

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

***APLICAÇÃO DA RELAÇÃO ENTRE ESTRUTURA E RETENÇÃO
CROMATOGRÁFICA (QSRR) EMPREGANDO DIFERENTES DESCRITORES
PARA CUMARINAS, ACETOFENONAS E TRITERPENOS. ESTUDO DE UM
NOVO ÍNDICE PARA ALCANOS E ALCENOS***

Miriam de Freitas Soares

Florianópolis, setembro de 2000

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

***APLICAÇÃO DA RELAÇÃO ENTRE ESTRUTURA E RETENÇÃO
CROMATOGRÁFICA (QSRR) EMPREGANDO DIFERENTES DESCRITORES
PARA CUMARINAS, ACETOFENONAS E TRITERPENOS. ESTUDO DE UM
NOVO ÍNDICE PARA ALCANOS E ALCENOS***

MÍRIAM DE FREITAS SOARES

Tese de Doutorado apresentada ao
Departamento de Química da Universidade
Federal de Santa Catarina, para a obtenção do
grau de Doutora em Química Analítica

Orientadora: Prof. Dra. Vilma Edite Fonseca Heinzen

Florianópolis, setembro de 2000

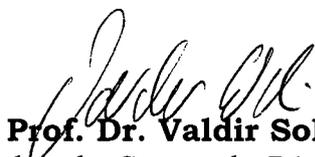
**APLICAÇÃO DA RELAÇÃO ENTRE ESTRUTURA E RETENÇÃO
CROMATOGRÁFICA (QSRR) EMPREGANDO DIFERENTES DESCRITORES
PARA CUMARINAS, ACETOFENONAS E TRITERPENOS. ESTUDO DE UM
NOVO ÍNDICE PARA ALCANOS E ALCENOS**

Miriam de Freitas Soares

Esta tese foi julgada adequada para a obtenção do grau de Doutor em Química, e aprovada em sua forma final pelo orientador e demais membros da banca examinadora.



Prof.ª Dr.ª Vilma Edite Fonseca Heinzen
Orientadora



Prof. Dr. Valdir Soldi
Coordenador do Curso de Pós-Graduação

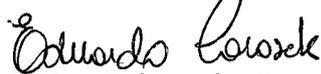
Banca Examinadora:



Prof. Dr. Claudio Luis Donnici
Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG



Prof.ª Dr.ª Elina Bastos Caramão
Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS



Prof. Dr. Eduardo Carasek
Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC



Prof. Dr. Luiz Augusto dos Santos Madureira
Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC



Prof. Dr. Rosendo Augusto Yunes
Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

-Aos meus pais Nilton e Regina, pela oportunidade desta vida, pelos bons princípios e incentivos para que eu chegasse até aqui. Aos meus irmãos Marcos (e Jacqueline) e Marcito e aos amados Luís Fernando, Raqueli e Taiani, meus sobrinhos;

Aos meus avós (*In Memoriam*)

Camilo Pereira Soares e Antonia Moreira Soares
Joaquim Antonio de Freitas e Doralina Rosa de Freitas

Com amor

*“Teoria (quando correta) e experimento
(se cuidadosamente executado),
descrevem a mesma verdade”
(J. Calvin Giddings)*

AGRADECIMENTOS

- Ao Curso de Pós-Graduação do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC);
- À Fundação de Ciência e Tecnologia - CIENTEC
- À CAPES e ao CNPq pela concessão das bolsas;
- À Prof. Dra. Vilma Fonseca Heinzen pela orientação e amizade;
- Aos Professores do Departamento de Química;
- Ao Prof. Dr. Rosendo Yunes, responsável pelo laboratório e equipamentos utilizados na elaboração deste trabalho;
- Aos funcionários Graça, Jadir (secretaria PG) e Selma (biblioteca) com cujas amizades pude contar, além dos excelentes serviços;
- Aos amigos, especialmente à Angela, Deisy, José Bento, Lígia Furlan, Luiz Carlos e Rosânia, pela grande amizade e carinho;
- Aos amigos espirituais;
- A **Deus**, por tudo.

APRESENTAÇÃO

Esta tese de doutorado apresenta-se dividida em 5 capítulos, de acordo com a descrição a seguir:

O primeiro deles (introdução), resumidamente, justifica a importância da correlação entre a estrutura dos compostos e algumas de suas propriedades, assim como o emprego de estudos teóricos na elucidação de estruturas, como um método alternativo ou auxiliar.

O segundo capítulo (fundamentos), aborda os diferentes fundamentos e conceitos, os quais foram tomados como base neste estudo, desde os aspectos teóricos da relação entre estrutura e propriedade na época da elaboração da tabela periódica, até os dias de hoje, onde se utiliza este tipo de relação para prever o comportamento de determinada propriedade diante de certos aspectos estruturais.

Neste capítulo são apresentados ainda os objetivos e as justificativas do presente trabalho.

O capítulo 3 (experimental) descreve o modo como foram adquiridos os dados de retenção cromatográficos e os descritores moleculares, bem como as suas otimizações.

A descrição é feita por grupo de compostos empregado.

No quarto capítulo, (resultados e discussões), são apresentadas as principais equações propostas para descrever a retenção dos grupos de compostos estudados, sendo feitas discussões a cerca dos descritores envolvidos nestas equações, e de suas relações

com a retenção no sistema cromatográfico. As discussões são baseadas tanto nos dados estatísticos apresentados, como na coerência dos descritores selecionados. Gráficos mostram as dispersões entre os valores de índices de Kováts experimentais e os calculados através dos modelos propostos.

No capítulo 5, (conclusão), são apresentadas as principais conclusões obtidas, a partir das equações propostas.

A seguir são apresentadas as referências, com toda a bibliografia utilizada neste trabalho.

Em anexo são apresentadas as publicações em periódicos resultantes até o momento.

SUMÁRIO

Apresentação.....	vii
Lista de Figuras.....	xi
Lista de Tabelas.....	xiii
Lista de Símbolos e Abreviações.....	xv
Resumo.....	xvii
Abstract.....	xx
I- INTRODUÇÃO	
1.1- Introdução Geral.....	1
1.2 Cromatografia Gasosa.....	2
1.3 Índice de Retenção de Kováts.....	3
1.3.1 Fontes de erros na determinação do índice de retenção.....	9
1.3.2 Determinação do tempo morto.....	10
II- FUNDAMENTOS TEÓRICOS	
2.1 QSPR - Relação Quantitativa Estrutura-Propriedade.....	11
2.1.1 Conceito.....	11
2.1.2 Aplicações.....	16
2.1.3 QSRR - Relação Quantitativa Estrutura- Retenção.....	19
2.1.4 Interações Intermoleculares.....	26
2.1.4.1 Interações Dipolo-dipolo.....	27
2.1.4.2 Interações Dipolo-dipolo induzido.....	28
2.1.4.3 Interações Dipolo instantâneo-dipolo induzido.....	29
2.1.4.4 Ligações de Hidrogênio.....	29
2.2 Descritores Moleculares: Parâmetros estruturais relacionados à propriedades fisico-químicas.....	30
2.2.1 Descritores Topológicos.....	33
2.2.2 Descritores Geométricos e Eletrônicos.....	41
2.3 Seleção de Descritores.....	42
2.4 Compostos Estudados.....	46
2.4.1 Cumarinas.....	47
2.4.2 Acetofenonas.....	48
2.4.3 Triterpenos.....	49
2.5 QSRR Aplicada a Alcanos e Alcenos.....	51

OBJETIVOS

Objetivo Geral.....	54
Objetivos Específicos.....	54
JUSTIFICATIVA.....	56

III- PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Índices de Kováts.....	58
3.2 Descritores Estruturais.....	60
3.2.1 Índices Topológicos.....	61
3.2.2 Demais Descritores.....	61
3.3 Seleção de Descritores.....	61
3.4 Análise de regressão.....	62
3.5 Amostras.....	63
3.5.1 Cumarinas.....	63
3.5.1.1 Análise Cromatográfica.....	63
3.5.1.2 Descritores moleculares.....	65
3.5.2 Acetofenonas.....	66
3.5.2.1 Análise Cromatográfica.....	66
3.5.2.2 Descritores moleculares.....	68
3.5.3 Triterpenos.....	70
3.5.3.1 Análise Cromatográfica.....	70
3.5.3.2 Descritores moleculares.....	72
3.5.4 Alcanos e alcenos.....	73
3.5.4.1 Índices de retenção de Kováts.....	73
3.5.4.2 Descritores moleculares.....	73

IV- RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Cumarinas.....	76
4.2 Acetofenonas.....	87
4.3 Triterpenos.....	99
4.4 Alcenos.....	115
4.4.1 Metodologia.....	120

V- CONCLUSÃO..... 132**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....** 136**ANEXO - Publicações em Periódicos.....** 155

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Diagrama de fluxo para construção de modelos QSPR.....	14
Figura 2	Gráfico molecular representando o esqueleto da molécula do 2,3,4 trimetil-hexano.....	34
Figura 3	Representação da fórmula estrutural e do gráfico molecular (suprimindo os átomos de hidrogênio) do composto 2,3-dimetilbutano com seus respectivos valores delta entre parênteses.....	36
Figura 4	Diagrama representativo de redes neurais.....	45
Figura 5	Representação das cumarinas estudadas.....	47
Figura 6	Representação das acetofenonas onde R ₁ , R ₂ , R ₃ , R ₄ , e R ₅ , podem ser H, OH, CH ₃ , OCH ₃ , OCOCH ₃ e grupo prenil [CH ₂ CHC(CH ₃) ₂].....	48
Figura 7	Estrutura dos triterpenos analisados.....	71
Figura 8	Gráfico da relação entre os tempos de retenção do gás metano e diferentes temperaturas de aquecimento da coluna.....	75
Figura 9	Estrutura das 20 cumarinas estudadas.....	78
Figura 10	Relação entre os índices de retenção de Kováts das cumarinas obtidas experimentalmente em fase LM-1 a 170°C e os índices calculados segundo a Equação 19.....	87
Figura 11	Estruturas da acetofenonas estudadas.....	89
Figura 12	(a) Correlação linear simples entre os índices de retenção experimentais das acetofenonas obtidos na fase estacionária LM-1/OV-101 e calculados pela equação 25. (b) Correlação linear simples entre os índices de retenção experimentais obtidos na fase estacionária LM-1/OV-101 e os calculados pela equação 26.....	98
Figura 13	Gráfico log t _r em função dos número de átomos de carbonos de n-alcanos na condição com temperatura isotérmica (290°C).....	99

Figura 14	Gráfico log t'r em função do número de átomos de carbonos de n-alcenos no modo com programação linear de temperatura (80-295°C a 10°C/min).....	100
Figura 15	Gráfico log t'r da lupanona obtidos na coluna LM-1 em relação a diferentes temperaturas isotérmicas da coluna, mantendo-se $T_{inj} = 310^{\circ}\text{C}$ e $T_{det} = 320^{\circ}\text{C}$	101
Figura 16	Gráfico log t'r da β -amirina obtidos na coluna LM-1 em relação a diferentes temperaturas isotérmicas da coluna, mantendo-se $T_{inj} = 310^{\circ}\text{C}$ e $T_{det} = 320^{\circ}\text{C}$	101
Figura 17	Alguns subgráficos do tipo $4X_{pc}^v$ presentes no esqueleto de um oleanano.....	108
Figura 18	Alguns subgráficos do tipo $3X_c^v$ no esqueleto de um oleanano.....	109
Figura 19	Glochidona.....	113
Figura 20	Isoadiantol.....	114
Figura 21	Correlação entre os índices de retenção e o número de átomos de carbono para alcanos lineares (nC) e ramificados.....	116
Figura 22	Estrutura do 2-metilbutano.....	121
Figura 23	Gráfico da correlação linear simples entre os índices de retenção, I (esqualano, 100°C) ¹⁰⁸ e o novo índice, semi-empírico topológico I_{ET} , para 157 alcanos ramificados (com grupos metil, etil, dimetil, trimetil e tetrametil, e dietil, com C_1 - C_{12} átomos de carbono na cadeia).....	124
Figura 24	Estrutura do <i>cis</i> -3-hexeno otimizada através do programa PCModel versão 3.01.....	126
Figura 25	Estrutura do <i>trans</i> -3-hexeno otimizada através do programa PCModel versão 3.01.....	127
Figura 26	Gráfico da relação entre os índices de retenção de Kováts determinados experimentalmente ¹¹⁸ e os índices semi-empírico topológicos.....	128

LISTA DE TABELAS

Tabela I	Tempos de retenção do metano em diferentes temperaturas da coluna.....	74
Tabela II	Índices de retenção experimentais de diferentes cumarinas determinados nas fases estacionárias CBP5 (I_{CBP5}) e LM-1 (I_{LM-1}) à 170°C, 190°C e 210°C.....	77
Tabela III	Índices de conectividade molecular de 1ª e 2ª ordens (1X , 2X), índices Wiener (W), índice Kappa (1K), índices do estado topológico (T_i), índices do estado eletrotológico (S_i) para o oxigênio da posição 1 ($S_{(-O)}$, $T_{(-O)}$) e para o oxigênio na carbonila do grupo lactona ($S_{(=O)}$, $T_{(=O)}$). Área total (A_T), Área polar (A_P), Volume Molecular (V_{Molec}), Energia Total (E_T), energia do orbital ocupado de maior energia (E_{HOMO}), para a série de cumarinas.....	82
Tabela IV	Índices de retenção experimentais e calculados (I e I_{calc}) determinados nas fases LM-1 e CBP5 à 170°C e as diferenças $\Delta (I - I_{calc})$ e erros relativos, E_R , das equações 19 e 20 para a série de cumarinas estudada.....	86
Tabela V	Índices de retenção de Kováts de acetofenonas obtidas nas fases estacionárias: CBP5 e LM-1 (160°C) e alguns dos descritores moleculares estudados: $^1X^v$, índice de conectividade molecular de valência de 1ª ordem, A_T , área total, V_{MOLEC} , volume molecular, E_{HOMO} , energia do orbital molecular ocupado de mais alta energia, S_9 , índice do estado eletrotológico do átomo de carbono nº 9, S_1 , índice do estado eletrotológico do átomo de carbono nº 1, A_P , área polar, A_I , área insaturada e E_T , energia total.....	91
Tabela VI	Índices de retenção de Kováts de acetofenonas determinados em fase estacionária LM-1 ($I_{R_{LM-1}}$) à 160°C, índices calculados pelas equações 25 (Calc. Eq. 25) 26 (Calc. Eq. 26) e as diferenças entre os valores experimentais e os calculados (Dif. Eq. 25 e Dif. Eq. 26).....	96
Tabela VII	Índices de retenção de Kováts de triterpenos obtidos na fase estacionária LM-1 (280°C e 290°C) e alguns dos descritores moleculares estudados.....	105

Tabela VIII	Valores dos coeficientes de determinação, r^2 , entre as variáveis ${}^6X^V_p$, ${}^4X^V_{pc}$, A_P e ${}^3X^V_c$, envolvidas na Equação 28.....	111
Tabela IX	Índices de retenção de Kováts de triterpenos determinados em fase estacionária LM-1 a 290°C, índices calculados pela Equação 28 (Calc. Eq. 28) e as diferenças entre os valores experimentais e os calculados (Dif. Eq. 28).....	112
Tabela X	Índices de retenção de Kováts experimentais obtidos em fase estacionária LM-1 a 290°C, os calculados pela Eq. 28 da glochidona e da isoadiantona e as respectivas diferenças (Δ) entre estes valores.....	114
Tabela XI	Valores de C_i e δ_i para átomos de carbono primário, secundário, terciário e quaternário.....	118
Tabela XII	Valores de C_i e \log de C_i para átomos de carbono primário, secundário, terciário e quaternário em alcanos.....	121
Tabela XIII	Parâmetros estatísticos da relação entre os índices de retenção de 157 alcanos e os números de Wiener, ${}^3W_{CH}$, índices de conectividade, 1X e os índices semi-empíricos topológicos, I_{ET}	123
Tabela XIV	Valores de C_i e \log de C_i para átomos de carbono em cadeia carbônica de isômeros <i>cis</i> e <i>trans</i> de alcenos.....	125
Tabela XV	Valores de índices de retenção experimental, I_{EXP} , (esqualano 100°C) ¹¹⁸ , índices de retenção calculados, I_{CALC} (com I_{ET}), $\Delta I = I_{EXP} - I_{CALC}$ e valores dos índices semi-empíricos topológicos, I_{ET} calculados para diferentes alcenos com $C_5 - C_{14}$ átomos de carbono na cadeia linear.....	130

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

A_I = Área insaturada

A_P = Área polar

A_S = Área saturada

A_T = Área total

CBP5 = Fase estacionária de polidimetilfenilsiloxano (correspondente à SE-54).

E_{HOMO} = Energia do HOMO

E_{LUMO} = Energia do LUMO

E_T = Energia total

F = Nível de significância

GLC = (Gas-Liquid Chromatography)- Cromatografia gás-líquida.

H_i = Número de átomos de Hidrogênio ligados ao átomo *i*.

HOMO = (Highest Occupied Molecular Orbital)- Orbital molecular ocupado de mais alta energia.

^hX_{t^v} = índice de conectividade molecular de valência *v* do tipo *t* e ordem *h*.

I_{CBP5} = Índices de retenção de Kováts experimentais obtidos na fase CBP5.

I_{ET} = Índice semi-empírico topológico.

I_{LM-1} = Índices de retenção de Kováts experimentais obtidos na fase LM-1.

I_{x(T)} = Índice de retenção de Kováts da substância *x* na temperatura *T*.

LM-1 = Fase estacionária de polidimetilsiloxano (correspondente à OV-1).

log t'_{Rx} = logaritmo do tempo de retenção ajustado da substância *x*.

log t'_{Rz+1} = logaritmo do tempo de retenção ajustado de um alcano com *z + 1* átomos de carbono.

log t'_{Rz} = logaritmo do tempo de retenção ajustado de um alcano com *z* átomos de carbono, o qual elui imediatamente antes da substância *x*.

LUMO = (Lowest Unoccupied Molecular Orbital)- Orbital molecular desocupado de mais baixa energia.

^mP_i = subgráfico *P* de ordem *m*

QSAR = (Quantitative Structure-Activity Relationship)- Relação quantitativa entre estrutura e atividade.

QSPR = (Quantitative Structure-Property Relationship)- Relação quantitativa entre estrutura e propriedade.

QSRR = (Quantitative Structure-Retention Relationship)- Relação quantitativa entre estrutura e retenção.

r = Coeficiente de correlação linear

r² = Coeficiente de determinação

r²_{cv} = coeficiente de validação cruzada

S_(-o) = Índices do estado eletrotológico relacionados ao oxigênio da posição 1 das estruturas das cumarinas estudadas.

SD = Desvio-padrão da regressão

S_i = Índice do estado eletrotológico.

T_(-o) = Índices do estado topológico relacionados ao oxigênio da carbonila das estruturas das cumarinas estudadas.

T_(o) = Índices do estado topológico relacionados ao oxigênio da posição 1 das estruturas das cumarinas estudadas.

T_i = Índice do estado topológico.

T_R = Temperatura de retenção

t'_R = Tempo de retenção ajustado

t_M = Tempo de retenção do gás metano (tempo morto).

t_R = Tempo de retenção

v_δ = delta de valência

V_{MOLAR} = volume molar

V_{MOLEC} = Volume molecular

z = número de átomos de carbono do alcano que elui imediatamente antes da substância *x*.

Z_i = Número atômico do átomo *i*.

Z_i^v = Número total de elétrons de valência do átomo *i*.

δ = delta

Δ = Delta (diferença entre os índices de retenção experimentais e calculados).

¹K, ²K, ³K = índice Kappa

RESUMO

Neste trabalho foi aplicada a relação quantitativa entre estrutura e retenção cromatográfica (QSRR), empregando diferentes descritores moleculares para grupos de compostos com grande importância e aplicação farmacológica, tais como acetofenonas, cumarinas e triterpenos para identificar os fatores responsáveis pela retenção cromatográfica e assim auxiliar na previsão da retenção de compostos similares.

Para encontrar as equações que melhor descrevessem a retenção dos compostos estudados, utilizou-se o método da regressão linear múltipla.

A área total, A_t , foi um dos descritores mais significativos na descrição da retenção cromatográfica dos três grupos de compostos empregados. Isto demonstra que este é um fator importante nas interações entre o soluto e a fase estacionária de baixa polaridade, nos quais as interações dispersivas são predominantes.

Os outros descritores envolvidos foram de ajuste, uma vez que serviram para melhorar e explicar os fatores também relacionados com a interação soluto-fase estacionária. Estes descritores, tais como a energia do orbital molecular ocupado de mais alta energia, E_{HOMO} , índice do estado eletrotológico, S_i , e índices de conectividade molecular de valência de diferentes ordens, ${}^3X^v_c$, ${}^4X^v_{pc}$ e ${}^6X^v_p$, estão relacionados a fatores eletrônicos, assim como à presença e grau de ramificações.

Os parâmetros estatísticos, obtidos nas equações para os três grupos de compostos empregando-se o método de regressão linear múltipla, foram de boa qualidade. Os valores dos coeficientes de correlação, r , obtidos, ficaram acima de 0,9 e dos coeficientes de validação cruzada, r^2_{cv} , que dão a predictabilidade do modelo, também foram satisfatórios (na faixa de 0,84-0,9), mostrando a estabilidade do mesmo.

Estes resultados demonstraram que é possível aplicar a relação quantitativa entre estrutura e retenção (QSRR) para gerar modelos capazes de descrever com boa aproximação a retenção de compostos com características estruturais semelhantes.

Foi desenvolvido um novo índice topológico, aplicado inicialmente para alcanos e posteriormente para alcenos com o objetivo de diferenciar os isômeros *cis* e *trans*.

Na elaboração do novo índice, I_{ET} , (índice semi-empírico topológico) foram atribuídos valores distintos a cada átomo de carbono na molécula (alcanos e alcenos) baseados no comportamento cromatográfico experimental que é dependente de forças que operam entre as moléculas do soluto e as da fase estacionária.

As regressões lineares simples entre o índice de retenção de Kováts e o novo índice (I_{ET}) para os isômeros *cis* e *trans* de alcenos com cadeia linear de C_5 - C_{14} (1-eno, *cis* e *trans*-2-, 3-, 4-, 5-, 6- e 7 alcenos) são ótimas ($r=0,9999$) com uma seqüência de eluição correta. O modelo

apresentou um alto poder de predictabilidade, estabelecido pelo valor do coeficiente de validação cruzada, r^2_{cv} .

Este índice diferentemente dos demais já existentes, mostra que o novo método pode ser usado como uma ferramenta complementar para a elucidação da estrutura ou para a previsão da retenção cromatográfica de alcanos ramificados e de isômeros *cis* e *trans* de alcenos.

ABSTRACT

Quantitative structure-chromatographic retention relationship (QSRR) was applied in this work using different molecular descriptors, for groups of compound which have a great pharmacological importance as coumarins, acetophenones and triterpenes to identify the responsible factors for the chromatographic retention and in this way to help in the prediction of the retention index of similar compounds.

The multiple linear regression was applied to obtaining the best equations, that describe the chromatographic retention of the compounds studied.

The total area, A_T , was one of the most signified descriptors in the description of the chromatographic retention of the three groups of studied compounds. This demonstrates that it is an important factor in the interactions between the solute and the stationary phase of low polarity, where the dispersive interactions are predominant.

The others involved descriptors were of adjustment, once they were good to improve and also to explain other factors related with the interaction solute-stationary phase. These descriptors, such as the highest occupied molecular orbital, E_{HOMO} , the electrotopological state index, S_i , and molecular connectivity index of different orders, ${}^3X^V_c$, ${}^4X^V_{pc}$ and ${}^6X^V_p$, are related to electronic factors, as well as to the presence and degree of branches.

The statistical parameters obtained in the equations for the three groups of compounds being used the method of multiple linear regression, were of good quality. The obtained values of the correlation coefficients, r , were above 0,9 and of the cross validation coefficients, r^2_{cv} , that give the model predictability, they were also satisfactory (range of 0,84-0,9), showing the stability of the proposed model.

These results showed that it is possible to apply quantitative structure-retention relationship (QSRR) to generate models capable to describe with good approach the retention of compounds with similar structural characteristics.

A new index, I_{ET} , (semi-empiric topological index) was developed being applied firstly for alkanes and after for alkenes with aim to differentiate *cis*- and *trans* - alkenes isomers .

In the elaboration of the new index, I_{ET} , (semi-empiric topological index) different values were attributed to each carbon atom in the molecule (alkanes and alkenes), based in the experimental chromatographic behavior, that are dependent of forces that operate between the solutes and the stationary phase.

The simple linear regressions between the Kováts retention index and the new index (I_{ET}) for branched alkanes and *cis*- and *trans*- alkenes isomers with linear chain of C5-C14 (1-ene, *cis* and *trans*-2 -, 3 -, 4 -, 5 -, 6 - and 7 alkenes) it is very good ($r=0,9999$) and with a correct elution sequence. The model showed a high predictive ability as established by cross-validation values, r^2_{cv} . Showing that the new

method may be used as a complementary tool for elucidation of the molecular structure or for prediction of the chromatographic retention of the alkenes with *cis*- and *trans*- isomeric structures and branched alkanes.

CAPÍTULO I

Introdução

1.1 Introdução Geral

Inúmeras pesquisas têm sido realizadas, com o objetivo de encontrar ou aperfeiçoar técnicas analíticas que possam ser utilizadas na caracterização e identificação de compostos.

A grande preocupação analítica com as questões ambientais, de saúde, de alimentação, assim como o surgimento de rotas sintéticas alternativas e novas matérias-primas, faz com que haja a necessidade de se controlar ou identificar os compostos envolvidos nestes processos. Deve-se ainda considerar que além do baixo custo, é de grande importância que os métodos analíticos a serem utilizados devam usar as menores quantidades possíveis de reagentes e amostra, assim como serem efetuados com o menor número possível de etapas de manuseio, minimizando-se com isto os riscos de contaminações ambientais pelos reagentes e perda ou contaminação da amostra.

Técnicas analíticas tais como GC e GC-MS, apesar de serem amplamente utilizadas e de grande importância para a identificação de compostos, necessitam de padrões, os quais são usados para comparar seus dados com os das amostras desconhecidas, a fim de identificá-las. Porém, nem sempre estes padrões estão disponíveis ou são acessíveis.

Procurando atender a estas questões, modelos matemáticos têm sido propostos como um método alternativo e uma ferramenta analítica para auxiliar na caracterização e identificação de compostos. Eles são obtidos a partir da quantificação das relações existentes entre

a estrutura química de uma molécula e determinada propriedade que lhe seja característica, utilizando-se correlações simples e múltiplas entre propriedades dos compostos sob estudo e diferentes parâmetros estruturais. A análise e compreensão destas relações é feita através de estudos da relação quantitativa entre estrutura e propriedade (QSPR).

1.2 Cromatografia Gasosa

A introdução da cromatografia gasosa, em 1952, por James e Martin¹, foi um importante marco na química analítica, que mais tarde contribuiu para que importantes estudos envolvendo esta técnica tivessem êxito.

A cromatografia em fase gasosa²⁻⁴ ou simplesmente cromatografia gasosa é um método físico-químico de separação onde as moléculas do soluto são transportadas por uma fase móvel gasosa que passa através de uma coluna a qual está internamente revestida com a fase estacionária. À medida que os compostos eluem da coluna, regulados pelo tempo que as moléculas permanecem em contato com a fase estacionária, elas passam pelo detector, que então envia sinais a um sistema de aquisição de dados, o qual os transforma em picos caracterizando a presença de um determinado componente do composto.

Existem diversos tipos de detectores³, adequados às mais diferentes matrizes. Diversas também são as fases estacionárias disponíveis.

Sendo a cromatografia gasosa uma das técnicas mais empregadas atualmente para análise em química, ela é muito útil para ajudar a determinar a composição de diversas substâncias, com eficiência, reprodutibilidade e sobretudo em um tempo relativamente curto. Aliados a todos estes fatores, estão ainda o custo relativamente baixo e a disponibilidade dos acessórios utilizados pela técnica. Além destas, existem outras características que tornam a cromatografia um método usual de análise, que são a seletividade e a possibilidade de uma quantidade reduzida da amostra.

Na cromatografia gás-líquido²⁻⁴, técnica analítica empregada neste trabalho para a obtenção de dados experimentais, a separação ocorre por partição da amostra entre a fase móvel gasosa e uma camada fina de um líquido não volátil (de baixa pressão de vapor) à temperatura de trabalho, e de alta estabilidade química. A separação decorre das diferenças de solubilidade dos componentes da amostra na fase estacionária³, devido às diferentes interações que ocorrem entre as moléculas do soluto e àquelas da fase estacionária.

1.3 Índice de Retenção de Kováts

Desde o começo do uso da técnica de cromatografia gasosa, os dados de retenção publicados eram apresentados de diferentes formas e deste modo sua utilização em diferentes laboratórios era

limitada. Porém, com a elaboração do conceito de índice de retenção de Kováts em grande parte estes problemas foram solucionados.

Em 1958, Kováts⁵ introduziu o conceito de índice de retenção em cromatografia gás-líquida (GLC). Com este conceito, além de uniformizar as informações a respeito da retenção de compostos, pôde-se utilizá-lo para desvendar e compreender as relações existentes entre os índices de retenção e grandezas físico-químicas relacionadas à cromatografia gás-líquida. Estas grandezas podem ser o ponto de ebulição, peso molecular, número de átomos de carbono e outras.

Kováts⁵ verificou que para uma série homóloga de n-alcenos, existia uma relação entre o número de átomos de carbono e um valor calculado segundo a equação (Eq. 4) por ele proposta, o qual, era 100 vezes o número de átomos de carbono de um alcano hipotético com o mesmo tempo de retenção ajustado. A este valor foi dado o nome de índice de retenção de Kováts.

$$I_{x(T)} = 100z + 100 \left\{ \frac{\log t'_{Rx} - \log t'_{Rz}}{\log t'_{R(z+1)} - \log t'_{Rz}} \right\} \quad (1)$$

Onde $I_{x(T)}$ é o índice de retenção da substância x a uma dada temperatura, t'_{Rx} é o tempo de retenção ajustado da substância x , t'_{Rz} é o tempo de retenção ajustado de um alcano com z átomos de carbono, que elui imediatamente antes da substância x , e $t'_{R(z+1)}$ é o tempo de

retenção ajustado de um n-alcano com $n+1$ átomos de carbono, que elui imediatamente após a substância x .

Desde o começo do uso da técnica de cromatografia gasosa, os dados de retenção publicados eram apresentados de diferentes formas e deste modo sua utilização em diferentes laboratórios era limitada. Porém, com a elaboração do conceito de índice de retenção de Kováts em grande parte estes problemas foram solucionados.

Nos anos que sucederam-se à proposta do conceito de índice de retenção, muitos pesquisadores, dentre eles, os citados nas referências 6-9, interessaram-se pelo assunto, descrevendo vários aspectos teóricos e práticos envolvendo este conceito.

Os anos de 1964 e 1969 foram importantes para o progresso nos estudos referentes ao conceito de índice de retenção. Foi em 64 que as questões mais importantes e os conhecimentos a respeito dos índices de retenção foram abordados durante o 2º Simpósio Internacional sobre Cromatografia Gasosa, ocorrido em Houston nos Estados Unidos. Nesta oportunidade foram discutidas várias fontes de erros na determinação dos índices de retenção. O chamado Sistema de Índices de Retenção (SIR) foi então criado por Ettre. Em 69 foi consolidado o SIR, na ocasião do 5º Simpósio de Métodos de Separação: Cromatografia em Coluna em Lausanne (Suíça).

Nos anos 80, houve um progresso dos trabalhos e pesquisas envolvendo índices de retenção e estrutura molecular.

Em cromatografia gasosa, a propriedade diretamente medida é o tempo de retenção total. Este valor é a soma de dois fatores, tempo morto (t_M) e tempo de retenção ajustado (t'_R), conforme a seguinte equação:

$$t_R = t_M + t'_R \quad (2)$$

Em condições isotérmicas, os índices de retenção de Kováts de compostos desconhecidos podem ser obtidos diretamente da equação:

$$\ln t'_R = bI + c \quad (I = 100z) \quad (3)$$

onde b e c são constantes.

Quando os tempos de retenção ajustados são usados para calcular os índices de Kováts, os parâmetros de retenção obtidos dependem somente da temperatura e da fase estacionária usada.

O valor de um índice de retenção denota a posição de um composto desconhecido em relação a um conjunto de n -alcanos, os quais são cromatografados em condições idênticas ao composto¹⁰. Eles são usados em comparações de análises feitas em um mesmo laboratório ou entre laboratórios diferentes, em condições idênticas, com o objetivo de identificar picos cromatográficos, com uniformidade dos dados de retenção.

Durante as comemorações dos 25 e 30 anos do Sistema de Índices de Retenção, Budahegyi e colaboradores^{11,12} em 1983 e 1989 publicaram dois trabalhos onde são mencionados e discutidos diversos aspectos que dizem respeito direta ou indiretamente à determinação,

expressão e relação dos índices de retenção com outras propriedades. Ressalta-se porém que estas relações dos índices com propriedades foram analisadas na maioria dos casos para séries homólogas e hidrocarbonetos.

Vários aspectos envolvidos na obtenção e compreensão destes dados de retenção, tais como tempo morto, erros, métodos de determinação, relação entre as condições de temperatura em que foram determinados os índices, previsão destes índices a partir de equações, comparação de métodos matemáticos para obtê-los, foram amplamente discutidos por vários autores¹¹⁻²⁰.

Levando-se em conta que o conceito de Kováts foi introduzido para dados obtidos isotermicamente, em 1963 Van Den Dool e Kratz⁶ descreveram a determinação e cálculo de índices de retenção com programação linear de temperatura. Eles propuseram uma equação, semelhante àquela descrita por Kováts, onde porém ao invés de usar os tempos de retenção (t_R) dos compostos, emprega-se a temperatura de retenção (T_R).

$$I_{x(T)} = 100 z + 100 \left\{ \frac{T_{Rz} - T_{Rz}}{T_{R(z+1)} - T_{Rz}} \right\} \quad (4)$$

Assumindo-se uma taxa de aquecimento linear de $\beta^\circ\text{C}/\text{min}$ e usando-se o tempo de retenção, a equação 7 pode ser escrita da seguinte maneira:

$$I_{x(T)} = 100 z + 100 \left\{ \frac{t'_{Rx} - t'_{Rz}}{t'_{R(z+1)} - t'_{Rz}} \right\} \quad (5)$$

O cálculo de índices de retenção para casos onde o programa de temperatura é combinado com períodos isotérmicos ou onde a velocidade do programa é alterada durante a análise, é mais complicado²¹.

Outros métodos de cálculo de índices de retenção foram propostos^{13,21-25} ao longo dos últimos anos.

O índice de retenção é independente de alguns parâmetros da técnica da cromatografia gasosa, tais como a natureza e a qualidade da coluna capilar, assumindo que não haja nenhum efeito das paredes da mesma, após adequado tratamento. Independe também da natureza e dos parâmetros físicos do gás de arraste (pressões de entrada e saída, fluxo, etc.), se estes parâmetros são mantidos constantes. Entretanto, alguns parâmetros afetam os valores dos índices de retenção: 1) Natureza química da substância analisada - somente um índice corresponde a uma estrutura química, em determinadas condições cromatográficas, porém várias estruturas podem ter o mesmo índice de retenção. Portanto, deve-se utilizar diferentes fases estacionárias e diferentes temperaturas para se determinar a qual estrutura corresponde um determinado índice.

2) Natureza química da fase estacionária - dependendo da estrutura química e das propriedades físico-químicas da fase estacionária

usada, os índices de retenção terão diferentes valores em uma mesma temperatura para um dado composto.

3) Temperatura da coluna - a dependência do índice de retenção em relação à temperatura tem sido amplamente discutida desde a introdução do Sistema de Índices de Retenção (SIR) na década de 60. Por muitos anos admitiu-se a relação linear entre o índice e a temperatura da coluna. Entretanto, os índices até então foram determinados na maior parte em fases estacionárias apolares e alcanos foram usados como substâncias modelo. Porém, com o surgimento de novas fases, com polaridades cada vez maiores e de outras substâncias usadas para testar esta relação, a linearidade desta relação tornou-se questionável. Isto levou pesquisadores a proporem uma equação não-linear aproximada¹¹. Desta forma, a relação dos índices de retenção com a temperatura pode ser descrita por uma curva hiperbólica tipo Antoine:

$$I(T) = A + B/(T + C) \quad (6)$$

onde T é a temperatura da coluna (K) e A, B e C são constantes²⁶.

1.3.1 Fontes de Erros na Determinação do Índice de Retenção

Existem algumas fontes importantes de erros na determinação dos índices de retenção: a) erros na determinação dos tempos de retenção devido à quantidade de amostra, erros do analista e erros de medida; b) erros na medida ou cálculo do tempo morto;

c) flutuações de parâmetros instrumentais ou cromatográficos (temperatura da coluna e velocidade do gás de arraste).

1.3.2 Determinação do Tempo Morto

O tempo morto, isto é, o tempo que uma substância que não interage com o sistema cromatográfico leva para percorrê-lo nas mesmas condições de análise das amostras, é um parâmetro importante que aparece na equação usada para expressar o índice de retenção e também influencia a precisão das determinações destes índices.

Portanto, para determinar experimentalmente o tempo morto, deve-se escolher substâncias que em determinadas condições cromatográficas, não sejam retardadas pela fase estacionária, ou seja, não tenham nenhum tipo de interação com ela.

Por ser tão importante para a determinação do índice de retenção, vários autores¹¹⁻²⁰ publicaram trabalhos sobre a determinação do tempo morto, incluindo os métodos empregados, discussão dos erros e aspectos teóricos que envolvem a sua determinação experimental.

CAPÍTULO II

Fundamentos Teóricos

2.1 QSPR - Relação Quantitativa Estrutura-Propriedade

2.1.1 Conceito

A idéia de se correlacionar as funções das moléculas ou átomos com seus aspectos estruturais, teve como marco fundamental, a criação da tabela periódica dos elementos. Mendeleev, em 1870, agrupou os elementos químicos segundo suas propriedades através da correlação entre estrutura e propriedade.

Porém, antes mesmo de Mendeleev agrupar os elementos conforme suas propriedades e criar a tabela periódica, Crum Brown e Fraser em 1867 criaram um dos primeiros modelos de estrutura-propriedade²⁷. Contudo, o conceito da relação quantitativa estrutura-propriedade surgiu no início da década de 80, sendo explorado nos trabalhos de Boskovic²⁸. Ele contribuiu com a idéia fundamental de que as substâncias têm diferentes propriedades porque têm diferentes estruturas. Esta idéia foi usada por Davy para justificar a diferença entre o diamante e o grafite^{29,30}.

O estudo da relação quantitativa entre estrutura e propriedade^{31,32} (QSPR- *Quantitative Structure-Property Relationship*), analisa quantitativamente as relações existentes entre descritores estruturais de uma molécula, como os físicos, químicos, topológicos, geométricos ou eletrônicos e determinadas propriedades, como a

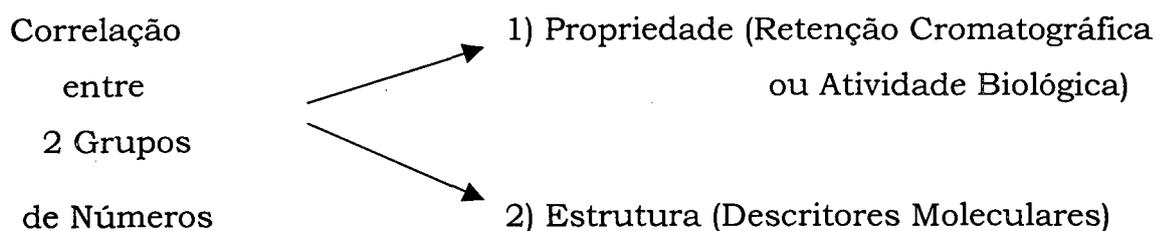
retenção cromatográfica (QSRR- *Quantitative Structure-Retention Relationship*) ou a atividade biológica (QSAR- *Quantitative Structure-Activity Relationship*). A meta é a obtenção de uma indicação uniforme de relação entre tais parâmetros e propriedades. Estas relações são expressas através de modelos matemáticos que permitem a previsão de propriedades a partir de parâmetros estruturais. Esta expressão matemática descreve como uma determinada propriedade, a atividade biológica ou a retenção cromatográfica, varia como uma função da alteração das propriedades físicas e/ou químicas representadas por descritores moleculares. Com isto é possível identificar qual propriedade física e/ou química está relacionada com determinada mudança da retenção ou da resposta biológica de um composto.

Considerando-se que as propriedades físicas, químicas e biológicas de uma molécula estão intimamente relacionadas às suas características estruturais, o esqueleto molecular tem sido usado com sucesso como um veículo conveniente para expressar informações estruturais. Boskovic introduziu a idéia de representar os átomos por pontos no espaço²⁸. Com base neste princípio foi introduzido o conceito de gráfico químico³³, que baseia-se na representação da estrutura química na qual os sítios (átomos, elétrons, moléculas ou fragmentos de moléculas) são representados por pontos e as conexões (ligações), por linhas. Para simplificar a manipulação dos gráficos moleculares (gráficos químicos), as estruturas são representadas suprimindo-se os

átomos de hidrogênio. Desta maneira o gráfico representa somente o esqueleto molecular.

Para uma série de compostos, toda mudança na estrutura química, é acompanhada por uma proporcional alteração de alguma de suas propriedades. Os descritores podem representar estas alterações na forma de simples números.

A representação de uma estrutura molecular por um simples número, surge do fato de que a maioria das propriedades moleculares são representadas por números, deste modo o modelo da relação estrutura-propriedade (QSPR)³¹ reduz-se a uma relação entre dois conjuntos de números via uma expressão algébrica, onde um deles representa a propriedade e o outro, a estrutura da molécula sob estudo.



A QSPR³¹ é um modelo que deve abranger compostos de estruturas similares e que exibem comparáveis modos de ação e comportamento num dado sistema.

Mihalic e Trinajstic³³ apresentaram através de um diagrama de fluxo, as etapas envolvidas em uma das maneiras de se construir modelos de QSPR. A figura 1 mostra este modelo.

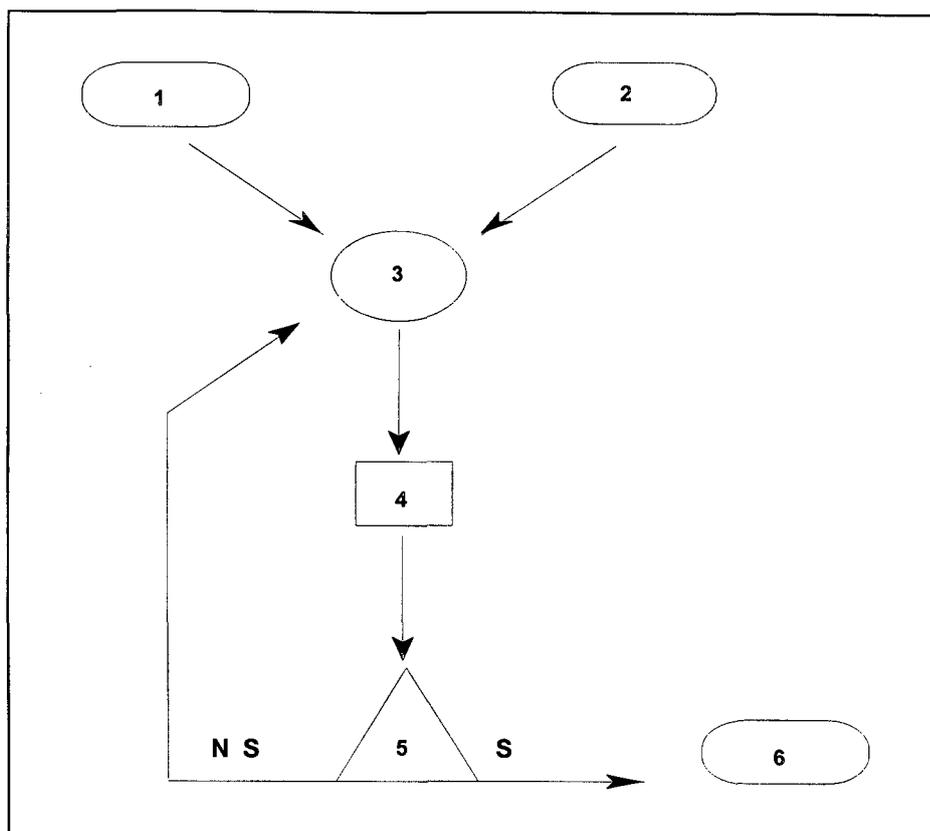


Figura 1. Diagrama de fluxo para construção de modelos QSPR.

Na etapa 1, são tomados os dados experimentais de um determinado grupo de moléculas, onde todos os compostos do grupo sejam quimicamente similares e que tenham comportamento semelhante em um dado sistema. Este grupo é chamado algumas vezes de grupo de treinamento. Os dados devem ser confiáveis e exatos, pois a qualidade das demais etapas será afetada por eles.

Na etapa 2, os descritores topológicos são selecionados e computados. A escolha apropriada dos descritores, facilitará a

descoberta do modelo mais exato. O número de descritores envolvidos, dependerá da aplicação, ou seja, da complexidade dos fenômenos envolvidos no sistema analisado. Porém, devem apenas ser suficientes para abrangerem os possíveis principais fatores que tomem parte em tal sistema.

Na etapa 3, os dois grupos de números são estatisticamente analisados. Esta é a etapa central na elaboração de modelos de estrutura-propriedade.

Na etapa 4, são feitas as previsões com valores de descritores moleculares de espécies que não fazem parte do grupo inicial tomado na elaboração do modelo de QSPR. Moléculas desconhecidas são, então, estruturalmente relacionadas ao grupo de compostos iniciais.

Na etapa 5, as previsões feitas com moléculas desconhecidas podem ser confirmadas através da determinação experimental.

Na etapa 6, se os testes confirmam as previsões, o modelo de QSPR é aceito na sua forma final com seus dados estatísticos. Se o modelo não for satisfatório (NS), o procedimento deverá ser repetido até que se obtenha um modelo satisfatório (S).

O modelo obtido será útil para a previsão de propriedades de compostos hipotéticos e para a pesquisa de novos compostos com propriedades pré-estabelecidas.

2.1.2 Aplicações

Desde a era da alquimia, pesquisadores estiveram engajados em investigações por tentativa e erro com o objetivo de identificar compostos capazes de curar ou no mínimo aliviar condições de saúde que acreditavam que fossem anormais. Estes esforços acompanharam os avanços da tecnologia. Na área da computação estes avanços permitiram que se pudesse simular através de programas computacionais os efeitos de determinados compostos e até mesmo propor estruturas ainda inexistentes e testar sua atividade biológica ou farmacológica.

Em 1868, Crum-Brown e Fraser²⁷ propuseram uma equação que é considerada como a primeira formulação geral de uma relação quantitativa entre estrutura e atividade biológica. Eles assumiram que a atividade fisiológica Φ deveria ser uma função da estrutura química C .

$$\Phi = f(C) \quad (7)$$

Richet³⁴, em 1893, descobriu que a toxicidade de compostos orgânicos seguem inversamente sua solubilidade em água. Tal relação corresponde à seguinte equação, onde $\Delta\Phi$ são as diferenças nos valores de atividade biológica, causadas por mudanças correspondentes nas propriedades químicas e especialmente nas fisico-químicas, ΔC .

$$\Delta\Phi = f(\Delta C) \quad (8)$$

Todas as equações de QSAR³⁵ correspondem a propriedades físico-químicas, pois somente as diferenças nas atividades biológicas estão quantitativamente relacionadas com mudanças na lipofilicidade e/ou a outra propriedade físico-química dos compostos sob investigação.

Foi a partir de 1964, ano do surgimento da moderna metodologia de QSAR³⁵, que se começou a tratar quantitativamente as relações entre estrutura e atividade.

Na época do trabalho pioneiro de Hansch³⁶, a metodologia de QSAR foi principalmente desenvolvida e empregada em projetos de novas drogas e pesticidas. Este método utiliza parâmetros experimentais para representar a estrutura química da molécula que são classificados como hidrofóbicos, eletrônicos e estéreos. Através destes parâmetros foram feitos estudos de interações entre droga e receptor^{35,37,38}.

Parâmetros que trazem informações de características estruturais são usados para a correlação da atividade biológica com estruturas químicas de uma maneira quantitativa. As propriedades físico-químicas têm uma especial importância, pois estão diretamente relacionadas às forças intermoleculares envolvidas na interação droga-receptor bem como à propriedades de transporte e distribuição das drogas.

A previsão por computadores de efeitos biológicos de compostos e seus sub-produtos no corpo, podem nos levar mais

rapidamente a salvadoras e potentes novas drogas, mas à necessidade de menor número de testes farmacológicos e toxicológicos em animais e por conseguinte, menores tempo de pesquisa e custos.

A cromatografia tornou-se uma poderosa ferramenta na determinação de dados estruturais empregados em estudos de QSAR, uma vez que esta técnica analítica pode ser um parâmetro de medida ou de avaliação das interações moleculares de compostos. Assim, em QSAR, pode-se correlacionar dados cromatográficos com a capacidade de uma droga em participar de interações dipolo-dipolo com o receptor biológico é de fundamental importância para sua bioatividade. Como as determinações de momento de dipolo são trabalhosas, há a necessidade de aplicar um método conveniente para medi-los, ou uma quantidade que esteja relacionada a eles. Kaliszan³⁹ usou parâmetros de polaridade de cromatografia gasosa de fenóis substituídos. Estes parâmetros de polaridade foram comparados aos momentos de dipolo calculados.

As interações de drogas com seus equivalentes biológicos são determinados por forças intermoleculares, isto é, por interações hidrofóbicas, polares, eletrostáticas e estéreas. A forma da estrutura tridimensional da droga em relação ao seu sítio de ligação também é uma condição importante para sua atividade biológica.

Se um sistema biológico se mantiver constante, a interação de duas diferentes drogas com o sítio de ligação, assim como sua distribuição no sistema, depende somente das estruturas químicas dos compostos. Se estas estruturas estão intimamente relacionadas, porém

com uma pequena diferença em sua estrutura (posição ou tipo de substituinte) as diferenças em suas propriedades físico-químicas e nas forças de interação podem ser descritas de uma maneira quantitativa e a correspondente diferença nas atividades biológicas podem estar diretamente relacionadas às diferenças nestas propriedades.

Gupta³⁸ usou um modelo de QSAR para estudar o comportamento de inibidores enzimáticos. Buydens⁴⁰ estudou a combinação de parâmetros através de relações lineares de energia livre, como por exemplo as constantes de Hansch³⁶ e de Hammett⁴¹, com parâmetros topológicos para relacioná-los ao comportamento cromatográfico.

Na química analítica, os estudos entre estrutura e propriedade podem ser usados na previsão da retenção cromatográfica (QSRR), onde é proposta uma relação entre a estrutura do composto e sua retenção. Esta relação pode então ser usada para prever a retenção e portanto a provável estrutura de compostos semelhantes, fornecendo informações importantes sobre a presença de determinados grupos funcionais, insaturações, ramificações ou heteroátomos nas moléculas.

2.1.3 QSRR - Relação Quantitativa Estrutura-Retenção

A retenção cromatográfica está relacionada com as diferenças de energia observadas quando as moléculas do soluto se distribuem sobre a fase estacionária ao atravessarem o sistema

cromatográfico³⁹. Esta mudança de energia por sua vez, é dependente das características estruturais das moléculas deste composto. Daí a possibilidade de estabelecer-se uma relação entre a estrutura molecular e a retenção cromatográfica. Com isto, no caso da QSRR, são analisadas as relações entre a retenção cromatográfica e o esqueleto molecular.

Utilizando-se a técnica da cromatografia gasosa²⁻⁴, podem ser considerados na relação tanto os tempos como os índices de retenção dos compostos.

A correlação entre estrutura e retenção cromatográfica (I) pode ser expressa na sua forma mais geral pela equação

$$I = f(x) \quad (9)$$

onde $f(x)$ é um parâmetro estrutural e/ou físico-químico. O principal objetivo é encontrar parâmetros experimentais ou teóricos que relacionados com retenção, para uma série de moléculas, dêem uma correlação estatisticamente significativa. Se uma boa equação ou modelo é encontrado, este pode ser usado para prever estruturas de outras moléculas. Este é o mais importante aspecto dos métodos teóricos.

O início dos estudos de correlação entre estrutura dos solutos e sua retenção cromatográfica foi marcado pelo trabalho de Martin⁴², que sugeriu que um substituinte muda o coeficiente de partição de um soluto por um fator que depende da natureza deste substituinte e das fases móvel e estacionária, mas não do resto da molécula⁴³. Analogamente, como reportado por Buydens⁴⁴ o comportamento das moléculas em um dado sistema por cromatografia

gasosa, resulta de interações entre estas moléculas e a fase estacionária. Estas interações dependem da estrutura do composto, isto é, da presença e natureza dos substituintes, tamanho e forma das moléculas e presença ou não de insaturações. Isto demonstra que a força destas interações, bem como a sua natureza, podem ser descritas através destas e de outras características estruturais.

Apesar da previsão de Martin⁴², em 1949, de que correlações poderiam ser feitas entre parâmetros cromatográficos e o número de átomos de carbono para uma série homóloga, os estudos da relação entre índice de retenção e estrutura molecular, só começaram a ser mencionados a partir dos anos 80. Os cálculos e pesquisas envolvendo esta relação, têm sido extensivamente desenvolvidos e aplicados.

Esta área tem um grande potencial para desenvolvimento, já que existe um crescente número de programas computacionais capazes de calcular os mais diversos descritores estruturais, através de diferentes métodos. Outro motivo do desenvolvimento destes estudos é a disponibilidade de dados de retenção na literatura e facilidade de obtê-los experimentalmente.

Existem muitas equações empíricas e semi-empíricas relacionando a retenção cromatográfica com alguns parâmetros de descrição molecular e propriedades moleculares dos solutos. Parâmetros tais como o volume molar, a refratividade e o volume de Van Der Waals⁴⁵, são freqüentemente usados nos estudos de QSAR e QSRR.

Outros parâmetros também são usados, como o número de átomos de carbono, massa molecular, energia dos orbitais de fronteira⁴⁶⁻⁴⁸ e momento dipolar. De uma maneira geral estes parâmetros podem refletir a natureza do comportamento cromatográfico.

Descritores topológicos, tais como índices de conectividade molecular^{49,50}, descritores geométricos, eletrônicos e combinados⁵¹ e ainda, propriedades físico-químicas, podem ser usados para quantificar estas características. Chamamos de descritores a estas características e propriedades quantificadas⁵².

Estudos de QSRR têm basicamente duas aplicações importantes, a previsão da retenção cromatográfica e a explicação do comportamento da retenção soluto-fase estacionária dentro da coluna.

Normalmente os descritores são relacionados aos índices de retenção de Kováts⁵ através da regressão linear múltipla.

Kováts⁵ foi quem inicialmente descreveu relações entre a retenção de compostos no sistema por cromatografia gasosa e aspectos relacionados a sua estrutura. Ele verificou que a adição de átomos de carbono à molécula (unidades de metileno) produzia um aumento da retenção. Das suas observações com relação a este trabalho surgiu a proposta de sua equação⁵ amplamente utilizada.

Uma vez encontrada uma boa correlação, avaliada através dos dados estatísticos obtidos, informações importantes podem ser tiradas desta relação. Com a alteração de certas condições

cromatográficas, tais como temperatura e fase estacionária, ocorrem mudanças na retenção dos compostos analisados. Estas mudanças podem ser tratadas como fontes de informações a respeito da habilidade destes compostos de estarem envolvidos em diferentes tipos de interações intermoleculares.

Desde então, muitos outros pesquisadores colaboraram com esta área de estudos, podendo-se citar os trabalhos de Clayton^{53,54} em 1961 e 1962 o qual explorou a variação do tempo de retenção de alguns esteróis, sob influência de certos fatores estruturais, tais como peso molecular, presença de insaturações, polaridade e presença de certos grupos funcionais. Ele sugeriu que fatores estéreo, interações intramoleculares e volume molar, pudessem ter determinado as diferenças observadas nos tempos de retenção.

Parâmetros estéreo e indutivos foram estudados por Saura-Calixto^{55,56} que utilizou índices de retenção de diferentes grupos de compostos, na correlação com a estrutura.

Buydens⁴⁴ em 1983 e Righezza e colaboradores⁵⁷ em 1996, utilizaram a QSRR para avaliar o comportamento de álcoois, cetonas, benzenos substituídos, benzaldeídos e acetofenonas em diferentes fases estacionárias e condições de temperatura. Körtvélyesi e colaboradores⁴⁵ demonstraram em seu artigo que as diferenças verificadas nos valores dos índices de retenção de azo compostos e de alcanos, podiam ser atribuídas às diferenças nos volumes e áreas de Van Der Waals destes compostos. Heinzen e Yunes^{58,59} (1992 e 1993) em diferentes trabalhos

usaram o índice de conectividade molecular para avaliar a possibilidade destes índices de preverem os índices de retenção cromatográficos de isômeros de alquil benzenos lineares e também de pesticidas clorados. A relação entre as estruturas e os índices de conectividade molecular de algumas tetralonas e cumarinas foi avaliada no trabalho de Arruda⁶⁰ em 1993. Outro grupo de cumarinas foi usado no trabalho recente de Soares e colaboradores⁶¹ para aplicação dos estudos de QSRR com o objetivo de prever a retenção destes compostos, utilizando outros descritores moleculares. Soares⁶² também avaliou a capacidade de previsão da retenção de acetofenonas através de QSRR.

Índices de retenção foram previstos por Buydens⁴⁰ a partir de equações envolvendo parâmetros topológicos e/ou relacionados à estrutura química de alcanos e ésteres metílicos, onde parâmetros tais como as constantes de Hammet⁴¹ e de Hansch³⁶, índices de conectividade molecular, de Wiener⁶³ e Hosoya⁶⁴, foram usados na tentativa de descrever o comportamento cromatográfico dos compostos considerados.

Nos estudos de Bermejo e Guilén⁶⁵ os índices de retenção de Kováts de álcoois saturados foram relacionados a algumas de suas propriedades físico-químicas e topológicas por meio de análises de regressões lineares múltiplas. Considerações foram feitas a respeito das interações existentes entre os álcoois estudados e as diferentes fases estacionárias utilizadas.

Estudos da relação entre parâmetros relacionados à polarizabilidade eletrônica e índices de retenção foram descritos em diversos trabalhos na década de 80^{48,66-68}. Outros parâmetros foram considerados em outras pesquisas, envolvendo os mais diferentes tipos de compostos, onde pesquisadores como Jurs⁶⁹, Kaliszan⁷⁰, García-March⁷¹, Barmejo⁶⁶, Massart e Buydens⁷², Kier⁷³ e outros, têm coordenado vários trabalhos na área de QSRR, nos últimos anos.

Uma vez que os fenômenos determinantes da separação no sistema cromatográfico são da mesma natureza daqueles que ocorrem no sistema biológico, existem trabalhos envolvendo a retenção cromatográfica e a atividade biológica em um mesmo estudo. Através de uma revisão Kaliszan⁴³ apresentou uma série de considerações que envolvem a cromatografia nos estudos de QSAR. Nele são discutidas as condições cromatográficas para a determinação da hidrofobicidade, onde são comentadas as otimizações do processo de partição. Neste mesmo trabalho ele também demonstrou que dados estéreo e eletrônicos podem ser calculados por cromatografia gasosa através da utilização de fases nemáticas⁴³. Outra consideração importante é de que as mesmas interações intermoleculares fundamentais determinam o comportamento de compostos tanto no ambiente cromatográfico como no biológico. Os processos biológicos de absorção, distribuição, excreção e ativação do receptor são dinâmicos como a distribuição no processo cromatográfico. Devido a estas possíveis analogias pode-se

obter informações importantes de interações que ocorrem no sistema cromatográfico e aplicá-las ao sistema biológico e vice-versa.

2.2.2 Interações Intermoleculares

A distribuição de um soluto entre a fase móvel e a estacionária depende das forças existentes entre as moléculas do soluto e aquelas de cada fase (móvel e estacionária). Estas forças estão divididas em dois grupos: (1) Forças polares surgindo de campos elétricos permanentes ou induzidos associados com as moléculas das fases e do soluto; (2) Forças não polares, forças de dispersão não específicas (London ou forças Van Der Waals)⁶⁷.

As principais interações que afetam a solubilidade de um soluto em uma fase estacionária líquida e portanto a retenção, são as de dispersão, indução, orientação e interações do complexo doador-receptor, incluindo ligação de hidrogênio⁷⁴⁻⁷⁷.

Se alguma informação for obtida a respeito da natureza das interações que ocorrem entre as moléculas do soluto e as moléculas da fase estacionária, então o comportamento de um soluto particular num dado sistema cromatográfico pode ser discutido. Porém, ainda não são descritos todos os fatores que influem na retenção, devido à falta de conhecimento com relação à natureza exata das interações soluto-solvente.

Para uma fase estacionária apolar, as interações de um soluto apolar depende das forças de dispersão de London. A força deste tipo de interação é proporcional ao número de elétrons na molécula, o que faz com que a área superficial ou o volume molecular aumente com o aumento das forças dispersivas⁴⁵.

A magnitude das forças totais que atuam entre o soluto e a fase estacionária depende da magnitude e natureza das forças que atuam entre cada molécula do soluto e dada molécula daquela fase, suas probabilidades de interação e da posição de contato¹.

2.2.1.1 Interações Dipolo-Dipolo

Estas interações entre soluto e fase estacionária ocorrem através de forças de Van Der Waals, que são interações fracas.

As forças que contribuem para a interação de Van Der Waals são as de atração, indução, dispersão e a eletrostática, sendo que a maioria das separações cromatográficas se dão através das forças de indução, que resultam da interação entre um dipolo permanente, do soluto ou da fase estacionária, e um dipolo induzido¹.

As interações de Van Der Waals são uma medida das forças resultantes de campos elétricos gerados por moléculas a longa distância. Estas interações dividem-se em três grupos:

- Interações de orientação (efeito Keesom)- surgem da atração entre moléculas que possuem um momento de dipolo permanente. As

interações de orientação (ou dipolo-dipolo) são características de moléculas polares.

- Interações de indução (efeito Debye)- surgem da interação de um dipolo permanente com uma molécula polarizável.
- Interações de dispersão (efeito London)- forças que surgem do campo elétrico gerado por dipolos formados entre núcleos e elétrons no ponto zero de movimento das moléculas, agindo sobre a polarizabilidade de outras moléculas para produzir dipolos induzidos na fase com os dipolos instantâneos.

2.2.2.2 Interações Dipolo-Dipolo Induzido

São interações onde ocorrem atrações entre uma molécula possuindo um momento de dipolo permanente e uma molécula não polar. Neste caso o dipolo elétrico de uma molécula pode induzir o momento de dipolo em uma molécula vizinha.

Semelhantemente, um momento de dipolo induzido pode também ser produzido em moléculas polares, isto é, em moléculas que já possuem um momento de dipolo permanente, porém o momento de dipolo induzido é relativamente pequeno quando comparado a um permanente.

2.2.2.3 Interações Dipolo Instantâneo-Dipolo Induzido

Estas forças estão associadas com todos os íons e moléculas, quer possuam um momento de dipolo estável ou não. Mesmo em átomos e moléculas sem momento de dipolo permanente, a flutuação contínua da densidade eletrônica resulta, num instante, em um pequeno momento de dipolo que pode polarizar o sistema eletrônico de átomos e moléculas vizinhas.

2.2.2.4 Ligações de Hidrogênio

As interações de Van Der Waals são classificadas como interações intermoleculares não específicas. As interações de hidrogênio são aproximadamente dez vezes mais fortes que as forças de interação intermoleculares não específicas, porém, dez vezes mais fracas que as ligações covalentes simples.

Quando um átomo de hidrogênio ligado covalentemente forma uma segunda ligação com outro átomo, a segunda ligação é chamada de ligação de hidrogênio.

2.2 Descritores Moleculares: Parâmetros estruturais relacionados a propriedades físico-químicas

Parâmetros estruturais e/ou físico-químicos tais como o número de átomos de carbono, massa molecular, volume molar, refratividade molar, momento dipolar, ponto de ebulição, área total, energia total, índices topológicos, descritores geométricos e eletrônicos, são amplamente usados nos estudos de correlação da estrutura com a retenção cromatográfica.

Quanto ao número de átomos de carbono, Kováts⁵ demonstrou em seus estudos que existia uma mudança regular na retenção cromatográfica de uma série de hidrocarbonetos homólogos, com o número de átomos de carbono. Porém, homólogos com menos de sete átomos de carbono não seguem esta linearidade¹². Várias correlações envolvendo o número de átomos de carbono são citados no artigo de Tarjan¹² e na obra de Kaliszan³¹.

Estudos de correlação feitos com a massa molecular apresentam boas correlações. Contudo esta correlação só é aplicável para séries homólogas⁷⁸.

O volume molecular muitas vezes usado nestes estudos³¹, é um descritor molecular que está relacionado à habilidade de um soluto para fazer parte de interações moleculares não específicas do tipo London (dispersivas). Por isso, o volume molecular é freqüentemente usado em análises de regressão múltipla, tanto em química medicinal

quanto em cromatografia para descrever estruturas que interagem com sistemas através de interações dispersivas. Foram encontradas boas correlações entre os índices de retenção de Kováts e o volume molecular para compostos relacionados^{55,56,66}. Baixas correlações são encontradas porém, quando fases estacionárias polares são usadas. Nestas fases ocorrem interações mais específicas, ou seja, polares, com as moléculas dos solutos.

O momento dipolar faz parte dos parâmetros relacionados às propriedades específicas dos grupos funcionais presentes nas séries, isto é, às interações polares. Ele é uma quantidade calculável, que caracteriza as constantes dielétricas e geralmente a polaridade química de um composto. Momentos de dipolo locais contribuem mais para a retenção do que dipolos totais das moléculas³¹.

O momento de dipolo tem sido empregado desde o final da década de 50 em estudos da relação entre estrutura e retenção cromatográfica, sendo correlacionado diretamente com os dados de retenção. Recentemente porém, tem sido mais utilizado em correlações múltiplas, isto é, juntamente com outros parâmetros estruturais com o objetivo de descrever mais convenientemente uma propriedade.

Parâmetros químico-quânticos^{79,80} são também empregados em estudos de correlação com o índice de retenção, onde equações de regressões múltiplas envolvendo estes parâmetros, juntamente com índices topológicos, têm mostrado a importância deles para a retenção de solutos em fases estacionárias de diferentes polaridades^{48,67,68,72}.

Estes parâmetros são calculados através de métodos semi-empíricos, tais como o MNDO, (do inglês: *modified neglect of diatomic overlap*)⁸¹, AM1, (do inglês: *Austin model1*)⁸² e PM3 (*Parametric method 3*)⁸³.

MNDO, AM1 e PM3, são métodos semi-empíricos baseados na correta inclusão de um centro de sobreposição, ou seja, não considerando sobreposições diferenciais diatômicas.

O AM1 faz boas descrições para sistemas ligados a hidrogênio, enquanto que o MNDO superestima as repulsões eletrônicas, sendo menos preciso que o AM1.

Tendências similares são obtidas ao serem utilizados estes diferentes métodos⁸⁴, mesmo que seus resultados sejam incomparáveis.

Estes métodos apresentam como vantagens um período relativamente curto no computador e também a possibilidade de parametrização para uma grande variedade de átomos. Através destes cálculos, pode-se determinar as conformações energeticamente mais favoráveis das moléculas e então parâmetros tais como a energia total (E_T), áreas polar (A_P), saturada (A_S), insaturada (A_I), total (A_T), energia dos orbitais de fronteira e outros, poderão ser obtidos.

Para fases polares, às vezes, ainda é necessária a combinação de parâmetros topológicos e eletrônicos³¹.

Boas correlações são encontradas entre o índice de retenção de Kováts e a energia total (E_T). Este parâmetro reflete propriedades dispersivas dos solutos, semelhantemente ao volume molar, número de átomos de carbono e outros descritores estruturais de volume. A

0-329.189-4

vantagem de se usar E_T ao invés dos demais parâmetros moleculares citados, é que ele diferencia isômeros. O termo E_T não é uma medida química real. Provavelmente ele reflete indiretamente as propriedades não específicas dos solutos, sendo que outros parâmetros quimicamente significantes estão contidos nele.

2.2.1 Descritores Topológicos

Por serem encontradas relações estreitas entre a estrutura molecular dos compostos orgânicos e muitas de suas propriedades físicas, químicas e biológicas⁷¹, muitos trabalhos são realizados empregando-se descritores topológicos³³.

Utilizando-se a teoria de gráficos químicos³³, pode-se transformar uma molécula em descritor de características estruturais. Estas características são expressas por índices numéricos, chamados índices topológicos³³. Neste gráfico os átomos das moléculas são colocados como pontos e as ligações entre eles, como linhas retas, sendo os átomos de hidrogênio suprimidos.

- **Gráfico Molecular**

A análise topológica de uma molécula começa com a representação da mesma como um gráfico, no qual os átomos das moléculas são colocados como pontos e a ligação entre eles como linhas

retas. Para simplificar sua manipulação representam-se os gráficos omitindo-se os átomos de hidrogênio e suas ligações, representando-se apenas o esqueleto molecular. A figura 2 mostra um gráfico representando o esqueleto molecular do 2,3,4 trimetil-hexano.

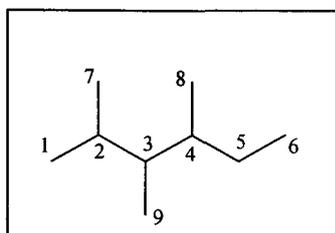


Figura 2- Gráfico molecular representando o esqueleto da molécula do 2,3,4 trimetil-hexano.

A estrutura topológica de uma dada molécula (gráfico químico) é convertida em um certo número que lhe é característico, o que permite que sejam feitas correlações entre as moléculas e suas propriedades, que também são algarismos.

Vários tipos de índices têm sido propostos³³ com o objetivo de se tentar quantificar atributos estruturais de moléculas. O crescente número daqueles que surgem relacionados à insaturação, à presença de heteroátomos e a outros aspectos estruturais, faz com que o interesse em pesquisá-los e aplicá-los seja cada vez maior.

Os índices mais comuns são os de Wiener⁶³, Randić⁸⁵, Balaban⁸⁶ e os índices de conectividade molecular^{85,87} desenvolvidos por Kier Hall^{49,50}. Além destes, existem índices também desenvolvidos por Kier e Hall, que são os índices Kappa⁸⁸ e os índices do estado eletrotopológico⁷³.

• Índices de Conectividade

Proposto por Randic⁸⁵ em 1975 e ampliado por Kier e Hall^{49,87} para diferenciar a natureza dos átomos e as insaturações. São valores numéricos (delta ou delta de valência) dados a cada átomo na molécula, dependendo do número de átomos a ele ligados, do tipo do átomo e do grau de insaturação.

A estrutura é considerada como um gráfico onde os átomos de hidrogênio não aparecem. Este gráfico molecular é decomposto em subgráficos com uma determinada ordem. Cada ordem está relacionada a fragmentos:

- a) ordem zero → átomo isolado
- b) primeira ordem → uma ligação, é o mais utilizado e apresenta informações sobre o número de átomos que compõe a molécula e seu grau de ramificação;
- c) segunda ordem → dois fragmentos de ligação, dá mais informações sobre as ramificações. Aumenta com o número de ramificações;
- d) terceira ordem → três fragmentos contínuos de ligação, não está diretamente relacionado ao número de ramificações e os valores são maiores para moléculas ramificadas em átomos adjacentes, para moléculas que possuem ramificações com mais de um átomo, e, para moléculas que possuem átomos de carbono quaternário.

Na figura 3, tem-se a fórmula estrutural e o gráfico

molecular do 2,3-dimetil butano com os valores delta (δ) relativos a cada átomo entre parênteses.

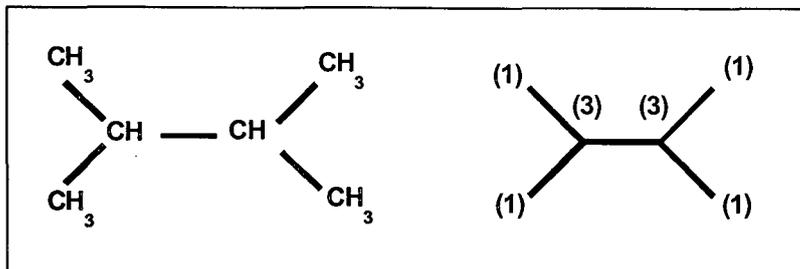


Figura 3 - Representação da fórmula estrutural e do gráfico molecular (suprimindo os átomos de hidrogênio) do composto 2,3-dimetilbutano com seus respectivos valores delta entre parênteses.

Kier e Hall definiram grupos de índices δ (delta) e ${}^v\delta$ (delta de valência) baseados nas diferentes categorias de fragmentos.

$$\delta = \text{n}^\circ \text{ átomos totais ligados} - \text{n}^\circ \text{ hidrogênios ligados (ao C considerado)}$$

$${}^v\delta = \text{n}^\circ \text{ elétrons de valência} - \text{n}^\circ \text{ hidrogênios}$$

Os índices ${}^v\delta$ dão informação a respeito da identidade do átomo. Estes índices refletem a presença de características estruturais na molécula, tais como ramificação, insaturação, presença de ciclos e de heteroátomos.

A equação abaixo foi desenvolvida para calcular os valores dos índices de conectividade molecular de valência:

Fórmula Geral:

$${}^h X_i^v = \sum_{s=1}^N (\delta_i^v \cdot \delta_j^v \dots \delta_{h+1}^v)^{-0,5} \quad (10)$$

onde δ_i e δ_j são cada um dos valores atribuídos aos átomos adjacentes i e j para cada subgráfico, s refere-se ao subgráfico $\delta_1, \dots, \delta_h$, h é a ordem do índice e t é o tipo de subgráfico, p (linear), c (ramificado), pc (linear ramificado) e CH (cadeia).

Para os átomos pertencentes 1^a camada:

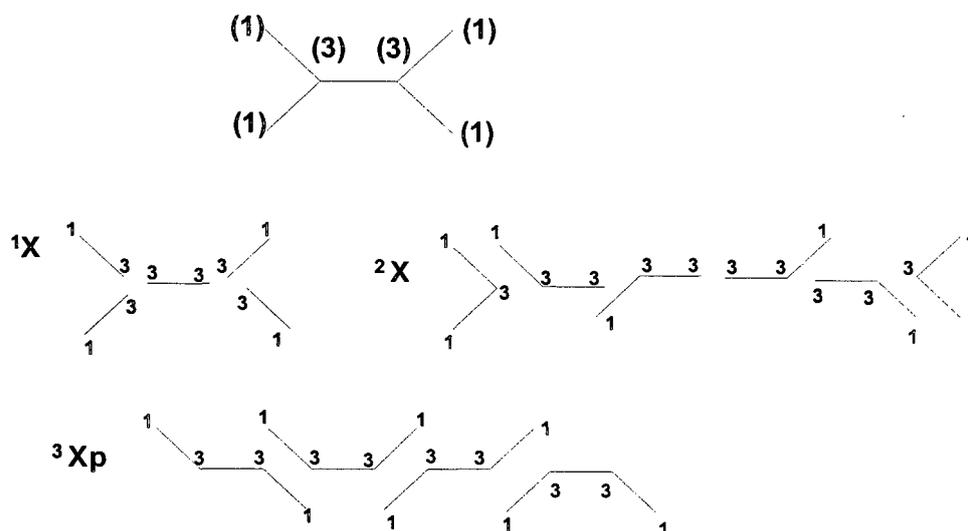
$$\delta_i^v = Z_i^v - H_i \quad (11)$$

Para átomos pertencentes 2^a camada e demais:

$$\delta_i^v = Z_i^v - H_i/Z_i - Z_i^v \quad (12)$$

onde Z_i^v é o número total de elétrons de valência do átomo i , Z_i é o número atômico do átomo i e H_i é o número de átomos de hidrogênio ligados ao átomo i .

Um exemplo de cálculo é descrito a seguir:



$$X = 1^{-0,5} + 3^{-0,5} + 3^{-0,5} + 1^{-0,5} + 1^{-0,5} + 1^{-0,5} = 5.155$$

$${}^1X = (1.3)^{-0,5} + (1.3)^{-0,5} + (3.3)^{-0,5} + (1.3)^{-0,5} + (1.3)^{-0,5} = 2,643$$

$${}^2X = (1.3.1)^{-0,5} + (1.3.3)^{-0,5} + (1.3.3)^{-0,5} + (3.3.1)^{-0,5} + (3.3.1)^{-0,5} + (1.3.1)^{-0,5} = 2,488$$

$${}^3X = (1.3.3.1)^{-0,5} + (1.3.3.1)^{-0,5} + (1.3.3.1)^{-0,5} + (1.3.3.1)^{-0,5} = 1.333$$

• Índice do Estado Eletrotológico - (S_i)

São valores numéricos computados a cada átomo na molécula, dando informação sobre o ambiente topológico de cada um e sobre suas interações eletrônicas devido à presença de outros átomos da estrutura⁸⁸⁻⁹⁰. A perturbação, que é estimada em parte pelas diferenças na eletronegatividade, diminui com a distância.

O estado eletrotológico resultante de um átomo (S_i), é um valor numérico que descreve a disponibilidade daquele átomo para interagir no espaço com algum átomo ou grupo de referência⁷⁸. Os valores de S_i também mostram a extensão na qual um átomo está exposto na superfície da molécula ou bloqueado no esqueleto da mesma. A natureza do substituinte na molécula influencia este índice. Substituintes doadores de elétrons contribuem para aumentar seu valor e aqueles retiradores de elétrons, para diminuí-lo.

- **Índice do Estado Topológico (Ti)**

O índice do estado topológico T_i de um átomo dá informação sobre o ambiente topológico do átomo de acordo com a presença de outros átomos na molécula.

- **Índices Kappa**

Propostos por Kier e Hall⁸⁷, os índices Kappa são a base de um método de quantificação da estrutura molecular na qual atributos da forma molecular são incluídos em três índices. (1K , 2K , 3K). Estes valores Kappa são derivados da contagem de um, dois e três fragmentos de ligação. Eles são representados por três índices:

- 1) Índice de ordem 1, (1K), dá informação sobre ciclicidade das estruturas;

- 2) Índice de ordem 2, (2K), dá informação sobre densidade espacial;
 3) Índice de ordem 3, (3K), dá informação sobre ramificações centrais.

Os valores de índices Kappa podem ser calculados diretamente da contagem de fragmentos mP_i e do número de átomos usando as equações:

$${}^1K = A(A-1)^2 / ({}^1P_i)^2 \quad (13)$$

$${}^2K = (A-1)(A-2)^2 / ({}^2P_i)^2 \quad (14)$$

$${}^3K = (A-3)(A-2)^2 / ({}^3P_i)^2 \quad \text{para A PAR} \quad (15)$$

$${}^3K = (A-1)(A-3)^2 / ({}^3P_i)^2 \quad \text{para A ÍMPAR} \quad (16)$$

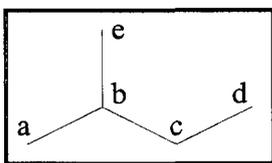
A é o número de átomos de carbono da molécula.

1P_i é o total de subgráficos de 1ª ordem

2P_i é o total de subgráficos de 2ª ordem

3P_i é o total de subgráficos de 3ª ordem

A seguir temos um exemplo de cálculo destes índices para o isopentano.



$A = 5$ (nº de átomos de carbono da molécula)

${}^1P = 4$ (total de subgráficos de primeira ordem: [a-b], [b-c], [c-d] e [b-e])

$${}^1K = 5 \cdot (4)^2 / (4)^2 = 5$$

${}^2P = 4$ (total de subgráficos de segunda ordem: [a-b-c], [b-c-d], [e-b-c] e [a-b-e])

$${}^2K = 4.(3)^2/(4)^2 = 2,22$$

${}^3P = 2$ (total de subgráficos de terceira ordem: [a-b-c-d] e [e-b-c-d])

$${}^3K = 4.(2)^2/(2)^2 = 4$$

2.2.2 Descritores Geométricos e Eletrônicos

Os descritores geométricos⁵¹ são usados para diferenciar moléculas que são topologicamente muito semelhantes. Estes descritores necessitam de minimização prévia da energia das estruturas moleculares, sendo necessário o acesso às coordenadas tridimensionais (3D) de todos os átomos da molécula sob estudo. Estas minimizações podem ser feitas através de métodos semi-empíricos, tais como o PM3, AM1 e MNDO. A área total (A_T), o volume molecular (V_{MOLEC}) ou volume de Van Der Waals, são exemplos destes descritores.

Os eletrônicos estão relacionados à distribuição de carga na molécula, dando informações do ambiente eletrônico de cada átomo. Estão incluídos neste grupo de descritores o momento de dipolo, a carga parcial atômica e a densidade eletrônica.

A distribuição do elétron é um dos mais importantes fatores que influenciam as propriedades físicas e químicas das moléculas, assim como o número de átomos e o modo como eles estão ligados.

Em um artigo de revisão publicado por Katritzky e Godeeva⁵¹, foi feita uma comparação entre o desempenho de descritores geométricos e eletrônicos e os índices topológicos tradicionais. Nas suas investigações os autores verificaram que os descritores topológicos apresentam vantagens sobre os não topológicos para as propriedades físico-químicas.

2.3 Seleção dos Descritores

De acordo com o conceito básico de QSRR (Relação quantitativa entre estrutura e retenção), a estrutura da molécula de um determinado soluto pode ser quantitativamente descrita por descritores numéricos adequados.

Acredita-se que estes descritores moleculares guardem informações relativas às interações intermoleculares decisivas para a retenção em determinadas condições cromatográficas. Deste modo, combinando a metodologia da QSRR com a experiência e intuição dos cromatografistas, a análise química pode ser facilitada. Além disso, pode ser obtida uma maior compreensão do mecanismo de retenção sugerido e eventualmente uma identificação positiva dos compostos, empregando apenas dados de retenção.

Não é possível descrever adequadamente a retenção experimental através de apenas um descritor. Inúmeros trabalhos têm demonstrado que as propriedades moleculares tais como a retenção

cromatográfica e a atividade biológica são melhor descritas por mais de um descritor molecular, uma vez que diferentes características estão relacionadas às mudanças observadas nestas propriedades. Neste caso, a escolha do grupo de descritores é fundamental, bem como a seqüência de utilização, pois os que têm maior significado no modelo (equação) são os primeiros a serem selecionados e isto determina o quanto a expressão obtida é adequada.

Dimov^{52,91} descreveu um método de seleção de descritores moleculares a serem empregados em estudos de QSRR, onde ele primeiramente correlacionou através de regressão linear simples estes descritores com a retenção cromatográfica. Posteriormente os separou em quatro grupos, conforme os valores dos coeficientes de correlação obtidos:

- (i) substanciais $\rightarrow r > 0,9900$;
- (ii) importantes $\rightarrow 0,9899 > r > 0,8000$;
- (iii) prováveis $\rightarrow 0,8000 > r > 0,5000$ e
- (iv) específicos $\rightarrow r < 0,4999$.

Na etapa seguinte ele calculou a intercorrelação entre os descritores de cada grupo, escolhendo a seguir aqueles pertencentes a diferentes grupos, que fossem suficientemente adequados para a previsão da retenção observada.

Woloszyn e Jurs⁹² descreveram uma metodologia de seleção de descritores, onde descritores que contenham, altos números de

valores zero (>30%) são descartados, já que eles não contêm informações úteis. Saliencia que descritores com um grande número de valores idênticos (>80%)⁹⁰ são removidos também, uma vez que eles têm um baixo poder de discriminação dentro do grupo. Descritores que guardam informações similares, indicadas por altos valores das intercorrelações, segundo eles, são retirados da lista de descritores a serem empregados.

A análise de regressão múltipla foi o método estatístico primeiramente aplicado aos estudos de QSAR, sendo extensivamente usado por Hansch³⁶. Atualmente este método continua a ser muito utilizado e é um dos mais aplicados em QSRR.

O número de dados estatísticos descrevem a qualidade da relação resultante. Os mais importantes são: o coeficiente de correlação, r ; o coeficiente de determinação, r^2 ; o desvio padrão da regressão, SD ; o nível de significância, F e a matriz de correlação entre as variáveis independentes, feita com os coeficientes de correlação das mesmas. Para determinar a capacidade de previsão do modelo proposto, pode-se avaliar o coeficiente de validação cruzada, r^2_{cv} ^{93,94}, que mostra a estabilidade do modelo proposto.

Vários métodos estatísticos multivariados considerados clássicos podem ser utilizados para construção do modelo, como a regressão linear múltipla (MLR)³⁵, regressão parcial dos mínimos quadrados (PLS)⁹⁴⁻⁹⁶, análise do componente principal (PCA)³⁵ e outros não clássicos^{97,98}. Estes métodos são empregados com o objetivo de pré-

selecionar descritores, quando se tem um número elevado deles.

De um modo geral, pode-se então considerar que uma das maneiras mais empregadas na seleção dos descritores a serem considerados na equação de previsão, é, após as correlações simples, eliminar os descritores que possuam alta colinearidade entre si, sendo tomados para fazer parte do modelo somente aqueles que envolvidos nas correlações múltiplas tenham significado estatístico na expressão.

Outro método de seleção de descritores atualmente bastante empregado, é o de redes neurais⁹⁹⁻¹⁰⁴.

As redes neurais são modelos matemáticos designados para imitar o processamento de informações e conhecimento de métodos de aquisição do cérebro humano. Esta técnica é empregada quando se tem um elevado número de descritores, os quais são difíceis de serem selecionados por métodos tradicionais.

Um grupo de dados de entrada m é processado produzindo um grupo de valores de saída n . Esta rede consiste de camadas com neurônios interconectados. Esta rede transforma m -variáveis de entrada em n -variáveis de saída. Após elaboração, uma rede pode ser usada para prever o modelo de saída para um novo grupo de entrada.

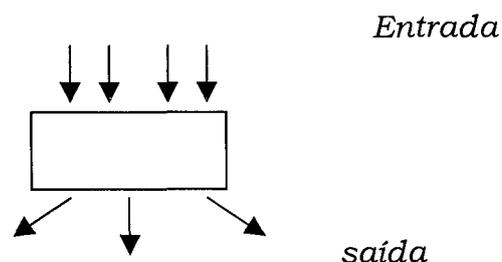


Figura 4- Diagrama representativo de redes neurais.

No início da década de 90, foi publicado um artigo de revisão ¹⁰⁰ sobre a aplicação de redes neurais na química, à QSAR, à interpretação de espectros dentre outras aplicações. Deslocamentos químicos de ¹³C-NMR (ressonância magnética nuclear de carbono 13) podem ser previstos também com o auxílio de rede neurais¹⁰⁵.

Entre os vários artigos publicados empregando redes neurais para o desenvolvimento de QSPRs, dois estudos bastante recentes podem ser citados, como o realizado por Yan e colaboradores¹⁰⁶ onde este método foi utilizado na previsão do índice de retenção cromatográfico de 184 compostos orgânicos mostrando um bom desempenho e outro realizado por Schweitzer e Morris¹⁰³, que obtiveram um grande número de modelos, através de rede neural, para prever constante dielétrica de uma ampla faixa de compostos, sendo que para os testes de precisão utilizados, 86% dos compostos apresentaram um erro absoluto menor do que 2,0.

2.4 Compostos Estudados

A escolha dos grupos de compostos estudados foi baseada principalmente na disponibilidade de diferentes grupos com estruturas similares, quimicamente estáveis e com dados de retenção confiáveis.

As amostras consideradas no trabalho são alvo de muitas pesquisas, uma vez que apresentam importantes propriedades biológicas e farmacológicas.

2.4.1 Cumarinas

Cumarinas são compostos cujas estruturas apresentam um anel benzênico junto a um anel lactônico, conforme mostrado na figura 5. Elas são amplamente usadas na indústria de perfumaria, cosméticos e relacionados. Antigamente elas eram importantes compostos flavorizantes alimentícios, muitas vezes usados juntamente com a vanilina em flavorizantes de chocolates e balas.

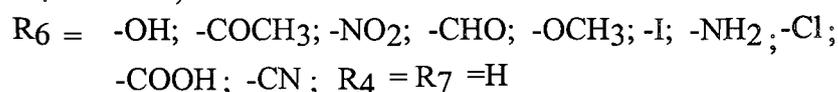
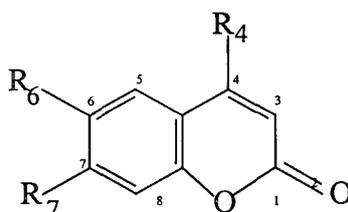


Figura 5- Representação das cumarinas estudadas.

Em recentes publicações, são feitas referências ao isolamento de cumarinas, sua síntese e de seus derivados, bem como à sua atividade biológica¹⁰⁷⁻¹¹².

2.4.2 Acetofenonas

Algumas acetofenonas ocorrem naturalmente em plantas¹¹³, outras são produtos de sínteses. Estes compostos têm interesse na indústria farmacêutica por apresentarem importantes atividades biológicas¹¹³⁻¹¹⁹. Recentemente Favier¹¹³ descreveu a atividade anti-inflamatória de sete acetofenonas isoladas da *Ophryosporus axilliflorus*. As atividades anti-espasmódica¹¹⁴, antibacteriana¹¹⁵ e antifúngica¹¹⁶ da acetofenona conhecida como xantoxilina (2-hidroxi-4,6-dimetoxi-acetofenona) encontrada nas espécies *Sebastiana schottiana*^{117,118} e *Phyllanthus*¹¹⁹ do gênero Euforbiaceae e de seus derivados, foram estudadas em nossos laboratórios.

A estrutura básica das acetofenonas estudadas com os correspondentes substituintes é mostrada na figura 6.

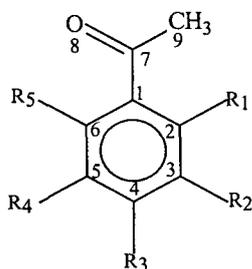


Figura 6. Representação das acetofenonas onde R₁, R₂, R₃, R₄, e R₅, podem ser H, OH, CH₃, OCH₃, OCOCH₃ e grupo prenil [CH₂CHC(CH₃)₂].

2.4.3 Triterpenos

Os triterpenos são os metabólitos secundários mais abundantes na crosta terrestre, na fauna e flora marinha¹²⁰. Assim como outros metabólitos secundários, podem ocorrer tanto na forma livre como na de glicosídios. São compostos derivados biogeneticamente do esqualeno, apresentando uma estrutura relativamente complexa com 4 ou 5 ciclos formados por 30 átomos de carbono¹²⁰.

Esta estrutura pode conter grupos hidroxila, carbonila, carboxila, cinamoila, acetila ou insaturações em diferentes posições.

Aliados à facilidade com que são encontrados, purificados e à diversidade destes compostos, eles são considerados constituintes atrativos devido a sua importância comercial e terapêutica. São atribuídos a esta classe de compostos algumas ações farmacológicas, tais como anti-inflamatória^{121,122}, antiviral e antibacteriana, antitumor e anticâncer^{123,124} e anti-AIDS¹²⁴, porém seu potencial como droga e sua utilização como fitoterápico são explorados cada vez mais.

Existem vários trabalhos publicados descrevendo o isolamento e identificação de triterpenos, com diferentes tipos de técnicas analíticas^{123,125-130}.

A elucidação estrutural dos principais constituintes de uma planta, ou mesmo daqueles que apesar de não serem principais, apresentam algum tipo de atividade, é de grande importância para as pesquisas de síntese de compostos análogos ou com modificações

químicas. Estes últimos são bastante aplicados em estudos de atividade biológica. Entretanto, a aplicação destes compostos como agentes terapêuticos de sucesso é limitada. Talvez isto possa ser atribuído à natureza hidrofóbica da maioria dos compostos.

Atividades antitumor e anticâncer são mencionadas na revisão publicada por Mahato e Sen¹²³. Foi citado o poder citotóxico do ácido ursólico contra células com tumor e a inibição de tumor em pele de rato. Derivados da classe dos friedelanos, exibiram citotoxicidade contra células de carcinoma pulmonar.

Ainda no artigo de revisão de Mahato e Sen, atividades antiinflamatória e antiviral/antibacterial comprovadas de alguns triterpenos são citadas, bem como inibição do colesterol por alguns destes compostos, utilização no tratamento de artrites reumatóides, alergias de pele e contracepção masculina.

No que se refere à identificação de triterpenos, a aplicação de técnicas espectroscópicas recentes têm facilitado muito o problema da elucidação estrutural de produtos naturais. As mais utilizadas atualmente são: ¹H NMR, ¹³C NMR, MS e GC-MS.

Estas técnicas no entanto baseiam-se em dados de compostos que fazem parte de uma limitada relação, isto é, dados de estruturas anteriormente propostas. Elas exigem a presença de padrões, nem sempre disponíveis e fornecem, como no caso da espectrometria de massas, um leque de sugestões estruturais, tornando muitas vezes, difícil a identificação da estrutura correta.

Budzikiewicz e colaboradores¹³⁰ reportaram padrões de fragmentação de massas de triterpenos pentacíclicos pertencentes às classes de oleananos e ursanos.

Shiojima e colaboradores¹³¹ reportaram espectros de massas de mais de 100 triterpenos pentacíclicos saturados e insaturados, pertencente a várias classes.

2.5 QSRR Aplicada a Alcanos e Alcenos

Com o intuito de prever a retenção de hidrocarbonetos (alcanos e alcenos), foram publicados vários trabalhos envolvendo a correlação entre índice de retenção de Kováts e descritores moleculares^{85,132-134}, principalmente os índices de conectividade. Estes índices por estarem relacionados ao número de átomos e ao modo como eles estão conectados, são bons descritores da retenção destes compostos.

Vários investigadores estudaram o comportamento cromatográfico de alcenos com o objetivo de diferenciar os isômeros *cis* e *trans*, promovendo diferentes correlações entre o índice de retenção cromatográfico e a estrutura molecular destes compostos, usando QSRR^{25,134-150}.

Soják¹³⁸⁻¹⁴⁰ e colaboradores apresentaram um estudo analítico detalhado do comportamento de alcenos que considerava as ligações duplas como incrementos estruturais e as diferenças entre

isômeros espaciais e temperatura da coluna. Considerações semelhantes foram usadas por Rang e colaboradores¹⁴¹.

Chrétien e colaboradores¹⁴²⁻¹⁴⁴ aplicaram o método de Darc-Pelco na análise topológica de alcenos. Buydens⁴⁴ usou o método da sobreposição diferencial completa (CNDO/2) para correlacionar o índice de retenção e parâmetros químico-quânticos. No trabalho de García-Raso¹⁴⁵ foram usados cálculos de orbital molecular para estabelecer quais parâmetros eletrônicos eram exigidos para determinar o índice de retenção cromatográfico de alcenos.

Bermejo e Guillen¹⁴⁶ estudaram as relações entre o índices de retenção e parâmetros relacionados a polarizabilidade eletrônica, como refratividade molar, índice de refração, volume de Van Der Waals e volume molar de alcenos. Rohrbaugh e Jurs¹⁴⁷ estudaram as relações entre o índice de retenção e descritores baseados na estrutura de diferentes alcenos. Voelkel¹⁵⁰ obteve bons resultados quando foram levadas em conta as relações multilíneas entre os índices de retenção e os índices de conectividade, momento de dipolar e parâmetros de polarizabilidade. Zhang e Hu¹³⁴ usaram os parâmetros de solubilidade, volumes molares e número de átomos de carbono para prever o índice de retenção cromatográfico de alcenos. Recentemente, Dimov e Osman¹⁵¹ estudaram a influência da conformação na precisão dos cálculos da relação quantitativa entre estrutura e retenção cromatográfica de alcenos.

Apesar dos esforços, estes pesquisadores não apresentaram

nenhum índice topológico que sozinho conseguisse diferenciar estruturas *cis* e *trans* de alcenos.

Se para alcanos a determinação dos índices de retenção supostamente depende das forças de dispersão da sua interação com a fase estacionária, que é reduzida pelo efeito estéreo dos átomos vizinhos, para alcenos, forças eletrostáticas estão envolvidas também.

OBJETIVO GERAL

Este trabalho tem como objetivo mais amplo, a utilização do método da relação quantitativa entre estrutura e retenção cromatográfica, QSRR, para estabelecer novos modelos capazes de auxiliar na previsão da retenção cromatográfica com elucidação estrutural, utilizando diferentes combinações de descritores estruturais já existentes e ainda desenvolver um novo descritor topológico capaz de prever a retenção de alcanos e alcenos, distinguindo-se nestes últimos os isômeros *cis* e *trans*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter dados de retenção confiáveis e reprodutíveis para as diferentes classes de compostos.
- Otimizar a geometria das moléculas para obtenção dos descritores a serem empregados, através da teoria dos gráficos químicos e por métodos químico-quânticos (minimização de energia), utilizando os programas computacionais disponíveis.
- Identificar os descritores mais adequados para fazerem parte das correlações múltiplas, através de regressões lineares simples,

eliminando os que possuam alta colinearidade com as demais variáveis independentes (descritores).

- Encontrar a melhor equação para estimar a retenção cromatográfica dos grupos estudados e compostos similares.
- Avaliar a predictabilidade do modelo, através dos parâmetros estatísticos.
- Elaborar um índice novo que possa diferenciar as estruturas isoméricas *cis* e *trans* de alcenos e prever os índices de retenção de Kováts dos mesmos.

A proposta deste trabalho surge do fato de haver uma grande necessidade de se dispor de métodos alternativos para a identificação de estruturas, uma vez que nem sempre se tem padrões normalmente requeridos nas análises cromatográficas, nem equipamentos que poderiam auxiliar nestas identificações. Porém, a disponibilidade destes equipamentos e padrões, não impedem a utilização de métodos teóricos, já que a identificação de amostras desconhecidas em análises de rotina por cromatografia gasosa, pode ser facilitada pelo uso destas correlações em conjunto com outros métodos analíticos.

O interesse na área de química com respeito aos estudos de QSRR e QSAR com utilização de índices teóricos, são cada vez mais justificados devido à importância destas correlações para auxiliar também na identificação e previsão das ações e efeitos biológicos e farmacológicos de compostos.

Devido aos altos custos do desenvolvimento de novas drogas, uma previsão quantitativa confiável da atividade desta droga antes de sua produção, é de grande interesse para os laboratórios de sínteses e de testes farmacológicos, uma vez que o número de testes com cobaias será menor, diminuindo o tempo das pesquisas e o custo.

Com base nos vários artigos publicados relatando o uso da retenção cromatográfica como meio de descrever a atividade biológica, já

que o comportamento cromatográfico das drogas em diferentes fases estacionárias pode conter informações de uso na descrição do seu comportamento farmacológico^{31,152}, encontramos aqui mais uma importante justificativa para aplicação dos estudos de QSRR.

Os compostos empregados neste trabalho não fazem parte de séries homólogas e apresentam estruturas cuja complexidade pode revelar diferentes fatores responsáveis pela retenção nos sistemas cromatográficos estudados.

CAPÍTULO III

Parte Experimental

3.1 Índices de Kováts

- **Obtidos Experimentalmente:**

Apesar de serem descritos na literatura vários métodos para o cálculo dos índices de retenção^{14,22-26}, neste trabalho será aplicada a equação proposta por Kováts (Eq. 4) para determiná-los.

Os tempos de retenção usados, são os tempos de retenção corrigidos (t'_R), isto é, são a diferença entre os tempos de retenção (t_R) lidos diretamente no cromatograma e o tempo de retenção do gás metano (t_M).

Existem inúmeras maneiras de se determinar o tempo morto de uma coluna, que é o tempo que um soluto não retido pela fase estacionária, ou seja, que não sofre interações com a mesma, leva para passar por todo o sistema cromatográfico (do injetor ao detector).

O ar foi empregado por James e Martin⁴² para associar seu pico ao tempo morto e medir a retenção das substâncias através da distância de seus picos ao pico do ar. Entretanto, o ar não é detectado pelo detector por ionização de chama, FID, sendo então necessária a escolha de outra substância.

Smith e colaboradores¹⁴ concluíram que o uso de metano para calcular índices de retenção de Kováts acima de 400 unidades de índice, não introduz erros.

Neste trabalho foi empregado o método direto, onde foi medida a retenção do gás metano. Este método pareceu adequado às condições experimentais utilizadas e às faixas de índices de retenção avaliadas.

A equação proposta por Kováts para determinar os índices de retenção, prevê a utilização de n-alcenos.

Os padrões de n-alcenos com z átomos de carbono foram analisados nas mesmas condições experimentais das amostras. A escolha dos n-alcenos foi baseada no tempo de retenção, que deveria estar próximo do tempo das amostras.

Para cada grupo de compostos analisados, foi observado se havia linearidade entre os tempos de retenção e os diferentes números de átomos de carbono dos alcenos empregados.

- **Obtidos da literatura:**

Considerando-se o grande número de trabalhos publicados envolvendo os índices de retenção, alguns dos índices considerados no presente estudo (algumas acetofenonas e alcenos), foram obtidos a partir de dados descritos na literatura^{57,143}.

3.2 Descritores Estruturais

Os descritores estruturais usados no presente estudo foram os índices topológicos, índices químico-quânticos e propriedades físico-químicas.

3.2.1 Índices Topológicos

Foram publicadas várias revisões que descrevem detalhadamente a teoria e método de cálculo de todos os índices topológicos usados neste trabalho^{63,85-87}.

Os índices de Wiener (W)⁶³, os índices de conectividade molecular de diferentes ordens (1X , 2X , 3X_p , 4X_p , 5X_p , 3X_c , $^4X_{pc}$, 1X_v , 2X_v , 3X_v_p , 4X_v_p , 5X_v_p , 3X_v_c , $^4X_v_{pc}$), índices da forma molecular, valores de Kappa (1K , 2K , 3K)⁸⁷, índices do estado eletrotológico (S_i)⁸⁸⁻⁹⁰ e índices do estado topológico (T_i)⁸⁸, foram calculados pelo método de Kier e Hall, utilizando o programa computacional Molconn-X⁸⁸ para a análise topológica molecular.

3.2.2 Demais Descritores

As áreas saturada, insaturada e total, energia total, energias dos orbitais *homo* e *lumo*, volumes moleculares, potenciais de ionização e outros, são parâmetros que dão informações importantes a

respeito de características estruturais das moléculas e substâncias. Suas medidas podem envolver dificuldades experimentais e nem sempre são praticáveis. Previsões teóricas destes valores podem ser feitas através de programas computacionais que calculam estes parâmetros. Métodos semi-empíricos tais como MNDO, AM1 e PM3⁸¹⁻⁸³ podem ser empregados para os cálculos. A energia da molécula é minimizada por um método numérico tal como a busca do gradiente por meio do qual as coordenadas atômicas são alteradas e a energia recalculada repetidamente. O objetivo desta computação é encontrar a conformação com o mínimo de energia estendida por toda a estrutura.

O cálculo pelo método PM3⁸³ permite uma maior exatidão, enquanto que aquele feito empregando-se o AM1⁸², as ligações de hidrogênio é que são importantes.

As moléculas foram desenhadas no programa computacional PcModel versão 3.01¹⁵³ e as energias das estruturas foram minimizadas usando o método semi-empírico mecânico-quântico PM3 ou AM1. Subseqüentemente, a estrutura molecular com a energia otimizada foi usada para gerar vários parâmetros estruturais da molécula utilizando o programa Mopac 6.0¹⁵⁴.

3.3 Seleção dos Descritores

Considerando-se a etapa 2 do método proposto por Mihalic³³, os descritores foram selecionados, conforme alguns critérios:

- Foram removidos aqueles descritores com muitos valores iguais, ou seja, que tiveram baixo poder de discriminação dentro do grupo;
- Descritores que descreviam as mesmas informações foram também removidos. Para este caso, foram testadas as intercolinearidades entre os descritores cuja correlação linear simples entre cada um deles e os índices de retenção de Kováts foram maiores que 0,8000. Aqueles pares de descritores que possuíam coeficientes de correlação (r) maiores que 0,9000 foram considerados altamente colineares, descrevendo portanto as mesmas características estruturais. Foi então selecionado um descritor de cada par.

3.4 Análise De Regressão

Foram empregadas análises de regressão linear simples por etapas para a obtenção da equação que melhor poderia descrever a retenção dos grupos de compostos estudados. Neste método, foram levados em consideração os critérios mencionados no item 5.3.

Os melhores modelos foram selecionados com base nos dados estatísticos, como o coeficiente de correlação múltipla (r), coeficiente de determinação (r^2), desvio-padrão da regressão (s) e o nível de significância (F).

A validação do modelo foi testada usando-se alguns compostos, cujas estruturas eram semelhantes às usadas para elaborar a equação, ou através da validação cruzada, cujo coeficiente r^2_{cv} , pode

ser calculado pelo método *leave-one-out*^{93,94}, que descreve o quanto o modelo proposto é capaz de prever a retenção.

3.5 Amostras

3.5.1 Cumarinas

As vinte diferentes cumarinas estudadas foram isoladas no *Instituto di Chimica Recetori Molecole Biologicamente del Ative C.N.R., Università Catolica S. Cuore*. Os compostos 6-metilcumarina, 7-metilcumarina, 4-hidroxycumarina, cumarina e 3,4-dihidrocumarina e os padrões analíticos de hidrocarbonetos (n-alcanos, C₁₂ a C₂₂), foram obtidos comercialmente da *Aldrich Inc.*

3.5.1.1 Análise Cromatográfica

Dados de retenção cromatográficos para 20 cumarinas substituídas foram obtidos em duas fases estacionárias com baixas polaridades, LM-1 e CBP5. As soluções das amostras foram preparadas dissolvendo-se 0,1 mg em acetona, sendo que a algumas delas foi adicionado metanol. Foram injetadas, no modo *split* 1:50, amostras de 1 µL em um cromatógrafo gasoso Shimadzu (Modelo GC-14A) equipado com um detector por ionização de chama, conectado a um registrador integrador (Shimadzu Modelo C-R6A). O gás de arraste empregado foi o hidrogênio a uma vazão de 2,0 mL min⁻¹ em todas as análises. Foram utilizadas duas colunas capilares de sílica fundida: LM-1

(polidimetilsiloxano) nº. 360696 (L&M São Carlos, SP, Brasil) com 0,25 mm de diâmetro interno e CBP5 (polidimetilfenilsiloxano 5% fenil) PN 221-28636-25 (Shimadzu Co, Kyoto, Japão) com 0,22 mm de diâmetro interno. Ambas as colunas têm 25 m de comprimento e espessura do filme líquido de 0,25 μm .

As temperaturas do injetor e do detector foram mantidas a 250°C e 280°C, respectivamente.

Os tempos de retenção foram medidos em diferentes temperaturas isotérmicas: 170°C, 190°C, 210°C, 220°C e 230°C. As equações porém, foram apresentadas apenas para a temperatura de 170°C. O tempo de retenção experimental (t_R) foi obtido usando a média de três determinações experimentais. Os desvios-padrão ficaram abaixo de 0,01%.

O tempo morto (t_M) foi determinado pelo método direto⁶⁴, ou seja, através da medida da retenção do gás metano a 36°C. O tempo de retenção do metano foi medido sempre antes das medidas dos tempos de retenção das amostras, mantendo-se constante em 0,96 minutos em todas as análises.

Os índices de retenção de Kováts foram determinados de acordo com a equação de Kováts⁵, usando-se como padrões n-alcenos com número de átomos de carbono que variaram de 12 a 22 átomos.

3.5.1.2 Descritores Moleculares

Os diferentes índices topológicos empregados aqui, são obtidos através do programa computacional Molconn-X⁸⁸.

As moléculas são codificadas de acordo com o método *standard* descrito no manual deste programa⁸⁸.

Os valores de $T_{(=O)}$, são relacionados ao oxigênio da carbonila na estrutura básica das cumarinas. $T_{(-O)}$ são índices do estado topológico relacionados ao oxigênio da lactona na cumarina.

O índice do estado eletrotológico (S_i) fornece informações a respeito do ambiente eletrônico e topológico de um átomo, de acordo com a presença de outros átomos na molécula. $S_{(-O)}$ está relacionado ao oxigênio da lactona na molécula da cumarina. Este índice descreve a influência que determinados átomos, inseridos em diferentes posições da molécula, têm sobre este oxigênio. Para o cálculo dos demais parâmetros considerados no estudo das cumarinas, foram empregados outros dois programas computacionais, Pc Model¹⁵³ e Mopac¹⁵⁴.

As seguintes propriedades moleculares foram escolhidas para o estudo: energia do orbital molecular ocupado de maior energia (E_{HOMO}), energia do orbital molecular desocupado de menor energia (E_{LUMO}), área total (A_T), área saturada (A_S), área insaturada (A_I), área polar (A_P), volume molecular (V_{MOLEC}), volume de molar (V_{MOLAR}), energia total (E_T), além destas, também foram selecionadas as seguintes

propriedades físicas das cumarinas: massa molecular (MM) e ponto de ebulição (PE).

Para encontrar os descritores que estariam relacionados à retenção das cumarinas, foi utilizado o método de regressão linear simples por etapas, onde todos os descritores (variáveis independentes) foram correlacionados com os índices de Kováts obtidos experimentalmente (variáveis dependentes). A seleção dos descritores seguiu os critérios enumerados no item 3.3.

As melhores equações de regressão foram selecionadas com base no coeficiente de correlação múltipla (r), desvio-padrão (SD), e nível de significância (F). Finalmente para calcular o poder de previsão do modelo, foi determinado o coeficiente de validação cruzada, r^2_{cv} , seguindo o método de *leave-one-out*^{93,94}.

Todos os cálculos de análises de regressão lineares simples e múltiplas foram feitos usando-se os programas computacionais *Bilin* e *Origin*.

3.5.2 Acetofenonas

3.5.2.1 Análise Cromatográfica

Os índices de retenção de um grupo de acetofenonas constituído por 18 compostos, foram determinados, usando-se CBP5 (polidimetilfenilsiloxano 5% fenil) PN 221-28636-25 Shimadzu Co.,

Kyoto, Japan e LM-1 (polidimetilsiloxano) nº 360696 L&M São Carlos, SP, Brasil, como fases estacionárias de baixa polaridade. Algumas das acetofenonas, foram obtidas comercialmente da *Aldrich Chemical Company Inc.*: acetofenona, 3-hidroxiacetofenona, 4-hidroxiacetofenona, 2,4-dihidroxiacetofenona, 2,5-dihidroxiacetofenona, 2,6-dihidroxiacetofenona, 4-hidroxi-3-metoxi-acetofenona, 2,4,5-trimetoxiacetofenona, 2,4,6-trimetoxiacetofenona, 3,4-metoxilenodioxiacetofenona, 4-metoxiacetofenona, 2,4-dimetoxiacetofenona e 2,4,6-trihidroxiacetofenona. A 2-hidroxi-4,6-dimetoxiacetofenona (xantoxilina) foi previamente isolada em nosso laboratório. Os compostos 2-acetoxi-4,6-dimetoxiacetofenona, 2-hidroxi-4-metoxi-3-prenilacetofenona, 2,4-hidroxi-3-prenilacetofenona e 2,4-hidroxi-5-prenilacetofenona foram isoladas pelo *Istituto di Chimica da Università Catolica S. Cuore*, Roma, Itália.

Foi utilizado um cromatógrafo gasoso Shimadzu (Modelo GC-14A) equipado com um detector por ionização de chama conectado a um registrador integrador (Shimadzu Modelo C-R6A). Foi utilizado hidrogênio como gás de arraste, a uma vazão de 2,0 mL min⁻¹. Foram utilizadas duas colunas capilares de sílica fundida com 25 m de comprimento e 0,25 µm de espessura do filme das fases estacionárias líquidas polidimetilfenilsiloxano 5% fenil (CBP5) com 0,22 mm de diâmetro interno e polidimetilsiloxano (LM-1) com diâmetro interno de 0,25 mm. As temperaturas do injetor e detector foram mantidas em 250°C e 280°C, respectivamente em todas as análises.

Foi injetado 1 µL de cada amostra (0,1 mg dissolvidos em

1 mL de acetona). O erro observado na obtenção dos dados de retenção foi menor que 0,1%, sendo os valores dos tempos de retenção uma média de três medidas.

Os índices de um segundo grupo de acetofenonas usados para testar o modelo proposto, foram determinados por Righezza⁵⁷ que usou a fase estacionária OV-101. Estes compostos apresentam os grupos metil, hidroxil, metoxil e átomos de bromo, flúor e cloro como substituintes.

3.5.2.2 Descritores Moleculares

Os índices estudados estão relacionados a atributos eletrônicos e topológicos. Os eletrônicos estão relacionados à polaridade, carga e nível de energia, enquanto que os topológicos incluem a distribuição dos átomos no esqueleto (ramificações, ligações), fatores estéreos, espaciais, volume e área superficial.

Além dos descritores topológicos, outros descritores estruturais foram usados no presente estudo que são os índices químico-quânticos e propriedades físico-químicas.

Os índices de conectividade molecular de diferentes ordens (X_i)^{49,50}, índices do estado eletrotológico (Si)⁷³ e índices do estado topológico (Ti)⁸⁸, foram calculados pelo método de Kier e Hall, utilizando o programa computacional *Molconn-X*⁸⁸. No caso dos índices químico-quânticos estudados, as moléculas foram desenhadas usando-se o

programa computacional *PcModel* versão 3.01¹⁵³, e as estruturas foram otimizadas de modo que apresentassem a configuração de menor energia. Esta otimização foi feita através do método semi-empírico mecânico-quântico PM3. Subseqüentemente, a estrutura molecular com energia otimizada foi usada para gerar vários parâmetros da molécula utilizando o programa *Mopac* versão 6.0.

As seguintes propriedades moleculares foram escolhidas para o estudo: a energia do orbital molecular ocupado de mais alta energia (E_{HOMO}), a energia do orbital molecular desocupado de mais baixa energia (E_{LUMO}), a área total (A_{T}), área saturada (A_{S}), área insaturada (A_{I}), área polar (A_{P}), volume molecular (V_{MOLEC}), volume molar (V_{MOLAR}) e energia total (E_{T}).

Os critérios aplicados para avaliar o significado estatístico das equações de regressão foram: o coeficiente de correlação, r ; o desvio-padrão, SD ; o nível de significância, F ; o valor da diferença entre I_{exp} (índice de retenção experimental) e I_{calc} (índice de retenção calculado) para o grupo de compostos de referência e de teste estudados e o coeficiente de validação cruzada, r^2_{cv} ,⁹³ para estabelecer o poder de previsão das equações.

3.5.3 Triterpenos

3.5.3.1 Análise Cromatográfica

As soluções das amostras foram preparadas dissolvendo-se 0,1 mg em 1 mL de diclorometano, sendo 1 μL injetado no cromatógrafo gasoso, utilizando-se detector por ionização de chama. O gás de arraste empregado foi o hidrogênio a uma vazão de 2,0 mL min^{-1} em todas as análises e a razão de *split* de 1:50. Foi utilizada uma coluna capilar de sílica fundida, LM-1 (polidimetilsiloxano) nº. 360696 (L&M São Carlos, SP, Brasil) com 0,25 mm de diâmetro interno, 25 m de comprimento e espessura do filme líquido de 0,25 μm .

As temperaturas do injetor e do detector foram mantidas a 310°C e 320°C, respectivamente.

Como pode ser visto na Fig. 7, os triterpenos são compostos cujas estruturas têm PM acima de 400, o que faz com que a retenção deles no sistema cromatográfico seja grande.

A utilização de temperatura elevada permite que eles eluam da coluna em um tempo razoável. Porém, ao ser analisada uma amostra de produto natural com o objetivo de identificar estes compostos, é necessário que se aplique um programa linear de temperatura para melhor separá-los de outros compostos presentes. Um programa linear de temperatura é mais adequado nestas situações, do que condições isotérmicas.

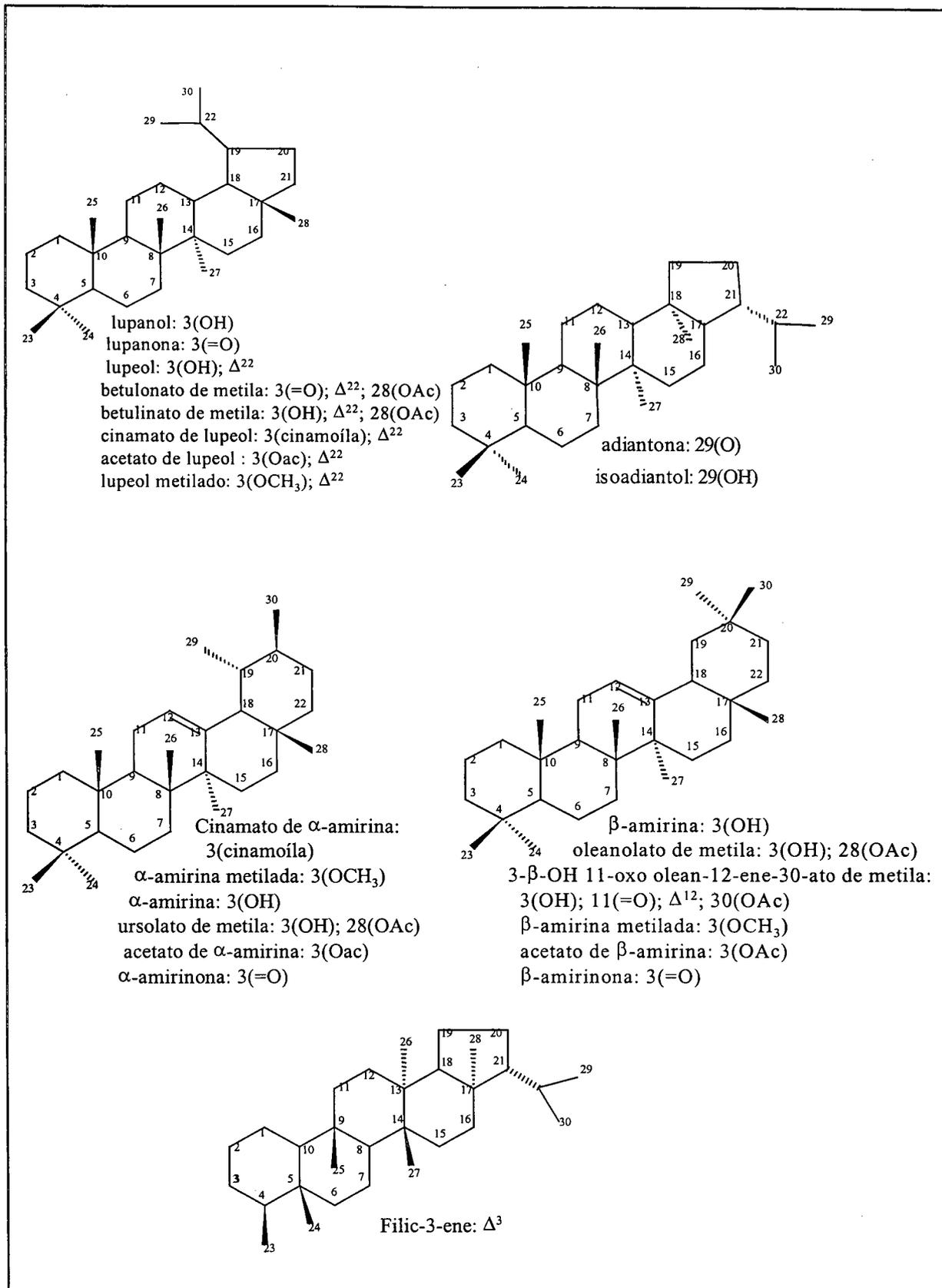


Figura 7. Estruturas dos triterpenos analisados.

Os índices de retenção de Kováts foram determinados de acordo com a equação de Kováts⁵, usando-se n-alcenos com número de átomos de carbono entre 30 e 40, como padrões.

3.5.3.2 Descritores Moleculares

Os diferentes índices topológicos empregados foram obtidos através do programa computacional Molconn-X⁸⁸.

As moléculas foram codificadas de acordo com o método *standard* descrito no manual deste programa⁸⁸. Após o cálculo com o Molconn-X, que durou alguns segundos, os valores correspondentes aos índices topológicos de interesse foram selecionados e anotados.

As seguintes propriedades moleculares foram escolhidas para o estudo: energia do orbital molecular ocupado de maior energia (E_{HOMO}), energia do orbital molecular desocupado de menor energia (E_{LUMO}), área total (A_{T}), área saturada (A_{S}), área insaturada (A_{I}), área polar (A_{P}), volume molecular (V_{MOLEC}), volume de molar (V_{MOLAR}), energia total (E_{T}). Ao contrário dos índices topológicos, que foram calculados rapidamente, para o cálculo destes últimos parâmetros foram requeridas algumas horas e até quase um dia para determiná-los. Como já foi dito, estes compostos têm uma estrutura complexa, onde os ciclos com seis átomos de carbono apresentaram dificuldades para manterem-se todos, na conformação de menor energia.

A seleção dos descritores seguiu os critérios enumerados no item 3.3.

As melhores equações de regressão foram selecionadas com base no coeficiente de correlação múltipla (r), desvio-padrão (SD), e nível de significância (F). Finalmente para calcular o poder de previsão do modelo, foi determinado o coeficiente de validação cruzada, r^2_{cv} , seguindo o método *leave-one-out*⁹³.

Todos os cálculos de análises de regressão lineares simples e múltiplas foram feitos usando-se os programas computacionais *Bilin* e *Origin*.

3.5.4 Alcanos e Alcenos

3.5.4.1 Índices de retenção de Kováts

Os índices de retenção de Kováts usados neste trabalho foram obtidos da literatura, onde foram analisados em fase estacionária esqualano à 100°C¹⁴³.

3.5.4.2 Descritores Moleculares

Os descritores envolvidos neste trabalho são basicamente os mesmos utilizados nos demais tipos de compostos apresentados aqui. Eles foram obtidos também utilizando-se os mesmos programas.

CAPÍTULO IV

Resultados e Discussões

Para a obtenção dos índices de retenção de Kováts, o parâmetro utilizado para os cálculos foi o tempo de retenção ajustado t'_R (Eq. 5), o qual é obtido pela diferença entre o tempo de retenção lido no cromatograma (t_R) e o tempo morto (t_M). Em todas as análises, o tempo morto (t_M) foi determinado pelo método direto¹⁴, ou seja, através da medida da retenção do gás metano a 36°C. Esta medida foi feita sempre antes das medidas dos tempos de retenção das amostras, mantendo-se constante em 0,96 minutos em todas as análises.

Foram testados os tempos de retenção do metano em diferentes temperaturas, para verificar seu comportamento com esta variação. Estes valores são mostrados na Tabela I. Segundo a literatura¹⁵² o tempo de retenção do metano aumenta com o aumento da temperatura, devido ao aumento da viscosidade do gás.

Tabela I- Tempos de retenção do metano em diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	Tempo de retenção (t_R)
36	0,96
40	0,97
45	0,98
50	0,99
55	1,00
60	1,01
72	1,04
280	1,43
290	1,45

Coluna LM-1, gás de arraste H₂, $T_{injetor}$ = 310°C, $T_{detector}$ = 320°C

Embora o tempo de retenção a 290°C (1,45 min) seja em torno de 75% maior que o valor medido a 36°C (0,96 min), optou-se pela utilização do tempo na menor temperatura.

Considerando-se que as amostras foram analisadas sob as mesmas condições cromatográficas dos padrões de n-alcenos e que o tempo de retenção do metano é subtraído do tempo de retenção das amostras e dos n-alcenos, a diferença observada portanto será anulada.

A medida do tempo de retenção do gás metano serviu principalmente para que se pudesse controlar se todas as condições foram mantidas constantes.

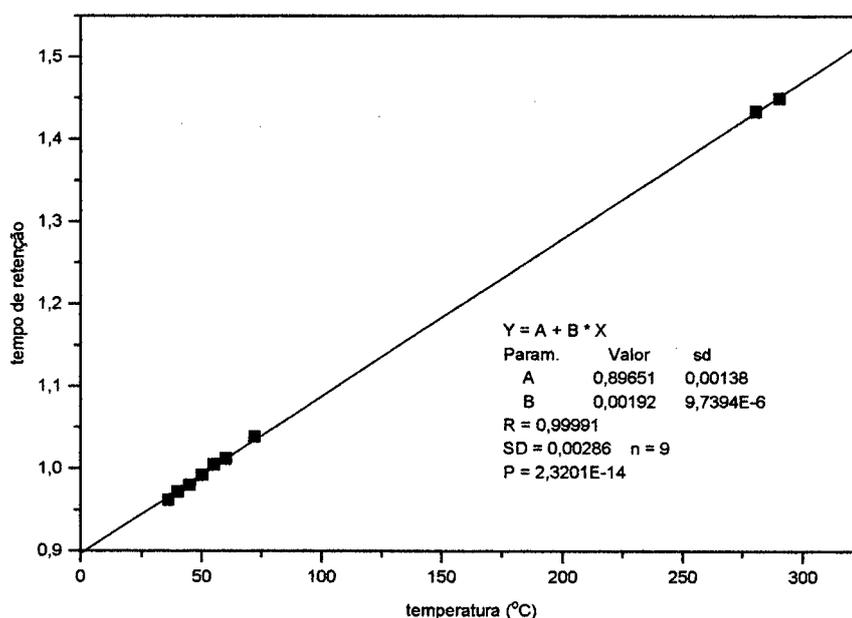


Figura 8. Gráfico da relação entre os tempos de retenção do gás metano e diferentes temperaturas de aquecimento da coluna.

O gráfico da Fig. 8 mostra que uma ótima linearidade é obtida quando se correlaciona estes valores. Esta linearidade entre os tempos de retenção do metano e a temperatura demonstra que é possível utilizar qualquer temperatura desta faixa para a medida do tempo de retenção do gás metano.

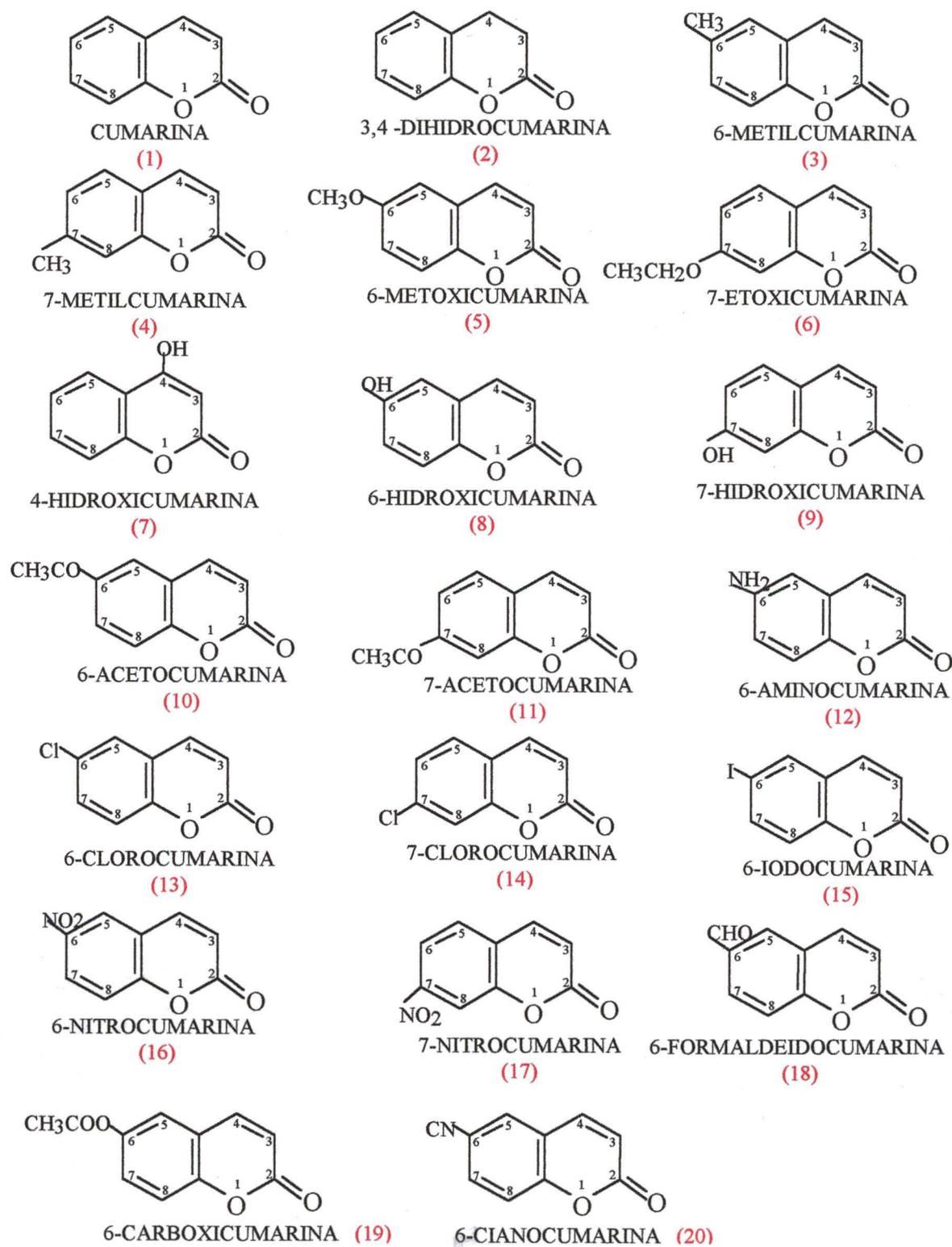
4.1 Cumarinas

Na Tabela II são mostrados os índices de retenção experimentais das cumarinas estudadas, a 170, 190 e 210°C. Estas temperaturas estão dentro da faixa linear de trabalho determinada para este grupo de compostos.

A seguir, são mostradas as estruturas das cumarinas estudadas neste trabalho, (Fig. 9).

Tabela II - Índices de retenção experimentais de diferentes cumarinas determinados nas fases estacionárias CBP5 (I_{CBP5}) e LM-1 (I_{LM-1}) à 170°C, 190°C e 210°C.

Nº	Composto	I_{CBP5} 170°C	I_{CBP5} 190°C	I_{CBP5} 210°C	I_{LM-1} 170°C	I_{LM-1} 190°C	I_{LM-1} 210°C
1	Cumarina	1492	1510	1533	1434	1458	1472
2	3,4-Dihidrocumarina	1451	1473	1494	1398	1422	1430
3	6-Metilcumarina	1588	1607	1631	1545	1564	1574
4	7-Metilcumarina	1586	1607	1630	1545	1562	1574
5	6-Metoxicumarina	1835	1850	1867	1762	1776	1780
6	7-Etoxicumarina	1815	1829	1846	1754	1771	1779
7	4-Hidroxycumarina	1740	1739	1733	1656	1665	1652
8	6-Hidroxycumarina	1840	1849	1864	1760	1771	1770
9	7-Hidroxycumarina	1866	1875	1886	1789	1797	1795
10	6-Acetocumarina	1846	1853	1869	1768	1784	1790
11	7-Acetocumarina	1851	1864	1881	1779	1796	1803
12	6-Aminocumarina	1872	1880	1917	1784	1806	1816
13	6-Clorocumarina	1639	1652	1675	1578	1599	1607
14	7-Clorocumarina	1643	1657	1677	1586	1608	1616
15	6-Iodocumarina	1859	1879	1906	1780	1805	1818
16	6-Nitrocumarina	1875	1889	1912	1775	1795	1805
17	7-Nitrocumarina	1877	1894	1913	1784	1809	1821
18	6-Formaldeído- cumarina	1759	1770	1788	1673	1693	1701
19	6-Carboxycumarina	1942	1949	1962	1858	1871	1870
20	6-Cianocumarina	1638	1651	1674	1579	1599	1608

**Figura. 9.** Estrutura das 20 cumarinas estudadas

Os índices de Kováts em cada fase aumentam com o aumento da temperatura, com exceção dos compostos 6 e 7 hidroxí e do composto 6-carboxícumarina, que têm seus índices ligeiramente diminuídos à temperatura de 210°C na fase LM-1, e o 4-hidroxícumarina que diminui nas duas fases estacionárias. Isto pode estar relacionado ao n-alcano usado como referência ou às diferenças que existem no processo de transferência do soluto da fase móvel para a fase líquida³¹.

Esta alteração do valor do índice de retenção verificada para as cumarinas, também foi encontrada por Bicchi e colaboradores¹⁵⁵ que realizaram um estudo sobre a influência de diferentes condições analíticas na identificação de óleos essenciais. Eles testaram diferentes dimensões de dois tipos de colunas, programas de temperatura com diferentes taxas de aquecimento e diferentes temperaturas iniciais da coluna. Com relação à temperatura, chegaram à conclusão de que embora a taxa de aquecimento do programa seja um fator importante na variação do índice de retenção, a temperatura inicial do programa também influencia esta variação.

Para n-alcenos homólogos ou qualquer série homóloga, o tempo de retenção ajustado (t'_R) varia com a temperatura (T) de acordo com a equação:

$$\log t'_R = a + b \frac{1}{T} \quad (17)$$

em que b é uma constante relacionada com o calor de dissolução.

O valor do índice de retenção é portanto dependente da temperatura, porém a relação é linear quando são utilizadas fases estacionárias e compostos de baixa polaridade. Quando fases mais polares são utilizadas e outros tipos de compostos também mais polares, a linearidade não é observada. Uma relação hiperbólica tipo a de Antoine, pode ser considerada¹²:

$$I(T) = A + B / (T + C) \quad (18)$$

Onde $I(T)$ é o índice de retenção a uma dada temperatura $T(K)$ e A , B e C são constantes determinadas experimentalmente^{12,156}. Este tipo de curva pode ter uma parte linear significativa, cuja extensão depende da polaridade dos compostos sob estudo, da polaridade da fase estacionária e das interações entre as moléculas do soluto e as moléculas desta fase.

Quando são comparados os resultados dos índices de retenção de Kováts obtidos para as cumarinas nas duas fases empregadas, observa-se que eles são menores na fase menos polar (LM-1).

Por apresentarem pares de elétrons disponíveis nos átomos de oxigênio, as cumarinas possuem um momento dipolar localizado sobre a parte da molécula onde se encontram estes átomos. Dependendo do substituinte em R_4 , R_6 e R_7 , esta polarização da molécula pode ficar mais ou menos acentuada, o que faz com que na fase com maior polaridade os compostos com esta polarização

acentuada sejam mais retidos.

Diferentes descritores e propriedades moleculares foram usados no trabalho com as cumarinas. A Tabela III mostra os valores de alguns destes descritores. Parte deles, como os índices de conectividade, os índices de Wiener⁶³ e os valores dos índices Kappa⁸⁶, não distinguem todos os compostos.

Pelo fato de alguns descritores não conseguirem distinguir algumas cumarinas, optou-se por aplicar correlação multivariada, ou seja, a combinação de vários descritores em uma mesma equação.

Tabela III - Índices de conectividade molecular de 1ª e 2ª ordens (1X , 2X), índices Wiener (W), índice Kappa (1K), índices do estado topológico (T_i), índices do estado eletrotológico (S_i) para o oxigênio da lactona ($S_{(-o)}$, $T_{(-o)}$) e para o oxigênio na carbonila do grupo lactona ($S_{(=o)}$, $T_{(=o)}$). Área total (A_T), área polar (A_P), volume molecular (V_{Molec}), energia total (E_T), energia do orbital ocupado de maior energia (E_{HOMO}), para a série de cumarinas.

Nº	1X	2X	A_T (Å ²)	A_P (Å ²)	V_{Molec} (Å ³)	E_T (eV)	E_{HOMO} (eV)	W	1K	$S_{(-o)}$	$S_{(=o)}$	$T_{(-o)}$	$T_{(=o)}$
1	5,3602	4,7228	154,66	32,443	172	-1745,2	-9,4875	643	7,6389	4,9060	10,717	13,137	10,973
2	5,3602	4,7228	161,58	32,304	182	-1776,9	-9,5136	643	7,6389	4,9929	10,803	12,884	10,748
3	5,7540	5,3566	174,06	32,198	194	-1895,0	-9,3281	776	8,5917	4,9611	10,802	13,403	11,192
4	5,7540	5,3566	174,67	32,149	193	-1895,0	-9,3530	761	8,5917	4,9869	10,828	13,375	11,196
5	6,2920	5,2557	186,54	41,123	203	-2188,2	-9,1229	880	9,5510	4,9500	10,840	13,618	11,620
6	6,7920	5,9061	205,98	38,642	226	-2337,6	-9,1716	949	10,516	5,0131	10,945	13,680	11,548
7	5,7709	5,2623	163,44	50,456	177	-2039,2	-9,5160	761	8,5917	4,8269	10,778	13,577	11,340
8	5,7540	5,3566	165,87	51,494	178	-2039,1	-9,1628	776	8,5917	4,8500	10,739	13,468	11,234
9	5,7540	5,3566	165,46	50,922	176	-2039,2	-9,2253	761	8,5917	4,8269	10,746	13,439	11,239
10	6,6647	6,2555	197,59	55,256	219	-2306,9	-9,6973	986	10,516	4,9295	10,869	13,764	11,693
11	6,6647	6,2555	200,28	55,581	218	-2306,9	-9,6556	985	10,516	4,9447	10,913	13,756	11,706
12	5,7540	5,3566	170,38	59,030	184	-1923,2	-8,7628	776	8,5917	4,9055	10,770	13,446	11,220
13	5,7540	5,3566	177,54	61,099	197	-2157,3	-9,7346	776	8,5917	4,9024	10,769	13,395	13,395
14	5,7540	5,3566	171,71	32,174	188	-2046,6	-9,4254	761	8,5917	4,9024	10,785	13,367	11,190
15	5,7540	5,3566	183,94	32,223	206	-2018,4	-9,1559	776	8,5917	4,9577	10,800	13,346	11,154
16	6,6647	6,2555	180,89	69,597	201	-2476,6	-10,233	986	10,516	4,8182	10,802	13,824	11,621
17	6,6647	6,2555	181,20	69,924	200	-2476,6	-10,189	985	10,516	4,7924	10,828	13,823	11,631
18	6,2920	5,5257	171,48	32,161	190	-2046,6	-9,3665	880	9,5510	4,8896	10,802	13,611	11,403
19	6,6647	6,2555	186,52	76,236	201	-2451,6	-9,8071	986	10,516	4,8479	10,819	13,799	13,799
20	6,2920	5,5257	177,91	51,313	193	-2009,5	-9,8185	880	9,5510	4,8962	10,806	13,626	13,626

(Å) = Angstrom (eV) = elétron-volt

Inicialmente, a seleção dos descritores foi feita utilizando-se o método proposto por Dimov^{52,91}, onde primeiramente fez-se a correlação linear simples entre cada descritor e os índices de Kováts. Conforme os valores dos coeficientes de correlação, os descritores foram agrupados e chamados de substanciais, importantes, prováveis e específicos. No grupo de cumarinas estudadas não apareceram descritores considerados substanciais ou importantes, devido ao fato dos seus coeficientes de correlação não ultrapassarem 0,8.

Em uma primeira tentativa, foram obtidas equações com duas variáveis. Porém com o baixo poder de previsão destas equações, houve necessidade de se adicionar mais uma variável (descritor molecular). Assim através da regressão linear múltipla, alguns destes descritores foram combinados.

As correlações múltiplas para este caso, foram feitas utilizando-se o programa computacional *Statgraf*, disponível na época, que apresentava entre outros, o parâmetro estatístico “F-to-remove” que dá informações sobre o grau de importância de determinada variável na equação.

As melhores equações de regressão linear múltipla com três variáveis para os dados obtidos nas fases estacionárias LM-1 e CBP5 (170°C) para as cumarinas foram:

$$\mathbf{I_{LM-1(170^{\circ}C)}} = 9,4744 (\pm 0,8151)\mathbf{A_T} + 220,15 (\pm 32,18)\mathbf{E_{HOMO}} - 2012,6 (\pm 192,4)\mathbf{S_{(-O-)}} + 11957 (\pm 1081) \quad (19)$$

$$r^2 = 0,9141 \quad r = 0,9561 \quad n = 20 \quad r^2_{cv} = 0,8573 \quad SD = 41,9004$$

$$F\text{-ratio} = 56,736 \quad (F\text{-to-remove: } 4,00) \quad F(\mathbf{A_T}) = 135,12 \quad F(\mathbf{E_{HOMO}}) = 46,794$$

$$F(\mathbf{S_{(-O-)}}) = 109,41$$

$$\mathbf{I_{CBP5(170^{\circ}C)}} = 10,066 (\pm 0,946)\mathbf{A_T} + 233,84 (\pm 37,34)\mathbf{E_{HOMO}} - 2270,8 (\pm 223,2)\mathbf{S_{(-O-)}} + 13319 (\pm 1254) \quad (20)$$

$$r^2 = 0,9039 \quad r = 0,9507 \quad n = 20 \quad r^2_{cv} = 0,8265 \quad SD = 48,6099$$

$$F\text{-ratio} = 50,162 \quad (F\text{-to-remove: } 4,00) \quad F(\mathbf{A_T}) = 113,32 \quad F(\mathbf{E_{HOMO}}) = 39,223$$

$$F(\mathbf{S_{(-O-)}}) = 103,48$$

O primeiro parâmetro introduzido na equação múltipla foi a área total, por ser o mais significativo (ver valores de F nas equações. 19 e 20).

O sinal positivo do coeficiente deste parâmetro indica que os índices de retenção aumentam com a área total. Neste caso, a retenção é claramente dependente das interações dispersivas. Quanto maior a superfície molecular, maior é a interação com a fase estacionária. Porém a avaliação deve levar em conta os demais parâmetros da equação, pois cada um serve como ajuste do outro.

O segundo parâmetro introduzido nas equações, foi o índice do estado eletrotológico relativo ao átomo de oxigênio da lactona nas cumarinas. A entrada dos substituintes na molécula, influencia este

índice. Substituintes com efeito elétron-doador contribuem para o aumento do valor do índice eletrotológico. Aqueles com efeito contrário, ou seja, receptores de elétrons, fazem com que o valor deste índice diminua.

À medida que os valores dos índices do estado eletrotológico diminuem, a retenção cromatográfica aumenta. De acordo com os índices de retenção experimentais, observa-se que de um modo geral, compostos com substituintes mais eletronegativos (receptores de elétrons), têm maiores valores de índices de retenção de Kováts. Se a retenção aumenta é porque interações mais fortes e específicas tais como interações polares ou ligações de hidrogênio, podem estar presentes.

Com um menor significado (menor valor de F na equação), o parâmetro representando a energia necessária para remover um elétron da molécula, E_{HOMO} , foi introduzido como um descritor de ajuste. Este, é assim chamado por explicar (fundamentar), como um ajuste fino, a ordem de eluição de alguns compostos nos casos em que o índice do estado eletrotológico sozinho foi insuficiente para tal. O sinal do coeficiente deste parâmetro nas equações é positivo, então os valores negativos de E_{HOMO} que correspondem às moléculas mais elétron-doadoras, contribuem para diminuir a retenção cromatográfica.

A Tabela IV mostra os valores dos índices de retenção de Kováts experimentais (I) obtidos nas fases estacionárias LM-1 e CBP5 e os calculados (I_{calc}) segundo as equações 19 e 20. As diferenças entre os

valores experimentais e os calculados (Δ), bem como os erros relativos das equações, também aparecem na Tabela IV.

Tabela IV - Índices de retenção experimentais e calculados (I e I_{calc}) determinados nas fases LM-1 e CBP5 à 170°C e as diferenças Δ ($I - I_{\text{calc}}$) e erros relativos, E_R , das Equações 19 e 20 para a série de cumarinas estudada.

Nº	Composto	I	I_{calc}	Δ	E_R	I	I_{calc}	Δ	E_R
		LM-1	Eq.19	Eq.19	Eq.19	CBP5	Eq.20	Eq.20	Eq.20
1	Cumarina	1434	1460	-26	-1,8	1492	1517	-25	-1,7
2	3,4-Dihidro-cumarina	1398	1345	53	3,8	1451	1383	68	4,7
3	6-Metilcumarina	1545	1568	-23	-1,5	1588	1624	-36	-2,3
4	7-Metilcumarina	1545	1516	29	1,9	1586	1566	20	1,3
5	6-Metoxi-cumarina	1762	1753	8	0,5	1835	1823	12	0,7
6	7-Etoxicumarina	1754	1800	-46	-2,6	1815	1864	-49	-2,7
7	4-Hidroxi-cumarina	1656	1696	-40	-2,4	1740	1778	-38	-2,2
8	6-Hidroxi-cumarina	1760	1750	10	0,6	1840	1833	7	0,4
9	7-Hidroxi-cumarina	1789	1779	10	0,6	1866	1866	0	-0,02
10	6-Acetocumarina	1768	1773	-5	-0,3	1846	1846	0	-0,02
11	7-Acetocumarina	1779	1777	2	0,1	1851	1849	2	0,1
12	6-Amino-cumarina	1784	1769	15	0,8	1872	1846	26	1,4
13	6-Clorocumarina	1578	1629	-51	-3,3	1639	1697	-58	-3,6
14	7-Clorocumarina	1586	1642	-56	-3,5	1643	1711	-68	-4,4
15	6-Iodocumarina	1780	1706	74	4,1	1859	1772	87	4,7
16	6-Nitrocumarina	1775	1721	54	3,0	1875	1806	69	3,7
17	7-Nitrocumarina	1784	1785	-1	-0,1	1877	1878	-1	-0,04
18	6-Formaldeído-cumarina	1673	1679	-6	-0,3	1759	1752	7	0,42
19	6-Carboxi-cumarina	1858	1808	50	2,7	1942	1895	47	2,44
20	6-Cianocumarina	1579	1627	-48	-3,0	1638	1696	-58	-3,52

As diferenças e os resíduos encontrados são praticamente os mesmos nas duas fases estacionárias empregadas. A dispersão pode ser melhor visualizada através da Fig. 10, que mostra a correlação entre os valores experimentais e os calculados segundo a equação 19.

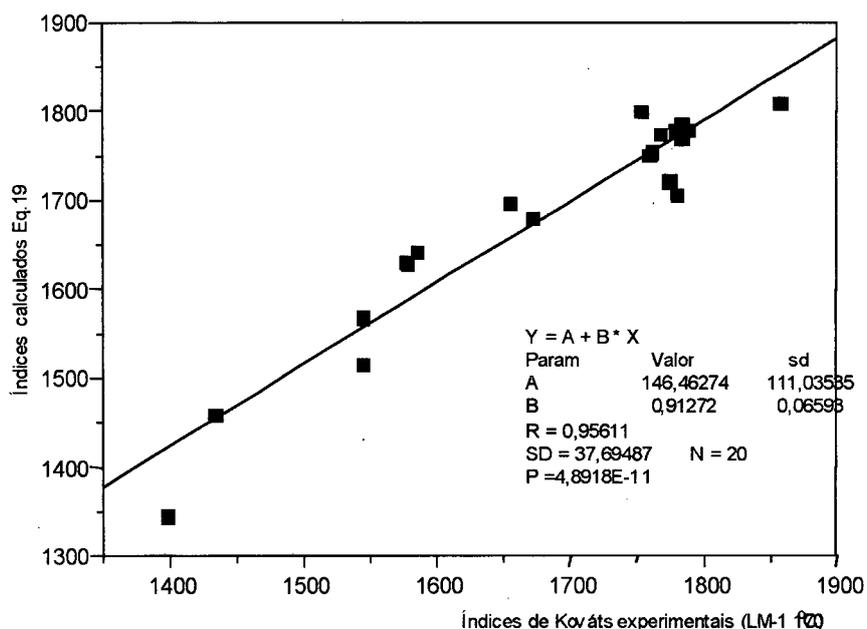


Figura 10. Relação entre os índices de retenção de Kováts das cumarinas obtidas experimentalmente em fase LM-1 a 170°C e os índices calculados segundo a equação 19.

4.2 Acetofenonas

Aspectos relacionados às estruturas de algumas acetofenonas, foram anteriormente abordados nos trabalhos de Hassani¹⁵⁷ que discutiu a ordem de eluição e separação de isômeros de

Inicialmente, a seleção dos descritores foi feita utilizando-se o método proposto por Dimov^{52,91}, onde primeiramente fez-se a correlação linear simples entre cada descritor e os índices de Kováts. Conforme os valores dos coeficientes de correlação, os descritores foram agrupados e chamados de substanciais, importantes, prováveis e específicos. No grupo de cumarinas estudadas não apareceram descritores considerados substanciais ou importantes, devido ao fato dos seus coeficientes de correlação não ultrapassarem 0,8.

Em uma primeira tentativa, foram obtidas equações com duas variáveis. Porém com o baixo poder de previsão destas equações, houve necessidade de se adicionar mais uma variável (descritor molecular). Assim através da regressão linear múltipla, alguns destes descritores foram combinados.

As correlações múltiplas para este caso, foram feitas utilizando-se o programa computacional *Statgraf*, disponível na época, que apresentava entre outros, o parâmetro estatístico "F-to-remove" que dá informações sobre o grau de importância de determinada variável na equação.

As melhores equações de regressão linear múltipla com três variáveis para os dados obtidos nas fases estacionárias LM-1 e CBP5 (170°C) para as cumarinas foram:

$$\mathbf{I}_{LM-1(170^{\circ}C)} = 9,4744 (\pm 0,8151)\mathbf{A}_T + 220,15 (\pm 32,18)\mathbf{E}_{HOMO} - 2012,6 (\pm 192,4)\mathbf{S}_{(-O-)} + 11957 (\pm 1081) \quad (19)$$

$$r^2 = 0,9141 \quad r = 0,9561 \quad n = 20 \quad r^2_{cv} = 0,8573 \quad SD = 41,9004$$

$$F\text{-ratio} = 56,736 \quad (F\text{-to-remove: } 4,00) \quad F(\mathbf{A}_T) = 135,12 \quad F(\mathbf{E}_{HOMO}) = 46,794$$

$$F(\mathbf{S}_{(-O-)}) = 109,41$$

$$\mathbf{I}_{CBP5(170^{\circ}C)} = 10,066 (\pm 0,946)\mathbf{A}_T + 233,84 (\pm 37,34)\mathbf{E}_{HOMO} - 2270,8 (\pm 223,2)\mathbf{S}_{(-O-)} + 13319 (\pm 1254) \quad (20)$$

$$r^2 = 0,9039 \quad r = 0,9507 \quad n = 20 \quad r^2_{cv} = 0,8265 \quad SD = 48,6099$$

$$F\text{-ratio} = 50,162 \quad (F\text{-to-remove: } 4,00) \quad F(\mathbf{A}_T) = 113,32 \quad F(\mathbf{E}_{HOMO}) = 39,223$$

$$F(\mathbf{S}_{(-O-)}) = 103,48$$

O primeiro parâmetro introduzido na equação múltipla foi a área total, por ser o mais significativo (ver valores de F nas equações. 19 e 20).

O sinal positivo do coeficiente deste parâmetro indica que os índices de retenção aumentam com a área total. Neste caso, a retenção é claramente dependente das interações dispersivas. Quanto maior a superfície molecular, maior é a interação com a fase estacionária. Porém a avaliação deve levar em conta os demais parâmetros da equação, pois cada um serve como ajuste do outro.

O segundo parâmetro introduzido nas equações, foi o índice do estado eletrotológico relativo ao átomo de oxigênio da lactona nas cumarinas. A entrada dos substituintes na molécula, influencia este

índice. Substituintes com efeito elétron-doador contribuem para o aumento do valor do índice eletrotológico. Aqueles com efeito contrário, ou seja, receptores de elétrons, fazem com que o valor deste índice diminua.

À medida que os valores dos índices do estado eletrotológico diminuem, a retenção cromatográfica aumenta. De acordo com os índices de retenção experimentais, observa-se que de um modo geral, compostos com substituintes mais eletronegativos (receptores de elétrons), têm maiores valores de índices de retenção de Kováts. Se a retenção aumenta é porque interações mais fortes e específicas tais como interações polares ou ligações de hidrogênio, podem estar presentes.

Com um menor significado (menor valor de F na equação), o parâmetro representando a energia necessária para remover um elétron da molécula, E_{HOMO} , foi introduzido como um descritor de ajuste. Este, é assim chamado por explicar (fundamentar), como um ajuste fino, a ordem de eluição de alguns compostos nos casos em que o índice do estado eletrotológico sozinho foi insuficiente para tal. O sinal do coeficiente deste parâmetro nas equações é positivo, então os valores negativos de E_{HOMO} que correspondem às moléculas mais elétron-doadoras, contribuem para diminuir a retenção cromatográfica.

A Tabela IV mostra os valores dos índices de retenção de Kováts experimentais (I) obtidos nas fases estacionárias LM-1 e CBP5 e os calculados (I_{calc}) segundo as equações 19 e 20. As diferenças entre os

valores experimentais e os calculados (Δ), bem como os erros relativos das equações, também aparecem na Tabela IV.

Tabela IV - Índices de retenção experimentais e calculados (I e I_{calc}) determinados nas fases LM-1 e CBP5 à 170°C e as diferenças Δ ($I - I_{\text{calc}}$) e erros relativos, E_R , das Equações 19 e 20 para a série de cumarinas estudada.

Nº	Composto	I	I_{calc}	Δ	E_R	I	I_{calc}	Δ	E_R
		LM-1	Eq.19	Eq.19	Eq.19	CBP5	Eq.20	Eq.20	Eq.20
1	Cumarina	1434	1460	-26	-1,8	1492	1517	-25	-1,7
2	3,4-Dihidro-cumarina	1398	1345	53	3,8	1451	1383	68	4,7
3	6-Metilcumarina	1545	1568	-23	-1,5	1588	1624	-36	-2,3
4	7-Metilcumarina	1545	1516	29	1,9	1586	1566	20	1,3
5	6-Metoxi-cumarina	1762	1753	8	0,5	1835	1823	12	0,7
6	7-Etoxicumarina	1754	1800	-46	-2,6	1815	1864	-49	-2,7
7	4-Hidroxi-cumarina	1656	1696	-40	-2,4	1740	1778	-38	-2,2
8	6-Hidroxi-cumarina	1760	1750	10	0,6	1840	1833	7	0,4
9	7-Hidroxi-cumarina	1789	1779	10	0,6	1866	1866	0	-0,02
10	6-Acetocumarina	1768	1773	-5	-0,3	1846	1846	0	-0,02
11	7-Acetocumarina	1779	1777	2	0,1	1851	1849	2	0,1
12	6-Amino-cumarina	1784	1769	15	0,8	1872	1846	26	1,4
13	6-Clorocumarina	1578	1629	-51	-3,3	1639	1697	-58	-3,6
14	7-Clorocumarina	1586	1642	-56	-3,5	1643	1711	-68	-4,4
15	6-Iodocumarina	1780	1706	74	4,1	1859	1772	87	4,7
16	6-Nitrocumarina	1775	1721	54	3,0	1875	1806	69	3,7
17	7-Nitrocumarina	1784	1785	-1	-0,1	1877	1878	-1	-0,04
18	6-Formaldeído-cumarina	1673	1679	-6	-0,3	1759	1752	7	0,42
19	6-Carboxi-cumarina	1858	1808	50	2,7	1942	1895	47	2,44
20	6-Cianocumarina	1579	1627	-48	-3,0	1638	1696	-58	-3,52

As diferenças e os resíduos encontrados são praticamente os mesmos nas duas fases estacionárias empregadas. A dispersão pode ser melhor visualizada através da Fig. 10, que mostra a correlação entre os valores experimentais e os calculados segundo a equação 19.

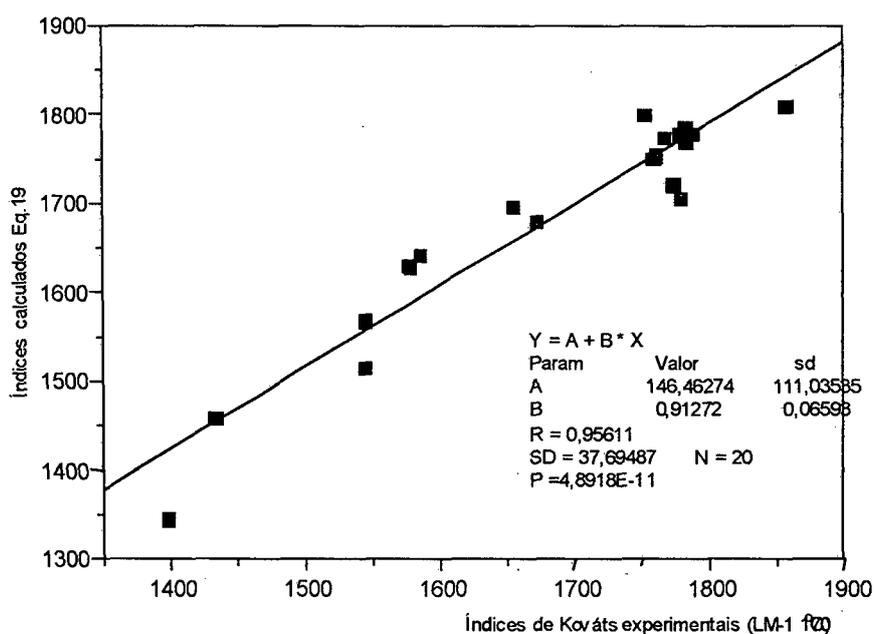


Figura 10. Relação entre os índices de retenção de Kováts das cumarinas obtidas experimentalmente em fase LM-1 a 170°C e os índices calculados segundo a equação 19.

4.2 Acetofenonas

Aspectos relacionados às estruturas de algumas acetofenonas, foram anteriormente abordados nos trabalhos de Hassani¹⁵⁷ que discutiu a ordem de eluição e separação de isômeros de

acetofenonas conforme o aumento da quantidade de substituintes fenil nas fases estacionárias de metilsiliconas. Righezza⁵⁷, em um trabalho posterior, analisou a influência da temperatura e também da porcentagem de grupos fenil na fase estacionária sobre os índices de retenção das acetofenonas, através da análise do fator de correspondência e da análise topológica.

Os parâmetros usados neste trabalho foram escolhidos por sua provável capacidade de contribuir para o esclarecimento de alguns dos fatores responsáveis pelas interações entre soluto e fase estacionária em processos de separação por cromatografia gasosa, bem como fazerem parte de equações que possam ser usadas na previsão do índice de retenção de Kováts de outras acetofenonas.

Na Tabela V são apresentados os valores dos índices de retenção cromatográficos (I) das diferentes acetofenonas estudadas (Fig. 16) nas fases estacionárias LM-1 (I_{LM-1}) e CBP5 (I_{CBP5}) e os valores de alguns descritores moleculares. Como no caso das cumarinas, a seqüência de eluição foi correta para todos os compostos.

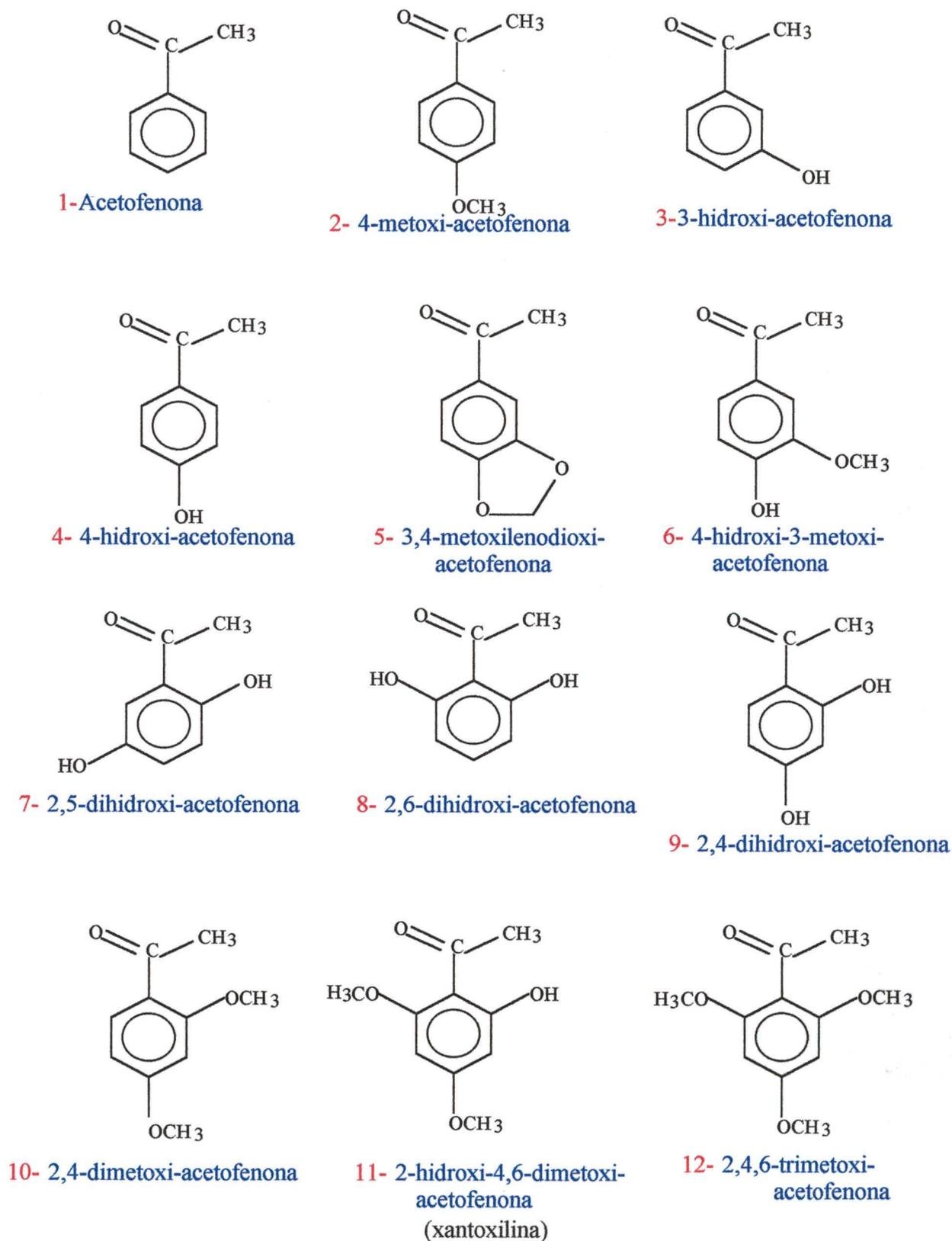


Fig. 11. Estruturas das acetofenonas estudadas.

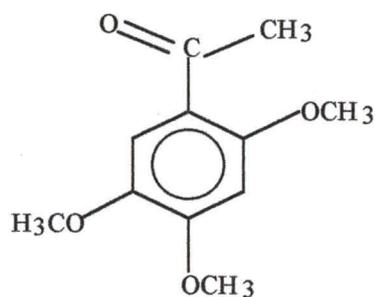
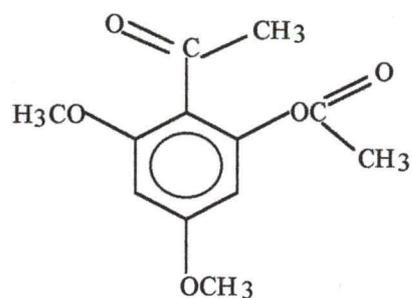
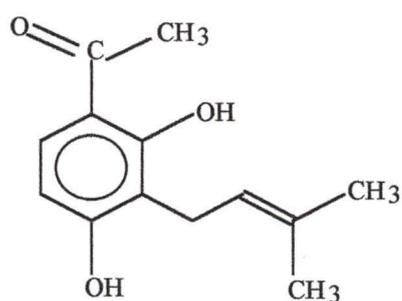
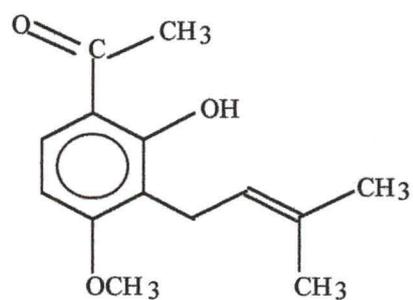
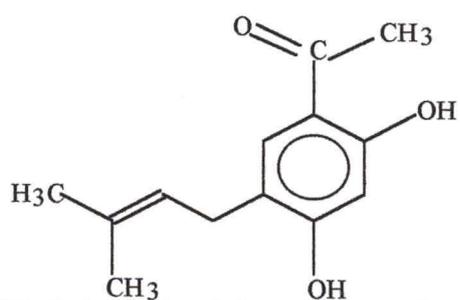
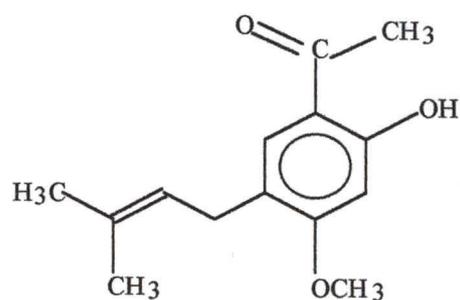
**13-** 2,4,5-trimetoxi-acetofenona**14-** 2-acetoxi-4,6-dimetoxi-acetofenona**15-** 2,4-dihidroxi-3-prenil-acetofenona**16-** 2-hidroxi-4-metoxi-3-prenil-acetofenona**17-** 2,4-dihidroxi-5-prenil-acetofenona**18-** 2-dihidroxi-4-metoxi-5-prenil-acetofenona**Fig. 11.** (Continuação).

Tabela V. Índices de retenção de Kováts de acetofenonas obtidas nas fases estacionárias: CBP5 e LM-1 (160°C) e alguns dos descritores moleculares estudados: ${}^1X'$, índice de conectividade molecular de valência de 1ª ordem, A_T , área total, V_{MOLEC} , volume molecular, E_{HOMO} , energia do orbital molecular ocupado de mais alta energia, S_9 , índice do estado eletrotológico do átomo de carbono nº 9, S_1 , índice do estado eletrotológico do átomo de carbono nº 1, A_P , área polar, A_i , área insaturada e E_T , energia total.

Nº	Composto	I_{CBP5}	I_{LM-1}	${}^1X'$	V_{MOLEC} (A ³)	A_T (A ²)	E_{HOMO} (eV)	S_9	S_1	A_P (A ²)	A_i (A ²)	E_T (eV)
1	Acetofenona	1142,7	1104,0	2,8648	163,00	152,25	-9,9974	1,5648	0,7755	22,163	63,156	-1364,5
2	4-OMe	1373,7	1329,4	3,3879	197,00	177,06	-9,3771	1,5435	0,7137	28,505	55,718	-1807,4
3	3-OH	1402,8	1353,1	2,9991	169,00	161,42	-9,4119	1,4670	0,5417	41,765	57,857	-1658,4
4	4-OH	1441,5	1395,0	2,9991	170,00	160,68	-9,4351	1,4924	0,6230	41,845	57,856	-1658,4
5	3,4-Metoxileno	1455,4	1404,3	3,6778	194,00	175,96	-9,2763	1,5253	0,6521	38,667	55,145	-2069,7
6	4-OH-3OMe	1499,5	1439,5	3,5281	202,00	189,90	-9,0139	1,4641	0,5321	49,210	54,031	-2101,1
7	2,5-OH	1514,2	1458,8	3,1394	174,00	164,13	-8,8778	1,3279	0,1435	56,108	56,611	-1952,3
8	2,6-OH	1523,8	1479,9	3,1454	175,00	161,66	-9,1141	1,2865	-0,0208	52,590	57,039	-1952,2
9	2,4-OH	1545,9	1492,9	3,1394	177,00	168,43	-9,3635	1,3533	0,2248	58,243	56,372	-1952,2
10	2,4-OMe	1578,8	1527,1	3,9169	230,00	210,02	-9,1075	1,5043	0,5725	35,746	53,428	-2250,2
11	2-OH-4,6-OMe	1684,5	1633,8	4,0572	231,00	212,77	-9,1823	1,3651	0,1744	35,648	53,824	-2250,2
12	2,4,6-OMe	1751,1	1692,6	4,4459	261,00	243,97	-9,1463	1,4651	0,4313	43,055	48,921	-2693,0
13	2,4,5-OMe	1753,7	1693,6	4,4459	262,00	241,66	-8,6916	1,4760	0,4816	42,747	48,235	-2692,9
14	2-acetoxi-4,6-OMe	1812,1	1740,1	4,9459	284,00	258,98	-9,1574	1,3724	0,2255	67,539	30,835	-3105,4
15	2,4-OH-3-Prenil	1874,2	1821,1	5,1125	281,00	258,00	-9,2228	1,3857	0,2453	55,599	66,773	-2668,3
16	2-OH-4-OMe-3-Prenil	1906,8	1851,6	5,5013	307,00	281,30	-9,2648	1,4367	0,3361	45,019	63,962	-2817,2
17	2,4-OH-5-Prenil	1956,0	1906,7	5,1065	280,00	260,80	-9,0946	1,3857	0,2453	58,296	64,502	-2668,3
18	2-OH-4-OMe-5-Prenil	1875,6	1817,7	5,4953	308,00	280,57	-9,0556	1,4367	0,3361	46,295	63,943	-2817,3

(A) = Angstrom (eV) = elétron-volt

As melhores regressões lineares simples foram obtidas com descritores relacionados ao tamanho, volume e topologia molecular (A_T , V_{MOLEC} , E_T e ${}^1X^v$). Estes descritores têm alta colinearidade entre si, sendo assim, apenas um deles foi considerado na correlação múltipla. Isto permitiu-nos observar que o tamanho, a forma e a topologia molecular (que considera os átomos como se estivessem conectados entre si na molécula, sem considerar ângulos nem comprimentos⁵⁰, são os principais fatores determinantes da retenção destes compostos. Nas regressões lineares múltiplas, outros descritores como a área polar, A_P , e o índice do estado eletrotológico, S_9 , foram introduzidos.

As melhores equações de regressão linear múltipla, com duas variáveis, usando fases estacionárias LM-1 e CBP5 (160°C) foram:

$$I_{CBP5} = 4,211 (\pm 0,59) \mathbf{A_T} - 891,9 (\pm 350) \mathbf{S_9} + 2018 (\pm 536) \quad (21)$$

$$n = 18 \quad r = 0,975 \quad s = 52,130 \quad F = 146,637 \quad r^2_{cv} = 0,923$$

$$I_{LM-1} = 4,119 (\pm 0,60) \mathbf{A_T} - 874,6 (\pm 355) \mathbf{S_9} + 1959 (\pm 543) \quad (22)$$

$$n = 18 \quad r = 0,974 \quad s = 52,835 \quad F = 136,698 \quad r^2_{cv} = 0,919$$

Nas equações 21 e 22 os melhores descritores foram a área total, A_T , e o índice do estado eletrotológico, S_9 . As interações dispersivas são descritas pelo parâmetro A_T , sendo que o índice eletrotológico une em um único índice atributos topológicos e

eletrônicos de um átomo no esqueleto molecular. S_9 é um descritor que dá informação a cerca da influência que certos átomos ou grupos substituintes têm sobre o ambiente topológico e eletrônico do átomo tomado como referência.

O valor do estado eletrotológico é derivado do valor da eletronegatividade distribuída sobre um átomo de acordo com o seu grau de ligação com átomos não hidrogenados. O estado eletrotológico intrínseco, I_j , do átomo é perturbado pela presença dos outros átomos no campo ou na molécula. Esta perturbação é estimada em parte pelas diferenças na eletronegatividade.

O estado eletrotológico resultante de um átomo (S_j), é um valor numérico que descreve a disponibilidade daquele átomo para interagir no espaço com algum átomo ou grupo de referência. Esta disponibilidade calculada inclui a eletronegatividade e o ambiente topológico, isto é, se o átomo está bloqueado ou na periferia da molécula. Pode ser pensada como sendo a probabilidade de interação de um átomo em estudo com átomos de outras moléculas.

A natureza do substituinte na molécula influencia este índice. Substituintes doadores de elétrons contribuem para aumentar o valor deste índice e aqueles receptores de elétrons, para diminuí-lo.

Nas equações 23 e 24 os descritores moleculares ${}^1X^v$ e A_p também mostram boa correlação. A_p está relacionada às áreas da molécula que apresentam dipolos. ${}^1X^v$ é um índice que descreve bem

grupos de compostos com anéis aromáticos e substituintes contendo heteroátomos. Este índice descreve características estruturais como, comprimento, ramificações, ciclo, presença e tipo de heteroátomo, a presença e o grau de adjacência dos átomos (no anel) mas não o nível quântico e eletrônico dos mesmos, o que significa dizer que ele não inclui informações sobre a influência eletrônica. Fatores eletrônicos incluem polaridade, carga, nível de energia e outros. Fatores topológicos incluem disposição dos átomos no esqueleto (ligações e ramificações), fatores estéreis, espaciais, volume, área superficial, etc.

$$I_{CBP5} = 197,2 (\pm 39,0) \mathbf{1X^v} + 5,667 (\pm 3,16) \mathbf{A_P} + 570,6 (\pm 173) \quad (23)$$

$$n = 18 \quad r = 0,961 \quad s = 65,010 \quad F = 91,610 \quad r^2_{cv} = 0,877$$

$$I_{LM-1} = 194,1 (\pm 39,7) \mathbf{1X^v} + 5,350 (\pm 3,22) \mathbf{A_P} + 544,5 (\pm 177) \quad (24)$$

$$n = 18 \quad r = 0,958 \quad s = 66,264 \quad F = 84,176 \quad r^2_{cv} = 0,867$$

Os coeficientes das equações (21 a 24) correspondentes a A_T , $1X^v$ e A_P indicam que o índice de retenção aumenta com o aumento destes parâmetros. Porém, o índice S_9 proporciona um decréscimo do valor do índice de retenção com seu aumento.

Os mesmos descritores moleculares foram determinados para ambas as fases estacionárias estudadas (LM-1 e CBP5) e, com valores estatísticos muito próximos demonstrando que estas duas fases têm os mesmos tipos de interações com as acetofenonas estudadas.

A fim de se verificar a previsão da retenção cromatográfica de outras acetofenonas através destes mesmos descritores, acrescentou-se a este grupo de 18 acetofenonas (retenções determinadas em fase estacionária LM-1) outras 9 analisadas por Riguezza⁵⁷. As equações obtidas para os 27 compostos foram:

$$I_{LM-1/OV-101} = 5,19 (\pm 1,02) \mathbf{A_T} - 752,47 (\pm 515,88) \mathbf{S_9} + 1516,81 (\pm 24,59) \quad (25)$$

$$n = 27 \quad r = 0,925 \quad s = 104,900 \quad F = 71,34 \quad r^2_{cv} = 0,811$$

$$I_{LM-1/OV-101} = 208,50 (\pm 43,03) \mathbf{X^v} + 8,34 (\pm 2,56) \mathbf{A_P} + 328,18 (\pm 143,83) \quad (26)$$

$$n = 27 \quad r = 0,960 \quad s = 77,176 \quad F = 141,97 \quad r^2_{cv} = 0,900$$

As equações 25 e 26 demonstram que estes descritores podem prever a retenção cromatográfica de outras acetofenonas.

Na Tabela VI são mostrados os índices de retenção experimentais e calculados com as equações 25 e 26 e os desvios individuais entre estes valores.

Tabela VI. Índices de retenção de Kováts de acetofenonas determinados em fase estacionária LM-1 (IR_{LM-1}) à 160°C, índices calculados pelas equações 25 (Calc. Eq. 25) e 26 (Calc. Eq. 26) e as diferenças entre os valores experimentais e os calculados (Dif. Eq. 25 e Dif. Eq. 26).

Nº	Composto	IR_{LM-1}	Calc. Eq.25	Dif. Eq.25	Calc. Eq.26	Dif. Eq.26
1	Acetofenona	1104,0	1129,9	-25,9	1110,3	-6,3
2	4-OMe	1329,4	1274,8	54,6	1272,2	57,2
3	3-OH	1353,1	1251,1	102,0	1301,7	51,4
4	4-OH	1395,0	1228,2	166,8	1302,3	92,7
5	3,4-Metoxileno	1404,3	1282,8	121,5	1417,3	-13,0
6	4-OH-3OMe	1439,5	1401,2	38,3	1474,0	-34,5
7	2,5-OH	1458,8	1369,9	88,9	1450,5	8,3
8	2,6-OH	1479,9	1388,2	91,7	1422,4	57,5
9	2,4-OH	1492,9	13173,1	119,8	1468,3	24,6
10	2,4-OMe	1527,1	1475,4	51,7	1442,9	84,2
11	2-OH-4,6-OMe	1633,8	1594,4	39,4	1471,3	162,5
12	2,4,6-OMe	1692,6	1681,2	11,4	1614,1	78,5
13	2,4,5-OMe	1693,6	1661,0	32,6	1611,5	82,1
14	2-acetoxi-4,6-OMe	1740,1	1828,9	-88,8	1922,4	-182,3
15	2,4-OH-3-Prenil	1821,1	1813,8	7,3	1857,6	-36,5
16	2-OH-4-OMe-3-Prenil	1851,6	1896,4	-44,8	1850,5	1,1
17	2,4-OH-5-Prenil	1906,7	1828,3	78,4	1878,9	27,8
18	2-OH-4-OMe-5-Prenil	1817,7	1892,6	-74,9	1859,9	-42,2
19	4-Me	1181,7	1221,4	-39,7	1201,1	-19,4
20	3-Me	1168,9	1216,8	-47,9	1200,2	-31,3
21	2-Me	1133,7	1203,7	-70,0	1190,4	-56,7
22	4-Cl	1226,3	1249,0	-22,7	1214,6	11,7
23	2-Cl	1193,8	1247,8	-54,0	1204,1	-10,3
24	4-F	1047,6	1238,6	-191,0	1137,6	-90,0
25	2-F	1026,4	1320,0	-293,6	1134,7	-108,3
26	2-OH	1162,7	1265,7	-103,0	1284,1	-121,4
27	4-Br	1315,1	1263,2	51,9	1303,5	11,6

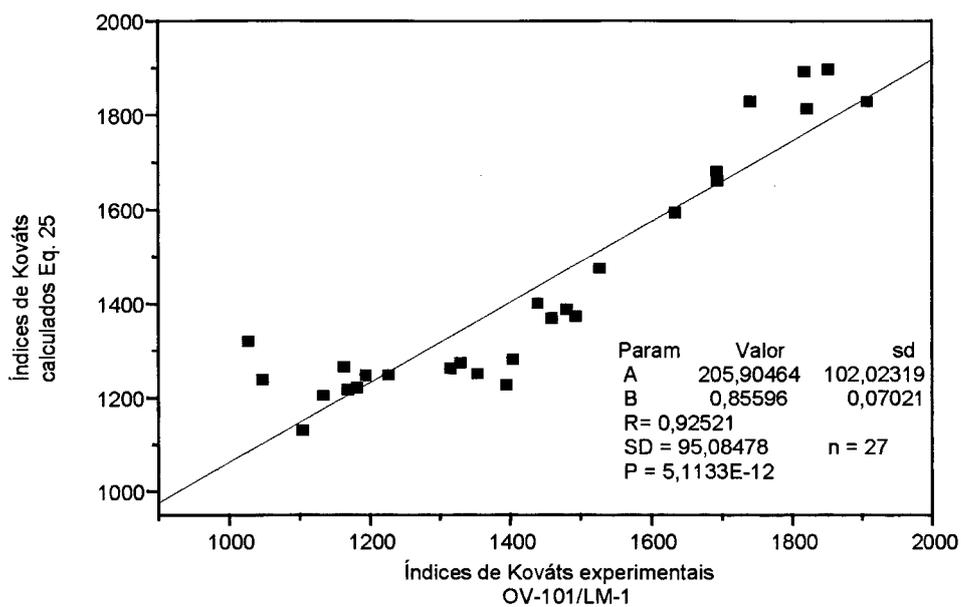
Índices experimentais obtidos em fase estacionária OV-101⁵⁷

A equação 26 descreve melhor, neste caso, a retenção cromatográfica dos compostos considerados. Os índices $^1X^v$ e A_p parecem ser os melhores parâmetros que representam as características estruturais destes compostos. O composto 26 foi o que mais desviou da correlação, seu desvio pode estar relacionado à formação de ligação de hidrogênio intramolecular. Outro fator que pode explicar as diferenças encontradas (desvios) são as condições experimentais para a obtenção dos índices de retenção, isto é, os 9 compostos foram analisados em colunas cromatográficas de baixa resolução⁵⁷. Na equação 25 os compostos que mais desviaram da correlação foram os que contém o átomo de flúor como substituinte no anel, sem eles a correlação melhora sensivelmente, $r=0,960$.

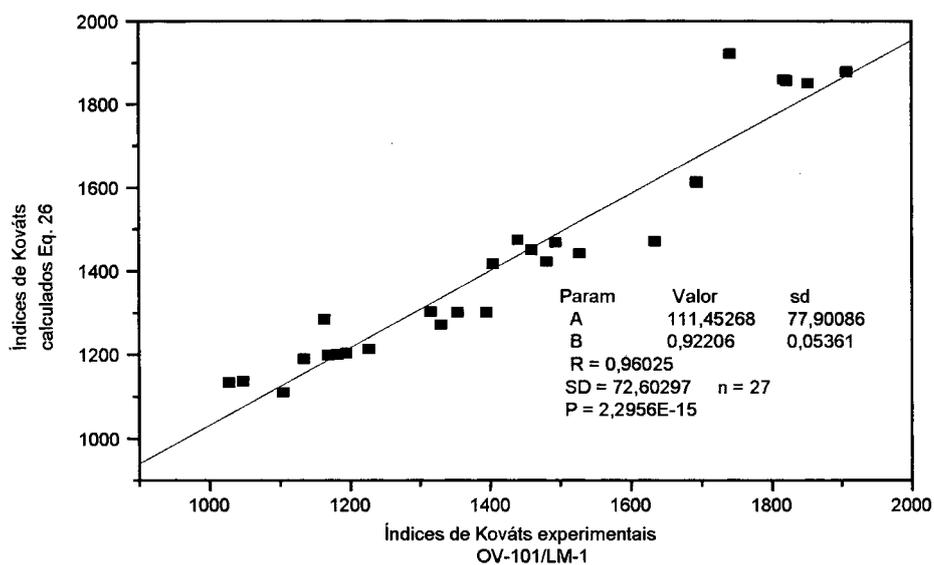
A validação do modelo foi verificada através dos valores do coeficiente de validação cruzada, r^2_{cv} , indicando que estas equações explicam bem a retenção destes compostos no sistema cromatográfico, nas condições empregadas.

Estas equações podem auxiliar na previsão da retenção cromatográfica de outras acetofenonas cujos índices de retenção não foram determinados.

A Fig. 12 apresenta os gráficos da correlação linear simples entre os índices de retenção experimentais (fase estacionária LM-1/OV-101) e calculados (equações 25 e 26).



(a)



(b)

Figura 12. (a) Correlação linear simples entre os índices de retenção experimentais das acetofenonas obtidos na fase estacionária LM-1/OV-101 e calculados pela equação 25. (b) Correlação linear simples entre os índices de retenção experimentais obtidos na fase estacionária LM-1/OV-101 e os calculados pela equação 26.

4.3 Triterpenos

Para otimizar as condições para a análise cromatográfica, testou-se a relação entre o tempo de retenção e o número de átomos de carbono para as condições isotérmica e com programação linear de temperatura. O gráfico $\log t'_R$ em função do nº de átomos de carbono de n-alcenos (Fig.s 13 e 14) mostram a ótima linearidade para a condição isotérmica, porém, obtendo-se uma equação polinomial de 2ª ordem para o modo com programação linear de temperatura, respectivamente.

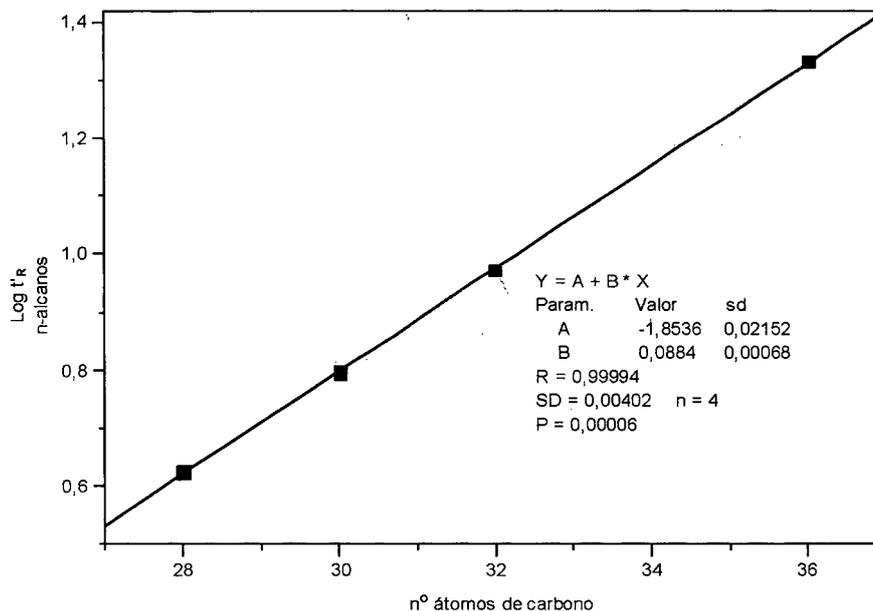


Figura 13. Gráfico $\log t'_R$ em função dos número de átomos de carbonos de n-alcenos na condição com temperatura isotérmica (290°C).

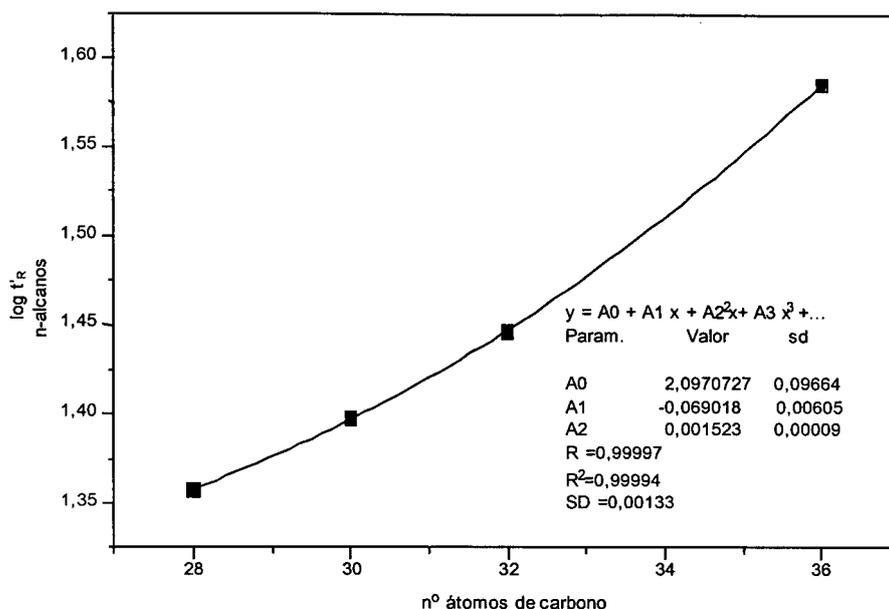


Figura 14. Gráfico $\log t'_R$ em função do número de átomos de carbonos de n-alcenos no modo com programação linear de temperatura (80-295°C a 10°C/min)

Como a ordem de eluição, e os descritores envolvidos nas equações para a descrição da retenção cromatográfica dos triterpenos não alterou quando se utilizou uma programação linear de temperatura na obtenção dos dados cromatográficos, optou-se por só mostrar os resultados obtidos no modo isotérmico de temperatura.

As temperaturas isotérmicas utilizadas nas análises foram escolhidas a partir da determinação da faixa linear do gráfico $\log t'_R$ em função de diferentes temperaturas (faixa de 275 - 295°C) da lupanona e da β -amirina (Fig. 15 e 16).

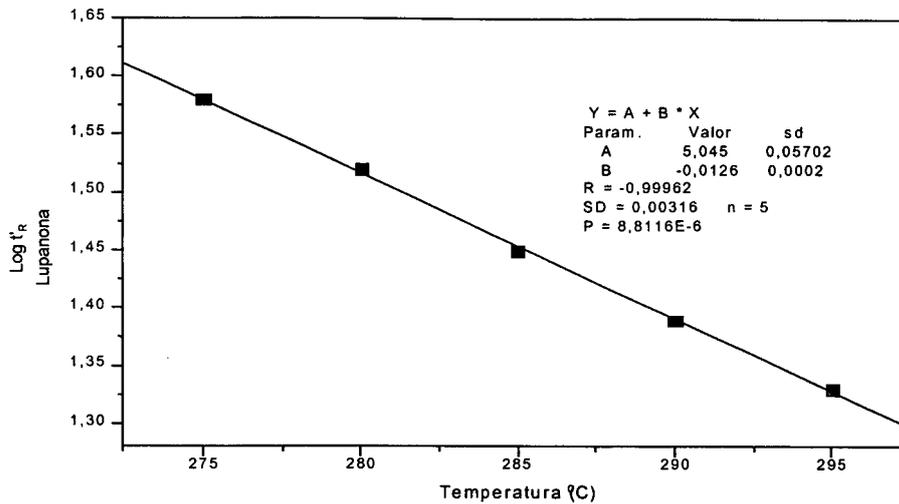


Figura. 15. Gráfico $\log t'_R$ da lupanona obtidos na coluna LM-1 em relação a diferentes temperaturas isotérmicas da coluna, mantendo-se $T_{inj} = 310^\circ\text{C}$ e $T_{det} = 320^\circ\text{C}$

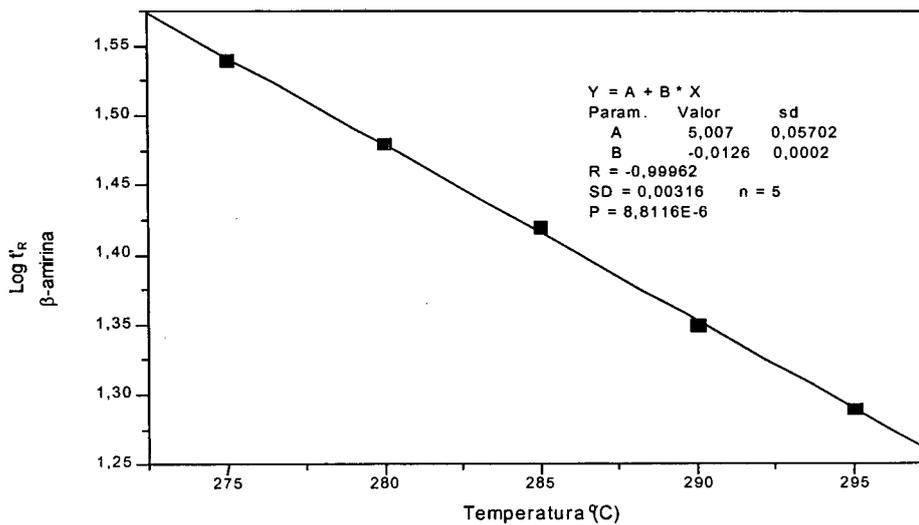


Figura 16. Gráfico $\log t'_R$ da β -amirina obtidos na coluna LM-1 em relação a diferentes temperaturas isotérmicas da coluna, mantendo-se $T_{inj} = 310^\circ\text{C}$ e $T_{det} = 320^\circ\text{C}$

O tempo de retenção experimental (t_R) foi obtido usando a média de três determinações experimentais. Os desvios-padrão ficaram abaixo de 0,01%.

Dados de retenção cromatográficos de 23 triterpenos cromatografados em fase estacionária de baixa polaridade são indicados na Tabela VII. Nesta Tabela também são mostrados alguns dos descritores estruturais empregados no estudo de correlação entre estrutura e retenção cromatográfica destes compostos.

Ikan e Gottlieb¹²⁹ estudaram a correlação entre tempo de retenção e a estrutura de grupos de triterpenos tetracíclicos e pentacíclicos. Os tempos de retenção foram afetados pela silanização, usada para minimizar as caudas dos picos. Os derivados silanizados são mais voláteis e menos polares que os triterpenos com hidroxilas livres. Os acetilados porém promovem o aumento da retenção cromatográfica.

Militão e colaboradores¹⁵⁸ elaboraram um banco de dados com cerca de 1000 triterpenos de diferentes esqueletos, atribuições de deslocamento e ambiente químico de cada átomo de carbono e suas respectivas estruturas, além de várias rotinas programadas para auxiliar a tarefa de determinação estrutural de triterpenos. Eles criaram um sistema de codificação que refletia o ambiente químico dos triterpenos estudados. Este código foi baseado no sistema de numeração hexadecimal, refletindo cada átomo de carbono, segundo sua hibridização e grau de hidrogenação.

Como pode ser visto, outros métodos que não os analíticos tradicionais, podem ser empregados para auxiliar na elucidação estrutural e identificação destes compostos.

Trabalhos envolvendo o estudo da relação entre a estrutura e a retenção de compostos com estruturas pequenas, mais simples que os triterpenos e de peso molecular abaixo de 250 unidades de massa, foram até então, amplamente abordados^{57,67,68,92,132,134,157,159,160}. Na tentativa de aplicar a metodologia da QSRR a estruturas mais complexas, os triterpenos pentacíclicos foram também utilizados neste trabalho.

Analisando-se os valores dos índices de retenção de Kováts na Tabela VII, observa-se que os compostos carbonilados, hidroxilados e acetilados, eluem nesta ordem do sistema cromatográfico. Como exemplo pode-se comparar os valores dos índices obtidos para o betulinato e betulonato de metila. O maior índice é o do derivado do ácido betulínico, pois este apresenta uma hidroxila que possui uma interação maior com a fase estacionária do que o oxigênio carbonílico do derivado do ácido betulônico. Isto comprova que diferentes tipos de interações ocorrem entre o soluto e a fase estacionária, fazendo com que a retenção não seja a mesma.

Uma análise pode ser feita com relação à disposição de ramificações. Fazendo-se a comparação entre os compostos α -amirina em relação à β -amirina e ursolato de metila relacionado com oleanolato de metila, observa-se que no primeiro caso, a diferença estrutural está

nas metilas 29 e 30, onde na α -amirina elas estão em carbonos diferentes (C-19 e C-20), e na β -amirina elas estão no mesmo (C-20), fazendo com que a retenção cromatográfica da α -amirina seja ligeiramente maior devido à maior área superficial da molécula. O composto com as duas metilas (29 e 30) no mesmo átomo de carbono, apresenta ainda impedimento estéreo, que dificulta uma maior interação com a fase estacionária e portanto, uma menor retenção.

No segundo caso, onde comparamos ursolato com oleanolato de metila, observa-se o mesmo fato, isto é, o ursolato de metila apresenta um índice de retenção maior, pois sua estrutura apresenta maior área (metilas em carbonos diferentes) e ausência de impedimento estéreo.

Tabela VII. Índices de retenção de Kováts de triterpenos obtidos na fase estacionária LM-1 (280°C e 290°C) e alguns dos descritores moleculares estudados.

Nº	Composto	I (280)	I (290)	⁴ X ^v p	⁵ X ^v p	⁶ X ^v p	⁷ X ^v p	⁴ X ^v pc	⁵ X ^v c	A _P (A ²)	HOMO - 2 (eV)	HOMO - 1 (eV)	HOMO (eV)
1	β-amirina	3352,6	3381,8	10,507	9,1617	6,9143	4,7778	11,240	5,2882	18,052	-10,270	-10,162	-9,1565
2	Ác.3-β-OH-11oxo-12-eno-30-óico metilado	3787,5	3828,0	10,600	8,8340	6,8288	4,6298	11,154	4,8895	68,692	-10,218	-9,9571	-9,9323
3	Oleanolato de metila	3526,4	3571,5	10,803	9,0007	7,2252	5,0762	11,015	5,0007	48,198	-10,327	-10,197	-9,2245
4	Lupanona	3364,4	3397,4	11,547	9,5556	7,6329	5,4412	11,287	4,5371	19,902	-10,319	-9,180	-9,9702
5	Lupanol	3394,2	3422,0	11,637	9,7414	7,8106	5,5816	11,528	4,6395	18,787	-10,413	-10,094	-10,020
6	Lupeol	3366,7	3395,1	11,481	9,4445	7,5391	5,4439	11,251	4,4921	16,825	-10,125	-10,071	-9,5995
7	Betulinato de metila	3533,3	3562,9	11,689	9,4349	7,7510	5,7253	11,040	4,2046	51,346	-10,185	-10,121	-9,6859
8	Betulonato de metila	3512,6	3535,6	11,500	9,2490	7,5734	5,5850	10,798	4,1022	43,782	-10,315	-10,016	-9,7255
9	α-amirina	3392,8	3423,0	10,844	8,9596	6,8952	4,8240	11,136	4,4905	18,366	-10,254	-10,166	-9,1451
10	Ursolato de metila	3580,3	3609,6	11,035	8,9758	7,1132	5,1117	10,947	4,2030	45,313	-10,309	-10,201	-9,1750
11	Filic-3-eno	3346,7	3376,0	11,672	9,1026	7,0479	5,7318	11,412	4,1691	0,0000	-10,109	-10,010	-9,2054
12	Adiantona	3354,7	3382,1	11,767	8,9660	7,3060	5,6618	10,906	4,3503	22,209	-10,360	-10,105	-10,049
13	Isoadiantol	3383,6	3412,8	11,911	9,1028	7,4217	5,7594	11,021	4,3998	19,007	-10,426	-9,9916	-9,9502
14	α-amirina metilada	3370,2	3399,2	11,020	8,8959	6,9259	4,8089	10,966	4,3881	7,2230	-10,159	-10,080	-9,0550
15	β-amirina metilada	3331,8	3359,7	10,683	9,0981	6,9450	4,7626	11,071	5,1857	7,2170	-10,161	-10,100	-9,0972
16	Acetato de α-amirina	3462,4	3495,3	11,242	9,3042	7,1005	5,0461	11,175	4,5659	27,596	-10,199	-10,116	-9,1182
17	Acetato de β-amirina	3426,1	3457,0	10,904	9,5063	7,1196	4,9998	11,280	5,3636	27,625	-10,187	-10,130	-9,0718
18	α-amirinona	3311,8	3337,8	11,889	9,5628	7,7644	5,5673	11,284	4,4841	19,888	-10,767	-10,246	-9,3656
19	β-amirinona	3343,2	3456,1	10,655	8,7738	6,7192	4,6878	10,894	4,3881	21,362	-10,341	-10,031	-9,2258

Tabela VII (continuação)

Nº	Composto	I (280)	I (290)	⁴ XVp	⁵ XVp	⁶ XVp	⁷ XVp	⁴ XVpc	³ XVc	A _p (Å ²)	HOMO - 2 (eV)	HOMO - 1 (eV)	HOMO (eV)
20	Lupeol metilado	3305,1	3329,8	10,317	8,9759	6,7383	4,6415	10,998	5,1857	6,9130	-10,045	-10,006	-9,5690
21	Cinamato de lupeol	3436,9	3466,3	12,586	10,222	7,9828	5,7802	11,465	4,6285	27,613	-9,9710	-9,5634	-9,3900
22	Cinamato de α- amirina	3465,1	3493,1	11,950	9,7370	7,3389	5,1608	11,349	4,6269	29,167	-9,9776	-9,3972	-8,8539
23	Acetato de lupeol	3427,2	3457,0	11,879	9,7891	7,7444	5,6655	11,291	4,5675	27,453	-10,140	-10,119	-9,4968

(Å) = Ångstrom (eV) = elétron-volt

Inicialmente tentou-se encontrar as equações que melhor pudessem descrever a retenção cromatográfica dos triterpenos, relacionando-se seus índices de retenção de Kováts com diferentes descritores moleculares em equações simples (com uma variável). As equações foram apresentadas apenas para a temperatura de 290°C.

Apesar de ser encontrado um coeficiente de correlação entre índice de retenção de Kováts e a área polar (A_P) igual a 0,92 as demais correlações foram insatisfatórias (abaixo de 0,7). Optou-se então por utilizar equações envolvendo mais descritores.

As melhores correlações com 2 variáveis foram obtidas com A_P e ${}^6X^v_p$ (0,947). O parâmetro ${}^6X^v_p$ está relacionado com fragmentos de 6 ligações contínuas, sendo um índice bastante apropriado para descrever moléculas com anéis condensados. Este índice demonstra que a retenção cromatográfica dos triterpenos está relacionada com o tamanho e grau de ramificação nos anéis.

Introduzindo-se uma terceira variável, observa-se uma ligeira melhora da qualidade da equação:

$$I_{290} = 6,830 (\pm 0,98) A_P - 85,304 (\pm 44,86) {}^6X^v_p + 103,214 (\pm 89,12) {}^4X^v_{pc} + 2752,603 (\pm 892,82) \quad (27)$$

$$n= 23 \quad r=0,959 \quad SD= 33,440 \quad F= 73,25 \quad r^2_{cv}= 0,863$$

O índice ${}^4\mathbf{X}_{pc}^v$ descreve um subgráfico de quarta ordem linear com uma ramificação, que é formado sempre que há um ponto de ramificação na cadeia da estrutura (fragmento equivalente ao esqueleto do isopentano). Pode ser visto na Fig. 17 que nos esqueletos dos triterpenos, existem estes fragmentos. Este índice é importante então para a descrição de anéis substituídos. Cada substituinte origina no mínimo dois subgráficos ${}^4\mathbf{X}_{pc}^v$.

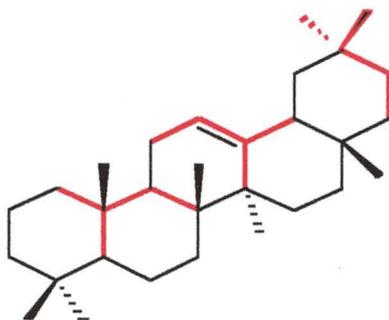


Figura 17. Alguns subgráficos do tipo ${}^4\mathbf{X}_{pc}^v$ presentes no esqueleto de um oleanano.

Afim de melhorar ainda mais a qualidade da equação e verificar se outros fatores também poderiam estar influenciando a retenção dos triterpenos estudados, introduziu-se mais um termo a ela. Este termo é o índice ${}^3\mathbf{X}_c^v$, que representa um subgráfico formado por 3 ligações a um átomo de carbono terciário (fragmento com três ligações ligado a um átomo central). Na Fig. 18 pode ser visto este subgráfico.

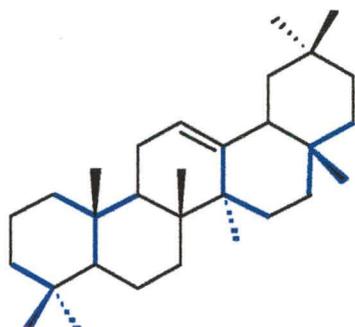


Figura 18. Alguns subgráficos do tipo ${}^3\mathbf{X}^{\mathbf{v}_c}$ no esqueleto de um oleanano.

O quarto termo então adicionado, ${}^3\mathbf{X}^{\mathbf{v}_c}$, surgiu como um descritor de ajuste, isto é, individualmente é incapaz de descrever a retenção dos compostos estudados, porém combinado com outros, considerados importantes para a descrição, melhora bastante a equação. O coeficiente de correlação passou de 0,959 para 0,974.

A equação obtida com 4 variáveis foi:

$$I_{290} = 6,983 (\pm 0,82) \mathbf{A}_P - 117,659 (\pm 43,25) {}^6\mathbf{X}^{\mathbf{v}_p} + 156,339 (\pm 82,34) {}^4\mathbf{X}^{\mathbf{v}_{pc}} - 59,402 (\pm 40,11) {}^3\mathbf{X}^{\mathbf{v}_c} + 2665,871 (\pm 745,07) \quad (28)$$

$$n= 23 \quad r=0,974 \quad SD= 27,716 \quad F= 82,38 \quad r^2_{cv}= 0,904$$

A área polar (\mathbf{A}_P), termo que descreveu melhor a retenção, está relacionada a grupamentos polares na estrutura. Observa-se que aqueles compostos com grupos polares, como os acetatos, apresentam maiores valores para \mathbf{A}_P , enquanto compostos como o filic-3-eno, que

não apresenta grupos polares e os metilados, têm menores valores. Estes fatores estão relacionados com a retenção cromatográfica, de modo que quanto maior a A_P , maior a retenção.

Da mesma maneira que o índice ${}^6X^v_p$, o índice ${}^4X^v_{pc}$ também descreve atributos relacionados ao tamanho da molécula, porém considerando principalmente a presença de substituintes.

Como são índices de valência, ambos diferenciam heteroátomos. Os valores atribuídos ao lupanol são diferentes da lupanona, isto é, estes compostos são diferenciados por este índice. O do lupanol sendo maior do que o da lupanona, seguindo a ordem de eluição (retenção).

Conforme a Tabela VIII observa-se que não existe colinearidade significativa entre as variáveis envolvidas na equação proposta.

A adição dos termos seguiu o método de regressão por etapas, ou seja, com o auxílio do programa *MRA / Bilin* novas equações foram propostas à medida que se promovia um aumento do número de termos.

O valor do coeficiente de validação cruzada, r^2_{cv} , encontrado (0,904) é muito bom, comprovando o poder de previsão de outras estruturas similares através da equação proposta.

Tabela VIII. Valores dos coeficientes de determinação, r^2 , entre as variáveis ${}^6X^v_p$, ${}^4X^v_{pc}$, A_p e ${}^3X^v_c$, envolvidas na equação 28.

	${}^6X^v_p$	${}^4X^v_{pc}$	${}^3X^v_c$	A_p
${}^6X^v_p$	1	0,161	0,075	0,028
${}^4X^v_{pc}$		1	0,124	0,022
${}^3X^v_c$			1	0,004
A_p				1

A Tabela IX mostra os índices de retenção de Kováts experimentais e os calculados através da equação 28, bem como as diferenças entre estes valores. Apesar das diferenças observadas, as características estatísticas encontradas na equação 28 são melhores que aquelas encontradas no modelo descrito por Katritzky³² para descrever a retenção de 178 hidrocarbonetos ramificados com grupos metila produzidos por insetos. Deve-se levar em consideração ainda que as estruturas dos triterpenos são mais complexas e que o número de compostos considerados é muito menor.

Tabela IX. Índices de retenção de Kováts de triterpenos determinados em fase estacionária LM-1 a 290°C, índices calculados pela equação 28 (Calc. Eq. 28) e as diferenças entre os valores experimentais e os calculados (Dif. Eq. 28).

Nº	Composto	I (290)	Calc. Eq.28	Dif. Eq.28
1	β - amirina	3381,8	3421,5	-39,7
2	Ác.3- β -OH-11oxo-12-eno-30-óico metilado	3828,0	3795,4	32,6
3	Oleanolato de metila	3571,5	3577,4	-5,9
4	Lupanona	3397,4	3401,8	-4,4
5	Lupanol	3422,0	3404,7	17,3
6	Lupeol	3395,1	3388,4	6,6
7	Betulinato de metila	3562,9	3588,7	-25,8
8	Betulonato de metila	3535,6	3525,0	10,6
9	α - amirina	3423,0	3457,1	-34,1
10	Ursolato de metila	3609,6	3607,2	2,4
11	Filic-3-eno	3376,0	3373,1	2,9
12	Adiantona	3382,1	3408,0	-25,9
13	Isoadiantol	3412,8	3387,0	25,8
14	α - amirina metilada	3399,2	3355,1	44,1
15	β - amirina metilada	3359,7	3322,3	37,4
16	Acetato de α - amirina	3495,3	3499,1	-3,8
17	Acetato de β - amirina	3457,0	3465,9	-8,9
18	α - amirinona	3337,8	3389,0	-51,2
19	β - amirinona	3456,1	3467,0	-10,9
20	Lupeol metilado	3329,8	3332,7	-2,9
21	Cinamato de lupeol	3466,3	3436,9	29,4
22	Cinamato de α - amirina	3493,1	3505,5	-12,4
23	Acetato de lupeol	3457,0	3440,3	16,7

Ainda para testar o poder de previsão estrutural do modelo apresentado (Eq. 28), calculou-se os índices de retenção de Kováts de dois compostos que não foram usados na elaboração da equação. A área polar (A_P) e os índices de conectividade envolvidos, foram determinados da mesma maneira que os demais compostos.

Os índices de Kováts foram também determinados para que se pudesse compará-los aos valores calculados.

A glochidona e a isoadiantona (Fig. 19 e 20), compostos testados, foram analisadas nas mesmas condições experimentais que as substâncias usadas para elaborar o modelo.

Os valores obtidos através da equação 28 foram:

Glochidona: $I_{290} = 3395,4$

Isoadiantona: $I_{290} = 3401,3$

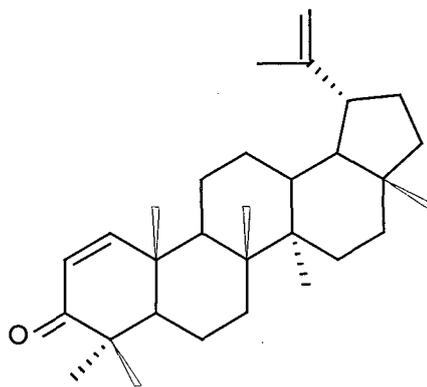


Figura 19. Glochidona

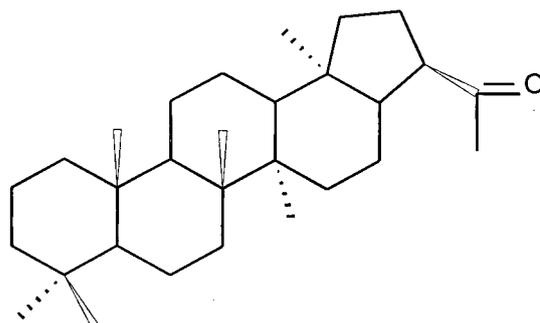


Figura 20. Isoadiantol

Na Tabela X estes valores são comparados com os obtidos experimentalmente.

Tabela X. Índices de retenção de Kováts experimentais obtidos em fase estacionária LM-1 a 290°C, os calculados pela Eq. 28 da glochidona e da isoadiantona e as respectivas diferenças (Δ) entre estes valores.

Composto	I _{EXP.}	I _{CALC.}	Δ
Glochidona	3399,6	3395,4	4,2
Isoadiantona	3378,2	3401,3	-23,1

As diferenças observadas (Δ) estão abaixo do desvio-padrão previsto (ver Tabela na pág. anterior). Isto demonstra um bom poder de previsão do modelo proposto para atribuir valores de índices de retenção de Kováts às estruturas testadas.

É evidente que somente através do índice encontrado não poderíamos identificar as estruturas com precisão. Porém, com dados fornecidos por outras técnicas analíticas, a equação pode ser uma ferramenta fundamental no apontamento da estrutura verdadeira.

6.4 Alcenos

A relação entre o número de átomos de carbono de n-alcanos lineares e seus índices de retenção cromatográficos obedece uma escala linear. Quando é testada com alcanos ramificados, esta relação deixa porém de ser linear, uma vez que a retenção de carbonos terciários e quaternários diminui devido ao efeito estéreo produzido pelos grupos vizinhos. A Fig. 19 mostra a tendência linear para os alcanos lineares e a polinomial quadrática quando se aumenta o número de ramificações, em um mesmo átomo de carbono.

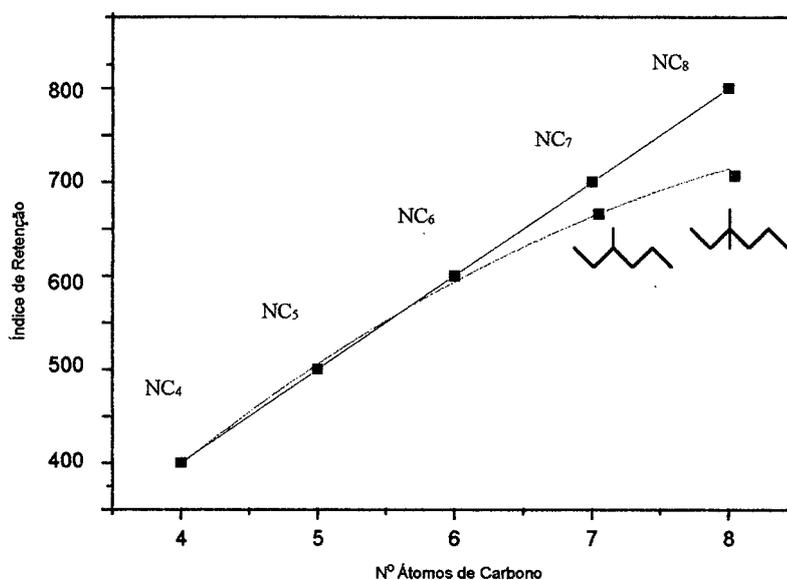


Figura 21. Correlação entre os índices de retenção e o número de átomos de carbono para alcanos lineares (nC) e ramificados.

Aplicando-se a definição de Kováts para alcanos lineares à molécula do 2,3 dimetilbutano, o valor de índice de retenção de Kováts deveria ser 600, ou seja, segundo o princípio da aditividade, este índice seria a soma das contribuições de cada átomo de carbono (100 para cada). Porém determinado experimentalmente, o valor é de 568,1¹³³. Fica claro que os átomos de carbono secundário e terciário nesta molécula têm valores inferiores ao estipulado por Kováts para carbonos de moléculas lineares, o que justifica a não linearidade da relação.

Para linearizar as equações polinomiais que ocorrem quando os índices de Kováts são relacionados ao número de átomos de carbono de alcanos ramificados, foi necessário encontrar um método

que considerasse a contribuição de alguns carbonos na molécula com índices numéricos diferentes daqueles propostos pelo princípio da aditividade.

Inicialmente foi criado o índice estéreo topológico⁷⁸ com o intuito de ser usado na previsão retenção cromatográfica de alcanos ramificados.

Pela teoria de Kováts, o valor de cada átomo de carbono é 100. No entanto, as contribuições devem ser diferentes para átomos de carbono secundário, terciário e quaternário. Assim sendo para o fragmento $-CH_3$ foi atribuído o valor 100, e para os fragmentos $-CH_2-$, $-CH<$ e $>C<$ os valores das contribuições tinham que ser menores, já que nesta ordem eles estão cada vez mais bloqueados, interagindo menos com a fase estacionária. Os valores atribuídos foram 90, 80 e 70 para $-CH_2-$, $-CH<$ e $>C<$ respectivamente⁷⁸.

Para torná-los mais adequados para a consideração topológica estes valores foram divididos por 100 (veja Tabela XI).

Tabela XI. Valores de C_i e δ_i para átomos de carbono primário, secundário, terciário e quaternário.

Fragmento	Valor	C_i	δ_i
-CH ₃	100	1,0	1,0000
-CH ₂ -	90	0,9	0,9487
-CH<	80	0,8	0,8944
>C<	70	0,7	0,8367

Heinzen e Yunes⁷⁸ consideraram que se a equação para compostos com ramificações era polinomial quadrática, então a contribuição de cada átomo de carbono seria sua própria contribuição (C_i) vezes a contribuição estérica de seus vizinhos (δ_i). Esta contribuição da vizinhança (δ_i) era considerada como a raiz quadrada de C_i .

$$\delta_i = C_i^{1/2} \quad (29)$$

A equação proposta inicialmente por eles para a determinação do então chamado índice estéreo topológico foi:

$$I_{ET} = \sum C_i \cdot \delta_1 \cdot \delta_2 \cdot \delta_3 \cdot \delta_4 \quad (30)$$

Os resultados ainda não estavam perfeitos, pois a correlação entre os índices de retenção e os índices estéreo topológicos não era boa, necessitando de cálculos mais apurados considerando-se não só os vizinhos diretos dos átomos de carbono considerados, mas os outros que também afetam a retenção cromatográfica de moléculas mais ramificadas.

Com isto, foi proposto um novo índice¹⁵⁶ para prever mais corretamente a retenção de alcanos ramificados e alcenos, diferenciando seus isômeros *cis* e *trans*.

Este índice baseia-se na hipótese de que a retenção cromatográfica da molécula é devida às interações que cada átomo possui com a fase estacionária.

A determinação do grau ou valor dos efeitos estéreos que agem sobre um determinado átomo de carbono de um alcano ou alceno por exemplo, não dependerá só da sua característica de ser primário, secundário, terciário ou quaternário, mas sim, do tamanho do substituinte. Como a tendência dos desvios é logarítmica, é necessário adicionar o valor do logaritmo do átomo adjacente, conforme ele seja primário, secundário, terciário ou quaternário.

Assim surge o novo índice semi-empírico topológico, I_{ET} ¹⁶¹ que é expresso como

$$I_{ET} = \sum C_i + \delta_i \quad (31)$$

sendo C_i o valor atribuído a cada átomo de carbono i da molécula e δ_i a soma do logaritmo do valor de cada átomo de carbono adjacente (C_1 , C_2 , C_3 e C_4)

$$\delta_i = \log C_1 + \log C_2 + \log C_3 + \log C_4 \quad (32)$$

6.4.1 Metodologia

Por serem interações difíceis de se descrever teoricamente, os valores de C_i para átomos de carbono de alcenos são baseados em índices de retenção experimentais.

Deste modo, para a elaboração do novo índice, alguns princípios básicos foram considerados:

- (i) No índice de conectividade, só o carbono ou átomos pesados é levado em conta no gráfico teórico, no qual são suprimidos os átomos de hidrogênio.
- (ii) O processo cromatográfico de separação resulta de forças que operam entre as moléculas do soluto e as moléculas da fase estacionária.
- (iii) A retenção das moléculas do soluto no caso de alcanos e alcenos é devida ao número de cada átomo de carbono e às interações específicas com a fase estacionária. A interação dos átomos de carbono com a fase estacionária é determinada por suas propriedades elétricas e pelo impedimento estéreo sofrido devido a outros átomos de carbono ligados a ele. Assim, é necessário distinguir, por exemplo, um átomo de carbono com ligação dupla em *cis* de um *trans*, pois eles são estericamente e eletricamente diferentes.

Os valores atribuídos aos átomos de carbono devem ser baseados no comportamento cromatográfico experimental das moléculas que refletem as características elétricas e estéricas destes

átomos. Estes valores são obtidos por uma aproximação numérica que considera, como foi dito, o comportamento geral da retenção cromatográfica dos compostos.

Na Tabela XII são apresentados os valores de C_i e \log de C_i para átomos de carbono primário, secundário, terciário e quaternário de alcanos.

Tabela XII. Valores de C_i e \log de C_i para átomos de carbono primário, secundário, terciário e quaternário em alcanos e átomos de carbono em cadeia carbônica de isômeros *cis* e *trans* de alcenos.

Fragmento	Posição da ligação dupla	Valor	C_i	$\log C_i$
-CH ₃	-	100	1,0	-
-CH ₂ -	-	90	0,9	- 0,0458
-CH<	-	80	0,8	- 0,0969
>C<	-	70	0,7	- 0,155

A molécula do 2-metilbutano (Fig. 22) é mostrada aqui como um exemplo do cálculo do novo índice semi-empírico topológico para alcanos.

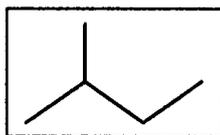


Figura 22. Estrutura do 2-metilbutano

$$C(1) = 1,0 + (\log 0,8) = 1,0 - 0,0969 = 0,9031$$

$$C(2) = 0,8 + (\log 0,9 + \log 1,0 + \log 1,0) = 0,8 - 0,0458 = 0,7542$$

$$C(3) = 0,9 + (\log 0,8 + \log 1,0) = 0,9 - 0,0969 = 0,8031$$

$$C(4) = 1,0 + (\log 0,9) = 1,0 - 0,0458 = 0,9542$$

$$C(5) = 1,0 + (\log 0,8) = 1,0 - 0,0969 = 0,9031$$

$$I_{ET} = 4,3177$$

A correlação linear simples entre o índices de retenção cromatográficos e o índice semi-empírico topológico, I_{ET} para 229 alcanos ramificados (com grupos metil, etil, propil, butil, dimetil, trimetil e tetrametil, com a cadeia carbônica com C_4 - C_{24} átomos de carbono)¹⁴⁷, é excelente, sendo o coeficiente de correlação, r , igual a 0,9983. A correlação com os mesmos compostos usando o índice de Wiener e o índice de conectividade molecular de primeira ordem, 1X de Kier e Hall, também são bons (0,9980 e 0,9985), os valores dos coeficientes de correlação são da mesma ordem.

Para um grupo de 157 alcanos ramificados com grupos metil, etil, dimetil, trimetil e tetrametil, e dietil, com C_1 - C_{12} átomos de carbono na cadeia carbônica, a correlação linear simples entre os índices de retenção cromatográficos, I (esqualano, 100°C)¹³³ e o novo índice semi-empírico topológico, I_{ET} , é excelente. Os parâmetros estatísticos estão na Tabela XIII, e o gráfico da Fig. 23 mostra a dispersão destes pontos.

Tabela XIII. Parâmetros estatísticos da relação entre os índices de retenção de 157 alcanos e os números de Wiener, ${}^3W_{CH}$, índices de conectividade, 1X e os índices semi-empíricos topológicos, I_{ET} .

Parâmetro	${}^3W_{CH}$	1X	I_{ET}
a	119,5 ± 21,8	186,9 ± 2,2	116,8 ± 1,3
b	- 202,9 ± 57,0	69,81 ± 9,31	- 19,05 ± 10,37
c	0,2947 ± 0,0174	-	-
r	0,9862	0,9902	0,9901
s	31,0	26,0	26,2
F	2728	7827	7800

A Tabela XIII mostra que a correlação simples com os mesmos compostos usando o número de Wiener tridimensional (3D), ${}^3W_{CH}$, ($I_{CALC} = aW^c + b$), e o índice de conectividade molecular de primeira ordem, 1X , ($I_{CALC} = a{}^1X + b$), também foi boa. As características estatísticas de todas as três correlações são da mesma qualidade.

Os índices ${}^3W_{CH}$, 1X e I_{ET} estão relacionados à forma e o tamanho de alcanos¹³³ e eles são altamente correlacionados. Assim, estes índices expressam informação constitucional semelhante, tornando possível a utilização do índice semi-empírico topológico, no lugar do índice de Wiener tridimensional.

Uma comparação pode ser feita entre os resultados obtidos por Trinajstić e colaboradores¹³³ para a relação entre índice de retenção

de Kováts e os números de Wiener tridimensional (3D), ${}^3W_{CH}$, e a relação do novo índice com os mesmos índices de Kováts.

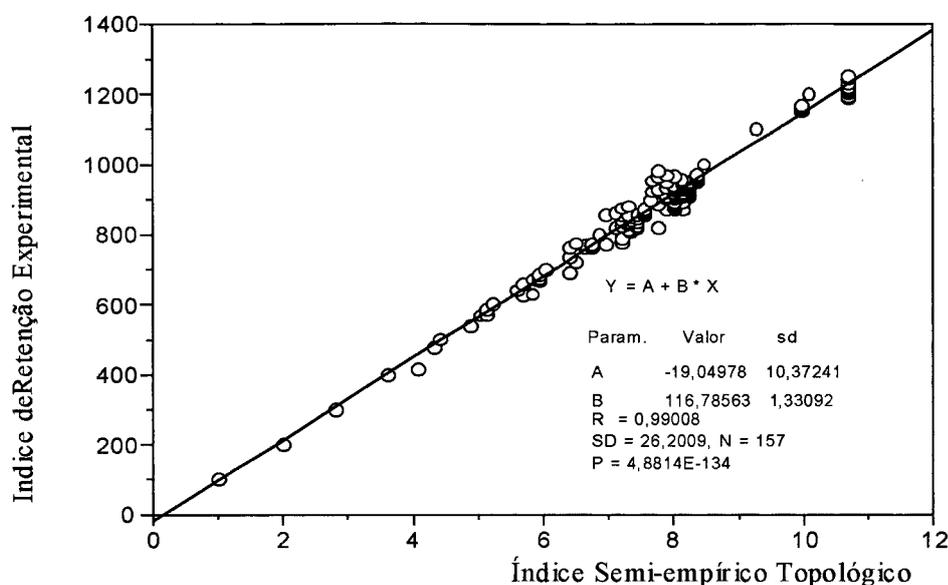


Figura 23. Gráfico da correlação linear simples entre os índices de retenção, I (esqualano, 100°C)¹³³ e o novo índice, semi-empírico topológico I_{ET} , para 157 alcanos ramificados (com grupos metil, etil, dimetil, trimetil e tetrametil, e dietil, com C_1 - C_{12} átomos de carbono na cadeia carbônica).

Observando-se o comportamento cromatográfico de alcenos, os valores atribuídos aos átomos de carbono C_i para estes compostos (Tabela XIV) foram dados conforme o seguinte:

i) Os índices de retenção dos 1-alcenos¹⁴³ são geralmente menores que seus alcanos correspondentes, independente do tamanho da cadeia (foram estudados C_5 - C_{14} n-alcenos). Os índices de retenção dos 1-alcenos são mais baixos que os dos 2-*cis*, 2-*trans*-alcenos, 3-*cis* e 3-

trans-alcenos, mas eles estão próximos dos valores de 4-*cis* e 4-*trans*-alcenos.

ii) Os 2-*trans*-alcenos eluem antes do seus isômeros *cis* correspondentes. Os 2-*trans*-alcenos têm um índice de retenção ligeiramente menor que o dos alcanos correspondentes, mas os índices de retenção dos 2-*cis*-alcenos são mais altos.

iii) Os isômeros 3 e 4 *cis-trans* mudam sua ordem de eluição gradualmente quando o número de átomos de carbono na molécula é aumentado (para série homóloga individual). Com alcenos menores (<C₁₀ n-alcenos), os 3 e 4-*trans*-alcenos eluem primeiro, mas com alcenos maiores (>C₁₀ n-alcenos) os 3 e 4-*cis*-alcenos é que têm menor retenção.

Tabela XIV. Valores de C_i e log de C_i para átomos de carbono em cadeia carbônica de isômeros *cis* e *trans* de alcenos.

Fragmento	Posição da ligação dupla	Valor	C_i	Log C_i
CH ₂ =; -CH=	1C	89,75	0,8975	- 0,0470
-CH=	2C	89,5	0,895	- 0,0482
	<i>trans</i>			
	<i>cis</i>	91,0	0,910	- 0,0410
-CH=	3C	87,5	0,875	- 0,0580
	<i>trans</i> *			
	<i>cis</i> *	88,5	0,885	- 0,0531
-CH=	4C	86,5	0,865	- 0,0630
	<i>trans</i> *			
	<i>cis</i> *	87,0	0,870	- 0,0605
-CH=	5C	86,5	0,865	- 0,0630
	<i>trans</i>			
	<i>cis</i>	85,5	0,855	- 0,0680
-CH=	6C	86,0	0,860	- 0,0655
	<i>trans</i>			
	<i>cis</i>	85,0	0,850	- 0,0706
-CH=	7C	85,75	0,8575	- 0,0668
	<i>trans</i>			
	<i>cis</i>	84,5	0,845	- 0,0731

*Acima de 10 átomos de carbono na cadeia carbônica, os valores para isômeros *cis* e *trans* de alcenos, devem ser invertidos

Para demonstrar como os isômeros *cis* e *trans* de alcenos são diferenciados pelo novo índice proposto (I_{ET}), a seguir são mostrados (Fig. 24 e 25) os cálculos para o *cis*-3-hexeno e *trans*-3-hexeno:

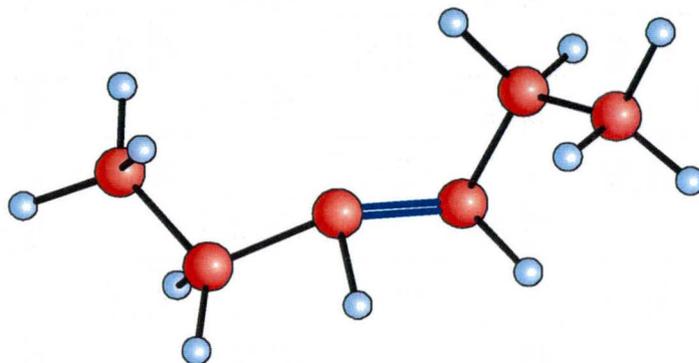


Figura 24. Estrutura do *cis*-3-hexeno otimizada através do programa PCModel versão 3.01.

$$C(1) = 1,0 + (\log 0,9) = 0,9542$$

$$C(2) = 0,9 + (\log 1,0 + \log 0,885^a) = 0,8469$$

$$C(3) = 0,885 + (\log 0,9 + \log 0,885) = 0,7862$$

$$C(4) = 0,885 + (\log 0,885 + \log 0,9) = 0,7862$$

$$C(5) = 0,9 + (\log 0,885 + \log 1,0) = 0,8469$$

$$C(6) = 1,0 + (\log 0,9) = 0,9542$$

$I_{ET} = 5,1746$ para o <i>cis</i> -3-hexeno
--

^a-CH= (*cis*) com ligação dupla na posição 3

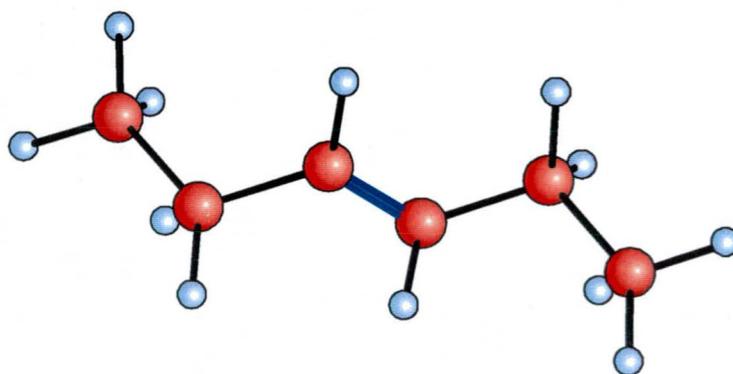


Figura 25. Estrutura do *trans*-3-hexeno otimizada através do programa PCModel versão 3.01.

$$C(1) = 1,0 + (\log 0,9) = 0,9542$$

$$C(2) = 0,9 + (\log 1,0 + \log 0,875^b) = 0,8420$$

$$C(3) = 0,875 + (\log 0,9 + \log 0,875) = 0,7712$$

$$C(4) = 0,875 + (\log 0,875 + \log 0,9) = 0,7712$$

$$C(5) = 0,9 + (\log 0,875 + \log 1,0) = 0,8420$$

$$C(6) = 1,0 + (\log 0,9) = 0,9542$$

$I_{ET} = 5,1348$ para o <i>trans</i> -3-hexeno
--

^b-CH= (trans) com ligação dupla na posição 3

A separação experimental dos isômeros *cis* e *trans* de alcenos é difícil, principalmente quando o número de átomos de carbono aumenta, aumentando o número de possibilidades de isômeros posicionais.

A previsão da retenção destes compostos minimiza ou exclui este problema. Porém a obtenção de uma equação adequada requer conhecimento do comportamento cromatográfico experimental dos alcenos, o qual depende das características elétricas e estéricas dos

átomos de carbono individualmente.

A correlação entre os índices de retenção de Kováts (esqualano, 100°C) ¹⁴³ e o índice semi-empírico topológico, I_{ET} para 79 alcenos com C₅-C₁₄ átomos de carbono na molécula, tendo ligações duplas nas posições 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7, são de qualidade bastante boa.

A Fig. 26 mostra esta relação.

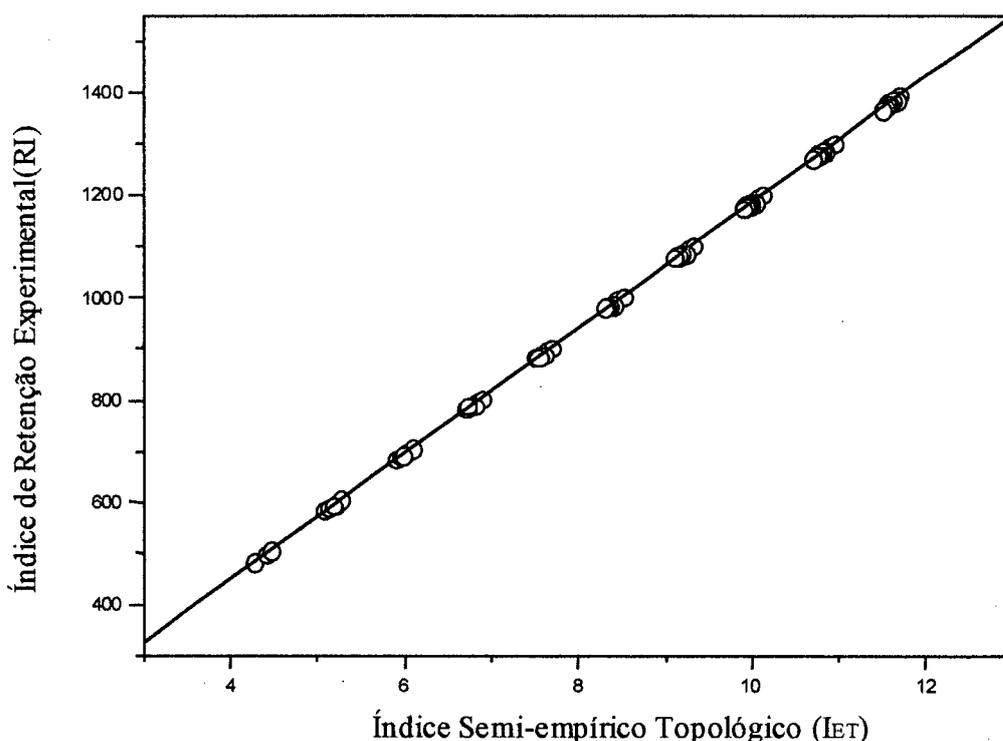


Figura 26. Gráfico da relação entre os índices de retenção de Kováts determinados experimentalmente¹⁴³ e os índices semi-empírico topológicos.

A equação obtida para esta relação é:

$$I_{CALC} = a \cdot I_{ET} + b \quad (33)$$

$$n = 79 \quad r = 0,99996, \quad SD = 2,3541$$

$$\text{onde } a = 122,8446 \pm 0,1247 \quad e \quad b = -41,7054 \pm 1,1276$$

Em um procedimento de validação cruzada⁹³, o valor do coeficiente de correlação, r^2_{cv} , é 0,99991. Este valor demonstra a estabilidade do modelo proposto, ou seja, a retirada de um composto e previsão de seu índice a partir da equação obtida com os demais, não afeta a qualidade da equação.

A Tabela XV, mostra as diferenças observadas (ΔI) entre os índices determinados experimentalmente¹⁴³ e os calculados com I_{ET} para diferentes alcenos com cadeia linear com C₅-C₁₄ átomos de carbono.

A ordem de eluição dos compostos está correta e a maioria das diferenças entre os valores experimentais e calculados são menores que 5. As estruturas dos isômeros *cis* e *trans* são diferenciadas com este índice, o que não acontece quando outros índices foram usados.

Tabela XV. Valores de índices de retenção experimental, I_{EXP} , (esqualano 100°C)¹⁴³, índices de retenção calculados, I_{CALC} (com I_{ET}), $\Delta I = I_{EXP} - I_{CALC}$ e valores dos índices semi-empíricos topológicos, I_{ET} calculados para diferentes alcenos com C₅ - C₁₄ átomos de carbono na cadeia linear.

Nº	Composto	I_{EXP}	I_{CALC}	ΔI	I_{ET}
1	1-Penteno	482,6	483,0	-0,4	4,2710
2	1-Hexeno	583,8	582,3	1,5	5,0795
3	1-Hepteno	683,1	681,6	1,5	5,8880
4	1-Octeno	782,6	780,9	1,7	6,6965
5	1-Noneno	882,5	880,2	2,3	7,5050
6	1-Deceno	982,5	979,6	2,9	8,3135
7	1-Undeceno	1082,4	1078,9	3,5	9,1220
8	1-Dodeceno	1183,0	1178,2	4,8	9,9305
9	1-Trideceno	1283,1	1277,5	5,6	10,739
10	1-Tetradeceno	1383,2	1376,8	6,4	11,5475
11	<i>trans</i> -2-Penteno	499,5	499,5	-0,0	4,4057
12	<i>cis</i> -2-Penteno	505,4	506,7	-1,3	4,4645
13	<i>trans</i> -2-Hexeno	596,5	598,8	-2,3	5,2142
14	<i>cis</i> -2-Hexeno	604,9	606,1	-1,2	5,2730
15	<i>trans</i> -2-Hepteno	698,7	698,2	0,5	6,0227
16	<i>cis</i> -2-Hepteno	704,7	705,4	-0,7	6,0815
17	<i>trans</i> -2-Octeno	797,5	797,5	0,0	6,8312
18	<i>cis</i> -2-Octeno	803,2	804,7	-1,5	6,8900
19	<i>trans</i> -2-Noneno	896,4	896,8	-0,4	7,6397
20	<i>cis</i> -2-Noneno	901,9	904,0	-2,1	7,6985
21	<i>trans</i> -2-Deceno	996,7	996,1	0,6	8,4482
22	<i>cis</i> -2-Deceno	1001,7	1003,3	-1,6	8,5070
23	<i>trans</i> -2-Undeceno	1096,6	1095,4	1,2	9,2567
24	<i>cis</i> -2-Undeceno	1101,5	1102,7	-1,2	9,3155
25	<i>trans</i> -2-Dodeceno	1196,9	1194,8	2,1	10,0652
26	<i>cis</i> -2-Dodeceno	1201,7	1202,0	-0,3	10,1240
27	<i>trans</i> -2-Trideceno	1297,0	1294,1	2,9	10,8737
28	<i>cis</i> -2-Trideceno	1301,6	1301,3	0,3	10,9325
29	<i>trans</i> -2-Tetradeceno	1396,9	1393,4	3,5	11,6822
30	<i>trans</i> -3-Hexeno	591,1	589,1	2,0	5,1348
31	<i>cis</i> -3-Hexeno	593,3	594,0	-0,7	5,1746
32	<i>trans</i> -3-Hepteno	687,4	688,4	-1,0	5,9432
33	<i>cis</i> -3-Hepteno	692,0	693,3	-1,3	5,9831
34	<i>trans</i> -3-Octeno	788,2	787,7	0,5	6,7517
35	<i>cis</i> -3-Octeno	789,8	792,6	-2,8	6,7916
36	<i>trans</i> -3-Noneno	886,4	887,0	-0,6	7,5602
37	<i>cis</i> -3-Noneno	887,5	891,9	-4,4	7,6001
38	<i>trans</i> -3-Deceno	985,8	986,3	-0,5	8,3687
39	<i>cis</i> -3-Deceno	985,8	991,2	-5,4	8,4086
40	<i>trans</i> -3-Undeceno	1085,4	1090,6	-5,2	9,2171

Tabela XV. (Continuação)

Nº	Composto	I _{EXP}	I _{CALC}	Δ I	I _{ET}
41	<i>cis</i> -3-Undeceno	1085,3	1085,7	-0,4	9,1772
42	<i>trans</i> -3-Dodeceno	1185,1	1189,9	-4,8	10,0256
43	<i>cis</i> -3-Dodeceno	1185,1	1185,0	0,1	9,9857
44	<i>trans</i> -3-Trideceno	1284,9	1289,2	-4,3	10,8341
45	<i>cis</i> -3-Trideceno	1284,4	1284,3	0,1	10,7942
46	<i>trans</i> -3-Tetradeceno	1384,6	1388,5	-3,9	11,6426
47	<i>cis</i> -3-Tetradeceno	1384,1	1383,6	0,5	11,6027
48	<i>trans</i> -4-Octeno	784,1	782,8	1,3	6,7120
49	<i>cis</i> -4-Octeno	788,2	785,3	2,9	6,7320
50	<i>trans</i> -4-Noneno	884,2	882,1	2,1	7,5205
51	<i>cis</i> -4-Noneno	885,4	884,6	0,8	7,5405
52	<i>trans</i> -4-Deceno	982,5	981,5	1,0	8,3290
53	<i>cis</i> -4-Deceno	982,8	983,9	-1,1	8,3490
54	<i>trans</i> -4-Undeceno	1081,1	1083,2	-2,1	9,1575
55	<i>cis</i> -4-Undeceno	1080,5	1080,8	-0,3	9,1375
56	<i>trans</i> -4-Dodeceno	1180,6	1182,6	-2,0	9,9660
57	<i>cis</i> -4-Dodeceno	1179,6	1180,1	-0,5	9,9460
58	<i>trans</i> -4-trideceno	1279,9	1281,9	-2,0	10,7745
59	<i>cis</i> -4-Trideceno	1278,6	1279,4	-0,8	10,7545
60	<i>trans</i> -4-Tetradeceno	1379,3	1381,2	-1,9	11,5830
61	<i>cis</i> -4-Tetradeceno	1377,7	1378,7	-1,0	11,5630
62	<i>trans</i> -5-Deceno	984,1	981,5	2,6	8,3290
63	<i>cis</i> -5-Deceno	981,6	976,5	5,1	8,2886
64	<i>trans</i> -5-Undeceno	1081,8	1080,8	1,0	9,1375
65	<i>cis</i> -5-Undeceno	1078,2	1075,8	2,4	9,0971
66	<i>trans</i> -5-Dodeceno	1180,6	1180,1	0,5	9,9460
67	<i>cis</i> -5-Dodeceno	1175,6	1175,1	0,5	9,9056
68	<i>trans</i> -5-Trideceno	1279,5	1279,4	0,1	10,7545
69	<i>cis</i> -5-Trideceno	1273,8	1274,5	-0,7	10,7141
70	<i>trans</i> -5-Tetradeceno	1378,4	1378,7	-0,3	11,5630
71	<i>cis</i> -5-Tetradeceno	1372,0	1373,8	-1,8	11,5226
72	<i>trans</i> -6-Dodeceno	1179,6	1177,6	2,0	9,9256
73	<i>cis</i> -6-Dodeceno	1175,0	1172,7	2,3	9,8856
74	<i>trans</i> -6-Trideceno	1277,4	1276,9	0,5	10,7341
75	<i>cis</i> -6-Trideceno	1271,2	1272,0	-0,8	10,6941
76	<i>trans</i> -6-Tetradeceno	1375,7	1376,2	-0,5	11,5426
77	<i>cis</i> -6-Tetradeceno	1368,6	1371,3	-2,7	11,5026
78	<i>trans</i> -7-Tetradeceno	1374,5	1375,0	-0,5	11,5328
79	<i>cis</i> -7-Tetradeceno	1366,7	1368,8	-2,19	11,4822

CAPÍTULO V

Conclusão

Os resultados deste trabalho demonstraram que é possível aplicar a relação quantitativa entre estrutura e retenção cromatográfica (QSRR) para gerar modelos capazes de descrever com boa aproximação a retenção de compostos com características estruturais semelhantes aos analisados neste estudo, assim como identificar os principais fatores responsáveis pela retenção de certos compostos no sistema por cromatografia gasosa.

Equações com boa qualidade estatística foram obtidas nos casos estudados, sendo comparáveis a outros estudos onde foram utilizados compostos com estruturas mais simples. Em alguns casos, como dos triterpenos, foram obtidos melhores resultados ($r = 0,974$) do que aqueles alcançados por outros pesquisadores ($r = 0,959$)³².

Nos casos estudados, os descritores A_T e A_P relacionados à área das moléculas foram os mais significativos na determinação da retenção cromatográfica destes compostos com a fase estacionária estudada. Eles representam atributos relacionados às interações dispersivas, cujas forças atuantes são do tipo Van Der Waals ou de London, que predominam em sistemas onde são utilizadas fases estacionárias de baixa polaridade.

No caso das cumarinas, interações mais específicas tais como as polares entre estes compostos e as fases estacionárias

empregadas, ficaram evidenciadas através dos descritores envolvidos na equação obtida, S_{-O} e E_{HOMO} .

O estudo das acetofenonas demonstrou que os índices 1X_V , A_P e A_T , S_i foram os descritores mais adequados para a descrição da estrutura molecular dos compostos aromáticos com o grupo carbonílico das acetofenonas, sendo que A_T e S_i também descreveram o grupo das cumarinas e seu anel lactônico. Para as acetofenonas, também os atributos relacionados à área foram os predominantes no processo de retenção cromatográfica, sendo porém, complementados por um descritor relacionado aos efeitos eletrônicos (S_i).

Os descritores de ajuste têm grande importância, pois eles são os responsáveis pela diferenciação entre dois ou mais compostos. Somente através da área total, por exemplo, não seria possível a distinção entre algumas cumarinas e acetofenonas, pois em alguns casos, estes valores são muito próximos. Então o descritor de ajuste, S_i ou E_{HOMO} , é que determina a diferença.

Estes descritores capazes de descrever o processo de retenção dos compostos estudados estão relacionados ao tamanho, forma, topologia e características eletrônicas das moléculas.

A área polar (A_P), parâmetro que está relacionado com a presença de grupos polares na estrutura, foi o termo que melhor descreveu a retenção dos triterpenos no sistema cromatográfico.

Os outros descritores envolvidos no modelo proposto para a previsão da retenção cromatográfica de triterpenos, estão relacionados a

grandes fragmentos de ligações (4 e 6 ligações consecutivas), ${}^6X^V_p$ e ${}^4X^V_{pc}$, que caracterizam sistemas que contêm ciclos condensados, o grau de ramificação, insaturação e presença de heteroátomo nestes anéis.

Bons resultados foram obtidos através de regressão linear múltipla entre a retenção cromatográfica e os descritores acima citados. Os parâmetros estatísticos comprovam a boa qualidade dos modelos apresentados através dos valores dos coeficientes de correlação e de validação cruzada que mostra a estabilidade dos mesmos.

A identificação de compostos pela correlação $I_{Exp.}$ versus $I_{Teóricos}$ não é restrita apenas à séries homólogas, podendo ser aplicada à moléculas com estruturas similares que contenham diferentes polaridades e tamanhos. Isto pode ser visto pelos resultados obtidos para as classes de compostos apresentadas aqui.

Assim é possível o emprego desta teoria em química analítica como uma ferramenta auxiliar na identificação de compostos.

O novo índice semi-empírico topológico (I_{ET}) proposto para a previsão da retenção cromatográfica inicialmente de alcanos e posteriormente para diferenciar as estruturas *cis* e *trans* de alcenos provou ser um método adequado para a elucidação da estrutura molecular ou previsão da retenção cromatográfica destes compostos. Os parâmetros estatísticos foram excelentes ($r = 0,9999$; $r^2_{cv} = 0,9999$) para alcenos, comprovando a proposta. No caso dos alcanos, embora os

valores estatísticos fossem bons, este índice não diferenciou isômeros posicionais, necessitando de aperfeiçoamento posterior.

O índice semi-empírico topológico (I_{ET}) já permitiu sua aplicação para outras séries de compostos, tais como ésteres, com bons resultados, mostrando que pode ser estendido com sucesso no futuro para outras classes.

Com o aperfeiçoamento de computadores e a crescente disponibilidade de programas que permitem o cálculo de propriedades físico-químicas e topológicas, a utilização cada vez maior da QSRR tem sido verificada e disponibilizada. Porém novos estudos, ainda são necessários para que se possa esclarecer todos os fatores relacionados às interações que ocorrem entre soluto e a fase estacionária.

1. CHRISTIAN, G. D. Analytical Chemistry. 5a ed., John Wiley & Sons, New York, 1994.
2. COLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. Introdução a Métodos Cromatográficos, 5a. ed., Ed. Unicamp, Campinas, 1993. 279 p.
3. CIOLA, R. Fundamentos da Cromatografia a Gás. 2a ed., Edgard Blücher, São Paulo, 1985. 270 p.
4. POOLE, C. F.; POOLE, S. K. Chromatography Today. Elsevier, Detroit, 1995. 1026p.
5. KOVÁTS, E. Gas-chromatographische charakterisierung organischer verbindungen. Teil 1: Retentionsindices aliphatischer halogenide, alkohole, aldehyde und ketone. Helv. Chim. Acta, v. 41, p. 1915, 1958.
6. DOOL, H. V. D.; KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. J. Chromatogr., v. 2, p. 463-471, 1963.
7. STRICKLER, H.; KOVÁTS, E. Influence of experimental conditions on peak resolution in gas chromatography. J. Chromatogr. v. 8, p. 289-302, 1962.
8. EVANS, M. B. Gas-liquid chromatography in qualitative analysis. Part V. The determination of relative retentions in R_x9 and retention index of secondary standard. J. Chromatogr. v. 12, p. 2-7, 1963.
9. HOIGNÉ, J.; WIDMER, H.; GÄUMANN, T. Gas chromatographic identification of phenylalkanes and bicyclic hydrocarbons. J. Chromatogr. v. 11, p. 459-462, 1963.
10. HILAL, S. H.; CARREIRA, L. A.; KARICKHOFF, S. W.; MELTON, M. Estimation of gas-liquid chromatographic retention times from molecular structure. J. Chromatogr. v. 662, p. 269-280, 1994.

11. BUDAHEGYI, M. V.; LOMBOSI, E. R.; LOMBOSI, T. S. et al. Twenty-fifth anniversary of the retention index system in gas-liquid chromatography, J. Chromatogr., v. 271, p. 213-307, 1983.
12. TARJÁN G.; NYIREDY Sz.; GYOR, M. et al. Thirtieth anniversary of the retention index according to Kováts in gas-liquid chromatography. J. Chromatogr., v.472, p. 1-91, 1989.
13. SMITH, R. J.; HAKEN, J. K.; WAINWRIGHT, M. S.; MADEN, B. G. Comparison of mathematical methods for the calculation of Kováts indices. J. Chromatogr., v. 328, p. 11- 34, 1985.
14. SMITH, R. J.; HAKEN, J. K.; WAINWRIGHT, M. S. Estimation of dead time and calculation of Kováts indices. J. Chromatogr., v. 334, p. 95-127, 1985.
15. DOMÍNGUEZ, J. A. G.; MUÑOZ, J. G.; SÁNCHEZ, E. F.; MOLERA, M. J. Retention of methane in gas-liquid chromatography - new evaluation methods of the mathematical dead time. J. Chromatogr. Sci., v. 15, p. 520-527, 1977.
16. ETTRE, L. S.; BILEB, K. Considerations on the retention index concept. I-Retention index and column temperature. J. Chromatogr., v. 30, p. 1-11, 1967.
17. PARCHER, J. F.; JOHNSON, D. M. Methane retention time versus mathematical dead time. J. Chromatogr. Sci., v. 18, p. 267-272, 1980.
18. AMBRUS, L. Simple and accurate determination of column dead time in gas chromatography. J. Chromatogr., v. 294, p. 328-333, 1984.
19. TÓTH, A.; ZALA, E. Contribution to the calculation of the constants of alkane retention time curve and gas hold-up time in gas liquid chromatography. J. Chromatogr., v. 284, p. 53 - 62, 1984.

20. CASTELO, G.; VEZZANI, S.; MORETI, P. Theoretical calculation of gas hold-up time in capillary gas chromatography. Influence of column, instrument parameters and analysis conditions and comparison of different methods of dead time determination. J. Chromatogr. A, v. 677, p. 95-106, 1994.
21. ZHU, A. Calculation of retention indices in temperature-programmed capillary gas chromatography. J. Chromatogr., v. 331, p. 229-235, 1985.
22. PEDERSEN, E. KW.; JURIS, P. C. Calculation of linear temperature programmed capillary gas chromatographic retention indices of polycyclic aromatic compounds. Anal. Chem., v. 53, p. 2184-2187, 1981.
23. ERDEY, L.; TAKÁCS, J.; SZALANCZY, E. Contribution to theory of the retention index system. I- Retention indices using programmed-temperature gas chromatography. J. Chromatogr., v. 46, p. 29-32, 1970.
24. BANGJIE, C.; XIJIAN, G.; SHAOYI, P. Calculation of retention indices in temperature-programmed gas chromatography. Chromatographia, v. 23, p. 888-892, 1987.
25. GUAN, Y.; KIRALY, J.; RIJKS, J.A. Interactive retention index database for compound identification in temperature-programmed capillary gas chromatography. J. Chromatogr., v. 472, p. 129-143, 1989.
26. TAKÁCS, J.; ROCKENBAUER, M.; OLÁCSI, I. Determination of the relationship between index and column temperature in gas-chromatography through the temperature-dependence of the net retention volume. J. Chromatogr. v. 42, p. 19-28, 1969.
27. CRUM BROWN, A.; FRASER, T. R. *apud* MIHALIC, Zlatko, TRINAJSTIC, Nenad. A Graph-theoretical approach to structure- property relationships. J. Chem. Educ., v. 69, p. 701-712, 1992.

28. BOSKOVIC, R. J. *apud* MIHALIC, Zlatko, TRINAJSTIC, Nenad. A Graph-theoretical approach to structure- property relationships. J. Chem. Educ., v. 69, p. 701-712, 1992.
29. ROONEY, R. J. *apud* MIHALIC, Zlatko, TRINAJSTIC, Nenad. A Graph-theoretical approach to structure- property relationships. J. Chem. Educ., v. 69, p. 701-712, 1992.
30. DAVY, H. *apud* MIHALIC, Zlatko, TRINAJSTIC, Nenad. A Graph-theoretical approach to structure- property relationships. J. Chem. Educ., v. 69, p. 701-712, 1992.
31. KALISZAN, Roman. Quantitative Structure-Chromatographic Retention Relationship. 1. ed. New York: John Wiley & Sons, 1987. 303p.
32. KATRITZKY, A. R.; CHEN, K.; MARAN, U. et al. QSPR correlation and predictions of GC retention indexes for methyl-branched hydrocarbons produced by insects. Anal. Chem., v. 72, p. 101-109, 2000.
33. MIHALIC, Zlatko, TRINAJSTIC, Nenad. A Graph-theoretical approach to structure- property relationships. J. Chem. Educ., v. 69, p. 701-712, 1992.
34. RICHET, M. C. *apud* KUBINYI, H. QSAR: Hansch Analysis and Related Approaches. VCH, v. 1, VCH, Weinheim, 1993. 240 p.
35. KUBINYI, H. QSAR: Hansch Analysis and Related Approaches. VCH, v. 1, VCH, Weinheim, 1993. 240 p.
36. HANSCH, C.; FUJITA, T. ρ - σ - π Analysis. A method for the correlation of biological activity and chemical structure. J. Am. Chem. Soc., v. 86, p.1616-1626, 1964.
37. LUKOVITS, I. Decomposition of the Wiener topological index. application to drug-receptor interactions. J. Chem. Soc. Perkin. Trans II, p. 1667-1669, 1988.

38. GUPTA, S. P. QSAR Studies on enzyme inhibitors. Chem. Rev., v. 887, p. 1183-1253, 1987.
39. KALISZAN, R.; HÖLTJE, Hans-Dieter. Gas chromatographic determination of molecular polarity and chemical calculation of dipole moments in a group of substituted phenols. J. Chromatogr., v. 234, p. 303-311, 1982.
40. BUYDENS, L.; MASSART, D. L. Prediction of gas chromatographic retention indices from linear free energy and topological parameters. Anal. Chem., v. 53, p. 1990-1993, 1981.
41. JAFFÉ, H. H. A reexamination of the Hammett equation. Chem. Rev., v. 53, p. 191-261, 1953.
42. JAMES, A. T.; MARTIN, A. J. P. *apud* KALISZAN, Roman. Quantitative Structure-Chromatographic Retention Relationship. 1. ed. New York: John Wiley & Sons, 1987. 303p.
43. KALISZAN, R. Chromatography in studies of quantitative structure-activity relationships. J. Chromatogr., v. 220, p. 71-83, 1981.
44. BUYDENS, L.; MASSART, D. L.; GEERLINGS, P. Prediction of gas chromatographic retention indexes with topological, physicochemical, and quantum chemical parameters. Anal. Chem., v. 55, p. 738-744, 1983.
45. KÖRTVÉLYESI, T.; GÖRGÉNYI, M.; SERES, L. Correlation of retention indices with van der Waals' volumes and surface areas: alkanes and azo compounds. Chromatographia, v. 41, p. 282-286, 1995.
46. CAREY, F. A.; SUNDBERG, R. J. Advanced Organic chemistry. Part A. Structure and Mechanisms, 2a ed., p. 44-55.
47. NONDEK, L.; PONEC, R. Chemically bonded electron acceptors as stationary phases in high-performance liquid chromatography. J. Chromatogr., v. 294, p. 175-183, 1984.

48. GRIMVAL, E. et al. Quantitative structure-retention relationships for polychlorinated biphenyls and chlorobenzenes on selected normal-phase liquid chromatographic stationary phases. J. Chromatogr. Sci., v. 35, p. 63-70, 1997.
49. KIER, L. B.; HALL, L. H. Molecular Conectivity in Chemistry and Drug Research. 1. ed. Academic Press, New York, 1976.
50. KIER, L. B.; HALL, L. H. Molecular Conectivity in Structure-Activity Analysis; Wiley; New York, 1986.
51. KATRITZKY, A. R.; GORDEEVA, E. V. Traditional topological indices vs electronic, geometrical, and combined molecular descriptors in QSAR/QSPR research. J. Chem. Inf. Comput. Sci., v. 33, p. 835-857, 1993.
52. DIMOV, N. OSMAN, Selection of molecular descriptors used in quantitative structure-gas chromatographic retention relationships II. Isoalkanes and alkenos. Anal. Chim. Acta, v. 323, p. 15-25, 1996.
53. CLAYTON, R. B. Gas-chromatography of sterol methyl ethers. Nature, v. 190, p. 1071-1072, 1961.
54. CLAYTON, R. B. Gas-liquid chromatography of sterol methyl ethers and some correlations between molecular structure and retention data. Biochemistry, v. 1, p. 357-366, 1962.
55. SAURA-CALIXTO, F.; GARCIA RASO, A. Retention index, conectividade index and van der Waals' volume of alkanes (GLC), Chromatographia, v. 15, p. 521-524, 1982.
56. SAURA-CALIXTO, F.; GARCIA RASO, A. Influence of van der Waals' volume of ethers, esters, carbonyls and alcohols on retention in gas chromatography stationary phases of different polarity. Chromatographia, v. 15, p. 771-775, 1982.

57. RIGHEZZA, M.; HASSANI, A.; MEKLATI, B. Y.; CHRÉTIEN, J. R. Quantitative structure-retention relationship (QSRR) of congeneric aromatics series studied on phenyl OV phases in gas chromatography. J. Chromatogr. A, v. 723, p. 77-91, 1996.
58. HEINZEN, V. E. F.; YUNES, R. A. Relationship between gas chromatographic retention indices and molecular conectividade indices of chlorinated pesticides and structurally related compounds. J. Chromatogr., v. 598, p. 243-250, 1992.
59. HEINZEN, V. E. F.; YUNES, R. A. Correlation between gas chromatographic retention indices of linear alkylbenzene isômeros and molecular conectividade indices. J. Chromatogr. v. 654, p. 83-89, 1993.
60. ARRUDA, A. C.; HEINZEN, V. E. F.; YUNES, R. A. Relationship between Kováts retention indices and molecular connectivity indices of tetralones, coumarins and structurally related compounds. J. Chromatogr. v. 630, p. 251-256, 1993.
61. SOARES, M. F.; MONACHE, F. D.; HEINZEN, V. E. F.; YUNES, R. A. Prediction of gas chromatographic retentions indices of coumarins. J. Braz. Chem. Soc., v. 10, p. 189-196, 1999.
62. SOARES, M. F.; BOEING, C. R.; MONACHE, F. D.; HEINZEN, V. E. F.; YUNES, R. A. Aplicação da teoria de QSRR na interpretação da retenção cromatográfica de uma série de acetofenonas. Anais da ABQ. v. 49, n. 1, p. 24-30, 2000. *Em impressão*.
63. WIENER, H. Structural determination of paraffin boiling points. J. Am. Chem. Soc., v. 69, p. 17-20, 1947.
64. HOSOYA, H. Topological index. A newly proposed quantity characterizing the topological nature of structural isômeros of saturated hydrocarbons. Bull. Chem. Soc. Japan, v. 44, p. 2332-2339, 1971.
65. BERMEJO, J.; GUILÉN, M. D. Prediction of Kovats retention index of saturated alcohols on stationary phases of different polarity. Anal. Chem., v. 59, p. 94-97, 1987.

-
66. BERMEJO, J.; CANGA, J. S.; GAYOL, O. M.; GUILÉN, M. D. Utilization of physico-chemical properties and structural parameters for calculating retention indices of alkylbenzenes. J. Chromatogr. Sci., v. 22, p. 252-254, 1984.
67. OSMIALOWSKI, K.; HALKIEWICZ, J. RADECKI, A .; KALISZAN. R. Quantum chemical parameters in correlation analysis of gas-liquid chromatographic retention indices of amines. J. Chromatogr., 346, p. 53-60, 1985.
68. OSMIALOWSKI, K.; HALKIEWICZ, J.; KALISZAN. R. Quantum chemical parameters in correlation analysis of gas-liquid chromatographic retention indices of amines. II. Topological electronic index. J. Chromatogr., 361, p. 63-69, 1986.
69. JURIS, P. C. Prediction of gas chromatographic relative retention times of stimulants and narcotics. Anal. Chem., v. 63, p. 2021-2024, 1991.
70. KALISZAN, R.; NASAL, A.; TUROWSKI, M. Quantitative structure-retention relationships in the examination of the topography of the binding site of antihistamine drugs on α_1 -acid glycoprotein. J. Chromatogr. A, v. 722, p. 25-32, 1996.
71. GARCÍA-MARCH, F. J. et al. Prediction of chromatographic properties for a group of natural phenolic derivatives by molecular topology. J. Chromatogr. A, v. 719, p. 45-51, 1996.
72. BUYDENS, L.; MASSART, D. L. Relationship between gas chromatographic compartment and topological, physicochemical, and quantum chemically calculated charge parameters for neuroleptics. J. Chromatogr. Sci., v. 23, p. 304-307, 1985.
73. KIER, L. B.; HALL, L. H. An electrotopological-state index for atoms in molecules. Pharm. Research, v. 7, p. 801-807, 1990.

74. LAMPARCZY, K. H.; RADECKI, A. *apud* POOLE, C. F.; POOLE, S. K. Characterization of solvent properties. of gas chromatographic liquid phases. Chem. Rev. v. 89, p. 377-395, 1989.
75. LAMPARCZY, K. H. *apud* POOLE, C. F.; POOLE, S. K. Characterization of solvent properties. of gas chromatographic liquid phases. Chem. Rev. v. 89, p. 377-395, 1989.
76. VERNON, F. *apud* POOLE, C. F.; POOLE, S. K. Characterization of solvent properties. of gas chromatographic liquid phases. Chem. Rev. v. 89, p. 377-395, 1989.
77. GOLOVNYA, R.; MISHARINA, T. A. *apud* POOLE, C. F.; POOLE, S. K. Characterization of solvent properties. of gas chromatographic liquid phases. Chem. Rev. v. 89, p. 377-395, 1989.
78. HEINZEN, V. E. F. Estudo da relação entre estrutura e retenção cromatográfica através de índices topológicos. Tese de doutorado, Pós-Graduação em Química Analítica, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, S.C., Brasil, 1994.
79. KARELSON, M.; LOBANOV, V. S. Quantum-chemical descriptors in QSAR/QSPR studies. Chem. Rev., v. 96, p. 1027-1043, 1996.
80. PANKRATOV, A. N.; SHCHAVLEV, A. E. Semiempirical quantum chemical methods: testing of physicochemical properties of acyclic and aromatic compounds. J. Molec. Struct. (THEOCHEM), v. 392, p. 137-140, 1997.
81. DEWAR, M. J. S.; THIEL, W. Ground states of molecules. 38.¹ The MNDO method. Approximations and parameters. J. Am. Chem. Soc. v. 99, p. 4899-4907, 1977.
82. DEWAR, M. J. S.; ZOEBISCH, E.G., HEALY, E. F.; STEWART, J. J. P. AM1: A new General Purpose Quantum Mechanical Molecular Model. J. Am. Chem. Soc., v. 107, p. 3902-3909, 1985.
83. STEWART, J. J. P. Optimization of Parameters for Semiempirical Methods. I. Method. J. Comp. Chem., v. 10, p. 209-220, 1989.

84. SANTOS, H. F., ALMEIDA, W. B. MNDO/AM1/PM3 Quantum mechanical semiempirical and molecular mechanics barriers to internal rotation: a comparative study. J. Molec. Struct. (THEOCHEM), v. 335, p. 129-139, 1995.
85. RANDIC, M. On characterization of molecular branching. J. Am. Chem. Soc., v.97, p. 6609-6615, 1975.
86. BALABAN, A. T., Highly discriminating distance based topological index. Chem. Phys. Lett., v. 89, p. 399-404, 1982.
87. KIER, L. B. Indexes of molecular shape from chemical graphs. Medicinal Research Reviews, v., p. 417-440, 1987.
88. HALL, L. H.; KIER, L. B. Molconn-X, a program for molecular topology analysis, User's Guide. 1. ed. Quincy, Massachusetts, 1991.
89. HALL, L. H.; MOHNEY, B.; KIER, L. B. The electrotopological state: structure information at the atomic level for molecular graphs. J. Chem. Inf. Comput. Sci., v. 31, p. 76-82, 1991.
90. GEORGAKOPOULOS, C. G.; TSIKA, O. G.; KIBURIS, J. C. Prediction of gas chromatographic relative retention times of anabolic steroids. Anal. Chem., v. 63, p. 2025-2028, 1991.
91. DIMOV, N. OSMAN, Selection of molecular descriptors used in quantitative structure-gas chromatographic retention relationships I. Application to alkylbenzenes and naphthalenes. Anal. Chim. Acta, v. 298, p. 303-317, 1994.
92. WOLOSZYN, T. F.; JURIS, P. C. Prediction of gas chromatographic retention data for hydrocarbons from naphthalenes. Anal. Chem., v. 65, p. 582-587, 1993.

93. MURESAN, S. et al. Comparative QSAR study with electronic and steric parameters for cAMP derivatives with large substituents in positions 2, 6 and 8. J. Molec. Struct. (THEOCHEM), v. 342, p. 161-171, 1995.
94. CRAMER III, R. D.; BUNCE, J. D.; PATTERSON, D.E. Crossvalidation, bootstrapping, and partial least squares compared with multiple regression in conventional QSAR studies. Quant. Struct.-Act. Relat., v. 7, p. 18-25, 1988.
95. LINDBERG, W. ÖHMAN, J.; WOLD, S. et al. Determination of the proteins in mixtures of meat, soymeal and rind from their chromatographic amino-acid pattern by the partial least-squares method. Anal. Chim. Acta, v. 171, p. 1-11, 1985.
96. HAALAND, D., THOMAS, E. Partial least-squares methods for spectral analysis. 1. Relation to other quantitative calibration methods and the extraction of qualitative information. Anal. Chem., v.60, p.1193-1202, 1988.
97. GIACOMELLI, L.; BOGGETTI, H.; AGNELLI, H. et al. Factor analysis applied to study of retention mechanism of nitroanilines in normal phase high performance liquid chromatography. Anal. Chim. Acta, v. 402, p. 285-295, 1999.
98. OUNNAR, S.; RIGHEZZA, M.; CHRÉTIEN, J. R. et al. Study of the influence of electronic effects on the retention of substituted N-benzylideneanilines in normal-phase liquid chromatography. Chromatographia, v. 47, p. 164-170, 1998.
99. ZUPAN, J.; GASTEIGER, J. Neural Networks for Chemists. An Introduction. VCH, Weinheim, 1993. 305p.
100. BURNS, J. A.; WHITESIDES, G. M. Feed-forward neural networks in chemistry: Mathematical systems for classification and pattern recognition. Chem. Rev. v. 8, p. 2583-2601, 1993.
101. SUTER, J. M.; PETERSON, T. A.; JURIS, P. C. Prediction of gas chromatographic retention indices of alkylbenzenes. Anal. Chim. Acta, v. 342, p. 113-122, 1997.

102. POMPE, M.; RAZINGER, M.; NOVIC, M. et al. Modelling of gas chromatographic retention indices using counterpropagation neural networks. Anal. Chim. Acta, v. 348, p.215-221, 1997.
103. SCHWEITZER, R. C.; MORRIS, J. B. The development of a quantitative structure property relationship (QSPR) for the prediction of dielectric constants using neural networks. Anal. Chim. Acta, v. 384, p.285-303, 1999.
104. WAGENER, M.; SADOWSKI, J.; GASTEIGER, J. Autocorrelation of molecular surface properties for modeling *corticosteroid binding globulin* and cytosolic Ah receptor activity by neural networks. J. Am. Chem. Soc., v. 117, p. 7769-7775, 1995.
105. ANKER, L. S.; JURIS, P. C. Prediction of carbon-13 nuclear magnetic resonance chemical shifts by artificial neural networks. Anal. Chem. v. 64, p. 1157-1164, 1992.
106. YAN, A.; ZHANG, R.; LIU, M., et al. Large artificial neural networks applied to the prediction of retention indices of acyclic and cyclic alkanes, alkenes, alcohols, esters, ketones and ethers. Computers Chem., v.22, p.405-412, 1998.
107. MAIER, W. et al. Secondary products in mycorrhizal roots of tobacco and tomato.;Phytochemistry, v. 54, p. 473-479, 2000.
108. SU B. N. et al. Sesquiterpene coumarins and related derivatives from *Ferula pallida*. J. Nat. Prod., v. 63, p. 436-440, 2000.
109. SU B. N. et al. Sesquiterpene Phenylpropanoid and sesquiterpene chromone derivatives from *Ferula pallida* J. Nat. Prod., v. 63, p. 520-522, 2000.
110. BEAUCHAMP, P. et al. Composition of *Pteryxia terebinthina* var. *californica* (Coulter and Rose) *mathias* essential oils. J. Essent. Oil Res., v. 12, p. 372-376, 2000.

111. ERK, C.; BULUNT, M.; GOCEN, A. The synthesis of novel crown ethers, part VII [1]. Coumarin derivatives of benzocrowns and cation binding from fluorescence spectra. J. Incl. Phenom. Macro, v. 37, p. 441-450, 2000.
112. MANOLOV, I. et al. Cytotoxic activity of cerium complexes with coumarin derivatives. Molecular modeling of ligands. Arch. Pharm., v. 333, p. 93-98, 2000.
113. FAVIER, L.; TONN, C.; GUERREIRO, E. et al. Anti-inflammatory activity of acetophenones from *Ophryosporus axilliflorus*. Planta Med. v. 64, p. 657-659, 1998.
114. CECHINEL Filho, V.; MIGUEL, O. G.; CALIXTO, et al. Antispasmodic activity of Xanthoxyline derivatives structure activity relationships. J. Pharm. Sci., v. 84, p. 473-475, 1995.
115. NIERO, R.; AMARAL, F. I.; PIZZOLATTI, M. G. et al. Isolation of triterpenes and an acetophenone derivative with antispasmodic activity from *Euphorbia milli* Desmoul. ex Boiss (Euphorbiaceae). Acta Farmacéutica Bonaerense, v. 15, p. 239-242, 1996.
116. CECHINEL Filho, V.; LIMA, E. MIGUEL, O. G.; et al. Fungicide and fungistatic effects of xanthoxyline J. Ethnopharmacology, v. 53, p. 171-173, 1996.
117. MIGUEL, O. G. Componentes químicos de Sebasttiana schottiana Muell. Arg., hipótese sobre correlação entre estrutura e atividade farmacológica. Tese de doutorado, Pós-Graduação em Química Orgânica, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, S. C., Brasil, 1987.
118. CALIXTO, J. B.; MIGUEL, O. G.; YUNES, R. A. et al. Action of 2-hydroxy-4,6-dimetoxyacetophenone isolated from *Sebasttiana schottiana*. Planta Med., v. 56, p. 31-35, 1990. Obtido via base de dados WEBOFSCIENCE. 1974-2000. Capturado em 25 de Fev. 1999. Online. Disponível na internet <http://webofscience.fapesp.br>

119. MIGUEL, O. G. ; PIZZOLLATI, M. G.; SANTOS, A. R. S.; CALIXTO, J. B. et al. A triterpene and phenolic compounds from leaves and stems of *Phyllanthus sellowianus*. Planta Med. v. 61, p. 391-395, 1995.
120. SILVA, M. Química de los Triterpenos. Gladys Torres F, Washington, 1992, p 199.
121. SAFAYHI, H.; SAILER, E. R. Anti-inflammatory actions of pentacyclic triterpenes. Planta Med., v. 63, p. 487-493, 1997.
122. GEETHA, T; VARALAKSHMI, P. Anti-inflammatory activity of lupeol and lupeol linoleate in adjuvant-induced arthritis. Fitoterapia, v. 69, p. 13-19, 1998. Obtido via base de dados WEBOFSCIENCE. 1974-2000. Capturado em 09 de Fev. 1999. Online. Disponível na internet <http://webofscience.fapesp.br>
123. MAHATO, S.; SEN, S. Review article number 118. Advances in triterpenoid research, 1990-1994. Phytochemistry, v. 44, p. 1185-1236, 1997.
124. KUO, Y.; KUO, L. Y. Antitumor and anti-AIDS triterpenes from *Celastrus hindsii*. Phytochemistry, v. 44, p. 1275-1281, 1997.
125. MAHATO, S.; NANDY, A.; ROY, G. Review article number 67. Triterpenoids. Phytochemistry, v. 31, p. 2199-2249, 1992.
126. VILEGAS, J. H. Y.; LANÇAS, F. M.; VILEGAS, W. et al. Further triterpenes, steroids and furanocoumarins from brazilian medicinal plants of *Dorstenia* genus (Moraceae). J. Braz. Chem. Soc., v. 8, p. 529-535, 1997.
127. VILEGAS, J. H. Y.; LANÇAS, F. M. HRGC-MS identification of low-polarity compounds from *Gomortega keule*. J. High Resol. Chromatogr., v. 18, p. 129-130, 1995.

128. PATITUCCI, M. L.; VEIGA Jr, V. F.; PINTO, A. C. et al. Utilização de cromatografia gasosa de alta resolução na detecção de classe de terpenos em extratos brutos vegetais. Quím. Nova, v. 18, p. 262-266, 1995.
129. IKAN, R.; GOTTLIEB, R. Gas chromatography of tetra- and pentacyclic triterpenes. Isr. J. chem., v. 8, p. 685-689, 1970.
130. BUDZIKIEWICZ, H.; WILSON, J. M.; DJERASSI, C. Mass spectrometry in structural and stereochemical problems. XXXII. Pentacyclics triterpenes. J. Am. Chem. Soc., v. 85, p. 3688-3699, 1963.
131. SHIOJIMA, K.; ARAI, Y.; MASUDA, K. et al. Mass-spectra of pentacyclic triterpenoids. Chem. Pharm. Bull., v. 40, p. 1683-1690, 1992. Obtido via base de dados WEBOFSCIENCE. 1974-2000. Capturado em 23 de Jun. 2000. Online. Disponível na internet <http://webofscience.fapesp.br>
132. KHORASHEH, F.; GRAY, M. R.; SELUCKY, M. L. Correlation for Kováts retention index of C₉-C₂₆ mono-alkyl and polymethyl alkanes and alkenes. J. Chromatogr., v.481, p. 1-16, 1989.
133. BOSNJAK, N.; MIHALIC, Z.; TRINAJSTIC, N. Application of topographic indices to chromatographic data: calculation of the retention indices of alkanes. J. Chromatogr., v.540, p. 430-440, 1991.
134. HU, Z.; ZHANG, H. Prediction of gas chromatographic retention indices of alkenes from the total solubility parameters. J. Chromatogr. A, v.653, p. 275-282, 1993.
135. SANZ, J.; CALDERÓN, J.; DABRIO, M.V., Relation between molecular-structure and retention index in gas-chromatography. 6. Application of additive calculation system to alkenes. Anall. Quim., v. 75, p. 408-412, 1979. Obtido via base de dados WEBOFSCIENCE. 1974-2000. Capturado em 23 de Jun. 2000. Online. Disponível na internet <http://webofscience.fapesp.br>

136. PAPAZOVA, D.; DIMOV, N. Qualitative gas-chromatographic analysis and determination of solute properties-study of relationship between molecular-structure and gas chromatographic retention of alkenes on squalane. J. Chromatogr., v. 137, p. 259-264, 1977.
137. DIMOV, N.; PAPAZOVA, D. Correlation equations for prediction of gas-chromatographic separation of hydrocarbons on squalane. Chromatographia, v. 12, p. 720-724, 1979.
138. SOJÁK, L.; HRIVNÁK, J.; OSTROVSKY, I. et al. Capillary gas chromatography of linear alkenes on squalane. Separation and identification of n-pentadecenes and n-hexadecenes. J. Chromatogr., v. 91, p. 613-622, 1974.
139. SOJÁK, L.; HRIVNÁK, J.; MAJER, P. et al. Capillary gas chromatography of linear alkenes on squalane. Anal. Chem., v. 45, p. 293-302, 1973.
140. SOJÁK, L.; KRUPCIK, J.; JANÁK, J. Gas chromatography of all C15-C18 linear alkenes on capillary columns with very high resolution power. J. Chromatogr., v.195, p. 43-64 1980.
141. RANG, S.; KUNINGAS, K.; ORAV, A. et al. Capillary gas-chromatography of C6-C14 n-alkenes on polyphenylether and polyethylene glycol-4000. Chromatographia, v.10, p. 55-64, 1977.
142. CHRÉTIEN, J. R.; DUBOIS, J. E. Topological analysis of gas-liquid chromatographic behavior of alkenes. Anal. Chem., v. 49, p. 747-756, 1977.
143. DUBOIS, J. E.; CHRÉTIEN, J. R.; SOJÁK, L. et al. Topological analysis of the behaviour of linear alkenes up to tetradecenes in gas-liquid chromatography on squalane. J. Chromatogr., v. 194, p. 121-134, 1980.

144. CHRÉTIEN, J. R.; DUBOIS, J. E.; HIRSCH, R. F. et al. Gas-solid chromatography on cation-exchange resins. Darc topological analysis of the behavior of alkenes on nickel ions. J. Chromatogr., v. 207, p. 115-130, 1981.
145. GARCIA-RASO, A.; SAURA-CALIXTO, F.; RASO, M. A. Study of gas chromatographic behaviour of alkenes based on molecular orbital calculations. J. Chromatogr., v. 302, p. 107-117, 1984.
146. BERMEJO, J.; GUILLEN, M. D. Biparameter equations for calculating Kováts retention indexes of hydrocarbons. Int. J. Environ. Anal. Chem., v. 23, p. 77-86, 1985. Obtido via base de dados WEBOFSCIENCE. 1974-2000. Capturado em 23 de Jun. 2000. Online. Disponível na internet <http://webofscience.fapesp.br>
147. ROHRBAUGH, R. H; JURIS, P. C. Prediction of chromatographic retention indexes of selected olefins. Anal. Chem., v. 57, p. 2770-2773, 1985.
148. BONEVA, S; VASSILEV, K. Retention indices of alkenes and the corresponding epoxides on a capillary column coated with cyanopropyl methyl silicone phase. Chromatographia, v. 47, p. 230-233, 1998.
149. RANG, S.; KUNINGAS, K.; STRENZE, T. et al. Retention and thermodynamics of solution of n-alkenes in OV-101. J. Chromatogr., v. 406, p. 75-80, 1987.
150. VOELKEL, A. Influence of structure of alkenes on their retention on different stationary phases. Chromatographia, v. 25, p. 655-658, 1988.
151. DIMOV, N.; OSMAN, A. Influence of conformation on the accuracy of quantitative structure retention relationship calculations in gas chromatography. J. Chromatogr. A, v. 773, p. 368-371, 1997.

152. SALABERT-SALVADOR, M. T. et al. Calculation of chromatographic properties of barbiturates by molecular topology. Chromatographia, v. 41, p. 702-706, 1995.
153. PCMODEL for Windows. Molecular modeling software for IBM and compatible PCs under the Windows operating system. Serena software, 1993, 77p.
154. COOLIDGE, M. B.; STEWART, J. J. P. Mopac Manual, (DEC-3100 Ed.), Frank J. Seiler Research Laboratory United States Air Force Academy, 1990.
155. BICCHI, C.; BINELLO, A.; D'AMATO, A. et al. Reliability of Van den Dool retention indices in the analysis of essential oils. J. Chromatogr. Sci., v. 37, p. 288-294, 1999.
156. KOLB, B. Multiple headspace extraction- A procedure for eliminating the influence of the sample matrix in quantitative headspace gas chromatography. Chromatographia, v. 15, p. 587-594, 1982.
157. HASSANI, A.; MEKELATI, B. Y. Gas chromatographic behaviour of monosubstituted benzenes, benzaldehydes and acetophenones on OV polymethylphenylsilicone stationary phases. Chromatographia, v. 33, p. 267-271, 1992.
158. MILITÃO, J. S. L. T.; SILVA, M. G. V.; MORAIS, S. M. et al. Contribuição para a determinação estrutural de triterpenos com auxílio de computador. Quim. Nova, v. 19, p. 121-126, 1996.
159. SAURA-CALIXTO, F.; GARCIA-RASO, A. Study of the applications of magnitudes of energy and charge of molecular orbitals to GC retention-esters. Chromatographia, v.22, p. 22-26, 1984.
160. KATRITZKY, A. R.; IGNATCHENKO, R. A. B.; LOBANOV, V. S. et al. Prediction of gas chromatographic retention times and response factors using a general quantitative structure-property relationship treatment. Anal.Chem. v. 66, p. 1799-1807, 1994.

-
161. HEINZEN, V. E. F.; SOARES, M. F.; YUNES, R. A. Semi-empirical topological method for the prediction of the chromatographic retention of cis- and trans-alkenes isomers and alkanes. J. Chromatogr. A, v. 849, p. 495-506, 1999.

Анехо

APLICAÇÃO DA TEORIA DE QSRR NA INTERPRETAÇÃO DA RETENÇÃO CROMATOGRÁFICA DE UMA SÉRIE DE ACETOFENONAS

MÍRIAM DE FREITAS SOARES^a, CLÉIA REGINA BOEING^a, FRANCO DELLE MONACHE^b,
VILMA EDITE FONSECA HEINZEN^a e ROSENDO AUGUSTO YUNES^a

^aDepartamento de Química - Laboratório Estrutura-Atividade, Universidade Federal de Santa Catarina,
CEP 88040-900, Florianópolis, SC, Brasil.

^bInstituto di Chimica Recettori Molecole Biologicamente Attive del C.N.R., Università Cattolica S. Cuore, Largo F. Vito 1,00168 Rome, Italy.

INOPSIS. - Soares, M.F., Boeing, C.R., Monache, F.D., Heinzen, V.E.F. & Yunes, R.A. 2000. Application of the QSRR theory in the interpretation of the chromatographic retention of an acetophenone series. *An. Assoc. Bras. Quim.*, 49(1), 24-30.

ABSTRACT

Gas chromatographic retention indices of two groups of acetophenones studied in CBP5 and LM-1 stationary phases are related to structural parameters by quantitative structure-retention relationships (QSRR) utilizing multilinear regression. Different structural descriptors are selected, such as topological, geometric, electronic, quantum-chemical and physico-chemical in order to find an equation that explains the chromatographic retention of these compounds. The best correlation equations with 18 compounds were obtained with polar area (A_p), and molecular valence connectivity index ($^1X^*$), showing that the experimental retention, using stationary phases with low polarity, was related with the shape, size and electronic factors of the solutes. This model permits to predict the retention indices of 9 compounds obtained from the literature. The models found have a good predictive ability as established by cross-validation coefficient values, r^2_{cv} , and thus, can be used to aid in the elucidation of the structure or the chromatographic retention of similar acetophenones.

Keywords: QSRR, Chromatographic retention, Acetophenones, Molecular descriptors.

(Recebido em 24/06/99. Em forma revista em 01/09/99. Aceito para publicação em 21/02/2000)

INTRODUÇÃO

A relação quantitativa entre estrutura-retenção cromatográfica (QSRR) [1] é uma metodologia muito importante atualmente, já que ajuda na obtenção de modelos simples para explicar o comportamento dos solutos em determinados sistemas cromatográficos [1]. Vários autores tentaram correlacionar e prever índices de retenção de uma variedade de compostos através do uso de informações da estrutura molecular ou por propriedades físico-químicas e parâmetros químico-físicos [2-18]. Considerando-se que a retenção é afetada por propriedades do soluto e da fase estacionária, torna-se importante identificar os descritores estruturais melhor relacionados aos fatores responsáveis pelas interações polares e/ou dispersivas entre soluto e fase estacionária. Usando a teoria da QSRR, descritores estruturais tais como topológicos, geométricos e eletrônicos ou descritores físico-

químicos podem ser determinados para moléculas com características estruturais semelhantes, e os melhores deles podem ser selecionados para descrever e prever o índice de retenção cromatográfico das mesmas. No presente estudo, nosso objetivo é encontrar os descritores melhor relacionados aos principais fatores envolvidos no mecanismo da retenção cromatográfica de diferentes acetofenonas substituídas e prever a retenção de outros compostos deste grupo. Descritores de diferentes grupos são relacionados à retenção cromatográfica através de regressão linear múltipla. As melhores equações são usadas para prever os índices de retenção das outras acetofenonas consideradas para teste.

PARTE EXPERIMENTAL

A estrutura básica das acetofenonas estudadas com os correspondentes substituintes é mostrada na Figura 1.

Article

Prediction of Gas Chromatographic Retention Indices of Coumarins

Míriam de Freitas Soares^a, Franco Delle Monache^b,
Vilma Edite Fonseca Heinzen^{a*}, and Rosendo A. Yunes^b

^aLaboratório de Estrutura-Atividade, Departamento de Química, CFM,
Universidade Federal de Santa Catarina, 88040-900 Florianópolis - SC, Brazil

^bInstituto di Chimica Recettori Molecole Biologicamente Attive del C.N.R.,
Università Cattolica S. Cuore, Largo F. Vito 1,00168 Rome, Italy

O estudo de correlação entre estrutura-retenção (QSRR) foi usado para relacionar a retenção cromatográfica de diferentes cumarinas substituídas as suas características estruturais.

Diferentes parâmetros estruturais foram selecionados tais como: descritores topológicos, geométricos, eletrônicos, químico-quânticos e físico-químicos para encontrar uma equação que melhor explique o comportamento cromatográfico destes compostos.

O método proposto por Dimov que classifica os descritores em diferentes grupos de acordo com seus valores de coeficientes de correlação foi utilizado neste estudo.

As melhores equações de correlação linear múltipla foram obtidas com os seguintes descritores: área total (A_T), índice do estado eletrotológico ($S_{(-o)}$) e orbital molecular ocupado de maior energia (EHOMO), mostrando que a retenção experimental, usando fase estacionária de baixa polaridade está relacionada principalmente com fatores relacionados a forma e também eletrônicos.

Os modelos selecionados apresentaram uma boa predictabilidade, a qual foi estabelecida através dos valores do coeficiente de correlação de validação cruzada (r^2_{cv}). As equações encontradas podem ser utilizadas para auxiliar na elucidação da estrutura ou retenção cromatográfica de cumarinas similares às estudadas.

Quantitative structure-retention relationships (QSRR) were used in this study to relate the chromatographic retention of different substituted coumarins to molecular structure. Different structural parameters were selected, such as topological, geometric, electronic, quantum-chemical and physico-chemical descriptors, in order to find an equation that fitted the chromatographic retention of these compounds.

The method proposed by Dimov that classifies the descriptors in different groups in agreement with their values of correlation coefficients was analysed.

Significant correlation equations were obtained with the following molecular descriptors: the total surface area (A_T), the electrotopological state index ($S_{(-o)}$) of the oxygen in position 1 of coumarin, and the highest occupied molecular orbital energy (EHOMO), showing that the experimental retention, using stationary phases with low polarity, was related with the shape and electronic factors of the solutes.

The models found have a good predictive ability as established by cross-validation r^2_{cv} values and thus, can be used to aid in the elucidation of the structure or the chromatographic retention of similar coumarins.

Keywords: QSRR, retention indices, coumarins, molecular descriptors, multiple linear regression

Introduction

The quantitative structure-retention relationships (QSRR)¹, establishes the relationship between a chemical structure and its chromatographic retention value. The

chromatographic retention is due to the integral effect of molecular interactions between the analyte and both mobile and stationary phase molecules. To define the structural descriptors best related to the characteristic of a particular