

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Faculdade de Farmácia

Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia

**DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL DE COSMÉTICO ANTIOXIDANTE
CONTENDO EXTRATO DA TORTA DE SEMENTE DE GIRASSOL**

Júlia Simonetti

Porto Alegre, dezembro de 2018.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Faculdade de Farmácia

Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia

**DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL DE COSMÉTICO ANTIOXIDANTE
CONTENDO EXTRATO DA TORTA DE SEMENTE DE GIRASSOL**

Júlia Simonetti

Orientadora: Prof. Dra. Irene Clemes Kulkamp Guerreiro

Coorientadora: Morgana Souza Marques

Porto Alegre, dezembro de 2018.

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório 307 vinculado ao grupo de pesquisa orientado pela Profa. Dra. Irene C. Kulkamp Guerreiro na Faculdade de Farmácia, unidade acadêmica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Agradecimentos

Agradeço, primeiramente, a minha família, que sempre esteve ao meu lado me apoiando e incentivando durante todo período de minha formação acadêmica. Ao meu pai, por ouvir diversas vezes minhas explicações de conteúdos pré-prova e pelas inúmeras caronas até a faculdade. A minha mãe, que me deu os melhores conselhos, foi minha injeção de ânimo nos dias mais difíceis e sempre me levou um lanchinho no quarto enquanto eu estudava. As minhas irmãs, que mesmo morando longe, estavam sempre presente de alguma maneira, mandando boas energias e torcendo por mim. A minha dinda Luciane que me estimula a seguir meus sonhos e é meu exemplo de ser humano, e toda minha família de modo geral. Sem vocês nada disso seria possível. Amo muito cada um de vocês!

Aos meus colegas da faculdade que se tornaram grandes amigos que levarei para vida toda e fizeram essa trajetória ser muito mais leve e prazerosa, Arielle, Germano, Jéssica, Marianne e Natália. A minha irmã do coração, Thaís, que é a pessoa mais positiva que eu conheço, sempre com uma palavra de incentivo e um sorriso no rosto. Ao meu amigão Luiz Augusto e a minha parceirona Bárbara, nunca vou encontrar palavras para descrever o quanto a companhia de vocês foi importante nessa caminhada, sou muito grata por tudo, vocês são incríveis. Aos meus amigos do colégio e da vida pela parceria de sempre.

A minha professora e orientadora Irene por todo o conhecimento compartilhado, pela confiança e dedicação no projeto, por estar sempre disponível independente o horário e abrir a porta da casa dela para me ajudar. Admiro muito a pessoa e profissional que você é.

A minha coorientadora Morgana, sempre muito dedicada e prestativa, pelos ensinamentos e dicas ao longo de todo projeto. Ao Samuel, pela ajuda nos testes, cálculos e gráficos e todo apoio durante o trabalho. Ao Ivanor e a professora Lígia pelo fornecimento do extrato. Ao professor Alexandre e Daiane pela parceria nesse estudo e demais colaboradores que contribuíram para o projeto.

Este artigo foi elaborado segundo as normas da Revista Brasileira de Farmácia apresentadas em anexo (ANEXO A).

2 **Desenvolvimento sustentável de cosmético antioxidante contendo extrato da**
3 **torta de semente de girassol**

4

5 Júlia Simonetti¹, Ivanor Zardo², Morgana Souza Marques³, Samuel Davies³ & Irene Cledes
6 Kulkamp Guerreiro^{1,3,*}.

7

8

9 ¹Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS,
10 Brasil.

11 ²Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).
12 Porto Alegre, RS, Brasil.

13 ³Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do
14 Sul. Porto Alegre, RS, Brasil.

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30 ***Autor correspondente:**

31 Irene Cledes Kulkamp Guerreiro

32 Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 24 Av. Ipiranga, 2752,
33 Santana, Porto Alegre, RS, 90610-000, Brasil.

34 Telefone (+55) 51 33085416

35 irene@ufrgs.br

36 RESUMO

37 O extrato da torta de semente de girassol é um resíduo gerado da indústria alimentícia rico
38 em compostos fenólicos e possui como principal componente o ácido clorogênico (ACG). O
39 objetivo deste estudo foi investigar a aplicabilidade do extrato da torta de semente de girassol como
40 um ativo cosmético antioxidante. Além disso, um sistema microemulsionado foi desenvolvido para
41 sua veiculação. As sementes de girassol foram descascadas e moídas para extração dos compostos
42 fenólicos, realizada a partir da torta de semente de girassol utilizando ultrassom. O extrato foi
43 caracterizado com relação ao teor de ACG por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). O
44 potencial antioxidante foi avaliado pelo método β -caroteno/ácido linoléico. A atividade antioxidante
45 do extrato da torta de semente de girassol foi comprovada nas concentrações de 125, 62,5, 31,25 e
46 15,62 $\mu\text{g/mL}$ quando comparado ao hidroxitolueno de butila (BHT). A emulsão microemulsionada
47 caracterizada por difração a laser também apresentou potencial antioxidante com 0,1% do extrato.
48 O extrato da torta de semente de girassol é uma boa alternativa para substituir os antioxidantes
49 sintéticos já utilizados por ser uma fonte de resíduo natural com baixo custo para a indústria
50 cosmética.

51

52 **Palavras-chaves:** Extrato da torta de semente de girassol, Ativo cosmético, Antioxidante, Ácido
53 clorogênico.

54

55

56

57

58

59

60

61 **ABSTRACT**

62 Sunflower seed cake extract is a residue generated from the food industry that is rich in
63 phenolic compounds and has as main component chlorogenic acid. The objective of this study was
64 to investigate the applicability of sunflower seed cake extract as an antioxidant cosmetic active. In
65 addition, a microemulsified system was developed for its delivery. The sunflower seeds were peeled
66 and milled to extract the phenolic compounds, made from the sunflower seed cake using ultrasound.
67 The extract was characterized about the chlorogenic acid content by high performance liquid
68 chromatography (HPLC). The antioxidant potential was evaluated by the β -carotene / linoleic acid
69 method. The antioxidant activity of the extract of the sunflower seed cake was confirmed in the
70 concentrations of 125, 62.5, 31.25 and 15.62 $\mu\text{g} / \text{ml}$ when compared to BHT. The microemulsion
71 emulsion characterized by laser diffraction also presented antioxidant potential with 0.1% of the
72 extract. Sunflower seed pie extract is a good alternative to replace the already used synthetic
73 antioxidants by being a source of natural waste at a low cost to the cosmetics industry.

74

75 **Keywords:** Sunflower seed cake extract, Cosmetic active, Antioxidant, Chlorogenic acid.

76

77

78

79

80

81

82

83

84

85

86

87 1. INTRODUÇÃO

88 A indústria cosmética possui grande interesse no aproveitamento de resíduos e subprodutos
89 do setor alimentício como fonte de matéria-prima para desenvolver produtos inovadores (Mirabella,
90 Castellani, & Sala, 2014). Essa prática favorece a questão de custo-benefício e diminuição de
91 impactos ambientais, transformando esses resíduos em matérias-primas (Upadhyay, Chompoo,
92 Araki, & Tawata, 2012).

93 Um vasto número de produtos comercialmente relevantes, como biocombustíveis, celulose,
94 enzimas, ácidos orgânicos, fertilizantes, biopolímeros, bioetanol, nanopartículas, colágeno,
95 nutracêuticos, cosmeceuticos e fibras alimentares foram desenvolvidos a partir da bioconversão de
96 resíduos da indústria alimentícia (Ravindran & Jaiswal, 2016). No âmbito industrial, é possível citar
97 diversos exemplos de reaproveitamento de resíduos a partir de extratos da torta de semente de
98 girassol (Kachrimanidou *et al.*, 2015), torta de azeitona (Mirabella *et al.*, 2014), vinhaça de soja
99 (Mirabella *et al.*, 2014), sementes de castanha da Índia (Mirabella *et al.*, 2014) e de damasco
100 (Schieber, Stintzing, & Carle, 2002), bagaço de acerola (Marques, Cesar, Braga, Marcussi, &
101 Corrêa, 2018), partes da uva (Peixoto *et al.*, 2018), pinhão (Daudt, Back, Cardozo, Marczak, &
102 Kulkamp-Guerreiro, 2015) e café (F. Rodrigues *et al.*, 2015).

103 A semente de girassol (*Helianthus annuus L.*) é conhecida por possuir um alto teor de óleo,
104 com grande quantidade de proteínas e ácidos graxos (Salgin, Döker, & Çalimli, 2006). A torta de
105 semente de girassol, resíduo da prensa da semente, é amplamente utilizada devido ao seu excelente
106 potencial na produção de suplementos de ração animal (Kachrimanidou *et al.*, 2015). No entanto, as
107 interações dos compostos fenólicos com as proteínas provocam modificações que aumentam o peso
108 molecular e a solubilidade das proteínas ocasionando também algumas alterações indesejáveis na
109 cor e no sabor (Ozidal, Capanoglu, & Altay, 2013; Zardo, Sobczyk, Andressa, Marczak, & Sarkis,
110 2017). Além disso, provoca uma diminuição na digestibilidade e alterações das propriedades
111 funcionais e nutricionais. Dessa maneira, torna-se interessante separar o extrato que contém os

112 compostos fenólicos da torta para um completo aproveitamento do resíduo (Ozdal *et al.*, 2013;
113 Zardo *et al.*, 2017).

114 O extrato da torta de semente de girassol, rico em compostos fenólicos, possui como
115 principal componente o ácido clorogênico (ACG) que é responsável por atribuir uma ação
116 antioxidante para essa matéria-prima (Weisz, Kammerer, & Carle, 2009). Entretanto, seu efeito
117 antioxidante não está relacionado somente com a eliminação dos radicais livres (Maegawa, Sugino,
118 & Sakurai, 2007), mas também a diversas outras atividades biológicas, incluindo efeitos anti-
119 inflamatórios (Yu, Hsu, & Gow-Chin, 2009), antitumorais (Park, Hahm, Ho, Jin, & Choue, 2004) e
120 antimicrobianos (Aymond, 2004; Fierascu *et al.*, 2018; Puupponen-Pimiä, Nohynek, & Meier,
121 2001).

122 A utilização de substâncias antioxidantes, anti-inflamatórias e/ou antimicrobianas por via
123 tópica tem sido uma grande aliada na prevenção e manutenção da homeostase cutânea (Wagemaker,
124 Maia Campos, Shimizu, Kyotani, & Yoshida, 2017). Sistemas emulsionados são exemplos de
125 formulações que promovem maior capacidade de solubilização e transporte (Katamreddy,
126 Yalavarthi, Subba Rao, Battu, & Peesa, 2018). A veiculação de substâncias ativas em escala
127 micrométrica possui vantagens como maior estabilidade termodinâmica, alta taxa de incorporação
128 de fármacos lipofílicos e hidrofílicos e capacidade de melhorar a penetração, por isso o grande
129 interesse em formulações de partículas com tamanho reduzido (Lopes, 2014).

130 Considerando a importância da exploração de resíduos da indústria e tendo em vista o
131 crescimento na utilização de formulações com sistemas na escala micrométrica no setor cosmético,
132 esse estudo objetivou investigar a aplicabilidade do extrato da torta de semente de girassol como um
133 ativo cosmético. Para isso, avaliou-se a sua ação antioxidante e desenvolveu-se uma formulação
134 cosmética microemulsionada para sua veiculação.

135

136 **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

137 **2.1 Materiais**

138 As sementes de girassol foram fornecidas pela Pazzi Indústria de Alimentos Ltda
139 (Panambi, Brasil). Os padrões de ácido linoléico, hidroxitolueno de butila (BHT) e β -caroteno foram
140 obtidos da Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA), Pharma Nostra (Brasil) e Fagron (Brasil)
141 respectivamente. A monoleína foi adquirida da Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA), o Poloxamer
142 407 da BASF Laboratories (Mannheim, Alemanha) e o polissorbato 20 da Fluka Analytical (St
143 Gallen, Suíça). Nas preparações foram utilizadas água deionizada que foi purificada pelo sistema
144 MiliQ. Todos os reagentes e solventes utilizados foram de grau analítico.

145

146 **2.2 Obtenção do extrato da torta de semente de girassol**

147 O extrato da torta de girassol foi obtido através da metodologia descrita Zardo *et al.*, 2017.
148 Inicialmente as sementes de girassol foram descascadas, prensadas a frio e peneiradas utilizando
149 uma peneira de 20 mesh (0,85 mm) originando a torta de semente de girassol. Um processo
150 secundário foi realizado para a extração dos compostos fenólicos a partir da torta de semente de
151 girassol. A torta de semente de girassol foi diluída em um solvente composto de etanol/água 45% e
152 processada utilizando um ultrassom VC 750 (Sonics e Materials, EUA) operando a uma amplitude
153 maior que 34 μ m por 1 minuto a 40 °C. Após o processo de ultrassonicação, o extrato da torta de
154 girassol foi obtido e armazenado sob refrigeração (4°C) até o momento das análises.

155

156 **2.3 Determinação de ácido clorogênico em extrato da torta de semente de girassol**

157 O extrato foi caracterizado com relação ao teor de ACG, o principal composto fenólico da
158 torta, através de método descrito por Zardo *et al.*, 2017 com algumas modificações. Nesse
159 contexto, o equipamento utilizado foi o cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) Perkin
160 Elmer. A coluna empregada foi de fase reversa C18 (Agilent, ZORBAX Analytical Eclipse Plus,
161 EUA) (250 x 4,60 mm, partícula de 5 μ m) acoplada a uma pré-coluna C18 (15 x 3,20 mm, partícula
162 de 5 μ m), na temperatura de 29°C com taxa de fluxo de 0,9 mL/min. Para a fase móvel foi utilizado
163 dois solventes, onde o solvente A consistiu em água/ácido fórmico (99,5: 0,5, v/v) e o solvente B

164 em acetonitrila/ácido fórmico (99,5: 0,5, v/v). O gradiente linear aplicado é de A:B, 99:1 a 65:35,
165 por 35 minutos e posteriormente, 1:65 a 1:99, por 1 minuto, relação na qual foi mantida por 7
166 minutos. Os cromatogramas foram obtidos por um detector UV com comprimento de onda de
167 325nm.

168

169 **2.4 Desenvolvimento da formulação cosmética**

170 O desenvolvimento da formulação cosmética contendo extrato da torta de semente de
171 girassol foi realizado conforme método descrito por Domingues MB, 2018 com modificações.
172 Primeiramente, para o desenvolvimento da fase lipídica, 0,1 g do extrato da torta de semente de
173 girassol foi solubilizado em 1 g de monoleína sob agitação magnética em temperatura ambiente.
174 Após a solubilização total do extrato, a fase lipídica foi vertida lentamente em 10 mL de fase
175 aquosa, sendo a fase aquosa composta de solução de poloxamer 5 % (p/v). A formulação foi
176 homogeneizada utilizando um UltraTurrax (T10 Basic, IKA®Works, Inc., EUA) a 9500 rpm, sob
177 uma temperatura de 40 °C por 10 minutos. A formulação cosmética controle foi desenvolvida de
178 forma similar a formulação cosmética contendo o extrato, exceto pela adição do extrato.

179

180 **2.5 Caracterização da formulação cosmética**

181 **2.5.1 Determinação do tamanho de partícula**

182 O tamanho da partícula foi determinado por difração a laser (Mastersizer 2000, Malvern,
183 UK) com o propósito de detectar a possível presença de partículas na escala nano a milimétrica. As
184 formulações foram utilizadas sem diluição prévia e alocadas diretamente no recipiente de análise
185 contendo aproximadamente 150 mL de água destilada. O diâmetro das partículas foi calculado
186 através do software do equipamento com base no modelo de espalhamento de Mie (Ehrenhaft&
187 Lorenz, 2005). Os resultados obtidos foram estimados com base no índice de refração da amostra
188 previamente determinada em refratômetro.

189

190 2.6 Determinação da atividade antioxidante

191 2.6.1 Determinação da atividade antioxidante do extrato da torta de semente de girassol

192 O método utilizado para a determinação da atividade antioxidante foi adaptado de Nunes
 193 Alves Paim *et al.*, 2018. Foi preparada uma solução contendo 30mg de ácido linoléico, 300mg de
 194 polisorbato 20, 2 mg de β -caroteno em 10 mL de clorofórmio. Posteriormente, essa mistura foi
 195 submetida à completa evaporação do clorofórmio no rotoevaporador (Buchi R-114). A esta mistura,
 196 foi acrescentado cerca de 50 mL de água previamente saturada com oxigênio durante 30 min e
 197 agitou-se vigorosamente, sendo chamada de emulsão A. A esta solução, num volume final de 1000
 198 μ L, 80 μ L do extrato da torta de semente de girassol foi adicionado nas concentrações de extrato de
 199 125, 62,5, 31,25 e 15,62 μ g/mL diluídas em metanol. Foi utilizado o BHT como controle positivo
 200 nas mesmas concentrações.

201 As amostras foram incubadas a 50 °C por 60 minutos com o objetivo de acelerar as reações
 202 de oxidação do β -caroteno. As amostras foram individualmente transferidas para uma microplaca de
 203 96 poços e a leitura das absorvâncias foi realizada antes (absorvância inicial) e depois (absorvância
 204 final) da incubação em um leitor de placas Spectramax (Multiskan FC Photometer, Thermo
 205 Scientific) em 450nm. A atividade antioxidante do extrato da torta de semente de girassol foi
 206 determinada através do percentual de inibição da oxidação do β -caroteno (I) de acordo com as
 207 Equações 1, 2 e 3.

208

$$209 \quad A_c = Abs_{inicial} - Abs_{final} \quad \text{Eq. (1)}$$

210

$$211 \quad A_{am} = Abs_{inicial} - Abs_{final} \quad \text{Eq. (2)}$$

212

$$213 \quad I (\%) = \frac{A_c - A_{am}}{A_c} \times 100 \quad \text{Eq. (3)}$$

214 Onde A_c está relacionado aos resultados de absorvância do controle negativo referente a leitura
 215 inicial e final e A_{am} está relacionado aos resultados de absorvância de cada concentração estudada

216 do extrato da torta de semente de girassol referente a leitura inicial e final. Uma solução sem β -
217 caroteno foi utilizada como branco.

218

219 **2.6.2 Determinação da atividade antioxidante da formulação cosmética**

220 A determinação da atividade antioxidante da formulação cosmética contendo o extrato da
221 torta de semente de girassol foi avaliada através do método sistema β -caroteno/ácido linoléico
222 conforme descrito por Nunes Alves Paim et al., 2018 e de acordo com o item 2.6.1. Foi utilizado
223 formulações com concentração total de extrato de 0,05 e 0,1%.

224

225 **2.7 Análise estatística**

226 A análise estatística foi realizada utilizando ANOVA *oneway* seguido pelo teste de Tukey no
227 *software* GraphPadPrism 5.0. Os dados são expressos como média \pm desvio padrão.

228

229 **3. RESULTADOS**

230 **3.1 Avaliação do extrato da torta de girassol**

231 O extrato da torta de semente de girassol ao ser analisado visualmente, apresentou aspecto
232 viscoso, com partículas que sedimentavam ao fundo, necessitando agitação para homogeneização
233 do mesmo e com coloração amarelada. Seu aspecto turvo é justificado pelo alto teor de proteínas e
234 compostos fenólicos em sua composição.

235 Com a finalidade de identificar e quantificar o composto ACG, composto fenólico
236 majoritário presente no extrato da torta de semente de girassol, análise de CLAE foi empregada e o
237 cromatograma foi obtido em 325 nm, o qual é o comprimento de onda de absorção máxima para o
238 clorogênico (Pedrosa *et al.*, 2000) e está apresentado na Figura 1.

239 De acordo com o cromatograma apresentado anteriormente, é possível observar a
240 predominância de um pico de maior área em aproximadamente 19 minutos. Esse pico foi
241 identificado como sendo pertencente ao ACG após apresentar igual tempo de retenção ao analisar o

242 padrão de referência. A quantificação do ACG foi estimada utilizando uma curva de calibração, ao
243 qual apresentou como resultado uma concentração de 8%. Os demais picos existentes no
244 cromatograma que refletem, conseqüentemente, a existência de outros compostos presentes no
245 extrato não foram identificados e quantificados.

247 **3.2 Atividade antioxidante do extrato da torta de semente de girassol**

248 A atividade antioxidante de extratos metanólicos obtidos através das frutas morango,
249 acerola, açaí e amora utilizando o método β -caroteno/ácido linoléico foi previamente relatada por
250 Duarte Almeida *et al.*, 2006. Dentre as quatro amostras analisadas neste estudo, três apresentaram
251 atividades antioxidantes elevadas, o que nos permite confirmar a aplicabilidade do método na
252 avaliação de extratos antioxidantes de fontes naturais.

253 A atividade antioxidante do extrato da torta de semente de girassol e do BHT foi avaliada a
254 partir da inibição da oxidação do β -caroteno, e está apresentada na Figura 2.

255 Ao avaliar a atividade antioxidante do extrato da torta de semente de girassol podemos
256 observar que o aumento da sua propriedade antioxidante é proporcional ao aumento da sua
257 concentração. Esse efeito é justificado devido ao aumento proporcional da concentração de ACG
258 nas amostras. O principal composto responsável pela atividade antioxidante do extrato da torta de
259 semente de girassol é o ACG. Os ACG são uma família de ésteres formados entre o ácido quínico e
260 certos ácidos trans-cinâmicos, mais comumente ácido caféico, p-cumárico e ferúlico (Jaiswal,
261 Deshpande, &Kuhnert, 2011). Por ser um composto fenólico, sua atividade antioxidante é
262 principalmente atribuída à presença de grupos orto-di-hidroxila em anéis aromáticos, bem como no
263 grupo carboxila. Os compostos fenólicos podem participar como agentes redutores durante as
264 reações redox, sendo capazes de aceitar elétrons não pareados de radicais livres ou íons metálicos e
265 estabilizá-los em sua estrutura, caracterizando sua ação antioxidante (Afshari, Rahimmalek,
266 &Miroliaei, 2018).

267 Ao comparar os resultados obtidos do extrato da torta de semente de girassol e do BHT, é
268 possível observar que o extrato possui uma tendência de apresentar maiores resultados quando
269 comparada com o controle positivo (BHT) independentemente da concentração utilizada, sendo
270 estatisticamente maior nas amostras de concentração 15,62 e 125 µg/mL. Em ambos os casos, o
271 extrato foi capaz de inibir mais de 20% da oxidação do β-caroteno quando comparado com o BHT
272 na mesma concentração.

273 Sabe-se que compostos fenólicos possuem anéis aromáticos com pelo menos um grupo
274 hidroxila (OH) que podem reagir com radicais livres (Pannala A. S. *et al.*, 2001). Geralmente,
275 quanto maior o número de substituintes OH, maior a atividade antioxidante da molécula (Alves,
276 David, David, Bahia, & Aguiar, 2010). Assim, sugere-se que a maior capacidade antioxidante do
277 ACG ocorra devido a presença do seu anel aromático di-hidroxilado, enquanto que o BHT possui
278 um anel aromático com apenas uma hidroxila na sua fórmula estrutural química.

279 A atividade antifúngica do extrato da torta de semente de girassol também foi estudada. Os
280 resultados encontrados não justificam o uso deste extrato como um ativo antidermatofítico
281 conforme anexo B.

282

283 **3.3 Desenvolvimento da formulação cosmética contendo o extrato da torta de semente de** 284 **girassol**

285 Foi desenvolvida uma formulação cosmética para incorporação do extrato baseada no uso de
286 monoleína como componente lipídico, poloxamer 407 como estabilizador e a água utilizada como
287 solvente. O uso da monoleína é justificável devido a sua propriedade anfifílica que confere a
288 capacidade de formar diferentes estruturas cristalinas líquidas na presença de um estabilizador e sob
289 variadas condições de temperatura. Apresenta ainda as vantagens de não ser tóxica, ser
290 biocompatível e biodegradável (Afshari *et al.*, 2018; Domingues MB, 2018).

291 A emulsão desenvolvida apresentou aspecto macroscópico homogêneo leitoso e foi
292 caracterizada por difração a laser como uma emulsão micrométrica heterodispersa. Essa

293 caracterização está apresentada na Figura 3 onde é notória a presença de mais de uma população,
294 sendo várias partículas na faixa de 100nm, algumas de 1µm e uma população na faixa de 10 a
295 100µm. Também é observado que a FP e a FA possuem o mesmo perfil, demonstrando que a adição
296 do extrato não alterou o perfil de distribuição de tamanho de partículas da formulação.

297

298 **3.4 Atividade antioxidante da formulação cosmética contendo o extrato da torta de semente** 299 **de girassol**

300 A atividade antioxidante anteriormente demonstrada no extrato puro foi também
301 determinada na emulsão cosmética, conforme pode ser observado na Figura 4.

302 Ainda ao analisar a figura 4, nota-se que utilizando uma baixa concentração de extrato
303 (0,05%) a formulação já apresentou atividade antioxidante. Essa atividade mostrou diferença
304 significativa a partir de 0,1% de extrato em comparação com a formulação branca, que é explicado
305 devido à presença de ACG. É conhecido que a concentração utilizada de outros ativos cosméticos
306 antioxidantes comumente empregados como a Vitamina C seja superior a 8%, o que demonstra uma
307 vantagem ao relacionar com o extrato que a partir de 0,1% já demonstra essa atividade (Al-Niimi
308 & Chiang, 2017; Pinnell *et al.*, 2001). Não se descarta a importância de fazer estudos para
309 determinar qual a exata concentração de extrato utilizar.

310 O uso de antioxidantes é valorizado em formulações cosméticas de antienvhecimento para
311 prevenir e modular os danos oxidativos (Vertuani *et al.*, 2003). A pele é frequentemente exposta à
312 radiação ultravioleta. De maneira excessiva, essa exposição induz uma produção desregulada de
313 espécies reativas de oxigênio, podendo interagir com biomoléculas celulares levando ao estresse
314 oxidativo, inflamação, dano ao DNA e alteração das vias moleculares celulares responsáveis pelo
315 fotoenvhecimento, hiperplasia, eritema e câncer (Gasparini *et al.*, 2017). Por estas razões, o uso
316 de antioxidantes pode ser uma ferramenta estratégica para neutralizar esses efeitos deletérios
317 (Gasparini *et al.*, 2017).

318 A formulação branca sem extrato também apresentou uma certa inibição da oxidação do B-
319 caroteno, que pode ser explicado pelo fato do poloxamer conter em sua fórmula estrutural
320 moléculas de polietilenoglicol que apresentam certa atividade antioxidante conforme descrito por
321 Juarez-Moreno, Ayala, & Vazquez-Duhalt, 2015 e Luo, Borgens, & Shi, 2002. Não há estudos que
322 relatam atividade antioxidante da monoleína.

323 O extrato da torta de semente de girassol é uma boa alternativa para substituir os
324 antioxidantes sintéticos já utilizados por ser uma fonte natural de tratamento, questão que
325 atualmente é valorizada no mercado (Bowe & Pugliese, 2014). Além disso, é uma substância barata
326 e uma maneira de estimular o uso de resíduos como matéria-prima para novos produtos e
327 aplicações, o que gera um reaproveitamento e benefício ecológico (Mirabella *et al.*, 2014).

328

329 **4. CONCLUSÃO**

330 Este estudo demonstrou a possibilidade de aplicação do extrato da torta de semente de
331 girassol como um ativo cosmético com atividade antioxidante e a possibilidade de sua veiculação
332 em uma formulação cosmética microemulsionada. Esta nova alternativa de ativo é uma estratégia
333 para substituir antioxidantes sintéticos por um resíduo gerado pela indústria alimentícia, que além
334 de ser economicamente vantajoso e necessitar de uma baixa concentração para sua ação, gera
335 formulações cosméticas ecologicamente sustentáveis.

336

337 **5. PERSPECTIVAS FUTURAS**

338 Como desfecho desse estudo destaca-se algumas observações. De acordo com os resultados,
339 a atividade antioxidante do extrato foi comprovada pelo método β -caroteno/ácido linoléico. Porém,
340 estudos utilizando outros sistemas de avaliação como seqüestro do radical livre 2,2-difenil-1-
341 picrilhidrazila (DPPH) e substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS) devem ser realizados
342 para melhor comprovar essa atividade. Quanto ao tamanho das partículas da emulsão, seria
343 interessante a utilização de equipamentos como ultrassom a fim de obter uma formulação de faixa

344 nanométrica e a partir disso estudar testes *in vivo* para avaliar a permeação do ativo e outras
345 propriedades reológicas. Estudos mais aprofundados devem ser realizados para a identificação e
346 quantificação das outras substâncias presentes no extrato que também podem desempenhar outras
347 ações farmacológicas.

348

349 REFERÊNCIAS

350 Al-Niaimi, F., & Chiang, N. Y. Z. Topical Vitamin C and the Skin: Mechanisms of Action and
351 Clinical Application. *J Clin Aesthet Dermatol.* 10(7):7–10, 2017.

352 Alves, C. Q., David, J. M., David, J. P., Bahia, M. V., & Aguiar, R. M. Methods for determination
353 of *in vitro* antioxidant activity for extracts and organic compounds. *Quimica Nova.*
354 33(10):2202–2210, 2010.

355 Aymond, R. L. O. Phenolic Compounds from the Leaf Extract of Artichoke (*Cynara scolymus* L .)
356 and Their Antimicrobial Activities. *J Agric Food Chem.* 52(24):7272–7278, 2004.

357 Bowe, W. P., & Pugliese, S. Cosmetic benefits of natural ingredients. *Journal of Drugs in*
358 *Dermatology.* 13(9):1021–1025, 2014.

359 Daudt, R. M., Back, P. I., Cardozo, N. S. M., Marczak, L. D. F., & Kulkamp-Guerreiro, I. C. Pinhão
360 starch and coat extract as new natural cosmetic ingredients: Topical formulation stability and
361 sensory analysis. *Carbohydrate Polymers.* 134:573–580, 2015.

362 Domingues MB. *Desenvolvimento de sistemas nanoestruturados inovadores e avaliação da*
363 *aplicabilidade na terapia antirretroviral pela veiculação do fármaco indinavir.* 2018. Porto
364 Alegre. 190p. Tese (Doutorado em Farmacologia e Terapêutica). Instituto de Ciências Básicas
365 da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

366 Fierascu, I., Ungureanu, C., Avramescu, S. M., Cimpeanu, C., Georgescu, M. I., Fierascu, R. C.,
367 Velescu, B. S. Genoprotective, antioxidant, antifungal and anti-inflammatory evaluation of
368 hydroalcoholic extract of wild-growing *Juniperus communis* L. (Cupressaceae) native to
369 Romanian southern sub-Carpathian hills. *BMC Complementary and Alternative Medicine.*

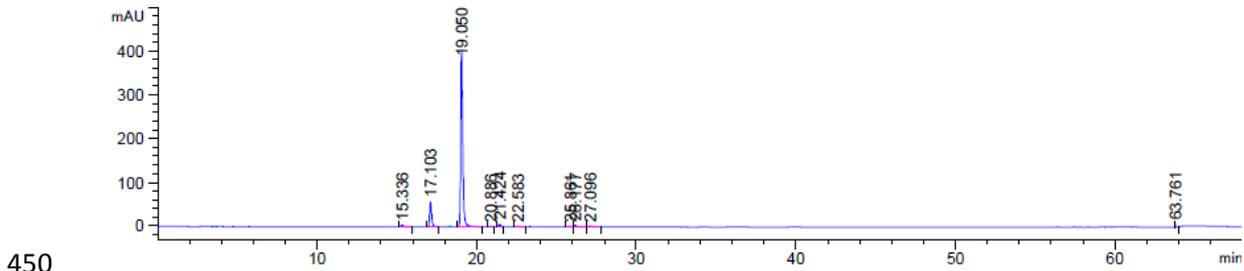
- 370 18(1):1–14, 2018.
- 371 Gasparrini, M., Forbes-Hernandez, T. Y., Afrin, S., Reboredo-Rodriguez, P., Cianciosi, D.,
372 Mezzetti, B., Giampieri, F. Strawberry-based cosmetic formulations protect human dermal
373 fibroblasts against UVA-induced damage. *Nutrients*. 9(6), 2017.
- 374 Juarez-Moreno, K., Ayala, M., & Vazquez-Duhalt, R. Antioxidant Capacity of Poly(Ethylene
375 Glycol) (PEG) as Protection Mechanism Against Hydrogen Peroxide Inactivation of
376 Peroxidases. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 177(6):1364–1373, 2015.
- 377 Kachrimanidou, V., Kopsahelis, N., Alexandri, M., Strati, A., Gardeli, C., Papanikolaou, S.,
378 Koutinas, A. A. Integrated sunflower-based biorefinery for the production of antioxidants,
379 protein isolate and poly(3-hydroxybutyrate). *Industrial Crops and Products*. 71, 2015.
- 380 Katamreddy, J. D., Yalavarthi, P. R., Subba Rao, D., Battu, S., & Peesa, J. P. Biopharmaceutical
381 insights of particulate emulsified systems - A prospective overview. *Lipids in Health and*
382 *Disease*. 17(1):1–8, 2018.
- 383 Lopes, L. B. Overcoming the cutaneous barrier with microemulsions. *Pharmaceutics*. 6(1):52–77,
384 2014.
- 385 Luo, J., Borgens, R., & Shi, R. Polyethylene glycol immediately repairs neuronal membranes and
386 inhibits free radical production after acute spinal cord injury. *Journal of Neurochemistry*.
387 83(2):471–480, 2002.
- 388 Maegawa, Y., Sugino, K., & Sakurai, H. Identification of free radical species derived from caffeic
389 acid and related polyphenols. *Free Radical Research*. 41(1):110–119, 2007.
- 390 Marques, T. R., Cesar, P. H. S., Braga, M. A., Marcussi, S., & Corrêa, A. D. Fruit Bagasse
391 Phytochemicals from *Malpighia Emarginata* Rich in Enzymatic Inhibitor with Modulatory
392 Action on Hemostatic Processes. *Journal of Food Science*, 0, 2018.
- 393 Mirabella, N., Castellani, V., & Sala, S. Current options for the valorization of food manufacturing
394 waste: A review. *Journal of Cleaner Production*. 65:28–41, 2014.
- 395 Nunes Alves Paim, L. F., Flores Dalla Lana, D., Giaretta, M., Jacobi Danielli, L., Meneghello

- 396 Fuentefria, A., Anders Apel, M., & Clemes Kùlkamp- Guerreiro, I. Poirertia latifolia essential
397 oil as a promising antifungal and anti-inflammatory agent: Chemical composition, biological
398 screening, and development of a nanoemulsion formulation. *Industrial Crops and Product.*
399 126:280–286, 2018.
- 400 Pannala, A. S., Chan, T. S., O'Brien, P. J., Evans, C. R. Flavonoid B-Ring Chemistry and
401 Antioxidant Activity: Fast Reaction Kinetics. *Biochem Biophys Res Com.* 282:1161, 2001.
- 402 Park, S., Hahm, K. I. B., Ho, T. Y., Jin, J. H., & Choue, R. Preventive effect of the flavonoid,
403 wogonin, against ethanol-induced gastric mucosal damage in rats. *Digestive Diseases and*
404 *Sciences.* 49(3):384–394, 2004.
- 405 Pedrosa, M. M., Muzquiz, M., García-Vallejo, C., Burbano, C., Cuadrado, C., Ayet, G., & Robredo,
406 L. M. Determination of caffeic and chlorogenic acids and their derivatives in different
407 sunflower seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 80(4):459–464, 2000.
- 408 Peixoto, C. M., Dias, M. I., Alves, M. J., Calhelha, R. C., Barros, L., Pinho, S. P., & Ferreira, I. C.
409 F. R. Grape pomace as a source of phenolic compounds and diverse bioactive properties. *Food*
410 *Chemistry.* 253:132–138, 2018.
- 411 Pinnell, S. R., Yang, H., Omar, M., Riviere, N. M., DeBuys, H. V., Walker, L. C., Levine, M.
412 Topical L-ascorbic acid: Percutaneous absorption studies. *Dermatologic Surgery.* 27(2):137–
413 142, 2001.
- 414 Puupponen-Pimiä, R., Nohynek, L., & Meier, C. Antimicrobial properties of phenolic compounds
415 from berries. *Journal of Applied Microbiology.* 90(4):494–507, 2001.
- 416 Ravindran, R., & Jaiswal, A. K. Exploitation of Food Industry Waste for High-Value Products.
417 *Trends in Biotechnology.* 34(1):58–69, 2016.
- 418 Rodrigues, E., Mariutti, L. R. B., & Mercadante, A. Z. Carotenoids and phenolic compounds from
419 Solanum sessiliflorum, an unexploited amazonian fruit, and their scavenging capacities against
420 reactive oxygen and nitrogen species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*
421 61(12):3022–3029, 2013.

- 422 Rodrigues, F., Palmeira-de-Oliveira, A., Das Neves, J., Sarmiento, B., Amaral, M. H., & Oliveira,
423 M. B. P. P. Coffee silverskin: A possible valuable cosmetic ingredient. *Pharmaceutical*
424 *Biology*. 53(3):386–394, 2015.
- 425 Schieber, A., Stintzing, F. C., & Carle, R. By-products of plant food processing as a source of
426 functional compounds - recent developments. *Trends in Food Science & Technology*.
427 12(11):401–413, 2002.
- 428 Upadhyay, A., Chompoo, J., Araki, N., & Tawata, S. Antioxidant, antimicrobial, 15-LOX, and
429 AGEs inhibitions by pineapple stem waste. *Journal of Food Science*. 77(1), 2012.
- 430 Vertuani, S., Ziosi, P., Solaroli, N., Buzzoni, V., Carli, M., Lucchi, E., Manfredini, S.
431 Determination of antioxidant efficacy of cosmetic formulations by non-invasive
432 measurements. *Skin Research and Technology*. 9(3):245–253, 2003.
- 433 Wagemaker, T. A. L., Maia Campos, P. M. B. G., Shimizu, K., Kyotani, D., & Yoshida, D.
434 Antioxidant-based topical formulations influence on the inflammatory response of Japanese
435 skin: A clinical study using non-invasive techniques. *European Journal of Pharmaceutics and*
436 *Biopharmaceutics*. 117:195–202, 2017.
- 437 Weisz, G. M., Kammerer, D. R., & Carle, R. Identification and quantification of phenolic
438 compounds from sunflower (*Helianthus annuus* L.) kernels and shells by HPLC-DAD/ESI-
439 MSn. *Food Chemistry*. 115(2):758–765, 2009.
- 440 Yu, Y. S., Hsu, C. L., & Gow-Chin, Y. Anti-inflammatory Effects of the Roots of *Alpinia pricei*
441 Hayata and Its Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
442 57(17):7673–7680, 2009.
- 443 Zardo, I., Sobczyk, de E., Andressa, Marczak, L. D. F., & Sarkis, J. Optimization of Ultrasound
444 Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Sunflower Seed Cake Using Response
445 Surface Methodology. *Waste Biomass Valor*. 2017.
- 446
- 447

448 **FIGURAS**

449 Figura 1: Cromatograma do extrato da torta de semente de girassol.

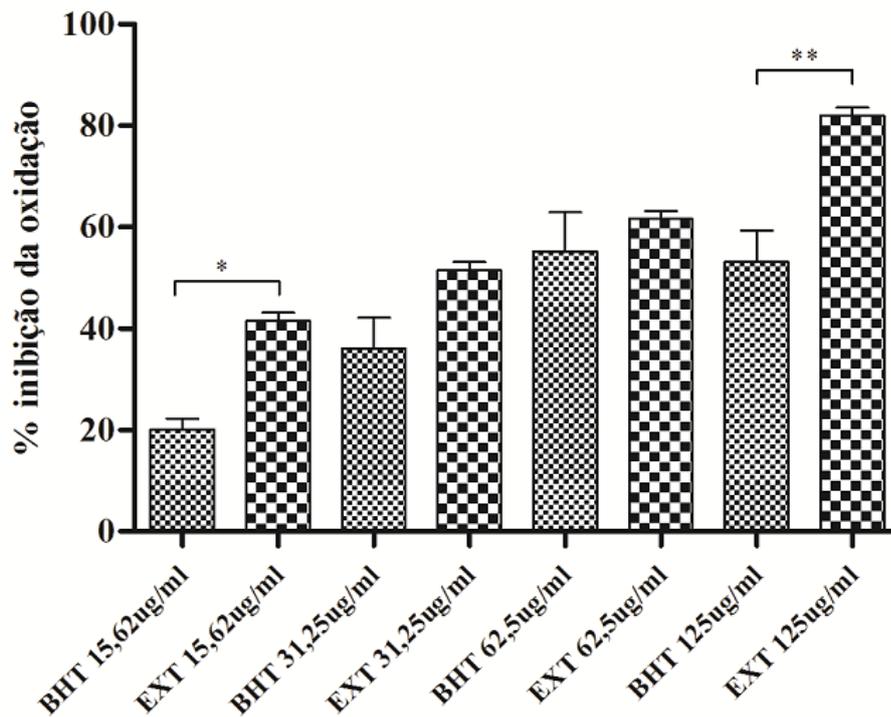


450

451

452 Figura 2: Atividade antioxidante de diferentes concentrações do extrato da torta de semente de
 453 girassol e do BHT determinada pelo sistema β -caroteno/ácido linoleico. Teste estatístico: * $p < 0,05$.

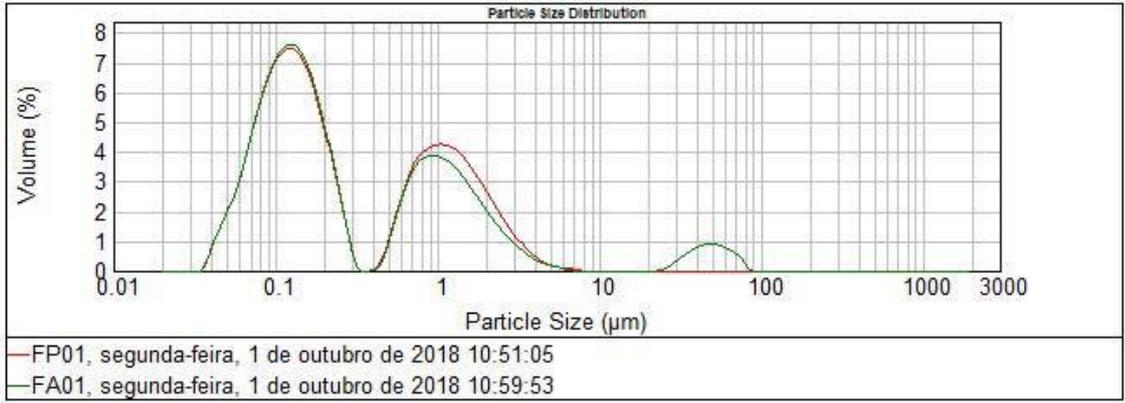
454



455

456

457 Figura 3: Distribuição de tamanho de partícula da formulação cosmética desenvolvida: Formulação
 458 Placebo (linha vermelha-FP) e Formulação Amostra com extrato (linha verde-FA).



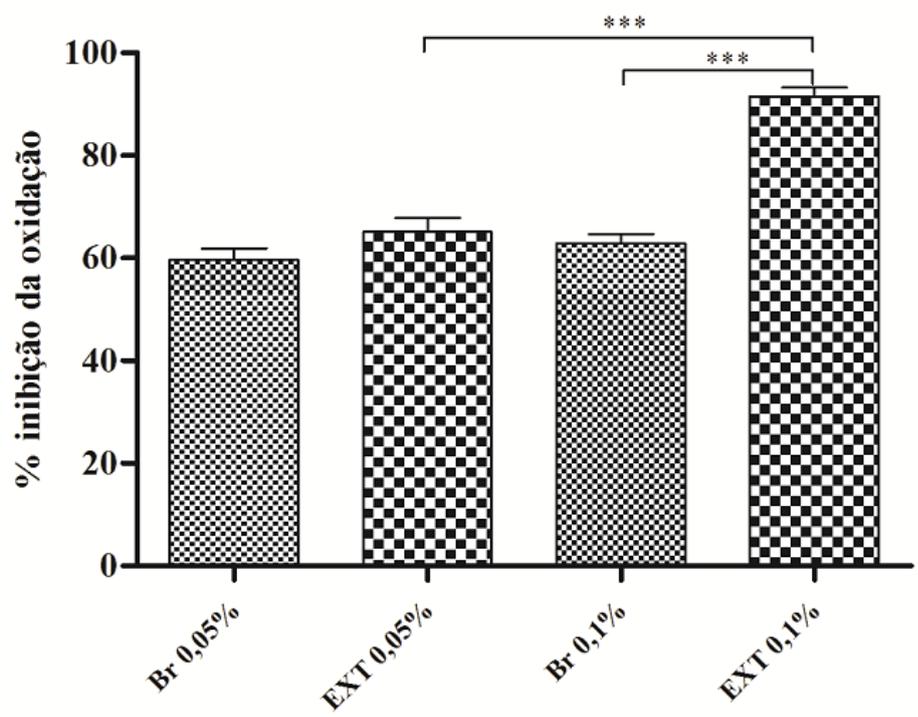
459

460

461 Figura 4: Atividade antioxidante da formulação cosmética determinada pelo sistema β-
462 caroteno/ácido linoleico. Formulação Branca sem extrato (Br) e Formulação com Extrato (EXT).

463 Teste estatístico: * p < 0,05.

464



465

466

467 **ANEXOS**

468 **Anexo A – Normas da Revista Brasileira de Farmácia**

469 **INSTRUÇÕES GERAIS**

470 Todos os manuscritos devem ser originais e não publicados anteriormente. Cabe salientar
471 que submissão simultânea implicará em sua recusa nesse periódico. As publicações em inglês e
472 espanhol devem ser revisadas por um profissional de edição de língua estrangeira e não garantem o
473 aceite do artigo. **O custo da revisão do texto em inglês ou espanhol é de responsabilidade dos**
474 **autores que são encorajados a buscar profissionais ou empresas qualificados.**

475 A RBF reserva os direitos de submeter todos os manuscritos para revisores *ad hoc*, cujos
476 nomes serão confidenciais e com autoridade para decidir a aceitação ou declínio da submissão. Nos
477 casos de conflito de avaliações entre os pares, não se compromete a seguir com uma terceira
478 avaliação, a decisão contará com avaliação dos pareceres pelo Conselho Editorial.

479 **FORMA E APRESENTAÇÃO DOS MANUSCRITOS**

480 A RBF aceita artigos para as seguintes seções:

481 a) Artigos originais ou de revisão (**até 7.000 palavras, incluindo notas e referências, e exclui o**
482 **Resumo/Abstract. Máximo de 5 figuras, quadro/gráfico ou tabela**): textos inéditos provenientes
483 de pesquisa ou análise/revisão bibliográfica. A publicação é decidida pelo Conselho Editorial, com
484 base em pareceres - respeitando-se o anonimato tanto do autor quanto do parecerista (*double-blind*
485 *peer review*) - e conforme disponibilidade de espaço.

486 b) Artigos originais por convite (**até 8.000 palavras, incluindo notas e referências, e exclui o**
487 **Resumo/abstract. Máximo de 5 figuras, quadro/gráfico ou tabela**): textos inéditos de temas
488 previamente solicitados pelo editor (a) Chefe ou Conselho Editorial a autores/pesquisadores de
489 reconhecida experiência no campo das Ciências Farmacêuticas, que poderão resultar em artigos
490 resultado de pesquisa ou de revisão. Os artigos originais serão publicados com base em pareceres
491 (*double-blind peer review*). Apenas artigos que, devido a seu caráter autoral, não podem ser
492 submetidos anonimamente a um parecerista, serão analisados, com ciência do autor, com base em
493 pareceres em que só o parecerista é anônimo (*single-blind peer review*).

494 c) **Resumo de Tese de Doutorado ou Dissertações de Mestrado (até 1500 palavras, incluindo**

495 **notas e referencias. Máximo de 3 figuras, tabela ou quadro/gráfico):** Trata-se de um Resumo
496 ampliado de estudos acadêmicos que tenham relevância no campo das Ciências farmacêuticas.
497 Serão aceitos os Resumos de pesquisas que tenham sido defendidas até dois anos antes da
498 publicação da RBF. O número de Resumos não poderá ultrapassar 15% do total de artigos
499 apresentados por edição, e deverá contemplar as seções Introdução, Metodologia, Resultados e
500 Discussão e Conclusão de forma resumida.

501 **ALGUMAS CONSIDERAÇÕES PRÉVIAS**

- 502 a) Deverá ser adotado o **Sistema Internacional** (SI) de medidas.
- 503 b) As equações necessárias a compreensão do texto deverão ser editadas utilizando *software*
504 compatível com o editor de texto. As variáveis deverão ser identificadas após a equação.
- 505 c) Recomenda-se que os autores realizem a análise de regressão ou outro teste estatístico aplicável
506 para fatores quantitativos, mas que a utilização de programas específicos para o tratamento dos
507 dados estatísticos deve constar da seção de Metodologia.
- 508 d) **ATENÇÃO: QUADROS/ TABELAS, GRÁFICOS E FIGURAS devem ter largura de no**
509 **máximo 8,25 cm, com alta resolução e enviados em arquivo separado. Nesse caso, sua posição**
510 **deve ser identificada no texto. CASO CONTRÁRIO, O MANUSCRITO SERÁ DEVOLVIDO**
511 **AOS AUTORES, que acarretará em nova submissão.**
- 512 e) A RBF recomenda a utilização de Referencias Bibliográficas atualizada, salvo aquelas
513 consagradas em trabalhos de autores seminais de cada área específica, ou ainda em textos que
514 necessitam de informações históricas relevantes na compreensão da argumentação apresentada.
515 Consideraremos atualizadas aquelas com data de publicação em periódicos indexados a pelo menos
516 5 anos da data de envio do manuscrito.
- 517 f) **TODAS** as correções sugeridas durante o processo de submissão deverão ser destacadas em
518 **VERMELHO, e devolvida a comissão editorial pelo endereço:**
519 **revistabrasileiradefarmacia@yahoo.com.br.**

FORMATAÇÃO DO TEXTO

520

521 Os manuscritos deverão utilizar aplicativos compatíveis com o **Microsoft Word**. Devem ser
522 escritos em página formato A4 com margens de 2 cm, espaçamento duplo, fonte Times New
523 Roman, tamanho 12, justificado. As linhas e páginas devem ser numeradas a partir do Título até a
524 página final.

525 Deve-se adotar no texto apenas as **abreviações padronizadas**. Por exemplo: Kg
526 (quilograma)

527 A primeira citação da abreviatura entre parênteses deve ser precedida da expressão
528 correspondente por extenso. Por exemplo: Agencia Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

529 O **recurso de itálico** deverá ser adotado apenas para realmente destacar partes importantes
530 do texto, como por exemplo, citações *ipsis literis* de autores consultados, partes de depoimentos,
531 entrevistas transcritas, nomes científicos de organismos vivos e termos estrangeiros.

532 As ilustrações, figuras, esquemas, tabelas e gráficos deverão ser identificadas no texto,
533 conforme apresentação desejada pelo autor, e **apresentadas em arquivo separado**.

534 Os manuscritos deverão seguir a seguinte estrutura:

535 • **Título:** deverá ser conciso **e não** ultrapassar 30 palavras, informativo, digitado em negrito
536 com letras minúsculas utilizando a fonte *Times New Roman* (tamanho 14), com exceção da primeira
537 letra, dos nomes próprios e/ou científicos.

538 • **Autores:** deverão ser adicionados a um espaço abaixo do título, centralizados, separados por
539 vírgula. O símbolo “&” deve ser adicionado antes do último autor (Ex.: Paulo da Paz, João de Deus
540 & Pedro Bondoso). Inserir os nomes completos dos autores, por extenso, com letras minúsculas
541 com exceção da primeira letra de cada nome.

542 • **Afiliação do autor:** cada nome de autor deverá receber um **número arábico** sobrescrito
543 indicando a instituição na qual ele é afiliado. A lista de instituições deverá aparecer imediatamente

544 abaixo da lista de autores. O nome do autor correspondente deverá ser identificado com um
545 asterisco sobrescrito. O e-mail institucional, endereço completo, CEP, telefone e fax do autor
546 correspondente deverão ser escritos no final da primeira página.

547 • **Resumo (Abstract):** deverá ser escrito na **segunda página** do manuscrito, não deverá
548 exceder 200 palavras, deverá conter informações sucintas que descrevam **objetivo da pesquisa,**
549 **metodologia, discussão/resultados e a conclusão.** Os manuscritos escritos em português ou em
550 espanhol devem ter um Resumo traduzido para o inglês (Abstract). O Abstract deve ser digitado na
551 **terceira página** do manuscrito e deve ser revisado por um profissional de edição de língua inglesa.

552 **Os manuscritos em inglês deverão apresentar um Resumo em português.**

553 • **Palavras-chave (Keywords):** são fundamentais para a classificação da temática abordada
554 no manuscrito em bancos de dados nacionais e internacionais. Serão aceitas entre 3 e 5 palavras-
555 chave. Após a seleção, sua existência em português e inglês deve ser confirmada pelo(s) autor (es)
556 do manuscrito no endereço eletrônico *http://decs.bvs.br* (Descritores em Ciências da Saúde -
557 Bireme). As palavras-chave (Keywords) deverão ser separadas por **vírgulae** a **primeira letra** de
558 cada palavra-chave deverá maiúscula.

559 • **Introdução:** Situa o leitor quanto ao tema que será abordado e apresenta o problema de
560 estudo, destaca sua importância e lacunas de conhecimento (justificativa da investigação), e inclui
561 ainda os **objetivos** (geral e específico) a que se destina discutir.

562 • **Metodologia ou Percorso Metodológico:** Nessa seção o autor (es) deve (m) apresentar o
563 percurso metodológico utilizado que apresente o tipo de estudo (se qualitativo ou quantitativo), de
564 base empírica, experimental ou de revisão de forma que identifique a natureza/tipo do estudo. São
565 fundamentais os dados sobre o local onde foi realizada a pesquisa; população/sujeitos do estudo e
566 seus critérios de seleção (inclusão e exclusão) e cálculo amostral. Nos casos de pesquisa
567 experimental cabe a identificação do material, métodos, equipamentos, procedimentos técnicos e
568 métodos adotados para a coleta de dados.

569 Na apresentação do tratamento estatístico/categorização dos dados cabe informar a técnica
570 ou programa utilizado no tratamento e análise. Nos casos de investigação com humanos ou animais
571 cabe informar a data e o número do protocolo da aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa.

572 Quanto ao estudo de espécies vegetais deve ter a indicação do seu local de coleta (dados de
573 GPS), o país de origem, o responsável pela identificação da espécie e o depósito da exsicata.

574 • **Resultados e Discussão:** devem ser apresentados de maneira clara, objetiva e em sequência
575 lógica, utilizando ilustrações (figuras, quadros e tabelas) quando necessário. Deve-se comparar com
576 informações da literatura sobre o tema ressaltando-se aspectos novos e/ou fundamentais, as
577 limitações do estudo e a indicação de novas pesquisas. Nessa seção cabe a análise e discussão
578 crítica da pesquisa.

579 • **Conclusões:** apresentar considerações significativas fundamentadas nos resultados
580 encontrados e vinculadas aos objetivos do estudo.

581 • **Agradecimentos:** opcional e deverá aparecer antes das referências.

582 • **Figuras, Quadro/Tabelas ou Gráficos:** Todas as ilustrações devem apresentar um título
583 breve na parte superior e numerada consecutivamente com algarismos arábicos, conforme a ordem
584 em que forem citadas no manuscrito e a legenda com fonte em Times New Roman, tamanho 12,
585 justificado e com largura máxima de 8,25 cm.

586 As Tabelas devem apresentar dados numéricos como informação central, e não utilizar
587 traços internos horizontais ou verticais. As notas explicativas devem ser colocadas no rodapé da
588 tabela, com os seus respectivos símbolos. **Se houver ilustração extraída de outra fonte,**
589 **publicada ou não, a fonte original deve ser mencionada abaixo da tabela.** Não é permitida a
590 utilização de Figura, gráfico, quadro/tabela publicada em outro periódico **sem antes pedir**
591 **autorização prévia dos autores e/ou da revista.**

592 **Qualquer uma dessas ilustrações com baixa resolução poderá ser excluída durante o**
593 **processo de diagramação da RBF, ou ainda comprometer o aceite do manuscrito.**

594 As fotos deverão garantir o anonimato de qualquer indivíduo que nela constar. Caso os
595 autores queiram apresentar fotos com identificação pessoal, deverão apresentar permissão
596 específica e escrita para a publicação das mesmas.

597 • **Referências:**

598 As citações bibliográficas deverão ser adotadas de acordo com as exigências da RBF. Citação no
599 texto, usar o sobrenome e ano: Lopes (2005) ou (Lopes, 2005); para dois autores (Souza & Scapim,
600 2005); três autores (Lima, Pereira & Silva, 2008), para mais do que quatro autores, utilizar o
601 primeiro autor seguido por *et al.* (Wayner *et al.*, 2007), porém na lista de referências deverão
602 aparecer ordenadas alfabeticamente pelo **sobrenome do primeiro autor**. A citação de mais que
603 uma referência por parágrafo requer a ordenação em ordem decrescente cronológica e cada grupo
604 de autores separados por “ponto e vírgula”. Por exemplo: (Gomes & Souza, 2012; Mendez, 2010;
605 Lima, Pereira & Silva, 2008).

606 A veracidade das referências é de responsabilidade dos autores. Os exemplos de referências citados
607 abaixo foram adaptados, em sua maioria, do documento original da ABNT (NBR 6023, agosto de
608 2002).

609 **a) Artigos de periódicos:**

610 A abreviatura do periódico deverá ser utilizada, em itálico, definida no Chemical Abstracts Service
611 Source Index (<http://www.cas.org/sent.html>) ou na Base de dados PubMed, da US National
612 Library of Medicine (<http://www.pubmed.gov>), selecionando Journals Database. Caso a
613 abreviatura autorizada de um determinado periódico não puder ser localizada, deve-se citar o título
614 completo.

615 Autor (es)*. *Título do periódico em itálico*, volume (a indicação do fascículo é entre parênteses):
616 páginas inicial - final do artigo, ano de publicação.

617 Galato D & Angeloni L. A farmácia como estabelecimento de saúde sob o ponto de vista do usuário
618 de medicamentos. *Rev. Bras. Farm.* 90(1): 14 – 18, 2009.

619 Fonseca VM, Longobuco P, Guimarães EF, Moreira DL, Kaplan MAC. Um teste do formato de
620 nome. *Rev. Bras. Farm.* 90(1): 14 – 18, 2009.

621 **b) Livros:**

622 • **Com 1 autor**

623 Autor. Título. Edição (a partir da 2ª). Cidade: Editora, ano de publicação. Número total de páginas.

624 Casciato DA. Manual de oncologia clínica. São Paulo: Tecmed, 2008. 1136 p.

625 • **Com 2 autores**

626 Lakatos EM & Marconi MA. Metodologia científica. 2. ed. São Paulo: Atlas, 1991. 231 p.

627 • **Com autoria corporativa**

628 Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. I Fórum
629 Nacional de Educação Farmacêutica: O farmacêutico de que o Brasil necessita (Relatório Final).
630 Brasília, DF, 2008. 68p.

631 • **Capítulos de livros (o autor do capítulo citado é também autor da obra):**

632 Autor (es) da obra. Título do capítulo. *In:* _____. Título da obra. Cidade: Editora, Ano de
633 publicação. Capítulo. Paginação da parte referenciada.

634 Rang HP, Dale MM & RITTER JM. *In:* Quimioterapia do câncer. Farmacologia. 5. ed. Rio de
635 Janeiro: Elsevier, 2004. cap. 50, p. 789-809.

636 • **Capítulos de livros (o autor do capítulo citado não é o autor da obra):**

637 Autor (es) do capítulo. Título da parte referenciada. *In:* Autor (es) da obra (ou editor) Título da
638 obra. Cidade: Editora, Ano de publicação. Capítulo. Paginação da parte referenciada.

639 Schenkel EP, Gosmann G & Petrovick PR. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de
640 medicamentos. *In:* Simões CMO. (Org.). Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5. ed. Porto
641 Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2003. cap. 15, p. 371-400.

642 • **Citação indireta**

643 Utiliza-se *apud* (citado por) nas citações que foram transcritas de uma obra de um determinado
644 autor, mas que na verdade pertence a outro autor.

645 Helper CD & Strant LM. Opportunities and responsibilities in pharmaceutical care. *Am. J. Hosp.*
646 *Pharm.* 47: 533-543, 1990. *Apud* Bisson MP. Farmácia Clínica & Atenção Farmacêutica. 2. ed.
647 Barueri: Manole, 2007. p. 3-9.

648 **c) Teses, Dissertações e demais trabalhos acadêmicos:**

649 Autor. *Título* (inclui subtítulo se houver). Ano. Cidade. Total de páginas. Tipo (Grau), Instituição
650 (Faculdade e Universidade) onde foi defendida. 10

651 Sampaio IR. *Etnofarmacologia e toxicologia de espécies das famílias Araceae e Euphorbiaceae.*
652 2008. Rio de Janeiro. 45 p. Monografia (Especialização em Farmacologia), Associação Brasileira
653 de Farmacêuticos. Rio de Janeiro.

654 **d) Eventos científicos (Congressos, Seminários, Simpósios e outros):**

655 Autor (es). Título do trabalho. *Nome do evento*, nº do evento. Página. Cidade. País. Ano.
656 Marchioretto CT, Junqueira MER & Almeida ACP. Eficácia anestésica da neocaína (cloridrato de
657 bupivacaína associada a epinefrina) na duração e intensidade da anestesia local em dorso de cobaio.
658 *Reunião anual da SBPC*, 54, Goiânia, Brasil, 2002.

659 **e) Patentes:** Devem ser identificadas conforme modelo abaixo e na medida do possível o número
660 do Chemical Abstracts deve ser informado.

661 Ichikawa M, Ogura M & Lijima T. 1986. Antiallergic flavone glycoside from *Kalanchoe pinnatum.*
662 *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 61,118,396,apud* Chemical Abstracts 105: 178423q.

663 **f) Leis, Resoluções e demais documentos**

664 Conforme o modelo:

665 Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria
666 Colegiada (RDC) no 44, de 17 de agosto de 2009.

667 **g) Banco/Base de Dados**

668 Conforme o modelo

669 BIREME. Centro Latino-Americano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde. Lilacs -
670 Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde. Disponível em:
671 <<http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&base=LILACS&lang>
672 =p>. Acesso em: 27 ago. 2009.

673 **h) Homepage/Website**

674 Conforme o modelo: 11

675 WHO *Guidelines for Pharmacological Management of Pandemic (H1N1) 2009 Influenza and other*
676 *Influenza Viruses*. 91 p. Disponível em:
677 <http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/h1n1_guidelines_pharmaceutical_m
678 [ngt.pdf](http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/h1n1_guidelines_pharmaceutical_m)>. Acesso em agosto de 2009.

679 **ANEXO B - Avaliação *in vitro* da atividade antifúngica**

680 **1. Espécies fúngicas analisadas**

681 O total de 8 espécies fúngicas foram analisadas: 4 cepas leveduriformes (*Candidaalbicans* –
682 CA 02, *Candidakrusei* - ATCC 6258, *Candidaglabrata* - CG RL49 e *Candidatropicalis* – CT72A)
683 e 4 cepas dermatofíticas (*Microsporium canis* - MCA 01, *Microsporumgypseum* - MGY 42,
684 *Trichophytonmentagrophytes* - TME 16 e *Trichophytonrubrum* - TRU 45), que estão depositados na
685 micoteca do Grupo de Pesquisa em Micologia Aplicada (GPMA) da Faculdade de Farmácia -
686 UFRGS, em Porto Alegre.

687

688 **2. Avaliação da atividade antifúngica – técnica da microdiluição em caldo para determinação**
689 **da concentração inibitória mínima (CIM)**

690

691 O preparo do inóculodermatofítico foi conduzido seguindo-se recomendações do protocolo
692 da CLSI (M38-A2; 2008; p. 6). Os inóculos de todos os isolados clínicos estudados (*M. Canis*, *M.*
693 *gypseum*, *T. mentagrophytes* e *T. rubrum*) foram procedentes de subcultivo em placas com ágar
694 batata dextrose - ABD (Pronadisa, Madrid, Espanha), as quais foram incubadas entre 4 a 7 dias, em
695 temperatura de 35 °C (estufa DE LEO). As colônias foram cobertas com aproximadamente 5.0 mL
696 de salina estéril 0.85% e cuidadosamente, com uma alça de drigalski estéril, homogeneizadas com a
697 salina. A suspensão fúngica resultante, de conídios e fragmentos de hifas, foi então transferida, com
698 o auxílio de pipeta de Pasteur estéril, para tubo de vidro estéril, o qual foi deixado em repouso, à
699 temperatura ambiente, por 10 minutos (min.). As partículas mais pesadas sedimentaram e o
700 sobrenadante foi transferido para um novo tubo de vidro estéril, o qual foi homogeneizado em
701 vórtex (agitador mini-vortex PV-1, Jimeno), por 15 segundos. A turbidez das suspensões foi
702 determinada a 530 nm, em espectrofotômetro UV visível (Biospectro SP-220), admitindo-se leituras
703 de densidade ótica com transmitância entre 80 a 82%, ajustando-se quando necessário. A partir
704 dessa suspensão com turbidez previamente determinada, realizou-se diluição 1:50 em meio RPMI
705 1640 (contendo L-glutamina, sem bicarbonato de sódio, tamponado a pH 7.0 com MOPS 0.165
706 mol.L⁻¹; Sigma-Aldrich), obtendo-se o inóculodermatofítico com concentração final de 2.0 x 10³ a
707 6.8 x 10³ UFC.mL⁻¹ (concentração 2 x maior que a preconizada para o teste de suscetibilidade, já que
708 ocorre diluição 1:2 no momento da inoculação na microplaca do referido ensaio).

709 O inóculoleveduriforme de *C. albicans* e *C. não-albicans* (*C. krusei*, *C. glabrata* e *C.*
710 *tropicalis*), foi feito conforme o protocolo da CLSI (M27-A3; 2008; p. 10). As leveduras foram
711 subcultivadas em ágar sabouraud dextrose – ASD (Pronadisa, Madrid, Espanha), com incubação
712 por 24 horas, a 35 °C. Cinco colônias de cada cultura foram adicionadas em um tubo de vidro
713 estéril com salina 0.85% também estéril, seguindo agitação em vórtex por 15 segundos. A turbidez

714 da suspensão fúngica foi ajustada espectrofotometricamente(Biospectro SP-220) a 530 nm,
715 comparando-se com a densidade celular da suspensão padrão 0.5 MacFarland. A partir dessa
716 suspensão com turbidez devidamente padronizada, fez-se uma diluição 1:50 e posteriormente, 1:20
717 em meio RPMI 1640 (contendo *L*-glutamina, sem bicarbonato de sódio, tamponado a pH 7.0 com
718 MOPS 0.165 mol.L⁻¹; Sigma-Aldrich),obtendo-se o inóculo leveduriforme com concentração final
719 de 1.0 x 10³ a 5.0 x 10³UFC.mL⁻¹(concentração 2 x maior que a preconizada para o teste de
720 suscetibilidade, já que ocorre diluição 1:2 no momento da inoculação na microplaca do referido
721 ensaio).

722 Posteriormente ao preparo dos inóculos fúngicos, a CIM foi determinada pelo método de
723 microdiluição em caldo, de acordo com as diretrizes das normas CLSI, documentos M38-A2 e
724 M27-A3 (2008). Para o ensaio utilizou-se microplacas de poliestireno de 96 poços, com fundo em
725 forma de “U” (ALAMAR®, Diadema, São Paulo, Brasil). Inicialmente, pipetou-se 100 µL do meio
726 de cultura - meio RPMI 1640 (contendo *L*-glutamina, sem bicarbonato de sódio, tamponado a pH
727 7.0 com MOPS 0.165 mol.L⁻¹; Sigma-Aldrich) nos poços da microplaca, da 2^a coluna até a 11^a e
728 200 µL nos poços da 12^a coluna. Uma alíquota de 200 µL da solução dos padrões a serem testados
729 foi adicionada na 1^a coluna da microplaca, procedendo-se a microdiluição seriada, pela
730 transferência de 100 µL da 1^a coluna para a 2^a; da 2^a para a 3^a e assim sucessivamente até a 10^a
731 coluna, desprezando-se 100 µL. Em decorrência desse processo, em cada coluna ocorre uma
732 diluição 1:2 com o meio de cultura, de modo que a concentração das soluções-teste, a cada
733 microdiluição, cai pela metade. Por fim, adicionou-se 100 µL do inóculo, ficando cada poço da
734 microplaca com um volume final de 200 µL. Desse modo, no ensaio, há a microdiluição para
735 determinação da CIM, da 1^a até a 10^a coluna, há o controle de viabilidade do crescimento fúngico
736 (controle positivo, 11^a coluna, meio de cultura e inóculo) e o controle de esterilidade do meio de
737 cultura (controle negativo, 12^a coluna, somente meio RPMI 1640).

738 As microplacas foram incubadas a 35 °C(estufa DE LEO)e a leitura, após 4 dias (96 h) de
739 incubação para dermatófitos e 2 dias (48 h) para leveduras,foi realizada visualmente,considerando-

740 se para determinação da CIM, 100% de inibição do crescimento fúngico, sempre em comparação
 741 com o crescimento do controle positivo. Dessa forma, considerou-se como CIM a menor
 742 concentração dos compostos capaz de inibir totalmente o crescimento das espécies fúngicas
 743 utilizadas no ensaio. O teste foi realizado em duplicata e o resultado dos valores de CIM expresso
 744 em µg/mL.

745

746 3. Resultados

747

748 Do total das três amostras analisadas, a FA (formulação com extrato) apresentou atividade
 749 somente para uma cepa de *Candida* (*C. albicans* – CA 02) com CIM de 250 µg/mL e o E (extrato)
 750 apresentou atividade contra todas as cepas de dermatófitos testadas (*M. canis* – MCA 01, *M.*
 751 *gypseum* – MGY 42, *T. mentagrophytes* – TME 16 e *T. rubrum* – TRU 45), com CIM de 250
 752 µg/mL. FP (formulação sem extrato) demonstrou-se inativo.

753

754 **Tabela 1.** CIM amostras analisadas (µg/mL).

755

Amostras analisadas	Dermatófitos				Leveduras - <i>Candida</i> spp.				
	MCA 01	MGY 42	TME 16	TRU 45	CA 02	CK 6258	ATCC	CG RL49	CT 72A
FA	AS	SA	SA	SA	250	SA		SA	SA
FP	AS	SA	SA	SA	SA	SA		SA	AS
E	250	250	250	250	SA	SA		SA	AS

756 FA, formulação com extrato (500 µg/mL); FP, formulação sem extrato; E, extrato (500
 757 µg/mL); CIM, concentração inibitória mínima; SA, SEM ATIVIDADE; MCA, *Microsporum canis*;
 758 MGY, *Microsporumgypseum*; TME, *Trichophytonmentagrophytes*; TRU, *Trichophytonrubrum*;
 759 CA, *Candidaalbicans*; CK, *Candidakrusei*; CG, *Candidaglabrata*; CT, *Candidatropicalis*.

760 Os resultados encontrados não justificam o uso deste extrato como um ativo antidermatofítico.

761

762 **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

763

764 **CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous**
765 **Fungi.** Approved Standard – Second Edition. CLSI document M38-A2. Wayne, PA: Clinical and
766 Laboratory Standards Institute, 2008.

767

768 **CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts.**
769 Approved Standard – Third Edition. CLSI document M27-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory
770 Standards Institute, 2008.

771

772 ESPINEL-INGROFF, A. et al. Testing Conditions for Determination of Minimum Fungicidal
773 Concentrations of New and Established Antifungal Agents for *Aspergillus* spp.: NCCLS
774 Collaborative Study. **Journal of Clinical Microbiology**, [S.l.], v. 40, n. 9, p. 3204-3208, Sept.
775 2002.

776