

Avaliação da toxicidade *in silico* do monoterpeno ascaridol
Evaluation of *in silico* toxicity of monoterpene ascaridol
Evaluación de la toxicidade *en silico* de ascaridol monoterpeno

Recebido: 19/03/2020 | Revisado: 19/03/2020 | Aceito: 01/04/2020 | Publicado: 01/04/2020

Maria Tays Pereira Santana

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6503-7117>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: taayssantana@gmail.com

Thallita Alves dos Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7100-5023>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: thallita_28@hotmail.com

Lucas Linhares Gomes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6626-4824>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: lucaslinharesg@hotmail.com

Heloisa Mara Batista Fernandes de Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8237-9920>

Hospital Universitário Ana Bezerra, Brasil

E-mail: Heloisambf@gmail.com

Gymenna Maria Tenório Guênes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5447-0193>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: gymennat@yahoo.com.br

Maria Angélica Sátyro Gomes Alves

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3329-8360>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: angelicasatyro@hotmail.com

Elizandra Silva da Cunha

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6264-5232>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: elizandrapenha@hotmail.com

Raline Mendonça dos Anjos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0751-7523>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: raline.anjos@gmail.com

Vinícius Filgueiras de Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2584-3624>

Universidade Federal da Paraíba, Brasil

E-mail: filgueirasv@gmail.com

Aleson Pereira de Sousa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3430-477X>

Universidade Federal da Paraíba, Brasil

E-mail: aleson_155@hotmail.com

Abrahão Alves de Oliveira Filho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7466-9933>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: abrahao.farm@gmail.com

Resumo

O objetivo do presente estudo foi avaliar a toxicidade *in silico* do monoterpene ascaridol. Na avaliação da toxicidade foi realizado estudo *in silico* usando a ferramenta AdmetSAR para determinar o Potencial Mutagênico AMES, Toxicidade Oral Aguda (TOA), Potencial Carcinogênico (PC) e Carcinogenicidade (Car). Após a análise da substância foi observado que este não apresentou potencial mutagênico pelo teste de AMES, revelando baixo potencial carcinogênico e teve uma TOA com categoria II, que mostrou DL50 variando de 50mg/Kg – 500mg/Kg. Os resultados demonstram que o ascaridol apresenta ausência nos potenciais mutagênicos, carcinogênico e TOA moderada, tais características que torna essa substância viável para futuras análises *in vitro* e *in vivo* buscando melhor uso do seu potencial bioativo em alvos terapêuticos.

Palavras - Chave: Ascaridol, toxicidade, estudo *in silico*.

Abstract

The aim of the present work is to evaluate the *in silico* toxicity of the monoterpene ascaridol. In the evaluation of toxicity, an *in silico* study was performed using the AdmetSAR tool to determine AMES Mutagenic Potential, Acute Oral Toxicity (TOA), Carcinogenic Potential

(CP) and Carcinogenicity (Car). After the analysis of the substance it was observed that it did not present mutagenic potential by the AMES test, revealing low carcinogenic potential and had a TOA with category II, which showed LD50 ranging from 50mg\Kg - 500mg\Kg. The results demonstrate that ascaridol is absent in mutagenic, carcinogenic and moderate TOA potentials, such characteristics that make this substance viable for future *in vitro* and *in vivo* analyzes seeking better use of its bioactive potential in therapeutic targets.

Key words: Ascaridol, toxicity, *in silico* study

Resumen

El objetivo del presente trabajo es evaluar la toxicidad *in silico* del ascaridol monoterpeneo. En la evaluación de la toxicidad, se realizó un estudio *in silico* utilizando la herramienta AdmetSAR para determinar el potencial mutagénico de AMES, la toxicidad oral aguda (TOA), el potencial carcinogénico (CP) y la carcinogenicidad (automóvil). Después del análisis de la sustancia, se observó que la prueba AMES no presentaba potencial mutagénico, lo que revelaba un potencial carcinogénico bajo y tenía un TOA con categoría II, que mostró LD50 que oscilaba entre 50 mg\Kg - 500 mg\Kg. Los resultados demuestran que el ascaridol está ausente en potenciales mutagénicos, cancerígenos y moderados de TOA, características que hacen que esta sustancia sea viable para futuros análisis *in vitro* e *in vivo* que buscan un mejor uso de su potencial bioactivo en objetivos terapéuticos.

Palabras clave: Ascaridol, toxicidad, estudio *in silico*

1. Introdução

A utilização criteriosa da fitoterapia no sistema público de saúde pode ser uma boa alternativa para a diminuição do custo dos medicamentos e, conseqüentemente, mais um estímulo para a produção de plantas medicinais (Lourenzani, Lourenzani & Batalha, 2004). Entretanto, para que tenha o aumento do uso dos fitomedicamentos é necessária a comprovação científica da eficácia e segurança desses compostos, pois, pelo código de ética profissional, não se pode optar por tratamentos sem comprovação científica definitiva, o que impede o uso de muitos produtos fitoterápicos, em relação aos sintéticos químicos (Soyama, 2007).

Inúmeras espécies de plantas medicinais apresentam uma ampla eficiência contra diversos tipos de doenças, mas sua atividade biológica está ligada aos componentes químicos originados do metabolismo secundário destas plantas, produtos como: flavonóides, taninos e

terpenos (Bonifácio et al., 2014). Dentre os terpenos, o Ascaridol é uma substância orgânica de origem natural pertencente à classe dos monoterpenos bicíclicos e que apresenta uma ponte formada pelo grupo funcional peróxido, comumente encontrado no óleo essencial do boldo do Chile (*Peumus boldus*) e da erva de Santa Maria ou mentruz (*Chenopodium ambrosioides*) (Azambuja, 2019).

Estudos recentes demonstram que o Ascaridol apresenta inúmeras atividades farmacológicas tais como: atividade antiparasitária, antimalárica, antifúngica, hipotensora, relaxante muscular, estimulante respiratório, depressora cardíaca, antibacteriana, antitumoral e atividade analgésica (Ferreira, 2013).

O Brasil possui uma vasta variedade de espécies vegetais, logo o uso elevado de plantas medicinais pela população é justificado pela procura de terapias alternativas aos medicamentos sintéticos, pois há muitos recursos naturais existentes em nosso território, além do custo dessa prática ser relativamente baixo e, até mesmo, por questões culturais (Oliveira et al., 2006; Mariz, 2007).

O uso de produtos naturais no tratamento de doenças possui uma longa trajetória, sempre na tênue linha divisória entre o custo e benefício, ou seja, entre a restauração da saúde e o surgimento de efeitos colaterais e/ou adversos. Isso talvez ocorra, principalmente, pelo fato de que o uso "terapêutico" de plantas e seus derivados se expandiram através de conhecimento popular como algo inofensivo, sugerindo que terapias naturais são isentas de efeitos indesejáveis. Neste contexto, há incoerência onde os registros de intoxicação humana por plantas revela mau uso dos recursos naturais pela população, inclusive por aquelas usadas como medicinais (Lai et al., 2006; Sinitox, 2010).

Dessa forma além da análise da ação biológica no estudo de um vegetal é importante a realização de ensaios toxicológicos, para a obtenção de informações que garantem a segurança em seu uso no mercado, a avaliação toxicológica visa observar, os níveis de ingestão das substâncias e os possíveis efeitos colaterais, que podem surgir no organismo após sua administração (Moura et al., 2012). O presente estudo objetivou avaliar a toxicidade *in silico* do monoterpeno ascaridol, utilizando ferramentas online como: o software gratuito AdmetSAR®.

2. Metodologia

O presente estudo trata-se de uma pesquisa aplicada, experimental e quantitativa. A descrição realizada por Turato (2004), revela que pesquisa quantitativa utiliza dados coletados

por meio do uso de medições de valores, a mensuração realizada através de números com suas respectivas unidades. Assim sendo, há necessidade da aplicação desse método para verificação dos resultados obtidos a partir dos objetivos propostos no estudo.

2.1 Substância-teste

Inicialmente, todas as informações químicas do composto foram obtidas no site gratuito Pubchem® (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>).

2.2 Teste Toxicológico *in silico*

Na avaliação da toxicidade foi realizado um estudo *in silico* usando o software gratuito AdmetSAR®. Podendo o mesmo ser acessado pelo endereço: (<http://imed.ecust.edu.cn/admetSar1/>). Na análise foi feita a observação de quatro parâmetros: Potencial Mutagênico AMES, Toxicidade Oral Aguda (TOA), Potencial Carcinogênico (PC) e Carcinogenicidade (Car) (Souza, 2015).

2.3 AdmetSAR®

O AdmetSAR® é um banco de dados aberto, com sistema de pesquisa de texto e estrutura molecular, continuamente atualizado que coleta, organiza e gerencia dados de propriedades associados à absorção, distribuição, metabolização, excreção e toxicidade (ADMET) disponíveis na literatura publicada. Em AdmetSAR® mais de 210.000 dados anotados sobre ADMET para mais de 96.000 compostos exclusivos com 45 tipos de propriedades associadas à ADMET. O banco de dados fornece uma interface simples para consultar um perfil químico específico, usando o número de registro no Chemical Abstract Service - CAS, o nome comum ou a similaridade de estrutura (CHENG et al., 2012).

3. Resultados e Discussão

Na análise de toxicidade da substância Ascaridol a partir do software AdmetSAR® mostrou não ser mutagênico de acordo com o Teste AMES apresentando um valor de 0,8239, quanto ao potencial carcinogênico (PC) a substância se apresentou como sendo não carcinógeno com um valor de 0,7543.

Quanto ao parâmetro de Toxicidade Oral Aguda (TOA) o composto foi classificado na categoria III com um valor de 0,7463, o que mostra que o mesmo necessita de uma DL50 (Dose letal mediana) com valores que seja superior a 500 mg\Kg e inferior a 5000 mg\Kg para que assim seja capaz de causar alterações no organismo.

E ao analisar a Carcinogenicidade (Car), verificou ser um parâmetro irrelevante de acordo com o valor encontrado que foi de 0,5550, como pode ser visto na tabela 1.

Tabela 1: Toxicidade *in silico* do Ascaridol

| TESTE | RESULTADO | PROBABILIDADE |
|-------|--|---------------|
| AMES | Não Mutagênico | 0,8239 |
| PC | Não carcinógeno | 0,7543 |
| TOA | Classificação III Segundo a Agência de proteção Ambiental Americana (USEPA) | 0,7463 |
| Car | - | 0,5550 |

- (Não relevante).

Fonte: Autor próprio, 2020

As plantas são fonte significativa de novas substâncias químicas que apresentam algum potencial efeito terapêutico (Alvarenga, Freitas & Medeiros, 2015). Segundo Bernardi et al., (2011) há uma grande repercussão na saúde pública, onde a fitoterapia torna-se uma área que vem crescendo e se desenvolvendo. Uma das justificativas para esse desenvolvimento é que mais pessoas buscam retornar a uma forma mais natural de vida e há uma convicção crescente de que cada produto natural é saudável e seguro. E o que tem colocado esses medicamentos a base de plantas em destaque são os avanços no conhecimento técnico – científico das características de qualidade, segurança e eficácia.

O amplo interesse mundial na busca por insumos e produtos oriundos de espécies vegetais coloca em posição relevante a região Amazônica, porém existem outros biomas brasileiros como o do cerrado e caatinga apresentam exemplares com possível potencial medicinal (Guarim & Moraes, 2003).

As espécies vegetais da caatinga são caracterizadas por formações xerófilas, muito heterogêneas por razões climáticas, edáficas, topográficas e antrópicas (Alves, 2009). A biota da mesma é rica em espécies endêmicas sendo tão diversificadas como qualquer outro bioma no mundo, e está exposto às mesmas condições de clima e de solo (Ministério do Meio Ambiente, 2019).

De acordo com Macdonald et al. (2004) e Silva (2012) a atividade anti-helmíntica do mentruz (*Chenopodium ambrosioides*) tem sido atribuída ao ascaridol, constituindo maior predominância do óleo essencial.

Alguns estudos também mostraram que esta espécie possui inúmeras atividades, tais como: anti *Trypanosoma cruzi* (Uchiyama, 2009), antineoplásica (Nascimento et al., 2006), antibacteriana (Souza et al., 2012). atividade fungicida (Jardim et al., 2010).

Segundo Kaziyama et al., (2012), em meio aos extratos analisados, o extrato aquoso de *Peumus boldus* (conhecido com boldo) mostrou atividade antiviral contra o herpesvírus suíno (SuHV-1), representando uma porcentagem de inibição de 98% e contra o herpesvírus bovino (BoHV-1) com uma porcentagem de inibição de 99%.

Da mesma forma que os medicamentos sintéticos, os fitoterápicos são definidos pelo conhecimento da eficácia, riscos de seu uso, reprodutibilidade efeitos farmacológicos, constância de sua qualidade, benefícios e segurança, sua validade quanto ao uso são demonstradas através de levantamentos etnofarmacológicos, de utilização, documentações científicas, publicações indexadas, estudos pré-clínicos e clínicos, farmacológicos e toxicológicos (Brasil, 2015).

O uso inadequado e por um longo período de tempo tem como consequência o surgimento de uma série de efeitos colaterais, como reações alérgicas, efeitos tóxicos a vários órgãos, principalmente ao fígado como a cirrose, insuficiência pulmonar e efeitos carcinogênicos, dessa forma ao se utilizar plantas medicinais deve haver precaução em relação à dosagem e ao tipo de plantas que serão usadas (Lorenzi & Matos, 2002).

Dessa forma é de grande importância à análise da ação biológica na triagem de estudo de um vegetal, assim como os ensaios toxicológicos, que agregam informações para garantir uma aplicação segura quanto ao seu uso, os experimentos toxicológicos objetivam pré-dizer os níveis de ingestão das substâncias e os possíveis efeitos colaterais, que podem aparecer no homem após sua administração (Moura et al., 2012).

A busca por uma análise rápida, com baixo custo e segura faz com que os estudos de toxicologia computacional tenham uma importante aplicabilidade. Essa análise é feita a partir de software que realiza a predição dos efeitos adversos, assim como de seu mecanismo para que assim possa conhecer os danos que uma substância causa danos para o organismo. Nessa área de conhecimento a avaliação da toxicidade é feita por meio dos avanços da informática, estatística, química computacional, bioestatística, biologia e toxicologia (IUPAC, 2007; USEPA, 2003, 2009, 2010).

Dentre os softwares existentes se destaca o AdmetSAR® o qual analisa os fragmentos moleculares pré – computadorizado, originando alertas de toxicidade, encontrada na estrutura molecular analisada (Urso ,2010; Urso,2011).

No presente estudo, de acordo com a análise do software admetSAR o ascaridol, se mostrou como uma substância não mutagênica de acordo com o teste AMES, não carcinógeno de acordo com o potencial de carcinogenicidade (PC) e quanto a Toxicidade Oral Aguda (TOA) o composto foi classificado na categoria III com um valor de 0,7463, o que mostra que o mesmo necessita de uma DL50 com valores que seja superior a 500mg\Kg e inferior a 5000mg\Kg.

O ascaridol é classificada segundo a agência de Proteção Ambiental americana (USEPA, 2018), como composto com DL50 categoria III, aqueles compostos com DL50 superior a 500mg\Kg e inferior a 5000mg\Kg. Logo, o ascaridol torna-se uma molécula alvo para estudos de potencial biológico onde possui baixa toxicidade e um bom limite de utilização na concentração 500mg/Kg.

4.Considerações finais

O presente estudo revela através da análise *in silico* baixo potencial toxicológico para o Ascaridol, onde a molécula não apresentou potencial mutagênico e carcinogênico, dados de acordo com USEPA a TOA foi classificada como moderada, tornando assim a substância viável para o uso terapêutico, de forma mais eficaz e segura diante dos efeitos colaterais no organismo. Entretanto, vale ressaltar a importância de maiores detalhes do perfil de toxicidade da molécula deva ser feito através de mais estudos *in vitro* e *in vivo*.

Referências

Alvarenga, E. M., Freitas, R. M. & Medeiros, J. V. R. (2015). Prospecção tecnológica da atividade biológica, com ênfase em atividade antidiarreica, de carvacrol e acetato de carvacrolila. *Revista Gestão, Inovação e Tecnologias*, 5(1), 1639-1651.

Alves, J. J. A., Araújo, M. A. & Nascimento, S. S. (2009) Degradação da caatinga: uma investigação ecogeográfica. *Revista Caatinga*, 22(3), 126-135.

Azambuja, W. (2019). Ascaridol. Disponível em: <https://www.oleos essenciais.org/ascaridou/>. Acesso: 24 mar de 2020

Bernardi, M. M. (2011). A eficácia e Segurança do Insumo Fitoterápico PholiaNegra, *Revista RX*, 3(13).

Bonifácio, B. V., Silva, P. B., Ramos, M. A. S., Negri, K. M. S., Bauab, T. M. & Chorilli, M. (2014) Nanotechnology-based drug delivery systems and herbal medicines: a review. *International Journal of Nanomedicine*, 9, 1-15.

Brasil. (2015). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Medicamentos fitoterápicos. Disponível em: < portal.anvisa.gov.br >. Acesso em: 24 mar de 2020.

Cheng, F., Li, W., Zhou, Y., Shen, J., Wu, Z., Liu, G. & Tang, Y. (2012). admetSAR: a comprehensive source and free tool for assessment of chemical ADMET properties. *J. Chem. Inf. Model.* 52 , 11 , 3099-3105

Ferreira, P. S. (2013), *Utilização de Chenopodium ambrosioides Lineu em animais de produção*. [Tese de Doutorado]. Seminários Aplicados do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás. Universidade Federal de Goiás. Goiânia-GO.

Guarim neto, G., Moraes, R.G. (2003). Recursos medicinais de espécies do cerrado de Mato Grosso: Um estudo bibliográfico. *Acta Botânica Brasílica*, 17(4), 561-584.

IUPAC (2018) - INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY.

IUPAC Glossary of Terms Used in Toxicology. Pure and Applied Chemistry, v. 79, n. 7, p. 1153-1344, 2007. Disponível em: <http://sis.nlm.nih.gov/enviro/iupacglossary/glossaryi.html>>. Acesso em: 24 mar 2020

Jardim, C. M. J., Jham, G. N., Dhingrab, O. D. & Freire, M. M. (2010). Chemical Composition and Antifungal Activity of the Hexane Extract of the Brazilian *Chenopodium ambrosioides* L. *J. Braz. Chem.*, 21(10), 1814-1818.

Kaziyama, V. M., Fernandes, M. J. B. & Simoni, I. C. (2012). Atividade antiviral de extratos de plantas medicinais disponíveis comercialmente frente aos herpesvírus suíno e bovino. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 14(3), 522-28.

Lai, M. W., Klein-Schwartz, W., Rodgers, G. C., Abrams, J. Y., Haber, D. A., Bronstein, A. C. & Wruk, K. M. (2006) Annual report of the American Association of Poison Control Centers' national poisoning and exposure database. *Clinical Toxicology*, 44(1), 803-932.

Lorenzi, H. F. & Matos, F. J. A. (2002). *Plantas medicinais do Brasil Nativas e exóticas*. Editora Plantarum: São Paulo.

Lourezani, A. E. B. S.; Lourezani, W. L. & Batalha, M. O. (2004). Barreiras e oportunidades na comercialização de plantas medicinais provenientes da agricultura familiar, *Informações Econômicas*, 34(3), 15-25.

MacDonald, D., VanCrey, K., Harrison, P., Rangachari, P. K., Rosenfeld, J., Warren, C. & Sorger, G. (2004). Asacaridole-less infusions of *Chenopodium ambrosioides* contain a nematocide(s) that is(are) not toxic to mammalian smooth muscle. *Journal Ethnopharmacol*, 92(1), 215-221.

Mariz, S. R. (2007) *Estudo toxicológico pré-clínico de Jatropha gossypifolia L.* [Tese Doutorado em produtos naturais e sintéticos bioativos - Área de concentração em Farmacologia]. Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

Ministério do Meio Ambiente. (2019). Caatinga. Disponível em: <https://www.mma.gov.br/biomas/caatinga>. Acesso em: 24 mar 2020.

Moura, N. S., Vasconcelos, A. C. M., Bernabé, B. M., Teixeira, L. J. Q. & Saraiva, S. H. (2012). Ensaio toxicológicos: Um estudo sobre a utilização de testes *in vivo e in vitro*. *enciclopédia biosfera*. Centro Científico Conhecer, 8(15), 1945.

Nascimento, F. R. F., Cruz, G. V. B., Pereira, P. V. S., Maciel, M. C. G., Silva, L. A., Azevedo, A. P. S., Barroqueiro, E. S. B. & Guerra, R. N. M. (2006). Ascitic and solid Ehrlich tumor inhibition by *Chenopodium ambrosioides* L. treatment. *Life Sciences*, 78(1), 2640-2653.

Oliveira, M. J. R., Simões, M. J. S. & Sassi, C. R. R. (2006) Fitoterapia no Sistema de Saúde Pública (SUS) no Estado de São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s,8(2), 39-41.

Pereira, A.S. et al. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. [e-book]. Santa Maria. Ed. UAB/NTE/UFSM. Disponível em:
https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1. Acesso em: 19 março 2020.

Silva, G. D. (2012). *Avaliação da atividade anti-helmintica e toxicológica do extrato aquoso de Chenopodium ambrosioides (mastruz) sobre nematoides gastrointestinais de caprinos*. [Dissertação de Mestrado – Área de concentração Ciência animal dos Trópicos]. Departamento de Patologia e Clínicas, Universidade Federal da Bahia, Bahia.

Souza, J. P. A. (2015). *Estudo de ancoragem molecular de derivados de ácido cinâmico frente à enzimas do ciclo replicativo do HIV-1*. [Trabalho de Conclusão de Curso]. Bachelor's thesis, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão: Universidade Tecnológica Federal do Paraná; 91p.

Souza, Z. L., Oliveira, F. F., Conceição, A. O., Silva, L. A., Rossi, M. H. & Santos, J. S. (2012) Biological activities of extracts from *Chenopodium ambrosioides* L. and *Kielmeyera neglecta* Saddi. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 11(1), 20.

Soyama, P. (2007) Plantas medicinais são pouco exploradas pelos dentistas, *Ciência e Cultura*, 59 (1), 12-13.

Turato, E. R. (2004). A questão da complementaridade e das diferenças entre métodos quantitativos e qualitativos de pesquisa: uma discussão epistemológica necessária. *Método qualitativo: epistemologia, complementariedades e campos de aplicação*, 17-51.

Uchiyama, N. (2009). Antichagasic Activities of Natural Products against *Trypanosoma cruzi*. *Journal of Health Science*, 55(1), 31-39.

Ursu O., Rayan, A., Goldblum, A. & Oprea T. I. (2011) Understanding drug-likeness. Wiley Interdisciplinary Reviews: *Computational Molecular Science*, 1(5), 760-781.

Ursu, O. & Oprea T. I. (2010) Model-Free Drug-Likeness from Fragments. *Journal Chemical Information and Modeling*, 50(8), 1387-1394.

USEPA – United States Environmental Protection Agency. Computational Toxicology Research Program. (2018). Disponível em: <<http://www.epa.gov/ncct/>> Acesso em: 24 mar 2020.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Maria Tays Pereira Santana – 10%

Thallita Alves dos Santos – 9%

Lucas Linhares Gomes – 9%

Heloisa Mara Batista Fernandes de Oliveira – 9%

Gymenna Maria Tenório Guênes – 9%

Maria Angélica Sátyro Gomes Alves – 9%

Elizandra Silva da Penha – 9%

Raline Mendonça dos Anjos – 9%

Vinícius Filgueiras de Oliveira – 9%

Aleson Pereira de Sousa – 9%

Abrahão Alves de Oliveira Filho – 9%