

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
CAMPUS GOVERNADOR VALADARES
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA VIDA
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA

Isabella Figueredo de Souza

**ANÁLISE EXPLORATÓRIA DE UM FITOTERÁPICO PARA IDENTIFICAÇÃO DE
POSSÍVEIS ADULTERANTES**

Governador Valadares

2024

Isabella Figueredo de Souza

ANÁLISE EXPLORATÓRIA DE UM FITOTERÁPICO PARA IDENTIFICAÇÃO DE POSSÍVEIS ADULTERANTES

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora – *Campus* Governador Valadares, como requisito parcial para a conclusão do curso Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Karen Luise Lang

Coorientador: Prof. Dr. João Eustáquio Antunes

Governador Valadares

2024

Isabella Figueredo de Souza

ANÁLISE EXPLORATÓRIA DE UM FITOTERÁPICO PARA IDENTIFICAÇÃO DE POSSÍVEIS ADULTERANTES

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora – *Campus* Governador Valadares como requisito parcial à obtenção do título de bacharel em Farmácia

Aprovado em 28 de agosto de 2024

Professor Dr. João Eustáquio Antunes - Orientador

Universidade Federal de Juiz de Fora – *Campus* Governador Valadares

Professora Dr.^a Andréia Peraro do Nascimento

Universidade Federal de Juiz de Fora – *Campus* Governador Valadares

Professor Dr. Wesley William Gonçalves Nascimento

Universidade Federal de Juiz de Fora – *Campus* Governador Valadares

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a **Deus** por me dar força e esperança nos momentos mais difíceis e por me ajudar a concluir mais esse desafio.

Aos meus pais, **Robson e Wagner**, que sempre me apoiaram incondicionalmente, sem eles nada disso seria possível.

A minha família, em especial aos meus irmãos **Felipe e Lucas** e a minha tia **Marialva**, por me proporcionar todo o suporte necessário e por sempre acreditarem em mim.

Aos meus amigos que sempre estiveram do meu lado e tornaram as coisas mais leves.

Aos meus colegas de laboratório, **Augusto** e Mestre **Vanessa**, pela companhia e por toda a ajuda.

A minha orientadora Professora Doutora **Karen** por ter me ensinado tanto e ao meu coorientador Professor Doutor **João** por ter embarcado nessa jornada.

RESUMO

Fitoterápicos são produtos derivados de matéria-prima vegetal, exceto substâncias isoladas, com intuito profilático, curativo ou paliativo. Englobam tanto medicamentos fitoterápicos quanto produtos tradicionais fitoterápicos. Podem ser classificados como simples (ativo de uma única espécie vegetal medicinal) ou como compostos (ativos oriundos de mais de uma espécie vegetal). Esses produtos são frequentemente alvos de adulteração no mercado brasileiro, devido à sua popularidade e a percepção generalizada de que produtos naturais, por serem “naturais”, não oferecem risco à saúde. Diversos estudos têm mostrado a presença de adulteração em fitoterápicos. Neste trabalho analisou-se o produto vendido como fitoterápico “Saúde Total”, para identificação de possíveis adulterantes, especialmente fármacos não declarados. Para isso realizou-se diversas análises e técnicas para isolar os possíveis adulterantes e posteriormente identificá-los. Ao realizar as análises na amostra referente ao produto “Saúde Total” foi identificado o fármaco anti-inflamatório não esteroide ibuprofeno, essa identificação pode sugerir uma possível adulteração do produto. Uma vez comprovada tal adulteração, isso permite haver discussões a respeito do uso de medicamentos falsificados e seus riscos. Portanto, esse tipo de análise é fundamental para chamar atenção para esse problema de saúde pública que ainda persiste no Brasil e para minimizar esse risco uma melhor fiscalização por parte dos órgãos responsáveis se faz necessária.

Palavras-chave: falsificação; fitoterápicos; fármacos não declarados; métodos analíticos.

ABSTRACT

Herbal medicines are products derived from plant-based raw materials, excluding isolated substances, with prophylactic, curative, or palliative purposes. They include both herbal medicines and traditional herbal products. These products can be classified as simple (active ingredient from a single medicinal plant species) or compound (active ingredients from more than one plant species). These products are frequently targeted for adulteration in the Brazilian market due to their popularity and the widespread perception that natural products, being "natural," pose no health risks. Several studies have shown the presence of adulteration in herbal medicines. In this study, the product sold as the herbal medicine "Saúde Total" was analyzed for the identification of possible adulterants, especially undeclared pharmaceuticals. Various analyses and techniques were carried out to isolate and subsequently identify the possible adulterants. Upon performing the proposed analyses, the non-steroidal anti-inflammatory drug Ibuprofen was identified in the sample related to the "Saúde Total" product, this identification may suggest possible adulteration of the product. Once this adulteration is proven, it opens the door for discussions regarding the use of counterfeit medicines and their risks. Therefore, this type of analysis is crucial to bring attention to this public health issue that persists in Brazil, and to minimize this risk, better regulation by the responsible authorities is necessary.

Keywords: counterfeit; herbal medicines; undeclared drugs; analytical methods.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|----------------|---|
| AINE | Anti-inflamatório não esteroideal |
| Anvisa | Agência Nacional de Vigilância Sanitária |
| CC | Cromatografia em Coluna |
| CCD | Cromatografia em Camada Delgada |
| COSY | <i>Homonuclear Correlated Spectroscopy</i> |
| DAD | Arranjo de Diodos |
| DCM | Diclorometano |
| EtOAc | Acetato de etila |
| FB | Farmacopeia Brasileira |
| FFFB | Formulário de Fitoterápico da Farmacopeia Brasileira |
| GC/MS | <i>Gas Chromatography- mass spectrometry/</i> Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas |
| HPLC | <i>High-performance liquid chromatography/</i> Cromatografia Líquida de Alta Eficiência |
| HMBC | <i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i> |
| HSQC | <i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i> |
| IFA | Insumo Farmacêutico Ativo |
| IFAV | Insumo Farmacêutico Ativo Vegetal |
| IV | Infravermelho |
| LC-MS/MS | <i>Liquid chromatography with tandem mass spectrometry/</i> Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas |
| PTF | Produto Tradicional Fitoterápico |
| MeOH | Metanol |
| NOESY | <i>Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i> |
| OMS/ WHO | Organização Mundial da Saúde/ <i>World Health Organization</i> |
| RDC | Resolução da Diretoria Colegiada |
| R _f | Fator de retenção |
| RMN | Ressonância Magnética Nuclear |
| SAC | Serviço de Atendimento ao Consumidor |
| UV | Ultravioleta |

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 9 |
| 2. OBJETIVOS..... | 11 |
| 2. 1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 11 |
| 3. METODOLOGIA..... | 12 |
| 3.1. ANÁLISE DA EMBALAGEM E DAS CÁPSULAS..... | 13 |
| 3.1.1 ANÁLISE DA EMBALAGEM..... | 13 |
| 3. 1. 2. DETERMINAÇÃO DO PESO MÉDIO DAS CÁPSULAS | 13 |
| 3.2. ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES | 13 |
| 3. 2. 1. EXTRAÇÃO COM METANOL..... | 13 |
| 3.2.2. CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD)..... | 14 |
| 3.2.3. CROMATOGRAFIA EM COLUNA (CC)..... | 14 |
| 3.2.4. CROMATOGRAFIA EM COLUNA “FLASH”..... | 14 |
| 3.2.5. SEPHADEX® LH-20..... | 15 |
| 3.3. IDENTIFICAÇÃO DOS CONSTITUINTES | 15 |
| 3.3.1. PONTO DE FUSÃO..... | 15 |
| 3.3.2. ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NO INFRAVERMELHO | 17 |
| 3.3.3. RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)..... | 17 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 18 |
| 4.1. ANÁLISE DA EMBALAGEM..... | 18 |
| 4.2. DETERMINAÇÃO DO PESO MÉDIO..... | 21 |
| 4.3. ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES PRESENTES NA AMOSTRA TESTADA | 22 |
| 4.4. IDENTIFICAÇÃO DOS ADULTERANTES APÓS SEREM ISOLADOS..... | 25 |
| 4.4.1. PONTO DE FUSÃO..... | 25 |
| 4.4.2. ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO | 25 |
| 4.4.3. RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)..... | 30 |
| 4.4.4. IMPLICAÇÕES RELACIONADAS AO ADULTERANTE IDENTIFICADO | 35 |
| 4.4.4. LEGISLAÇÃO | 36 |
| 4. CONCLUSÃO..... | 37 |
| REFERÊNCIAS | 38 |

1. INTRODUÇÃO

Fitoterápicos, segundo a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 26, de 13 de maio de 2014, são produtos derivados de matéria-prima vegetal, com intuito profilático, curativo ou paliativo. Podem ser classificados como simples (ativo de uma única espécie vegetal medicinal) ou como compostos (ativos oriundos de mais de uma espécie vegetal). Fitoterápicos abrangem tanto medicamentos fitoterápicos quanto produtos tradicionais fitoterápicos.

Medicamentos fitoterápicos, por sua vez, são aqueles que utilizam exclusivamente matérias-primas ativas vegetais que, com base em evidências clínicas, possuam segurança e eficácia comprovada, além de apresentar qualidade uniforme. Já produtos tradicionais fitoterápicos, são aqueles feitos exclusivamente de matérias-primas vegetais, que com base no uso tradicional e em dados disponíveis na literatura técnico-científica indiquem a segurança e efetividade do produto. Ademais, estes produtos são planejados para serem empregados sem a necessidade de supervisão médica com objetivo de diagnóstico, prescrição ou monitoramento (Anvisa, 2014).

Qualquer produto que tenha em sua composição substâncias ativas isoladas ou com alta pureza (sintéticas, semissintéticas ou naturais) não é considerado medicamento fitoterápico ou produto tradicional fitoterápico (Anvisa, 2014).

Medicamentos fitoterápicos são comumente alvos de adulteração no mercado brasileiro, devido a sua popularidade e ao senso comum de que “produtos naturais” são inofensivos, e que portanto, não oferecem riscos à saúde (Hurtado; Lasmar, 2014).

Diversos estudos científicos, como os estudos de Liang et al (2006), Mortiz et al. (2008), Carvalho et al (2011), Hannef et al (2013), Ferreira e Zucolotto (2020), Ortiz e Mariotti (2021) e Schenkel et al (2021), documentam casos de produtos fitoterápicos que apresentam irregularidades e adulterações. Em muitos casos, foram detectadas substâncias sintéticas em produtos que deveriam conter apenas extratos vegetais. Consumidores desses produtos de procedência questionável relatam tanto melhorias nos sintomas quanto efeitos adversos, sob a impressão de que estão utilizando um produto natural. Então, surgem preocupações associadas a forma de utilização, possíveis interações, monitoramento durante o uso e potenciais riscos à saúde associados a esses produtos (Gnoatto et al, 2021).

A Organização Mundial da Saúde (2010) define como medicamento falsificado aquele que é, de forma fraudulenta e deliberada, rotulado incorretamente quanto a sua identidade ou fonte, podendo incluir modificações e adulterações na formulação original.

Inúmeras razões podem ser elencadas para explicar a rápida expansão global de medicamentos contrafeitos, em especial as de natureza política e econômica. Destaca-se entre elas, a alta lucratividade, uma vez que medicamentos são produtos com um valor mais elevado e com alto valor agregado. Essa prática, diferentemente do tráfico de drogas, está sujeita a um risco menor de repreensão pelas autoridades policiais e sanitárias. (Lima; Yonamine, 2023).

Os fabricantes de produtos fitoterápicos falsificados normalmente produzem esses produtos falsificados de forma artesanal, sem qualquer padrão de qualidade ou pureza. Há um senso geral que produtos medicinais são seguros e isentos de efeitos adversos, como resultado dessa crença, muitos pacientes confiam nesses fabricantes e lojas, acreditando no que é dito a respeito do produto e aceitando-o como autêntico (Akhgari, 2016).

Produtos tradicionais fitoterápicos são frequentemente encontrados na internet e em lojas de produtos naturais. No entanto, esses produtos podem conter insumos farmacêuticos

ativos (IFAs) não declarados, especialmente em formas farmacêuticas como cápsulas, xaropes, comprimidos e sachês. Como resultado, produtos adulterados podem apresentar IFAs em quantidades desconhecidas, representando um risco significativo para a saúde do paciente. Quando rotulados e vendidos como “produtos naturais”, esses itens transmitem um falso senso de segurança aos consumidores, que podem estar, na verdade, expostos a um potencial risco de intoxicação (Akhgari, 2016).

Produtos comercializados como fitoterápicos, mas que na verdade são falsificados, não possuem registro na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) e são vendidos de duas formas: como uma combinação de diversos extratos ou na forma de extrato vegetal em pó contendo adulterações, especialmente a adição de substâncias sintéticas não declaradas. Um caso de destaque no cenário nacional é o produto “Harp 100”, que supostamente é feito à base de extrato de garra-do-diabo, cujo nome científico é *Harpagophytum procumbens* (Ferreira; Zucolotto, 2020).

O extrato derivado das raízes secundárias de *H. procumbens* é um fitoterápico incluído no Sistema Único de Saúde (SUS), recomendado para o alívio de dores articulares moderadas e lombalgia aguda. No entanto, análises do produto “Harp 100”, também conhecido como “Saúde Total”, realizadas por diferentes grupos de pesquisa, detectaram a presença de fármacos sintéticos não declarados, especialmente anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) e analgésicos. A propaganda enganosa que destaca o rótulo “produto 100% natural” induz o consumidor a acreditar que está usando um produto inofensivo, quando, na realidade, está exposto a diversos riscos, como intoxicação, reações adversas e interações medicamentosas (Ferreira; Zucolotto, 2020).

Portanto, faz-se necessário a análise desse tipo de produto utilizando técnicas mais acessíveis e equipamentos mais cotidianos, para investigar possíveis adulterações relacionadas principalmente a adição de fármacos sintéticos não declarados. De forma a alertar a comunidade e as autoridades sanitárias quanto os riscos que esses produtos oferecem à população.

2. OBJETIVOS

Analisar o produto comercializado como fitoterápico “Saúde Total” (Harp 100mg) com o intuito de identificar possíveis adulterantes, especificamente fármacos não declarados.

2. 1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

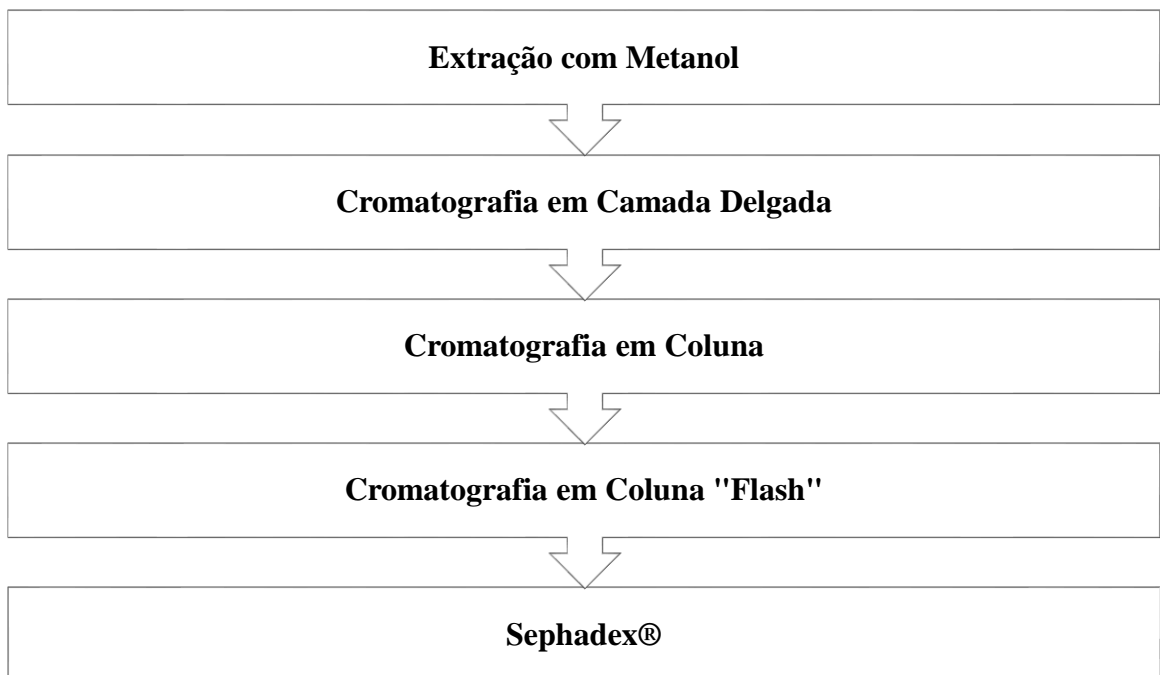
- Analisar a embalagem do produto vendido como fitoterápico;
- Isolar, por meio de técnicas analíticas, os possíveis constituintes presentes no fitoterápico;
- Identificar, por meio de técnicas analíticas, os possíveis constituintes presentes no fitoterápico;
- Apontar possível adulteração no fitoterápico analisado.

3. METODOLOGIA

O produto “Saúde Total” (Harp 100 mg) foi adquirido em uma loja de produtos naturais, no município de Governador Valadares (Minas Gerais). A análise inicial do produto consistiu na avaliação das características do produto, em particular: embalagem, descrição, posologia, composição, prazo de validade, local de fabricação e responsável técnico. Avaliou-se também as características das cápsulas: quantidade, cor, aspecto, peso médio e variação entre cápsulas.

Para a separação e identificação dos constituintes presentes na amostra preparada a partir do produto “Saúde Total”, fez-se uso das técnicas analíticas descritas nos organogramas 1 e 2.

Organograma 1: Técnicas analíticas utilizadas para a separação dos constituintes



Fonte: Elaborado pela própria autora (2024).

Organograma 2: Técnicas analíticas utilizadas para a identificação dos constituintes



Fonte: Elaborado pela própria autora (2024).

3.1. ANÁLISE DA EMBALAGEM E DAS CÁPSULAS

Para a análise da embalagem e das cápsulas, analisou-se primeiramente a embalagem primária e posteriormente analisou-se as cápsulas.

3.1.1 ANÁLISE DA EMBALAGEM

Iniciou-se as análises verificando as informações contidas na embalagem do produto para avaliação da conformidade em relação ao que é exigido pela legislação brasileira, em especial pelo que é estabelecido pela RDC nº 26, de 13 de maio de 2014 (que delibera sobre notificação e registro de produtos tradicionais fitoterápicos e o registro de medicamentos fitoterápicos) e pela RDC nº 768, de 12 de dezembro de 2022, que determina as regras para rotulagem de medicamentos.

3.1.2. DETERMINAÇÃO DO PESO MÉDIO DAS CÁPSULAS

De acordo com o volume I da 6ª edição da Farmacopeia Brasileira (2019a), a determinação de peso médio para cápsulas deve ser realizada com 20 cápsulas, contudo na embalagem do produto analisado havia apenas 15 cápsulas, portanto fez-se uma adaptação para determinação de peso médio com 10 cápsulas. A Farmacopeia Brasileira (FB) recomenda pesar individualmente as cápsulas, retirar o conteúdo de cada unidade, limpar de forma adequada e pesar novamente. Para determinar o peso do conteúdo de cada cápsula deve-se calcular a diferença entre o peso da cápsula cheia e da cápsula vazia. Em conformidade com a FB até duas unidades podem estar fora dos limites especificados no quadro abaixo (Tabela 1), todavia nenhuma delas pode exceder ou ficar abaixo do dobro das porcentagens indicadas.

Tabela 1 – Critérios de avaliação da determinação de peso para cápsulas

| Forma farmacêutica em dose unitária | Peso médio | Limites de variação |
|--|-------------------|----------------------------|
| Cápsulas duras e moles | Menos que 300 mg | ± 10,0% |
| | 300 mg ou mais | ± 7,5% |

Fonte: Elaborado pela autora, adaptado de Anvisa (2019a).

3.2. ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES

Utilizou-se diversos métodos para isolar os possíveis adulterantes presentes no produto “Saúde Total”. Todos os métodos estão descritos a seguir.

3.2.1. EXTRAÇÃO COM METANOL

Com base no método descrito por Mortiz et al (2008), fez-se a extração do pó obtido das cápsulas com aproximadamente 75 mL de metanol, deixando-o sob agitação em um agitador magnético, em média velocidade, durante 1 hora. Posteriormente, filtrou-se o extrato metanólico com papel de filtro (à vácuo) e retirou-se o metanol por meio da técnica de rotaevaporação. Para o restante das análises (exceto para a técnica Sephadex®), considerou-se como amostra o extrato obtido através dessa extração com metanol.

3.2.2. CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD)

Para visualização e identificação de quais constituintes estavam presentes no extrato analisado, realizou-se Cromatografia em Camada Delgada (CCD) em placas de sílica gel F254 (fase estacionária). Para definir a fase móvel, utilizou-se diversos solventes em diferentes proporções, ajustando o grau de polaridade. Por fim, a fase móvel escolhida para as análises por CCD foi diclorometano: acetato de etila (9:1).

Para analisar os resultados obtidos pela placa cromatográfica, utilizou-se a extinção por ultravioleta (UV), cuja análise consiste em colocar a placa cromatográfica em uma câmara de luz UV (com comprimento de onda de 254 nm), para observação do aparecimento de bandas. Empregou-se alguns reveladores para realçar a reação, como: reagente anisaldeído sulfúrico, reagente de Ehrlich e ácido sulfúrico. Contudo, a extinção em luz UV se mostrou a melhor opção para observar o aparecimento de bandas nas placas cromatográficas.

3.2.3. CROMATOGRAFIA EM COLUNA (CC)

O primeiro método utilizado para isolar os possíveis adulterantes foi a técnica de Cromatografia em Coluna, na qual usou-se diferentes proporções de solventes ao longo do procedimento. Essa técnica normalmente demanda um tempo maior para execução devido a velocidade de eluição dos sistemas de fase móvel.

Preparou-se a coluna seguindo a proporção de 20g de Sílica Gel 70 -230 Mesh para 200 mg de amostra, sendo preparada pelo método úmido (com diclorometano). Para aplicar a amostra na coluna, fez-se uma pastilha, solubilizando a quantidade proposta de amostra em diclorometano e adicionou-se consecutivamente uma pequena quantidade de sílica gel. Para eliminar o solvente foi utilizado a técnica de rotaevaporação. Após o empacotamento da coluna, distribuiu-se a pastilha contendo a amostra e colocou-se uma fina camada de algodão para evitar o contato direto da amostra com o solvente.

Os solventes utilizados foram: diclorometano (DCM), acetato de etila (EtOAc) e metanol (MeOH). Escolheu-se os sistemas de solventes, de maneira a aumentar gradativamente o nível de polaridade, nas seguintes proporções: 100% DCM, 97:3 (DCM: EtOAc), 95:5 (DCM: EtOAc), 90:10 (DCM: EtOAc), 85:15 (DCM: EtOAc), 100% EtOAc, 100% MeOH.

3.2.4. CROMATOGRAFIA EM COLUNA “FLASH”

A técnica de Cromatografia em Coluna “Flash” foi também utilizada para isolar os possíveis adulterantes. Nesse tipo de coluna, utiliza-se uma bomba de vácuo acoplada a coluna cromatográfica para agilizar o processo. Para esse método empregou-se mais uma vez Sílica Gel 70 -230 Mesh e os sistemas de solventes descritos na Tabela 2 como fase móvel.

Tabela 2: Características dos sistemas de solventes escolhidos como fase móvel

| Ordem dos sistemas | Solventes | Proporção (%) | Volume (mL) | Nome da fração |
|--------------------|------------|---------------|-------------|----------------|
| 1 | DCM: EtOAc | 80:20 | 100 | C3-1A |
| | | | 100 | C3-1B |
| | | | 100 | C3-1C |

| | | | | |
|---|------------|-------|-----|-------|
| 2 | DCM: EtOAc | 50:50 | 100 | C3-2A |
| | | | 100 | C3-2B |
| 3 | DCM: EtOAc | 20:80 | 100 | C3-3A |
| | | | 100 | C3-3B |
| 4 | EtOAc | 100 | 100 | C3-4A |
| | | | 100 | C3-4B |
| 5 | MeOH | 100 | 100 | C3-5A |
| | | | 100 | C3-5B |

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

O preparo da coluna foi executado por via úmida, com 300 mg de amostra para 4 cm de Sílica Gel 70 -230 Mesh (em um funil de 150 mL com papel de filtro). Para esse método fez uma pastilha de forma semelhante a preparada na CC, depositando sobre a sílica a pastilha e acomodando-se um pedaço de algodão por cima para evitar o contato direto com o solvente. Por fim, encaixou-se um kitasto ao funil e acoplou-o a bomba de vácuo.

3.2.5. SEPHADEX® LH-20

Segundo Núñez 2000, Sephadex ® é uma técnica que pode ser usada para separação de substâncias por tamanho ou por adsorção. Nesse caso, empregou-se essa técnica na tentativa de isolar os possíveis adulterantes por tamanho de molécula.

Para esse tipo de técnica, preparou-se uma coluna aberta, cuja fase estacionária consista em Sephadex® LH-20, empacotada por via úmida com metanol (eluente ficou em contato com a coluna por aproximadamente 20h). Como fase móvel, fez-se uso de metanol e como amostra, escolheu-se as amostras mais promissoras da coluna flash, amostras essas que estavam mais próximas de estarem isoladas para as substâncias mais polares (C3-2A, C3-2B, C3-3A). Aplicou-se a amostra (diluída em metanol) com uma pipeta de Pasteur aos poucos no topo da coluna.

3.3. IDENTIFICAÇÃO DOS CONSTITUINTES

Para a identificação das substâncias isoladas utilizou-se as seguintes técnicas: Ponto de Fusão, Espectroscopia no Infravermelho e Ressonância Magnética Nuclear. Realizou-se essas técnicas nessa ordem para facilitar a identificação dos constituintes.

3.3.1. PONTO DE FUSÃO

O ponto de fusão, ou faixa de fusão, de uma substância é uma propriedade física que contribui para a sua identificação, sendo um dos métodos utilizados há mais tempo para esse fim. Logo, realizou-se essa técnica para auxiliar na identificação das substâncias isoladas (Brandão et al., 2008).

De acordo com o volume I da 6ª edição da Farmacopeia Brasileira (2019a), a faixa de fusão é o intervalo de temperatura no qual a substância está completamente fundida. Para determinar esse intervalo, foi utilizado o aparelho digital de ponto de fusão MQAPF – 302 (Figuras 1 e 2).

Ajustou-se o equipamento no intervalo de temperatura desejado (50°C a 240°C, para abranger fármacos com diferentes pontos de fusão) e o processo de aquecimento foi iniciado ao

clicar no botão “aquecimento”. Foi estabelecida uma variação de 2°C, que foi reduzida para 1°C quando se atingiu a temperatura de 50°C.

Figura 1: Aparelho digital de ponto de fusão MQAPF - 302



Fonte: Própria autora (2023).

Figura 2: Microquímica Equipamentos Ltda RS 232 n° série: 337/13



Fonte: Própria autora (2023).

3.3.2. ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NO INFRAVERMELHO

A Espectroscopia na região do Infravermelho (IV) é uma valiosa ferramenta para auxiliar na identificação de fármacos. Esse tipo de técnica, ao investigar a vibração dos átomos, proporciona informações sobre a estrutura e conformação molecular da substância analisada (Brandão, 2008).

Para esta investigação, foi utilizado o equipamento PerkinElmer FT-IR Spectrometer Spectrum Two, aliado ao software Origin® para a análise dos dados. O procedimento envolveu o uso de pastilhas de KBr para a análise. Inicialmente, foi realizada a leitura do branco utilizando apenas a pastilha de KBr. Em seguida, a pastilha foi triturada em um mortal, adicionando-se uma pequena quantidade da amostra e homogeneizando a mistura. Após formar uma nova pastilha por compressão, foi feita a varredura do espectro na faixa de 400 e 4000 cm^{-1} .

3.3.3. RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)

Realizou-se a análise de Ressonância Nuclear Magnética (^1H RMN) no equipamento Oxford Instruments Pulsar™, cuja frequência de especificação é 60 MHz (ressonância de prótons). Fez-se as leituras individuais das amostras (substância 1 e substância 2) em tubos de 5 mm de espessura, com aproximadamente 10 mg de cada amostra dissolvida em, aproximadamente, 500 μL de clorofórmio deuterado (CDCl_3); sendo importante que o tubo seja preenchido até a altura mínima de 3,5 cm a máxima de 4,5 cm.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos foram analisados e discutidos a seguir, com ênfase nos principais aspectos observados durante o trabalho. A abordagem foi estruturada para permitir uma análise detalhada e sequencial dos diferentes elementos que compõem o trabalho e suas possíveis implicações.

4.1. ANÁLISE DA EMBALAGEM

O suposto fitoterápico apresenta-se em uma embalagem primária, sem folheto informativo e sem embalagem secundária, na forma farmacêutica de cápsulas (brancas). No interior da embalagem, havia 15 cápsulas com um sachê de sílica gel dessecante e um pedaço de algodão.

Conforme a RDC nº 26/2014, os produtos tradicionais fitoterápicos (PTF) podem ser isentos de registro, mas são passíveis de notificação. A notificação consiste em informar, de modo prévio, a intenção de fabricar, importar e/ou comercializar produtos tradicionais fitoterápicos, para assim ter a aprovação desse órgão para o fim que se deseja. A notificação como produto tradicional fitoterápico, só pode ser feita para produtos cujos Insumos Farmacêuticos Ativo Vegetal (IFAV) estão listados na última edição do Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira (FFFB); além disso o IFAV deve possuir monografia específica de controle de qualidade em compêndio reconhecido pela Anvisa.

De acordo com as informações presentes na embalagem, o suposto fitoterápico é constituído por “HARP 100 mg”, que presumidamente refere-se ao extrato de *Harpogophyllum procumbens*, conhecido popularmente como garra-do-diabo. Esse IFAV está listado na 2ª edição do FFFB (2021), sendo assim, um produto passível de notificação, ou seja, não precisa necessariamente ser registrado junto à Anvisa.

Na Figura 5 pode-se observar os dizeres “Reg. 5.6389.0007 001-1”, que supostamente corresponde o registro do produto. Apesar de possuir 13 dígitos como é usual desse tipo de registro, ao consultar no site da Anvisa (<https://consultas.anvisa.gov.br/#/medicamentos/>) não foi possível localizar esse registro. Além disso, não havia nenhuma informação na embalagem informando que se tratava de um produto notificado. Logo, o produto aparenta não ser nem notificado nem registrado junto à Anvisa.

Segundo a RDC nº 768 de 2022, medicamentos notificados e PTF podem ser dispensados diretamente na embalagem primária, contudo precisam ser dispensados junto com o folheto informativo do produto, em conformidade com a RDC nº 26 de 2014. Essa RDC define que o folheto informativo contém informações a respeito da composição e uso do produto, de forma a orientar o consumidor. Esse folheto deve sempre acompanhar os produtos tradicionais fitoterápicos, o que não foi observado no caso do produto “Saúde Total”.

Além disso, é proibido utilizar o termo "produto natural" ou termos semelhantes que sugiram que o produto é isento de efeitos adversos. Na Figura 5, observa-se a frase “é uma planta utilizada para combater dor de coluna, artrite, artrose, bursite, gota e varizes”. Essa frase pode sugerir que o produto é composto exclusivamente pela planta e, por isso, induz a ideia de que não apresenta riscos à saúde (Anvisa, 2022).

Conforme com a resolução RDC nº 768/2022, a embalagem primária deve conter as seguintes informações: nome do medicamento (se houver), concentração do derivado vegetal específico, via de administração, nome ou logomarca/logotipo da detentora do registro ou da

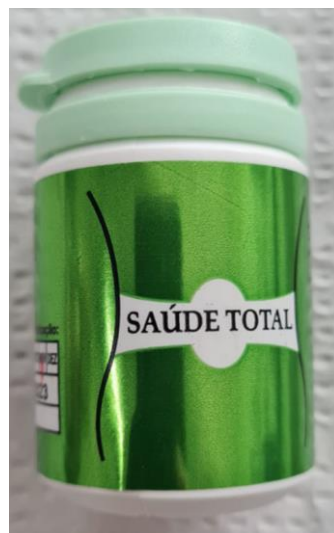
notificação, data de validade e número de lote, telefone do Serviço de Atendimento ao Consumidor (SAC) definido pela empresa detentora da notificação e quantidade total em unidades farmacotécnicas por embalagem (no caso de formas sólidas).

Quanto às exigências regulamentares descritas, a única informação em conformidade é a quantidade de unidades farmacotécnicas (15 cápsulas). A concentração do derivado vegetal não é especificada, nem o nome popular nem o nome científico da planta são mencionados; apenas está descrito “HARP 100 mg”, o que não esclarece adequadamente qual extrato é utilizado. A via de administração não é informada; há apenas a orientação “tomar 1 cápsula por dia”, que se refere à posologia. Também estão ausentes o nome ou logomarca da empresa responsável pelo registro, o telefone do SAC, a faixa etária para a qual o produto é destinado (como “uso adulto”) e o número do lote. Ademais, notou-se a ausência da frase “utilizado como” e as respectivas contraindicações.

Também é necessário informar os cuidados de conservação com base nos estudos de estabilidade. A frase “exija folheto informativo” deve estar presente, e, no caso de produtos tradicionais fitoterápicos (PTF), deve-se incluir a frase “Produto registrado com base no uso tradicional, não sendo recomendado seu uso por período prolongado”. Além disso, deve constar a frase “utilizado como”, seguida da alegação de uso para a qual o produto foi aprovado na notificação, assim como as contraindicações correspondentes. Todas essas informações estavam ausentes no produto “Saúde Total” (Anvisa, 2022).

Embora a embalagem primária apresente uma data de validade, a RDC nº 768/2022 exige que essa data seja impressa e não anotada manualmente, como foi feito com caneta, conforme mostrado na Figura 5. Portanto, o produto não está em conformidade com as normas brasileiras de embalagem e rotulagem, e é possível afirmar que o produto não está corretamente notificado ou registrado junto à Anvisa.

Figura 3: Embalagem primária do produto



Fonte: Própria autora (2022).

Figura 4: Posologia e indicação



Fonte: Própria autora (2022).

Figura 5: Composição e prazo de validade



Fonte: Própria autora (2022).

Figura 6: cápsulas presentes dentro da embalagem



Fonte: Própria autora (2022).

4.2. DETERMINAÇÃO DO PESO MÉDIO

Ao abrir o conteúdo das cápsulas, observou-se que o pó era de coloração branca, em contraste com o que é descrito no volume II (Monografias - Plantas Medicinais) da 6ª edição da Farmacopeia Brasileira, que indica que o extrato de garra-do-diabo deve ter uma coloração marrom-amarelada. Isso sugere que o conteúdo das cápsulas pode não ser o extrato da planta mencionado. Embora a cor possa ser influenciada por possíveis excipientes adicionados ao extrato, é improvável que um extrato com cor marrom-amarelada se apresente como totalmente branco ou quase branco, como foi observado nas cápsulas.

Para a determinação do peso médio das cápsulas, verificou-se o conteúdo individual das cápsulas, pesou-se individualmente as cápsulas cheias e, posteriormente, pesou-se as cápsulas vazias para verificar o peso individual do pó presente em cada cápsula e a variação entre os valores encontrados, conforme descritos na Tabela 3 e 4.

Tabela 3: Determinação do peso das cápsulas

| Número da cápsula | Cápsula íntegra (g) | Cápsula vazia (g) | Peso individual do pó (g) |
|-------------------|---------------------|-------------------|---------------------------|
| 1 | 0,3580 | 0,0580 | 0,3000 |
| 2 | 0,3310 | 0,0580 | 0,2730 |
| 3 | 0,3310 | 0,0585 | 0,2725 |
| 4 | 0,3615 | 0,0590 | 0,3025 |
| 5 | 0,3430 | 0,0587 | 0,2843 |
| 6 | 0,3620 | 0,0580 | 0,3040 |
| 7 | 0,2974 | 0,0580 | 0,2394 |
| 8 | 0,3279 | 0,0576 | 0,2703 |
| 9 | 0,3352 | 0,0557 | 0,2795 |
| 10 | 0,3620 | 0,0558 | 0,3062 |

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Tabela 4: Determinação do peso médio, desvio padrão e desvio padrão relativo

| | |
|--|---------------|
| Peso médio | 0,2819 g |
| Desvio padrão | 0,0209089056 |
| Coefficiente de variação (desvio padrão relativo) | 7,417135721 % |

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

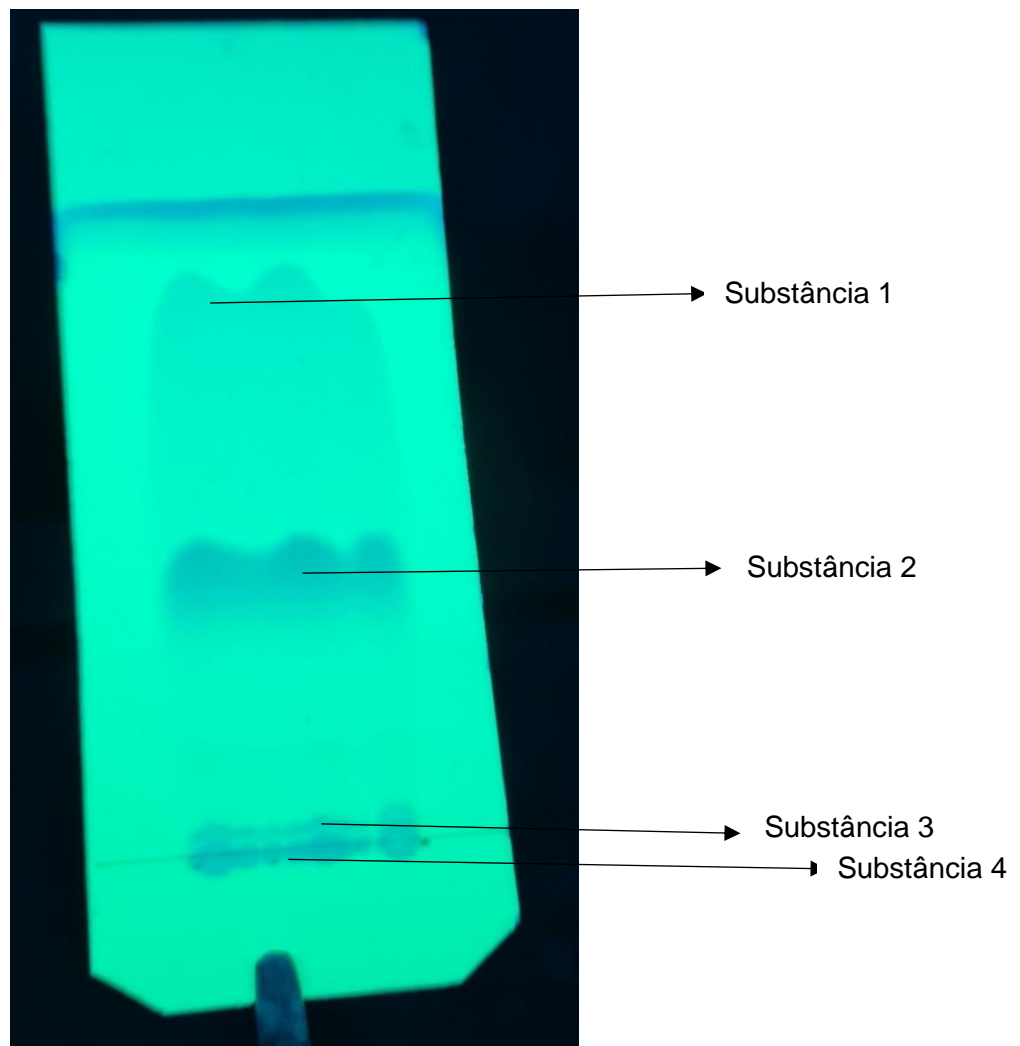
As cápsulas analisadas apresentaram peso médio de 281,9 mg, a variação permitida é de até $\pm 10\%$, ou seja, no máximo 310,09 mg e no mínimo 253,71 mg. Apenas uma cápsula apresentou peso inferior a variação permitida (cápsula número 7), como essa variação não está abaixo do dobro da porcentagem indiciada, as cápsulas foram aprovadas quanto ao peso médio.

No estudo de Schenkel, et al. (2021) os produtos analisados para a presença de substâncias sintéticas não declaradas apresentaram variação de peso significativa, o que evidencia falta de qualidade do produto. No caso das cápsulas analisadas no presente trabalho, não se observou essa variação significativa, contudo isso também não é indicativo isolado de qualidade.

4.3. ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES PRESENTES NA AMOSTRA TESTADA

A extração com solventes apropriados e o uso da cromatografia em camada delgada (CCD) são métodos que podem ser utilizados para análise substâncias em produtos com suspeita de falsificação ou adulteração (Moritz et al., 2008). No presente estudo, ao realizar a extração com metanol com o conteúdo obtido das cápsulas (2, 0184 g de um pó branco) do produto analisado, obteve-se 782,9 mg de um pó amarelado. Este extrato foi então submetido à análise por CCD, utilizando diclorometano e acetato de etila (9:1) como fase móvel, conforme observado na Figura 7.

Figura 7: Perfil cromatográfico do extrato metanólico por CCD



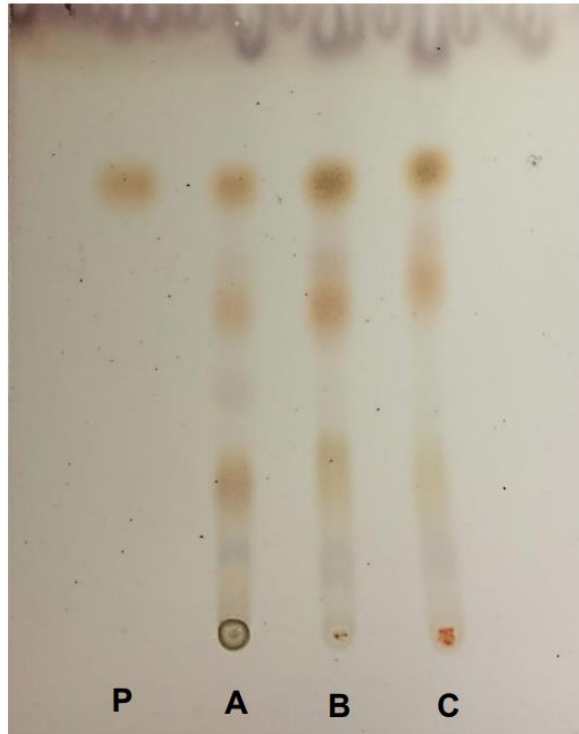
Fonte: Própria autora (2023).

Segundo Liang et al (2006), os extratos de plantas são usualmente formados por misturas complexas, conseqüentemente seus perfis cromatográficos geralmente apresentam o surgimento de diversas bandas. No perfil cromatográfico presente na Figura 7, pode-se verificar a presença de quatro bandas distintas, o que não é característico de extratos de plantas.

No perfil cromatográfico descrito por Ribeiro (2017), presente na Figura 8, foram analisadas diferentes marcas de fitoterápicos de extrato de garra-do-diabo (*Harpagophytum procumbens*). Na figura 8, a letra “P” representa o marcador fitoquímico harpagosídeo (R_f 0,76),

enquanto as letras “A, B e C” referem-se a diferentes marcas desse fitoterápico. Pode-se observar que os extratos apresentam várias bandas, o que é característico de misturas complexas de extratos vegetais, ao contrário do que é observado na Figura 7. Esse achado sugere que o extrato analisado no presente trabalho não é um extrato típico de planta.

Figura 8: Perfil cromatográfico de amostras de *Harpagophytum procumbens* DC por CCD



Fonte: Ribeiro (2017)

A identificação dos constituintes presentes na amostra analisada seguiu-se de acordo com a ordem estabelecida na Figura 7, sendo o número 1 correspondente a substância relativamente mais apolar e o número 4 a substância relativamente mais polar. A partir da placa cromatográfica observada na Figura 7, calculou-se o fator de retenção (R_f) das substâncias, conforme descrito na Tabela 5:

Tabela 5: Fator de retenção de cada substância (CCD)

| Substância | Fator de retenção (R_f) |
|------------|-----------------------------|
| 1 | 0,89 |
| 2 | 0,48 |
| 3 | 0,05 |
| 4 | 0,01 |

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

O perfil cromatográfico revelou que as substâncias 1 e 2 são relativamente apolares, enquanto as substâncias 3 e 4 são mais polares. A tentativa de isolamento dessas substâncias por Cromatografia em Coluna foi bem-sucedida para separar as substâncias 1 e 2, mas não obteve o mesmo resultado para as substâncias mais polares. Durante a CC, foram coletadas várias frações, que foram nomeadas conforme a ordem crescente dos tubos de ensaio

preenchidos. No final do processo, as frações de interesse foram divididas em quatro balões, conforme detalhado na Tabela 6.

Tabela 6: Divisão das frações promissoras obtidas na Cromatografia em Coluna

| Balão | Frações |
|-------|---------------------------|
| 1 | 40-49; 50-58;64-81 |
| 2 | 101-110; 111-120; 130-161 |
| 3 | Frações lavadas com EtOAc |
| 4 | Frações lavadas com MeOH |

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Nos balões 1 e 2 obteve-se as duas substâncias mais apolares isoladas, que foram denominadas substâncias 1 e 2, respectivamente. Nos balões 3 e 4 não foi possível obter as outras duas substâncias de forma isolada.

Em relação ao isolamento das substâncias mais polares, utilizou-se um método diferente, pois a primeira coluna (CC) levou um tempo considerável para ser finalizada. Para contornar esse problema, optou-se pela Cromatografia em Coluna “Flash” para reduzir o fator tempo, todavia essa coluna também não conseguiu isolar as substâncias mais polares. Mais especificamente, conseguiu-se separar as substâncias mais apolares (1 e 2), contudo não foi possível fazer o mesmo com as substâncias mais polares (3 e 4), que permaneceram unidas e com uma pequena quantidade das substâncias 1 e 2. Ao final da coluna fazendo a lavagem com metanol, os compostos mais polares não estavam mais presentes.

Na tentativa de separar as substâncias 3 e 4, utilizou-se Sephadex®. Como amostra de partida fez-se uso das frações contendo os compostos mais polares da Coluna “Flash”, que correspondiam as frações C3-2A, C3-2B, C3-3A. Ao término da tentativa de separação, as substâncias mais uma vez não foram isoladas e foram lavadas pela coluna, sem serem separadas.

A dificuldade em isolar os compostos mais polares decorre das características das colunas, cuja fase estacionária composta por sílica é polar. Isso resulta em uma maior interação com substâncias polares, que tendem a ficar retidas no ponto de aplicação ou próximo a ele (Kondeti; Mulpuri; Meruga, 2014).

Na tentativa de isolar as substâncias com base no tamanho molecular, foi utilizado Sephadex®, mas essa técnica também não se mostrou eficaz. O ideal seria utilizar métodos alternativos, como cromatografia em fase reversa, HPLC, cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) ou cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS).

De acordo com Haneef et al. (2013) a análise por HPLC com detector por ultravioleta-visível (UV-VIS) e arranjo de diodos (DAD) é comumente utilizada para detecção de adulterações em fitoterápicos, pois oferece uma separação efetiva de analitos e sua respectiva detecção por meio do tempo de retenção relativo (RRT) correspondente ao padrão fornecido. Porém ocasionalmente a detecção por UV pode ser insensível devido à natureza química dos analitos, logo HPLC com DAD é considerado mais sensível na detecção de adulterantes.

LC-MS/MS é uma técnica que proporciona resultados específicos, seletivos e sensíveis quantitativamente com uma preparação de amostra diminuta. Essa técnica é utilizada não somente para identificar possíveis adulterantes, mas também para identificação de análogos estruturais que não foram detectados por outras técnicas (Haneef et al., 2013).

Entre os métodos cromatográficos, a GC/MS é o método mais utilizado para determinação de adulterantes em fitoterápicos, principalmente para a detecção de benzodiazepínicos, anorexígenos e estimulantes (Carvalho et al., 2011).

Neste estudo foram utilizados apenas os equipamentos a que se teve acesso para realizar as análises na tentativa de isolamento dos adulterantes, o que levou a uma certa limitação dos resultados obtidos. Uma vez que as técnicas utilizadas foram mais adequadas para isolar as substâncias mais apolares e menos eficazes para isolar as substâncias mais polares, devido a próprias características das técnicas. Portanto, seguiu-se para identificação dos possíveis adulterantes somente com os constituintes (substâncias 1 e 2) que foram isolados por meio das técnicas disponíveis.

4.4. IDENTIFICAÇÃO DOS ADULTERANTES APÓS SEREM ISOLADOS

4.4.1. PONTO DE FUSÃO

As substâncias isoladas foram analisadas quanto ao aspecto físico e posteriormente foram testadas quanto a faixa de fusão, conforme os resultados obtidos na Tabela 7.

Tabela 7: Características das substâncias isoladas

| Substância | Aspecto | Faixa de fusão |
|------------|---------------------|----------------|
| 1 | Pó branco | 76-78° C |
| 2 | Pó levemente rosado | 93-98° C |

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Segundo Brandão (2008) o ponto de fusão ou faixa de fusão é uma característica que auxilia na identificação de uma substância, especialmente nesse caso, pois essa informação já afunila as possibilidades e torna mais fácil a busca.

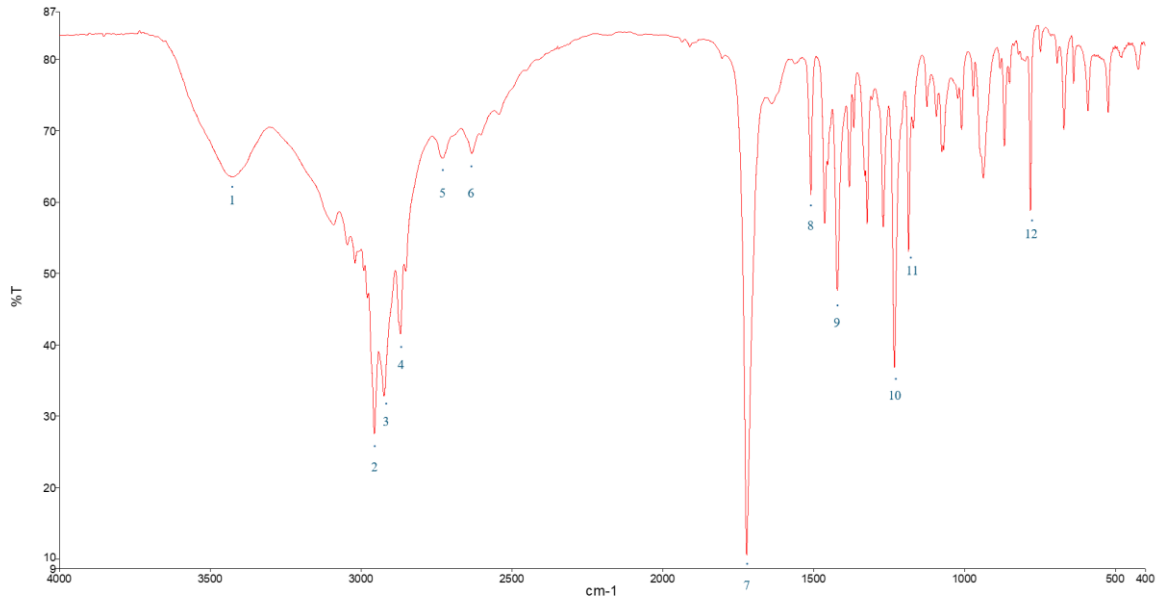
Com base nos dados obtidos a partir do ponto de fusão (Tabela 7), há a possibilidade de que a substância 1 possa ser o fármaco anti-inflamatório não esteroide ibuprofeno, que, de acordo com volume II (Insumos Farmacêuticos e Especialidades) da 6ª edição da Farmacopeia Brasileira, possui faixa de fusão 75 a 78° C e fórmula molecular $C_{13}H_{18}O_2$.

4.4.2. ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO

Analisou-se as substâncias 1 e 2 em relação a Espectroscopia de Absorção no Infravermelho, obtendo-se diferentes espectros para cada substância isolada, que podem ser visualizados nas Figuras 9 e 12. A partir desses espectros e do tratamento dos dados obtidos no programa Origin®, estabeleceu a relação entre as principais bandas, conforme as Tabelas 8 e 10.

No caso da substância 1, como já havia a suspeita de que esse constituinte poderia ser o fármaco AINE Ibuprofeno, analisou-se os dados disponíveis na literatura para esse fármaco (Figura 10 e tabela 9) e fez-se a correlação com os dados obtidos para a substância 1 com os dados presentes na literatura (Tabela 10).

Figura 9: Espectro IV da substância 1



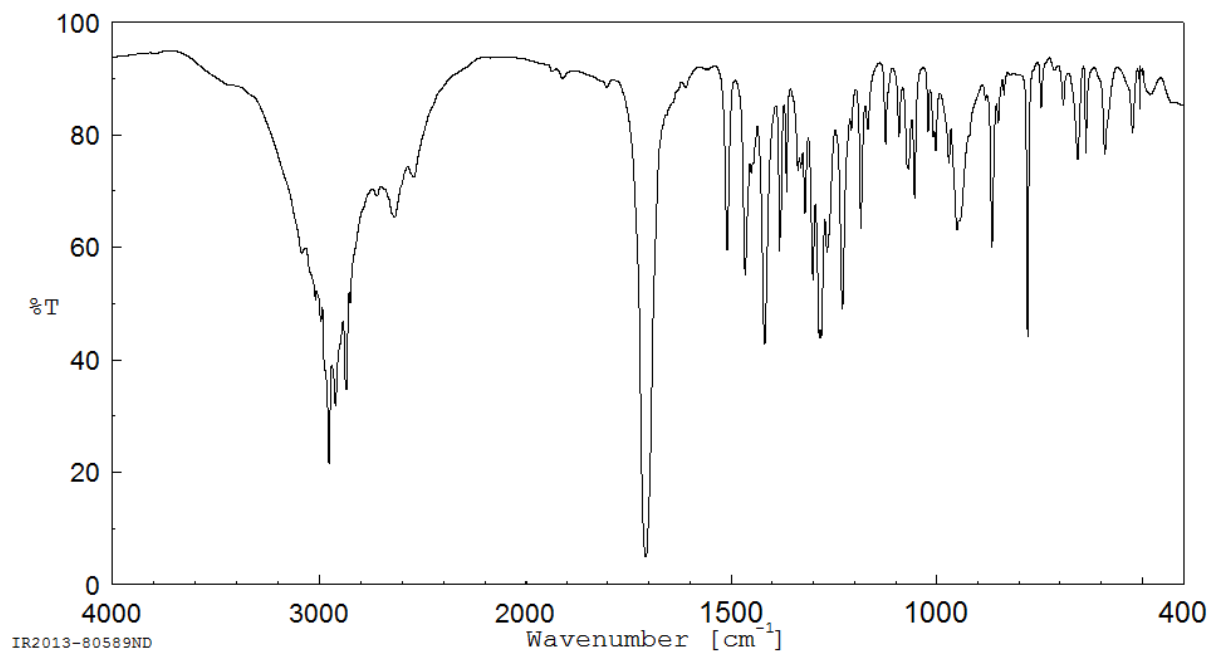
Fonte: Dados obtidos a partir do espectro no IV da substância 1 (2023).

Tabela 8: Dados do espectro IV da substância 1 obtidos através do programa Origin®

| Número dos picos | Número de onda (cm ⁻¹) | Transmitância (%) |
|------------------|------------------------------------|-------------------|
| 1 | 3422,19 | 63,72 |
| 2 | 2958,00 | 27,13 |
| 3 | 2918,87 | 32,70 |
| 4 | 2866,96 | 41,28 |
| 5 | 2723,26 | 64,92 |
| 6 | 2624,70 | 66,16 |
| 7 | 1717,37 | 9,80 |
| 8 | 1508,21 | 61,02 |
| 9 | 1423,20 | 46,64 |
| 10 | 1226,83 | 35,66 |
| 11 | 939,43 | 62,99 |
| 12 | 776,27 | 58,82 |

Fonte: Elaborado pela autora com base nos dados obtidos no espectro de IV (2024).

Figura 10: Espectro IV Ibuprofeno AIST - Spectral Database for Organic Compounds (SDBS)



Fonte: AIST (1999b).

Tabela 9: Principais dados espectrais Ibuprofeno (SDBS)

| Número de onda (cm ⁻¹) | Transmitância (T%) |
|------------------------------------|--------------------|
| 3085 | 59 |
| 2953 | 22 |
| 2922 | 32 |
| 2869 | 35 |
| 2636 | 65 |
| 1708 | 05 |
| 1510 | 60 |
| 1418 | 43 |
| 1229 | 49 |
| 951 | 63 |
| 779 | 44 |
| 657 | 76 |

Fonte: Adaptado de AIST (1999b).

Tabela 10: Comparação entre os dados obtidos, os dados da literatura e relação com os principais grupamentos da molécula

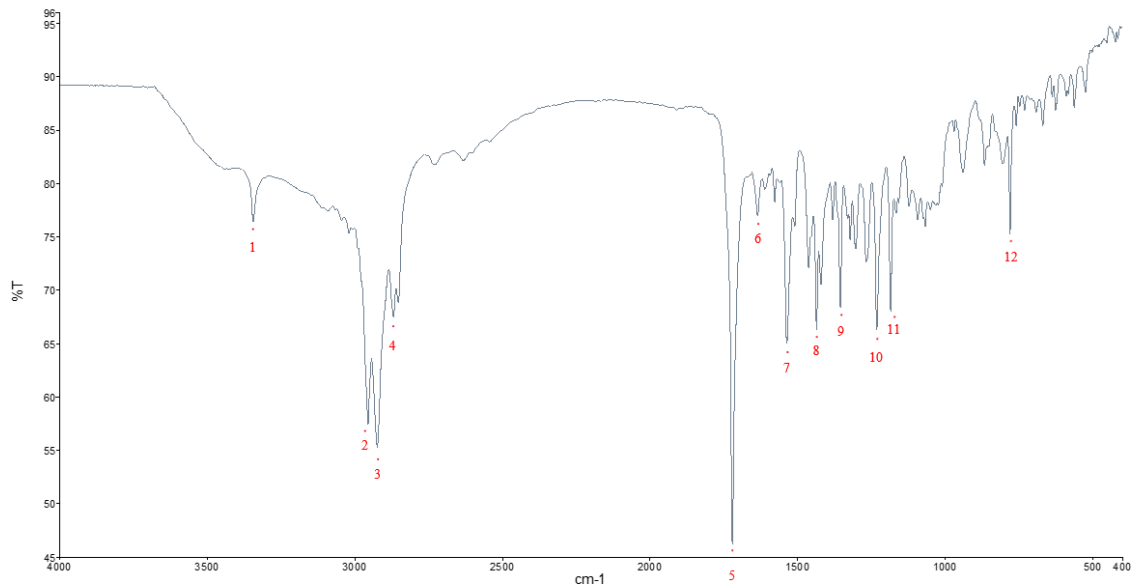
| Número do pico | Espectro Substância 1 | Espectro Ibuprofeno | Grupamento |
|----------------|------------------------------------|---------------------|--------------------------|
| | Número de onda (cm ⁻¹) | Transmitância (%) | |
| 1 | 3422,19 | - | O-H livre (água) |
| 2 | 2958 | 2953 | O-H de ácido carboxílico |
| 3 | 2918 | 2922 | - |
| 4 | 2866 | 2869 | - |
| 5 | 2723 | - | - |
| 6 | 2624 | 2636 | - |
| 7 | 1717 | 1708 | C=O de ácido carboxílico |
| 8 | 1508 | 1510 | C=C de aromáticos |
| 9 | 1423 | 1418 | C-O de ácido carboxílico |
| 10 | 1226 | 1229 | - |
| 11 | 939 | 951 | - |
| 12 | 776 | 779 | - |

Fonte: Elaborada pela autora com base nos dados de infravermelho obtidos pelo espectro de IV da substância 1 e nos dados de AIST (1999b) e Lopes; Fascio (2004).

A análise do espectro infravermelho da substância 1 revelou uma correspondência significativa entre os principais picos e os grupamentos esperados para o fármaco ibuprofeno, conforme pode ser visto nas Tabelas 8, 9, 10 e nas Figuras 9 e 10. A única discrepância observada nos espectros comparados é o pico número 1 (Figura 9), que provavelmente corresponde a um grupamento hidroxila associado a uma molécula de água, o que é compreensível, dado que a amostra foi armazenada em uma geladeira.

Em relação a substância 2 o caminho traçado foi mais complicado, uma vez que os fármacos que apresentaram ponto de fusão semelhante ao encontrado (Tabela 7) não demonstraram as correspondências esperadas para o espectro de infravermelho. Então fez-se uma busca mais ampla, comparando os espectros de IV de diferentes fármacos, como: AINEs, relaxantes musculares e analgésicos. Visto que o produto analisado se destina ao tratamento de inflamações e dores articulares, logo esses seriam os prováveis fármacos adulterantes utilizados nesse caso.

Figura 12: Espectro no IV da substância 2



Fonte: Dados obtidos a partir do espectro no IV da substância 2 (2023).

Tabela 11: Dados do espectro IV da substância 2 obtidos através do programa Origin®

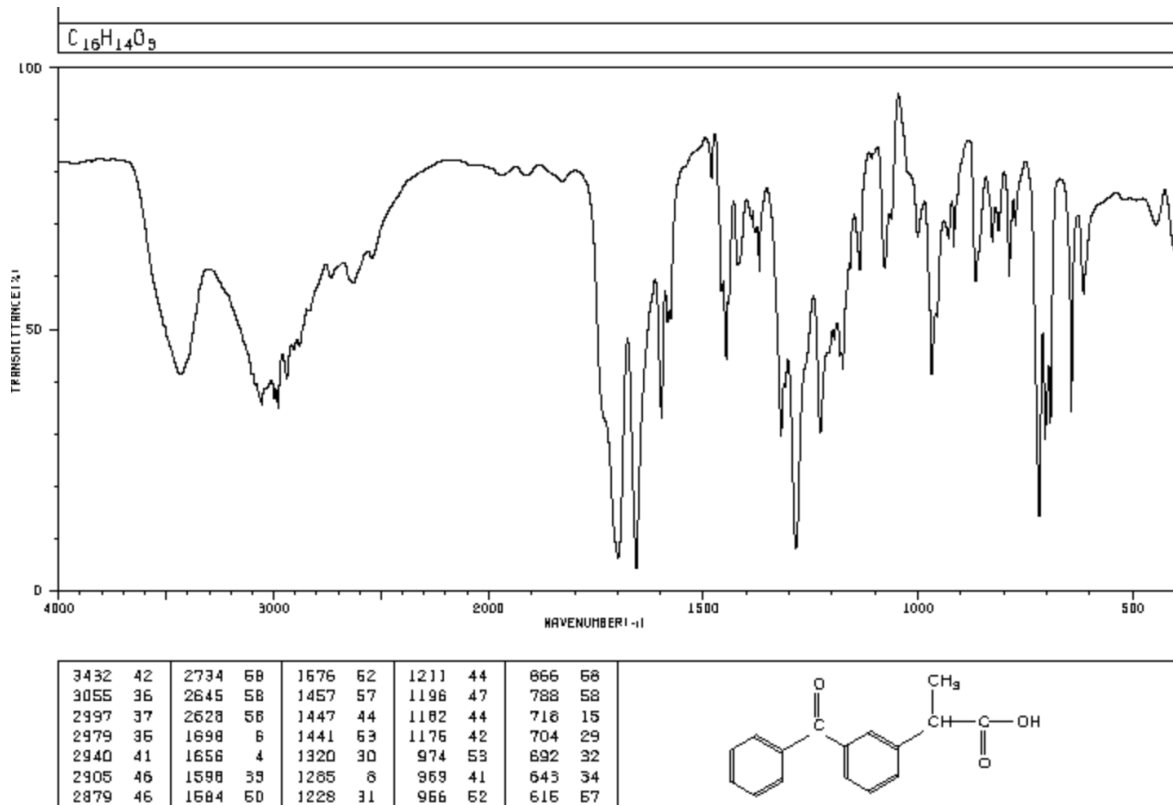
| Número dos picos | Número de onda (cm ⁻¹) | Transmitância (%) |
|------------------|------------------------------------|-------------------|
| 1 | 3343,95 | 76,63 |
| 2 | 2957,99 | 57,59 |
| 3 | 2918,87 | 55,99 |
| 4 | 2866,95 | 46,47 |
| 5 | 1716,61 | 45,44 |
| 6 | 1632,35 | 76,32 |
| 7 | 1533,79 | 64,18 |
| 8 | 1435,99 | 65,51 |
| 9 | 1350,97 | 67,70 |
| 10 | 1226,83 | 65,05 |
| 11 | 1180,94 | 67,40 |
| 12 | 776,17 | 74,44 |

Fonte: Elaborado pela autora com base nos dados obtidos do espectro no IV da substância 2(2024).

As análises para tentar identificar a substância 2 foram realizadas com base nos dados da Figura 12 e na Tabela 11. Nessas análises não foi possível identificar, de forma conclusiva, o provável adulterante correspondente à substância 2. Foram feitas várias tentativas comparativas, analisando os pontos de fusão e os espectros de diferentes fármacos, com foco especial nos anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) e relaxantes musculares. Consultou-se a literatura para identificar os fármacos mais frequentemente associados a esse tipo de adulteração, incluindo diclofenaco sódico, cafeína, orfenadrina, piroxicam, ácido

acetilsalicílico, dipirona, paracetamol, dexametasona, entre outros. Após uma análise extensiva, o fármaco que mais se aproximou foi o AINE cetoprofeno, cujo ponto de fusão é de 94° C. No entanto, o espectro do cetoprofeno observado na Figura 13 exibe dois picos em torno de 1760 a 1710 cm^{-1} , correspondentes às duas carbonilas na estrutura molecular, enquanto o espectro da substância 2, apesar de algumas correspondências, apresenta apenas um pico único em 1716 cm^{-1} . Isso sugere que a substância 2 pode conter apenas uma carbonila, o que diferencia sua estrutura da estrutura do cetoprofeno (AIST, 1999b).

Figura 13: Espectro IV cetoprofeno e estrutura molecular

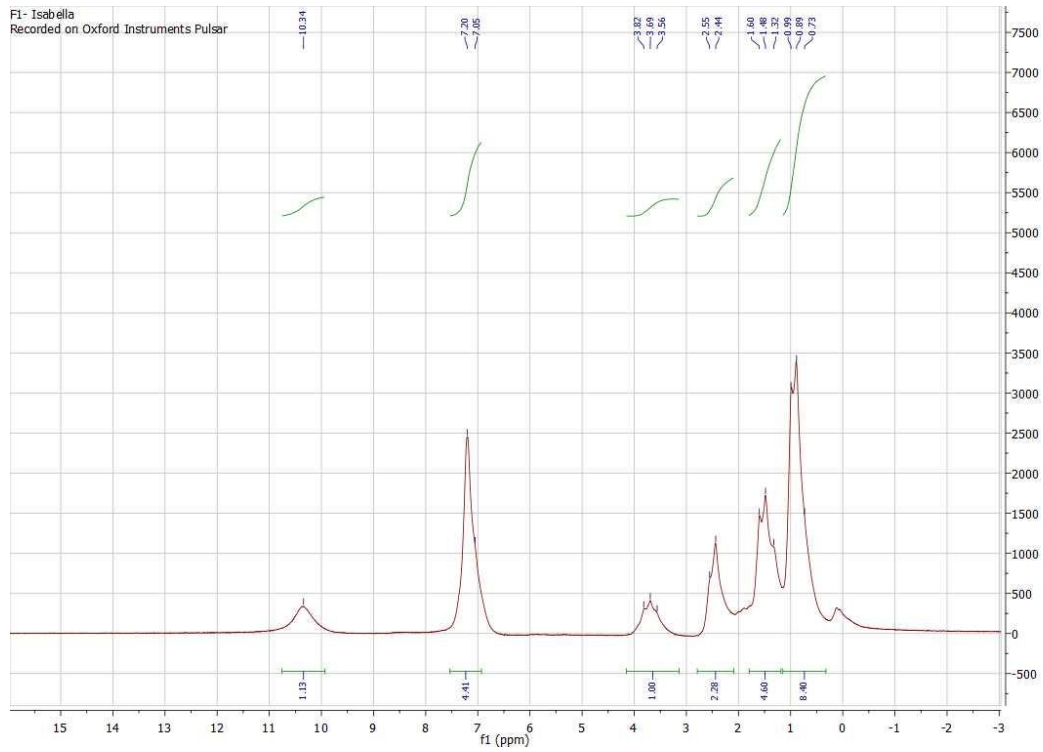


Fonte: AISTa (1999).

4.4.3. RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)

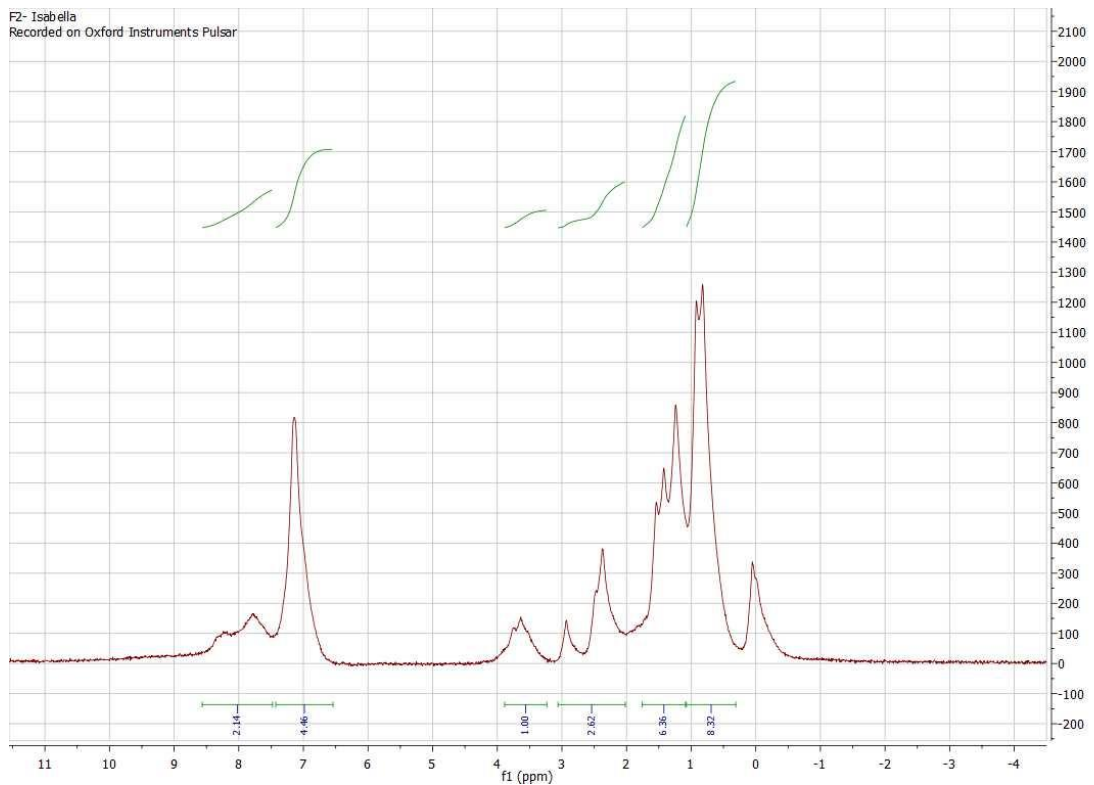
Após finalizar as análises referentes aos espectros de infravermelho, seguiu-se para as análises de ^1H RMN. Os espectros obtidos podem ser visualizados nas Figuras 14, 15 e 16:

Figura 14: Espectro ^1H RMN da substância 1

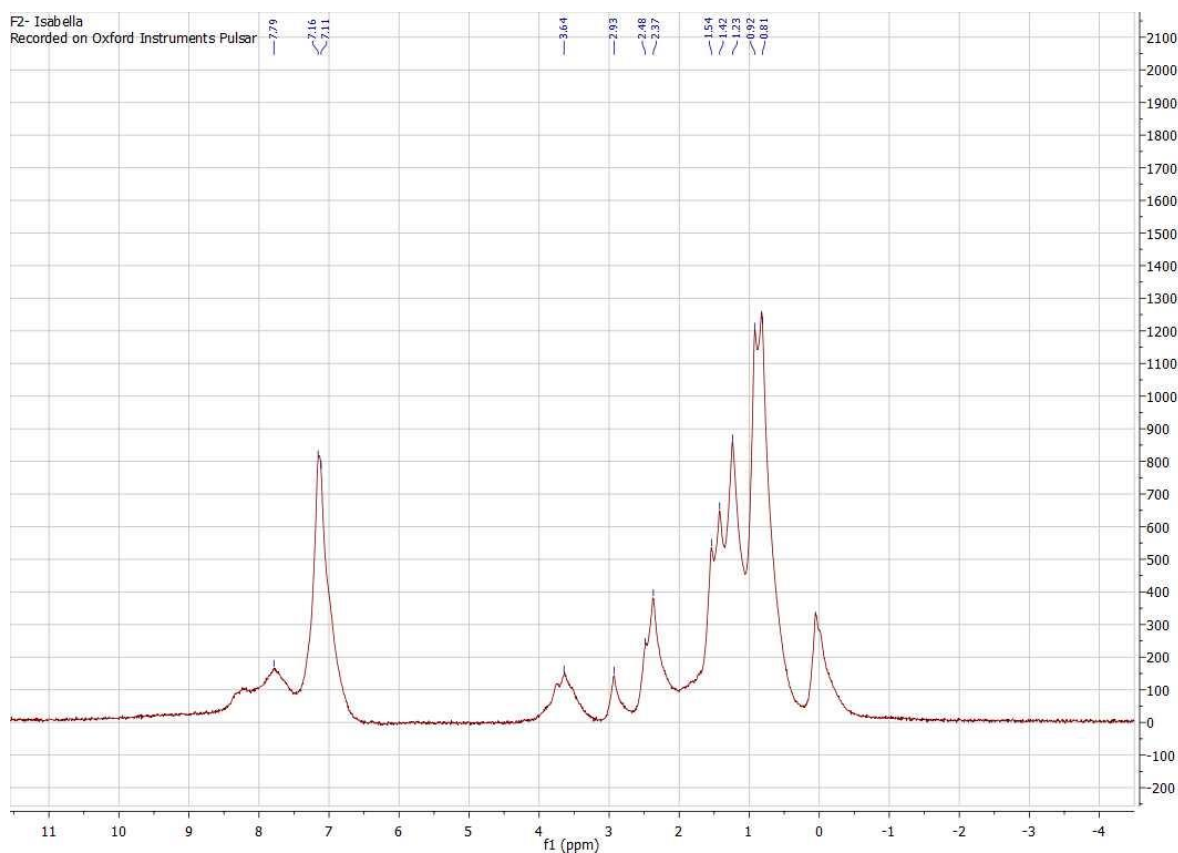


Fonte: Elaborado pela autora com base nos dados do espectro de RMN da substância 1 (2023).

Figura 15: Espectro de ^1H RMN da substância 2 (com integrais)



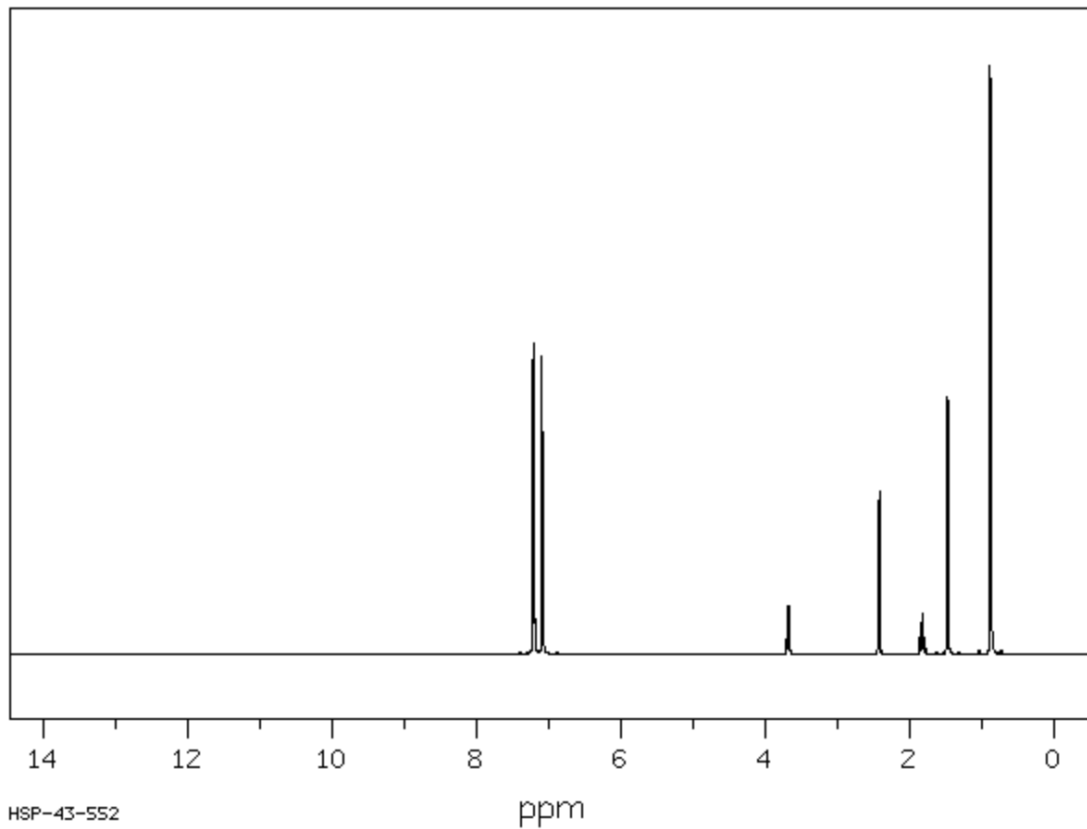
Fonte: Elaborado pela autora com base nos dados do espectro de RMN ^1H da substância 2 (2023).

Figura 16: Espectro de ^1H RMN da substância 2

Fonte: Elaborado pela autora com base nos dados do espectro de RMN ^1H da substância 2 (2023).

Como não foi possível identificar a substância 2 por meio dos pontos de fusão e da espectroscopia de infravermelho (IV), a análise do espectro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) tornou-se inviável. Devido à resolução limitada do equipamento (60 MHz), a análise do espectro foi restrita à comparação com espectros disponíveis na literatura. Para a elucidação estrutural, é necessário um tratamento mais detalhado dos dados, utilizando o programa MestReNova® para análises de ^1H RMN, ^{13}C RMN, COSY, HSQC, HMBC e NOESY. Isso só é possível com uma resolução adequada e dados suficientes para uma análise completa dos espectros, o que não foi obtido com o equipamento Oxford Instruments Pulsar™ utilizado.

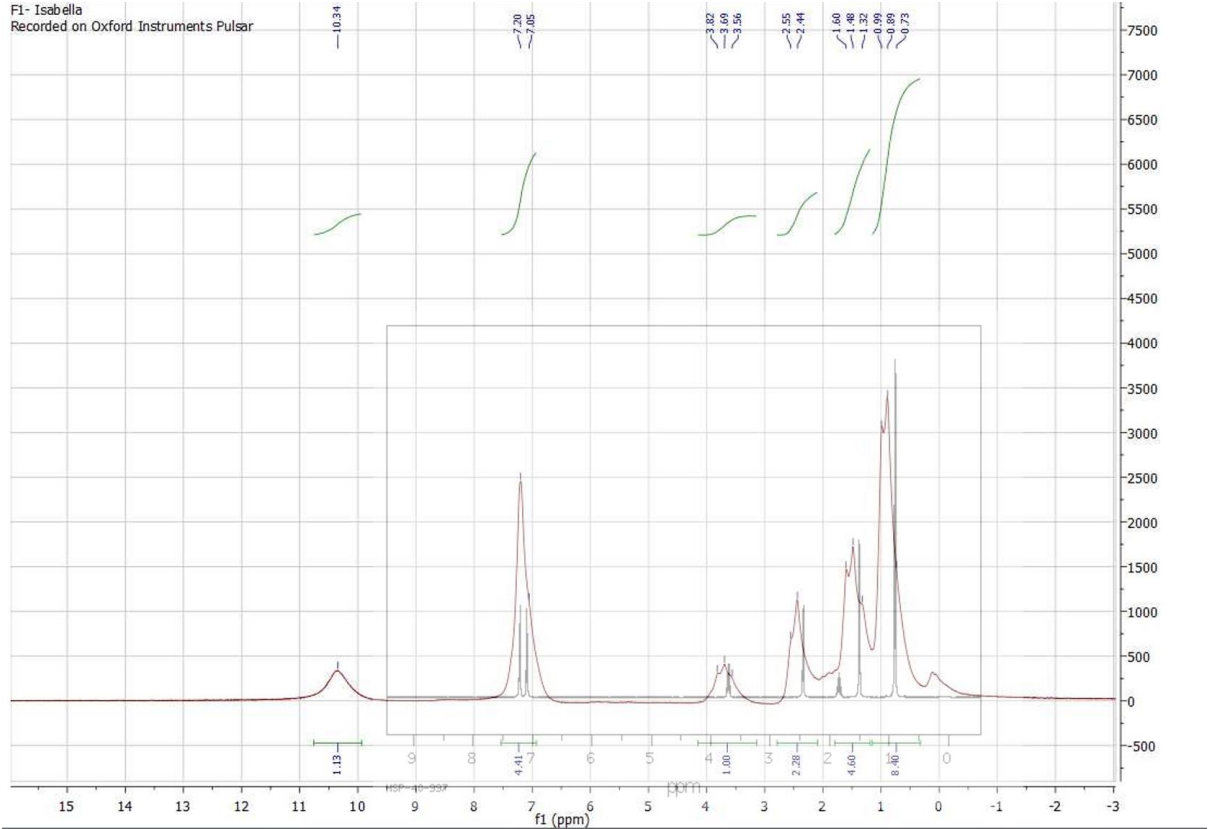
Nesse contexto, comparou-se os espectros de ^1H RMN da substância 1 (Figura 14) com os espectros disponíveis na literatura para o fármaco ibuprofeno. A Figura 17 mostra os dados do espectro de ^1H RMN do ibuprofeno, obtidos sob as condições experimentais de 399,65 MHz e utilizando 0,047 g da amostra em 0,5 mL de CDCl_3 (AIST, 1999b).

Figura 17: espectro de ^1H RMN ibuprofeno

Fonte: AIST (1999b)

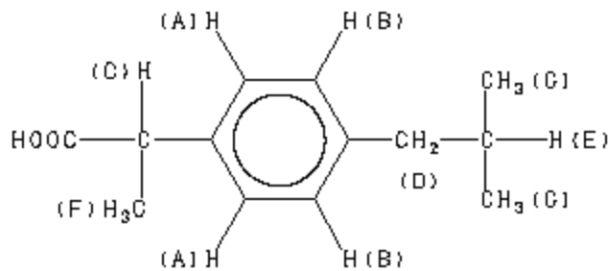
As condições do espectro descrito por AIST (1999) diferem ligeiramente das condições do espectro obtido neste estudo. Essas variações podem resultar em diferenças nos espectros, mas, de modo geral, os picos apresentam características semelhantes. A Figura 18 mostra a sobreposição do espectro obtido (Figura 14) com o espectro da literatura (Figura 17), permitindo uma comparação direta. Além disso, a Tabela 12 fornece uma comparação detalhada entre os deslocamentos químicos dos hidrogênios na molécula de ibuprofeno (Figura 19) e os deslocamentos observados no espectro de ^1H RMN da substância 1 (Figura 14).

Figura 18: Sobreposição do espectro de ¹H RMN da substância 1 (em vermelho) e do espectro de ¹H RMN ibuprofeno da AIST (em preto).



Fonte: Elaborado pela autora com base nos dados do espectro de RMN (2023) e nos dados de AIST (1999b)

Figura 19: Deslocamento químico e atribuição dos hidrogênios na molécula de ibuprofeno de acordo com o espectro de ¹H RMN



| Assign. | Shift(ppm) |
|---------|------------|
| A | 7.213 |
| B | 7.094 |
| C | 3.695 |
| D | 2.438 |
| E | 1.835 |
| F | 1.486 |
| G | 0.889 |

Fonte: AIST (1999b)

Tabela 11: Relação entre os dados obtidos dos espectros e atribuição dos hidrogênios de acordo com a Figura 18

| Atribuição (H) | Deslocamento químico (ppm) | |
|----------------|----------------------------|--------------|
| | Ibuprofeno (AIST) | Substância 1 |
| A | 7.213 | 7.20 |
| B | 7.094 | 7.05 |
| C | 3.695 | 3.69 |
| D | 2.438 | 2.44 |
| E | 1.835 | 1.60 |
| F | 1.486 | 1.48 |
| G | 0.889 | 0,89 |

Fonte: Elaborado pela autora com base nos dados de AIST (1999b) e nos dados do espectro de RMN ^1H da substância 1(2023).

Através das análises e comparações propostas acima, pode-se inferir que o espectro ^1H RMN da substância 1 é correspondente ao espectro do fármaco ibuprofeno. Portanto, confirmou-se por meio das análises de infravermelho e RMN que a substância 1 é o anti-inflamatório não esteroidal (AINE) ibuprofeno.

4.4.4. IMPLICAÇÕES RELACIONADAS AO ADULTERANTE IDENTIFICADO

A classe dos AINEs (anti-inflamatórios não esteroides) inclui medicamentos que são frequentemente usados para tratar dor, inflamação, edema, osteoartrites e artrite reumatoide. No entanto, seu uso indiscriminado pode levar a efeitos adversos e interações medicamentosas, além de causar hipersensibilidade em alguns pacientes. Os principais efeitos adversos estão relacionados à inibição das ciclooxigenases, que desempenham um papel na proteção da mucosa gastrointestinal e no controle da função renal. Como resultado, a toxicidade aguda ou crônica pode afetar os rins e o estômago (Assunção; Rodrigues Junior, 2022).

Segundo Assunção e Rodrigues Junior (2022), os efeitos adversos mais comuns associados a esses fármacos incluem azia e dor abdominal, e o uso prolongado pode levar a erosões e úlceras gástricas e duodenais. O risco de efeitos adversos no trato gastrointestinal superior é particularmente associado a fármacos como ibuprofeno e diclofenaco. Considerando que o produto analisado continha ibuprofeno de forma não declarada, os consumidores que o utilizam de forma prolongada podem estar expostos a um risco aumentado de efeitos adversos.

O produto “Saúde Total” em sua embalagem alega ser indicado para o tratamento de artrite, artrose, bursite, entre outros. Estas doenças geralmente requerem tratamento crônico, o que significa que os usuários deste produto provavelmente o utilizam de forma contínua, aumentando assim a chance de efeitos adversos. Esse risco é ainda mais significativo em pacientes idosos, que geralmente têm a função renal comprometida, e em pacientes com hipersensibilidade ou doenças renais preexistentes (Assunção e Rodrigues Junior, 2022; Ferreira e Zucolotto, 2020).

Em outros estudos realizados por diferentes grupos de pesquisa, produtos com as mesmas características do produto analisado no presente estudo, geralmente sob o nome “Harp 100” apresentaram adulterações (adição de fármacos não declarados). No estudo de Ferreira e Zucolotto (2020), foi identificado os fármacos orfenadrina (relaxante muscular) e cafeína. No relato de caso descrito por Ortiz e Mariotti (2021), esse mesmo produto apresentou o fármaco

diclofenaco sódico. Portanto, é evidente que não há um padrão de adulteração nesse suposto fitoterápico, e que vários fármacos podem ter sido adicionados de forma não declarada.

4.4.4. LEGISLAÇÃO

Ao fazer uma consulta no site da Anvisa para verificar a irregularidade do produto, descobriu-se três processos como medidas cautelares ativas para os produtos SAÚDE TOTAL/ SAÚDE TOTAL GOLD, SAÚDE TOTAL HARP e SAÚDE TOTAL, todos relacionados a apreensão e proibição de comercialização, distribuição, fabricação, propaganda e uso. Os principais motivos dessas medidas cautelares estão relacionados a ausência de Autorização de Funcionamento (AFE) e a comercialização de produto sem registro, em descordo com os artigos 2º, 12 e 59 da Lei nº 6.360 /1976.

A Lei no 9.677 de 2 julho de 1998, que modifica o Capítulo II do Título VIII do Código Penal no Artigo 273 estabelece multa e pena de reclusão de 10 a 15 anos para alteração e falsificação de produto com finalidade terapêutica ou medicinal, classificando esse delito como um crime hediondo contra a saúde pública.

Dessa forma, a adulteração e falsificação de produtos, conforme observado neste estudo, são passíveis de prisão e multa. Embora existam medidas cautelares para proibir a comercialização desses produtos, eles continuam sendo encontrados no mercado, seja em lojas de produtos naturais ou na internet em novos endereços eletrônicos. Isso evidencia que, apesar das leis e medidas destinadas a inibir essa prática, ela persiste.

4. CONCLUSÃO

A análise de uma unidade do produto vendido como fitoterápico, "Saúde Total", possibilitou a identificação de pelo menos um fármaco não declarado, o que pode indicar uma adulteração do produto analisado. Para a identificação dos possíveis adulterantes, foi realizada uma extração com solvente apropriado para separar possíveis adulterantes no suposto extrato vegetal. A análise por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) desse extrato revelou quatro manchas distintas, sendo que esse perfil que não corresponde ao de um extrato vegetal típico, que é composto por misturas complexas.

Diversas metodologias foram utilizadas para tentar isolar as substâncias identificadas, incluindo Cromatografia em Coluna (CC), Cromatografia em Coluna "Flash" e Sephadex®. A CC foi a técnica que obteve melhores resultados, permitindo isolar duas, das quatro substâncias.

A identificação de um dos possíveis adulterantes foi possível através das análises de ponto de fusão, espectroscopia de infravermelho e espectro de RMN ^1H , confirmando a presença do anti-inflamatório não esteroidal ibuprofeno.

A presença de ibuprofeno, um fármaco pertencente à classe dos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), levanta preocupações significativas. Os AINEs, são usados no tratamento de dor e inflamações, mas seu uso indiscriminado pode levar a efeitos adversos graves, como problemas gastrointestinais e renais. Existe a possibilidade de consumidores do produto analisado, que muitas vezes, utilizam-no de forma contínua para tratar condições inflamatórias crônicas, estarem propensos a um risco elevado de efeitos adversos, especialmente nos casos de populações vulneráveis como idosos e pacientes com comprometimento renal.

O produto "Saúde Total" tem sido alvo de medidas cautelares pela Anvisa devido à falta de autorização de funcionamento e à comercialização de produto sem registro. No entanto, sua venda persiste em lojas de produtos naturais e pela internet, evidenciando a necessidade de maior fiscalização e conscientização pública sobre os riscos associados a produtos potencialmente adulterados.

Nesse trabalho pôde-se isolar duas substâncias através de técnicas cotidianas e relativamente simples. Todavia, mais análises devem ser realizadas para conseguir isolar e identificar os outros constituintes presentes na amostra analisada.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Consultas/ Medicamentos. Disponível em: < <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/sistemas/consulta-a-registro-de-medicamentos>>. Acesso em: 23 de jul. de 2024.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Consultas/ Produtos Irregulares. Disponível em <<https://consultas.anvisa.gov.br/#/dossie/c/?parametroProduto=saude%20total&tipoAssunto=1>>. Acesso em: 23 de jul. de 2024.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Farmacopeia Brasileira**. 6ª edição. Volume I. Brasília, 2019a.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Farmacopeia Brasileira**. 6ª edição. Volume II – Monografias: Insumos Farmacêuticos e Especialidades; Plantas Medicinais. Brasília, 2019b.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira**. 2ª edição. Brasília, 2021.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Medicamentos de Notificação Simplificada. Disponível em: < <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/sistemas/consulta-a-registro-de-medicamentos>>. Acesso em: 23 de jul. de 2024.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **RDC nº 26, de 13 de maio de 2014**. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. Ministério da Saúde, 2014.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **RDC nº 768, de 12 de dezembro de 2022**. Estabelece as regras para rotulagem de medicamentos. Ministério da Saúde, 2023.

AKHGARI, M. Some Aspect of the Problem of Adulterated Herbal Medicines by the Illegal Addition of Active Pharmaceutical Ingredients. **Journal of Clinical Toxicology**, [s.l.], v.6, n.5, p. 1-2, 2016.

ASSUNÇÃO, T. C.; RODRIGUES JUNIOR, O. M. Efeitos Adversos no uso indiscriminado de anti-inflamatórios não esteroidais: diclofenaco versus ibuprofeno. *Research Society and Development*, v.11, n. 13, p. 1-10, 2022.

BRANDÃO, F. C. et al. Avaliação da Qualidade e Caracterização Físico-Química de Piroxicam – Matéria-prima. **Latin American Journal of Pharmacy**, [s.l.], v.27, n.4, p. 560-7, 2008.

BRASIL. **Lei nº 9.677, de 2 de julho de 1998**. Altera dispositivos do Código Penal, tipificando como crime hediondo a falsificação, corrupção, adulteração ou alteração de produto destinado a fins terapêuticos ou medicinais. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 3 jul. 1998. Seção 1, p. 1.

BRASIL. **Lei nº 6.360, de 23 de setembro de 1976**. Dispõe sobre a vigilância sanitária a que ficam sujeitos os medicamentos, as drogas, os insumos farmacêuticos e correlatos, cosméticos, saneantes e outros produtos, e dá outras providências. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 24 set. 1976. Seção 1, p. 12647.

CARVALHO, L. M. Presence of synthetic pharmaceuticals as adulterants in slimming phytotherapeutic formulations and their analytical determination. **Forensic Science International**, v. 204, p.6-12, 2011.

FERREIRA, L. S.; ZUCOLOTTI, S. M. Substâncias sintéticas não declaradas em produtos a base de planta: um relato de caso. Fito ou Fake?. **Revista A Flora**, [s.l.], n.1, p.17-18, 2020.

GNOATTO, A. R. et al. Identificação de anorexígeno não declarado em produto comercializado como fitoterápico. **Brazilian Journal of Health Review**: Curitiba, v.4, n.2, p. 5385-5394, 2021.

HURTADO, R. L.; LASMAR, M.; C. Medicamentos falsificados e contrabandeados no Brasil: panorama geral e perspectivas de combate ao seu consumo. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 4, p. 891-895, 2014.

HANEEF, J. et al. Analytical methods for the detection of undeclared synthetic drugs in traditional herbal medicines as adulterants. **Drug Testing and Analysis**, v.5, p.607-613. 2013.

KONDETI, R. R.; MULPURI, K. K.; MERUGA, B. Advancements in column chromatography: A review. *World Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.2, n.9, p. 1375-1383, 2014.

LIANG, Q. et al. Rapid and reliable determination of illegal adulterant in herbal medicines and dietary supplements by LC/MS/MS. **Journal of Pharmaceutical e Biomedical Analysis**, [s.l.], v.40, p. 305-311, 2006.

LIMA, M. A.; YONAMINE, M. Counterfeit medicines: relevance, consequences and strategies to combat the global crisis. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s.l.], v.59, p. 1-16, 2023.

LOPES, W. A.; FASCIO, M. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. *Quim. Nova*, v.27, n.4, p.670-673, 2004.

MORITZ, M. I. G. Identification of Undeclared Synthetic Drugs in Herbal Products Commercialized in Brazil: The “Indiano Talun” Case. **Latin American Journal of Pharmacy**, [s.l.], v.2, p. 274-279, 2008.

NÚÑEZ, C. V. **Terpenos de Wunderlichia Crulsiana e Mikania SP**. Nov. 2000. Tese (Doutorado em Química Orgânica) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, 2000.

NATIONAL INSTITUTE OF ADVANCED INDUSTRIAL SCIENCE AND TECHNOLOGY (AIST). Spectral Database for Organic Compounds SDBS. 2-(m-benzoylphenyl)propionic acid. SDBS No.: 16627 Spectral, 1999a. Disponível em: <<https://sdb.sdb.aist.go.jp/CompoundView.aspx?sdbno=16627>>. Acesso em: 26 jul. 2024.

NATIONAL INSTITUTE OF ADVANCED INDUSTRIAL SCIENCE AND TECHNOLOGY (AIST). Spectral Database for Organic Compounds SDBS. 2-(p-isobutylphenyl) propionic acid. SDBS No.:10570 Spectral code:HSP-43-552, 1999b. Disponível em: <<https://sdb.sdb.aist.go.jp/HNmrSpectralView.aspx?imgdir=hsp&fname=HSP43552&sdbno=10570>>. Acesso em: 23 jul. 2024.

ORTIZ, R. S. Ervas da Amazônia – Produto 100% Natural? Um relato de caso. Fito ou Fake? *Revista A. Flora*, [s.l.], n.4, 2021.

RIBEIRO, G. S. **Avaliação da qualidade do fitoterápico garra do diabo (*Harpagophytum procumbens DC*) comercializado em Brasília-DF**. 2017. Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília (UnB), Brasília, 2017.

SCHENKEL, E. P. et al. Presença de substâncias sintéticas não declaradas em alguns produtos comercializados como medicamentos fitoterápicos no Brasil. Fito ou Fake? **Revista A. Flora**, [s.l.], n.3, p. 15-16, 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Counterfeit medical products: report by the Secretariat**. Sixty-third world health assembly, provisional agenda item 11.20, A62/23, 22 abr. 2010.