

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

ISABELA MORAES COSTA
JÉSSICA LAINE NUNES MELO

**SÍNTESE DE DERIVADOS DE 2,2'-(FENILMETILENO)BIS(3-HIDROXICICLOEX-2-
ENONA) ATRAVÉS DE BIOCATÁLISE UTILIZANDO LIPASE DE PÂNCREAS DE
PORCO (LPP) EM REGIME DE FLUXO**

DOURADOS
2017

ISABELA MORAES COSTA
JÉSSIKA LAINE NUNES MELO

SÍNTESE DE DERIVADOS DE 2,2'-(FENILMETILENO)BIS(3-HIDROXICICLOEX-2-ENONA) ATRAVÉS DA BIOCATÁLISE UTILIZANDO LIPASE DE PÂNCREAS DE PORCO (LPP) EM REGIME DE FLUXO

Trabalho de conclusão de curso apresentado como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia, no Curso de Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal da Grande Dourados.

Orientador: Prof^o. Dr^o. Leonardo Ribeiro Martins

Dourados, 30 de agosto de 2017.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr^o. Leonardo Ribeiro Martins
Orientador

Prof. Dr^o. Nelson Luís de Campos Domingues
Membro da banca

MSc. Beatriz Fuzinato dos Santos
Membro da banca

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

C837s	<p>Costa, Isabela Moraes. Síntese de derivados de 2,2' -(FENILMETILENO) BIS (3-HIDROXICICLOEX-2-ENONA) através de biocatálise utilizando lipase de pâncreas de porco (LPP) em regime de fluxo. / Isabela Moraes Costa, Jéssika Laine Nunes Melo. – Dourados, MS : UFGD, 2017. 16f.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Leonardo Ribeiro Martins. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biotecnologia) – Universidade Federal da Grande Dourados.</p> <p>1. Biocatálise. 2. Fluxo contínuo. 3. Etanol. I. Título. II. Melo, Jéssika Laine Nunes.</p>
-------	---

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.

©Todos os direitos reservados. Permitido a publicação parcial desde que citada a fonte.

RESUMO

A partir da biocatálise com lipase de pâncreas de porco imobilizada e em sistema de fluxo contínuo, uma nova metodologia foi testada para a síntese da 2,2'-(fenilmetileno)bis(3-hidroxicicloex-2-enona). Neste protocolo, foram realizadas reações com tempo reacional de duas horas, e obteve-se um rendimento médio de até 83%. Além disso, outras vantagens foram observadas, como o reuso do catalisador e a utilização de etanol, um solvente ambientalmente aceito, garantindo assim uma metodologia mais limpa ou “green” em relação aos métodos tradicionais.

Palavras-chave: biocatálise; fluxo contínuo; etanol.

INTRODUÇÃO

Diante das preocupações ambientais, tornou-se de extrema importância desenvolver processos industriais mais limpos e eficientes. As técnicas que envolvem a síntese de 2,2'-(fenilmetileno)bis(3-hidroxicicloex-2-enona), uma tetracetona (Figura 1a), derivado de um aldeído com a 1,3-ciclohexanodiona, por meio da biocatálise, é um exemplo da grande aplicação industrial para obtenção de alguns compostos de importantes, como a produção do xanteno (Figura 1b) e seus derivados.

Por serem compostos orgânicos heterocíclicos, são utilizados como intermediários de fármacos e na composição de algumas classes de corantes devido suas propriedades espectroscópicas, sendo devido a isso, utilizados como marcadores fluorescentes para monitoramento de biomoléculas. Além disso, nos últimos anos vem sendo testados como inibidor da enzima tirosinase, esta é responsável pela produção da melanina que exerce um papel crucial contra a fotocarcinogênese da pele. Dessa forma, torna-se de grande valia a busca de novas metodologias que tornem essa produção mais rápida e menos onerosa¹⁻⁴.

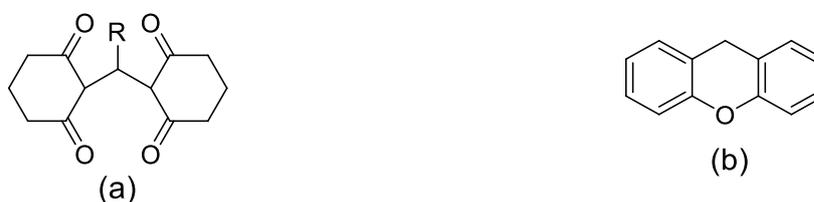


Figura 01. Estruturas de uma tetracetona (a), do xanteno (b)

As reações de biocatálise, também conhecida como biotransformação, é uma área multidisciplinar e pode ser definida como processos biotecnológicos que envolvem modificações específicas da estrutura molecular de uma substância catalisada por meios biológicos⁵. Essa catálise pode ser feita através de enzimas isoladas ou células inteiras. Diferente dos tradicionais catalisadores metálicos, as enzimas atuam sob condições de temperatura e pH mais amenas, oferecem alta especificidade através de suas propriedades de estereoespecificidade, regio e quimiosseletividade e ainda podem ocorrer em meio aquoso, evitando o uso de solventes orgânicos poluentes⁶. Os biocatalisadores enzimáticos podem ser retirados de diversos organismos como animais, plantas, fungos e bactérias⁷. Dentre as enzimas utilizadas como catalisadores podemos citar as lipases que são as enzimas encontradas tanto em micro-organismos como em mamíferos. São muito utilizadas na química, tendo papel importante em síntese orgânica, na preparação de compostos enantiômericamente enriquecidos, além de serem fundamentais na biotecnologia e principalmente na indústria, por serem acessíveis e de baixo preço, sendo as lipases de pâncreas de porco (Figura 2) ainda mais baratas do que aquelas retiradas dos micro-organismos, devido ao fato delas serem maleáveis, pois não necessitam de cofator. Outra característica interessante das lipases é sua promiscuidade catalítica na capacidade de catalisar reações diferentes das suas funções naturais, como as adições de Michael e a condensação de Knoevenagel, e por isso tem sido empregada nessas reações a fim de evitar reações laterais e aumentar o rendimento⁸.

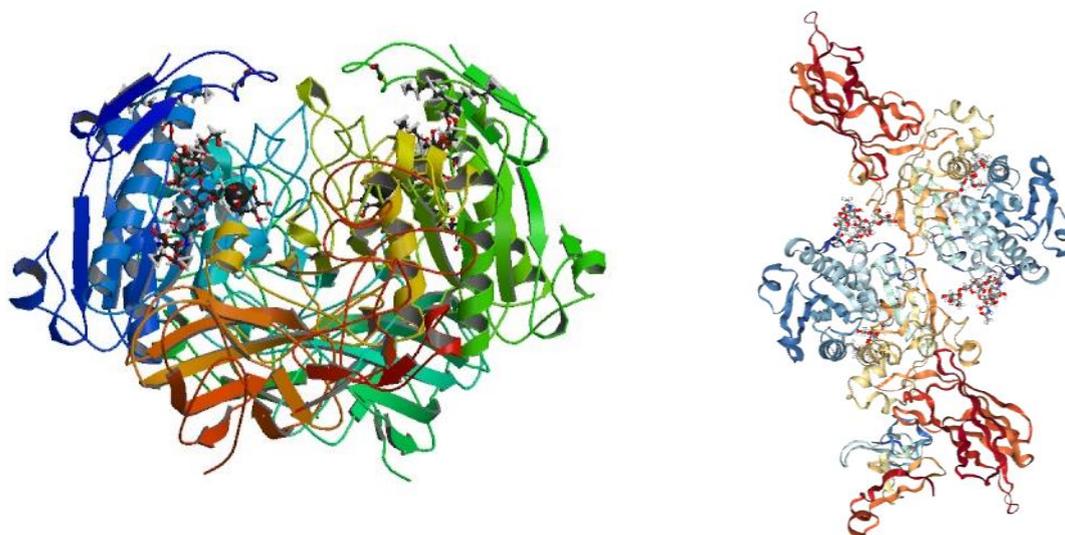
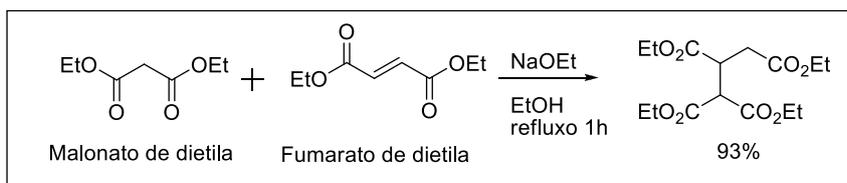


Figura 2. Estruturas tridimensionais da lipase de pâncreas de porco

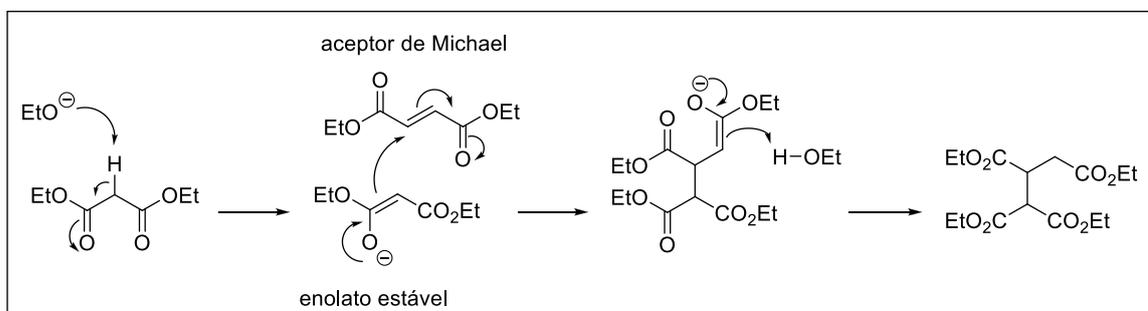
Fonte: <https://www.rcsb.org/pdb/ngl/ngl.do?pdbid=1ETH&bionumber=1>, acessada em 25/08/17.

Caracterizada pela adição de nucleófilos (doadores de Michael) a olefinas ativadas (aceptores de Michael), a reação de Michael (Esquema 01a) é uma das reações mais utilizadas na formação da ligação carbono-carbono^{9,10}. Outra reação importante na síntese de carbono-carbono é a condensação de Knoevenagel (Esquema 01b), realizada entre um aldeído e um metileno ativo de um 1,3- dicarbonilado, como o 1,3-ciclohexanodiona¹¹.

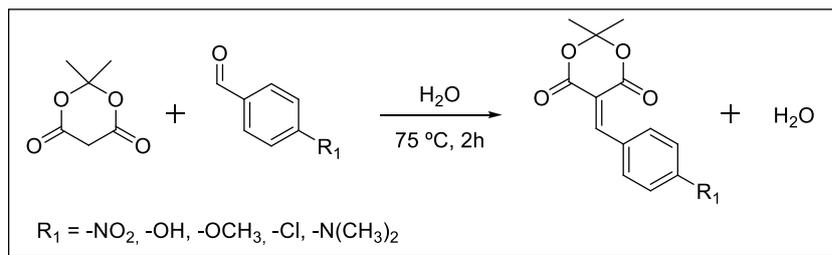
Essas reações atualmente são mais realizadas de forma tradicional, como por exemplo, a enzima no meio reacional sob agitação magnética ou mecânica, o que pode levar a desnaturação da enzima e perda do poder catalítico da mesma, entretanto, podem ser realizadas utilizando a metodologia de reações em fluxo. Este método é relativamente novo e traz benefícios e vantagens quando implementada em processos industriais. Alguns desses benefícios incluem confiabilidade nos resultados, devido à temperatura e pressão serem constantes, estabilidade da reação e imobilização da enzima, que impede que ela seja desnaturada rapidamente e garante assim que possa haver sua reutilização, o que conseqüentemente, garante uma economia para a indústria. Diante dessas melhorias que este método trás, ele é considerado um avanço para sínteses mais eficientes e acessíveis¹².



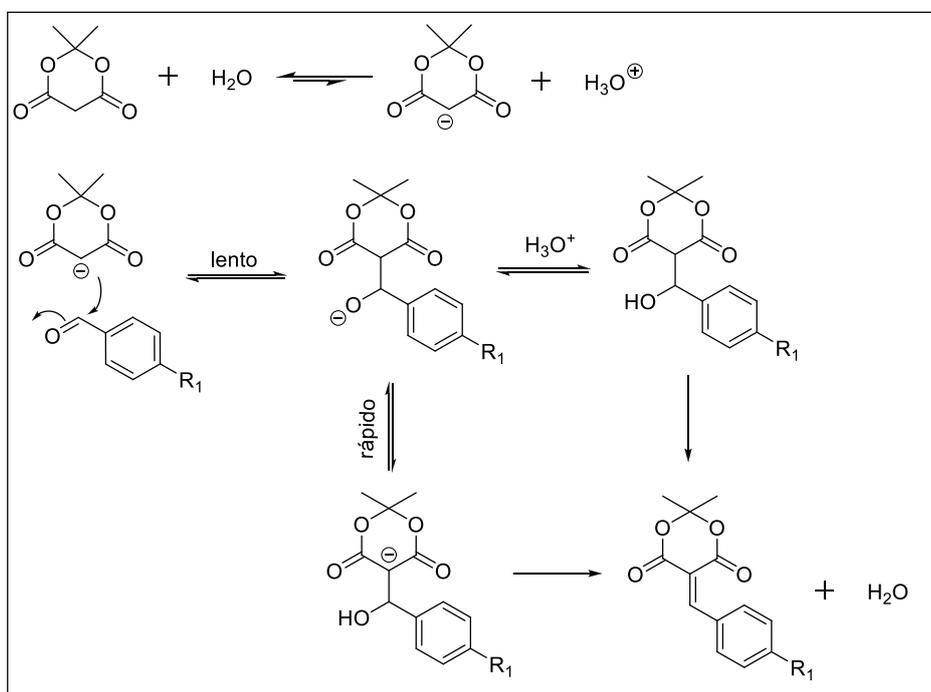
Equação geral da Adição de Michael (a)



Mecanismo geral da Adição de Michael



Equação geral da condensação de Knoevenagel (b)



Mecanismo geral da condensação de Knoevenagel

Esquema 1. Exemplos de adição de Michael^{9,10} (a) e condensação de Knoevenagel¹¹ (b)

Ao se preocupar com a química verde para reduzir o impacto ambiental no setor industrial, deve-se entender que o impacto está intrínseco na produção, durante os processos de fabricações, dessa forma, tanto a biocatálise, quanto novas metodologias que utilizem os materiais de forma mais rentável e que sejam mais sustentáveis são de grande necessidade¹³.

METODOLOGIA

Reação em fluxo contínuo

Cartucho contendo o biocatalisador

Para a montagem do cartucho utilizou-se duas ponteiras de 1000 μ L com filtro (Figura 3), entre elas adicionou-se 40 mg da enzima lipase de pâncreas de porco (LPP).



Figura 3. Cartucho contendo a enzima LPP.

Equipamentos para as reações de fluxo contínuo

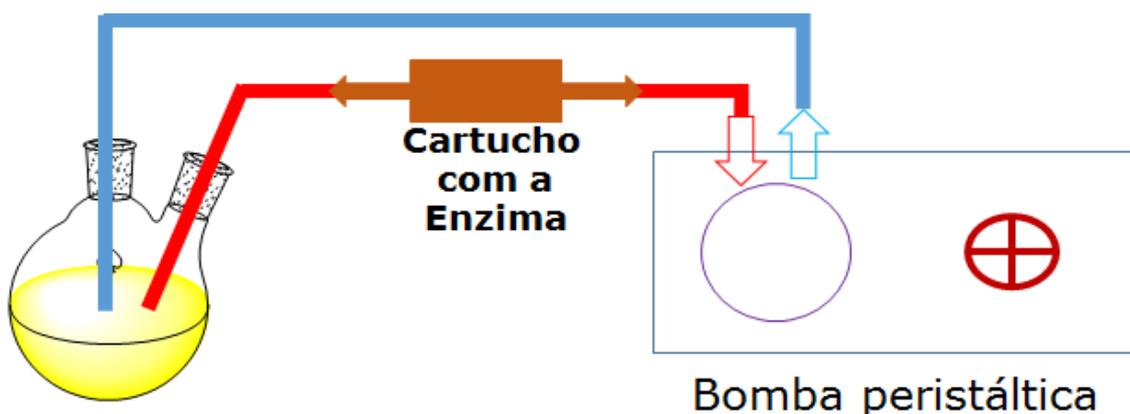
Para os experimentos das reações em fluxo contínuo foi utilizado uma bomba peristáltica da marca MASTERFLEX modelo 07554-85 analógica e mangueira para bomba peristáltica modelo L/S (diâmetro interno 1,6 mm) (Figura 4).



Figura 4. Bomba peristáltica MASTERFLEX modelo 07554-85 e mangueira para bomba peristáltica

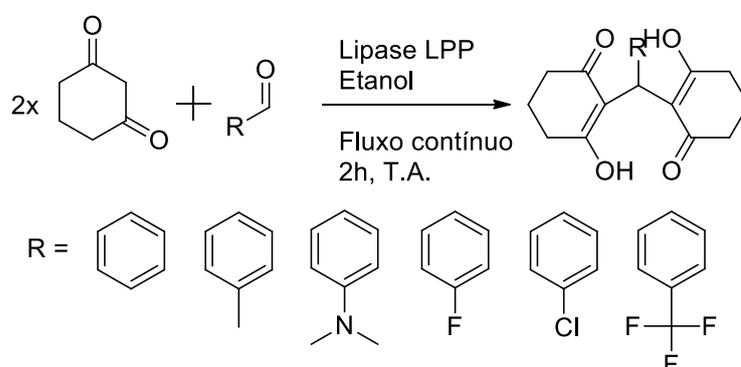
Experimentos de reações em fluxo contínuo

Os experimentos de reações em fluxo contínuo foram montados conforme o Esquema 2. O biocatalisador (lipase de pâncreas de porco, 40 mg) foi separado do meio reacional, sendo acondicionado em um cartucho. No balão de duas bocas foram adicionados os aldeídos (0,89 mmol) e a 1,3-cicloexanodiona (1,78 mmol) em etanol (10 mL).



Esquema 2. Esquema do aparato para a reação em fluxo contínuo

Para cada aldeído (Esquema 3) testado foi utilizado um tempo reacional de 2 horas e realizou-se a reação por 5 vezes para avaliar o potencial de reuso do biocatalisador. As reações foram monitoradas por cromatografia em camada delgada (CCD). Decorrido o tempo reacional, a reação foi evaporada em evaporador rotativo e o bruto reacional foi submetido a cromatografia em coluna (CC) para separação do produto obtido usando como sistema de eluição hexano:acetato de etila (6:4 v/v). Foi calculado o rendimento médio para cada reação. Os produtos foram identificados por ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e de ^{13}C e espectrometria de massas. RMN é utilizado para identificar a estrutura carbono-hidrogênio de compostos orgânicos.



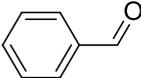
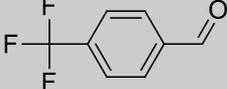
Esquema 3. Síntese dos derivados da 2,2'-(fenilmetileno)bis(3-hidroxicicloex-2-enona)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

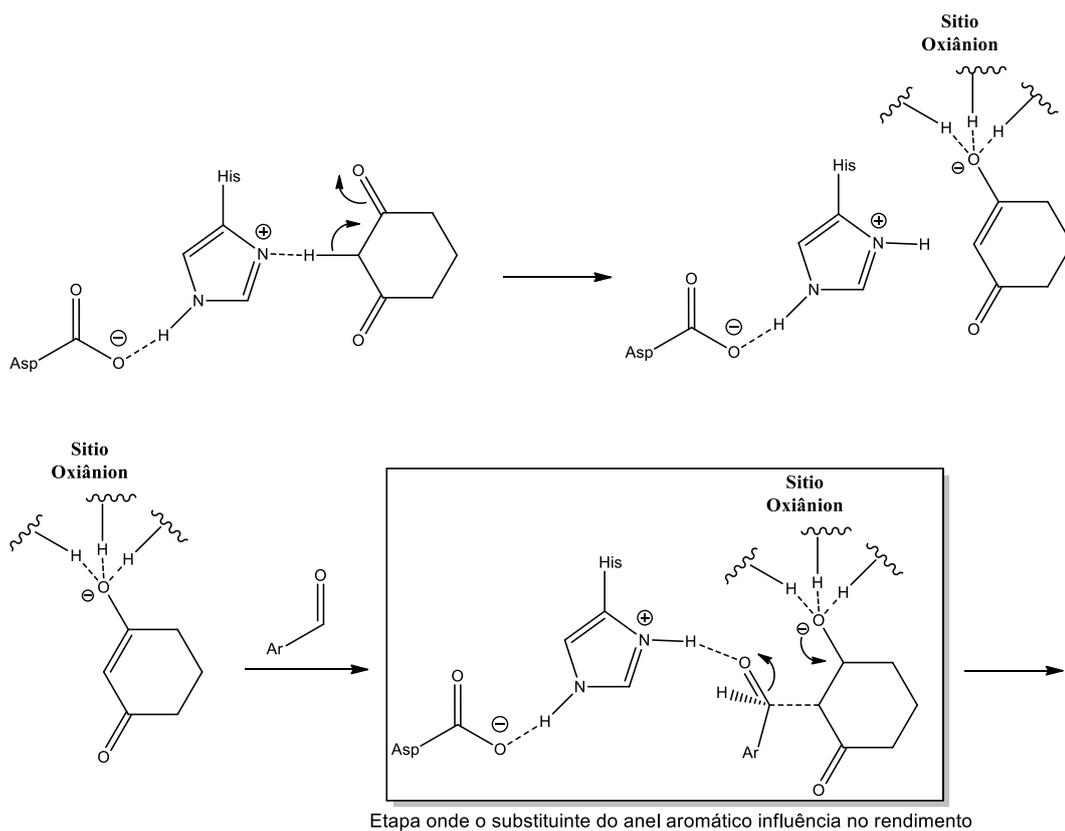
Após o término das reações foram calculados os rendimentos, que estão demonstrados na Tabela 1. A primeira reação que foi realizada foi o branco, onde não

foi adicionado nenhum aldeído, e com isso foi notado que não foi formado o produto desejado.

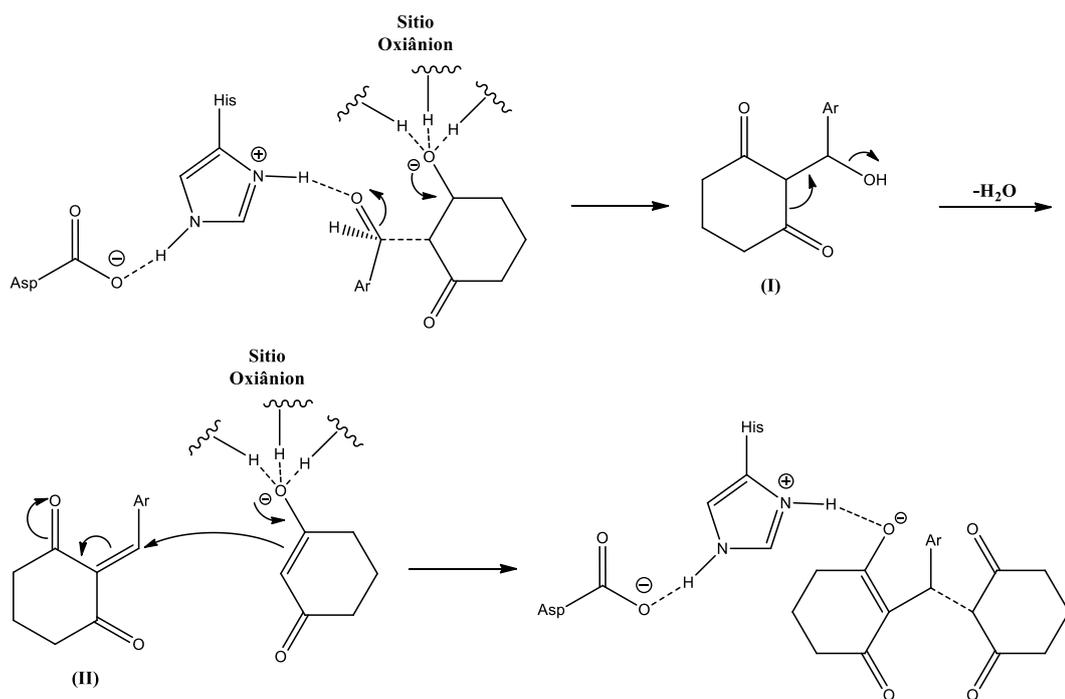
Tabela 1. Rendimento médio das reações

Entrada	Aldeído	Rendimento por experimento (%)					Rendimento médio (%)
		01	02	03	04	05	
01		20	18	25	25	13	20 ± 5
02		55	52	38	58	70	55 ± 11
03		95	93	78	75	71	83 ± 11
04		22	20	18	17	10	18 ± 5
05		86	51	49	34	51	55 ± 19
06		41	40	23	23	34	33 ± 9

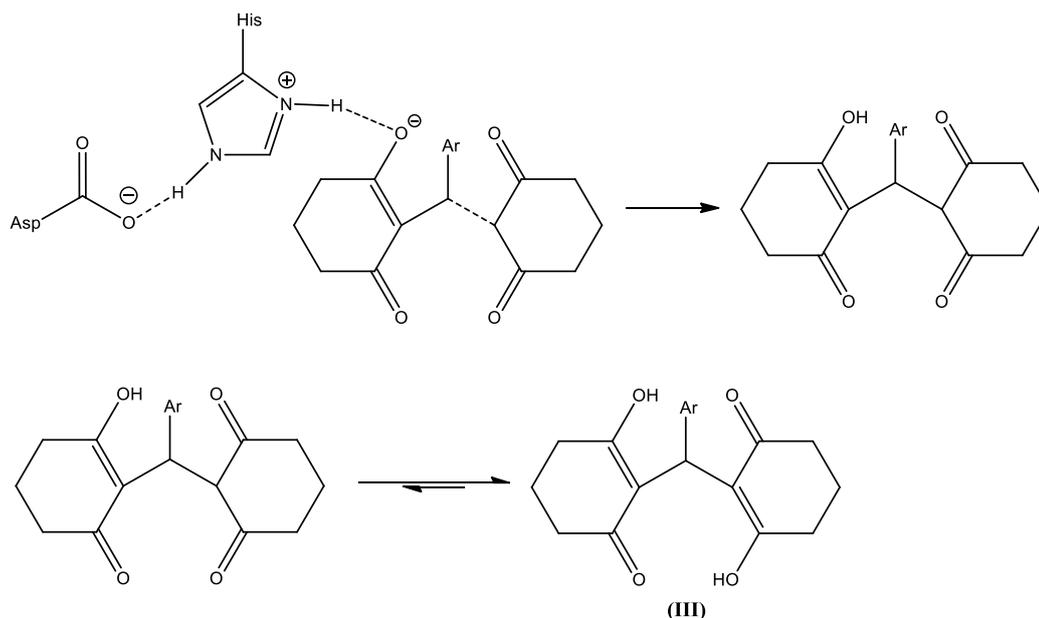
Observamos que os rendimentos das reações realizadas com os derivados do benzaldeído substituídos na posição *para* com grupos ativantes (-CH₃ e (CH₃)₂N-), entrada **02** e entrada **03**, apresentaram resultados melhores do que com grupos desativantes na posição *para* (-F e -CF₃), entrada **04** e entrada **06**, que apresentaram baixos rendimentos. O experimento da entrada **05** apresentou um resultado muito similar com o experimento da entrada **02**, podendo ser explicado, devido ao cloro ser um desativante fraco ou também podemos levar em conta a sua pequena contribuição como doador de elétrons ao anel aromático por efeito mesomérico. Um provável mecanismo para esta reação está demonstrado nos Esquemas **4**, **5** e **6**, uma explicação plausível para a diferença dos resultados obtidos com substituintes na posição *para* ativantes em relação aos desativantes, é de que como os grupos desativantes retiram densidade eletrônica do anel aromático afetam a formação da ligação de hidrogênio (Esquema 4), mas também não se pode desconsiderar a possibilidade do solvente estar interferindo na formação desta ligação de hidrogênio, pois o etanol é um solvente polar e prótico.¹⁵



Esquema 4 - Primeira etapa da formação dos derivados da 2,2'-(fenilmetileno)bis(3-hidroxicicloex-2-enona)²



Esquema 5 - Segunda etapa da formação dos derivados da 2,2'-(fenilmetileno)bis(3-hidroxicicloex-2-enona)²



Esquema 6. Terceira etapa da formação dos derivados da 2,2'-(fenilmetileno)bis(3-hidroxicicloex-2-enona)²

Como os produtos obtidos são bastantes relatados na literatura decidiu-se por não trabalhar com a discussão dos resultados obtidos por RMN de ¹H e ¹³C e espectrometria de massas.

Embora se tenha obtido resultados de 95% e 93% para o 4-dimetilaminobenzaldeído (Entrada 3), os demais rendimentos apresentaram valores medianos, quando se compara os resultados com o trabalho de Jiang e colaboradoras (2014) que usaram tempos reacionais de 5 a 8 horas e *N,N*-dimetilformamida (DMF) como solvente. Porém neste trabalho temos algumas desvantagens como tempo reacional muito longo, solvente tóxico e a enzima estava junto ao meio reacional e sob agitação, fazendo com que haja a desnaturação da mesma, portanto, podendo ser utilizada apenas uma vez na reação.

Na tentativa de minimizar o problema de desnaturação da enzima, retirou-a do meio e a isolou em um cartucho, assim o meio reacional somente passa por ela, e a partir disso verificou se existia a possibilidade de reuso do biocatalisador. Inicialmente, com apenas 2 horas de reação, foi notado que há viabilidade neste processo, em que os melhores resultados são obtidos no primeiro e segundo uso do biocatalisador, já para o terceiro, quarto e quinto reuso observou-se uma queda significativa dos rendimentos, como pode ser verificado na Entrada 3 (Gráfico 1).

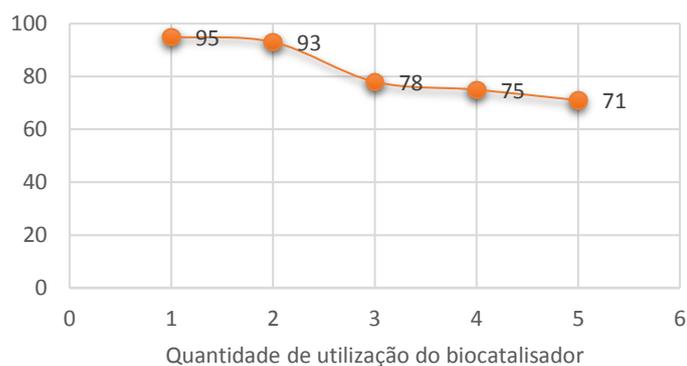


Gráfico 1. Reuso do Biocatalisador do experimento da Entrada 03

A escolha do etanol com solvente para estas reações se deu pela preocupação de atender um dos princípios propostos pela química verde que é a redução do uso de solventes orgânicos.¹⁴ Os solventes orgânicos, como o DMF, são quase sempre tóxicos e a sua reutilização nem sempre é viável. O etanol é um solvente ambientalmente aceito, atóxico, muito versátil devido ao fato de possuir um baixo preço no Brasil e miscível em muitos compostos orgânicos. Quando se trata de solubilidade o etanol apresenta alta solubilidade em água por ser um composto polar, porém dissolve muito bem materiais apolares. Isso ocorre porque sua molécula possui uma extremidade polar e uma parte apolar.¹⁵

A química verde é uma ciência que preza pelo meio ambiente e visa, dentre vários critérios, a síntese de produtos menos tóxicos e a busca pela eficiência de energia a fim de tornar os processos mais econômicos. A tecnologia de reações em regime de fluxo é um método que se mostra eficiente frente aos requisitos da química verde, pois pode-se utilizar os catalisadores imobilizados, evitando assim que as enzimas sofram desnaturação, como acontece nos métodos tradicionais. Essa característica é muito interessante para a produção em larga escala porque permite que as enzimas sejam reutilizadas em mais de um ciclo e ainda garante uma porcentagem, consideravelmente, boa de rendimento. Além das reações serem conduzidas à temperatura e pressão ambientes,¹³ este método possui algumas vantagens como facilidade de automação e segurança.¹²

4. Conclusão

Com este trabalho, conclui-se que utilizando a metodologia de reações em fluxo, foi possível obter um bom rendimento utilizando derivados do benzaldeído substituídos

na posição *para* com grupos ativantes para a síntese da 2,2'-(fenilmetileno)bis(3-hidroxicicloex-2-enona), por meio de reações de Michael e Knoevenagel. Os resultados obtidos com este novo protocolo garantem uma aplicação industrial em potencial, pois além de haver a reutilização da enzima, o solvente utilizado reduz o impacto ambiental, garantindo dessa forma, a aplicabilidade dos princípios da química verde.

5. Referências

1. KARIMI-JABERI, Z.; KESHAVARZI, M. Chinese Chemical Letters **2010**, 21, 547-549;
2. JIANG, L.; WANG, B.; LI, R.-R., SHEN. S.; YU, H.-W. and YE, L.-D. Chinese Chemical Letters **2014**, 25, 1190-1192;
3. KHAN, K. M.; MHARVI, G. M.; KHAN, M. T. H.; SHAIKH, A. J.; PERVEEN, S.; BEGUM, S. and CHOUDHARY, M. I. Bioorganic & Medicinal Chemistry **2006**, 14, 344-351;
4. AZIZI, M.; DEZFOOLI, S. and HASHEMI, M. M. Química Nova **2013**, 16, 997-1001;
5. DIAS, F. R. F.; FERREIRA, V. F.; CUNHA, A. C. Revista Virtual de Química **2012**, 4, 840-871;
6. CLOSOSKI, G. C. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005;
7. COSTA, V. E. U. e AMORIM, H. L. N. Química Nova, **1999**, 22, 6, 863-873;
8. ARAUJO, Y. J. K. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, 2013;
9. MATTOS, M. C. e MARZORATI, L. Química Nova **1999**, 22 (5), 710-714;
10. CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S. and WOTHERS, P. Organic Chemistry, **2001**;
11. CUNHA, S.; SANTANA, L. L. B. Química Nova **2012**, 35, n. 3, p.642-647;
12. JAS, G. and KIRSCHNING, A. Chemistry European Journal **2003**, 9, 5708-5723;
13. SOUZA, R. O. M. A. e MIRANDA, L. S. M. Revista Virtual de Química **2013**, 34-43;
14. PRADO, A. G. S. Química Nova **2003**, 26(5), 738-744;
15. DAGOSTIN, J. L. A. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2015.

Anexo - Normas da revista Química Nova

Graphical Abstract

Insira aqui a imagem do Graphical Abstract (textos dentro da imagem devem ser em inglês)

Insira aqui o texto descritivo do Graphical Abstract (de 2 a 3 linhas, em inglês)

A REAÇÃO DE METÁTESE DE OLEFINAS: REORGANIZAÇÃO E CICLIZAÇÃO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS *título: todas as letras maiúsculas*

José A. Benício^a, Maria C. Cavalcante^b e João D. de Almeida^{a,*} *marcar com asterisco o autor que submeteu o artigo*

^aAqui vai o endereço. Lembre-se de que a menor unidade usada deve ser o departamento (não citar laboratório, grupo, programa de pós-graduação etc), depois instituto (se houver), depois universidade. Sempre tudo por extenso. Exemplo: Departamento de Química, Universidade Estadual de Maringá, 87020-900 Maringá – PR, Brasil

^bCaso haja autores de outro instituto, separar os autores por endereço, como foi feito aqui. Nesse caso, aqui entra o endereço de Maria C. Cavalcante

-----*marque uma alternativa, não apague o texto em azul*-----

() Manuscrito com material suplementar

() Manuscrito sem material suplementar

*e-mail: insira aqui o email do autor que submeteu o artigo

THE OLEFIN METATHESIS REACTION: REORGANIZATION AND CICLIZATION OF ORGANIC COMPOUNDS *título em inglês do seu manuscrito, com todas as letras maiúsculas e sem negrito*

Aqui deve ser escrito o abstract do seu artigo, não se esqueça de que ele deve apresentar no máximo 200 palavras.

Keywords: keyword1; keyword2; keyword3. *insira entre 3 e 5 keywords*

INTRODUÇÃO

Os títulos da seção são escritos com todas as letras maiúsculas e em negrito. Deve haver espaçamento antes e depois do título da seção.

Subtítulo1 *subtítulo– Apenas a 1ª letra maiúscula, em negrito. Deve haver espaçamento antes e depois do subtítulo*

Aqui entra o seu texto. Caso haja alguma citação a ser feita, ela deve seguir este padrão.¹ Caso queira citar um intervalo de três ou mais referências em sequência, use dessa forma.²⁻⁴ Quando forem apenas duas ou não estiverem em sequência, usar a vírgula.^{1,3,5} Repare que todas elas aparecem logo após a pontuação e não apresentam espaços. A Química Nova não publica notas de rodapé. Quaisquer notas do autor devem ser incluídas na lista de referências e, no texto, devem seguir o mesmo padrão das citações, mantendo inclusive a sequência numérica. Esta é uma nota do autor, que estará na posição 6 da lista de referências e não no rodapé da página.⁶

Como pode perceber, os parágrafos não apresentam tabulações. Favor manter esse padrão durante todo o texto. Caso queira inserir uma figura, seguir o padrão como na Figura 1.

Figura 1. *A descrição da figura deve ter esse formato. Em itálico e sem ponto final*

Todas as figuras devem ser incluídas no texto, logo após serem citadas pela primeira vez. No caso de estruturas químicas, utilize o estilo ACS, disponível para diversos editores de moléculas e descrito em detalhes aqui: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/bk-2006-STYG.ch017>

Tabelas também são indicadas como mostra a Tabela 1.

Tabela 1. Siga esse padrão. O título em negrito e a descrição do título sem negrito ou itálico. Não colocar ponto final

Ao final do rodapé das tabelas: deve ter ponto final.

Deve haver espaço entre número e unidade (por exemplo, 1 h) e as unidades devem ser abreviadas.

Termos ou expressões em inglês ou em latim – em itálico

Subtítulo2

Sub-subtítulo *Sub-subtítulo de seção só a 1ª em maiúscula e em itálico. Deve haver espaçamento apenas antes do sub-subtítulo, não depois.*

As figuras (incluindo gráficos, esquemas, etc) deverão ser em número máximo de 7 figuras e ter qualidade gráfica adequada (usar somente fundo branco). Para número maior, utilizar o Material Suplementar. A resolução mínima é de 300 dpi. No caso particular de esquemas contendo estruturas químicas, estas deverão ter sempre a mesma dimensão, para que possam ser reduzidas uniformemente, além de boa qualidade gráfica

Outro subtítulo do trabalho

Outro sub-subtítulo do trabalho

PARTE EXPERIMENTAL

Primeiro subtítulo da parte experimental

Primeiro sub-subtítulo da parte experimental

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Primeiro subtítulo dos resultados e discussão

Primeiro sub-subtítulo dos resultados e discussão

CONCLUSÃO

MATERIAL SUPLEMENTAR

Quando houver material suplementar, ele deve ser indicado aqui, com a descrição do material, similar a: Algumas imagens dos sistemas utilizados neste trabalho estão disponíveis em <http://quimicanova.sbq.org.br>, na forma de arquivo PDF, com acesso livre.

AGRADECIMENTOS

Os agradecimentos vão aqui. Caso queira agradecer a uma pessoa, apenas o último sobrenome deve ser por extenso, por exemplo A. B. Cardoso.

REFERÊNCIAS

Artigo:

1. Tavares, L. C.; *Quim. Nova* **2004**, 27, 631.

Artigo de uma revista de difícil acesso – deve-se citar o número de Chemical Abstract

2. Provstyanoi, M. V.; Logachev, E. V.; Kochergin, P. M.; Beilis, Y. I.; *Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved.; Khim. Khim. Tekhnol.* **1976**, 19, 708. (CA 85:78051s).

Artigo com número de DOI, mas sem a referência completa:

3. Vidotti, M.; Silva, M. R.; Salvador, R. P.; de Torresi, S. I. C.; Dall'Antonia, L. H.; *Electrochimica Acta* (2007), doi:10.1016/j.electacta.2007.11.029.

Patentes - na medida do possível o número do Chemical Abstracts deve ser informado entre parênteses:

4. Hashiba, I.; Ando, Y.; Kawakami, I.; Sakota, R.; Nagano, K.; Mori, T.; *Jpn. Kokai Tokkyo Koho 79 73,771* **1979**. (CA 91:P193174v)

5. Kadin, S.B.; *US pat.* 4,730,004 **1988**. (CA 110:P23729y)

6. Eberlin, M. N.; Mendes, M. A.; Sparrapan, R.; Kotiaho, T. *Br PI* 9.604.468-3, **1999**.

Livro com editor(es):

7. Regitz, M. Em *Multiple Bonds and Low Coordination in Phosphorus Chemistry*; Regitz, M.; Scherer, O. J., eds.; Georg Thieme Verlag: Stuttgart, 1990, cap. 2.

Livro sem editor(es):

8. Cotton, F. A.; Wilkinson, G.; *Advanced Inorganic Chemistry*, 5th ed., Wiley: New York, 1988.

Programas de computação (Softwares):

9. Sheldrick, G. M.; *SHELXL-93; Program for Crystal Structure Refinement*, Universidade de Göttingen, Alemanha, 1993.

Teses e dissertações:

10. Velandia, J. R.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil, 1997.

Material apresentado em Congressos:

11. Ferreira, A. B; Brito, S. L.; *Resumos da 20a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, Poços de Caldas, Brasil, 1998.

Páginas de Internet:

12. <http://www.sbg.org.br/jbcs>, acessada em Junho 2001.

Material não publicado:

Para material aceito para publicação: Magalhães, U. H.; *J. Braz. Chem. Soc.*, no prelo.

Para material submetido mas ainda não aceito: Magalhães, U. H.; *J. Braz. Chem. Soc.*, submetido. Para trabalho não publicado ou comunicação pessoal: Magalhães, U. H.; trabalho não publicado ou Magalhães, U. H., comunicação pessoal. Os resultados não publicados só poderão ser citados com a permissão explícita das pessoas envolvidas na sua obtenção.

P.S.: os títulos dos periódicos devem ser abreviados. Antes da submissão do trabalho, por favor, confira se as abreviaturas estão corretas no website: <http://cassi.cas.org>. Caso a abreviatura autorizada de uma determinada revista não puder ser localizada com a ferramenta CASSI, deve-se citar o título completo.

Se a referência for livro, lembre-se de que é necessário indicar editora, cidade e ano de publicação.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Caso seu manuscrito contenha material suplementar, escreva aqui, após as referências, o texto e também insira as figuras, tabelas e esquemas. Não esqueça que as legendas das figuras e títulos das tabelas se diferenciam das do texto principal por conter a letra S. Por exemplo:

Tabela 1S. Siga esse padrão. O título em negrito e a descrição do título sem negrito ou itálico. Não colocar ponto final

Ao final do rodapé das tabelas: deve ter ponto final.

Exemplo de figura:

Figura 1S. A descrição da figura deve ter esse formato. Em itálico e sem ponto final

Atenção: As figuras e tabelas devem ser inseridas no texto, como indicado neste template, mas também devem ser inseridos os arquivos originais separadamente na plataforma ScholarOne. Todas as figuras devem ter alta resolução. Figuras em baixa resolução causam atrasos na publicação de seu trabalho. Para mais detalhes, consultar as “Instruções para Autores” em nosso website.