

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE FARMÁCIA

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA DETECÇÃO DE
DIURÉTICOS EM ALIMENTOS À BASE DE PROTEÍNA DO SORO DE LEITE (*WHEY-
PROTEIN*)**

Vanessa Klimkowski Argoud

Porto Alegre, dezembro de 2017.

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Farmácia

Trabalho de conclusão de curso

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA DETECÇÃO DE
DIURÉTICOS EM ALIMENTOS À BASE DE PROTEÍNA DO SORO DE LEITE (WHEY-
PROTEIN)**

Vanessa Klimkowski Argoud

Orientador: Pedro Eduardo Froehlich

“O Universo não é uma ideia minha.
A minha ideia do Universo é que é uma ideia minha.
A noite não anoitece pelos meus olhos.
A minha ideia da noite é que anoitece por meus olhos.
Fora de eu pensar e de haver quaisquer pensamentos
A noite anoitece concretamente
E o fulgor das estrelas existe como se tivesse peso.
Assim como falham as palavras quando queremos exprimir qualquer pensamento,
Assim falham os pensamentos quando queremos pensar qualquer realidade.
[...]

Assim tudo o que existe, simplesmente existe.
O resto é uma espécie de sono que temos,
Uma velhice que nos acompanha desde a infância da doença”.

Fernando Pessoa

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer aos professores Pedro Eduardo Froehlich e Ana Maria Bergold por terem me recebido como aluna de iniciação científica desde o segundo semestre de faculdade e me orientado ao longo desses quase seis anos na pesquisa.

Agradeço pelo apoio, suporte e companhia aos colegas do LAPS Marieli de Araújo, Andrea Garcia, Andréia Wildner, Leonardo Secretti e, em especial, às colegas Pamela Lukasewicz e Inélia Franskoviaki, sem as quais esse trabalho não seria possível.

Aos meus colegas e amigos Yasmini Dandara, Rudini Correa, Nathan Strogulski, Manuela Gasparin, Letícia Fernandes, Juliana Ribeiro, Guilherme Arraché, Gabriel Azambuja, Francine Bittencourt, Elissa Fernandes, Caroline Souto, Caroline Gentz, Artur Vargas e Aléxi Muchale pelo coleguismo e amizade persistentes durante os melhores e os piores momentos da graduação.

Aos meus companheiros na universidade, na vida e na luta Thainá Lerina, Sibeli Diafenthaler, Roberta Gomes, Priscila Prates, Mateus Pettenuzzo, Marcel Seberino, Janine Garcia, Guilherme Fonseca, Giorgio Giuliano, Giliane Araújo, Gabriela Loss, Fábio Krutzmann, Fernanda Tomé, Elisiane Wolf, Elisa Benedetto, Débora de Paula, Denise Santos, Beatriz Duarte, Angel Duran e Alexandre Dorneles por tudo que me ensinaram e aprendemos juntos. Sem dúvida a experiência que tivemos contribuiu para que todos estejam cada vez mais conscientes do seu papel na luta de classes e seguiremos firmes na busca pela emancipação humana, independente do caminho que cada um seguirá no futuro.

À minha mãe Margarete Klimkowski e ao meu pai Cristiano Real Argoud por sempre prestarem apoio e suporte as minhas escolhas em todos âmbitos da vida.

APRESENTAÇÃO

Os resultados deste estudo estão sob forma de artigo científico, o qual contém os seguintes tópicos: introdução, materiais e métodos, resultados, discussão, conclusão e referências, e será submetido a Revista Brasileira de Farmácia. O trabalho está de acordo com as normas da revista a ser publicada (em anexo). Os experimentos foram realizados no Laboratório de Padrões Secundários (LAPS) da faculdade de farmácia UFRGS.

Desenvolvimento de metodologia analítica para detecção de diuréticos em alimentos à base de proteína do soro de leite (whey-protein)

Vanessa Klimkowski Argoud^{1*}, Pamela Cristina Lukasewicz. Ferreira² & Pedro Eduardo Froehlich³

¹ Bacharelado em farmácia, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

^{2,3} Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

* Endereço de e-mail: vanessa.argoud@ufrgs.br. Av. Ipiranga, 2700, Porto Alegre – RS, Brasil -

CEP: 90610-000. Telefone/fax: + 55 (51).3308-5313

Resumo

Alimentos à base de proteína de soro de leite (*whey-protein*) são amplamente utilizados por atletas da categoria profissional do esporte, no entanto, há relatos na literatura de produtos desse tipo contendo substâncias consideradas doping. A presença dos diuréticos clorotiazida, hidroclorotiazida e furosemida em quaisquer quantidades na amostra de urina caracteriza doping e implica em penalidade, independente de intencionalidade ou não de uso. Foi proposto um método de detecção desses três compostos através de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD), utilizando coluna C8 (250 mm x 4,60 mm x 5 μ m) e método gradiente, com fluxo de 0,8 ml/min, composto pela fase móvel (FM) tampão acetato de amônio 10 mM pH 3 (A) e Acetonitrila (B) na proporção inicial de 10 % de FM B de 0-13 min, aumento até 60% em 24 min e retorno à composição original até 25 minutos. O método apresentou especificidade, linearidade ($r > 0,9980$), exatidão ($CV < 5,0 \%$), porém precisão insatisfatória ($CV > 5,0 \%$). Treze produtos foram testados e foi detectado a presença de diuréticos em 7 amostras. Assim, o método pode ser aplicado na rotina de forma qualitativa, assegurando a ausência dessas substâncias no *whey-protein* antes do consumo.

Palavras-chave: Whey-protein, Suplemento alimentar, Doping, Diuréticos.

Abstract

Isolated milk whey-proteins are widely used by professional sport category's athletes, however, there are reports in the literature of such products containing doping substances. The presence of diuretics chlorothiazide, hydrochlorothiazide and furosemide in any quantities in the urine sample characterizes doping and implies a penalty, regardless of intentional or non-intentionality use. A method of detection of these three compounds was proposed by high efficiency liquid chromatography coupled to a diode arrangement detector (HPLC-DAD), using a C8 column (250 mm x 4.60 mm x 5 μ m) and gradient elution, with flow of 0.8 ml/min, composed of the mobile phase (FM) ammonium acetate buffer 10 mM pH 3 (A) and Acetonitrile (B) in the initial ratio of 10 % of FM B 0-13 min, increase up to 60 % in 24 min, return to the original composition for up to 25 minutes. The method presented specificity, linearity ($r > 0.9980$), accuracy ($CV < 5.0 \%$), but unsatisfactory precision ($CV > 5.0 \%$). Thirteen products were tested and the presence of diuretics in 7 samples was detected. The method can be applied in the routine for qualitative analysis ensuring the absence of these substances in whey-protein before consumption.

Key words: Whey proteins, Dietary supplement, Doping, Diuretics.

Introdução

Os alimentos à base da proteína do soro do leite (*Whey-protein*) são um dos tipos de suplementos proteicos amplamente utilizados por atletas das categorias profissionais e outros esportistas amadores. Esses produtos visam complementar a dieta do atleta, suprimindo suas necessidades nutricionais específicas, e não devem conter substâncias de ação medicamentosa, hormônios, estimulantes ou qualquer outra substância considerada doping (Brasil, 2010). No entanto, o frequente relato de casos de doping-positivo em atletas, sem o consumo intencional por parte desses, levou as equipes e demais profissionais do esporte a suspeitar da presença dessas substâncias nesses produtos e, de fato, existem múltiplos relatos na literatura que indicam a presença de dopings em suplementos alimentares diversos (Pereira & Sardela, 2014; Jiménez, Deventer & Van Eenoo, 2012; Maughan, Greenhaff & Hespel, 2011; Parr, Pokrywka & Kwiatkowska, 2011; Maughan, 2005).

A World Anti-Doping Agency (WADA) atualiza anualmente a listagem de quais compostos são caracterizados como doping e contém diferentes categorias de substâncias de uso proibido no esporte (WADA, 2017). Segundo registros da WADA nos anos de 2004 a 2008, os achados analíticos adversos envolvendo diuréticos são cada vez mais frequentes. No ano de 2008, os diuréticos foram responsáveis por 7,9% dos casos; sendo furosemida e a hidroclortiazida a primeira e a segunda substância mais relatada, respectivamente (Cadwallader1 *et al.*, 2010). Os diuréticos compõem a categoria S5 de substâncias proibidas pela WADA, devido a sua capacidade de induzir a perda de líquidos - contribuindo na definição da massa muscular e perda de peso (importante no fisiculturismo e em esportes divididos por categorias de peso) – e pela capacidade de mascarar o uso de outras substâncias proibidas, como formoterol, salbutamol e efedrina, seja por diluição ou por alterar o pH urinário, inibindo a excreção passiva (WADA, 2017; Cadwallader1 *et al.*, 2010; MacAuley, 1996).

Segundo a regulamentação brasileira de esportes, a presença de substâncias proibidas em amostra biológica do atleta é considerada doping e prevê penalidades, sendo o atleta totalmente responsável, ou seja, a não intencionalidade, negligência ou desconhecimento não o isenta da infração

(Brasil, 2015). Por tanto, é preciso assegurar-se previamente de que os produtos consumidos pelo atleta profissional não contenham essas substâncias. Pensando nisso, vários autores validaram processos de extração e detecção por cromatografia líquida de esteroides, anfetaminas, estimulantes, efedrinas e anorexígenos em suplementos alimentares diversos na forma de pós, tabletes e cápsulas (Cavalcanti *et al.*, 2013; ElSohly¹ & Gul, 2014; Hoggan *et al.*, 2007; Reilly & Crouch, 2004; Strano-Rossia, 2015; Wójtowicz *et al.*, 2015). A proposta deste estudo é desenvolver uma metodologia de detecção simultânea dos diuréticos clorotiazida (CTZ), hidroclorotiazida (HCT) e furosemida (FMD) em alimentos à base de proteína do soro do leite (*whey-protein*) por meio de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD).

Materiais e métodos

Padrões e Regentes

Os padrões HCT, FMD e CTZ foram obtidos da Farmacopéia Americana (USP). No preparo da solução tampão foram utilizados os reagentes acetato de amônio PA (Delaware) e ácido acético glacial PA (Synth). A acetonitrila (Merck) e metanol (Vetec) utilizados na fase móvel e preparo das amostras foram grau CLAE.

Amostras

Foram analisados 13 alimentos de reposição proteica de diferentes variedades e lotes, referente a 8 diferentes fabricantes. As amostras foram cedidas espontaneamente por esportistas e demais consumidores.

Preparo das soluções e padrões

Pool de amostras: foi preparado a partir de 1 g de 15 alimentos de reposição proteica na forma de pó de diferentes variedades pertencentes a três diferentes fabricantes. A mistura foi homogeneizada e armazenada em frasco de vidro âmbar.

Solução padrão: aproximadamente 10 mg de cada padrão foram pesados e diluídos em balões volumétricos (b.v) de 10 mL com solução diluente, homogeneizadas em banho de ultrassom por 5 min e armazenadas a 4 °C.

Solução estoque: aproximadamente 10 mg de cada padrão foram pesados e diluídos em balões volumétricos de 10 mL com metanol, resultando em soluções estoque 1 mg/mL, levou-se ao ultrassom por 5 min e armazenou-se a 4 °C. Alíquotas da solução estoque foram volumetricamente retiradas para a preparação das soluções de trabalho utilizadas na elaboração da curva de calibração.

Solução de trabalho: aproximadamente 0,5 g do *pool* de amostras foram pesados e dissolvidos com 5 mL de metanol e contaminados com quantidades conhecidas da solução estoque. Homogeneizou-se em vortex por 30 seg e levou-se ao ultrassom por 15 min. As soluções foram centrifugadas por 5 min a 3000 rpm e o sobrenadante evaporado em rotavapor. O resíduo foi ressuspensão volumetricamente em 1 mL da solução diluente e filtrado em filtro de 0,22 µm.

Preparo das amostras: as amostras foram preparadas conforme procedimento da solução trabalho, sem adição de solução estoque.

Instrumental e método

O cromatógrafo a líquido de alta eficiência (Shimadzu) utilizado possui injetor automático e detector de arranjo de diodos em série (DAD). A separação cromatográfica foi realizada com uma coluna Phenomenex C8 (250 mm x 4,6 mm x 5 µm). O fluxo foi de 0,8 mL/min; volume de injeção 25 µL. A fase móvel (FM) consiste em tampão acetato de amônio 10 mM ph 3,0 (A) e acetonitrila (B). O método gradiente inicia com 10 % de FM B de 0-13 min, aumenta a 60% em 24 min e retorna à composição original até 25 minutos.

Validação do método

A resolução nº 166/2007 da ANVISA foi utilizada como guia para o procedimento de validação (Brasil, 2017). Os parâmetros analisados foram a especificidade, linearidade, limite de quantificação, precisão (repetibilidade intra e inter-dias), exatidão e robustez. A análise estatística dos dados obtidos foi realizada através do programa Microsoft Office Excel® 2013.

Resultados e discussão

Desenvolvimento do método de extração

O processo de extração das substâncias de interesse, de modo a obter um cromatograma sem interferentes, é um desafio, em especial por se tratar de substâncias hidrofílicas (ChemSpider, 2017a; ChemSpider, 2017b; ChemSpider, 2017c). Como o modo de preparo para o consumo do *whey-protein* é baseado na diluição do pó em água, os suplementos são compostos de diversas substâncias com esse caráter, acarretando em um efeito de matriz intenso. A presença de compostos emulsionantes nas formulações aumenta a presença de proteínas e lipídeos nos solventes hidrofílicos e dificulta ainda mais o processo de extração.

Considerando as características de solubilidade dos diuréticos de interesse, foram testadas quatro diferentes formas de extração. Inicialmente, testou-se um método de partição líquido-líquido com água e acetato de etila, obtendo-se uma fase orgânica límpida e com poucos interferentes, porém a quantidade de diurético recuperada foi inferior a 6%, não sendo uma metodologia adequada para extração das substâncias de interesse. Testou-se também a extração em ultrassom com metanol, procedida de filtração em funil de Buchner e em filtros de 0,22 µm; obteve-se uma amostra turva e cromatograma com interferentes em concentrações muito elevadas; a adição da etapa de centrifugação permitiu a obtenção de uma amostra límpida, redução dos interferentes na análise e taxa de recuperação dos diuréticos acima de 80%. Buscou-se otimizar o método utilizando etanol:acetona (1:1) como solução de extração, porém a extração de um interferente com tempo de retenção

semelhante a CTZ não permitiu a quantificação desse diurético. Por tanto, o método escolhido consiste na extração com metanol em ultrassom e centrifugação do mesmo.

Validação do método de análise

A identificação dos picos referentes a CTZ, HCT e FMD foi baseada na comparação com os tempos de retenção (Tr) das soluções padrão e espectro UV. O cromatograma do *pool* de amostras apresentou efeito matriz intenso, que posteriormente afetaram os resultados de precisão e exatidão. No entanto, os picos referentes a impurezas remanescentes do processo de extração apresentaram Tr distintos das substâncias buscadas, possibilitando análise de caráter qualitativo e semi-quantitativo das amostras (Figura 1). Os Tr dos diuréticos analisados foram próximos a 4,9 min para CTZ, 5,4 min para HCT e 22,3 min para FMD.

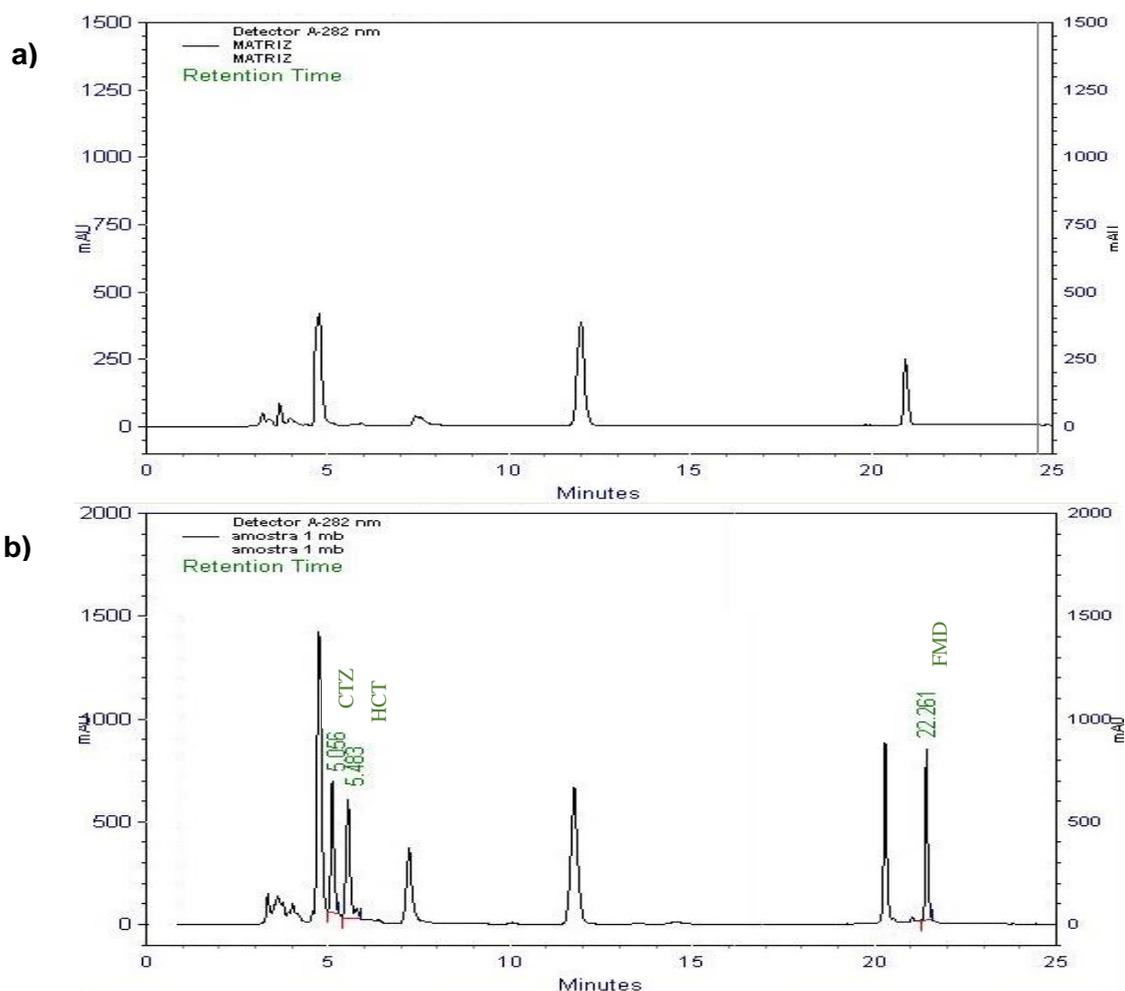


Figura 1: a) Branco (*pool* de amostras); b) *pool* de amostras contaminado com soluções estoque (150 µg/ml) de clorotiazida (5,056 min), hidroclorotiazida (5,483 min) e furosemida (22,261).

As curvas de calibração foram determinadas em triplicata, utilizando a faixa de concentração entre 40 - 150 µg/mL dos analitos com detecção no comprimento de onda de 272 nm, apresentando boa linearidade e coeficiente de correlação maior que 0,9961 (Figura 2). O limite de quantificação baseado na relação sinal:ruído (1:10), para todos analitos, foi de aproximadamente 35 µg/mL.

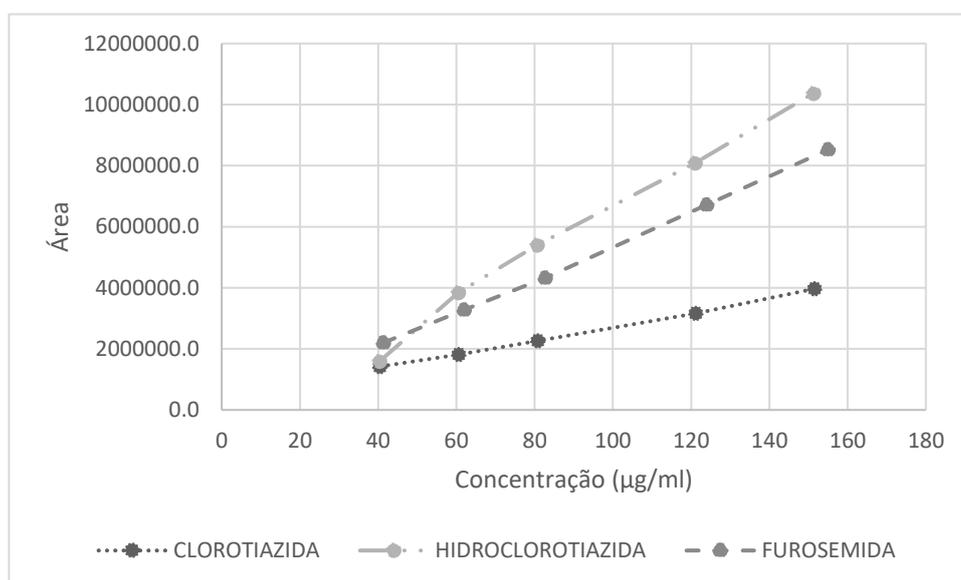


Figura 2: plotagem das médias dos valores de área encontrados no cromatograma (272 nm) em função da concentração de diurético adicionado no *pool* de amostras. O coeficiente de correlação encontrado foi de 0,9961, 0,9996 e 0,9988 para clorotiazida, hidroclorotiazida e furosemida, respectivamente.

A repetibilidade intra-dia foi determinada pela análise em triplicata de três diferentes concentrações em um mesmo dia, gerando resultados com CV máximo de 4,2%; a repetibilidade inter-dia foi analisada comparando-se os resultados das análises em triplicata de dois dias distintos,

gerando um CV de 4,5 - 14,9 % para clortiazida (Tabela 1), 2,5 – 2,8% para hidroclorotiazida (Tabela 2) e 3,2 – 6,0% para furosemida (Tabela 3) . Apesar do tipo de material que compõe as amostras analisadas não possuir nenhuma regulamentação específica , a ANVISA permite CV de até 5,0 % em produtos de compostos por matriz complexa (Brasil, 2017). Por tanto, dentro desse quesito, o método apresentou precisão não satisfatória para as substâncias clortiazida e furosemida. O alto CV encontrado demonstra a ineficiência do processo de extração, que apresenta impurezas e variações na quantidade de diuréticos recuperados em análises em dias distintos. Um ajuste delicado na escolha do solvente ou no método de separação pode fornecer melhores resultados.

Tabela 1: Dados obtidos no ensaio de precisão intra-dia e inter-dia referente a clortiazida.

Concentração de clorotiazida		40		80		150	
		µg/mL		µg/mL		µg/mL	
		Tr	A	Tr	A	Tr	A
INTRADIA	Dia 1 A	4,747	1409332	4,747	2714669	4,768	5088965
	Dia 1 B	4,757	1365267	4,747	2783235	4,757	5011142
	Dia 1 C	4,757	1408046	4,757	2879803	4,768	5021222
	Média		1394215		2792569		5040443
	DP		25078		82962		42322
	DPR		1,80		2,97		0,84
			Tr	A	Tr	A	Tr
INTERDIA	Dia 2 A	5,099	1141696	5,088	2034254	5,109	4698581
	Dia 2 B	5,099	1141594	5,099	2180237	5,099	4732656
	Dia 2 C	5,141	1181068	5,099	2196377	5,131	4546935
	Média		1154786		2136956		4659391
	DP		22761		89308		98869
	DPR		1,97		4,18		2,12
	Média		1274501		2464763		4849917
Desvio padrão		132878		367276		219515	
DPR		10,43		14,90		4,53	

Tabela 2: Dados obtidos no ensaio de precisão intra-dia e inter-dia referente a hidroclorotiazida.

Concentração de		40 µg/mL		80 µg/mL		150 µg/mL		
hidroclorotiazida		Tr	A	Tr	A	Tr	A	
INTERDIA	INTRADIA	Dia 1 A	5,227	2789873	5,216	5540772	5,237	11524170
		Dia 1 B	5,237	2693444	5,227	5827051	5,259	11014800
		Dia 1 C	5,248	2857240	5,237	5807309	5,248	11102198
		Média		2780186	5	5725044		11213723
		DP		82327	0	159889		272383
		DPR		2,96	0,20	2,79		2,43
		Dia 2 A	5,547	2683869	5,536	5596867	5,557	10929082
	Dia 2 B	5,557	2712379	5,547	5911341	5,559	11556573	
	Dia 2 C	5,589	2839157	5,536	5797175	5,589	11546486	
	Média		2745135		5768461		11344047	
	DP		82664		159191		359406	
	DPR		3,01		2,76		3,17	
	Média		2762660		5746753		11278885	
	Desvio padrão		76243		144665		294009	
DPR		2,76		2,52		2,61		

Tabela 3: Dados obtidos no ensaio de precisão intra-dia e inter-dia referente a hidroclorotiazida.

Concentração de furosemida		40 µg/mL		80 µg/mL		150 µg/mL		
		Tr	A	Tr	A	Tr	A	
INTRADIA	Dia 1 A	22,187	2286143	22,187	4662017	22,208	8882805	
	Dia 1 B	22,187	2133806	22,197	4921833	22,219	8889960	
	Dia 1 C	22,208	2280001	22,197	4783467	22,197	8167015	
	Média	2233317		4789106		8646593		
	DP	86233		130000		415342		
	DPR	3,86		2,71		4,80		
	INTERDIA		Tr	A	Tr	A	Tr	A
		Dia 2 A	22,315	2045791	22,379	4622136	22,347	8076246
		Dia 2 B	22,325	2093752	22,336	4552671	22,357	8626559
		Dia 2 C	22,389	1967727	22,336	4895419	22,357	8908752
Média		2035757		4690075		8537186		
DP		63609		181193		423388		
DPR		3,12		3,86		4,96		
Média		2134537		4739591		8591890		
Desvio padrão		127679		151111		379865		
DPR		5,98		3,19		4,42		

A exatidão do método foi testada pela análise em triplicata das concentrações 40, 80 e 150 µg/ml, utilizando como parâmetro o percentual de recuperação dos diuréticos na solução de trabalho em relação a solução padrão. A recuperação pelo processo de extração das quantidades de 40, 80 e 150 µg adicionadas ao pool de amostras foi de 95,5 % ($\pm 1,7$), 95,0 % ($\pm 2,8$) e 91,5% ($\pm 0,8$) para CTZ, 78,1 % ($\pm 2,3$), 80,5 % ($\pm 2,2$) e 84,1 % ($\pm 2,43$) para HCT e 93,7 % ($\pm 3,6$), 100,4 % ($\pm 2,7$) e 96,7 % ($\pm 4,6$) para FMD.

Durante a execução do método, foram testadas variações de temperatura de análise, no fluxo e no pH da FM A, avaliando a robustez do método. Notou-se que a partir do pH 3,5 ocorre uma sobreposição entre os picos referentes a CTZ e HCT, e que o aumento do fluxo para 1,0 ml/min, bem como a temperatura do ambiente de análise a cima de 25 °C, leva à sobreposição de um pico presente no *pool* de amostras com o pico referente à CTZ. Por tanto, esses parâmetros devem ser bem controlados para garantir a reprodutibilidade do método.

Análise das amostras

Nas amostras analisadas, o efeito da matriz diferiu conforme o produto. O espectro UV gerado pelo DAD demonstrou a pureza dos picos, por tanto, não houve interferência na quantificação dos diuréticos. Das 13 amostras analisadas, 5 demonstraram presença de CTZ e 6 de FMD; nenhuma amostra foi positiva para HCT. A identidade dos compostos foi confirmada através da comparação dos espectros de UV entre amostra e padrão (Figura 4). O método desenvolvido permite apenas uma estimativa de concentração de diuréticos presentes na amostra, sendo encontradas concentrações próximas a 34 - 82 µg/ml e 63 - 93 µg/ml de CTZ e FMD, respectivamente (Tabela 4).

Figura 4: comparativo entre os espectros UV dos padrões de CTZ (a) e FMD (b) com os espectros gerados no mesmo tempo de retenção na amostra (c, d); cromatograma da amostra 3 com detecção em 272 nm (e).

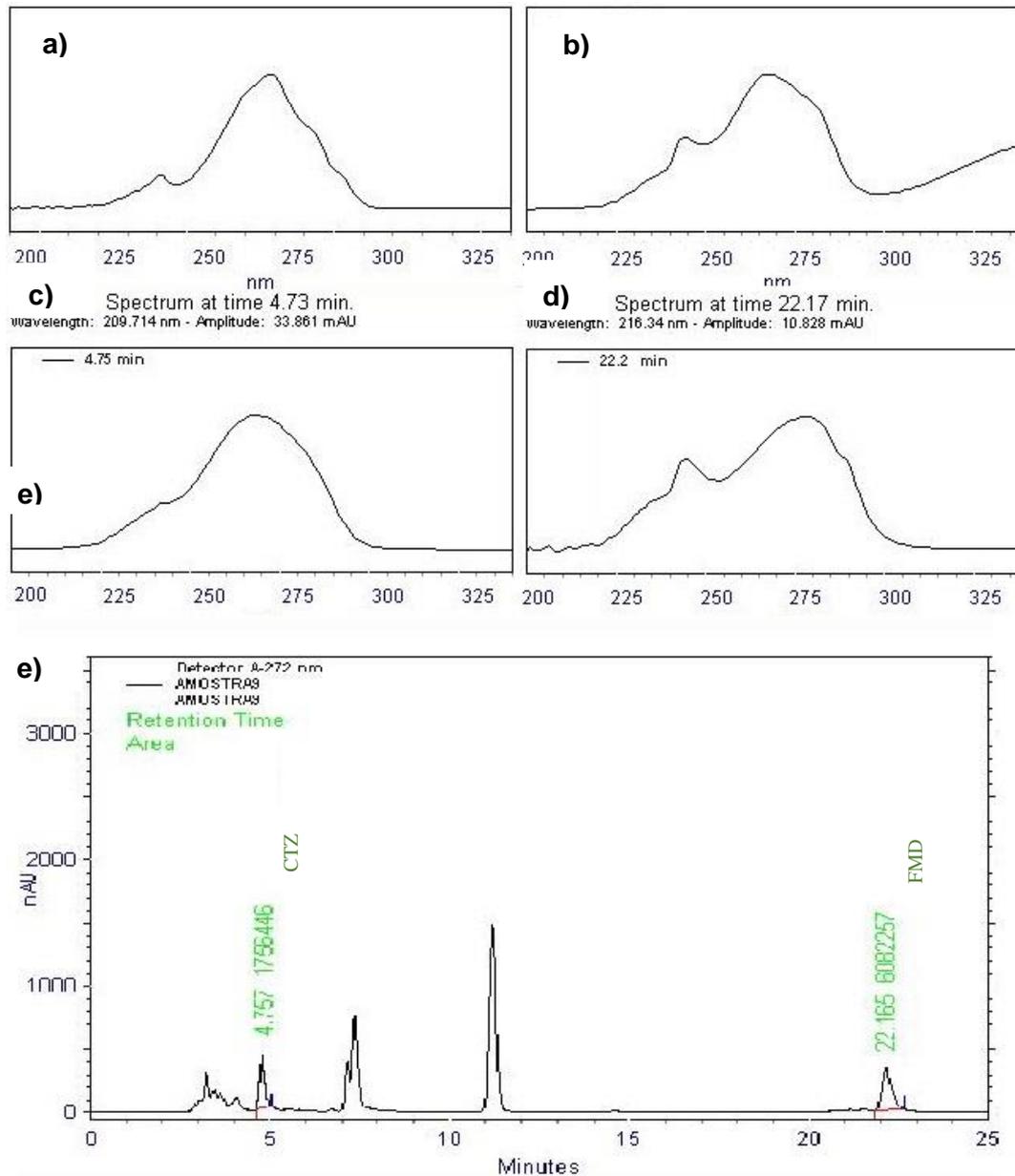


Tabela 4: Resultado qualitativo das amostras analisadas com estimativa da concentração da substância nas amostras positivas.

Clorotiazida Hidroclorotiazida Furoseimida

Amostra	(-)	(-)	(-)
1			
Amostra	(-)	(-)	(+)
2			63,57 µg/ml
Amostra	(+)	(-)	(+)
3	56,48 µg/ml		93,37 µg/ml
Amostra	(-)	(-)	(+)
4			10,51 µg/ml
Amostra	(-)	(-)	(-)
5			
Amostra	(-)	(-)	(+)
6			63,20 µg/ml
Amostra	(+)	(-)	(+)
7	81,11 µg/ml		78,71 µg/ml
Amostra	(-)	(-)	(-)
8			
Amostra	(+)	(-)	(-)
9	34,82 µg/ml		
Amostra	(-)	(-)	(-)
10			
Amostra	(-)	(-)	(-)
11			
Amostra	(-)	(-)	(-)
12			

Amostra	(+)	(-)	(+)
13	43,46 µg/ml		51,60 µg/ml

A dose média de consumo recomendada pelos fabricantes é de 35 g de *whey-protein* pré e pós treino. Considerando os resultados encontrados nas amostras positivas, o correspondente a doses diárias aproximadas de 5,0 – 14 mg e 9,5 – 16 mg de CTZ e FMD, respectivamente, poderiam estar sendo ingeridas. A menor dose via oral utilizada na clínica para o efeito diurético são de 500 mg diários para CTZ e 20 mg para FMD. Apesar da quantidade dos diuréticos encontrada na amostra representar uma dose subterapêutica, o consumo diário dessas substâncias é suficiente para cumprir com o efeito diurético, causando a riscos na saúde do atleta, e pode ser detectada na urina, caracterizando uso de doping na categoria profissional de esportes.

Conclusão

O método desenvolvido é útil na detecção simultânea de clorotiazida, hidroclorotiazida e furosemida por CLAE em alimentos à base de proteínas do soro do leite (*whey-protein*), porém não permite a quantificação confiável desses diuréticos. Para validar o método, é necessário ajustar o processo de extração, de forma a garantir a repetibilidade inter-dia dos resultados.

A aplicação dessa análise antes do consumo em cada lote de *whey-protein* adquirido proporciona tranquilidade ao atleta e à equipe esportiva, evitando achados adversos inesperados no exame de doping por uso inconsciente dessas substâncias e as consequentes penalidades. Ainda, considerando que as formulações avaliadas são classificadas como suplementos alimentares, nenhuma delas declarou a presença destes compostos, o que significa um alerta extra para aqueles que utilizam estes produtos.

Bibliografia

- Brasil. Autoridade Brasileira de Controle de Dopagem. Código Brasileiro Antidopagem. 2015.
- Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) n o 166, de 24 de julho de 2017
- Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) n o 18, de 27 de abril de 2010.
- Cadwallader1 A B, Xavier T , Tieri1 A & Botrè F. The abuse of diuretics as performance-enhancing drugs and masking agents in sport doping: Pharmacology, toxicology and analysis. *Br J Pharmacol.* 161 (1): 1–16. 2010.
- Cavalcanti G A, Leal F D, Garrido B C, Padilha M C & Neto F R A. Detection of designer steroid methylstenbolone in “nutritional supplement” using gas chromatography and tandem mass spectrometry : Elucidation of its urinary metabolites. *Steroids.* 78 (2): 228–233. 2013.
- ChemSpider. Search and Share Chemistry. Acesso em: <<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.2619.html?rid=fc5848af-37d4-4d47-9a90-5115aa6f5e80>>. Acesso em agosto de 2017 a.
- ChemSpider. Search and Share Chemistry. Acesso em: <<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.3513.html?rid=9daec219-5193-4b49-b7b6-7782111a1cf5>>. Acesso em agosto de 2017 b.
- ChemSpider. Search and Share Chemistry. Acesso em: <<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.3322.html?rid=33c18cb1-025b-4e0e-b84a-69dc9c8f2f52>>. Acesso em agosto de 2017 c.
- ElSohly1 M A & Gul W. LC – MS-MS Analysis of Dietary Supplements for N -ethyl- a -ethyl-phenethylamine (ETH), N , N -diethylphenethylamine and Phenethylamine. *J Anal Toxicol.* 38: 63–72. 2014.
- Hoggan A M, Shelby M K, Crouch D J, Borges C R & Slawson M H. Detection of Bumetanide in an Over the-Counter Dietary Supplement. *J Anal Toxicol.*31:601–604. 2007.
- Jiménez G A, Deventer K, Roels K & Van Eenoo P. Development and validation of an open screening method for diuretics, stimulants and selected compounds in human urine by UHPLC – HRMS for doping control. *Anal. Chim. Acta.* 721: 137–146. 2012.

Pereira H M G & Sardela V F. Stimulant Doping Agents Used in Brazil : Prevalence, Detectability, Analytical Implications, and Challenges. *Subst Use Misuse*. 49: 1098–1114. 2014.

MacAuley, D. Fortnightly Review: Drugs in sport. *BMJ*. 313 (7051): 211–215. 1996.

Maughan R J, Greenhaff P L & Hespel P. Dietary supplements for athletes: Emerging trends and recurring themes. *J Sports Sci*. 29 (S1): 37–41. 2011.

Maughan R J. Contamination of dietary supplements and positive drug tests in sport. *J Sports Sci*. 23 (9): 883–889. 2005.

Parr M K, Pokrywka A & Kwiatkowska D. Ingestion of designer supplements produced positive doping cases. *Biol Sport*. 28: 153–157. 2011.

Reilly C A & Crouch D J. Analysis of the Nutritional Supplement IAD, Its Metabolites, and Related Endogenous Hormones in Biological Matrices Using Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *J Anal Toxicol*. 28: 1–10. 2004.

Strano-Rossia S, Odoardia S, Castrignanòa E, Serpellonib G & Chiarotti M. Liquid chromatography – high resolution mass spectrometry (LC – HRMS) determination of stimulants, anorectic drugs and phosphodiesterase 5 inhibitors (PDE5I) in food supplements. *J Pharm Biomed Anal*. 106: 144–152. 2015.

WADA *The world anti-doping code international Standard Prohibited List 2018*. 10 p. Acesso em: < https://www.wada-ama.org/sites/default/files/prohibited_list_2018_en.pdf>. Acesso em Agosto de 2017.

Wójtowicz M, Jarek A, Chajewska K, Turek-Lepa E & Kwiatkowska D. Determination of designer doping agent – 2-ethylamino-1-phenylbutane – in dietary supplements and excretion study following single oral supplement dose. *J Pharm Biomed Anal*. 115: 523–533. 2015.

ANEXO 1 – NORMAS DA REVISTA BRASILEIRA DE FARMÁCIA

INSTRUÇÕES GERAIS

Todos os manuscritos devem ser originais e não publicados anteriormente. Cabe salientar que submissão simultânea implicará em sua recusa nesse periódico. As publicações em inglês e espanhol devem ser revisadas por um profissional de edição de língua estrangeira e não garantem o aceite do artigo. **O custo da revisão do texto em inglês ou espanhol é de responsabilidade dos autores que são encorajados a buscar profissionais ou empresas qualificados.** A RBF reserva os direitos de submeter todos os manuscritos para revisores *ad hoc*, cujos nomes serão confidenciais e com autoridade para decidir a aceitação ou declínio da submissão. Nos casos de conflito de avaliações entre os pares, não se compromete a seguir com uma terceira avaliação, a decisão contará com avaliação dos pareceres pelo Conselho Editorial.

FORMA E APRESENTAÇÃO DOS MANUSCRITOS

A RBF aceita artigos para as seguintes seções:

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

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

Resumo de Tese de Doutorado ou Dissertações de Mestrado (até 1500 palavras, incluindo notas e referencias. Máximo de 3 figuras, tabela ou quadro/gráfico): Trata-se de um Resumo ampliado de estudos acadêmicos que tenham relevância no campo das Ciências farmacêuticas. Serão aceitos os Resumos de pesquisas que tenham sido defendidas até dois anos antes da publicação da RBF. O número de Resumos não poderá ultrapassar 15% do total de artigos apresentados por edição, e deverá contemplar as seções Introdução, Metodologia, Resultados e Discussão e Conclusão de forma resumida.

ALGUMAS CONSIDERAÇÕES PRÉVIAS

Deverá ser adotado o **Sistema Internacional (SI)** de medidas. As equações necessárias a compreensão do texto deverá ser editadas utilizando *software* compatível com o editor de texto. As variáveis deverão ser identificadas após a equação. Recomenda-se que os autores realizem a análise de regressão ou outro teste estatístico aplicável para fatores quantitativos, mas que a utilização de programas específicos para o tratamento dos dados estatísticos deve constar da seção de Metodologia.

ATENÇÃO: QUADROS/ TABELAS, GRÁFICOS E FIGURAS devem ter largura de no máximo 18,25 cm, com alta resolução e enviados em arquivo separado. Nesse caso, sua posição deve ser identificada no texto. CASO CONTRÁRIO, O MANUSCRITO SERÁ DE-VOLVIDO AOS AUTORES, que acarretará em nova submissão. A RBF recomenda a utilização de Referencias Bibliográficas atualizada, salvo aquelas consagradas em trabalhos de autores seminais de cada área específica, ou ainda em textos que necessitam de informações históricas relevantes na compreensão da argumentação apresentada. Consideraremos atualizadas aquelas com data de publicação em periódicos indexados a pelo menos 5 anos da data de envio do manuscrito. **TODAS as correções sugeridas durante o processo de submissão deverão ser destacadas em VERMELHO, e devolvida a comissão editorial pelo endereço: revistabrasileiradefarma-cia@yahoo.com.br.**

FORMATÇÃO DO TEXTO

Os manuscritos deverão utilizar aplicativos compatíveis com o **Microsoft Word**. Devem ser escritos em página formato A4 com margens de 2 cm, espaçamento duplo, fonte Times New Roman,

tamanho 12, justificado. As linhas e páginas devem ser numeradas a partir do Título até a página final. Deve-se adotar no texto apenas as **abreviações padronizadas**. Por exemplo: Kg (quilograma) A primeira citação da abreviatura entre parênteses deve ser precedida da expressão correspondente por extenso. Por exemplo: Agencia Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) O **recurso de itálico** deverá ser adotado apenas para realmente destacar partes importantes do texto, como por exemplo, citações *ipsis literis* de autores consultados, partes de depoimentos, entrevistas transcritas, nomes científicos de organismos vivos e termos estrangeiros. As ilustrações, figuras, esquemas, tabelas e gráficos deverão ser identificadas no texto, conforme apresentação desejada pelo autor, e **apresentadas em arquivo separado**.

Os manuscritos deverão seguir a seguinte estrutura:

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

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

Afiliação do autor: cada nome de autor deverá receber um **número arábico** sobrescrito indicando a instituição na qual ele é afiliado. A lista de instituições deverá aparecer imediatamente abaixo da lista de autores. O nome do autor correspondente deverá ser identificado com um asterisco sobrescrito. O e-mail institucional, endereço completo, CEP, telefone e fax do autor correspondente deverão ser escritos no final da primeira página.

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

do manuscrito e deve ser revisado por um profissional de edição de língua inglesa. **Os manuscritos em inglês deverão apresentar um Resumo em português.**

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

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

Metodologia ou Percorso Metodológico: Nessa seção o autor (es) deve (m) apresentar o percurso metodológico utilizado que apresente o tipo de estudo (se qualitativo ou quantitativo), de base empírica, experimental ou de revisão de forma que identifique a natureza/tipo do estudo.

São fundamentais os dados sobre o local onde foi realizada a pesquisa; população/sujeitos do estudo e seus critérios de seleção (inclusão e exclusão) e cálculo amostral. Nos casos de pesquisa experimental cabe a identificação do material, métodos, equipamentos, procedimentos técnicos e métodos adotados para a coleta de dados. Na apresentação do tratamento estatístico/categorização dos dados cabe informar a técnica ou programa utilizado no tratamento e análise. Nos casos de investigação com humanos ou animais cabe informar a data e o número do protocolo da aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa. Quanto ao estudo de espécies vegetais deve ter a indicação do seu local de coleta (dados de GPS), o país de origem, o responsável pela identificação da espécie e o depósito da exsicata.

Resultados e Discussão: devem ser apresentados de maneira clara, objetiva e em sequência lógica, utilizando ilustrações (figuras, quadros e tabelas) quando necessário. Deve-se comparar com

informações da literatura sobre o tema ressaltando-se aspectos novos e/ou fundamentais, as limitações do estudo e a indicação de novas pesquisas. Nessa seção cabe a análise e discussão crítica da pesquisa.

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

Agradecimentos: opcional e deverá aparecer antes das referências.

Figuras, Quadro/Tabelas ou Gráficos: Todas as ilustrações devem apresentar um título breve na parte superior e numerada consecutivamente com algarismos arábicos, conforme a ordem em que forem citadas no manuscrito e a legenda com fonte em Times New Roman, tamanho 12, justificado e com largura máxima de 18,25 cm. As Tabelas devem apresentar dados numéricos como informação central, e não utilizar traços internos horizontais ou verticais. As notas explicativas devem ser colocadas no rodapé da tabela, com os seus respectivos símbolos. **Se houver ilustração extraída de outra fonte, publicada ou não, a fonte original deve ser mencionada abaixo da tabela.** Não é permitida a utilização de Figura, gráfico, quadro/tabela publicada em outro periódico **sem antes pedir autorização pré-via dos autores e/ou da revista. Qualquer uma dessas ilustrações com baixa resolução poderá ser excluída durante o processo de diagramação da RBF, ou ainda comprometer o aceite do manuscrito.** As fotos deverão garantir o anonimato de qualquer indivíduo que nela constar. Caso os autores queiram apresentar fotos com identificação pessoal, deverão apresentar permissão específica e escrita para a publicação das mesmas.

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

de referências citados abaixo foram adaptados, em sua maioria, do documento original da ABNT (NBR 6023, agosto de 2002).

a) Artigos de periódicos:

A abreviatura do periódico deverá ser utilizada, em itálico, definida no Chemical Abstracts Service Source Index (<http://www.cas.org/sent.html>) ou na Base de dados PubMed, da US National Library of Medicine (<http://www.pubmed.gov>), selecionando Journals Database. Caso a abreviatura autorizada de um determinado periódico não puder ser localizada, deve-se citar o título completo. Autor (es)*. *Título do periódico em itálico*, volume (a indicação do fascículo é entre parênteses): páginas inicial - final do artigo, ano de publicação.

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

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

b) Livros:

Com 1 autor Autor. Título. Edição (a partir da 2ª). Cidade: Editora, ano de publicação. Número total de páginas.

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

Com 2 autores

Lakatos EM & Marconi MA. Metodologia científica. 2. ed. São Paulo: Atlas, 1991. 231 p. 6

Com autoria corporativa

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

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

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

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

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

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

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

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

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

c) Teses, Dissertações e demais trabalhos acadêmicos:

Autor. *Título* (inclui subtítulo se houver). Ano. Cidade. Total de páginas. Tipo (Grau), Instituição (Faculdade e Universidade) onde foi defendida. Sampaio IR. *Etnofarmacologia e toxicologia de espécies das famílias Araceae e Euphorbiaceae*. 2008. Rio de Janeiro. 45 p. Monografia (Especialização em Farmacologia), Associação Brasileira de Farmacêuticos. Rio de Janeiro.

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

Autor (es). Título do trabalho. *Nome do evento*, nº do evento. Página. Cidade. País. Ano.

Marchioretto CT, Junqueira MER & Almeida ACP. Eficácia anestésica da neocaína (cloridrato de bupivacaína associada a epinefrina) na duração e intensidade da anestesia local em dorso de cobaio. *Reunião anual da SBPC*, 54, Goiânia, Brasil, 2002.

e) Patentes:

Devem ser identificadas conforme modelo abaixo e na medida do possível o número do Chemical Abstracts deve ser informado.

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

f) Leis, Resoluções e demais documentos

Conforme o modelo: Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) n o 44, de 17 de agosto de 2009.

g) Banco/Base de Dados

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

h) Homepage/Website

Conforme o modelo: WHO *Guidelines for Pharmacological Management of Pandemic (H1N1) 2009 Influenza and other Influenza Viruses*. 91 p. Acesso em: <http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/h1n1_guidelines_pharmaceutical_mngt.pdf>. Acesso em agosto de 2009.

SUBMISSÃO

Todos os manuscritos deverão ser submetidos **exclusivamente** por e-mail: revistabrasileiradefar-macia@yahoo.com.br e deverá enviar o texto em programa compatível com *word*, e com todos os apêndices preenchidos. Os autores deverão informar a área de concentração (**Apêndice 1**), a categoria do manuscrito (Artigo Original, Artigo de Revisão ou Resumo de Tese/Dissertação); apresentar carta de encaminhamento ao Editor (a) Chefe (**Apêndice 2**) e declaração de originalidade e cessão de direitos autorais (**Apêndice 3**). É responsabilidade dos autores reconhecerem e informar ao Conselho Editorial da existência de conflitos de interesse que possam exercer qualquer influência em seu manuscrito. Desta forma, as relações financeiras ou de qualquer

outra ordem deverão ser comunicadas por cada um dos autores em declarações individuais (**Apêndice 4**).

Quanto a Confirmação da submissão:

O autor receberá por e-mail um documento com o número do protocolo, confirmando o recebimento do artigo pela RBF. Caso não receba este e-mail de confirmação dentro de 48 horas, entre em contato com o Conselho Editorial da RBF (e-mail: revistabrasileiradefarmacia@yahoo.com.br). A Revista Brasileira de Farmácia submeterá os manuscritos recebidos à análise por dois consultores *ad hoc*, acompanhado de um formulário para a avaliação e que terão a autoridade para decidir sobre a pertinência de sua aceitação, podendo inclusive, reapresentá-los ao(s) autor (es) com sugestões, para que sejam feitas alterações necessárias e/ou para que os mesmos sejam adequados às normas editoriais da revista. Solicita-se aos autores que, na eventualidade de reapresentação do texto, **o façam evidenciando as mudanças através da cor vermelha** como forma de identificação rápida e facilitação do processo de avaliação. Caso necessário poderá o autor dispor de argumentação teórica em carta anexa sumarizando as alterações realizadas ou não, que poderão ser aceitas ou não pelos revisores. Os nomes dos autores e dos avaliadores dos manuscritos permanecerão em sigilo. O trabalho aceito para publicação só poderá seguir para diagramação caso TODOS os autores tenham assinado o termo de publicação (**Apêndice 3**). **Qualquer tipo de solicitação ou informação quanto ao andamento ou publicação do artigo poderá ser solicitado através do e-mail: revistabrasileiradefarmacia@yahoo.com.br baseado no número do protocolo recebido pelo autor correspondente.** O Conselho Editorial da RBF reserva-se o direito de solicitar informações adicionais sobre os procedimentos éticos executados na pesquisa. O Conselho Editorial da Revista tem plena autoridade de decisão sobre a publicação de manuscritos, quando os mesmos apresentem os requisitos adotados para a avaliação de seu mérito científico, considerando-se sua **originalidade**, ineditismo, qualidade e clareza. Toda ideia e conclusão apresentadas nos trabalhos publicados são de total responsabilidade do(s) autor (es) e não reflete, necessariamente, a opinião do Editor Chefe ou dos membros do Conselho Editorial da RBF.

ITENS DE VERIFICAÇÃO PARA SUBMISSÃO

Como parte do processo de submissão, os autores deverão verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores. Somente receberão número de protocolo os artigos que estiverem em conformidade com as Normas para Publicação na RBF: O manuscrito encontra-se no escopo da Revista Brasileira de Farmácia.

A contribuição é original, inédita e não está sendo avaliada por outra revista. Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word ou equivalente. O e-mail para envio do manuscrito está disponível. O texto está em espaçamento duplo; fonte tamanho 12, estilo *Times New Roman*; com figuras e tabelas inseridas no texto, e não em seu final. O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos em **Critérios** para preparação dos manuscritos (**Atenção às citações no texto e referências bibliográficas**). Todos os apêndices estão preenchidos (**Atenção especial ao preenchimento dos apêndices**). Ao submeter um manuscrito, os autores aceitam que o *copyright* de seu artigo seja transferido para a Revista Brasileira de Farmácia, se e quando o artigo for aceito para publicação. Artigos e ilustrações aceitos tornam-se propriedade da **Revista Brasileira de Farmácia**.