

Combretastatina-A1 e derivados: estudo teórico das propriedades ópticas não lineares

Combretastatin-A1 and derivatives: theoretical study of nonlinear optical properties

Marconi B. S. Costa

EREM Nóbrega, Recife, Pernambuco, Brasil

Autor correspondente: marconi.bdcosta@professor.educacao.pe.gov.br

Resumo

Através de cálculos de estrutura eletrônica, foram investigadas as propriedades ópticas não lineares, isto é, a primeira (β) e a segunda (γ) hiperpolarizabilidade, do fármaco natural antitumoral Combretastatina-A1 e derivados. Os resultados mostram que é possível incrementar as magnitudes das hiperpolarizabilidades da Combretastatina-A1 pela introdução de artifícios que levam a mudanças em sua estrutura (derivados). O uso de grupos doadores-receptores de elétrons e pontes insaturadas (ricas em elétrons π) constitui uma estratégia promissora. A análise quimiométrica de parâmetros estruturais e eletrônicos demonstra não haver relação direta entre as propriedades ópticas não lineares e a atividade biológica da Combretastatina-A1.

Palavras-chave

Combretastatina-A1 • Hiperpolarizabilidades • Atividade biológica

Abstract

The non-linear optical properties, the first (β) and second (γ) hyperpolarizabilities, of the natural antitumor drug Combretastatin-A1 and derivatives were investigated by electronic structure calculations. The results show that it is possible to increase the hyperpolarizabilities magnitudes of Combretastatin-A1 by introducing artifice that lead to changes in its structure (derivatives). The use of electron donor-acceptor groups and unsaturated bridges (rich in π -electrons) is a promising strategy. The chemometric analysis of structural and electronic parameters demonstrates that there is no direct relationship between the non-linear optical properties and the biological activity of Combretastatin-A1.

Keywords

Combretastatin A-1 • Hyperpolarizabilities • Biological activity

1 Introdução

A Combretastatina-A1 (Fig. 1) pertence a uma classe de compostos naturais isolada a partir da planta *Combretum caffrum* originária da África do Sul [1] e exibe atividades biológicas de grande interesse, como antineoplásica, antivascular e antiproliferativa [2]. Uma vez administrada, a Combretastatina-A1 (C-A1) promove rápida despolimerização dos microtúbulos, destruição da vasculatura tumoral, interrupção do fluxo sanguíneo do tumor e necrose de células tumorais, o que a torna candidata no combate ao câncer. Porém, mesmo apresentando

características notáveis, a C-A1 possui uma desvantagem crucial, sua alta toxicidade, o que motivou pesquisas envolvendo a obtenção de seus análogos e derivados.

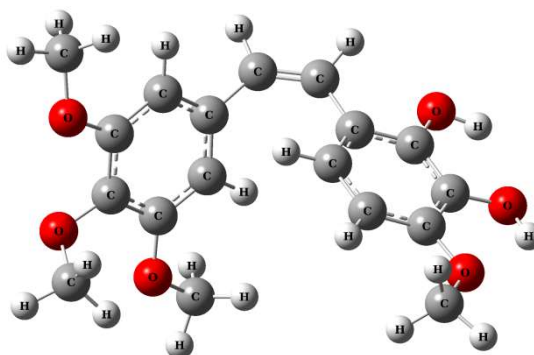


Figura 1: Combretastatina-A1 (3-metóxi-6-[(Z)-2-(3,4,5-trimetóxi-fenil)etenil]benzeno-1,2-diol).

Diversas outras moléculas, naturais e sintéticas, semelhantes à C-A1 foram obtidas, estudadas e caracterizadas experimentalmente na busca por melhor desempenho em termos de atividades biológicas associadas com toxicidade reduzida [3]. Algumas destas alcançaram etapas de fase clínica avançadas [4].

As propriedades ópticas não lineares (ONL) da C-A1 foram investigadas teoricamente pela primeira vez por Sajan e colaboradores [5]. O estudo em nível *Density Functional Theory* (DFT) mostrou que a magnitude da primeira hiperpolarizabilidade é nove vezes maior que a da ureia, indicando que este material pode ser um candidato para uso em aplicações [5]. A otimização dos coeficientes ópticos não lineares é essencial para uso prático, o que pode ser feito pela introdução de grupos doadores/receptores de elétrons e pontes conjugadas em moléculas orgânicas [6,7]. Além das promissoras magnitudes das hiperpolarizabilidades, os sistemas candidatos a aplicações devem exibir outras características como processabilidade, alto limite de dano ao laser, estabilidade, custo reduzido etc. [8]. Deste modo, é possível incrementar os coeficientes ópticos não lineares da C-A1 de modo a propor novos sistemas candidatos a aplicação.

Neste trabalho, foram investigadas teoricamente através de métodos de estrutura eletrônica, as propriedades ONL da C-A1 e derivados desta apresentando grupos doadores/receptores de elétrons e pontes conjugadas. É esperado que essa estratégia resulte em maiores valores da primeira e segunda hiperpolarizabilidades, β e γ , respectivamente, assim como aperfeiçoe características experimentais úteis. A validação dessa alternativa pode ser feita via síntese dos sistemas modelados e posterior medida dos parâmetros experimentais de interesse.

A pesquisa de análogos e derivados da C-A1 visando a identificação de moléculas mais eficientes para uso farmacológico segue perfis que se assemelham em alguns aspectos às pesquisas de novas moléculas para uso em óptica não linear. Deste modo, também foi investigada também a possibilidade da existência de uma relação entre a atividade biológica e as propriedades ONL calculadas. Para tanto, foi realizado um estudo quimiométrico envolvendo parâmetros estruturais, eletrônicos e biológicos.

2 Materiais e Métodos

2.1 Procedimento computacional

Para a C-A1, foi realizado inicialmente um teste com os Hamiltonianos semiempíricos MNDO-d, AM1, RM1, PM3, PM6 e PM7 [9,10]. Os dados obtidos com esses métodos foram comparados com aqueles alcançados em nível DFT B3LYP/6-311++G(d,p) [11,12] e HF(Hartree-Fock)/6-311++G(d,p) [13] realizados no Gaussian09 [14] e no MOPAC2012[15]. Uma vez que os resultados dos coeficientes β e γ assim como da geometria otimizada da molécula são similares para essas técnicas, o RM1 foi selecionado para o estudo dos demais derivados da C-A1.

O RM1 é um dos Hamiltonianos mais precisos disponibilizados no MOPAC2012 [15] e possui um dos menores erros médios para o cálculo da entalpia de formação, do momento de dipolo, do potencial de ionização e das distâncias interatômicas considerando 1480 moléculas [10]. Os métodos semiempíricos pertencem à família de métodos NDDO (*Neglect of Diatomic Differential Overlap*), na qual todos os termos resultantes do *overlap* de dois orbitais atômicos situados em diferentes centros são iguais a zero [16]. Os métodos NDDO contabilizam a repulsão eletrostática e a estabilização de *exchange*, e por sua vez as integrais calculadas são estimadas por técnicas aproximadas. Estes métodos usam um conjunto restrito de bases de um orbital *s* e três orbitais *p* (*px*, *py*, *pz*) e

algumas vezes cinco orbitais d por átomo. Este procedimento não considera as integrais de *overlap* na equação secular, em vez de resolver a equação,

$$|H-ES| = 0 \tag{1}$$

resolve-se

$$|H-E| = 0 \tag{2}$$

onde, H é o determinante secular, S é a matriz de *overlap*, e E é o conjunto de autovalores. Estas aproximações simplificam o cálculo suficientemente de modo a permitir o estudo de sistemas contendo elevado número de átomos.

Todas as técnicas semiempíricas contêm conjuntos de parâmetros que diferem entre si quanto a otimização ou não dos mesmos [16]. A maioria desses parâmetros se refere às integrais de um e dois centros incluindo os termos de repulsão. Para cada átomo, há um máximo de cinco integrais de um centro e dois elétrons a serem calculadas. Em comum a todas estas técnicas, há dois parâmetros que correspondem a duas constantes experimentais para cada elemento químico: o peso atômico e o calor de atomização. O aspecto central destes métodos é que eles são parametrizados para a reprodução de dados experimentais ou de resultados *ab initio* [16]. Uma de suas principais vantagens é a possibilidade de investigar sistemas com um grande número de átomos sem exigir uma ampla infraestrutura computacional produzindo resultados com precisão aceitável [17]. Em adição, os Hamiltonianos semiempíricos têm alcançado sucesso devido à concordância satisfatória entre os valores teóricos e as medidas experimentais das hiperpolarizabilidades β e γ para várias classes de moléculas que exibem propriedades ONL [18].

O funcional de densidade B3LYP é definido nos seguintes termos:

$$\mathbf{B3LYP} = 0,20\text{Ex(HF)} + 0,80\text{Ex(Slater)} + 0,72\text{DEx(B88)} + 0,19\text{Ec(VWN)} + 0,81\text{DEc(LYP)}$$

onde, Ex é a energia de troca e Ec é a energia de correlação, HF é o termo de Hartree-Fock, B88 é o termo de Becke de 1988 [11], VWN é o termo de Vosko, Wilk e Nusair [19], LYP é o termo de Lee, Yang e Parr [11]. Este funcional é classificado como híbrido, uma vez que possuem uma contribuição da energia Hartree-Fock. Os funcionais híbridos procuram superar algumas das deficiências dos funcionais de troca puro, incluindo uma mistura da energia de troca exata da teoria Hartree-Fock com a energia de *exchange* e correlação da Teoria do Funcional de Densidade. A diferença básica entre os diversos funcionais está no termo de troca-correlação. Nos cálculos HF e B3LYP foi usada a mesma função de base: 6-311++G(d,p) [20].

O método Hartree-Fock [21] permite reduzir o problema de uma equação com N elétrons para a equação de um elétron a qual contém o efeito das N partículas no operador de Fock. A maneira corriqueira de resolver a questão de autovalor na equação de Hartree-Fock é empregando um processo autoconsistente. Com ele se obtém as funções de onda e a energia no estado fundamental. Em cálculos de estrutura eletrônica, é frequente o uso do método Hartree-Fock em vários estudos [22]. Aqui foi usado no teste inicial a fim de comparar com a técnica semiempírica.

As hiperpolarizabilidades β e γ para os processos de geração de segundo (SHG) e terceiro (THG) harmônicos pelo MOPAC2012 são obtidas através das seguintes equações,

$$\beta = \left[(\beta_{xxx} + \beta_{xyy} + \beta_{xzz})^2 + (\beta_{yyy} + \beta_{yzz} + \beta_{yxx})^2 + (\beta_{zzz} + \beta_{zxx} + \beta_{zyy})^2 \right]^{1/2}, \tag{3}$$

$$\gamma = \frac{1}{5} \{ \gamma_{xxxx} + \gamma_{yyyy} + \gamma_{zzzz} + 2[\gamma_{xxyy} + \gamma_{xxzz} + \gamma_{yyzz}] \} \tag{4}$$

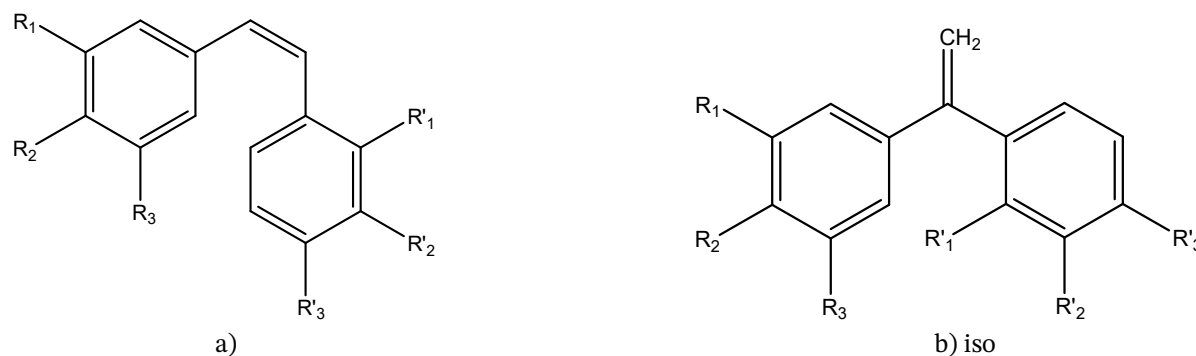
Os valores estáticos de β e γ são obtidos com base na aproximação *Coupled Perturbed Hartree-Fock* (CPHF) [23], enquanto os valores dinâmicos são calculados com o procedimento *Time-Dependent Hartree-Fock* (TDHF) [24]. A interação com o campo elétrico externo em um sistema de camada fechada é contabilizada pelo método TDHF pela introdução de uma perturbação na parte eletrônica da equação de Schrödinger.

Além do cálculo das hiperpolarizabilidades, foi efetuado um estudo quimiométrico na busca de uma possível relação entre a atividade biológica das moléculas e suas propriedades ONL. Na quimiometria, a regressão linear múltipla é frequentemente empregada com razoável margem de segurança [25]. Com este recurso se obtém uma relação matemática entre a variável de interesse (variável dependente) e o restante das variáveis que descrevem o sistema (variáveis independentes), então se reduz um elevado número de variáveis em poucas dimensões com reduzida perda de informação relevante. Assim, detectam-se os principais padrões de similaridade, a associação e a

correlação entre as grandezas. Uma vez obtida a relação matemática, é possível prever as magnitudes da variável dependente a partir das variáveis independentes.

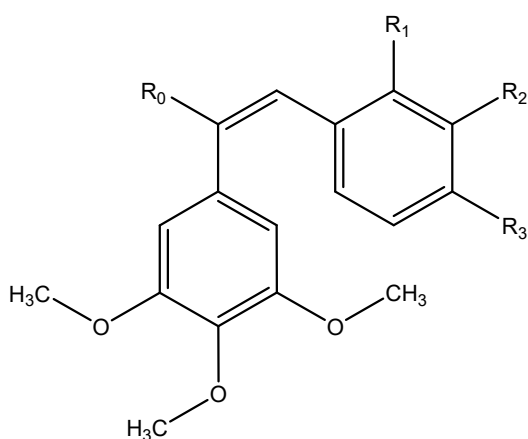
2.2 Sistemas investigados

As Figuras 2 e 3 mostram um esquema que resume 14 estruturas derivadas da Combretastatina analisadas nesse trabalho.



Designação	R ₁	R ₂	R ₃	R' ₁	R' ₂	R' ₃
(iso)CA1	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OH	OH	OCH ₃
(iso)CA2	OCH ₃	OCH ₂ O		H	OH	OCH ₃
(iso)CA3	OCH ₃	OCH ₃	OH	H	OH	OCH ₃
(iso)CA4	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H	OH	OCH ₃

Figura 2: Estruturas derivadas da Combretastatina analisadas neste trabalho.



Designação	R ₀	R ₁	R ₂	R ₃
BL19	CH ₂ CH ₃	H	OH	OCH ₃
BL31	H	H	H	N(CH ₃) ₂
BL33	H	H	NH ₂	OCH ₃
BL46	F	H	OH	OCH ₃
BL47	H	H	H	OCH ₃
BL315	H	Cl	H	OCH ₃

Figura 3: Estruturas derivadas da Combretastatina investigadas neste trabalho.

A Figura 4 apresenta seis estruturas adicionais também contempladas nesse estudo. Ao todo, 21 sistemas foram considerados na análise quimiométrica.

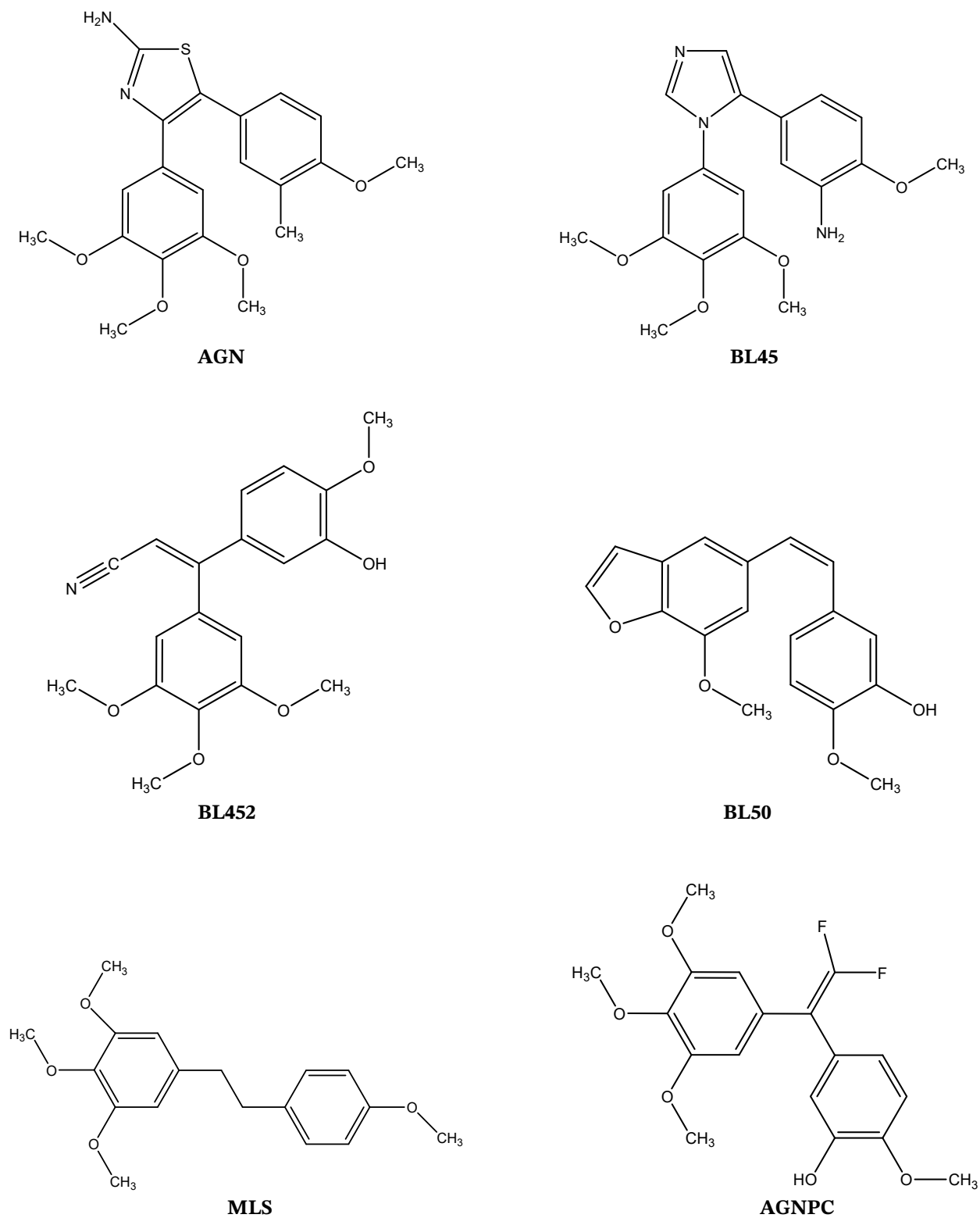


Figura 4: Estruturas derivadas da Combretastatina consideradas neste trabalho.

3 Resultados e Discussões

3.1 Comparação dos métodos

A Tabela 1 apresenta os valores estáticos e dinâmicos das hiperpolarizabilidades β e γ da Combretastatina-A1 (Fig. 1) calculados com seis Hamiltonianos semiempíricos e duas técnicas *ab initio*. Os valores obtidos com o método B3LYP/6-311++G(d,p) são maiores do que os demais, sobretudo para a segunda hiperpolarizabilidade, γ . Já em comparação com o HF/6-311++G(d,p), os valores semiempíricos de β são semelhantes, enquanto para γ os valores são sutilmente superestimados.

Esses resultados demonstram que para o cálculo teórico das magnitudes β e γ da C-A1, as técnicas semiempíricas são equivalentes aos métodos *ab initio*. Isso é significativo nesta análise, uma vez que todas as demais moléculas consideradas são derivadas da C-A1.

Tabela 1: Valores teóricos da primeira β (10^{-30} esu) e segunda γ (10^{-36} esu) hiperpolarizabilidades da C-A1

Método	β_0	β_{2479}	β_{1060}	γ_0	γ_{2479}
B3LYP 6-311++G(d,p)	6	6,5	9	63	70
HF 6-311++G(d,p)	1,7	1,7	2	9	10
PM7	2	3	4	20	26
PM6	3	3	7	26	34
PM3	1	1	2	18	22
RM1	2	2	3	19	24
AM1	1	1	2	26	34
MNDO-d	2	2	3	10	12

Além de comparar os valores das hiperpolarizabilidades, é útil inferir os dados estruturais das moléculas otimizadas com as diferentes metodologias. Os parâmetros aqui considerados foram: ângulo, ângulo diedro e comprimento de ligação. As Figuras 5 e 6 mostram os dados experimentais destes parâmetros e aqueles obtidos teoricamente com os métodos B3LYP, HF e RM1.

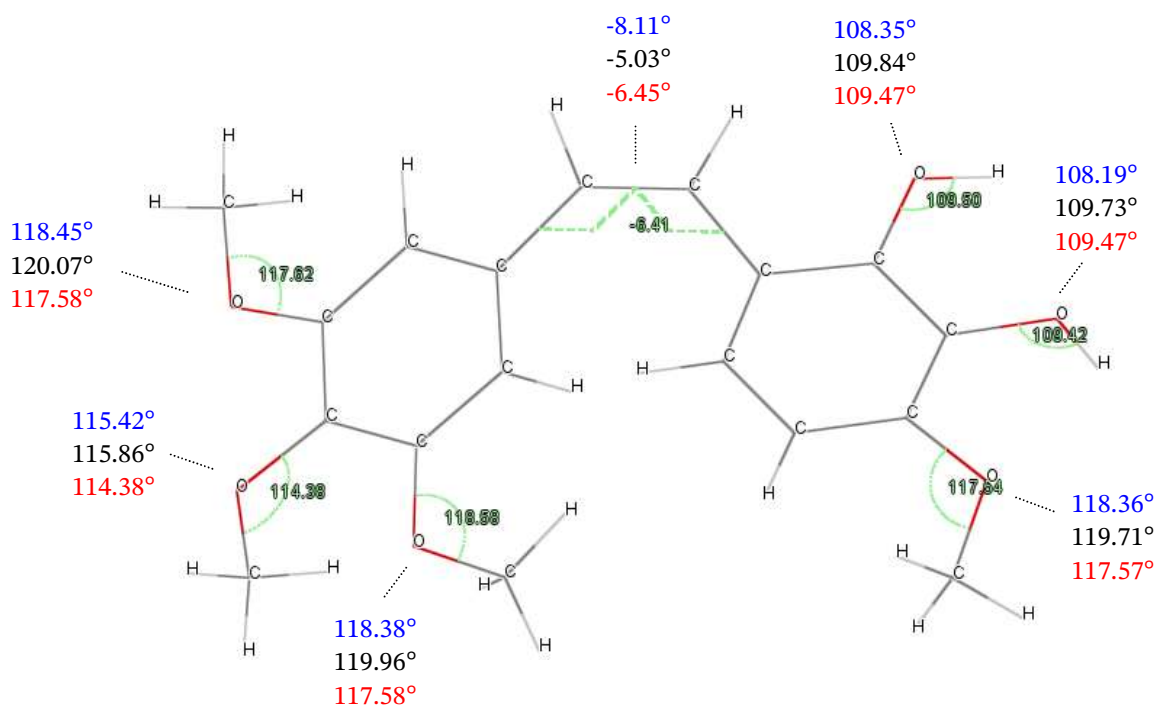


Figura 5: Valores experimentais (em verde) de ângulos de ligação e ângulo diedro da C-A1 em comparação com dados teóricos (B3LYP, HF, RM1).

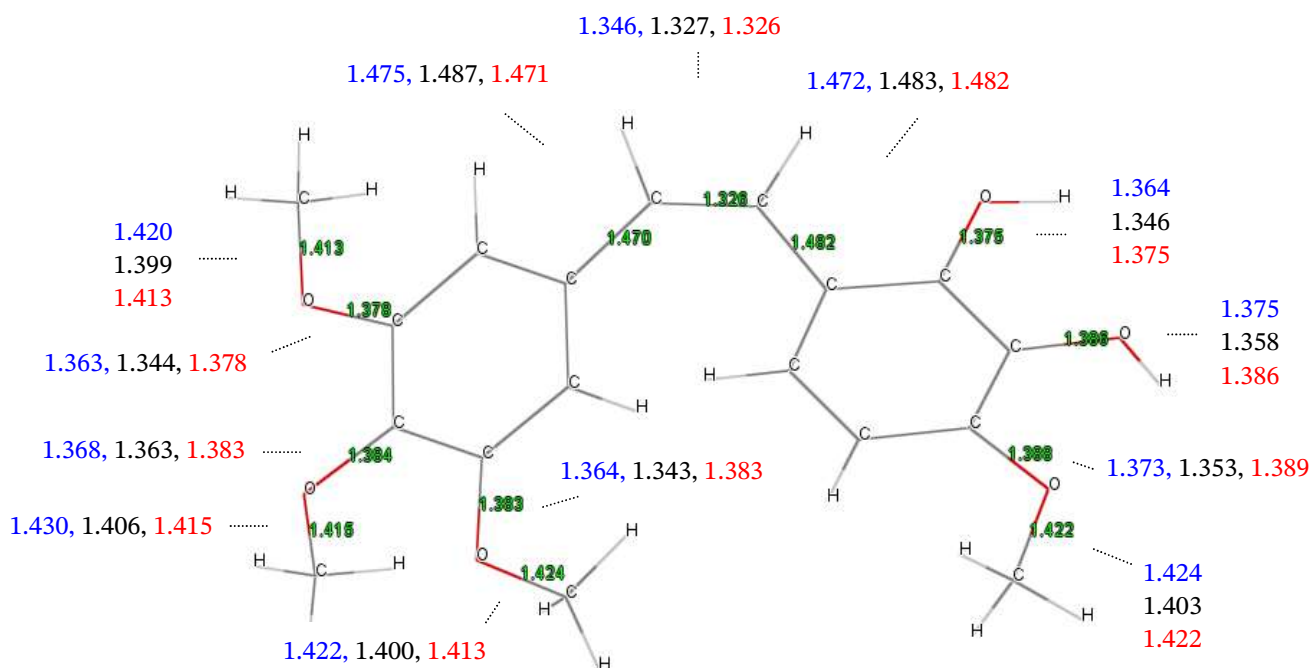


Figura 6: Valores experimentais (em verde) de comprimentos de ligação (Å) da C-A1 em comparação com dados teóricos (B3LYP, HF, RM1).

Como se observa, o Hamiltoniano RM1 é o que melhor reproduz os valores experimentais dos parâmetros selecionados. Vale destacar que essa técnica semiempírica, o RM1, possui o menor erro entre muitos semiempíricos para o potencial de ionização, o momento de dipolo, o comprimento de ligação e o calor de formação [9]. Por esta razão, foi escolhido neste trabalho para a série de cálculos envolvendo a C-A1 e derivados.

3.2 Otimização de β e γ da C-A1

Na primeira etapa para otimizar os valores de β e γ da C-A1, foram modelados uma série de sistemas com a introdução do dicianoetenil (Fig. 7), caracterizado na literatura como um forte grupo receptor de elétrons [7]. A Figura 8 apresenta a estrutura da C-A1 com todos os átomos enumerados para permitir o reconhecimento das posições em que o grupo receptor dicianoetenil foi adicionado em cada teste.

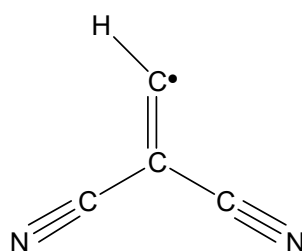


Figura 7: Dicianoetenil.

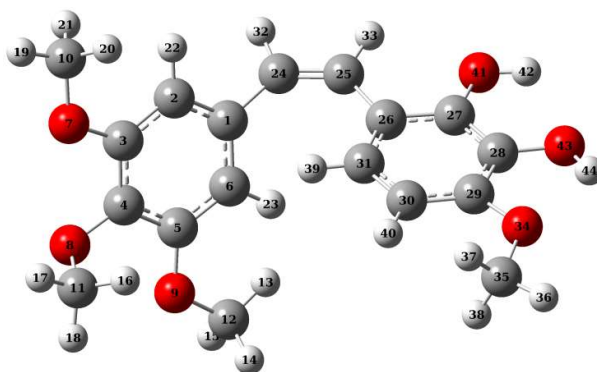


Figura 8: Combretastatina-A1 (os números indicam as posições e os elementos que o grupo dicianoetil foi conectado).

Como se observa na Tabela 2, embora haja um aumento nos valores de β e γ em comparação com o sistema sem o grupo receptor, estes valores não são elevados. Ainda que a introdução do dicianoetil no carbono 24 (Figura 9) tenha resultado nos maiores valores de β e γ nesses sistemas, as magnitudes exibidas não são suficientemente altas para indicar potenciais aplicações relevantes. Segundo a literatura [26], valores dinâmicos (a 0,65 eV) de β acima de 100×10^{-30} esu, são considerados muito altos. O valor teórico obtido a 1060 nm (1,17 eV) foi 22×10^{-30} esu.

Tabela 2: Hiperpolarizabilidades β (10^{-30} esu) e γ (10^{-36} esu) em nível RM1 para a C-A1 contendo o grupo dicianoetil

Posição	β_0	β_{2479}	β_{1060}	γ_0	γ_{2479}
C(35)	2	2	4	25	31
O(34)	3	3	7	26	33
O(43)	4	5	8	27	34
O(41)	3	3	6	27	33
C(10)	2	2	4	23	28
O(7)	5	5	9	25	31
C(11)	2	2	3	20	24
O(8)	1	1	2	24	31
C(12)	2	2	4	23	29
O(9)	1	1	1	22	28
C(31)	5	5	11	23	30
C(30)	5	6	12	29	37
C(29)	6	7	18	34	46
C(28)	4	5	10	30	39
C(27)	4	5	10	29	37
C(25)	4	5	8	27	35
C(24)	8	9	22	45	62
C(2)	3	4	6	24	30
C(3)	5	6	11	32	42
C(4)	3	3	8	30	38
C(5)	1	2	4	26	34
C(6)	3	3	7	26	33

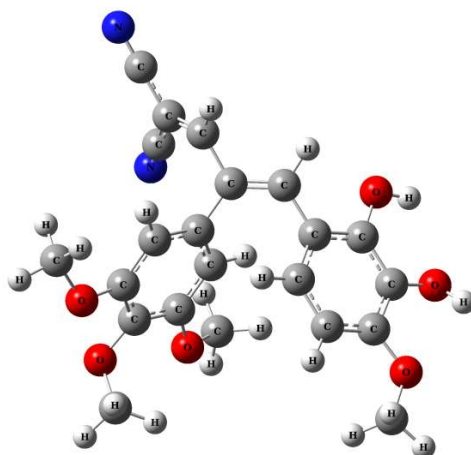


Figura 9: Estrutura otimizada da C-A1 contendo o grupo receptor dicianoetenil no átomo de carbono 24.

Após identificada a posição do grupo receptor que resultou nos maiores valores de β e γ , foi testada a adição do grupo dimetilamina $-N(CH_3)_2$, caracterizado na literatura como um forte grupo doador [3]. Todas as posições disponíveis foram avaliadas, mas os resultados obtidos foram inferiores àqueles apresentados na Tabela 2, o que conduziu a outra abordagem. A estratégia seguinte então foi a ampliação do número de ligações simples e duplas (ponte) entre os dois anéis da C-A1 contendo o grupo receptor, de modo a aumentar a polarização e promover a delocalização eletrônica, como mostra a Figura 10.

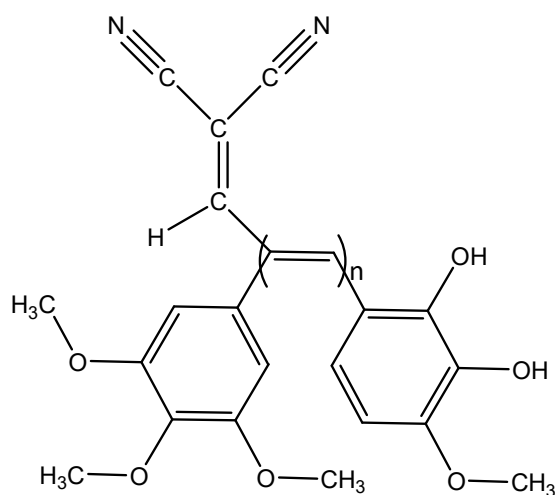
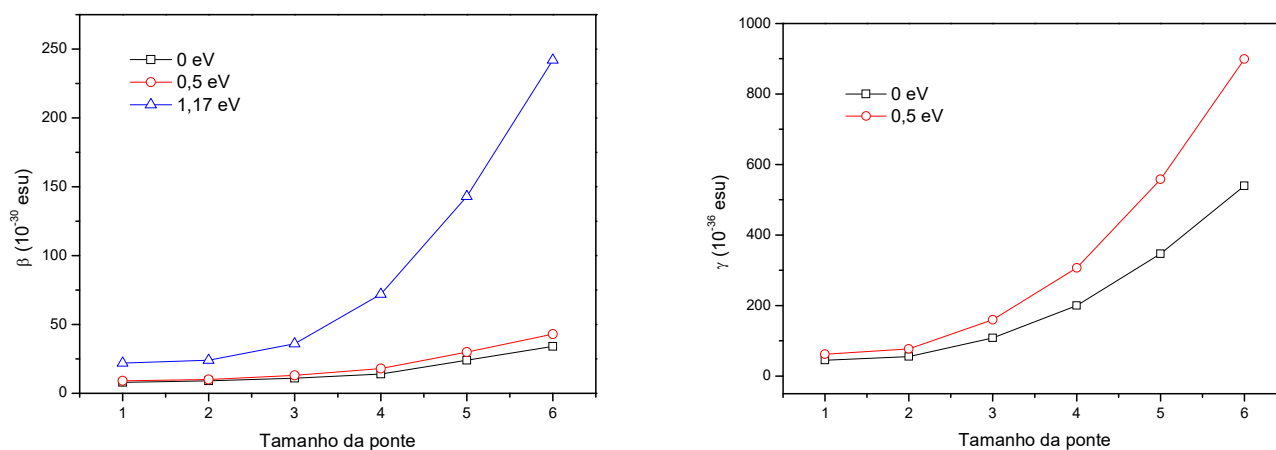


Figura 10: Derivados da Combretastatina-A1 contendo o grupo receptor com o aumento do número de ligações duplas ($n = 1$ a 6).

A Tabela 3 apresenta os resultados para este modelo. Verifica-se um ganho relevante nos valores de β e γ com o aumento no tamanho da ponte, em particular, para os valores de γ . Como mostra a Figura 11, os valores dinâmicos de β a 1060 nm são mais sensíveis ao crescimento no tamanho da ponte. Esse comportamento provavelmente se repetiria com γ se os valores deste a 1060 nm tivessem sido obtidos.

Tabela 3: Hiperpolarizabilidades β (10^{-30} esu) e γ (10^{-36} esu) da C-A1 contendo o grupo receptor dicianoetenil, calculadas com o método RM1

Ponte	β_0	β_{2479}	β_{1060}	γ_0	γ_{2479}
1	8	9	22	45	62
2	9	10	24	55	77
3	11	13	36	108	160
4	14	18	72	200	307
5	24	30	143	347	558
6	34	43	242	540	899

Figura 11: Hiperpolarizabilidades β e γ , estáticas e dinâmicas, em função do aumento no tamanho da ponte para a Combretastatina-A1 contendo grupo receptor.

A Figura 12 mostra a estrutura otimizada do sistema com o maior valor de β e γ para esta série. O sistema contém uma ponte com seis ligações duplas (C=C) alternadas. Essa estrutura contendo elétrons π na ponte é altamente polarizável, o que contribui com o rápido crescimento dos coeficientes ópticos não lineares.

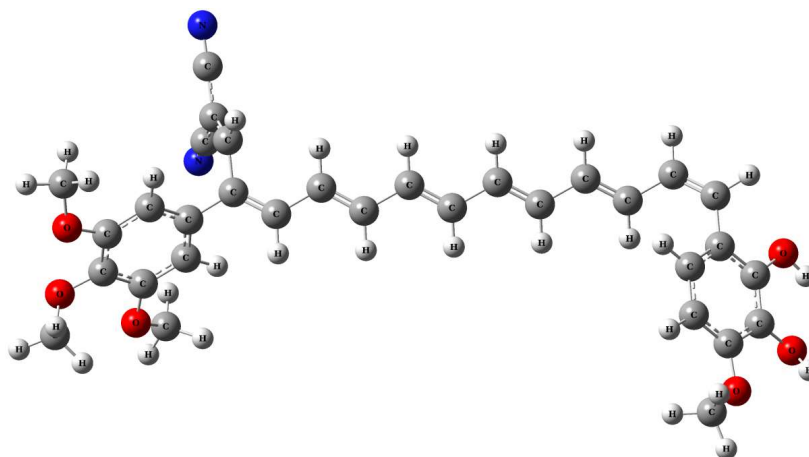


Figura 12: Sistema derivado da Combretastatina-A1 contendo grupo receptor e seis ligações duplas (C=C) alternadas.

De modo a incrementar ainda mais os valores de β e γ nesta classe, o grupo doador dimetilamina foi introduzido no sistema já contendo o grupo receptor. A Tabela 4 mostra que essa estratégia é eficiente em razão dos maiores valores de β e γ obtidos. A Figura 13 mostra a estrutura otimizada do sistema que apresenta as maiores magnitudes de β e γ para esta série. Os grupos doador e receptor de elétrons estão separados pela ponte contendo seis ligações duplas (C=C) alternadas. Esta configuração cria um sistema favorável à transferência de cargas entre os grupos doador e receptor, gerando valores maiores dos coeficientes β e γ .

Tabela 4: Hiperpolarizabilidades β (10^{-30} esu) e γ (10^{-36} esu) em nível RM1 calculadas em função do tamanho da ponte para o sistema contendo o grupo doador (dimetilamina) e receptor (dicianoetenil)

Ponte	β_0	β_{2479}	β_{1060}	γ_0	γ_{2479}
1	6	8	26	43	60
2	16	21	118	80	131
3	34	43	252	197	336
4	53	68	440	376	658
5	69	89	648	590	1053
6	82	107	882	828	1502

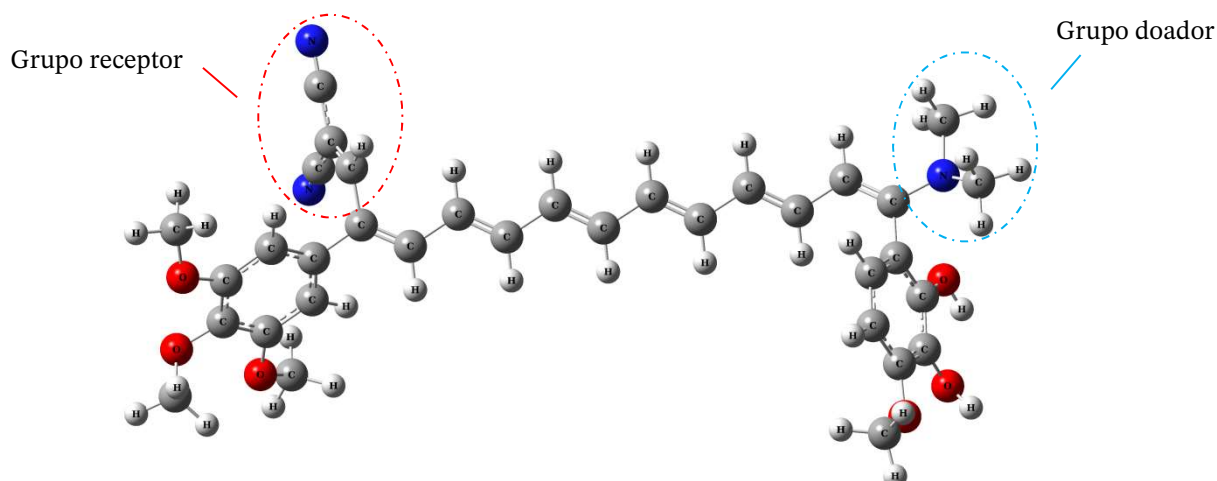


Figura 13: Sistema derivado da Combretastatina-A1 contendo os grupos doador (dimetilamina) e receptor (dicianoetenil) separados por seis ligações duplas (C=C) alternadas.

Esses resultados mostram que não é possível aumentar as magnitudes das hiperpolarizabilidades da C-A1 sem a introdução de artifícios que levam a mudanças em sua estrutura. Com essas mudanças, torna-se imprevisível o comportamento das propriedades biológicas dos sistemas modelados e não é possível dizer se estas serão preservadas, ampliadas ou suprimidas. Para avaliar se há ou não uma relação entre atividade biológica e propriedades ONL, procedeu-se à análise quimiométrica da C-A1 e seus derivados.

3.3 Estudo quimiométrico

As Figuras 2 a 4 mostram todos os sistemas considerados no estudo quimiométrico. Nesta etapa, todas as estruturas foram otimizadas com o Hamiltoniano RM1. As propriedades eletrônicas e estruturais também foram obtidas com este método semiempírico. As Tabelas 5 a 7 apresentam os parâmetros calculados: a polarizabilidade (α), as hiperpolarizabilidades (β e γ), o gap de energia HOMO-LUMO (Δ_{H-L}), o momento de dipolo (μ), o potencial de ionização (PI), a energia total, o calor de formação, o ângulo diedro, o volume (V), a área, a afinidade eletrônica (AE), o logaritmo do coeficiente de partição (LogP) e a concentração inibitória para 50% das células (IC_{50}).

Tabela 5: Polarizabilidade α (10^{-24} esu) e hiperpolarizabilidades β (10^{-30} esu) e γ (10^{-36} esu) calculadas com o RM1 para a Combretastatina e derivados

Sistema	α_0	α_{2479}	α_{1060}	β_0	β_{2479}	β_{1060}	γ_0	γ_{2479}
CA	25	25	26	1	1	1.4	8	9
CA1	28	28	30	1.8	2	3	19	24
CA2	25	26	27	1	1	2	16	20
CA4	26	27	28	1.5	1.7	2.6	16	19
isoCA1	27	28	29	1.7	1.8	2	17	21
isoCA2	25	26	27	4	4	7	19	23
isoCA3	26	26	27	3	4	6	18	22
isoCA4	27	27	28	2	3	5.3	19	24
MLS	25	26	27	0.8	1	1.4	15	18
BL47	26	26	27	2	3	5	17	21
BL33	26	27	28	2	2	4	14	18
BL31	27	28	29	3	3	7	20	26
BL50	26	26	27	4	4	7	19	24
BL45	31	31	32	2	2	3	23	28
BL315	27	28	29	2	3	4	20	25
BL46	26	27	28	2	2	3	17	21
BL19	29	29	30	0.4	0.5	0.9	17	21
BL452	29	30	31	6	7	14	28	35
AGN	34	35	36	2	2	5	38	50
AGNPC	28	28	29	4	4	8	22	28

O coeficiente de partição (LogP) foi calculado com o ACD/Labs [27] para as moléculas otimizadas com o RM1, enquanto os valores do IC_{50} foram obtidos experimentalmente a partir da literatura [28]. O IC_{50} considerado nesse estudo se refere à inibição da polimerização da tubulina medida em células de cérebro bovino, segundo dados da literatura [28].

Tabela 6: Parâmetros estruturais, eletrônicos e biológicos usados no estudo quimiométrico da Combretastatina e derivados

Sistema	Δ_{H-L} (eV)	μ (D)	PI (eV)	Energia (eV)	Calor de formação (Kj/mol)	Diedro (°)	V (Å ³)	Área (Å ²)	AE (eV)	^a LogP	^b IC ₅₀ (µM)
CA	10,67	2,76	8,83	-4.464	-825,80	53,8	402	325	-0,048	1,43	5
CA1	10,72	4,00	8,48	-4.434	-748,57	-2,9	393	336	-0,034	3,84	2
CA2	10,66	2,43	8,60	-3.935	-523,81	2,5	345	302	0,108	4,33	4
CA4	10,74	1,09	8,65	-4.118	-560,54	-2,6	391	323	0,085	3,57	1,2
isoCA1	10,60	3,63	8,70	-4.434	-747,00	-45,8	392	342	-0,130	3,87	2,1
isoCA2	10,79	2,24	8,47	-3.935	-511,76	-44,7	344	313	0,023	4,36	3,4
isoCA3	10,72	2,40	8,47	-3.964	-586,24	45,1	358	320	0,055	3,16	5
isoCA4	10,71	2,22	8,40	-4.118	-554,20	45,7	378	342	-0,002	3,60	2,1
MLS	10,40	3,93	8,70	-3.831	-469,52	179,8	376	344	-0,332	4,05	3,2
BL47	10,80	2,27	8,53	-3.801	-366,63	3	373	313	-0,001	4,37	2,2
BL33	10,51	1,80	8,15	-4.026	-390,56	2,6	393	317	-0,002	3,33	4
BL31	10,68	1,56	8,43	-3.863	-206,68	2,9	402	332	0,016	4,93	3,4
BL50	10,53	1,07	8,31	-3.744	-301,41	-2,4	348	302	-0,093	4,31	0,035
BL45	10,30	3,24	8,26	-4.570	-312,20	-5,1	424	353	0,296	1,67	7,7
BL315	10,84	3,06	8,63	-4.171	-403,03	-2,5	391	334	0,119	4,98	3,5
BL46	10,58	3,68	8,79	-4.591	-743,89	3,2	397	326	0,315	3,46	2,5
BL19	10,70	2,15	8,58	-4.426	-616,43	2,4	430	354	0,001	4,65	0,13
BL452	10,54	2,35	8,73	-4.437	-418,91	-52,8	405	358	0,585	3,55	4,3
AGN	10,23	4,67	8,16	-4.688	-325,57	3,3	455	378	0,285	2,75	1,1
AGNPC	10,58	1,56	8,61	-5.064	-958,32	-47,1	395	351	0,411	3,53	2,5

^a Calculado com ACD/Labs Software v2015 [27]. ^b Inibição da polimerização da tubulina [28].

Dos parâmetros eletrônicos analisados, o *gap* de energia HOMO-LUMO, o potencial de ionização, a energia e o calor de formação, fornecem uma estimativa da estabilidade do sistema. Valores altos do *gap* e do potencial de ionização, assim como valores baixos da energia e do calor de formação, indicam alta estabilidade.

O diedro, o volume e a área são parâmetros estruturais que podem estar relacionados com a acomodação da molécula no sítio ativo da proteína [17].

O LogP descreve a razão das concentrações do composto em dois meios líquidos imiscíveis em equilíbrio (água e octanol). Quanto maior o valor do LogP, maior a afinidade com regiões hidrofóbicas, e quanto menor, maior a interação com regiões hidrofílicas. Em relação ao momento de dipolo, o comportamento é inverso: quanto maior seu valor, maior interação com regiões hidrofílicas.

O LogP e o momento de dipolo podem ser indicadores para estimar a interação de uma molécula em meio biológico. A afinidade eletrônica permite estimar se uma molécula possui comportamento eletrofílico (alta afinidade) ou nucleofílico (baixa afinidade).

Além destes parâmetros, também foi incluída na análise as cargas de Mulliken de 12 átomos de C dos dois anéis aromáticos comuns a todos os sistemas. A Figura 14 apresenta a estrutura da Combretastatina com os átomos de C dos anéis destacados pela numeração que é usada na Tabela 7.

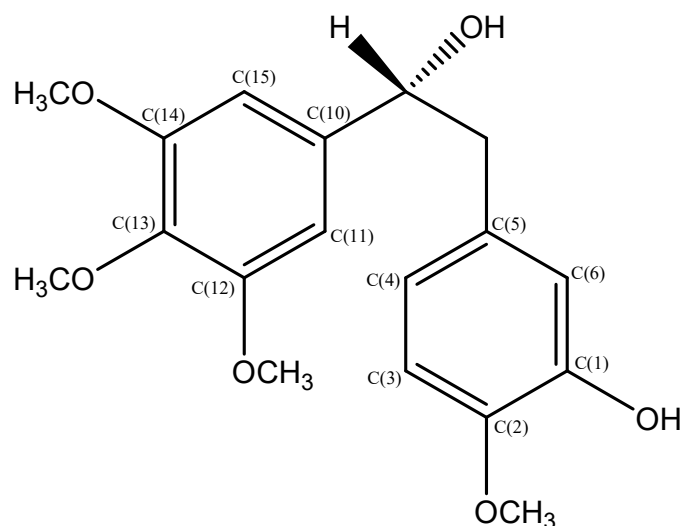


Figura 14: Estrutura da Combretastatina destacando os átomos de C dos dois anéis aromáticos comuns à classe de sistemas considerada.

Embora existam outras propriedades biológicas relevantes destas moléculas, o IC_{50} é uma das mais frequentemente medidas para esta série, de acordo com dados da literatura [28]. Considerando todas as moléculas selecionadas, este foi o parâmetro biológico em comum disponível na literatura. O IC_{50} mede a concentração mínima necessária para inibir a atividade de 50% das células. Como não é possível afirmar se o IC_{50} possui ou não uma relação direta com as propriedades ONL e demais parâmetros estruturais e eletrônicos, foi efetuada a análise quimiométrica pela regressão linear múltipla. A Tabela 8 mostra a correlação do IC_{50} com os demais parâmetros estruturais e eletrônicos calculados para a Combretastatina e derivados. Como se observa, nenhuma das propriedades ópticas estudadas possui relação com a atividade biológica medida pelo IC_{50} .

Em negrito na Tabela 8 está destacado o único parâmetro que possui uma correlação razoável com o IC_{50} : o logaritmo do coeficiente de partição (LogP), cujo valor é de -0,519292. Valores acima de 0,5 são considerados razoáveis uma vez que o máximo é 1. Levando em conta a Tabela 8, a correlação do LogP é muito superior a de todos os demais parâmetros avaliados. A correlação negativa significa uma relação inversa, i.e., quanto maior o LogP, menor o IC_{50} . Isso é coerente, pois quanto maior o LogP, maior é a afinidade da molécula com meios hidrofóbicos, característicos de sistemas biológicos. Em paralelo, quanto menor o IC_{50} , mais eficiente é a atividade biológica da molécula, ou seja, quanto menor o seu valor, menor a quantidade de substância necessária para inibir a polimerização da tubulina.

Tabela 7: Cargas atômicas de Mulliken calculadas com o RM1 para os átomos de C dos anéis do Combretastatina e derivados

Sistema	qC ₍₁₎	qC ₍₂₎	qC ₍₃₎	qC ₍₄₎	qC ₍₅₎	qC ₍₆₎	qC ₍₁₀₎	qC ₍₁₁₎	qC ₍₁₂₎	qC ₍₁₃₎	qC ₍₁₄₎	qC ₍₁₅₎
CA	0,088	0,024	-0,082	-0,130	0,011	-0,212	-0,100	-0,125	0,069	0,018	0,066	-0,107
CA1	-0,084	0,127	-0,236	-0,006	-0,119	0,154	0,088	-0,248	0,153	-0,042	0,152	-0,262
CA2	0,117	-0,039	-0,076	-0,132	0,009	-0,152	0,036	-0,148	0,092	-0,098	0,158	-0,177
CA4	0,114	-0,040	-0,077	-0,129	0,011	-0,154	0,080	-0,243	0,151	-0,038	0,152	-0,257
isoCA1	0,129	-0,084	0,167	-0,116	-0,015	-0,237	0,015	-0,126	0,077	0,007	0,068	-0,121
isoCA2	0,084	0,081	-0,179	-0,014	-0,099	-0,169	0,039	-0,212	0,149	-0,046	0,080	-0,153
isoCA3	0,089	0,079	-0,177	-0,018	-0,093	-0,172	0,048	-0,167	0,112	-0,011	0,117	-0,231
isoCA4	0,077	0,088	-0,170	-0,086	-0,020	-0,179	0,039	-0,163	0,106	-0,013	0,120	-0,216
MLS	-0,215	0,132	-0,159	-0,056	-0,108	-0,047	0,010	-0,212	0,106	-0,002	0,105	-0,166
BL47	-0,164	0,137	-0,223	-0,030	-0,093	-0,048	-0,003	-0,118	0,076	0,015	0,053	-0,131
BL33	-0,044	-0,068	0,194	-0,231	0,050	-0,189	-0,005	-0,113	0,076	0,016	0,051	-0,130
BL31	-0,126	0,090	-0,171	-0,064	-0,062	-0,082	-0,003	-0,117	0,075	0,017	0,052	-0,129
BL50	0,082	0,081	-0,163	-0,103	-0,015	-0,175	0,003	-0,139	0,126	-0,050	-0,029	-0,120
BL45	0,199	-0,066	-0,047	-0,185	0,078	-0,238	0,219	-0,277	0,175	-0,051	0,176	-0,296
BL315	0,015	-0,142	0,109	-0,026	0,078	-0,155	-0,171	0,152	-0,217	-0,017	-0,096	0,083
BL46	-0,082	-0,079	0,018	0,069	0,053	-0,079	-0,071	-0,042	0,122	-0,151	0,035	-0,148
BL19	0,050	-0,165	0,108	-0,017	0,122	-0,221	0,119	-0,040	-0,073	-0,136	0,017	-0,154
BL452	-0,041	-0,108	0,066	0,023	0,079	-0,115	0,075	0,104	-0,179	-0,065	-0,057	-0,169
AGN	0,046	-0,200	0,112	-0,002	0,092	-0,135	-0,209	0,118	-0,081	-0,064	-0,011	-0,066
AGNPC	0,017	-0,120	0,077	0,013	0,073	-0,130	-0,170	0,095	0,079	-0,173	-0,003	-0,088

Tabela 8: Correlação do IC₅₀ com os parâmetros estruturais e eletrônicos da Combretastatina e derivados

Parâmetro	Correlação com IC ₅₀	Parâmetro	Correlação com IC ₅₀
α_0	-0,041095	Diedro	0,089553
α_{2479}	-0,040118	Área	-0,018511
α_{1060}	-0,052116	V	-0,021487
β_0	0,094947	qC ₍₁₎	0,174784
β_{2479}	0,111625	qC ₍₂₎	0,055970
β_{1060}	0,069090	qC ₍₃₎	-0,044350
γ_0	-0,115148	qC ₍₄₎	-0,321285
γ_{2479}	-0,140353	qC ₍₅₎	-0,007667
Δ_{H-L}	-0,166833	qC ₍₆₎	-0,197417
Energia	-0,049270	qC ₍₁₀₎	0,244978
PI	0,002522	qC ₍₁₁₎	-0,195400
Calor de Formação	0,100655	qC ₍₁₂₎	0,106329
AE	0,238972	qC ₍₁₃₎	0,247003
μ	0,129388	qC ₍₁₄₎	0,309472
LogP	-0,519292	qC ₍₁₅₎	-0,220841

A Tabela 9 apresenta a matriz de correlação das variáveis β e γ com os demais parâmetros estudados. Em vermelho e verde estão destacados, respectivamente, os parâmetros que exibem correlação superior a 0,5 com β e γ .

Para ambas as hiperpolarizabilidades, a afinidade eletrônica possui correlação positiva superior a 0,5. Isso indica que para esta classe de sistemas, um caráter eletrofílico favorece o aumento nos valores de β e γ . O diedro possui uma correlação negativa com β estática para esta classe. De forma geral, moléculas planas favorecem o crescimento da primeira hiperpolarizabilidade pelo aumento da transferência de cargas. Neste caso, um diedro menor pode estar contribuindo para a transferência de cargas entre os dois anéis aromáticos presentes nas moléculas. O *gap* de energia HOMO-LUMO apresenta uma correlação inversa com γ e uma baixa correlação positiva com β . Uma correlação inversa está de acordo com o modelo de dois níveis que prevê alta polarização e maior transferência de carga com a redução no *gap*.

Tabela 9: Matriz de correlação entre as variáveis

	β_0	β_{2479}	β_{1060}	γ_0	γ_{2479}
β_0	1				
β_{2479}	0,961547	1			
β_{1060}	0,959590	0,964117	1		
γ_0	0,432306	0,413433	0,509019	1	
γ_{2479}	0,417452	0,395073	0,500033	0,997543	1
α_0	0,096568	0,069694	0,173381	0,846806	0,845956
α_{2479}	0,105896	0,067570	0,184101	0,878379	0,878376
α_{1060}	0,096371	0,057901	0,170876	0,871140	0,871956
Δ_{H-L}	-0,018571	0,100832	-0,013611	-0,512470	-0,513711
Energia	-0,052705	0,020078	-0,027214	-0,372063	-0,366654
PI	-0,095131	-0,046777	-0,119711	-0,435193	-0,459085
Calor de Formação	0,161266	0,187079	0,247592	0,361519	0,364993
V	-0,192983	-0,222448	-0,098799	0,486137	0,492301
Área	0,024346	0,029409	0,123236	0,658129	0,650598
Diedro	-0,511271	-0,436578	-0,441711	-0,334314	-0,330655
LogP	0,085950	0,129772	0,123222	-0,039304	-0,023806
μ	-0,344999	-0,323190	-0,339516	0,314765	0,311306
AE	0,549880	0,525938	0,584632	0,596817	0,579515
qC ₍₁₎	-0,017906	-0,062618	-0,122106	0,054896	0,033983
qC ₍₂₎	0,016484	0,063610	-0,001726	-0,437402	-0,436922
qC ₍₃₎	-0,033763	-0,079747	-0,030270	0,245687	0,255803
qC ₍₄₎	0,333088	0,376692	0,365432	0,388716	0,379690
qC ₍₅₎	0,003221	-0,038722	0,040627	0,345758	0,345884
qC ₍₆₎	0,033991	0,057501	0,075881	0,082138	0,094008
qC ₍₁₀₎	-0,046422	-0,032849	-0,079829	-0,216950	-0,251577
qC ₍₁₁₎	0,319904	0,350444	0,414128	0,512526	0,528294
qC ₍₁₂₎	-0,175776	-0,273851	-0,310848	-0,429566	-0,432411
qC ₍₁₃₎	-0,131568	-0,034529	-0,088124	-0,272900	-0,264731
qC ₍₁₄₎	-0,437944	-0,448188	-0,470634	-0,353753	-0,367273
qC ₍₁₅₎	0,062296	0,078032	0,088332	0,126635	0,153551

Três outros parâmetros exibem correlação positiva acima de 0,5 com γ : a polarizabilidade (α), a área da molécula e a carga do átomo de carbono C(11). De forma geral, as propriedades ópticas possuem alta correlação entre si, embora não haja correlação entre α e β para essa classe. O átomo de carbono C(11) em todas as moléculas investigadas exibe carga negativa (Tabela 10), o que pode ser o motivo da alta correlação com γ .

Tabela 10: Matriz de correlação entre as variáveis

	α_0	α_{2479}	α_{1060}
α_0	1		
α_{2479}	0,974618	1	
α_{1060}	0,975677	0,995231	1
Δ_{H-L}	-0,601553	-0,624337	-0,604583
Energia	-0,594842	-0,556690	-0,565509
PI	-0,452227	-0,419398	-0,421276
Calor de Formação	0,222512	0,280457	0,252804
V	0,807239	0,804856	0,801345
Área	0,824674	0,821511	0,818290
Diedro	-0,280142	-0,291756	-0,293987
LogP	-0,297132	-0,229689	-0,224139
μ	0,405099	0,442848	0,471402
AE	0,519679	0,533218	0,516124
$qC_{(1)}$	0,187937	0,144519	0,121893
$qC_{(2)}$	-0,574698	-0,635501	-0,600751
$qC_{(3)}$	0,391556	0,471820	0,436788
$qC_{(4)}$	0,172294	0,172067	0,187767
$qC_{(5)}$	0,541873	0,558694	0,517975
$qC_{(6)}$	-0,041520	-0,043715	0,031915
$qC_{(10)}$	-0,069304	-0,118882	-0,098958
$qC_{(11)}$	0,403864	0,449795	0,419893
$qC_{(12)}$	-0,387183	-0,444412	-0,421344
$qC_{(13)}$	-0,269830	-0,249269	-0,246442
$qC_{(14)}$	-0,212170	-0,249347	-0,219331
$qC_{(15)}$	0,010460	0,077602	0,046125

Como mostra a Tabela 10, a polarizabilidade também possui alta correlação positiva com a área. Além disso, a polarizabilidade exibe alta correlação positiva com o volume, a afinidade eletrônica e a carga do átomo de carbono $C_{(5)}$, e alta correlação negativa com o *gap* HOMO-LUMO, a energia total e a carga do átomo de carbono $C_{(2)}$. Apesar de todas essas correlações das propriedades ópticas com as propriedades estruturais e eletrônicas para esta classe de moléculas, não é possível dizer se os sistemas modelados (Tabelas 5 e 6) possuem atividade biológica superior, igual ou inferior às moléculas de referência. Para tanto, seria necessário haver uma alta correlação entre os coeficientes ópticos não lineares e a atividade biológica de referência, o IC_{50} , neste caso. Para ilustrar a impossibilidade de desenvolver um modelo confiável para prever os valores do IC_{50} dos sistemas modelados, a Figura 15 apresenta o resultado do modelo elaborado com base na correlação entre o LogP e o IC_{50} .

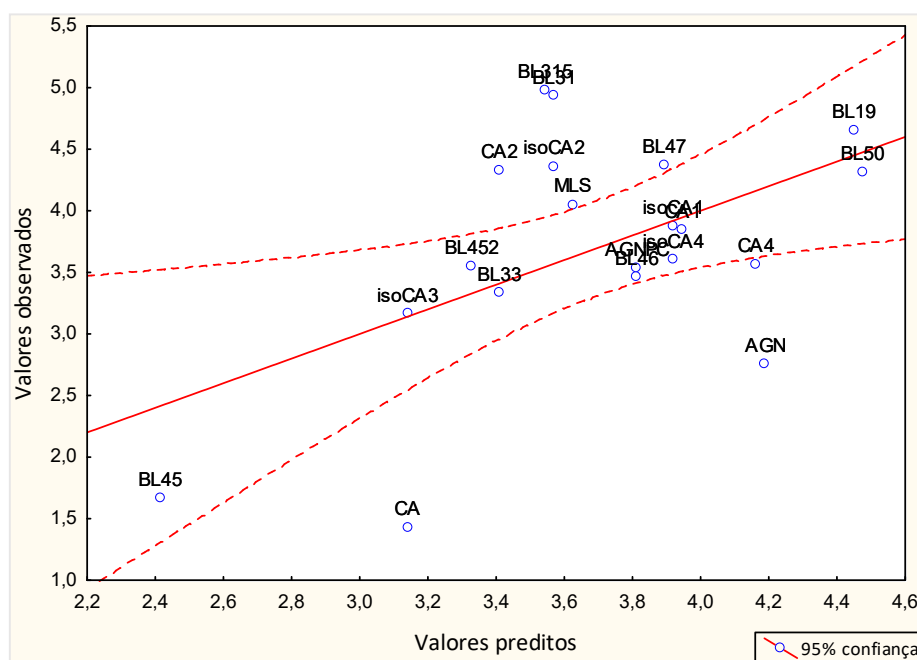


Figura 15: Valores observados versus valores preditos do IC_{50} . Modelo de previsão elaborado com base na correlação entre o LogP e o IC_{50} .

A maior parte dos valores preditos se distancia da reta que reproduz os valores com 95% de confiança. Deste modo, os resultados demonstram a inexistência de uma relação entre propriedades ópticas não lineares e propriedades biológicas (IC_{50}) para esta classe de sistema. Como uma perspectiva, outras atividades biológicas podem ser estudadas na tentativa de verificar se há uma relação com β e γ . Derivados da Combretastatina também apresentam citotoxicidade contra diversos tipos de células cancerígenas: MCF-7 (de câncer de mama) [30], DU145 (de câncer de próstata) [30], A549 (de câncer de pulmão) [31], OVCAR3 (de câncer de ovário) [31] etc. Assim, para uma análise mais completa, será útil investigar se há ou não uma relação de β e γ com outras atividades biológicas.

4 Conclusões

Em relação à Combretastatina, os resultados demonstram que não é possível aumentar significativamente as magnitudes das hiperpolarizabilidades β e γ sem a introdução de artifícios que resultam em mudanças na sua estrutura. Deste modo, a Combretastatina não é adequada para o uso em aplicações de óptica não linear, mas seus derivados teóricos são potenciais candidatos. A presença de grupos doador/receptor de elétrons nas extremidades opostas dos sistemas e o aumento da ponte contendo elétrons σ - π alternados, constitui uma eficiente estratégia de incremento nos valores de β e γ .

Em comparação com os métodos B3LYP/6-311++G(d,p) e HF/6-311++G(d,p), o Hamiltoniano semiempírico RM1 é o que melhor reproduz os dados experimentais estruturais da Combretastatina-A1 (ângulo diedro, comprimento e ângulo de ligação). Por esta razão, estudos futuros dispensam o uso de técnicas mais robustas e sofisticadas para sistemas semelhantes.

O estudo quimiométrico permitiu concluir que não há uma relação entre a atividade biológica considerada (IC_{50}) e as propriedades ópticas não lineares estudadas. Em função disso, não foi possível desenvolver um modelo de previsão confiável para estimar a atividade biológica dos sistemas modelados teoricamente, isto é, aqueles contendo grupos doador e/ou receptor de elétrons e o grupo de sistemas com pontes maiores. Dentre todos os parâmetros investigados (estruturais e eletrônicos), o único que possui uma correlação razoável com o IC_{50} é o logaritmo do coeficiente de partição (LogP), cujo valor é -0,519292. A correlação negativa significa uma relação inversa, quanto maior o LogP , menor o IC_{50} . Isso é coerente, pois quanto maior o LogP , maior é a afinidade da molécula com meios hidrofóbicos, característicos de sistemas biológicos. Em paralelo, quanto menor o IC_{50} , mais eficiente é a atividade biológica da molécula, ou seja, quanto menor o seu valor, menor a quantidade de substância necessária para inibir

a polimerização da tubulina. Como perspectiva, outras atividades biológicas que não o IC₅₀ podem ser avaliadas na busca de uma possível relação com β e γ , como por exemplo, a citotoxicidade de derivados da Combretastatina contra diversos tipos de células cancerígenas.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pelo suporte financeiro e aos CENAPAD's (Centro Nacional de Processamento de Alto Desempenho) de São Paulo e de Pernambuco pelo acesso aos recursos de computação avançada.

Referências

- [1] G. R. Pettit, G. M. Cragg, D. L. Herald, J. M. Schmidt, e P. Lohavanijaya, "Isolation and structure of combretastatin," *Canadian Journal of Chemistry*, vol. 60, no. 11, pp. 1374–1376, 1982. Disponível em: <https://doi.org/10.1139/v82-202>
- [2] G. R. Pettit, S. B. Singh, M. L. Niven, E. Hamel, e J. M. Schmidt, "Isolation, Structure, and Synthesis of Combretastatins A-1 and B-1, Potent New Inhibitors of Microtubule Assembly, Derived from *Combretum caffrum*," *Journal of Natural Products*, vol. 50, no. 1, pp. 119–131, 1987. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/np50049a016>
- [3] C. Mousset, A. Giraud, O. Provot, A. Hamze, J. Bignon, J.-M. Liu, S. Thoret, J. Dubois, J.-D. Brion, e M. Alami, "Synthesis and antitumor activity of benzils related to combretastatin A-4," *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, vol. 18, no. 11, pp. 3266–3271, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2008.04.053>
- [4] F. M. Uckun, C. R. Cogle, T. L. Lin, S. Qazi, V. N. Trieu, G. Schiller, e J. M. Watts, "A Phase 1B Clinical Study of Combretastatin A1 Diphosphate (OXi4503) and Cytarabine (ARA-C) in Combination (OXA) for Patients with Relapsed or Refractory Acute Myeloid Leukemia," *Cancers*, vol. 12, no. 74, pp. 1–19, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/cancers12010074>
- [5] D. Sajan, J. P. Abraham, I. H. Joe, V. S. Jayakumar, J. Aubard, e O. F. Nielsen, "Molecular structure, vibrational spectra and first-order molecular hyperpolarizabilities of potential anti-cancer drug, combretastatin-A1," *Journal of Molecular Structure*, vol. 889, no. 1, pp. 129–143, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2008.01.045>
- [6] M. G. Vivas, D. L. Silva, R. D. F. Rodriguez, S. Canuto, J. Malinge, E. Ishow, C. R. Mendonca, e L. D. Boni, "Interpreting the First-Order Electronic Hyperpolarizability for a Series of Octupolar Push–Pull Triarylamine Molecules Containing Trifluoromethyl," *The Journal of Physical Chemistry C*, vol. 119, no. 22, pp. 12589–12597, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.5b02386>
- [7] A. E. A. Machado e A. A. S. Gama, "Enhanced optical nonlinearities in push-pull organic systems with polyenic-mesoionic ring mixed bridges," *Journal of the Brazilian Chemical Society*, vol. 19, no. 22, pp. 1381–1387, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-50532008000700022>
- [8] M. Bass, "Handbook of Optics: Volume IV - Optical properties of materials, nonlinear optics, quantum optics". 3^o Ed., New York: McGraw-Hill Professional, 2010. Disponível em: <https://www.accessengineeringlibrary.com/content/book/9780071498920>
- [9] W. Thiel e A. Voityuk., "Extension of MNDO to d Orbitals: Parameters and Results for the Second-Row Elements and for the Zinc Group," *The Journal of Physical Chemistry*, vol. 100, no. 2, pp. 616–629, 1996. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jp952148o>; M. J. S. Dewar, E. G. Zoebisch, E. F. Healy, e J. J. P. Stewart, "Development and use of quantum mechanical molecular models. 76. AM1: a new general purpose quantum mechanical molecular model," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 107, no. 13, pp. 3902–3909, 1985. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ja00299a024>; G. B. Rocha, R. O. Freire, A. M. Simas, e J. J. P. Stewart, "RM1: A

- reparameterization of AM1 for H, C, N, O, P, S, F, Cl, Br, and I,” *Journal of Computational Chemistry*, vol. 27, no. 10, pp. 1101–1111, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jcc.20425>
- [10] J. J. P. Stewart, “Optimization of parameters for semiempirical methods I. Method,” *Journal of Computational Chemistry*, vol. 10, no. 2, pp. 209–220, 1989. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jcc.540100208>
- [11] A. D. Becke, “Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior,” *Physical Review A*, vol. 38, no. 6, pp. 3098–3100, 1988. Disponível em: <https://doi.org/10.1103/PhysRevA.38.3098>; C. Lee, W. Yang, e R. G. Parr, “Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density,” *Physical Review B*, vol. 37, no. 2, pp. 785–789, 1988. Disponível em: <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.37.785>
- [12] A. D. McLean e G. S. Chandler, “Contracted Gaussian basis sets for molecular calculations. I. Second row atoms, $Z=11-18$,” *The Journal of Chemical Physics*, vol. 72, no. 10, pp. 5639–5648, 1980. Disponível em: <https://doi.org/10.1063/1.438980>; R. Krishnan, J. S. Binkley, R. Seeger, e J. A. Pople, “Self-consistent molecular orbital methods. XX. A basis set for correlated wave functions,” *The Journal of Chemical Physics*, vol. 72, no. 1, pp. 650–654, 1980. Disponível em: <https://doi.org/10.1063/1.438955>
- [13] C. C. J. Roothaan, “New Developments in Molecular Orbital Theory,” *Reviews of Modern Physics*, vol. 23, no. 2, pp. 69–89, 1951. Disponível em: <https://doi.org/10.1103/RevModPhys.23.69>
- [14] Gaussian 09, Revision D.01, M. J. Frisch *et al.*, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2013.
- [15] MOPAC2012, J. J. P. Stewart, Stewart Computational Chemistry, Colorado Springs, CO, USA, [HTTP://OpenMOPAC.net](http://OpenMOPAC.net) (2012). Disponível em: <http://openmopac.net/>
- [16] J. J. P. Stewart, “Optimization of parameters for semiempirical methods VI: more modifications to the NDDO approximations and re-optimization of parameters,” *Journal of Molecular Modeling*, vol. 19, pp. 1–32, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00894-012-1667-x>
- [17] J. J. P. Stewart, “Comparison of the accuracy of semiempirical and some DFT methods for predicting heats of formation,” *Journal of Molecular Modeling*, vol. 10, pp. 6–12, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00894-003-0157-6>
- [18] M. B. S. Costa e A. E. A. Machado, “Propriedades ópticas não lineares de clusters do BC_5 ,” *Química Nova*, vol. 39, no. 7, pp. 807–816, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20160094>
- [19] S. H. Vosko, L. Wilk, e M. Nusair, “Accurate spin-dependent electron liquid correlation energies for local spin density calculations: a critical analysis,” *Canadian Journal of Physics*, vol. 58, no. 8, pp. 1200–1211, 1980. Disponível em: <https://doi.org/10.1139/p80-159>
- [20] K. Raghavachari, J. S. Binkley, R. Seeger, e J. A. Pople, “Contracted Gaussian basis sets for molecular calculations. I. Second row atoms, $Z=11-18$,” *The Journal of Chemical Physics*, vol. 72, no. 10, pp. 650–654, 1980. Disponível em: <https://doi.org/10.1063/1.438980>
- [21] I. Levine, “Quantum Chemistry”, 6th ed.; Prentice Hall: New Jersey, 2008.
- [22] P. Echenique e J. L. Alonso, “A mathematical and computational review of Hartree–Fock SCF methods in quantum chemistry,” *Molecular Physics*, vol. 105, no. 23–24, pp. 3057–3098, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00268970701757875>
- [23] C. E. Dykstra e P. G. Jasien, “Derivative Hartree-Fock theory to all orders,” *Chemical Physics Letters*, vol. 109, no. 4, pp. 388–393, 1984. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/0009-2614\(84\)85607-9](http://dx.doi.org/10.1016/0009-2614(84)85607-9)

- [24] M. Dupuis, S. Karna, "Frequency dependent nonlinear optical properties of molecules: Formulation and implementation in the HONDO program," *Journal of Computational Chemistry*, vol. 12, no. 4, pp. 487–504, 1991. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jcc.540120409>
- [25] M. M. C. Ferreira, A. M. Antunes, M. S. Melgo, e P. L. O. Volpe, "Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial," *Química Nova*, vol. 22, no. 5, pp. 724–731, 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40421999000500016>
- [26] J. L. Brédas, C. Adant, P. Tackx, A. Persoons, e B. M. Pierce, "Third-Order Nonlinear Optical Response in Organic Materials: Theoretical and Experimental Aspects," *Chemical Reviews*, vol. 94, no. 1, pp. 243–278, 1994. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/cr00025a008>
- [27] ACD/ChemSketch, Freeware Version 14.01, Advanced Chemistry Development, Inc., Toronto, ON, Canada, www.acdlabs.com, 2013.
- [28] R. Romagnoli, P. G. Baraldi, A. Brancale, A. Ricci, E. Hamel, R. Bortolozzi, G. Basso, e G. Viola, "Convergent Synthesis and Biological Evaluation of 2-Amino-4-(3',4',5'-trimethoxyphenyl)-5-aryl Thiazoles as Microtubule Targeting Agents," *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 54, no. 14, pp. 5144–5153, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jm200392p>; S. Messaoudi, B. Tréguier, A. Hamze, O. Provot, J.-F. Peyrat, J. R. De Losada, J.-M. Liu, J. Bignon, J. Wdzieczak-Bakala, S. Thoret, J. Dubois, J.-D. Brion, e M. Alami, "Isocombretastatins A versus Combretastatins A: The Forgotten isoCA-4 Isomer as a Highly Promising Cytotoxic and Antitubulin Agent," *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 52, no. 14, pp. 4538–4542, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jm900321u>; S. Ducki, G. Mackenzie, N. J. Lawrence, e J. P. Snyder, "Quantitative Structure–Activity Relationship (5D-QSAR) Study of Combretastatin-like Analogues as Inhibitors of Tubulin Assembly," *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 48, no. 14, pp. 457–465, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jm049444m>; M. Cushman, D. Nagarathnam, D. Gopal, A. K. Chakraborti, C. M. Lin, e E. Hamel, "Synthesis and evaluation of stilbene and dihydrostilbene derivatives as potential anticancer agents that inhibit tubulin polymerization," *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 34, no. 8, pp. 2579–2588, 1991. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jm00112a036>; K. Ohsumi, R. Nakagawa, Y. Fukuda, T. Hatanaka, Y. Morinaga, Y. Nihei, K. Ohishi, Y. Suga, Y. Akiyama, e T. Tsuji, "Novel Combretastatin Analogues Effective against Murine Solid Tumors: Design and Structure–Activity Relationships," *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 41, no. 16, pp. 3022–3032, 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jm980101w>; L. Wang, K. W. Woods, Q. Li, K. J. Barr, R. W. McCroskey, S. M. Hannick, L. Gherke, R. B. Credo, Y.-H. Hui, K. Marsh, R. Warner, J. Y. Lee, N. Zielinski-Mozng, D. Frost, S. H. Rosenberg, e H. L. Sham, "Potent, Orally Active Heterocycle-Based Combretastatin A-4 Analogues: Synthesis, Structure–Activity Relationship, Pharmacokinetics, and In Vivo Antitumor Activity Evaluation," *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 45, no. 16, pp. 1697–711, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jm010523x>; D. Alloatti, G. Giannini, W. Cabri, I. Lustrati, M. Marzi, A. Ciacci, G. Gallo, M. O. Tinti, M. Marcellini, T. Riccioni, M. B. Guglielmi, P. Carminati, e C. Pisano, "Synthesis and Biological Activity of Fluorinated Combretastatin Analogues," *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 51, no. 9, pp. 2708–21, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jm701362m>; D. Simoni, R. Romagnoli, R. Baruchello, R. Rondanin, G. Grisolia, M. Eleopra, M. Rizzi, M. Tolomeo, G. Giannini, D. Alloatti, M. Castorina, M. Marcellini, e C. Pisano, "Novel A-Ring and B-Ring Modified Combretastatin A-4 (CA-4) Analogues Endowed with Interesting Cytotoxic Activity," *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 51, no. 19, pp. 6211–6215, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jm8005004>; C. Mateo, R. Álvarez, C. Pérez-Melero, R. Peláez, e M. Medarde, "Conformationally restricted macrocyclic analogues of combretastatins," *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, no. 22, vol. 17, pp. 6316–6320, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2007.08.075>; G. R. Pettit, S. B. Singh, M. L. Niven, E. Hamel, e J. M. Schmidt, "Isolation, Structure, and Synthesis of Combretastatins A-1 and B-1, Potent New Inhibitors of Microtubule Assembly, Derived from Combretum caffrum," *Journal of Natural Products*, vol. 50, no. 1, pp. 119–31, 1987. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/np50049a016>; G. R. Pettit, C. R. Anderson, D. L. Herald, M. K. Jung, D. J. Lee, E. Hamel, e R. K. Pettit, "Antineoplastic Agents. 487. Synthesis and Biological Evaluation of the Antineoplastic Agent 3,4-Methylenedioxy-5,4'-dimethoxy-3'-amino-Z-stilbene and Derived Amino Acid Amides," *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 46, no. 4, pp. 525–31, 2003. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1021/jm020204l>; K. Odlo, J. Fournier-Dit-Chabert, S. Ducki, O. A. B. S. M. Gani, I. Sylte, e T. V. Hansen, "1,2,3-Triazole analogs of combretastatin A-4 as potential microtubule-binding agents," *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, vol. 18, no. 18, pp. 6874–85, 2010. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2010.07.032>; G. R. Pettit, B. Toki, D. L. Herald, P. Verdier-Pinard, M. R. Boyd, E. Hamel, e R. K. Pettit, "Antineoplastic Agents. 379. Synthesis of Phenstatin Phosphate," *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 41, no. 10, pp. 1688–95, 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jm970644q>.

- [29] A. G. M. Fraga, "Combretastatinas e seus Análogos: a Natureza como Fonte Alternativa para a Terapia do Câncer," *Revista Virtual Química*, vol. 7, no. 2, pp. 765–790, 2015. Disponível em <http://dx.doi.org/10.5935/1984-6835.20150036>
- [30] A. Kamal, A. Mallareddy, M. J. Ramaiah, S. N. C. V. L. Pushpavalli, P. Suresh, C. Kishor, J. N. S. R. C. Murty, N. S. Rao, S. Ghosh, A. Addlagatta, e M. Pal-Bhadra, "Synthesis and biological evaluation of combretastatin-amidobenzothiazole conjugates as potential anticancer agents," *European Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 56, pp. 166–178, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2012.08.021>
- [31] A. Ghinet, B. Rigo, J.-P. Hélichart, D. Le Broc-Ryckewaert, J. Pommery, N. Pommery, X. Thuru, B. Quesnel, e P. Gautret, "Synthesis and biological evaluation of phenstatin metabolites," *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, vol. 19, no. 20, pp. 6042–6054, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2011.08.047>