2.4 2BTPH(Ni-Ni)

Assim como o complexo BTPH(Ni-Ni), o 2BTPH(Ni-Ni) também apresenta o pico do cátion do complexo com duas moléculas (α - CHCA) desprotonadas e coordenadas ao complexo, $m/z = 1383,409$, indicando também a labilidade dos ligantes que completam a esfera de coordenação do complexo. No

preparo da amostra para esta análise também foi aplicado metanol e água juntamente à matriz, e deste modo, pode haver a substituição dos ligantes por estes solventes nos centros metálicos e apesar de ser branda quanto à ionização, esta técnica depende da energia do laser aplicada, podendo haver a fragmentação do composto⁶⁹, sendo assim, foi verificado um pico do cátion do complexo com $m/z = 979,303$, a qual é condizente com a perda de uma fenila, conforme a estrutura representada abaixo.



$m/z = 979,310$

$m/z = 1383,390$

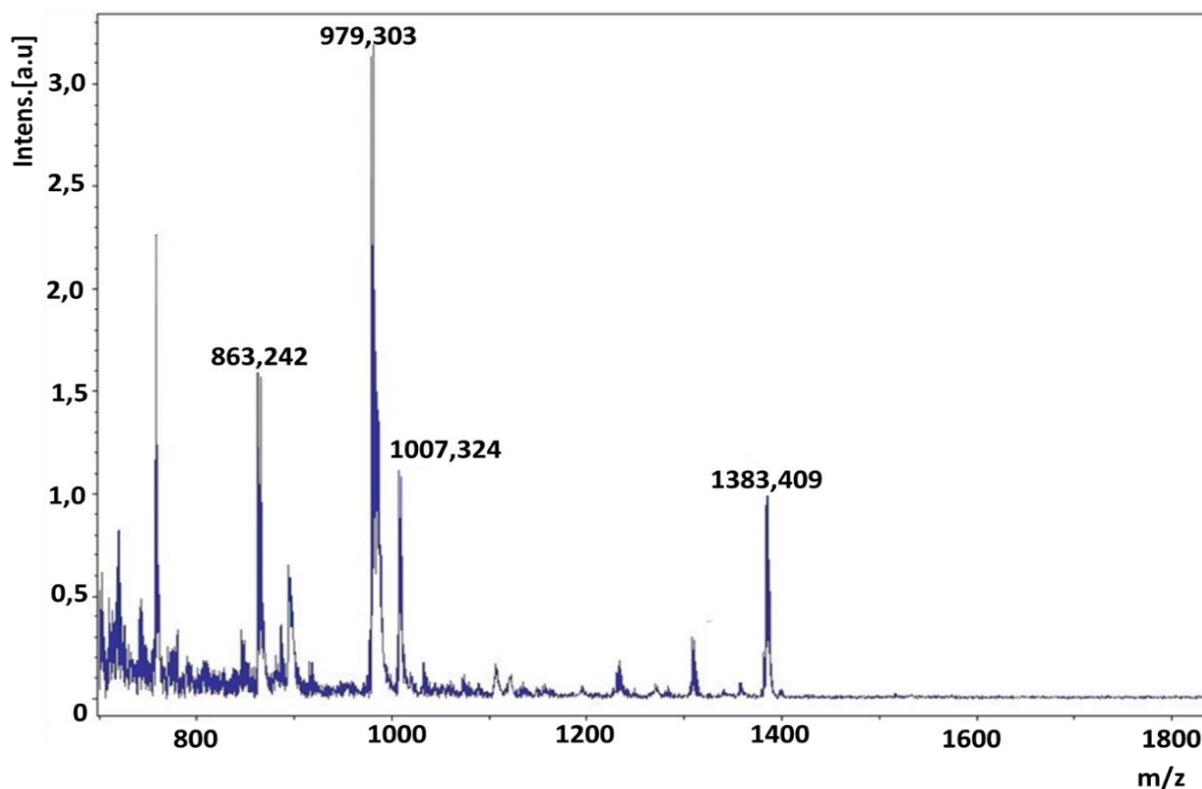


FIGURA 24: Espectro de massas do complexo BTB(Ni-Ni).

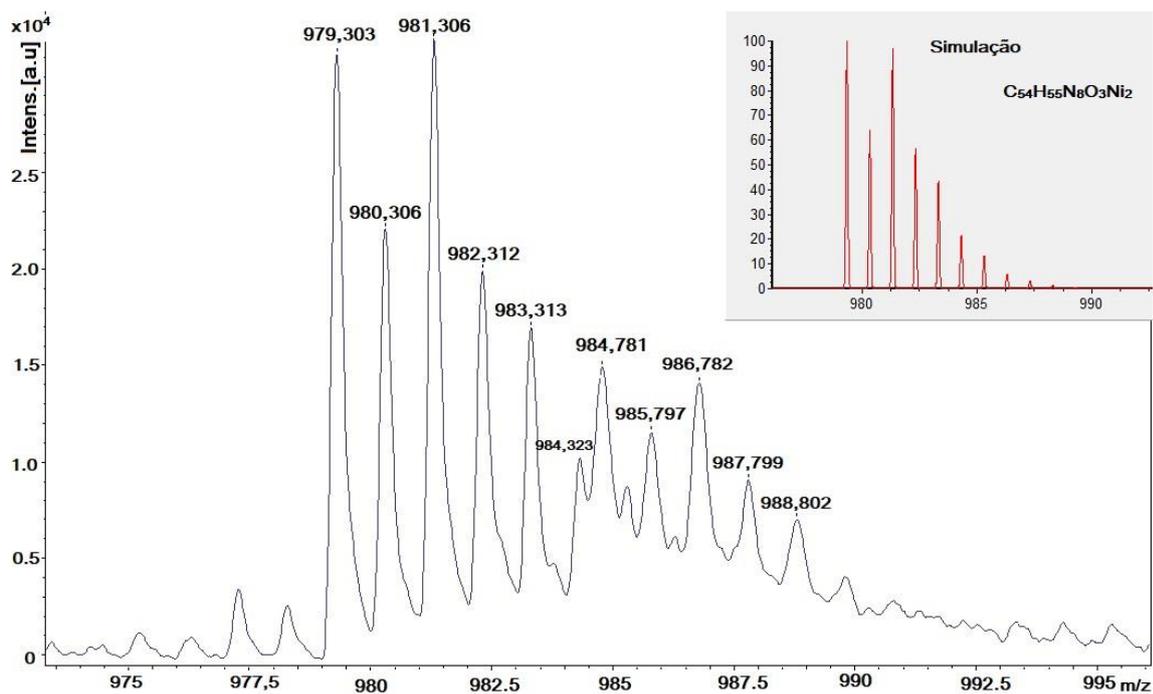


FIGURA 25: Padrão isotópico do complexo 2BTPh(Ni-Ni) e simulação.

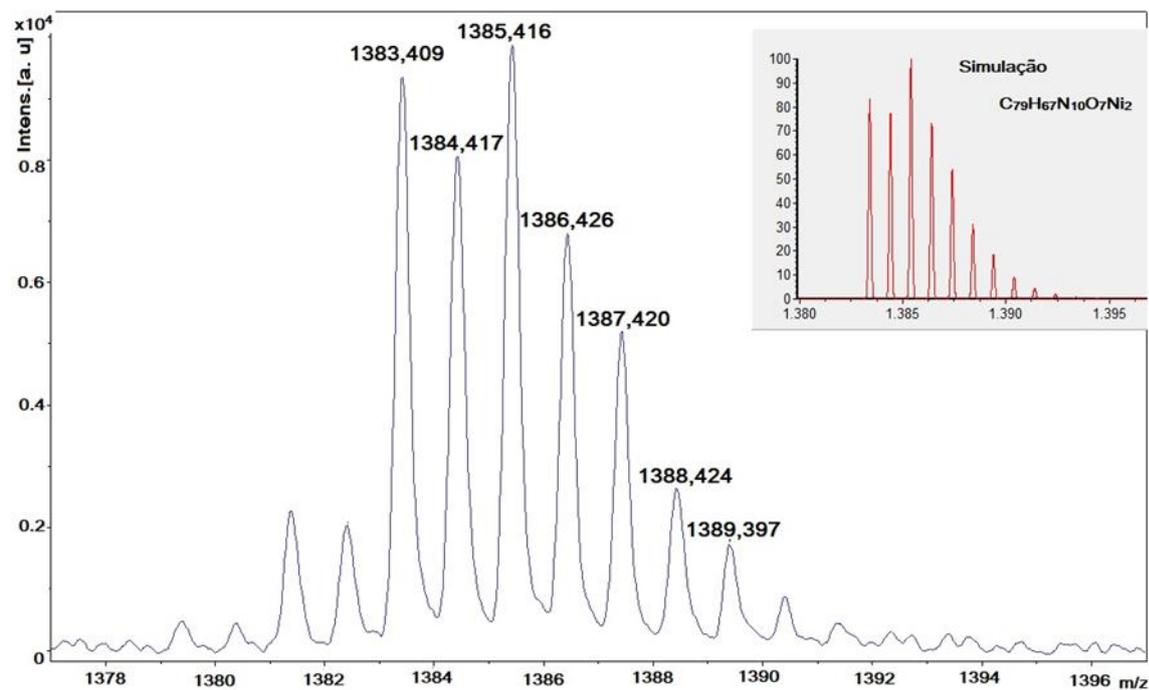


FIGURA 26: Padrão isotópico do complexo 2BTPh(Ni-Ni) e simulação.

Apesar de não ter sido verificada a m/z exata dos complexos através desta análise, pela influência da coordenação da matriz aos complexos, foi possível verificar pelos padrões isotópicos, a concordância com os padrões isotópicos simulados, e através disto verificar a presença de dois centros metálicos de níquel para cada complexo juntamente à massa do respectivo ligante coordenado.

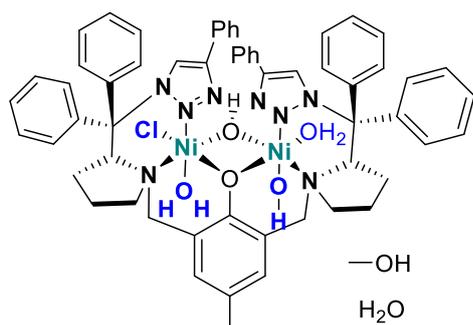
5.3.3 Análise elementar C, H, N

Os complexos foram caracterizados pela técnica de análise elementar para avaliação do teor de cada elemento e da pureza dos compostos, indicados na TABELA 3, a seguir estão representadas as estruturas propostas para os complexos, de acordo com a análise elementar.

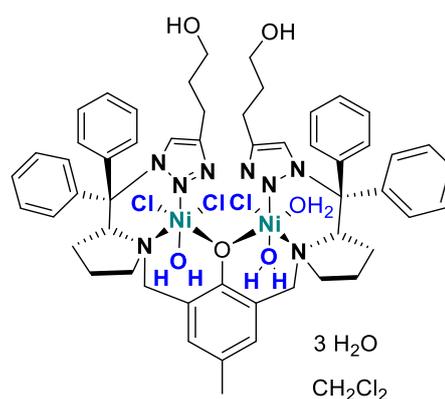
Complexos	Fórmula mínima	C (%)	N (%)		H (%)	
			Experimental	teórico	Experimental	teórico
BTPPh (Ni-Ni) (CH ₃ OH, H ₂ O)	C ₆₀ H ₆₇ ClN ₈ Ni ₂ O ₇	62,24 / (61,85)	9,47 / (9,62)	5,90 / (5,80)		
BTP (Ni-Ni) (3H ₂ O, CH ₂ Cl ₂)	C ₅₄ H ₇₃ Cl ₅ N ₈ Ni ₂ O ₉	51,03 / (50,96)	8,95 / (8,80)	5,83 / (5,78)		
BTB (Ni-Ni) (CH ₃ CO ₂ C ₂ H ₅)	C ₅₉ H ₇₇ Cl ₃ N ₈ Ni ₂ O ₆	57,85 / (58,18)	9,17 / (9,20)	6,54 / (6,37)		
2 BTPPh (Ni-Ni) (3H ₂ O)	C ₅₉ H ₆₁ Cl ₃ N ₈ Ni ₂ O ₄	60,60 / (60,57)	9,36 / (9,58)	5,56 / (5,26)		

TABELA 3: Análise elementar (C, N, H) dos complexos.

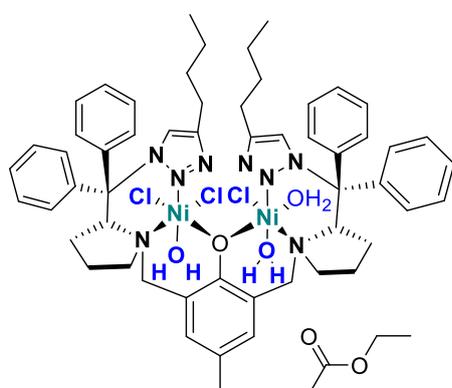
As imagens abaixo representam as estruturas propostas para os complexos sintetizados, de acordo com a composição química, as posições dos ligantes lábeis estão dispostas arbitrariamente.



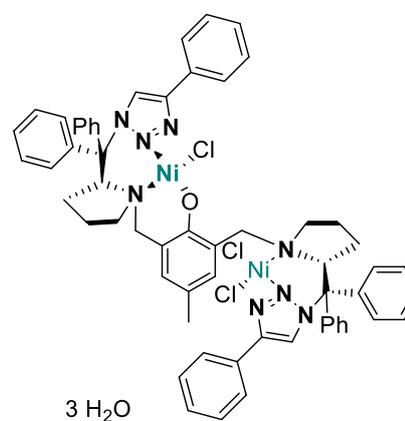
BTPH (Ni-Ni)



BTP(Ni-Ni)



BTB (Ni-Ni)



2 BTPH (Ni-Ni)

A análise elementar de todos os complexos está condizente com os teores propostos teoricamente, indicando também que todos os complexos são binucleares e que os ligantes que completam a esfera de coordenação podem ser íons cloretos, íons hidróxidos ou água.

5.3.4 Análise termogravimétrica (TGA)

5.3.4.1 BTPH(Ni-Ni)

De acordo com o termograma obtido para o complexo BTPH(Ni-Ni), FIGURA 27, o evento de perda de massa na faixa de 33,12°C até 100°C é de 4,93%. Esta perda de massa pode estar associada à perda dos solventes que estão interagindo com o complexo: Uma molécula de água e uma de metanol (valor teórico: 4,30%).

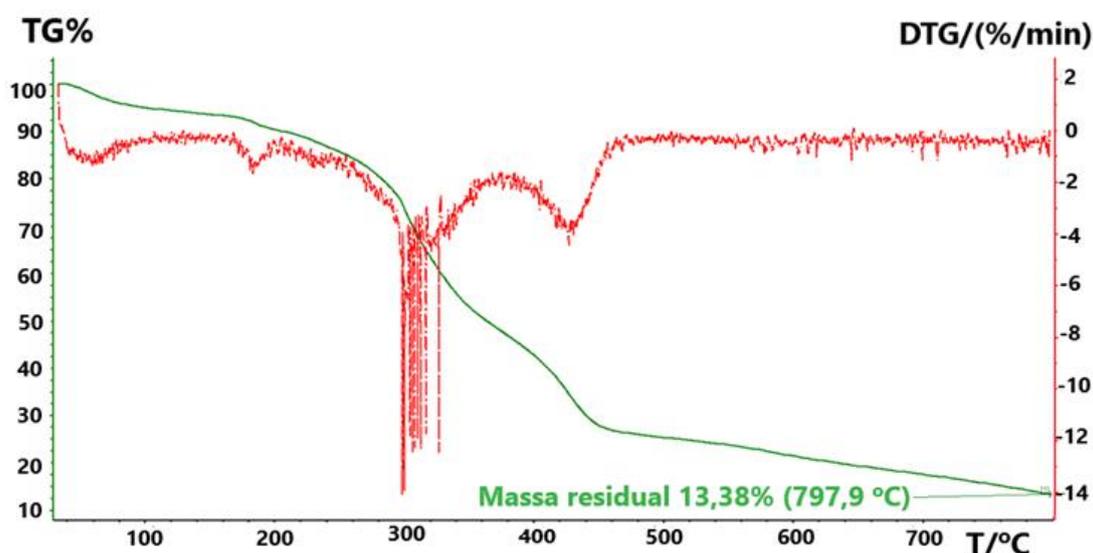


FIGURA 27: Termograma do complexo BTPH(Ni-Ni).

A faixa de temperatura entre 100°C e 250°C apresenta perda de massa de 9,33% e pode ser atribuída à duas moléculas de água, dois íons hidróxidos e um cloreto (valor teórico: 9,05%), coordenados aos centros metálicos⁹¹. A faixa de maior perda de massa é entre 300°C e 400°C, que é referente à decomposição térmica do ligante, no entanto, em torno de 250°C é iniciado este processo, o qual se estende até à temperatura final. A massa residual corresponde à dois equivalentes de óxido de níquel, sendo o valor obtido experimentalmente (13,38%) próximo ao valor calculado 12,82%. Estes resultados estão de acordo

com a análise elementar, corroborando à existência de moléculas associadas ao complexo.

5.3.4.2 BTP(Ni-Ni)

De acordo com o termograma obtido para o complexo BTP(Ni-Ni) (FIGURA 28), a perda de massa na faixa de temperatura entre 43,61°C à 120°C (valor obtido: 9,16%) pode ser atribuída à perda de uma molécula de diclorometano e três moléculas de água (valor teórico: 10,91%) que podem estar interagindo com o complexo. Pela análise elementar (CHN), também foi possível verificar a presença de moléculas de água que possivelmente estão interagindo com o complexo BTP(Ni-Ni), o qual possui grupos O-H que permitem interações de hidrogênio com moléculas de água. A perda de massa na faixa de temperatura entre 120°C e 280°C (valor obtido: 12,29%) pode ser atribuída à três moléculas de água e três íons cloreto coordenados aos centros metálicos (valor teórico: 12,60%).

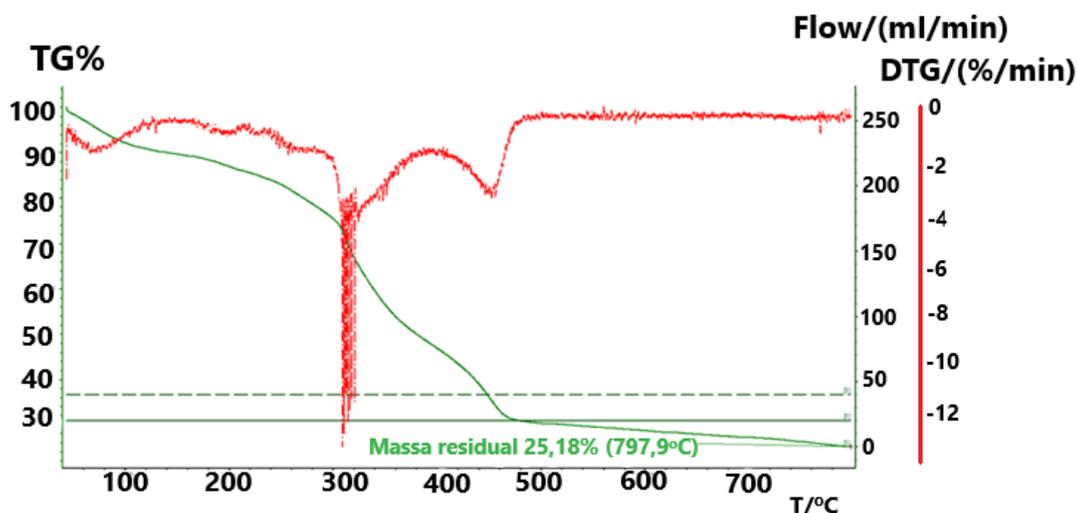


FIGURA 28: Termograma do complexo BTP(Ni-Ni).

O maior evento de perda de massa ocorre na faixa de temperaturas de 280°C a 480°C e pode ser atribuído à decomposição térmica do ligante. No entanto, conforme observado no termograma (FIGURA 28), na faixa de

temperaturas de 480°C até 797,9°C ainda há perda massa de 5,7%. Devido a análise ter sido feita em atmosfera de nitrogênio, a decomposição pode ocorrer mais lentamente, portando provavelmente até a temperatura de 797°C, pode ser que o ligante ainda não tenha sido completamente decomposto, uma vez que a massa residual ainda pode conter resíduos do ligante.

5.3.4.3 BTB(Ni-Ni)

O termograma obtido para o complexo BTB(Ni-Ni) na FIGURA 29 apresenta inicialmente na faixa de temperatura de 36,94°C até 100°C perda de massa de 7,08% que pode ser atribuída à perda de massa de uma molécula de acetato de etila (7,23%) que pode estar interagindo com o complexo. A presença de uma molécula de acetato de etila também foi evidenciada por espectroscopia na região do IV e pela análise elementar, corroborando com a análise termogravimétrica.

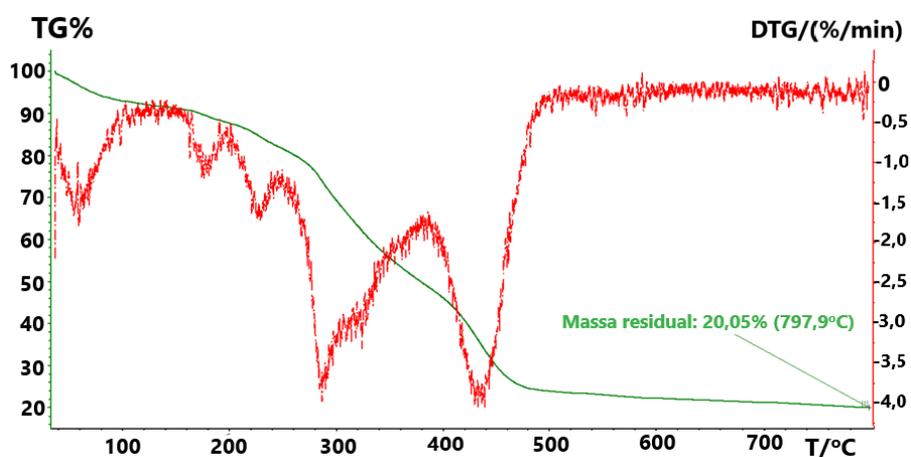


FIGURA 29: Termograma do complexo BTB(Ni-Ni).

A faixa de temperatura entre 100°C e 260°C apresenta perda de massa de 12,87%, a qual pode ser atribuída à três moléculas de água e três íons cloretos coordenados aos centros metálicos (valor teórico 13,17%). A faixa de temperatura entre 260°C e 480°C apresenta o evento de maior perda de massa que provavelmente refere-se à decomposição do ligante. A massa residual ainda

deverá conter resíduos do ligante que ainda não foi completamente consumido, além de dois equivalentes de óxidos de níquel.

5.3.4.4 2BTPPh(Ni-Ni)

O termograma obtido para o complexo 2 BTPPh(Ni-Ni) (FIGURA 30) apresenta perda de massa de 4,05% na faixa de temperatura de 52,53°C até 100°C a qual pode ser atribuída à perda de três moléculas de água (valor calculado: 4,56%). A faixa de temperatura entre 100°C e 230°C é de 9,09% e pode ser atribuída a perda de três íons cloretos coordenados aos centros metálicos (valor calculado: 10,12%).

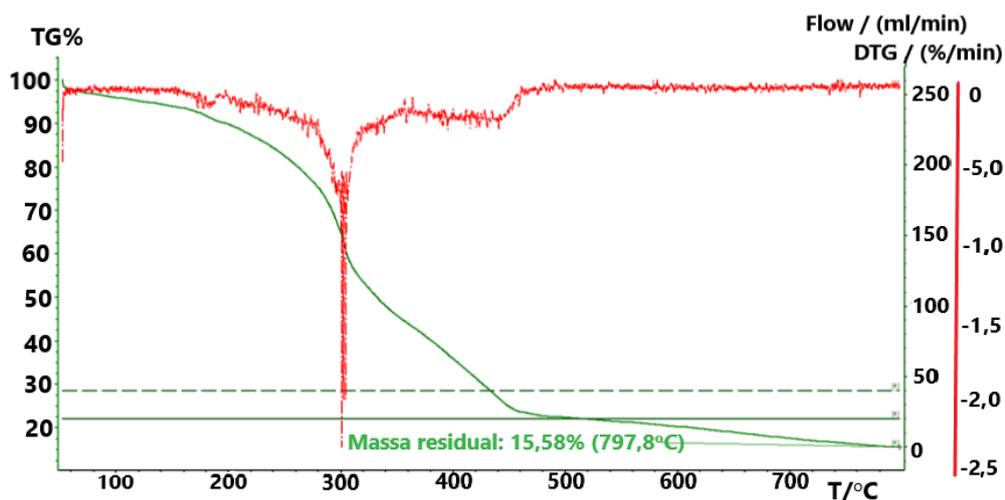


FIGURA 30: Termograma do complexo 2 BTPPh(Ni-Ni).

O evento de maior perda de massa ocorre a partir de 230°C até em torno de 480°C, o qual pode ser atribuído à perda de massa do ligante, no entanto, até o final da análise na faixa de 480°C até 797,8°C, ainda é observada perda de massa de 7,18%, indicando que possivelmente ainda está ocorrendo perda de massa do ligante, sendo que a massa residual ainda deverá conter resíduos do ligante, além do óxido de níquel gerado. As análises termogravimétricas estão em concordância com a análise elementar para todos os complexos.

5.3.5 Espectroscopia vibracional na região do IR

Os estiramentos de algumas ligações dos ligantes e dos complexos estão resumidos na TABELA 4:

Vibrações	BTPH(Ni-Ni) BTPH	BTP(Ni-Ni) BTP	BTB(Ni-Ni) BTB (cm ⁻¹)	2BTPH(Ni-Ni) BTPH	BTPOH
v O-H	3428	3376	3386	3459	
	3465	3404	3466	3465	3362
v C-H (arom.)	3057, 3034	3059, 3034	3058	3060, 3033	
	3057, 3034	3064, 3032	3061	3057, 3034	3057
v C-H (alif.)	2967, 2919	2950, 2867	2957, 2928	2955, 2923	
	2965, 2917	2950, 2865	2957, 2930	2959, 2917	2960
v C=C (arom.)	1483, 1448	1493, 1448	1491, 1448	1480, 1447	
	1479, 1448	1495, 1448	1492, 1448	1482, 1447	1479, 1448
v C=N (arom)	1653	1652, 1598	1599	1651	
	1675	1670	1613	1675	1588
v C-O (fenol)	1239	1235	1232	1234	
	1226	1224	1223	1226	1221

TABELA 4: Estiramentos de algumas ligações dos complexos e dos ligantes.

Conforme observado na TABELA 4, os estiramentos da ligação C=N dos anéis triazólicos substituídos com grupos fenil e fenol dos ligantes BTPH e BTPOH são 1675 e 1588 cm^{-1} , respectivamente, os quais são substituintes dos anéis triazólicos e que se diferenciam basicamente pela substituição do anel. Os grupos hidróxi são fortemente ativantes, pois os elétrons não ligantes do oxigênio participam da ressonância do anel aromático⁷⁰. Devido à conjugação entre estes anéis, o anel triazólico recebe densidade eletrônica e o caráter de dupla ligação da ligação C=N é diminuído, portanto a frequência vibracional desta ligação é diminuída. A ligação C=N do anel triazólico substituído com o grupo fenil, portanto, possui maior frequência vibracional, sendo maior o caráter de dupla ligação.

Os espectros vibracionais dos complexos e dos ligantes na região do infravermelho estão apresentados nas FIGURAS 31, 32, 33 e 34. Pela comparação entre estes espectros é observado basicamente o deslocamento de absorções referentes à estiramentos de ligações dos pontos de coordenação dos ligantes. Além das bandas dos estiramentos característicos dos ligantes, os complexos apresentam bandas alargadas com frequências entre 3459 e 3355 cm^{-1} que podem ser tentativamente atribuídas à possíveis moléculas de água coordenadas, corroborando com a análise elementar e a análise termogravimétrica. O estiramento da ligação Ni-N (coordenação do nitrogênio do anel triazólico ao níquel (II)) é atribuído à região entre 325 e 210 cm^{-1} nos espectros vibracionais⁷¹. Nos espectros não foi possível a observação de tal estiramento devido à faixa de análise do equipamento iniciada em 400 cm^{-1} .

5.3.5.1 BTPH (Ni-Ni)

Conforme observado no espectro (FIGURA 31), o ligante BTPH apresenta uma banda em 3465 cm^{-1} característica de estiramentos da ligação OH, a qual pode ser atribuída ao fenol. O complexo BTPH (Ni-Ni) apresenta também uma

banda em 3428 cm^{-1} atribuída à estiramentos da ligação OH. No entanto, o ligante foi desprotonado durante a síntese do complexo, deste modo, possivelmente coordenado como fenolato, então a banda alargada em 3428 cm^{-1} pode ser atribuída à moléculas de água ou metanol coordenadas, completando a esfera de coordenação dos centros metálicos. No complexo, a banda se apresenta alargada, indicando que pode haver ligações de hidrogênio entre esses grupos e/ou estiramentos sobrepostos em frequências próximas.

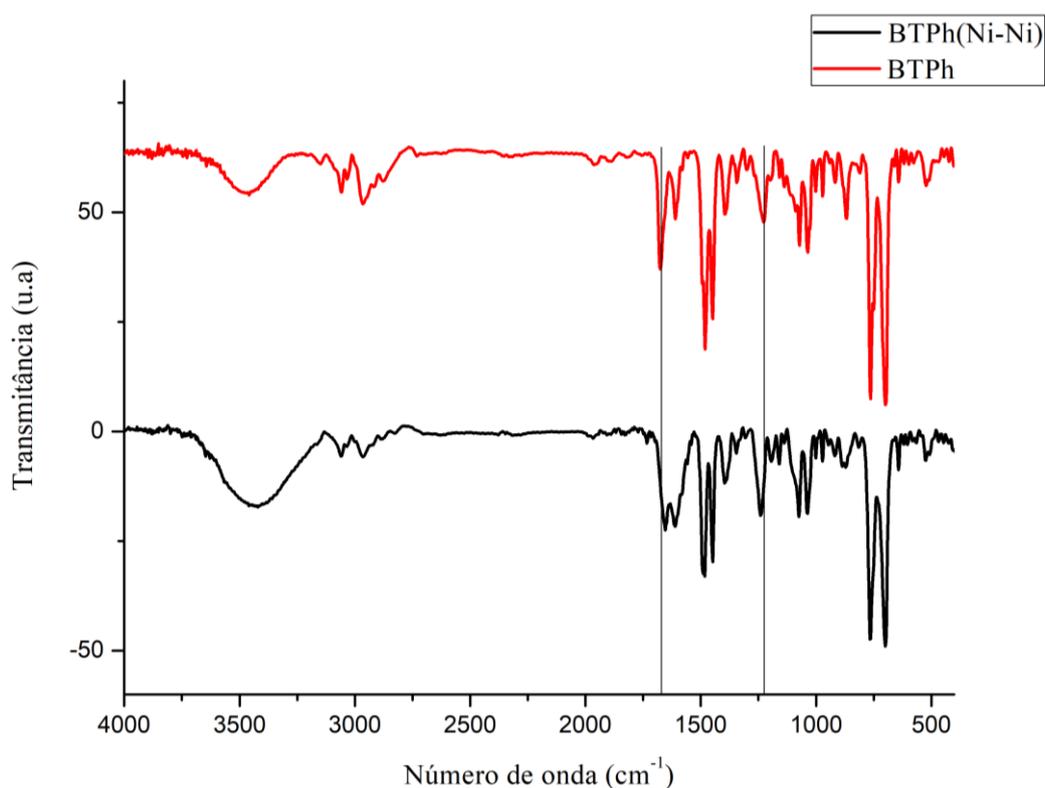


FIGURA 31: Espectros vibracionais BTPPh e BTPPh (Ni-Ni).

O estiramento referente à ligação $\text{C}=\text{N}$ em 1675 cm^{-1} do anel triazólico do ligante é deslocado para menor frequência vibracional, sendo de 1653 cm^{-1} quando complexado. O nitrogênio do anel triazólico além de possuir caráter doador σ , também possui caráter π aceptor, deste modo, tal deslocamento da frequência vibracional pode ser atribuído ao efeito de retrodoação do metal para

orbitais $2p\pi^*$ da ligação $C=N$ ⁷², diminuindo o caráter de dupla ligação desta ligação.

O estiramento da ligação C-O (fenol) do ligante apresenta frequência de 1226 cm^{-1} no ligante, após a complexação há o deslocamento desta banda para maior frequência, sendo de 1239 cm^{-1} sendo que o oxigênio doa densidade eletrônica aos metais, sendo assim, é aumentada a rigidez do ligante após a coordenação, aumentando assim a frequência da vibração desta ligação.

5.3.5.2 BTP (Ni-Ni)

A FIGURA 32 apresenta o espectro vibracional na região do infravermelho para o complexo BTP(Ni-Ni). A análise dos deslocamentos dos estiramentos da ligação O-H para este complexo torna-se dificultada, pois a banda em 3376 apresenta-se alargada e pode ser atribuída ao estiramento da ligação O-H do substituinte (propanol) dos anéis triazólicos após a complexação e à moléculas de água que também podem estar interagindo por ligações de hidrogênio com moléculas de água de hidratação. A análise elementar para este complexo também indica a presença de tais moléculas.

O estiramento da ligação $C=N$ do anel triazólico do ligante apresenta frequência de 1670 cm^{-1} , enquanto que o complexo apresenta duas bandas intensas deslocadas para frequências menores em 1652 e 1598 cm^{-1} que também podem ser atribuídas aos estiramentos das ligações $C=N$ após a complexação, indicando que houve a coordenação do níquel aos nitrogênios dos anéis triazólicos. Algumas bandas atribuídas à estiramentos da ligação $C=N$ do anel triazólico se apresentam como dubletes, ou ombros nos espectros dos complexos e dos ligantes, os quais podem ser atribuídos à deformações simétricas ou assimétricas desta ligação, ou ainda podem ocorrer devido ao acoplamento da vibração desta ligação com a deformação angular de ligações $C-H$ ⁷³.

O estiramento da ligação C-O (fenol) do ligante apresenta-se em 1224 cm^{-1} , enquanto que no complexo esta ligação apresenta-se em 1235 cm^{-1} indicando a coordenação dos níqueis ao fenolato.

O estiramento da ligação Ni-N (coordenação do anel triazólico ao níquel) é atribuído à região entre 325 e 210 cm^{-1} do espectro vibracional⁷¹. Nos espectros obtidos, no entanto, não foi possível a observação de tal estiramento devido à faixa de análise do equipamento iniciada em 400 cm^{-1} .

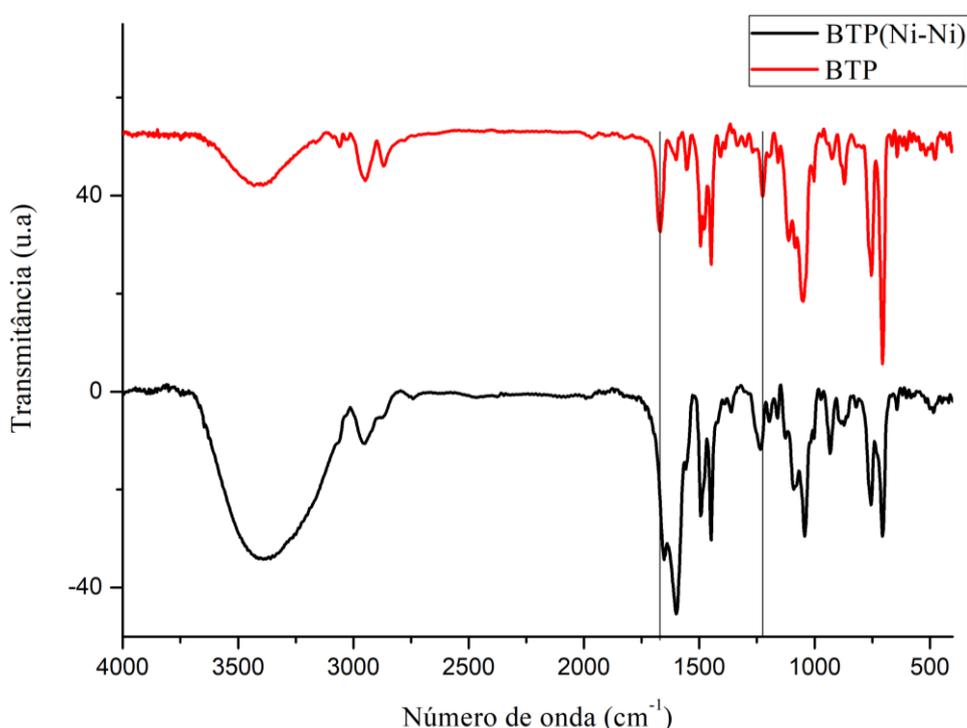


FIGURA 32: Espectros vibracionais BTP e BTP (Ni-Ni).

5.3.5.3 BTB (Ni-Ni)

O espectro vibracional do complexo BTB(Ni-Ni) (FIGURA 33) apresenta menor variação da frequência vibracional da ligação C=N quando comparada aos demais complexos. A ligação C=N, após a coordenação do nitrogênio (piridínico) do anel triazólico ao centro metálico, é capaz de promover retrodoação e conforme a natureza do ligante coordenado em posição *trans* à ligação Ni-N_{triazol}, o deslocamento do estiramento da ligação C=N, poderá ser

maior ou menor. O cloreto que além de ser um ligante σ doador, também é π doador de densidade eletrônica, a coordenação deste ligante em posição *trans* à um ligante π acceptor promove maior efeito de retrodoação, enquanto que um ligante doador σ diminui o efeito de retrodoação, com isso, a frequência vibracional destas ligações será influenciada⁷⁴. O estiramento referente à ligação C-O do fenolato apresentou deslocamento para maior frequência, sendo de 1222 do ligante à 1234 cm^{-1} para o complexo, indicando também a coordenação aos níqueis por este ponto de coordenação, em que é aumentada a rigidez da ligação após a coordenação, quando comparada ao ligante livre.

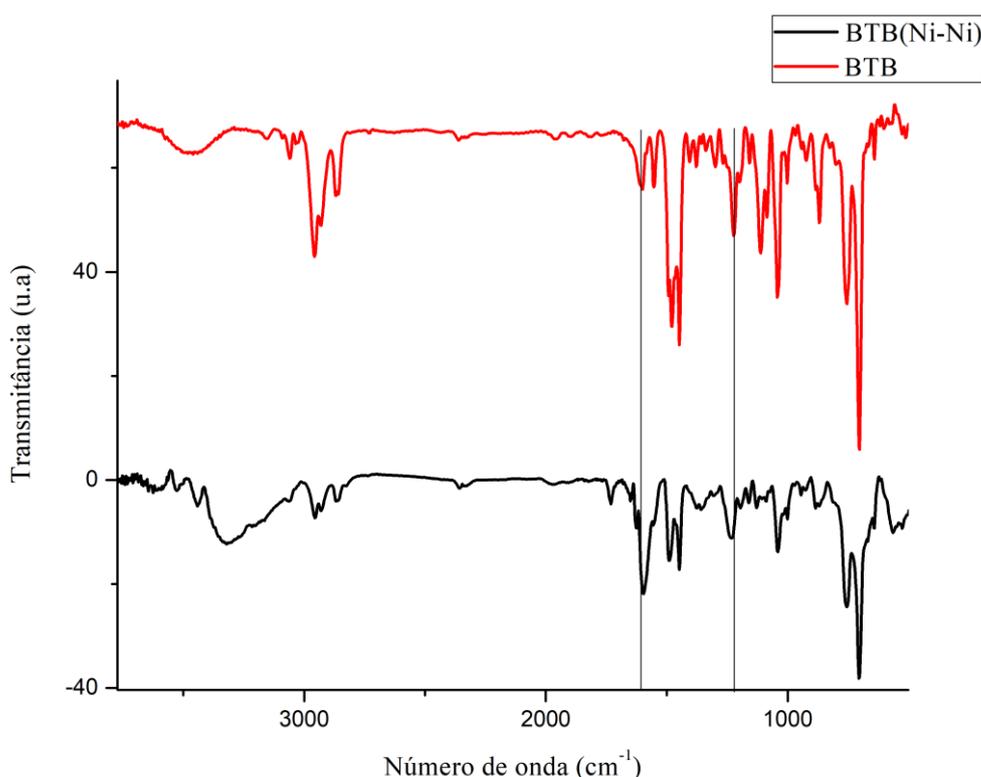


FIGURA 33: Espectros vibracionais BTB e BTB (Ni-Ni).

O espectro do complexo BTB(Ni-Ni), também apresenta uma banda de baixa intensidade em 1736 cm^{-1} que pode ser atribuída ao estiramento C=O da carbonila do acetato de etila residual presente no complexo, conforme observado também na análise elementar e análise termogravimétrica.

5.3.5.4 2BTPH(Ni-Ni)

O complexo 2BTPH(Ni-Ni) possui o espectro vibracional semelhante ao do ligante, conforme observado na FIGURA 34, no entanto, apresenta deslocamento na frequência da banda que pode ser atribuída ao estiramento C-O do fenol de 1225 cm^{-1} do ligante BTPH a 1234 cm^{-1} para o complexo, indicando a coordenação do fenolato ao níquel, em que o oxigênio atua como doador σ ao metal.

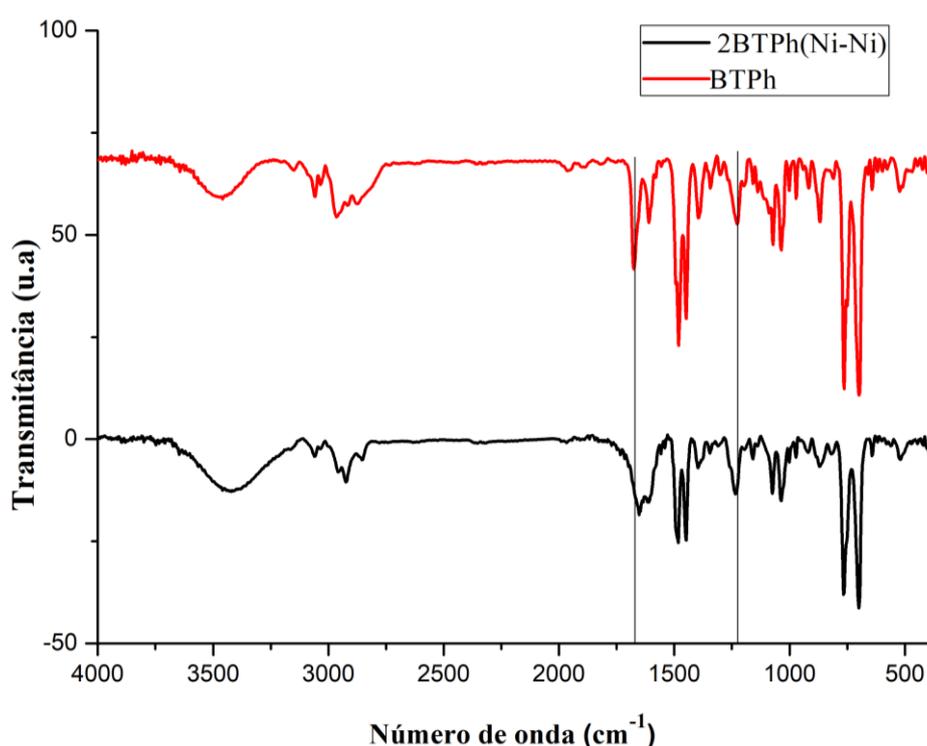


FIGURA 34: Espectros vibracionais BTPH e 2BTPH (Ni-Ni).

O espectro vibracional também apresenta o deslocamento da banda atribuída à ligação C=N do anel triazólico, em que no ligante, apresenta frequência de 1675 cm^{-1} e no complexo, a frequência é de 1651 cm^{-1} indicando também a coordenação do nitrogênio ao centro metálico, assim como nos demais complexos.

5.3.6 Espectroscopia eletrônica UV-Vis

Os espectros eletrônicos na região do UV-Vis dos complexos BTPPh(Ni-Ni), BTP(Ni-Ni), BTB(Ni-Ni) e 2BTPPh(Ni-Ni) foram obtidos em diclorometano, em distintas concentrações para a determinação das absorvidades molares apresentadas na TABELA 5.

Conforme observado nos espectros eletrônicos dos complexos, as bandas intensas, que aparecem na região de 248nm, 288nm e 290nm apresentam elevados valores de absorvidade molar, são referentes às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ dos anéis aromáticos dos ligantes, sendo que estas bandas também são observadas nos espectros eletrônicos dos ligantes nos mesmos comprimentos de onda, pois a coordenação do ligante ao metal não desloca estas bandas. No entanto, para os espectros eletrônicos dos complexos, surgem novas bandas que podem ser atribuídas à transições d-d em comprimentos de onda maiores, menos energéticas e que apresentam menores absorvidades molares para estas bandas, indicando a formação dos complexos.

Pelo diagrama de Tanabe-Sugano, para complexos Ni^{2+} , sistema d^8 , e ambiente octaédrico o estado fundamental é o $^3A_{2g}(F)$, as transições permitidas são aquelas que ocorrem entre o estado fundamental e os estados excitados que possuem a mesma multiplicidade de spin. Sendo assim, três transições são possíveis: $^3A_{2g}(F) \rightarrow ^3T_{1g}(P)$; $^3A_{2g}(F) \rightarrow ^3T_{1g}(F)$ e $^3A_{2g}(F) \rightarrow ^3T_{2g}(F)$, onde (F) e (P) indicam os estados 3F e 3P , respectivamente, essa última transição, no entanto, não pode ser observada no espectro na região do ultravioleta visível, pois está próxima à região do infravermelho (faixa entre 769nm e 1250nm)⁷⁵.

As bandas referentes às transições d-d auxiliam na análise da geometria dos complexos em torno do centro metálico. Para a geometria octaédrica estas bandas costumam aparecer nas faixas entre 400nm - 333nm; 666nm - 526nm e

769nm -1250nm. As absorptividades molares correspondentes à esta geometria são inferiores a $20 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \text{ L}$ para octaedros perfeitos⁶⁴, no entanto, para octaedros distorcidos estas absorptividades molares são inferiores à $100 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \text{ L}$. Os complexos BTPPh(Ni-Ni), BTP(Ni-Ni) e BTB(Ni-Ni) apresentam essas bandas de transição d-d nestas faixas e com os respectivos valores de absorptividade molar inferiores à $100 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \text{ L}$, indicando que possivelmente estes complexos possuem os centros metálicos em ambientes octaédricos distorcidos.

A TABELA 5 apresenta os comprimentos de onda e as absorptividades molares das transições observadas nos espectros eletrônicos para cada complexo.

Complexos	$\pi \rightarrow \pi^*_{C=C}$	LMCT	d \rightarrow d
λ (nm) (ϵ_{\max} mol ⁻¹ cm ⁻¹ L)			
BTPPh(Ni-Ni)	248(30360)	348(175,39)	660(52,819)
	288(5094,4)	410(110,07)	708(55,365)
BTP(Ni-Ni)	288(3380)	392(131,01)	662(35,144)
			702(33,143)
BTB(Ni-Ni)	290(5057)	348(279,83)	522(76,494);
			562(78,676)
			652(54,817);
			702(43,78)
2BTPPh(Ni-Ni)	248(36582)	330(1777)	518(211,96)
	288(7203,8)	(ombro)	548 (ombro)

TABELA 5: Comprimentos de onda e absorvidade molar das bandas apresentadas nos espectros eletrônicos dos complexos.

5.3.6.1 2BTPPh(Ni-Ni)

O complexo 2BTPPh(Ni-Ni) (FIGURAS 35 e 36) apresenta bandas em 248 e 288 nm que podem ser atribuídas à transições eletrônicas internas $\pi \rightarrow \pi^*$ de anéis aromáticos. Esta região do espectro se assemelha ao espectro eletrônico do ligante na mesma região, em que as bandas atribuídas à esta transição não são deslocadas após a coordenação aos centros metálicos. Os espectros obtidos com concentrações mais elevadas do ligante não apresentam bandas em comprimentos de onda mais altos.

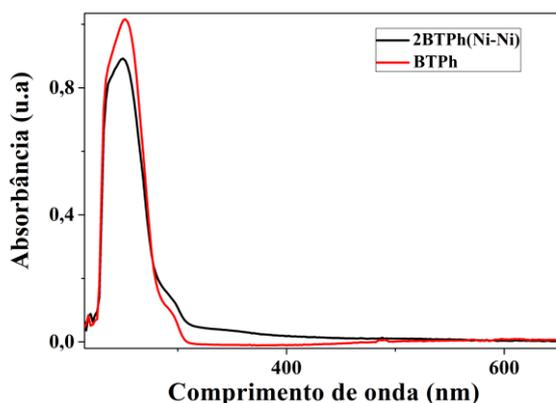


FIGURA 35: Espectro eletrônico na região do UV-Vis do complexo 2BTPh(Ni-Ni) e do ligante BTPh, obtidos em diclorometano.

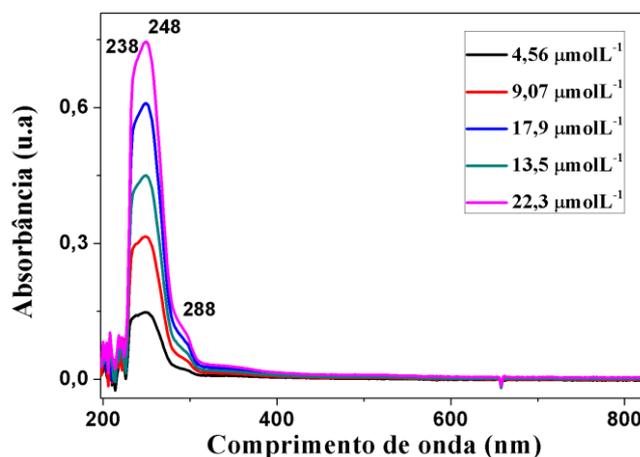


FIGURA 36: Espectro eletrônico na região do UV-Vis do complexo 2BTPh(Ni-Ni), obtido em diclorometano.

Para complexos de níquel (II) com geometria quadrado planar, os espectros eletrônicos costumam apresentar apenas uma banda referente à transição d-d, e esta banda aparece na faixa entre 400 e 600 nm⁷⁶.

Essa faixa pode ser complicada pois pode haver também bandas de transferência de carga metal ligante. O complexo 2BTPh(Ni-Ni) apresenta uma banda em 518 nm e um ombro em 548 nm, estando deste modo nessa faixa, conforme observado no espectro eletrônico (FIGURA 37). Desta forma, possivelmente os dois centros metálicos possuem a geometria quadrado planar, sendo a absorvidade molar destas bandas condizentes com essa geometria.

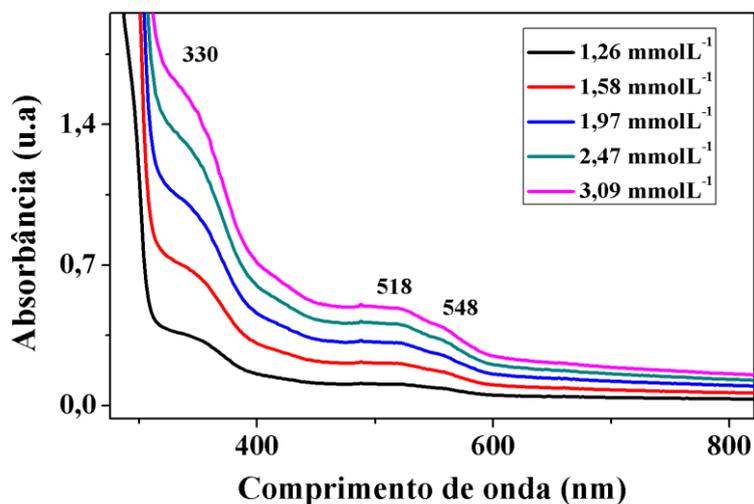


FIGURA 37: Espectro eletrônico na região do UV-Vis do complexo 2BTPh(Ni-Ni), obtido em diclorometano.

Conforme o espectro (FIGURA 37) também é observado um ombro em 330 nm ($1777 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \text{ L}$) característico de transições de transferência de carga ligante-metal. Foi feito o estudo de solvatocromismo de modo à avaliar a influência dos solventes (anidros) no deslocamento da banda (ombro) (FIGURA 38): Diclorometano, tetrahydrofurano e cloroformio, os quais não são coordenantes. O solvatocromismo é gerado pela solvatação diferencial do composto (ou cromóforo) no estado fundamental e no estado excitado e pode ser explicado pela diferença na interação soluto-solvente nestes dois estados, em que a polaridade do solvente pode estabilizar mais ou menos o composto nestes dois estados, e assim alterar a energia de absorção⁷⁷.

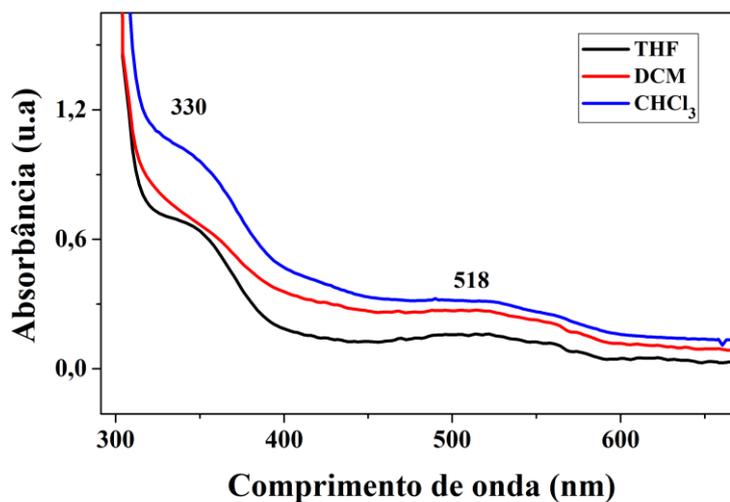


FIGURA 38: Espectro eletrônico na região do UV-Vis do complexo 2BTPh(Ni-Ni), obtido em tetrahydrofurano, diclorometano e clorofórmio.

Apesar de a análise se tornar complicada por se tratar de um ombro (330 nm), ainda é possível observar alteração na definição, quando a análise é feita em diclorometano, indicando que pode ter ocorrido a influência do solvente nesta transição, visto que as demais bandas atribuídas às transições d-d (518 e 548 nm) não foram deslocadas com a variação do solvente.

5.3.6.2 BTB(Ni-Ni)

Assim como o complexo 2BTPh(Ni-Ni), o complexo BTB(Ni-Ni) apresenta uma banda em 290 nm atribuída às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ semelhantes às observadas para o ligante. Esta banda não apresenta deslocamento após a complexação, conforme apresenta a FIGURA 39.

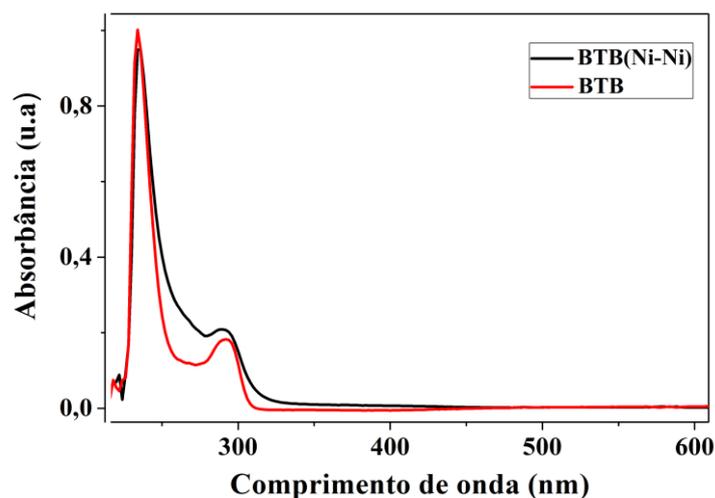


FIGURA 39: Espectros eletrônicos na região do UV-Vis do complexo BTB(Ni-Ni) e do ligante BTB, obtidos em diclorometano.

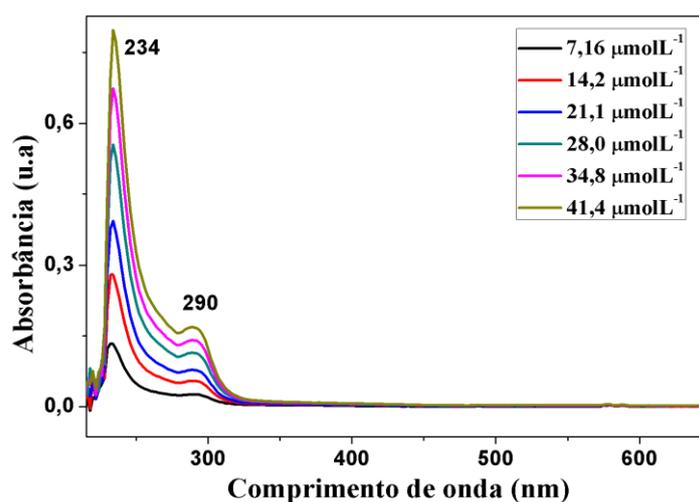


FIGURA 40: Espectro eletrônico na região do UV-Vis do complexo BTB(Ni-Ni), obtido em diclorometano.

O complexo BTB(Ni-Ni) apresenta bandas e absorvidade molar 522($\epsilon=76,494$), 562($\epsilon=78,676$), 652($\epsilon=54,817$) e 702 nm ($\epsilon=43,78$) (FIGURA 41) que podem ser atribuídas à transições d-d em ambiente octaédrico. A quantidade destas bandas indica que os centros metálicos podem estar distintos entre si em relação à densidade eletrônica, sendo que se difere pela natureza dos

ligantes coordenados a estes centros metálicos, ou ainda pode haver o equilíbrio entre espécies distintas do complexo em solução.

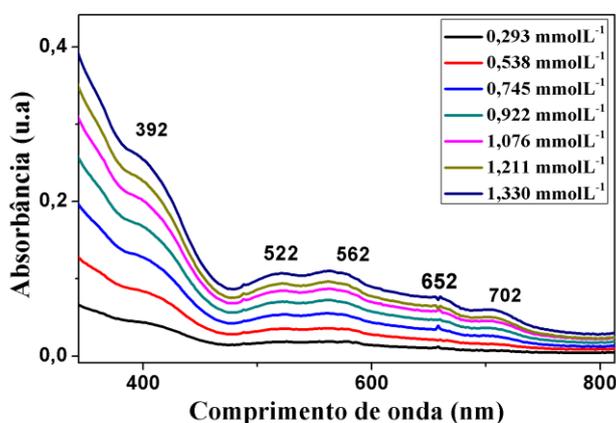


FIGURA 41: Espectro eletrônico na região do UV-Vis do complexo BTB(Ni-Ni), obtido em diclorometano.

5.3.6.3 BTPH(Ni-Ni)

As bandas observadas nos comprimentos de onda de 248 e 288 nm do espectro eletrônico do complexo BTPH(Ni-Ni) (FIGURAs 42 e 43) estão relacionadas às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ dos cromóforos C=C dos anéis aromáticos, estas transições possuem elevados valores de absorvidade molar, pois são completamente permitidas pelas regras de seleção (Laporte e spin). As bandas apresentadas nessa região são semelhantes às do ligante BTPH, pois estes tipos de bandas não são deslocadas após a complexação.

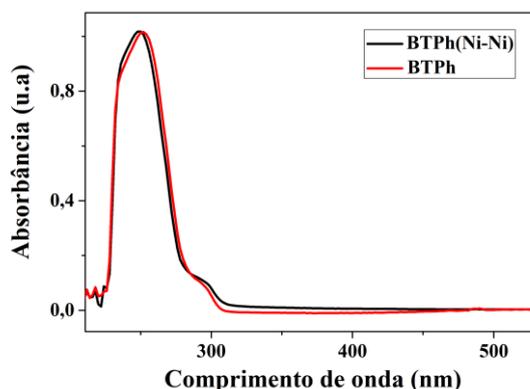


FIGURA 42: Espectro eletrônico na região do UV-Vis do complexo BTPH(Ni-Ni) e do ligante BTPH(Ni-Ni), obtido em diclorometano.

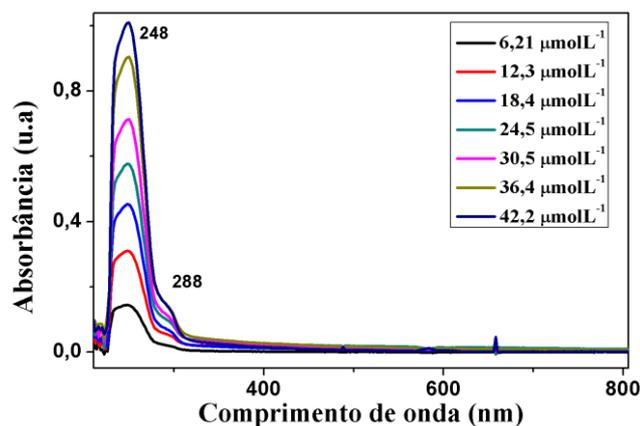


FIGURA 43: Espectro eletrônico na região do UV-Vis do complexo BTPH(Ni-Ni), obtido em diclorometano.

O complexo BTPH(Ni-Ni) apresenta bandas (ombros) em 348 e 410 nm (FIGURA 44) que podem ser atribuídas à transições d-d ${}^3A_2g(F) \rightarrow {}^3T_1g(P)$. Bandas atribuídas à transferência de carga geralmente apresentam valores de absorvidade molar mais elevados em relação aos obtidos para estas bandas. Deste modo, estes valores de absorvidade molar, condizem com valores para bandas atribuídas à transições d-d.

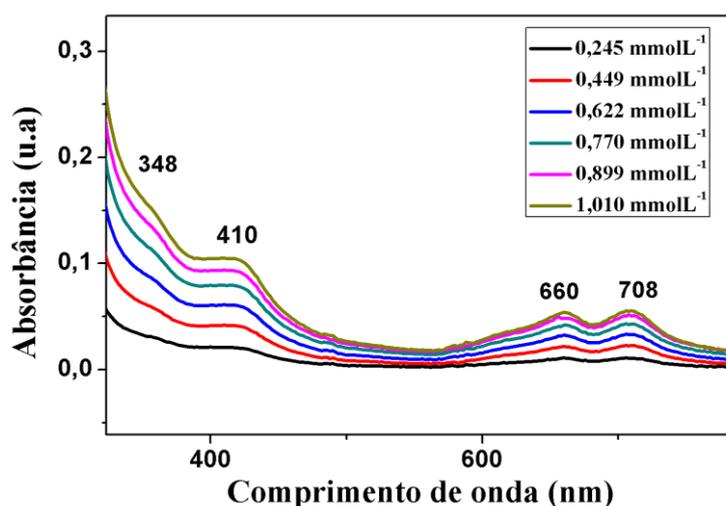


FIGURA 44: Espectro eletrônico na região do UV-Vis do complexo BTPH(Ni-Ni), obtido em diclorometano.

As bandas em 660 e 708nm também são atribuídas à transições d-d para o Ni^{2+} em ambiente octaédrico, as quais se apresentam geralmente nesta região do

espectro com valores de absorvidades molares característicos. São apresentadas duas bandas, de modo que cada qual pertence à transição de um centro metálico, demonstrando assim, que estes centros metálicos são assimétricos.

5.3.6.4 BTP(Ni-Ni)

Conforme observado entre os espectros obtidos, o perfil das bandas mais energéticas atribuídas às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ dos complexos BTB(Ni-Ni) e BTP(Ni-Ni) é distinto do perfil das bandas desta mesma transição para os complexos BTPPh(Ni-Ni) e 2BTPPh(Ni-Ni) que possuem mais uma banda em 248nm. Tal alteração pode ocorrer devido o aumento da conjugação do sistema do anel aromático substituinte fenil do anel triazólico que promove o deslocamento batocrômico desta transição. O aumento da conjugação do sistema promove a aproximação dos níveis eletrônicos do cromóforo, deste modo, a energia necessária para produzir uma transição do orbital HOMO para o LUMO diminui e o comprimento de onda da luz absorvida é aumentada⁷⁸. As bandas atribuídas à transições observadas no ligante, também não foram deslocadas após a coordenação, para a formação do complexo BTP(Ni-Ni), conforme apresenta a FIGURA 45.

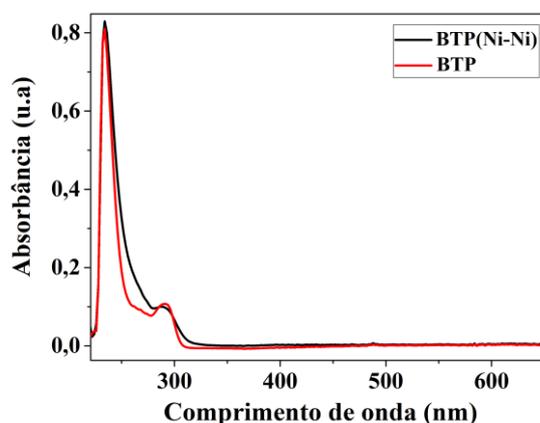


FIGURA 45: Espectro eletrônico na região do UV-Vis do complexo BTP(Ni-Ni) e do ligante BTP, obtidos em diclorometano.

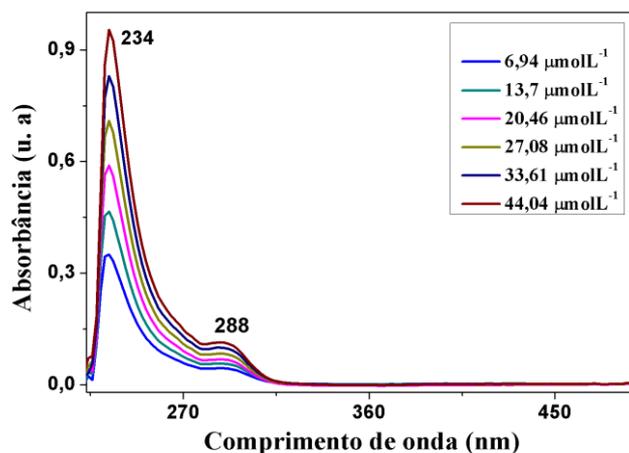


FIGURA 46: Espectro eletrônico na região do UV-Vis do complexo BTP(Ni-Ni), obtido em diclorometano.

O espectro eletrônico do complexo BTP(Ni-Ni) (FIGURA 47) apresenta uma banda em 392 nm e aparentemente um ombro encoberto ao lado desta. Esta banda pode ser atribuída à transição d-d ${}^3A_{2g}(F) \rightarrow {}^3T_{1g}(P)$. Devido aos baixos valores de absorvidade molar não podem ser atribuídas à transições de transferência de carga, apesar deste tipo de transição também ocorrer nesta região do espectro eletrônico.

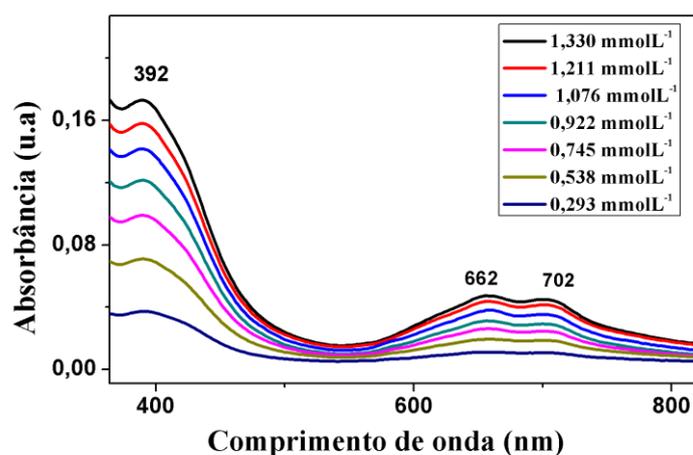


FIGURA 47: Espectro eletrônico na região do UV-Vis do complexo BTP(Ni-Ni), obtido em diclorometano.

Neste espectro eletrônico também são observadas as bandas referentes à transições d-d em 662 nm e 702 nm em ambiente octaédrico, sendo uma banda para cada centro metálico.

Os espectros eletrônicos dos complexos BTPPh(Ni-Ni) e BTP(Ni-Ni) também foram obtidos em distintos solventes sendo tetrahydrofurano e clorofórmio respectivamente para estes complexos, de modo a avaliar o efeito de solvatochromismo para confirmar as transições d-d das bandas (ombros) nas regiões de 348 e 410 nm BTPPh(Ni-Ni) e 392 nm BTP(Ni-Ni).

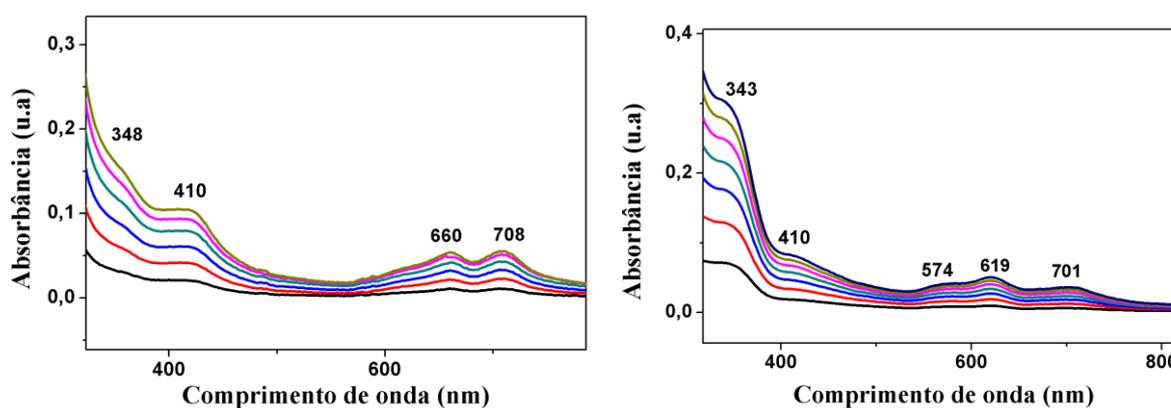


FIGURA 48: Espectro eletrônico na região do UV-Vis do complexo BTPPh(Ni-Ni), obtido em diclorometano (esquerda) e tetrahydrofurano (direita).

Conforme observado no espectro eletrônico obtido em tetrahydrofurano (FIGURA 48, direita), quando comparado ao espectro do mesmo complexo obtido em diclorometano (esquerda), verifica-se o surgimento de uma banda em 574 nm, a qual possivelmente estava encoberta no espectro obtido em diclorometano, pois é observado um alargamento da banda em 660 nm neste espectro. Ao ser realizada a análise em tetrahydrofurano houve o aumento da intensidade desta banda em 574 nm (direita), sendo mais definida no espectro, já a banda em 619 nm (direita), também possivelmente apresentou um aumento na intensidade, enquanto que no espectro em diclorometano, a banda em 660 nm pode ter diminuído a intensidade de modo à não ser observada no espectro

(direita). As transições d-d não envolvem redistribuição de carga influenciadas pelas constantes dielétricas dos solventes, as quais influenciam na energia da transição eletrônica e conseqüentemente no comprimento de onda que se apresentam no espectro eletrônico, deste modo, efeitos do solvente em transições eletrônicas são incluídos para espécies polarizáveis⁷⁹.

O Tetrahidrofurano não é capaz de coordenar-se ao centro metálico, além disso foi previamente seco, deste modo, a alteração do perfil das bandas não ocorre pela troca dos ligantes coordenados aos centros metálicos.

Apesar de as energias das transições d-d serem consideradas quase independentes do solvente, devido este tipo de transição pertencer ao metal e não estar acompanhada por alterações significativas na densidade eletrônica, estudos de cálculos teóricos têm demonstrado que aquo-complexos apresentam a contração e a deformação da primeira esfera de coordenação atribuídas às interações destas moléculas de água coordenadas com moléculas de solvente. O aumento da força de ligação da água coordenada ao centro metálico pelo efeito de solvatação provoca o aumento do gap de energia entre os níveis e_g e t_{2g} para complexos octaédricos e portanto, há uma estabilização do estado de spin mais baixo em relação ao estado de spin mais alto⁸⁰. Os complexos deste trabalho apresentam moléculas de água coordenadas, as quais podem promover ligações de hidrogênio com o THF, no entanto, estas interações não são tão pronunciadas quando comparadas à um aquo-complexo (apenas moléculas de água coordenadas ao centro metálico) solubilizado em água.

Conforme observado na FIGURA 49, pela comparação entre os espectros do complexo BTP(Ni-Ni), obtido em diclorometano (esquerda) e clorofórmio anidro (direita), também foi verificada alteração na definição das bandas atribuídas à transições d-d. Apesar da menor definição, ainda é possível verificar que as bandas (ombros) estão praticamente nos mesmos comprimentos de onda.

A banda (ombro) em 392 nm se manteve praticamente inalterada quando comparados os espectros obtidos em distintos solventes. Deste modo, se estas bandas (ombros) fossem atribuídas à transições de transferência de carga, deveria haver o deslocamento destas bandas.

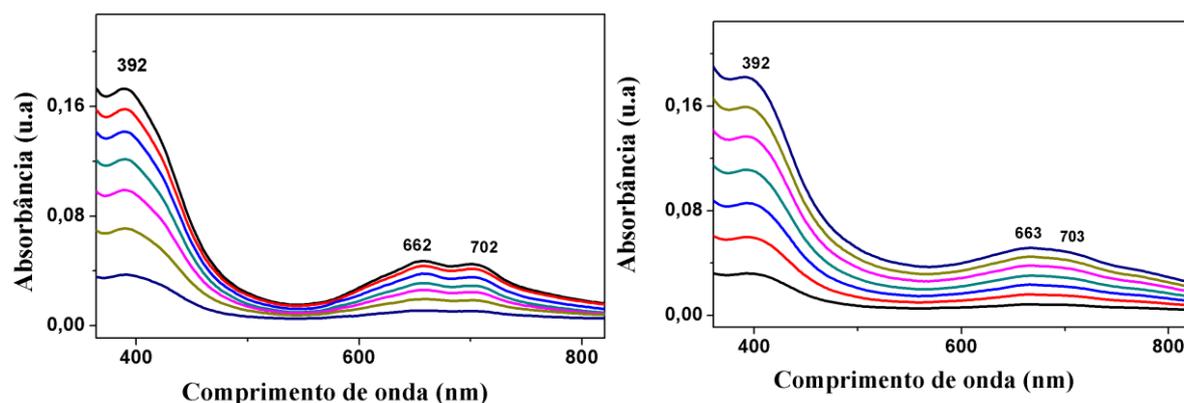


FIGURA 49: Espectro eletrônico na região do UV-Vis do complexo BTP(Ni-Ni), obtido em diclorometano (esquerda) e clorofórmio (direita).

5.3.7 Voltametria cíclica dos ligantes bis triazóis e dos complexos binucleares de níquel

5.3.7.1 2BTPPh(Ni-Ni)

O voltamograma cíclico do ligante BTPPh (FIGURA 51) apresenta dois processos de oxidação em 0,85V e 1,05V. Tais processos podem ser atribuídos à oxidação do fenol à quinona em duas etapas monoeletrônicas, em solvente aprótico anidro. O fenol é *orto-para* dirigente, em que há uma maior localização de densidade eletrônica nestas posições do anel, e, portanto, maior reatividade. No entanto, como estas posições do anel aromático estão substituídas, a oxidação deverá ocorrer primeiramente pela oxidação eletroquímica do fenol ao radical fenoxil, cuja etapa envolve um elétron, seguida de mais uma etapa monoeletrônica para a formação da quinona metídeo⁸¹, conforme apresentado na FIGURA 51.

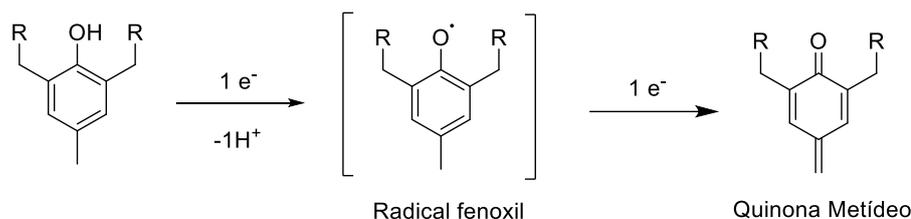


FIGURA 50: Esquema proposto para a oxidação eletroquímica do ligante BTPH adaptado da literatura⁸¹.

O radical fenoxil é uma espécie instável, e conforme as condições do sistema pode polimerizar ou outras espécies podem ser formadas eletroquimicamente⁸². Tais espécies possuem potenciais distintos de redução, nesse sentido, torna-se dificultada a atribuição de tais processos. O processo de oxidação em 1,17V também pode ser atribuído à formação de subprodutos gerados eletroquimicamente no sistema.

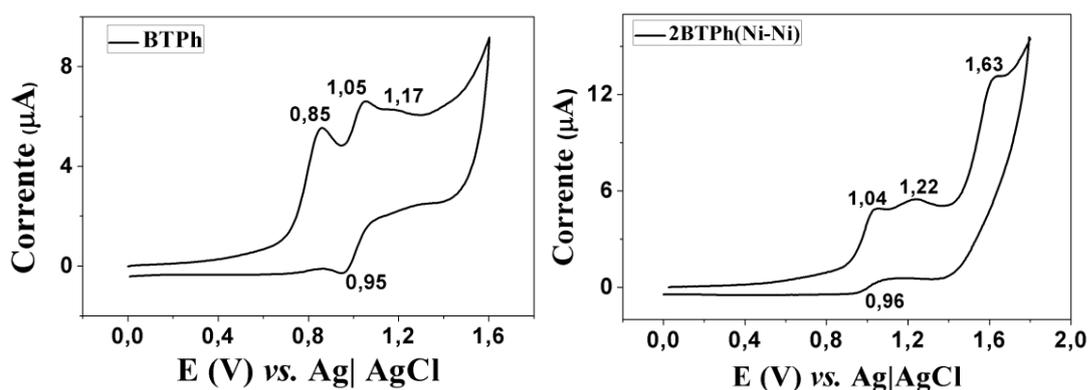


FIGURA 51: Voltamograma cíclico do ligante BTPH (esquerda) e do complexo 2BTPH(Ni-Ni) (direita) obtidos em diclorometano PTBA como eletrólito, eletrodo de trabalho de carbono vítreo.

Conforme observado no voltamograma cíclico do complexo 2BTPH(Ni-Ni) (FIGURA 51, direita), têm-se três processos em 1,04V, 1,22V e 1,63V no sentido anódico.

Apesar de a análise ter sido feita em solvente aprótico anidro, o complexo apresenta moléculas de água de hidratação, conforme evidenciado pela análise

elementar, e estas moléculas de água podem influenciar nas reações eletroquímicas⁸¹. A formação do radical fenoxil pode ser atribuída ao primeiro processo (1,04V). O níquel recebe densidade eletrônica dos ligantes coordenados, inclusive do fenolato, permitindo que seja diminuído o potencial de oxidação deste metal, deste modo, quando ocorre a oxidação do fenolato e formação do radical fenoxil, pode haver a tautomeria entre o radical fenoxil coordenado ao níquel II e o fenolato coordenado ao níquel oxidado (Ni (III))⁸³, conforme observado no esquema abaixo (FIGURA 52). As moléculas de água presentes no meio podem reagir com os radicais formados e com o auxílio de prótons pode ocorrer a desalquilação e formação do diol. O processo centrado em 1,63V no voltamograma cíclico pode ser atribuído à oxidação do diol e formação da benzoquinona. Sendo assim, apenas o níquel que está coordenado ao fenolato é oxidado à níquel (III) gerando o tautomerismo, e o outro níquel, provavelmente será oxidado em potencial mais elevado.

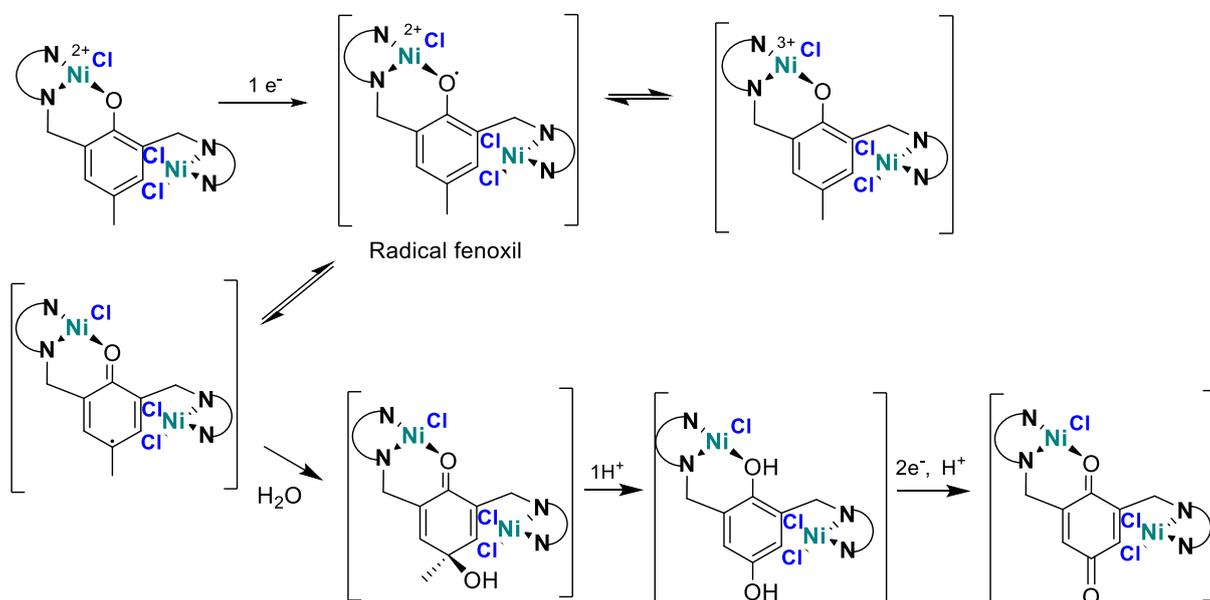


FIGURA 52: Esquema proposto para a oxidação eletroquímica do complexo 2BTPh(Ni-Ni) adaptado da literatura⁸¹.

Quando compara-se os potenciais de oxidação para formação do radical fenoxil entre o ligante (0,85V) e o complexo (1,04V), verifica-se que para o

complexo o potencial de oxidação é maior do que para o ligante, provavelmente devido à doação de densidade eletrônica do oxigênio do fenolato a o níquel, dificultando a oxidação do fenolato.

5.3.7.2 BTB(Ni-Ni)

Os processos de oxidação do voltamograma cíclico do ligante BTB (0,85V e 1,03V) (FIGURA 53, esquerda) também podem ser atribuídos à oxidação do fenol em duas etapas monoelétrônicas. Como o solvente utilizado era aprótico e anidro (DCM), a oxidação deste ligante, na faixa de trabalho analisada possivelmente ocorre de maneira similar ao ligante BTPH. O radical fenoxil é uma espécie instável e deste modo pode haver a formação eletroquímica de outra espécie, a qual pode ser atribuída ao processo em 1,19V observado no voltamograma cíclico.

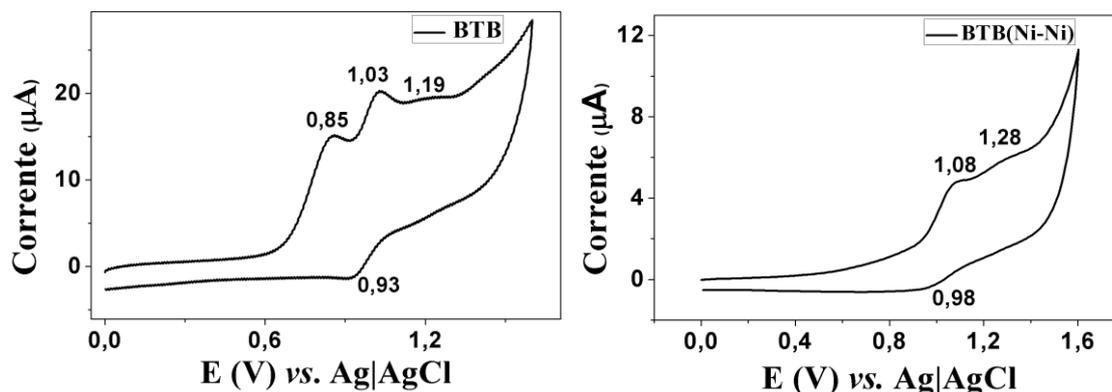


FIGURA 53: Voltamograma cíclicos do ligante BTB (esquerda), e do complexo BTB(Ni-Ni) (direita) obtidos em diclorometano PTBA como eletrólito, eletrodo de carbono vítreo.

O voltamograma cíclico do complexo BTB(Ni-Ni) (FIGURA 53, direita) apresenta dois processos no sentido anódico, sendo que o processo em 1,08V pode ser atribuído à oxidação do fenolato a qual poderá ocorrer em uma etapa que envolve dois elétrons. De acordo com a análise elementar, este complexo não apresenta moléculas de água de hidratação. Desta forma, como as análises

eletroquímicas foram feitas em solvente aprótico e anidro, provavelmente esta oxidação é referente à formação da quinona metídeo. A oxidação do fenolato à quinona é iniciada pelo rompimento da ponte fenolato à pelo menos um dos centros metálicos, com isso, a geometria deste outro centro metálico deverá ser modificada, conforme representado na FIGURA 54.

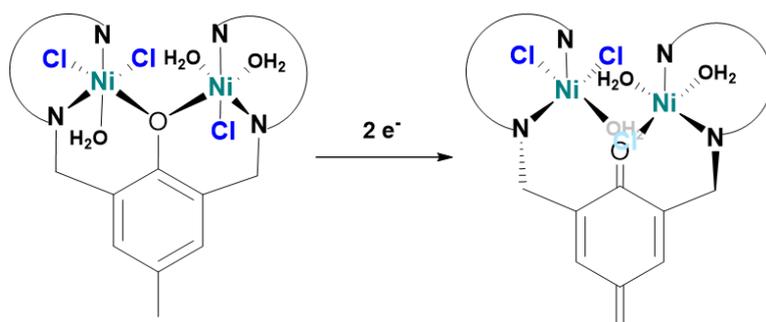


FIGURA 54: Esquema do mecanismo proposto da oxidação eletroquímica do complexo BTB(Ni-Ni).

O processo centrado em 1,28V observado no voltamograma cíclico do complexo apresenta baixa intensidade e pode ser atribuído à oxidação eletroquímica de outra espécie gerada a partir do radical fenoxil, uma vez que se trata de uma molécula instável. Além de ser observada a diferença nos perfis de oxidação entre o ligante e o complexo, também há a diferença nos potenciais de oxidação, sendo aumentados após a complexação do ligante aos centros metálicos de níquel. Nos voltamogramas do complexo BTB(Ni-Ni) não são observados processos que possam ser atribuídos à oxidação dos metais.

5.3.7.3 BTPH(Ni-Ni)

De acordo com o voltamograma cíclico do complexo BTPH(Ni-Ni) (FIGURA 55, direita) são observados processos no sentido anódico nos potenciais de 1,02 e 1,30V. Provavelmente a oxidação deste complexo apresentará perfil semelhante ao da oxidação do complexo BTB(Ni-Ni), sendo que no primeiro processo poderá ocorrer a formação da quinonametídeo, uma

vez que a quantidade de água de hidratação para este complexo é baixa. No entanto, estas moléculas de água podem interferir e gerar eletroquimicamente outra espécie a qual pode ser atribuída o processo em 1,30V.

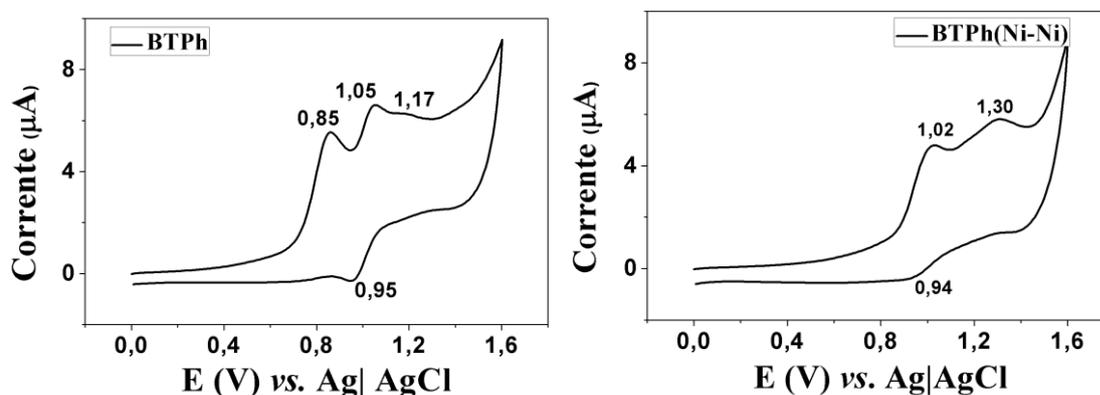


FIGURA 55: Voltamogramas cíclicos do ligante BTPPh, e do complexo BTPPh(Ni-Ni), em diclorometano PTBA como eletrólito, eletrodo de carbono vítreo.

O complexo 2BTPPh(Ni-Ni) apresenta potenciais de oxidação do fenolato (1,04V) semelhantes aos potenciais de oxidação do fenolato para o complexo BTPPh(Ni-Ni) (1,02V). Os modos de coordenação do fenolato aos centros metálicos: em ponte ou coordenado à apenas um níquel, provavelmente não influencia o potencial de oxidação do fenolato. Sugere-se deste modo, que o fenolato no complexo BTPPh(Ni-Ni) esteja coordenado em ponte entre os dois níqueis e deste modo, a densidade eletrônica é distribuída entre os centros metálicos⁸⁴, sendo assim, não foram verificados processos de oxidação referentes à oxidação do Ni(II) a Ni(III), como foi verificado para o 2BTPPh(Ni-Ni).

Visto que a coordenação do fenolato (terminal) ocorre diretamente a um dos centros metálicos para o complexo 2BTPPh(Ni-Ni), a oxidação do níquel é favorecida, pois conforme o metal recebe maior densidade eletrônica, é diminuído seu potencial de oxidação.

Observa-se, por exemplo, em um complexo binuclear de cobre, em que além de os dois centros metálicos estarem conectados via ponte fenolato, há outro fenolato coordenado à apenas um dos centros metálicos de modo monodentado. A estrutura determinada por difração de raios-X deste complexo apresenta os comprimentos da ligação Cu-O_(fenolato) terminal de 1,891 Å e para a ligação Cu-O_(fenolato) em ponte com comprimento da ligação de 1,9615 Å⁸⁵. Assim também é evidenciado o maior caráter doador do oxigênio do fenolato coordenado diretamente ao metal do que quando coordenado em ponte.

5.3.7.4 BTP(Ni-Ni)

As análises eletroquímicas deste ligante também foram feitas em solvente aprótico anidro, e conforme observado pelos espectros de RMN ¹H (apêndice), este ligante não apresenta moléculas de água de hidratação, deste modo, provavelmente o mecanismo de oxidação proposto envolve duas etapas monoelétrônicas para formação da quinonametídeo, assim como para o ligante BTPPh. No entanto, de acordo com os voltamogramas (FIGURA 56), há um processo a mais que envolve um elétron. Este ligante apresenta álcoois alifáticos como substituintes dos anéis triazólicos, os quais podem ser eletroativos nesta faixa de trabalho, e conseqüentemente podem oxidar em um processo monoelétrônico para a formação de alcóxido⁸⁶.

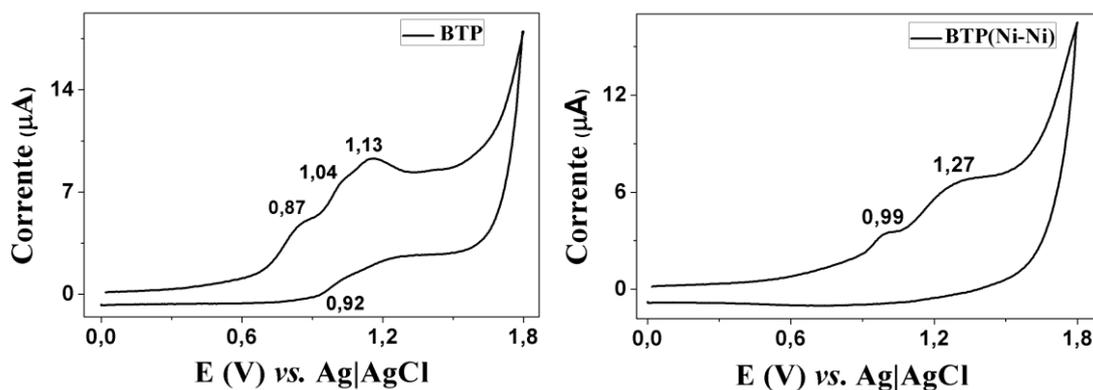


FIGURA 56: Voltamogramas cíclico do ligante BTP (esquerda) e do complexo BTP(Ni-Ni) (direita) obtidos em diclorometano PTBA como eletrólito, eletrodo de carbono vítreo.

No caso do complexo, a análise do voltamograma cíclico (FIGURA 56, direita) permite observar que o processo em 1,27V apresenta-se alargado, indicando que pode haver processos sobrepostos, sendo que possivelmente estes processos ocorrerão em potenciais muito próximos entre si. Deste modo, provavelmente a primeira etapa de oxidação poderá ser atribuída à formação do radical fenoxil e deverá ocorrer em seguida, o rompimento da ponte fenolato a pelo menos um dos centros metálicos.

Conforme a análise elementar e análise termogravimétrica, para este complexo há a presença de moléculas de água de hidratação, as quais podem estabilizar o radical fenoxil formado e devido à presença de prótons, a etapa de desalquilação pode ocorrer seguida da oxidação do álcool gerado. Uma próxima etapa de oxidação envolvendo um elétron pode gerar a benzoquinona, conforme a proposta sugerida na FIGURA 57.

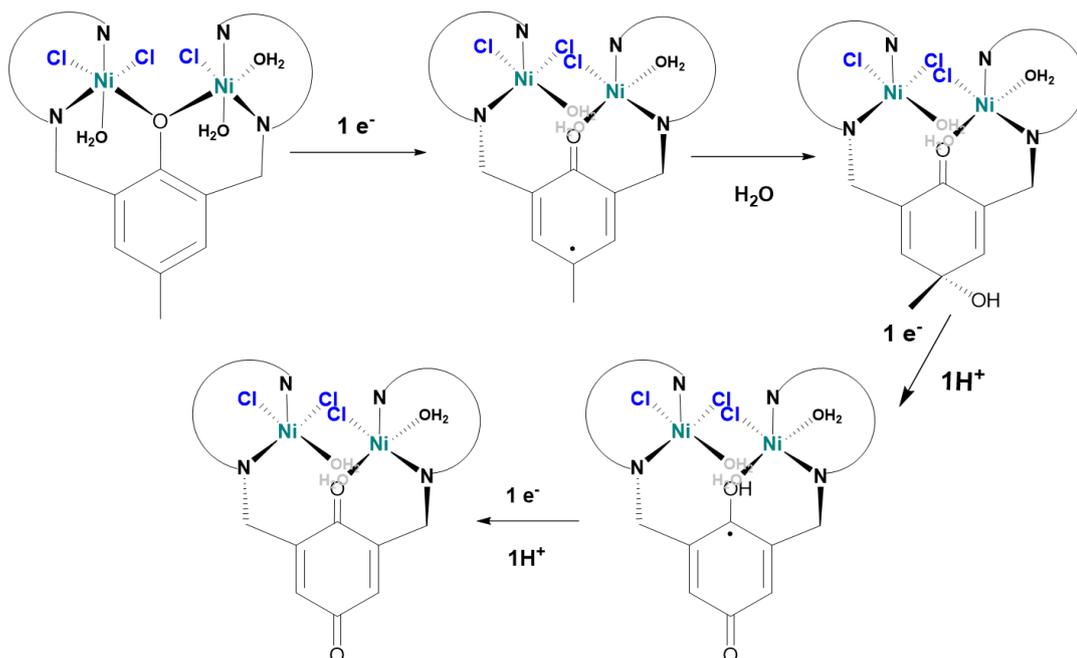


FIGURA 57: Esquema proposto do mecanismo eletroquímico de oxidação do complexo BTP(Ni-Ni) adaptado⁸¹.

Apesar da sobreposição de processos, ainda é possível observar pela comparação entre os voltamogramas do ligante e do complexo, o aumento dos potenciais após a complexação do ligante, indicando que esta coordenação aos centros metálicos, aumenta os potenciais de oxidação do ligante devido à doação de densidade eletrônica para os metais. Na faixa de trabalho analisada não foram observados os processos de oxidação do Ni^{2+} a Ni^{3+} , o qual possivelmente ocorrerá em potenciais mais elevados.

5.3.8 Espectroeletróquímica

A técnica de espectroeletróquímica foi realizada para analisar se as atribuições dos processos eletroquímicos estão em concordância com as propostas feitas.

5.3.8.1 2BTPPh(Ni-Ni)

Aplicando-se o potencial de 1,8 V ao complexo 2BTPPh(Ni-Ni) e analisando-se o seu espectro eletrônico com o tempo (FIGURA 58), observou-se

que na região entre 300 e 500 nm há o surgimento e aumento da intensidade de uma banda (ombro) em 327 nm. Esta banda pode ser atribuída à formação da benzoquinona, conforme proposto no mecanismo eletroquímico para este complexo⁸⁷ (FIGURA 52).

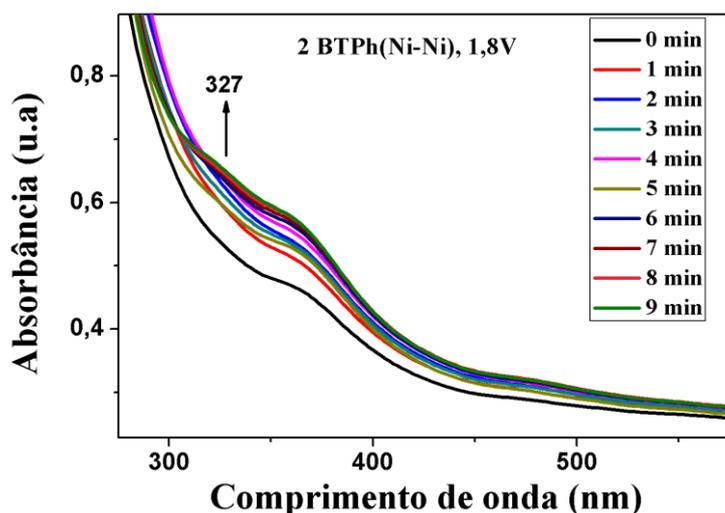


FIGURA 58: Espectroeletrônica do complexo 2BTPPh(Ni-Ni), ($18,3 \mu\text{molL}^{-1}$), aplicando potencial de 1,8V em solução de diclorometano PTBA.

Para verificar se de fato houve oxidação do metal, aplicou-se um potencial de 1,4V (FIGURA 59) e observou-se o espectro eletrônico do complexo com o tempo, avaliando-se a faixa de 300 a 650nm. Neste caso, observa-se a diminuição da intensidade das bandas atribuídas às transições d-d (500 nm) do complexo 2BTPPh(Ni-Ni), que pode ser atribuída a oxidação do Ni^{2+} a Ni^{3+} , conforme observado no voltamograma cíclico para este complexo, em que sugere-se a formação de tautomeria entre o radical fenoxil e o Níquel (III). Para este complexo essa oxidação é facilitada, pois o ligante doa mais densidade eletrônica para o níquel. Isto está de acordo com o maior potencial de oxidação do fenolato à benzoquinona, diminuindo o potencial de oxidação deste metal. As bandas de transferência de carga ligante metal também são diminuídas, pois a oxidação do fenolato à benzoquinona confere ao ligante um caráter π acceptor e diminui o caráter doador de densidade eletrônica para o metal⁸⁷.

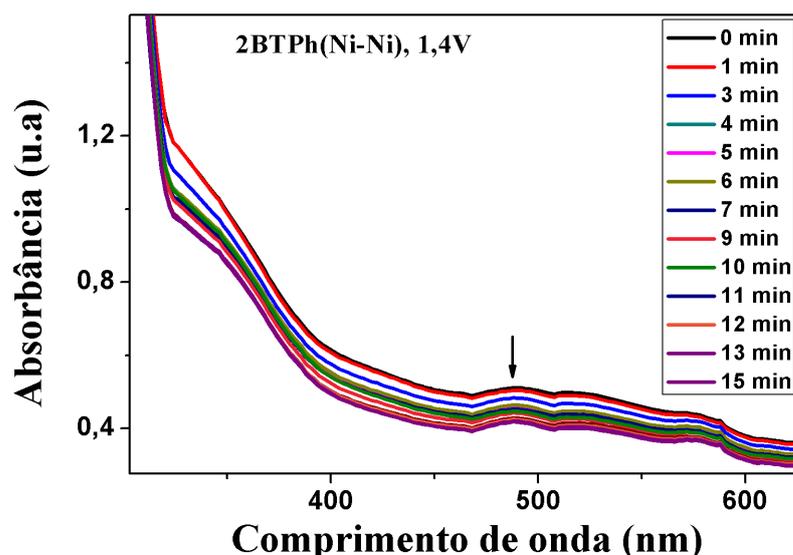


FIGURA 59: Espectroeletróquímica do complexo 2BTPh(Ni-Ni), (0,76 mmolL⁻¹), aplicando potencial de 1,4V em solução de diclorometano PTBA.

5.3.8.2 BTB(Ni-Ni)

No caso do complexo BTB(Ni-Ni), observa-se que a aplicação do potencial de 1,1V acarreta na formação de quinona metídeo associada à observação de um efeito hipocrômico (diminuição da intensidade) nas bandas de transições $\pi-\pi^*$ intraligante presentes no fenolato (226 nm), juntamente com o surgimento de uma banda em 268 nm⁸⁸. A quinona metídeo é formada pela oxidação do fenolato em solvente aprótico e anidro, conforme sugerido pelo mecanismo proposto das análises eletroquímicas para este complexo. Ao passar do tempo, observa-se que a concentração da quinona metídeo foi aumentada, visto que houve um aumento na intensidade das bandas em 268 e 326 nm (FIGURA 60).

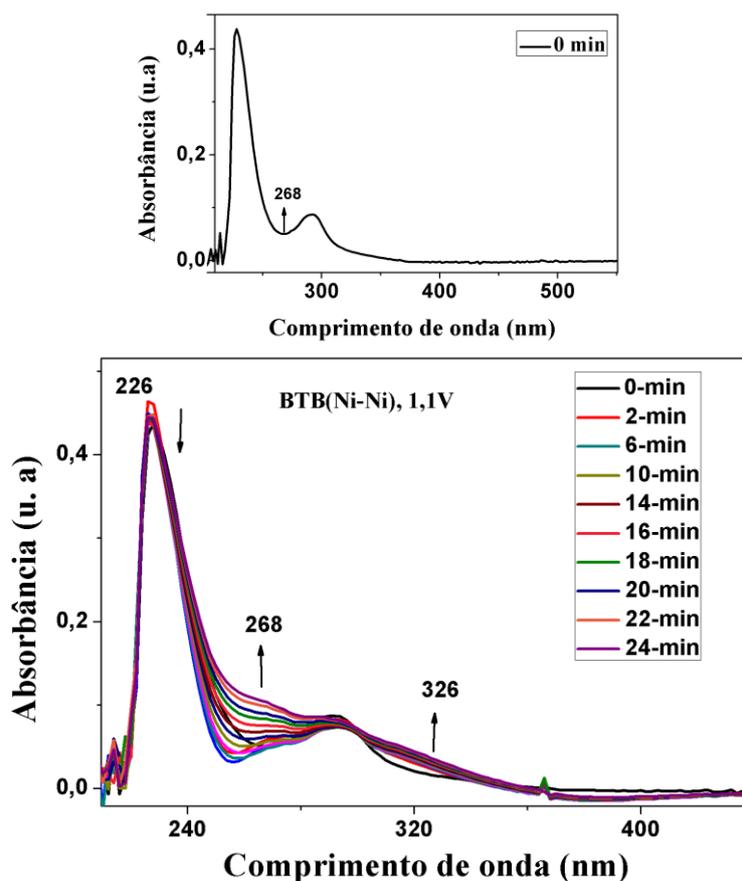


FIGURA 60: Espectroeletróquímica do complexo BTB(Ni-Ni), ($0,081\text{mmolL}^{-1}$), sem aplicação de potencial (esquerda) e aplicando potencial de $1,1\text{V}$ (direita) solução de diclorometano PTBA ($0,1\text{molL}^{-1}$).

Na região de transições d-d (FIGURA 61), analisou-se o comportamento destas bandas pela aplicação do potencial de $1,4\text{V}$. A oxidação do fenolato à quinona permite o rompimento da ponte fenolato entre os dois níqueis, deste modo, é observado um efeito hipercrômico nas bandas atribuídas à transição d-d (348 nm e 392nm) após a oxidação do fenolato à quinona metídeo. O aumento na intensidade destas bandas pode ser atribuído à mudança de geometria de um dos centros metálicos de níquel do complexo após o rompimento da ponte fenolato, em que este poderá assumir geometria cuja transição d-d ocorra nesta região do espectro eletrônico. Complexos de níquel (II) com geometria pirâmide de base quadrada exibem uma banda de elevada intensidade entre $345 - 526\text{ nm}$,

atribuída à transição d-d, além desta, outras três bandas podem ser observadas, sendo estas de baixa intensidade nas regiões do espectro entre: 400 e 588; 555 e 833; 1111 e 2500⁸⁹. Deste modo, o complexo poderá assumir a geometria pirâmide de base quadrada após o rompimento da ponte fenolato.

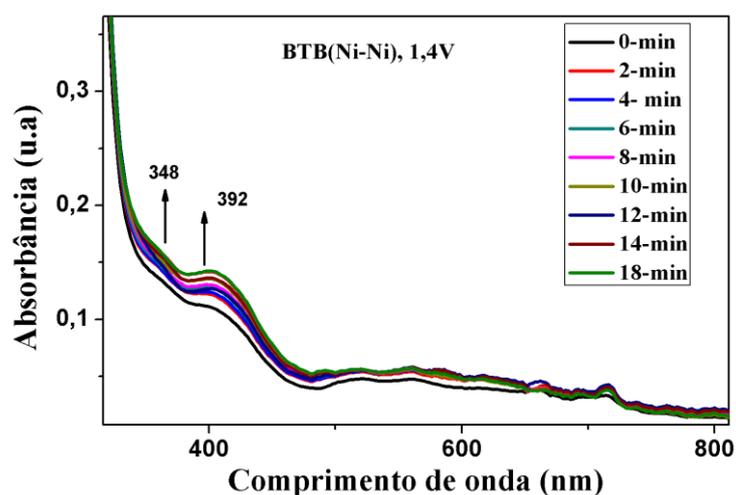


FIGURA 61: Espectroeletrólise do complexo BTB(Ni-Ni), ($4,21 \text{ mmolL}^{-1}$), aplicando potencial de $1,4\text{V}$, solução de diclorometano PTBA ($0,1 \text{ molL}^{-1}$).

As demais bandas atribuídas às transições d-d não foram alteradas pela aplicação do potencial de $1,4\text{V}$ durante 18 minutos, indicando que não ocorre a oxidação do Ni(II) a Ni(III).

5.3.8.3 BTPH(Ni-Ni)

A aplicação do potencial de $1,1\text{V}$ provoca um efeito hipercrômico (intensificação) nas bandas de transições $\pi-\pi^*$ intraligante presentes no fenolato e nas fenilas ($227, 249 \text{ nm}$) para o complexo BTPH(Ni-Ni), devido à oxidação do fenolato à quinona. No entanto, não foi observado o surgimento da banda da quinona em 268 nm , indicando que possivelmente esta banda esteja encoberta por bandas de transição $\pi-\pi^*$ intraligante.

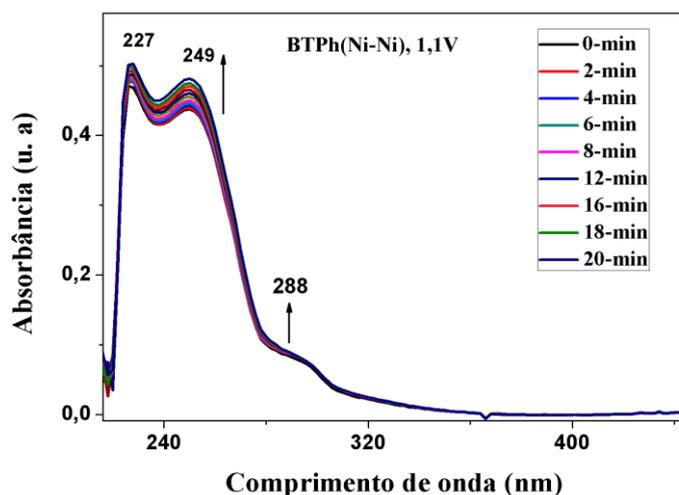


FIGURA 62: Espectroeletróquímica do complexo BTPH(Ni-Ni), ($0,081\text{molL}^{-1}$), aplicando potencial de $1,1\text{V}$ solução de diclorometano PTBA ($0,1\text{molL}^{-1}$).

A aplicação do potencial de $1,5\text{V}$ provoca o aumento da intensidade da banda de transição d-d conforme mostrado na FIGURA 63. Indicando também a ocorrência da oxidação do fenolato à quinona metídeo, que conseqüentemente há o rompimento da ponte fenolato, alterando a geometria deste outro centro metálico. O outro centro metálico que provavelmente estará coordenado à quinona metídeo será mais dificilmente oxidado de Ni^{2+} a Ni^{3+} pois é aumentado o caráter π acceptor do ligante. Nesse sentido, as demais bandas atribuídas à transições d-d não são alteradas pela aplicação do potencial de $1,5\text{V}$.

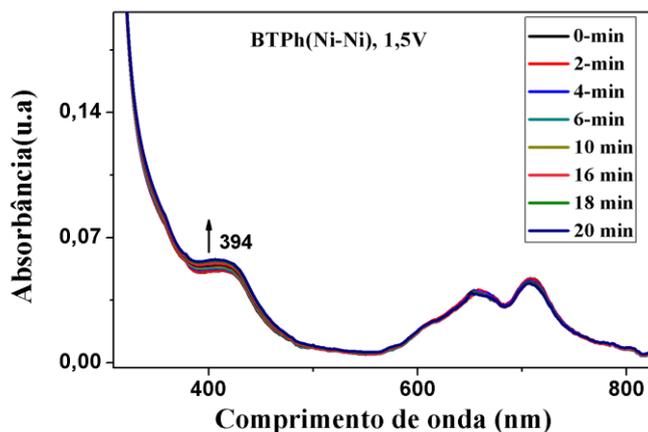


FIGURA 63: Espectroeletróquímica do complexo BTPH(Ni-Ni), aplicando potencial de $1,5\text{V}$ solução de diclorometano PTBA ($0,1\text{molL}^{-1}$).

5.3.8.4 BTP(Ni-Ni)

Conforme observado no espectro eletrônico do complexo BTP(Ni-Ni) (FIGURA 64), há a formação de um ponto isobéstico em 232 nm na aplicação do potencial de 1,4V durante 15 minutos, indicando a formação de uma banda que pode ser atribuída à oxidação do fenol para formação da benzoquinona.

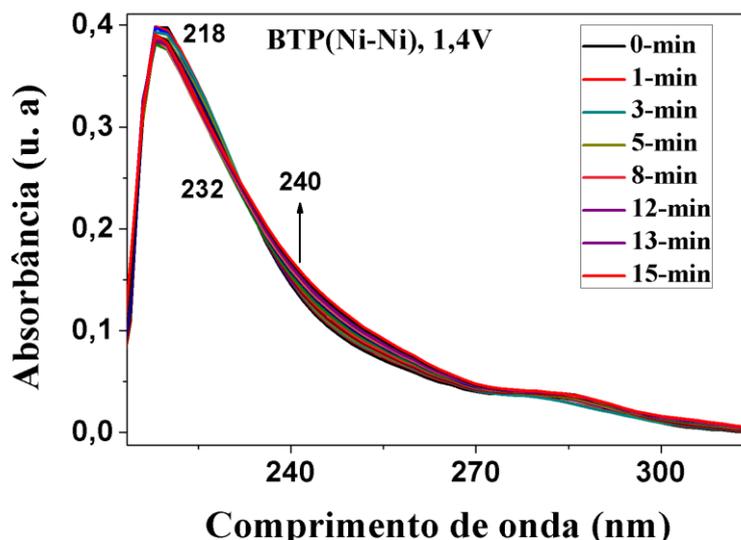


FIGURA 64: Espectroeletróquímica do complexo BTP(Ni-Ni), ($0,074\text{mmolL}^{-1}$), aplicando potencial de 1,1V solução de diclorometano PTBA ($0,1\text{molL}^{-1}$).

A banda de absorção da benzoquinona situa-se em 240 nm^{90} . Como o complexo BTP(Ni-Ni) apresenta 3 moléculas de água de hidratação, tais moléculas podem estabilizar o radical fenoxil atribuído ao primeiro processo do voltamograma, conforme sugerido pela análise mecanística nos estudos eletroquímicos. Já a banda em 392 nm correspondente à transição d-d também apresenta discreto aumento na intensidade pela aplicação do potencial de 1,5V (FIGURA 65) após a oxidação do fenolato.

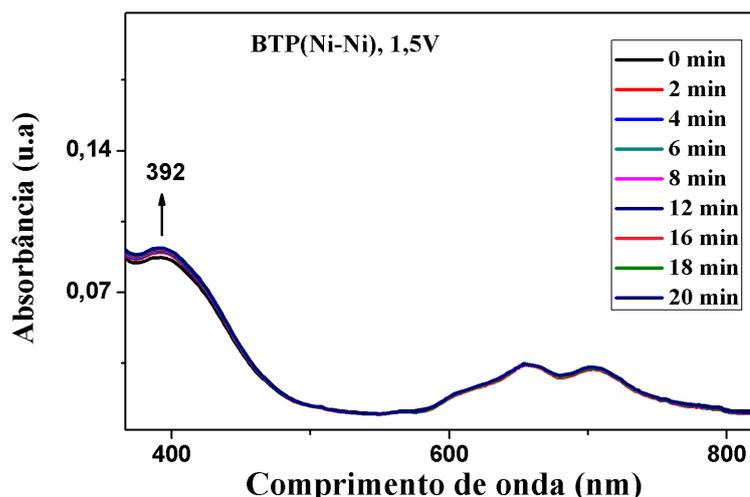


FIGURA 65: Espectroeletróquímica do complexo BTP(Ni-Ni) ($4,88 \text{ mmolL}^{-1}$), aplicando potencial de 1,5V solução de diclorometano PTBA ($0,1 \text{ molL}^{-1}$).

A oxidação do fenolato à benzoquinona provoca o rompimento da ponte fenolato à um dos centros metálicos, no entanto um dos níqueis ainda poderá se manter coordenado, sendo assim é diminuído o efeito de doação de densidade eletrônica do ligante para o metal, e o ligante adquire caráter π acceptor, deste modo, é dificultada a oxidação do Ni(II) a Ni(III) na faixa de trabalho analisada, sendo que as demais bandas atribuídas às transições d-d não são alteradas pela aplicação do potencial.

5.3.9 Análises das propriedades magnéticas dos complexos

As análises dos momentos magnéticos dos complexos em relação à temperatura foram realizadas, de modo, a avaliar o comportamento magnético dos complexos. Conforme observado na FIGURA 66, apenas os complexos BTPPh(Ni-Ni) e 2BTPPh(Ni-Ni) apresentam comportamento linear, ou seja, seguem a Lei de Curie-Weiss, em que conforme é aumentada a temperatura, o inverso da susceptibilidade magnética é aumentada de modo proporcional.

O momento magnético efetivo do complexo BTPh(Ni-Ni) é de 2,92 e está em concordância com o valor esperado teoricamente para íons isolados de Ni(II) (2,83), deste modo, possui correlações entre íons de níquel do tipo ferromagnéticas (theta positivo) o qual ocorre entre os centros metálicos conectados com ângulos entre 85° e 102° ⁹¹. Devido a distância entre estes dois centros metálicos, provavelmente não há interações diretas entre os dois átomos de níquel. Estas interações deverão ocorrer através da sobreposição orbital entre os orbitais d dos átomos de níquel e os orbitais p do oxigênio do fenolato. Estas interações podem ocorrer devido às propriedades de simetria dos orbitais eg-p- t_{2g} que podem estar dispostos em ângulos próximos à 90° , deste modo, surge um termo ferromagnético de transferência de elétrons⁹².

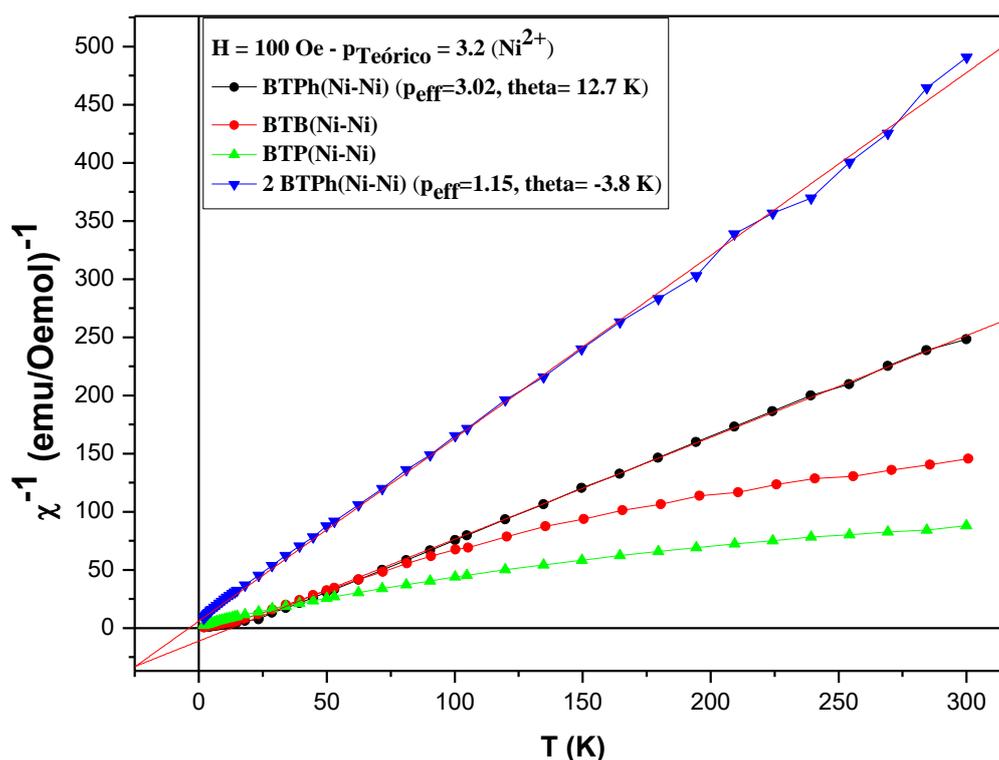


FIGURA 66: Gráfico do inverso da susceptibilidade magnética dos complexos em função da temperatura.

Os complexos BTB(Ni-Ni) e BTP(Ni-Ni) não seguem a Lei de Curie Weiss, o que pode ser atribuído a interação entre os centros metálicos e às

possíveis interações inter dímeros destes complexos, visto que estas correlações são valores médios da amostra.

Quando aplicados pequenos valores de campo H , a magnetização m de uma amostra no estado paramagnético é proporcional a este campo aplicado. Aumentando-se o campo, o comportamento da magnetização com o campo deixa de ser linear e para valores do campo suficientemente altos, a magnetização é saturada e deste modo, é atingido um valor máximo⁹³. O gráfico da FIGURA 67 indica que os complexos BTPH(Ni-Ni), BTB(Ni-Ni) e BTP(Ni-Ni) apresentam esse perfil, sendo inicialmente, a magnetização aumentada de modo linear com a aplicação do campo. Quando atingidos valores mais altos da aplicação do campo têm-se a saturação da magnetização. Sendo assim, sugere-se que estes complexos são paramagnéticos.

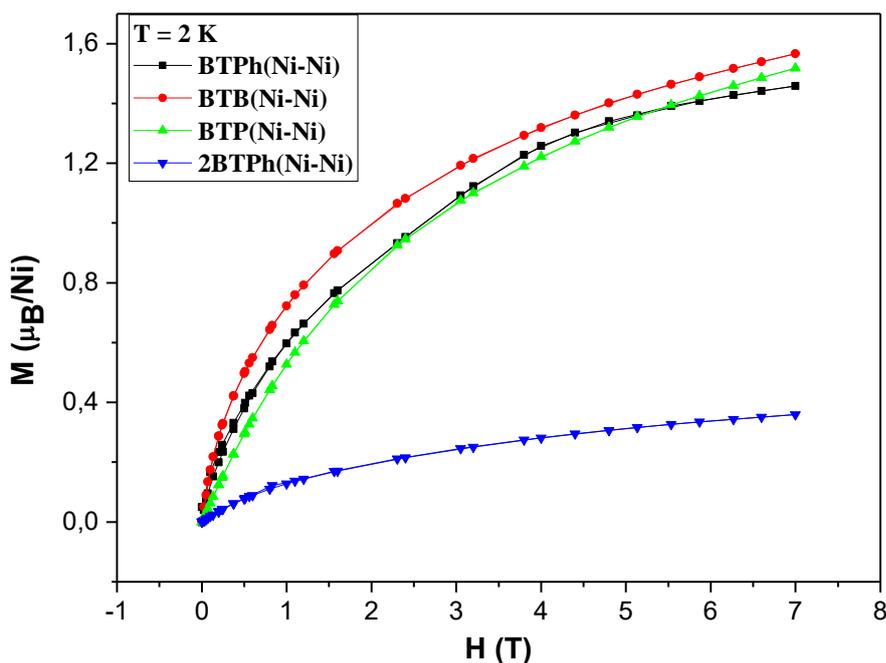


FIGURA 67: Curvas de magnetização em função do campo magnético.

Conforme observado nos espectros eletrônicos do complexo 2BTPH(Ni-Ni) (Figura 37), sugere-se que os dois centros metálicos deste complexo,

apresentam geometria quadrado planar, sendo assim, estes centros metálicos tendem a ser diamagnéticos, além disso, todas as caracterizações realizadas para este complexo: voltametria cíclica, espectroeletrólítica, análise elementar (análise termogravimétrica) e espectrometria de massas, sugerem que os centros metálicos de níquel não estejam conectados pela ponte fenolato, sendo assim, dificilmente ocorrerá o acoplamento entre estes centros metálicos.

Conforme observado na FIGURA 67, o complexo 2BTPPh(Ni-Ni) apresenta o momento efetivo muito reduzido indicando também que este complexo é diamagnético, pois quando submetido a um campo magnético, um complexo diamagnético tende a se mover em direção à região mais fraca do campo magnético, enquanto uma substância paramagnética tende a se mover à região mais forte do campo magnético⁹⁴.

6 Testes de decomposição da ureia pelos complexos binucleares de níquel

Os primeiros testes catalíticos foram feitos em metanol, visto que além de todos os complexos apresentarem solubilidade neste solvente, este também é miscível em água (sendo a água solvente da ureia). Foram aplicadas quantidades de 0,27 μmol de cada complexo e 9,0 μmol de ureia. As reações foram mantidas à 20°C e a amônia formada foi analisada nos tempos de 10, 20, 30, 60, 120, 240 e 480 segundos. Nestas condições e nesta faixa de tempo analisada, a amônia não foi detectada. Através da análise da condutividade dos complexos após solubilização em metanol (TABELA 2), sugere-se que ocorra imediatamente a troca de ligantes aniônicos lábeis que compõem a esfera de coordenação dos complexos pelo metanol, sendo verificada a formação de eletrólitos após a solubilização dos complexos neste solvente. Possivelmente a coordenação do metanol gera maior estabilidade ao complexo, dificultando a ativação da ureia

durante a reação, e impedindo também a coordenação de moléculas de água que podem auxiliar em etapas da reação.

A escolha dos solventes utilizados nas reações considera a melhor solubilidade dos componentes, deste modo, a solução de ureia é feita em água e os complexos: BTPPh(Ni-Ni), BTP(Ni-Ni), BTB(Ni-Ni) e 2BTPh(Ni-Ni) ($0,27\mu\text{mol}$) foram solubilizados em diclorometano. Estes solventes, no entanto, são imiscíveis, sendo assim, foi utilizada acetonitrila como solvente de transferência de fase. As reações foram feitas em triplicata à 32°C , 20°C e 5°C e em quantidades de $4,5\mu\text{mol}$ e $9,0\mu\text{mol}$ de ureia.

Conforme observado nas Figuras 68, 69 e 70, todos os complexos nas reações de catálise foram capazes de decompor a ureia para a formação de amônia nestas condições testadas. As quantidades de amônia formada indicam um perfil estequiométrico visto que podem atingir a proporção de 2 mols de amônia formada para 1 mol do complexo.

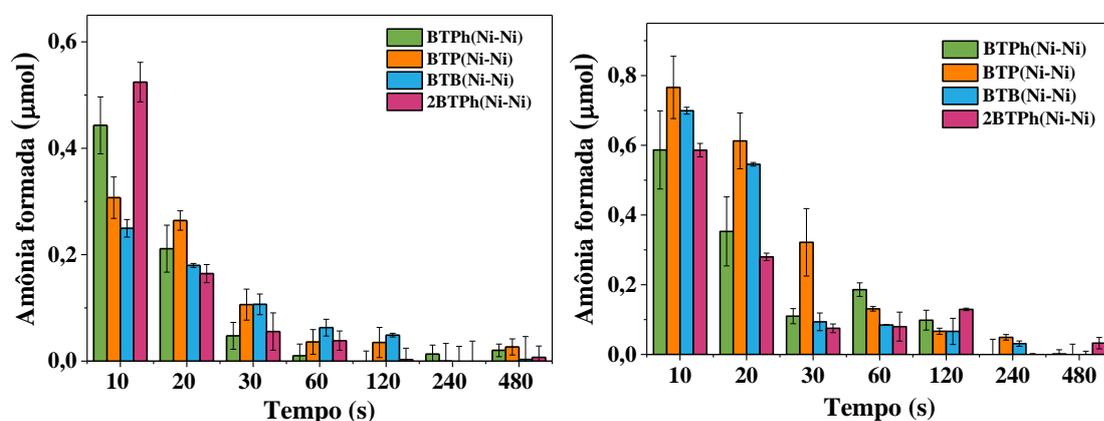


FIGURA 68: Gráficos da comparação das reações de decomposição da ureia por todos os complexos, com $4,5\mu\text{mol}$ de ureia (esquerda) e $9,0\mu\text{mol}$ (direita) e temperatura de 5°C .

Ao comparar-se as reações nos mesmos tempos entre os complexos, verifica-se que a detecção máxima de amônia em todas as condições analisadas

ocorre basicamente aos dez segundos de reação e após este período há o decaimento desta detecção. Conforme observado pela comparação entre os gráficos da FIGURA 68, mantendo a temperatura constante, e aumentando a quantidade de ureia aplicada, verifica-se o aumento da detecção de amônia nos tempos de 10 e 20 segundos para todos os complexos, possivelmente devido ao deslocamento do equilíbrio da reação para o consumo da ureia e formação de amônia, ou devido à maior solubilidade de amônia no meio reacional, visto que o incremento na quantidade de ureia está associado à uma maior quantidade de água adicionada.

Os complexos BTB(Ni-Ni) e BTP(Ni-Ni) apresentaram aumento da detecção de amônia mais pronunciado quando comparados aos complexos BTPH(Ni-Ni) e 2BTPH(Ni-Ni) nos tempos de 10 e 20 segundos quando aumentada a quantidade de ureia (e água). Com isto, sugere-se que os complexos BTB(Ni-Ni) e BTP(Ni-Ni) apresentem maior facilidade em promover o deslocamento do equilíbrio da reação e formar a espécie ativa da reação, visto que os complexos com substituintes fenil dos anéis triazólicos apresentam maior impedimento estérico, dificultando etapas de trocas de ligantes e a formação da espécie ativa.

Além disso, a geometria dos complexos também não influenciou na detecção de amônia formada na faixa de tempo analisada e nestas condições reacionais, visto que os complexos BTPH(Ni-Ni) e 2 BTPH(Ni-Ni), apresentam quantidades de amônia formada e perfil reacional muito semelhantes entre si. Isto ocorre pois conforme o solvente utilizado na reação, pode ocorrer a substituição de ligantes lábeis por moléculas de solvente, ou ainda pode haver a coordenação da ureia ao centro metálico durante a reação, deste modo é alterada a geometria destes complexos, os quais poderão assumir geometrias semelhantes no meio reacional, por isto a reação ocorre de modo semelhante.

Ao comparar-se a detecção de amônia entre os complexos BTP(Ni-Ni) e BTB(Ni-Ni), os quais se diferem basicamente em grupos hidrofílicos e hidrofóbicos, ainda que por um comportamento discreto, o complexo BTP(Ni-Ni) apresenta maior detecção de amônia nos tempos analisados, podendo ser atribuída à maior interação entre os grupos hidrofílicos e o substrato da reação, ou por uma maior interação com a amônia formada.

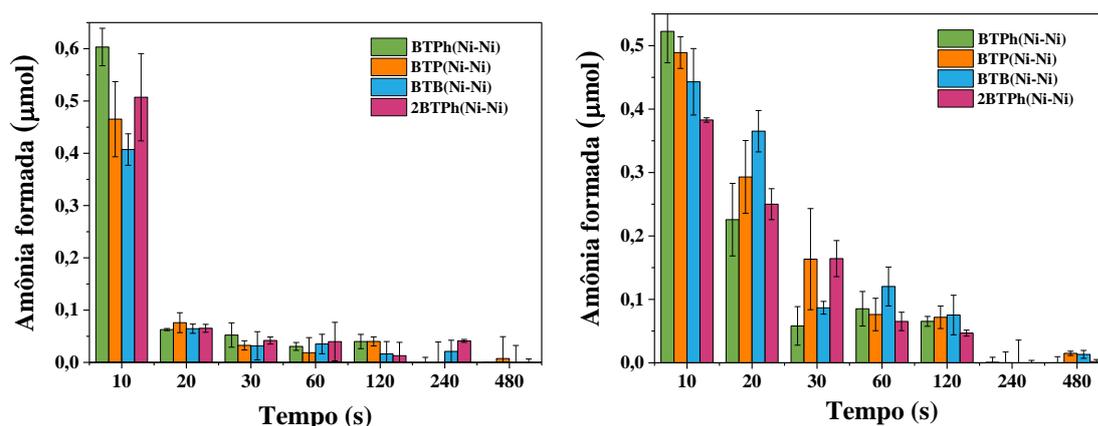


FIGURA 69: Gráficos da comparação das reações de decomposição da ureia por todos os complexos, com 4,5 μmol de ureia (esquerda) e 9,0 μmol de ureia (direita) e temperatura de 20°C.

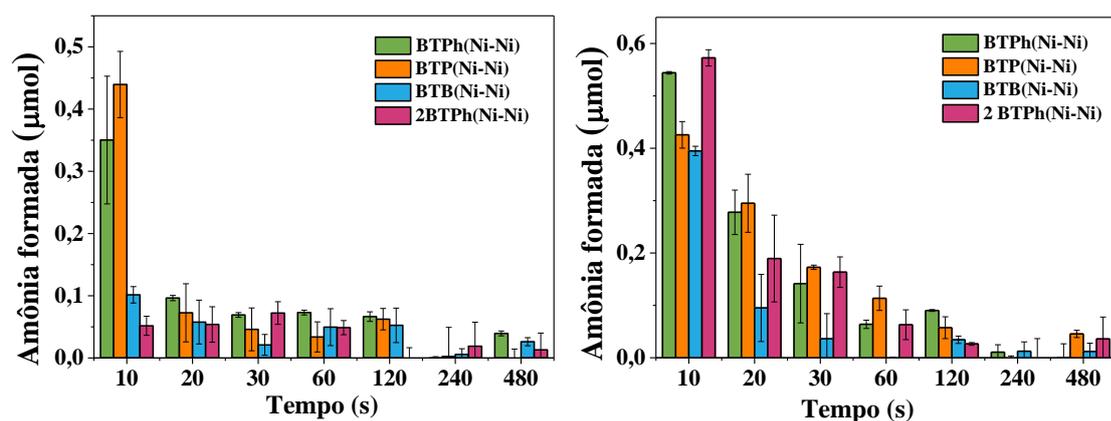


FIGURA 70: Gráficos da comparação das reações de decomposição da ureia por todos os complexos, com 4,5 μmol de ureia (esquerda) e 9,0 μmol de ureia (direita) e temperatura de 32°C.

Dentre as condições testadas nas reações, observa-se de modo geral, que quando aumentada a quantidade de ureia aplicada, há o aumento na formação ou prolongamento da detecção de amônia no meio, sendo que, quanto maior a quantidade de ureia no meio, o equilíbrio da reação é deslocado para a formação dos produtos. Também é verificado que a diminuição da temperatura aumenta a detecção de amônia no meio. A maior disponibilidade de amônia pode ser atribuída ao aumento da solubilidade da amônia com a diminuição da temperatura, uma vez que o produto é gasoso, influenciando na detecção da amônia. Durante a reação, é observado o desprendimento de bolhas da solução, as quais podem ser atribuídas à evaporação do diclorometano durante a reação, ou ao desprendimento dos gases formados durante a reação: Amônia e dióxido de carbono.

Conforme observado na FIGURA 70 (esquerda) é verificado que os complexos BTB(Ni-Ni) e 2BTPH(Ni-Ni) se diferem dos demais no tempo de dez segundos (tempo de maior detecção de amônia), indicando que nesta condição reacional, a influência da segunda esfera de coordenação e a geometria dos complexos torna-se mais acentuada. O complexo BTB(Ni-Ni) apresenta maior hidrofobicidade em relação ao complexo BTP(Ni-Ni) que promove a reação com maior eficiência. Devido à maior hidrofobicidade do complexo BTB(Ni-Ni) é diminuída a interação entre o complexo e a ureia e água, deste modo, a reação é dificultada, sendo que também as quantidades de ureia e água aplicadas na reação são reduzidas pela metade quando comparada à FIGURA 70 (direita) na mesma temperatura.

A acetonitrila e a água são solventes que podem ser coordenados aos complexos durante a reação, deste modo, o complexo 2BTPH(Ni-Ni) pode alterar a geometria durante a reação, visto que ambos complexos BTPH(Ni-Ni) e 2BTPH(Ni-Ni) apresentam perfis de reação semelhantes, exceto no gráfico da

FIGURA 70 (esquerda). O aumento da temperatura da reação pode favorecer a formação ou estabilidade de outras espécies deste complexo, além da espécie ativa. A diminuição de ureia e água adicionados no meio reacional também diminuem a probabilidade da formação da espécie ativa ou ainda a interação da ureia com esta espécie e portanto menor a uma menor quantidade de amônia formada. O aumento da temperatura da reação também diminui a solubilidade da amônia no meio reacional.

Foi feito um teste com papel tornassol tampando o frasco reacional para detectar a alteração da coloração pela mudança de pH quando há o contato com a amônia. No entanto, não foi verificada alteração na coloração do papel tornassol, indicando que provavelmente a quantidade de amônia formada não seja suficiente para atingir o pH necessário para o ponto de viragem deste indicador ou a amônia formada não é desprendida do sistema.

O perfil de todas as reações, em todas as condições, nas faixas de tempo analisadas se difere do perfil enzimático, visto que a enzima apresenta perfil de saturação da detecção de amônia formada⁹⁵ e as reações com os miméticos apresentaram perfil de decaimento da detecção após ser formada, basicamente até dez segundos de reação. Este perfil será avaliado em testes posteriores. Devido as reações apresentarem tal perfil de detecção da amônia formada, não foi possível a realização dos cálculos de velocidade da reação e consequentemente das constantes cinéticas.

6.1 Avaliação do perfil estequiométrico das reações de decomposição da ureia

Para avaliar se as quantidades de amônia formada estão em proporções estequiométricas quando comparadas à concentração dos complexos, os testes catalíticos foram realizados com 9,0 μmol de ureia e foi diminuída a quantidade

do complexo para 0,054 μmol , 0,024 μmol e 4,8 nmol. Devido a formação de amônia e o perfil das reações serem semelhantes entre os complexos, foi escolhido apenas o complexo BTPH(Ni-Ni) para realizar estes testes. Este complexo foi solubilizado em diclorometano e foram feitas as devidas diluições da amostra para atingir as quantidades do complexo mencionadas. Os gráficos das FIGURAS 71, 72 e 73 apresentam a amônia formada no decorrer da reação.

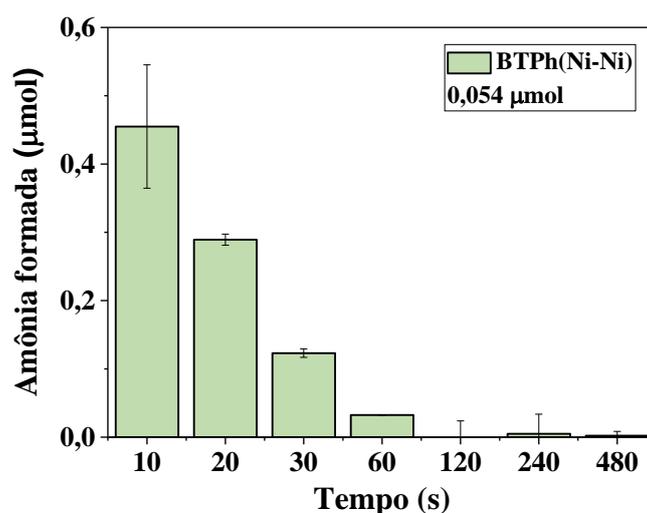


FIGURA 71: Gráfico da reação de decomposição da ureia pelo complexo BTPH(Ni-Ni) (0,054 μmol), com 9,0 μmol de ureia e temperatura de 20°C.

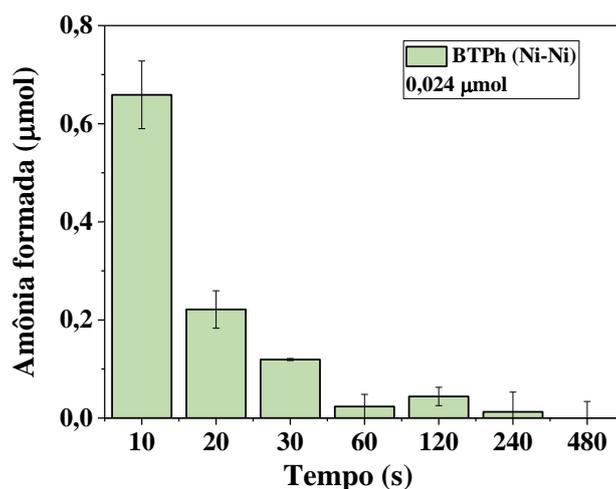


FIGURA 72: Gráfico da reação de decomposição da ureia pelo complexo BTPH(Ni-Ni) (0,024 μmol), com 9,0 μmol de ureia e temperatura de 20°C.

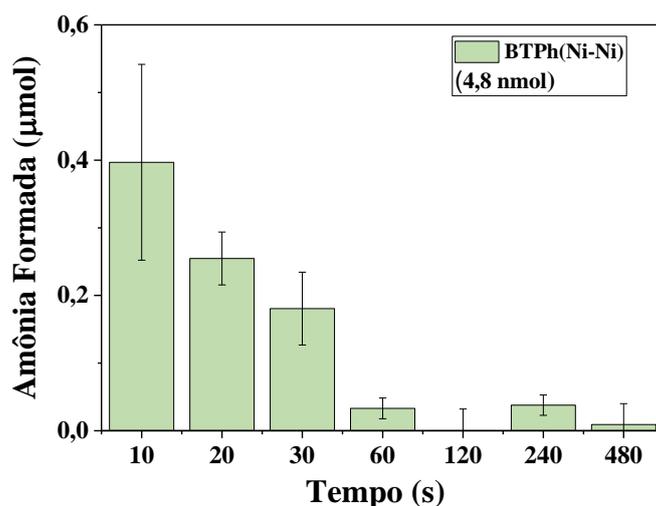


FIGURA 73: Gráfico da reação de decomposição da ureia pelo complexo BTPPh(Ni-Ni) (4,8 nmol), com 9,0 μmol de ureia e temperatura de 20°C.

Conforme observado nos gráficos, com a diminuição da quantidade de complexo ainda é observada a formação de amônia, sendo as quantidades de amônia semelhantes em todas as reações, indicando que o teor de complexo aplicado não influenciou na formação de amônia na faixa de tempo analisada, além disso, o perfil da reação se manteve semelhante. Visto que a quantidade de complexo utilizada nas reações não influencia na quantidade de amônia formada é verificado que há um efeito catalítico da reação e não estequiométrico como os testes anteriores sugeriam.

6.2 Hidrólise da ureia pela urease de Jack bean (*Canavalia ensiformis*).

Testes similares aos realizados para os complexos foram realizados para a Urease de Jack bean (*Canavalia ensiformis*) com as mesmas quantidades de ureia (4,5 μmol e 9,0 μmol) e na temperatura de 32°C. A reação foi realizada em tampão fosfato pH=7,0 (próximo ao pH ótimo da enzima igual a 7,2 para este tampão)⁹⁵. A quantificação da amônia formada foi feita pelo método de Berthelot, através de curva de calibração, do mesmo modo que os testes

realizados para os miméticos. A quantidade de amônia formada em relação ao tempo de reação está apresentada na FIGURA 74.

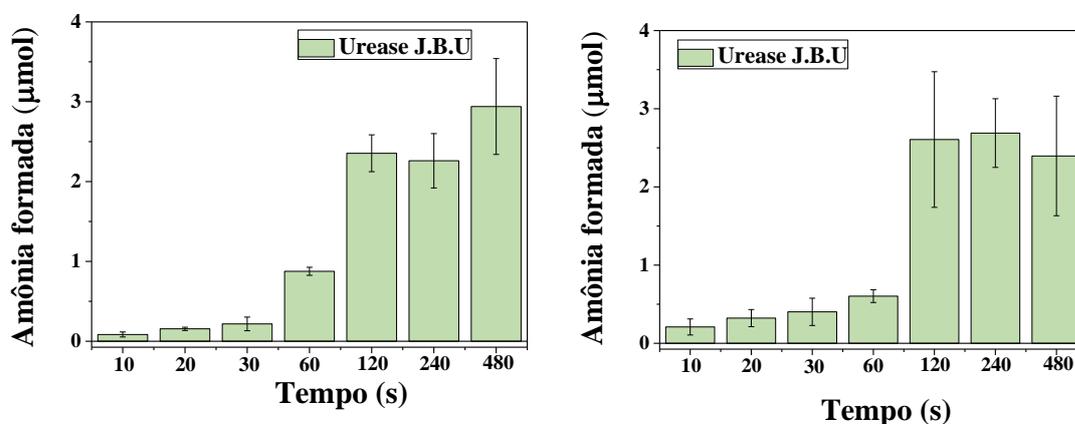


FIGURA 74: Gráfico da Comparação das reações de decomposição da ureia pela urease de Jack bean (*Canavalia ensiformis*), com 4,5 μmol de ureia (esquerda) e 9,0 μmol de ureia (direita) e temperatura de 32°C.

Conforme observado nos gráficos, a detecção de amônia é aumentada com o passar do tempo, em 120 segundos para ambas as reações é atingido o máximo de detecção e a partir desse tempo, na faixa analisada, têm-se constante a detecção de amônia, sendo observado o perfil de saturação característico de reações catalíticas em sistemas enzimáticos. Pela comparação entre os dois gráficos, ao ser dobrada a quantidade de ureia aplicada na reação, há um discreto aumento da formação de amônia até os trinta primeiros segundos de reação e discreta diminuição em um minuto para a reação com 9,0 μmol de ureia. A partir de um minuto de reação, praticamente não há alteração na quantidade de amônia formada na faixa de tempo analisada, quando comparadas as reações.

Ao ser comparada a atividade da urease de Jack bean (*Canavalia ensiformis*) em relação à dos complexos, verifica-se que a quantidade de amônia formada pelos complexos é cerca de cinco vezes menor (em média), quando comparados os máximos de detecção, nos tempos de dez segundos para os complexos e 120 segundos para a enzima, sendo que nas reações com os complexos, a amônia é detectada basicamente até no máximo os trinta primeiros

segundos de reação, conforme a condição da reação, além disso, o perfil da reação é distinto, visto que para a mesma faixa de tempo analisada, é observado o decaimento da detecção de amônia durante a reação para todos os complexos, enquanto que a enzima, apresenta o perfil de saturação na detecção de amônia. Torna-se complicada a comparação da reação entre a enzima e os miméticos, uma vez que as reações são feitas em sistemas distintos em que a reação pela enzima é feita em tampão fosfato pH=7,0 e para os complexos é feita em solvente orgânico que podem influenciara solubilização da amônia no meio. Deste modo, foram feitas reações avaliando a influência da proporção de água no sistema, e assim com maior teor de água, de modo à tornar o sistema reacional ainda mais semelhante ao da enzima.

6.3 Influência da proporção de água na decomposição da ureia pelos miméticos da urease

Para avaliar a influência da água na reação de decomposição da ureia para formação de amônia, foi feito um teste desta reação em condição anidra, sendo utilizada acetonitrila (anidra) como solvente da reação e para solubilização da ureia. Devido os complexos apresentarem comportamentos similares entre si na formação de amônia, foi escolhido o 2 BTPPh(Ni-Ni) (0,27 μmol) solubilizado em diclorometano, à 20°C e 9,0 μmol de ureia.

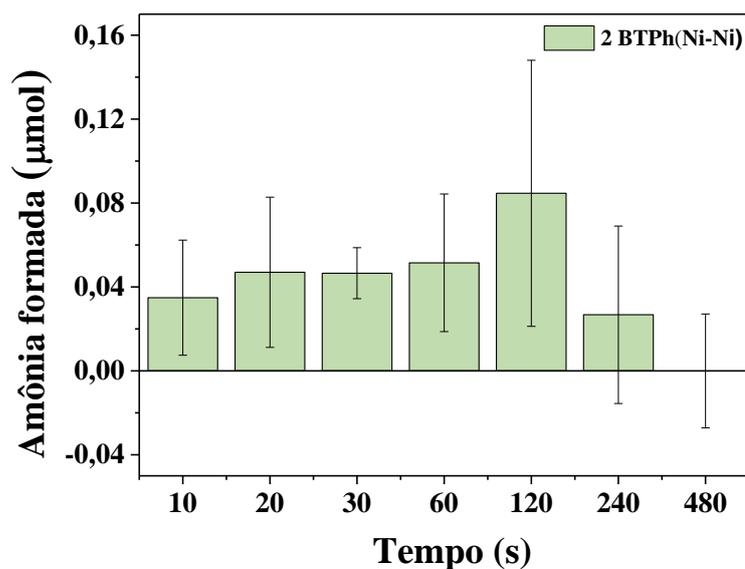


FIGURA 75: Gráfico de reação da catálise anidra, 9,0 μmol de ureia, complexo 2BTPH(Ni-Ni).

Conforme observado na FIGURA 75, praticamente não é verificada a formação de amônia na faixa de tempo analisada. Indicando que a reação não ocorre na ausência de água. A água pode atuar em etapas de protonação de intermediários durante a reação, sendo que quando é coordenada ao centro metálico do complexo, é diminuído o pKa da ligação O-H da água, tornando-a mais ácida e quando desprotonada formando o íon hidróxido, pode atuar como nucleófilo⁹⁶.

Com a presença de apenas 7,9% de água na reação em relação ao volume total de solvente, já é possível verificar a formação de amônia no sistema. Em relação à reação da catálise (com 15,8% de água), a formação de amônia apresenta-se inferior, com a quantidade de amônia formada de aproximadamente pela metade, conforme apresentado na FIGURA 76, indicando que o teor de água, pode influenciar na reação de formação da amônia.

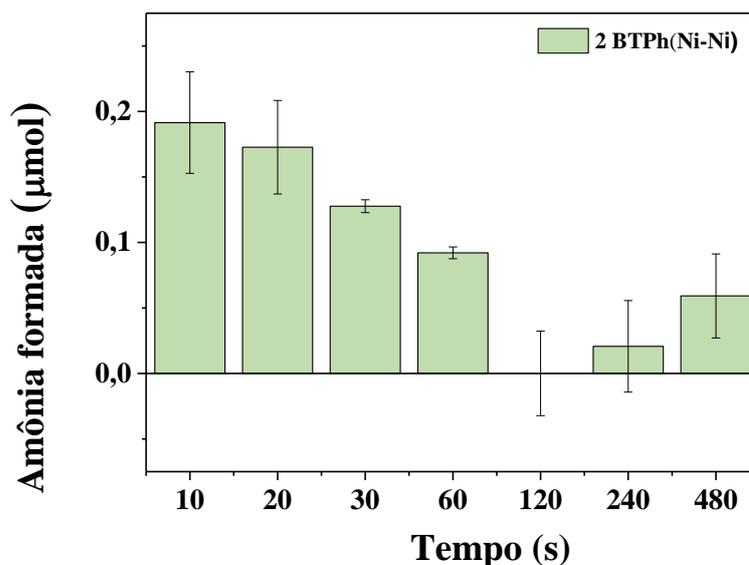


FIGURA 76: Gráfico da reação da catálise com 7,9% de água em relação ao teor total de solventes, 9,0 μmol de ureia, complexo 2BTPH(Ni-Ni) à 20°C.

O acréscimo de água à reação promove a decomposição da ureia para formação de amônia, sendo que além de poder participar do mecanismo de reação, a água ainda promove ligações de hidrogênio com a amônia formada, aumentando sua solubilidade no meio. Assim como nos testes catalíticos, a detecção de amônia foi sendo diminuída ao passar do tempo.

Visto que a adição de água exerce influência na reação, foram feitos testes para todos os complexos aumentando o teor de água da reação para 52,63% em relação ao volume total da reação. Não é possível aumentar mais a porcentagem de água da reação, pois ocorre a precipitação do complexo. Para estas reações foram mantidas as quantidades de ureia (9 μmol) e complexo (0,27 μmol) solubilizado em diclorometano e acetonitrila (teor de aproximadamente 37% em relação ao volume total de solventes), as reações foram feitas à 20°C.

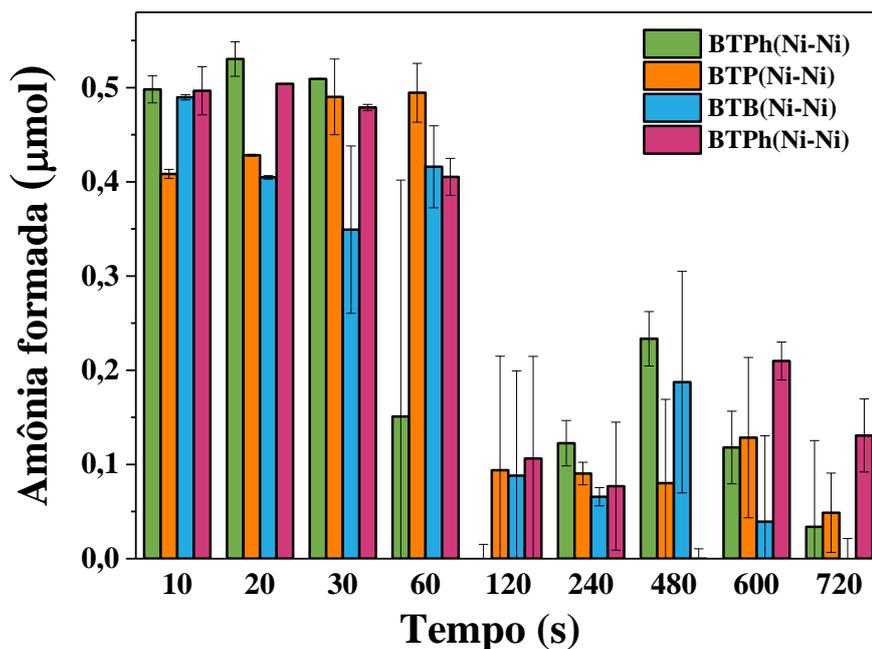


FIGURA 77: Gráfico da comparação das reações de decomposição da ureia por todos os complexos, com 9,0 μmol de ureia, 20°C, 52,63% de água.

Conforme observado na FIGURA 77, o aumento da quantidade de água no sistema favorece a formação de amônia, sendo que a detecção deste produto foi estendida até 1 minuto de reação, enquanto que a reação com teor mais baixo de água, a detecção de amônia é possível até 30 segundos, no máximo.

Na faixa de tempo entre 1 e 2 minutos houve o decréscimo da formação de amônia para todos os complexos. Para os complexos BTPPh(Ni-Ni) e BTB(Ni-Ni) foi observado discreto aumento da formação de amônia a partir de 120 e 240s, respectivamente, na faixa de tempo analisada. A detecção da formação de amônia para o complexo BTP(Ni-Ni), apesar de diminuída em 60s, ainda ocorreu até o final do experimento, enquanto que no experimento anterior, nesta mesma faixa de tempo, praticamente não houve a detecção de amônia. O aumento da proporção de água na reação de decomposição da ureia para formação de amônia, apresentou de modo geral, alteração do comportamento da reação.

A presença da água promove a estabilidade da amônia formada e de possíveis produtos desta reação como ácido isocianico, esta estabilidade está associada à solvatação destes produtos que promove a exotermicidade da reação³⁵.

6.4 Avaliação da influência do solvente na catálise

A catálise também foi testada com o solvente tetrahidrofurano (THF), com a finalidade de avaliar a influência do solvente no decréscimo na formação/detecção de amônia. Além de solubilizar o complexo, este solvente é miscível em água e não é capaz de coordenar ao complexo. Para este teste, 47,37% deste solvente foram utilizados, visto que o complexo foi solubilizado em THF e 52,63% de água e 9,0 μmol de ureia e 0,27 μmol do complexo BTPH(Ni-Ni).

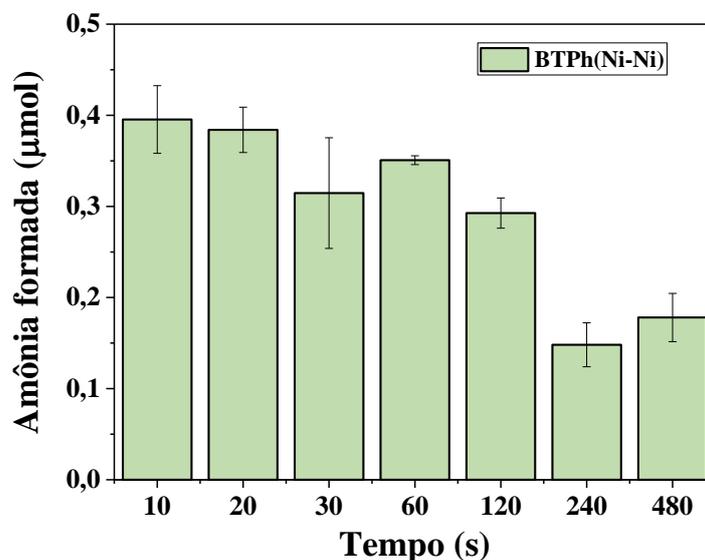


FIGURA 78: Aplicação de tetrahidrofurano na reação de decomposição da ureia (9,0 μmol) pelo complexo BTPH(Ni-Ni) (0,27 μmol).

Conforme observado na FIGURA 78, é verificada a formação de amônia em todos os tempos analisados, no entanto, ainda é observado discreto decréscimo na formação de amônia após um minuto de reação. Este teste foi

feito com maior teor de água (52,63%), e conforme já observado, o aumento do teor de água além de favorecer a reação, ainda favorece a solubilidade da amônia no meio, portanto, a detecção de amônia não foi cessada no meio reacional, na faixa de tempo analisada o que também pode ser atribuído ao sistema se apresentar homogêneo, enquanto que nas condições reacionais com diclorometano, acetonitrila e água o sistema é heterogêneo.

6.5 Reações individuais de decomposição da ureia para cada tempo analisado.

Para avaliação da influência da retirada das alíquotas de 100 μL da reação de decomposição da ureia pelo complexo BTPH(Ni-Ni) (0,27 μmol) e 9 μmol de ureia em relação ao comportamento de decaimento da presença de amônia, foram feitas reações individuais para cada tempo analisado.

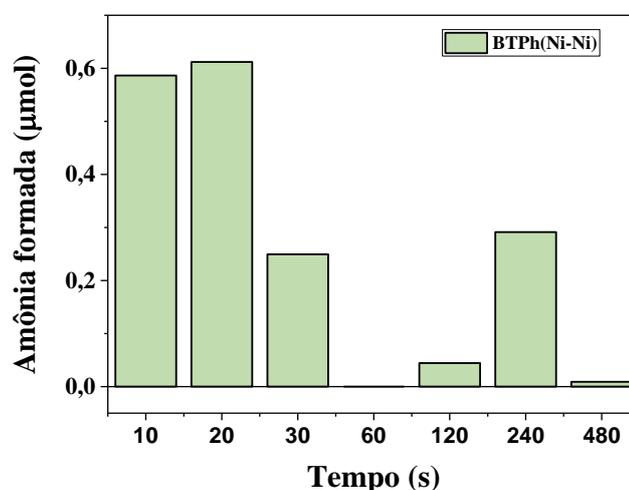


FIGURA 79: Uma reação feita para cada tempo da catálise 0,27 μmol do complexo BTPH(Ni-Ni), 9,0 μmol de ureia.

Conforme observado na FIGURA 79, as reações feitas em cada tempo apresentam praticamente as mesmas quantidades de amônia formada, quando comparadas às reações em que as alíquotas são retiradas do mesmo sistema reacional nos mesmos tempos analisados. Assim como nas demais reações, é

possível detectar a amônia aos 10 e 20 segundos de reação, já em 30 segundos, por se tratar de reações individuais para cada tempo, deveria haver um acúmulo da amônia detectada nos 10 e 20 segundos, que seria detectada nas reações com tempos sucessivos. No entanto, é diminuída a detecção em 30 segundos, e em um minuto não é detectada a amônia que já havia sido formada. Deste modo, sugere-se que a amônia escape do sistema reacional, sendo que a reação é feita sob vigorosa agitação e devida baixa solubilidade da amônia em solventes orgânicos.

Sugere-se ainda, a coordenação da amônia formada aos centros metálicos de níquel, visto que a reação é praticamente cessada após a amônia ter sido formada, deste modo, o complexo é estabilizado. Nestas condições reacionais, nos testes anteriores, em 240 s praticamente não houve a detecção de amônia, e neste teste foi observado o aumento da quantidade de amônia formada em 240 segundos, que pode estar associado ao equilíbrio da reação, sendo que até os 240 segundos esta reação não é perturbada, então, pode ser que a amônia formada aos 10 e 20 segundos se coordene aos centros metálicos e aos 240s o sistema é reciclado, havendo a troca destas moléculas de amônia, por moléculas de água, que são novamente ativadas e promovam a reação novamente.

6.6 Avaliação da coordenação da ureia ao complexo

A avaliação da coordenação ou não da ureia aos complexos sugere se a reação de decomposição da ureia ocorrerá via esfera interna ou via esfera externa nos complexos. Para analisar a coordenação da ureia ao complexo pode ser utilizada a técnica de espectroscopia vibracional na região do infravermelho. Sabendo-se que a reação de decomposição da ureia pelos complexos é possível no solvente tetrahidrofurano (THF) e apresenta o mesmo perfil de decaimento da formação de amônia observado nas demais reações em distintas condições. A reação ocorre apenas na presença de água, sendo assim, a análise foi feita em

solvente anidro, no intuito apenas de avaliar a possibilidade de coordenação da ureia aos centros metálicos. Deste modo, foi aplicado o complexo BTPH(Ni-Ni), um equivalente de ureia em THF anidro e a reação foi mantida à temperatura ambiente por oito minutos sob agitação, em seguida foi secada e feita a análise vibracional na região do infravermelho. Outra amostra da reação (seca), foi ressolubilizada em THF e adicionada uma alíquota de água, a reação foi mantida por uma hora sob agitação, em seguida foi secada, e o espectro obtido e apresentado na FIGURA 80.

Conforme observado no espectro vibracional da reação anidra entre o complexo BTPH(Ni-Ni) e a ureia, não são observadas bandas da ureia livre e provavelmente a coordenação da ureia ao complexo ocorre pelo nitrogênio amínico (espectro azul), deste modo, há o aumento da frequência vibracional da ligação C=O da ureia (1614, 1637, 1659 cm^{-1}) para 1770 cm^{-1} , e a diminuição da frequência vibracional da ligação C-N de 1454 cm^{-1} para 1261 cm^{-1} .¹⁷¹ A ureia apresenta estrutura ressonante,⁹⁷ a formação de uma ligação entre o centro metálico e o nitrogênio imínico da ureia aumenta a demanda de elétrons do nitrogênio e também tende a bloquear a ressonância da ureia. Estes efeitos aumentam a frequência de estiramento da ligação C=O, aumentando o caráter de dupla desta ligação e o alongamento da ligação C-N⁹⁸, conforme observado no espectro vibracional. A banda em 801 cm^{-1} pode ser atribuída à deformação angular fora do plano da ligação N-H.

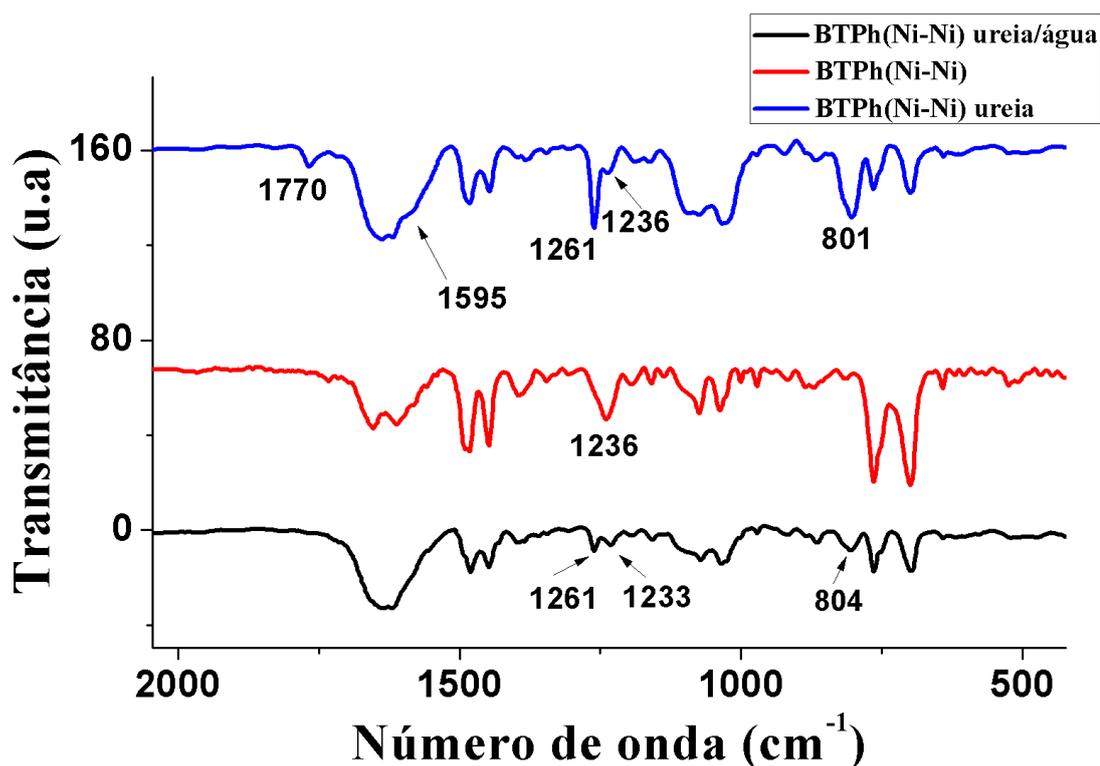


FIGURA 80: Comparação entre os espectros vibracionais do complexo BTPPh(Ni-Ni), BTPPh(Ni-Ni) ureia e BTPPh(Ni-Ni) ureia/água.

Como mencionado anteriormente, após constatada a coordenação da ureia no complexo BTPPh(Ni-Ni), foi adicionada a água na solução do complexo com a ureia coordenada com a finalidade de avaliar a realização da reação de decomposição da ureia. No espectro (linha preta – Figura 80) não é observado o estiramento em 1770 cm^{-1} e a banda em 1261 cm^{-1} praticamente desaparece do espectro, deste modo, após a adição de água é observada a decomposição da ureia coordenada ao complexo, pois não são observadas as bandas referentes à ureia livre e as bandas do complexo após a reação de decomposição da ureia se assemelham ao espectro da amônia coordenada ao complexo. Além disto, as bandas em 1261 cm^{-1} e 804 cm^{-1} se mantêm. Estas, são atribuídas à deformação simétrica e deformação angular fora do plano da ligação N-H respectivamente, indicando que possivelmente amônia formada na reação se coordenou ao complexo. A análise do estiramento da ligação N-H da amônia coordenada

torna-se complicada, visto que o complexo apresenta moléculas de água coordenadas aos centros metálicos, cujas bandas aparecem em regiões próximas aos estiramentos destas ligações no espectro vibracional.

Para critério de confirmação da coordenação da amônia no complexo ao final da reação de decomposição da ureia pela análise espectroscópica na região do infra-vermelho, foi obtido também o espectro do complexo BTPh(Ni-Ni) com amônia coordenada proveniente do hidróxido de amônio.

6.7 Coordenação da amônia no complexo

O complexo apresentou alteração da coloração na tonalidade do verde (verde cana). Após a secagem do complexo, foi feita a análise espectroscópica na região do infra-vermelho para verificar a coordenação da amônia ao complexo, conforme apresentado pelos espectros abaixo.

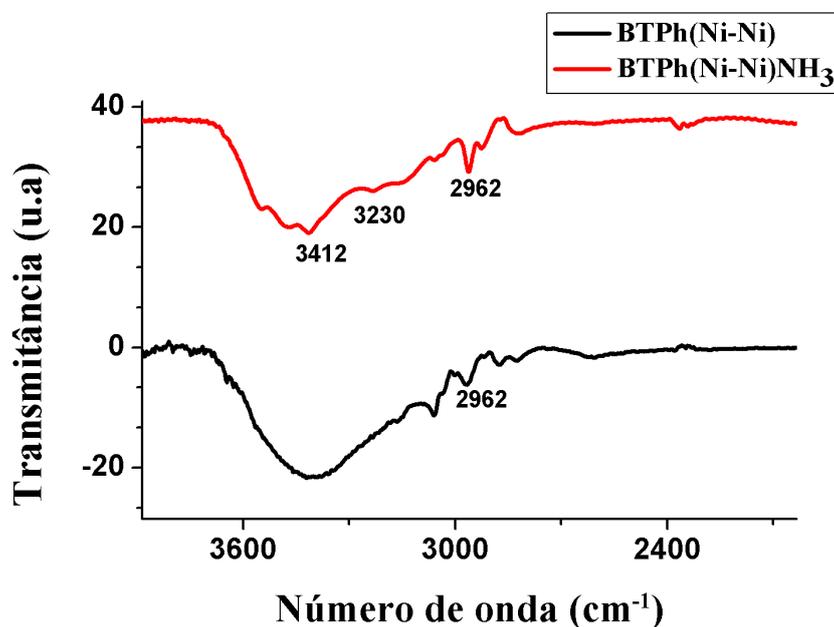


FIGURA 81: Comparação entre os espectros vibracionais do complexo BTPh(Ni-Ni) e BTPh(Ni-Ni)(NH₃).

Os espectros foram divididos em duas partes para facilitar a visualização das bandas. A faixa entre 3000 cm^{-1} e 3600 cm^{-1} é complicada de analisar pois além de apresentar os estiramentos da ligação N-H, pode também apresentar os estiramentos da ligação O-H de moléculas de água coordenadas ou que interagem com o complexo. No entanto, há uma alteração no perfil das bandas, sendo que o complexo apresenta uma banda alargada que cobre toda esta faixa, já o espectro do complexo após a reação com a amônia apresenta bandas mais definidas. A banda em 3230 cm^{-1} pode ser atribuída ao estiramento da ligação N-H da amônia.

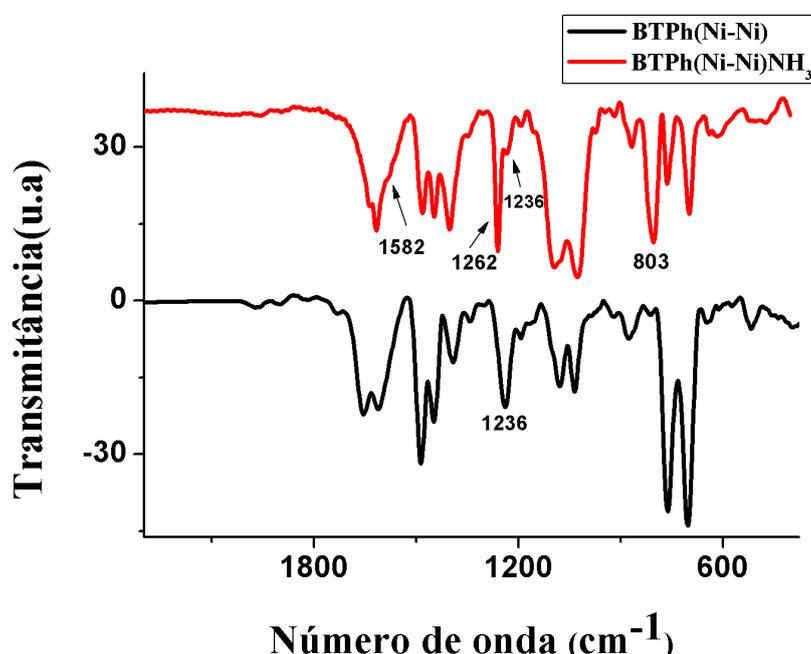


FIGURA 82: Comparação entre os espectros vibracionais do complexo BTPH(Ni-Ni) e BTPH(Ni-Ni)(NH₃).

Conforme observado na FIGURA 83 pela comparação entre os espectros dos complexos BTPH(Ni-Ni) e BTPH(Ni-Ni)(NH₃), há o surgimento de um ombro em 1582 cm^{-1} que pode ser atribuído à deformação degenerada da ligação N-H da amônia. Em 1262 cm^{-1} foi observado o surgimento de uma banda que pode ser atribuída à deformação simétrica da ligação N-H da amônia. Em 804 cm^{-1} também foi observado o surgimento de uma banda referente à deformação

angular fora do plano da ligação N-H⁷¹. Tais bandas confirmam a coordenação da amônia ao complexo.

A análise de condutividade molar do complexo após a complexação de amônia foi feita em diclorometano (anidro) e apresentou o valor de 4,30 $\mu\text{S}/\text{cm}$, sendo abaixo da faixa de eletrólito 1:1 (12-77 μScm^{-1} em diclorometano), deste modo, o complexo mantém-se neutro, apesar do aumento da condutividade quando comparado ao complexo antes da coordenação da amônia. Deste modo, provavelmente, a amônia substitui ligantes lábeis neutros como a água na esfera de coordenação.

6.8 Catálise Anidra seguida da adição de água

Sabe-se que a reação de decomposição da ureia para formação de amônia pelos complexos não ocorre na ausência de água e sendo verificada a coordenação da ureia (em condição anidra) ao complexo pela análise espectroscópica na região do infravermelho foi feito o teste de quantificação de amônia pelo método de Berthelot para confirmar a decomposição da ureia após a coordenação ao complexo, a qual ocorrerá apenas na presença de água. Sendo que certamente a água participa de alguma etapa de ativação da ureia para a reação.

Para este teste foi estudado o complexo BTPH(Ni-Ni) (0,27 μmol), 9 μmol de ureia solubilizada em acetonitrila anidra. Em oito minutos (480s) de reação, foi adicionada uma alíquota de 150 μL de água. Após a adição de água, a contagem do tempo para retirada das alíquotas da reação foi feita conforme os intervalos descritos nas metodologias anteriores para a quantificação da amônia formada.

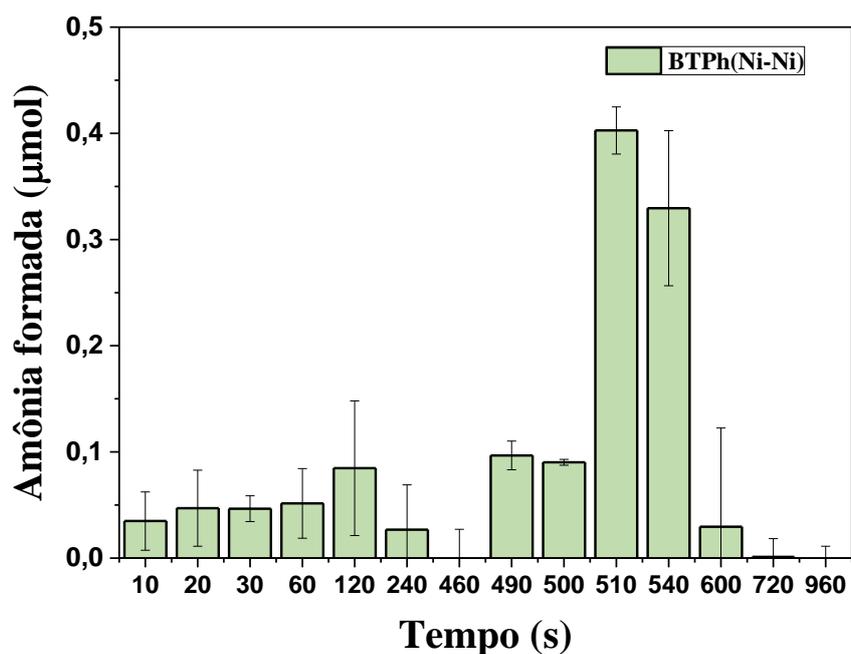


FIGURA 83: Gráfico da quantificação de amônia formada pela reação de decomposição da ureia pelo complexo BTPPh(Ni-Ni), iniciada em condição anidra, seguida da adição de água.

Conforme observado na FIGURA 84, após a adição de água à reação, foi verificada a formação de amônia, no entanto, não ocorreu imediatamente (até os 10 primeiros segundos) como nas reações anteriores, sendo que a detecção ocorre aos 30 segundos após a adição de água e se manteve até um minuto de reação, a partir desse tempo, não foi detectada amônia na faixa de tempo analisada. Foi verificado que a ureia é capaz de ser coordenada ao centro metálico do complexo em condição anidra e também apresenta a decomposição da ureia após a adição de água no sistema. No entanto, apesar de a ureia coordenar-se ao centro metálico, pode ser substituída por moléculas de água, quando adicionadas à reação, e deste modo, a reação pode ocorrer via esfera externa, visto que neste experimento, a amônia formada foi detectada aos trinta segundos de reação, após a adição da água. Isto indicaria que uma reação de substituição de ligantes possivelmente ocorre antes da reação catalítica ocorrer, visto que provavelmente se a reação ocorresse via esfera interna a reação

apresentaria o mesmo perfil observado anteriormente, em que a amônia formada é detectada aos dez segundos de reação.

A coordenação da ureia ao centro metálico do complexo caracteriza a reação de decomposição da ureia via esfera interna e quando não ocorre esta coordenação, o mecanismo é caracterizado via esfera externa. Para avaliar se o mecanismo ocorre via esfera interna ou externa, primeiramente é necessário o conhecimento da espécie ativa da reação, em que para mecanismo via esfera externa a espécie ativa pode ser o aquo-complexo. Sendo assim, a reação de decomposição da ureia foi feita primeiramente pela adição da alíquota de 150 μL de água à solução do complexo e após dez segundos, foi adicionada a alíquota da solução de ureia na reação. A FIGURA 85 apresenta a quantificação da amônia formada nesta reação. O gráfico apresenta a detecção máxima de amônia aos dez segundos de reação, se estendendo até os 30 segundos, assim como as reações em que é adicionada a água e ureia em conjunto (solução de ureia). Deste modo, a adição da alíquota de água inicialmente ao sistema reacional, seguida da adição da ureia, sugere que a espécie ativa da reação é o aquo complexo e que apesar de ter sido verificada a coordenação da ureia ao centro metálico, a água também pode ser facilmente coordenada ao centro metálico, visto que as estruturas de todos os complexos já apresentam moléculas de água coordenadas.

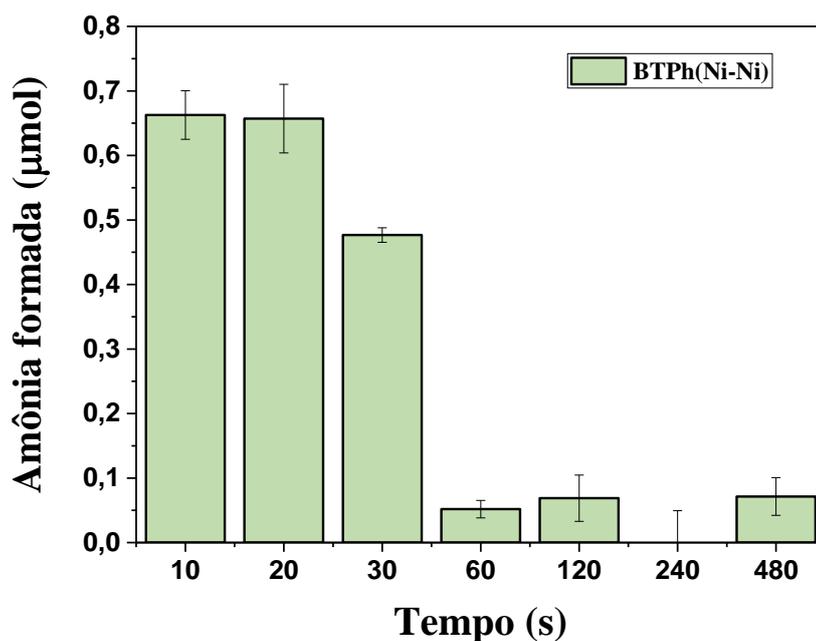


FIGURA 84: Gráfico da amônia formada, em que para a reação primeiramente foi adicionada a água e após 10 segundos, a ureia.

Complexos binucleares de níquel, miméticos estruturais e funcionais da urease, foram sintetizados de modo à conter ligantes lábeis que favorecem a formação da espécie ativa da reação de decomposição da ureia. Além de serem testados nas reações de decomposição da ureia, foram feitos cálculos teóricos para avaliação das energias envolvidas na formação da espécie ativa do complexo na reação e interação da ureia com esta espécie ativa⁵³. Dentre os valores de energia calculados, verificou-se que o gasto energético é menor pela interação secundária da ureia com a espécie do aquo-complexo, sendo a energia líquida de estabilização de -102 kJ.mol^{-1} . Esta interação ocorre entre uma molécula de água coordenada ao complexo e o oxigênio do grupo carbonila, ocorre a transferência inter molecular de um próton da água coordenada para o nitrogênio da amida livre da ureia, assim é formada e liberada a amônia e o isocianato⁵³.

6.9 Titulação da solução do complexo BTP(Ni-Ni) com água

Apenas o complexo BTB(Ni-Ni) é solúvel em acetonitrila, mas todos são solúveis e neutros quando solubilizados em diclorometano. O complexo BTP(Ni-Ni) foi solubilizado em 30 microlitros de diclorometano e 1,5 mL de acetonitrila (anidra), em seguida, foi medida a condutividade e visto que esta já foi alterada para a faixa de eletrólito 1:1. Para avaliar tal alteração da condutividade, foi feito um teste qualitativo pela adição de uma alíquota de solução de nitrato de prata (AgNO_3) (solubilizado em acetonitrila) à esta solução do complexo. Após esta adição, instantaneamente foi observada a precipitação do cloreto de prata na solução do complexo, indicando que os íons cloreto estavam livres e que provavelmente foram substituídos pela acetonitrila.

A solução do complexo BTP(Ni-Ni) em diclorometano e acetonitrila foi submetida à adição de alíquotas de 10 μL de água destilada e observada a variação da condutividade durante 8 minutos para cada adição, conforme observado na FIGURA 86.

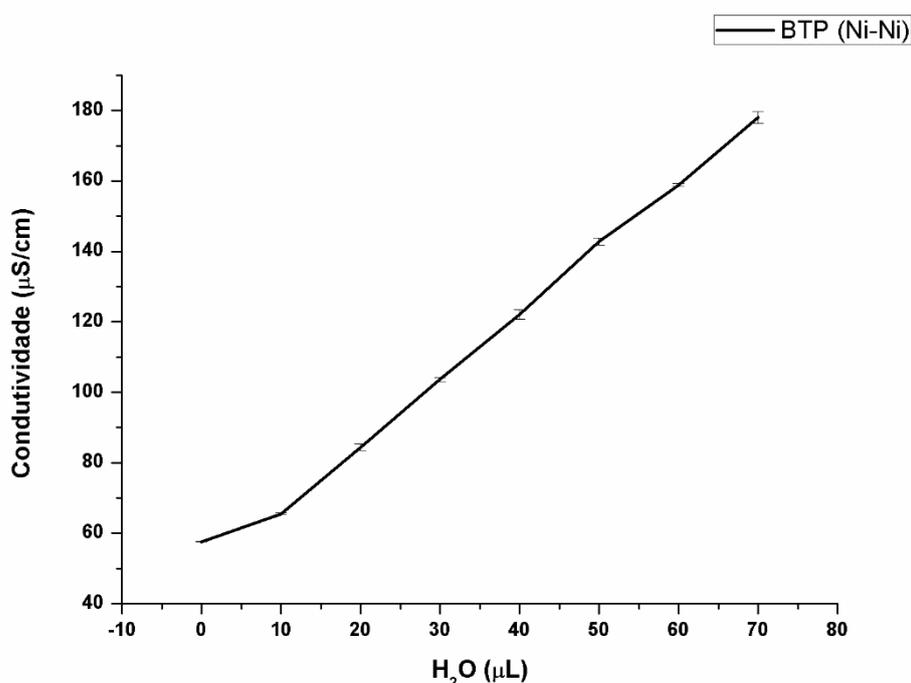


FIGURA 85: Gráfico da condutividade do complexo pela adição de alíquotas de água.

A solução do complexo em diclorometano e acetonitrila inicialmente já apresenta condutividade na faixa de eletrólito 1:1 ($57 - 204 \mu\text{Scm}^{-1}$). O gráfico também mostra que conforme a água foi adicionada na solução do complexo, a condutividade foi aumentada, e com volume de 70 microlitros de água, a solução atingiu a faixa de eletrólito 2:1 ($162 - 345 \mu\text{Scm}^{-1}$), indicando também a possível substituição de um ligante lábil aniônico por uma molécula de água nos centros metálicos do complexo.

6.10 Avaliação da espécie ativa do complexo na decomposição da ureia

Para confirmar se a espécie ativa da reação de decomposição da ureia é o aquo complexo, foram feitos experimentos de espectrometria de massas, de modo a identificar as espécies do complexo formadas durante a reação. A FIGURA 87 apresenta a comparação entre os espectros obtidos. Primeiramente foi obtido o espectro de massas do complexo BTB(Ni-Ni) em acetonitrila espectro (1), posteriormente adicionou-se uma alíquota de 10 μL de água na solução do complexo, espectro (2), então foi aumentada a proporção de água acrescentando uma alíquota de 100 μL de água à esta solução, espectro (3). O espectro (4) é referente à solubilização do complexo em acetonitrila com o acréscimo de ureia solubilizada em acetonitrila (isento da presença de água), já o espectro (5) é obtido pela adição de uma alíquota de 100 μL de água à solução do complexo com ureia.

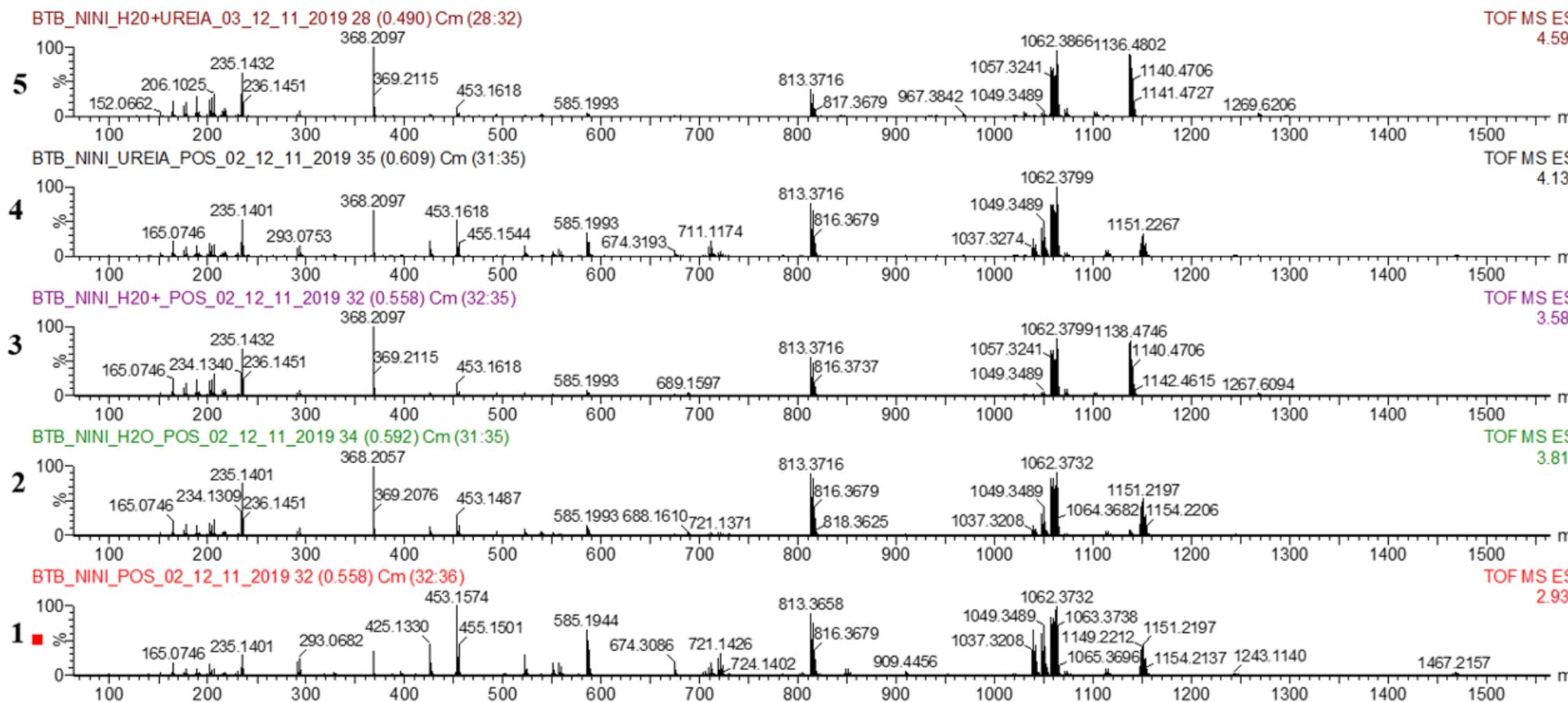


FIGURA 86: Comparação entre os espectros de massas do complexo BTB(Ni-Ni) solubilizado em acetonitrila (1); Complexo solubilizado em acetonitrila com adição de alíquotas de água (2 e 3); Complexo com ureia em acetonitrila (4); Complexo com ureia em acetonitrila e água (5).

Conforme pode ser observado pela comparação entre os espectros, o espectro (1) apresenta picos de cátions do complexo, tais como o pico com $m/z = 1037,3208$, que condiz com a estrutura do complexo composta por dois íons cloretos coordenados e o pico com $m/z = 1149,2212$ é referente à estrutura do complexo com uma molécula de acetonitrila coordenada, indicando a substituição de um dos ligantes lábeis (Cl^- ou H_2O) por este solvente. Para a obtenção desta estrutura, provavelmente ocorre o rompimento da ponte fenolato e com isso a oxidação do Ni(II) a Ni(III) que permanece coordenado ao fenolato, devido à aplicação do potencial durante a análise e com isso pode ter ocorrido a coordenação de um íon cloreto, obtendo-se assim o cátion do complexo conforme a estrutura proposta na FIGURA 89. Os padrões isotópicos destas estruturas também são condizentes com os padrões obtidos experimentais.

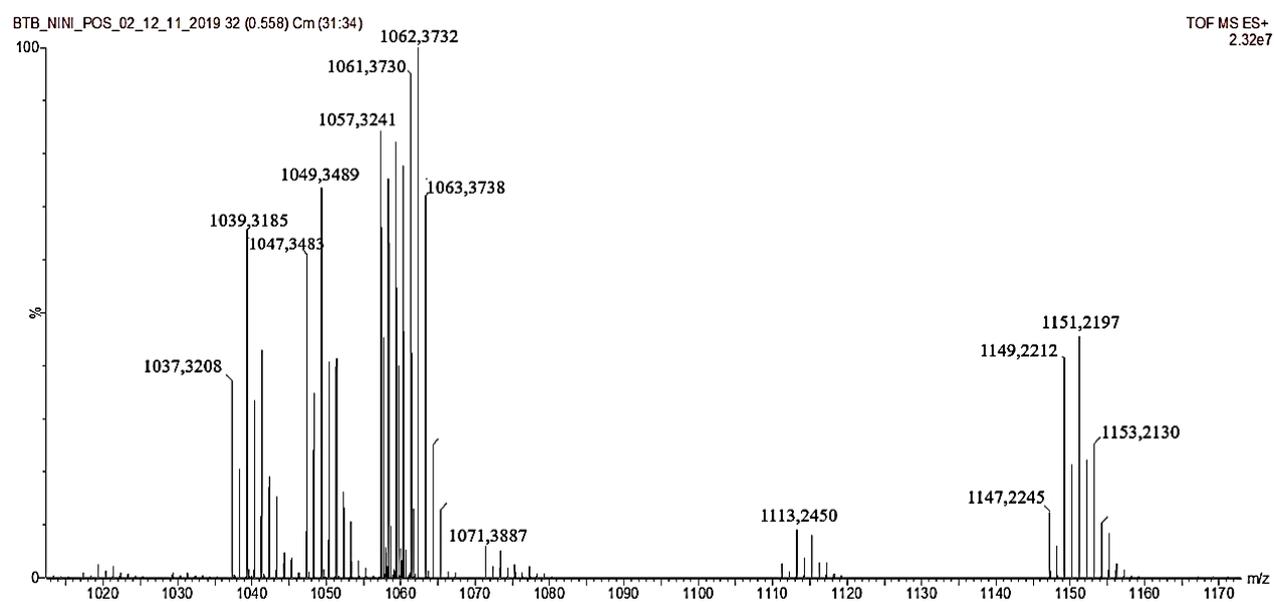


FIGURA 87: Espectro de massas do complexo BTB(Ni-Ni) solubilizado em acetonitrila e adição de água.

$$m/z \text{ (teórica)} = 1037,3208$$

$$m/z \text{ (experimental)} = 1037,3208$$



Erro= 0,067ppm

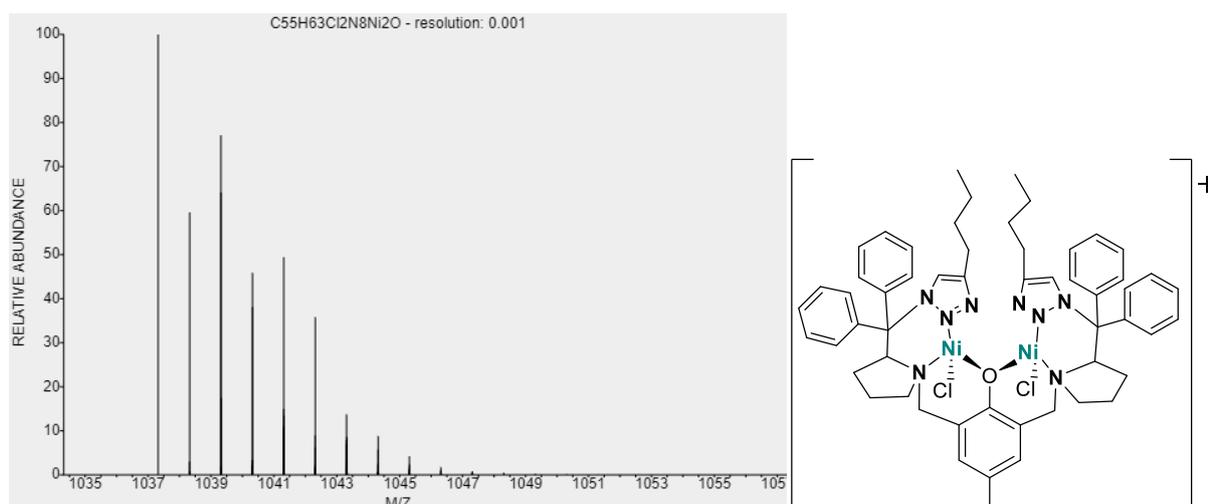


FIGURA 88: Simulação do padrão isotópico e estrutura proposta do cátion do complexo, na análise do complexo BTB(Ni-Ni).

m/z (teórica) = 1149,2177

m/z (teórica) = 1149,2212

Fórmula mínima: $C_{53}H_{60}Cl_4N_9Ni_2O_3Na$

Erro = 2,984 ppm

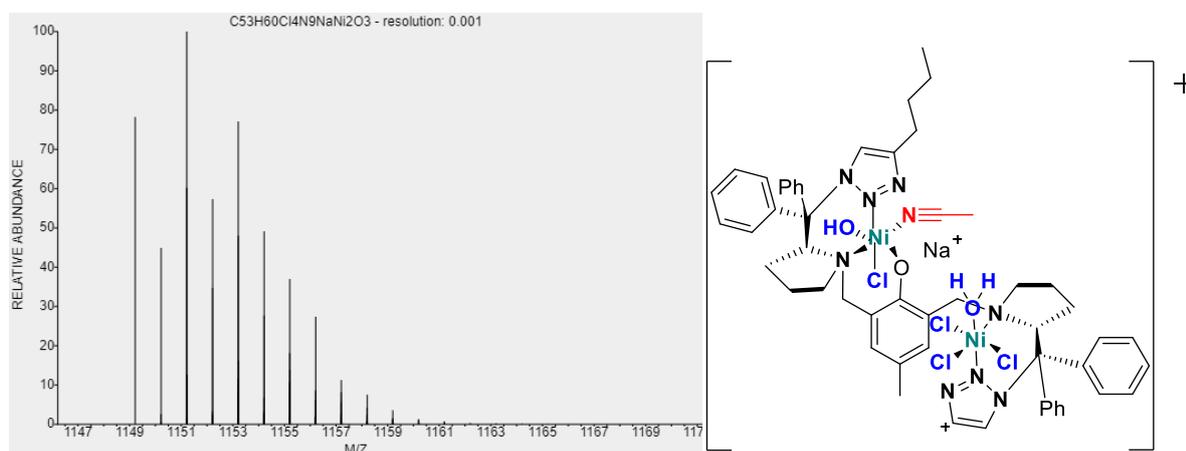


FIGURA 89: Simulação do padrão isotópico e estrutura proposta do cátion do complexo, na análise do complexo BTB(Ni-Ni) em acetonitrila.

Após a adição da alíquota de 10 μ L de água na solução do complexo em acetonitrila (espectro 2), praticamente não foram observadas alterações no espectro quando comparado ao espectro do complexo BTB(Ni-Ni) em

acetonitrila (1), no entanto, quando é aumentado o teor de água (espectro 3), é possível observar o surgimento de um pico de $m/z= 1136,4734$ e o desaparecimento do pico de $m/z= 1149,2212$ o qual está presente nos espectros 1 e 2. Sugere-se que a acetonitrila coordenada na espécie do complexo com $m/z= 1149,2212$ tenha sido substituída pela molécula de água quando adicionada água na solução do complexo em acetonitrila, e deste modo, o pico com $m/z = 1149,2212$ não é observado no espectro (3) e conversão ao aquo complexo $m/z= 1136,4734$.

O pico de $m/z= 1136,4734$ está relacionado ao surgimento da espécie do complexo com moléculas de água coordenadas. Sugere-se que para a obtenção deste pico ocorra o rompimento da ponte fenolato, e com isso haja a oxidação de um dos níqueis, visto que durante a análise, para ionização da amostra é aplicado um potencial, que pode favorecer tal oxidação, e deste modo é obtido o cátion do complexo com moléculas de água e acetonitrila coordenadas, conforme indica a proposta da estrutura do complexo na FIGURA 92.

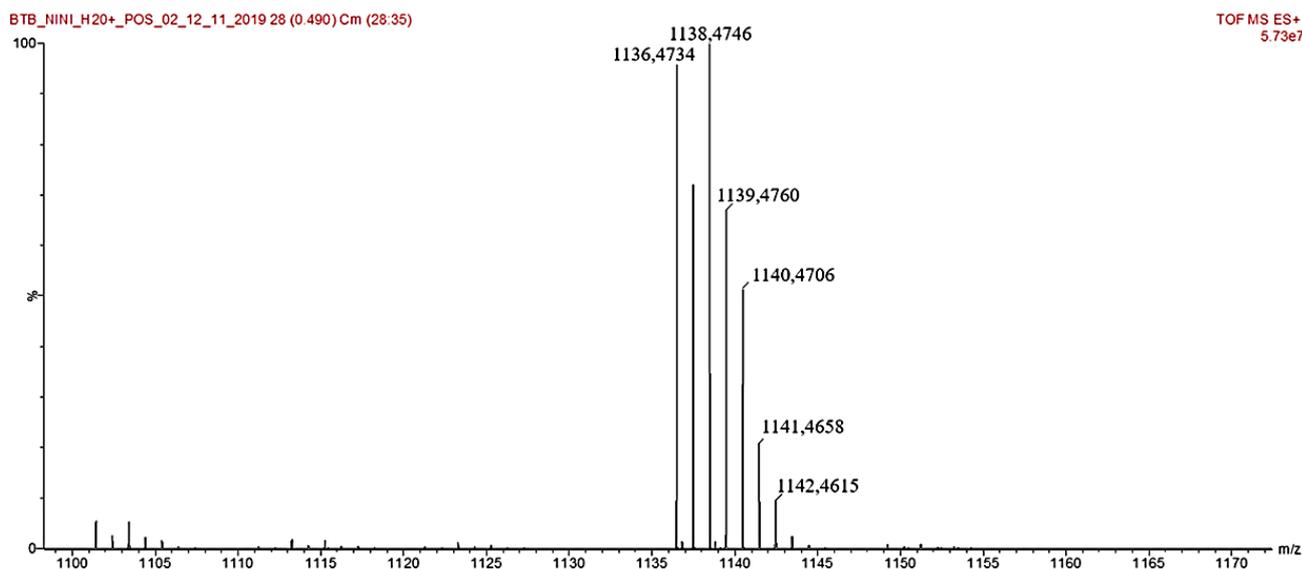


FIGURA 90: Espectro de massas do complexo BTB(Ni-Ni) solubilizado em acetonitrila e adição de água.

m/z (teórica) = 1136,4656

m/z (experimental) = 1136,4734

Fórmula mínima: C₅₉H₇₆N₁₀Ni₂O₆

Erro= 6,863 ppm

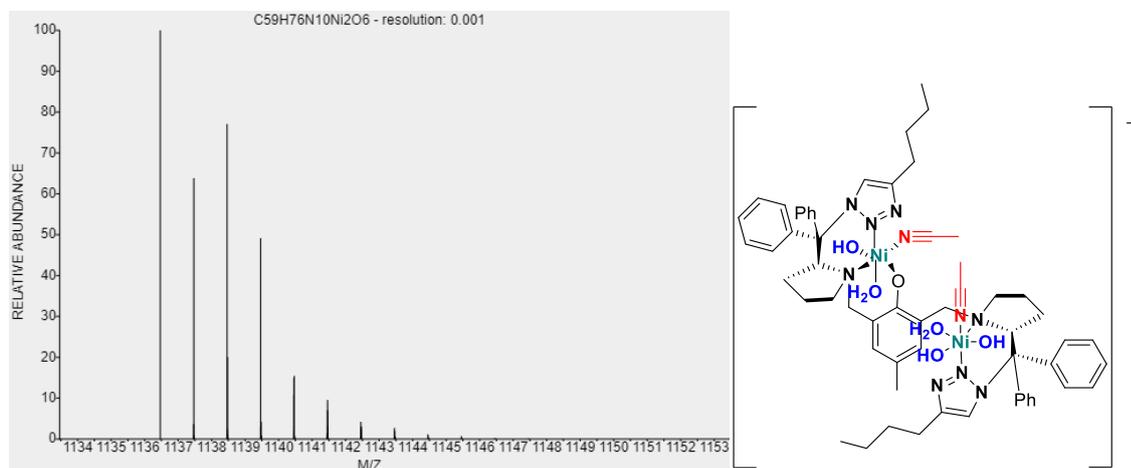


Figura 91: Simulação do padrão isotópico do pico atribuído ao cátion do complexo BTB(Ni-Ni) solubilizado em acetonitrila e adição de água.

Ainda pela comparação entre o espectro 1 e o complexo solubilizado em acetonitrila com ureia (espectro 4), verifica-se que praticamente não há alterações nos picos observados. Foi verificado apenas o surgimento de um pico com $m/z= 967,3842$, (devida baixa intensidade dos picos deste espectro não é possível observar este pico, apenas quando expande o espectro, deste modo, este espectro é mostrado na FIGURA 93) o qual é atribuído à estrutura do complexo com moléculas de amônia, amideto e isocianato coordenadas ao complexo, tal estrutura (FIGURA 94) indica que o complexo pode ter decomposto a ureia para formação de moléculas de amônia.

Apesar de não ter sido adicionada água no sistema para obtenção deste espectro, o complexo apresenta moléculas de água, tanto coordenadas como de hidratação, interagindo com o complexo, deste modo, pode ter sido favorecida a reação para formação de amônia, ainda que em baixas proporções, e após a formação, a coordenação destas moléculas ao complexo. Assim, não foi

identificado o surgimento de picos neste espectro que apresentam a ureia coordenada ao complexo. Deste modo, sugere-se que durante a catálise, após a adição da solução de ureia ao complexo, haja a coordenação de moléculas de água no complexo, para a formação da espécie ativa da reação.

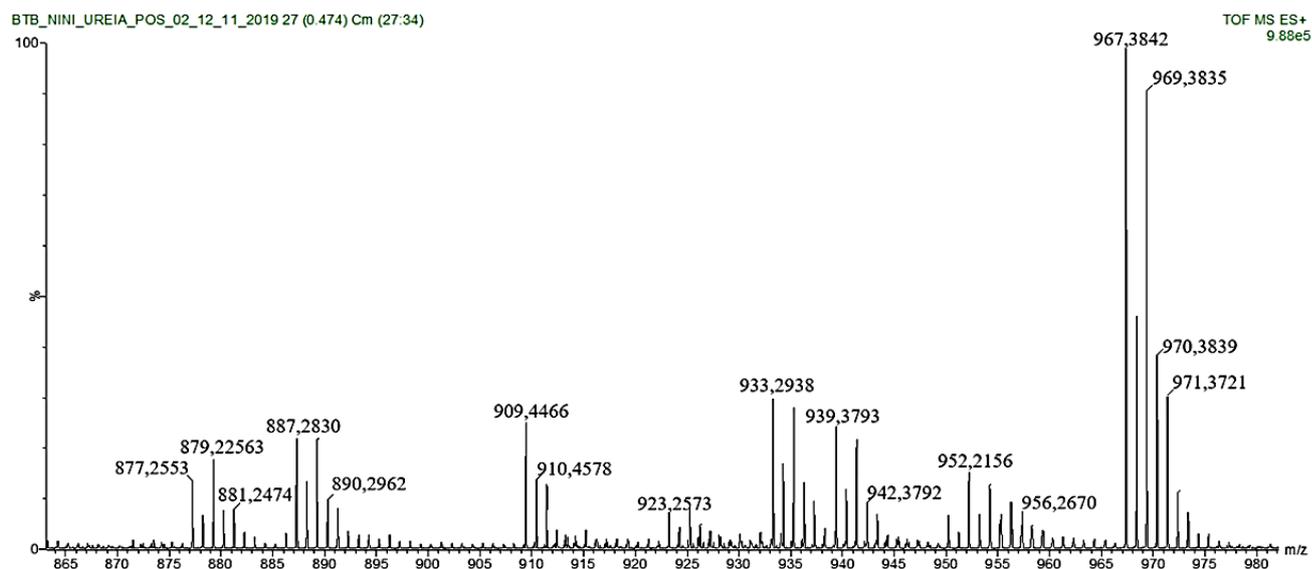


FIGURA 92: Espectro de massas do complexo BTB(Ni-Ni) solubilizado em acetonitrila e adição de ureia.

$$m/z \text{ (teórica)} = 967,3903$$

$$m/z \text{ (exp.)} = 967,3842$$

Fórmula mínima: $C_{49}H_{63}N_{12}Ni_2O_2$

Erro= 6,305ppm

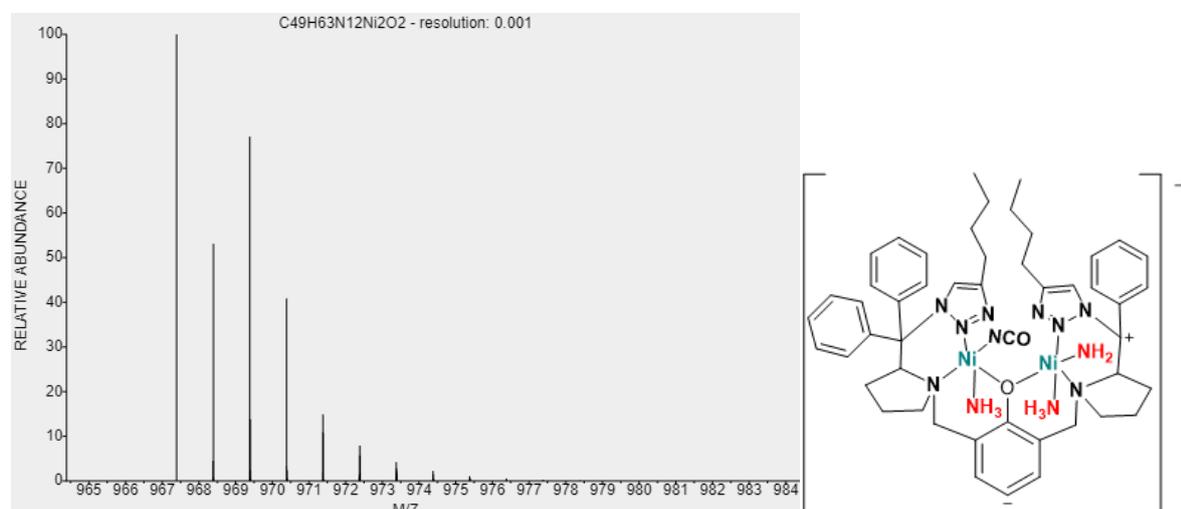


Figura 93: Simulação do padrão isotópico e estrutura proposta do cátion do complexo solubilizado em acetonitrila e adição de ureia.

Após a adição de uma alíquota de água na solução do complexo com ureia (FIGURA 95), foi verificado no espectro, que além do surgimento do pico de $m/z = 967,3842$, foi observado o surgimento de outro pico de $m/z = 843,2966$, também atribuído à estrutura do complexo com moléculas de amônia coordenadas indicando que houve a reação de decomposição da ureia para formação de amônia pelo complexo na presença de água, e em seguida ocorre a coordenação da amônia formada ao complexo, no final da reação.

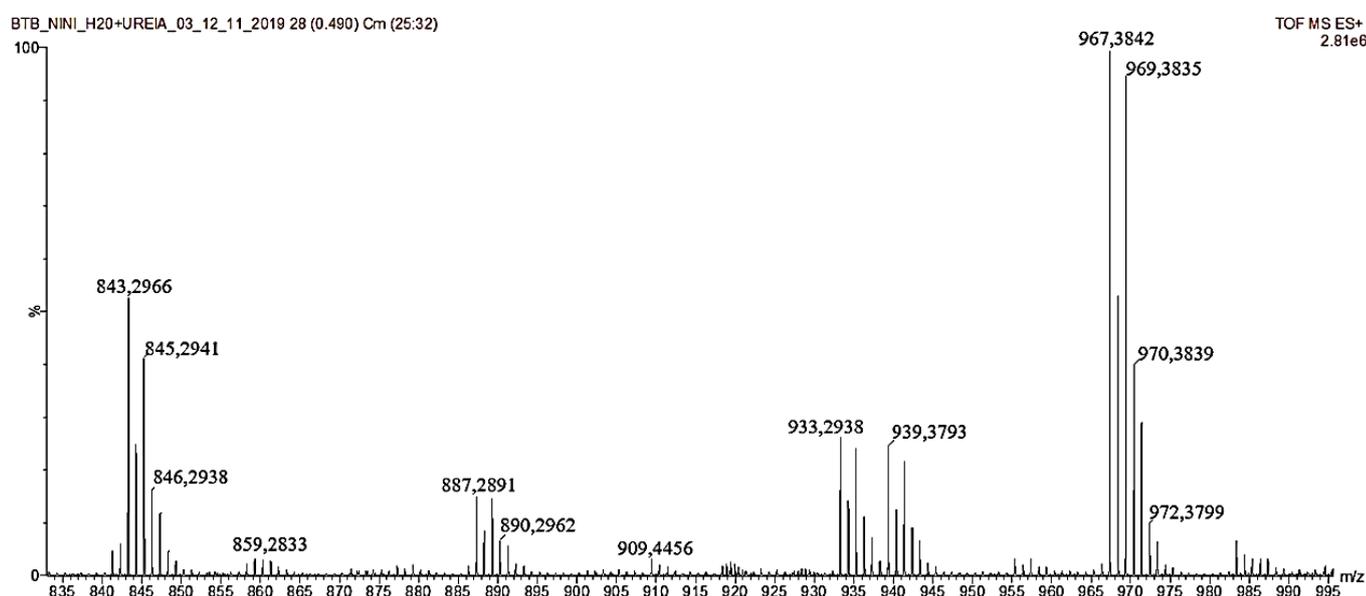


FIGURA 94: Espectro de massas do complexo BTB(Ni-Ni) solubilizado em acetonitrila e adição de ureia com água.

$$m/z \text{ (teórica)} = 843,3015$$

$$m/z \text{ (exp.)} = 843,2966$$

Fórmula mínima: $C_{41}H_{51}N_{12}Ni_2O$

$$\text{Erro} = 5,810\text{ppm}$$

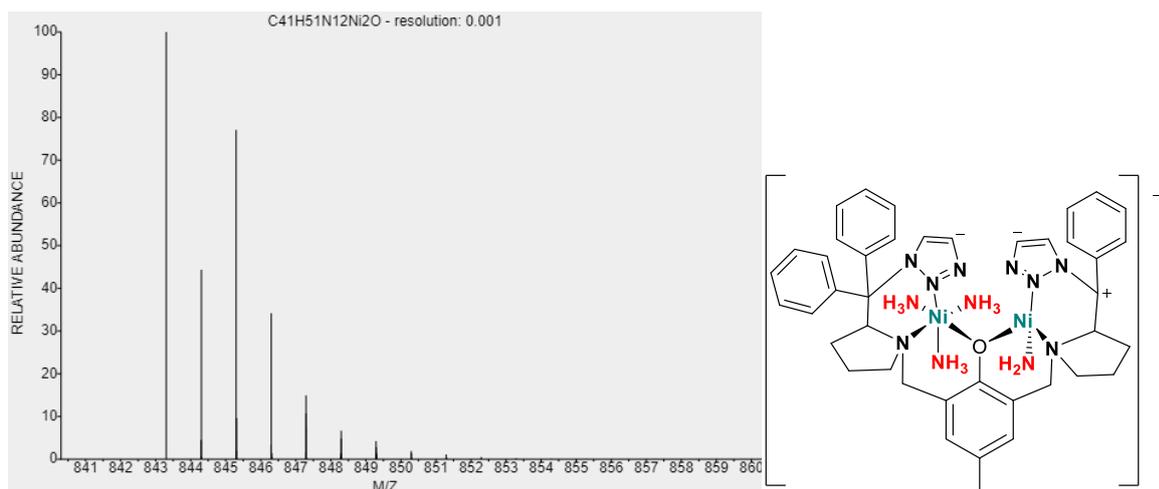


Figura 95: Simulação do padrão isotópico e estrutura proposta do cátion do complexo solubilizado em acetonitrila e adição de água e ureia.

Além de verificar que a ureia não é coordenada ao complexo em solução, por esta técnica, é possível observar a coordenação da água ao complexo, a qual é a espécie ativa da reação. Verifica-se também que há a coordenação da amônia ao complexo ao final da reação, indicando que não são todas as espécies do complexo que são ativadas para promover a reação. Tal observação é condizente com os experimentos que evidenciam o perfil catalítico da reação, que indica que a formação de amônia independe da quantidade de complexo utilizada.

Após a adição de água e ureia na solução do complexo em acetonitrila foi verificado o surgimento de picos nos espectros de massas atribuídos à coordenação de amônia ao complexo, no entanto, não foi observado o desaparecimento do pico atribuído à espécie ativa da reação (aquo-complexo), a qual deveria ser diminuída ou não mais detectada, visto que a reação é cessada. Sendo o aquo complexo a espécie ativa da reação, o mecanismo ocorre via esfera externa e deste modo, para o prosseguimento da reação, além de haver a dependência da formação da espécie ativa, há também a dependência da interação da ureia com o aquo-complexo. Deste modo, provavelmente a reação atinge o equilíbrio em que estão coexistindo espécies do complexo com

acetonitrila, água e amônia coordenadas, sendo a estabilidade do complexo semelhante para tais ligantes. Visto tal perfil de equilíbrio na reação, foram feitos testes de reciclagem do complexo para avaliar a perturbação deste equilíbrio gerado.

6.11 Reciclagem do catalisador

Visto que a amônia pode ser coordenada ao centro metálico após ter sido formada e assim cessada a reação, foi feito o teste de reciclagem para analisar a reativação da espécie ativa da reação. A detecção da amônia formada nesta reação está representada na FIGURA 97.

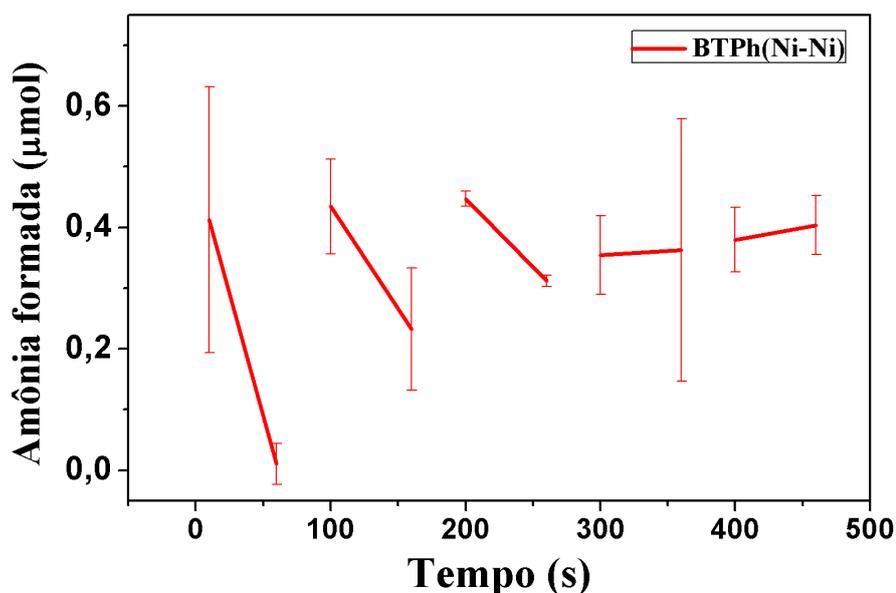


FIGURA 96: Reciclagem do complexo com adições consecutivas de solução de ureia.

O gráfico da reação de decomposição da ureia com sucessivas adições de solução de ureia apresenta picos máximos de detecção de amônia aos dez segundos após a adição da solução de ureia até os 200 segundos de reação, indicando que a amônia coordenada pode ser substituída pela água no centro

metálico e o complexo ser ativado novamente para decompor a ureia e formar novamente a amônia.

Após a terceira adição da solução de ureia à reação praticamente não é observado o efeito de diminuição da detecção de amônia, demonstrando que há amônia livre na reação. Nesse sentido, há a reciclagem do complexo, sendo que o aumento da disponibilidade de ureia favorece o deslocamento do equilíbrio da reação para formação de amônia e ao final da reação o sistema se mantém em equilíbrio, sendo que a adição da solução de ureia não perturba o sistema.

Visto que nos testes de reciclagem a ureia e a água são adicionadas em conjunto na reação, e é sugerida que a espécie ativa da reação seja o aquo complexo, foi feita a análise da substituição da amônia coordenada ao complexo pela água.

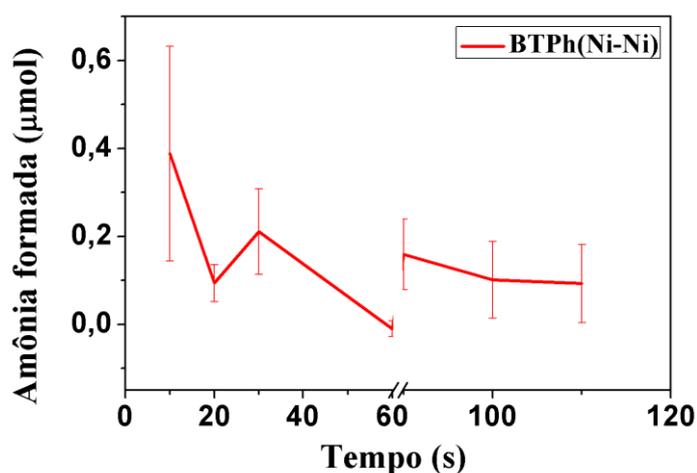


FIGURA 97: Reciclagem do complexo BTPH(Ni-Ni) (0,27 µmol), pela adição de alíquota de 150 µL água aos 80 segundos de reação à 20°C.

Conforme observado no gráfico (FIGURA 98) após um minuto de reação, em que a amônia praticamente não é detectada, foi adicionada a alíquota água na reação, e considerando o efeito de diluição, foi observada novamente discreta detecção de amônia. Sugere-se assim que a amônia formada pode ter sido

coordenada e após a adição de água pode haver a substituição da amônia coordenada pela água, possibilitando deste modo, a detecção de amônia no meio. Entretanto, possivelmente não há uma substituição total de todas as moléculas de amônia pois a quantidade que coordena deverá ser maior. Após a amônia ter sido novamente detectada (90s), apesar de baixos teores, verifica-se que a detecção de amônia se mantém praticamente constante, nesta faixa de tempo. Tal comportamento pode ser atribuído ao aumento da solubilidade da amônia no meio com o aumento da proporção de água.

6.12 Catálise da decomposição da ureia pela com cloreto de níquel hexahidratado como catalisador

A catálise da decomposição da ureia também foi feita apenas com o sal do metal utilizado para a síntese dos complexos ($\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), para avaliar a capacidade em decompor a ureia.

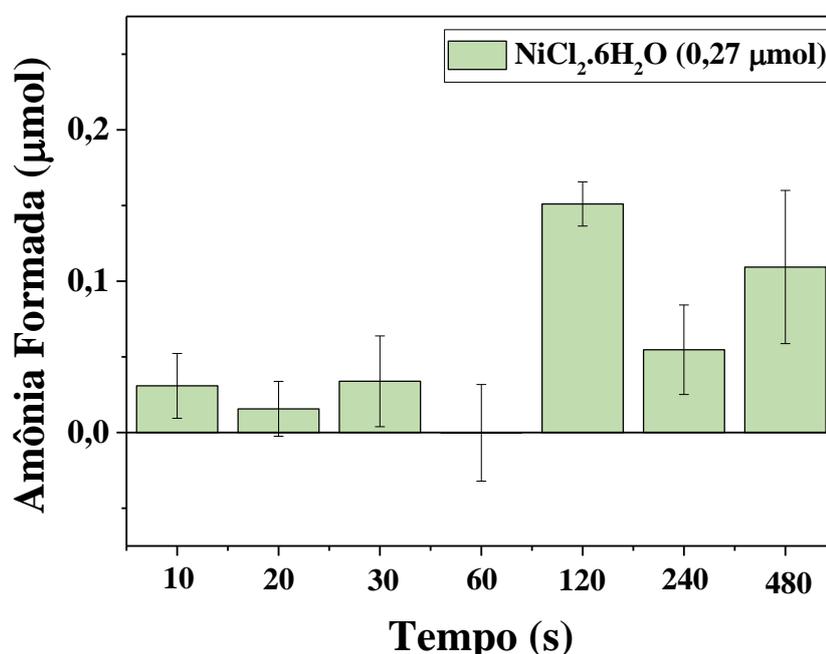


FIGURA 98: Gráfico da decomposição ureia pela aplicação do cloreto de níquel como catalisador.

Conforme a FIGURA 99, praticamente não é observada a formação de amônia nos tempos analisados.

Este teste indica a importância e a funcionalidade dos ligantes coordenados ao metal para formação do complexo, sendo que deste modo podem promover estabilidade do centro metálico, principalmente a metais que possuem variados estados de oxidação⁹⁹. Além disso, os ligantes tornam seletiva a coordenação de outros ligantes/substratos ao centro metálico, podendo orientar a entrada destes em determinada posição do complexo, por algum tipo de efeito de doação ou retrodoação que proporcione sua estabilidade estando coordenados no complexo. A seletividade da entrada de substratos também pode ocorrer pelo impedimento estérico gerado pelos ligantes. Na catálise, os ligantes também são capazes de promover interações com o substrato em etapas de formação e estabilização de intermediários.

6.13 Reação de catálise acompanhada por ^{15}N RMN

Para a detecção de intermediários da reação de catálise da decomposição da ureia, foi feita a análise por ^{15}N RMN sendo aplicada ureia marcada (^{15}N) como substrato solubilizada em água destilada (500 μL), o complexo BTB(Ni-Ni), mesma quantidade que a aplicada nas catálises, solubilizado em diclorometano (100 μL), acrescentou-se acetonitrila, como solvente de transferência de fase. Primeiramente foi feita apenas a análise da ureia marcada, conforme o espectro ^{15}N RMN (vermelho) mostrado na FIGURA 100, e em seguida, adicionado via cânula o complexo solubilizado em diclorometano e diluído em acetonitrila, após homogeneizar as fases das soluções no tubo foi observado o espectro azul.

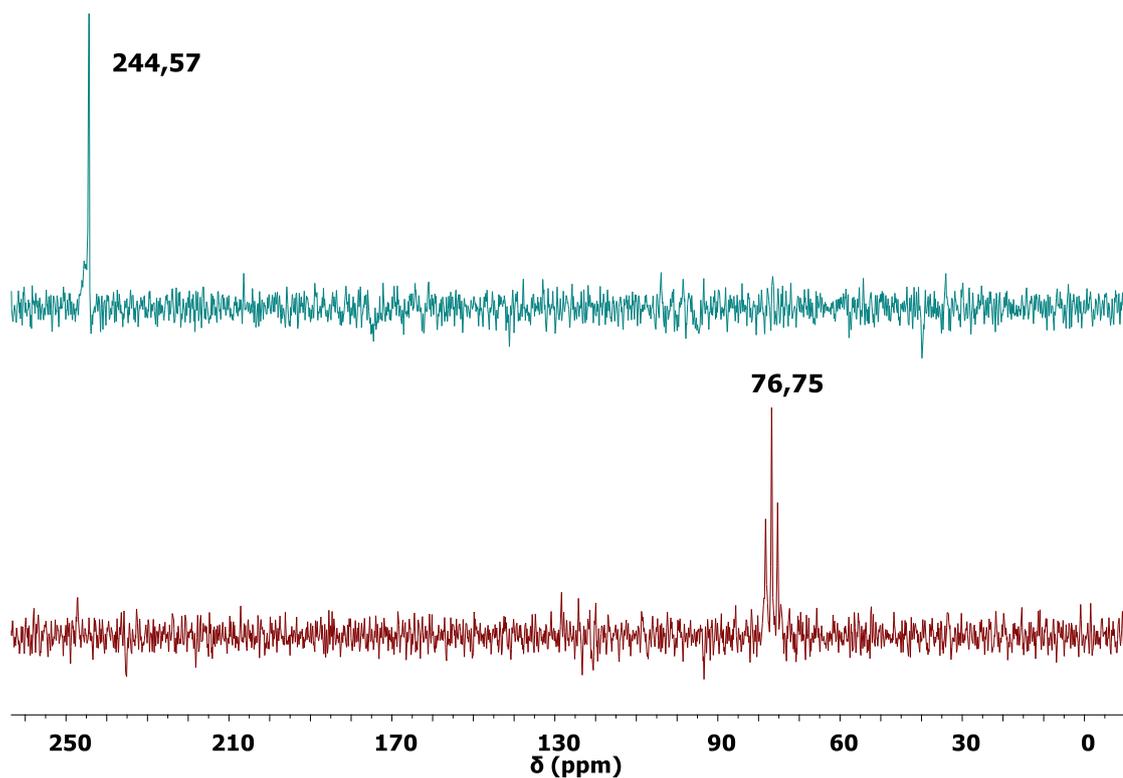


FIGURA 99: Espectro ^{15}N RMN da proposta do mecanismo de decomposição da ureia, espectro vermelho – ureia; espectro azul - isocianato.

Inicialmente no espectro vermelho é observado o sinal de ^{15}N da ureia marcada em 76,82 ppm e após a adição do complexo BTB(Ni-Ni) é observado no espectro azul o desaparecimento deste sinal da ureia e o surgimento de um sinal em 244,46 ppm que pode ser atribuído ao nitrogênio do isocianato⁵³. Este dado indica que possivelmente este é o intermediário da reação que pode ser caracterizada como reação de eliminação da amônia. Este produto, apesar de ter sido formado praticamente instantaneamente se manteve estável, sendo que após a obtenção deste espectro, outros espectros foram obtidos, inclusive após 24 horas e não foi observado o desaparecimento deste sinal.

A detecção da amônia não foi possível, pois é liberada na forma de gás, sendo que após a análise é observada a presença de bolhas no tubo que possivelmente são dos produtos formados, amônia e dióxido de carbono.

Em outro trabalho de miméticos reacionais da hidrólise da ureia⁵³, também foi verificada a formação do intermediário isocianato durante a reação do complexo com a ureia pela técnica de ¹⁵N RMN, além disso também não foi detectada a presença da amônia formada, sendo que também observou-se a formação de bolhas no tubo durante a análise, deste modo, pode haver a perda de amônia por volatilização, conforme observado nas reações de decomposição da ureia. Outros trabalhos de miméticos da urease^{50,52} também detectaram a formação do isocianato como intermediário da reação de decomposição da ureia, no entanto, a detecção ocorreu por meio de difração de raios x, em que foi verificada a coordenação do isocianato ao centro metálico dos miméticos.

6.14 Influência do pH na reação de decomposição da ureia

Nos testes catalíticos também foi avaliada a influência do pH nas reações. As soluções de ureia (9,0 μmol) aplicadas nas reações foram feitas em solução tampão fosfato (pH=6 e pH=8, teor de solução tampão: 52,63% em relação ao volume total de solventes). Foi utilizado o complexo BTPH(Ni-Ni) (0,27 μmol), à 20°C.

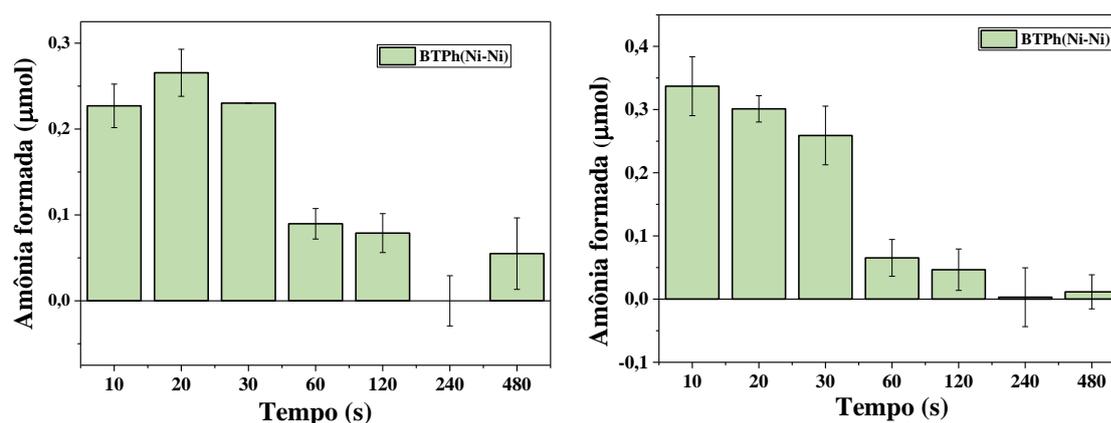


FIGURA 100: Gráfico da influência do pH na reação de decomposição da ureia pelo complexo BTPH(Ni-Ni) em tampão fosfato (52,63%), pH= 8,0 (esquerda) e pH= 6 (direita) (52,63%) à 20°C.

As reações com tampão fosfato, comparadas às reações com água, apresentam menores quantidades de amônia formada, o que pode ser atribuído à possíveis interações de íons fosfato com os complexos, dificultando a reação. No entanto ainda assim as reações ocorreram.

Em tampão fosfato, pode ocorrer a inibição da urease e tal inibição é dependente do pH do tampão fosfato. Sugere-se que a inibição da urease ocorra pelo íon H_2PO_4^- , sendo que em $\text{pH} > 6,5$, o resíduo de histidina no sítio ativo que favorece a reação de hidrólise da ureia é desprotonado, e deste modo há repulsão entre esta espécie e o íon H_2PO_4^- , resultando em uma fraca inibição da urease. Já em $\text{pH} < 6,5$, este resíduo se apresenta protonado, havendo maior acesso do íon H_2PO_4^- ao sítio ativo, e nesta etapa, a inibição se torna mais forte visto que o íon H_2PO_4^- pode coordenar-se à um dos níqueis do sítio ativo da urease, ou aos dois níqueis em forma de ponte. Em testes realizados com tampão fosfato, iniciados pelo $\text{pH} = 7,62$ e foi aumentado o pH, nestes testes não foi observado efeito na inibição da urease¹⁰⁰.

Conforme observado pela comparação entre os gráficos, a detecção de amônia é maior para o $\text{pH} = 6$ em relação ao $\text{pH} = 8$. O pH mais ácido do meio reacional, favorece etapas de protonação do grupo amina da ureia para formação da amônia, ou inclusive do oxigênio do grupo carbonila, que favorece a ativação da ureia. O pH maior favorece a reação de hidrólise, visto que se a água é coordenada ao centro metálico do complexo, prevalecerá a espécie desprotonada (íon hidróxido), deste modo, provavelmente a reação seria iniciada por um ataque nucleofílico ao carbono do grupo carbonila (espécie eletrofílica). Conforme observado nos experimentos de ^{15}N RMN com a ureia marcada, foi determinado o isocianato como intermediário de reação, o qual sugere que a reação ocorre via eliminação, deste modo, o pH menor contribui com a primeira

etapa deste tipo de mecanismo. Este experimento então corrobora com a proposta de que o mecanismo da reação não ocorre via hidrólise.

6.15 Teste de detecção de ureia livre

De acordo com o teor de amônia formada em relação à quantidade de ureia aplicada nos testes, sugere-se que ainda haja ureia residual no sistema reacional. Para confirmar tal presença de ureia, foi feita primeiramente a reação de decomposição da ureia (9,0 μmol) pelo complexo BTP(Ni-Ni) (0,27 μmol) solubilizado em diclorometano e acetonitrila, a reação foi mantida à 20°C e a amônia foi detectada nos tempos de 10, 20, 30 e 60 segundos. Após esse tempo, a reação foi secada e solubilizada em tampão fosfato pH = 7,0 e adicionada a uréase de Jack bean solubilizada em tampão fosfato pH = 7,0. A ureia livre foi detectada indiretamente pela detecção de amônia, visto que a urease deverá decompor o excesso de ureia livre que não foi completamente consumida na reação.

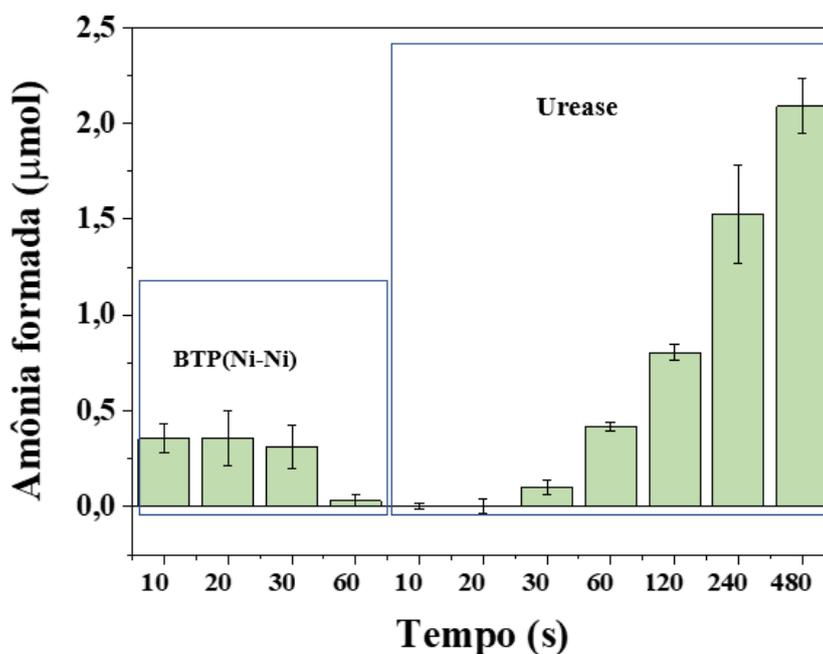


FIGURA 101: gráfico da avaliação de ureia livre após a reação de decomposição da ureia pelo complexo BTP(Ni-Ni) e prosseguimento da reação pela Urease de Jack bean em tampão fosfato pH= 7,0 à 20°C.

Conforme observado na FIGURA 102, após sessenta segundos de reação é diminuída a detecção da amônia formada. A condução da reação com os produtos remanescentes, indicam a presença de ureia livre no sistema reacional. Sugere-se assim que a reação de decomposição da ureia pelo mimético, não tenha sido completada, provavelmente pelo bloqueio do centro metálico, ou por alcançar um equilíbrio.

Os testes de decomposição da ureia pela urease de Jack bean *Canavalia ensiformis* foram realizados em tampão fosfato pH = 7,00 assim como os testes para detecção de ureia residual dos testes catalíticos. Ao ser comparada a detecção de amônia entre estes testes, observa-se que a atividade da urease com a ureia apenas, é maior do que a atividade da urease com a ureia residual proveniente da catálise pelos miméticos. Apesar de os complexos serem insolúveis em tampão fosfato (os complexos antes das reações, sem modificações de composição da esfera de coordenação), provavelmente exercem interações com a urease, tornando a reação mais lenta, provavelmente por uma fraca inibição da urease. As quantidades de ureia aplicadas nos testes são distintas, assim também pode haver influência na velocidade da reação.

6.16 Reação de hidrólise da formamida

Na tentativa de avaliar a seletividade dos complexos na degradação de substratos derivados da ureia para formação de amônia. A reação foi feita com o complexo BTPH(Ni-Ni) (0,27 μmol), 9 μmol de formamida, o solvente de solubilização do complexo e aplicado como solvente de transferência de fase é o tetrahidrofurano, à 20°C durante os tempos de 10, 20, 30, 60, 120, 240 e 480 segundos.

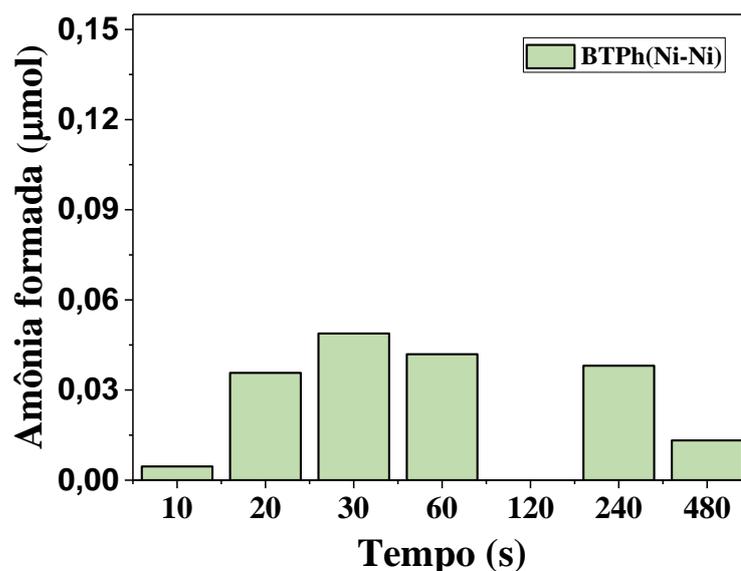


FIGURA 102: Reação de degradação da formamida pelo complexo BTPH(Ni-Ni) (0,27 μmol) à 20°C em THF.

Conforme observado na FIGURA 103, a formamida não é degradada na presença do complexo BTPH(Ni-Ni), visto que a amônia não é detectada na reação. A decomposição da formamida para formação de amônia ocorre via hidrólise¹⁰¹, então se o complexo não foi capaz de decompor este derivado da ureia, nas condições em que foram testadas as reações com ureia, é descartada a possibilidade de hidrólise da ureia, sendo reforçada a hipótese da decomposição da ureia ocorrer via eliminação.

6.17 Análise cinética da catálise

Visto que as reações catalíticas apresentaram o máximo de detecção de amônia em 10 segundos de reação e após esse período se mantém constante até no máximo um minuto de reação (em condições com mais água no sistema). Foram feitos testes de detecção de amônia aplicando o indicador vermelho fenol e o método de stopped flow UV-Vis de modo a detectar e quantificar a amônia formada nos tempos abaixo de dez segundos de reação. Nos testes realizados, no entanto, não foi verificada alteração da coloração da solução do indicador quando comparada à reação controle nem nos tempos abaixo e nem acima de

dez segundos, deste modo, sugere-se que a reação seja limitada pelas condições utilizadas, visto que o indicador pode interagir com a espécie ativa do complexo, ou mesmo coordenar-se ao complexo. Além disto, possivelmente, a quantidade de amônia formada na reação não é suficiente para elevação do pH de modo significativo, e após ser formada, parte desta amônia é coordenada ao complexo deste modo, diminuindo a disponibilidade para aumento do pH. Desta forma, analisou-se uma banda que sofria uma pequena alteração de absorbância após a adição de ureia, situada em 349nm (FIGURA 103). Esta banda foi atribuída à transferência eletrônica ligante-metal do complexo 2BTPh(Ni-Ni). Observa-se nas cinéticas de Stopped-Flow por espectroscopia UV-Vis mostradas na FIGURA 104 que a reação controle sem ureia e na presença de água, não apresentou variação significativa na absorbância desta banda. Entretanto, quando uma solução aquosa de ureia é adicionada, observa-se uma cinética de duas etapas, em que inicialmente há uma reação que ocorre em até 50 milisegundos de velocidade de aproximadamente $450\mu\text{mol L}^{-1} \text{ s}^{-1}$, enquanto a segunda etapa é em torno de cem vezes mais lenta ($\sim 1\mu\text{mol L}^{-1} \text{ s}^{-1}$), iniciando-se em 2 segundos de reação. Ao avaliar o comportamento de decaimento da concentração da amônia com o tempo da FIGURA 78, observa-se que a velocidade de reação de decaimento ($\sim 0,015\mu\text{mol L}^{-1} \text{ s}^{-1}$) é distinta da segunda etapa de reação cinética. Sabendo-se que a banda em 349 nm é referente à transferência de carga, o acompanhamento cinético realizado no Stopped Flow indica que inicialmente pode haver a formação da espécie ativa da reação, o aquo complexo, ou uma interação da ureia com o complexo que altera a absorvância desta banda, possivelmente de maneira similar à observada com os complexos em distintos solventes. A segunda etapa da reação é mais lenta, podendo estar relacionada com a coordenação da amônia formada ao complexo.

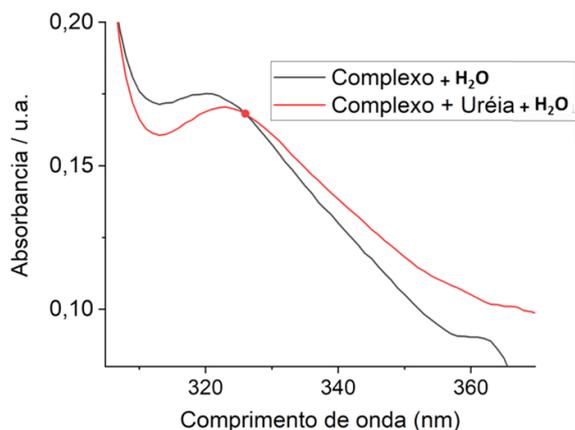


FIGURA 103: Espectros eletrônicos do complexo 2BTPPh(Ni-Ni) solubilizado em THF e adicionada alíquota de água (linha preta) e com a adição de ureia (linha vermelha).

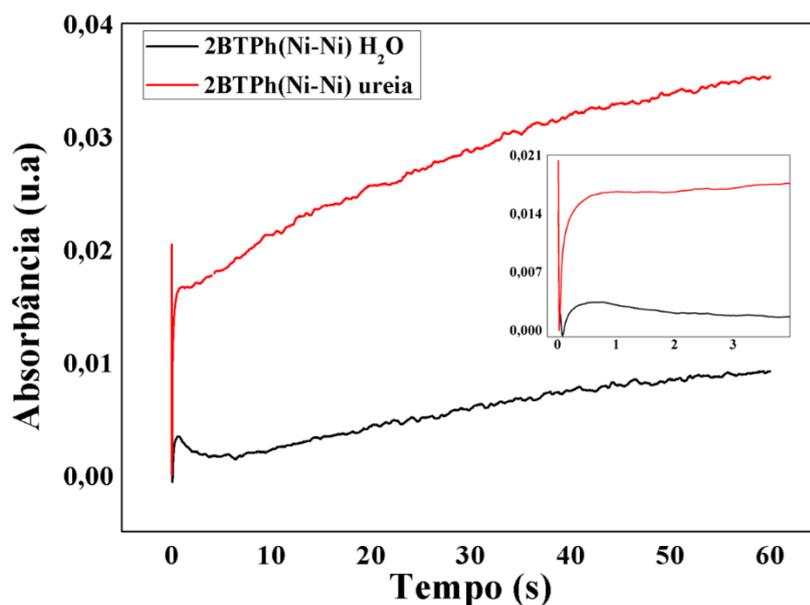


FIGURA 104: Análise cinética da banda atribuída à transferência de carga em 349nm do complexo 2BTPPh(Ni-Ni) na presença de ureia (linha vermelha) e na presença de água (linha preta).

6.18 Proposta mecanística da decomposição da ureia pelos complexos

De acordo com as observações experimentais obtidas pelas reações de decomposição da ureia, sugere-se que a catálise ocorre primeiramente pela substituição de íons cloretos pela acetonitrila ao complexo. Quando adicionada a solução de ureia, há a formação do aquo-complexo, o qual se torna a espécie ativa da reação. Deste modo, ocorre interação entre a molécula de água coordenada e a ureia livre. A água interage com o oxigênio da ureia, gerando um caráter de protonação à este oxigênio, assim é aumentado o caráter eletrofílico do carbono da carbonila, sendo susceptível à uma ataque nucleofílico intramolecular do grupo amino da ureia sendo o par de elétrons do nitrogênio deslocalizado para o carbono do grupo carbonila, assim há a liberação da amina que é protonada por prótons provenientes da água e formação da amônia. Deste modo é formado o isocianato e a amônia após formada é coordenada ao complexo. Quando adicionada mais solução de ureia na reação é verificada novamente a reativação da espécie ativa da reação, e/ou é aumentada a interação da ureia ao aquo-complexo, sendo verificada novamente a presença de amônia no sistema. A FIGURA 105 esquematiza o mecanismo proposto da reação de decomposição da ureia pelos complexos:

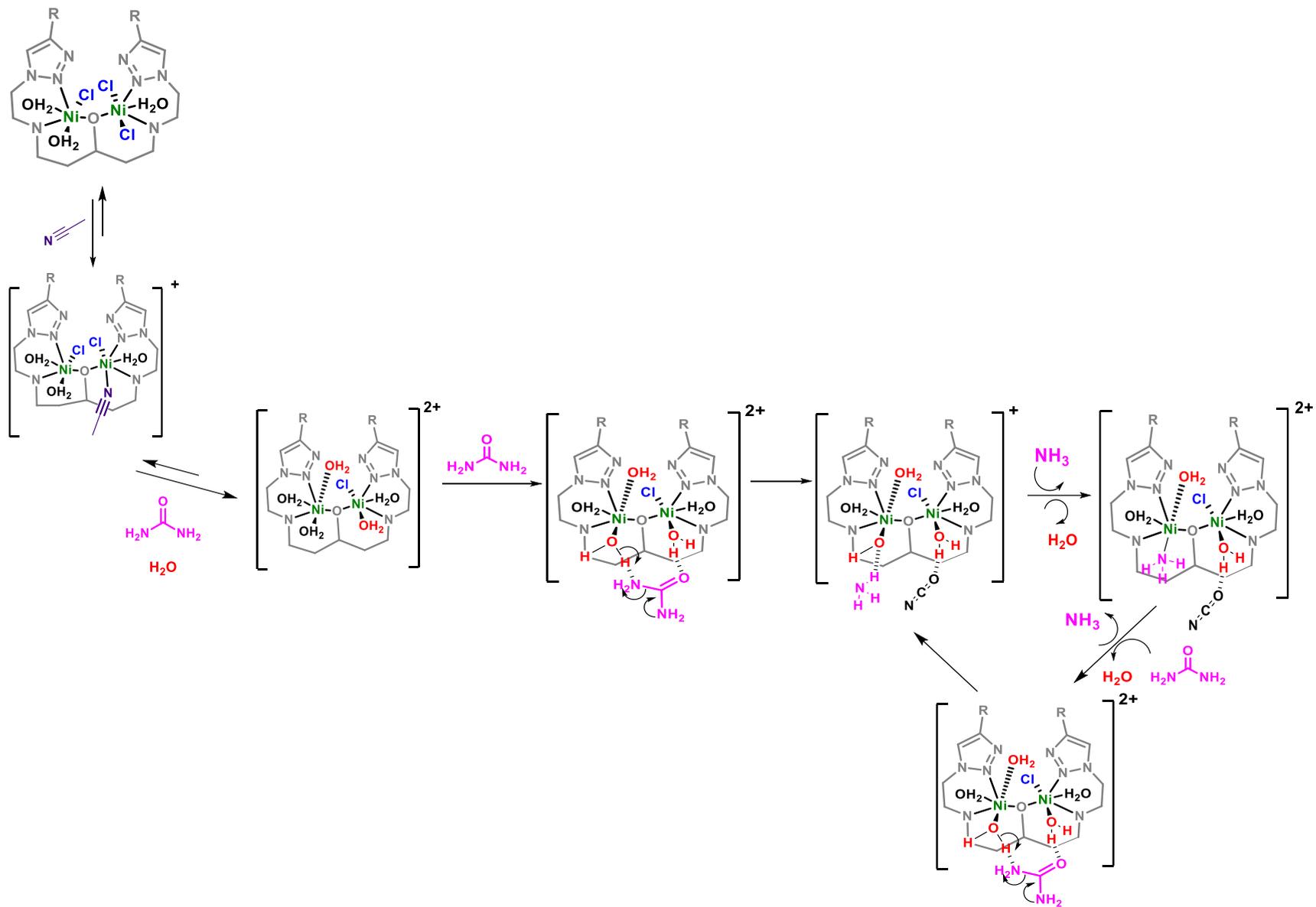


FIGURA 105: Esquema da proposta mecânica de decomposição da ureia pelos complexos binucleares de níquel.

7 Conclusão

Os complexos sintetizados neste trabalho foram capazes de mimetizar a primeira esfera de coordenação da urease e ainda promover a reação de decomposição da ureia nas condições testadas, a modelagem destes complexos ainda permitiu verificar que substituintes hidrofílicos apresentam-se mais eficientes nas reações de decomposição da ureia. O perfil catalítico das reações pelos miméticos se difere do perfil enzimático, visto que a amônia formada coordena-se ao complexo e o equilíbrio da reação é atingido, no entanto é verificada a reativação do complexo quando adicionado novamente o substrato na reação.

Os complexos não se mostraram miméticos mecanísticos da hidrólise da ureia, visto que o intermediário detectado da reação se trata do isocianato, o qual sugere um mecanismo via eliminação, além disso, a decomposição da ureia pelos miméticos ocorre via esfera externa, sendo que estudos realizados em solução não apresentaram a coordenação da ureia ao complexo, deste modo, provavelmente a espécie ativa da reação é o aquo-complexo, sendo assim, o mecanismo proposto se difere de propostas relatadas na literatura, para miméticos da urease e para a própria enzima. Apesar de ainda não ter sido possível a detecção do carbamato em reações de decomposição da ureia por miméticos da urease é interessante que tais miméticos que apresentam estrutura simplificada em relação à enzima, possivelmente são miméticos da urease primitiva, assim, tais complexos podem atuar como modelos de estudo para a compreensão da evolução estrutural enzimática.

8 Apêndice

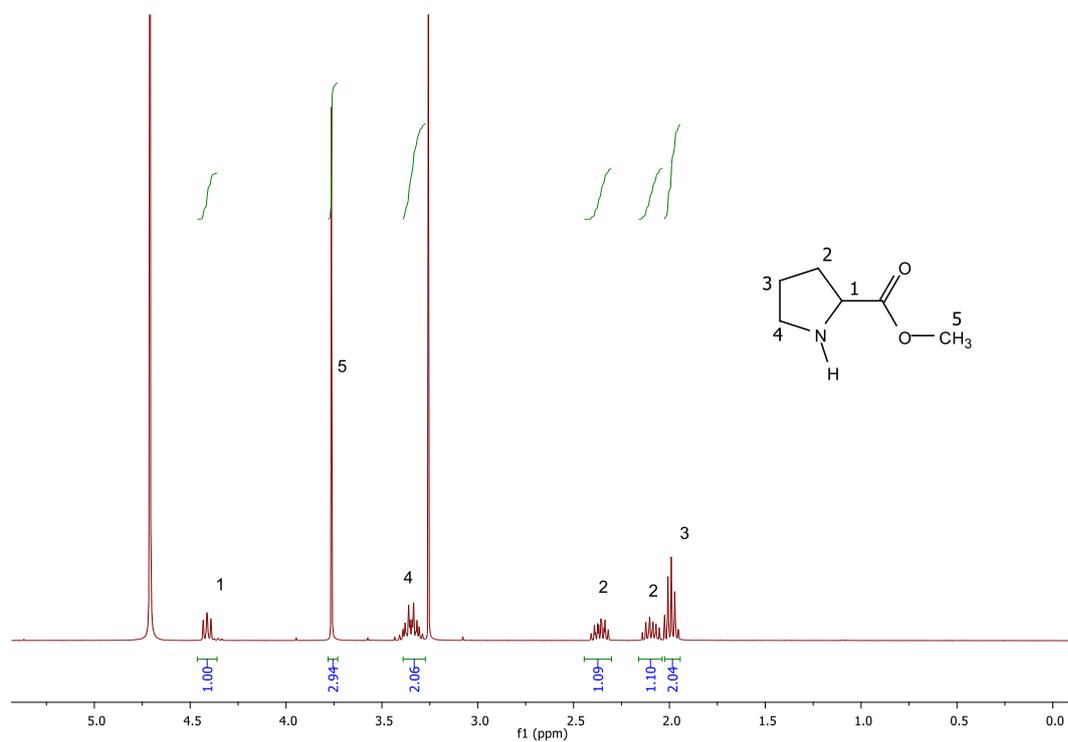


FIGURA 106: RMN ^1H Éster prolina.

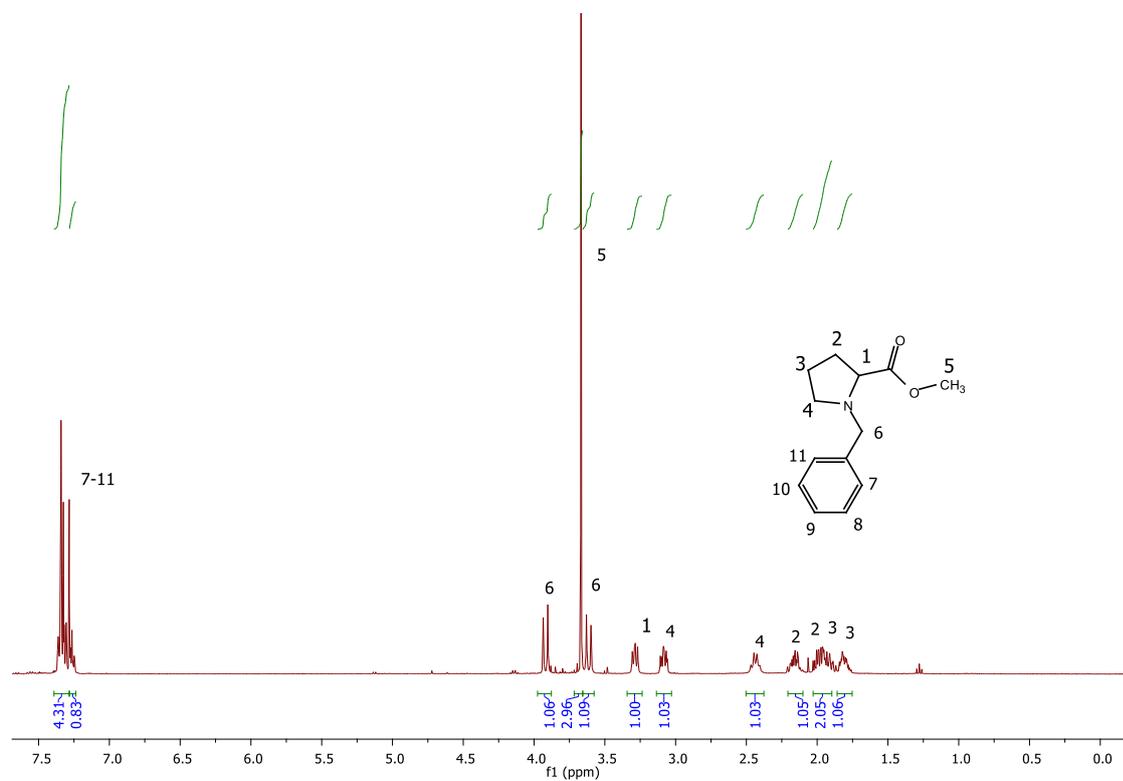


FIGURA 107: RMN ^1H N-benzil prolina metil éster.

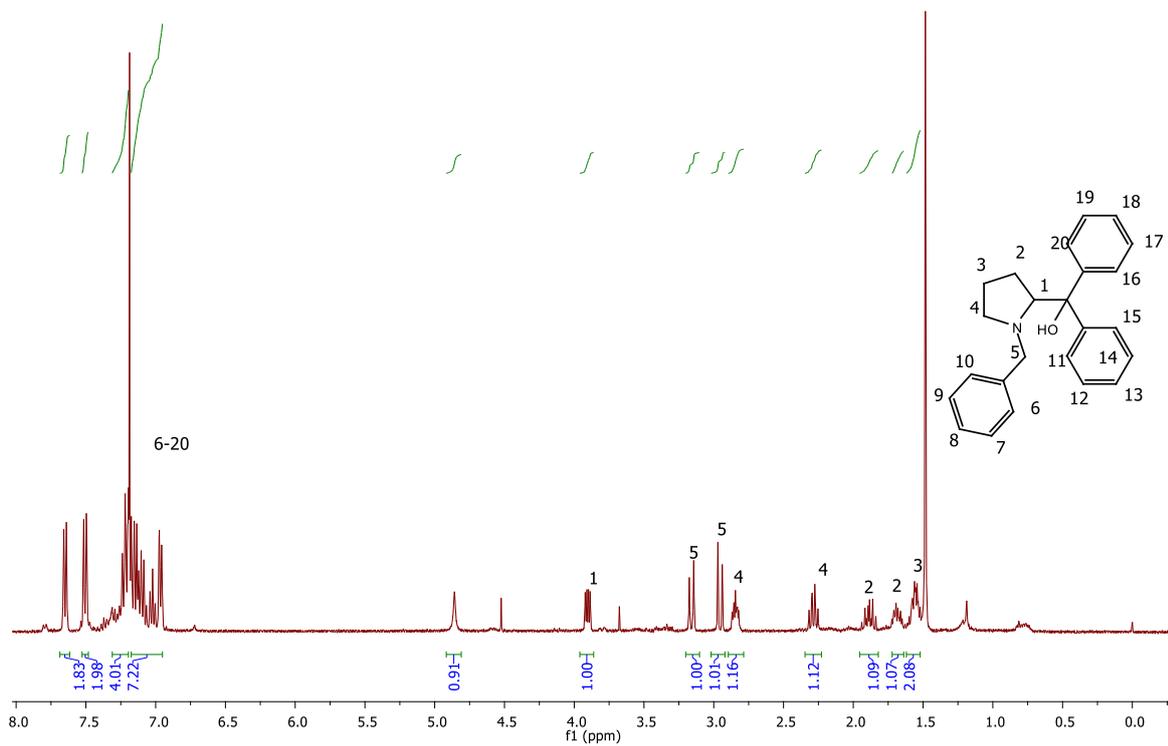


FIGURA 108: RMN ¹H 1-benzilpirrolidina-2-il difenil metanol.

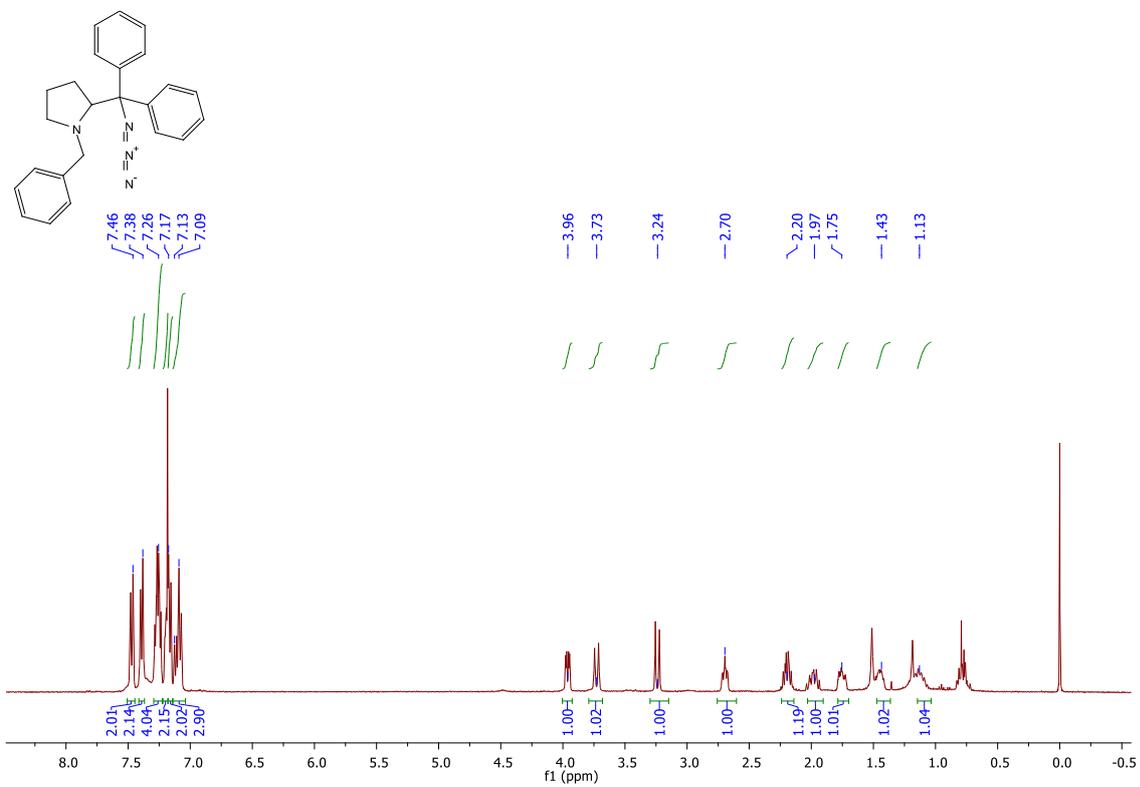


FIGURA 109: RMN ¹H 2-(azidodifenilmetil)-1-benzilpirrolidina.

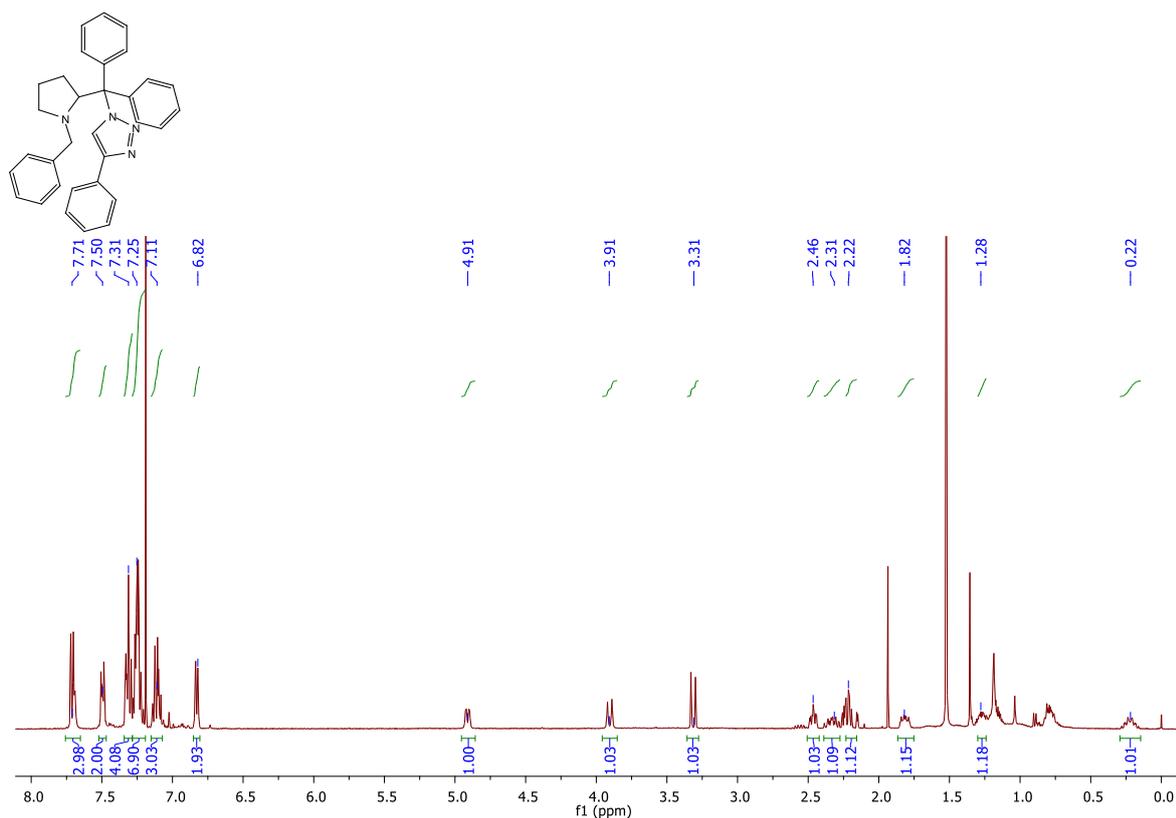


FIGURA 110: RMN ^1H 1-((1-benzilpirrolidin-2-il)difenilmetil)-4-fenil-1H-1,2,3-triazol.

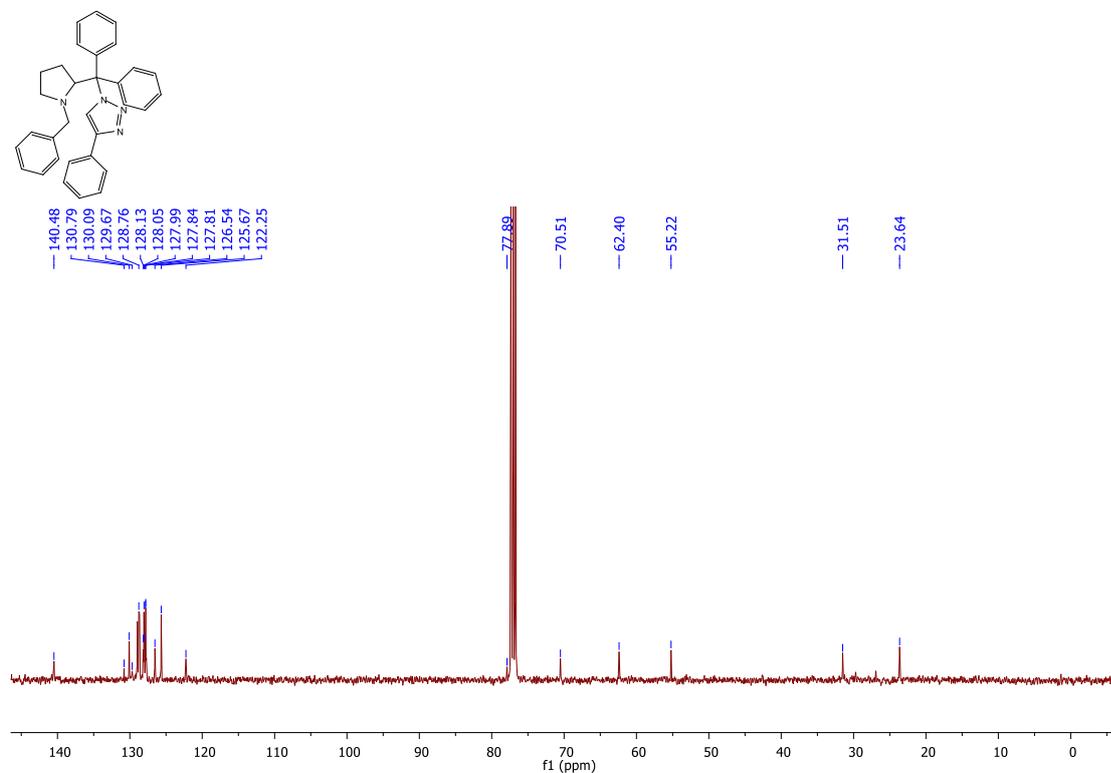


FIGURA 111: RMN ^{13}C 1-((1-benzilpirrolidin-2-il)difenilmetil)-4-fenil-1H-1,2,3-triazol.

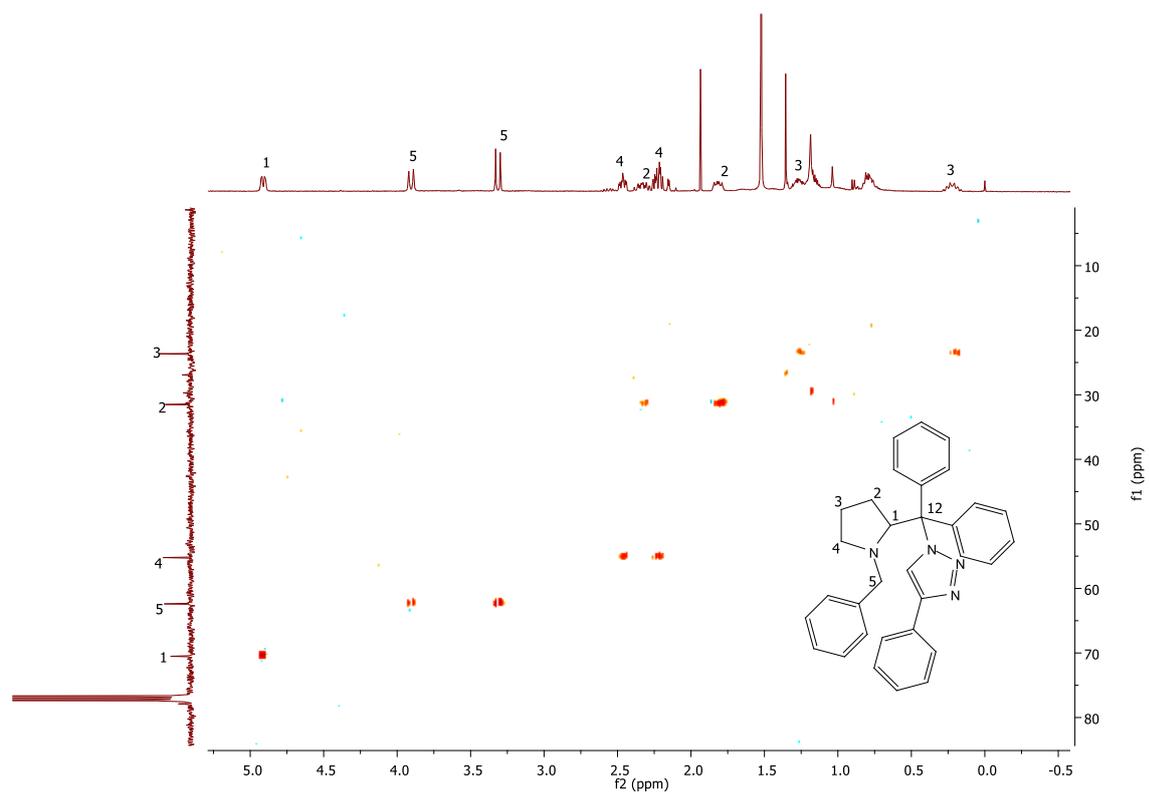


FIGURA 112: HSQC (espectro da região alifática) 1-((1-benzilpirrolidin-2-yl)difenilmetil)-4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol.

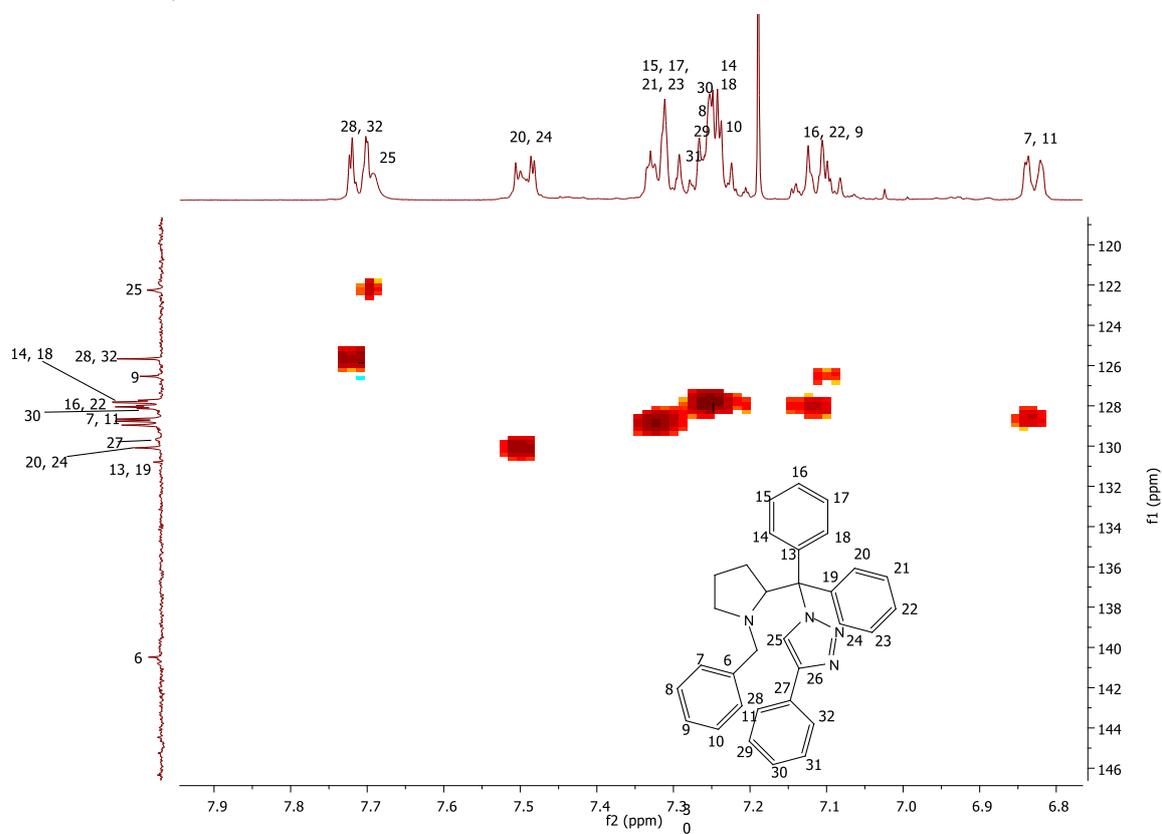


FIGURA 113: HSQC (espectro na região aromática) 1-((1-benzilpirrolidina-2-yl)difenilmetil)-4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol.

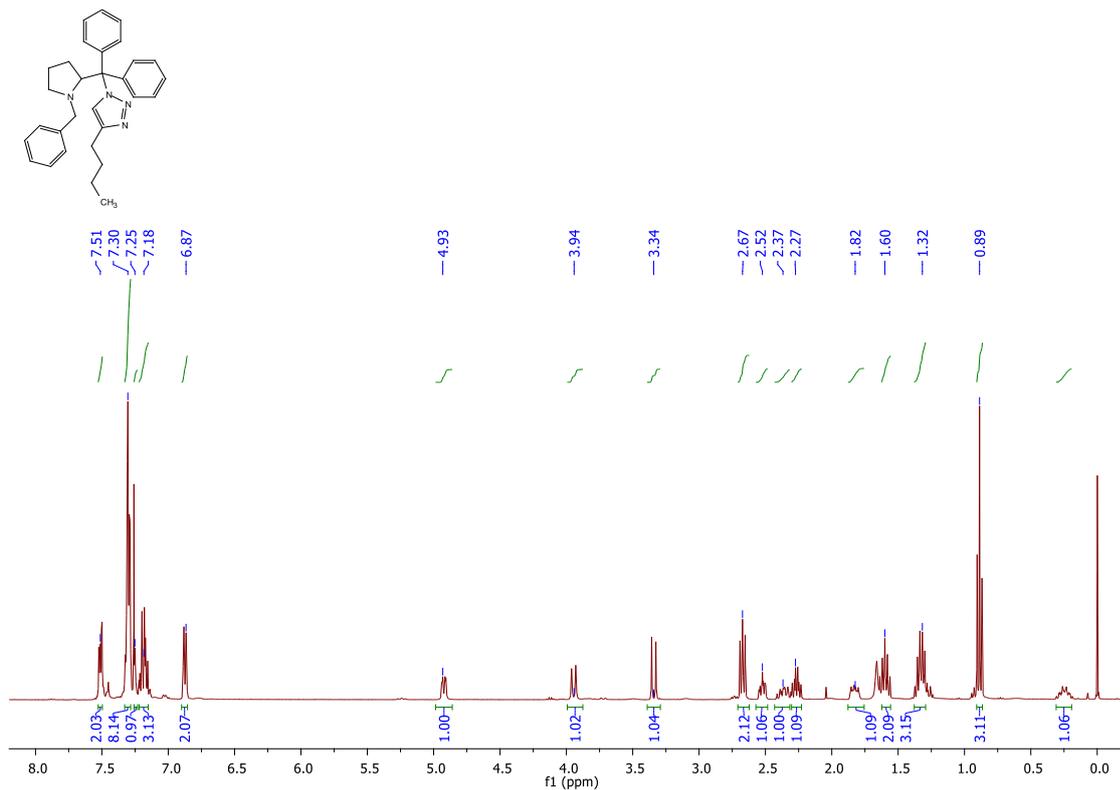


FIGURA 114: RMN ¹H 1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-4-butil-1H-1,2,3-triazol.

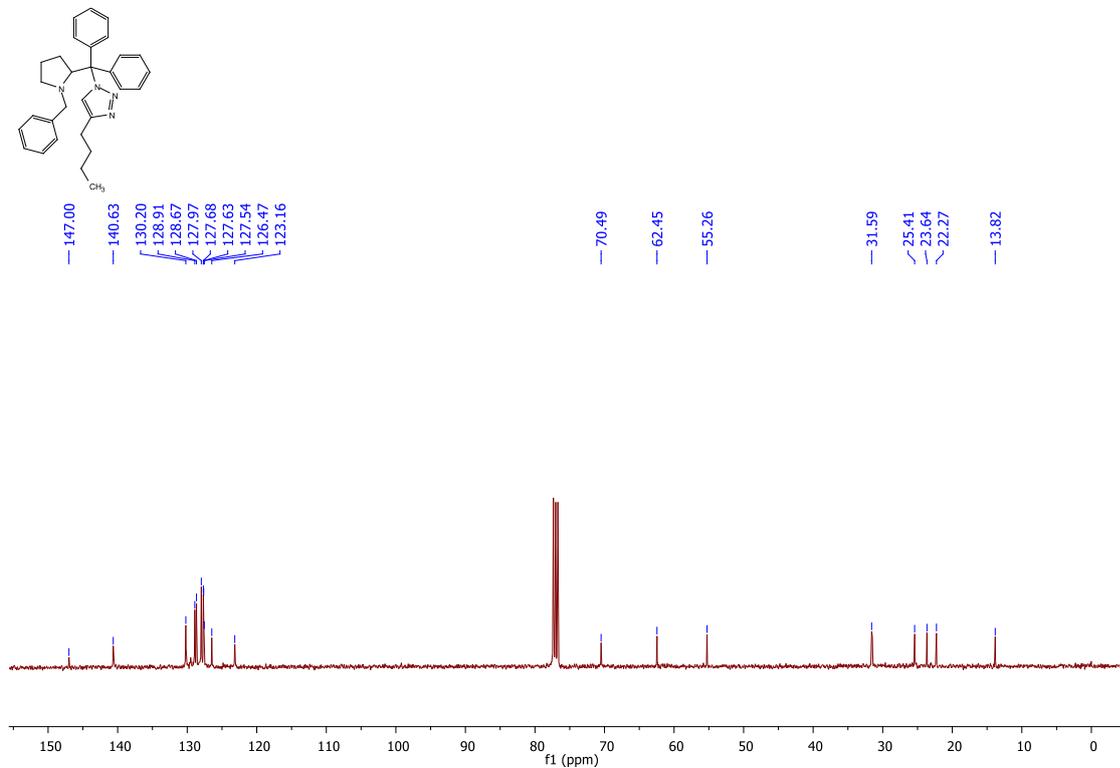


FIGURA 115: RMN¹³C 1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-4-butil-1H-1,2,3-triazol.

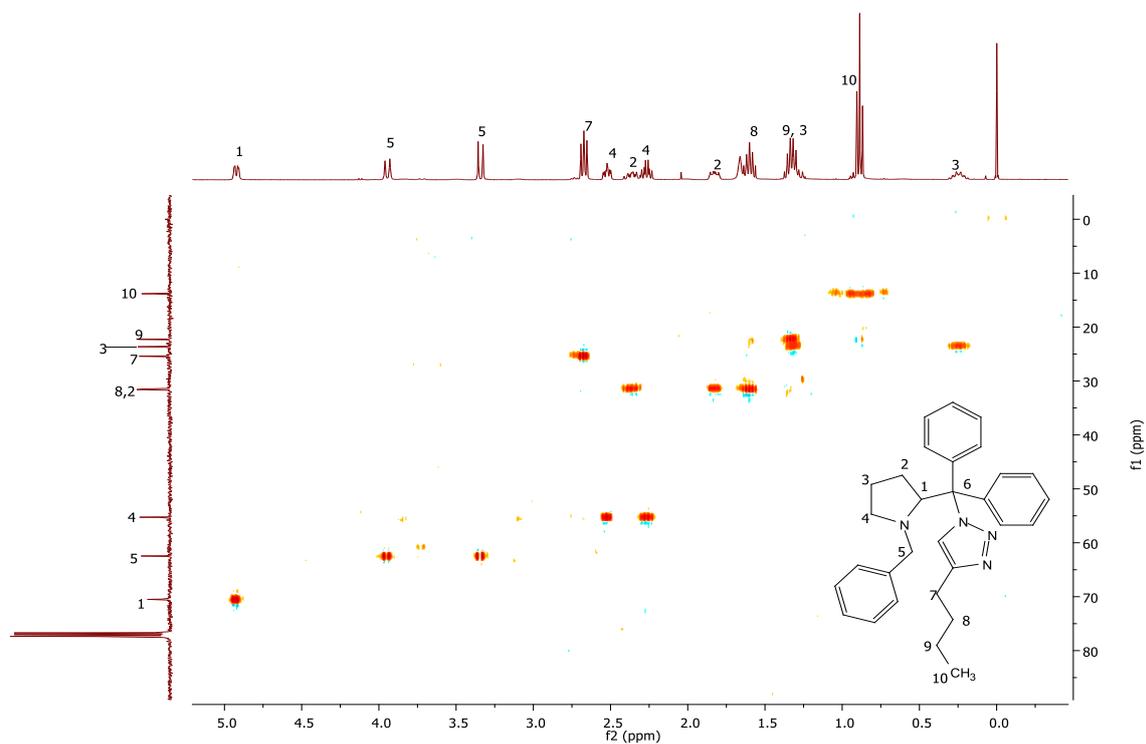


FIGURA 116: HSQC (espectro na região alifática) 1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-4-butil-1H-1,2,3-triazol.

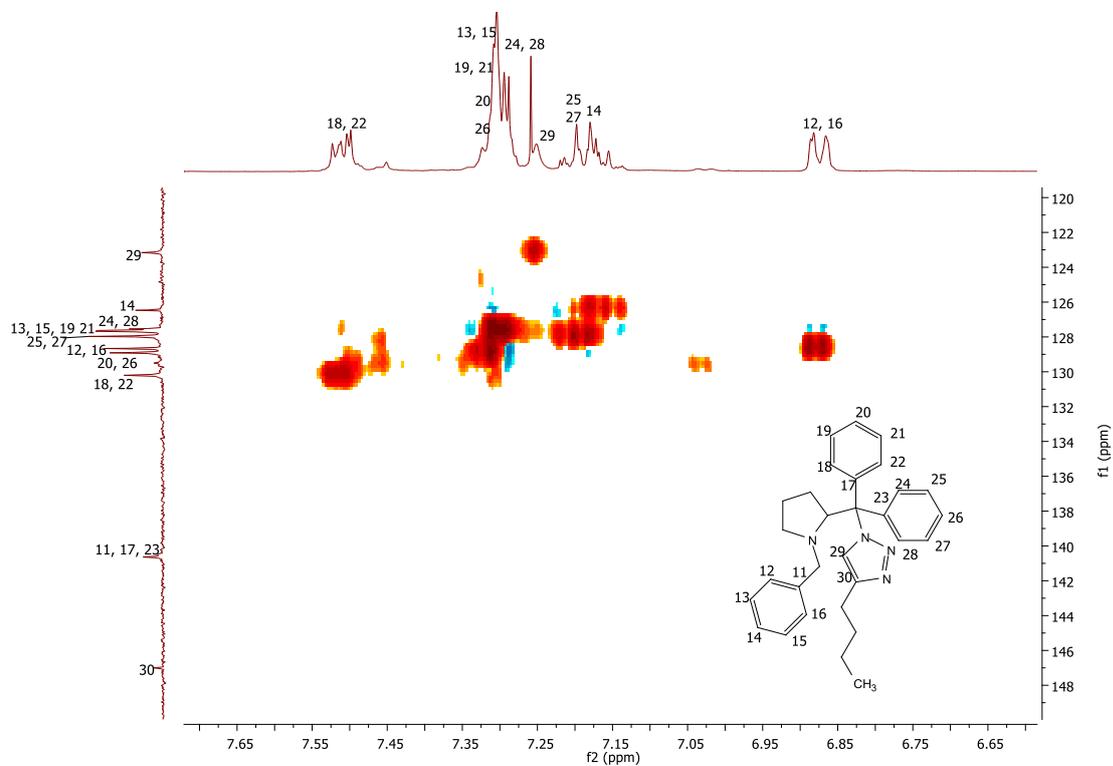


FIGURA 117: HSQC (espectro na região aromática) 1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-4-butil-1H-1,2,3-triazol.

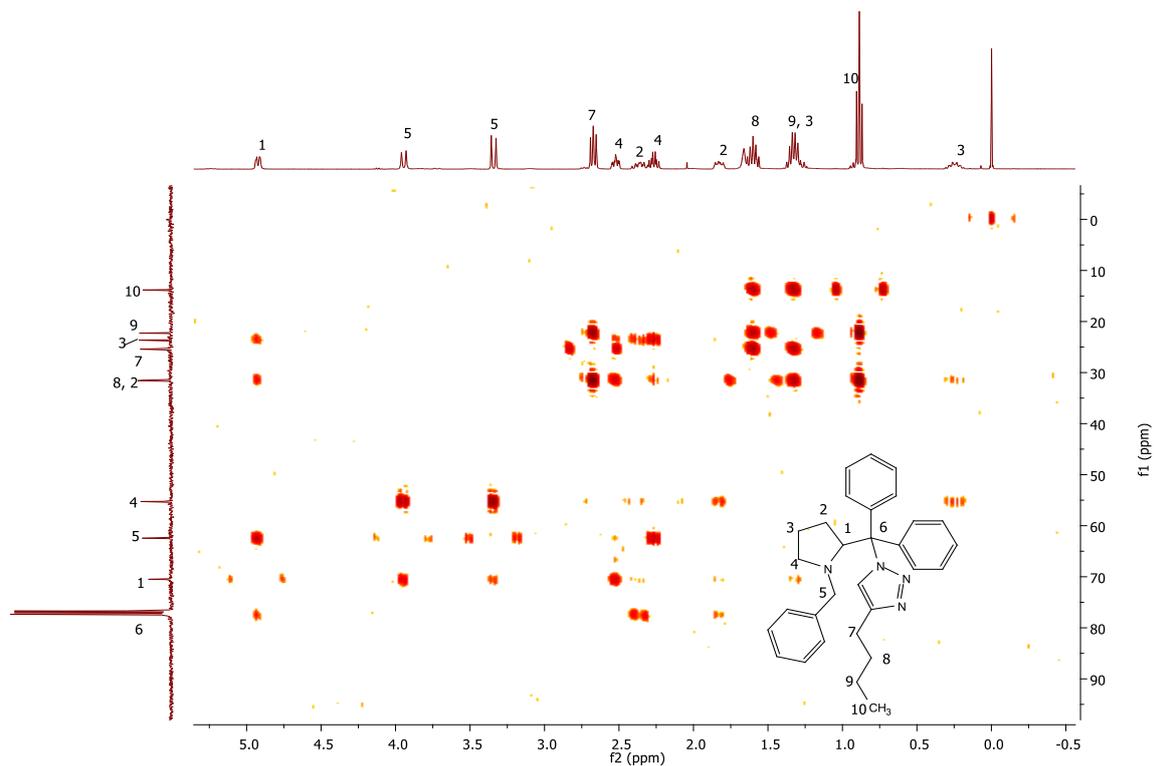


FIGURA 118: RMN HMBC (espectro na região alifática) 1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-4-butil-1H-1,2,3-triazol.

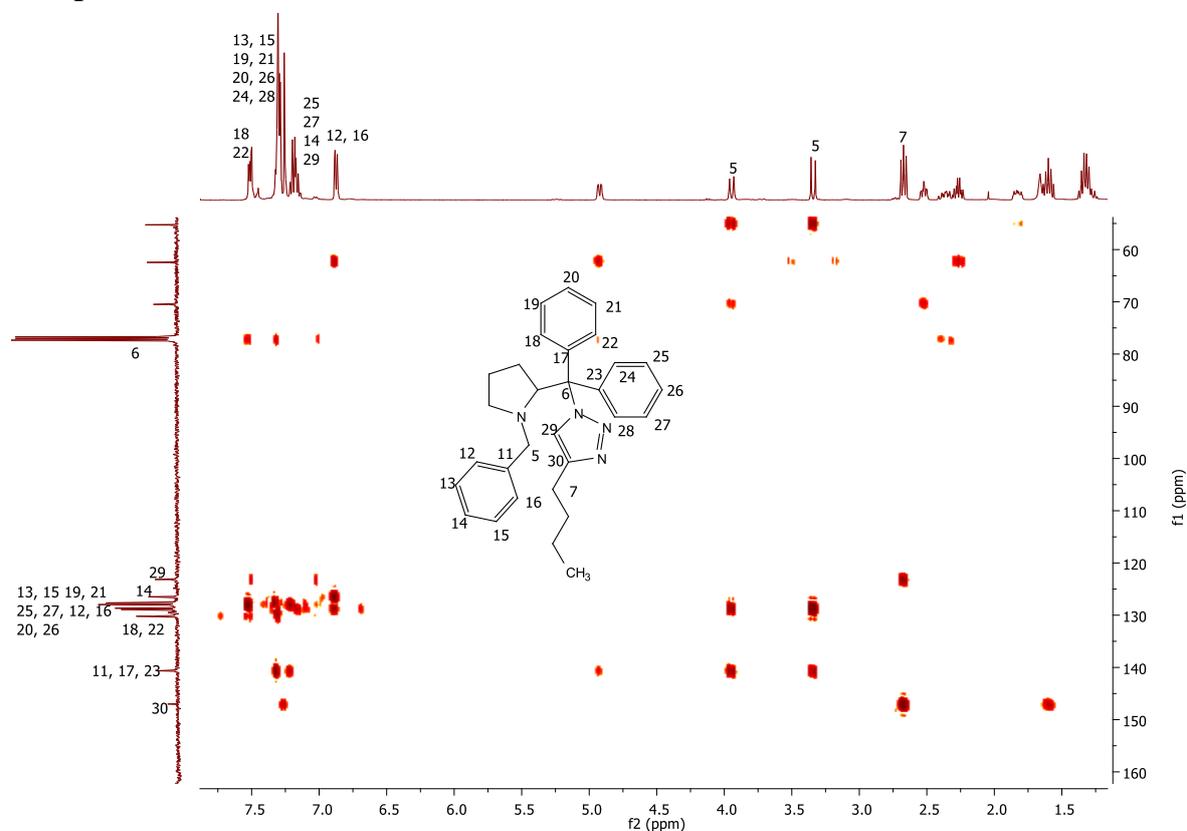


FIGURA 119: RMN HMBC (espectro na região aromática) 1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-4-butil-1H-1,2,3-triazol.

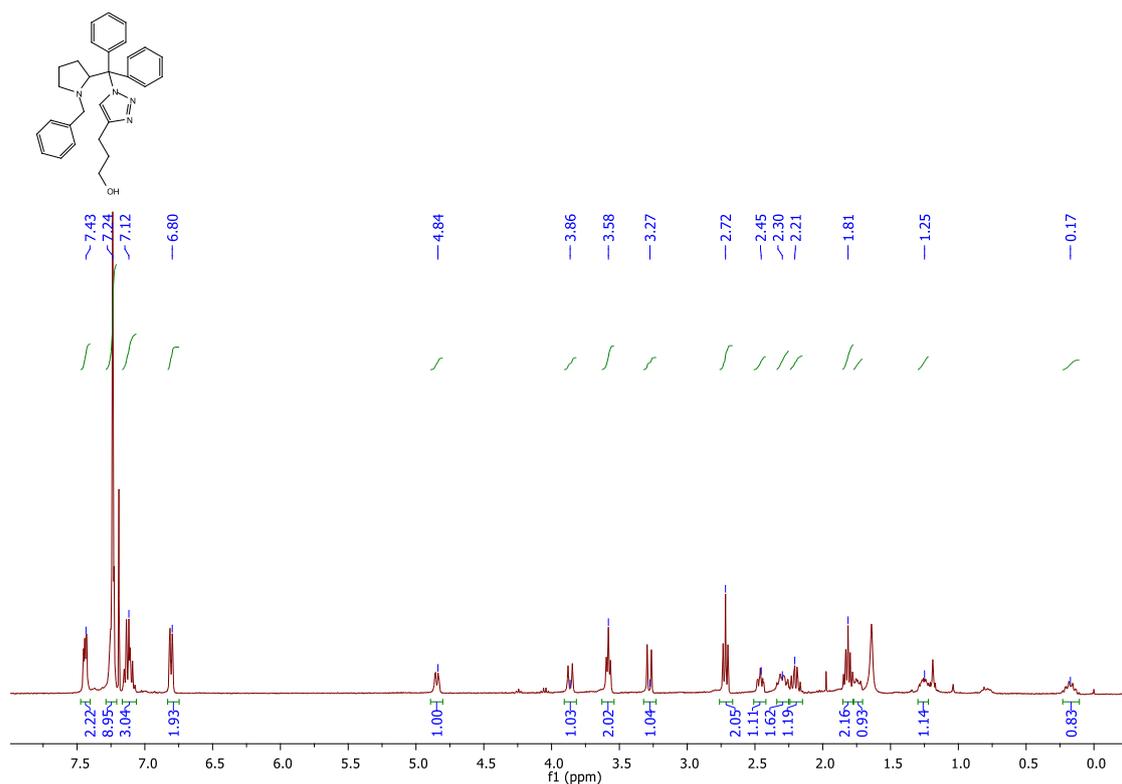


FIGURA 120: RMN ^1H 3-(1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)propan-1-ol.

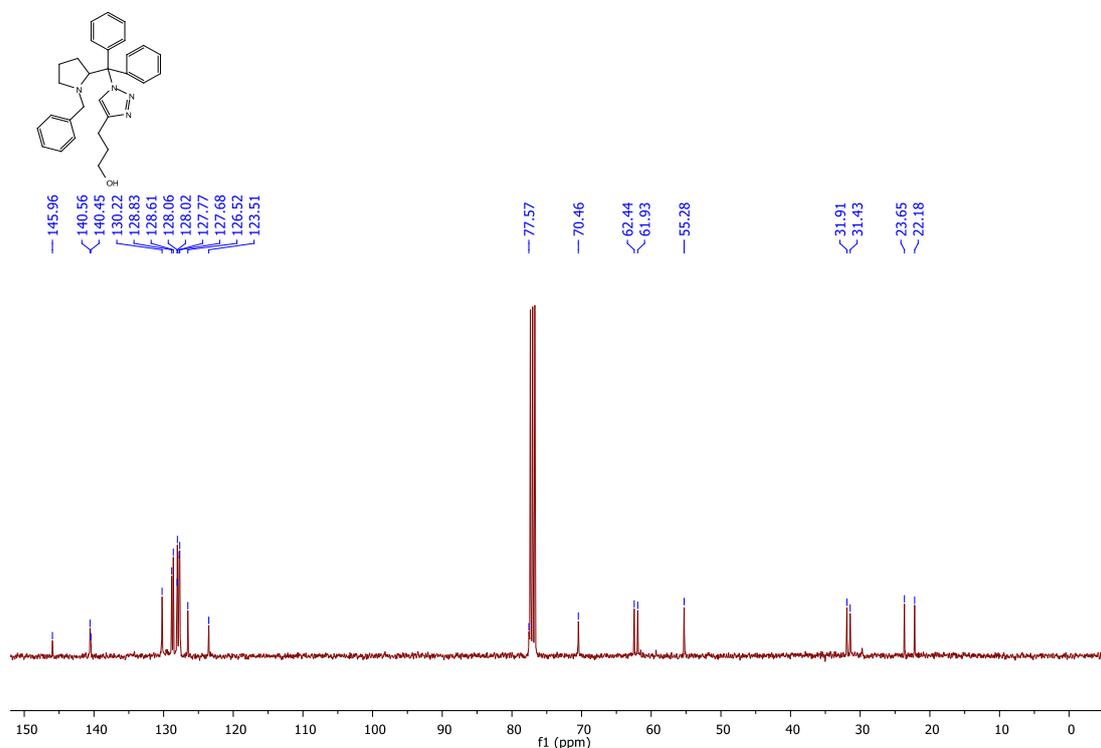


FIGURA 121: RMN ^{13}C 3-(1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)propan-1-ol.

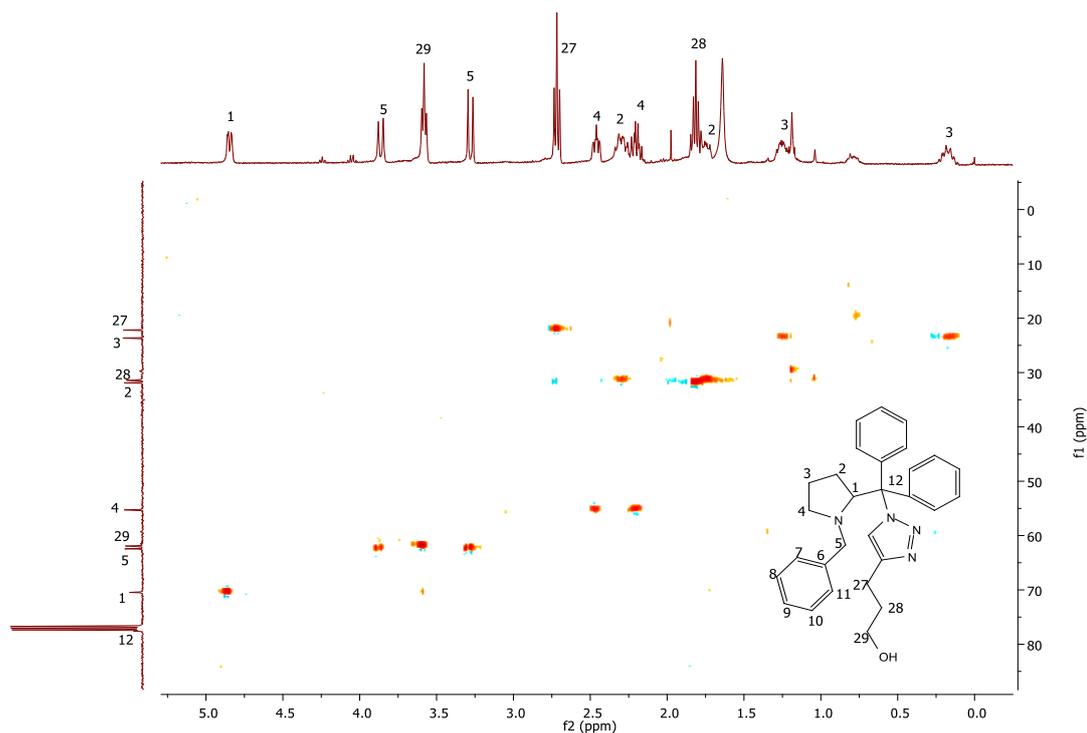


FIGURA 122: RMN HSQC (espectro na região alifática) 3-(1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)propan-1-ol.

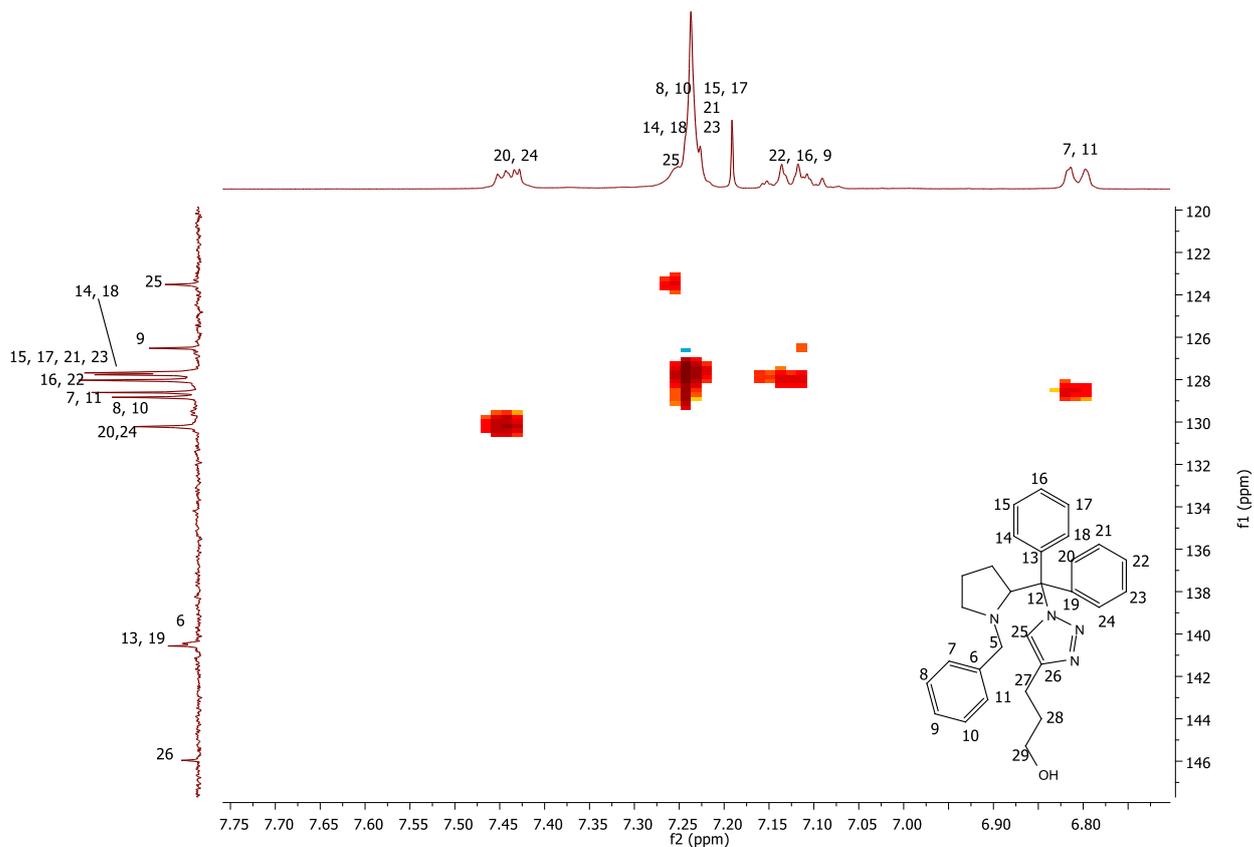


FIGURA 123: HSQC (espectro na região aromática) 3-(1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)propan-1-ol.

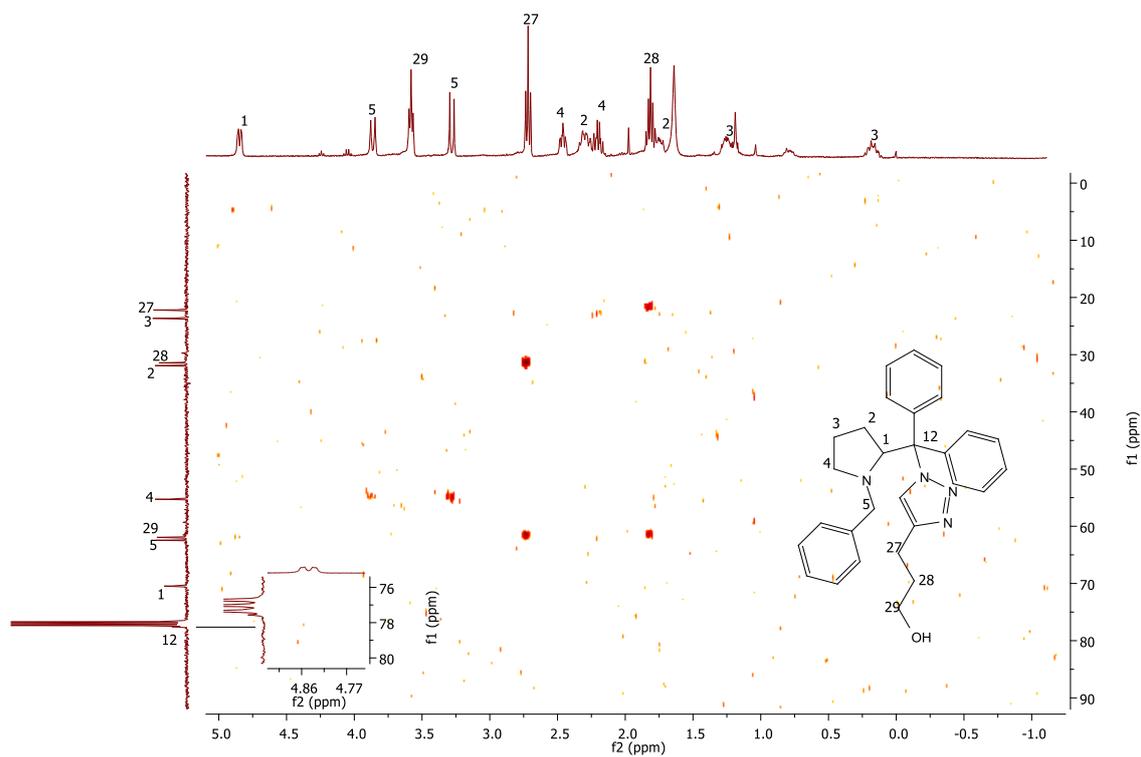


FIGURA 124: HMBC (espectro na região alifática) 3-(1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)propan-1-ol.

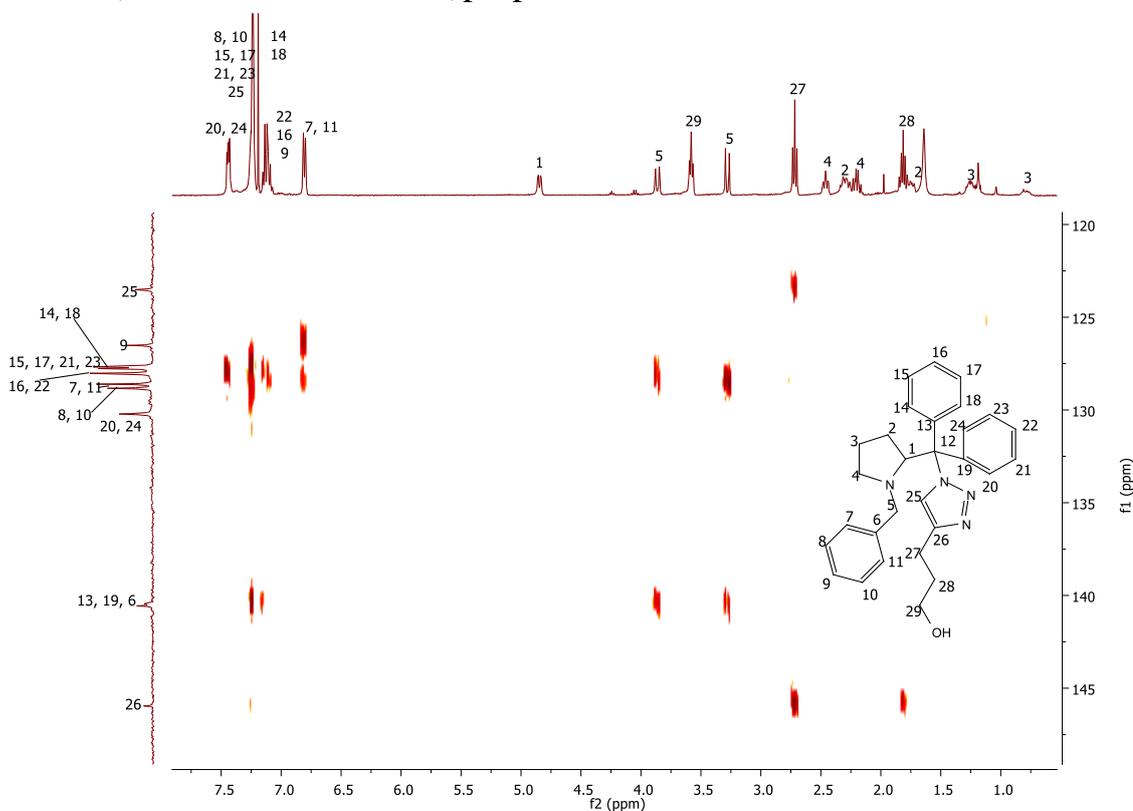


FIGURA 125: HMBC (espectro na região aromática) 3-(1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)propan-1-ol.

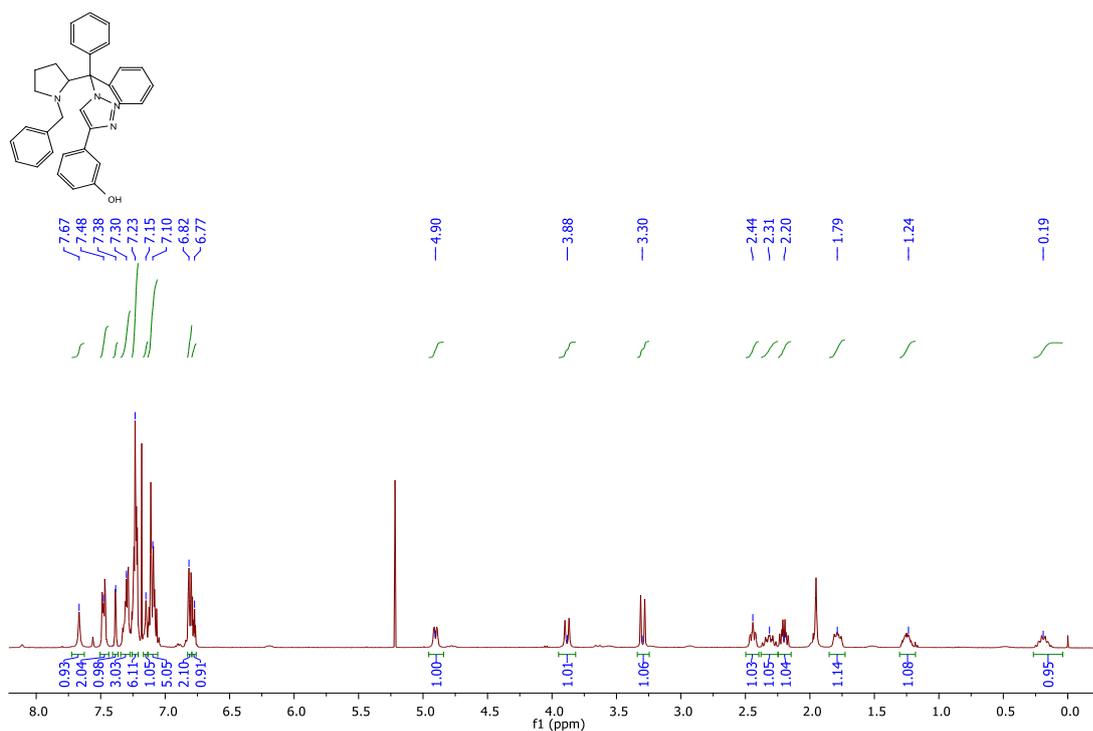


FIGURA 126: RMN ^1H : 3-(1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)fenol.

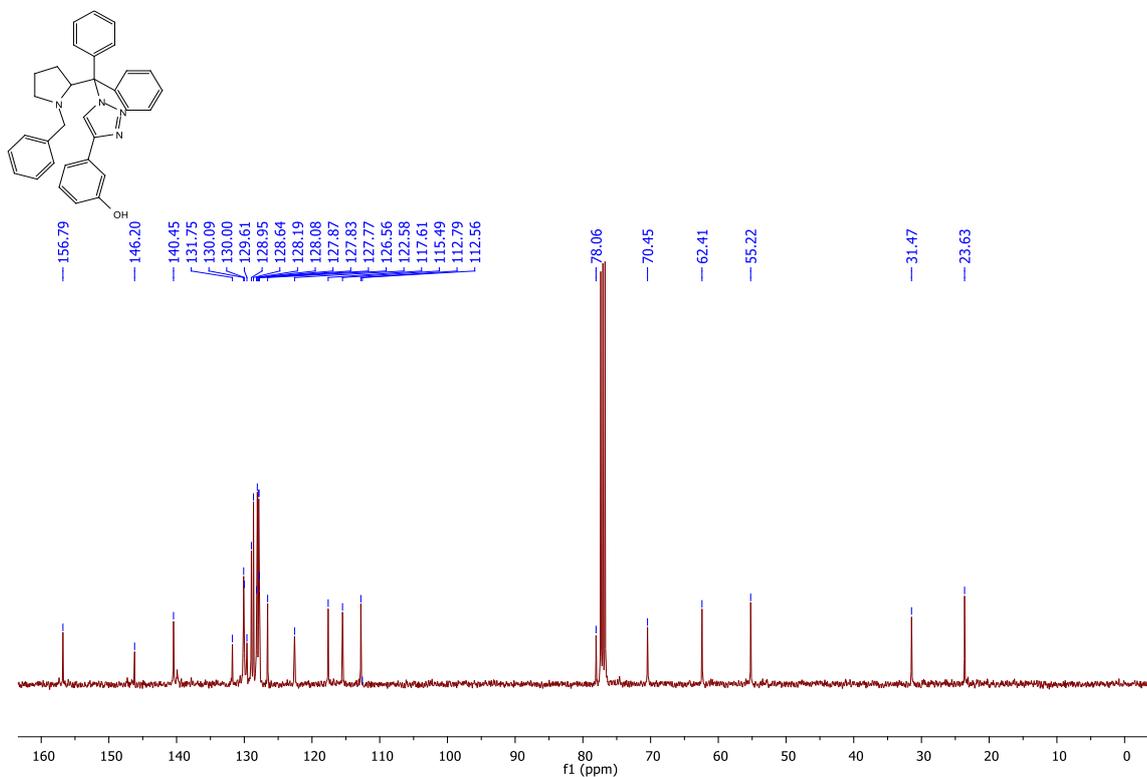


FIGURA 127: RMN ^{13}C : 3-(1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)fenol.

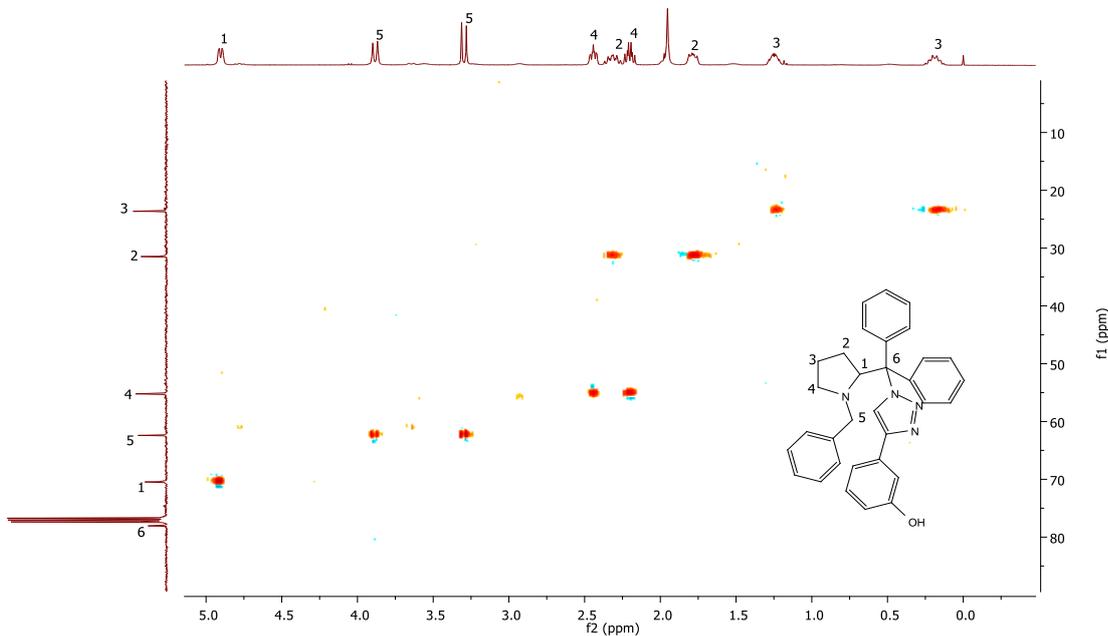


FIGURA 128: RMN HSQC (espectro na região alifática) 3-(1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)fenol.

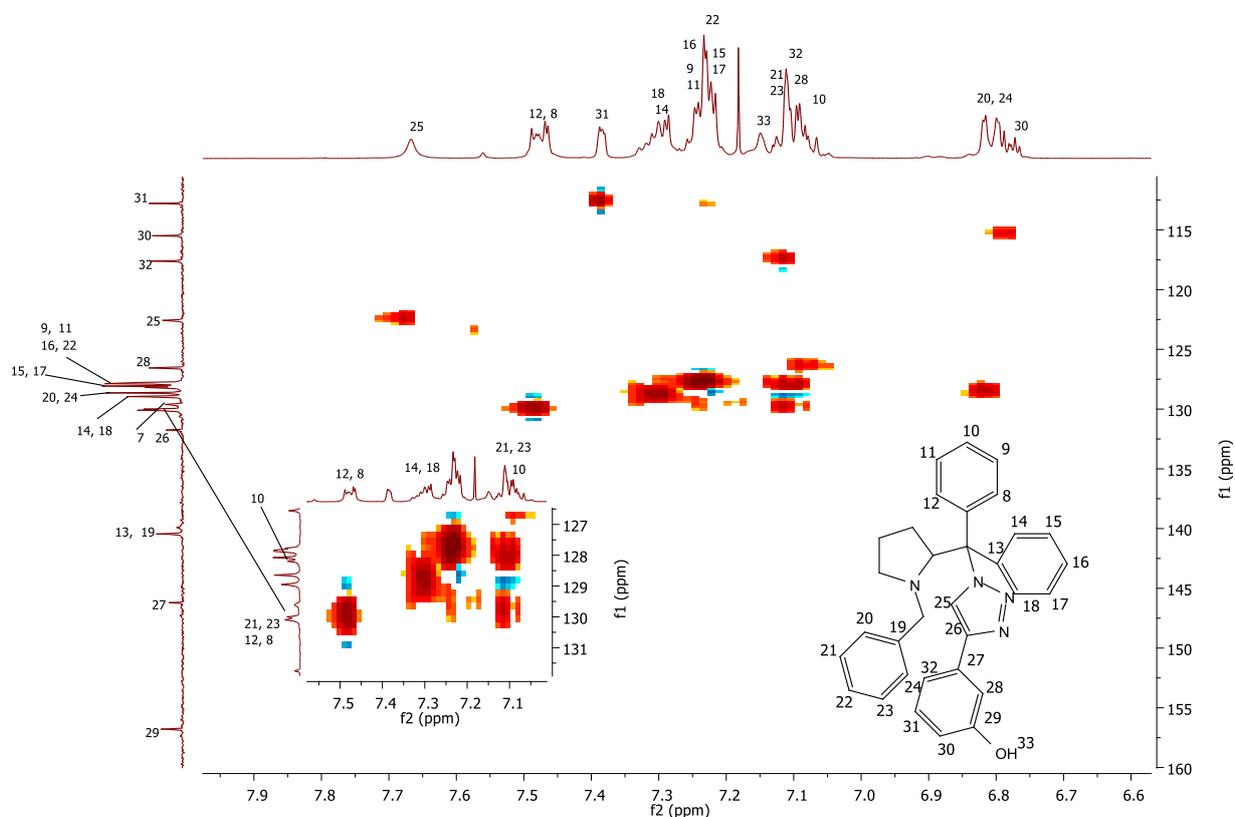


FIGURA 129; RMN HSQC (espectro na região aromática) 3-(1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)fenol.

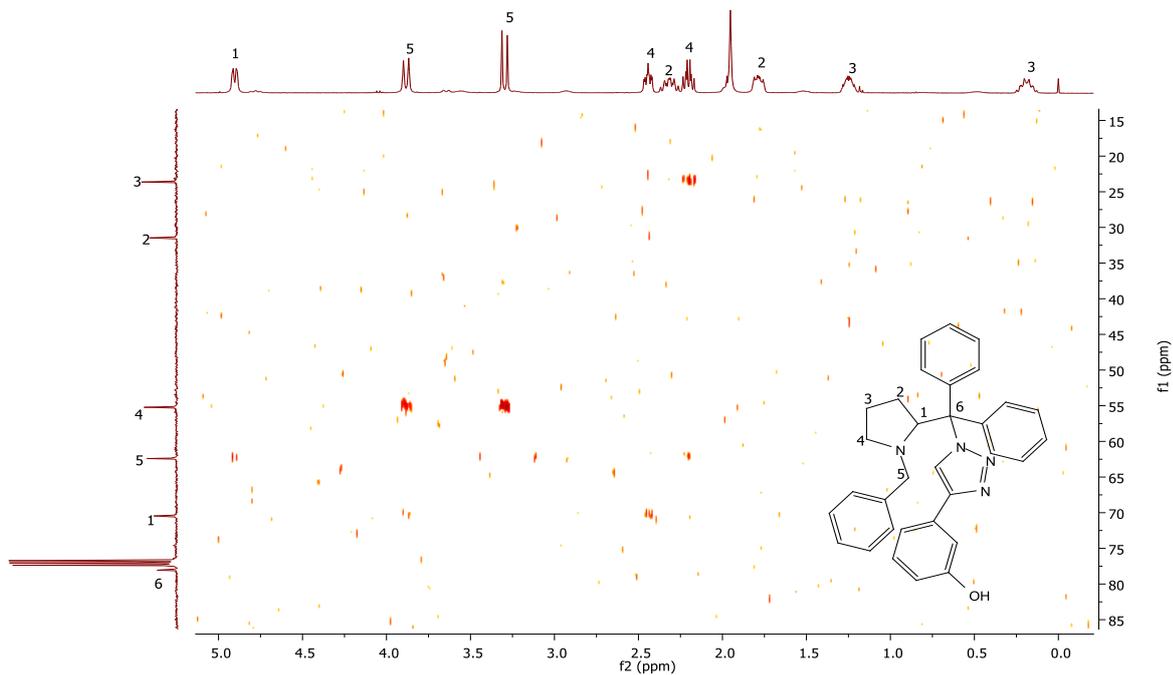


FIGURA 130: RMN HMBC (espectro na região alifática) 3-(1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)fenol.

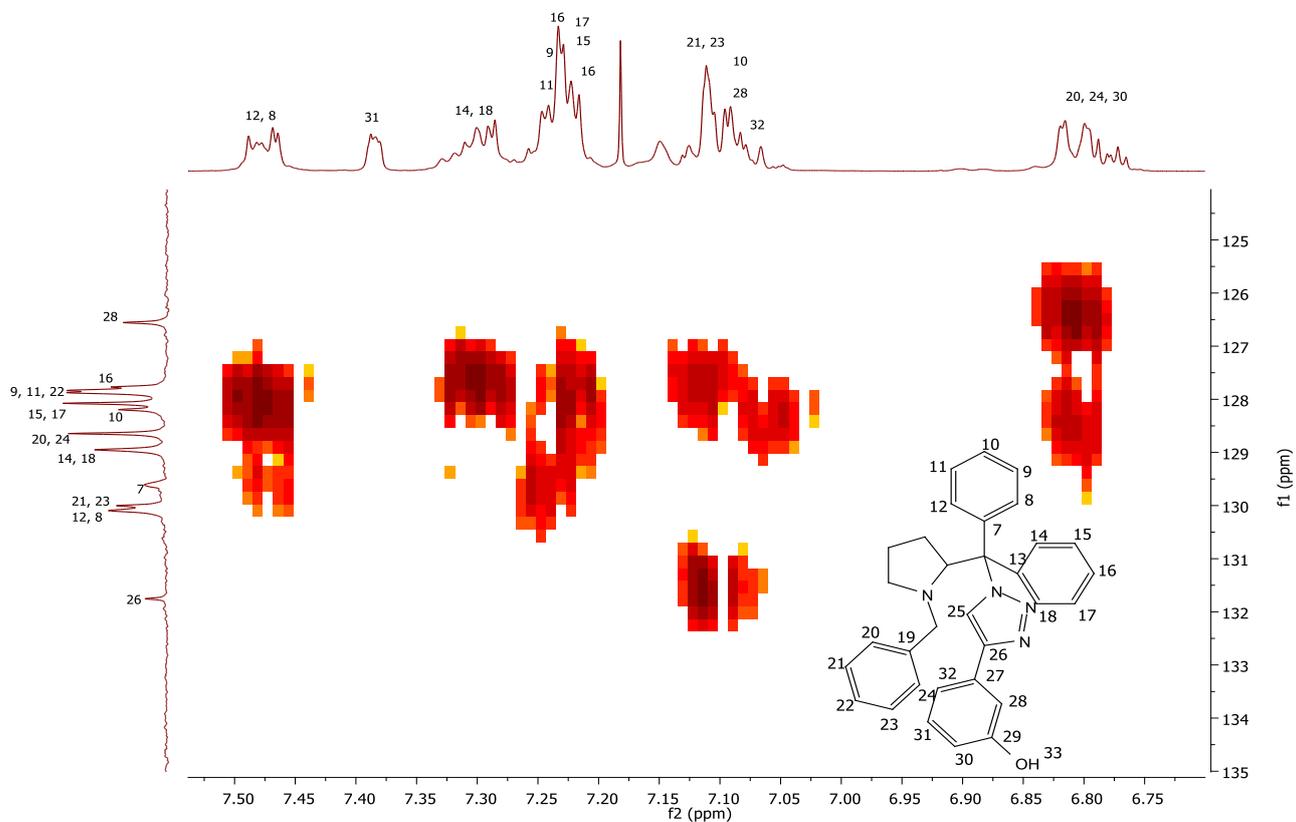


FIGURA 131: RMN HMBC (espectro na região aromática) 3-(1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)fenol.

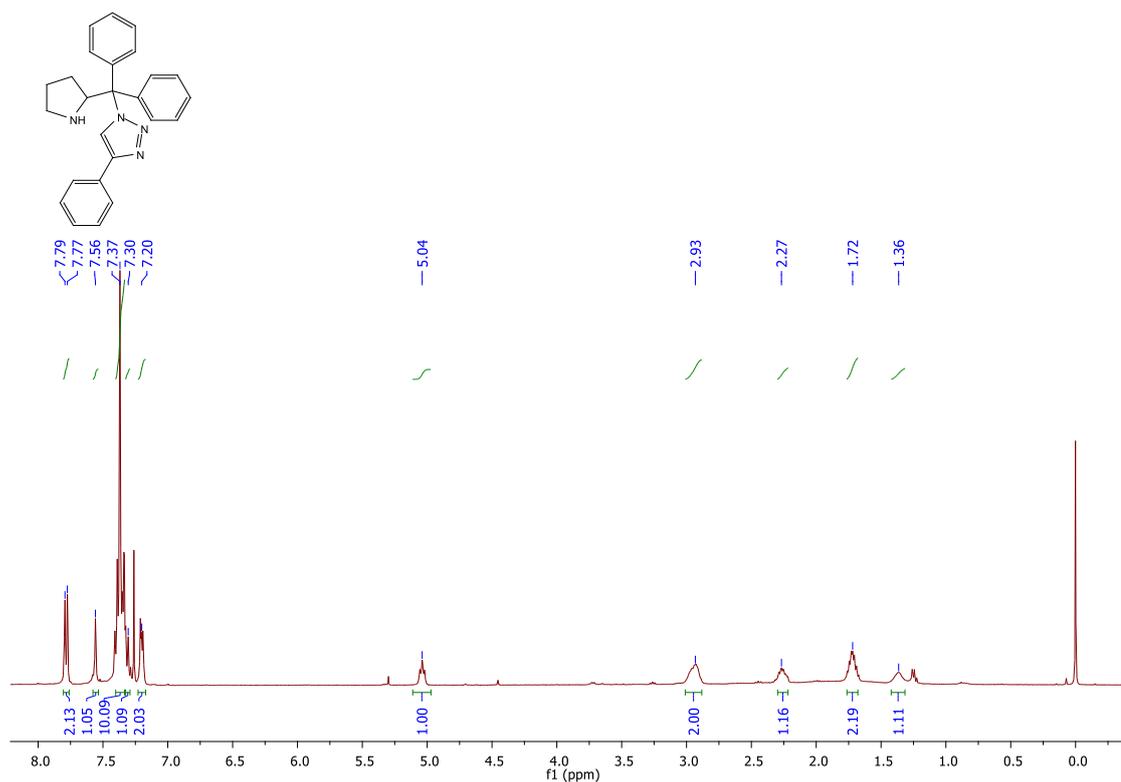


FIGURA 132: RMN ^1H 1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-4-fenil-1H-1,2,3-triazol.

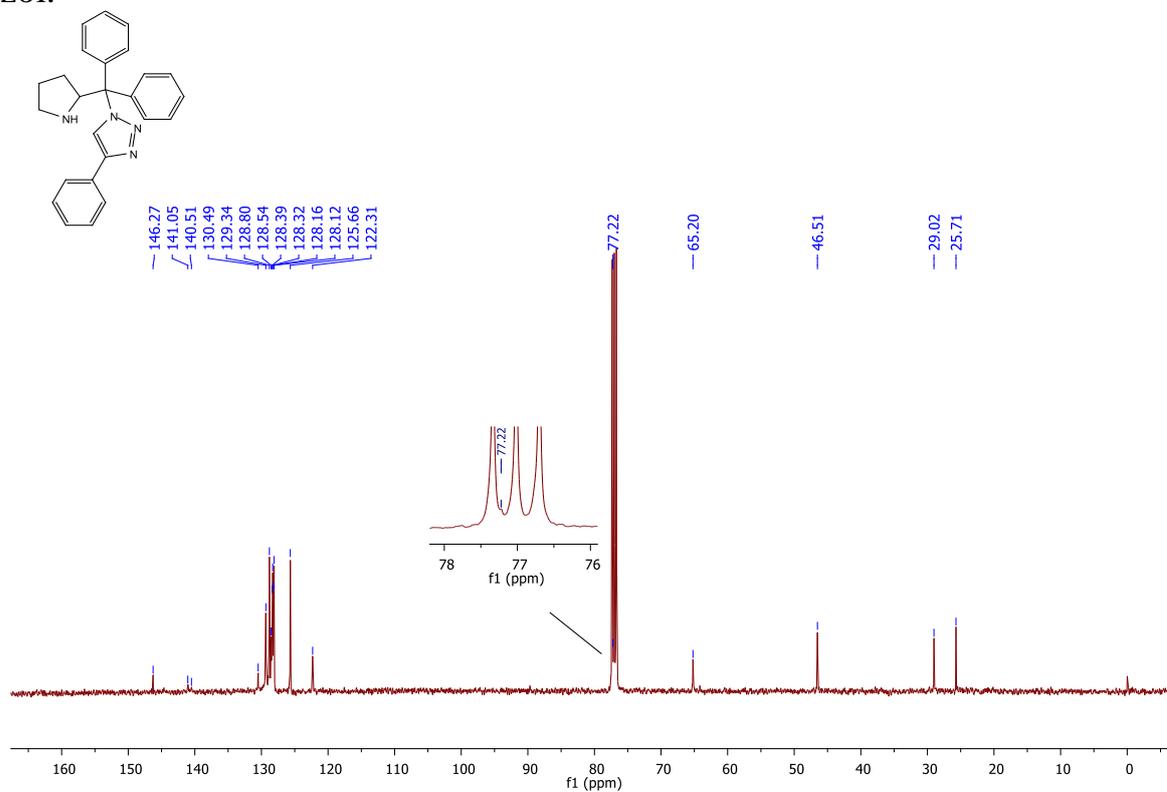


FIGURA 133: RMN ^{13}C 1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-4-fenil-1H-1,2,3-triazol.

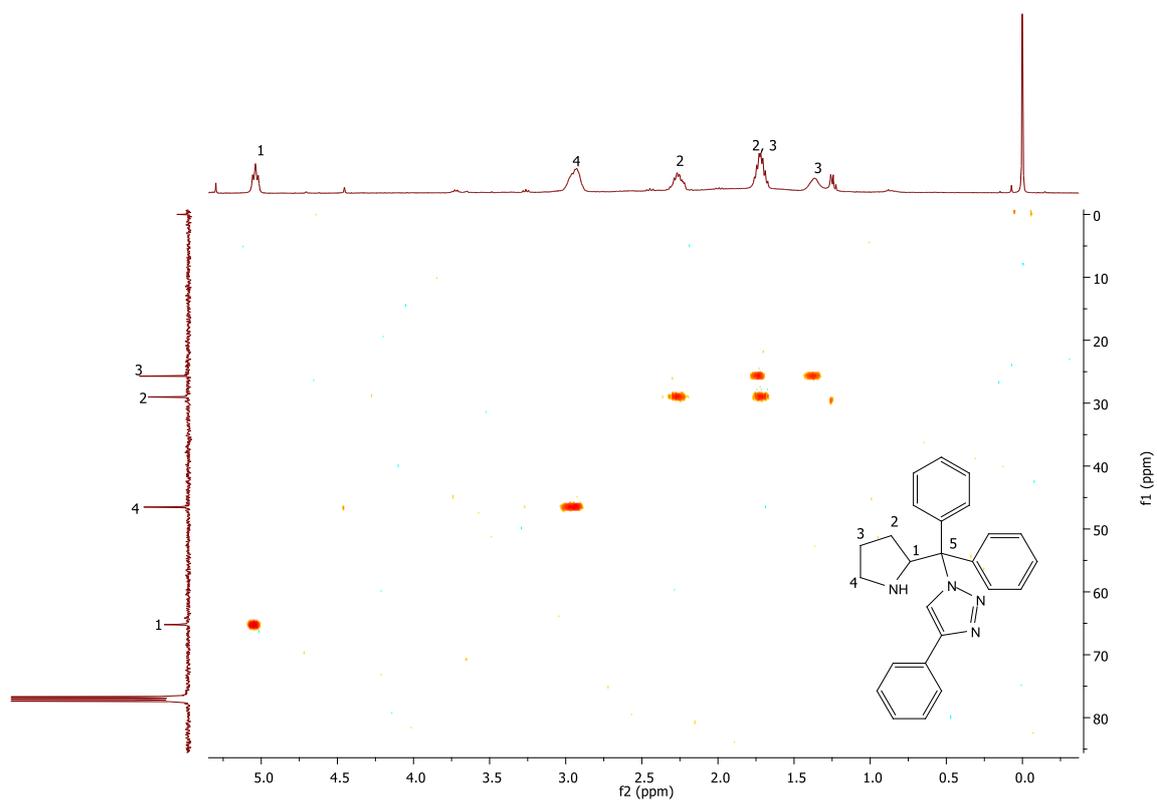


FIGURA 134: RMN HSQC (espectro na região alifática) 1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-4-fenil-1H-1,2,3-triazol.

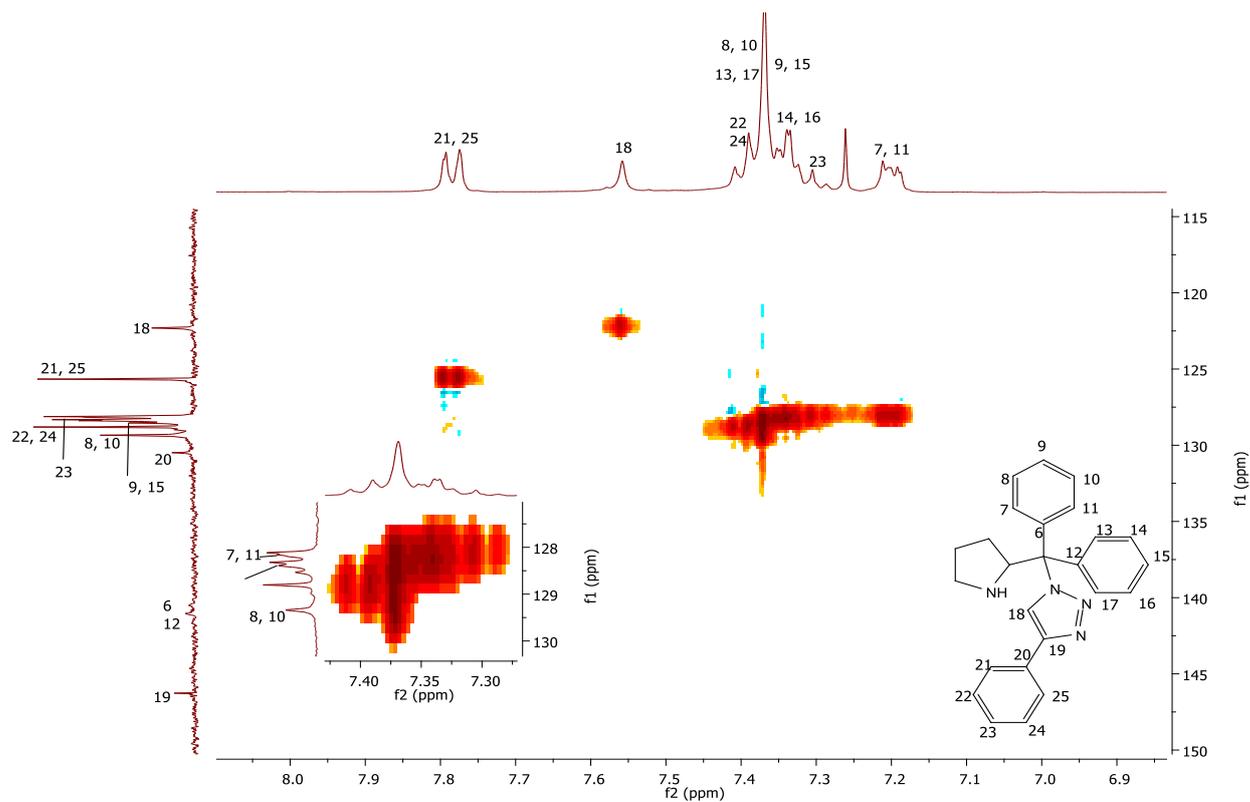


FIGURA 135: RMN HSQC (espectro na região aromática) 1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-4-fenil-1H-1,2,3-triazol.

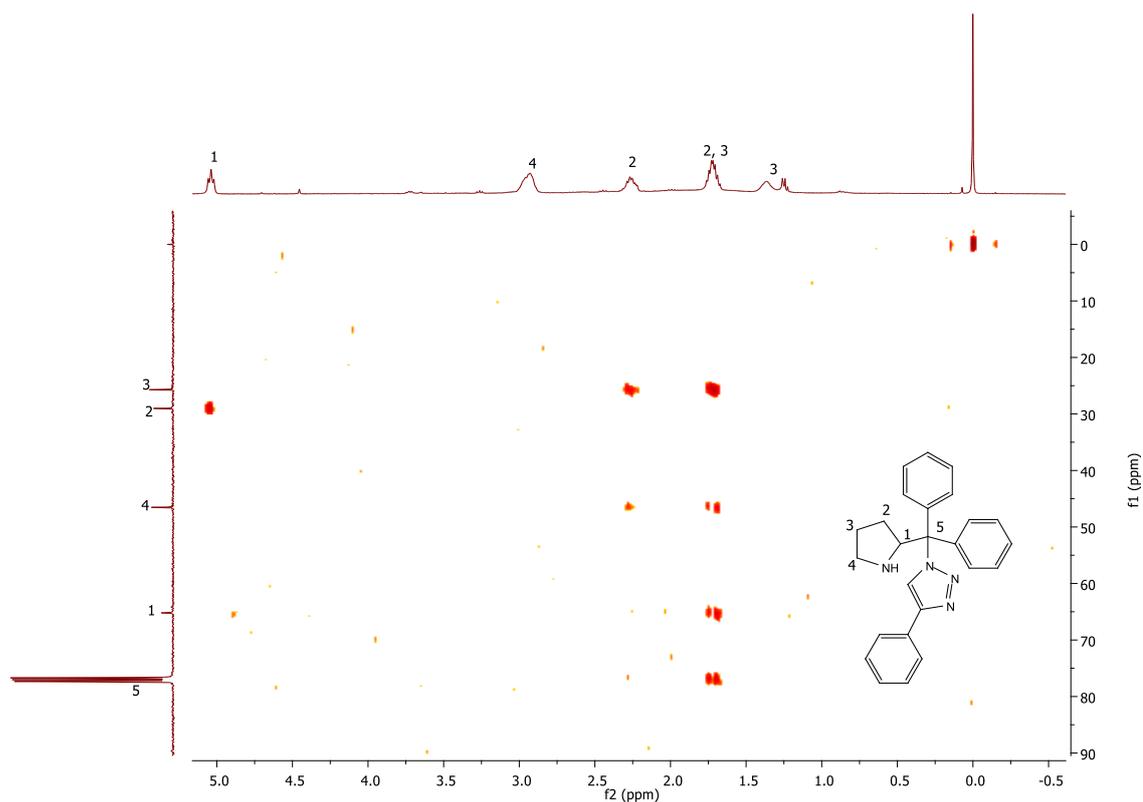


FIGURA 136: RMN HMBC (espectro na região alifática) 1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-4-fenil-1H-1,2,3-triazol.

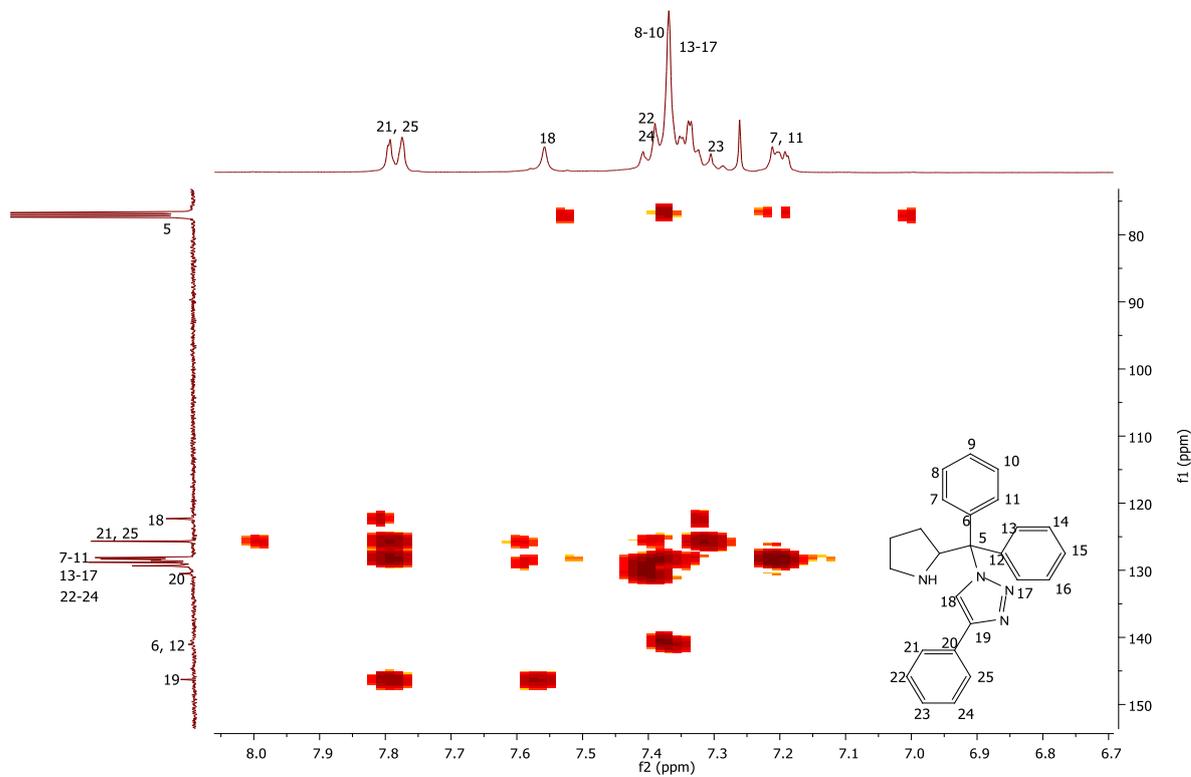


FIGURA 137: RMN HMBC (espectro na região aromática) 1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-4-fenil-1H-1,2,3-triazol.

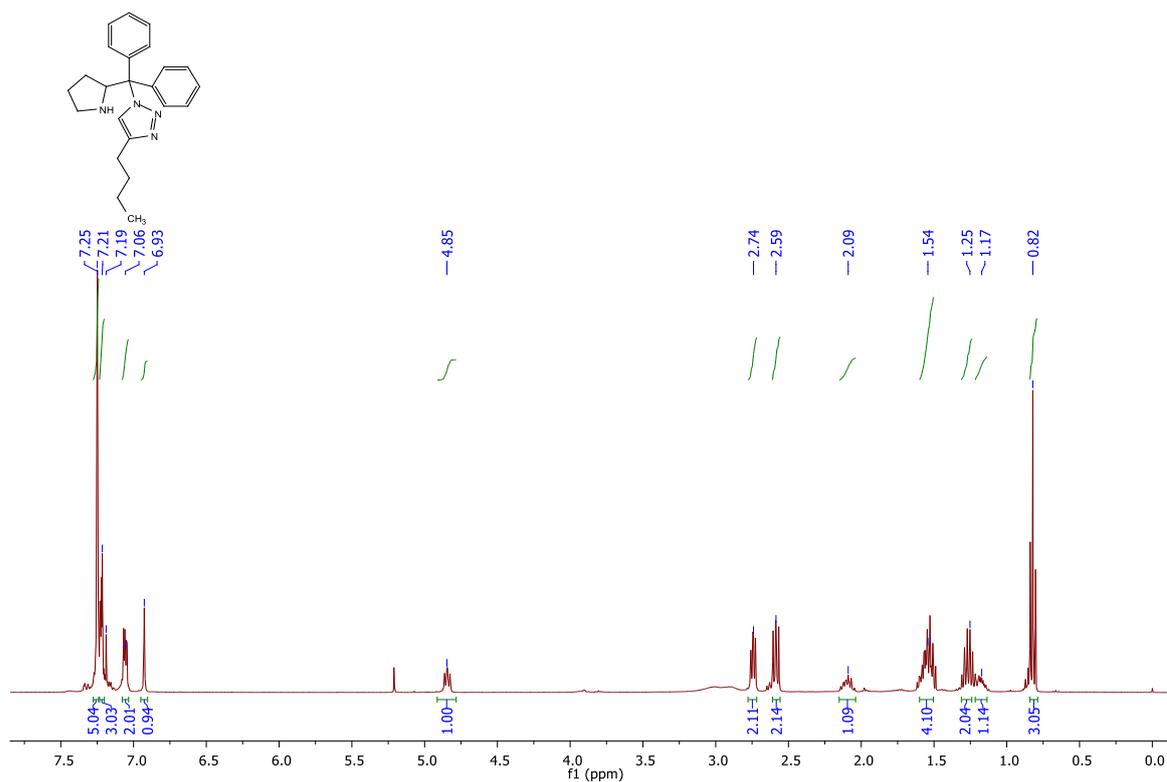


FIGURA 138: RMN ^1H 4- butil-1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-1H-1,2,3-triazol.

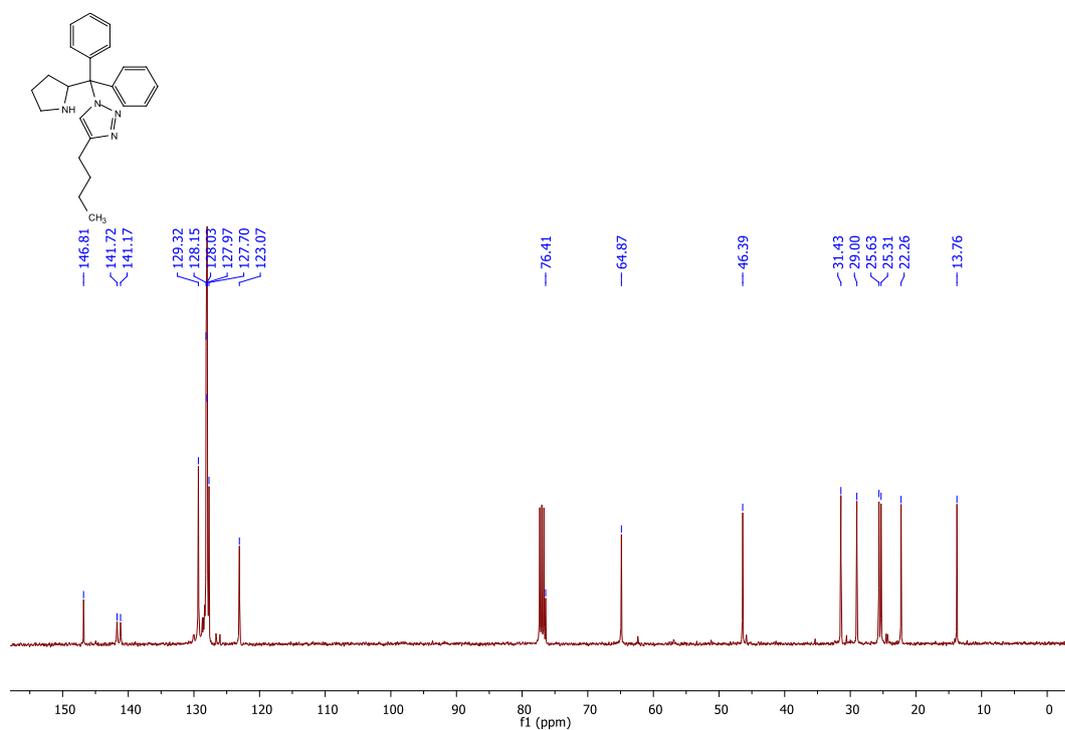


FIGURA 139: RMN ^{13}C 4- butil-1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-1H-1,2,3-triazol.

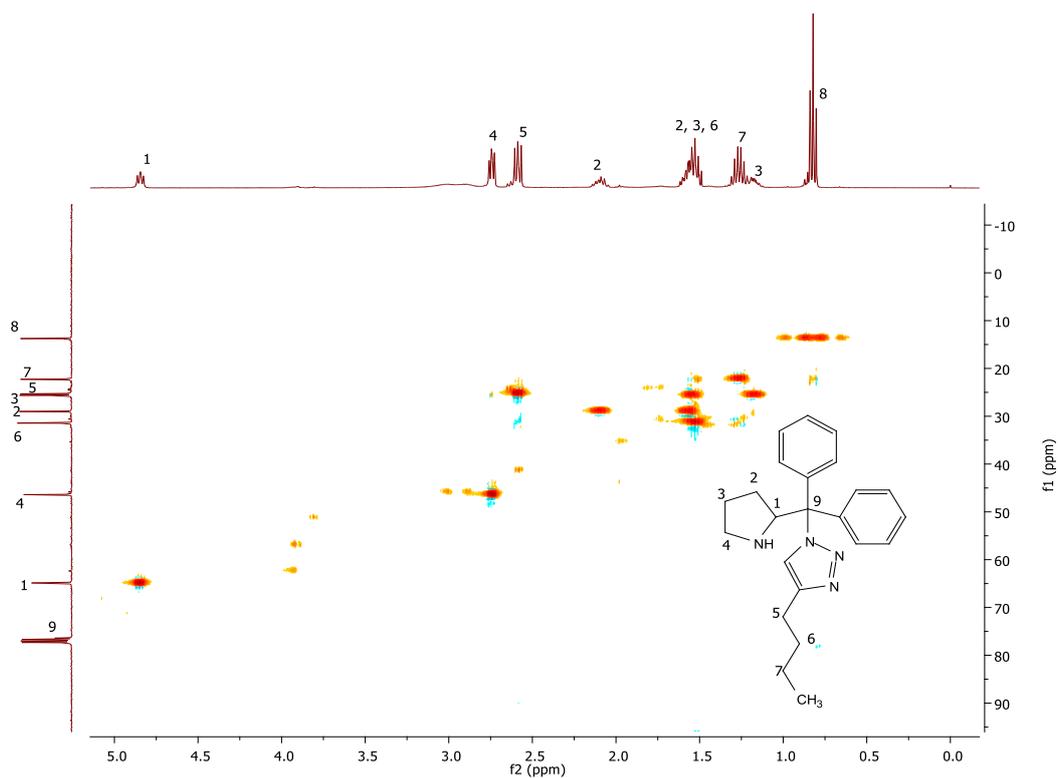


FIGURA 140: RMN HSQC (espectro na região alifática) 4- butil-1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-1H-1,2,3-triazol.

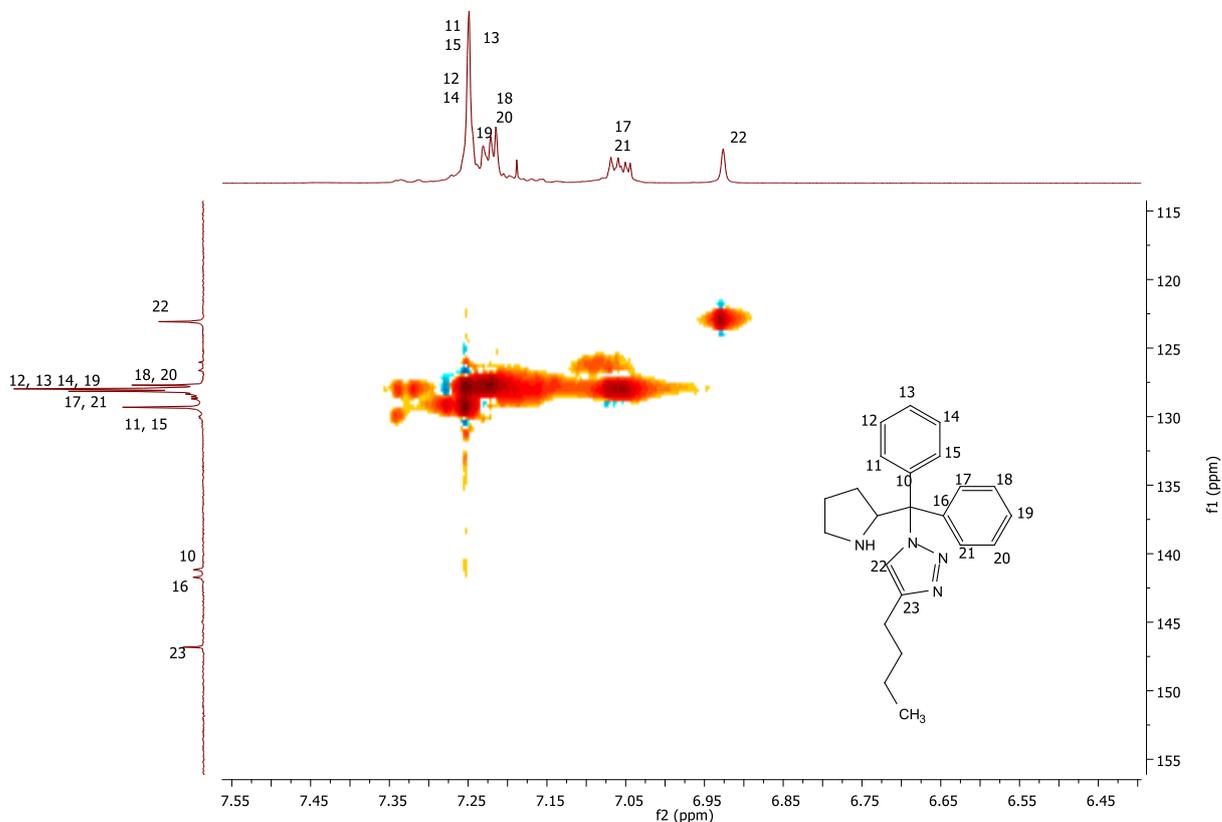


FIGURA 141: RMN HSQC (espectro na região aromática) 4- butil-1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-1H-1,2,3-triazol.

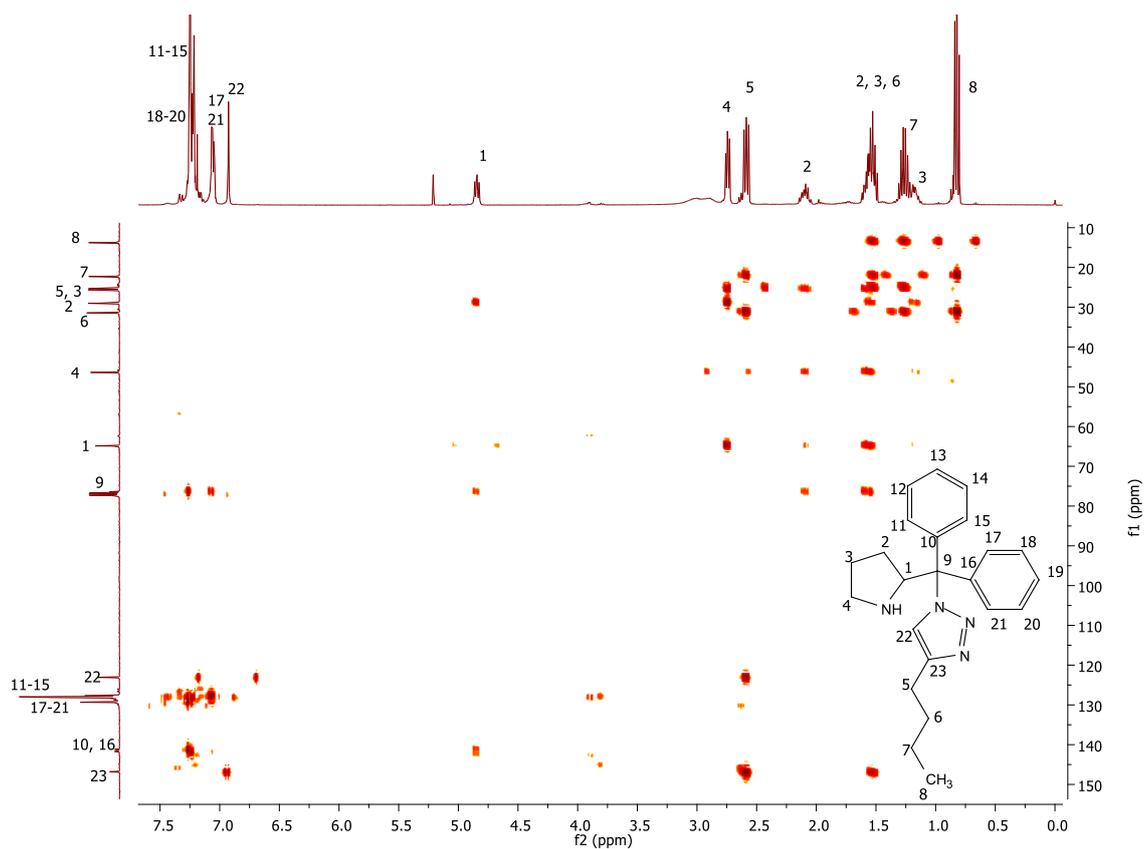


FIGURA 142: HMBC-RMN 4-butil-1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-1H-1,2,3-triazol.

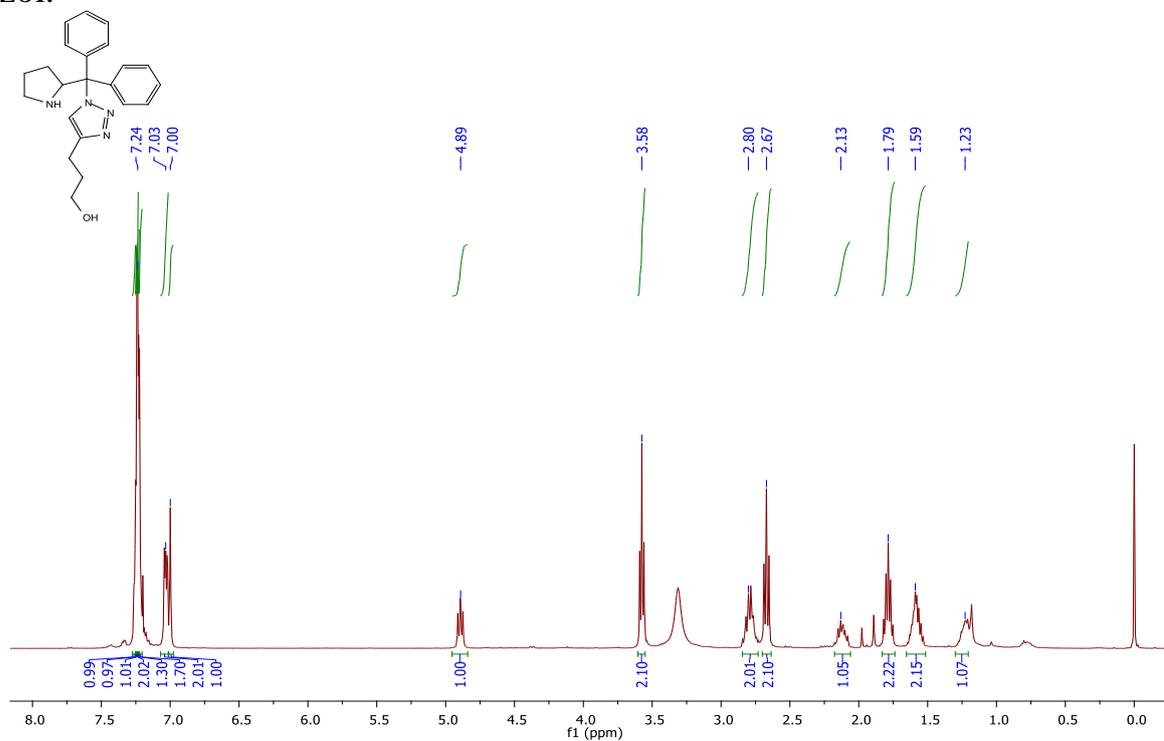


FIGURA 143: RMN ¹H 3-(1-difenil(pirrolidina-2-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)propan-1-ol.

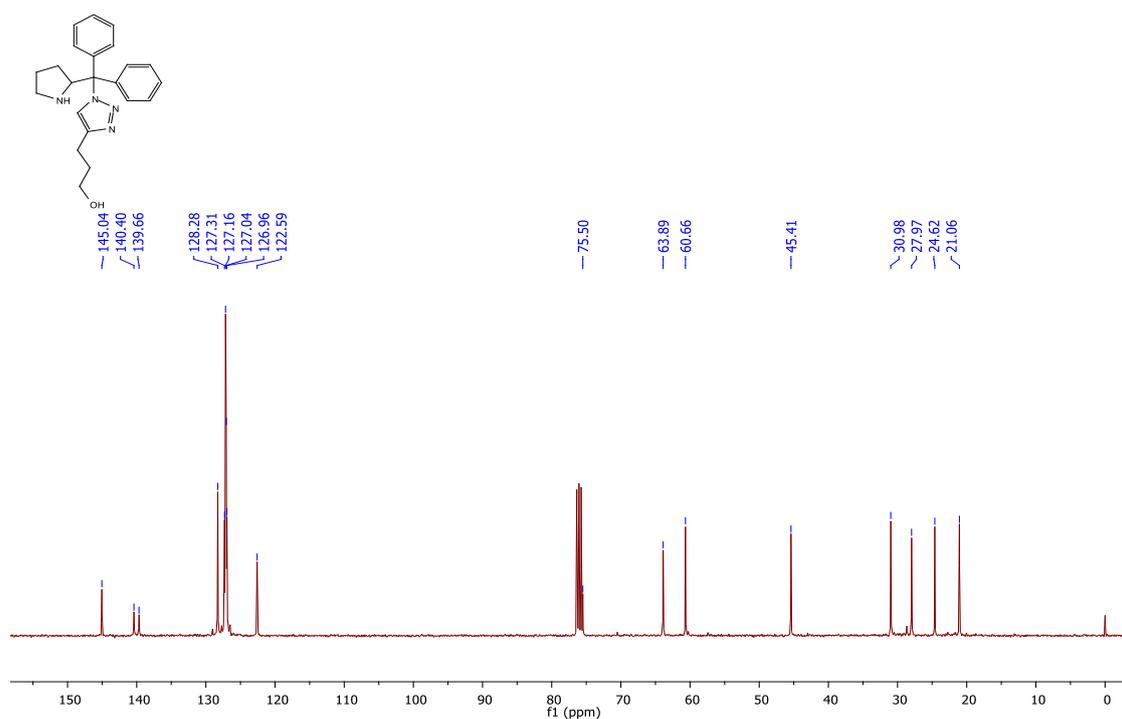


FIGURA 144: RMN ^{13}C 3-(1-difenil(pirrolidina-2-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)propan-1-ol.

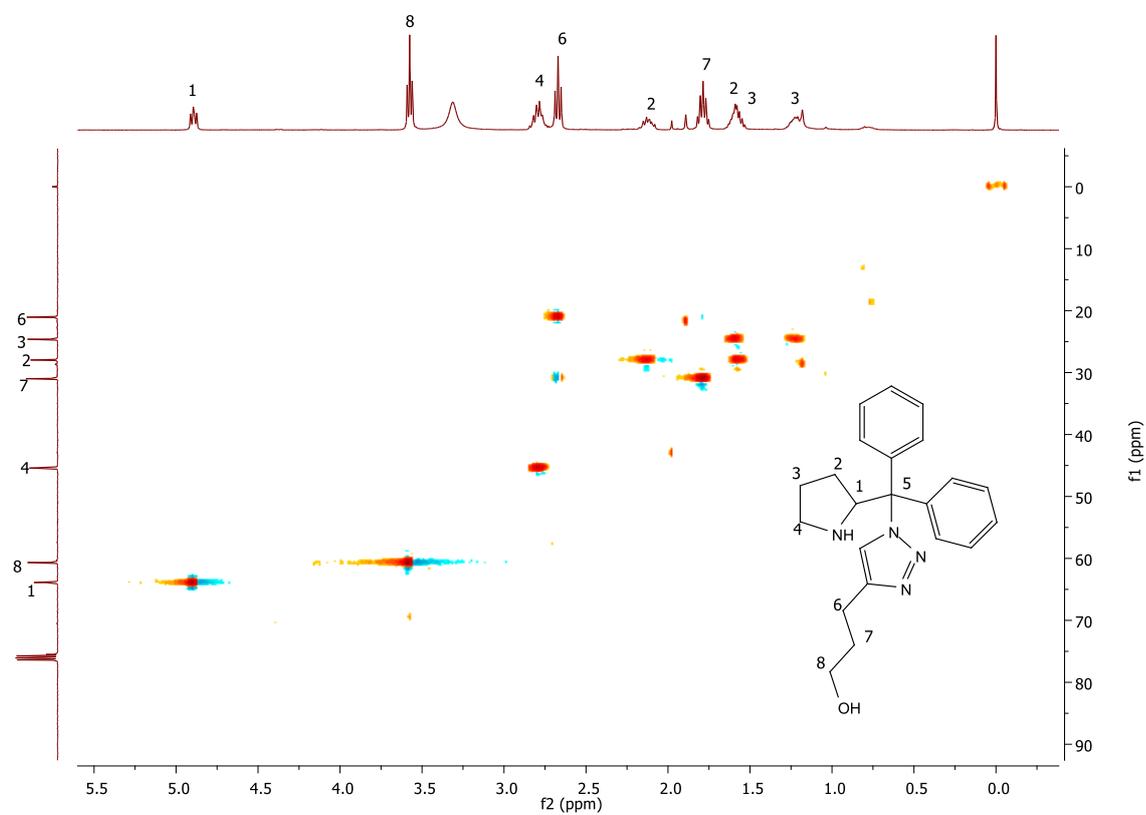


FIGURA 145: RMN HSQC (espectro na região alifática) 3-(1-difenil(pirrolidina-2-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)propan-1-ol.

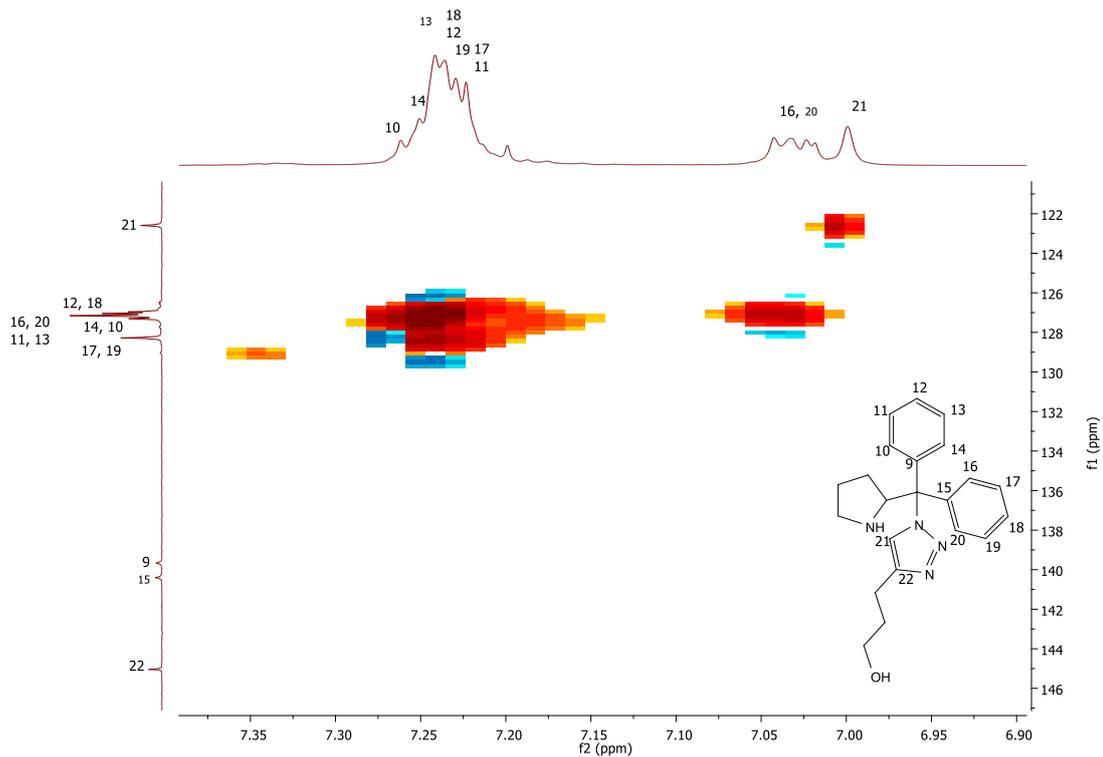


FIGURA 146: RMN HSQC (espectro na região aromática) 3-(1-difenil(pirrolidina-2-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)propan-1-ol.

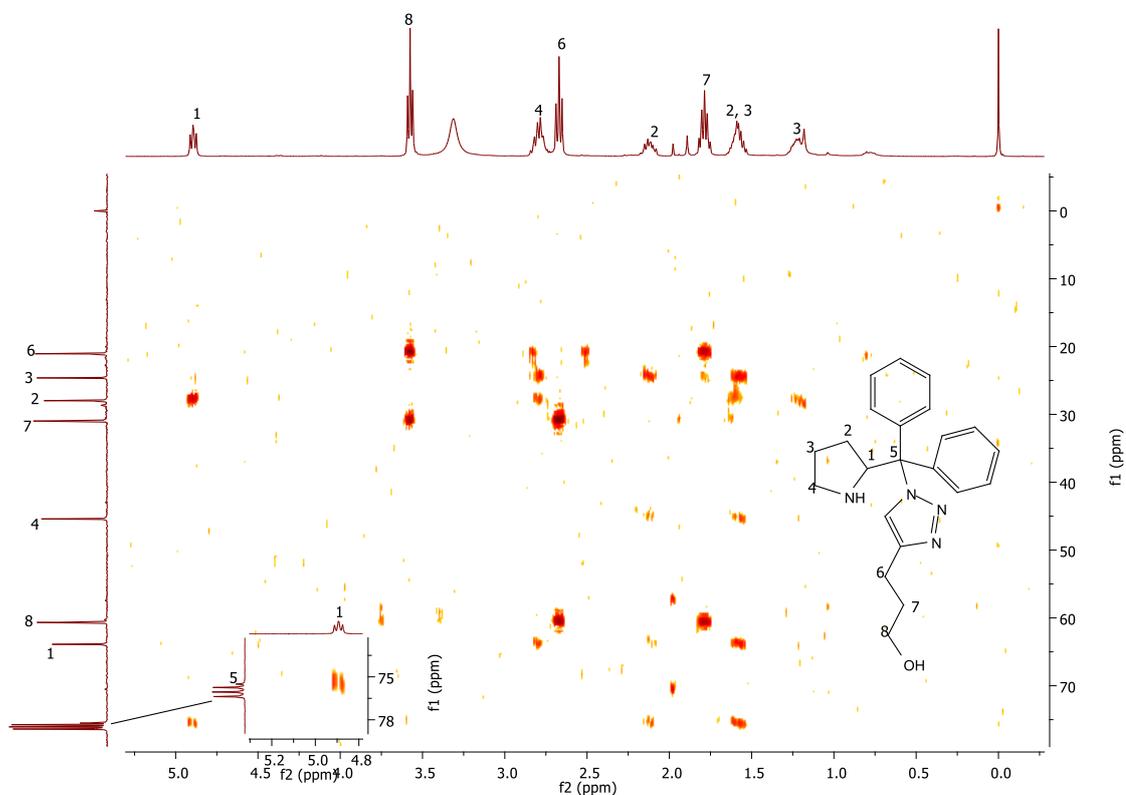


FIGURA 147: RMN HMBC (espectro na região alifática) 3-(1-difenil(pirrolidina-2-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)propan-1-ol.

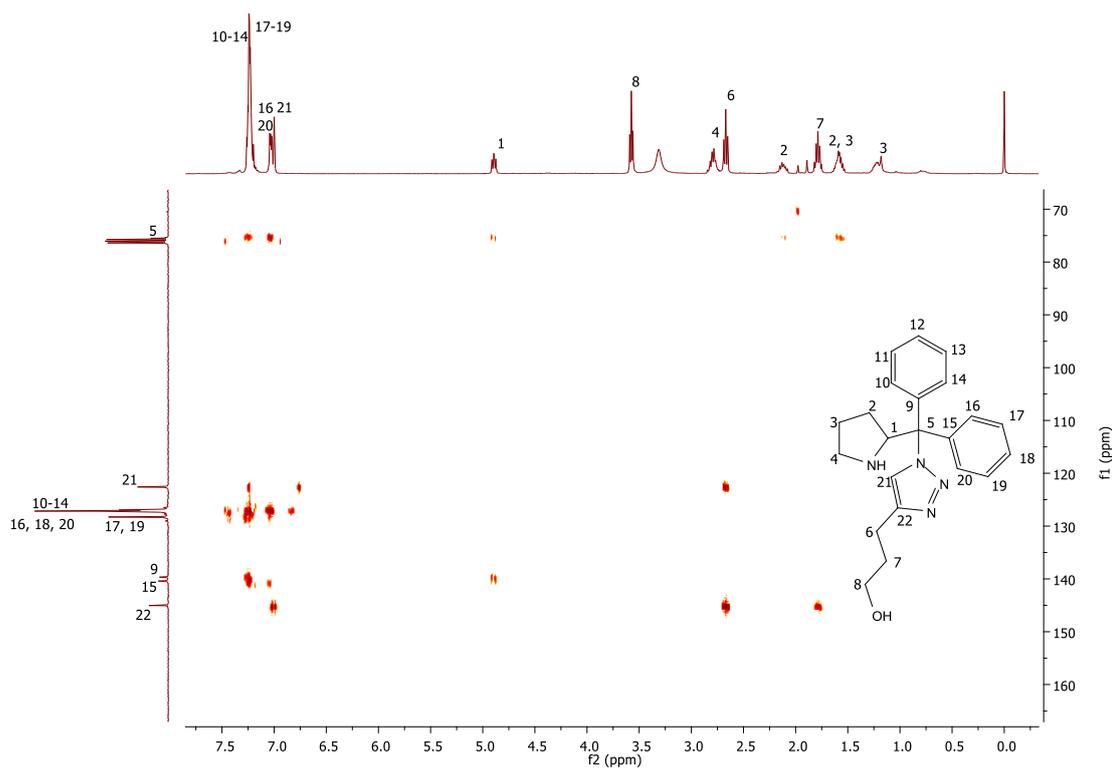


FIGURA 148: RMN HMBC (espectro na região aromática) 3-(1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)propan-1-ol.

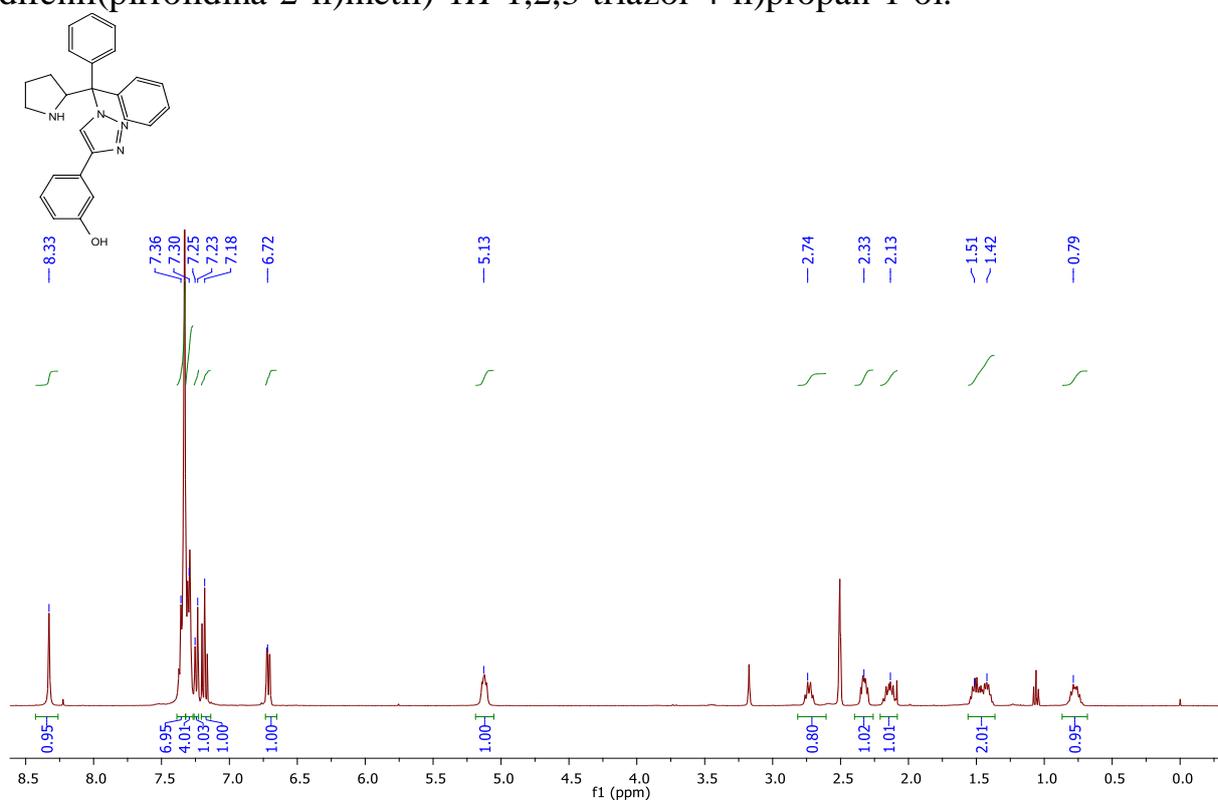


FIGURA 149: RMN ^1H 3-(1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)fenol.

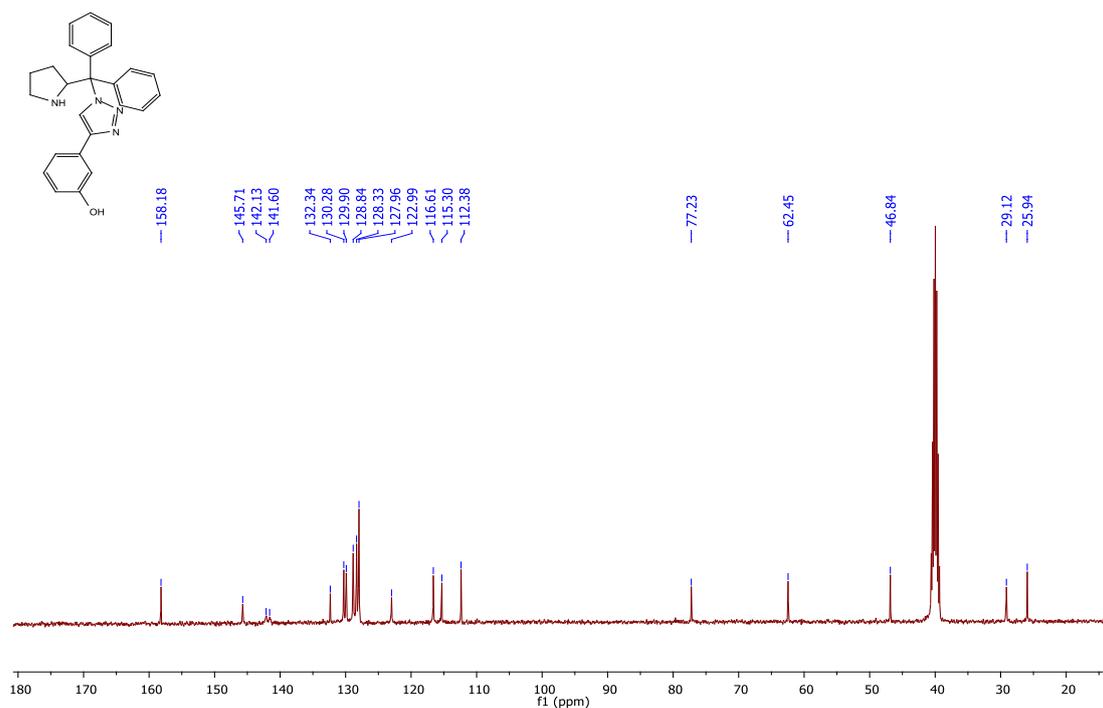


FIGURA 150: RMN ^{13}C 3-(1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)fenol.

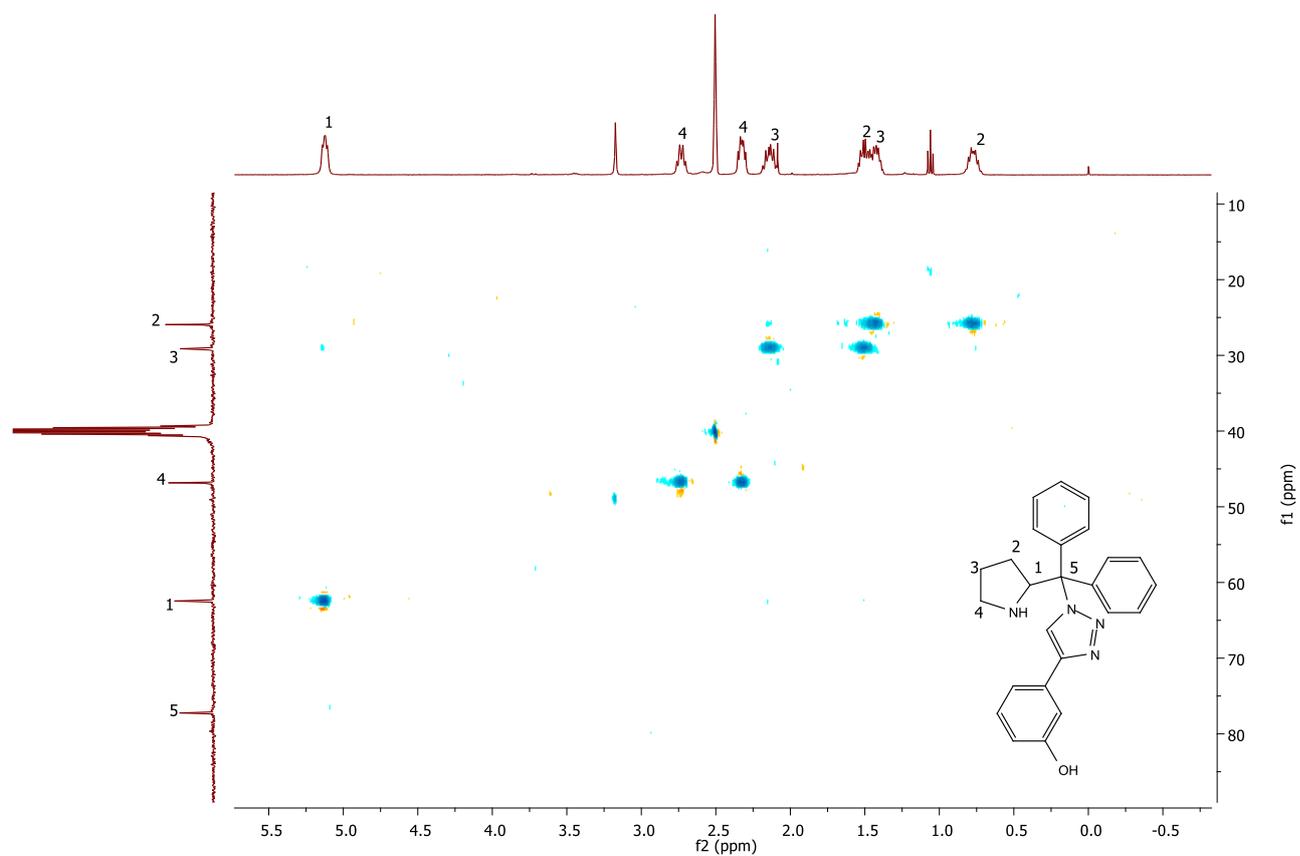


FIGURA 151: RMN HSQC (espectro na região alifática) 3-(1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)fenol.

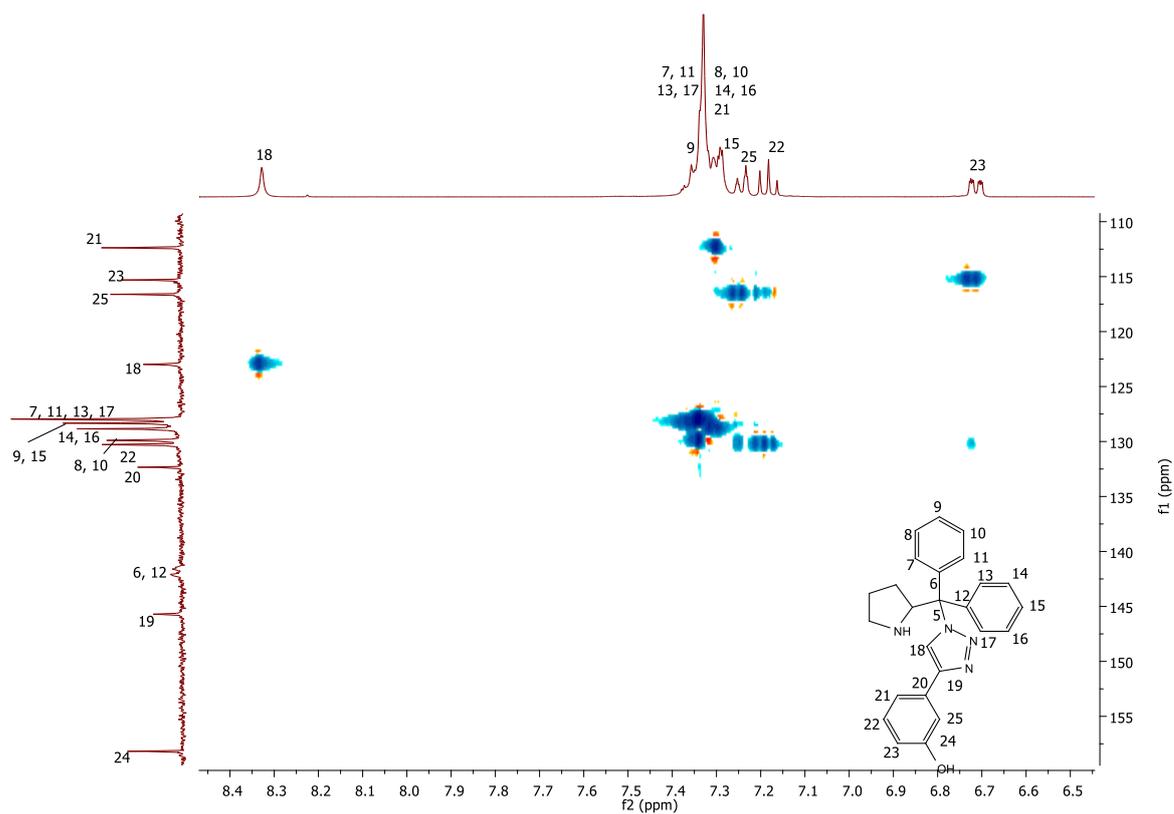


FIGURA 152: RMN HSQC (espectro na região aromática) 3-(1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)fenol.

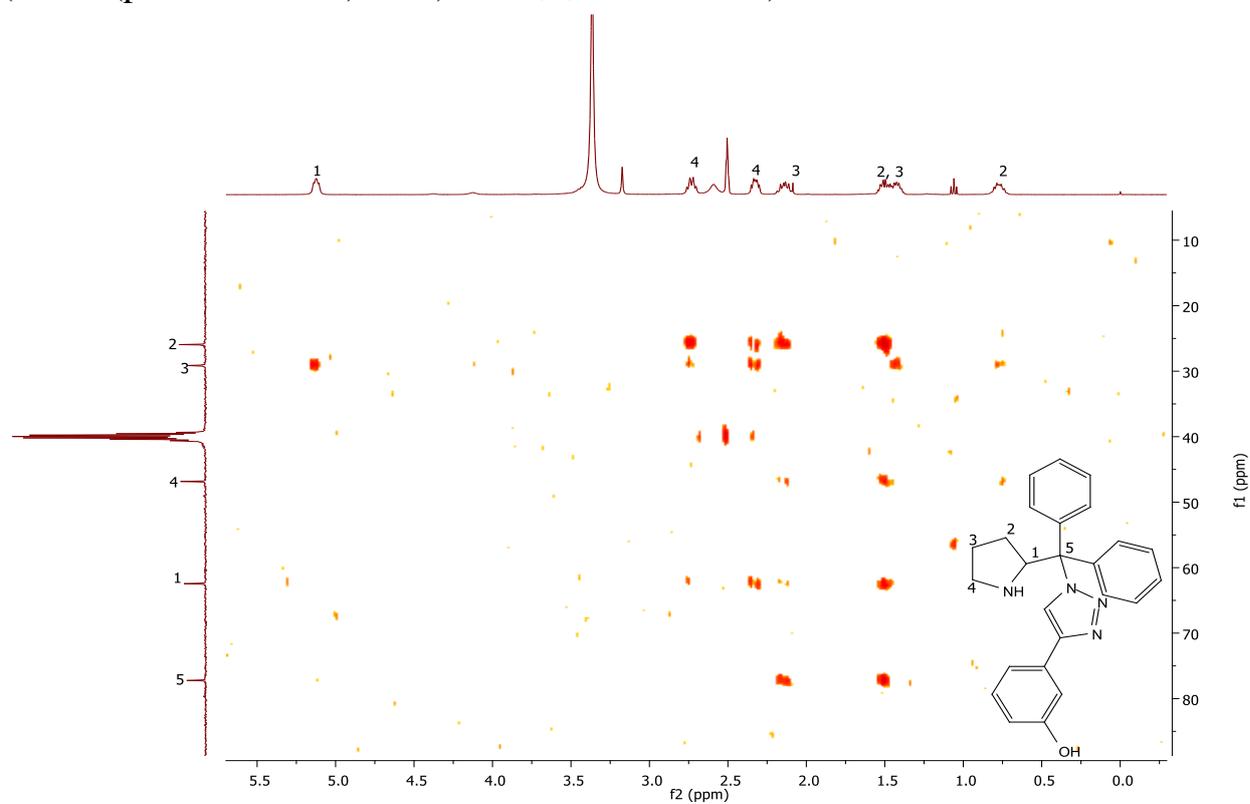


FIGURA 153: RMN HMBC (espectro na região alifática) 3-(1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)fenol.

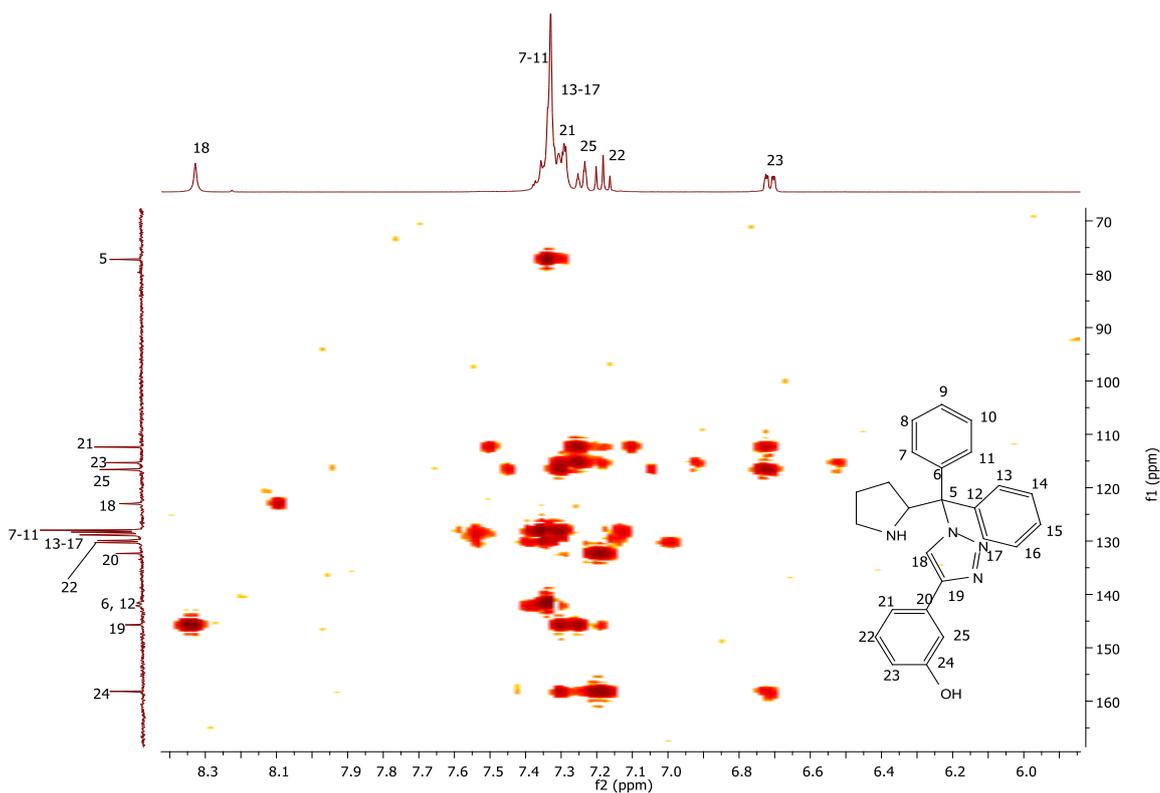


FIGURA 154: RMN HMBC (espectro na região aromática) 3-(1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)fenol.

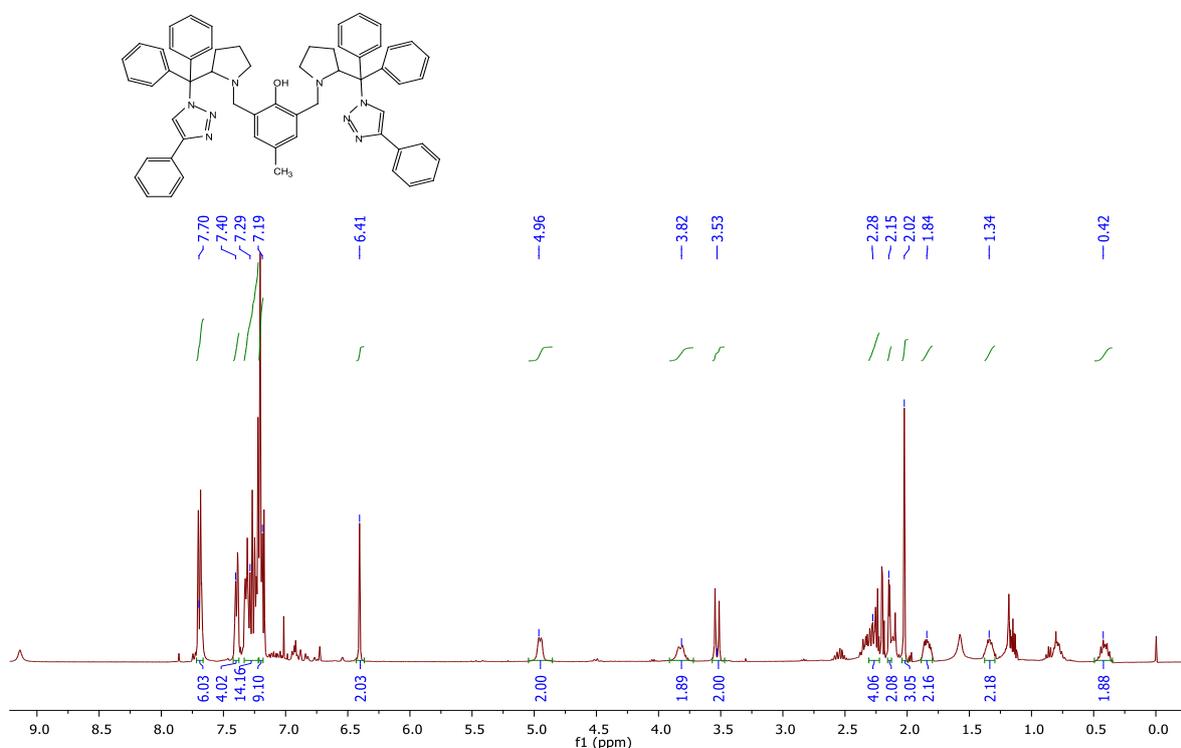


FIGURA 155: RMN ^1H 2,6-bis((2-(difenil(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.

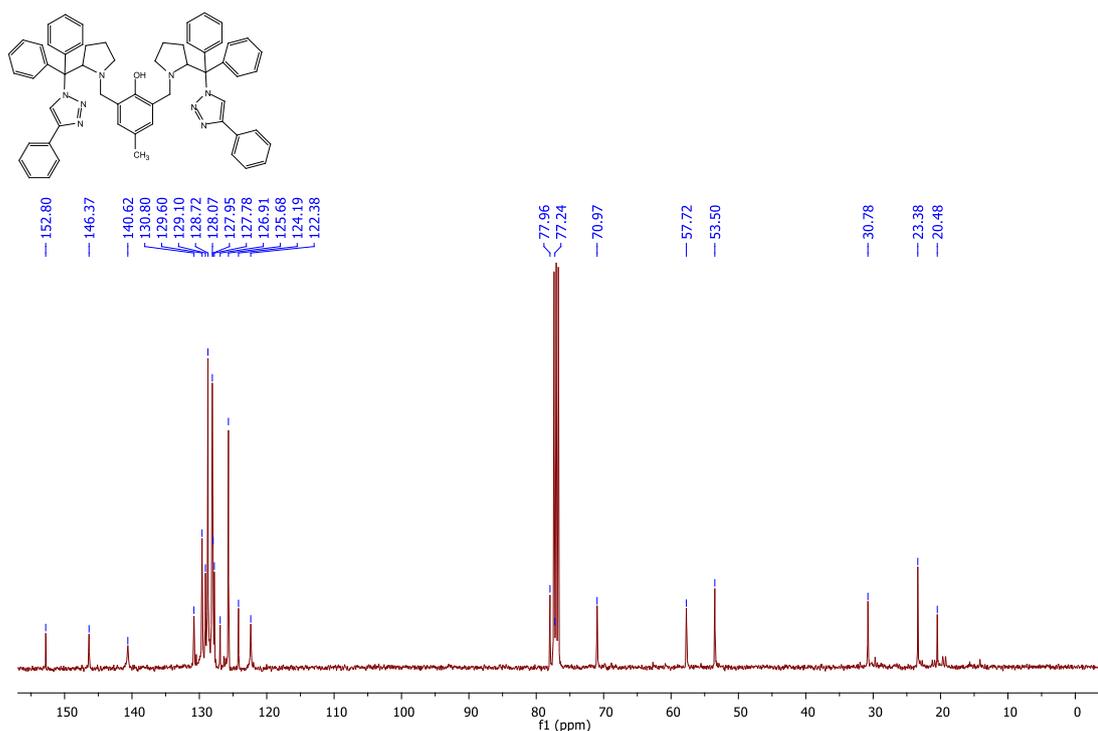


FIGURA 156: RMN ^{13}C 2,6-bis((2-(difenil(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.

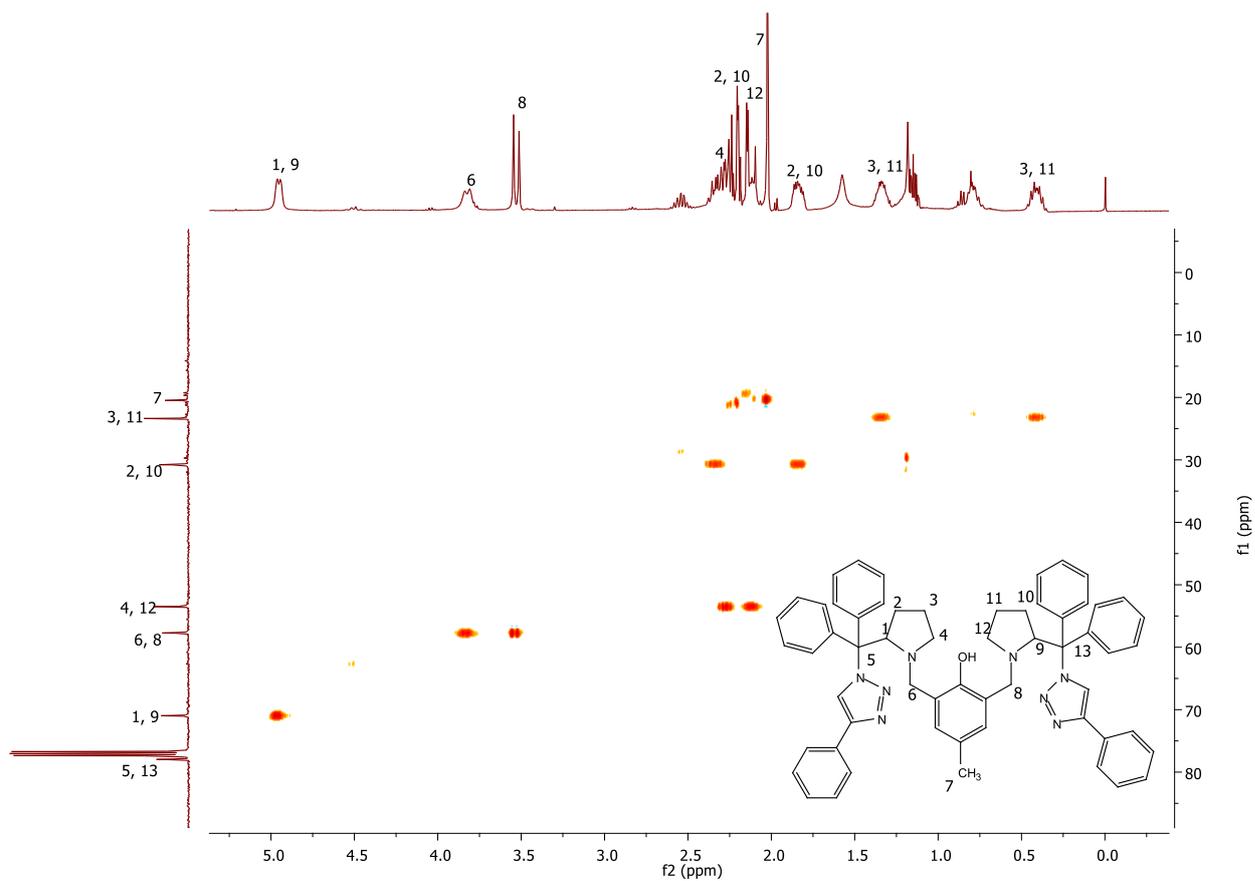


FIGURA 157: RMN HSQC (espectro na região alifática) 2,6-bis((2-(difenil(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.

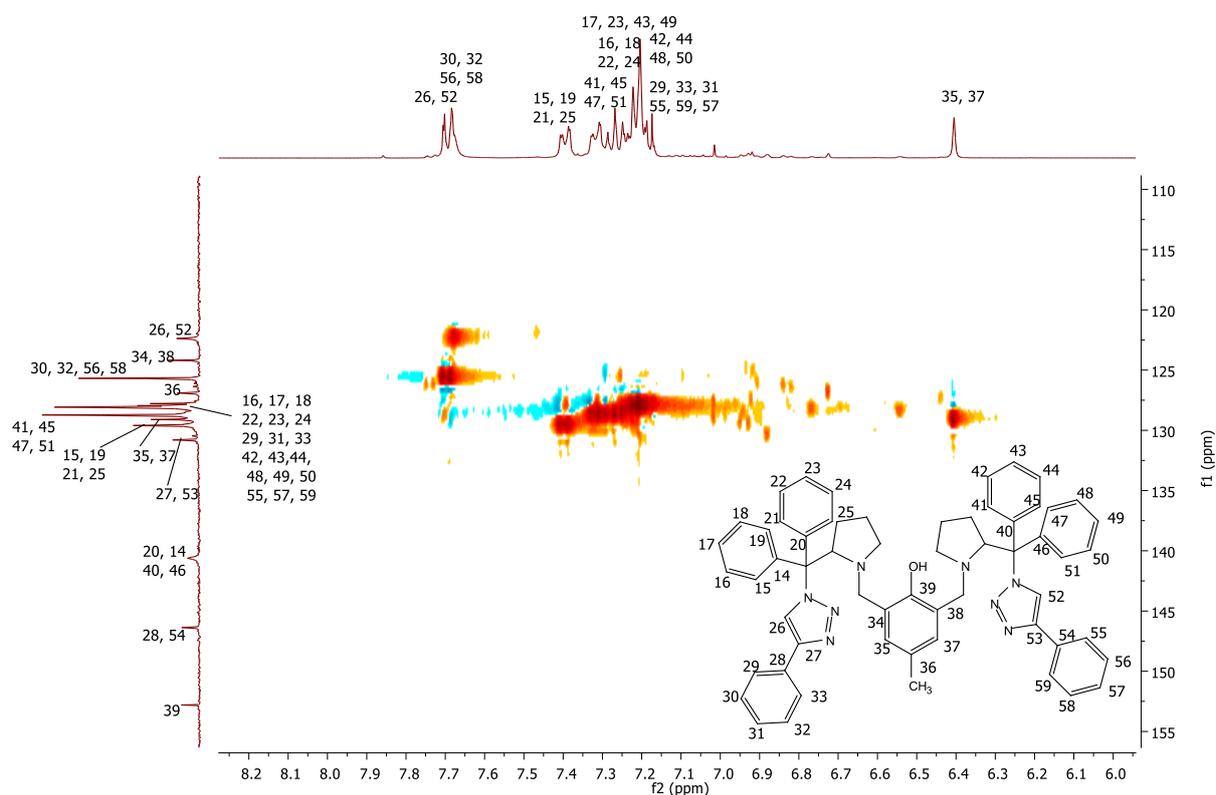


FIGURA 158: RMN HSQC (espectro na região aromática) 2,6-bis((2-(difenil(4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)metil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.

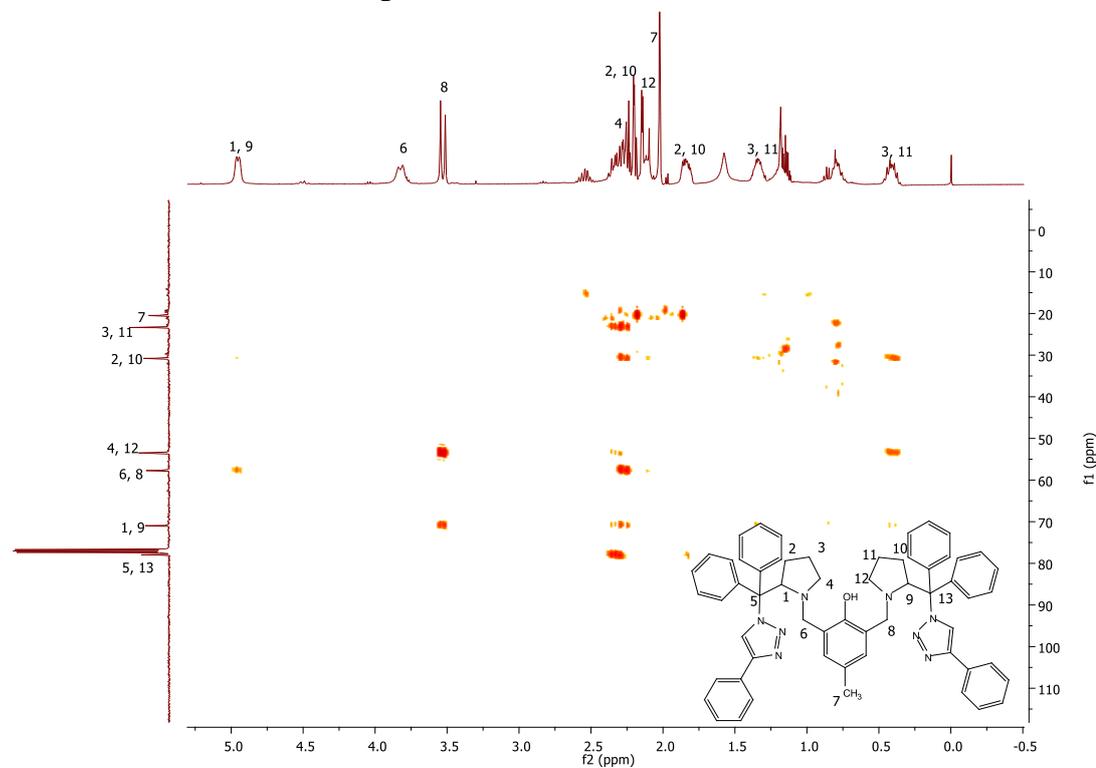


FIGURA 159: RMN HMBC (espectro na região alifática) 2,6-bis((2-(difenil(4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)metil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.

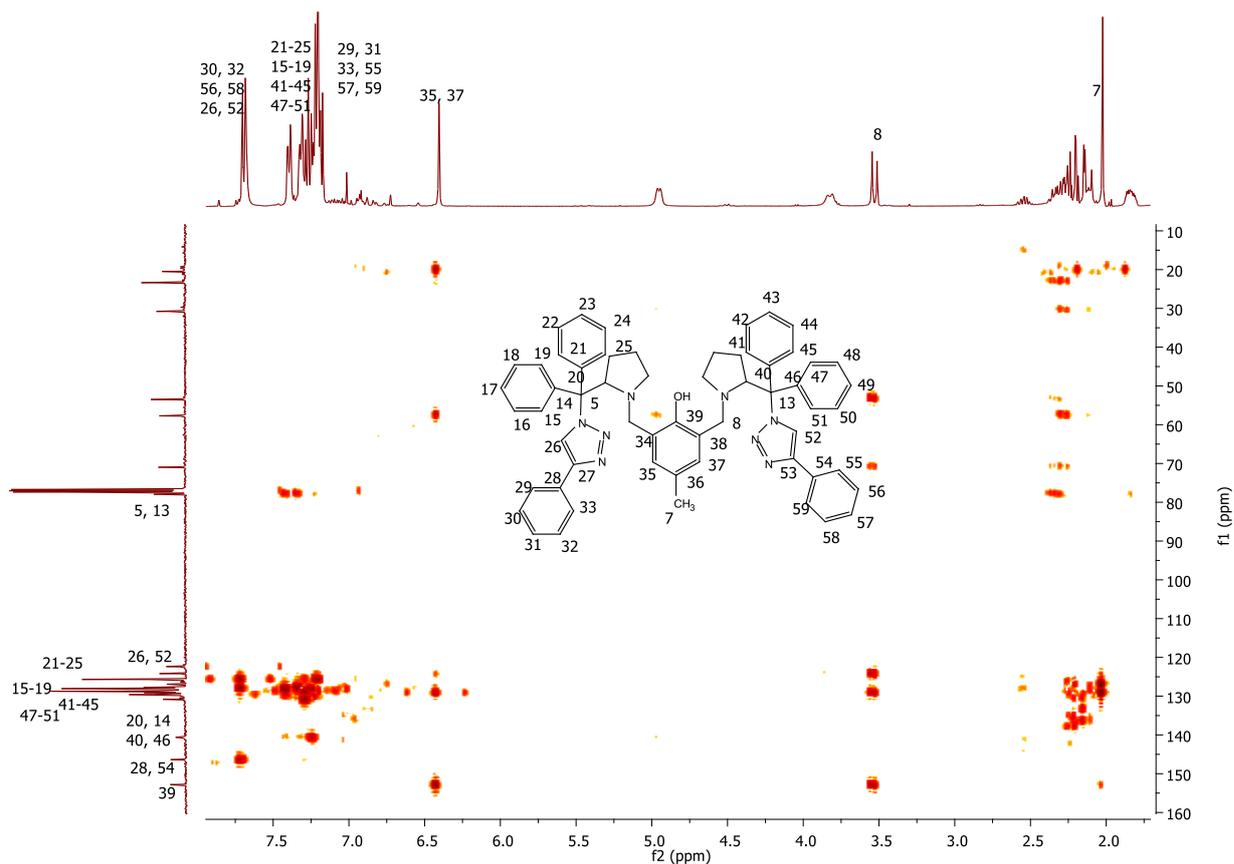


FIGURA 160: RMN HMBC (espectro na região aromática) 2,6-bis((2-(difenil(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.

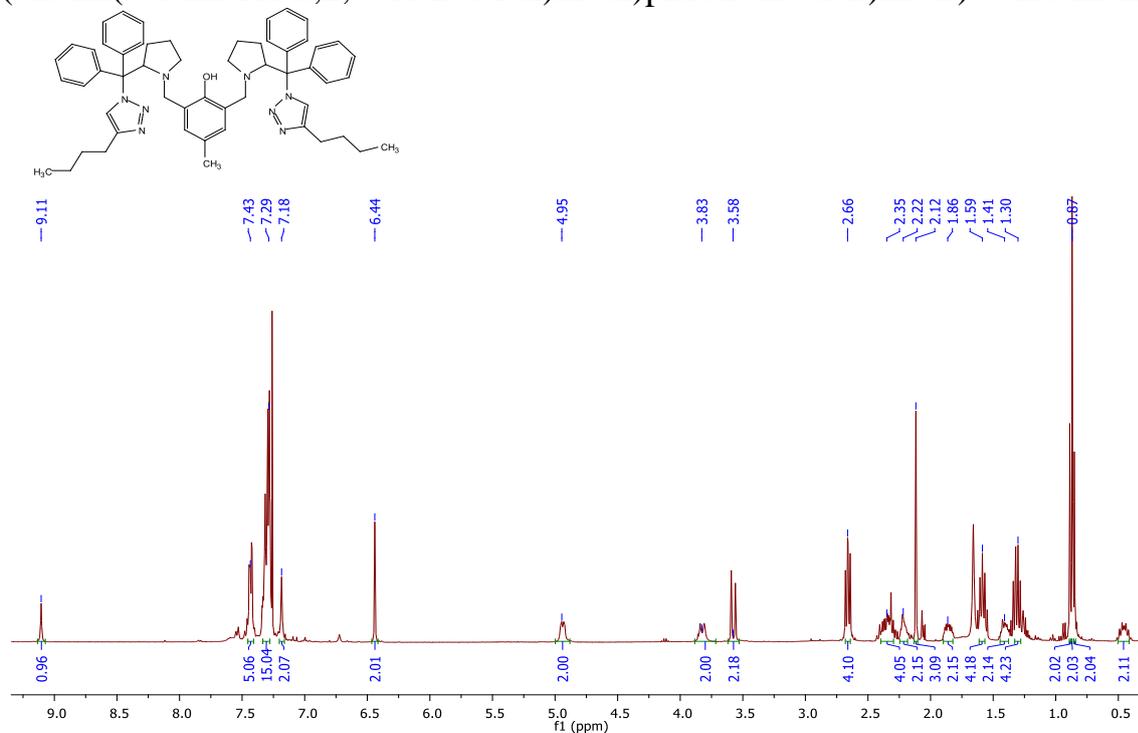


FIGURA 161: RMN ^1H 2,6-bis((2-((4-butil-1H-1,2,3-triazol-1-il)difenilmetil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.

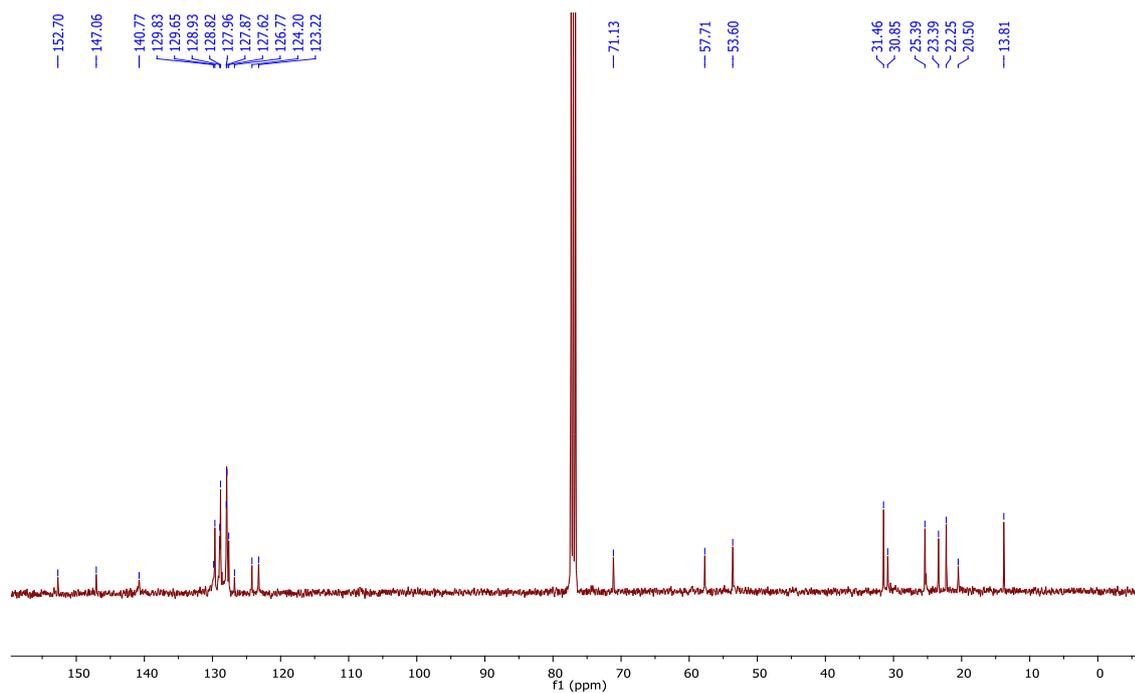


FIGURA 162: RMN ^{13}C 2,6-bis((2-((4-butil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)difenilmetil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.

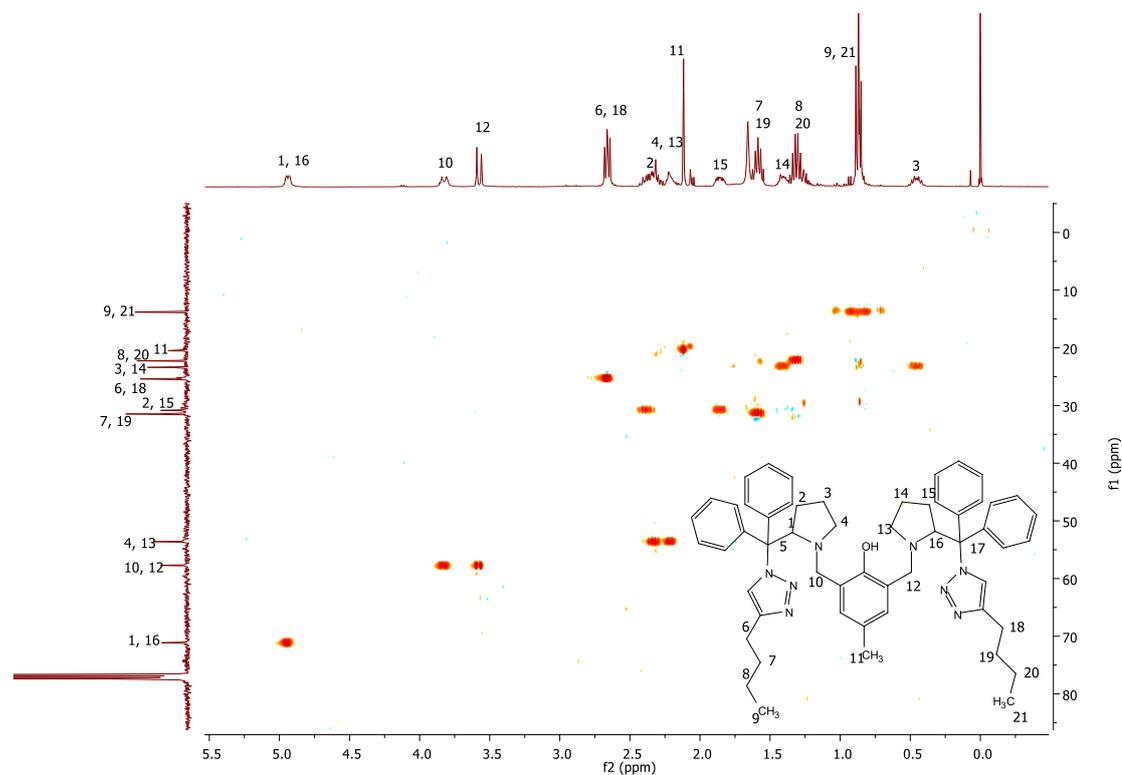


FIGURA 163: RMN HSQC espectro na região alifática 2,6-bis((2-((4-butil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)difenilmetil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.

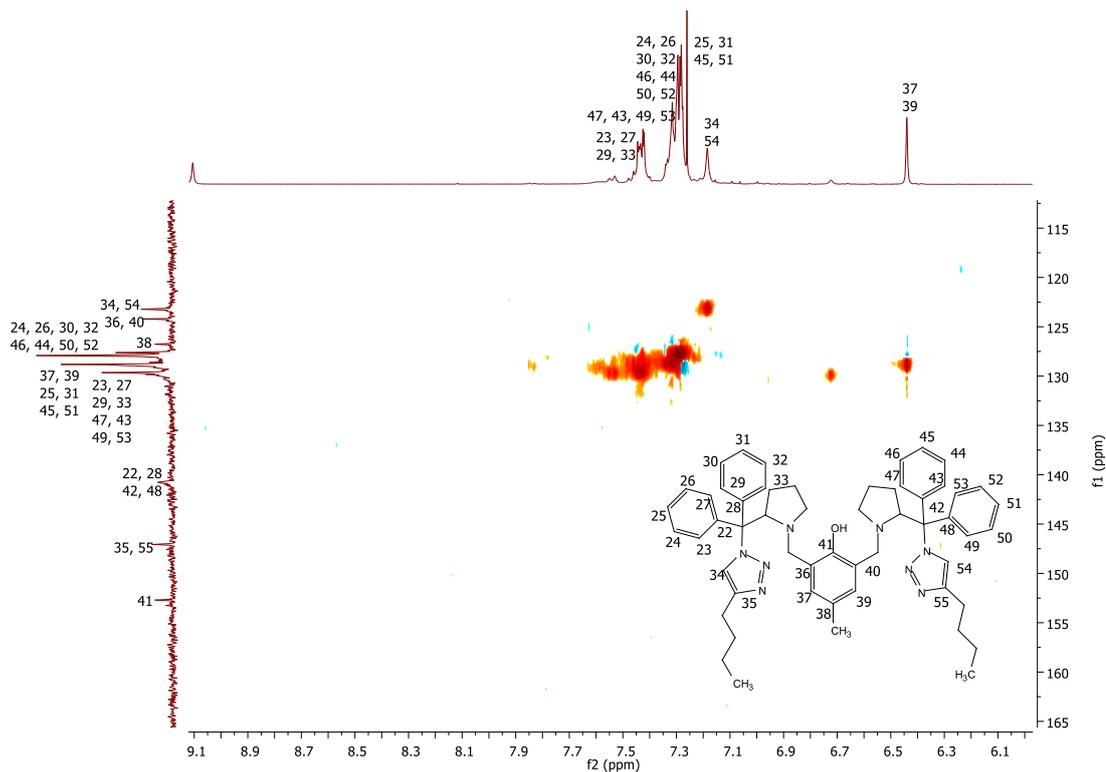


FIGURA 164: RMN HSQC espectro na região aromática 2,6-bis((2-((4-butil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)difenilmetil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.

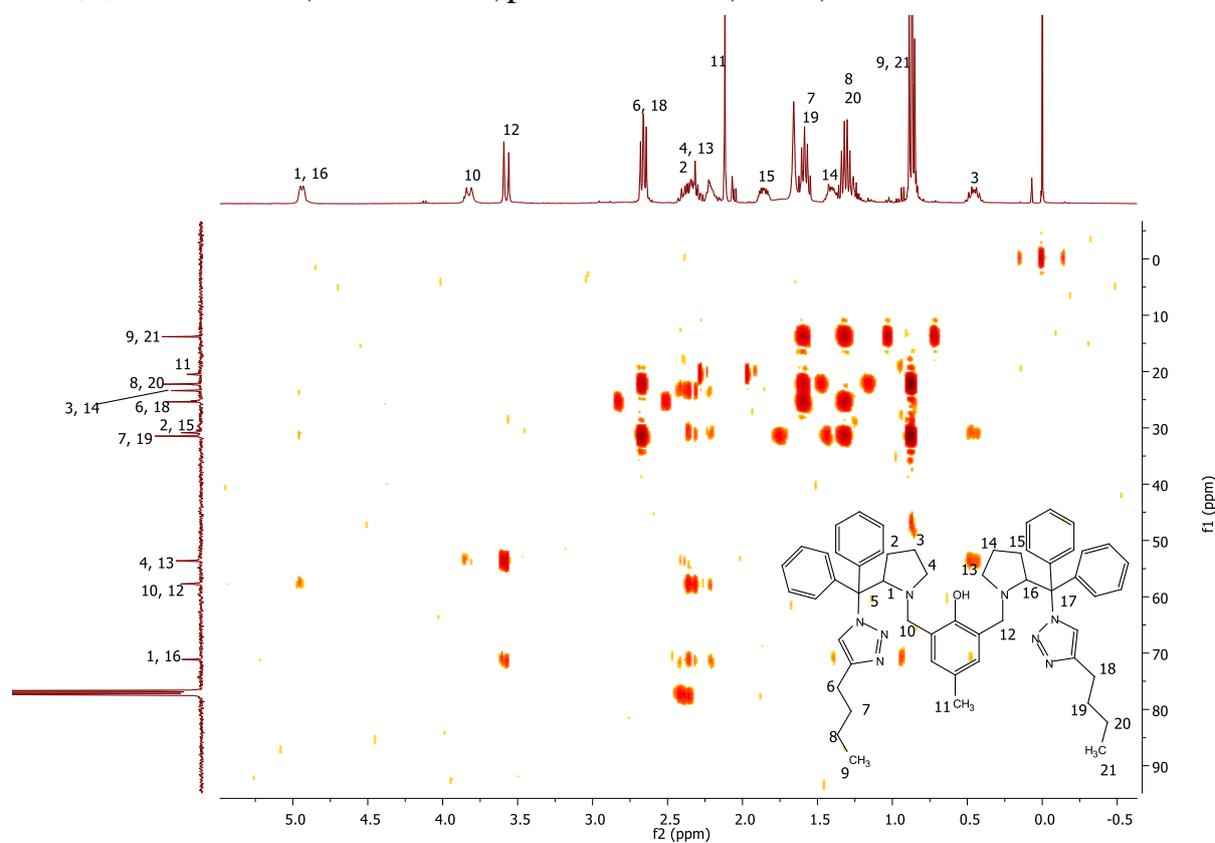


FIGURA 165: RMN HMBC espectro na região alifática 2,6-bis((2-((4-butil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)difenilmetil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.

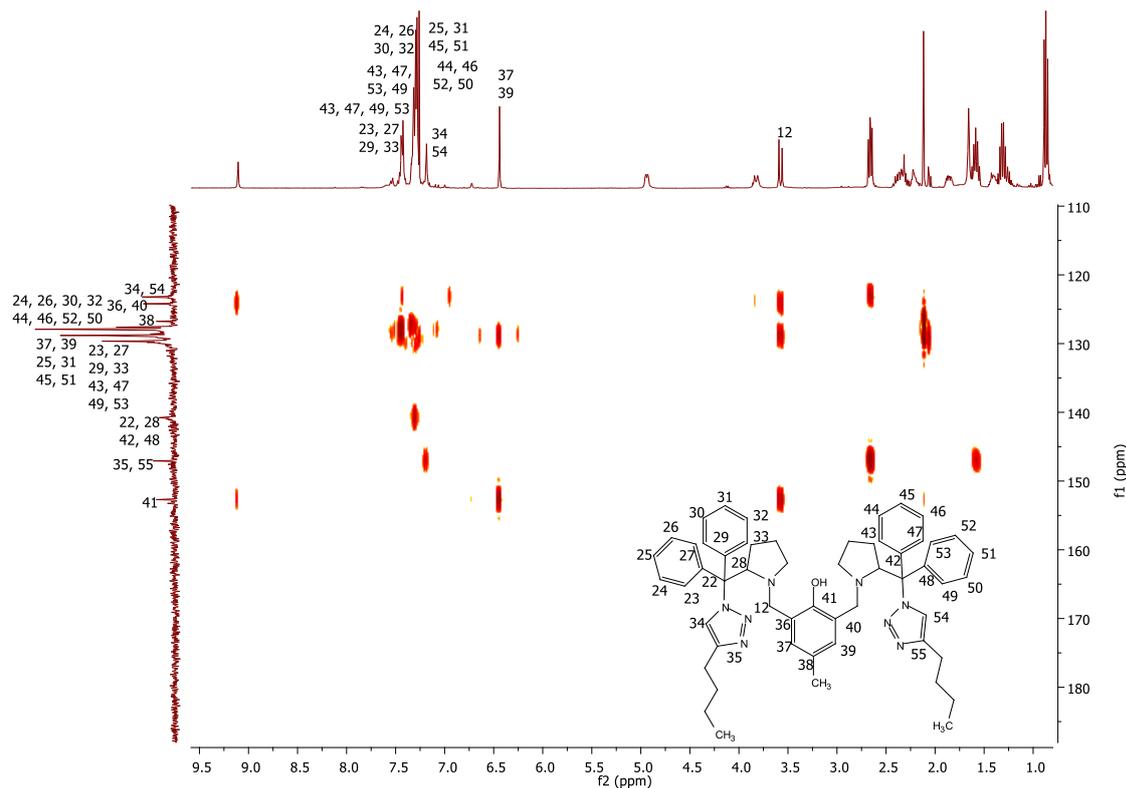


FIGURA 166: RMN HMBC espectro na região aromática 2,6-bis((2-((4-butil-1H-1,2,3-triazol-1-il)difenilmetil)pirrolidina-1-il)metil)-4-metilfenol.

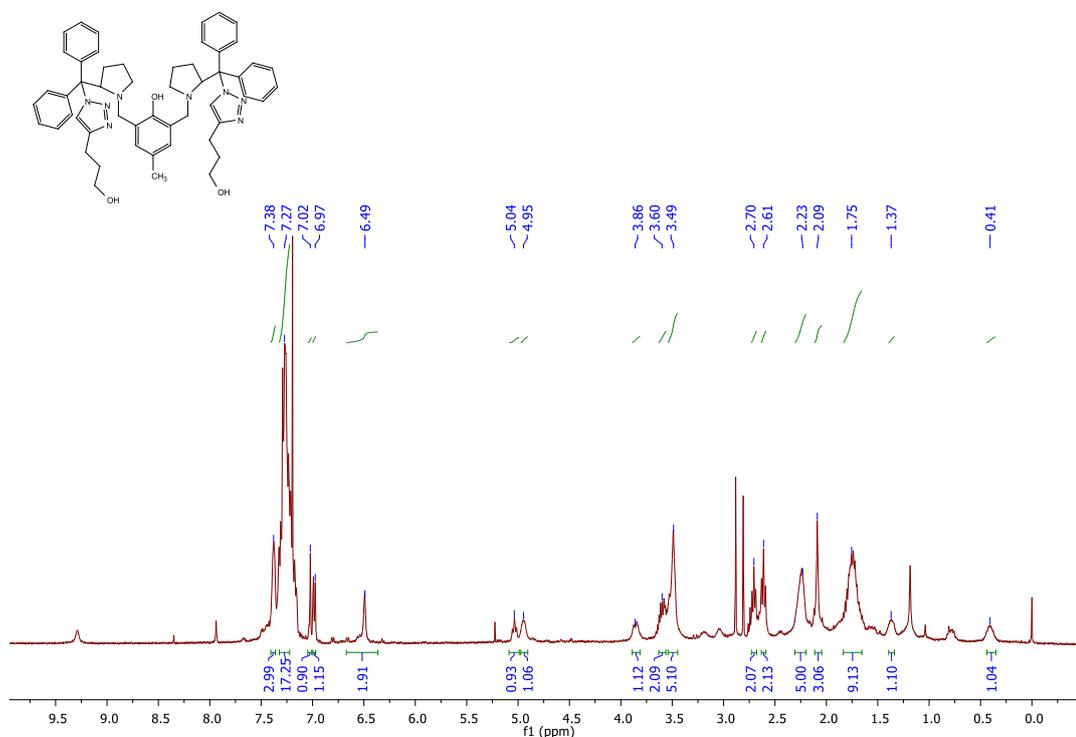


FIGURA 167: RMN ^1H 3,3'-((((2-hydroxy-5-metil-1,3-fenilene) bis(metilene))bis(pirrolidina-1,2-diil))bis(difenilmetilene))bis(1H-1,2,3-triazol-1,4-diil))bis(propan-1-ol).

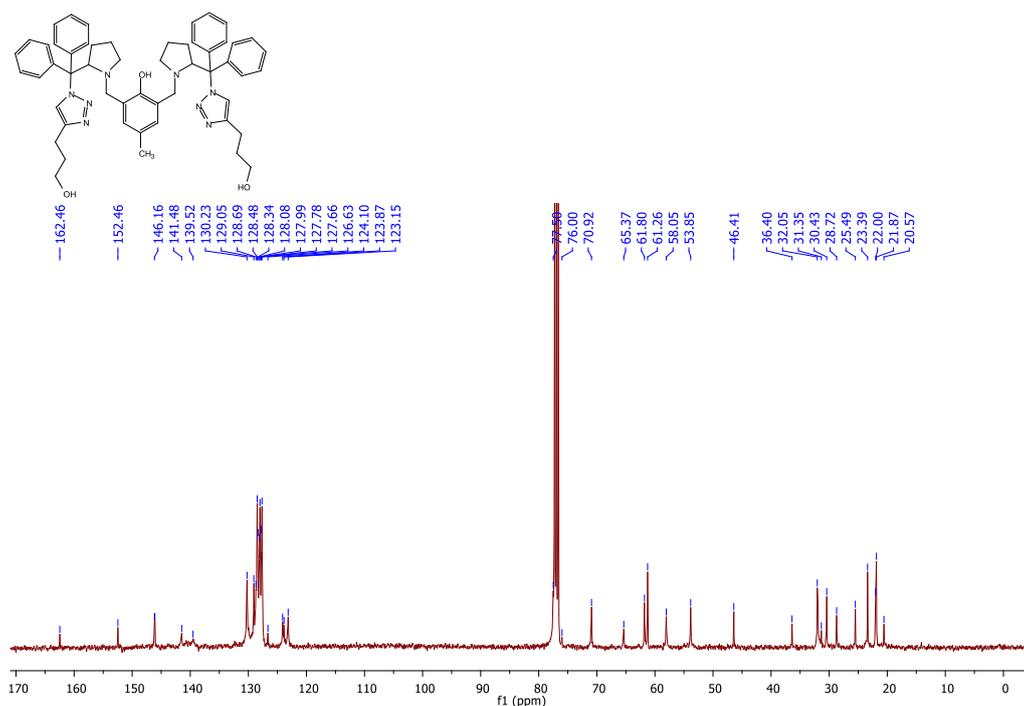


FIGURA 168: RMN ^{13}C 3,3'-((((2-hydroxy-5-metil-1,3-fenilene)bis(metilene))bis(pirrolidina-1,2-diil))bis(difenilmetilene))bis(1*H*-1,2,3-triazol-1,4-diil))bis(propan-1-ol).

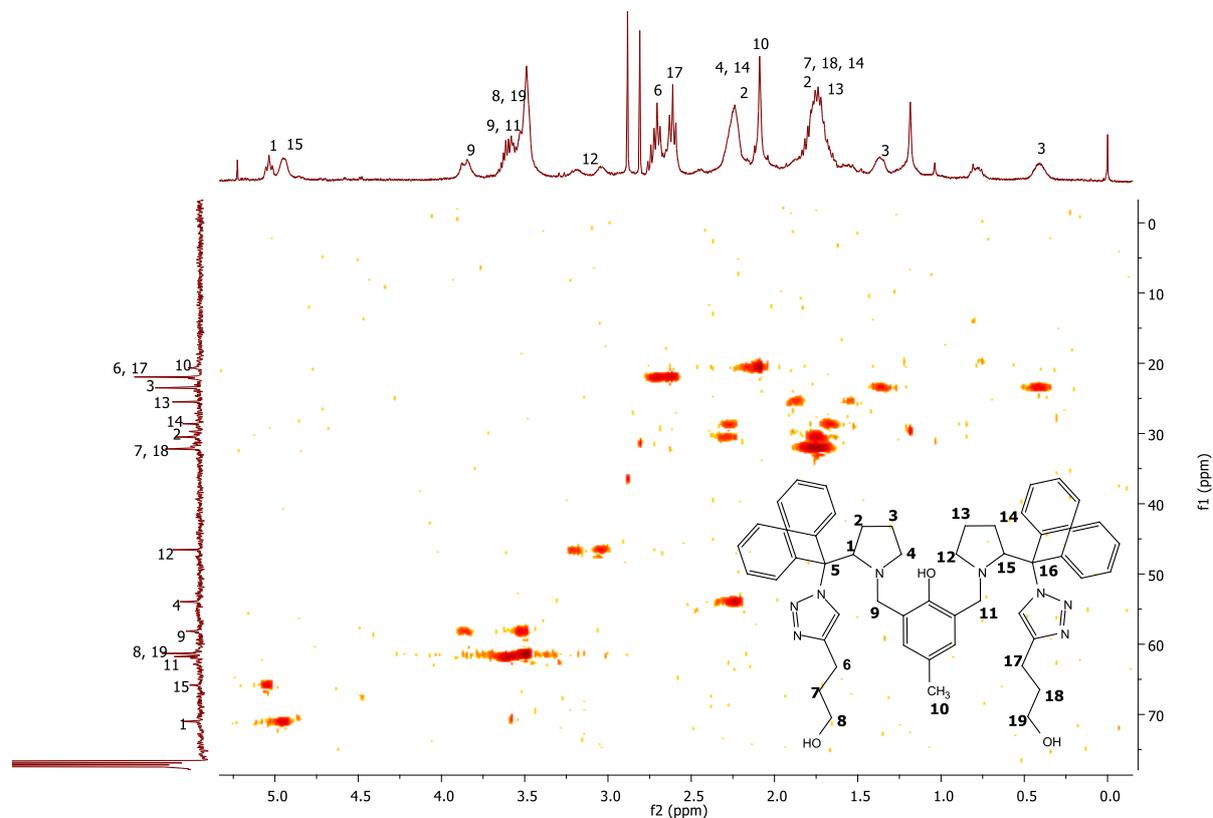


FIGURA 169: RMN HSQC espectro na região alifática 3,3'-((((2-hydroxy-5-metil-1,3-fenilene)bis(metilene))bis(pirrolidina-1,2-diil))bis(difenilmetilene))bis(1*H*-1,2,3-triazol-1,4-diil))bis(propan-1-ol).

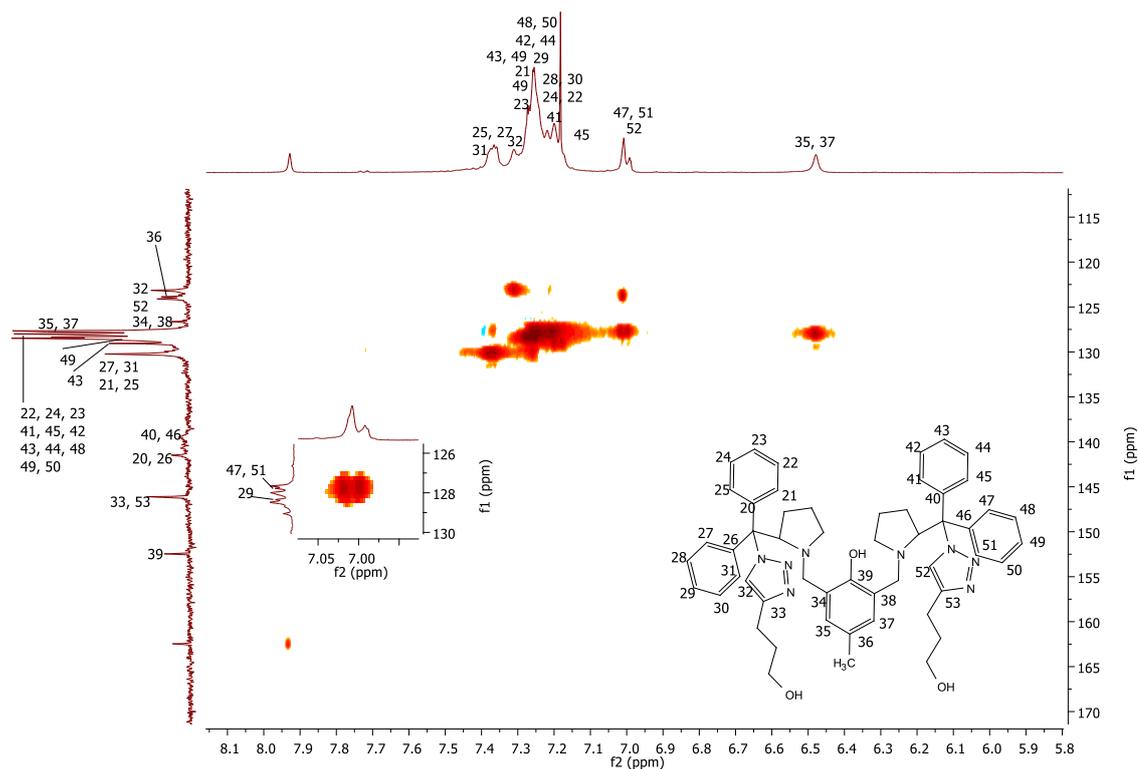


FIGURA 170: RMN HSQC espectro na região aromática 3,3'-((((2-hydroxy-5-metil-1,3-fenilene)bis(metilene))bis(pirrolidina-1,2-diil))bis(difenilmetilene))bis(1H-1,2,3-triazol-1,4-diil))bis(propan-1-ol).

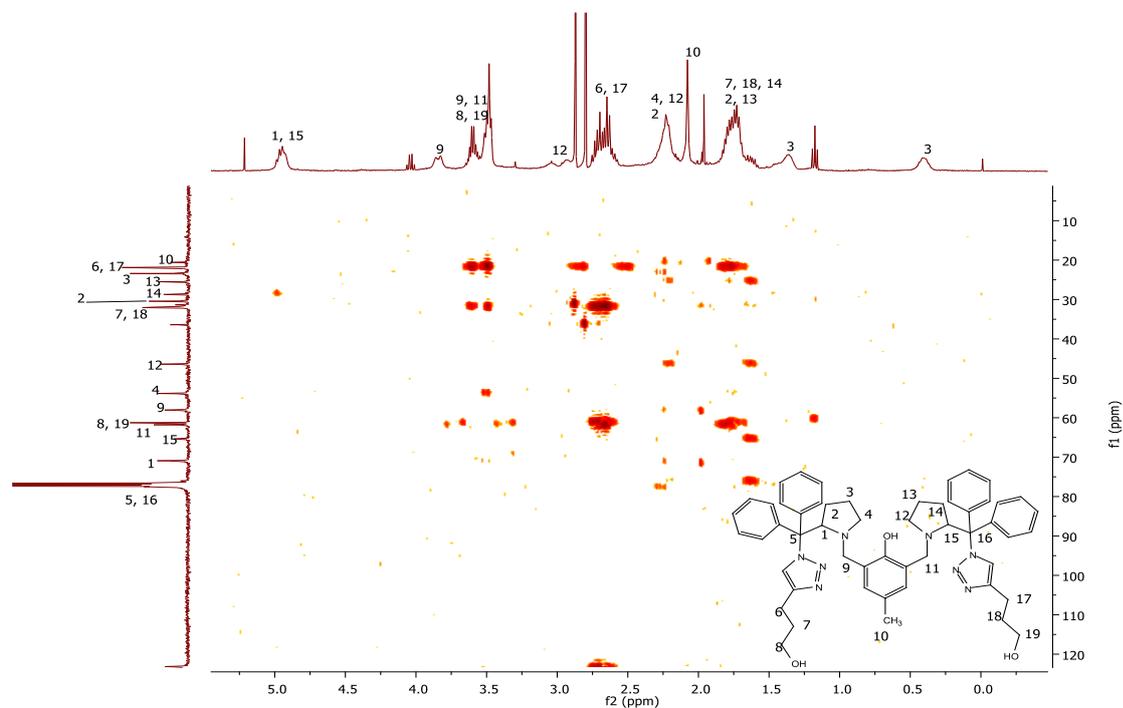


FIGURA 171: RMN HMBC espectro na região alifática 3,3'-((((2-hydroxy-5-metil-1,3-fenilene)bis(metilene))bis(pirrolidina-1,2-diil))bis(difenilmetilene))bis(1H-1,2,3-triazol-1,4-diil))bis(propan-1-ol).

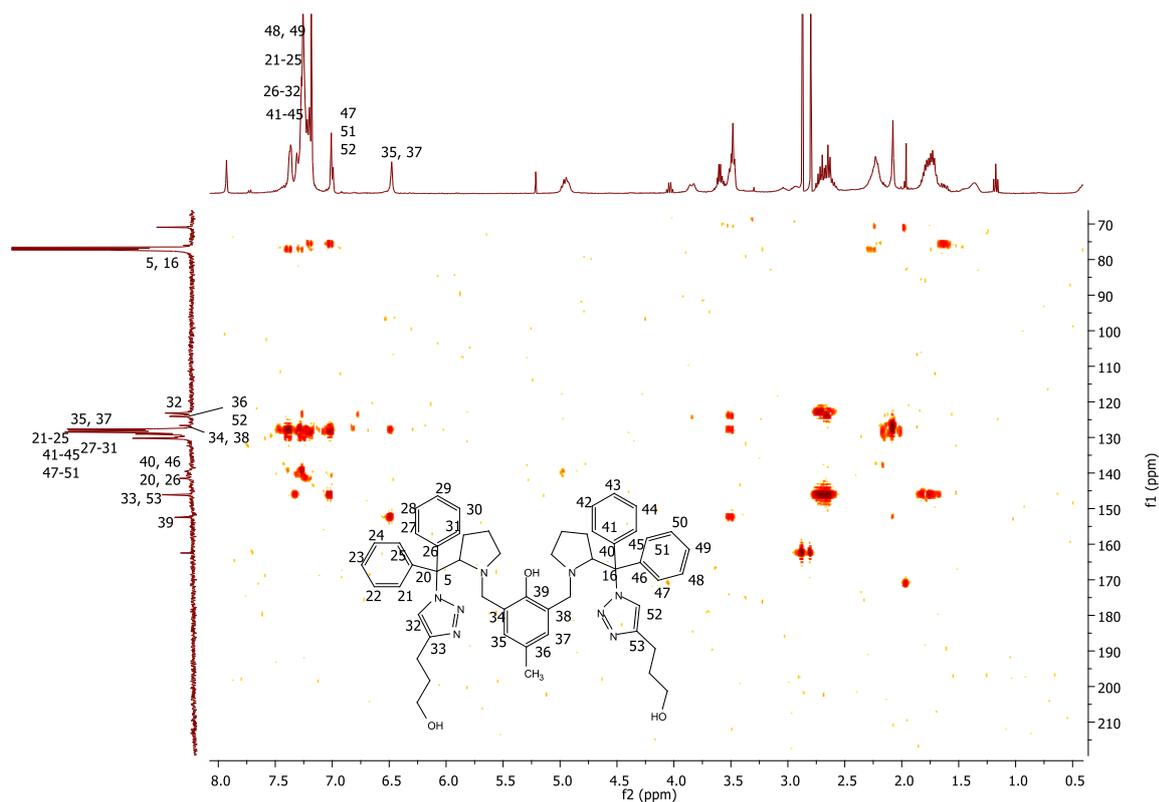


FIGURA 172: RMN HMBC espectro na região aromática 3,3'-((((2-hidroxi-5-metil-1,3-fenileno)bis(metileno))bis(pirrolidina-1,2-diil))bis(difenilmetilene))bis(1*H*-1,2,3-triazol-1,4-diil))bis(propan-1-ol).

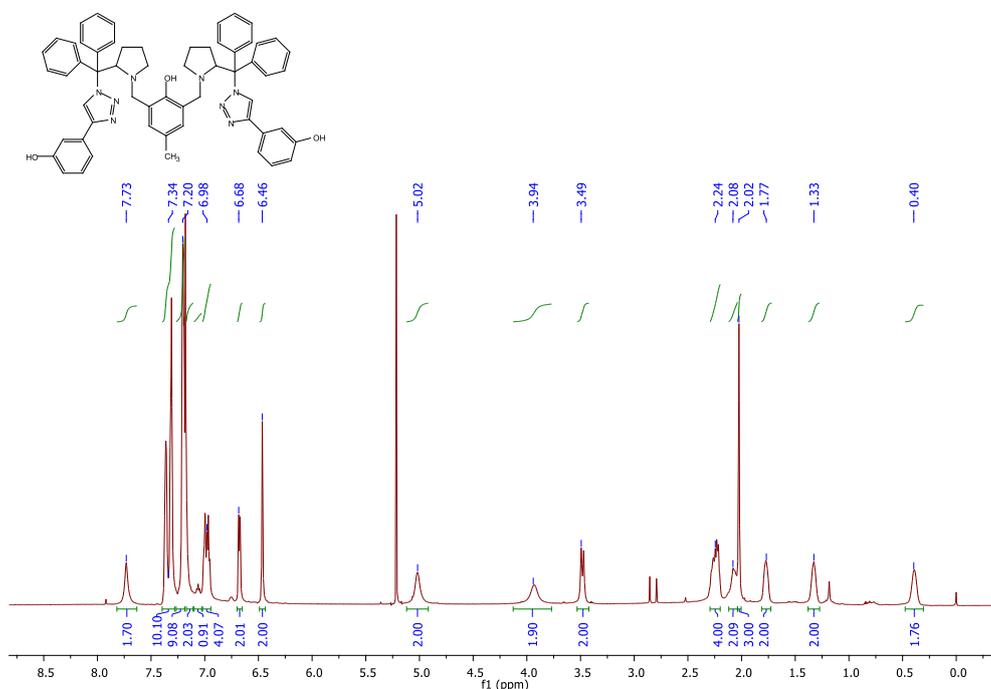


FIGURA 173: RMN¹H do 3,3'-((((2-hidroxi-5-metil-1,3-fenileno)bis(metileno))bis(pirrolidina-1,2-diil))bis(difenilmetilene))bis(1*H*-1,2,3-triazol-1,4-diil))difenol.

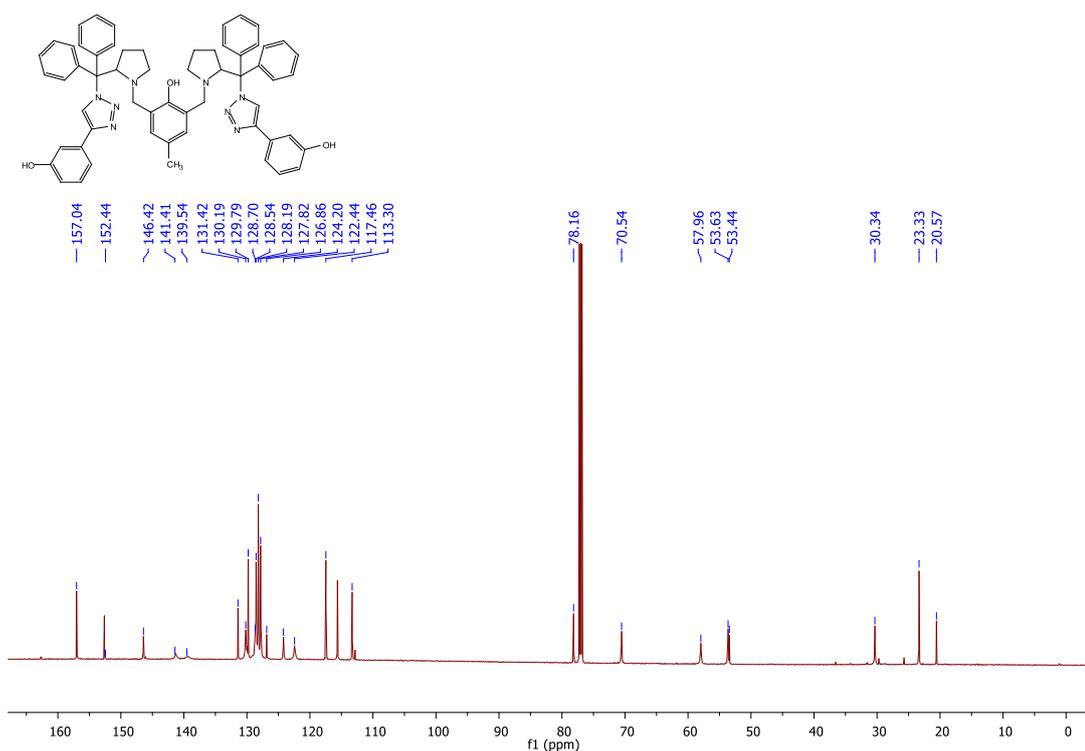


FIGURA 174: RMN ^{13}C 3,3'-((((2-hidroxi-5-metil-1,3-fenileno)bis(metileno))bis(pirrolidina-1,2-diil))bis(difenilmetileno))bis(1*H*-1,2,3-triazol-1,4-diil) difenol.

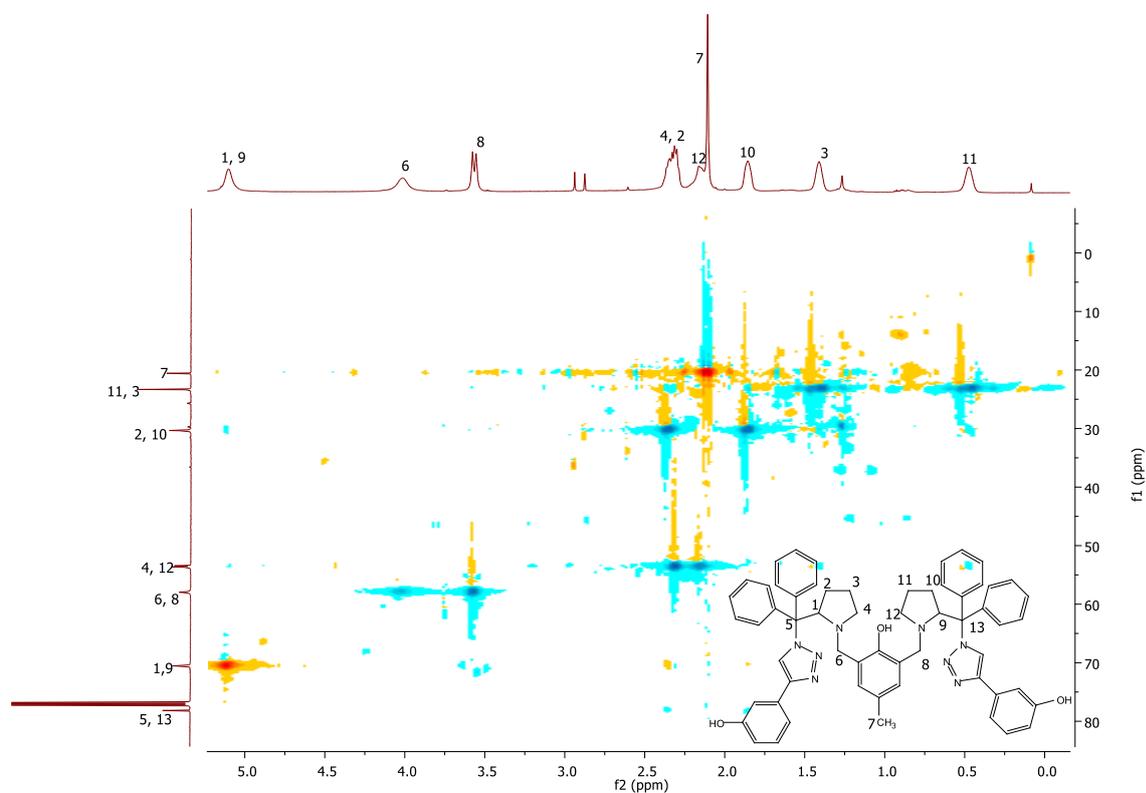


FIGURA 175: HSQC espectro na região alifática 3,3'-((((2-hidroxi-5-metil-1,3-fenileno)bis(metileno))bis(pirrolidina-1,2-diil))bis(difenilmetileno))bis(1*H*-1,2,3-triazol-1,4-diil) difenol.

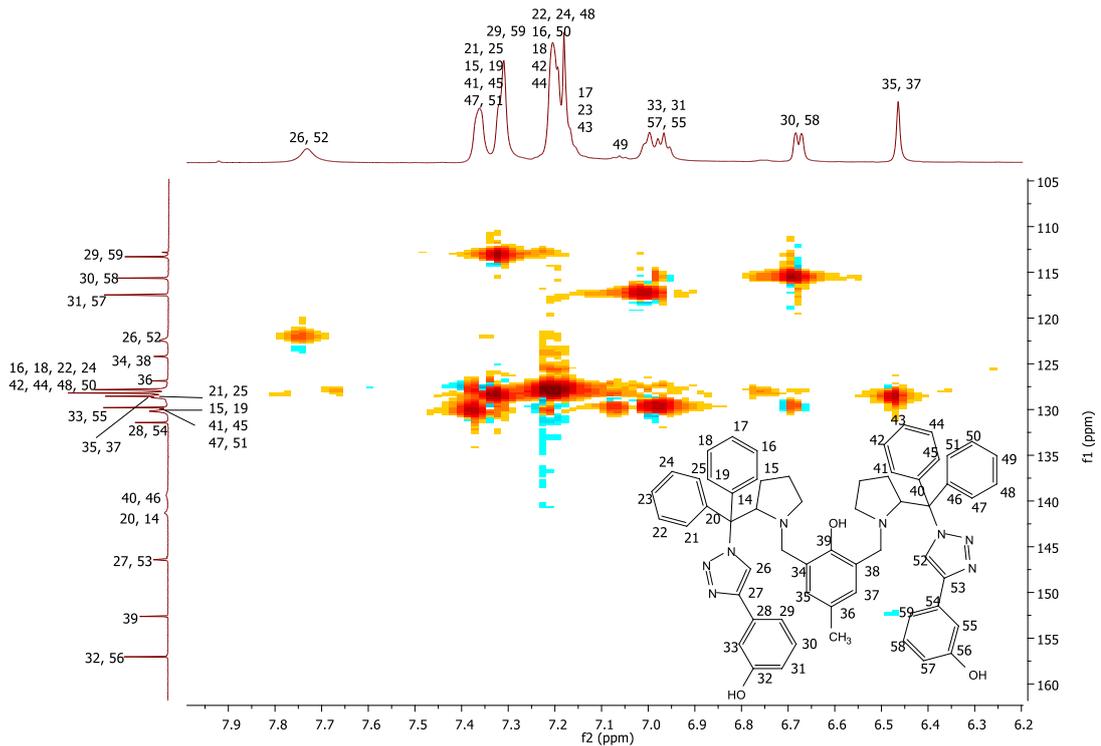


FIGURA 176: HSQC espectro na região aromática 3,3'-((((2-hidroxi-5-metil-1,3-fenileno)bis(metileno))bis(pirrolidina-1,2-diil))bis(difenilmetileno))bis(1*H*-1,2,3-triazol-1,4-diil)difenol.

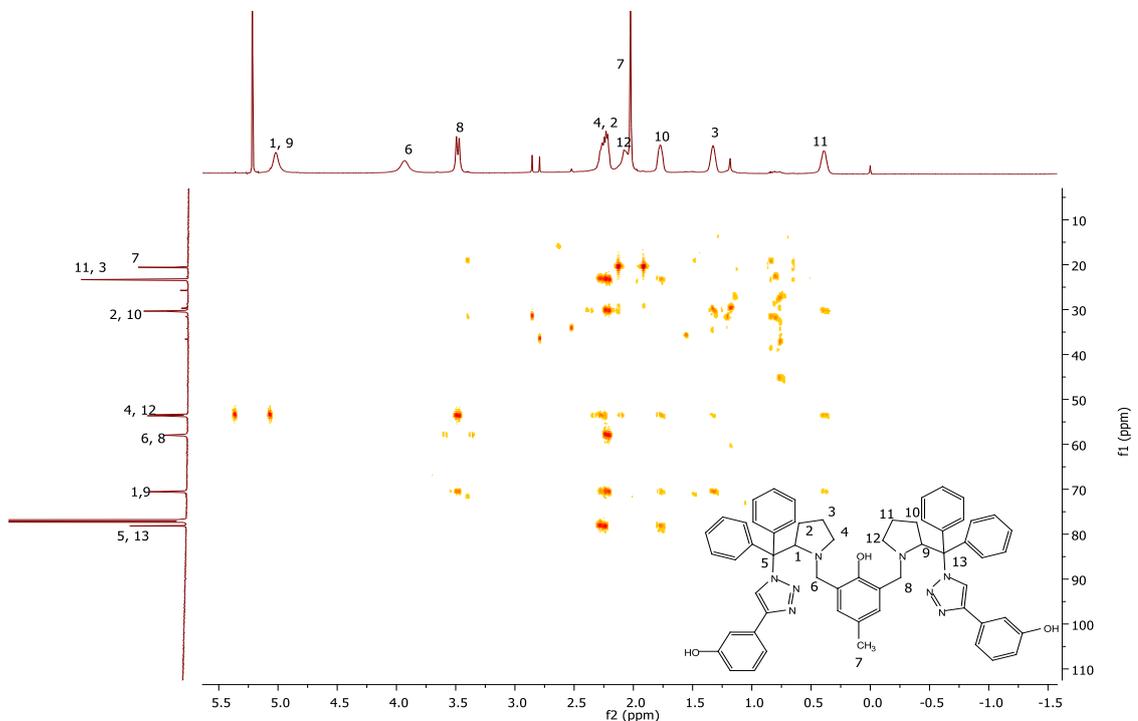


FIGURA 177: HMBC espectro na região alifática 3,3'-((((2-hidroxi-5-metil-1,3-fenileno)bis(metileno))bis(pirrolidina-1,2-diil))bis(difenilmetileno))bis(1*H*-1,2,3-triazol-1,4-diil)difenol.

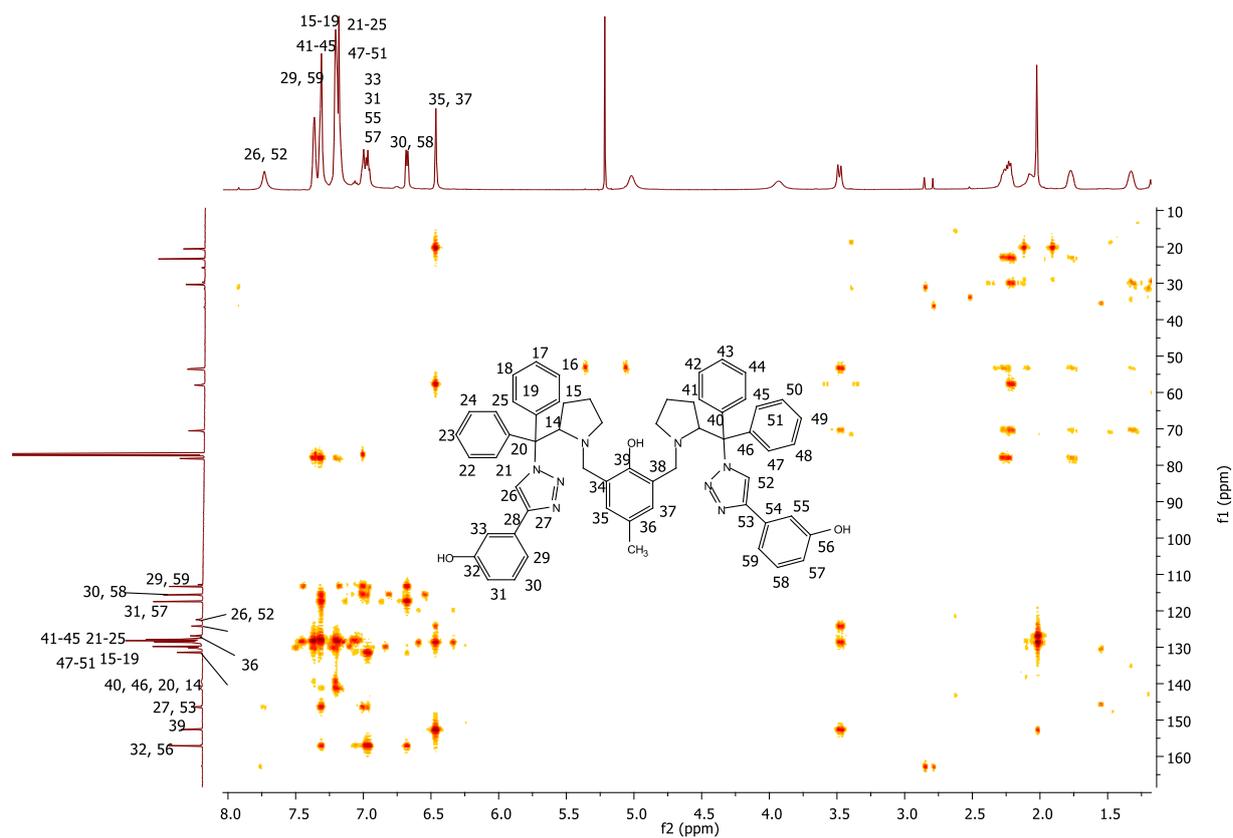


FIGURA 178: HMBC espectro na região aromática 3,3'-((((2-hidroxi-5-metil-1,3-fenileno)bis(metileno))bis(pirrolidina-1,2-diil))bis(difenilmetilene))bis(1*H*-1,2,3-triazol-1,4-diil)difenol.

8.1 Espectros de Massas dos compostos preparados

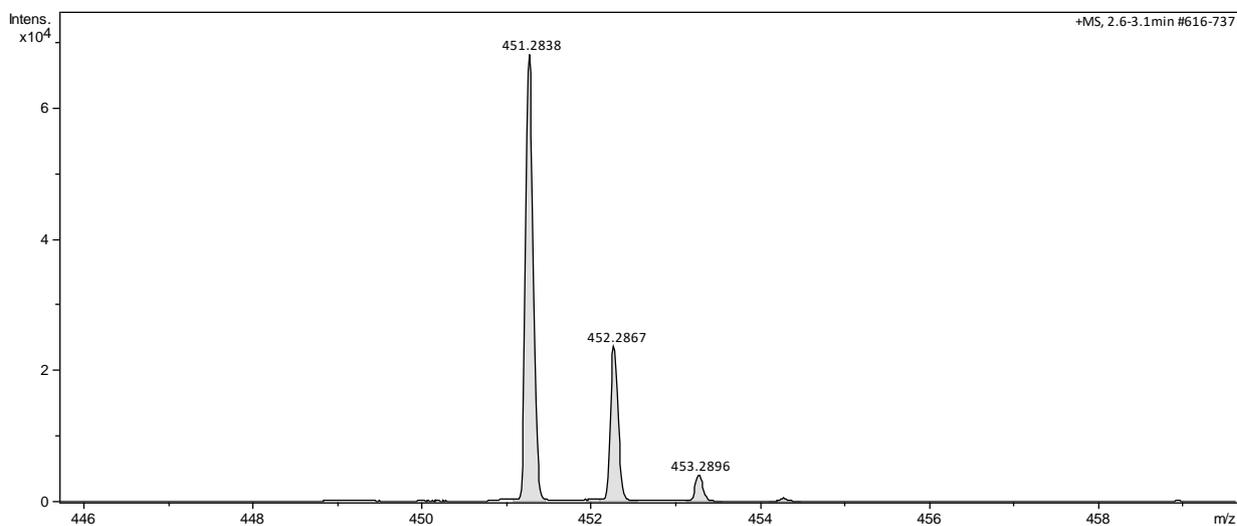


FIGURA 179: Espectro de massas do 1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-4-butil-1*H*-1,2,3-triazol.

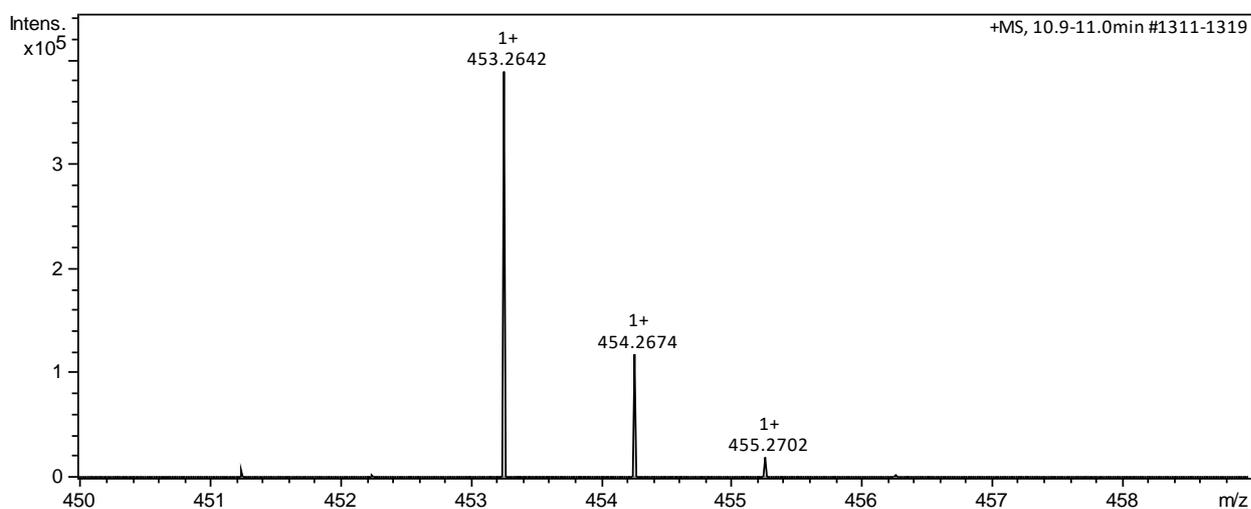


FIGURA 180: Espectro de massas do 3-(1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)propan-1-ol.

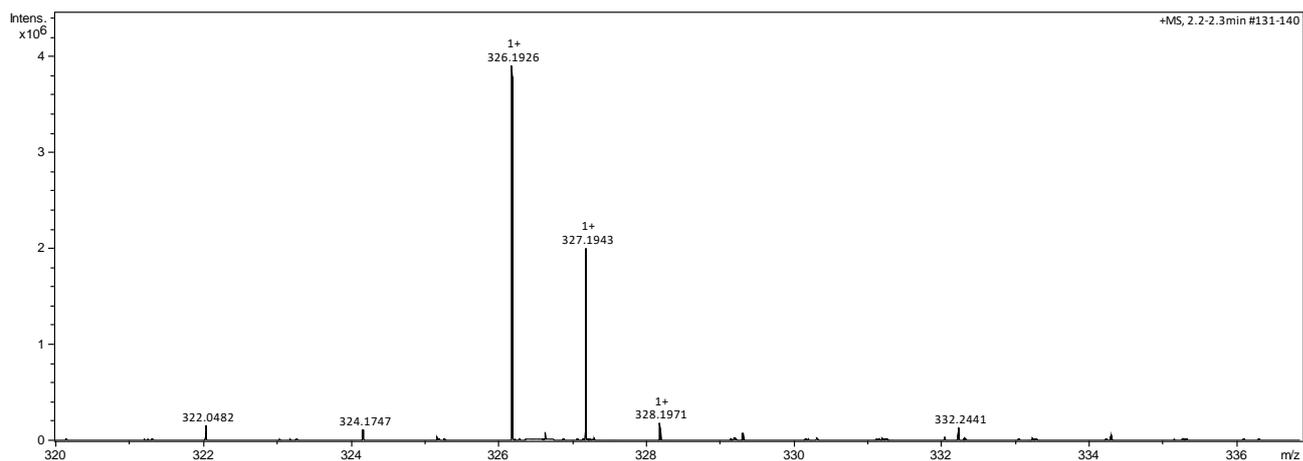


FIGURA 181: Espectro de massas do 3-(1-((1-benzilpirrolidina-2-il)difenilmetil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)fenol.

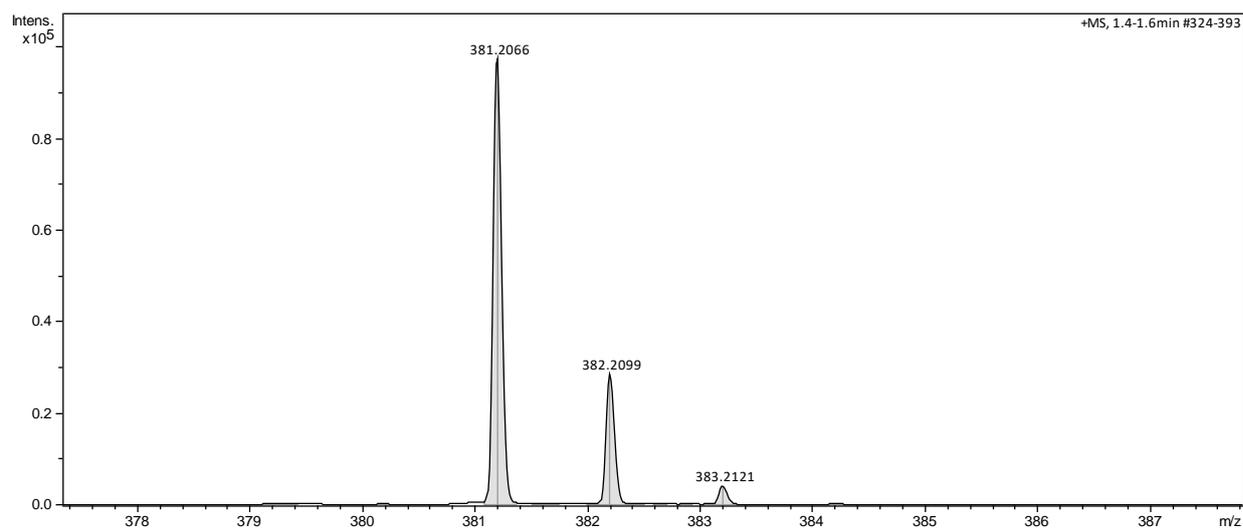


FIGURA 182: Espectro de massas 1-(difenil(pirrolidina-2-il)metil)-4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol.

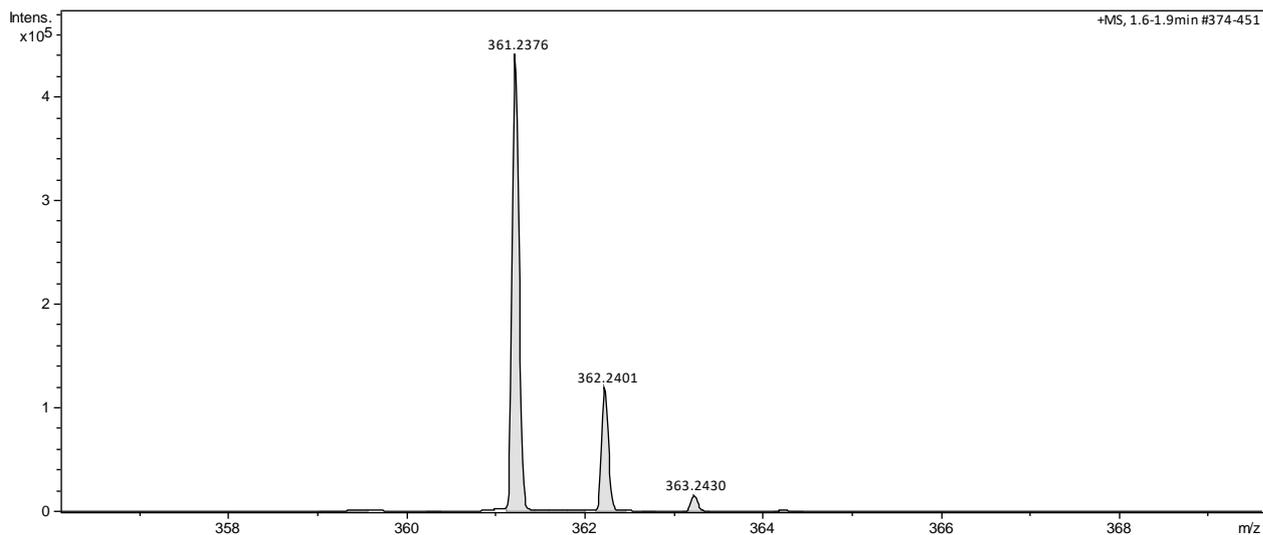


FIGURA 183: Espectro de massas 4-butyl-1-(difenil(pirrolidina-2-il)-1H-1,2,3-triazol.

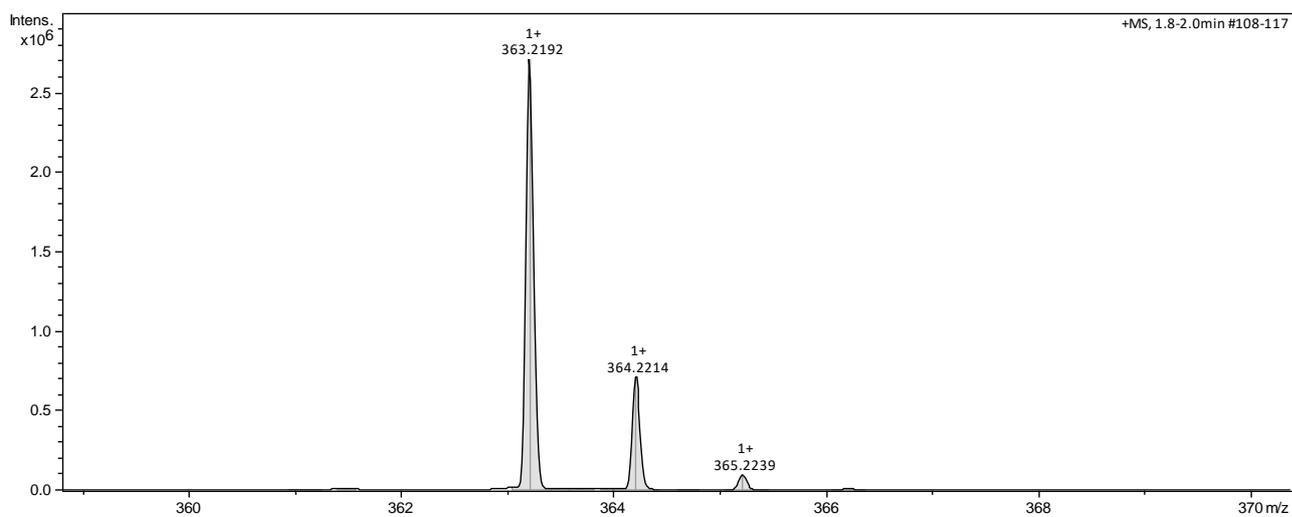


FIGURA 184: Espectro de massas 3-(1-(difenil (pirrolidin-2-il) metil)-1H-1,2,3-triazol-4-il) propanol.

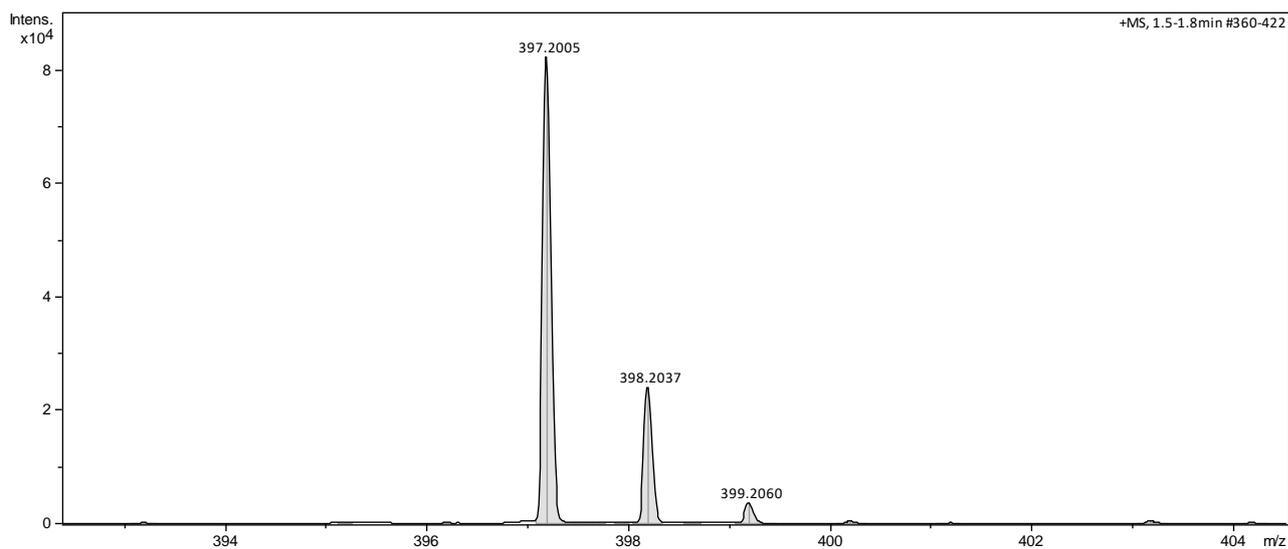


FIGURA 185: Espectro de massas 3-(1-(difenil(pirrolidin-2il)metil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)fenol.

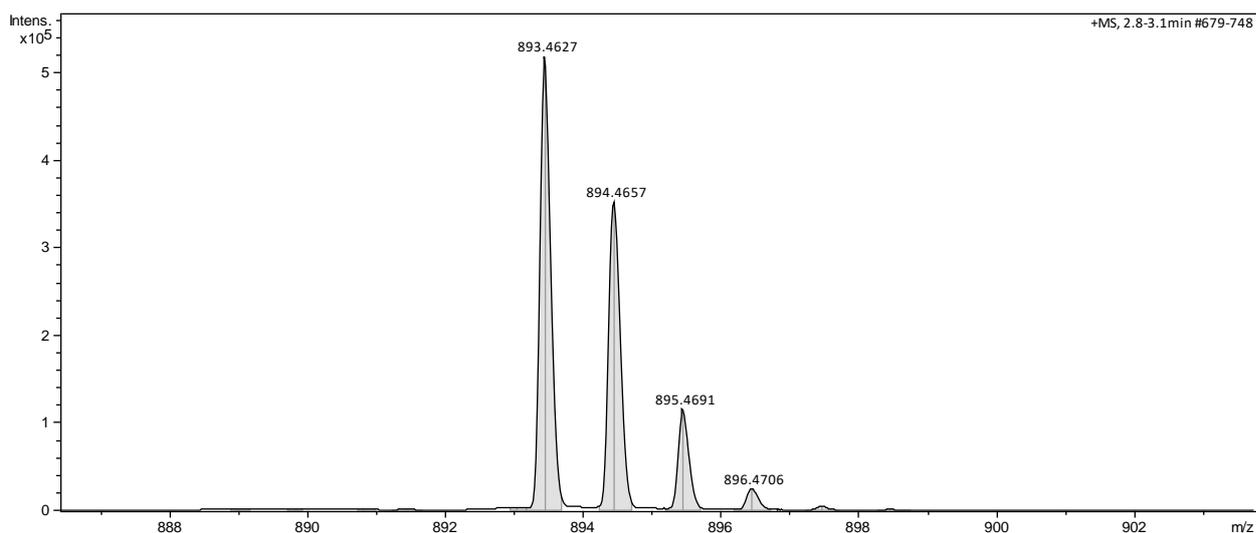


FIGURA 186: Espectro de massas 2,6-bis((2-(difenil(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1il)metil)pirrolidin-1-il)metil)-4-metilfenol.

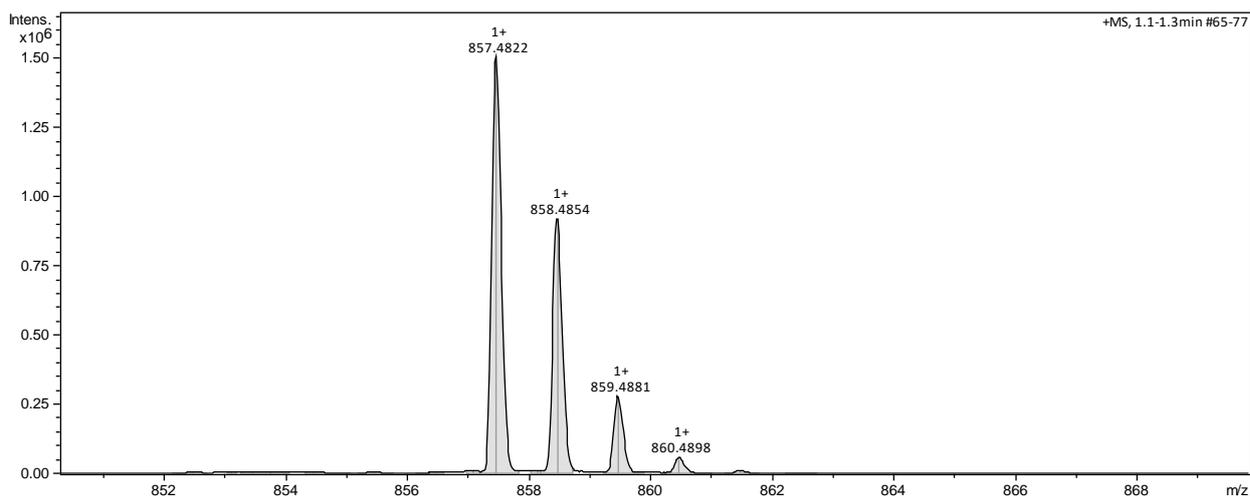


FIGURA 187: Espectro de massas 3,3'-((((2-hidroxi-5-metil-1,3-fenileno)bis(metileno))bis (pirrolidina-1,2-diil))bis(difenilmetileno))bis(1H-1,2,3-triazol-1,4-diil))bis(propan-1-ol).

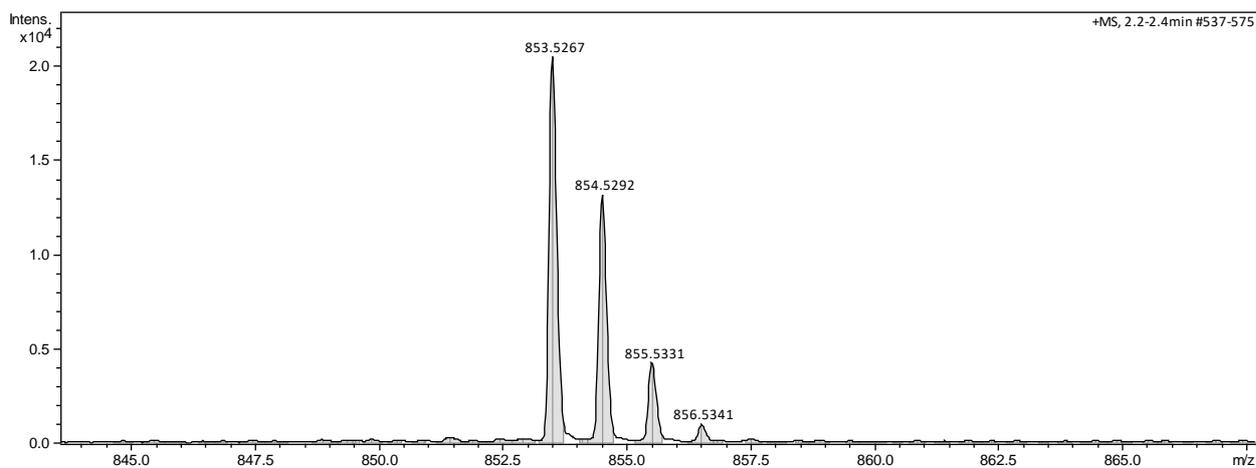


FIGURA 188: Espectro de massas 2,6-bis ((4-butil-1H-1,2,3-triazol-1-il)difenilmetil)pirrolidina-1-metil)-4-metilfenol.

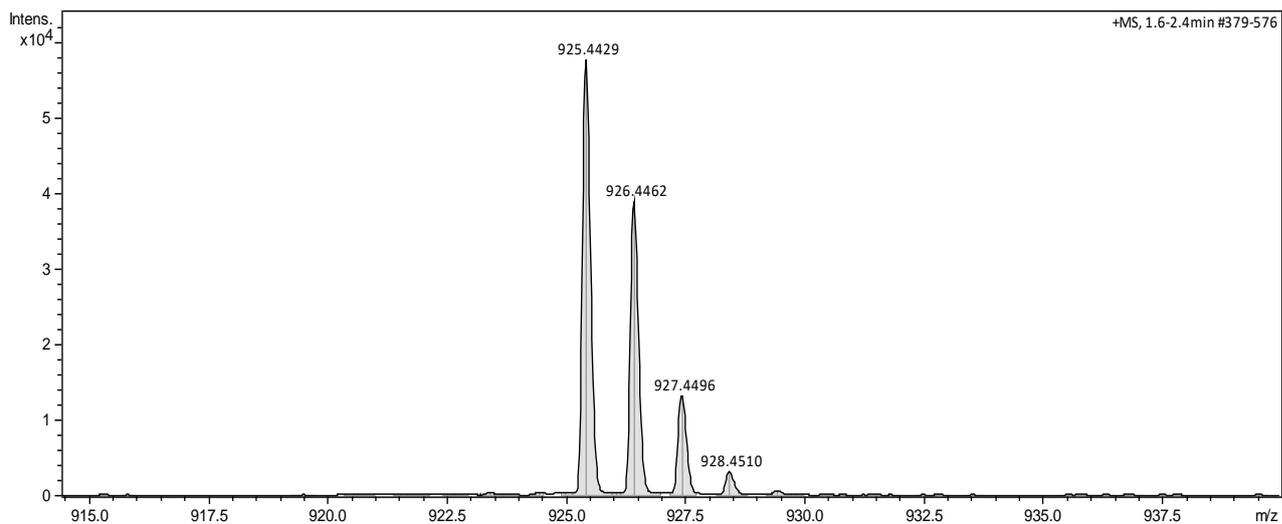


FIGURA 189: Padrão isotópico do 3,3'-((((2-hidroxi-5-metil-1,3-fenileno)bis(metileno))bis(pirrolidina-1,2-diil))bis(difenilmetileno))bis(1*H*-1,2,3-triazol-1,4-diil))difenol.

8.2 Dados cristalográficos do 1-((1-benzilpirrolidin-2-il)difenilmetil)-4-butil-1*H*-1,2,3-triazol

$C_{30}H_{34}N_4$, ortorrômbico, grupo espacial $P2_12_12_1$, $Z=4$, $a=8.4292(17)\text{\AA}$, $b=15.176(4)\text{\AA}$, $c=20.129(3)\text{\AA}$, $\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$, $V=2574.9(9)\text{\AA}^3$, tamanho do cristal: $0.19 \times 0.18 \times 0.14\text{mm}^3$, $R_1 = 0.0627$ ($wR_2 = 0.1023$), CCDC **1820691** contém em dados cristalográficos suplementares para esta tese. Todos os dados podem ser obtidos gratuitamente no Cambridge Crystallographic Data Centre.

Dados cristalográficos e refinamento para a estrutura 1-((1-benzilpirrolidin-2-il)difenilmetil)-4-butil-1*H*-1,2,3-triazol.

Composto	1-((1-benzilpirrolidin-2-il)difenilmetil)-4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol.
Fórmula empírica	C ₃₀ H ₃₄ N ₄
Massa molar (g.mol ⁻¹)	450.61
Temperatura/K	298.15
Sistema cristalino	ortorrômbico
Grupo espacial	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
a/Å	8.4292(17)
b/Å	15.176(4)
c/Å	20.129(3)
α/°	90
β/°	90
γ/°	90
Volume/Å ³	2574.9(9)
Z	4
ρ _{calc} /cm ³	1.162
μ/mm ⁻¹	0.069
F(000)	968.0
Tamanho do cristal/mm ³	0.19 × 0.18 × 0.14

Radiação	MoK α ($\lambda = 0.71073$)
2 θ intervalo para coleta de dados / $^\circ$	5.24 - 51.982
Faixas de índices h,k,l	$-6 \leq h \leq 10, -18 \leq k \leq 18, -24 \leq l \leq 21$
Reflexões coletadas	15164
Reflexões independentes	5049 [$R_{\text{int}} = 0.0888, R_{\text{sigma}} = 0.1142$]
Dados / Restrições / Parâmetros	5049/0/337
Goodness-of-fit on F^2	1.016
Índices R finais [$I \geq 2\sigma(I)$]	$R_1 = 0.0627, wR_2 = 0.1023$
Índices R finais [todos os dados]	$R_1 = 0.1667, wR_2 = 0.1420$
Maior diff. pico / buraco / e Å^{-3}	0.15/-0.14
Parâmetro Flack	-0.3(10)

TABELA 6: Dados cristalográficos e refinamento para a estrutura 1-((1-benzilpirrolidin-2-il)difenilmetil)-4-butil-1*H*-1,2,3-triazol.

Resumo das ligações e os comprimentos selecionados para 1-((1-benzilpirrolidin-2-il)difenilmetil)-4-butil-1*H*-1,2,3-triazol.

Átomo	Átomo	Comprimento/Å	Átomo	Átomo	Comprimento/Å
N(1)	N(2)	1.344(5)	C(21)	C(20)	1.371(8)
N(1)	C(6)	1.489(5)	C(20)	C(19)	1.369(9)
N(1)	C(28)	1.347(6)	C(19)	C(18)	1.359(10)

N(2)	N(3)	1.315(6)	C(18)	C(17)	1.389(8)
N(3)	C(29)	1.342(7)	C(11)	C(6F)	1.391(6)
N(4)	C(1)	1.470(6)	C(11)	C(12)	1.372(6)
N(4)	C(4)	1.462(7)	C(6F)	C(15)	1.364(6)
N(4)	C(5)	1.456(6)	C(15)	C(14)	1.375(8)
C(6)	C(1)	1.574(7)	C(14)	C(13)	1.358(8)
C(6)	C(11)	1.538(6)	C(13)	C(12)	1.384(7)
C(6)	C(22)	1.530(7)	C(22)	C(27)	1.369(7)
C(28)	C(29)	1.347(7)	C(22)	C(23)	1.400(6)
C(29)	C(7)	1.489(8)	C(27)	C(26)	1.392(7)
C(7)	C(8A)	1.58(3)	C(26)	C(25)	1.358(7)
C(7)	C(8B)	1.57(4)	C(25)	C(24)	1.368(8)
C(1)	C(2)	1.546(6)	C(24)	C(23)	1.378(7)
C(2)	C(3)	1.511(7)	C(10A)	C(9B)	1.67(5)
C(3)	C(4)	1.460(7)	C(8A)	C(9B)	1.55(4)
C(5)	C(16)	1.508(7)	C(8B)	C(9A)	1.41(4)
C(16)	C(21)	1.376(8)	C(9A)	C(10B)	1.45(6)
C(16)	C(17)	1.377(8)			

TABELA 7: Resumo das ligações e os comprimentos selecionados para 1-((1-benzilpirrolidin-2-il)difenilmetil)-4-butil-1*H*-1,2,3-triazol.

Resumo dos ângulos das ligações selecionados para 1-((1-benzilpirrolidin-2-il)difenilmetil)-4-butil-1*H*-1,2,3-triazol.

Átomo	Átomo	Átomo	Ângulo/°	Átomo	Átomo	Átomo	Ângulo/°
N(2)	N(1)	C(6)	121.7(4)	C(21)	C(16)	C(17)	117.9(6)
N(2)	N(1)	C(28)	109.4(4)	C(17)	C(16)	C(5)	120.5(6)
C(28)	N(1)	C(6)	128.8(5)	C(20)	C(21)	C(16)	121.9(7)
N(3)	N(2)	N(1)	106.8(5)	C(19)	C(20)	C(21)	119.1(7)
N(2)	N(3)	C(29)	109.8(5)	C(18)	C(19)	C(20)	120.7(7)
C(4)	N(4)	C(1)	107.2(4)	C(19)	C(18)	C(17)	119.7(7)
C(5)	N(4)	C(1)	116.6(4)	C(16)	C(17)	C(18)	120.7(7)
C(5)	N(4)	C(4)	110.2(5)	C(6F)	C(11)	C(6)	118.8(5)
N(1)	C(6)	C(1)	107.2(4)	C(12)	C(11)	C(6)	124.0(5)
N(1)	C(6)	C(11)	105.1(3)	C(12)	C(11)	C(6F)	117.2(5)

N(1)	C(6)	C(22)	108.5(4)	C(15)	C(6F)	C(11)	121.2(5)
C(11)	C(6)	C(1)	110.8(4)	C(6F)	C(15)	C(14)	120.8(6)
C(22)	C(6)	C(1)	111.1(4)	C(13)	C(14)	C(15)	118.9(6)
C(22)	C(6)	C(11)	113.7(4)	C(14)	C(13)	C(12)	120.5(6)
C(29)	C(28)	N(1)	106.4(5)	C(11)	C(12)	C(13)	121.4(5)
N(3)	C(29)	C(28)	107.7(5)	C(27)	C(22)	C(6)	122.3(5)
N(3)	C(29)	C(7)	121.8(6)	C(27)	C(22)	C(23)	117.8(5)
C(28)	C(29)	C(7)	130.5(6)	C(23)	C(22)	C(6)	119.9(5)
C(29)	C(7)	C(8A)	111.7(11)	C(22)	C(27)	C(26)	120.6(5)
C(29)	C(7)	C(8B)	114.9(10)	C(25)	C(26)	C(27)	121.0(6)
N(4)	C(1)	C(6)	112.2(4)	C(26)	C(25)	C(24)	119.2(6)
N(4)	C(1)	C(2)	104.3(4)	C(25)	C(24)	C(23)	120.5(6)
C(2)	C(1)	C(6)	114.1(4)	C(24)	C(23)	C(22)	120.8(5)
C(3)	C(2)	C(1)	106.1(4)	C(9B)	C(8A)	C(7)	106.9(19)
C(4)	C(3)	C(2)	103.3(5)	C(8A)	C(9B)	C(10A)	100(2)

C(3)	C(4)	N(4)	105.8(5)	C(9A)	C(8B)	C(7)	119(4)
N(4)	C(5)	C(16)	111.8(4)	C(8B)	C(9A)	C(10B)	115(5)
C(21)	C(16)	C(5)	121.6(6)				

TABELA 8: Resumo dos ângulos das ligações selecionados para 1-((1-benzilpirrolidin-2-il)difenilmetil)-4-butil-1*H*-1,2,3-triazol.

9 Referências

1. Christianson DW, Scrutton NS. Editorial overview: Catalysis and regulation: enzyme structure, mechanism, and biosynthetic pathways. *Curr Opin Struct Biol.* 2016;41.
2. Edition I, Varfolomeev SD, Gurevich KG, Gory L. Enzyme active sites : bioinformatics , architecture , and mechanisms of action. 2001;50(10):1709-1717.
3. Sumner JB. THE ISOLATION AND CRYSTALLIZATION OF THE ENZYME UREASE. PRELIMINARY PAPER. *J Biol Chem.* 1926;69:435-441.
4. Lippard SJ. At Last-the Crystal Structure of Urease. *Science (80-).* 1995;268(May):996-997.
5. Mazzei L, Cianci M, Musiani F, Ciurli S. Inactivation of urease by 1,4-benzoquinone: chemistry at the protein surface. *Dalt Trans.* 2016;45(13):5455-5459.
6. Benini S, Rypniewski WR, Wilson KS, Miletto S, Ciurli S, Mangani S. A new proposal for urease mechanism based on the crystal structures of the native and inhibited enzyme from *Bacillus pasteurii*: Why urea hydrolysis costs two nickels. *Structure.* 1999;7(2):205-216.
7. Qin Y, Cabral JMS. Kinetic studies of the urease-catalyzed hydrolysis of urea in a buffer-free system. *Appl Biochem Biotechnol.* 1994;49(3):217-240.
8. Gerlt JA, Raushel FM. Evolution of function in (b/a)8-barrel enzymes. *Curr Opin Chem Biol.* 2003;7:252-264.

9. Holm L, Sander C. An Evolutionary Treasure : Unification of a Broad Set of Amidohydrolases Related to Urease. 1997;82(November 1996):72-82.
10. Ghodse S V, Raushel FM. *Structure , Mechanism , and Substrate Profiles of the Trinuclear Metallophosphatases from the Amidohydrolase Superfamily*. Vol 607. 1st ed. Elsevier Inc.; 2018.
11. Alonso-sáez L, Waller AS, Mende DR, Bakker K, Farnelid H, Yager PL. Role for urea in nitrification by polar marine Archaea. *Proc Natl Acad Sci*. 2012;(28):17989-17994.
12. Mobley HLT, Chippendale GR. Hemagglutinin, urease, and hemolysin production by *Proteus mirabilis* from clinical sources. *J Infect Dis*. 1990;161(3):525-530.
13. Weber M, Jones MJ, Ulrich J. Optimisation of isolation and purification of the jack bean enzyme urease by extraction and subsequent crystallization. *Food Bioprod Process*. 2008;86(1):43-52.
14. Ouzounis CA, Kunin V, Darzentas N, Goldovsky L. A minimal estimate for the gene content of the last universal common ancestor — exobiology from a terrestrial perspective. *Res Microbiol*. 2006;157:57-68.
15. Diaconescu VM, Joseph CA, Boer JL, Mulrooney SB, Hausinger RP, Maroney MJ. Non - thiolate ligation of nickel by nucleotide - free UreG of *Klebsiella aerogenes*. *J Biol Inorg Chem*. 2016;22(4):497-503.
16. Zamble D. THE BIOLOGICAL CHEMISTRY OF NICKEL. 2017:1-11.
17. Konieczna I, Kwinkowski M, Kolesi B, Kami Z, Kaca W. Bacterial Urease and its Role in Long-Lasting Human Diseases. *Curr Protein Pept Sci*.

2012;(13):789-806.

18. Timmins G, Davies L, Harkins M, Sharp ZD, Kelly HW. A Proof of Concept Study to Detect Urease Producing Bacteria in Lungs Using Aerosolized ¹³C-Urea. *Pediatr Allergy Immunol Pulmonol*. 2016;29(2):68-73.
19. Turner DA, Edis RB, Chen D, Freney JR, Denmead OT, Christie R. Determination and mitigation of ammonia loss from urea applied to winter wheat with N- (n-butyl) thiophosphorictriamide. *Agriculture, Ecosyst Environ*. 2010;137(3-4):261-266.
20. Engel R, Jones C, Wallander R, Box PO. Ammonia Volatilization from Urea and Mitigation by NBPT following Surface Application to Cold Soils. 2011;75(6):2348-2358.
21. Zaman M, Cameron KC, Di HJ, Inubushi K. Changes in mineral N , microbial biomass and enzyme activities in different soil depths after surface applications of dairy shed effluent and chemical fertilizer. 2002:275-290.
22. Jones BD, Mobley HLT. Proteus mirabilis Urease : Nucleotide Sequence Determination and Comparison with Jack Bean Urease. 1989;171(12):6414-6422.
23. Johnson DE, Russell RG, Lockett CV, Zulty JC, Warren JW, Mobley HLT. Contribution of Proteus mirabilis Urease to Persistence , Urolithiasis , and Acute Pyelonephritis in a Mouse Model of Ascending Urinary Tract Infection. 1993;61(7):2748-2754.
24. Lee JM, Breslin NP, Fallon C. Rapid Urease Tests Lack Sensitivity in

- Helicobacter pylori* Diagnosis When Peptic Ulcer Disease Presents With Bleeding. 2000;95(5).
25. Mclean RJC, Nickel JC. 37 the ecology and pathogenicity of urease-producing bacteria in the urinary tract. 1988;16(1):37-79.
 26. Hwang JJ, Lee DH, Lee A, et al. Characteristics of gastric cancer in peptic ulcer patients with *Helicobacter pylori* infection. *World J Gastroenterol*. 2015;21(16):4954-4960.
 27. Science S, Article O. Use of urease inhibitors to reduce ammonia volatilization in Amazonian soils. *Pesqui Agropecuária Bras*. 2019;54.
 28. B. AM· MO· G. Prevention of Ascending Pyelonephritis in Mice by Urease Inhibitors1. *Nephron*. 1974;104(1147):94-104.
 29. Kappaun K, Piovesan AR, Carlini CR. UREASES: HISTORICAL ASPECTS, CATALYTIC AND NON-CATALYTIC PROPERTIES - A REVIEW. *J Adv Res*. 2018;13:3-17.
 30. Banaszak K, Martin-Diaconescu V, Bellucci M, et al. Crystallographic and X-ray absorption spectroscopic characterization of *Helicobacter pylori* UreE bound to Ni²⁺ and Zn²⁺ reveals a role for the disordered C-terminal arm in metal trafficking . *Biochem J*. 2012;441(3):1017-1035.
 31. Dixon NE, Riddles PW, Gazzola C, Blakeley RL, Zerner B. Erratums: Jack bean urease (EC 3.5.1.5). V. On the mechanism of action of urease on urea, formamide, acetamide, N -methylurea, and related compounds . *Can J Biochem*. 2009;59(7):564-564.
 32. Carter EL, Flugga N, Boer JL, Mulrooney SB, Hausinger RP. Interplay of

- metal ions and urease. *Metallomics*. 2009;1(3):207-221.
33. Pearson MA, Hausinger RP. 70 Years of Crystalline Urease : What Have We Learned ? *Acc Chem Res*. 1997;30(8):330-337.
 34. Pearson MA, Park I, Schaller RA, Michel LO, Karplus PA, Hausinger RP. Kinetic and Structural Characterization of Urease Active Site Variants. *Biochemistry*. 2000;39:8575-8584.
 35. Estiu G, Merz KM. The hydrolysis of urea and the proficiency of urease. *J Am Chem Soc*. 2004;126(22):6932-6944.
 36. Porter TN, Li Y, Raushel FM. Mechanism of the Dihydroorotase Reaction. *Biochemistry*. 2004;43:16285-16292.
 37. Thoden JB, Phillips GN, Neal TM, Raushel FM, Holden HM. Accelerated Publications Molecular Structure of Dihydroorotase : A Paradigm for Catalysis through the Use of a Binuclear Metal Center. *Biochemistry*. 2001;40(24):6989-6997.
 38. Mazzei AL, Cianci M, Benini S. The structure of the elusive urease-urea complex unveils a paradigmatic case of metallo-enzyme catalysis. *Angew Chemie*. 2019;58(22):7415-7419.
 39. Carter EL, Tronrud DE, Taber SR, Karplus PA, Hausinger RP. Iron-containing urease in a pathogenic bacterium. *Proc Natl Acad Sci*. 2011;108(32):13095-13099.
 40. Yamaguchi K, Cospers NJ, Stålhandske C, et al. Characterization of metal-substituted *Klebsiella aerogenes* urease. *J Biol Inorg Chem*. 1999;4(4):468-477.

41. Huang DTC, Thomas MAW, Christopherson RI. Divalent Metal Derivatives of the Hamster Dihydroorotase Domain. *Biochemistry*. 2006;38:9964-9970.
42. Volkmer D, Hommerich B, Griesar K, et al. Dinuclear Nickel (II) Complexes as Models for the Active Site of Urease. *Dinuclear Nickel(II) Complexes as Model Act Site Urease*. 1996;1669(II):3792-3803.
43. Colasson B, Bistri O, Over D, Reinaud O. Biomimetic cavity-based metal complexes. *Chem Soc Rev*. 2015;(44):467-489.
44. Stoddart JF. *From Enzyme Mimics to Molecular Self-Assembly Processes*. ACADEMIC PRESS LIMITED; 1990.
45. Halcrow MA, Christou G. *Biomimetic Chemistry of Nickel*. Vol 94.; 1994.
46. TAKISHIMA K, SUGA T, MAMIYA G. The structure of jack bean urease: The complete amino acid sequence, limited proteolysis and reactive cysteine residues. *Eur J Biochem*. 1988;175(1):151-157.
47. Lee WZ, Tseng HS, Ku MY, Kuo TS. Dinickel complexes of disubstituted benzoate polydentate ligands: Mimics for the active site of urease. *Dalt Trans*. 2008;2(19):2538-2541.
48. Shook RL, Borovik AS. Role of the Secondary Coordination Sphere in Metal-Mediated Dioxygen Activation. *Inorg Chem*. 2010;49(8):3646-3660.
49. Konrad M, Meyer F, Jacobi A, Kircher P, Rutsch P, Heidelberg D-. Coordination and Conversion of Urea at Dinuclear μ -Acetato Nickel (II) Complexes with Symmetric and Asymmetric Cores. *Inorg Chem*.

- 1999;(Ii):4559-4566.
50. Buchler S, Meyer F, Kaifer E, Pritzkow H. Tunable TACN / pyrazolate hybrid ligands as dinucleating scaffolds for metallobiosite modeling dinickel (II) complexes relevant to the urease active site. *Inorganica Chim Acta*. 2002;337:371_ - 386.
 51. Barrios AM, Lippard SJ. Amide hydrolysis effected by a hydroxo-bridged dinickel(II) complex. *J Am Chem Soc*. 1999;121(Ii):11751-11757.
 52. Uprety B, Arderne C, Bernal I. Catalytic Cleavage of the Amide Bond in Urea Using a Cobalt(III) Amino-Based Complex. *Eur J Inorg Chem*. 2018;2018(47):5058-5067.
 53. Gruenwaldt C, Marques C, Martins CO, et al. Outer Sphere Urea Hydrolysis by Bis-Nickel Complexes : Questioning the Urea Activation by the Urease Enzyme. 2019;(2).
 54. Sparr C, Tanzer EM, Bachmann J, Gilmour R. A concise synthesis of (S)-2-(fluorodiphenylmethyl)pyrrolidine: A novel organocatalyst for the stereoselective epoxidation of α,β -unsaturated aldehydes. *Synthesis (Stuttg)*. 2010;(8):1394-1397.
 55. Mitra S, Gurrula SR, Coleman RS. Synthesis of Secondary Amines. *Three Carbon-Heteroatom Bond Acid Halides; Carboxylic Acids Acid Salts*. 2007;57(584):1.
 56. Itsuno S, Ito K, Hirao A, Nakahama S. Asymmetric Reduction of Aromatic Ketones with the Reagent prepared. *J Chem Soc, Chem Commun*. 1983;(1):469-470.

57. Reyes-Rangel G, Vargas-Caporali J, Juaristi E. In search of diamine analogs of the α,α -diphenyl prolinol privileged chiral organocatalyst. Synthesis of diamine derivatives of α,α -diphenyl-(S)-prolinol and their application as organocatalysts in the asymmetric Michael and Mannich reactions. *Tetrahedron*. 2016;72(3):379-391.
58. Vsevolod V. Rostovtsev, Luke G. Green, Valery V. Fokin KBS. A Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper-Catalyzed Regioselective TMLigation of Azides and Terminal Alkynes. *Angew Chem Int Ed*. 2002;41(14):2596-2599.
59. Kocieński KJ and P. Protecting Groups. *J Chem Soc, Perkin Trans*. 1999;1:1589–1615.
60. Daumann LJ. *Spectroscopic and Mechanistic Studies of Co(II) Phosphoesterase and Metallo- β -Lactamase Biomimetics.*; 2014.
61. Ji P, Atherton J, Page MI. Liquid Ammonia as a Dipolar Aprotic Solvent for Aliphatic Nucleophilic Substitution Reactions. *J Org Chem*. 2011;(2):1425-1435.
62. Wang W, Hammond GB, Xu B. Ligand Effects and Ligand Design in Homogeneous Gold (I) Catalysis. *J Am Chem Soc*. 2012;134(I):5697–5705.
63. Tatyana V, Maxim SS, Irina MT, Kopersak Y, Razov EN, Vorotyntsev VM. Low-temperature catalytic hydrogenation of silicon and germanium tetrachlorides on the modified nickel chloride. *Applied Catal B, Environ*. 2016;198:334-346.
64. Tarr DA. Inorganic Chemistry.

65. Singhal N, Kumar M, Kanaujia PK, Viridi JS. MALDI-TOF mass spectrometry: An emerging technology for microbial identification and diagnosis. *Front Microbiol.* 2015;6:1-16.
66. Damnjanović B, Kameva T, Petrović B, Bugarić ŽD, Petković M. Laser desorption and ionization time-of-flight versus matrix-assisted laser desorption and ionization time-of-flight mass spectrometry of Pt(ii) and Ru(iii) metal complexes. *Anal Methods.* 2011;3(2):400-407.
67. Schiller J, Arnhold J, Benard S, Mu M, Reichl S, Arnold K. Lipid Analysis by Matrix-Assisted Laser Desorption and Ionization Mass Spectrometry : A Methodological Approach. *Anal Biochem.* 1999;56:46-56.
68. Hoffmann E de; VS. *Mass Spectrometry Principles and Applications.*; 2007.
69. Meier MAR, Lohmeijer BGG, Schubert US. Relative binding strength of terpyridine model complexes under matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry conditions. *J Mass Spectrom.* 2003;38(5):510-516.
70. Swain CG, Unger SH, Rosenquist NR, Swain MS. Substituent Effects on Chemical Reactivity . Improved Evaluation of Field and Resonance Components. *J Am Chem Soc.* 1983;105(4):492-502.
71. Nakamoto. IR and Raman spectra of inorganic and coordination compounds. *B.* 1986.
72. Hosseinejad T. Computational investigations of click-derived 1,2,3-triazoles as keystone ligands for complexation with transition metals: a review. *RSC Adv.* 2018;8:12232-12259.

73. Dziembowska T, Ambroziak K, Majerz I. Analysis of the vibrational spectra of trans-N,N0 -bis-salicylidene-10 ,20-cyclohexanediamine tautomers. *J Mol Struct.* 2005;738:15-24.
74. Márquez VE, Anaconda JR. Cyclic voltammetric studies of axially substituted nickel(II) complexes containing a macrocyclic schiff-base ligand. *J Coord Chem.* 2000;49(4):281-289.
75. Ito H kozo S. On the assignment of band II in the electronic spectrum of $[\text{Ni}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$. In: *Bull. Chem. Soc. Jpn.* ; 1985:2703-2704.
76. Zwoz J. Spectrochemical Properties and Solvatochromism of Tetradentate Schiff Base Complex with Nickel : Calculations and Experiments. *Chem open.* 2018;7:677-687.
77. House JE. *Molecular Spectroscopy.* 2018:271-296.
78. Pavia DL. *Espectroscopia.*
79. Hush NS, Reimers JR. Solvent Effects on the Electronic Spectra of Transition Metal Complexes. *Chem Rev.* 2006;100:775-786.
80. Radon M, Katarzyna G, Szklarzewicz J, Broclawik E. Spin-State Energetics of Fe (III) and Ru (III) Aqua Complexes : Accurate ab Initio Calculations and Evidence for Huge Solvation E ffects. *J Chem Theory Comput.* 2016;(Iii):1592–1605.
81. Richards JA, Evans DH. ELECTROCHEMICAL OXIDATION OF 2,6-DI-tert-BUTYL-4-ISOPROPYLPHENOL. *J Electroanal Chem.* 1977;81:171-187.
82. Eck V, Schweig A, Vermeer H, Physikalische F, Lahnbergen A Den. THE

ULTRAVIOLET PHOTOELECTRON SPECTRUM OF O-BENZOQUINONE METHIDE. *Tetrahedron Lett.* 1978;(27):2433-2436.

83. Shimazaki Y, Tani F, Naruta Y, Yamauchi O. One-Electron Oxidized Nickel (II) - (Disalicylidene) diamine Complex : Temperature-Dependent Tautomerism between Ni (III) - Phenolate and Ni (II) - Phenoxy Radical States. *J AM CHEM SOC.* 2003;332(Ii):10512-10513.
84. Gonçalves NS, Jr AH, Lanznaster M, Noda LK, Neves A. Resonance Raman Spectroscopy of FeII FeIII and FeIII/FeIII Model Complexes Containing an Unsymmetrical Dinucleating Ligand : A Biomimetic Redox Pair for Uteroferrin. *J Braz Chem Soc.* 2006;17(8):1658-1663.
85. Paul S, Cl R, Hearn NGR, Ray D. Novel Layering of Aqua and Imidazolidinyl Phenolate Bridged Cationic [Cu II₂ (μ -L)(μ -H₂O)₃ H₂O]₂ Units Over Cu I NCS Based One-Dimensional Anionic Parallel Chains as Diamagnetic Coordination Framework Host. *Cryst Growth Des.* 2009;9(9):4032-4039.
86. K. D. Asmus; H. Mockel and A. Henglein. Pulse Radiolytic Study of the Site of OH. Radical Attack on Aliphatic Alcohols in Aqueous Solution. *J Phys Chem.* 1973;77(10):1218-1221.
87. Tomczyk D, Nowak L, Bukowski W, et al. Electrochimica Acta Reductive and oxidative electrochemical study and spectroscopic properties of nickel (II) complexes with N₂O₂ Schiff bases derived from (±) - trans - N , N -bis (salicylidene) -1 , 2-cyclohexanediamine. *Electrochim Acta.* 2014;121:64-77.
88. Sugumaran M. Formation of a Stable Quinone Methide during Oxidation of a-Methyl Dopa Methyl Ester and Its Implication in Melanin

- Biosynthesis. *Bioorg Chem.* 1990;153:144-153.
89. Hausinger RP. Biochemistry of Nickel. 1993:1-279.
 90. Ahmed M, Khan ZH. Electronic absorption spectra of benzoquinone and its hydroxy substituents and effect of solvents on their spectra. *Spectrochim Acta.* 2000;56:965-981.
 91. Modak R, Sikdar Y, Mandal S, et al. Syntheses , crystallographic characterization , catecholase activity and magnetic properties of three novel aqua bridged dinuclear nickel (II) complexes. *Inorganica Chim Acta.* 2014;(Ii).
 92. Bertrand BJA, Ginsberg P, Kaplan RI, Kirkwood CE. Magnetic Exchange in Transition Metal Complexes. V.la Ferromagnetic Spin Coupling in a Tetranuclear Nickel(II) Cluster. *Inorg Chem.* 1971;10(2):240-246.
 93. Kong LB, Liu L, Yang Z, Li S, Zhang T. *Theory of Ferrimagnetism and Ferrimagnetic Metal Oxides.* Elsevier Inc.; 2018.
 94. Hatfield WE. Magnetism of Transition Metal Ions. *Encycl Inorg Chem.* 2006:1-11.
 95. Huang T -C, Chen D -H. Kinetic study of urease-catalysed urea hydrolysis. *J Chem Technol Biotechnol.* 1991;52(4):433-444.
 96. Salazar-salinas K, Baldera-aguayo PA, Encomendero-risco JJ, et al. Metal-Ion E ff ects on the Polarization of Metal-Bound Water and Infrared Vibrational Modes of the Coordinated Metal Center of Mycobacterium tuberculosis Pyrazinamidase via Quantum Mechanical Calculations. *J Phys Chem.* 2015;118:10065–10075.

97. VAUGHAN, P. DONOHUE J. The Structure of Urea . Interatomic Distances and Resonance in Urea and Related Compounds. *Acta Cryst.* 1934;5:530-535.
98. Harvey PD. Structural and spectroscopic properties of metal-urea complexes. *Coord Chem Rev.* 1987;76:237-264.
99. SCHMULBACH CD. Stabilization of High Oxidation States of Representative Elements by Complexation. *Inorg Chem.* 1958;499(9):1232-1234.
100. Krajewska B, Zaborska W. The effect of phosphate buffer in the range of pH 5 . 80 – 8 . 07 on jack bean urease activity. *J Mol Catal B Enzym.* 1999;6:75-81.
101. Gorb L, Asensio A, Tuñón I, Ruiz-López MF. The mechanism of formamide hydrolysis in water from Ab initio calculations and simulations. *Chem - A Eur J.* 2005;11(22):6743-6753.