



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**ESCOLA DE ENGENHARIA**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA NUCLEAR**



**Programa de Pós-Graduação em Ciências e Técnicas Nucleares**

Karina do Nascimento Fernandes

**AValiação DA QUALIDADE DE MEDICAMENTOS FITOTERÁPICOS  
MANIPULADOS EM BELO HORIZONTE (MG):**

**Análise Orgânica e Inorgânica**

Belo Horizonte

2020

Karina do Nascimento Fernandes

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE MEDICAMENTOS FITOTERÁPICOS  
MANIPULADOS EM BELO HORIZONTE (MG):**

**Análise Orgânica e Inorgânica**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências e Técnicas Nucleares da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências e Técnicas Nucleares.

Área de concentração: Ciências das Radiações.

Orientador: Prof. Dr. Arno Heeren de Oliveira

Coorientadora: Dra. Gláucia Danielle Leirose

Belo Horizonte

2020

F363a

Fernandes, Karina do Nascimento.

Avaliação da qualidade de medicamentos fitoterápicos manipulados em Belo Horizonte (MG) [recurso eletrônico] : análise orgânica e inorgânica / Karina do Nascimento Fernandes. - 2020.

1 recurso online (xvii, 87 f.: il., color.) : pdf.

Orientador: Arno Heeren de Oliveira.

Coorientadora: Gláucia Danielle Leirose.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Engenharia.

Bibliografia: f. 73-87.

Exigências do sistema: Adobe Acrobat Reader.

1. Engenharia nuclear - Teses. 2. Controle de qualidade - Teses. 3. Fitoterápicos - Teses. I. Oliveira, Arno H. II. Silva, Gláucia Danielle Leirose da. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Engenharia. IV. Título.

CDU: 621.039(043)



## FOLHA DE APROVAÇÃO

**Avaliação da Qualidade de Medicamentos Fitoterápicos Manipulados em Belo Horizonte (MG): Análise Orgânica e Inorgânica**

### **KARINA DO NASCIMENTO FERNANDES**

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS E TÉCNICAS NUCLEARES, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em CIÊNCIAS E TÉCNICAS NUCLEARES, área de concentração CIÊNCIAS DAS RADIAÇÕES.

Aprovada em 31 de agosto de 2020, pela banca constituída pelos membros:

Prof. Arno Heeren de Oliveira - Orientador  
Departamento de Engenharia Nuclear - UFMG

Dra. Glauca Danielle Leirose da Silva - Coorientadora  
Departamento de Engenharia Nuclear - UFMG

Dra. Maria Etêna Wãlter  
Instituto Mineiro de Educação e Cultura, ICBS/ IET

Prof. Danilo Chagas Vasconcelos  
IPEMED

Prof. Carlos Eduardo Velasquez Cabrera  
Departamento de Engenharia Nuclear - UFMG

Belo Horizonte, 31 de agosto de 2020.

Dedico esta dissertação aos meus guias na Terra e  
maiores incentivadores:  
Mamãe e Papai

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a Deus e a Jesus Cristo, meus mestres consoladores, por me iluminar, guiar e dar sabedoria para conquistar todos os meus sonhos, também por me dar muita persistência e tranquilidade nos momentos de dificuldade;

Aos meus pais, Renata Flávia e João Luiz, por serem os melhores pais, meus melhores amigos e melhores conselheiros, tenho sorte!

Ao Prof. Dr. Arno Heeren pela condução do meu projeto na França e custeio das amostras utilizadas no projeto;

Aos meus orientadores: Prof. Dr. Arno Heeren e Dra. Danielle Leirose pelo apoio, orientação e condução da dissertação;

Ao *Institut des Sciences Analytiques* (ISA), em Lyon – França e funcionários, pela ajuda e disponibilização de todos os equipamentos e reagentes para desenvolvimento do projeto;

À professora Letícia Malta do laboratório de Espectrometria Atômica e Química Analítica e Ambiental da UFMG;

À Giselle Vaz, Sofia Martins e Marcus do laboratório de Química;

Aos professores, funcionários e colegas do DEN/UFMG pela amizade, incentivo, disponibilidade e apoio;

À Universidade Federal de Minas Gerais pela oportunidade de realização do curso de mestrado;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

“Todas as coisas na Terra passam.  
Os dias de dificuldades passarão.  
Passarão também os dias de amargura e solidão.  
As dores e as lágrimas passarão.  
As frustrações que nos fazem chorar, um dia passarão.  
A saudade do ser querido que se vai, na mão da morte, passará.  
Os dias de glórias e triunfos mundanos, em que nos julgamos maiores e  
melhores que os outros, igualmente passarão.  
A vaidade interna, que nos faz sentir como o centro do universo, um dia  
passará.

A vida é feita de momentos, momentos pelos quais temos que passar,  
sendo bons ou não, para o nosso aprendizado. Nada é por acaso.  
Precisamos fazer a nossa parte, desempenhar o nosso papel no palco da  
vida, lembrando que ela nem sempre segue o nosso querer, mas é  
perfeita naquilo que tem que ser.”

(Francisco Xavier)

## RESUMO

O uso de plantas para fins medicinais é uma prática muito antiga. E, embora seja notável o avanço dos produtos do setor farmacêutico, é considerado que inúmeras pessoas ainda utilizam essa fonte como medicamento fitoterápico para prevenção e tratamento de doenças. Há um mercado mundial crescente no investimento dos fitoterápicos, o que torna uma necessidade maior da vigilância sanitária e órgãos específicos na supervisão e estabelecimento de legislações específicas no que concerne o controle de qualidade e fabricação da matéria prima e dos produtos finais.

Sendo assim, neste estudo, foram utilizados trinta medicamentos fitoterápicos, sendo 25 de *Passiflora incarnata* (P1 a P25) e 1 amostra de cada de *Equisetum arvense* (CL), *Maytenus ilicifolia* (ES), *Melissa officinalis* (EC), *Ginkgo biloba* (GB) e *Valeriana officinalis* (VL) de distintas regiões de Belo Horizonte para realização do controle de qualidade e determinação da presença de metais e compostos orgânicos nocivos à saúde humana.

Na primeira etapa, todos os fitoterápicos foram analisados. No que concerne aos valores das massas das capsulas apresentados somente as amostras das plantas P5, P11, P13, P15, P16, P22 e P25 estavam dentro das normas estabelecidas. Na apresentação dos rótulos apenas as amostras P2, P10, P12, P15 e P22 estavam em conformidade. Para a relação dos custos das amostras, realizada para a *Passiflora*, o medicamento P25 apresentou o melhor preço.

As análises dos inorgânicos feitas por HR-ICP-MS (*High Resolution Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*) das amostras das plantas P1, P2, P4, P8, P12, ES, EC, VL, GB e CL, mostraram concentrações dos elementos  $^{51}\text{V}$ ,  $^{55}\text{Mn}$ ,  $^{63}\text{Cu}$ ,  $^{75}\text{As}$ ,  $^{78}\text{Se}$ ,  $^{108}\text{Pd}$ ,  $^{111}\text{Cd}$ ,  $^{195}\text{Pt}$ , Hg,  $^{208}\text{Pb}$  abaixo das concentrações estabelecida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e farmacopeias vigentes.

Na análise dos compostos orgânicos realizadas por HPLC-DAD (*High Performance Liquid Chromatography coupled Diode Array Detection*) e HPLC-MS (*High Performance Liquid Chromatography coupled Mass Spectrometry*) foram identificadas trinta e três substâncias nas amostras das plantas P, EC, VL, GB e CL: flavonoides, sesquiterpenos e monoterpenos. Na planta VL, por GC-MS



(*Gas Chromatography coupled Mass Spectrometry*), foram identificadas oito substâncias pertencentes a espécie e três substâncias (Alloaromadendrene, Butilhidroxitolueno e Esqualeno) não pertencentes, que foram utilizadas, possivelmente, como antioxidantes/conservantes.

Os resultados obtidos não demonstraram a presença de compostos a nível tóxico para o consumidor.

**Palavras-chave: Fitoterápicos. Controle de qualidade. HR-ICP-MS. HPLC-DAD-MS. GC-MS.**

## ABSTRACT

The use of plants for medicinal purposes is a very old practice. And although the advancement of products in the pharmaceutical sector is notable, it is considered that countless people still use this source as an herbal medicine for disease prevention and treatment. There is a growing world market in the investment of herbal medicines, which makes a greater need for health surveillance and specific agencies in the supervision and establishment of specific laws regarding the quality control and manufacture of raw materials and final products.

Therefore, in this study, thirty herbal medicines were used, 25 *Passiflora incarnata* (P1 to P25) and 1 sample each of *Equisetum arvense* (CL), *Maytenus ilicifolia* (ES), *Melissa officinalis* (EC), *Ginkgo biloba* (GB ) and *Valeriana officinalis* (VL) from different regions of Belo Horizonte to carry out quality control and determine the presence of metals and organic compounds harmful to human health.

In the first stage, all herbal medicines were analyzed. Regarding the values of the masses of the capsules presented, only the samples of plants P5, P11, P13, P15, P16, P22 and P25 were within the established norms. When presenting labels, only samples P2, P10, P12, P15 and P22 were in compliance. For the list of sample costs, performed for the *Passiflora*, the drug P25 had the best price.

The analysis of inorganics by HR-ICP-MS (High Resolution Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry) of samples of the P1, P2, P4, P8, P12, ES, EC, VL, GB and CL plants showed concentrations of the elements  $^{51}\text{V}$ ,  $^{55}\text{Mn}$ ,  $^{63}\text{Cu}$ ,  $^{75}\text{As}$ ,  $^{78}\text{Se}$ ,  $^{108}\text{Pd}$ ,  $^{111}\text{Cd}$ ,  $^{195}\text{Pt}$ , Hg,  $^{208}\text{Pb}$  below concentrations established by the National Health Surveillance Agency (ANVISA) and current pharmacopoeias.

In the analysis of organic compounds made by HPLC-DAD (High Performance Liquid Chromatography coupled Diode Array Detection) and HPLC-MS (High Performance Liquid Chromatography coupled Mass Spectrometry) thirty-three substances were identified in samples from plants P, EC, VL, GB and CL: flavonoids, sesquiterpenes and monoterpenes. In the VL plant, by GC-MS (Gas Chromatography coupled Mass Spectrometry), eight substances belonging to the species and three substances (Alloaromadendrene, Butylhydroxytoluene

e Squalene) not belonging, which were possibly used as antioxidants / preservatives.

The results obtained didn't demonstrate the presence of compounds at a toxic level for the consumer.

**Keywords: Herbal medicines. Quality control. HR-ICP-MS. HPLC-DAD-MS. GC-MS.**

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Folhas, flor e fruto da <i>Passiflora incarnata</i> .....	22
Figura 2 – Ramos de Cavalinha.....	24
Figura 3 – Folhas da <i>Maytenus ilicifolia</i> em estágio de frutificação .....	25
Figura 4 – Folhas de <i>Melissa officinalis</i> .....	27
Figura 5 – Folhas de <i>Ginkgo biloba</i> .....	29
Figura 6 – Folhas e flores de <i>Valeriana</i> .....	31
Figura 7 – Representação esquemática de uma HR-ICP-MS .....	42
Figura 8 – Analisador GC-MS .....	44
Figura 9 – Analisador HPLC-MS.....	46
Figura 10 – Acoplamento HPLC-DAD .....	47
Figura 11 – HR-ICP-MS utilizada.....	53
Figura 12 – Analisador GC-MS .....	54
Figura 13 – Comparação entre a massa referência e a média encontrada.....	58
Figura 14 – Estruturas dos flavonoides encontrados nas amostras de <i>Passiflora</i> .....	65
Figura 15 – Estruturas de componentes da <i>Melissa</i> .....	66
Figura 16 - Estruturas químicas dos compostos encontrados em <i>Valeriana</i> .....	67
Figura 17 – Estruturas dos flavonoides de <i>Ginkgo biloba</i> .....	67
Figura 18 – Estruturas dos terpenos de <i>Ginkgo Biloba</i> .....	68
Figura 19 – Estruturas químicas das substâncias da Cavalinha .....	68
Figura 20 – Estruturas químicas de compostos de <i>Valeriana</i> na GC-MS .....	69

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Medicamento fitoterápico de <i>Passiflora</i> especificado pela ANVISA.....	23
Quadro 2 – Medicamento fitoterápico de <i>Maytenus</i> especificado pela ANVISA.....	26
Quadro 3 – Medicamento fitoterápico de <i>Melissa</i> especificado pela ANVISA .....	28
Quadro 4 – Medicamento fitoterápico de <i>Ginkgo biloba</i> especificado pela ANVISA ...	30
Quadro 5 – Medicamento fitoterápico de <i>Valeriana</i> especificado pela ANVISA .....	32
Quadro 6 – Guias da OMS.....	34
Quadro 7 – Rótulo dos medicamentos fitoterápicos.....	57

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Fitoterápicos utilizados no projeto .....	49
Tabela 2 – Parâmetros do micro-ondas.....	52
Tabela 3 – Condições de operação da HR-ICP-MS.....	53
Tabela 4 – Gradientes de fase móvel .....	54
Tabela 5 – Variação limite em porcentagem da massa média .....	59
Tabela 6 – Preço das amostras .....	60
Tabela 7 – Referência das curvas de calibração da HR-ICP-MS .....	61
Tabela 8 – Concentrações ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) determinadas para as amostras de fitoterápicos por HR-ICP-MS .....	63

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BPF	Boas Práticas de Fabricação
CRF	Conselho Regional de Farmácia
DEN	Departamento de Engenharia Nuclear
GC-MS	<i>Gas Chromatography coupled Mass Spectrometry</i>
HPLC- DAD	<i>High Performance Liquid Chromatography coupled Diode Array Detection</i>
HPLC- MS	<i>High Performance Liquid Chromatography coupled Mass Spectrometry</i>
HR-ICP-MS	<i>High Resolution Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICP-MS	<i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>
ISA	<i>Institut des Sciences Analytiques</i>
LD	Limite de Detecção
LEAQUAA	Laboratório de Espectrometria Atômica e Química Analítica e Ambiental
LQ	Limite de Quantificação
[M+H] <sup>+</sup>	Modo de ionização positiva
[M-H] <sup>-</sup>	Modo de ionização negativa
m/z	Massa/carga
OMS	Organização Mundial da Saúde
QTD. QAPs	Quantidade de Capsulas
R <sup>2</sup>	Coefficiente de correlação
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RF	Radiofrequência
TR	Tempo de Retenção
SVS	Secretaria de Vigilância Sanitária
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VP	Valor Padrão
WHO	<i>World Health Organization</i>

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>18</b>
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>20</b>
OBJETIVO GERAL .....	20
OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	20
<b>CAPÍTULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>21</b>
1.1 FITOTERÁPICOS.....	21
1.1.1 Maracujá – <i>Passiflora incarnata</i> .....	21
1.1.2 Cavalinha – <i>Equisetum arvense</i> .....	23
1.1.3 Espinheira Santa – <i>Maytenus ilicifolia</i> .....	25
1.1.4 Erva Cidreira – <i>Melissa officinalis</i> .....	26
1.1.5 Gingo biloba – <i>Ginkgo biloba</i> .....	28
1.1.6 Valeriana - <i>Valeriana officinalis</i> .....	30
1.2 REGULAMENTAÇÃO DE FITOTERÁPICOS NO BRASIL .....	32
1.3 ANÁLISE ELEMENTAR EM FITOTERÁPICOS .....	35
1.4 ESPECTROMETRIA DE MASSA POR PLASMA INDUTIVAMENTE ACOPLADO DE ALTA RESOLUÇÃO .....	40
1.5 CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSA.....	43
1.6 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA .....	45
<b>CAPÍTULO 2 – MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>49</b>
2.1 AMOSTRAS .....	49
2.2 CARACTERIZAÇÃO .....	50
2.2.1 Verificação de Dados de Rotulagem .....	50
2.2.2 Determinação de Massa .....	50
2.2.3 Avaliação do Preço Comercial das Amostras .....	51
2.3 MÉTODOS DE ANÁLISE .....	51
2.3.1 HR-ICP-MS .....	51
2.3.2 HPLC-DAD e HPLC-MS .....	53
2.3.3 GC-MS .....	54
<b>CAPÍTULO 3 – RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	<b>56</b>



3.1 VERIFICAÇÃO DE RÓTULO.....	56
3.2 DETERMINAÇÃO DE MASSA.....	58
3.3 AVALIAÇÃO DO CUSTO DAS AMOSTRAS.....	59
3.4 ANÁLISE ELEMENTAR POR HR-ICP-MS.....	61
3.5 ANÁLISE ORGÂNICA POR HPLC-DAD E HPLC-MS.....	64
3.5.1 <i>Passiflora incarnata</i> .....	64
3.5.2 <i>Melissa officinalis</i> .....	65
3.5.3 <i>Valeriana officinalis</i> .....	66
3.5.4 <i>Ginkgo biloba</i> .....	67
3.5.5 <i>Equisetum arvense</i> .....	68
3.6 COMPOSTOS ORGÂNICOS ENCONTRADOS NA GC-MS.....	69
3.6.1 <i>Valeriana officinalis</i> .....	69
<b>CAPÍTULO 4 – CONCLUSÃO.....</b>	<b>71</b>
4.1 PERSPECTIVAS FUTURAS.....	72
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>73</b>

## INTRODUÇÃO

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2008), a expectativa de vida do brasileiro aumentou cerca de 27,28 anos (idade de 72,78 anos, em 2008) comparadas ao ano de 1940, em que a população mal alcançava os 50 anos de idade (45,5 anos), e de acordo com as projeções para 2050 a idade pode elevar-se para os 81 anos. Muitos fatos contribuem para esse patamar, como os avanços na medicina, as melhorias nas condições básicas de saúde, o treinamento físico, a própria preocupação com a saúde, consumo de produtos naturais, incluindo as plantas medicinais e a fitoterapia, dentre muitos outros.

A utilização de plantas para a prevenção, diagnose e tratamento de doenças físicas e mentais é uma prática milenar. Seu uso pela humanidade estabeleceu-se em práticas populares e tradicionais com remédios caseiros e comunitários. Apesar da evolução dos produtos farmacêuticos, o consumo de plantas como forma terapêutica ainda é bastante comum, sendo hoje conhecida como medicina tradicional (BRASIL, 2006).

Os fitoterápicos são utilizados por cerca de 80% da população de países desenvolvidos e subdesenvolvidos. E com a expansão desse setor, existe um crescente mercado mundial que gira em torno de 55 bilhões de dólares por ano, e dessa parcela o Brasil tem sua contribuição com cerca de 500 milhões de reais (TUROLLA e NASCIMENTO, 2006; MONTE, 2007). Segundo Marinho *et al.* (2007), a maior parte da população brasileira recorre, como fonte terapêutica, aos medicamentos de origem natural, como aqueles à base de plantas.

O desenvolvimento de estudos acadêmicos na área de plantas medicinais no Brasil ocorreu em meados do século XX por conseqüente avanço de instituições de pesquisa e à organização das disciplinas que a estudam. Ademais, o Brasil, com sua dimensão continental, é rico pela diversidade cultural que compõe por gerações informações sobre o uso da flora para fins medicinais. E sob a perspectiva da biodiversidade, uma das maiores do mundo, o país tem predominância de 5 biomas principais (floresta amazônica, cerrado, mata atlântica, pantanal e caatinga), com mais de 55 mil espécies de plantas superiores e 10 mil briófitas e algas, esses números equivalem a quase 25% de todas as espécies de plantas já identificadas no planeta (FERNANDES, 2004; SEED, 2013; RODRIGUES; CARLINI, 2002).

Devido à relevância desses medicamentos, o principal objetivo deste trabalho é o estudo da presença de constituintes orgânicos e inorgânicos a nível tóxico em diversos tipos de medicamentos fitoterápicos.

## OBJETIVOS

### Objetivo Geral

O objetivo geral deste trabalho é analisar a qualidade e possíveis contaminações em medicamentos fitoterápicos manipulados de *Passiflora incarnata*, *Equisetum arvense*, *Maytenus ilicifolia*, *Melissa officinalis*, *Ginkgo biloba* e *Valeriana officinalis* de distintas regiões de Belo Horizonte.

### Objetivos Específicos

Determinar as concentrações dos metais e possíveis contaminações presentes nos fitoterápicos estudados, por meio das técnicas de espectrometria de massa por plasma indutivamente acoplado de alta resolução (HR-ICP-MS), cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detectores de arranjos de diodo e espectrometria de massas (HPLC-DAD e HPLC-MS) e a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS).

Realizar a caracterização física das amostras de fitoterápicos quanto aos parâmetros de identificação da massa, dos rótulos e o custo de mercado de cada fitoterápico.

## CAPÍTULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1.1 Fitoterápicos

A resolução nº 17 definida em 2000 pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelece parâmetros para os medicamentos fitoterápicos e dá a seguinte definição: Medicamento fitoterápico é o medicamento farmacêutico que contém em sua composição apenas substâncias exclusivamente vegetais, que tenham sido obtidos por processos tecnologicamente adequados, com fins profiláticos, curativos, paliativos ou para fins de diagnóstico. Não são considerados como fitoterápicos os medicamentos que apresentam composição de substâncias ativas isoladas nem as associações destas com extratos vegetais (ANVISA, 2000).

O crescente uso destes medicamentos pela população, principalmente as de países em desenvolvimento, deve-se a fácil obtenção quando comparados aos medicamentos alopáticos e também pela crença milenar do uso de plantas. Ademais, os apelos midiáticos para consumo de produtos naturais para fins terapêuticos também colaboram com esse cenário (JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005).

Para o estudo, foram analisados medicamentos fitoterápicos de *Passiflora incarnata*, *Equisetum arvense*, *Maytenus ilicifolia*, *Melissa officinalis*, *Ginkgo biloba* e *Valeriana officinalis*. As amostras dos fitoterápicos foram escolhidas por serem plantas alicerçadas na medicina tradicional de uso popular com comprovação de sua eficácia, segurança e qualidade asseguradas pela vigilância sanitária (BRASIL, 2016).

#### 1.1.1 Maracujá – *Passiflora incarnata*

O gênero *Passiflora* pertence à família Passifloraceae e abrange cerca de 600 espécies (ULMER, 2017). A espécie *Passiflora incarnata* Linnaeus, Figura 1, também conhecida como maracujá-rosado, videira-da-paixão, martírios, damasco selvagem, flor-da-paixão, maracujá-vermelho, “passionvine”, “maypop”, “apricotvine”, pertence à ordem Malpighiales, da classe Magnoliopsida, da divisão

Magnoliophyta, do reino Plantae (PEREIRA, 2014; BRASIL, 2015). O termo maracujá é uma denominação indígena que vem de “mara-cuiá” que significa alimento produzido em cuia (EMBRAPA, 2006).

Figura 1 – Folhas, flor e fruto da *Passiflora incarnata*



Fonte: Exotics Seeds Store, 2019

A *Passiflora incarnata* Linnaeus é um fruto proveniente das regiões tropicais e subtropicais do planeta, natural da América do Norte e América Central (ZERAİK *et al.*, 2010; BRASIL, 2015), apresenta distribuição em regiões quentes (GUPTA *et al.*, 2012). Mas, atualmente é possível encontrá-la desde o sul dos Estados Unidos até a América do Sul (YOTOKO *et al.*, 2011).

As partes comumente utilizadas e de interesse da *Passiflora* são as partes aéreas secas (WHO, 2007a). As folhas do maracujá apresentam alguns constituintes químicos principais como: flavonoides (C-glicosídeo, O-glicosídeo, flavonas, flavonóis) e alcaloides (harmol, harmalol, harmina e harmalina) (PEREIRA e VILEGAS, 2000). O que confere aos fitoterápicos suas principais indicações terapêuticas citadas na literatura para o tratamento ansiolítico, sedativo, tensão nervosa, antimicrobiano, insônia, anti-hipertensivo, antiarrítmico, diurético e antiespasmódico, (FLORIEN, 2019).

Considerada como planta medicinal a *Passiflora incarnata* é citada em diversas monografias farmacêuticas oficiais como: *British Herbal Pharmacopoeia* (1996), *Pharmacopée Française* (2007), *European Pharmacopoeia* (2001), *Pharmacopoeia Helvetica* (1987), *Europeia Scientific Cooperative Phytotherapy monographs* (1997), *European Medicine Agency* (2008) e *World Health Organization monographs* (2007a). Sendo a primeira do gênero *Passiflora* a ser

citada na Farmacopeia Brasileira e depois substituída pela *P. alata* e *P. edulis* (PEREIRA e VILEGAS, 2000).

O fitoterápico de *Passiflora incarnata* está incluso na lista de medicamentos que apresentam registro simplificado, ou seja, é apenas necessário que a empresa comunique à ANVISA sobre o processo de fabricação, importação e comercialização. A empresa também precisa garantir que o medicamento apresenta baixo risco à saúde, de acordo com as características de uso descritas na RDC nº 199/2006. Mas cabe a empresa seguir as Boas Práticas de Fabricação (BPF) e os cuidados sanitários. Esse medicamento também não necessita de prescrição médica e suas características como fitoterápico podem ser observadas no quadro 1 (ANVISA, 2018).

Quadro 1 – Medicamento fitoterápico de *Passiflora* especificado pela ANVISA

Nomenclatura botânica	<i>Passiflora incarnata</i> L.
Nome popular	Maracujá, passiflora
Parte usada	Folhas e flores
Marcador da espécie	Flavonoides totais expressos em vitexina
Derivado vegetal	Extratos
Alegação de uso	Ansiolítico leve
Dose Diária	30 a 120 mg de flavonoides totais expressos em vitexina
Via de Administração	Oral
Restrição de uso	Venda sem prescrição médica

Fonte: ANVISA, 2018

### 1.1.2 **Cavalinha – *Equisetum arvense***

O gênero *Equisetum* é o único representante da família Equisetaceae, sendo a *Equisetum arvense* uma de suas 15 espécies. Conhecida também por cavalinha, a planta é nativa do hemisfério norte: Europa, Norte da África, Ásia e América do Norte (FRANCESCATO, 2012). E é considerada uma das espécies com maior quantidade de sílica em seus compostos (MELLO; BUDEL, 2019).

A cavalinha, figura 2, é uma herbácea, perene, rizomatosa, que se forma por touceira. Seu caule é fistuloso e ereto. O rizoma castanho-escuro tem facilidade de rebrote. Suas hastes podem ser de duas maneiras: as que formam esporângios e as que começam a brotar quando os esporos estão maduros, sendo estas ramificadas e sem esporângios (COUTO, 2006).

Figura 2 – Ramos de Cavalinha



Fonte: CM, 2019

A cavalinha apresenta alguns constituintes principais em sua composição, como o ácido sílico, ácido gálico, tiaminas, luteolina, saponinas, triglicéridos, flavonoides (isoquercetina, equisetina, canferol, galutenina, fitosterol), triglicérides (ácido oleico, esteárico, lenoleico e linolênico), alcaloides (metosapiridina, nicotina, palustrina, palustrinina) e taninos. Os extratos de suas propriedades terapêuticas são usados para tratamento de doenças reumáticas, cálculos renais, infecções do trato urinário, também tem ação diurética, anti-hemorrágica e antianêmica (GUIMARÃES *et al.*, 2015).

Apesar da *Equisetum arvense* não constar no Registro Simplificado de Medicamentos Fitoterápicos da ANVISA, ela é atestada como medicamento fitoterápico e tem seu uso aprovado pela Comissão Europeia Alemã para uso no tratamento de enfermidades (BLUMENTHAL *et al.* 2000). Está representada por monografias na Farmacopeia Espanhola (2002), *European Pharmacopoeia* (2005) e na *British Pharmacopoeia* (2011).



### 1.1.3 *Espinheira Santa* – *Maytenus ilicifolia*

Pertencente à família *Celastraceae*, o gênero *Maytenus* possui mais de 200 espécies e apresenta boa adaptabilidade em vários tipos de vegetação. É uma planta muito comum da América do Sul, localizando-se no Brasil com mais frequência em regiões do sul e sudeste do país (ALBERTON; FALKENBERG; FALKENBERG, 2002; CARVALHO-OKANO, 1992).

Dentre as espécies catalogadas, a *M. ilicifolia*, Figura 3, apresenta papel de destaque. Popularmente conhecida como espinheira-santa, recebeu este nome devido à forma das suas folhas que possuem as bordas espinhosas, e por suas propriedades terapêuticas (MAGALHÃES, 2002).

Figura 3 – Folhas da *Maytenus ilicifolia* em estágio de frutificação



Fonte: MBF, 2019

A espinheira-santa é uma árvore pequena, perene, que apresenta muitas ramificações no caule e, sua espécie pode ser diferenciada das outras do mesmo gênero pelo fato do caule possuir estrias longitudinais. As folhas contêm vários espinhos e ápice agudo, são coriáceas e glabras. Suas flores são pequenas e apresenta frutos tipo cápsula ovoide (COUTO, 2006).

O uso medicinal da Espinheira-santa é devido, principalmente, aos seus efeitos contra a gastrite e as ulcerações gástricas e duodenais, devido aos compostos triterpênicos friedelina e friedelanol presentes em suas folhas. Mas, também, é comumente usada como analgésico, antisséptico, tônico, cicatrizante, e como coadjuvante no tratamento da exantema e do câncer (LUNARDI; SCHIFINO-WITTMANN; BARROS, 2004; MAGALHÃES, 2002).

Esta espécie vegetal está incluída na lista de Registro Simplificado de Medicamentos Fitoterápicos. O quadro 2 estabelece parâmetros específicos de acordo com a ANVISA para o fitoterápico de *M. ilicifolia* (ANVISA, 2018).

Quadro 2 – Medicamento fitoterápico de *Maytenus* especificado pela ANVISA

Nomenclatura botânica	<i>Maytenus ilicifolia</i> Mart. ex Reiss., <i>M. aquifolium</i> Mart.
Nome popular	Espinheira-santa
Parte usada	Folhas
Marcador da espécie	Taninos totais expressos em pirogalol
Derivado vegetal	Extratos
Alegação de uso	Dispepsias, coadjuvante no tratamento de gastrite e úlcera gastroduodenal
Dose Diária	60 a 90 mg taninos totais expressos em pirogalol
Via de Administração	Oral
Restrição de uso	Venda sem prescrição médica

Fonte: ANVISA, 2018

#### 1.1.4 Erva Cidreira – *Melissa officinalis*

A família Lamiaceae, de ordem Tubiflorae Lamiales, apresenta cerca de 200 gêneros e mais de 3000 espécies, sendo uma delas a *Melissa officinalis*, popularmente conhecida como erva-cidreira e melissa (LIMA; CARDOSO, 2007). É uma planta, figura 4, perene de 0,20 a 0,80 m de altura, rizomatosa, seu caule é completamente ramificado em tufos. Suas folhas têm coloração verde-escura na parte superior e verde-claro na parte inferior, elas são grandes, em formato oval, lanceoladas e pecioladas. Quando floresce, suas flores são brancas ou amarelas (COUTO, 2006; MEIRA; SOUZA; MARTINS, 2010).

Figura 4 – Folhas de *Melissa officinalis*



Fonte: GREENME, 2016

Nativa do Mediterrâneo Oriental e da Ásia Ocidental, ela também pode ser encontrada em países tropicais, como o Brasil. A *M. officinalis*, muito utilizada pela população, possui, em geral, em suas folhas compostos fenólicos, como glicosídeos de luteolina, quercetina, ácido caféico, ácido rosmarínico, citral, citronelal, geraniol, mucilagem, taninos, saponinas e resinas que auxiliam no tratamento de distúrbios gastrointestinais, dores de cabeça, sedativo nervoso, reumatismo, combate a infecções virais e antioxidante (SOUSA *et al.*, 2004; MÜZELL, 2006; SODRÉ *et al.*, 2013; MIMICA-DUKIC *et al.*, 2004).

O fitoterápico de melissa, a base de folhas, pode ser adquirido em farmácias de manipulação e drogarias, sem a necessidade de receituário, pois ele é registrado na base de dados dos registros de medicamentos da ANVISA, seguindo as especificações do quadro 3.

Quadro 3 – Medicamento fitoterápico de *Melissa* especificado pela ANVISA

Nomenclatura botânica	<i>Melissa officinalis</i> L.
Nome popular	Erva-cidreira, Melissa
Parte usada	Folhas
Marcador da espécie	Ácidos hidroxicinâmicos expressos em ácido rosmarínico
Derivado vegetal	Extratos
Alegação de uso	Carminativo, antiespasmódico e ansiolítico leve
Dose Diária	60 a 180 mg de ácidos hidroxicinâmicos expressos em ácido rosmarínico
Via de Administração	Oral
Restrição de uso	Venda sem prescrição médica

Fonte: ANVISA, 2018

#### 1.1.5 *Gingo biloba* – *Ginkgo biloba*

Único representante extante da família Ginkgoaceae, a espécie *Ginkgo biloba*, também conhecida como gingo, avenheiro, pau-de-avenca é considerada árvore milenar, devido a sua capacidade de tolerar componentes tóxicos e infecções sua espécie pode viver por longos anos. O *G. biloba*, figura 5, é uma planta nativa da Coreia, China e Japão. Sua árvore pode chegar a cerca de 40 metros de altura (REYES, 2019; FORLENZA, 2003).

Figura 5 – Folhas de *Ginkgo biloba*



Fonte: PEDMED, 2019

Os extratos das folhas de *G. biloba* são utilizados para tratar e prevenir inúmeras enfermidades, como cefaleias, disfunções cardiopulmonares, envelhecimento, melhorar a memória, bem como no tratamento de labirintopatias (zumbidos e vertigens) (FORLENZA, 2003). Segundo Cohen e Bartlik (1998) e Kleijnen e Knipschild (1992) o vegetal pode ser usado também no tratamento da perda de libido, disfunção erétil, distração mental, confusão, falta de energia, cansaço, zumbidos, diminuição do desempenho físico, sentimento depressivo e ansiedade.

Suas propriedades terapêuticas são vinculadas a seus princípios ativos: glicosídeos de ginkgoflavonas (principalmente quercetina, kaempferol e isorhamnetina) e lactonas terpênicas (ginkgólidos e bilobalida) (FORLENZA, 2003).

No Brasil, o fitoterápico só é vendido, ou deveria ser, com uma prescrição médica, de acordo com o registro simplificado de medicamento, como mostra o quadro 4, mas em algumas regiões como Reino Unido, Europa, Estados Unidos e Canadá é possível adquirir facilmente o medicamento como suplemento alimentar sem receituário (LI *et al.*, 2017). A prescrição médica é em razão de o vegetal apresentar em sua composição ácidos gincólicos, que ultrapassando a concentração limite de ácido absorvida no organismo, pode se tornar tóxico (CIMRS, 2007).

Quadro 4 – Medicamento fitoterápico de *Ginkgo biloba* especificado pela ANVISA

Nomenclatura botânica	<i>Ginkgo biloba</i> L.
Nome popular	Gingo biloba
Parte usada	Folhas
Marcador da espécie	Ginkgoflavonóides (22% a 27%) expressos em quercetina, kaempferol e isorhamnetina; e terpenolactonas (5% a 7%) expressos em ginkgolídeos A, B, C e bilobalídeo
Marcador negativo	Ácidos gincólicos em quantidade inferior a 5 µg/g
Derivado vegetal	Extratos
Alegação de uso	Vertigens e zumbidos (tinidos) resultantes de distúrbios circulatórios, distúrbios circulatórios periféricos (claudicação intermitente) e insuficiência vascular cerebral
Dose Diária	26,4 a 64,8 mg de ginkgoflavonóides e 6 a 16,8 mg de terpenolactonas
Via de Administração	Oral
Restrição de uso	Venda sob prescrição médica

Fonte: ANVISA, 2018

#### 1.1.6 *Valeriana - Valeriana officinalis*

A *Valeriana officinalis*, figura 6, é uma espécie da família Valerianaceas, das quais apresenta cerca de 200 espécies. Conhecida também em diversas regiões com os seguintes nomes: valeriana, valeriana-menor, valeriana-selvagem, valeriana-silvestre, erva de São Jorge, valeriana oficial, erva dos gatos, essa árvore pode atingir até 1,5 m de altura. Suas raízes são ramificadas, com órgãos subterrâneos inteiros ou fragmentados, elas abrangem o rizoma e os estolhos. Suas folhas estão dispostas de 6 a 10 pares com bordas serrilhadas. Suas flores são delicadas e pequenas com coloração rosa claro e apresenta também fruto seco com semente (LONDRINA, 2019).

Figura 6 – Folhas e flores de *Valeriana*



Fonte: FSC, 2019

Nativa de regiões da Europa e oeste Asiático, seus princípios ativos se referem a mono e sesquiterpenos-pinenos, canfeno, borneol e ácidos valerênicos, iridóides (valepotriatos), ácidos fenólicos, flavonoides e taninos. Sua indicação medicinal é para o tratamento de ansiedade, insônia, antiespasmódico, carminativo, anti-tabagismo e ainda como coadjuvante em doenças relacionadas ao estresse, como cefaleias tensionais e psoríase (LONDRINA, 2019).

A valeriana está descrita na lista de medicamentos simplificados da ANVISA, quadro 5. Seu uso deve ser consciente e mediante uma prescrição médica, pois o fitoterápico interfere diretamente no sistema nervoso central (GONÇALVES; MARTINS, 2006).

Quadro 5 – Medicamento fitoterápico de *Valeriana* especificado pela ANVISA

Nomenclatura botânica	Valeriana officinalis L.
Nome popular	Valeriana
Parte usada	Raízes
Marcador da espécie	Ácidos sesquiterpênicos expressos em ácido valerênico
Derivado vegetal	Extratos
Alegação de uso	Sedativo moderado, hipnótico e no tratamento de distúrbios do sono associados à ansiedade
Dose Diária	1 a 7,5 mg de ácidos sesquiterpênicos expressos em ácido valerênico
Via de Administração	Oral
Restrição de uso	Venda sob prescrição médica

Fonte: ANVISA, 2018

## 1.2 Regulamentação de Fitoterápicos no Brasil

A normalização da indústria fitoterápica no Brasil foi oficializada a partir da profissão farmacêutica, devido às primeiras regras nacionais do setor de medicamentos no país. Contudo, só ganharam destaque em 1967, na edição da Portaria nº 22, do extinto Serviço Nacional de Fiscalização da Medicina e da Farmácia. No entanto, a implementação da Lei Federal nº 6360/1976, que estabelecia a reorganização no setor de medicamentos, não abordava à classe de produtos derivados das plantas medicinais, situação problemática que causou o registro de vegetais em categorias distintas as classificações pertinentes (MONTE, 2007).

Por isso, houve a necessidade de criar uma legislação federal que normalizasse a classe de produtos fitoterápicos, o que surgiu com a edição da Portaria SVS nº 6/1995. A portaria passou a considerar os fitoterápicos como medicamentos e estabeleceu critérios para os novos registros, incluído a necessidade de estudos relativos à toxicidade, eficiência terapêutica e segurança (MONTE, 2007).



Em 26 de janeiro de 1999, foi criada a ANVISA no Brasil, como uma autarquia com autonomia financeira e administrativa, para supervisionar os ambientes, processos, insumos e tecnologias. É a principal agência responsável por proteger a população em relação ao uso de drogas e seus derivados, por intermédio do controle de qualidade e sanitário da produção e comercialização (BRASIL, 1999).

A regulamentação de medicamentos é feita conforme a legislação brasileira de acordo com a ANVISA. Os medicamentos fitoterápicos se enquadram em dois tipos: industrializados ou manipulados, mas somente os industriais necessitam de registro, conforme a regulamentação específica desde 1967: Portaria nº 22, que foi seguida pela Portaria nº 06, publicada em 1995; RDC nº 17, publicada em 2000; RDC nº 48, publicada em 16 de março de 2004; RDC nº 14, publicada em 05 de abril de 2010; e a norma vigente RDC nº 26, de 13 de maio de 2014 (ANVISA, 2018).

A manipulação de fitoterápicos é sempre realizada por farmácias com autorização da Vigilância Sanitária Estadual ou Municipal. Seguindo a norma RDC nº 67/2007, atualizada pela RDC nº 87/2008, que estabelece as boas práticas de manipulação de preparações magistrais, que são as que necessitam de prescrições médicas ou de dentistas, e as officinais, que são inscritas no Formulário Nacional ou em Formulários Internacionais (ANVISA, 2018).

Na Resolução RDC nº 210, de 4 de agosto de 2003 da ANVISA, apresenta um “Regulamento Técnico de Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos” com diretrizes para fabricantes de medicamentos. Além de determinar que as empresas realizem a auto inspeção da produção com relatórios disponíveis e atualizados para inspeção pelos órgãos de supervisão (ANVISA, 2003a).

A ANVISA, de acordo com a resolução RDC nº 26, de 13 de maio de 2014, estabelece requisitos mínimos para produção e comercialização dos fitoterápicos. Estabelecendo que cada “produtora” tenha documentos e relatórios que comprovem a eficiência do mesmo e garantia de que não trazem efeitos nocivos à população. (ANVISA, 2014a).

Os fitoterápicos fazem parte dos medicamentos existentes em farmácias e drogarias que, apesar de seguir todos os requisitos de eficácia, qualidade e segurança dos demais medicamentos, não possuem as tarjas vermelha (sujeitos à prescrição) e preta (controle especial). Ademais, para serem incluídos nessa

especificação, é necessário que cumpram algumas regras, de acordo com a RDC 98/2016, tais como (ANVISA, 2016):

- Não apresentar ou apresentar baixo risco para o consumidor;
- Uso de curto período ou pelo tempo previsto na bula;
- É necessário que seja um medicamento de uso preventivo;
- Não desenvolver dependência química ou psíquica;
- Apresentar fácil manuseio para o paciente, cuidador ou mediante orientação pelo farmacêutico;
- Ser recomendado para tratamento de doenças não graves e com lenta/inexiste evolução;
- Possuir baixa toxicidade.

O quadro 6 mostra as principais guias da OMS para plantas medicinais e fitoterápicos com seus devidos anos de publicação e os documentos específicos relacionados.

Quadro 6 – Guias da OMS

<b>Publicação</b>	<b>Tema</b>	<b>Norma</b>
1998	Controle de Qualidade	<i>Quality control methods for medicinal plant materials</i>
2000	Metodologias de pesquisa	<i>General guidelines for methodologies of research and evaluation of traditional medicine</i>
2002	Farmacovigilância	<i>The importance of pharmacovigilance - Safety monitoring of medicinal products</i>
2003	Boas Práticas Agrícolas	<i>WHO guidelines on good agricultural and collection practices for medicinal plants</i>
2007	Contaminantes	<i>WHO guidelines for assessing quality of herbal medicines with reference to contaminants and residues</i>
2008	Pesquisa clínica	Instruções operacionais: informações necessárias para a condução de ensaios clínicos com fitoterápicos
2016	Políticas públicas	Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos

Fonte: WHO, 1998; WHO, 2000; WHO, 2002; WHO, 2003; WHO, 2007b; OMS, 2008; BRASIL, 2016

### 1.3 Análise Elementar em Fitoterápicos

As plantas apresentam vários constituintes químicos, entre eles, os íons metálicos. As suas concentrações relativas presentes nas plantas podem ser classificadas como deficientes, adequados e potencialmente tóxicos, quando os níveis de concentração indicado em normas são excedidos (MESJASZ-PRZYBYLOWICZ; PRZYBYLOWICZ, 2002).

Alguns elementos são essenciais para determinadas plantas, mas a quantidade de cada nutriente varia de acordo com a espécie de planta, ao genótipo, as condições de crescimento, além de órgãos e tecidos de uma mesma planta. Existem alguns elementos primordiais na constituição e desenvolvimento das plantas, destes, alguns são macronutrientes (C, H, O, N, K, Ca, Mg, P e S) e outros são micronutrientes (B, Cl, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni e Zn). Mas outros componentes podem ser essenciais para certas espécies ou para algumas espécies cultivadas em condições ambientais específicas (MESJASZ-PRZYBYLOWICZ; PRZYBYLOWICZ, 2002).

A origem da presença de metais pesados em plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos podem ter várias fontes e modificar de acordo com determinadas situações, por exemplo, condições ambientais, geográficas e climáticas. Comumente, metais pesados contaminam o meio ambiente por meio de ações antropogênicas por fertilizantes, mineração, emissões veiculares, combustão de carvão e óleo, fundição, refinamento e incineração de resíduos urbanos e industriais (TAVARES; CARVALHO, 1992).

Ao absorver substâncias presentes no solo, incluindo os metais pesados, as plantas podem acumulá-los em toda sua extensão, nas raízes e nos tecidos, e transferir esses contaminantes para a cadeia alimentar. Esse processo, além de causar a fitotoxicidade vegetal, gera preocupação devido ao potencial efeito nocivo que os metais tóxicos podem ter sobre os animais e a saúde humana (MAIGA *et al.*, 2005). A forma do metal (especificação) pode afetar não somente no processo de absorção, mas também o modo como esse metal será distribuído no organismo e os efeitos tóxicos resultantes (MACHADO, 2001).

Dentre os metais existentes, este trabalho dará foco nos seguintes elementos: arsênio (As), cádmio (Cd), chumbo (Pb), mercúrio (Hg), cromo (Cr),

cobre (Cu), manganês (Mn), paládio (Pd), platina (Pt), selênio (Se) e vanádio (V.), determinados nas amostras de fitoterápicos estudadas.

O arsênio é um metaloide sólido, cristalino e acinzentado. Sua toxicidade apresenta-se mais alta quando em águas brandas com pH ácido e em temperaturas mais elevadas, por oxidar-se ligeiramente para óxido arsenioso, incolor e inodoro. O As em suas formas orgânicas apresenta baixa ou nenhum risco de intoxicação, porém, seus compostos inorgânicos, como As (III) e As (V) são considerados de elevada toxicidade. O As é encontrado em diferentes tipos de solos, que pode ter sua origem devido aos compostos minerais utilizados em pesticidas ou fertilizantes (SPERLING, 2002; NETO, 2018; SAKUMA, 2004). Sua ocorrência em águas naturais, subterrâneas e em mares ou lagoas podem ocorrer nas formas químicas como As (III) (arsenito), As (V) (arseniato), íon monometilarsênico (MMA) e íon dimetilarsênico (DMA) (BARRA *et al.*, 2000).

A toxicidade por ingestão elevada de arsênio envolve vários sintomas e sinais. Os efeitos da toxicidade aguda pode-se apresentar em questões de minutos a ingestão, como: implicações gastrointestinais (diarreia que pode perdurar por semanas), hematêmese, hematoquezia, paladar metálico, hipotensão, taquicardia, sintomas neurológicos centrais (cefaleia, confusão, delírios e alterações de personalidade), complicações dermatológicas e pode causar a morte, dependendo da quantidade ingerida (NETO, 2018).

O cádmio é um metal de coloração branco azulado e, apesar de ser um elemento raro, é encontrado na natureza sempre em associações de sulfetos nos minérios de zinco, cobre e chumbo. Há várias fontes antropogênicas que causam a contaminação em quantidades significativas do elemento no meio ambiente, como por meio de atividades de mineração (extração de rochas fosfatadas, drenagem de águas de minas), uso de fertilizantes fosfatados e lodo de esgoto usado como adubo (MOREIRA, 2019).

Por ser um metal muito tóxico, o cádmio pode causar várias consequências. As doses absorvidas no organismo podem causar problemas renais e de fígado, danos no sistema nervoso, ocasionando alterações visuais, no olfato, ou provocando polineuropatias e alterações neurológicas diversas. E pode também estar associada ao desenvolvimento de cânceres, hipertensão, doenças do miocárdio, enfisema, complicações oftalmológicas, atrofia muscular e porosidade nos ossos (ROCHA, 2009; FERNANDES; MAINIER, 2014).

O chumbo é um elemento metálico encontrado em solos de áreas de mineração, beneficiamento e refino de minérios de chumbo, em atividades de reciclagem de baterias automotivas ou em áreas onde ocorreram atividades industriais de exploração. O principal mineral de minério de chumbo é a galena (PbS), sendo o chumbo metálico produzido por sua oxidação, seguida pela redução do litargírio (PbO) que é gerado (BOSSO; ENZWEILER, 2008).

Os efeitos de intoxicação de chumbo são extremamente prejudiciais para o organismo humano e ocasionalmente causa sintomas irreversíveis com ou sem sintomas agudos (deficiência cognitiva, neuropatia periférica, disfunção renal crônica), mas estão relacionados com o nível de exposição. Outros sintomas também podem ocorrer, com diferentes intensidades para crianças e adultos, como: cólicas abdominais, constipação intestinal, tremores, alterações do humor, irritabilidade, diminuição da atenção, vômitos persistentes e vigorosos, marcha atáxica, convulsões, alterações da consciência e, finalmente, infertilidade, convulsões intratáveis e coma (O'MALLEY, 2018).

O mercúrio é um metal encontrado associado a compostos orgânicos e inorgânicos, e pode apresentar estado físico sólido, líquido e gasoso. Apresenta aplicações em várias atividades, estabelecendo participação na composição de tintas (atua como fungicida, bactericida e anti-incrustante), na indústria farmacêutica, indústrias de aparelhos elétricos e uso do mercúrio em garimpos de ouro, prática que contamina solo, água e atmosfera (FERREIRA; APPEL, 1991; WINDMÖLLER *et al.*, 2007). A forma de contaminação de solos e plantas medicinais, pode se dar por meio de descarte incorreto de materiais que contenham o elemento em sua composição e a absorção do elemento pelos tecidos vegetais.

Na natureza, o mercúrio pode se apresentar na forma inorgânica em diferentes estados de oxidação como: forma elementar ( $\text{Hg}^0$ ), íon mercurioso ( $\text{Hg}_2^{2+}$ ) e íon mercúrico ( $\text{Hg}^{2+}$ ). Na forma orgânica, considerada a mais tóxica, apresenta-se como compostos de metilmercúrio ( $\text{CH}_3\text{Hg}^+$ ) (MICARONI; BUENO; JARDIM, 2000). A presença de Hg no organismo humano pode desenvolver vários danos à saúde. Uma vez que sua acumulação é progressiva e irreversível, pois facilmente absorvidas apresentam longa duração no corpo, causando lesões graves, principalmente aos rins, fígado, aparelho digestivo e sistema nervoso central (TINÔCO, 2010).

O cromo é um mineral que existe no meio ambiente em vários estados de oxidação que variam de Cr (VI) a Cr (-II), e apresenta compostos de múltiplas colorações. Suas formas hexavalente (VI) e trivalente (III) são as mais prevalentes no meio ambiente. Sendo o Cr (III) considerado o mais estável e pode ser encontrado de forma natural em minérios como ferrocromita, porém pode ser facilmente oxidado em Cr (VI) que é o mais tóxico. Os compostos de cromo são muito utilizados em cromação de metais, fabricação de tintas e pigmentos, preservação de madeira, explosivos, além dos processos galvânicos (FRANCO *et al.*, 2011; DONATI, 2006; CAMPOS, 2001).

O cromo hexavalente pode provocar vários sintomas e lesões em contato com o organismo e pele, como dermatites, ulcerações, eczemas, problemas relacionados ao sistema respiratório como bronquite e asma, pode causar gastroenterites e também sendo apontado como agente cancerígeno (CAMPOS, 2001).

O cobre é um metal avermelhado que pode ser encontrado naturalmente em rochas, solo, água, sedimentos e, em níveis baixos, no ar. Há vários compostos de cobre que podem ser naturais ou fabricados, sendo um dos mais comuns o sulfato de cobre. Sua utilização se dá em múltiplas atividades antropogênicas, como na fabricação de moedas, fiação elétrica, determinados canos de água e no processo de produção de ligas de latão e bronze. O cobre pode poluir efetivamente o solo de áreas no entorno de minas, fundições, instalações industriais, aterros e locais de descarte de resíduos, além de ser encontrado em alguns fungicidas (ATSDR, 2004).

O cobre é essencial para plantas e animais, com baixos níveis de ingestão, caso ocorra em grandes quantidades torna-se prejudicial e tóxico. E quanto maior o tempo de exposição ao metal no organismo, pior são os sintomas. Podem ocorrer dores de cabeça, tontura, náuseas, diarreia e vômitos. Além do risco de ingestão de altíssimas proporções poderem causar danos no fígado e nos rins e até morte. Porém, ainda não é relacionado casos de câncer com a ingestão/exposição ao cobre (ATSDR, 2004).

O manganês é um dos micronutrientes de maior abundância no solo, e ocorre em equilíbrio por reações de oxirredução em três valências  $Mn^{2+}$ ,  $Mn^{3+}$  ( $Mn_2O_3 \cdot n H_2O$ ) e  $Mn^{4+}$  ( $MnO_2 \cdot n H_2O$ ). A forma comumente encontrada em plantas

é o  $Mn^{2+}$ , que se encontra adsorvido aos coloides na forma iônica ou na forma de quelato (FAQUIN, 2005).

O excesso de Mn nos solos pode prejudicar o efeito de fixação biológica de nitrogênio no solo por micro-organismos e a não absorção dele nas plantas e, conseqüentemente, limitar o crescimento das plantas (FAQUIN, 2005). Para o organismo, a ingestão excessiva do manganês advindo de alguns alimentos leva a intoxicação e gera um quadro chamado de “manganismo”, que pode ocasionar tremores, problemas na coordenação motora e na memória (CARNAÚBA, 2014).

O paládio é um metal de transição e está presente na crosta terrestre. Suas formas de oxidação podem variar de 0 a (+IV), sendo o Pd (+II) o mais comum e estável. É comumente utilizado na fabricação de ligas, em indústrias petroquímicas e automotivas, na fabricação de catalisadores e na fabricação de produtos odontológicos (BELTRAME, 2017; VIOLANTE *et al.*, 2005).

Apesar de poucos dados sobre a toxicidade do paládio para o organismo humano, um estudo realizado em 2003 por VIOLANTE *et al.* (2005), mostrou que a exposição ao Pd pode ocasionar problemas nas vias respiratórias, causar alergias, infecções oculares e dermatites. Quando o paládio é absorvido, ele é capaz de penetrar em quase todos os órgãos, tecidos ou fluidos, sendo sua concentração máxima nos rins, fígado e no baço (KLIMACZEWSKI, 2014).

A platina apresenta os seguintes estados de oxidação: Pt (I), Pt (II), Pt (III) e Pt (IV). É um metal que apresenta aplicabilidade na produção de catalisadores de automóveis e da indústria química, produção de ligas odontológicas e na produção de joias (KLIMACZEWSKI, 2014).

Alguns compostos de Pt podem causar toxicidade de acordo com a exposição e forma de absorção. Em geral, os sintomas causados podem ser lesão hepática e renal, redução da audição e causar reações alérgicas a pessoas predispostas a rinite, urticária e asma (MERCK, 2017).

O selênio pode ocorrer em quatro formas de oxidação, como elementar Se (0), selenetos Se (-II), selenito Se (IV) e selenato Se (VI). Sua incidência nos solos ocorre, de modo geral, em baixas concentrações, e apresenta-se em maior teor em solos originados de rochas sedimentares. Atividades antropogênicas, como indústrias petrolíferas e de mineração, usinas a carvão, água de drenagem agrícola pode acelerar o teor dessa substância no meio ambiente (FAQUIN, 2005; HAMILTON, 2004). É um elemento que apresenta diferentes níveis de atividades

biológicas de acordo com suas concentrações: é considerado, em concentrações traços, importante no papel do desenvolvimento e crescimento normais, mas também em concentrações excessivas pode levar a toxicidade (HAMILTON, 2004).

O excesso de Se no organismo humano pode causar um quadro de selenose de acordo com a forma química do composto ingerido e tempo de exposição. Os sintomas envolvidos na intoxicação humana são danos nos cabelos e unhas, distúrbios gastrointestinais e fadiga. Há também estudos que relacionam o excesso de selênio com a diabetes (ALMEIDA; CACURO, 2019).

O vanádio é um metal de transição presente em rochas fosfáticas. Sua aplicação envolve a indústria de fertilizantes, petrolíferas e de carvão, produção de ligas metálicas, cerâmicas e também muito usada em diversos processos químicos da indústria de tecidos (ABMBN, 2020).

A forma química e o modo de contaminação do vanádio em excesso podem ocasionar toxicidade. Caso inalado, pode causar tosse com muco e irritação das vias respiratórias. Já sua ingestão em excesso leva a uma diminuição do apetite, diarreia e complicação da psicose maníaco-depressiva (ABMBN, 2020).

#### **1.4 Espectrometria de Massa por Plasma Indutivamente Acoplado de Alta Resolução**

A Espectrometria de Massas, em inglês "*Mass Spectrometry*" (MS) é uma técnica analítica caracterizada pela sua eficiência em determinar quase todos os elementos da tabela periódica. O instrumento separa íons em um movimento acelerado de acordo com a razão massa/carga,  $m/z$  (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2001).

A Espectrometria de Massas por Plasma Indutivamente Acoplada, em inglês "*Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*" (ICP-MS) expandiu-se rapidamente pelo mundo desde 1983, quando começou a ser comercializada e, desde então, tem sido utilizada em campos de pesquisa de múltiplas áreas, como na área ambiental, geológica, semicondutora, biomédica e nuclear. Sua expansão confere o fato de ser uma técnica de análise com determinações rápidas e capacidade de detecção isotópica (THOMAS, 2004).



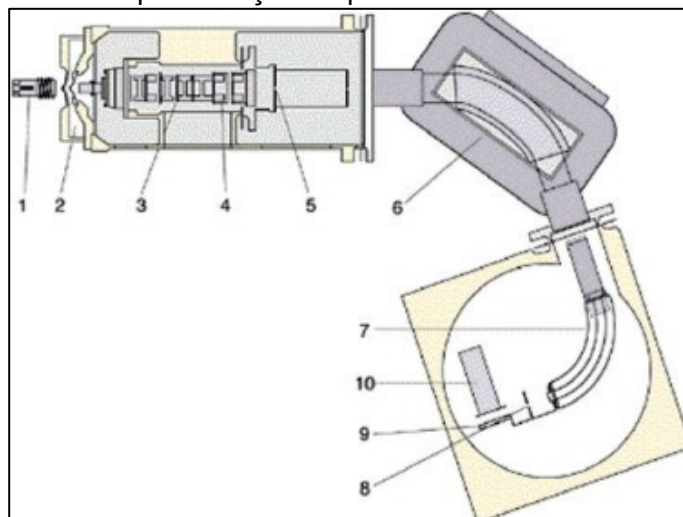
A ICP-MS é empregado para determinar vários elementos com sensibilidade em nível de ultra traços ( $\mu\text{g.L}^{-1}$  a  $\text{ng.L}^{-1}$ ). Tornando-a um recurso excelente na análise estatística multivariada para determinação de metais em fontes naturais e antropogênicas em sedimentos, solos, água, plantas, etc. (THOMAS, 2004; TOKALđOđLU, 2012).

Outra alternativa, apesar de apresentar custo mais elevado que a técnica de ICP-MS, é a HR-ICP-MS (Espectrometria de Massas por Plasma Indutivamente Acoplada de Alta Resolução, em inglês "*High Resolution Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*"), que é capaz de diminuir as interferências espectrais e melhorar a separação entre as massas com melhor resolução entre os picos (NUNES, 2009).

A HR-ICP-MS é uma das técnicas instrumentais mais recentes para análise elementar e razão de isótopos. Ela difere da ICP-MS por apresentar um sistema multicoletor para detectar simultaneamente os isótopos ao invés da detecção da razão isotópica (GHAZI, 2007). O modelo é hábil para isolar espécies moleculares e/ou atômicas, por meio do controle da abertura da fenda de entrada, localizada entre a ótica iônica e o analisador de massas, e uma outra fenda de saída situada entre o detector e o analisador de massa. Quanto menor as fendas, melhor a resolução, porém menor sensibilidade do teste, vice-versa. A alta resolução da ICP-MS possibilita a identificação da maioria dos íons analíticos alvo. A instrumentação quadrupolo e de campo de HR-ICP-MS permite comparáveis interfaces de introdução amostral e o analisador de massa empregado é composto por um ímã laminado (AREVALO, 2014).

Uma HR-ICP-MS é composta basicamente dos seguintes componentes: (1) tocha de íons (gás de plasma), (2) regiões de interface, incluindo cones de amostragem e *skimmer*, (3) Focalização da ótica, (4) aceleração e foco de feixes (5) fenda de entrada, (6) analisador magnético (7) analisador eletrostático, (8) fenda de saída, (9) conversor e (10) multiplicador de elétrons. O modelo esquemático de uma HR-ICP-MS é mostrado na figura 7.

Figura 7 – Representação esquemática de uma HR-ICP-MS



Fonte: GHAZI, 2007

O plasma de Argônio, um dos gases mais utilizados em técnicas/álises de emissão, é um gás que conduz eletricidade, por meio das concentrações de íons. A formação do plasma a partir do gás argônio é iniciada com absorção de energia de uma fonte externa e sua temperatura na operação pode chegar a 10000 K (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2001).

A amostra deve estar em estado líquido ou gasoso, para amostras sólidas elas devem ser anteriormente dissolvidas ou introduzidas em sistemas com ablação por laser. Elas são inseridas no sistema por meio do nebulizador, normalmente com a ajuda de uma bomba peristáltica. O gás de nebulização gera uma pressão reduzida na ponta do capilar do dispositivo e então a amostra é transportada por aspiração pelo efeito Bernoulli. A elevada velocidade do gás dispersa o líquido em gotículas finas de múltiplos tamanhos, as quais são carregadas para o plasma, na forma de um aerossol. Ao percorrer pelas zonas de aquecimento a tocha de plasma é seca, vaporizada, atomizada e ionizada. Durante esse momento, a amostra é transformada de um aerossol líquido em partículas sólidas e depois em gás. A energia do plasma é de 15,8 eV, alta suficiente para ionizar grande parte dos elementos da tabela periódica (a maioria possui potenciais de ionização pela ordem de 4 a 12 eV). O sistema analisa em poucos minutos uma quantidade muito pequena, miligramas/mililitros ( $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), da amostra (THOMAS, 2004; SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2001; SKOOG *et al.*, 2006).

Os íons produzidos no plasma são direcionados à região de interface que é mantido à vácuo a baixa intensidade (1 – 2 Torr) com uma bomba de desbaste mecânica. Essa região apresenta dois cones chamados de cone *sampler* e *skimmer* com pequeno orifício (diâmetro de 0,6-1,2 mm), em que os íons são guiados para o dispositivo de separação de massa. Em seguida são direcionados para a câmara de vácuo principal por uma série de lentes eletrostáticas (iônicas) por meio de uma bomba turbomolecular, o vácuo nesta região é cerca de  $10^{-3}$  Torr. Esse sistema de lentes polarizadas possibilitam que o feixe de íons seja direcionado ao analisador de massa, enquanto impede que fótons, partículas e espécies neutras atinjam o detector (THOMAS, 2004).

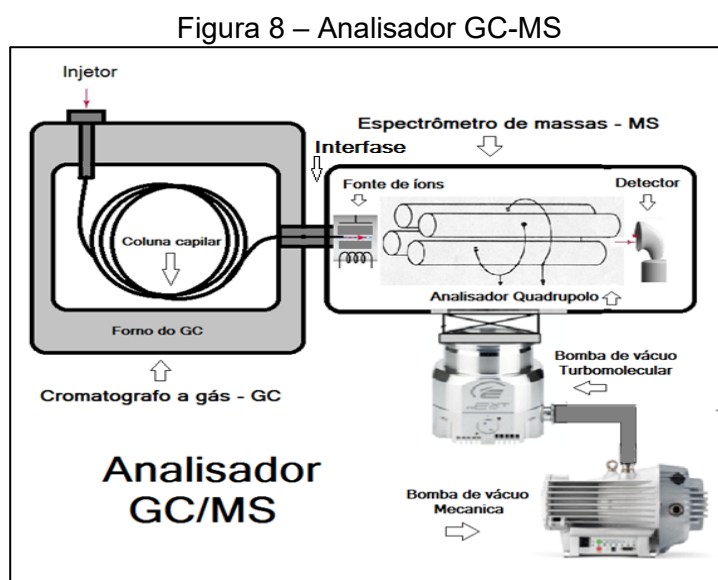
Embora a técnica apresente várias vantagens, ela apresenta alguns pontos negativos inerentes à preparação de amostras, cargas induzidas pela matriz e interferências espectrais. Os componentes de operação da HR-ICP-MS, como cones e lentes, são extremamente sensíveis a concentrações elevadas de determinados íons sólidos, como K, Al, Na, Ca, Mg e Fe, além de carbono de amostras mal digeridas. Sendo assim, é de extrema importância a diluição das amostras para minimizar os efeitos nos componentes e reduzir a frequência de manutenção e serviço instrumental (MAY; WIEDMEYER, 1998).

### 1.5 Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa

A Cromatografia Gasosa, em inglês “*Gas Chromatography*” (GC) foi desenvolvida em 1941 por Martin e Synge, (DÍEZ, 2015) e em 1958 foi combinada com a Espectrometria de Massa (MS) para determinação de misturas gasosas complexas (HOFFMANN; STROOBANT, 2007). Essa técnica é muito utilizada nas análises químicas das áreas ambientais, de resíduos, ciência forense e na investigação de poluentes (HÜBSCHMANN, 2015).

As técnicas realizam um processo analítico conjunto, mas cada uma desempenha uma tarefa. A GC promove a separação dos componentes químicos da mistura gasosa, de forma quantitativa, e o MS analisa, por meio da razão massa/carga ( $m/z$ ), a identificação dos compostos que foram separados pelo GC (BUSTILLOS, 2020a).

O cromatógrafo é composto basicamente de um injetor, da coluna, do forno e de um detector, neste caso o MS (figura 8). O sistema apresenta um processo de vaporização que favorece amostras em estado sólido ou líquido, já para amostras em estado gasoso sua introdução é de forma direta. Assim que os analitos estão na forma gasosa eles são levados pelo gás de arraste para a coluna. Esta, está inserida em um forno resistivo que apresenta uma programação de temperatura em que é possível adicionar especificações quanto ao ponto de ebulição, volatilidade, massa molecular e a estabilidade térmica da amostra, de tal modo a contribuir para sua separação. Cada componente separado resultará em um tempo de retenção diferentes, e ao chegarem ao fim da coluna, são encaminhados para o detector (BUSTILLOS, 2020a).



Fonte: BUSTILLOS, 2020a

O detector que é o Espectrômetro de Massas é constituído, basicamente, por uma fonte de íons, o analisador e um outro detector (figura 8). Assim que um componente entra no MS, ele interage com elétrons acelerados advindos de um filamento, produzindo íons do analito na fonte de íons. E então são fragmentados segundo um padrão de energia de ionização a 70 eV, que admite a identificação e caracterização dos compostos separados. Os íons acelerados são encaminhados para o analisador quadrupolo e sofrem efeito eletromagnético conforme sua razão  $m/z$  e, então, são detectados pelo multiplicador de elétrons (detector) (BUSTILLOS, 2020a; DÍEZ, 2015). A identificação dos elementos é fundamentada no estudo dos íons fragmentados ou pela comparação com

espectros de massa sob a padronização de ionização de 70 eV em bibliotecas comerciais de espectros (DÍEZ, 2015).

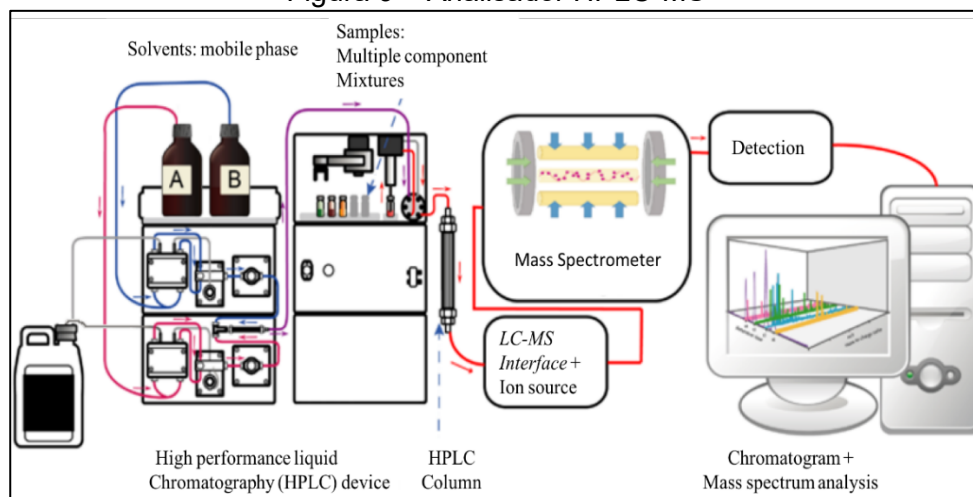
## 1.6 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

A Cromatografia Líquida de Alta Performance, em inglês “*High Performance Liquid Chromatography*” (HPLC) é comumente usada para compostos não voláteis e que não são apropriados para a cromatografia em fase gasosa (HOFFMANN; STROOBANT, 2007). O acoplamento da MS como detector da HPLC é possível analisar diversos compostos com diferentes massas moleculares (ARDREY, 2003).

Além do uso do acoplamento MS na HPLC no campo de análises de resíduos farmacológicos, são muito utilizados também os detectores ultravioleta (UV), arranjo de diodos (DAD, em inglês *Diode Array Detector*) e o de fluorescência (FLU) (PONTES, 2015). Essas técnicas permitem identificar componentes em concentrações muito baixas (LANÇAS, 2009).

A HPLC-MS, figura 9, apresenta diversas aplicações, compreendendo determinações de elementos de baixo e alta massa molecular, incluindo polímeros sintéticos, área ambiental, compostos farmacêuticos, produtos naturais e área bioquímica (ARDREY, 2003; BANSAL *et al.*, 2010). A HPLC é a técnica para a separação e o MS contribui com as informações estruturais e quantitativas, por meio da sua seletividade e sensibilidade (ARDREY, 2003). A HPLC-MS é comumente mais utilizada que a GC-MS em casos em que é necessário ler compostos de massa moleculares maiores ou com maior polaridade e menor volatilidade, visto que a GC-MS é mais adequada para a análise de compostos voláteis (LANÇAS, 2009).

Figura 9 – Analisador HPLC-MS



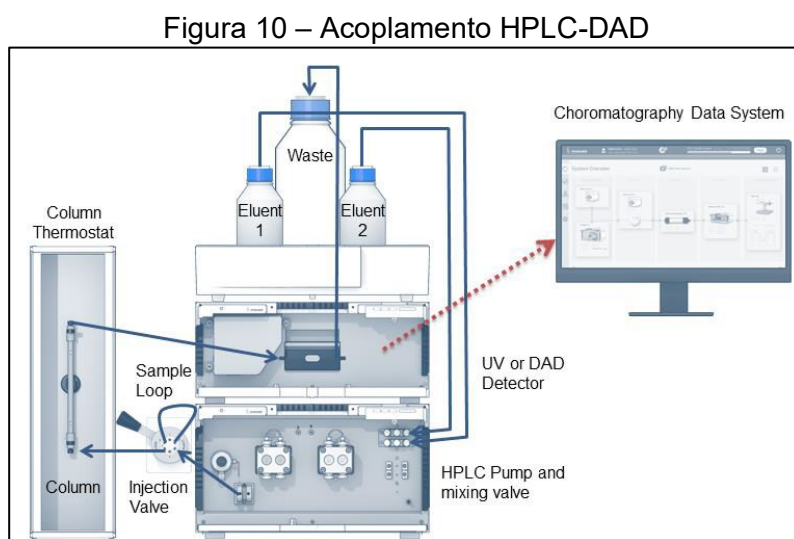
Fonte: CELINE, 2017

A vantagem do acoplamento da cromatografia líquida com a MS é que em múltiplas análises, o analito de interesse encontra-se em uma mistura complexa e, utilizando o cromatógrafo sozinho ele forneceria a separação dos componentes para determinação quantitativa. Porém, a técnica isolada não poderia fornecer a identificação do componente de forma qualitativa, pois este processo baseia-se na comparação dos tempos de retenção (TR) de um analito desconhecido com os materiais de referência apurados nos mesmos padrões de identificação experimentais, o que impossibilitaria o operador de precisar um determinado elemento. Dessa forma, o uso da MS permite projetar os espectros de massa de muitos compostos, sendo esses específicos para cada elemento, o que torna a identificação com alto grau de precisão. Uma vez que o cromatógrafo separa os elementos, e ao introduzi-los no MS o detector gera um espectro de massa, o que permite a identificação e determinação quantitativa do elemento de interesse e que não seriam definidos apenas com o uso da cromatografia (ARDREY, 2003).

No método HPLC-MS/MS, a amostra é inserida pelo injetor na fase móvel e passa pelas colunas que apresentam a fase estacionária. Neste momento, a amostra é separada e eluída com determinados TR, de acordo com sua influência entre a coluna e a fase móvel. Em seguida, os compostos são ionizados e evaporados assim que passam na fonte de ionização no espectrômetro de massa para a formação dos íons. Logo após, estes são encaminhados para o primeiro analisador quadrupolo, nestes os íons precursores, são especificados segundo a razão  $m/z$ . Posteriormente, seguem para o segundo quadrupolo, em que há a

formação de fragmentos que serão detectados no segundo analisador, terceiro quadrupolo. Esse processo aumenta a sensibilidade da análise e proporciona melhor identificação dos analitos (BUSTILLOS, 2020b).

A técnica de HPLC-DAD, figura 10, é uma técnica muito utilizada para análises de matrizes biológicas, aplicações forenses e amostras que apresentam compostos em misturas complexas. Por meio de um amplo conjunto de algoritmos é possível identificar rapidamente os componentes que necessitam de testes de confirmação (ESHAGHI, 2011).



Fonte: DCTECH, 2018

A HPLC-DAD proporciona muitos benefícios em termos de sensibilidade, velocidade e especificidade. Os dados gerados, incluindo o comportamento dos tempos de retenção e espectros de absorção dos compostos químicos, resultam na identificação a baixo custo para os laboratórios que utilizam a técnica (ESHAGHI, 2011).

O acoplamento DAD a HPLC permite a determinação dos compostos analisados (JOSEPH, s/a), e gera um aumento significativo dos dados que são obtidos no cromatógrafo. O uso desse tipo de detector possibilita extrair cromatogramas em diferentes comprimentos de onda, adquirir individualmente os espectros de varredura na região do UV dos picos cromatográficos e, ainda, definir a homogeneidade espectral de cada pico (FACCI *et al.*, 2020).

O método apresenta, com precisão, alta resolução do comprimento de onda, o que faz com que os espectros medidos com esses detectores possam ser

reprodutíveis, caso o mesmo composto for analisado com outros detectores de fabricantes diferentes. Os diodos são dispositivos não lineares que possuem maior condutividade em determinadas direções que em outras, comumente, os DADs são executados com softwares completos que são específicos para dispositivos HPLC, (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2001; PRAGST; HERZLER; ERXLEBEN, 2004).



## CAPÍTULO 2 – MATERIAIS E METÓDOS

Amostras de cinco tipos de fitoterápicos foram estudadas.

Primeiramente, caracterizou-se as amostras quanto a rotulagem, massa e custo no Laboratório de Espectrometria Atômica e Química Analítica e Ambiental (LEAQUAA) do Departamento de Química, da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Brasil.

A segunda parte do trabalho realizada em parceria com o laboratório *Institut des Sciences Analytiques* (ISA), em Lyon, França, como parte da cooperação internacional com o Departamento de Engenharia Nuclear (DEN-UFMG), foram feitas a preparação e abertura das amostras, bem como as análises por HR-ICP-MS, HPLC-DAD, HPLC-MS e GC-MS.

Todos os testes realizados neste trabalho foram feitos em triplicata.

### 2.1 Amostras

Para realização da parte experimental deste projeto utilizou-se, tabela 1, vinte e cinco fitoterápicos de *Passiflora incarnata* e uma amostra de *Equisetum arvense*, *Maytenus ilicifolia*, *Melissa officinalis*, *Ginkgo biloba* e *Valeriana officinalis* adquiridos em diferentes drogarias e farmácias de manipulação de diversas regiões da cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, entre os meses de Maio e Agosto de 2019.

Tabela 1 – Fitoterápicos utilizados no projeto

<b>AMOSTRA</b>	<b>DERIVADO VEGETAL</b>
P1 a P25	<i>Passiflora incarnata</i>
ES	<i>Maytenus ilicifolia</i>
EC	<i>Melissa officinalis</i>
VL	<i>Valeriana officinalis</i>
GB	<i>Ginkgo biloba</i>
CL	<i>Equisetum arvense</i>

Inicialmente, os testes seriam feitos somente com as vinte e cinco amostras de *Passiflora incarnata*, porém, para gerar variabilidade nos resultados, foram adquiridos mais outros cinco tipos de medicamentos distintos. As amostras foram coletadas aleatoriamente sem se considerar qualquer marca ou número de lote.

## 2.2 Caracterização

Para a caracterização dos fitoterápicos, os mesmos foram submetidos aos testes de: verificação de rótulo, determinação de massa média e avaliação de custo.

### 2.2.1 Verificação de Dados de Rotulagem

Foi realizada uma análise dos dados identificados no rótulo das amostras, seguindo os itens descritos na RDC nº 10, de 9 de março de 2010 e na RDC nº 67, de 8 de outubro de 2007 (ANVISA, 2010a; ANVISA, 2007).

Os itens analisados foram: nome do prescriptor, nome do paciente, data de validade e manipulação, nomenclatura botânica, componentes da formulação, número de cápsulas, posologia, dados da farmácia, cadastro nacional de pessoas jurídicas, nome do farmacêutico e seu CRF e o número do lote.

### 2.2.2 Determinação de Massa

O teste foi realizado segundo a metodologia adaptada da Farmacopeia Brasileira (ANVISA, 2010b).

Inicialmente, mediu-se na balança analítica *Shimadzu* (modelo AX200) 3 unidades de cada fitoterápico com cápsula, em seguida, foi removido todo conteúdo do invólucro e mediu-se novamente. Os dados foram obtidos pela diferença de massa entre a cápsula cheia e a vazia (Equação 1).

$$M = C_c - C_v \quad (1)$$

Em que:

M = massa da amostra;

$C_c$  = massa da cápsula cheia (em gramas);

$C_v$  = massa da cápsula vazia (em gramas).

O procedimento visa determinar, para o caso de cápsulas duras, se o preenchimento dos invólucros ocorreu de maneira uniforme no processo de produção, isto é, se todas as cápsulas, individualmente, apresentam quantidades de pó aproximadamente iguais.

### **2.2.3 Avaliação do Preço Comercial das Amostras**

Na avaliação da variação de custo, realizada para os fitoterápicos de *Passiflora*, não seguiu um critério específico, uma vez que a escolha das farmácias e drogarias que participaram deste trabalho foram feitas de maneira aleatória.

## **2.3 Métodos de Análise**

### **2.3.1 HR-ICP-MS**

Inicialmente, mediu-se em balança de precisão (MX5 Mettler Toledo) cerca de 100 mg das amostras de fitoterápico P1, P2, P4, P8, P12, ES, EC, VL, GB e CL. Em seguida, para o início do processo de digestão ácida adicionou-se a cada amostra em tubos de ensaio, 4 mL de ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$  a 65% v.v<sup>-1</sup> - ultrapuro da Merck) e homogeneizou-se. Em seguida as amostras foram levadas a um micro-ondas (*UltraWave* da Milestone) conforme os parâmetros da tabela 2.

Tabela 2 – Parâmetros do micro-ondas

Etapa	Potência Máxima (W)	Tempo (min)	Temperatura (°C)
1	1500	5	150 (rampa)
2	1500	15	200 (patamar)
3	0	35	25 (resfriamento)

Após o resfriamento, as amostras foram avolumadas a 50 mL para análise dos elementos traços e diluída na proporção de 1:10 (2,5 mL de soluto para 25 mL de água Milli-Q) e de 1:100 (0,25 mL de soluto para 25 mL de água Milli-Q), para os elementos maiores, adicionou-se no final 1 mL de HNO<sub>3</sub> em todas as amostras.

As soluções multielementares para calibração foram preparadas com soluções padronizadas da SPEX CertiPrep 2A (Ag, Al, As, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cs, Cu, Fe, Ga, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Rb, Se, Sr, Tl, U, V e Zn) e 3 (Au, Hf, Ir, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Sn e Tc) cada analito a 10 µg. mL<sup>-1</sup> e 1000 µg. mL<sup>-1</sup>, respectivamente. As curvas analíticas de calibração para a quantificação dos elementos variaram de branco e 7 pontos (0, 1, 2, 5, 10, 20, 50 e 100 µg. L<sup>-1</sup>).

Utilizou-se como padrão interno para a curva de calibração o elemento <sup>89</sup>Y a 50 µg. L<sup>-1</sup>. Os limites de linearidade (R<sup>2</sup>) foram superiores a 0,99, de acordo com o estabelecido pela ANVISA na Resolução 899 (2003b). Os limites de detecção e quantificação foram calculados segundo os autores González e Herrador (2007) e Paula e Gioda (2013) de acordo com as equações (2 e 3).

$$LD = \frac{3 \cdot S}{A} \quad (2)$$

$$LQ = 3,3 \cdot LD \quad (3)$$

Em que:

LD = Limite de detecção;

S = Desvio padrão;

A = Coeficiente angular;

LQ = Limite de quantificação.

As leituras foram realizadas com um espectrofotômetro de massas por plasma indutivamente acoplado com triplo quadrupolo 8800 ICP-MS *Triple Quad* (*Agilent Technologies*). As condições operacionais do instrumento, figura 11, bem como suas características estão especificadas na tabela 3.

Figura 11 – HR-ICP-MS utilizada



Tabela 3 – Condições de operação da HR-ICP-MS

Parâmetro	Condição de Operação
Plasma gás	Argônio
Potência RF (W)	1550
Vazão de gás nebulizador (L.min <sup>-1</sup> )	1,09
Vazão de gás do plasma (L.min <sup>-1</sup> )	18
Vazão de gás auxiliar (L.min <sup>-1</sup> )	1,8
Temperatura da câmara de nebulização (°C)	2
Tempo de integração (s)	3
Tempo de estabilização (s)	20
Número de replicatas	3

### 2.3.2 HPLC-DAD e HPLC-MS

Mediu-se em balança de precisão 150 mg de fitoterápico. Em seguida, realizou-se a diluição das amostras em etanol à 50% v.v<sup>-1</sup> e homogeneizou.

A determinação dos compostos orgânicos foi realizada com o uso de uma HPLC-DAD com coluna Pro C18 RS da marca YMC-Pack para tamanho de partícula de 3 µm. O equipamento operou com vazão de 0,6 mL.min<sup>-1</sup> à temperatura de 50°C, com monitoramento de 254 e 320 nm e aquisição de espectros UV de 190 a 500 nm para injeção de amostras a 5 µL.

A tabela 4 mostra os parâmetros utilizados para o gradiente na fase móvel.

Tabela 4 – Gradientes de fase móvel

Tempo (min)	%A (H <sub>2</sub> O + 0,1% Ac. Fórmico)	%B (Acetonitrila)
0	90	10
2	90	10
25	0	100
28	0	100
30	90	10

A HPLC-MS operou com as mesmas condições citadas acima, porém com ionização química a pressão atmosférica, em inglês “*Atmospheric pressure chemical ionization*” (APCI), em modo positivo e negativo com faixa de SCAN de 100 a 1200 Dalton.

### 2.3.3 GC-MS

Para a extração da amostra de *Valeriana* em éter, mediu-se 150 mg da amostra do fitoterápico. Utilizou-se a GC-MS, figura 12, com coluna HP-5MS de 30 metros a 250  $\mu\text{m}$  \* 0,25  $\mu\text{m}$  da marca *Agilent*. As condições de temperatura e tempo foram 60°C (3 min); 5°C.min<sup>-1</sup>; 250°C; 10°C.min<sup>-1</sup>; 325°C (10 min).

Figura 12 – Analisador GC-MS



O aparelho operou com fluxo de  $1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$  e com a temperatura do injetor de  $250 \text{ }^\circ\text{C}$ . Para o espectrômetro de massa a temperatura da fonte foi  $230 \text{ }^\circ\text{C}$  e a temperatura do quadrupolo foi de  $150 \text{ }^\circ\text{C}$  em detector de SCAN de 35 a 350 Dalton.

## CAPÍTULO 3 – RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 3.1 Verificação de Rótulo

Os trinta rótulos dos fitoterápicos foram analisados de acordo com a legislação e expressos no quadro 7.

Observando os dados no quadro 7, pode-se notar que apenas as amostras P2, P10, P12, P15 e P22 estavam em conformidade com a legislação. As amostras VL e CL foram as que apresentaram menos descritivos em seus rótulos.

As amostras P1, P3, P4, ES, e CL não apresentaram nome do paciente, apesar de ser uma não conformidade, é tolerável por ser um medicamento que pode ser comprado sem necessidade de prescrição médica. Porém, o mesmo ocorreu com as VL e GB, mas nestes casos deveria ter o nome do prescritor e o nome do paciente no rótulo, pois são fitoterápicos que deveriam ser vendidos mediante prescrição médica.

Outra irregularidade foi quanto à nomenclatura botânica, que deveria conter o nome da espécie, este composto por dois nomes, sendo eles o gênero e o epíteto específico. Os medicamentos P1, P3, P4, P7, P8, P17, ES, EC, VL e CL apresentaram apenas os nomes comuns, as amostras P foram identificadas apenas como *Passiflora*, a ES como Espinheira-santa, EC como Melissa e VL apenas como *Valeriana*.

As amostras P6, P7, P9, P13, P14, P17, P18, P19, P20, P21, P23, P24 e P25 apresentaram não conformidades na posologia indicada, pois informaram apenas “USE CONFORME ORIENTAÇÃO MÉDICA”, não ficando claro o uso.

Apenas as amostras P5 e CL não identificaram o CNPJ da empresa.

A VL e CL apresentaram irregularidades também quanto ao endereço e telefone da farmácia. E a CL também não apresentou no rótulo os dados do farmacêutico.

Atentou-se também para as amostras P3, P8, P11, P13, P14, P16, P19 e VL que não identificaram na embalagem o lote dos fitoterápicos.



Quadro 7 – Rótulo dos medicamentos fitoterápicos

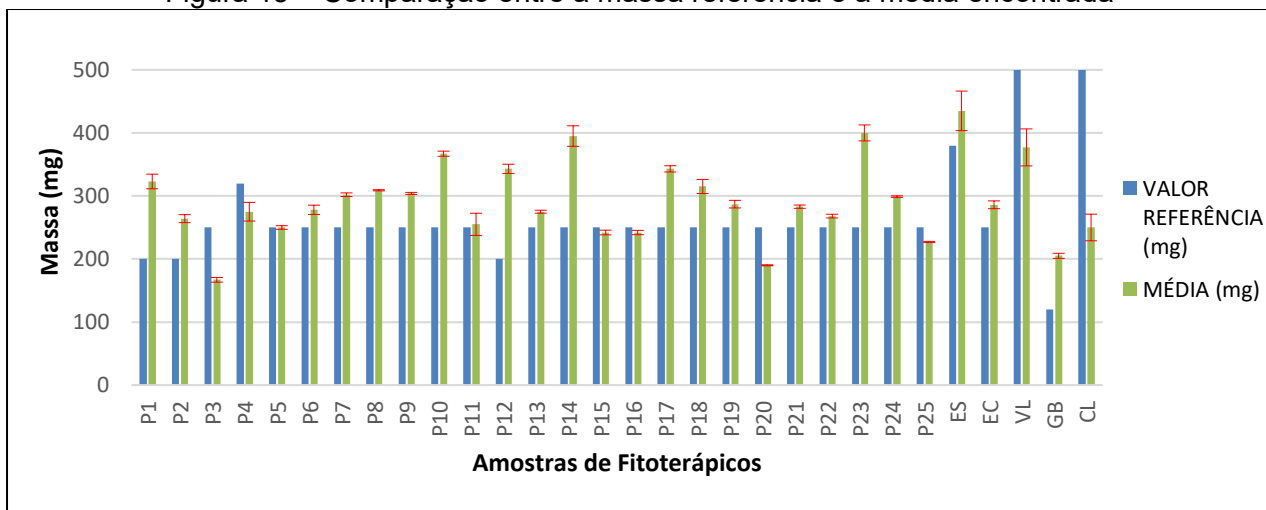
<b>Informações exigidas pela legislação</b>	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20	P21	P22	P23	P24	P25	ES	EC	VL	GB	CL	
Nome do prescriptor	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	.	.	*
Nome do paciente	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
Prazo de validade	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Data de fabricação	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nomenclatura botânica: espécie	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-
Componentes da formulação com dosagens	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Número de cápsulas	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Posologia	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+
Identificação da Farmácia	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C.N.P.J.	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Endereço	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-
Telefone	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-
Nome do farmacêutico responsável	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
CRF	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Número do lote	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+

Legenda: + = atende à legislação; - = não atende a legislação; \* = não se aplica

### 3.2 Determinação de Massa

A figura 13 apresenta os dados obtidos da média das massas dos medicamentos em triplicata, com o respectivo desvio padrão, e a massa referência.

Figura 13 – Comparação entre a massa referência e a média encontrada



De acordo com a figura 13 é possível notar que há algumas variações significativas da massa média em relação ao de referência, que é o valor indicativo, em miligramas, das cápsulas do medicamento fitoterápico expressas no rótulo. As amostras P5, P11, P15 e P16 tiveram valores médios muito próximos aos valores referência (que neste caso foi de 250 mg), variando cerca de 8 mg no conteúdo, porém, amostras como a P1, P10, P12, P14, P23, VL e CL tiveram uma variação de mais de 100 mg de diferença. É possível notar também que apenas oito amostras, P3, P4, P15, P16, P20, P25, VL e CL apresentaram massa média menor que o valor preconizado na embalagem.

De acordo com a Farmacopeia Brasileira as cápsulas duras podem ter uma variação limite de  $\pm 10\%$  na massa média em medicamentos com massa inferior a 300 mg, e para as de 300 mg ou mais uma variação de  $\pm 7,5\%$  (ANVISA, 2010b). Dessa forma, como mostrado na tabela 5, apenas as amostras P5, P11, P13, P15, P16, P22 e P25 estão dentro das normas estabelecidas pela farmacopeia.

Tabela 5 – Variação limite em porcentagem da massa média

AMOSTRA	VALOR REFERÊNCIA (mg)	MÉDIA (mg)	%	Erro
P1	200	323	61,5	123
P2	200	264	32	64
P3	250	167	-33,2	-83
P4	320	275	-14,1	-45
P5	250	250	0	0
P6	250	278	11,2	28
P7	250	302	20,8	52
P8	250	309	23,6	59
P9	250	304	21,6	54
P10	250	367	46,8	117
P11	250	255	2	5
P12	200	343	71,5	143
P13	250	275	10	25
P14	250	395	58	145
P15	250	242	-3,2	-8
P16	250	242	-3,2	-8
P17	250	343	37,2	93
P18	250	315	26	65
P19	250	287	14,8	37
P20	250	190	-24	-60
P21	250	283	13,2	33
P22	250	268	7,2	18
P23	250	400	60	150
P24	250	299	19,6	49
P25	250	227	-9,2	-23
ES	380	435	14,5	55
EC	250	286	14,4	36
VL	500	377	-24,6	-123
GB	120	205	70,8	85
CL	500	250	-50	-250

### 3.3 Avaliação do Custo das Amostras

Após a compra dos fitoterápicos de *Passiflora*, todos de farmácias diferentes, realizou-se o balanço financeiro de cada amostra, conforme indicado na tabela 6.

Tabela 6 – Preço das amostras

<b>AMOSTRA</b>	<b>QTD. CAPs.</b>	<b>PREÇO (R\$)</b>
P1	60	25,70
P2	60	35,00
P3	100	39,90
P4	100	23,50
P5	40	21,18
P6	30	58,00
P7	60	39,00
P8	40	28,00
P9	40	43,00
P10	40	23,00
P11	40	54,00
P12	40	29,00
P13	40	30,10
P14	40	20,94
P15	40	42,50
P16	40	19,00
P17	40	36,50
P18	40	25,00
P19	40	25,00
P20	30	23,00
P21	40	45,00
P22	40	25,00
P23	40	28,00
P24	40	38,50
P25	40	18,00

Na análise interpretativa do custo das amostras o valor médio foi de R\$31,83. Analisando pelo valor unitário, o maior valor encontrado foi de R\$58,00 e o menor R\$18,00, o preço variou cerca de R\$40,00 entre as referências P6 e P25, o que pode ser explicado pela “popularidade” da farmácia de manipulação e mostra a importância de se pesquisar diferentes lugares no momento que antecede a compra. Vale ressaltar também, que compensa, na maioria das vezes, manipular uma quantidade maior de cápsulas de acordo com a recomendação médica ou duração do tratamento.

### 3.4 Análise Elementar por HR-ICP-MS

A HR-ICP-MS atuou nos modos de operação MS/MS (2 quadrupolos) para os elementos Fe e <sup>78</sup>Se com gás reacional O<sub>2</sub> e atuou também no modo *Single Quad* (1 quadrupolo MS) para os outros elementos com gás reacional He e sem gás. Dessa forma, foram avaliados os valores do coeficiente de correlação (R<sup>2</sup>), bem como os valores do coeficiente angular, do limite de detecção e o de quantificação, expressos na tabela 7.

Tabela 7 – Referência das curvas de calibração da HR-ICP-MS

Elemento/Isótopo	R <sup>2</sup>	A	LD (µg. L <sup>-1</sup> )	LQ (µg. L <sup>-1</sup> )
<sup>51</sup> V	1,0000	0,0365	0,0314	0,1036
Cr	1,0000	0,0026	0,0977	0,3224
<sup>55</sup> Mn	0,9997	0,0157	0,0408	0,1347
Ni	0,9999	0,0054	0,1097	0,3621
<sup>63</sup> Cu	0,9998	0,1100	0,0557	0,1839
Fe	1,0000	2189,2810	0,1556	0,5136
<sup>75</sup> As	0,9999	0,0039	0,2282	0,7530
<sup>78</sup> Se	0,9999	92,0094	0,0000	0,0000
Mo	0,9990	0,0484	0,5189	1,7122
<sup>102</sup> Ru	0,9998	0,1629	0,0000	0,0000
<sup>103</sup> Rh	0,9998	0,4826	0,0107	0,0354
<sup>108</sup> Pd	0,9998	0,1551	0,0068	0,0225
<sup>111</sup> Cd	0,9999	0,0050	0,0135	0,0444
<sup>191</sup> Ir	0,9990	0,0219	0,0006	0,0019
<sup>195</sup> Pt	0,9997	0,5484	0,0001	0,0003
Hg	0,9961	0,0000	13,0467	43,0542
<sup>208</sup> Pb	0,9965	0,0653	0,0072	0,0236

A avaliação da linearidade do método nas curvas de calibração para os analitos está de acordo com os padrões mínimos estabelecidos pela ANVISA na Resolução 899/2003 que recomenda um R<sup>2</sup> maior ou igual a 0,99. Pode-se inferir que os valores de coeficiente de correlação apresentaram boa linearidade para todos os analitos apresentados.

O LD é a menor concentração do analito que pode ser determinada, mas não necessariamente quantificada, diferentemente do LQ, que é quantificado em

precisão. Dessa forma, quanto menor o valor encontrado melhor, assim apenas o Fe apresentou resultado não satisfatório (pior), tanto para LD como para o valor de LQ.

Os elementos determinados nas amostras de fitoterápicos estão expressos na tabela 8. As medidas apresentaram incerteza máxima de 3%. A maioria dos elementos não foram detectados, isso pode ocorrer pois os analitos podem estar a quantidades abaixo do limite de detecção (LD) ou estão ausentes nas amostras. Todos os valores estão em conformidade com o valor padronizado (VP) recomendado pela ANVISA (2010b) nas farmacopeias indicadas para medicamentos.

Os elementos foco do trabalho, estão dentro dos valores permitidos. O arsênio e o cobre foram detectados em todas as amostras, mas em valores baixos. O chumbo só foi detectado na amostra VL, mas dentro do permitido. Os elementos cádmio, mercúrio, cromo e cobre estavam abaixo do LD ou inexistentes.

Tabela 8 – Concentrações ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) determinadas para as amostras de fitoterápicos por HR-ICP-MS\*\*

Elemento/ Isótopo	VP	P1	P1*	P2	P4	P4*	P8	P12	ES	ES*	EC	VL	GB	CL
<sup>51</sup> V	25	<LD	<LD	0,1874	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	8,4678	0,4651	0,3927
<sup>55</sup> Mn	-	0,1157	1,1163	0,0411	0,1555	0,0256	0,1502	0,0684	0,057	0,0689	0,0089	0,4569	0,0545	0,2885
<sup>63</sup> Cu	250	0,0019	0,0245	0,0032	0,0047	0,011	0,0029	0,001	0,0016	0,0026	0,0007	0,0193	0,008	0,0098
<sup>75</sup> As	1,5	0,0003	0,0015	0,0001	0,0007	0,0131	0,0002	0,0002	0,0019	0,0164	0,0007	0,0026	0,0011	0,0009
<sup>78</sup> Se	-	0,0012	0,0123	0,001	0,0012	0,0134	0,0011	0,0008	0,0014	0,0109	0,0011	0,0013	0,0015	0,0015
<sup>108</sup> Pd	10	0,0001	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
<sup>111</sup> Cd	0,5	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
<sup>195</sup> Pt	10	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Hg	1,5	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
<sup>208</sup> Pb	1	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,0006	<LD	<LD

\*\*incerteza de 3%, \*Amostras que foram diluídas 1:100.

### 3.5 Análise orgânica por HPLC-DAD e HPLC-MS

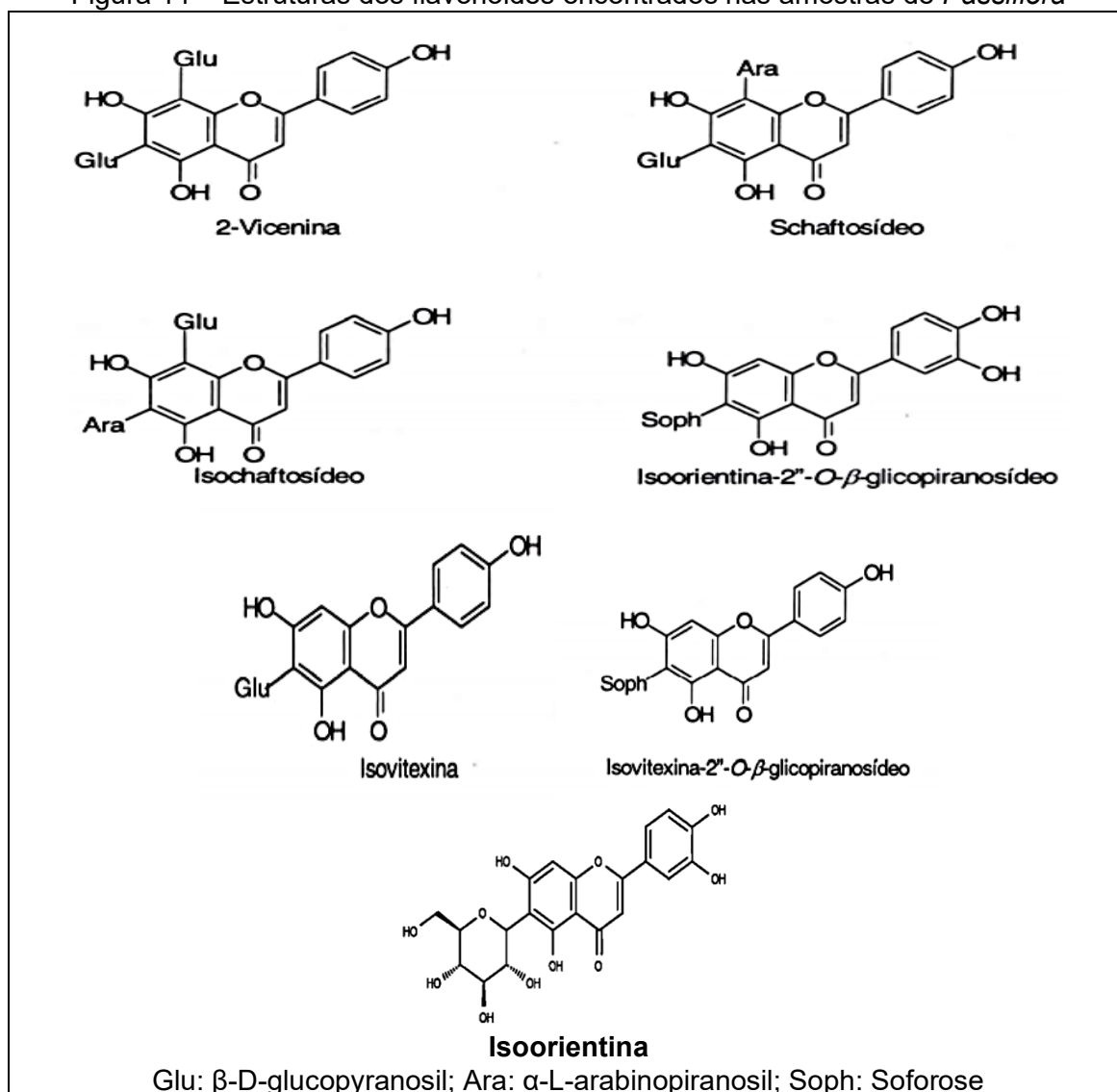
#### 3.5.1 *Passiflora incarnata*

A comparação dos cromatogramas obtidos para a *P. incarnata* mostrou que as amostras analisadas apresentaram compostos semelhantes, porém não foi identificado todos os compostos para todas as plantas. Os fitoterápicos dessa espécie foram analisados na HPLC-DAD em dois comprimentos de onda, de 254 nm e 320 nm.

Os constituintes encontrados na *Passiflora* por este estudo foram 2-Vicenina (TR = 4,74 min), Schaftosídeo (TR = 8,23 min), Isoschaftosídeo (TR = 8,47 min), Isoorientina-2"-O-β-glicopiranosídeo (TR = 6,64 min), Isoorientina (TR = 9,39 min), Isovitexina-2"-O-β-glicopiranosídeo (TR = 10,00 min) e Isovitexina (TR = 10,87 min), as estruturas podem ser verificadas na figura 14.



Figura 14 – Estruturas dos flavonoides encontrados nas amostras de *Passiflora*



Fonte: Adaptado de BRASIL, 2015

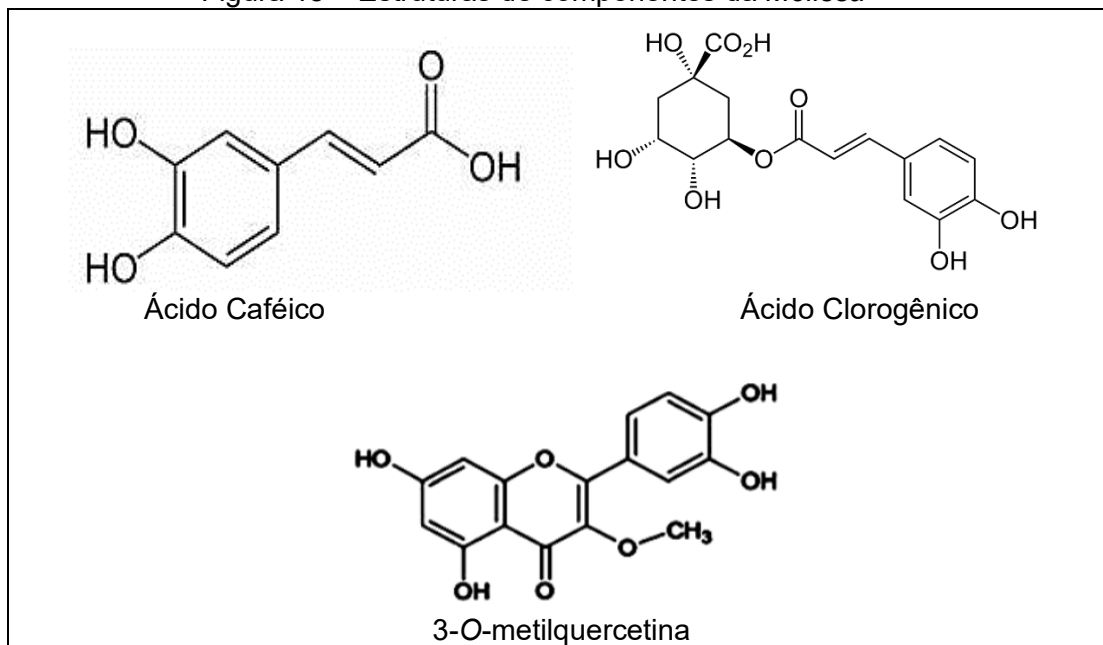
Eles são caracterizados como flavonoides do tipo C-glicosilados e podem ser considerados de grande relevância para a identificação da espécie. Esses flavonoides são polifenólicos e são encontrados em grandes quantidades na *Passiflora* (BRASIL, 2015).

### 3.5.2 *Melissa officinalis*

A caracterização da *Melissa* por meio da HPLC-DAD foi realizada com os comprimentos de onda de 254 e 320 nm, detectando-se os seguintes componentes de Ácido Caféico (TR = 9,16 min), Ácido Clorogênico (TR = 12,36

min) que são considerados marcadores químicos da espécie e os compostos fenólicos em  $m/z$  313  $[M-H]^-$  no modo negativo e  $m/z$  315  $[M+H]^+$  no modo positivo sugestivo da substância 3-O-metilquercetina (TR = 11,57 min) (RECHIA, 2010), figura 15.

Figura 15 – Estruturas de componentes da *Melissa*



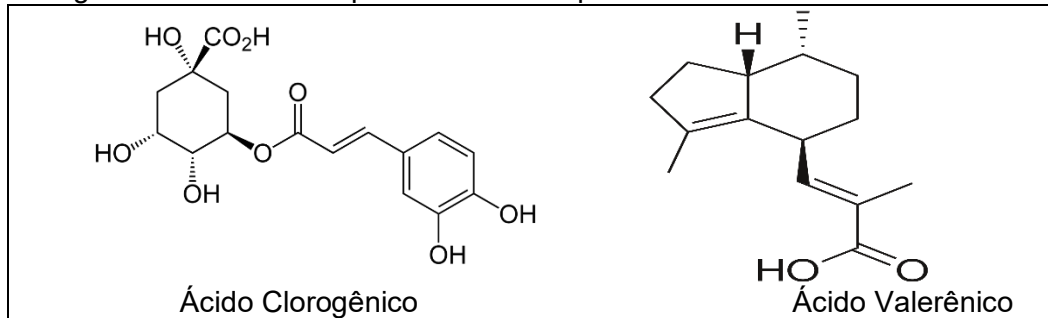
Fonte: RECHIA, 2010

Outros picos como o  $m/z$  163  $[M+H]^+$  no modo positivo, pico  $m/z$  537  $[M-H]^-$  no modo negativo e pico  $m/z$  441  $[M+H]^+$  no modo positivo foram observados, porém não foi possível identificar as respectivas substâncias.

### 3.5.3 *Valeriana officinalis*

Para a amostra de *Valeriana*, na HPLC-MS, na banda de absorção de 320 nm, determinou-se apenas dois picos, um composto fenólico de Ácido Clorogênico de  $m/z$  de 355  $[M-H]^-$  no modo negativo e  $m/z$  355  $[M+H]^+$  no modo positivo (TR = 8,02 min) e outro de Ácido Valerênico de  $m/z$  de 233  $[M-H]^-$  no modo negativo e  $m/z$  235  $[M+H]^+$  no modo positivo (TR = 21,42 min), considerado marcador da espécie (ANVISA, 2018), suas estruturas químicas podem ser verificadas na figura 16.

Figura 16 - Estruturas químicas dos compostos encontrados em *Valeriana*

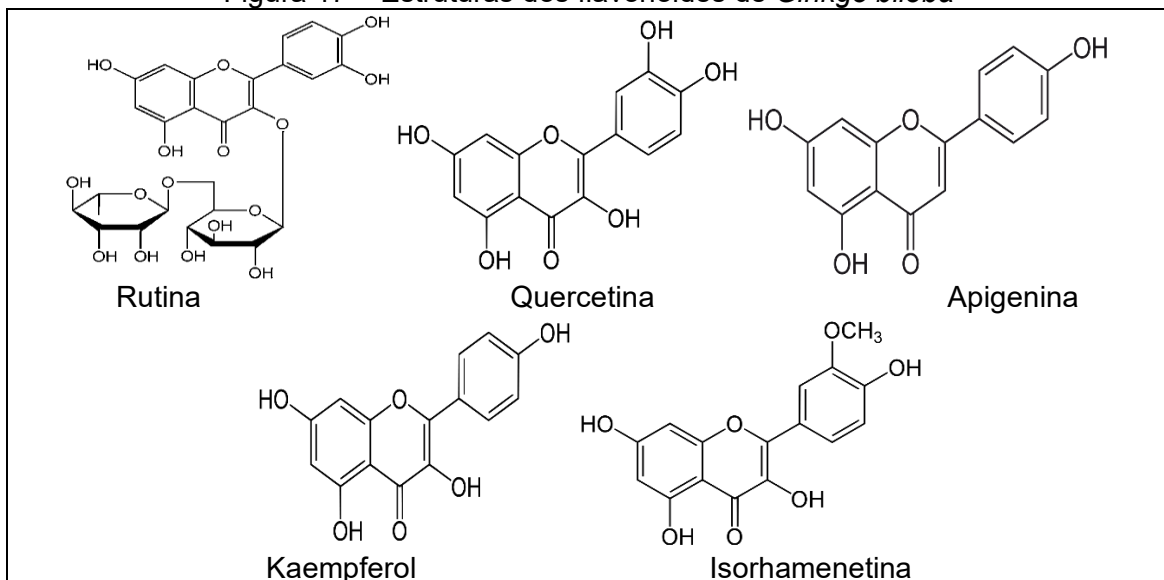


Fonte: RECHIA, 2010; PASSOS *et al.*, 2009

### 3.5.4 *Ginkgo biloba*

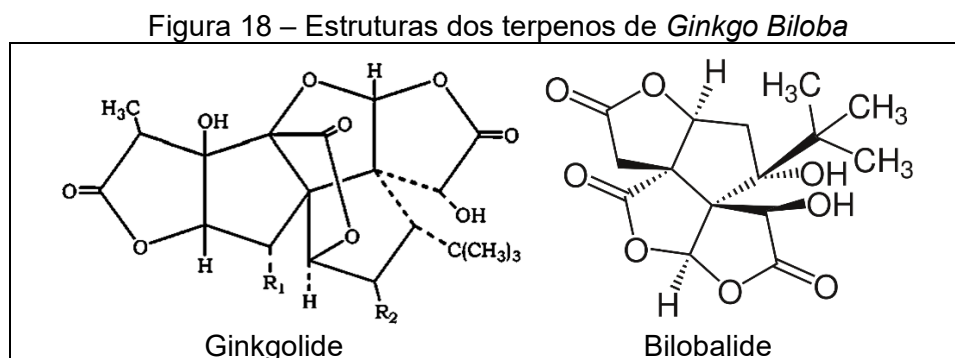
A impressão digital observada para a amostra de *Ginkgo biloba* diluída, por meio da HPLC-DAD com comprimento de onda de 320 nm, identificou os seguintes flavonas naturais de Rutina (TR = 9,20 min), Quercetina (TR = 12,40 min), Apigenina (TR = 13,47 min), Kaempferol (TR = 13,65 min), Isorhamnetina (TR = 13,88 min), como identificados na figura 17. Também foram encontrados flavonoides glicosilados com pico de m/z de 593 [M-H]<sup>-</sup> no modo negativo e m/z 595 [M+H]<sup>+</sup> no modo positivo (TR = 9,71 min), pico m/z 623 [M-H]<sup>-</sup> no modo negativo e m/z 625 [M+H]<sup>+</sup> no modo positivo (TR = 9,80 min), pico m/z 755 [M-H]<sup>-</sup> no modo negativo e m/z 757 [M+H]<sup>+</sup> no modo positivo (TR = 10,67 min) e pico m/z 739 [M-H]<sup>-</sup> no modo negativo e m/z 741 [M+H]<sup>+</sup> no modo positivo (TR = 11,17 min).

Figura 17 – Estruturas dos flavonoides de *Ginkgo biloba*



Fonte: DUBBER *et al.*, 2005

A amostra concentrada foi analisada na HPLC-MS para identificar um pico não determinado na HPLC-DAD e apresentou os compostos de Ginkgolide C (TR = 10,18 min) e Bilobalide (TR = 10.67 min) e a substância sugestiva de Ginkgolide J ou B (TR = 12,73 min), que mesmo com a varredura dos comprimentos de onda na HPLC-MS, não foi possível precisar esta substância. As estruturas químicas são mostradas na figura 18.

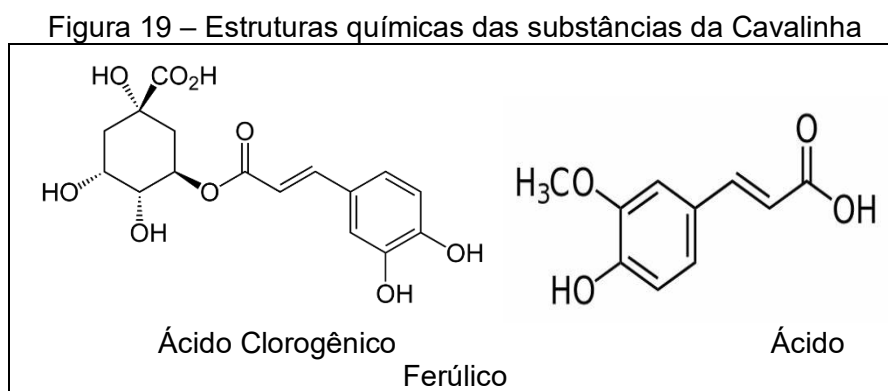


	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
Ginkgolide B	OH	H
Ginkgolide C	OH	OH
Ginkgolide J	H	OH

Fonte: CHEN; DING; LINDSAY, 2005

### 3.5.5 *Equisetum arvense*

A caracterização dos componentes encontrados na Cavalinha foi feita com comprimentos de onda de 254 e 320 nm, por meio da HPLC-DAD. Foram identificados na amostra Ácido Clorogênico (TR = 8,33 min) e Ácido Ferúlico (TR = 9,45 min), e suas estruturas químicas são mostradas na figura 19.



Fonte: RECHIA, 2010

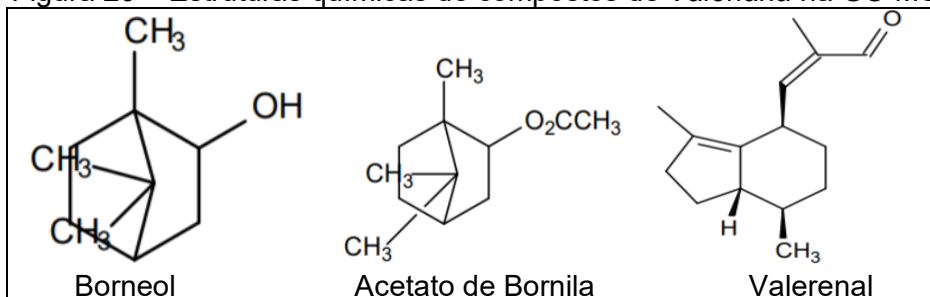
A análise também apresentou picos sugestivos para as substâncias: Kaempferol-3-O-sophoroside-7-O-glucoside em m/z de 771 [M-H]<sup>-</sup> no modo negativo e m/z 773 [M+H]<sup>+</sup> no modo positivo (TR = 6,10 min), Quercetina-tri-O-hexoside em m/z de 787 [M-H]<sup>-</sup> no modo negativo e m/z 789 [M+H]<sup>+</sup> no modo positivo (TR = 7,34 min) e Equisetumpyrone em m/z de 423 [M-H]<sup>-</sup> no modo negativo e m/z 425 [M+H]<sup>+</sup> no modo positivo (TR = 7,92 min) (FRANCESCATO *et al.*, 2013). Como os picos são sugestivos, não é possível assegurar a confiabilidade desse resultado, sendo assim, outra técnica, como a HPLC-MS, seria necessária para determinação correta e precisa das substâncias.

### 3.6 Compostos Orgânicos Encontrados na GC-MS

#### 3.6.1 *Valeriana officinalis*

Apenas o fitoterápico de *Valeriana* foi analisado na GC-MS. Com a análise foi possível detectar 12 componentes entre eles substâncias próprias da espécie como Ácido Isovalérico (TR = 5,24 min), Borneol (TR = 14,99 min) e o Acetato de Bornila (TR = 18,27 min), Paciforgiol (TR = 25,29 min), Espatulenol (TR = 26,45 min), Isoespatulenol (TR = 27,64 min), Valerenal (TR = 29,65 min) e o Acetato de valerênol (TR = 35,37 min). As estruturas químicas do Borneol, Acetato de Bornila e Valerenal são mostradas na figura 20.

Figura 20 – Estruturas químicas de compostos de *Valeriana* na GC-MS



Fonte: SILVA, 2009

Outras substâncias encontradas como Alloaromadendrene (TR = 23,29 min), BHT (Butilhidroxitolueno) (TR = 24,13 min) e Esqualeno (TR = 42,38 min) foram possivelmente adicionadas como substâncias conservantes/antioxidantes

e não fazem parte da composição química da planta *Valeriana officinalis* (PUBCHEM, 2006; RAMALHO; JORGE, 2006; WOBETO, 2007). Sendo assim, uma análise quantitativa desses compostos é necessária para melhor controle de qualidade desse fitoterápico.

Com tudo, por meio dessa técnica não foram encontrados nenhum contaminante, observou-se apenas a presença de conservantes. Entretanto, estudos posteriores são necessários para identificação e quantificação dos componentes.

## CAPÍTULO 4 – CONCLUSÃO

A elaboração deste estudo permitiu avaliar a qualidade de medicamentos fitoterápicos de *Passiflora incarnata*, *Maytenus ilicifolia*, *Melissa officinalis*, *Valeriana officinalis*, *Ginkgo biloba* e *Equisetum arvense* encontrados no comércio de Belo Horizonte por meio de parâmetros físicos, espectrográficos e cromatográficos.

A determinação de informações como a “Verificação dos Rótulos” e a “Determinação das Massas” permite analisar possíveis irregularidades do fabricante bem como identificar se este segue a legislação vigente. Dessa forma, de acordo com os dados encontrados, dos 30 fitoterápicos, apenas as amostras P2, P10, P12, P15 e P22 estão em conformidade quanto aos rótulos. E para a análise das massas, apenas as amostras P5, P11, P13, P15, P16, P22 e P25 estão dentro das normas estabelecidas.

A “Identificação do Custo das Amostras” visou apenas a comparação e determinação de qual fitoterápico/estabelecimento apresentava melhor preço. De acordo com os dados, o medicamento P25 apresentou o melhor preço comparado aos outros 24 fitoterápicos de *P. incarnata* adquiridos em lugares distintos.

A análise por HR-ICP-MS mostrou-se eficaz para determinar os possíveis elementos tóxicos nas amostras. Foram identificados alguns elementos/isótopos ( $^{51}\text{V}$ ,  $^{55}\text{Mn}$ ,  $^{63}\text{Cu}$ ,  $^{75}\text{As}$ ,  $^{78}\text{Se}$ ,  $^{108}\text{Pd}$ ,  $^{111}\text{Cd}$ ,  $^{195}\text{Pt}$ , Hg,  $^{208}\text{Pb}$ ) em quantidades traço. Todos os elementos encontrados estavam dentro dos padrões permitidos de acordo com as farmacopeias analisadas e a ANVISA.

As informações obtidas nas técnicas de HPLC-DAD e HPLC-MS para determinação de compostos orgânicos apresentaram apenas constituintes próprios das espécies analisadas (*Passiflora incarnata*, *Melissa officinalis*, *Valeriana officinalis*, *Ginkgo biloba* e *Equisetum arvense*), como flavonoides, sisquiterpenos e monoterpenos. Ao todo, foram identificadas 30 espécies químicas e 3 picos não determinados para a *Melissa*.

A aplicação da GC-MS para o fitoterápico de *Valeriana officinalis* identificou 11 substâncias químicas orgânicas, sendo 8 delas pertencentes ao gênero e outras 3 utilizadas como conservantes/antioxidantes, não são pertencentes a planta.

Medicamentos fitoterápicos tem sido cada vez mais utilizados pela população brasileira e o controle de qualidade deve acompanhar esse crescimento. Focando em medicamentos manipulados comprados em Belo Horizonte, não se encontrou indícios de riscos para o consumidor. Porém, testes complementares devem ser feitos para estudos em níveis de traços.

Por conseguinte, fica evidente a necessidade do controle dos fitoterápicos a fim de assegurar a qualidade dos medicamentos e consequente segurança para a população. Dessa forma, faz-se necessário as Boas Práticas de Fabricação, bem como o controle na produção e manejo dos insumos (plantas), e o uso de técnicas específicas para identificação de possíveis adulterantes/contaminantes no produto.

#### **4.1 Perspectivas Futuras**

Realizar uma pesquisa estabelecida de acordo com o Comitê de Ética sobre os principais fitoterápicos que a população das regiões de Belo Horizonte e região metropolitana mais consome para assim, incluir mais matrizes de medicamentos e consequente ampliação do campo geográfico de obtenção do produto.

É possível também realizar a comparação de amostras manipuladas x não manipuladas.

Avaliar os medicamentos por meio de técnicas de especiação química, possibilitando a quantificação de cada composto específico e suas formas mais nociva para a saúde.

Realizar a comparação dos resultados das técnicas analíticas com materiais de referência específicos para plantas medicinais e fitoterápicos.

Fazer simulações químicas do plantio para analisar as consequências do uso irresponsável de agrotóxicos na produção e, então, realizar a análise da toxicidade para o consumidor.

Realizar o aprofundamento da análise orgânica visando a identificação de possíveis contaminantes em nível de traços e ultra traços.

Além da quantificação de princípios ativos para assegurar a eficácia dos medicamentos.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABMBN- Associação Brasileira de Medicina Biomolecular e Nutrigenômica. VANÁDIO. Disponível em: <<http://www.medicinabiomolecular.com.br/biblioteca/pdfs/Intoxicacoes/intox-vanadio.pdf>>. Acesso em: 15 jul. 2020.

ALBERTON, M. D.; FALKENBERG, D. B.; FALKENBERG, M. B. Análise cromatográfica de fitoterápicos a base de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*). Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 12, p.11-13, 2002.

ALMEIDA, J. C.; CACURO, T. A. Selênio em uma perspectiva geral: aspectos ambientais e biológicos. Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento, [s.l.], v. 05, n. 10, p. 149-163, 6 out. 2019.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução – RDC N ° 17, de 24.02.2000.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução RDC nº 210, de 04.08.2003a.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução RDC nº 899, de 29.05.2003b.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução RDC nº 67, de 08.10.2007.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução – RDC N ° 10, de 09.03.2010a.

ANVISA - Agência Nacional De Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira. 5. ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária e Fundação Oswaldo Cruz, 2010b. 1 v. (ISBN 978-85-88233-41-6).

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução – RDC n ° 26, de 13.05.2014a.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução – RDC N ° 98, de 01.08.2016.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Consolidado de normas de registro e notificação de fitoterápicos. Brasília, 2018. 655 p.

ARDREY, R. E. Liquid chromatography-mass spectrometry: an introduction. Cambridge: John Wiley & Sons Ltd, 2003. 276 p. ISBN 0-471-49799-1.

AREVALO, R. Laser Ablation ICP-MS and Laser Fluorination GS-MS. Treatise on Geochemistry, v. 15, p. 425-441, 2014.

ATSDR - Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological Profile for Copper. Atlanta, p. 314, 2004.

BANSAL, V. *et al.* High-Performance Liquid Chromatography: A Short Review. Journal of Global Pharma Technology, [s. l.], v. 2, ed. 5, p. 22-26, 2010.

BARRA, C. M. *et al.* Especificação de Arsênio - uma revisão. Química Nova, [s.l.], v. 23, n. 1, p. 58-70, fev. 2000.

BELTRAME, A. C. F. Proposta De Obtenção De Metalofármacos De Paládio (II) Utilizando Tiossemicarbazonas Derivadas Do Limoneno. 2017. 66 f. TCC (Graduação) - Curso de Licenciatura em Química, Departamento Acadêmico de Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2017.

BLUMENTHAL, M. *et al.* Herbal Medicine: Expanded Commission E Monographs. Newton, Mass: Integrative Medicine Communications, 2000. p. 208-2011 In: FRANCESCATO, L. N. *Equisetum giganteum* L.: parâmetros de controle de qualidade, análise química e desenvolvimento de extrato seco por spray drying. 2012. 247 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

BOSSO, S. T.; ENZWEILER, J. Ensaios para determinar a (Bio)disponibilidade de chumbo em solos contaminados: revisão. Química Nova, v. 31, n. 2, p.394-400, 2008.

BRASIL. Lei nº 9.782, de 26 de janeiro de 1999. Define o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária, cria a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, e dá outras providências. Diário Oficial da União: Poder Legislativo, Brasília, DF, n. 3029, pp. 1-10, 27 jan. 1999.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. A fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisa de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos. Brasília, p. 148, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde e ANVISA. Monografia da Espécie *Passiflora Incarnata* Linnaeus (Maracujá-Vermelho). Brasília: Ministério da Saúde, 2015. 85 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. Brasília: Ministério da Saúde, p. 190, 2016.

BRITISH HERBAL PHARMACOPOEIA (BHP). British Herbal Medicine Association, Bournemouth, U.K., p. 212, 1996.

BRITISH PHARMACOPOEIA 2011. Volume IV. Herbal Drugs. British Pharmacopoeia Commission Secretariat, London: The Stationary Office, 2011.

BUSTILLOS, O. V. A cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas – GC/MS. Revista Analytica, [s. l.], ano 18, ed. 105, p. 28-30, 30 mar. 2020a. Disponível em: <https://revistaanalytica.com.br/a-cromatografia-a-gas-acoplada-a-espectrometria-de-massas-gc-ms/>. Acesso em: 30 jun. 2020.

BUSTILLOS, O. V. A Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria de Massas em Tandem HPLC-MS/MS. Revista Analytica, [s. l.], ano 18, ed. 106, p. 34-35, 30 abr. 2020b. Disponível em: <https://revistaanalytica.com.br/a-cromatografia-a-gas-acoplada-a-espectrometria-de-massas-gc-ms/>. Acesso em: 30 jun. 2020.

CAMPOS, V. Comportamento Químico de Arsênio, Fósforo e Metais Pesados (Cromo, Cobre, Chumbo e Mercúrio) em Solo Expostos a Cultivares Frutíferos, Municípios de Jundiá, São Paulo. 2001. 143 f. Tese (Doutorado) - Curso de Recursos Minerais e Hidrogeologia, Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

CARNAÚBA, V. Manganês: um risco invisível. 06. ed. São Paulo: Portal da Universidade Federal de São Paulo, 2014. Disponível em: <<https://www.unifesp.br/reitoria/dci/edicoes-antiores-entreteses/item/2217-manganes-um-risco-invisivel>>. Acesso em: 15 jul. 2020.

CARVALHO-OKANO, R. M. Estudos Taxonômicos do Gênero *Maytenus* MOL. emend. Mol. (Celastraceae) do Brasil Extra-Amazônico. 1992. 253 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1992.

CELINE. Difference Between GC-MS and LC-MS. [S. l.], 30 jun. 2017. Disponível em: <<http://www.differencebetween.net/science/difference-between-gc-ms-and-lc-ms/>>. Acesso em: 4 jul. 2020.

CHEN, E.; DING, C.; LINDSAY, R. C. Qualitative and Quantitative Analyses of Ginkgo Terpene Trilactones by Liquid Chromatography/Sonic Spray Ionization Ion Trap Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, [S.L.], v. 77, n. 9, p. 2966-2970, maio 2005.

CIMRS – Centro de Informações de Medicamentos do RS. GINCO: (*Ginkgo biloba* L). 2007. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/boletimcimrs/Ginco.pdf>>. Acesso em: 09 ago. 2019.

CM – Cultura Mix. Cavalinha. Disponível em: <<https://flores.culturamix.com/dicas/cavalinha>>. Acesso em: 25 de Nov. 2019

COHEN, A. J.; BARTLIK, B. *Ginkgo biloba* for antidepressant-induced sexual dysfunction. *Journal of Sex & Marital Therapy*, [s.l.], v. 24, n. 2, p.139-143, abr. 1998.

COUTO, M. E. O. Coleção de plantas medicinais aromáticas e Condimentares, Embrapa, Pelotas, RS, Documento 157, 2006, 91p.

DCTECH. Problemas na bomba, no injetor ou no detector HPLC: como identifica-los e resolvê-los. 2018. Disponível em: <<https://www.dctech.com.br/problemas-na-bomba-no-injetor-ou-no-detector-hplc-como-identifica-los-e-resolve-los/>>. Acesso em: 16 jun. 2020.

DÍEZ, L. M. P. Fundamentos de Cromatografía. Madrid: Dextra, 2015. 412 p. ISBN 978-84-16277-58-2.

DONATI, G. L. Avaliação da Viabilidade de Determinação de Cobalto e Cromo em Alimentos por Espectrometria de Absorção Atômica com Forno Tubular na Chama e Aerossol Térmico (TS - FF- AAS). 2006. 99 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências, Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2006.

DUBBER, M. J. *et al.* The simultaneous determination of selected flavonol glycosides and aglycones in Ginkgo biloba oral dosage forms by high-performance liquid chromatography–electrospray ionisation–mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 37, n. 4, p. 723-731, abr. 2005.

EMEA - EUROPEAN MEDICINE AGENCY. Evaluation of Medicines for Human Use. Assessment Report on *Passiflora incarnata*, Herba. London, U.K., 2008.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Coleção Plantar: A Cultura do Maracujá. 3. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. 124 p. (ISBN 85-7383-374-2).

ESCOP – Europeia Scientific Cooperative Phytotherapy. *Passiflorae herba*. Monographs on the Medicinal Uses of Plant Drugs. Exeter, U.K.: European Scientific Cooperative on Phytotherapy, 1997.

ESHAGHI, Z. Photodiode Array Detection in Clinical Applications; Quantitative Analyte Assay Advantages, Limitations and Disadvantages. *Photodiodes - Communications, Bio-Sensings, Measurements and High-Energy Physics*, Tehran, p. 161-182, 6 set. 2011.

EUROPEAN PHARMACOPEIA. Strasburg, Council of Europe, 2000. Supplement 3<sup>th</sup> edition, 2001.

EUROPEAN PHARMACOPEIA. 5 ed. Strasbourg: European department for the Quality of Medicines, 2005.

EXOTIC SEEDS STORE. Disponível em: <<https://www.exotic-seeds.store/en/home/maypop-purple-passionflower-seeds-passiflora-incarnata.html>>. Acesso em 11 jun. 2019.

FACCI, J. *et al.* Evolução da Legislação e das Técnicas Analíticas Aplicadas a Estudos de Estabilidade de Insumos e Produtos Farmacêuticos. *Química Nova*, [S.L.], v. XY, n. 00, p. 1-15, jun. 2020. Sociedade Brasileira de Química (SBQ).

FAQUIN, V. *Nutrição Mineral de Plantas*. 2005. 186 p. Curso de Pós-Graduação “Lato Sensu” (Especialização) (Solos e Meio Ambiente) - Universidade Federal de Lavras, [S. l.], 2005.

FARMACOPEIA ESPANHOLA. 2. ed., suplemento 2.1. 2002.

FERNANDES, T. M. Boticas, indústrias farmacêuticas e grupos de pesquisa em plantas medicinais: origens no Brasil. In: *Plantas medicinais: memória da ciência no Brasil* [online]. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2004, pp. 27-76. ISBN 978-85-7541-348-7.

FERNANDES, L. H.; MAINIER, F. B. Os Riscos da Exposição Ocupacional ao Cádmio. *Revista Eletrônica Sistemas & Gestão*, Niterói, v. 9, n. 2, p.194-199, 2014.

FERREIRA, R. C. H.; APPEL, L. E. *Fontes e Usos do Mercúrio no Brasil*. Rio de Janeiro: Cetem • Centro de Tecnologia Mineral, 1991. 32 p. (ISSN - 0103 - 6319).

FLORIEN. *Passiflora incarnata*. Disponível em: <<http://florien.com.br/wp-content/uploads/2018/02/PASSIFLORA-INCARNATA-1.pdf>>. Acesso em: 15 ago. 2019.

FORLENZA, O. V. *Ginkgo biloba* e memória: mito ou realidade? *Archives Of Clinical Psychiatry* (São Paulo), v. 30, n. 6, p.218-220, 2003.

FRANCESCATO, L. N. *Equisetum giganteum* L.: parâmetros de controle de qualidade, análise química e desenvolvimento de extrato seco por spray drying. 2012. 247 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

FRANCESCATO, Leandro N. *et al.* Identification of phenolic compounds in *Equisetum giganteum* by LC–ESI-MS/MS and a new approach to total flavonoid quantification. *Talanta*, v. 105, p. 192-203, fev. 2013.

FRANCO, M. J. *et al.* Determinação de Metais em Plantas Medicinais Comercializadas na Região de Umuarama - PR. Arquivos de Ciências da Saúde da Unipar, Umuarama, v. 152, p.121-127, ago. 2011.

FSC – Farmácia Sara Cura. Disponível em: <<http://farmaciasaracura.com.br/produto/3807/>>. Acesso em: 25 de nov. 2019.

GHAZI, A. Mohamad. Applications of Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (La-ICP-MS) In Environmental Forensic Studies. Introduction To Environmental Forensics, p. 637-669, 2007.

GONÇALVES, S; MARTINS, A. P. *Valeriana Officinalis*. Rev. Lusófona de Ciências e Tecnologias da Saúde, Lisboa, v. 2, n. 3, p.209-222, nov. 2006. Disponível em: <<http://revistasaude.ulusofona.pt>>. Acesso em: 24 nov. 2019.

GONZÁLEZ, A. G.; HERRADOR, M. Á. A practical guide to analytical method validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles. Trends in Analytical Chemistry, [s. l.], v. 26, ed. 3, p. 227-238, 2007.

GREENME. Melissa ou erva-cidreira: fácil de você cultivar, em vasos ou jardins. Redação Green Me, jun. 2016. Disponível em: <<https://www.greenme.com.br/como-plantar/3634-erva-cidreira-melissa-cultivar-vasos-jardim/>>. Acesso em: 31 maio 2020.

GUIMARÃES, S. *et al.* Potencial de preparados de cavalinha (*Equisetum sp.*) na síntese de metabólitos de defesa em cotilédones de soja (*Glycine max L.*) e o efeito sobre o crescimento de *Rhizoctonia solani* Kuhn, in vitro. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v. 17, n. 1, p.143-149, mar. 2015.

GUPTA, R. K. *et al.* Antidiabetic activity of *Passiflora incarnata* Linn. in streptozotocin-induced diabetes in mice. Journal of Ethnopharmacology, [s.l.], v. 139, n. 3, p.801-806, fev. 2012.

HAMILTON, S. J. Review of selenium toxicity in the aquatic food chain. Science of The Total Environment, [s.l.], v. 326, n. 1-3, p. 1-31, jun. 2004.

HOFFMANN, E.; STROOBANT, V. Mass Spectrometry: Principles and Applications. 3 ed. [S. l.]: Wiley, 2007. 502 p. ISBN 978-0-470-03310-4.

HÜBSCHMANN, H. J. Handbook of GC-MS: Fundamentals and Applications. 3. ed. [S. l.]: John Wiley & Sons, 2015. 880 p. ISBN 3527334742.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Projeção de população do Brasil por sexo e idade – 1980-2050 – Revisão 2008. Diretoria de Pesquisa. Coordenação de População e Indicadores Sociais. Rio de Janeiro: IBGE, 2008.

JOSEPH, M. Application of Multicomponent Analysis to HPLC Diode Array Detection for the Quantitation of Partially Resolved Peaks. Agilent technologies, v. 11. s/ a.

JUNIOR, V. F. V.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas Medicinais: Cura Segura? Química Nova, v. 28, p. 519-528, 2005.

KLEIJNEN, J.; KNIPSCHILD, P. *Ginkgo biloba* for cerebral insufficiency. British Journal of Clinical Pharmacology, v. 34, n. 4, p.352-358, out. 1992.

KLIMACZEWSKI, C. V. Estudos *in vitro* e de modelagem molecular *in silico* aplicados à interação entre a enzima delta-aminolevulinato desidratase e metais do grupo 10 (Níquel, Paládio e Platina) e 11 (Cobre, Prata e Ouro) da Tabela Periódica. 2014. 75 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Biológicas, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2014.

LANÇAS, F. M. A Cromatografia Líquida Moderna e a Espectrometria de Massas: finalmente “compatíveis”? Scientia Chromatographica, [s. l.], v. 1, ed. 2, p. 35-61, 2009.

LI, S. *et al.* *Ginkgo biloba* extract improved cognitive and neurological functions of acute ischaemic stroke: a randomised controlled trial. Stroke and Vascular Neurology, v. 2, n. 4, p.189-197, dez. 2017.

LIMA, R. K.; CARDOSO, M. G. Família Lamiaceae: Importantes Óleos Essenciais com Ação Biológica e Antioxidante. Revista Fitos, Lavras, v. 3, n. 3, p.14-24, set. 2007.

LONDRINA, Prefeitura de. FITOTERAPIA: VALERIANA - Valeriana officinalis. Disponível em:  
<[http://www1.londrina.pr.gov.br/dados/images/stories/Storage/sec\\_saude/fitoterapia/publicacoes/valeriana.pdf](http://www1.londrina.pr.gov.br/dados/images/stories/Storage/sec_saude/fitoterapia/publicacoes/valeriana.pdf)>. Acesso em: 22 Nov. 2019.



LUNARDI, M. P. M.; SCHIFINO-WITTMANN, M. T.; BARROS, I. B. I. Chromosome Number Variability in the South American Medicinal Plant *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss (Celastraceae). *Cytologia*, v. 69, n. 4, p.439-445, 2004.

MAIGA, A. *et al.* Determination of Some Toxic and Essential Metal Ions in Medicinal and Edible Plants from Mali. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 53, n. 6, p.2316-2321, mar. 2005. American Chemical Society (ACS).

MACHADO, L. L. Cadmio, Chumbo e Mercúrio em Medicamentos Fitoterápicos. 2001. 160 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2001.

MAGALHÃES, P. M. Agrotecnologia para o cultivo da Espinheira Santa. 2002. Disponível em: <<https://www.cpqba.unicamp.br/plmed/artigos/agroespsant.htm>>. Acesso em: 25 nov. 2019.

MARINHO, M. L. *et al.* A utilização de plantas medicinais em medicina veterinária: um resgate do saber popular. *Revista Brasileira de Plantas Médicas*, v. 9, n. 3, p. 64-69, 2007.

MAY, T. W.; WIEDMEYER, R. H. The CETAC ADX-500 Autodiluter System: A Study of Dilution Performance with the ELAN 6000 ICP-MS and ELAN Software. *Atomic Spectroscopy*, Columbia, v. 19, n. 5, p.143-149, out. 1998. ISSN 0195-5373.

MBF – MUNDO BOA FORMA. Espinheira Santa Emagrece Mesmo? Disponível em: <<https://www.mundoboaforma.com.br/espinheira-santa-emagrece-mesmo/>>. Acesso em: 02 abr. 2019.

MEIRA, M. R.; SOUZA, S. A. M.; MARTINS, E. R. Plantas Medicinais, Produção e Cultivo da *Melissa Officinalis* no Brasil. 2010. Disponível em: <<http://www.conhecer.org.br/enciclop/2010b/plantas.pdf>>. Acesso em: 20 nov. 2019.

MELLO, M.; BUDEL, J. M. EQUISETUM L. (EQUISETACEAE): UMA REVISÃO. *Cadernos da Escola de Saúde*, ISSN 1984-7041. Disponível em: <<http://www.gege.agrarias.ufpr.br/plantastoxic/arquivos/equisetum%20giganteum.pdf>>. Acesso em: 20 Nov. 2019.

MERCK. Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos. São Paulo: Merck Chemicals, 2017. 22 p.

MESJASZ-PRZYBYLOWICZ, J.; PRZYBYLOWICZ, W. J. Micro-PIXE in plant sciences: Present status and perspectives. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B, v. 189, p. 470 – 481, 2002.

MICARONI, R. C. C. M.; BUENO, M. I. M. S.; JARDIM, W. F. Compostos de Mercúrio. Revisão de Métodos de Determinação, Tratamento e Descarte. Química Nova, Campinas, v. 23, n. 4, p. 487-495, 11 fev. 2000.

MIMICA-DUKIC, N. *et al.* Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) Essential Oil. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 52, n. 9, p.2485-2489, maio 2004.

MONTE, C. Fitos e Interfaces. T&C Amazônia, Ano V, n. 11, junho de 2007.

MOREIRA, M. F. Toxicidade dos Metais “Cádmio”. Disponível em: <[http://www.inmetro.gov.br/painelsetorial/palestras/Efeitos-toxicol%C3%B3gicos-dos-metais-c%C3%A1dmio-e-chumbo\\_Dra-Maria-de-F%C3%A1tima.pdf](http://www.inmetro.gov.br/painelsetorial/palestras/Efeitos-toxicol%C3%B3gicos-dos-metais-c%C3%A1dmio-e-chumbo_Dra-Maria-de-F%C3%A1tima.pdf)>. Acesso em: 10 out. 2019.

MÜZELL, D. P. Propriedades Biológicas de Extratos de *Melissa Officinalis* L. (Lamiaceae) Em Ratos Wistar. 2006. 70 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biologia Celular e Molecular, Faculdade de Biociências da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

NETO, R. A. B. Intoxicação por Arsênico. 2018. Disponível em: <[http://www.medicinanet.com.br/conteudos/revisoes/7654/intoxicacao\\_por\\_arsenico.htm](http://www.medicinanet.com.br/conteudos/revisoes/7654/intoxicacao_por_arsenico.htm)>. Acesso em: 20 nov. 2019.

NUNES, J. A. Desenvolvimento de método para determinação de Ag, As, Cd, Co, Mn, Ni, Pb e Se em sangue por espectrometria de massas com fonte de plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) utilizando diluição das amostras em meio alcalino. 2009. 77 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Toxicologia, Universidade São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

OMS – Organização Mundial da Saúde. Instruções operacionais: informações necessárias para a condução de ensaios clínicos com fitoterápicos. Brasília: Ministério da Saúde, 2008.

O'MALLEY, G. F.; O'MALLEY, R. Intoxicação por chumbo: Plumbismo. 2018. Disponível em: <<https://www.msmanuals.com/pt-br/profissional/les%C3%B5es-intoxica%C3%A7%C3%A3o/intoxica%C3%A7%C3%A3o/intoxica%C3%A7%C3%A3o-por-chumbo?query=Intoxica%C3%A7%C3%A3o%20por%20chumbo>>. Acesso em: 19 nov. 2019.

PASSOS, C. S. *et al.* Terpenóides com atividade sobre o Sistema Nervoso Central (SNC). Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 19, n. 1, p. 140-149, mar. 2009.

PAULA, P. H. M.; GIODA, A. Determinação de metais por ICP-MS e ICP OES em diferentes matrizes ambientais. 2013. 11 p. Relatório de Iniciação Científica (Graduação em Química) - Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, 2013. Disponível em: <[https://www.puc-rio.br/pibic/relatorio\\_resumo2013/relatorios\\_pdf/ctc/QUI/QUI-Pedro%20Henrique%20Magacho%20de%20Paula.pdf](https://www.puc-rio.br/pibic/relatorio_resumo2013/relatorios_pdf/ctc/QUI/QUI-Pedro%20Henrique%20Magacho%20de%20Paula.pdf)>. Acesso em: 13 fev. 2019.

PEDMED. *Ginkgo biloba* reduz a perda cognitiva após um AVC? Disponível em: <<https://pebmed.com.br/ginkgo-biloba-reduz-a-perda-cognitiva-apos-um-avc/>>. Acesso em: 25 nov. 2019.

PEREIRA, C. A. M.; VILEGAS, J. H. Y. Constituintes químicos e farmacológicos do gênero *Passiflora* com ênfase a *P. alata Dryander*, *P. edulis Sims* e *P. incarnata*. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Botucatu, v. 3, n. 1, p.1-12, ago. 2000.

PEREIRA, S. M. T. O Uso Medicinal da *Passiflora incarnata* L. 2014. 25 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade de Coimbra, Coimbra, 2014.

PHARMACOPÉE FRANÇAISE, 10<sup>a</sup> ed. Paris: Ministère de La Santé, 2007.

PHARMACOPOEIA HELVETICA. Berne, Eidgenössische, 7<sup>th</sup> edition, v.1, 1987.

PONTES, F L D. Desenvolvimento e Validação de Método por LC-MS/MS para Determinação Multirresíduos de Fármacos em Ovos. 2015. 241 p. Tese (Doutorado em

Ciências Farmacêuticas) - Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2015.

PRAGST, F.; HERZLER, M.; ERXLEBEN, B. Systematic toxicological analysis by high-performance liquid chromatography with diode array detection (HPLC-DAD). *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, New York, v. 42, ed. 11, p. 1325–1340, 2004.

PUBCHEM - National Library of Medicine. (-) - Alloaromadendrene. 2006. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Alloaromadendrene>. Acesso em: 31 jul. 2020.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. *Química Nova*, v. 29, n. 4, p. 755-760, jul. 2006.

RECHIA, L. M. Desenvolvimento e Avaliação da Estabilidade de Gel a Base de Extrato de *Melissa Officinalis* L. 2010. 128 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Farmacêutica, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

REYES, A. E. L. Gimnospermas: Ginkgo. Disponível em: <http://www.esalq.usp.br/trilhas/gim/gim06.php>. Acesso em: 20 nov. 2019.

ROCHA, A. F. “Cádmio, Chumbo, Mercúrio – A problemática destes metais pesados na Saúde Pública?” 2009. 63 f. TCC (Graduação) - Curso de Ciências da Nutrição, Universidade do Porto, Porto, 2009.

RODRIGUES, E.; CARLINI, E. A. A importância dos levantamentos etnofarmacológicos no desenvolvimento de fitomedicamentos. *Revista Racine*, v.70, p.30-5, 2002.

SAKUMA, A. M. Avaliação da Exposição Humana ao Arsênio no Alto Vale do Ribeira, Brasil. 2004. 196 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-graduação em Saúde Coletiva, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

SEED – Secretaria da Educação. Biodiversidade - Fontes de Pesquisa. 2013. Disponível em: <http://www.biologia.seed.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=117> >. Acesso em: 09 nov. 2019.

SILVA, A. L. Análise Química de Espécies de Valeriana Brasileiras. 2009. 205 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. Principios de Análisis Instrumental. 5. ed. Madrid: Concepción Fernández Madrid, 2001. p. 1024.

SKOOG, D. A. *et al.* Fundamentos de Química Analítica. 8. ed. Thomson, 2006. 1026 p.

SODRÉ, A. C. B. *et al.* Adubação orgânica e mineral em melissa. Horticultura Brasileira, v. 31, n. 1, p.147-152, mar. 2013.

SOUSA, A. C. *et al.* *Melissa officinalis* L. essential oil: antitumoral and antioxidant activities. Journal of Pharmacy and Pharmacology, [s.l.], v. 56, n. 5, p.677-681, maio 2004.

SPERLING, E. V. Considerações Sobre o Problema do Arsênio em Águas de Abastecimento. In: Simpósio Ítalo Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2002, Vitória. Simpósio. Vitória: ABES - Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2002. p. 1 - 3.

TAVARES, T. M.; CARVALHO, F. M. Avaliação de Exposição de Populações Humanas a Metais Pesados no Ambiente: Exemplos do Recôncavo Baiano. Química Nova, Bahia, v. 15, n. 2, p.147-154, 1992.

TINÔCO, A. A. P. *et al.* Avaliação de contaminação por mercúrio em Descoberto, MG. 4. ed. Viçosa: Eng. Sanit. Ambient., p. 10, 2010.

THOMAS, R. Practical Guide to ICP-MS. New York: Marcel Dekker, 2004. 324 p. (ISBN: 0-8247-5319-4).

TOKALĐOĐLU, Ş. Determination of trace elements in commonly consumed medicinal herbs by ICP-MS and multivariate analysis. Food Chemistry, [s.l.], v. 134, n. 4, p.2504-2508, out. 2012.

TUROLLA, M. S. R.; NASCIMENTO, E. S. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, São Paulo, Vol. 42, n. 2, pp. 289-306, abr./jun. (2006).

ULMER, T., MACDOUGAL, J. M., 2004. *Passiflora: Passionflowers of the World*. Timber Press, Portland In: WOSCH, L. *et al.* Comparative study of *Passiflora taxa* leaves: II. A chromatographic profile. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 27, n. 1, p.40-49, jan. 2017.

VIOLANTE, N. *et al.* Assessment of workers' exposure to palladium in a catalyst production plant. *Journal of Environmental Monitoring*, [s.l.], v. 7, n. 5, p. 463, 2005. Royal Society of Chemistry (RSC).

WHO – World Health Organization. *Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials*. Genebra, 1998.

WHO – World Health Organization. *General guidelines for methodologies on research and evaluation of traditional medicine*. Genebra, 2000.

WHO – World Health Organization. *The importance of pharmacovigilance - Safety monitoring of medicinal products*. Genebra, 2002.

WHO – World Health Organization. *WHO guidelines on good agricultural and collection practices (GACP) for medicinal plants*. Genebra, 2003.

WHO - World Health Organization. *Monographs on selected medicinal plants*, 2007a.

WHO - World Health Organization. *WHO guidelines for assessing quality of herbal medicines with reference to contaminants and residues*. Genebra, 2007b.

WINDMÖLLER, C. C. *et al.* Distribuição e especiação de mercúrio em sedimentos de áreas de garimpo de ouro do quadrilátero ferrífero (MG). *Química Nova*, [s.l.], v. 30, n. 5, p.1088-1094, out. 2007.

WOBETO, Carmen. *Extração de squaleno do destilado da desodorização do óleo de soja modificado utilizando dióxido de carbono supercrítico*. 2007. 85 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.

YOTOKO, K. S. C. *et al.* Does Variation in Genome Sizes Reflect Adaptive or Neutral Processes? New Clues from Passiflora. Plos One, [s.l.], v. 6, n. 3, p.1-8, 28 Mar. 2011.

ZERAIK, M. L. *et al.* Maracujá: um alimento funcional? Brazilian Journal Of Pharmacognosy, São Paulo, v. 20, n. 3, p.459-471, 31 Mar. 2010. ISSN 0102-695X.