

DOI:

Profil Toksisitas Senyawa Lidocaine Bicarbonate secara In Silico Menggunakan ProTox-3.0 sebagai Dasar Evaluasi Keamanan Awal dalam Pengembangan Obat

In Silico Toxicity Profile of Lidocaine Bicarbonate Compound Using ProTox-3.0 as a Basis for Early Safety Evaluation in Drug Development

Yuneka Saristiana¹, Fendy Prasetyawan², M. Wahyu Ariawan³, Elly Rachmawati Ratnaningrum⁴, Dian Indrayani⁵, Ratna Mildawati⁶, Widhi Astutik⁷, Chandra Arifin⁸, Abd Rofiq⁹

1,2,5 Program Studi Pendidikan Profesi Apoteker, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Kadiri, Indonesia

3 Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Indonesia

4 Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Kadiri, Indonesia

6 Program Studi Farmasi, STIKes Ganesha Husada Kediri, Indonesia

7 Program Studi D3 Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata, Indonesia

8,9 Program Studi D3 Farmasi, Akademi Keperawatan Arga Husada, Indonesia

lyuneka@unik-kediri.ac.id

Article history: Received [19/06/2026] Revised [22/06/2026] Accepted [23/06/2006]	This study aimed to evaluate the preliminary toxicity profile of Lidocaine Bicarbonate using the ProTox-3.0 in silico platform. The analysis covered acute oral toxicity, organ toxicity, toxicity endpoints, Tox21 pathways, Molecular Initiating Events (MIEs), Cytochrome P450 (CYP450) metabolism, and toxicity targets. The results showed a predicted LD50 of 220 mg/kg and Toxicity Class 3, with active predictions for nephrotoxicity, respiratory toxicity, and clinical toxicity. In contrast, hepatotoxicity, neurotoxicity, cardiotoxicity, mutagenicity, carcinogenicity, Tox21 pathways, MIEs, and CYP450 interactions were predicted to be inactive. These findings indicate that Lidocaine Bicarbonate has a relatively favorable preliminary safety profile, although further in vitro and in vivo validation is required before translational or formulation development.
Keyword:	drug safety; in silico; Lidocaine Bicarbonate; ProTox-3.0; toxicity

Corresponding Author:

Yuneka Saristiana

Program Studi Pendidikan Profesi Apoteker, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Kadiri

Email: yuneka@unik-kediri.ac.id

Abstrak: Penelitian ini bertujuan mengevaluasi profil toksisitas awal senyawa Lidocaine Bicarbonate secara in silico menggunakan platform ProTox-3.0. Analisis meliputi toksisitas oral akut, toksisitas organ, toxicity endpoints, Tox21, Molecular Initiating Events (MIEs), metabolisme Cytochrome P450 (CYP450), dan toxicity targets. Hasil menunjukkan nilai LD50 sebesar 220 mg/kg dengan Toxicity Class 3, serta prediksi aktif pada nefrotoksisitas, respiratory toxicity, dan clinical toxicity. Sementara itu, hepatotoksisitas, neurotoksisitas, kardiotoxsisitas, mutagenisitas, karsinogenisitas, Tox21, MIEs, dan CYP450 diprediksi tidak aktif. Hasil ini menunjukkan bahwa Lidocaine Bicarbonate memiliki profil keamanan awal yang cukup baik, tetapi tetap memerlukan validasi melalui penelitian in vitro dan in vivo sebelum dikembangkan lebih lanjut.

Kata kunci: in silico; keamanan obat; Lidocaine Bicarbonate; ProTox-3.0; toksisitas

Pendahuluan

Keamanan merupakan aspek fundamental dalam pengembangan obat karena menentukan keberhasilan suatu senyawa untuk dikembangkan menjadi produk farmasi yang aman dan efektif. Suatu senyawa dapat memiliki aktivitas farmakologis yang baik, tetapi potensi toksisitas yang tinggi dapat membatasi pengembangannya pada tahap praklinik maupun klinik. Oleh karena itu, evaluasi keamanan perlu dilakukan sejak tahap awal penemuan obat. (Yusof & Segall, 2023; Kuo et al., 2024; Amorim et al., 2024).

PHARMANUSA: Journal of Pharmacy and Health Vol. 1 No. 5 Tahun 2026

Pendekatan *in silico* telah banyak dimanfaatkan dalam penelitian farmasi modern karena mampu memprediksi karakteristik farmakokinetik dan toksikologi berdasarkan struktur kimia. Metode ini mendukung efisiensi biaya, percepatan skrining kandidat obat, serta pengurangan penggunaan hewan laboratorium sesuai prinsip 3R (Replacement, Reduction, and Refinement). (Vasava et al., 2023; Lee et al., 2025; Poh & Chong, 2024).

ProTox-3.0 merupakan platform prediksi toksisitas berbasis kecerdasan buatan yang mengintegrasikan model machine learning, molecular similarity, fragment propensities, dan basis data toksikologi. Platform ini dapat memprediksi toksisitas oral akut, kelas toksisitas GHS, toksisitas organ, toxicity endpoints, jalur Tox21, MIEs, metabolisme CYP450, dan target toksisitas molekuler. (Banerjee et al., 2024; Dunkel et al., 2024; Wu et al., 2023).

Lidocaine adalah anestetik lokal golongan amida yang digunakan luas dalam prosedur medis dan kedokteran gigi, serta memiliki kegunaan sebagai antiaritmia kelas IB. Dalam praktik klinis, lidocaine sering dikombinasikan dengan natrium bikarbonat untuk meningkatkan fraksi obat tidak terionisasi sehingga onset anestesi lebih cepat dan nyeri saat injeksi dapat berkurang. (Tan et al., 2023; World Health Organization, 2023; Bharadwaj et al., 2025).

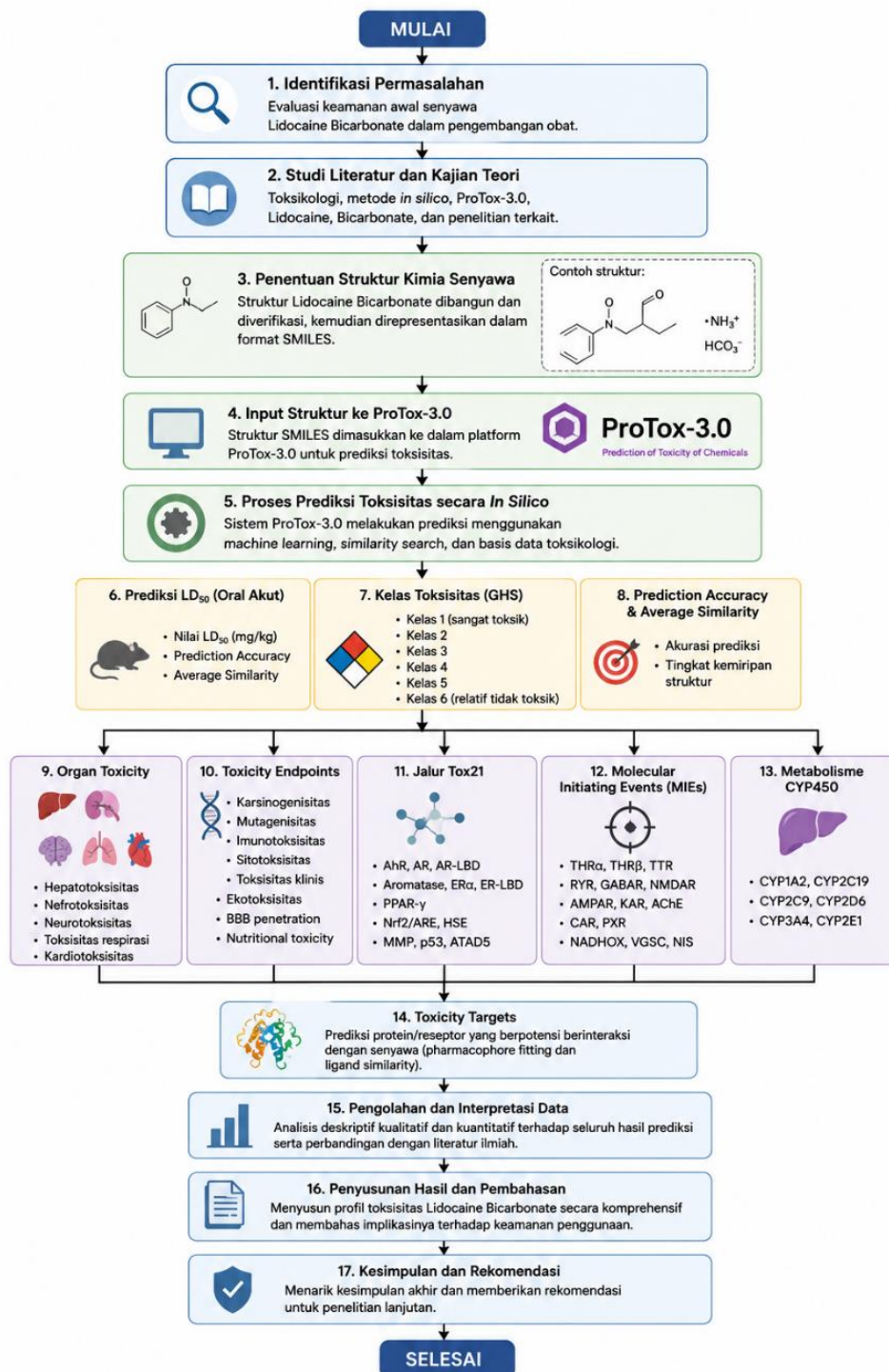
Perubahan kondisi kimia akibat penambahan bikarbonat dapat memengaruhi pH, derajat ionisasi, stabilitas, dan kemungkinan interaksi molekuler. Informasi mengenai toksisitas Lidocaine Bicarbonate secara komprehensif berbasis artificial intelligence masih terbatas, terutama pada parameter Tox21, MIEs, toxicity targets, dan metabolisme CYP450. (Abdelaal & Abou Agwa, 2024; Henao Periañez et al., 2025; Khan et al., 2024).

Penelitian ini bertujuan menganalisis profil toksisitas senyawa Lidocaine Bicarbonate secara *in silico* menggunakan ProTox-3.0 sebagai dasar evaluasi keamanan awal dalam pengembangan obat. Hasil penelitian diharapkan menjadi dasar pertimbangan untuk penelitian praklinik, validasi eksperimental, dan pengembangan formulasi farmasi yang lebih aman. (Roman et al., 2024; Idakwo et al., 2023; Bisht et al., 2024).

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif observasional dengan pendekatan komputasional (*in silico*). Objek penelitian adalah senyawa Lidocaine Bicarbonate yang dianalisis menggunakan platform ProTox-3.0. Penelitian tidak melibatkan subjek manusia maupun hewan percobaan sehingga tidak memerlukan pengambilan sampel biologis. (Roman et al., 2024; Banerjee et al., 2024).

Struktur kimia senyawa disiapkan dalam format SMILES (Simplified Molecular Input Line Entry System) dan diverifikasi untuk memastikan kesesuaian konfigurasi atom, ikatan kimia, serta valensi. Struktur tersebut kemudian dimasukkan ke dalam ProTox-3.0 melalui menu toxicity prediction untuk memperoleh keluaran prediksi toksisitas. (Banerjee et al., 2024; Dunkel et al., 2024).



Gambar 1. Alur penelitian toksisitas Lidocaine Bicarbonate secara in silico menggunakan ProTox-3.0

Parameter utama yang dianalisis adalah toksisitas oral akut berdasarkan nilai LD₅₀ dan Toxicity Class sesuai klasifikasi Globally Harmonized System (GHS). Selain itu, dicatat pula prediction accuracy dan average similarity sebagai indikator tingkat kepercayaan model terhadap struktur senyawa yang dianalisis. (Banerjee et al., 2024; Yusof & Segall, 2023).

Analisis organ toxicity meliputi hepatotoxicity, nephrotoxicity, neurotoxicity, respiratory toxicity, dan cardiotoxicity. Toxicity endpoints yang diamati meliputi carcinogenicity, mutagenicity, immunotoxicity,

cytotoxicity, ecotoxicity, clinical toxicity, nutritional toxicity, dan Blood Brain Barrier (BBB) barrier. (Bharadwaj et al., 2025; Zhu et al., 2025; Banerjee et al., 2024).

Penelitian juga mengevaluasi jalur Tox21 yang mencakup reseptor nuklir dan jalur respons stres seluler, antara lain AhR, AR, AR-LBD, Aromatase, ER α , ER-LBD, PPAR- γ , Nrf2/ARE, HSE, MMP, p53, dan ATAD5. Analisis MIEs digunakan untuk menilai kemungkinan interaksi awal senyawa terhadap target molekuler spesifik. (Banerjee et al., 2024; Wu et al., 2023).

Potensi interaksi metabolisme obat dianalisis terhadap isoenzim CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4, dan CYP2E1. Toxicity targets dianalisis berdasarkan pharmacophore fit dan known ligands similarity. Data dianalisis secara deskriptif kualitatif dan kuantitatif dengan menginterpretasikan prediksi, probabilitas, kelas toksisitas, dan relevansi biologisnya. (Tan et al., 2023; Ekins et al., 2023; Banerjee et al., 2024).

Hasil

Hasil prediksi toksisitas Lidocaine Bicarbonate menggunakan ProTox-3.0 disajikan pada Tabel 1 sampai Tabel 7. Secara umum, senyawa menunjukkan LD50 220 mg/kg dengan Toxicity Class 3. Prediksi aktif ditemukan pada nefrotoksitas, respiratory toxicity, dan clinical toxicity, sedangkan sebagian besar parameter molekuler, Tox21, MIEs, dan CYP450 diprediksi tidak aktif. (Banerjee et al., 2024; Data prediksi ProTox-3.0, 2026).

Tabel 1. Hasil Prediksi Toksisitas Oral Akut Lidocaine Bicarbonate

LD50 Oral	220 mg/kg
Toxicity Class	3
Prediction Accuracy	72,9%
Average Similarity	96,36%

Sumber: Hasil prediksi ProTox-3.0, 2026

Tabel 2. Hasil Prediksi Organ Toxicity Senyawa Lidocaine Bicarbonate

Hepatotoksitas	Inactive	0,89
Neurotoksisitas	Inactive	0,52
Nefrotoksitas	Active	0,68
Respiratory Toxicity	Active	0,84
Cardiotoxicity	Inactive	0,62

Sumber: Hasil prediksi ProTox-3.0, 2026

Tabel 3. Hasil Prediksi Toxicity Endpoints

Carcinogenicity	Inactive	0,68
Immunotoxicity	Inactive	0,98
Mutagenicity	Inactive	0,79
Cytotoxicity	Inactive	0,56
BBB Barrier	Inactive	0,54
Ecotoxicity	Inactive	0,69
Clinical Toxicity	Active	0,76
Nutritional Toxicity	Inactive	0,65

Sumber: Hasil prediksi ProTox-3.0, 2026

Tabel 4. Hasil Prediksi Jalur Tox21 Senyawa Lidocaine Bicarbonate

Aryl Hydrocarbon Receptor (AhR)	Inactive	0,96
Androgen Receptor (AR)	Inactive	0,98
Androgen Receptor Ligand Binding Domain (AR-LBD)	Inactive	0,98
Aromatase	Inactive	0,99
Estrogen Receptor α (ER α)	Inactive	0,94

Estrogen Receptor Ligand Binding Domain (ER-LBD)	Inactive	0,97
PPAR- γ	Inactive	0,97
Nrf2/ARE	Inactive	0,96
Heat Shock Factor Response Element (HSE)	Inactive	0,96
Mitochondrial Membrane Potential (MMP)	Inactive	0,97
p53	Inactive	0,97
ATAD5	Inactive	0,99

Sumber: Hasil prediksi ProTox-3.0, 2026

Tabel 5. Ringkasan Prediksi Molecular Initiating Events (MIEs)

THR α , THR β , TTR, RYR	Inactive
GABAR, NMDAR, AMPA Receptor, Kainate Receptor	Inactive
AChE, CAR, PXR, NADH-Quinone Oxidoreductase	Inactive
Voltage-Gated Sodium Channel (VGSC), Na ⁺ I Symporter (NIS)	Inactive

Sumber: Hasil prediksi ProTox-3.0, 2026

Tabel 6. Hasil Prediksi Interaksi Lidocaine Bicarbonate terhadap Enzim Cytochrome P450

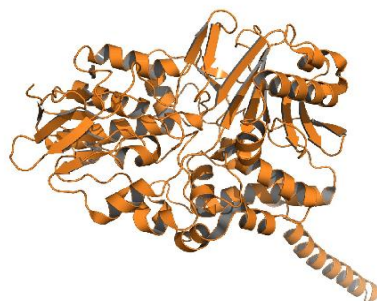
CYP1A2	Inactive	0,94
CYP2C19	Inactive	0,91
CYP2C9	Inactive	0,90
CYP2D6	Inactive	0,70
CYP3A4	Inactive	0,94
CYP2E1	Inactive	0,99

Sumber: Hasil prediksi ProTox-3.0, 2026

Tabel 7. Hasil Prediksi Toxicity Targets Senyawa Lidocaine Bicarbonate

Amine Oxidase A (AOA/MAO-A)	58,58	0
-----------------------------	-------	---

Sumber: Hasil prediksi ProTox-3.0, 2026



Gambar 2. Ilustrasi target toksisitas Amine Oxidase A (MAO-A)

Pembahasan

Prediksi LD50 sebesar 220 mg/kg menunjukkan bahwa Lidocaine Bicarbonate termasuk Toxicity Class 3. Kelas ini mengindikasikan adanya potensi toksisitas akut pada paparan dosis tinggi. Temuan tersebut perlu dipahami sebagai hasil skrining komputasional dan tidak secara langsung menggambarkan kondisi penggunaan klinis terkontrol. Pada dosis terapeutik, lidocaine telah digunakan luas; namun peningkatan kadar sistemik tetap dapat menyebabkan manifestasi toksik, terutama melalui blokade kanal natrium pada jaringan non-target. (Banerjee et al., 2024; Dunkel et al., 2024; Yusof & Segall, 2023).

Pada analisis organ toxicity, prediksi aktif ditemukan pada nefrotoksitas dan respiratory toxicity. Potensi nefrotoksitas dapat berkaitan dengan eliminasi metabolit melalui ginjal, terutama apabila terjadi gangguan fungsi ginjal atau akumulasi metabolit. Prediksi respiratory toxicity kemungkinan menggambarkan efek sistemik pada kondisi paparan berlebih, termasuk potensi depresi pusat respirasi pada toksisitas anestetik lokal. (Bharadwaj et al., 2025; Zhu et al., 2025; Tan et al., 2023).

Parameter hepatotoksitas, neurotoksisitas, dan kardiotoxsisitas diprediksi tidak aktif. Hasil ini menunjukkan bahwa molekul tidak memiliki kecenderungan kuat terhadap toksisitas intrinsik pada organ tersebut berdasarkan model ProTox-3.0. Meskipun demikian, efek neurologis dan kardiovaskular tetap harus diwaspadai pada kondisi overdosis karena mekanisme farmakologi lidocaine dapat memengaruhi kanal natrium pada neuron dan miokardium. (Tan et al., 2023; Bharadwaj et al., 2025; World Health Organization, 2023).

Toxicity endpoints menunjukkan bahwa Lidocaine Bicarbonate diprediksi tidak bersifat karsinogenik, mutagenik, imunotoksik, maupun sitotoksik. Prediksi ini merupakan indikator awal yang baik karena menunjukkan rendahnya potensi gangguan genetik dan kerusakan seluler. Namun, clinical toxicity diprediksi aktif sehingga penggunaan dosis tinggi, rute pemberian yang tidak tepat, atau absorpsi sistemik berlebih tetap perlu menjadi perhatian. (Roman et al., 2024; Banerjee et al., 2024; Wu et al., 2023).

Seluruh jalur Tox21 diprediksi tidak aktif dengan probabilitas tinggi. Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa tidak memiliki kecenderungan kuat untuk mengaktivasi jalur reseptor nuklir maupun respons stres seluler yang berkaitan dengan disrupsi endokrin, stres oksidatif, gangguan mitokondria, kerusakan DNA, atau instabilitas genom. Temuan

ini memperkuat interpretasi bahwa profil toksisitas molekuler senyawa relatif rendah berdasarkan pendekatan in silico. (Banerjee et al., 2024; Roman et al., 2024; Dunkel et al., 2024).

Seluruh parameter MIEs juga diprediksi tidak aktif. Hal ini mengindikasikan bahwa Lidocaine Bicarbonate tidak menunjukkan sinyal kuat terhadap interaksi awal dengan target molekuler yang sering dikaitkan dengan adverse outcome pathways. Dengan demikian, mekanisme toksisitas utama yang perlu diperhatikan kemungkinan lebih berkaitan dengan paparan sistemik dosis tinggi daripada aktivasi target molekuler spesifik. (Banerjee et al., 2024; Idakwo et al., 2023; Bisht et al., 2024).

Analisis CYP450 menunjukkan bahwa senyawa diprediksi inactive terhadap CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4, dan CYP2E1. Hasil ini menunjukkan potensi yang relatif rendah untuk menyebabkan interaksi obat melalui penghambatan atau induksi isoenzim CYP450 utama. Meskipun demikian, prediksi terhadap CYP2D6 memiliki probabilitas paling rendah dibanding isoenzim lain sehingga tetap memerlukan konfirmasi eksperimental. (Ekins et al., 2023; Tan et al., 2023; Banerjee et al., 2024).

Toxicity target yang teridentifikasi adalah Amine Oxidase A atau MAO-A dengan pharmacophore fit 58,58% dan known ligands similarity 0%. Nilai pharmacophore fit sedang serta tidak adanya kemiripan dengan ligan yang diketahui menunjukkan bahwa interaksi ini masih bersifat indikasi awal. Validasi melalui molecular docking, molecular dynamics, atau uji enzimatik in vitro diperlukan untuk memastikan apakah interaksi tersebut bermakna secara biologis. (Banerjee et al., 2024; Dunkel et al., 2024; Beilmann et al., 2025).

Secara keseluruhan, Lidocaine Bicarbonate menunjukkan profil keamanan awal yang cukup baik berdasarkan prediksi ProTox-3.0. Risiko utama yang perlu diperhatikan adalah toksisitas akut pada dosis tinggi, potensi nefrotoksitas, respiratory toxicity, dan clinical toxicity. Hasil in silico ini tidak menggantikan uji praklinik, tetapi dapat menjadi dasar pemilihan parameter validasi pada penelitian in vitro dan in vivo. (Madden et al., 2025; Lavé et al., 2024; Bercu et al., 2026).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil prediksi ProTox-3.0, Lidocaine Bicarbonate memiliki nilai LD50 sebesar 220 mg/kg dan termasuk Toxicity Class 3 dengan prediction accuracy 72,9% serta average similarity 96,36%. Senyawa diprediksi aktif pada nefrotoksitas, respiratory toxicity, dan clinical toxicity, sedangkan hepatotoksitas, neurotoksisitas, kardiotoxsisitas, mutagenisitas, karsinogenisitas, imunotoksitas, sitotoksitas, seluruh jalur Tox21, MIEs, dan CYP450 diprediksi tidak aktif. Amine Oxidase A (MAO-A) teridentifikasi sebagai target toksisitas potensial dengan pharmacophore fit 58,58%, tetapi memerlukan validasi lebih lanjut. Temuan ini menunjukkan bahwa Lidocaine Bicarbonate memiliki profil keamanan awal yang relatif baik, namun uji in vitro dan in vivo tetap diperlukan untuk memverifikasi hasil prediksi sebelum dikembangkan lebih lanjut. (Banerjee et al., 2024; Dunkel et al., 2024; Data prediksi ProTox-3.0, 2026).

Referensi

- Yusof, I., & Segall, M. D. (2023). Considering the impact drug-like properties have on the chance of success. *Drug Discovery Today*, 28(7), 103583. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2023.103583>
- Kuo, D. J., Lin, Y. J., Hsiao, S. H., et al. (2024). Consideration of the root causes in candidate attrition during oncology drug development. *Clinical Pharmacology in Drug Development*, 13(9), 952-960. <https://doi.org/10.1002/cpdd.1464>
- Schuhmacher, A., Gassmann, O., Hinder, M., Kuss, M., & Zorzi, P. (2025). Biopharma R&D faces productivity and attrition challenges in 2025: A quantitative analysis of pipeline trends. *Drug Discovery Today*, 30(3), 104021. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2025.104021>
- Amorim, A. M. B., Piochi, L. F., Gaspar, A. T., Preto, A. J., Rosário-Ferreira, N., & Moreira, I. S. (2024). Advancing drug safety in drug development: Bridging computational predictions for enhanced toxicity prediction. *Chemical Research in Toxicology*, 37(6), 827-849. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.3c00352>
- Hingorani, A. D., Kuan, V., Finan, C., et al. (2024). Improving the odds of drug development success through human genomics: Modelling study. *Scientific Reports*, 14, 8861. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-58660-1>
- Vasava, P., Pérez-Santín, E., Rodríguez Solana, R., et al. (2023). Toxicity prediction based on artificial intelligence: A review. *Drug Discovery Today*, 28(7), 103372. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2023.103372>
- PHARMANUSA: Journal of Pharmacy and Health Vol. 1 No. 5 Tahun 2026

- Lee, H., Kim, J., Kim, J. W., & Lee, Y. (2025). Recent advances in AI-based toxicity prediction for drug discovery. *Frontiers in Chemistry*, 13, 1632046. <https://doi.org/10.3389/fchem.2025.1632046>
- Poh, W. T., & Chong, R. C. X. (2024). The new paradigm in animal testing: 3Rs alternatives. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 153, 105705. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2024.105705>
- Ekins, S., Lane, T. R., Urbina, F., & Puhl, A. C. (2023). In silico ADME/Tox comes of age: Twenty years later. *Xenobiotica*, 54, 352-358. <https://doi.org/10.1080/00498254.2023.2200151>
- Banerjee, P., Kemmler, E., Dunkel, M., & Preissner, R. (2024). ProTox 3.0: A webserver for the prediction of toxicity of chemicals. *Nucleic Acids Research*, 52(W1), W513-W520. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae303>
- Wu, L., Yan, B., Han, J., Li, R., Xiao, J., He, S., & Bo, X. (2023). TOXRIC: A comprehensive database of toxicological data and benchmarks. *Nucleic Acids Research*, 51(D1), D1432-D1445. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac1074>
- Tan, T. Y., Ng, K. T., Yek, Y. Q., Hilmi, M. N., & Chuah, B. S. (2023). Antiarrhythmic uses of lidocaine: A review of its pharmacology and clinical applications. *Current Cardiology Reviews*, 19(2), E160922208566. <https://doi.org/10.2174/1573403X18666220916135642>
- World Health Organization. (2023). WHO model list of essential medicines: 23rd list. World Health Organization.
- Bharadwaj, S., Pulasani, S., Tariq, M., Khan, U., & Shaik, M. R. (2025). Local anesthetic systemic toxicity: A comprehensive review of risk factors, recognition, and management. *Formosan Journal of Surgery*, 58(5), 187-199. <https://doi.org/10.1097/FJS.0000000000000409>
- Zhu, M., Qi, Y., Zhang, S., & Zhou, J. (2025). Ropivacaine and lidocaine-induced central nervous system toxicity following brachial plexus block in two uremic patients. *Medicine*, 104(27), e43242. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000043242>
- Manta, K., Dabarakis, N., Lillis, T., & Fotopoulos, I. (2023). Anesthetic efficacy of buffered 4% articaine for mandibular first molar infiltration: A crossover clinical trial. *Journal of Dental Anesthesia and Pain Medicine*, 23(3), 135-141. <https://doi.org/10.17245/jdapm.2023.23.3.135>
- Abdelaal, M. Z., & Abou Agwa, T. K. (2024). The effect of adding sodium bicarbonate 8.4% to local anesthesia on pain during upper canine infiltration. *Saudi Journal of Anaesthesia*, 18(4), 523-528. https://doi.org/10.4103/sja.sja_295_24
- Henao Periañez, C. A., Morales García, M. A., et al. (2025). Stability of the pH of local anesthetics after bicarbonation: An electrochemical assay of clinical mixtures. *Perioperative Care and Operating Room Management*, 39, 100490. <https://doi.org/10.1016/j.pcorm.2025.100490>
- Khan, M. A., Siddiqui, A., Sharma, S., et al. (2024). Effect of pH alteration and additives on the physicochemical stability and antimicrobial profile of local anesthetic formulations. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 113(5), 1322-1331. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2024.01.018>
- Roman, D. L., Roman, M., & Isvoran, A. (2024). Computational assessment of pharmacological profiles and toxicity of bioactive compounds: A comparative study using multiple in silico platforms. *Toxics*, 12(9), 621. <https://doi.org/10.3390/toxics12090621>
- Idakwo, G., Luo, M., Chen, M., Hong, H., & Zhang, C. (2023). AI-based toxicity prediction in drug discovery: Recent advances, challenges, and future perspectives. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 63(20), 6198-6211. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.3c00200>
- Pyke, C., Schneider, P., Guo, J., et al. (2025). A review of the applications, benefits, and challenges of generative AI for sustainable toxicology. *Computational Toxicology*, 33, 100340. <https://doi.org/10.1016/j.comtox.2025.100340>
- Najjar, A., Punt, A., Wambaugh, J., Paini, A., Ellison, C., & Fragki, S. (2023). Towards best use and regulatory acceptance of generic physiologically based kinetic (PBK) models for in vitro-to-in vivo extrapolation (IVIVE) in chemical risk assessment. *Archives of Toxicology*, 96(12), 3407-3419. <https://doi.org/10.1007/s00204-022-03356-5>
- Madden, J. C., Pawar, G., Cronin, M. T. D., et al. (2025). Advancing human health risk assessment: The role of new approach methodologies. *Frontiers in Toxicology*, 7, 1632941. <https://doi.org/10.3389/ftox.2025.1632941>
- Beilmann, M., Sinha, S., Haßmann, U., et al. (2025). Beyond QSARs: Quantitative knowledge-activity relationships (QKARs) for enhanced drug toxicity prediction. *Toxicological Sciences*, 208(2), 269-282. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfaf188>
- Devillers, J., Bartolomeo, S., Gallegos Saliner, A., et al. (2026). The way forward for assessing the human health safety of cosmetics in the EU: Proceedings of workshop 2. *Archives of Toxicology*, 100(1), 45-61. <https://doi.org/10.1007/s00204-025-04275-x>
- Bercu, J., Yao, S., Walker, C., et al. (2026). FDA/CDER/OND experience with new approach methodologies (NAMs). *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 119(1), 112-125. <https://doi.org/10.1002/cpt.4112>

- Singh, R., Patel, K., Joshi, S., et al. (2026). Regulatory integration of new approach methodologies for human-relevant developmental and reproductive toxicity (DART) assessment: A systematic cross-sector review. *Frontiers in Pharmacology*, 17, 1598335. <https://doi.org/10.3389/fphar.2026.1598335>
- Lavé, T., Caldwell, G. W., Birch, H., et al. (2024). New approach methodologies (NAMs): Identifying and overcoming hurdles to accelerated adoption. *Toxicology Research*, 13(2), tfae044. <https://doi.org/10.1093/toxres/tfae044>
- Guldagad, T., Surana, N., et al. (2025). A review: Drug discovery and development in the pharmaceutical industry. *International Journal for Research in Applied Science and Engineering Technology*, 13(8), 1845-1852. <https://doi.org/10.22214/ijraset.2025.74314>
- Bisht, A., Avula, S. K., Sharma, A., et al. (2024). QSAR-based virtual screening and machine learning for prediction of chemical toxicity: A comprehensive review. *RSC Advances*, 14(12), 8230-8250. <https://doi.org/10.1039/D3RA08230J>
- Dunkel, M., Kemmler, E., Banerjee, P., & Preissner, R. (2024). Insights from the redesign and extension of the most used in silico tox prediction tool: ProTox 3.0. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 23, 3210-3217. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2024.07.012>