

ANEXO I – Plano de Trabalho

ANNEX I – Work Plan

<p>O presente Plano de Trabalho é parte integrante do Acordo de Cooperação nº 03/2021, processo UEL nº 12.296.2019 firmando entre as partes.</p>	<p>The referred Work Plan is integral part of the Cooperation Agreement nº 03/2021, UEL process nº 12.296.2019, taken between the parties.</p>
<p>Título do projeto: Estudo fitoquímico de frutos e avaliação do seu potencial antiglicante e antioxidante na busca de um novo ingrediente cosmético.</p>	<p>Project title: Phytochemical study of fruits and evaluation of their anti-glycation and antioxidant potential in search of a new cosmetic ingredient.</p>
<p>Resumo: Muitas espécies de plantas nativas do Brasil constituem um material valioso de pesquisa químico-biológica, com poucos estudos sobre a composição dos seus metabólitos secundários. Assim, traçar o perfil dos metabólitos totais para identificar uma atividade biológica, e posteriormente confirmar sua eficácia terapêutica é uma abordagem de suma importância sobre a química e bioquímica de frutos endêmicos, com potencial para descobertas de substâncias e/ou extratos com propriedades antiglicantes passíveis de utilização cosmética. Portanto, o objetivo geral deste projeto científico é o estudo metabolômico de frutos produzidos por seis espécies de plantas, sendo cinco da biodiversidade brasileira: <i>Psidium cattleianum</i>, <i>Araucaria angustifolia</i>, <i>Campomanesia phaea</i>, <i>Psidium guajava</i>, <i>Eugenia uniflora</i> e <i>Nephelium lappaceum</i> (não nativa do Brasil), em busca por substâncias bioativas de grande valor agregado para sua utilização em cosméticos. Para isso, os extratos dos frutos selecionados serão coletados e preparados para triagem inicial através dos bioensaios de atividades antioxidante e antiglicação. Em seguida serão realizados os estudos metabolômicos, fracionamento cromatográfico bioguiado e a aplicação de metodologias de desreplicação serão realizadas com o auxílio da técnica de <i>molecular network</i> para identificação das substâncias bioativas detectadas. E em paralelo a estes estudos serão realizados teste de formulação e estabilidade dos extratos no laboratório da empresa Symrise AG em Holzminden, Alemanha. Assim, espera-se contribuir efetivamente para o conhecimento químico e biológico das seis espécies de frutos estudados através da sua caracterização química, além de agregar valor ao seu cultivo, gerando o desenvolvimento socioeconômico de regiões do Brasil, através da identificação de compostos bioativos que possuem alto potencial antiglicante, boa estabilidade e</p>	<p>Project summary: Many plant species native to Brazil are valuable biological chemical research material, about which there are few studies about the composition of their secondary metabolites. Thus, tracing these total metabolites' profiles, and then confirm its therapeutic efficacy, is a very important thing to endemic fruits' chemistry and biochemistry, having potential for discoveries of substances and/or extracts with susceptible antioxidant and antiglycant properties for cosmetic use. Therefore, the general objective of this scientific project is the metabolomic study of fruits produced by six plant species, five of them from Brazilian biodiversity: <i>Psidium cattleianum</i>, <i>Araucaria angustifolia</i>, <i>Campomanesia phaea</i>, <i>Psidium guajava</i>, <i>Eugenia uniflora</i> and <i>Nephelium lappaceum</i> (non-native to Brazil), in search of bioactive substances of great value for usability in cosmetics. For this, the selected fruits extracts shall be collected and prepared for initial screening through antioxidant and anti-glycation bioassays. Next, the studies about metabolomics, bio-chromatographic fractionation, and dereplication methodologies application will be carried out with <i>molecular network's</i> aid to identify the detected bioactive substances. Besides, in parallel to these studies, there will also be carried out a test of formulation and stability of these extracts in the laboratory of the company Symrise AG in Holzminden, Germany. Thus, it is expected to contribute effectively to the chemical and biological knowledge about these six fruits species studied through their chemical characterization, as well as adding value to their cultivation, creating socioeconomic development in Brazil's regions, through identification of bioactive compounds that have a high anti-glycation potential, good stability and suitable to be submitted to formulation mechanisms for application in cosmetics. And finally, to strengthen Brazilian research through the</p>



<p>aptos a serem submetidos aos mecanismos de formulação, para aplicação em cosméticos. E por fim, fortalecer a pesquisa brasileira através da parceria deste projeto com a empresa Symrise.</p>	<p>partnership of this project with Symrise Company.</p>
<p>Proponente do projeto: Maria Luiza Zeraik</p>	<p>Project proponent: Maria Luiza Zeraik</p>
<p>Instituição de execução: Universidade Estadual de Londrina (UEL), Departamento de Química- CCE, Laboratório de Fitoquímica e biomoléculas (LabFitoBio) e empresa Symrise</p>	<p>Implementing Institution: State University of Londrina (UEL), Department of Chemistry - CCE, Laboratory of Phytochemistry and Biomolecules (LabFitoBio) and company Symrise.</p>
<p>Instituição financiadora: Empresa Symrise</p>	<p>Financial Institution: Company Symrise.</p>
<p>Período de vigência:</p> <p>12 (doze) meses (Primeira Fase) 12 (doze) meses (Segunda Fase)</p> <p>Obs.: O plano de projeto é para dois anos. Em caso de identificação de extratos com resultados promissores na primeira fase (projeto do 1º ano), o projeto iniciará a segunda fase (projeto do 2º ano).</p>	<p>Valdity Period:</p> <p>12 (twelve) months (First Phase) 12 (twelve) months (Second Phase)</p> <p>Obs.: The project plan is set to last 2 years. In case of identification of extracts with promising results while in the First Phase (1st year project), the project may start a Second Phase (2nd year project).</p>
<p>1. Identificação da proposta</p> <p>1.1. Título da proposta</p> <p>Estudo fitoquímico de frutos e avaliação do seu potencial antiglicante e antioxidante na busca de um novo ingrediente cosmético.</p> <p>1.2. Financiamento total</p> <p>O valor total do repasse financeiro a ser feito pela empresa Symrise para o desenvolvimento do projeto durante a primeira fase (projeto do 1º ano, 12 meses) será de R\$ 60.000,00 (sessenta mil reais). Este valor inclui uma bolsa de incentivo à inovação e desenvolvimento no valor de R\$ 3.250,00 (três mil duzentos e cinquenta reais) por mês (total de R\$ 39.000,00 - trinta e nove mil reais - por ano), uma taxa de bancada de R\$ 1.250,00 (hum mil duzentos e cinquenta reais) por mês (total de R\$ 15.000,00 - quinze mil reais - por ano), e R\$ 6.000,00 (seis mil reais) referente a taxa de administração (10% do valor total do contrato) da Fundação FAUEL.</p> <p>Os custos descritos acima referem-se à primeira fase do projeto (1º ano). A segunda fase do projeto terá os mesmos custos (total de R\$ 60.000,00 –</p>	<p>1. Identification of the proposal</p> <p>1.1. Title of proposal</p> <p>Phytochemical study of fruits and evaluation of their anti-glycation and antioxidant potential in search of a new cosmetic product</p> <p>1.2. Total financing</p> <p>The financial transfer's total value which will be done by Symrise Company, in benefit the project's while in the First Phase (1st year project, 12 months) shall be an amount of R\$ 60,000.00. This value includes the amount of R\$ 3,250.00 per month (total R\$ 39,000.00 for year) as scholarship for incentive to innovation and development, a benchmark fee / technical reserve of R\$ 1,250.00 per month (R\$ 15,000.00 for year) and 10% referring to the percentage of FAUEL's administration, in the amount of R\$ 6,000.00 per year.</p> <p>The costs described above refers to this project's first phase (1st year). The second phase (2nd year) shall have the same costs (total of R\$ 60.000,00) and the partners (Symrise and UEL) may decide, based on the first phase's results, whether to</p>



[Handwritten signature]

[Handwritten signature]

<p>sessenta mil reais), e os parceiros (Symrise e UEL) decidirão, com base nos resultados da primeira fase, se irão continuar e iniciar a segunda fase do projeto (2° ano), como descrito anteriormente.</p> <p>1.3. Nome dos coordenadores Dr. Maria Luiza Zeraik da Universidade Estadual de Londrina e Dr. Rodrigo Sant'Ana Cabral da empresa Symrise.</p> <p>1.4. Setor/Área Departamento de Química – Centro de Ciências Exatas / Área de Fitoquímica e química de produtos naturais (Universidade Estadual de Londrina). Perfumes & Cuidados – Divisão de Ingredientes e Cosméticos / Dept. Inovação Global de Ingredientes Cosméticos (Empresa Symrise).</p> <p>1.5. Período previsto para execução do projeto 24 meses (2 anos) No final da primeira fase do projeto (12 meses = 1° ano) os parceiros decidirão, com base nos resultados, se continuarão a segunda fase do projeto (12 meses = 2° ano).</p>	<p>continue the second phase of the process or not, as previously described.</p> <p>1.3. Name of coordinators Dr. Maria Luiza Zeraik from State University of Londrina and Dr. Rodrigo Sant'Ana Cabral from Symrise Company.</p> <p>1.4. Sector/Area Chemistry Department - Exact Sciences Center / Area of Phytochemistry and Chemistry of Natural Products (State University of Londrina). Scent&Care Segment – Cosmetics Ingredients Division / Global Innovation Cosmetics Ingredients Department (Symrise Company).</p> <p>1.5. Expected period for the execution of the project 24 months (2 year) At the end of the project's first phase (12 months = 1st year), the partners may decide, based on results, whether to continue the second phase (12 months = 2nd year) or not.</p>
<p>2. Justificativa da proposta</p> <p>A biodiversidade brasileira é uma fonte de grande variedade de frutos comestíveis, já que o país é um dos três maiores produtores de frutos do mundo (Maia <i>et al.</i>, 2009). Frutos tropicais representam uma fonte original e valiosa de substâncias bioativas e seu consumo vem aumentando nos mercados nacional e internacional, devido ao crescente reconhecimento do valor econômico e terapêutico de seus constituintes químicos, como o uso em cosméticos (cosmecêuticos), com valiosos benefícios atribuídos à sua ação antioxidante e antiglicante (Steinmetz e Potter, 1996; Zeraik <i>et al.</i>, 2011). No entanto, estes bioprodutos, assim como suas informações científicas, ainda são escassos no Brasil quando comparados à quantidade de espécies endêmicas da biodiversidade brasileira e seu alto potencial</p>	<p>2. The proposal's justification</p> <p>Brazilian biodiversity is a source of a wide variety of edible fruits, as the country is one of the three largest producers of fruits in the world (Maia <i>et al.</i>, 2009). Tropical fruits represent an original and valuable source of bioactive substances and their consumption has been increasing in the national and international markets, due to growing recognition of their chemical constituents' economic and therapeutic value, such as their use in cosmetics (cosmeceuticals), with great benefits attributed to its antioxidant and anti-glycation action (Steinmetz e Potter, 1996; Zeraik <i>et al.</i>, 2011). However, these bioproducts, as well as their scientific information, are still scarce in Brazil when compared to the number of endemic species in Brazilian biodiversity, as well as their high potential for new discoveries and innovations in the cosmetic</p>

para descobertas inéditas e de inovação na área cosmética. Assim, a parceria entre a pesquisa científica brasileira que será desenvolvida no Laboratório de Fitoquímica e Biomoléculas (LabFitoBio) da Universidade Estadual de Londrina e a empresa alemã Symrise possibilitará o aprimoramento dos resultados obtidos no estudo de seis espécie de frutos para sua utilização em cosméticos. O LabFitoBio será responsável pelo preparo dos extratos, identificação e isolamentos dos compostos bioativos, bem como pelos testes de atividade antioxidante e antiglicação. A Symrise realizará estudos paralelos de formulação do produto e testes de estabilidade para seleção de substâncias e/ou extratos com alto potencial para utilização em um produto cosmético acabado.

- *Por que essa empresa tem potencial para ser uma parceira da UEL no desenvolvimento do produto ou serviço?*

A Symrise é uma fornecedora global de soluções em fragrâncias, sabores, nutrição natural e ingredientes cosméticos. Com uma quota de mercado de 10% (2018), a Symrise é um dos principais fornecedores do mundo. Cerca de 30.000 produtos são produzidos principalmente com base em matérias-primas naturais como baunilha, cítricos, cebola, peixe, carne, flores e materiais vegetais. Sabores, substâncias, óleos perfumados e soluções sensoriais são frequentemente os componentes funcionais centrais nos produtos finais de seus clientes. Esses clientes incluem fabricantes de perfumes, cosméticos e alimentos, a indústria farmacêutica e produtores de suplementos nutricionais, alimentos para animais de estimação e alimentos para bebês. A empresa possui três segmentos: Aromas, Nutrição e Perfumes & Cuidados. O segmento de aromas contém as unidades de negócios bebidas, salgados e doces. O aroma desenvolve, produz e vende sabores e ingredientes funcionais para uso em

area. Thus, the partnership between the Brazilian scientific research that will be developed in the Laboratory of Phytochemistry and Biomolecules (LabFitoBio) of the State University of Londrina and the German company Symrise will enable the improvement of the results obtained in the study of six species of fruits for its use in cosmetics. LabFitoBio will be responsible for these extracts preparation, identification, and isolation of the bioactive compounds therein, as well as the tests for, antioxidant and anti-glycation activity. Symrise will carry out parallel studies of product formulation and stability tests for the selection of substances and/or extracts with high potential for use in a finished cosmetic product.

- Why this company has the potential to be a partner of UEL in the development of the product or service?

Symrise is a global provider of solutions in fragrances, flavors, natural nutrition, and cosmetic ingredients. With a market share of 10% (2018), Symrise is one of the world's leading suppliers. About 30,000 products are mainly produced based on natural raw materials like vanilla, citrus, onion, fish, meat, flowers and plant materials. Flavors, substances, perfume oils, and sensory solutions are often central functional components in the final products of your customers. These clients include manufacturers of perfumes, cosmetics, and food, the pharmaceutical industry and producers of nutritional supplements, pet food and baby food. The company has three segments: Flavor, Nutrition and Scent & Care. The flavor segment contains the Beverage, Salty and Sweets business units. Flavor develops, produces and sells flavors and functional ingredients used in food, beverages and health products. The Nutrition segment is held inside the Diana division and also the Food, Pet Food, Aqua and Probi business units. Diana division develops bespoke solutions from natural raw materials that help improve the sensory and



alimentos, bebidas e produtos para a saúde. O segmento de Nutrição é composto pelas divisões Diana e pelas unidades de negócios de alimentos, alimentos para animais, Aqua e Probi. A Diana desenvolve soluções sob medida a partir de matérias-primas naturais que ajudam a melhorar o desempenho sensorial e nutricional dos produtos de seus clientes. Por fim, o segmento de Perfumes & Cuidados divide-se nas divisões de Fragrância, Ingredientes Cosméticos e Moléculas Aromáticas, produzindo e comercializando fragrâncias, ingredientes cosméticos, moléculas de aroma e aromas de menta.

nutritional performance of its customers' products. And finally, the Scent & Care segment is splitted up into the Fragrance, the Cosmetic Ingredients and the Aroma Molecules divisions, which produces and sells fragrances, cosmetic ingredients, aroma molecules and mint aromas.

3. Objetivo geral

O objetivo do projeto é o estudo fitoquímico de frutos de seis espécies (*Psidium cattleianum*, *Araucaria angustifolia*, *Campomanesia phaea*, *Psidium guajava*, *Eugenia uniflora* e *Nephelium lappaceum* (não nativa), em busca de substâncias bioativas e / ou extratos com atividade antiglicante e antioxidante, bem como estabilidade na formulação para fabricação de novos cosméticos.

3. General objective

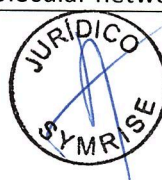
This project's objective is the phytochemical study of fruits of six species (*Psidium cattleianum*, *Araucaria angustifolia*, *Campomanesia phaea*, *Psidium guajava*, *Eugenia uniflora* and *Nephelium lappaceum* (non-native), while in search of bioactive substances and/or extracts with anti-glycation and antioxidant activities, as well as stability in the formulation for new cosmetic's manufacturing.

3.1. Objetivos específicos

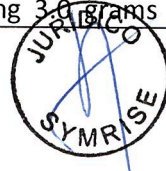
- Coleta e preparo dos extratos vegetais dos frutos das espécies *Psidium cattleianum*, *Araucaria angustifolia*, *Campomanesia phaea*, *Psidium guajava*, *Eugenia uniflora* e *Nephelium lappaceum*.
- Estudo da atividade antioxidante e antiglicante com diferentes solventes extratores e seleção dos extratos com maior potencial bioativo;
- Preparo de 10,0 g de cada extrato selecionado e envio para Holzminden na Alemanha para realização simultânea dos testes de formulação e estabilidade a serem realizados pela empresa Symrise.
- Desenvolvimento de métodos analíticos para separação das principais substâncias presentes nos extratos selecionados por CLAE-UV / DAD;
- Fracionamento bioguiado e aplicação de metodologias de desreplicação com a auxílio da técnica de *molecular network* para identificação das substâncias bioativas de interesse;

3.1. Specific objective

- Collection and preparation of plant extracts of fruits of the species *Psidium cattleianum*, *Araucaria angustifolia*, *Campomanesia phaea*, *Psidium guajava*, *Eugenia uniflora* and *Nephelium lappaceum*.
- Study of the antioxidant and anti-glycation activity with different extractive solvents and selection of extracts with greater bioactive potential;
- Preparation of 10.0 g of each selected extract and shipment to Holzminden in Germany for simultaneous formulation and stability tests to be performed by the company Symrise.
- Development of analytical methods to separate the main substances present in extracts selected by HPLC-UV / DAD;
- Bioguided fractionation and application of dereplication methodologies with the help of the molecular network technique to identify the



<ul style="list-style-type: none"> • Utilização das técnicas de RMN e CL-EM para auxiliar na identificação das substâncias de interesse; • Estabelecimento de uma relação entre a atividade biológica e seus constituintes químicos; • Quantificação dos compostos bioativos de cada espécie por CLAE-UV / Vis; • Avaliação da relação estrutura-atividade de moléculas e / ou extratos selecionados para a produção de um produto cosmético dos compostos bioativos de cada espécie por CLAE-UV / Vis. 	<p>bioactive substances of interest;</p> <ul style="list-style-type: none"> • Use of the NMR and LC-MS techniques to help identify the substances of interest; • Establishing a relationship between biological activity and its chemical constituents; • Quantification of the bioactive compounds of each species by CLAE-UV / Vis; • Evaluation of the structure-activity relationship of molecules and/or extracts selected for the production of a cosmetic product of the bioactive compounds of each species by CLAE-UV / Vis.
<p>4. Métodos de atuação</p> <p>4.1 Responsabilidade da Universidade Estadual de Londrina - UEL</p> <ul style="list-style-type: none"> • Coleta e preparo dos extratos dos frutos Os frutos de <i>Psidium cattleianum</i> serão coletados na Recanto Flora Londrina Viveiro Florestal, na cidade de Londrina, Paraná; <i>Psidium guajava</i> será coletado em diversas árvores localizadas no campus da Universidade Estadual de Londrina, Paraná; <i>Campomanesia phaea</i>, será coletado no Instituto AUA de Empreendedorismo Socioambiental, localizado na cidade de Osasco; <i>Nephelium lappaceum</i>, <i>Eugenia uniflora</i> e <i>Araucaria angustifolia</i> serão adquiridas nos mercados locais das cidades de Londrina e São Paulo. Após adquirir os frutos, eles serão levados para o LabFitoBio, higienizados e depois separados em casca, polpa e semente. A polpa será congelada e liofilizada por 24 horas e a casca e as sementes serão secas em forno a 40 ° C. <p>Após a conclusão dessas etapas, as partes da fruta serão submetidas à extração por maceração, realizada em triplicata, utilizando 3,0 g da fruta e 20,0 mL de solvente que será mantido em ultra-som por 30 minutos. Os solventes listados para esta etapa serão acetato de etila, etanol a 70% e etanol P.A. O método de extração será adaptado da Farmacopéia Brasileira, (2011) com alterações.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Preparo dos extratos Para o preparo dos extratos, as polpas e cascas de frutas serão extraídas por maceração com 3,0 gramas da amostra seca e moída e 20,0 mL de 	<p>4. Methods of operation</p> <p>4.1 Responsibility of the State University of Londrina - UEL</p> <ul style="list-style-type: none"> • Collection and preparation of fruit extracts The fruits of <i>Psidium cattleianum</i> will be collected in Recanto Flora Londrina Viveiro Florestal, in the city of Londrina, Paraná; <i>Psidium guajava</i> will be collected in several trees located on the campus of the State University of Londrina, Paraná; <i>Campomanesia phaea</i>, will be collected at the AUA Institute for Socio-Environmental Entrepreneurship, located in the city of Osasco; <i>Nephelium lappaceum</i>, <i>Eugenia uniflora</i> and <i>Araucaria angustifolia</i> will be purchased in the local markets of the cities of Londrina and São Paulo. After acquiring the fruits, they will be brought to LabFitoBio, sanitized and then separated into bark, pulp and seed. The pulp will be frozen and lyophilized for 24 hours and the husk and seeds will be oven dried at 40 °C. <p>After completion of these steps, the fruit parts will be subjected to extraction by maceration, performed in triplicate, using 3.0 g of the fruit and 20.0 mL of solvent that will be maintained in ultrasound for 30 minutes. The solvents listed for this step will be ethyl acetate, 70% ethanol and ethanol P.A. The extraction method will be adapted from the Brazilian Pharmacopoeia, (2011) with changes.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Preparation of extracts For the preparation of the extracts, the pulps and fruit peels will be extracted by maceration using 3.0 grams of dry and ground sample and



solvente (AcOEt, 70% EtOH e EtOH P.A.) e deixadas em ultra-som por 30 min. Após a conclusão, a solução será filtrada para remover o sobrenadante (extrato). O procedimento será repetido por mais duas vezes consecutivas. Os extratos AcOEt e EtOH serão concentrados sob pressão reduzida até a retirada total do solvente e, em seguida, levados para um exaustor por um período de 24 horas. O extrato de EtOH 70% será concentrado sob pressão reduzida até a total retirada do etanol e depois liofilizado para uma retirada total da água presente.

- **Seleção dos extratos ativos através da avaliação da atividade antiglicante *in vitro* e ensaio antioxidante**

A avaliação da atividade anti-glicação e atividade antioxidante será realizada para todos os extratos, a fim de se obter uma triagem inicial e fazer a seleção dos extratos ativos para proceder aos próximos passos.

- **Ensaio da capacidade Antiglicante**

Glicação é uma reação amino-carbonila de natureza não enzimática que ocorre entre açúcares e proteínas. A glicação consiste em uma cascata complexa de reações lentas, que podem demorar semanas ou meses, envolvendo condensações, rearranjos, modificações oxidativas até atingirem o estágio irreversível de produtos finais, conhecidos como AGEs (*Advanced Glycated End-Products*), que são acumulados em proteínas, como o colágeno (Singh et al., 2001; Suresh et al., 2012).

A glicação acontece naturalmente no organismo e, de forma acelerada em indivíduos portadores de diabetes. Seus produtos, os AGEs, contribuem de maneira clara e relevante para o surgimento de diversas patologias, além de estarem também entre as principais causas do envelhecimento cutâneo (Ichihashi et al., 2011). Assim, a busca por compostos antiglicantes com potencial cosmético possui um grande potencial de pesquisa avançada e desenvolvimento de novos cosméticos anti-idade.

A atividade antiglicação será determinada pelo ensaio de albumina de soro bovino (BSA) de acordo com o método descrito por Ramkissoon e colaboradores (2013), com algumas modificações. A BSA (1 mg mL^{-1}) será preparada em tampão fosfato de sódio 10 mmol L^{-1} , pH 7,4, contendo 150 mmol L^{-1} de cloreto de sódio. Metilglioxal (MGO) (5 mmol L^{-1})

20.0 mL of solvent (EtOAc, 70% EtOH, and EtOH PA), then left to sonicate ultrasound for 30 min. After completion, the solution shall be filtered to remove the supernatant (extract). The procedure will be repeated for two more consecutive times. The EtOAc and EtOH extracts will be concentrated under reduced pressure until total solvent withdrawal and, then, taken to an exhaust hood for a period of 24 hours. The 70% EtOH extract will be concentrated under reduced pressure until ethanol is totally withdrawn, and then lyophilized for a total withdrawal of the remaining water.

- **Active Extracts' Selection through the evaluation of *in vitro* anti-glycation and antioxidant activity.**

The evaluation of anti-glycation activity and antioxidant activity shall be carried out for all the extracts, in order to obtain an initial screening and then select the active extracts to proceed to the next steps.

- **Anti-glycation activity assay**

Glycation is an amino-carbonyl reaction of a non-enzymatic nature that occurs between sugars and proteins. Glycation consists of a complex cascade of slow reactions, which can take weeks or months, involving condensations, rearrangements, oxidative modifications, until they reach the irreversible stage of final products, known as Advanced Glycated End-Products (AGEs), which are accumulated in proteins, such as collagen (Singh et al., 2001; Suresh et al., 2012).

Glycation occurs naturally in the body and, in an accelerated way in individuals with diabetes. Its products, the AGEs, contribute in a clear and relevant way to the appearance of several pathologies, besides being also among the main causes of cutaneous aging (Ichihashi et al., 2011). Thus, the search for anti-glycation compounds with cosmetic potential has great potential for advanced research and development of new anti-aging cosmetics.

Anti-glycation activity will be determined by and essay of bovine serum albumin (BSA) according to the method described by Ramkissoon and his co-workers (2013), added to some modifications. BSA (1 mg mL^{-1}) will be prepared in 10 mmol L^{-1} sodium phosphate buffer, pH 7.4, containing 150 mmol L^{-1}



e os extratos ($150 \mu\text{g mL}^{-1}$) devem ser adicionados à solução de BSA e as misturas são incubadas a 37°C por três dias. As amostras serão incubadas na presença e ausência (controle negativo) da aminoguanidina (10 mmol L^{-1}). Após a incubação, a fluorescência das amostras será medida no máximo de excitação de 370 nm e um máximo de emissão de 440 nm , e a porcentagem de inibição da formação de AGEs será calculada, onde FL_{CN} é a intensidade de fluorescência da mistura de controle negativo calculada por $[(FL_{\text{CN}} - FL_{\text{bcn}}) - (FL_s - FL_{\text{bs}})] / (FL_{\text{CN}} - FL_{\text{bcn}}) \times 100$, onde FL_{bcn} é o seu branco e FL_s e FL_{bs} são as intensidades de fluorescência do extrato e seu branco, respectivamente.

- **Ensaio da capacidade de sequestro do cátion radical ABTS^+ (ensaio antioxidante)**

O radical de cátion ABTS (2,20-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfônico)) relatado por Re e colaboradores (1999) com algumas modificações será produzido pela reação de 1 mL de solução ABTS^+ (10 mmol L^{-1}) com $430 \mu\text{L}$ de $8,17 \text{ mmol L}^{-1}$ de persulfato de amônio e mantendo a mistura no escuro à temperatura ambiente por cerca de 16 h . Depois disto, a solução será diluída 60 vezes com água para atingir uma absorbância de $0,6$ unidades. Os ensaios devem ser realizados adicionando-se $215 \mu\text{L}$ de solução ABTS^+ a $35 \mu\text{L}$ de amostras preparadas em diferentes concentrações em etanol ($0,4$ a $40,0 \mu\text{g mL}^{-1}$). A mistura será incubada por 30 min no escuro e a atividade de eliminação do ABTS^+ será determinada espectrofotometricamente a 755 nm em um leitor de microplacas. A solução ABTS^+ diluída será utilizada como controle. O Trolox e o ácido gálico serão usados como padrões e a atividade de captura do radical ABTS^+ será calculada da seguinte forma: $\% \text{ABTS}^+ \text{ sequestrado} = [(\text{Abs. Controle} - \text{Abs. amostra}) \setminus \text{Abs. Controle}] \times 100$.

- **Ensaio da capacidade de absorção do radical oxigênio (ORAC)**

O ensaio ORAC relatado por Huang e colaboradores (2002), com algumas modificações será utilizado para avaliar a capacidade antioxidante dos extratos dos frutos. A solução reagente AAPH (azobis-amidinopropano) ($80,0 \text{ mmol L}^{-1}$) será preparada em tampão PBS (solução salina de fosfato) ($\text{pH } 7,2$). A solução de fluoresceína ($110,0 \text{ nmol L}^{-1}$) também será preparada em tampão PBS

sodium chloride. Methylglyoxal (MGO) (5 mmol L^{-1}) and the extracts ($150 \mu\text{g mL}^{-1}$) should be added to the BSA solution, and the mixtures incubate at 37°C for three days. Samples will be incubated in the presence and absence (negative control) of aminoguanidine (10 mmol L^{-1}). After incubation, fluorescence of samples will be measured at the excitation maximum of 370 nm and an emission maximum of 440 nm , and the percentage inhibition of AGEs formation was calculated and FL_{bcn} are the fluorescence intensities of the negative control mixture calculated by $[(FL_{\text{CN}} - FL_{\text{bcn}}) - (FL_s - FL_{\text{bs}})] / (FL_{\text{CN}} - FL_{\text{bcn}}) \times 100$, where FL_{CN} and its blank, respectively, and FL_s and FL_{bs} are the fluorescence intensities of the extract and its blank, respectively.

- **ABTS^+ scavenging activity (antioxidant assay)**

The ABTS (2,20-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)) cation radical reported by Re and co-workers (1999), with some modifications, will be produced by reacting 1 mL ABTS^+ solution (10 mmol L^{-1}) with $430 \mu\text{L}$ of $8,17 \text{ mmol L}^{-1}$ ammonium persulphate, while holding the mixture in the dark at room temperature for about 16 hours . After this, the solution will be diluted 60 times in water, to reach an absorbance of $0,6$ units. The assays should be conducted by adding $215 \mu\text{L}$ ABTS^+ solution to $35 \mu\text{L}$ of samples prepared in different concentrations in ethanol ($0,4$ – $40,0 \mu\text{g mL}^{-1}$). The mixture will be incubated for 30 min in the dark, and the ABTS^+ scavenging activity will be determined spectrophotometrically at 755 nm in a microplate reader. The diluted ABTS^+ solution will be used as the control matter. Trolox and gallic acid will use as standards, and the ABTS^+ scavenger activity will calculate as: $\% \text{ABTS}^+ \text{ scavenging} = [(\text{Abs. Control} - \text{Abs. sample}) \setminus \text{Abs. Control}] \times 100$.

- **Oxygen radical capacity assay (ORAC)**

The ORAC assay reported by Huang and its co-workers (2002), with some modifications, will be used to evaluate the antioxidant capacity of the fruit extracts. The AAPH (azobis-amidinopropane) reagent solution ($80,0 \text{ mmol L}^{-1}$) will be prepared in PBS buffer (phosphate-buffered saline) ($\text{pH } 7,2$). The fluorescein solution ($110,0 \text{ nmol L}^{-1}$) will also be prepared in PBS solution ($\text{pH } 7,2$) and maintained at 4°C in the dark. In black-walled 96-well plates, $60,0$

(pH 7.2) e mantida a 4° C no escuro. Em placas de 96 poços de paredes negras, 60 µL de solução de fluoresceína serão adicionados a 40,0 µL de padrão (quercetina) ou substâncias a serem testadas em diferentes concentrações (2,50 - 0,08 mg mL⁻¹, diluídas em etanol) . A placa será tampada e incubada com agitação por 15 min a 40° C. Após esta etapa, a reação começará com 100 µL de solução AAPH (80,0 mmol L⁻¹). Após este passo, a reação será novamente incubada sob agitação por 95 min a 40° C. Após a incubação, a placa será mantida à temperatura ambiente por 5 min para resfriamento, e a fluorescência será medida em um leitor de microplacas. Filtros de excitação a 485 nm e filtros de emissão a 528 nm serão utilizados. Medidas finais de fluorescência serão expressas em relação ao controle de leitura. Para os ensaios de controle, os compostos testados serão substituídos pelo correspondente volume de tampão PBS (pH 7,2), sob condições idênticas (valor considerado como 100%). A capacidade de absorção do radical de oxigênio pelas substâncias será expressa em termos de EC₅₀.

- **Preparo dos extratos selecionados para envio à empresa Symrise**

Considerando que o rendimento aproximado da extração feita com 3,0 g de frutos é de 1,3%, será realizada a extração de aproximadamente 1 Kg da fruta selecionada, seguindo os mesmos procedimentos descritos anteriormente. Os extratos que tiverem resultados positivos (10,0 g de cada) serão enviados para a sede da Symrise na Alemanha para testes de formulação e estabilidade.

- **Análise dos extratos selecionados por CLAE-UV/Vis**

Os extratos selecionados serão analisados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) para uma separação prévia de seus constituintes químicos. Os experimentos serão conduzidos em um sistema detector de arranjo de diodos com uma coluna C₁₈ como fase estacionária (250 mm de comprimento x 4,6 mm de diâmetro, 5,0 µm). O sistema de solventes para análise exploratória do perfil químico das frações será uma mistura de H₂O (A) e acetonitrila (B), ambos com 0,1% de ácido fórmico, no modo gradiente de 5 a 100% B em 60 min, com um gradiente linear, taxa de fluxo de 1,0 mL min⁻¹. O cromatograma será registrado, e os

µL of fluorescein solution are going to be added to 40.0 µL of standard (quercetin) or substances to be tested in different concentrations (2.50-0.08 mg mL⁻¹, diluted in ethanol). The plate will be capped and then incubated while stirring for 15 min at 40 ° C. After this step, the reaction should start with 100 µL of AAPH solution (80.0 mmol L⁻¹). Next, the reaction will again be incubated under agitation for 95 min at 40° C. After incubation, the plate will be held at room temperature for 5 min to cool, and the fluorescence will be measured in a microplate reader. There will be used Excitation Filters at 485 nm and emission filters at 528 nm. Final fluorescence measurements might be expressed in regarding to the reading control. For the control assays, the tested compounds will be by the corresponding volume of PBS buffer (pH 7.2), under identical conditions (value taken as 100%). The absorption capacity of the oxygen radical by the substances will be expressed in terms of EC₅₀.

- **Preparation of the extracts selected to send to Symrise**

Considering that the approximate yield of the extraction made with 3.0 g of fruit is 1.3%, will be carried out the extraction of approximately 1 Kg of the selected fruit, following the same procedures previously described. These extracts (10.0 g of each) shall be sent to Symrise headquarters in Germany for formulation and stability tests.

- **Analysis of extracts selected by CLAE-UV/Vis**

The selected extracts shall be analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC) for a previous separation of their chemical constituents. The experiments will be conducted in a diode arrangement detector system with a C₁₈ column as stationary phase (250 mm long x 4.6 mm diameter, 5.0 µm). The solvent system for exploratory analysis of the chemical profile of the fractions will be a mixture of H₂O (A) and Acetonitrile (B), both with 0.1% formic acid, in the gradient mode from 5 to 100% B in 60 min, with a linear gradient, flow rate of 1.0 mL min⁻¹. The chromatogram will be recorded, and the UV spectra of the individual peaks will be monitored in the 200-400 nm wavelength range.



espectros de UV dos picos individuais serão monitorados na faixa de comprimento de onda de 200-400 nm.

- **Identificação dos metabólitos de interesse por CL-EM / EM e RMN**

Os extratos serão submetidos à análise da composição metabolômica, por meio de técnicas analíticas de alta resolução (CL-EM / EM, RMN) para caracterização das substâncias bioativas, com o auxílio da técnica de *molecular network*, que funciona como uma grande rede de dados onde são agrupadas as informações obtidas através das análises realizadas a fim de se facilitar a identificação da substância de acordo com os seus padrões químicos. Desta forma, esta técnica permite exploração visual simultânea de moléculas, análogos ou famílias dispostos em um conjunto de dados únicos ou múltiplos provenientes de uma grande variedade de fontes biológica (YANG et al., 2013).

A fim de elucidar as estruturas de substâncias que não puderam ser plenamente caracterizadas por essa via, os extratos serão preparados em grandes quantidades (aproximadamente 5,0 g) e fracionados através de separações por CL-UV em escala preparativa. Os fracionamentos dos extratos vegetais serão realizados com Cromatógrafo de Fase Líquida Waters sistema autopurificação Core System w / SFO com coluna X-Bridge C₁₈ (100 mm x 10 mm diâmetro, 5 µm; Waters, Milford, MA, USA). O sistema de solvente utilizado será uma mistura de H₂O (A) e acetonitrila (B), ambos com 0,1% de ácido fórmico, o modo de gradiente de 5 a 100% de B em 60 min, com um gradiente linear. As frações serão coletadas a cada 10,0 mL. Após esta etapa, cada fração será concentrada utilizando um rotaevaporador e analisadas por HPLC-UV-MS. Estas frações também serão submetidas aos bioensaios de atividades antioxidante e antiglicante descritos acima.

Análise estatística

Os dados serão submetidos à análise de variância (ANOVA) do teste de Tukey para demonstrar as diferenças entre os grupos, com nível de significância de 5%.

4.2 Responsabilidade da empresa Symrise

- **Identification of the metabolites of interest by LC-MS / MS and NMR**

The extracts shall be submitted to metabolomic composition analysis – for bioactive substances characterization – through high resolution analytical techniques (LC-MS / MS, NMR), aided by *molecular network* technique, which functions as a large data network where the information obtained through the analyzes performed is grouped together to facilitate the substance's notification according to its chemical standards. Thus, this technique allows simultaneous visual exploration of molecules, its analogs or families arranged in a set of single or multiple data from a wide variety of biological sources (YANG et al., 2013).

In order to elucidate the structures of substances that could not be fully characterized by this route, the extracts will be prepared in large amounts (approximately 5.0 g) and fractionated by preparative scale LC-UV separations. The fractions of the plant extracts will be performed with Waters Liquid Phase Chromatograph Core System w / SFO auto purification system with X-Bridge C₁₈ column (100 mm x 10 mm diameter, 5 µm; Waters, Milford, MA, USA). The solvent system used will be a mixture of H₂O (A) and acetonitrile (B), both with 0.1% formic acid, the gradient mode from 5 to 100% B in 60 min, with a linear gradient. Fractions will be collected every 10.0 mL. After this step, each fraction will be concentrated using a reduced of the pressure to yield extracts and analyzed by HPLC-UV-MS. These fractions will also be submitted to the bioassays of antioxidant and anti-glycation described above.

Statistical analysis

The data will be submitted to analysis of variance (ANOVA) of Tukey test to demonstrate the differences between the groups, with a significance level of 5%.

4.2 Responsibility of the company Symrise

After in vitro efficacy testing, promising extracts shall be selected and 10.0 grams are sent to Symrise for initial evaluation of solubility, formulation



Após testes de eficácia in vitro, os extratos promissores serão selecionados e 10,0 gramas serão enviados a Symrise para avaliação inicial da solubilidade, propriedades de formulação e estabilidade. Os extratos serão estudados quanto à solubilidade em solventes cosméticos típicos de diferentes polaridades (por exemplo, água, glicerol, etanol, óleo) em diferentes concentrações. Além disso, eles serão colocados em uma emulsão de óleo em água e a aparência visual será avaliada. As formulações serão armazenadas a 5° C, temperatura ambiente e 40° C por 6 meses. Aparência visual, odor e cor serão determinados no início após 3 e 6 meses.

properties and stability. The extracts will be studied for solubility in typical cosmetic solvents of different polarity (e.g. water, glycerol, ethanol, oil) at different concentrations. Additionally, they will be put into an oil in water emulsion and visual appearance will be evaluated. Formulations will be stored at 5° C, room temperature and 40° C for 6 months. Visual appearance, odor and color are going to be determined at the beginning after 3 and 6 months.

5. Resultados esperados

A partir do desenvolvimento do projeto proposto pelo Laboratório de Fitoquímica e Biomoléculas da UEL e Symrise, espera-se contribuir efetivamente para a conservação e desenvolvimento econômico sustentável da biodiversidade; contribuir para o conhecimento químico e biológico de várias espécies de plantas; agregar valor às espécies nativas para gerar o desenvolvimento socioeconômico das regiões do Brasil onde os frutos são endêmicos; isolar e identificar substâncias com alto potencial cosmeceutico relacionadas às suas propriedades antioxidantes e antiglicação. Assim, espera-se que esta pesquisa resulte em substâncias e / ou extratos de alto valor agregado, com adequada estabilidade e adequados para serem submetidos aos processos de formulação utilizados na produção e comercialização realizados pela Symrise. Por fim, espera-se que a tecnologia a ser desenvolvida seja objeto de pedido de patente no órgão competente brasileiro e internacional, e posteriormente o licenciamento exclusivo para a empresa Symrise.

Riscos Inerentes

- Atividade antiglicação e antioxidante abaixo do esperado (com base nas avaliações anteriores)
- Problemas da cadeia de produção de frutas para desenvolvimento e produção em larga escala.
- Problemas de estabilidade na formulação cosmética dos extratos.

5. Expected results

From the development of the project proposed by the Laboratory of Phytochemistry and Biomolecules of UEL and Symrise, it is expected to effectively contribute to the conservation and sustainable economic development of biodiversity; to contribute to the chemical and biological knowledge of several plant species; to add value to native species in order to generate the socioeconomic development of regions of Brazil where the fruits are endemic; as well as to isolate and identify substances with high cosmeceutical potential related to their antioxidant and anti-glycation properties. Thus, it is expected that this research will result in substances and/or extracts of high added value, with adequate stability and suitable to be submitted to the formulation processes used in the production and for commercialization carried out by Symrise. Therefore, it is expected that the to-be developed technology might be patent application filing matter and, for this purpose, eventually taken to brazilian and international competent organs, respectively, and later, exclusively licenciated to Symrise Company.

Inherent Risks:

- Anti-glycant and antioxidant activity lower than expected (based on previous assessments)
- Problems of fruit production chain for large-scale development and production.
- Stability problems in the cosmetic formulation of extracts.



Handwritten signatures and initials: RL, BR, REC, 9/23

6. Cronograma detalhado / Detailed timeline

Cronograma de atividades (atividades planejadas para o período de 24 meses) – Primeira Fase (1º ano do projeto). / Schedule of activities (activities planned for the period of 24 months) - First Phase (1st years project)

Atividades / activities	Meses da primeira fase/ first phase months											
	1º	2º	3º	4º	5º	6º	7º	8º	9º	10º	11º	12º
Coleta, separação (casca, polpa e sementes) e preparação dos 5 frutos brasileiros selecionados e 1 exótico para extração com diferentes solventes / Collection, separation (bark, pulp and seed) and preparation of the 5 selected Brazilian fruit extracts and 1 exotic, with different solvents	X	X										
Atividade antioxidante (ABTS and ORAC) e antiglicação / Antioxidant activity bioassays (ABTS and ORAC) and anti-glycation		X	X	X								
Análise dos resultados dos bioensaios (ABTS/ORAC e antiglicação) e seleção dos extratos promissores / Analyzes of the results from bioassays (ABTS/ORAC and anti-glycation) and selection of promising extracts			X	X								
Preparo e envio de 10,0 g de cada extrato selecionado para a sede da Symrise na Alemanha / Preparation and delivery of 10.0 g of each extract selected for Symrise's headquarters in Germany			X	X								
Testes de estabilidade e formulação (pela Symrise) / Stability and formulation tests (by Symrise)				X	X	X	X	X	X	X		
Análises de Fingerprint através da aplicação de metodologias de desrepliação (CL-EM) e RMN / Fingerprint analysis through the application of the methodologies of de-duplication (LC-MS) and NMR							X	X	X	X	X	X
Relatório para Symrise / Report to Symrise						X						X
Revisão da literatura / Literature Survey	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Cronograma de atividades (atividades planejadas para o período de 24 meses) – Segunda Fase (2º ano do projeto).
/ *Schedule of activities (activities planned for the period of 24 months) – Second Phase (2nd years project)*

Atividades/Quadrimestral	Meses da segunda fase/ second phase months											
	1º	2º	3º	4º	5º	6º	7º	8º	9º	10º	11º	12º
Fracionamento dos extratos ativos e identificação dos compostos maioritários por CL-EM / <i>Fractionation of active extracts and identification of major components by LC-MS</i>	X	X	X	X	X							
Avaliação da atividade antioxidante (ABTS e ORAC) e atividade antiglicante/ <i>Evaluation of antioxidant (ABTS and ORAC) and antiglycant activities</i>			X	X	X	X						
Fracionamento bioguiado; Identificação das frações ativas; identificação dos compostos minoritários/ <i>Bioguided fractionation; identification of active fractions; identification of minor compounds</i>					X	X	X	X	X	X		
Elucidação estrutural dos compostos maioritários com o auxílio da técnica de <i>molecular network</i> / <i>Structural elucidation of the major compounds with the support of the technique of "molecular network"</i>								X	X	X	X	X
Otimização do processo de extração / <i>Optimization of the extraction process</i>										X	X	X
Quantificação dos compostos bioativos de cada espécie por CLAE-UV / <i>Vis</i> / <i>Quantification of the bioactive compounds of each species by CLAE-UV / Vis</i>										X	X	X
Avaliação de outras atividades in vitro de interesse da Symrise (anti-inflamatório, etc) / <i>Evaluation of others in vitro activities of interest by Symrise (e.g. anti-inflammatory, etc)</i>					X	X	X	X	X	X	X	
Relatório para Symrise / <i>Report to Symrise</i>						X						X
Revisão da literatura / <i>Literature Survey</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

7. Infraestrutura e contrapartida econômica/financeira

Os equipamentos que serão utilizados na Universidade Estadual de Londrina são: Leitor de Elisa ELX800 Biotec; Incubadora Shaker - Com Inversor de Frequência - Dimensões Externas (LxPxA) 60x60x80 cm - Capacidade 125 Litros - 110 Volts; Balança Analítica AW220 – 200g X 0,0001g Marte / shimadzu. RMN contendo vários

7. Infrastructure and economic/Financial counterpart

The equipment that will be used in State University of Londrina are: Elisa ELX800 Biotec reader; Shaker Incubator - With Frequency Inverter - External Dimensions (WxDxH) 60x60x80 cm - Capacity 125 Liters - 110 Volts; Analytical Balance AW220 - 200g X 0.0001g Mars / Shimadzu. NMR containing several spectrometers: Bruker Avance III HD 600 MHz, Varina Inova 500 MHz, Avance III,



espectrômetros: Bruker Avance III HD 600 MHz, Varina Inova 500 MHz, Avance III, 400WB HD; Cromatógrafo de Fase Líquida Waters sistema autopurificação Core System w/SFO com coluna X-Bridge C-18 (100 mm x 10 mm diâmetro, 5 µm; Waters, Milford, MA, USA); Cromatógrafo de Fase Líquida preparativa Waters sistema autopurificação Core System w/SFO com coluna X-Bridge C₁₈ (100 mm x 10 mm diâmetro, 5 µm; Waters, Milford, MA, USA) ; Cromatógrafo líquido (Shimadzu®) acoplado a um espectrômetro de massas (Amazon SL Bruker®) do tipo *ion-trap*, equipado com fonte de ionização do tipo eletro-spray (IES).

400WB HD; Waters Liquid Phase Chromatograph Core System w / SFO self-priming system with X-Bridge C₁₈ column (100 mm x 10 mm diameter, 5 µm; Waters, Milford, MA, USA); Waters, Milford, MA, USA); Waters, Milford, MA, USA); Liquid Chromatograph (Shimadzu®) coupled to an ion-trap type (Amazon SL Bruker®) mass spectrometer equipped with an electrospray (ESI) ionization source.

8. Impactos e benefícios

A cooperação entre o laboratório de pesquisa LabFitoBio, da Universidade Estadual de Londrina e a empresa Symrise fortalecerá o desenvolvimento do programa de pós-graduação em Química da UEL, e, conseqüentemente a Universidade, com a possível geração de patentes com usufruto dos resultados obtidos. Este projeto também permitirá ampliar o conhecimento científico sobre alguns frutos utilizados no Brasil, principalmente os subprodutos de cascas e sementes, agregando valor à grande quantidade de resíduo industrial gerado. O projeto também conta com a formação de recursos humanos, formando pesquisadores mais capacitados e especialistas em diferentes áreas, devido ao caráter multidisciplinar do projeto, envolvendo a avaliação química e biológica de várias espécies vegetais nativas, especialmente no bioma Mata Atlântica, ainda pouco estudadas, por meio do desenvolvimento de metodologias inovadoras em estudos metabolômicos e biológicos.

Desta forma, a participação da Symrise possibilitará a fabricação e comercialização dos resultados obtidos através desta pesquisa, uma vez que sua finalidade é o desenvolvimento biotecnológico de produtos da biodiversidade de alto valor agregado, ativos cosméticos de produtos naturais para produção em larga escala.

Desenvolvimento biotecnológico de produtos da biodiversidade de alto valor agregado, ativos cosméticos derivados de produtos naturais. Fortalecimento da parceria entre a Empresa e a Universidade para o desenvolvimento tecnológico, bem como a capacitação de mão de obra

8. Impacts and benefits

The cooperation between the research laboratory LabFitoBio, from the State University of Londrina and the company Symrise will strengthen UEL's Chemistry Graduation Program's development, and, consequently, the University itself, being it possible to eventually create patents, of which will be possible to usufruct from its results. This project will also allow the increasing of scientific knowledge about some fruits used in Brazil, it being mostly about peels and seeds by, adding value to a large amount of industrial waste. The project counts on the formation of human resources, training more qualified researchers and specialists in different areas, due to this project's multidisciplinary nature, involving the chemical and biological evaluation of several native plant species, especially in the Atlantic Forest biome, through development of innovative methodologies in metabolomic and biological studies.

In this way, the participation of Symrise will enable the manufacturing and selling the results obtained through this research, since its purpose is the biotechnological development of biodiversity products with high added value, cosmetic assets from natural products for large scale production. Biotechnological development of biodiversity products with high added value, cosmetic assets derived from natural products. Strengthening of the partnership between the Company and the University for technological development, as well as the training of skilled labor for the development of biotechnology and valorization of Brazilian biodiversity.



qualificada para o desenvolvimento da biotecnologia e valorização da biodiversidade brasileira.

9. Se houver recursos

9.1. Orçamento detalhado em planilha (primeira fase)

Descrição	Valor Total Anual
Bolsa de incentivo a inovação*	R\$ 39.000,00
Taxa de bancada (consumíveis e equipamentos)	R\$ 15.000,00
Taxa administrativa (Fundação UEL)	R\$ 6.000,00
TOTAL	R\$ 60.000,00

*O valor mensal da bolsa de estudos será de R\$3.250,00 (três mil duzentos e cinquenta reais)

9.2. Orçamento detalhado em planilha (segunda fase)**

Descrição	Valor Total Anual
Bolsa de incentivo a inovação*	R\$ 39.000,00
Taxa de bancada (consumíveis e equipamentos)	R\$ 15.000,00
Taxa administrativa (Fundação UEL)	R\$ 6.000,00
TOTAL	R\$ 60.000,00

*O valor mensal da bolsa de estudos será de R\$3.250,00 (três mil duzentos e cinquenta reais)

** O início da segunda fase depende dos resultados da primeira fase

9.3. Indicação da fonte de recursos:

9. If there are resources

9.1 Detailed budget in spreadsheet (first phase)

Description	Total Annual Value
Scholarship for incentive to innovation*	R\$ 39,000.00
Benchmark fee (consumables and equipments)	R\$ 15,000.00
Administrative fee (UEL Fundadtion)	R\$ 6,000.00
TOTAL	R\$ 60,000.00

*The monthly amount of scholarship will be R\$ 3,250.00 (three thousand two hundred and fifty reais)

9.2 Detailed budget in spreadsheet (second phase)**

Description	Total Annual Value
Scholarship for incentive to innovation*	R\$ 39,000.00
Benchmark fee (consumables and equipments)	R\$ 15,000.00
Administrative fee (UEL Fundadtion)	R\$6,000.00
TOTAL	R\$ 60,000.00

*The monthly amount of the scholarship will be R\$ 3,250.00 (three thousand two hundred and fifty reais)

** The second phase's start depends on the first phase's results.

9.3 Indication of source of resource

Symrise Aromas e Fragrâncias Ltda.



Symrise Aromas e Fragrâncias Ltda.

9.4 Cronograma de pagamento/ payment schedule

O desembolso financeiro pela empresa será realizado em até 15 dias após o início de cada semestre e emissão da nota fiscal pela Gestora Financeira / Financial disbursement by the company will be held within 15 days after the beginning of each semester and issuance of the invoice by the Financial Manager.

<i>Primeira fase / first phase</i>	
1º semestre 1 st semester	2º semestre 2 nd semester
R\$ 40.000,00 (quarenta mil reais) R\$ 40,000.00 (forty thousand reais)	R\$ 20.000,00 (vinte mil reais) R\$ 20,000.00 (twenty thousand reais)

<i>Segunda fase / second phase</i>	
1º semestre 1 st semester	2º semestre 2 nd semester
R\$ 40.000,00 (quarenta mil reais) R\$ 40,000.00 (forty thousand reais)	R\$ 20.000,00 (vinte mil reais) R\$ 20,000.00 (twenty thousand reais)

10. Percentual de participação

De acordo com a contribuição das partes no desenvolvimento desta pesquisa, a UEL terá 50% (cinquenta por cento) e a Symrise 50% (cinquenta por cento) da titularidade do *know-how* e da propriedade intelectual resultantes.

10. Participation Percentual

In according to the parties' contribution in this research development, UEL shall have 50% (fifth per cent) and Symrise Company shall have 50% (fifth per cent) of the resulting *know-how* and intellectual property ownership

11. Referências

Brazil. Brazilian Pharmacopoeia. National Health Surveillance Agency. Brasília: *Anvisa*. **2011**. 1, 548.
Huang, D. J., Ou, B. X., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A., Prior, R. L. High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **2002**, 50, 4437-4444.
Ichihashi, M., Yagi, M., Nomoto, K., Yonei, Y. Glycation stress and photo-aging in skin. *Anti-Aging Medice*. **2011**, 8, 23-29.
Lunceford, N., Gugliucci, A. Ilex paraguariensis extracts inhibit AGE formation more efficiently than green tea. *Fitoterapia*. **2005**, 76, 419-427.
Maia, G. A., Sousa, P. H. M., Lima, A. S., Carvalho, J. M., Figueiredo, R. W. Processamento de frutas tropicais, 1st

11. References

Brazil. Brazilian Pharmacopoeia. National Health Surveillance Agency. Brasília: *Anvisa*. **2011**. 1, 548.
Huang, D. J., Ou, B. X., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A., Prior, R. L. High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **2002**, 50, 4437-4444.
Ichihashi, M., Yagi, M., Nomoto, K., Yonei, Y. Glycation stress and photo-aging in skin. *Anti-Aging Medice*. **2011**, 8, 23-29.
Lunceford, N., Gugliucci, A. Ilex paraguariensis extracts inhibit AGE formation more efficiently than green tea. *Fitoterapia*. **2005**, 76, 419-427.
Maia, G. A., Sousa, P. H. M., Lima, A. S., Carvalho, J. M., Figueiredo, R. W. Processamento de frutas tropicais, 1st



[Handwritten signatures and initials]

ed., Fortaleza: Edições UFC, 2009.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. **1999**, 26, 1231-1237.

Singh, R., Barden, A., Mori, T., Belin, L. Advanced glycation end-products: a review. *Diabetologia*. **2001**, 44, 129-146.

Steinmetz, K. A., Potter, J. D. Vegetables, fruits, and cancer prevention: A review. *J. Am. Diet. Assoc.* **1996**, 96, 1027-1039.

Suresh, G., Tiwari, A. K., Murthy, R. K. M., Kumar, D. A., Prasad, K. R., Rao, R. R., Ali, A. Z., Babu, K. S. New advanced glycation end-products inhibitors from *Dichrostachys cinerea* Wight & Arn. *J. Nat. Med.* **2012**, 66, 213-216.

Yang, J.Y., Sanchez, L.M., Rath, C.M., Liu, X., Boudreau, P.D., Bruns, N., Glukhov, E., Wodtke, A., Felicio, R. De, Fenner, A. Molecular Networking as a Dereplication Strategy. *J. Nat. Prod.* **2013**, 76, 1686-1699.

Zeraik, M. L., Serteyn, D., Deby-Dupont, G., Wauters, J. N., Tits, M., Yariwake, J. H.; Angenot, L., Franck, T. Evaluation of the antioxidant activity of passion fruit (*Passiflora edulis* and *Passiflora alata*) extracts on stimulated neutrophils and myeloperoxidase activity assays. *Food Chem.* **2011**, 128, 259-265.

ed., Fortaleza: Edições UFC, 2009.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. **1999**, 26, 1231-1237.

Singh, R., Barden, A., Mori, T., Belin, L. Advanced glycation end-products: a review. *Diabetologia*. **2001**, 44, 129-146.

Steinmetz, K. A., Potter, J. D. Vegetables, fruits, and cancer prevention: A review. *J. Am. Diet. Assoc.* **1996**, 96, 1027-1039.

Suresh, G., Tiwari, A. K., Murthy, R. K. M., Kumar, D. A., Prasad, K. R., Rao, R. R., Ali, A. Z., Babu, K. S. New advanced glycation end-products inhibitors from *Dichrostachys cinerea* Wight & Arn. *J. Nat. Med.* **2012**, 66, 213-216.

Yang, J.Y., Sanchez, L.M., Rath, C.M., Liu, X., Boudreau, P.D., Bruns, N., Glukhov, E., Wodtke, A., Felicio, R. De, Fenner, A. Molecular Networking as a Dereplication Strategy. *J. Nat. Prod.* **2013**, 76, 1686-1699.

Zeraik, M. L., Serteyn, D., Deby-Dupont, G., Wauters, J. N., Tits, M., Yariwake, J. H.; Angenot, L., Franck, T. Evaluation of the antioxidant activity of passion fruit (*Passiflora edulis* and *Passiflora alata*) extracts on stimulated neutrophils and myeloperoxidase activity assays. *Food Chem.* **2011**, 128, 259-265.

