

**UNIVERSIDADE FEEVALE**

**Mestrado Acadêmico em Toxicologia e Análises Toxicológicas**

**Relatório Técnico**

Este RELATÓRIO, PRODUTO TÉCNICO foi gerado a partir da dissertação: “Análise toxicológica preditiva: *in silico*, *in vivo* e *in vitro* da hidroquinona” da aluna Andressa Bernardi, do Mestrado Acadêmico em Toxicologia e Análises Toxicológicas da Universidade FEEVALE.

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Edna Sayuri Suyenaga

Novo Hamburgo

Outubro/2024

**Título.** Aplicação de métodos *in silico* para análise toxicológica preditiva de xenobióticos.

**Tipo de Produto Técnico.** Relatório Técnico.

**Finalidade:** Este trabalho teve como finalidade analisar preditivamente a toxicidade da hidroquinona, através de recursos computacionais. Estas análises permitiram realizar triagem toxicológica, bem como obter informações relevantes sobre as características físico-químicas deste xenobiótico, previamente à realização de ensaios *in vitro* e *in vivo*. Também permitiu identificar fragmentos estruturais conhecidamente tóxicos, previamente computados no banco de dados RTECS (*Registry of Toxic Effects of Chemical Substances*).

**Impacto econômico ou social:** A busca de métodos, que visem a redução da utilização de animais experimentais, tem sido cada vez maior. Reflexo de uma exigência de uma considerável parcela da sociedade mundial, fazendo com que muitas agências reguladoras incentivem pesquisas que visem os princípios dos 3Rs. Estes princípios têm o objetivo de substituir (*replacement*), reduzir (*reduction*) e refinar (*refine*) o uso de animais em pesquisas científicas. De certa maneira, também contribuem na redução de custos no desenvolvimento de fármacos e nas avaliações de risco toxicológicos de xenobióticos. A utilização de modelos *in silico* se faz muito útil, pois permite personalizar e refinar modelos experimentais, tanto *in vitro* como *in vivo*.

Universidade FEEVALE  
Outubro/2024

**Autoras:**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Edna Sayuri Suyenaga – Mestrado Acadêmico em Toxicologia e Análises Toxicológicas- Universidade FEEVALE

Andressa Bernardi- Mestrado Acadêmico em Toxicologia e Análises Toxicológicas- Universidade FEEVALE

**Instituição:**

Universidade FEEVALE- Campus II

Endereço: RS 239, n. 2755 – Universidade Feevale. Campus II. Novo Hamburgo-RS

## RESUMO

O método *in silico* permite analisar, simular ou prever a toxicidade de xenobióticos através de abordagens computacionais. Esses modelos computacionais são baseados em informações experimentais, relações estrutura-atividade (REA) e conhecimento científico, disponibilizados em banco de dados virtuais. É possível obter descritores sobre o perfil farmacocinético e toxicológico, através de programas gratuitos, como ADMETLab (<https://admetmesh.scbdd.com/service/evaluation/cal>) e SmartCyp ([https://smartcyp.sund.ku.dk/mol\\_to\\_som](https://smartcyp.sund.ku.dk/mol_to_som)). Propriedades físico-químicas podem ser analisadas pelos programas Molview ([www.molview.com](http://www.molview.com)) e Osiris Property Explorer (<https://www.organic-chemistry.org/prog/peo>), os quais são devidamente validados e publicados na *Regulatory Toxicology and Pharmacology* (RTP). Esta análise *in silico* permitiu obter valores de lipofilia (cLogP), solubilidade (cLogS) e riscos tóxicos em relação a efeitos mutagênicos (ricos de interação com o DNA, causando mutações), irritantes (ao organismo), tumorigênicos (risco de causar tumores) da hidroquinona. Como resultados, os descritores da análise *in silico* indicaram potencial tóxico deste xenobiótico na sensibilização cutânea, irritação/corrosão ocular, genotoxicidade e carcinogenicidade. Isso se deve à alta reatividade química desta substância, alertado pelos seus fragmentos estruturais e confirmado pelas suas propriedades físico-químicas, que conferem à molécula potencial ação sistêmica. Desta forma, foi possível realizar uma triagem experimental para o seguimento de testes *in vitro* e *in vivo* da hidroquinona.

**Palavras-chaves:** toxicologia, preditiva, *in silico*.

## 1 INTRODUÇÃO

O melasma é uma hiperpigmentação em regiões da pele muito comum que acomete ambos os sexos, mas sua maior incidência ocorre em mulheres. A radiação UV, gestação, mudança hormonal e predisposição genética, são fatores que estimulam a produção de melanócitos. As hiperpigmentações do melasma apresentam uma coloração marrom e podem ser classificados através da lâmpada de Wood em epidérmico, dérmico e misto. Essas manchas carregam um impacto psicossocial significativo e o tratamento é desafiador, tanto para o paciente quanto para o profissional (PASSERON; PICARDO, 2018; DA SILVA et al., 2023).

A demanda por produtos para tratamento do melasma tem aumentado significativamente nos últimos anos e os agentes clareadores tópicos são considerados padrão ouro para essa hiperpigmentação. A hidroquinona (HQ) tópica tem sido utilizada há anos para tratar essas condições, é um agente clareador eficaz, mas várias preocupações foram levantadas sobre esse agente amplamente utilizado (SHIVARAM; EDWARDS; MOHAMMAD, 2024).

A HQ é um composto orgânico aromático que, na temperatura e pressão ambiente se torna um sólido granular branco, é solúvel em água, metanol e éter, sua fórmula química é  $C_6H_4(OH)_2$ . A HQ também é chamada de benzeno-1,4-diol, 1,4-dihidroxibenzeno ou ainda quinol, o qual é um tipo de fenol. Inicialmente foi encontrada na fumaça do cigarro, em fontes industriais, como antioxidante na fabricação de borracha, inibidor de polimerização de monômeros vinílicos e acrílicos, estabilizador químico, reveladores fotográficos, vernizes, combustíveis e óleos para motores. Na década de 1930, a HQ foi descoberta como um agente despigmentante, por meio da inibição da oxidação da tirosina na via de biossíntese da melanina (ENGUITA; LEITÃO, 2013; MESKHER; ACHI, 2022; GAN; RODRIGUES, 2024).

Assim, a HQ é um produto químico com alto volume de consumo e está presente em águas residuais de diferentes indústrias, como a indústria farmacêutica, petroquímica e refinarias, e pode, portanto, contaminar os ambientes aquáticos (AKBARBANDARI; ZABIHI; FATEHIFAR, 2021;

MESKHER; ACHI, 2022).

Por ser um derivado do benzeno e por causar diversas reações cutâneas adversas, surgiram questionamentos sobre a sua segurança, bem como, a proibição de comercialização em alguns países. Em agosto de 2006, a *Food and Drug Administration* (FDA) dos EUA divulgou uma declaração propondo a proibição da HQ de venda livre (OTC), ou seja, somente com prescrição médica. Outros países, como, Japão, Austrália e União Europeia seu uso em cosméticos é proibido, porém, no Brasil, a comercialização ainda é livre (SHIVARAM; EDWARDS; MOHAMMAD, 2024; WESTERHOF; KOOYERS, 2005).

Estudos em humanos com a HQ mostram forte incidência para dermatose, como bolhas e coceiras. Também foram observadas pigmentações com alteração na textura da pele, ocronose exógena, colágeno anormal, alterações pigmentares, telangiectasias, degeneração da córnea e diversas alterações intersticiais (LEVITT, 2007; SHIVARAM; EDWARDS; MOHAMMAD, 2024).

Estudos com roedores mostraram efeitos genotóxicos e danos no DNA a partir de testes *in vivo* quanto *in vitro*. Também foi verificada alterações no sistema nervoso central, confirmando, que a HQ causa efeitos estimulantes agudos no sistema nervoso central. A HQ induziu leucemia de células mononucleares, tumores de células tubulares, toxicidade renal e câncer de fígado em ratos e camundongos (TOPPING et al., 2007; ENGUITA; LEITÃO, 2013; KARI et al., 1992).

De acordo com a classificação e rotulagem harmonizadas (ATP01) aprovada pela União Europeia (Agência Europeia de Produtos Químicos, ECHA), a HQ pode causar sérios danos à saúde, incluindo defeitos genéticos. Embora haja uma pequena liberação natural de HQ por plantas e animais, as utilizações industriais e as suas descargas são a principal causa da dispersão de HQ no ambiente. A agência de proteção ambiental dos Estados Unidos e a União Europeia listaram HQ como poluente ambiental, altamente tóxico e pouco degradável, portanto, pode prejudicar a saúde humana e o meio ambiente (VALENZUELA et al., 2024; AHMED et al., 2024).

Estudos ambientais demonstraram que a HQ foi potencialmente tóxica

para organismos aquáticos, como *Pimephales promelas*, *Brachydanio rerio*, *Daphnia magna*, *Desmodesmus armatus*, *Synechocystis* sp. , *Nostoc* sp. e *Microcystis aeruginosa* (ENGUITA; LEITÃO, 2013).

Os princípios dos 3Rs foram criados no fim de 1950, com o objetivo de substituir (replacement), reduzir (reduction) e refinar (refine) o uso de animais em pesquisas científicas. A proteção dos seres humanos, a garantia do bem-estar animal e minimizar a exposição dos animais em testes são os objetivos principais da criação do programa (RUSSELL; BURCH, 1959; HAMPSHIRE; GILBERT, 2019).

Deve-se tentar em primeiro lugar, substituir o modelo animal por um ensaio alternativo. Na definição de Russell e Burch (1959), substituição é descrita como: “qualquer método científico que emprega material não senciente que pode, na história da experimentação, substituir métodos que usam vertebrados vivos conscientes”. Sendo assim, a suposição é que quanto menos sofisticado for o desenvolvimento neurológico, menor será o de sofrimento causado por procedimentos experimentais (VITALE; MANCIOCCO; ALLEVA, 2009).

Na redução, o pesquisador deve tentar ao máximo reduzir o número de indivíduos utilizados nos protocolos experimentais. São utilizados métodos estatísticos apropriados, que determinam o número mínimo de animais necessários em um determinado desenho experimental, outras formas de reduzir o número é o aprimoramento e o avanço das técnicas experimentais, como o uso de tecnologia de imagem (VITALE; MANCIOCCO; ALLEVA, 2009).

E por último, o refinamento, que é utilizado quando não podemos usar técnicas de substituição completas e todos os recursos da teoria e da prática foram empregues para reduzir ao mínimo o número de animais usados em um determinado experimento. Russell e Burch (1959), indicaram refinamento como “qualquer diminuição na incidência ou severidade de procedimentos desumanos aplicados aos animais que ainda serão usados” (VITALE; MANCIOCCO; ALLEVA, 2009).É possível reduzir o número de experimentos biológicos e otimizar a qualidade das informações obtidas, a partir de análises *in silico* (BASSAN et al., 2021).

A toxicologia *in silico* é um componente útil no processo de avaliação da

toxicidade de produtos químicos e que também visam diminuir o uso de experimentos com animais, conforme sugerido nos princípios dos 3R de Russell e Burch (1959). Os métodos *in silico* estão em constante desenvolvimento, e é previsto que os métodos computacionais se expandam com a finalidade de incluir modelos novos e específicos, para que possam fornecer informações mais precisas, comparar e combinar resultados, personalizar e refinar modelos experimentais à medida que novas informações se tornem disponíveis nos dados de bancos (RAIES; BAJIC, 2016).

O método *in silico* analisa, simula, visualiza ou prevê a toxicidade de produtos químicos através de abordagens computacionais, a citar a análise de citotoxicidade e mutagenicidade de um composto (MYATT, 2018; RAIES; BAJIC, 2016; BASSAN et al., 2021). É possível obter descritores sobre o perfil farmacocinético e toxicológico, através do programa ADMETLab (<https://admetmesh.scbdd.com/service/evaluation/cal>), bem como características físico-químicas, pela análise *in silico* utilizando os programas Molview ([www.molview.com](http://www.molview.com)) e Osiris/DataWarrior (<https://www.organic-chemistry.org/prog/peo>).

## **METODOLOGIA**

A estrutura tridimensional da HQ foi otimizada com auxílio do programa Molview. Para as análises preditivas foram pesquisados os descritores moleculares: i) peso molecular (MW); ii) coeficiente de partição octanol/água (LogP); iii) grupamentos aceptores de elétrons (HBA); iii) área de superfície polar topológica (TPSA); v) permeabilidade via barreira hematoencefálica (BBB); vi) ligação às proteínas plasmáticas (PPB); vii) potenciais riscos toxicológicos (carcinogenicidade, genotoxicidade, irritação cutânea, citotoxicidade (A549), irritação ocular e corrosão ocular) estes descritores foram obtidos através de programas gratuitos, como o perfil toxicocinético pelo ADMETLab (<https://admetmesh.scbdd.com/service/evaluation/cal>) e SmartCyp ([https://smartcyp.sund.ku.dk/mol\\_to\\_som](https://smartcyp.sund.ku.dk/mol_to_som)). Quanto às propriedades físico-químicas podem pelos programas Molview ([www.molview.com](http://www.molview.com)) e Osiris

*Property Explorer* (<https://www.organic-chemistry.org/prog/peo>), os quais são devidamente validados e publicados na *Regulatory Toxicology and Pharmacology* (RTP).

## RESULTADOS

Atualmente, ferramentas computacionais têm sido amplamente utilizadas experimentalmente. Os Quadros 1 e 2 apresentam as informações químicas e físico-químicas da HQ.

Quadro 1 - Descritores químicos da HQ

Nomenclatura IUPAC/ CAS	benzeno-1,4-diol/ número: 123-31-9
Fórmula Molecular	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>
Peso Molar	110,11 g/mol
TPSA (Topological Polar Área de superfície topográfica)	40,46 Å
Número de grupos aceptores de elétrons	2
Flexibilidade molecular	zero
Faixa de fusão	202- 203 °C
Smiles	OC1=CC=C(O)C=C1

Fonte: Osiris Property Explorer e Molview

Quadro 2 - Descritores físico-químicos da HQ

PARÂMETRO	HIDROQUINONA
M Log P (o/a)	0,79
Log S (Solubilidade)	-1,02 g/L

Fonte: Osiris Property Explorer

Analisando as informações químicas e físico-químicas, a HQ tem peso molecular inferior a 500 gg/mol, LogP inferior a 4,15. Possui menos de 10 átomos de oxigênio (O= 2 átomos) e menos que 5 grupos hidroxila (OH= 2 grupos). Tem carácter lipofílico, pois o valor de Log S é inferior a zero (Log S= -1,02 g/L) e MLogP superior a 1,0 (M LogP= 0,79).

Para ilustrar a distribuição das propriedades físico-químicas, o gráfico em radar (Figura 1) sumariza as seis propriedades físico-químicas relacionadas ao potencial efeito sistêmico: lipofilia (LIPO), tamanho da molécula (SIZE), polaridade (POLAR), solubilidade (INSOLU), saturação/ fração de carbonos no sp<sup>3</sup> (INSATU) e flexibilidade molecular (FLEX). Dentre as seis propriedades, a HQ atende 5 propriedades, as quais se concentram na área rósea, a qual considera uma farmacocinética favorável para uma potencial ação sistêmica (AdmetLab). A insaturação se deve à ressonância eletrônica das duplas conjugadas do anel aromático da HQ, os quais não permitem solubilidade em meio aquoso.

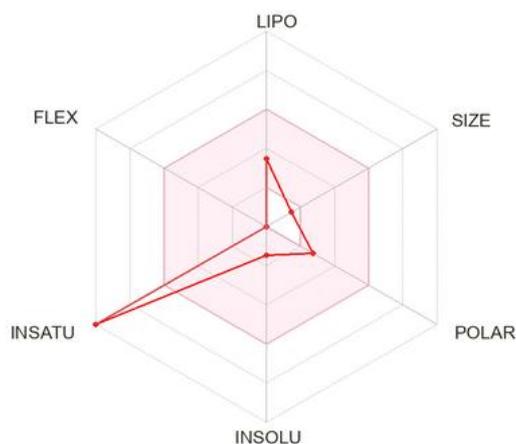


Figura 1: Representação gráfica sobre as características químicas e físico-químicas da hidroquinona. Legenda: LIPO: lipofilia, SIZE: tamanho da molécula, POLAR: polaridade, INSOLU: solubilidade em meio lipofílico, INSATU: saturação/ fração de carbonos no sp<sup>3</sup>, FLEX: flexibilidade molecular. Fonte AdmetLab

A densidade eletrônica foi representada pela análise de superfície topográfica polar (TPSA) (Figura 2). A área destacada em coloração vermelha

se deve à ressonância das insaturações do anel aromático. Quanto à coloração azul, aos aceptores de elétrons presentes na molécula. Os dois grupos hidroxila e a extensão da conjugação estrutural (representados pela coloração amarelo-esverdeado) conferem a altamente reatividade química desta substância.

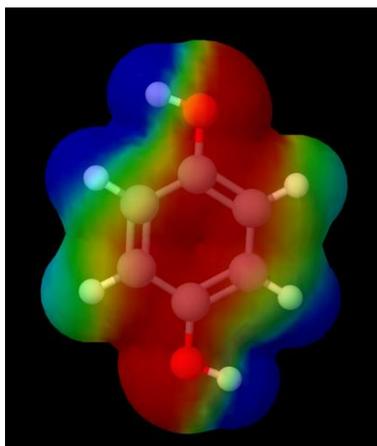


Figura 2 - Superfície topológica polar (TPSA) da hidroquinona. Fonte: Molview

As informações sobre o perfil farmacocinético da HQ, foi empregado o software AdmetLab. No Quadro 3 são apresentadas as seguintes informações sobre as características farmacocinéticas da HQ (Quadro 3).

Quadro 3 - Descritores farmacocinéticos da hidroquinona

Ligação às proteínas plasmáticas	47,09%
Clearance	17,25 mL/min/kg
Tempo de meia-vida	0,90/ h
Log Kp (permeação cutânea)	-6,55 cm/s
Passagem pela barreira	Sim (0,049), pois log BB> -0,1

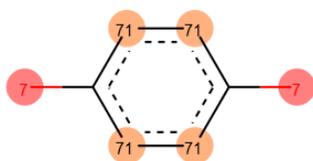
hematoencefálica  (Log BBB)	
-----------------------------------	--

Fonte: AdmetLab

Em relação ao metabolismo, a análise preditiva *in silico* da HQ foi realizada pelo software SmartCyp. Esta molécula não inibe as enzimas CyP1A2, CyP2C19, CyP2C9, CyP2D6. Porém, inibe o sistema CyP3A4, cujos escores atribuídos aos carbonos (codificados como 71) e oxigênios (codificados como 7) são superiores a zero (Figura 3). O parâmetro “Relative Span”, apresenta escore 1,0 para oxigênio, para os átomos de carbono, 0,6. Isso impedirá a oxidação dos carbonos aromáticos e de ligações duplas, inibindo a geração de metabólitos enólicos, como benzoquinona.

Figura 3: Análise preditiva da inibição da enzima CyP3A4 pela hidroquinona.

1



3A4 Ranking	Atom	3A4 Score	Energy	2DSASA	Span2end	Relative Span	Similarity
1	O.1	7.0	15.0	0.0	0	1.0	1.0
2	C.3	71.1	77.2	32.2	2	0.6	0.7

Fonte: AdmetLab

O programa AdmetLab permite prever a potencial toxicidade, através de algoritmos (Quadro 4). Foram selecionados os seguintes parâmetros: sensibilidade cutânea, irritação ocular, corrosão ocular, carcinogenicidade, citotoxicidade e genotoxicidade, tendo em vista o emprego tópico da HQ, apresentação farmacêutica disponível no Brasil.

Quadro 4 - Descritores toxicológicos da hidroquinona

PARÂMETRO	ALGORITMO	TOXICIDADE
Sensibilização cutânea	0,91	Alta
Irritação ocular	0,98	Alta
Corrosão ocular	0,98	Alta
Carcinogênico	0,72	Alta
Citotoxicidade (A549)	0,51	Moderada
Genotoxicidade	0,93	Alta

Fonte: AdmetLab

Valores inferiores a 0,3 são considerados inócuos. Valores entre 0,4 a 0,6 moderadamente tóxicos e, entre a faixa de 0,7 a 1,0, altamente tóxicos. Desta forma, a HQ apresenta citotoxicidade (A549) moderadamente tóxica, por estar na faixa de 0,4 a 0,6 e alta toxicidade em promover a sensibilização cutânea (0,91), genotoxicidade (0,93), irritação ocular(0,98), corrosão ocular (0,98), bem como carcinogênico (0,72), uma vez que os valores calculados estão na faixa de 0,7 a 1,0.

## DISCUSSÃO

Através das análises *in silico*, pode-se observar a alta reatividade química da HQ pela análise de superfície topográfica polar (TPSA) (Quadro 1). A presença de aceptores de elétrons permite a possibilidade de formação de quelatos com metais. Desta forma, a HQ é capaz de inibir a enzima tirosinase, a qual possui átomo de cobre. Segundo Patil, Sistla e Jadhav (2016) o mecanismo de ação da HQ é inibir a enzima tirosinase, a qual atua na formação de pigmentos, a citar a melanina.

A HQ possui caracter lipofílico, pois o valor de Log S é igual a -1,02 g/L. Desta forma, pode apresentar uma boa permeação cutânea, podendo então atuar sobre os melanócitos, indica que a preparação da formulação tópica, corroborado pelo valor de Log Kp, cujo valor de permeação cutânea foi de -6,55 cm/s, sendo valor inferior a zero (Quadro 2 e 3).

A alta toxicidade da HQ pode ser justificada pela sua alta reatividade química, como foi observado na representação da superfície topológica polar (TPSA) da HQ (Figura 2).

Devido às suas propriedades físico-químicas observadas no Quadro 1, a HQ atende a regra de Lipinski. Sendo uma molécula de peso molecular inferior a 500 g/mol e lipofílica, pode apresentar uma alta biodisponibilidade se administrado por via oral. Através do programa AdmetLab, o seu perfil farmacocinético apresenta alta absorção gastrointestinal. Além disso, é capaz de atravessar a barreira hematoencefálica (Quadro 3), podendo interferir na metabolização de neurotransmissores como a dopamina, uma vez que inibe a enzima tirosinase (Patil, Sistla e Jadhav, 2016).

Desta forma, a HQ não pode ser administrada por via oral (DRUGBANK-online- <https://go.drugbank.com/drugs/DB09526>), devido à sua potencial toxicidade, bem como interferir na metabolização hepática, por inibir a enzima CYP3A4, importante enzima envolvida na catalisação de muitas reações envolvidas no metabolismo de medicamentos e na síntese de colesterol, esteroides e de outros lipídeos (NBI- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1576>).

## REFERÊNCIAS

AKBARBANDARI, Fatemeh; ZABIHI, Mohammad; FATEHIFAR, Esmaeil. Remarkable adsorption of hydroquinone as an anion contaminant by using the magnetic supported bimetallic (NiCu-MOF@ MAC) nanocomposites in aqueous solutions. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 28, p. 69272-69285, 2021.

AHMED, Yousef M. et al. Electrochemical sensor based on PEDOT/CNTs-graphene oxide for simultaneous determination of hazardous hydroquinone, catechol, and nitrite in real water samples. *Scientific Reports*, v. 14, n. 1, p. 5654, 2024.

BASSAN, Arianna et al. In silico approaches in organ toxicity hazard assessment: current status and future needs in predicting liver toxicity. *Computational Toxicology*, v. 20, p. 100187, 2021.

DA SILVA, Ana Cleia Cardoso et al. Analysis of the antimelanogenic activity of zinc and selenium in vitro. *Archives of Dermatological Research*, v. 315, n. 10, p. 2805-2812, 2023.

DRUGBANK-online- <https://go.drugbank.com/drugs/DB09526>

ENGUITA, Francisco J.; LEITÃO, Ana Lúcia. Hydroquinone: environmental pollution, toxicity, and microbial answers. *BioMed Research International*. v. 2013, p. 01-15, 2013.

HAMPSHIRE, Victoria A.; GILBERT, Samuel H. Refinement, reduction, and replacement (3R) strategies in preclinical testing of medical devices. *Toxicologic pathology*, v. 47, n. 3, p. 329-338, 2019.

LEVITT, Jacob. The safety of hydroquinone: a dermatologist's response to the 2006 Federal Register. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 57, n. 5, p. 854-872, 2007.

KARI, F. W. et al. Toxicity and carcinogenicity of hydroquinone in F344/N rats and B6C3F1 mice. *Food and chemical toxicology*, v. 30, n. 9, p. 737-747, 1992.

MESKHER, Hicham; ACHI, Fethi. Electrochemical Sensing Systems for the Analysis of Catechol and Hydroquinone in the Aquatic Environments: A Critical Review. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, p. 1-14, 2022.

MYATT, Glenn J. et al. In silico toxicology protocols. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v. 96, p. 1-17, 2018.

NBI- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1576>

PASSERON, Thierry; PICARDO, Mauro. Melasma, a photoaging disorder. *Pigment Cell & Melanoma Research*. v. 31, n. 4. p. 461-465, 2018.

PATIL S, SISTLA S, JADHAV J: Interaction of small molecules with human tyrosinase: A surface plasmon resonance and molecular docking study. *Int J Biol Macromol*. 2016 Aug 9;92:1123-1129. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.07.043

RAIES, Arwa B.; BAJIC, Vladimir B. In silico toxicology: computational methods for the prediction of chemical toxicity. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, v. 6, n. 2, p. 147-172, 2016.

RUSSELL, William Moy Stratton; BURCH, Rex Leonard. *The principles of humane experimental technique*, Methuen, 1959.

SHIVARAM, Kavya; EDWARDS, Katherine; MOHAMMAD, Tasneem F. An update on the safety of hydroquinone. *Archives of Dermatological Research*, v. 316, n. 7, p. 378, 2024.

TOPPING, Douglas C. et al. Hydroquinone: acute and subchronic toxicity studies with emphasis on neurobehavioral and nephrotoxic effects. *Food and chemical toxicology*. v. 45, n. 1, p. 70-78, 2007.

VALENZUELA, Antonio et al. Hydroquinone Ecotoxicity: Unveiling Risks in Soil and River Ecosystems with Insights into Microbial Resilience. *Toxics*, v. 12, n. 2, p. 115, 2024.

VITALE, Augusto; MANCIOCCO, Arianna; ALLEVA, Enrico. The 3R principle and the use of non-human primates in the study of neurodegenerative diseases: the case of Parkinson's disease. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v. 33, n. 1, p. 33-47, 2009.

WESTERHOF, Wiete; KOOYERS, T. J. Hydroquinone and its analogues in dermatology—a potential health risk. *Journal of cosmetic dermatology*, v. 4, n. 2, p. 55-59, 2005.