

Universidade Federal de Ouro Preto
Curso de Farmácia

Iara Gama Pedroso Batista

**Derivados de ácido cinâmico e reparo tecidual: uma análise *in vitro* e *in silico* de sua
aplicação**

Ouro Preto-MG
2024

Iara Gama Pedroso Batista

Derivados de ácido cinâmico e reparo tecidual: uma análise *in vitro* e *in silico* de sua aplicação

TCC apresentado à Universidade Federal de Ouro Preto-UFOP como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em farmácia

Orientador: Prof. Dr. Laser Antônio Machado Oliveira

Coorientadora: Profa. Dra. Katiane de Oliveira Pinto Coelho Nogueira

Ouro Preto-MG

2024

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

B333d Batista, Iara Gama Pedrosa.

Derivados de ácido cinâmico e reparo tecidual [manuscrito]: uma análise in vitro e in silico de sua aplicação. / Iara Gama Pedrosa Batista. - 2024.

30 f.: il.: , gráf.. + Quadro.

Orientador: Prof. Dr. Laser Antônio Machado Oliveira.

Coorientadora: Profa. Dra. Katiane de Oliveira Pinto Coelho Nogueira.

Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Farmácia. Graduação em Farmácia .

1. Farmacocinética. 2. Antioxidantes. 3. Técnicas In Vitro. 4. Simulação por Computador. I. Oliveira, Laser Antônio Machado. II. Nogueira, Katiane de Oliveira Pinto Coelho. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU 615.014

Bibliotecário(a) Responsável: Soraya Fernanda Ferreira e Souza - SIAPE: 1.763.787



FOLHA DE APROVAÇÃO

Iara Gama Pedrosa Batista

Derivados de ácido cinâmico e reparo tecidual: uma análise *in vitro* e *in silico* de sua aplicação

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Farmácia

Aprovada em 14 de Outubro de 2024

Membros da banca

Dr. Laser Antônio Machado Oliveira - Orientador (Universidade Federal de Ouro Preto)
Dr. Wander de Jesus Jeremias - (Universidade Federal de Ouro Preto)
Ms. Ramony Gonzaga Vieira - (Universidade Federal de Ouro Preto)

Dr. Laser Antônio Machado Oliveira, orientador do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 16/10/2024



Documento assinado eletronicamente por **Laser Antonio Machado Oliveira, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 16/10/2024, às 19:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0796175** e o código CRC **5CB749A8**.

RESUMO

Uma lesão tecidual pode ser caracterizada como qualquer injúria a integridade de um tecido, no qual se faz necessária a ativação de diversas vias intracelulares e intercelulares, agindo de maneira coordenada para que ocorra o restabelecimento da homeostase local. Diversos fatores podem impactar negativamente o processo de reparo tecidual. Em indivíduos saudáveis o reparo tecidual é composto por três fases: inflamatória, proliferativa e remodelação. As espécies reativas de oxigênio (EROs) são compostos químicos altamente reativos produzidos como produtos colaterais durante diversas reações metabólicas, principalmente na respiração celular, em baixos níveis elas são fundamentais para a manutenção de funções fisiológicas, contudo sua produção excessiva leva a um quadro de estresse oxidativo, que é prejudicial para as células e afeta o processo de cicatrização, dentre outros. Existem mecanismos de controle para os níveis de EROs: os antioxidantes, que podem ser endógenos ou exógenos. O ácido cinâmico e seus derivados são compostos bioativos com propriedades antioxidantes com potencial uso terapêutico com ênfase no reparo tecidual. Assim, no presente trabalho foi feita uma análise *in vitro* e *in silico* de derivados de ácido cinâmico no reparo tecidual. Para isso, fibroblastos de camundongos foram mantidos em cultura e expostos a concentrações diferentes de peróxido de hidrogênio e derivados de ácido cinâmico. A função dos compostos foi avaliada inicialmente pelo ensaio de MTT e posteriormente foi feita uma análise *in silico* das propriedades farmacodinâmicas dos compostos. Os resultados da avaliação do metabolismo demonstraram redução da atividade metabólica quando utilizado o peróxido de hidrogênio, seguida de uma recuperação da atividade metabólica celular quando pré tratadas com os compostos SS08 e SS09. Após a análise das características farmacocinéticas destes compostos, concluímos que o SS08 apresentou-se mais favorável para futuras aplicações em medicamentos com ação antioxidante no reparo tecidual.

ABSTRACT

Tissue injury can be characterized as any damage to the integrity of a tissue, which requires the activation of various intracellular and intercellular pathways, acting in a coordinated manner to restore local homeostasis. Several factors can negatively impact the tissue repair process. In healthy individuals, tissue repair consists of three phases: inflammatory, proliferative, and remodeling. Reactive oxygen species (ROS) are highly reactive chemical compounds produced as byproducts during various metabolic reactions, mainly in cellular respiration. At low levels, they are fundamental for maintaining physiological functions. However, their excessive production leads to oxidative stress, which damages cells and affects healing. There are control mechanisms for ROS levels, and antioxidants, which can be endogenous or exogenous. Cinnamic acid and its derivatives are bioactive compounds with antioxidant properties and potential therapeutic use, especially in tissue repair. Thus, the present study performed an *in vitro* and *in silico* analysis of cinnamic acid derivatives in tissue repair. For this, mouse fibroblast cells were cultured and exposed to different hydrogen peroxide and cinnamic acid derivatives concentrations. The MTT assay evaluated the function of the compounds, and an *in silico* analysis of the pharmacokinetic properties of the compounds was subsequently performed. The results of the metabolism evaluation demonstrated a reduction in metabolic activity when hydrogen peroxide was used, followed by a recovery of cellular metabolic activity when pretreated with compounds SS08 and SS09. After SS08 pharmacokinetic characteristics analyses, we concluded that SS08 was more favorable for future applications in medicines with antioxidant action in tissue repair.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura molecular do ácido cinâmico	6
Figura 2 - Fórmula estrutural e notação <i>smile</i> do composto SS08	18
Figura 3 - Fórmula estrutural e notação <i>smile</i> do composto SS09.....	18

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Análise farmacocinética <i>in silico</i> dos compostos SS08 e SS09.....	19
---	----

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1- Determinação da concentração de H_2O_2 . Todas as concentrações testadas reduziram significativamente o metabolismo celular quando comparado ao controle (DMEM). * $p < 0,05$12

Gráfico 2: Teste de metabolismo celular após aplicação dos compostos SS02, SS03, SS05, SS06, SS07, SS08, SS09, SS10, SS13 a uma concentração de $50\mu M$. Após 24 horas de incubação. * $p < 0,05$13

Gráfico 3: Teste de metabolismo celular após aplicação dos compostos SS02, SS03, SS04, SS05, SS06, SS07, SS08, SS09, SS10, SS13 a uma concentração de $100\mu M$. Após 24 horas de incubação. * $p < 0,05$14

Gráfico 4: Teste de metabolismo celular após aplicação dos compostos SS02, SS03, SS04, SS05, SS06, SS07, SS08, SS09, SS10, SS13 a uma concentração de $150\mu M$. Após 24 horas de incubação.* $p < 0,05$15

Gráfico 5: Teste de Metabolismo Celular após Pré-tratamento com compostos e Peróxido $50\mu M$. * $p < 0,05$17

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADME: Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção

AMES: Teste de Ames

Bcl-2: Proteínas antiapoptóticas

CDKs: Quinases dependentes de ciclina

Cs: Coeficiente de solubilidade

CYP450- citocromo P450

DMEM: Dulbecco's Modified Eagle's Medium

DMSO: Dimetilsulfóxido

DNA: Ácido desoxirribonucleico

EDTA: ácido etilenodiaminotetracético

EROs: Espécies Reativas de Oxigênio

GHS- Globally Harmonized System Of Classification And Labelling Of Chemicals

IkB: Proteína inibidor de kappa B

LC50- Concentração Letal 50

LD50- dose letal 50

LOAEL- Lowest Observed Adverse Effect Level (Nível Mais Baixo de Efeito Adverso Observado)

MTT: 3-[4,5-dimetiltiazol-2-]-2,5-difeniltetrazólio

NF-kB: Fator nuclear kappa B

OCT2- Organic Cation Transporter 2

PBS: salina tamponada com fosfato

PDGF: Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas

RNA: Ácido ribonucleico

SFB: soro fetal bovino

SMILES: Simplified Molecular Input LineEntrySpecification

SOD: Superóxido dismutase

VD: Volume de distribuição

VEGF: Fatores de crescimento endotelial vascular

LISTA DE SÍMBOLOS

H_2O_2 - : Peróxido de hidrogênio

kg: Quilograma

mg: Miligrama

mM: Milimolar

nm: nanômetro

O_2 : Oxigênio molecular

$\text{O}_2^{\bullet-}$: Ânions radicais superóxidos

μM : Micromolar

$\bullet\text{OH}$ - : Radical hidroxila

SUMÁRIO

RESUMO.....	10
ABSTRACT.....	11
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVO.....	7
2.1. Objetivo geral:.....	7
2.2. Objetivos específicos:.....	7
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	8
3.1. Cultura de células.....	8
3.2. Indução do estresse oxidativo e análise de metabolismo celular.....	8
3.3. Determinação do composto derivado ácido cinâmico com perfil favorável, suas concentrações ideais e análise do metabolismo celular.....	9
3.4. Análise da ação antioxidante dos compostos derivados do ácido cinâmico (SS08, SS09 e SS13) sobre o metabolismo celular.....	9
3.5. Predição de propriedades farmacocinética dos compostos SS08 e SS09.....	10
3.6. Análise estatística.....	10
4. RESULTADO E DISCUSSÃO.....	11
4.1. Efeito sobre o metabolismo celular.....	11
4.2. Ação antioxidante dos compostos SS08, SS09 e SS13.....	15
4.3. Análise farmacocinética.....	19
5. CONCLUSÃO.....	29
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30

1. INTRODUÇÃO

Uma lesão tecidual pode ser caracterizada como qualquer injúria à integridade de um tecido (LAUREANO & RODRIGUES, 2011) no qual se faz necessária a ativação de diversas vias intracelulares e intercelulares, agindo de maneira coordenada para que ocorra o restabelecimento da homeostase e do tecido (FU *et al.*, 2019; GHILARDI *et al.*, 2020). Esse restabelecimento pode ser dado por um processo de regeneração, quando o dano ocorre em células lábeis, ou seja, que apresentam um ciclo de vida curto, como por exemplo no epitélio e neste caso há o total restabelecimento do tecido (SANTOS *et al.*, 2014). Já quando o tecido lesado é composto por células que possuem um ciclo celular estável, há a formação de uma cicatriz, processo pelo qual o tecido afetado é substituído por tecido conjuntivo vascularizado (PRISTO, 2013). Distúrbios metabólicos, vasculares e sistêmicos podem afetar negativamente o processo de reparo tecidual. A resistência à insulina, comum em condições como obesidade e diabetes, prejudica os mecanismos de reparo vascular, aumentando o risco de aterosclerose (CUBBON *et al.*, 2013).

Feridas crônicas são caracterizadas por lesões que não cicatrizam após três meses de cuidados, afetando significativamente a qualidade de vida dos pacientes (SANTOS *et al.*, 2023; SILVA *et al.*, 2023). Essas feridas são um desafio terapêutico, com altos índices de morbidade e impacto negativo na qualidade de vida dos pacientes, além do impacto econômico e o desafio ao sistema público de saúde (SOUSA *et al.*, 2023). As feridas crônicas impactam significativamente a qualidade de vida dos pacientes, afetando o bem-estar físico, social e emocional (SILVA *et al.*, 2017). Os pacientes com feridas crônicas apresentam frequentemente baixos níveis socioeconômicos e de escolaridade, o que complica ainda mais o seu cuidado e recuperação (SILVA *et al.*, 2017). Esses fatores ressaltam a necessidade de abordagens abrangentes e econômicas para o tratamento de feridas crônicas no Brasil.

Além do que foi dito anteriormente, fatores como oxigenação e perfusão tecidual (MALIK *et al.*, 2022), estado nutricional do indivíduo (GUO & DIPIETRO, 2010), idade, dor, fatores de crescimento (ALMEIDA *et al.*, 2024; SZWED & SANTOS, 2016), e presença de comorbidades como diabetes e problemas circulatórios podem afetar negativamente o processo de reparo tecidual (FONSECA *et al.*, 2012).

Na ausência desses fatores supracitados, o reparo tecidual pode ser dividido em três fases principais: inflamatória, proliferativa e de remodelação, sobrepostas porém distintas

(MEDEIROS & DANTAS-FILHO, 2017). A primeira, logo após o dano tecidual, se caracteriza por um quadro inflamatório, com interação entre células, mediadores químicos e componentes da matriz extracelular (SORG, 2022). Durante esta fase, ocorre a hemostasia e liberação de substâncias vasoconstritoras como tromboxana A2 e prostaglandinas. Além disso, há ativação do endotélio lesado que junto com as plaquetas locais vão ativar a cascata de coagulação, formando um tampão primário e limitando a entrada de agentes infecciosos (ZUCOLOTTO *et al.*, 2023).

Após a formação do coágulo, composto inicialmente por plaquetas e posteriormente também por fibrinas, ocorre uma liberação acentuada de fatores de crescimento e citocinas que vão ocasionar em uma vasodilatação, aumentando a permeabilidade tecidual e quimiotaxia, ou seja, atraindo neutrófilos para a região da lesão (VALENCIA BASTO, 2010). Essas células vão gerar radicais livres com objetivo de eliminar agentes bacterianos, posteriormente elas serão substituídas por macrófagos, que vão terminar o processo de desbridamento e contribuir na secreção de citocinas, angiogênese, fibroplasia e síntese de matriz extracelular, processos tais que são indispensáveis na transição para a segunda fase, ou fase proliferativa.

A segunda fase da cicatrização é marcada pela formação de um novo tecido no local da lesão através de processos de proliferação e migração celular. Nesta fase também ocorre a deposição de fibronectina sobre o arcabouço de fibrina, formando o fibronexo, a secreção de colágeno tipo III e a síntese de outros elementos da matriz extracelular (ISAAC *et al.*, 2010). Os fibroblastos desempenham um papel crucial nessas mudanças estruturais e sua ativação é feita principalmente pelo Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas (PDGF), que induz a proliferação, quimiotaxia e a síntese matricial. Nessa etapa, alguns fibroblastos se diferenciam em miofibroblastos, que vão interagir e formar matriz extracelular, principalmente na forma de colágeno, que é o maior componente de uma cicatriz madura. E por fim, a terceira fase do processo de reparo tecidual, que é a de remodelamento e ou maturação, possuindo como característica principal deposição de colágeno, inicialmente, mais fino do que aquele presente na pele normal mas que posteriormente será reabsorvido e substituído por um colágeno mais espesso com maior força tênsil (ISAAC *et al.*, 2010). Estudos já demonstraram que a cicatriz formada busca alcançar o mesmo nível de colágeno organizado que uma pele sã, podendo recuperar até 80% de sua força tênsil após três meses (BROUGHTON II, JANIS; ATTINGER, 2006). Além disso, ela também envolve a diminuição de todos os processos celulares ativados durante o processo de reparo, sendo que a maioria das células endoteliais, macrófagos e miofibroblastos sofrem apoptose, restando

principalmente colágeno no local. O reparo tecidual, portanto, trata-se de um processo dinâmico regulado por mediadores e células variadas (SORG; SORG, 2022), e caso ocorra alteração em algum desses mediadores, todo o processo pode ser comprometido, dificultando a cicatrização ou até mesmo impedindo que ela ocorra. Um importante regulador do reparo tecidual e objeto de estudo deste projeto são as espécies reativas de oxigênio (EROs), (PEREIRA & PEREIRA, 2012).

As EROs são compostos químicos altamente reativos produzidos como produtos colaterais durante diversas reações metabólicas, dentre elas o metabolismo de lipídeos, purinas, síntese de prostaglandinas e respiração celular, sendo esta última a principal fonte de espécies reativas de oxigênio no organismo humano. As espécies reativas de oxigênio desempenham papéis importantes em diversos processos de sinalização celular, eliminação de patógenos e estímulo a angiogênese, contudo o excesso delas pode causar danos oxidativos às células e tecidos (BARBOSA *et al.*, 2010). Diante disso, o organismo humano é dotado de mecanismos capazes de controlar os níveis dessas espécies, para que elas possam exercer a sua função sem gerar danos às células e tecidos.

A produção de EROs ocorre frequentemente na reação de transferência de elétrons na respiração celular (HALLIWELL AND GUTTERIDGE 2015). Uma das consequências da produção de Adenosina trifosfato (ATP), principal fonte de energia química utilizada pelas células humanas, é a produção do radical superóxido (O_2^-) que ocorre durante a fosforilação oxidativa no interior das mitocôndrias, que são organelas encontradas na maioria das células eucariotas, composta por uma dupla membrana, sendo que na membrana interna se localiza a cadeia transportadora de elétrons (VENDITTI, 2020). Durante a respiração celular ocorre a fosforilação oxidativa no qual o oxigênio sofre um processo de redução, ou seja, adquire um elétron na sua camada de valência, transferido ao longo da cadeia respiratória. Alguns dos elétrons em transporte podem interagir com o oxigênio molecular (O_2) e com isso formar os ânions radicais superóxidos ($O_2^{\bullet-}$), que é uma das formas de EROs' moderadamente reativo, incapaz de atravessar membranas biológicas, mas que é rapidamente convertido em peróxido de hidrogênio (H_2O_2). O peróxido de hidrogênio, por sua vez, apresenta capacidade de transpor membranas, atuando como importante sinalizador intracelular, estando assim, envolvido em diferentes vias de sinalização. Tanto o peróxido de hidrogênio quanto o radical superóxido podem ainda sofrerem a reação de Haber-Weiss originando o radical hidroxila ($\bullet OH$), que por sua vez apresenta alta reatividade (JOMOVA, K., RAPTOVA, R., ALOMAR, S.Y. *et al.*, 2023). A presença de espécies reativas de oxigênio está associada a danos ao

ácido desoxirribonucleico (DNA) , proteínas e lipídios das células (CUI; KONG; ZHANG, 2012; HAYES; FLANAGAN; JOWSEY, 2005).

Como mencionado, a produção excessiva de EROs no organismo é prejudicial para as células e pode gerar danos oxidativos. Com intuito de evitar tal situação, o corpo humano possui seu próprio sistema de defesa antioxidantes (SITI; KAMISAH; KAMSIAH, 2015). Este sistema é responsável por manter o equilíbrio entre a produção e neutralização das espécies reativas de oxigênio. Quando esse equilíbrio é perdido surge a condição conhecida como desequilíbrio redox (FARRUGIA; BALZAN, 2012). Estudos já demonstraram que o desequilíbrio redox está ligado a patogênese de várias doenças neurodegenerativas, tais como a doença de Alzheimer (DA) (BOZZALIA *et al.*, 2015), doença de Parkinson, (WOOD-KACZMAR *et al.*, 2012), lesão cerebral isquêmica (DOYLE; SIMON; STENZEL-POORE, 2008) e a esclerose lateral amiotrófica (FEDERICO *et al.*, 2012). Além disso, um estudo conduzido por Sanches (2018) mostrou que a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio é a principal causa de feridas crônicas. Em outro estudo foi observado que a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio leva a um quadro de estresse oxidativo que além de danificar biomoléculas essenciais, como DNA, ácido ribonucleico (RNA) e enzimas é um fator que contribui para a formação de feridas crônicas, pois impede a cicatrização normal e prolonga o processo de cura (CHENG, H. *et al.*, 2021).

Apesar do seu excesso ser prejudicial e poder gerar danos, em baixos níveis as espécies reativas de oxigênio são fundamentais para a manutenção de várias funções fisiológicas importantes. Uma das principais funções previamente citadas é a de sinalização celular, capaz de influenciar em diferentes fases do reparo tecidual. Estudos já demonstraram que as EROs atuam como mediadores de ativação de fatores de transcrição de proteínas que regulam a expressão de genes fundamentais para cicatrização e regeneração celular, sendo um dos mais notáveis o fator nuclear kappa B (NF-kB), que regula a expressão de genes envolvidos no processo inflamatório, resposta imune e sobrevivência celular. Nesse caso, as EROs inibem a fosforilação da proteína inibidora de kappa B (I κ B) que mantém o NF-kB no citoplasma, e como consequência da não degradação da proteína I κ B o fator de transcrição não é capaz de migrar para o núcleo e alterar a expressão gênica, etapa fundamental para o processo de inflamação e crescimento celular. As EROs também podem ativar quinases dependentes de ciclina (CDKs), responsáveis pela progressão de fases do ciclo celular, inibir a apoptose por estímulo a produção de proteínas antiapoptóticas (Bcl-2), o que favorece a proliferação celular. Além disso, as EROs auxiliam na eliminação de patógenos como bactérias e vírus que possam tentar invadir o tecido lesionado através da oxidação de

componentes celulares dos invasores. Outra ação das espécies reativas de oxigênio é estimular a angiogênese, processo de formação de novos vasos sanguíneos no local da lesão, através do estímulo à produção de fatores de crescimento endotelial vascular (VEGF) favorecendo o reparo tecidual (JOMOVA, K., RAPTOVA, R., ALOMAR, S.Y. *et al.*, 2023). Sendo assim, para o sucesso do processo de reparo tecidual o controle dos níveis de espécies reativas de oxigênio é imprescindível, e para tal, os antioxidantes, enzimáticos ou não, são fundamentais para manterem o equilíbrio redox (BARBOSA *et al.*, 2023).

Os sistemas antioxidante endógenos são, portanto, o mecanismo de controle dos níveis das EROs e foram definidos em um estudo conduzido por Marchini (2014), como compostos protetores do sistema biológico contra efeitos negativos da oxidação. Com isso, os sistemas antioxidantes desempenham um papel crucial na prevenção de doenças relacionadas com o estresse oxidativo. Os principais representantes são as enzimas antioxidantes, dentre elas a superóxido dismutase (SOD), que catalisa a conversão do superóxido em um composto menos reativo em baixas concentrações (JOMOVA, K., RAPTOVA, R., ALOMAR, S.Y. *et al.*, 2023), a enzima catalase, que participa da reação de decomposição do peróxido de hidrogênio em água e a enzima glutatona peroxidase que reduz o peróxido de hidrogênio utilizando uma molécula de glutatona. Além dos sistemas antioxidantes endógenos, existem aqueles compostos que não são produzidos pelo corpo mas apresentam ação de neutralização similar e podem ser adquiridos através da dieta ou suplementação, que são os antioxidantes exógenos. Eles podem ser de origem vegetal, animal ou mineral e seus principais representantes são o ácido ascórbico, os tocoferóis e tocotrienos, compostos polifenóis, carotenóides, selênio, zinco e ácidos graxos ômega-3 (GULCIN, 2020).

Diante do exposto, o estudo de novas moléculas com potencial antioxidante vem recebendo destaque, pois mostra-se fundamental para a prevenção de doenças e promoção da saúde. E dentre os vários compostos antioxidantes estudados, o ácido cinâmico (figura 1) e seus derivados vêm demonstrando grande potencial no uso terapêutico, devido a sua ampla ação em atividades biológicas e baixa toxicidade. Além disso, estudos feitos com alguns derivados já comprovaram efeitos antioxidantes, antitumorais e antimicrobianos (CHUNG, *et al.*, 2007; BEZERRA, *et al.*, 2006; NAZ, *et al.*, 2006).

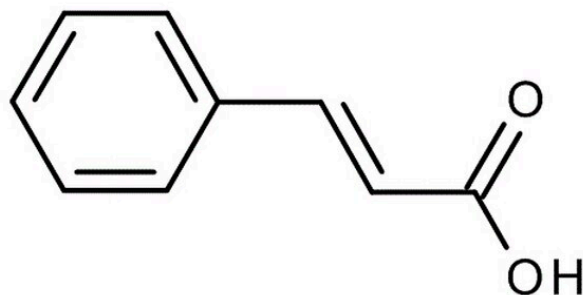


Figura 1: Estrutura molecular do ácido cinâmico

O ácido cinâmico e seus derivados são compostos bioativos de ocorrência natural em plantas. A via biossintética dos ácidos cinâmicos leva à síntese de vários compostos fitoquímicos, como cumarinas, flavonoides, estilbenos e taninos. Dentre os ácidos cinâmicos, os mais comuns e conhecidos de seus derivados são o ácido cinâmico, o ácido cafeico, o ácido ferúlico, o ácido isoferúlico e o ácido p-hidroxicinâmico. Os ácidos cinâmicos e seus derivados são abundantemente encontrados em alimentos à base de plantas, como frutas, legumes e grãos integrais (FITZMAURICE, *et. al.*, 2011). E além das suas propriedades antioxidantes já mencionadas, estudos recentes mostram que o ácido cinâmico foi capaz de regular o processo metabólico da glicose, regulando glicogênese e gliconeogênese em modelos de animais diabéticos (HUANG & SHEN, 2012). Um pré-tratamento com o ácido cinâmico também foi capaz de exercer função cardioprotetora em casos de isquemia miocárdica (SONG *et al.*, 2013). Seus efeitos neuroprotetores também foram demonstrados pela atenuação de placa beta amiloide em modelo animal com Alzheimer (CHANDRA, *et. al.*, 2019). Outro estudo mostrou ainda que a administração por via oral do ácido cinâmico causou a sobrevivência de neurônios dopaminérgicos em modelo animal com doença Parkinson (HEMMATI, ALBOGHOBEISH, AHANGARPOUR, 2018)

A partir desse contexto, com base nos altos custos necessários para o tratamento de feridas crônicas, os impactos na qualidade de vida dos pacientes que sofrem desse mal, podemos observar que e a problemática do estresse oxidativo pode, além de favorecer o surgimento de diversas doenças, afetar no processo de um reparo tecidual eficiente. Diante deste quadro, é fundamental a busca por novos compostos capazes de auxiliar nesse processo, criando novas perspectivas de tratamento, conseqüentemente melhorando a qualidade de vida da população e reduzindo custos.

2. OBJETIVO

2.1. Objetivo geral:

- Realizar análise *in vitro* e *in silico* de potenciais ações de derivados de ácido cinâmico sobre o reparo tecidual

2.2. Objetivos específicos:

- Estabelecer qual concentração de peróxido de hidrogênio afeta a viabilidade celular;
- Analisar o metabolismo de células de fibroblasto murino 3T3 em diferentes concentrações dos derivados do ácido cinâmico;
- Avaliar o metabolismo das células tratadas com o derivado do ácido cinâmico e posteriormente induzidas ao estresse oxidativo;
- Avaliar propriedades farmacocinéticas de derivados de ácido cinâmico.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Cultura de células

Foram utilizadas células de linhagem, fibroblasto murino 3T3 (Manassas, Virginia; www.atcc.org). As células foram mantidas em cultura no Laboratório de Neurobiologia e Biomateriais, localizado no ICEB2, sala 244, UFOP. As células foram cultivadas em DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium), suplementado com 10% de soro fetal bovino e antibióticos: estreptomicina (100 µg/ml) / penicilina (100 U/mL) (Invitrogen™) e incubadas em estufa a 37°C, em atmosfera de 5% CO₂. Para a realização dos experimentos, as células foram expandidas e cultivadas e ao atingir 80 a 90% de confluência, a cultura foi lavada com solução salina tamponada com fosfato (PBS) produzido com Cloreto de Sódio 137mM, Cloreto de potássio 2,7mM, Fosfato de Sódio Dibásico Anidro 10mM e Fosfato de Potássio Monobásico 2mM. Após a lavagem, as células foram desprendidas da garrafa usando Tripsina-EDTA (0,25%, 0,02%, respectivamente) e incubadas a 37°C 5% CO₂, durante 10 minutos. A neutralização foi feita com meio de cultura suplementado. As células foram lavadas uma vez (centrifugação a 210xg/ 10 min/4°C), ressuspensas em meio de cultura suplementado e então contadas, tendo sua concentração ajustada segundo a necessidade para os procedimentos experimentais.

3.2. Indução do estresse oxidativo e análise de metabolismo celular

Para atingir este objetivo, utilizamos placas de 96 poços e $1,5 \times 10^4$ células por poço. Após 24 horas de cultivo em estufa a 37°C, em atmosfera de 5% de CO₂, o meio de cultura foi substituído por outro contendo diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio (12,5, 25, 50, 100, 200 e 400µM) em meio de cultura suplementado mantidos em ambiente a 37°C 5% CO₂. Após 3 horas de incubação, o meio de cultura foi removido e substituído por outro contendo MTT (0,5mg/ml) e mantido em incubação por 14 horas. Posteriormente, a solução foi removida e os cristais solubilizados em DMSO (dimetil sulfóxido) (GASQUE, et al., 2014). A absorvância foi analisada em espectrofotômetro a 570 nm com leitor de microplacas VICTOR (multidetector VICTOR™ X3, PerkinElmer) localizado no Laboratório de Biologia e Tecnologia de Microorganismos LBTM/ICEB-UFOP.

3.3. Determinação do composto derivado ácido cinâmico com perfil favorável, suas concentrações ideais e análise do metabolismo celular

Para a realização do ensaio de MTT foram utilizadas placas de 96 poços e $1,5 \times 10^4$ células por poço. Após 24 horas de cultivo em estufa a 37°C , em atmosfera de 5% de CO_2 , o meio de cultura foi substituído por outro contendo diferentes concentrações dos derivados do ácido cinâmico (aqui denominados compostos SS) nas concentrações de 50, 100 e 150 μM em meio suplementado. As células foram incubadas por 24 horas, em seguida o meio de cultura foi substituído por outro meio contendo MTT (0,5mg/ml) por 14 horas. Posteriormente, a solução foi removida e os cristais solubilizados em DMSO (dimetil sulfóxido) (GASQUE, *et al.*, 2014). A absorbância foi analisada em espectrofotômetro a 570 nm com leitor de microplacas VICTOR (multidetector VICTOR™ X3, PerkinElmer) e os compostos que apresentarem um perfil favorável foram selecionado para as análises posteriores. Como controle, alguns poços foram mantidos em cultura pelo mesmo tempo em uma solução DMEM/DMSO (0,4%). O metabolismo dos poços controle foi considerado 100% e o metabolismo dos poços tratados foram comparados ao controle.

3.4. Análise da ação antioxidante dos compostos derivados do ácido cinâmico (SS08, SS09 e SS13) sobre o metabolismo celular

Após a determinação da melhor concentração dos compostos derivados do ácido cinâmico, foi realizada novamente a cultura de células 3T3 em placas de 96 poços e $1,5 \times 10^4$ células por poço. Após 24 horas de cultivo em estufa a 37°C , em atmosfera de 5% de CO_2 , o meio de cultura foi substituído por um novo contendo composto/meio de cultura suplementado por 24 horas. Em seguida, o meio foi substituído por outro contendo H_2O_2 /DMEM (concentração também estabelecida previamente) e incubado por 3 horas. Após este período, o meio de cultura foi retirado, a cultura lavada em PBS e novo meio de cultura contendo MTT (0,5mg/ml) aplicado por 14 horas. Posteriormente, a solução foi removida e os cristais solubilizados em DMSO (dimetil sulfóxido) (GASQUE, *et al.*, 2014). A absorbância foi analisada em espectrofotômetro a 570 nm com leitor de microplacas VICTOR (multidetector VICTOR™ X3, PerkinElmer).

3.5. Predição de propriedades farmacocinética dos compostos SS08 e SS09

As moléculas candidatas foram selecionadas com base nos resultados de MTT, com base na ação antioxidante do ácido cinâmico sobre o metabolismo celular e tiveram sua estrutura molecular convertida em um código único, composto de letras e números em uma única linha contínua, que consiga guardar todas as informações sobre a estrutura e particularidades do composto (Código SMILES, Simplified Molecular Input LineEntrySpecification). A conversão em códigos SMILES foi realizada como auxílio da ferramenta SMILE Generator, disponível em: https://www.cheminfo.org/flavor/malaria/Utilities/SMILES_generator_checker/index.html.

O Código SMILE de cada molécula funcionou como arquivo de entrada para análise pelo *softwareon-line* pkCSM, disponível em: <https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsm>. Diferentes parâmetros foram avaliados dentro das seguintes classes de propriedades farmacocinéticas: absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade.

3.6. Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas para os ensaios de metabolismo usando one-way ANOVA seguido de pós-teste de Tukey. Foi utilizado o software GraphPad Prism 5 e os valores percentuais reportados são expressos como média \pm EP. Os resultados com $p < 0,05$ serão considerados estatisticamente significativos.

4. RESULTADO E DISCUSSÃO

4.1. Efeito sobre o metabolismo celular

Nesta etapa, realizamos um ensaio de MTT com o objetivo de determinar como o metabolismo celular iria ser alterado quando exposto a diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio diluídos no meio de cultura suplementado. Para o controle experimental, utilizamos somente o meio de cultura suplementado. Ao compararmos as concentrações utilizadas com o controle, todas foram capazes de reduzir significativamente o metabolismo celular (Gráfico 1). E com base nesses resultados, a concentração de 50 μM foi selecionada para estudos subsequentes, por ser uma dose intermediária capaz de gerar um nível adequado de estresse oxidativo sem gerar interferências indesejadas no modelo experimental, sendo possível, com essa escolha, balancear os efeitos de estresse oxidativo e metabolismo celular, garantindo condições experimentais controladas e reprodutíveis

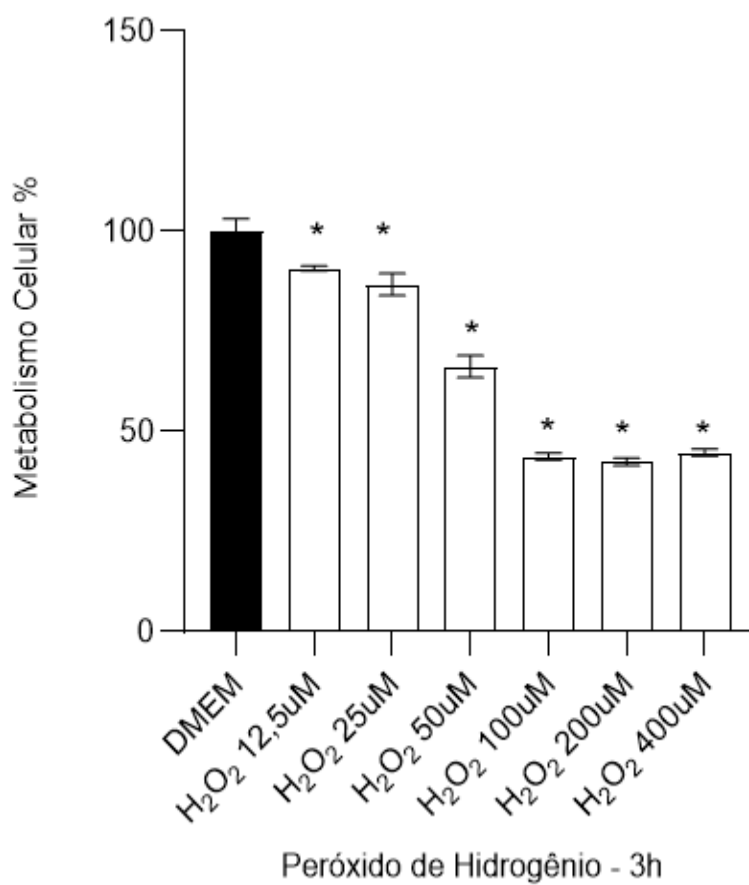


Gráfico 1: Determinação da concentração de H₂O₂. Todas as concentrações testadas reduziram significativamente o metabolismo celular quando comparado ao controle (DMEM). * p<0,05.

Com o objetivo de testar a toxicidade dos derivados para as células, foram utilizadas as concentrações de 50, 100 e 150 µM tendo como controle o DMSO (0,4% v/v). Na concentração de 50µM o composto SS02 reduziu o metabolismo celular para 87,4% quando comparado ao controle/DMSO e o composto SS10 também reduziu o metabolismo celular para 85,5%. Essa redução indica que esses dois compostos apresentam algum grau de toxicidade em relação às células, mesmo em baixas concentrações, uma vez que somente células metabolicamente ativas são capazes de converter o MTT em formazan por meio da succinato desidrogenase (EL-SHARKAWY; SELIM, 2018). Os outros compostos não alteraram significativamente o metabolismo celular quando comparado ao controle (Gráfico 2), o que sugere que na concentração utilizada os compostos são bem tolerados pelas células na concentração de 50µM.

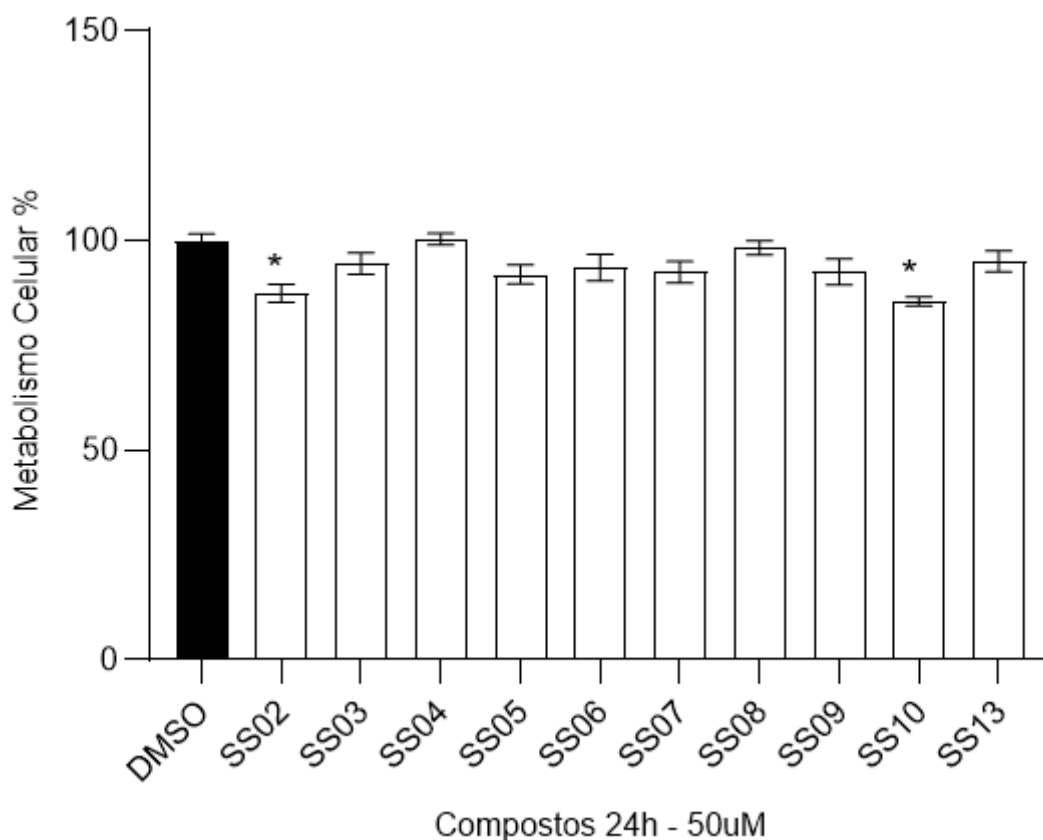


Gráfico 2: Teste de metabolismo celular após aplicação dos compostos SS02, SS03, SS05, SS06, SS07, SS08, SS09, SS10, SS13 a uma concentração de 50µM. Após 24 horas de incubação. * $p < 0,05$.

Na concentração de 100µM, cinco dos dez compostos testados (SS02, SS03, SS04, SS05, SS06, SS07 e SS10) reduziram significativamente o metabolismo celular quando comparado ao controle. O composto SS10, apresentou a maior redução de metabolismo, atingindo 78.4% em relação ao controle, tal resultado era esperado uma vez que o composto também foi tóxico na concentração mais baixa testada de 50µM, indicando que sua toxicidade está diretamente ligada a sua concentração. Esse efeito pode ter sido causado por mecanismos de estresse oxidativo associado a disfunção mitocondrial (PRASUN, P. 2020). O composto SS02, que já havia apresentado resultados de toxicidade utilizando a concentração de 50µM, seguiu reduzindo o metabolismo celular para 84% quando utilizada uma concentração maior, de 100µM, contudo de maneira menos acentuada quando comparada com a redução causada pelo composto SS10. Por outro lado, os compostos SS03, SS05, SS06 e SS07, que não haviam apresentado sinais de toxicidade quando utilizado a concentração de

50 μ M, quando utilizado a concentração de 100 μ M foram capazes de reduzir o metabolismo celular, entre 84% e 88,1%. Os outros compostos não alteraram significativamente o metabolismo celular quando comparado com o controle (Gráfico 3), sugerindo que até essa concentração eles são bem tolerados pelas células, podendo ser considerados não tóxicos para o metabolismo celular (EL-SHARKAWY; SELIM, 2018).

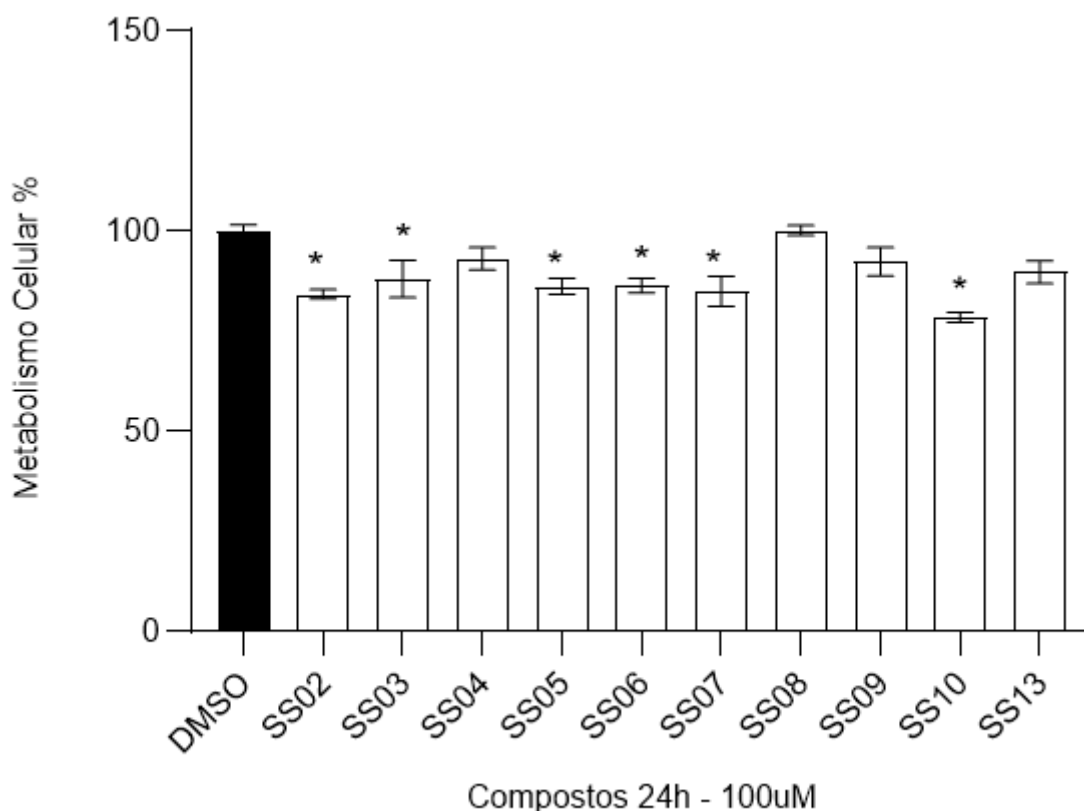


Gráfico 3: Teste de metabolismo celular após aplicação dos compostos SS02, SS03, SS04, SS05, SS06, SS07, SS08, SS09, SS10, SS13 a uma concentração de 100 μ M. Após 24 horas de incubação. * $p < 0,05$.

Na concentração de 150 μ M, somente três dos dez compostos testados reduziram o metabolismo celular. O composto SS04 reduziu para 88,5% o metabolismo celular, o composto SS07 para 82,4% e o composto SS10 para 80,4% quando comparado com o controle. Ao comparar com os resultados anteriores, os compostos SS07 e SS10 já demonstraram toxicidade em concentrações mais baixas, mantendo a tendência para a concentração de 150 μ M o que reforça a ideia de que esses compostos têm uma ação tóxica proporcional à concentração utilizada. Os outros sete compostos não alteraram

significativamente o metabolismo celular na concentração de 150 μ M quando comparado com o controle (Gráfico 4), assim como já havia sido observado para a maioria deles em outras concentrações.

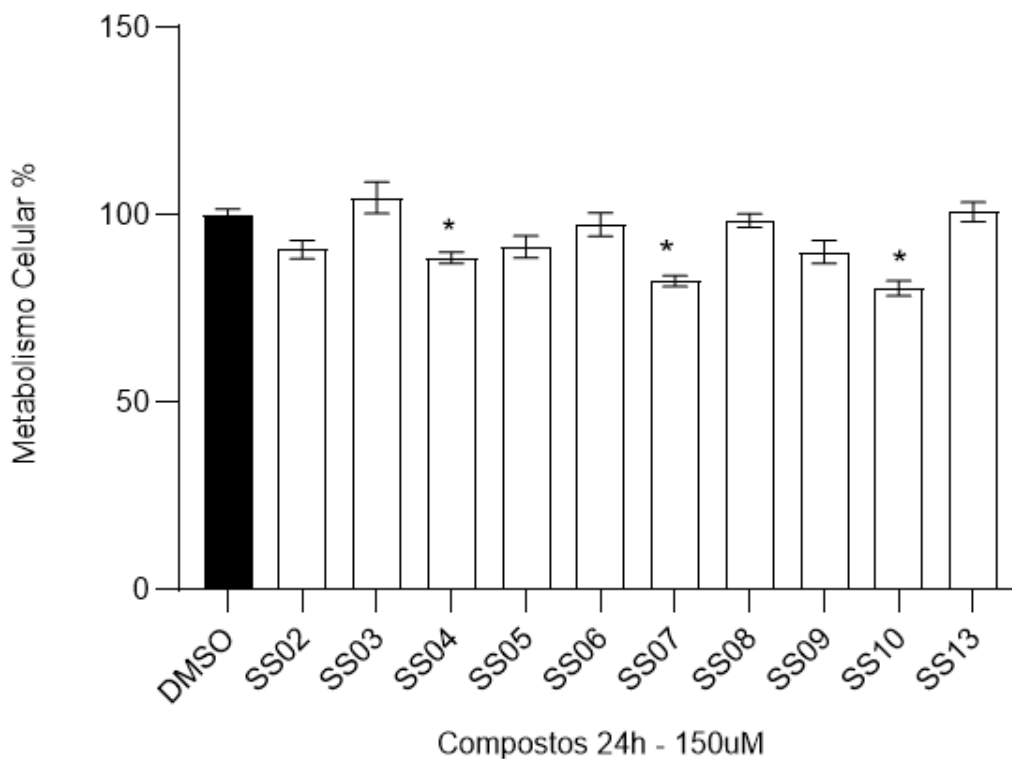


Gráfico 4: Teste de metabolismo celular após aplicação dos compostos SS02, SS03, SS04, SS05, SS06, SS07, SS08, SS09, SS10, SS13 a uma concentração de 150 μ M. Após 24 horas de incubação.* $p < 0,05$.

4.2. Ação antioxidante dos compostos SS08, SS09 e SS13

E com base nos resultados de toxicidade apresentados anteriormente, foram selecionados os três melhores compostos (SS08, SS09, SS13), pois não afetaram o metabolismo celular em nenhuma das três concentrações testadas (50, 100 e 150 μ M), indicando que estes compostos são bem tolerados pelas células, sendo uma característica desejável para uma análise de toxicidade inicial e fundamentais para seguir com os testes de

pré-tratamento. Para isso foram utilizadas concentrações somente as concentrações de 50 μ M e 100 μ M, uma vez que a de 150 μ M não apresentou diferença estatística para as demais, dos compostos SS08, SS09 e SS13 e 50 μ M de peróxido de hidrogênio, e o controle foi feito por células que não passaram por pré-tratamento, considerando assim, 100% do metabolismo celular.

Os resultados obtidos mostram que os compostos SS08 e SS09 apresentam atividade antioxidante quando expostas ao estresse causado pelo peróxido de hidrogênio, conforme mostrado no Gráfico 5. O composto SS08 (50 μ M) recuperou o metabolismo celular em relação ao grupo exposto ao peróxido de hidrogênio, aumentando de 61,8% para 98,73% se aproximando do metabolismo determinado pelo controle. Esse dado indica que o composto SS08 é eficaz em neutralizar os efeitos oxidativos causados pelo peróxido, promovendo uma recuperação do metabolismo. E quando utilizado na concentração de 100 μ M, o composto SS08 também apresentou resultados satisfatórios pois elevou o metabolismo para 100,8%, o que o torna um composto promissor para pesquisas futuras.

Em relação ao composto SS09, foi observado uma ação antioxidante significativa na menor concentração testada. Na concentração de 50 μ M, recuperou o metabolismo celular quando comparado ao grupo peróxido, indo de 61,8% para 87,5%, indicando que ele é capaz de restaurar parcialmente o metabolismo após estresse induzido pelo peróxido, contudo, diferentemente do composto SS08, o SS09 não apresentou ação antioxidante significativo na concentração de 100 μ M, sendo necessários estudos adicionais para otimizar sua aplicação. O composto SS13, diferente dos outros dois compostos, não apresentou uma diferença significativa em relação ao grupo exposto ao peróxido de hidrogênio, não sendo considerado assim, um candidato promissor para ação antioxidante contra danos oxidativos.

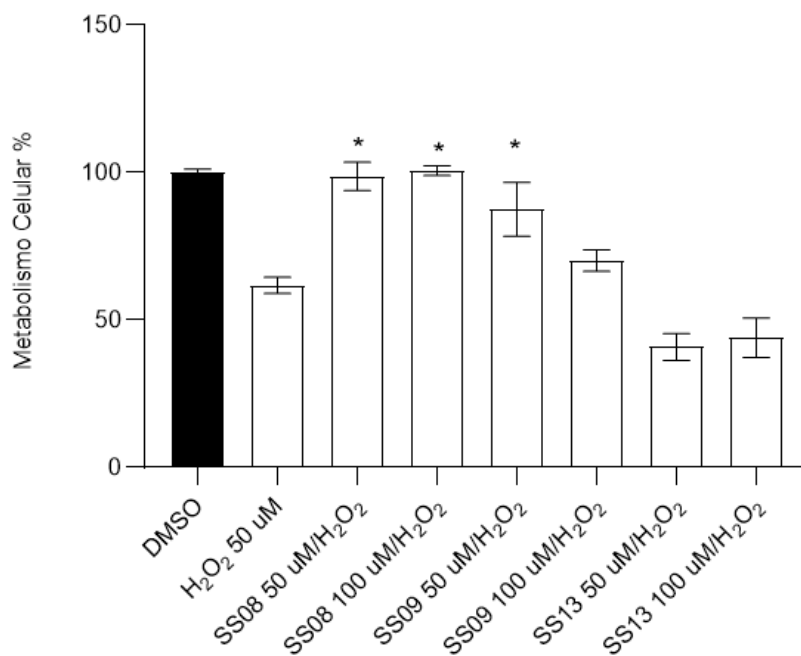


Gráfico 5: Teste de Metabolismo Celular após Pré-tratamento com compostos e Peróxido 50 µM. * p<0,05.

Em virtude dos dados apresentados, concluímos que os compostos SS08 e SS09 obtiveram resultados promissores em promover a recuperação do metabolismo celular após indução de uma situação de estresse oxidativo causado pelo peróxido de hidrogênio, atuando assim como agentes antioxidantes com potencial para serem utilizados no auxílio do processo de reparo tecidual. A capacidade de alteração do metabolismo celular já foi demonstrado em um estudo que investigou os efeitos da vitamina C sobre proteínas fundamentais no processo de angiogênese, no qual foram utilizadas células de carcinoma hepático estressadas com peróxido de hidrogênio (AZRA SAKHAWAT *et al.*, 2024), além disso, o efeito de induzir o desequilíbrio redox também já foi demonstrado em modelos *in vitro* utilizando células de neurônios hipocâmpais (RIBEIRO *et al.*, 2020), de neuroblastoma humano para induzir citotoxicidade (NOOTCHANAT MAIRUAE; NUT PALACHAI; PARINYA NOISA, 2024; PIRAS *et al.*, 2024) e em células endoteliais humanas (HAMIEH GOSHTASBI *et al.*, 2024). Estudos feitos anteriormente por Shing (2013) mostraram que derivados de ácido cinâmico foram capazes de reduzir o estresse oxidativo em cardiomiócitos, quando utilizado o peróxido de hidrogênio, indicando uma ação antioxidante dos derivados. Outro estudo, realizado pelo mesmo grupo em um ano anterior, mostrou que o uso do ácido cinâmico reduziu o estresse oxidativo através da indução da produção de enzimas capazes de eliminar espécies reativas de

oxigênio, como a SOD. Resultados semelhantes foram obtidos em um estudo feito por Nouni *et al.*, (2023), que avaliou a atividade antioxidante de compostos derivados de ácido cinâmico em comparação com um análogo da vitamina E em modelo animal, e verificou-se que os derivados tinham ação antioxidante semelhante a vitamina E. Em um outro estudo, conduzido por OJO *et al.*, (2023), foi avaliada a ação antioxidante significativa de derivados de ácido cinâmico utilizando abordagem computacional e verificou atividade antioxidante dos compostos estudados. Tais resultados corroboram no presente trabalho quanto à avaliação da ação antioxidante contra estresse oxidativo pelos compostos derivados de ácido cinâmico. E com base nos resultados promissores apresentados, foi feita uma análise farmacocinética de ambos os compostos, SS08 (figura 2) e SS09 (figura 3), com objetivo de entender melhor seu comportamento no organismo e possíveis aplicações no desenvolvimento de um fármaco com ação antioxidante, aplicável no reparo tecidual.

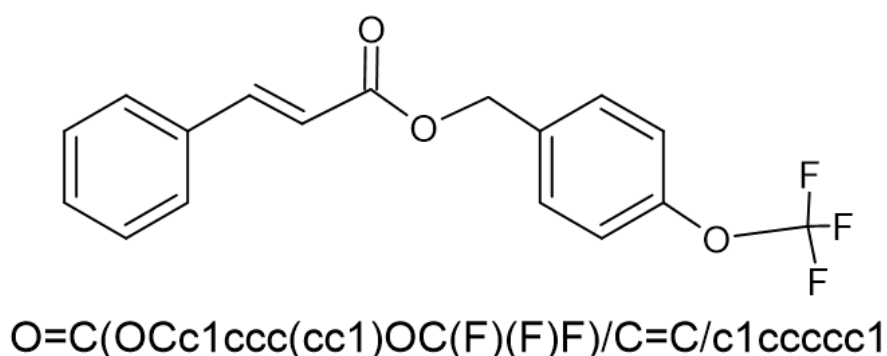


Figura 2: Fórmula estrutural e notação smile do composto SS08

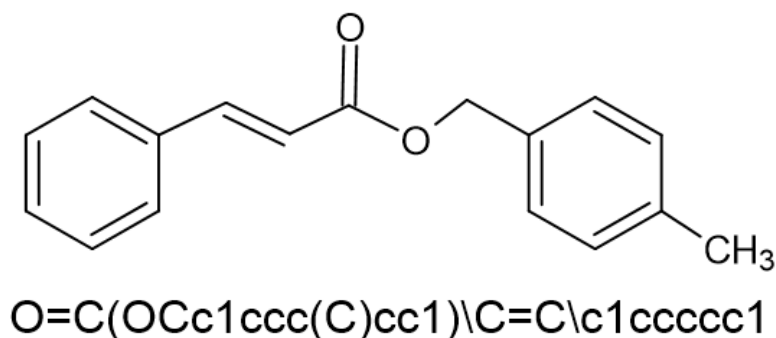


Figura 3: Fórmula estrutural e notação smile do composto SS09

4.3. Análise farmacocinética

O estudo de propriedades farmacocinéticas de uma molécula é fundamental, pois ajuda a prever seu comportamento, otimizando o seu potencial terapêutico (SILVA & PADILHA, 2022; VERSTUYFT *et al.*, 2022). A farmacocinética abrange os processos de absorção, distribuição, metabolismo e de eliminação, esse conjunto de processos também podem ser conhecidos pela sigla ADME, e vão influenciar diretamente na segurança dos medicamentos. A avaliação desses parâmetros, ainda na fase de desenvolvimento de um novo medicamento, pode reduzir as taxas de insucesso em ensaios clínicos e facilitar a seleção da via de administração mais adequada (PEREIRA, 2007). O uso de ferramentas *in silico*, capazes de predizer tais propriedades na comparação da estrutura da molécula com um banco de dados, permite avaliar e otimizar esse estudo, economizando tempo e recursos (GUIDO & ANDRICOPULO, 2008; SILVA & PADILHA, 2022).

Para avaliar a farmacocinética das moléculas SS08 e SS09, foram obtidos dados de absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade, sendo que para cada um desses fatores foram avaliados diferentes parâmetros que juntos influenciam e corroboram para a farmacocinética de uma molécula no organismo humano (quadro 1).

Propriedade	Parâmetro avaliado	Valor de referência	Resultado			
			Composto SS08	Favorável?	Composto SS09	Favorável?
Absorção	Solubilidade em água	-	-5,355log mol/L	✗	-4,477log mol/L	✗
	Permeabilidade Caco2	>0,9 log Papp in 10 ⁻⁶ com/s	1,809 log Papp in 10 ⁻⁶ com/s	✓	-4,477log mol/L	✓
	Absorção intestinal (humano)	>30% absorvido	93,648% absorvido	✓	95,047% absorvido	✓
	Permeabilidade na pele	>-2,5 log Kp	-2,387 log Kp	✗	-2,261 log Kp	✗
	Substrato para glicoproteína P	-	Não	✓	Não	✓
	Inibidor da glicoproteína P I	-	Sim	✓	Não	✓
	Inibidor da glicoproteína P II	-	Não	✓	Não	✓
Distribuição	Volume de distribuição (VDss humano)	baixo:< -0,15 log L/Kg alto:> 0,45 log L/kg	0,067log L/Kg	✓	-0,014log L/Kg	✗

	Fração não ligada (humana)	0= potencial de ligação	0 Fu	✓	0 Fu	✓
	Permeabilidade a barreira hemato-encefálica	altamente permeável: $\log BB > 0,3$	0,1011 log BB	✓	0,305 log BB	✓
	Permeabilidade ao sistema nervoso central	permeável: $\log PS > -2$	-1,359 log PS	✓	-1,303 log PS	✓
Metabolismo	Substrato para CYP2D6	-	Não	═	Não	═
	Substrato para CYP3A4	-	Sim	═	Sim	═
	Inibidor CYP1A2	-	Sim	═	Sim	═
	Inibidor CYP2C19	-	Sim	═	Sim	═
	Inibidor CYP2C9	-	Sim	═	Sim	═
	Inibor CYP2D6	-	Não	═	Não	═
	Inibidor CYP3A4	-	Sim	═	Não	═
Excreção	Clearance total	-	0,272 log mL/min/kg	═	0,77 log mL/min/kg	═
	Substrato para OCT2	-	Não	═	Não	═
Toxicidade	Teste AMES	-	Não	✓	Não	✓
	Dose máxima tolerada (humano)	altas: $< 0,477 \log$ (mg/kg/day)	0,581 log mg/kg/dia	✓	0,884 log mg/kg/dia	✓
	Inibidor hERG I	-	Não	✓	Não	✓
	Inibidor hERG II	-	Não	✓	Não	✓
	Toxicidade Aguda Oral em Ratos (LD50)	Alta toxicidade aguda: $\log LC50 < -0,3$	2,361 mol/kg	✓	1,889 mol/kg	✓
	Toxicidade crônica Oral em Ratos (LOAEL)	-	1,437 log mg/kg/peso corporal/dia	═	2,065 log mg/kg/peso corporal/dia	═
	Hepatotoxicidade	-	Não	✓	Sim	✗
	Sensibilização da pele	-	Não	✓	Sim	✗

Quadro 1: Análise farmacocinética *in silico* dos compostos SS08 e SS09

A solubilidade em água é um fator essencial para a absorção e consequente biodisponibilidade de uma molécula, impactando fortemente na sua eficácia terapêutica (SAVJANI *et al.*, 2012; JINDAL, 2017). Para medicamentos de administração oral, é

importante que eles estejam dissolvidos nos fluidos gastrintestinais antes da sua absorção. Uma baixa solubilidade em água resultará em uma baixa biodisponibilidade (YADAV *et al.*, 2022), sendo necessário em alguns casos a aplicação de recursos farmacotécnicos para aumento da solubilidade dessas moléculas. O parâmetro de solubilidade em água avaliado no presente trabalho considera a solubilidade de um molécula em uma temperatura de 25°C, e foi obtido a partir de comparação da estrutura da molécula com um banco de dados de outras moléculas com valor de solubilidade já determinado. O coeficiente de solubilidade (Cs) determina a quantidade máxima de soluto que pode se dissolver em uma determinada quantidade de solvente. Quando expresso em mol/L, o coeficiente de solubilidade indica a concentração máxima do soluto na solução. Com isso os valores encontrados tanto para a molécula SS08 e SS09 indicam solubilidades em água muito baixas, uma vez que valores negativos significam baixas concentrações de soluto dissolvidas em solvente (água), considerando esse fator isoladamente, faz se a necessidade de utilização de recursos farmacotécnicos para ampliar a sua solubilidade e com isso, sua biodisponibilidade, viabilizando sua aplicabilidade terapêutica (WEBLER & ROSA, 2021). Em um estudo realizado por Zhang *et al.*, (2020) foi utilizado uma macromolécula de β -ciclodextrina com o objetivo de melhorar a solubilidade do ácido cinâmico e derivados, ampliando, desta forma, sua aplicação.

Para analisar a absorção intestinal foram utilizados dois métodos diferentes. A primeira foi utilizando células da linhagem Caco-2, que simulam a mucosa intestinal. A plataforma utilizada compara a molécula de interesse com um um banco de dados de moléculas com o valor de Caco-2 já determinados. Uma molécula é considerada com alta absorção quando apresenta uma valor de permeabilidade via Caco-2 maior que 0,9. Considerando o valor de 1,809, a molécula SS08 apresentou bom potencial de absorção intestinal quando administrado por via oral, superior a molécula SS09 que apresentou um valor de 1,56. O segundo método foi desenvolvido para prever a proporção de compostos absorvidos pelo intestino delgado humano. Para um determinado composto é possível prever a porcentagem que será absorvida com base em um banco de dados. Uma molécula que apresenta uma absorção inferior a 30% é considerada pobremente absorvida pelo intestino. A molécula SS08 apresentou um resultado de 93,648% e a SS09 apresentou 95,047% de absorção. Sendo assim, ambas podem ser consideradas com alto potencial de absorção pelo intestino delgado e conseqüentemente uma boa absorção intestinal. Ambos os resultados encontrados no presente trabalho foram semelhantes aos encontrados por Araújo *et al.*, (2020), no qual foi feita uma análise *in silico* de derivados de ácido cinâmico para avaliar

sua permeabilidade via Caco-2. E também, estudos feitos com híbridos de ácido cinâmico utilizando metodologia *in silico*, também demonstraram alta absorção gastrointestinal após administração oral (FOTOPOULOS *et al.*, 2024)

A permeabilidade cutânea também foi avaliada objetivando uma possível aplicação tópica do produto, uma vez que desempenha um papel crucial na farmacocinética da absorção. O estrato córneo atua como a barreira primária à penetração de drogas, influenciando as ações terapêuticas locais e sistêmicas. Fatores como a estrutura molecular e hidratação da pele podem impactar nas taxas de permeação (SILVA *et al.*, 2010), e para fazer essa avaliação, existem métodos *in silico*, como o explorado nesse trabalho, que conseguem prever a permeabilidade considerando propriedades físico-químicas de compostos em detrimento às propriedades intrínsecas da pele (PECORARO *et al.*, 2019). A permeabilidade de um medicamento é dada pela constante $\log k_p$, sendo um composto considerado com baixa permeabilidade cutânea quando seu $\log K_p$ é menor que $-2,5 \log K_p$. No caso molécula SS08 valor encontrado foi de $-2,387 \log K_p$ e para a molécula SS09 foi de $-2,261 \log K_p$, sendo assim ambos os compostos não possuem uma boa permeabilidade tópica, contudo este é um fator importante em medicamentos destinados a cicatrização cutânea. Entretanto, estudos realizados anteriormente, utilizando derivados de ácido cinâmico com outros radicais apresentaram uma boa permeabilidade cutânea (MINGOIA *et al.*, 2022). Sendo assim, torna-se necessário explorar diferentes tecnologias farmacocinéticas para a utilização das moléculas estudadas por via tópica, tais como: dispositivos transdérmicos, eletroporação, iontoforese, microagulhas, sonoforese e magnetoforese (GAO *et al.*, 2022).

A glicoproteína P é uma proteína transmembrana envolvida na resistência de medicamentos, uma vez que atua com transportador e promove o efluxo celular de xenobióticos incluindo medicamentos (GÓMEZ *et al.*, 2002). Esta glicoproteína é encontrada em diferentes tecidos como na membrana apical do enterócitos no intestino e na barreira hematoencefálica (ROUSSIN & PICARD, 2020).

Quando um composto é considerado substrato da glicoproteína P significa que ele pode ser transportado por essa proteína transportadora, isso pode reduzir a sua absorção no trato gastrointestinal (LANUSSE *et al.*, 2005), uma vez que a proteína bombeia ativamente os fármacos e outros compostos de volta para o lúmen intestinal, reduzindo a biodisponibilidade e conseqüentemente a concentração sanguínea. Ser substrato dessa proteína também pode afetar o processo de distribuição e eliminação de um medicamento, pois ela vai limitar a entrada dele nos tecidos, reduzindo sua concentração intracelular e aumentar a sua excreção pelo intestino, bile e urina. Ou seja, ser substrato da glicoproteína P irá afetar parâmetros

farmacocinéticos de absorção, distribuição e eliminação. Os compostos em questão não são substratos da proteína P, sendo assim apresentam fatores farmacocinéticos de absorção favorável. Outro fator avaliado foi a potencial das moléculas em inibir a Glicoproteína-P, uma vez que ela está intimamente relacionada com a resistência a medicamentos, tal propriedade tem sido explorada como uma estratégia para superar a resistência a múltiplos medicamentos e melhorar a biodisponibilidade dos mesmos (SRIVALLI & LAKSHMI, 2012). Quando uma molécula é inibidora da glicoproteína P significa que ela interfere na sua função original, permitindo um maior acúmulo intracelular do composto e diminuição da excreção. Para esta avaliação preditiva foi feita uma comparação das moléculas de interesse com um banco de dados contendo moléculas inibidoras de duas isoformas da glicoproteína P. O composto SS08 foi capaz de inibir somente uma das isoformas enquanto o composto SS09 inibiu as duas isoformas da glicoproteína. A inibição da glicoproteína P também foi relatada por Araújo *et al.*, (2020), no qual foi realizada uma análise *in silico* de análogos de ácido cinâmico. Também foi feita uma análise *in vitro* utilizando intestino de ratos no qual demonstrou que o ácido cinâmico também é capaz de inibir a diferentes isoformas da glicoproteína-P (LI *et al.*, 2009).

A distribuição das moléculas foi avaliada com base no volume de distribuição, fração ligada, permeabilidade à barreira hemato-encefálica e ao sistema nervoso central. O volume de distribuição (VD) indica a extensão da distribuição de um medicamento ou composto no organismo (SMITH *et al.*, 2015). Trata-se de um volume aparente que reflete a distribuição tecidual do composto (NORTE, 2010), podendo ser influenciado por fatores como lipofilicidade, ligação às proteínas plasmáticas e afinidade tecidual (SMITH *et al.*, 2015; AARONS, 1981). O VD irá influenciar no tempo de meia vida daquele composto no organismo e conseqüentemente na frequência de administração (SMITH *et al.*, 2015; NORTE, 2010). O VD trata-se, portanto, de um índice que reflete como um fármaco ou composto se distribui com base nas suas propriedades físico-químicas como solubilidade, carga e tamanho, após uma administração por via oral ou parenteral, oferecendo uma referência da concentração plasmática após administração de uma dose específica. Quanto maior o valor de VD, melhor é a distribuição do composto pelo organismo. Sendo assim, é considerado um valor de VD baixo quando menor que $-0,15 \log L/Kg$ e alto quando maior que $0,45 \log L/kg$, o composto SS08 apresentou um volume de distribuição moderado de $0,067 \log L/Kg$ enquanto a molécula SS09 apresentou um VD baixo de $-0,014 \log L/Kg$. Tais resultados podem ser justificados pelas características ácidas das moléculas, uma vez que são derivadas

do ácido cinâmico, aspecto que foi abordado por um estudo conduzido por Smith *et al.*, (2015).

A fração de um medicamento ligada às proteínas desempenha um papel crucial na sua farmacocinética e eficácia clínica. Fármacos vão existir no organismo em equilíbrio entre a fração ligada e a não ligada a proteínas no sangue, e somente a fração não ligada é capaz de interagir com receptores celulares e atravessar membranas (NORTE, 2010). Com isso a determinação da fração ligada e não ligada é fundamental para a compreensão da farmacodinâmica de distribuição de um composto, contudo essa determinação apresenta ainda desafios bioanalíticos, uma vez que esse equilíbrio pode variar com base nas condições fisiológicas (NILSSON, 2013). O modelo de análise preditiva utilizado foi feito com base na mensuração de porção livre de um banco de dados de moléculas. O valor encontrado para a fração não ligada de ambos os compostos em questão foi igual a zero, indicando que eles apresentam potencial para se ligarem às proteínas plasmáticas.

Para a análise farmacocinética da distribuição também foi avaliada a capacidade das moléculas de transpor a barreira hemato-encefálica, que é uma interface entre a circulação sistêmica e o sistema nervoso central, responsável por protegê-lo contra toxinas e patógenos enquanto mantém a homeostase (GECIONI LOCH-NECKEL & JANICE KOEP, 2010). Sua alta seletividade limita a passagem de muitos medicamentos (ALEXANDER CARCELEN MARTINS *et al.*, 2021), sendo assim, a capacidade de transposição a esta barreira depende de fatores como tamanho da moléculas, lipofilicidade e grau de ionização (ZHAO *et al.*, 2022). *In vivo*, o valor de permeabilidade é dado pela razão logarítmica entre a concentração do medicamento do cérebro e no plasma. O modelo preditivo usado comparou o resultado *in vitro* de 320 compostos com as moléculas em questão, encontrando um valor de 0,101 log para o composto SS08 e de 0,305 log para o composto SS09, indicando que elas podem atravessar facilmente a barreira hemato-encefálica. A capacidade de permeação ao sistema nervoso também foi avaliada em uma simulação *in silico* de injeção direta do composto na artéria carótida, eliminando efeitos de distribuição sistêmica que podem distorcer o resultado de penetração no tecido cerebral. Compostos com valores de Log PS maior que -2 são considerados capazes de penetrar no sistema nervoso central, e compostos com valor de Log PS menor que -3. Os compostos em questão apresentaram um resultado igual a -1,359log PS para o SS08 e de -1,303 log PS para o SS09, o que corrobora com os resultados anteriores e reforçam capacidade de transpor a barreira hemato-encefálica e alcançar o sistema nervoso central. Estudos anteriores feitos em modelo *in vivo*, utilizando ácido cinâmico para atenuar a inflamação hipotalâmica periférica revelou que ele também era permeável à barreira

hematoencefálica, sugerindo que ele pode ser eficaz como agente terapêuticos no sistema nervoso central (LEE *et al.*, 2022). Outro estudo utilizando modelo de membrana artificial e derivados de ácido cinâmico também demonstrou resultados favoráveis a permeabilidade dos compostos a barreira hematoencefálica (WANG *et al.*, 2021).

Outro importante parâmetro farmacocinético avaliado foi relacionado ao metabolismo dos compostos em questão. Para isso, foi avaliado a relação dos compostos com o citocromo P450, tanto como substrato quanto possíveis inibidores. O citocromo P450 (CYP450) é uma superfamília de enzimas hemeoproteínas responsável por metabolizar diferentes tipos de xenobióticos. Elas são capazes de oxidar, reduzir e hidrolisar uma ampla gama de substratos, medicamentos e toxinas e consequentemente facilitar a sua excreção. O fígado é o principal local de expressão da CYP450 em humanos, e é onde a maior parte dos medicamentos são metabolizados (GONZÁLEZ & RODEIRO GUERRA, 2014). Inibidores dessa enzima podem afetar o metabolismo e por isso é importante avaliar sua capacidade inibitória. Para esse modelo foram avaliadas 5 isoformas de CYP450, e o composto SS08 conseguiu inibir quatro das cinco isoformas avaliadas e o composto SS09 3 isoformas, indicando uma potencial capacidade de afetar o metabolismo de oxidação do composto, afetando drasticamente a farmacocinética de metabolização, tornando-a mais morosa. Os compostos também foram avaliados como substrato para a CYP450. Para essa predição, um banco de dados com compostos com essa capacidade foi utilizado. A avaliação foi feita para duas isoformas da enzima que são as principais responsáveis pelo metabolismo de fármacos, a CYP2D6 e CYP3A4. Os resultados mostraram que os compostos SS08 e SS09 são capazes de atuar como substrato para uma das isoformas, a CYP3A4. Existem, contudo, na literatura registros de compostos análogos do ácido cinâmico analisados por metodologia *in silico* que não demonstraram atividade inibitória sobre as enzimas CYP450 (ARAUJO *et al.*, 2022; FOTOPOULOS *et al.*, 2024), sendo assim podemos supor que a interação com as isoformas da CYP450 está relacionada aos radicais da molécula.

Para os parâmetros de excreção, foram avaliados o Clearance total e se as moléculas seriam possíveis substratos para o transportador *Organic Cation Transporter 2* (OCT2). A determinação do clearance total é um importante parâmetro farmacocinético que expressa capacidade do organismo eliminar um fármaco ou composto, leva em consideração a capacidade de biotransformação do fígado e também a capacidade de excreção renal (TOUTAIN & BOUSQUET-MÉLOU, 2004). Seu valor é importante para predizer as taxas de dosagem para manter uma concentração estável no sangue. Na óptica clínica, tal parâmetro é crucial para garantir uma terapia eficaz e com redução de efeitos colaterais, especialmente em

situações que envolvem a administração de múltiplos medicamentos (ROBLES-PIEDRAS, 2020). O resultado obtido para o composto SS08 foi de 0,272 log ml/min/kg e para o SS09 0,77 log mL/min/kg, sendo assim o composto SS09 é eliminado mais rapidamente do organismo em comparação com o SS08. Além disso, foi avaliado se os compostos seriam possíveis substratos para o transportador OTC2, o qual desempenham função na secreção renal de medicamentos (FUJITA *et al.*, 2006; WRIGHT, 2019). O transportador OTC2 é expresso principalmente na membrana das células epiteliais dos tubulares renais e é responsável pela captação de diversos cátions orgânicos (FUJITA *et al.*, 2006). Com isso, ser um substrato para esse transportador indica que sua eliminação renal é favorecida. Os resultados mostraram que os compostos SS08 e SS09 não são substratos para esse transportador, o que dificulta a sua excreção.

E por fim, foram analisados alguns parâmetros de toxicidade, uma vez que eles desempenham um papel fundamental na farmacocinética e no desenvolvimento de novos medicamentos, sendo essenciais para prevenir riscos e reduzir a probabilidade de efeitos tóxicos (SILVA *et al.*, 2021). A toxicidade pode afetar outros parâmetros farmacocinéticos como absorção, distribuição, metabolismo e excreção, levando a ineficiência terapêutica ou toxicidade farmacológica (VIEIRA *et al.*, 2023; LARES-ASSEFF & TRUJILLO-JIMÉNEZ, 2001). O teste de Ames (AMES) é amplamente utilizado para detectar potenciais substâncias mutagênicas (TEJS, 2008). Um resultado positivo demonstra que o composto pode atuar com um agente carcinógeno. Os compostos SS08 e SS09 apresentaram resultados negativos para o teste de AMEs, sendo assim, ambos não apresentaram potencial mutagênico. O conceito de dose máxima tolerada, é utilizada para avaliar níveis de dosagens seguros, sendo definida como a dose mais alta que não produz toxicidade evidente (CHEVRET, 2008). O valor predito encontrado pode auxiliar em determinar a dose administrada em estudos clínicos posteriores. Valores menores ou iguais a 0,477log (mg/kg/day) são consideradas baixas doses e valores acima disso, altas doses. Para o composto SS08 e SS09 foram obtidos um valor de 0,581 log mg/kg/dia e 0,884 log mg/kg/dia respectivamente, sendo assim, altas doses dos compostos são toleradas pelo organismo humano, demonstrando uma taxa de administração segura.

O gene hERG codifica uma proteína que irá formar canais de potássio, responsáveis por mediar a corrente desse íon, fundamental para a repolarização cardíaca, dessa forma, substâncias capazes de inibir o gene que codifica essa proteína estão associadas a casos de arritmias cardíacas (RAMPE & BROWN, 2013). Com isso, a prática de avaliação dessa propriedade tornou-se de suma importância no desenvolvimento de medicamentos, sendo

recomendada por agências reguladoras (GARRIDO *et al.*, 2020). Foram avaliadas a capacidade de inibição de duas principais isoformas da proteína, isoformas I e II, usando um banco de dados já existente. Os compostos SS08 e SS09 não foram capazes de inibir nenhuma das duas isoformas, apresentando um efeito negativo para a toxicidade cardíaca e potencial arritmico.

Aprofundando a análise de toxicidade, foram avaliados os parâmetros de toxicidade aguda oral, ou dose letal 50 (LD50) e toxicidade crônica oral, também chamado de Nível Mais Baixo de Efeito Adverso Observado (LOAEL). A LD50 indica a quantidade necessária de uma substância para matar 50% de uma população teste (IRINMWINUWA, 2023). Quanto maior o seu valor de LD50, maiores as doses do composto podem ser utilizadas sem apresentar riscos de toxicidade para o indivíduo. O valor de LD50 do composto SS08 foi de 2,361 mol/Kg e para o composto SS09 foi de 1,889 mol/kg. Sendo assim, o composto SS09 apresenta toxicidade com uma dose menor quando comparado com SS08, conferindo maior risco de segurança para a sua utilização, mas de acordo com a Globally Harmonized System Of Classification And Labelling Of Chemicals (GHS) ambos os compostos são classificados como Categoria 4, no sistema de classificação de substâncias, dessa forma são substâncias de baixa toxicidade aguda.

Por outro lado, a taxa de toxicidade crônica avalia o surgimento de efeitos colaterais causados por exposição a longo prazo a toxinas e compostos exógenos. Para isso é usado o LOAEL (lowest-observed-adverse-effect level), que representa a concentração mais baixa de um composto responsável por causar uma alteração adversa no organismo-alvo (VENKATAPATHY *et al.*, 2004). Quanto maior for o valor de LOAEL de uma substância, maior a segurança de uso crônico. Para o composto SS08, o valor de LOAEL encontrado foi de 1,437log mg/kg/peso corporal/dia e para o composto SS09 foi de 2,065 log mg/kg/peso corporal/dia, demonstrando que o composto SS08 apresenta uma toxicidade maior para uso crônico quando comparado com o composto SS09.

Outro fator crítico para a toxicidade de um medicamento é sua predisposição a ser hepatotóxico, uma vez que tal característica por levar até a retirada de produtos e medicamentos do mercado (GARCÍA-CORTÉS *et al.*, 2023). A hepatotoxicidade pode ser definida como o dano causado por medicamentos ou outras substâncias (CUNNINGHAM; GUPTA; BUTLER, 2023). Para o composto SS08 a análise feita mostrou que ele não apresenta potencial hepatotóxico, contudo o composto SS09, com base na análise feita, mostrou-se hepatotóxico.

Com o objetivo de uma possível aplicação tópica dos compostos em estudo, outro parâmetro avaliado foi a sensibilização da pele, pois é fundamental para identificar e prevenir reações adversas como a hipersensibilidade caracterizada por erupções cutâneas, febre e envolvimento sistêmico (LOBO *et al.*, 2008). Os resultados para o composto SS08, mostrou que ele não tem potencial para sensibilização cutânea diferentemente do composto SS09 que apresentou potencial para induzir sensibilização cutânea.

Estudos feitos com análogos de ácido cinâmico corroboram com os resultados de toxicidade encontrados no presente trabalho (ARAUJO, *et al.*, 2022), bem como estudos em modelos *in vivo* que apontaram ausência de hepatotoxicidade do ácido cinâmico (LEE *et al.*, 2022), ademais ainda existem estudos que demonstraram o efeito protetor do ácido cinâmico quando induzida um hepatotoxicidade com cisplatina (TOHAMY *et al.*, 2016) o que sugere que a hepatotoxicidade do composto SS09 está relacionada ao radical adicionado.

Com base nos resultados apresentados foi possível predizer que apesar de ambos os compostos terem apresentado metabolismos muito semelhantes, o composto SS08 possui características farmacocinéticas mais favoráveis para utilização como um medicamento com ação antioxidante, quando comparada com o composto SS09. De acordo com as análises, o composto SS08 é melhor absorvido e distribuído pelo organismo. Além disso, ao se analisar o potencial hepatotóxico e propensão em causar toxicidade aguda, o composto SS08 foi superior ao composto SS09.

Além da ação farmacocinética de uma moléculas com potencial farmacológico, também é fundamental entender a sua farmacodinâmica, que é a atividade biológica de uma molécula e capacidade de interagir com receptores no organismo humano. Essa propriedade está intimamente ligada a sua estrutura química. O composto SS08 foi sintetizado com base em uma reação de esterificação do ácido carboxílico da molécula de ácido cinâmico, e analisando a sua estrutura, é possível observar algumas características que poderiam justificar sua atividade biológica. Estudos feitos com a molécula de ácido cinâmico mostraram que a posição do substituinte no anel aromático é capaz de afetar significativamente as suas propriedades eletrônicas e conseqüentemente a reatividade da molécula (KARIMOV *et al.*, 2020). Além disso, a presença de uma olefina conjugada, ou seja, presença de ligações duplas entre carbonos que estão alternadas com ligações simples pode permitir a ressonância e a estabilidade da molécula, favorecendo a interação da olefina com grupos funcionais de moléculas, influenciando na sua bioatividade (GODLEWSKA-ŻYŁKIEWICZ *et al.*, 2020). O composto SS08 possui ainda o radical triflorometil, que é um carbono ligado a três átomos de flúor, ligada a estrutura do ácido cinâmico. O trifluorometil, é um substituinte que confere

alta lipofilicidade e densidade eletrônica, sendo um grande aliado no aumento de eficácia de medicamentos, melhorando suas propriedades farmacocinéticas (LÓPEZ & ROMERO, 2012). A reação de trifluorometilação é fundamental na síntese de medicamentos como a fluoxetina e Efavirenz e Aprepitant (BENÍTEZ, 2022; ZHANG *et al.*, 2011). Estudos anteriores investigaram a atividade biológica e potencial imunomodulador de compostos apresentando o mesmo radical (MENDES, 2022). Também foi demonstrado na literatura, compostos com radical trifluorometil capazes de aumentar a resposta imune contra melanoma metastático em camundongos (MOREIRA, 2022). Estudos ainda são necessários para entender a devida correlação entre o radical trifluormetil e sua atividade biológica, contudo existem fortes indícios de que a atividade biológica do composto SS08 seja influenciada pelas propriedades do radical adicionado à molécula de ácido cinâmico. Com relação ao composto SS09, mais especificamente ao seu radical, para-metilbenzil, não foram encontradas na literatura informações que pudessem nos auxiliar nesta discussão, sendo necessário maiores estudos sobre a molécula.

5. CONCLUSÃO

Diante dos dados apresentados, concluímos que os compostos SS08, na concentração de 50 μM e 100 μM , apresentou atividade antioxidante quando pré-tratadas com a concentração citada e estressadas com peróxido de hidrogênio na concentração de 50 μM . Além disso, a molécula apresenta parâmetros farmacocinéticos favoráveis para futuras aplicações em medicamentos com ação antioxidante no reparo tecidual. Estes resultados abrem portas para novos experimentos, testando diferentes tempos de pré-tratamento e mecanismos de ação, além de aprofundar os conhecimentos sobre as propriedades farmacocinéticas do composto.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, L. DE C. *et al.*, Factors associated with the prevalence of chronic wound healing in a family health unit / Fatores associados à prevalência de cicatrização de feridas crônicas em uma unidade de saúde da família. **Revista de Pesquisa Cuidado é Fundamental Online**, v. 16, p. e-13054, 11 mar. 2024.

AZRA SAKHAWAT *et al.*, *In silico* and *in vitro* analyses to investigate the effects of vitamin C on VEGF protein. **Journal of Taibah University Medical Sciences**, v. 19, n. 4, p. 775–789, 10 jul. 2024.

BARBOSA M. R. *et al.*, ROS E O ESTRESSE OXIDATIVO POR SECA EM PLANTAS. **Multidisciplinary Sciences Reports**, v. 3, n. 3, 6 jul. 2023.

BARBOSA, K. B. F. *et al.*, Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629–643, ago. 2010.

BOZZALI, M. *et al.*, The Impact of Cognitive Reserve on Brain Functional Connectivity in Alzheimer's Disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 44, n. 1, p. 243–250, 6 jan. 2015.

BROUGHTON, G.; JANIS, J. E.; ATTINGER, C. E. **The Basic Science of Wound Healing. Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 117, n. SUPPLEMENT, p. 12S34S, jun. 2006.

CARLOS VALENCIA BASTO. CICATRIZACIÓN: PROCESO DE REPARACIÓN TISULAR. APROXIMACIONES TERAPÉUTICAS. **Revista Investigaciones Andina**, v. 12, n. 20, p. 85–98, 4 jan. 2010.

CHANDRA, A. *et al.*, Applications of amyloid, tau, and neuroinflammation PET imaging to Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. **Human Brain Mapping**, v. 40, n. 18, p. 5424–5442, 14 set. 2019.

CÉSAR, J.; GUERRA, R. El sistema citocromo P450 y el metabolismo de xenobióticos. **Revista Cubana de Farmacia**, v. 48, n. 3, p. 495–507, 2014.

CHENG, Hao; SHI, Zhe; YUE, Kan; *et al.*, Sprayable hydrogel dressing accelerates wound healing with combined reactive oxygen species-scavenging and antibacterial abilities. **Acta Biomaterialia**, v. 124, p. 219-232, 2021. DOI: 10.1016/j.actbio.2021.01.045

CHEVRET, S. Maximum Tolerable Dose (MTD). **Wiley Encyclopedia of Clinical Trials**, 19 set. 2008.

CHUNG, H.; SHIN, J. Characterization of antioxidant alkaloids and phenolic acids from anthocyanin-pigmented rice (*Oryza sativa* cv. Heugjinjubyeo). **Food Chemistry**, v. 104, n. 4, p. 1670–1677, 2007.

CUBBON, R. M. *et al.*, Importance of insulin resistance to vascular repair and regeneration. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 60, p. 246–263, jul. 2013.

CUI, H.; KONG, Y.; ZHANG, H. Oxidative Stress, Mitochondrial Dysfunction, and Aging. **Journal of Signal Transduction**, v. 2012, n. 646354, p. 1–13, 2012.

CUNNINGHAM, M.; GUPTA, R.; BUTLER, M. Checkpoint inhibitor hepatotoxicity: pathogenesis and management. **Hepatology**, v. Publish Ahead of Print, 13 jan. 2023.

DOYLE, K. P.; SIMON, R. P.; STENZEL-POORE, M. P. **Mechanisms of ischemic brain damage**. **Neuropharmacology**, v. 55, n. 3, p. 310–318, set. 2008.

EL-SHARKAWY, E.; SELIM, Y. Three new coumarin types from aerial parts of *Ammi majus* L. and their cytotoxic activity. *Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*, v. 73, n. 1–2, p. 1–7, 2018

EMANUELLE MENEGAZZO WEBLER; ROSA. Tecnologia farmacêutica na melhoria da solubilidade de medicamentos para hipertensão pulmonar / Pharmaceutical technology in the improvement of the solubility of pulmonar hypertension drugs. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 8, p. 78293–78312, 9 ago. 2021

FARRUGIA, G.; BALZAN, R. Oxidative Stress and Programmed Cell Death in Yeast. **Frontiers in Oncology**, v. 2, n. 64, 21 jun. 2012.

FEDERICO, A. *et al.*, Mitochondria, oxidative stress and neurodegeneration. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 322, n. 1–2, p. 254–262, 2012.

FELIX, D.; ITÁCIO Q. M. PADILHA. Avaliação *in silico* de propriedades farmacocinéticas de compostos antileucêmicos publicados por periódicos científicos. v. 30, n. 1, 30 mar. 2022.

FONSECA, M. A. DE *et al.*, REPERCUSSÃO DE DOENÇAS SISTÊMICAS NO REPARO TECIDUAL. **Journal of Dentistry & Public Health**, v. 3, n. 1, 3 dez. 2012.

FITZMAURICE S. D. *et al.*, Antioxidant therapies for wound healing: a clinical guide to currently commercially available products. **Skin Pharmacol Physiol**. 24(3):113-26. 2011

FU, X. *et al.*, Mesenchymal Stem Cell Migration and Tissue Repair. **Cells**, v. 8, n. 8, p. 784, 28 jul. 2019.

FUJITA, T. *et al.*, Transport of drugs in the kidney by the human organic cation transporter, OCT2 and its genetic variants. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 95, n. 1, p. 25–36, jan. 2006

GABRIELA ALVES MOREIRA *et al.*, The SRPK inhibitor N-(2-(piperidin-1-yl)-5-(trifluoromethyl)phenyl) isonicotinamide (SRPIN340) increases the immune response against metastatic melanoma in mice. **Biochemical Pharmacology**, v. 203, p. 115161–115161, 1 set. 2022.

GAO, Y. *et al.*, How physical techniques improve the transdermal permeation of therapeutics: A review. **Medicine**, v. 101, n. 26, p. e29314, 30 jun. 2022.

GARRIDO, A. *et al.*, hERG toxicity assessment: Useful guidelines for drug design. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 195, p. 112290, jun. 2020.

GHILARDI, S. J.; O'REILLY, B. M.; SGRO, A. E. Intracellular signaling dynamics and their role in coordinating tissue repair. **WIREs Mechanisms of Disease**, v. 12, n. 3, 8 fev. 2020.

GODLEWSKA-ŻYŁKIEWICZ, B. *et al.*, Biologically Active Compounds of Plants: Structure-Related Antioxidant, Microbiological and Cytotoxic Activity of Selected Carboxylic Acids. **Materials**, v. 13, n. 19, 8 out. 2020.

GÓMEZ BENÍTEZ, E. V. Reacciones de trifluorometilación catalizadas por metales de transición. **TECNOCENCIA Chihuahua**, v. 16, n. 1, p. 18–26, 27 jan. 2022.

GRADVOHL, S. T. DE S.; DE AQUINO, M. D. Avaliação dos riscos ecotoxicológicos do reúso de efluentes tratados na piscicultura devido à presença de nitrogênio amoniacal / Evaluation of the ecotoxicological risks of reusing treated effluents in fish farming due to the presence of ammoniacal nitrogen. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 1, p. 4550–4560, 17 jan. 2022.

GULCIN, İ. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. **Archives of Toxicology**, v. 94, n. 3, p. 651–715, mar. 2020.

GUO, S.; DIPIETRO, L. A. Factors Affecting Wound Healing. **Journal of Dental Research**, v. 89, n. 3, p. 219–229, 5 fev. 2020.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Free radicals in biology and medicine. 5. ed. Oxford: Oxford University Press, 2015.

HAMIEH GOSHTASBI *et al.*, Astaxanthin-loaded alginate-chitosan gel beads activate Nrf2 and pro-apoptotic signalling pathways against oxidative stress. **Journal of Microencapsulation**, p. 1–17, 27 fev. 2024.

HEMMATI, A. A.; ALBOGHOBEISH, S.; AHANGARPOUR, A. Effects of cinnamic acid on memory deficits and brain oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic mice. **The Korean Journal of Physiology & Pharmacology**, v. 22, n. 3, p. 257, 2018.

HAYES, J. D.; FLANAGAN, J. U.; JOWSEY, I. R. GLUTATHIONE TRANSFERASES. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 45, n. 1, p. 51–88, 22 set. 2005.

HUANG, D.-W.; SHEN, S.-C. Caffeic acid and cinnamic acid ameliorate glucose metabolism via modulating glycogenesis and gluconeogenesis in insulin-resistant mouse hepatocytes. **Journal of Functional Foods**, v. 4, n. 1, p. 358–366, jan. 2012.

IRINMWINUWA, O. *et al.*, A Critical Review On Ld50 Of Some Medicinal Plant. **European Journal Pharmaceutical and Medical Research**, v. 10, p. 735-746, 2023.

ISAAC, C. *et al.*, Processo de cura das feridas: cicatrização fisiológica. **Revista de Medicina**, v. 89, n. 3/4, p. 125, 19 dez. 2010.

JINDAL, K. REVIEW ON SOLUBILITY: A MANDATORY TOOL FOR PHARMACEUTICALS. **International Research Journal of Pharmacy**, v. 8, n. 11, p. 11–15, 19 dez. 2017.

JOLLIET-RIANT, P.; TILLEMENT, J.-P. Mécanismes de transfert à travers la barrière hémato-encéphalique des nutriments et des médicaments et leurs modifications pharmacologiques. **L' Encéphale (Paris)**, v. 25, n. 2, p. 135–145, 2024.

JOMOVÁ, K. *et al.*, Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging. **Archives of Toxicology**, v. 97, 19 ago. 2023.

JONAI, H. The Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals (GHS). **The Japanese journal of ergonomics**, v. 40, p. 80–81, 2004.

JOSÉ ALEXSANDRO SILVA *et al.*, Administração cutânea de fármacos: desafios e estratégias para o desenvolvimento de formulações transdérmicas. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 31, n. 3, p. 125–131, 1 set. 2010.

K. SADASIVAN PILLAI. Classifying chemicals into toxicity categories based on LC50 values- Pros and cons. **Journal of environmental biology**, v. 44, n. 5, p. i–iii, 2 set. 2023.

KARIMOV, O. K. *et al.*, The reactivity of cinnamic acid derivatives as lignin precursors. **Fine Chemical Technologies**, v. 15, n. 4, p. 7–13, 12 set. 2020.

LARES-ASSEFF, I. *et al.*, La farmacogenética y su importancia en la clínica . **Gac Med Mex**. 2001;137(3):

LANUSSE, C. E. *et al.*, Implicancias fisio-farmacológicas de la glicoproteína-P en animales domésticos. **Analecta Veterinaria**, v. vol. 25, no. 2, 2005.

LAURA FARIA ARAUJO; HENRIQUE, C.; LUIZ FREDERICO MOTTA. *In silico* pharmacokinetic and toxicological study of Cinnamic Acid analogues. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 12, p. 80800–80817, 27 dez. 2022.

LAURA FARIA ARAUJO; HENRIQUE, C.; LUIZ FREDERICO MOTTA. *In silico* pharmacokinetic and toxicological study of Cinnamic Acid analogues. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 12, p. 80800–80817, 27 dez. 2022.

LAUREANO, A.; RODRIGUES, A. M. CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS. **Journal of the Portuguese Society of Dermatology and Venereology**, v. 69, n. 3, p. 355, 28 set. 2011.

LEE, A. G. *et al.*, Cinnamic Acid Attenuates Peripheral and Hypothalamic Inflammation in High-Fat Diet-Induced Obese Mice. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 8, p. 1675, 11 ago. 2022.

LI, W. *et al.*, Studies on intestinal absorption mechanism and influential factors of Cinnamic acid in rats. 1 abr. 2009.

LOBO, I. *et al.*, Erupção a fármaco com eosinofilia e sintomas sistémicos (síndrome DRESS). **DOAJ (DOAJ: Directory of Open Access Journals)**, 1 out. 2008.

LOCH-NECKEL, Gecioni; KOEPP, Janice. The blood-brain barrier and drug delivery in the central nervous system. **Rev Neurol**, v. 51, n. 3, p. 165-74, 2010.

LÓPEZ, S. E.; ROMERO, Á. Grupo trifluorometilo: un sustituyente importante en química medicinal. **Revista de la Facultad de Farmacia**, v. 74, n. 2, p. 40–52, 29 maio 2012.

MARTINS, A. C. *et al.*, Revisão Da Literatura: Avanços E Perspectivas No Tratamento De Alzheimer Em Idosos Com Ênfase Na Barreira Hematoencefálica. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 7, n. 9, p. 624–642, 30 set. 2021.

MALIK, G. *et al.*, Oxygenation therapies for improved wound healing: current trends and technologies. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 10, n. 39, p. 7905–7923, 1 jan. 2022.

MEDEIROS, A. C.; FILHO, A. M. D. Resposta metabólica ao trauma. **JOURNAL OF SURGICAL AND CLINICAL RESEARCH**, v. 8, n. 1, p. 56, 19 out. 2017.

MENDES, F. C. *et al.*, Immunomodulatory activity of trifluoromethyl arylamides derived from the SRPK inhibitor SRPIN340 and their potential use as vaccine adjuvant. **Life Sciences**, v. 307, p. 120849, out. 2022.

MIREN GARCÍA-CORTÉS; JUAN PEDRO TORO-ORTIZ; GARCÍA-GARCÍA, A. Deciphering the liver enigma: distinguishing drug-induced liver injury and metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease—a comprehensive narrative review. p. 318–336, 27 dez. 2023.

MINGOIA, M.*et al.*, Synthesis and Biological Evaluation of Novel Cinnamic Acid-Based Antimicrobials. v. 15, n. 2, p. 228–228, 15 fev. 2022.

NILSSON, L. B. The bioanalytical challenge of determining unbound concentration and protein binding for drugs. **Bioanalysis**, v. 5, n. 24, p. 3033–3050, dez. 2013.

NOOTCHANAT MAIRUAE; NUT PALACHAI; PARINYA NOISA. An anthocyanin-rich extract from *Zea mays* L. var. *ceratina* alleviates neuronal cell death caused by hydrogen peroxide-induced cytotoxicity in SH-SY5Y cells. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, v. 24, n. 1, 17 abr. 2024.

NORTE, J. A. C. Volumen de distribución de fármacos: un dato aparente en farmacología. **Revista ROL de enfermería**, v. 33, n. 10, p. 48–52, 2010.

NOUNI, C.; PANAGIOTIS THEODOSIS-NOBELOS; REKKA, E. A. Antioxidant and Hypolipidemic Activities of Cinnamic Acid Derivatives. *Molecules*, v. 28, n. 18, p. 6732–6732, 21 set. 2023.

OAWEB SOLUÇÕES TECNOLÓGICAS. **RADICAIS LIVRES: UMA NOVA ABORDAGEM.** Disponível em: <<https://www.revistasaudequantica.com.br/Artigos/Fisica-quantica/82-Radicais-livres-uma-nova-abordagem/#:~:text=Os%20Radicaais%20Livres%20s%C3%A3o%20formados>>. Acesso em: 21 set. 2024.

OJO, O. A. *et al.*, Therapeutic Study of Cinnamic Acid Derivative for Oxidative Stress Ablation: The Computational and Experimental Answers. **Molecules**, v. 28, n. 21, p. 7425, 4 nov. 2023.

OLIVEIRA, K. D. L. DE; HAACK, A.; FORTES, R. C. Nutritional therapy in the treatment of pressure injuries: a systematic review. **Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia**, v. 20, n. 4, p. 562–570, ago. 2017.

PECORARO, B. *et al.*, Predicting Skin Permeability by Means of Computational Approaches: Reliability and Caveats in Pharmaceutical Studies. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 59, n. 5, p. 1759–1771, 18 jan. 2019.

PEREIRA, B. C.; PEREIRA, A. K. da T. RADICAIS LIVRES: UMA NOVA ABORDAGEM. *Revista Brasileira de Práticas Integrativas e Complementares em Saúde*, [S. l.], v. 1, n. 1, 2012. Disponível em:

<https://www.revistasuninter.com/revistasauade/index.php/revista-praticas-interativas/article/view/116>. Acesso em: 29 set. 2024.

PEREIRA, D. G. Importância do metabolismo no planejamento de fármacos. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 171–177, fev. 2007.

PILLAI, K. S. *et al.*, Use of LC50 in aquatic regulatory toxicology-Disharmony in global harmonization of hazard classification of chemicals. **ECOTOXICOLOGY AND ENVIRONMENTAL CONTAMINATION**, v. 16, n. 1, p. 91–96, 19 nov. 2021.

PRASUN, P. Mitochondrial dysfunction in metabolic syndrome. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease**, v. 1866, n. 10, p. 165838, out. 2020.

PRISTO, I. CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS: FASES E FATORES DE INFLUÊNCIA. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 6, n. 4, p. 267–271, 2012.

RAMPE, D.; BROWN, A. M. A history of the role of the hERG channel in cardiac risk assessment. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 68, n. 1, p. 13–22, jul. 2013.

RIBEIRO, I.M.L., PEREIRA, W.L., NOGUEIRA, L.B., OLIVEIRA, L.A.M., TEIXEIRA, R.R., NOGUEIRA, K.O.P.C., 2020. Neuroprotective effect of Isobenzofuranones on hydrogen peroxidemediated redox imbalance in primary cultures of hippocampal neurons. **Braz. Arch.Biol. Technol.** 63, 20190072. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2020190072>

RIBEIRO SOARES, R.; DE SOUZA FERREIRA, J.; OLIVA SPAZIANI, A. Importância Do Suporte Nutricional E Da Suplementação Em Pacientes Submetidos A Procedimentos Bariátricos. **Revista ft**, v. 28, n. 138, p. 58–59, 2024.

ROBLES-PIEDRAS, A. L. Importancia Clínica de los Parámetros Farmacocinéticos. **Educación y Salud Boletín Científico Instituto de Ciencias de la Salud Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo**, v. 9, n. 17, p. 57–59, 5 dez. 2020.

RODRÍGUEZ GJC, *et al.*, El sistema citocromo P450 y el metabolismo de xenobióticos. **Rev Cubana Farm.** 2014;48(3):495-507

ROUSSIN, F.; PICARD, N. La glycoprotéine P, une source d'interactions médicamenteuses. **Actualités Pharmaceutiques**, v. 59, n. 601, p. 48–52, dez. 2020.

RUIZ, J.; A. SOUVIRON RODRÍGUEZ; M. MARTÍNEZ MORILLO. La glicoproteína-P una bomba de membrana que representa una barrera a la quimioterapia de los pacientes con cáncer. **Anales de medicina interna**, v. 19, n. 9, 1 set. 2002.

SANTOS, A. R. *et al.*, Mechanisms of Cell Regeneration — From Differentiation to Maintenance of Cell Phenotype. **Cells and Biomaterials in Regenerative Medicine**, 26 nov. 2014.

SANTOS, N M *et al.*, ASSISTÊNCIA DE ENFERMAGEM A PACIENTES COM FERIDAS CRÔNICAS: REVISÃO DE LITERATURA. **Revista Foco**, v. 16, n. 11, p. e3391–e3391, 22 nov. 2023.

SAVJANI, K. T.; GAJJAR, A. K.; SAVJANI, J. K. Drug solubility: Importance and Enhancement Techniques. **ISRN Pharmaceutics**, v. 2012, p. 1–10, 5 jul. 2012.

SAVOLAINEN, K. Commentary: the use of maximum tolerated dose in rodent carcinogenicity bioassays and its relevance to human risk assessment. **Human & Experimental Toxicology**, v. 16, n. 4, p. 190–192, abr. 1997.

SCHLIMME, W. *et al.*, BACTOX, a Rapid Bioassay That Uses Protozoa To Assess the Toxicity of Bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 6, p. 2754–2757, 1 jun. 1999.

SILVA, M. T. DA *et al.*, Os Desafios Na Conduta Terapêutica Em Pacientes Acometidos Com Feridas Crônicas. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 27, n. 3, p. 1242–1268, 31 mar. 2023.

SILVA, N. P. C. DA *et al.*, Efeitos tóxicos de fármacos antidiabéticos como poluentes sob os parâmetros biológicos do peixe zebrafish (*Danio rerio*). **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 13, n. 8, p. e7559, 15 ago. 2021.

SILVA, T. G. DA *et al.*, Avaliação da qualidade de vida de pacientes portadores de feridas crônicas atendidos no ambulatório de cicatrização do Hospital Universitário de Sergipe. **Revista Brasileira de Qualidade de Vida**, v. 9, n. 3, 31 ago. 2017.

SINGH, P. K.; SINGH, R.; SINGH, S. Cinnamic acid induced changes in reactive oxygen species scavenging enzymes and protein profile in maize (*Zea mays* L.) plants grown under salt stress. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 19, n. 1, p. 53–59, 21 set. 2012.

SITI, H. N.; KAMISAH, Y.; KAMSIAH, J. The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease (a review). **Vascular Pharmacology**, v. 71, p. 40–56, ago. 2015.

SMITH, D. A. *et al.*, Volume of Distribution in Drug Design. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 58, n. 15, p. 5691–5698, abr. 2015.

SMITH, D. A. *et al.*, Volume of Distribution in Drug Design. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 58, n. 15, p. 5691–5698, abr. 2015.

SORG, H.; SORG, C. G. G. Skin wound healing: of players, patterns and processes. **European Surgical Research**, 23 nov. 2022.

SRIVALLI, K. M. R.; LAKSHMI, P. K. Overview of P-glycoprotein inhibitors: a rational outlook. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 48, n. 3, p. 353–367, set. 2012.

STOTTS NA; WIPKE-TEVIS D. Co-factors in impaired wound healing. **Ostomy/wound management**, v. 42, n. 2, 2020.

SZWED, D. N.; SANTOS, V. L. P. DOS. Fatores de crescimento envolvidos na cicatrização de pele. **Cadernos da Escola de Saúde**, v. 1, n. 15, 14 mar. 2017.

TEJS, Sebastian. The Ames test: a methodological short review. **Environmental Biotechnology**, v. 4, n. 1, p. 7-14, 2008.

The Ames test: a methodological short review. Disponível em: <<https://www.infona.pl/resource/bwmeta1.element.baztech-article-BAR0-0062-0062/tab/references>>. Acesso em: 21 set. 2024.

TOHAMY, A. A. *et al.*, Cinnamic acid Attenuates Cisplatin-Induced Hepatotoxicity and Nephrotoxicity. v. 3, n. 1, p. 1–9, 1 jan. 2016.

TOUTAIN, P. L.; BOUSQUET-MÉLOU, A. Plasma clearance. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 27, n. 6, p. 415–425, 1 dez. 2004.

VENDITTI, P.; DI MEO, S. The Role of Reactive Oxygen Species in the Life Cycle of the Mitochondrion. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 6, p. 2173, 21 mar. 2020.

VENKATAPATHY, R.; MOUDGAL, C. J.; BRUCE, R. M. Assessment of the Oral Rat Chronic Lowest Observed Adverse Effect Level Model in TOPKAT, a QSAR Software Package for Toxicity Prediction. **Journal of Chemical Information and Computer Sciences**, v. 44, n. 5, p. 1623–1629, set. 2004.

VERSTUYFT, C.; BECQUEMONT, L.; MOULY, S. Farmacocinética de los medicamentos. **EMC - Tratado de Medicina**, v. 26, n. 1, p. 1–9, 1 mar. 2022.

VICTORIO, R.; ANDRICOPULO, A. D. Modelagem Molecular de Fármacos. **Revista processos químicos**, v. 2, n. 4, p. 24–36, 1 jul. 2008.

VIEIRA, S. *et al.*, CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS: TOXICIDADE DOS INSUMOS FARMACÊUTICOS EM TERAPIAS GENÉTICAS COM FINALIDADES INOVÁVEIS EM SAÚDE. 21 set. 2023.

WANG, K. *et al.*, Design, synthesis and evaluation of cinnamic acid hybrids as multi-target-directed agents for the treatment of Alzheimer's disease. **Bioorganic Chemistry**, v. 112, p. 104879, jul. 2021.

WOOD-KACZMAR, A. *et al.*, The Role of the Mitochondrial NCX in the Mechanism of Neurodegeneration in Parkinson's Disease. **Advances in experimental medicine and biology**, p. 241–249, 25 out. 2012.

YADAV, K. *et al.*, Techniques For Increasing Solubility: A Review Of Conventional And New Strategies. **Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development**, v. 10, n. 2, p. 144–153, 16 maio 2022.

YOSHIOKA, Y.; OSE, Y.; SATO, T. Testing for the toxicity of chemicals with *Tetrahymena pyriformis*. **The Science of the Total Environment**, v. 43, n. 1-2, p. 149–157, 1 maio 1985.

ZHANG, J. *et al.*, Construction of cinnamic acids derived β -cyclodextrins and their emodin-based inclusions with enhanced water solubility, excellent antioxidant and antibacterial activities. **Colloids and Surfaces A Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 606, p. 125382–125382, 4 ago. 2020.

ZHAO, Y. *et al.*, Factors influencing the blood-brain barrier permeability. **Brain Research**, v. 1788, p. 147937, ago. 2022.

ZUCOLOTTO, T. E. *et al.*, Cicatrização de feridas: uma revisão sob o escopo cirúrgico. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 6, n. 6, p. 31210–31220, 12 dez. 2023.