



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
INSTITUTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

---



AUGUSTO CEZAR MAGALHÃES ALELUIA

DETERMINAÇÃO DE MACRO E MICROELEMENTOS EM  
MEDICAMENTOS FITOTERÁPICOS

SALVADOR

2015

AUGUSTO CEZAR MAGALHÃES ALELUIA

DETERMINAÇÃO DE MACRO E MICROELEMENTOS EM  
MEDICAMENTOS FITOTERÁPICOS

Dissertação apresentada ao colegiado de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Bahia como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em química. Área de concentração: química analítica.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Luís Costa Ferreira

SALVADOR

2015

A Jeane e Pró Marilda,  
por me trazerem esta ciência!

*“We’ve all got light and dark inside us. What matters is the part we choose to  
act on...”*

J. K. Rowling , 2003.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por criar e transformar a toda instante esta vida.

Às agências de fomento CNPq, CAPES, por permitir o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Sérgio Luis Costa Ferreira, por acreditar nessa pesquisa e por ter sido a melhor base que eu poderia ter para avançar. Obrigado por estar além da ciência!

Aos meus pais Julio Cezar e Teresa Cristina, por serem sublimes e superiores a qualquer tentativa de descrição. Obrigado por nossa vida e pelo nosso amor-sem-fim.

A minha irmã Milena, pelas palavras perfeitas que convencem e pela personificação de um exemplo que me arrasta à sua excelência eternamente. Agradeço a Felipe, meu cunhado, por acompanhar todo esse processo. Muito obrigado pela energia sempre positiva.

Aos meus tios Cristiane e Frederico, por sempre permitir dividir consigo os momentos de alegria e de dificuldade, e aos tios Maristela e Cezar, por reconhecer, incentivar e vibrar – reafirmando a nobreza de seus corações.

Agradeço coletivamente ao GRPQQ e de forma singular a Mário, Dani, Bastos, Jow, Liz, Nanda Washington, Nice, Buga, Arleninha, Luana, Nuno, Gabi Marinho, Menu, Michael, Lowies, Gabrielle, Lori... Vocês são espetaculares e maravilhosos! Obrigado!

Agradeço ao meu amigo-irmão Uenderson, pela beleza de sua alma, por representar um mundo de emoções, sensações e conhecimentos, os quais tenho o prazer de compartilhar! Nada disso seria possível na sua ausência, e sabe por que? Porque você é isso! Obrigado, Uendi!

A Douglas e Jeane, pelos primeiros passos, por tantas palavras e por tantos significados.

Agradeço àqueles que vivem no mesmo coração que eu, que vivem o mesmo amor e que amam a mesma amizade. Obrigado, meus Belos Quiu, Josephyn, Ubis, Mangui, Gab, Reura, Theown, Dan, Jonnhy, XlekaPop, Bruinin, Gat, Roqui, Eme e Ruralina.

Agradeço à Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marilda de Souza Gonçalves por representar um modelo global e nobre de pesquisador-educador, por me inserir na ciência da maneira mais sábia e por me fazer acreditar nos próprios desejos. Estendo meus agradecimentos a todos do grupo de pesquisa coordenados por ela hoje, com um carinho especial a Cynara, Silvana, Paulinha, Nadja, Magda, Wendell, Joelma e Elisângela que se tornaram inesquecíveis no ano de 2011.

A todos que participaram e promoveram positivamente este trabalho. Muito obrigado!

## RESUMO

A utilização de medicamentos fitoterápicos é global, ocorrendo em diferentes classes sociais. O uso de plantas para fins medicinais foi a base para a consolidação da terapêutica utilizando fitoterápicos, os quais correspondem única e exclusivamente a produtos fabricados a partir de matéria-prima vegetal. A qualidade de um medicamento é resultado de todo o processo para a sua obtenção, desde os componentes utilizados na formulação até sua dispensação aos indivíduos. Dentre as possibilidades de desvio da qualidade com ou sem comprometimento da saúde humana destaca-se o teor de certos elementos químicos presentes nos produtos. O presente trabalho teve como objetivo determinar a partir de um método validado os macroelementos Na, K, Ca, Mg e P e os microelementos Se e Zn em medicamentos fitoterápicos comercializados em farmácias e drogarias da cidade de Salvador-Ba empregando espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e analisar os dados obtidos por ferramentas de análise exploratória, análise de componentes principais (PCA) e análise de agrupamentos hierárquicos (HCA). Para validação do método analítico proposto, foram analisados os parâmetros estabelecidos pela IUPAC. A exatidão do método foi confirmada a partir da comparação dos valores de concentração obtidos experimentalmente com os valores certificados em material de referência. A precisão, expressa pelo desvio padrão relativo (RSD), foi avaliada em duas amostras reais, variando entre 1,15 e 14,1%. Os limites de quantificação foram estabelecidos, sendo 0,0026; 0,0385; 0,0207; 0,0071; 0,0072; 0,0010 e 0,0009 mg g<sup>-1</sup> para Na, K, Ca, Mg, P, Se e Zn, respectivamente, demonstrando a sensibilidade do método. A partir das análises de PCA e HCA, foi observado a formação de grupos, o que permitiu a discriminação dos medicamentos pelas concentrações dos analitos determinados. Avaliou-se o teor dos mesmos conforme posologia indicada em bulário, evidenciando altos valores de Na e Se em algumas amostras à luz das recomendações de ingestão diária preconizadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). O emprego de ferramentas quimiométricas demonstrou-se satisfatório e eficaz para avaliação de macro e microelementos em amostras complexas.

**Palavras-chave:** fitoterápicos; macroelementos; microelementos; PCA; HCA

## ABSTRACT

Herbals medicines consume happens all over the world at different social groups. Plants destination to medicinal purpose was the base of consolidation of herbals as therapeutic manner, which corresponds exclusively to manufactured products form plant raw-material. The medicine quality is the result of the whole manufacturing process until its final product obtation, since the compounds addition into formulation up to individuals consume. Among quality deviation possibilities with or without human health damage, it's highlighted some elements concentration in these products. The present work was purposed to determine from a validated method macroelements Na, K, Ca, Mg and P and microelements Se and Zn in herbal medicines sold in pharmacies and drugstores at Salvador-Ba employing optical emission spectrometry with inductively coupled plasma (ICP OES and to analyse data obtained by exploratory tools, principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA). About validation of the analytical method proposed, IUPAC parameters were established. The accuracy was confirmed from comparison between experimental concentrations obtained and those certified in reference material. The precision, described as relative standard deviation, was established from two real samples, ranging between 1.15 and 14.1%. Limits of quantification were established 0.0026; 0.0385; 0.0207; 0.0071; 0.0072; 0.0010 and 0.0009 mg g<sup>-1</sup> for Na, K, Ca, Mg, P, Se e Zn, respectively, showing the sensibility of the method. The PCA and HCA were useful to observe grouping formation, which was possible to medicines discrimination from the determination of analytes concentrations. The analyte content was evaluated according dosage use indicated in bulls, which showed high values of Na and Se in some samples in accordance with intake daily recommendation by World Health Organization (WHO) and Agência Nacional de Vigilância SANitária (ANVISA). The employing of chemometrics techniques was effective and satisfactory to macro and microelements evaluation in complex samples.

**Key-words:** herbals; macroelements; microelements; PCA; HCA



## LISTA DE FIGURAS

Figura 2. Gráfico de pesos PC1 x PC2 .....	46
Figura 3. Gráfico de escores PC1 x PC2 .....	47
Figura 4. Gráfico de pesos PC1 x PC3 .....	48
Figura 5. Gráfico de escores PC1 x PC3 .....	48
Figura 6. Gráfico de pesos PC 1 x PC 2 para a segunda matriz.....	50
Figura 7. Gráfico de escores PC 1 x PC 2 para a segunda matriz.....	51
Figura 8. Gráfico de pesos PC 1 x PC 3 para a segunda matriz.....	52
Figura 9. Gráfico de escores PC 1 x PC 3 para a segunda matriz.....	52
Figura 10. Gráfico dos principais excipientes encontrados nos medicamentos analisados .....	53
Figura 11. Dendograma para a análise de agrupamentos hierárquicos em medicamentos fitoterápicos.....	61

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Ranking dos vinte principais fitoterápicos do mercado brasileiro e seu faturamento em percentual e em reais, no ano de 2006. ....	20
Tabela 2. Descrição das amostras de medicamentos fitoterápicos analisados	33
Tabela 3. Condições operacionais do ICP OES.....	36
Tabela 4. Coeficientes de correlação ( $R^2$ ) e faixa dinâmica de trabalho .....	37
Tabela 5. Limites de detecção (LD) e limites de quantificação (LQ) .....	38
Tabela 6. Concentrações dos analitos em duas amostras distintas e seus valores de RSD (%).....	39
Tabela 7. Comparação estatística dos resultados obtidos na análise de material certificado <i>Spinach Leaves</i> (NIST 1570a) por ICP OES. 95% de confiança ( $N=3$ ) .....	41
Tabela 8. Concentrações dos analitos nas amostras de medicamentos fitoterápicos ( $\text{mg g}^{-1}$ ).....	42
Tabela 9. Autovalores e percentual de variância cumulativo .....	44
Tabela 10. Relação entre as variáveis e as componentes principais formadas .....	45
Tabela 11. Autovalores e variâncias para a matriz de dados sem a amostras RITM, GINK e BIOS .....	49
Tabela 12. Ingestão diária recomendada (IDR) para adultos .....	54
Tabela 13. Consumo de macro e microelementos conforme posologia .....	55

## LISTA DE ABREVIATURAS

---

<b>PNPIC</b>	Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS
<b>BPFC</b>	Boas Práticas de Fabricação e Controle
<b>BPA</b>	Boas Práticas Agrícolas
<b>MAPA</b>	Ministério da Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento
<b>BPF</b>	Boas Práticas de Fabricação
<b>IFAV</b>	Insumo Farmacêutico Ativos Vegetais
<b>CP</b>	Componente principal
<b>PCA</b>	Análise de componentes principais (do inglês <i>Principal component analysis</i> )
<b>ICP OES</b>	Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (do inglês, <i>Inductively coupled plasma with optical emission spectrometry</i> )
<b>LD</b>	Limite de detecção
<b>LQ</b>	Limite de quantificação
<b>RSD</b>	Desvio padrão relativo (do inglês, <i>relative standard deviation</i> )
<b>OMS</b>	Organização Mundial da Saúde
<b>ANVISA</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b>CRM</b>	Material de Referência Certificado (do inglês, <i>certified reference material</i> )
<b>HCA</b>	Análise de agrupamentos hierárquicos (do inglês, <i>hierarchical cluster analysis</i> )

---

<b>RDC</b>	Resolução de Diretoria Colegiada
<b>NIST</b>	Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (do inglês, <i>national institute of standards and technology</i> )
<b>IDR</b>	Ingestão diária recomendada

---

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	15
1.1. MEDICAMENTOS FITOTERÁPICOS .....	15
1.1.1. <b>Aspectos gerais</b> .....	15
1.1.2. <b>Produção de fitoterápicos</b> .....	20
1.1.3. <b>Qualidade na produção</b> .....	22
1.2. MACRO E MICROELEMENTOS .....	24
1.3. TÉCNICAS EXPLORATÓRIAS.....	26
2. OBJETIVO .....	32
2.1. OBJETIVO ESPECÍFICOS .....	32
3. METODOLOGIA .....	33
3.1. PREPARO DE AMOSTRA: DIGESTÃO EM BLOCO.....	33
3.2. PREPARO DA CURVA DE CALIBRAÇÃO .....	36
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	37
4.1. VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO.....	37
4.1.1. Linearidade e faixa dinâmica de trabalho .....	37
4.1.2. <b>Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ)</b> .....	37
4.1.3. <b>Precisão</b> .....	39
4.1.4. <b>Exatidão</b> .....	40
4.2. DETERMINAÇÃO DE MACRO E MICROELEMENTOS EM MEDICAMENTOS FITOTERÁPICOS POR ICP OES.....	41
4.3. ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS.....	44
4.3.1. <b>Análise de PC1 x PC2</b> .....	46
4.3.2. <b>Análise de PC1 X PC3</b> .....	47
4.3.3. <b>Análise de PC 1 x PC 2 da segunda matriz</b> .....	50

4.3.4. <b>Análise de PC 1 x PC 3 da segunda matriz</b> .....	51
4.4. INVESTIGAÇÃO DE EXCIPIENTES.....	53
4.5. QUANTIFICAÇÃO DOS ANALITOS CONFORME POSOLOGIA .....	55
4.6. ANÁLISE DE AGRUPAMENTOS HIERÁRQUICOS .....	60
5. CONCLUSÕES.....	63
REFERÊNCIAS.....	65

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. MEDICAMENTOS FITOTERÁPICOS

#### 1.1.1. Aspectos gerais

A incorporação de substâncias ativas em formulações diversas ocorre de forma extensa na indústria farmacêutica, sejam essas substâncias sintéticas ou extraídas de produtos vegetais. O segmento da indústria que utiliza essa matéria-prima vegetal produz os medicamentos fitoterápicos, que podem apresentar um único componente, oriundo de apenas uma matriz vegetal ou uma mistura de substâncias a partir de várias plantas.

Medicamento fitoterápico é aquele obtido empregando-se exclusivamente matérias-primas ativas vegetais. É caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade. Sua eficácia e segurança é validada através de levantamentos etnofarmacológicos de utilização, documentações tecnocientíficas em publicações ou ensaios clínicos fase 3 (ensaios que comparam o novo medicamento com o medicamento padrão em estudos randomizados envolvendo de centenas a milhares de pacientes). Não se considera medicamento fitoterápico aquele que, na sua composição, inclua substâncias ativas isoladas, de qualquer origem, nem as associações destas com extratos vegetais [1].

A utilização de plantas para fins terapêuticos surgiu em tempos antigos, como uma das primeiras alternativas usadas para tratar problemas de saúde, prevenir situações indesejadas ou controlar sinais e sintomas de uma enfermidade [2].

As terapias com o uso de vegetais e minerais existem há tanto tempo quanto os seres humanos. As doenças humanas e o instinto de sobrevivência têm levado a sua descoberta ao longo das épocas. O uso de terapias, mesmo que bastante rústicas, começou antes dos registros históricos, graças ao instinto do homem primitivo de aliviar a dor de uma lesão colocando-a em água

fria, empregando folhas frescas ou protegendo-a com lama. A partir de inscrições antigas, sabe-se que os principais métodos consistiam em encantamentos espirituais, aplicação de materiais repugnantes e administração de ervas e plantas. Um dos documentos mais famosos é o papiro de Ebers (XVI a.C.), um rolo contínuo com cerca de 18 metros, cujo texto é dominado por mais de 800 formulações e prescrições que incluem mais de 700 substâncias, sendo estas predominantemente de origem vegetal [3].

O enorme volume de vegetais utilizados e sua vasta aplicação continua até o dias atuais, resultando na grande variabilidade de fitoterápicos existentes.

Os componentes da biodiversidade podem fornecer uma ampla gama de produtos de importância econômica e define fitoterápicos, originados dos recursos genéticos vegetais, como sendo aqueles medicamentos preparados exclusivamente a base de plantas medicinais. As plantas são uma fonte importante de produtos naturais biologicamente ativos, muitos dos quais se constituem em modelos para a síntese de um grande número de fármacos. Contudo, apesar da imensidão na quantidade de estruturas ativas de origem vegetal, as pesquisas e a utilização ainda são incipientes frente ao potencial medicinal desses materiais [4].

A ideia primordial na indicação do uso de fitoterápicos na medicina humana não é substituir medicamentos registrados e já comercializados mas sim ampliar as alternativas de tratamento e possibilidade de prescrições dos profissionais de saúde [3]. Essa ampliação pode ocorrer através da oferta de medicamentos equivalentes, também registrados, com espectros de ação mais adequados e, quiçá, com indicações terapêuticas complementares aos medicamentos existentes. Contudo, essa utilização sempre deve ocorrer em estrita obediência aos preceitos éticos [2] que determinaram o emprego de xenobióticos na espécie humana.

Exemplificando a contribuição terapêutica das plantas para uso humano, evidenciando a magnitude dos seus efeitos farmacológicos sobre os diferentes estados de saúde, vegetais do gênero *Phyllanthus* têm sido empregados na medicina popular para o tratamento de cálculos renais e urinários, infecções intestinais, diabetes e hepatite. Alguns dos constituintes isolados dessas



plantas, como os flavonóides, taninos, alcalóides, cumarinas, lignanas e terpenos parecem ser os principais responsáveis pelas ações analgésica, antiinflamatória, antiviral, hipoglicemiante, antiespasmódica e antialérgica das mesmas [4].

A utilização de plantas medicinais em sua forma natural diferencia do uso de medicamentos fitoterápicos, uma vez que a administração em humanos de produtos obtidos da transformação do vegetal cru é baseada na cultura popular, transmitida através das gerações, muitas vezes misturada a conceitos religiosos e saberes populares.

A obtenção de um produto acabado, formulado para atingir um alvo biológico humano, surge a partir da extração de um ou mais componentes ativos das plantas com propriedades farmacológicas e físico-químicas definidas, em sua forma farmacêutica adequada, e isso inclui também a adequação dos excipientes utilizados, resultando no medicamento fitoterápico. A linha para produção desses medicamentos segue os mesmos parâmetros que os medicamentos de origem não-vegetal. Não dispensa os estudos prévios de análise de ação farmacológica e perfil de segurança, além dos ensaios pré-clínicos, clínicos e toxicológicos.

O desenvolvimento sócio-econômico acompanhado do crescimento intelectual da população revela uma crescente utilização de medicamentos fitoterápicos em detrimento ao uso de plantas medicinais em sua forma natural, já que se observa uma maior preocupação na qualidade do efeito a ser obtido e na garantia da segurança para a saúde humana. As prescrições médicas contendo fitoterápicos contribui para o consumo consciente da população, além de educá-los sobre essa alternativa no tratamento medicamentoso [2].

O espectro de ação do uso da planta natural pode diferenciar em muitos aspectos dos efeitos obtidos após administração de um fitoterápico. A qualidade de um extrato vegetal está diretamente relacionada aos efeitos das substâncias ativas, enquanto que a qualidade de um medicamento fitoterápico depende de toda a marcha para sua produção, desde as pesquisas dos componentes biologicamente ativos, os quais muitas vezes são protótipos para

o desenvolvimento de novas substâncias, até as fases de comercialização, transporte, armazenamento e dispensação para população.

Os medicamentos fitoterápicos apresentam-se em diversas formas farmacêuticas, sendo as principais: cápsulas, comprimidos – que podem ser revestidos – xaropes e soluções. Essas formas pretendem atender às necessidades da população e facilitar a adesão por parte dos pacientes, uma vez que adultos ingerem mais as formas sólidas, enquanto crianças e alguns idosos, as formas líquidas.

Em 2006 foram criadas a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS (PNPIC). Ambas resultam de um grande esforço por parte da população, gestores de saúde, pesquisadores, dentre outros atores, que evidenciaram a importância da utilização desses medicamentos e das plantas medicinais como tratamento de diversas doenças e problemas de saúde, o que ampliou as opções terapêuticas.

A implementação da Fitoterapia no SUS representa, além da incorporação de mais uma terapêutica ao arsenal de possibilidades de tratamento à disposição dos profissionais de saúde, o resgate de uma prática milenar, onde se imbricam o conhecimento científico e o conhecimento popular e seus diferentes entendimentos sobre o adoecimento e as formas de tratá-lo. Pelo fato de o uso da Fitoterapia se embasar nesses dois tipos de conhecimento, aparentemente divergentes, resultam entendimentos diferentes sobre seu uso [5].

Além das pessoas que utilizam fitoterápicos com a finalidade de combater uma doença ou problema de saúde, existem aqueles que utilizam tais produtos com o objetivo de perder peso, manter uma boa saúde ou até melhorar o apetite sexual, com a percepção de que esses fitoterápicos são seguros [6]. Entretanto, sabe-se que os perfis de segurança e eficácia desses não são completamente estabelecidos. Efeitos adversos e interações medicamentosas podem ocorrer, se tornando um problema durante sua administração [6].

O uso tradicional de diversas plantas medicinais baseado em conhecimentos populares, aliado à crença de que, por ser natural não causam reações adversas, fez com que poucas plantas medicinais fossem avaliadas através de estudos pré-clínicos e clínicos, a fim de comprovar sua eficácia e segurança. Além disso, sabe-se que muitos desses vegetais apresentam substâncias que podem desencadear reações adversas, seja por seus próprios componentes, seja pela presença de contaminantes ou adulterantes presentes nas preparações fitoterápicas, exigindo um rigoroso controle de qualidade desde o cultivo, coleta da planta, extração de seus constituintes, até a elaboração do medicamento final [7].

A toxicidade de medicamentos preparados com plantas pode parecer trivial, quando comparada com os tratamentos convencionais, entretanto é um problema sério de saúde pública. Plantas medicinais podem desencadear reações adversas pelos seus próprios constituintes, devido a interações com outros medicamentos ou alimentos, ou ainda relacionados a características do paciente (idade, sexo, condições fisiológicas, características genéticas, entre outros). Erros de diagnóstico, identificação incorreta de espécies de plantas e uso diferente da forma tradicional podem ser perigosos, levando a superdose, inefetividade terapêutica e reações indesejadas [8].

As pesquisas realizadas para avaliação do uso seguro de plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil são incipientes, assim como o controle da comercialização pelos órgãos oficiais em feiras livres, mercados públicos ou lojas de produtos naturais [9]. Muitas vezes ocorrem adulterações propositais e não declaradas com substâncias farmacêuticas potentes como corticóides, antidepressivos e anorexígenos. Efeitos adversos também podem advir da contaminação por agrotóxicos, metais pesados e microrganismos [9].

A Fitoterapia constitui uma forma de terapia medicinal que vem crescendo notadamente nestes últimos anos, ao ponto que atualmente o mercado mundial de fitoterápicos gira em torno de aproximadamente 22 bilhões de dólares. Dentro desta perspectiva, esperar-se-ia que o Brasil fosse um país privilegiado, considerando sua extensa e diversificada flora, detendo aproximadamente um terço da flora mundial. No entanto, nosso país não tem

uma atuação destacada no mercado mundial de fitoterápicos, ficando inclusive atrás de países menos desenvolvidos tecnologicamente [10].

### 1.1.2. Produção de fitoterápicos

O faturamento obtido no mercado de medicamentos fitoterápicos pode revelar uma grande utilização desses produtos por parte da população. Semelhante ao mercado farmacêutico (não-fitoterápico), o segmento fitoterápico é concentrado em algumas empresas e produtos. Apresentam-se na Tabela 1 os valores dos vinte principais produtos do mercado brasileiro pelo faturamento de 2006, responsáveis por mais de 67% do faturamento global do segmento [11].

Tabela 1. Ranking dos vinte principais fitoterápicos do mercado brasileiro e seu faturamento em percentual e em reais, no ano de 2006.

<b>Ranking</b>	<b>Produto</b>	<b>Faturamento (%)</b>	<b>Milhões (R\$)</b>
1º	Tamarine	13,85	74,8
2º	Eparema	6,37	34,4
3º	Naturetti	6,06	32,7
4º	Tebonim	4,55	24,6
5º	Plantaben	4,24	22,9
6º	Abrilar	3,39	18,3
7º	Metamucil	3,21	17,3
8º	Pasalix	3,19	17,2
9º	Passiflorine	2,57	13,9
10º	Maracugina	2,45	13,2
11º	Vecasten	2,29	12,4
12º	Tanakan	2,04	11,0
13º	Equitam	1,90	10,3

14º	Giamebil	1,81	9,8
15º	Serenus	1,72	9,3
16º	Novarrutina	1,68	9,1
17º	Valeriane	1,68	9,1
18º	Climadil	1,53	8,3
19º	Calman	1,52	8,2
20º	Hemovirtus	1,41	7,6

Fonte: Adaptado de Freitas, 2007 [11].

Dos cinco primeiros medicamentos, três são laxantes (Tamarine, Naturetti e Plantaben), o que demonstra uma grande procura pela população por medicamentos fitoterápicos com o propósito de aliviar problemas relacionados à obstipação intestinal. A escolha por esses produtos, em detrimento de substâncias sintéticas de origem não-vegetal, pode ser explicada pela menor agressão ao sistema digestivo causada pelos fitoterápicos, trazendo maior segurança na utilização.

Os ansiolíticos respondem por 13,1% do total do mercado fitoterápico nacional, com mais de 200 milhões de reais de faturamento. A segunda posição, ocupada pelo Eparema, para problemas hepatobiliares, é igualmente marcante com um grande faturamento, além dos produtos à base de *Ginkgo biloba*, para insuficiência venosa cerebral [11].

Assim, apesar da indiscutível predominância de espécies exóticas no mercado brasileiro, já é visível a presença de iniciativas em pesquisa e desenvolvimento (P&D) com plantas nativas. O medicamento Giamebil®, produzido a partir de extratos de *Mentha crispera* L. para parasitoses intestinais, é certamente o fitoterápico pioneiro do mercado brasileiro. Desenvolvido por interação universidade - empresa na região nordeste do país, conta com um faturamento expressivo na casa dos 10 milhões de reais por ano [12].

O exagero no custo do desenvolvimento de medicamentos serve aos interesses internacionais de duas formas: para justificar os altos preços de venda de seus produtos e para desencorajar companhias farmacêuticas de

países em desenvolvimento a investir na descoberta de novos medicamentos devido aos custos proibitivos [13].

Muito embora haja produção nacional de fitoterápicos, a grande parte dos extratos produzidos já foram consolidados em pesquisas anteriores. Ocorre uma fabricação de novas formulações (novas marcas) das já conhecidas plantas medicinais utilizadas, a exemplo da enorme variedade de marcas a base do vegetal *Ginkgo biloba*. A diversidade encontrada nos preços de compra desses produtos se deve, entre outros fatores, aos excipientes utilizados na produção; substâncias modernas obtidas de abordagens tecnológicas atuais podem fornecer uma maior qualidade às formulações no que se refere aos aspectos farmacotécnicos.

A experiência brasileira recente de desenvolvimento de um produto anti-inflamatório tópico à base do óleo essencial da espécie *Cordia verbenaceae* (Acheflan®), embora de fato não seja o primeiro fitoterápico genuinamente nacional como se apregoa, tem relevância tanto pela qualidade da suas pesquisas quanto pelo exemplo concreto do custo real de um desenvolvimento nacional. Desse modo, a pesquisa e desenvolvimento de fitoterápicos parecem ser possíveis a qualquer empresa farmacêutica a custos reais e acessíveis. Exemplos de desenvolvimentos nacionais constituem-se em fatores de estímulo a que novas empresas adentrem a esse campo inovador [14].

### 1.1.3. Qualidade na produção

O uso de fitoterápicos para aliviar e tratar muitas doenças humanas tem aumentado por todo o mundo devido às vastas aplicabilidades e baixos efeitos colaterais [15]. Contudo, o interesse na composição química de medicamentos fitoterápicos está crescendo por causa dos desenvolvimentos contínuos nas pesquisas em nutrição e bioquímica e prospecção mineral [16].

A qualidade desses produtos deve ser assegurada com o controle de todas as etapas de sua produção, isto é, desde as Boas Práticas Agrícolas (BPA), as Boas Práticas de Fabricação e Controle (BPFC) de insumos até a

fabricação. As BPA no Brasil são controladas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), não sendo de responsabilidade da ANVISA. O controle por parte da ANVISA começa com as Boas Práticas de Fabricação (BPF) dos Insumos Farmacêuticos Ativos Vegetais (IFAV) [17].

Os métodos utilizados no controle de qualidade devem estar presentes em farmacopeias reconhecidas ou serem validados. No caso de utilização desses compêndios reconhecidas pela ANVISA, deve-se realizar os testes constantes nela como obrigatórios, assim como anexar a cópia do documento original acompanhada da respectiva tradução. Qualquer teste não realizado precisa ser justificado tecnicamente. Caso haja metodologia ou monografia para o IFAV específico em farmacopeia reconhecida pela ANVISA e a empresa prefira utilizar outro método validado por ela, esse precisa ser tecnicamente equivalente ou superior ao estabelecido no compêndio reconhecido [17]

Atualmente 10 farmacopéias estrangeiras são reconhecidas pela Anvisa: Farmacopéias Alemã, Americana, Argentina, Britânica, Europeia, Francesa, Internacional (OMS), Japonesa, Mexicana e Portuguesa, segundo a RDC (resolução de diretoria colegiada) nº 37/2009 [18].

As farmacopeias citadas apresentam testes para controle de qualidade de medicamentos no que se refere à presença de contaminantes químicos. Esse controle pode ser realizado quantitativamente através de técnicas descritas em cada compêndio.

No tocante aos metais, é sabido que os ensaios de controle de qualidade incorporam testes para avaliação qualitativa e quantitativa dos mesmos, ainda que esses testes sejam majoritariamente realizados na droga vegetal utilizada para produção, como evidenciado na RDC nº 26 de 2014 do Ministério da Saúde, cujo artigo 13 obriga o fabricante a apresentar o laudo de análise de droga vegetal, indicando o método utilizado, especificação e resultados obtidos para um lote do ensaio de teste de pureza e integridade que inclui determinação de metais pesados, dentre outros ensaios [19].

A escolha de uma metodologia analítica adequada é de fundamental importância para o procedimento do controle de qualidade de uma substância ativa ou forma farmacêutica [20]. A aplicabilidade dos métodos oficiais na

análise de medicamentos nem sempre é possível de ser realizada, considerando a grande diversidade das formulações.

## 1.2. MACRO E MICROELEMENTOS

A produção de medicamentos fitoterápicos utiliza vegetais cultivados sob condições às vezes desconhecidas. A qualidade da água e do solo interfere diretamente na qualidade do produto final, uma vez que as plantas absorvem os nutrientes do solo para seu desenvolvimento. Contaminantes inorgânicos podem se acumular nos diferentes tecidos vegetais, permanecendo em seus extratos. Os processos de obtenção da matéria-prima vegetal para produção de medicamentos fitoterápicos não eliminam esses contaminantes, os quais podem ser transferidos de forma direta para os medicamentos em sua linha de fabricação, já que a formulação dos mesmos incorpora os extratos e outros componentes obtidos das plantas medicinais.

Diferentes elementos químicos podem causar reações de toxicidade no homem a depender da quantidade ingerida e da frequência de exposição [21].

A noção de que alguns metais têm efeitos positivos na saúde é baseada em conceitos antigos, os quais não são mais sustentados à luz da ciência moderna. Portanto, metais potencialmente tóxicos não devem estar presentes em medicamentos fitoterápicos, a não ser que haja evidência científica suficiente que comprove seu benefício. Entretanto, os riscos associados com a presença de metais em fitoterápicos são notáveis [22].

É sabido que o selênio é o componente crítico de proteínas participantes em várias funções biológicas, tais como defesa antioxidante, redução da inflamação, produção de hormônio tireoidiano e fertilidade [23-24]. Contudo, o selênio pode induzir reações tóxicas em níveis variados a partir da ingestão normal na dieta humana [25-26].

O zinco é um elemento traço essencial para a função e metabolismo normais da célula [27]. O fígado é importante para a regulação da homeostase do zinco e de outros elementos traço, ao passo que o mesmo é necessário



para o funcionamento hepático adequado [28]. É um componente de uma enorme variedade de enzimas, incluindo polimerases ribonucleicas, álcool desidrogenase, anidrase carbônica e fosfatase alcalina [29]. Dentre os sinais e sintomas mais importantes sobre a toxicidade do zinco, observa-se irritação gastrointestinal, vômito, febre, náusea e diarreia [30-31].

O magnésio ( $Mg^{2+}$ ) é o segundo cátion mais abundante dentro da célula. Desempenha importante papel em uma variedade de reações bioquímicas e funções celulares fundamentais, incluindo ciclo celular, regulação de canais, estabilidade dos ácidos nucleicos e membranas, além de ser cofator de centenas de enzimas [32]. A homeostase do magnésio no homem é controlada basicamente pela excreção renal. A excreção urinária aumenta quando a ingestão do elemento é excessiva, enquanto que a reabsorção renal é aumentada em situações de privação do magnésio [33]. Disfunções renais, doenças crônicas ou problemas de saúde que comprometem diretamente a função renal, podem influenciar no equilíbrio do íon magnésio no corpo humano. Além disso, um aumento da ingestão desse elemento químico pode iniciar um problema de saúde ou até mesmo agravar uma condição já existente [21].

A nível celular, o  $Ca^{2+}$ , a forma ionizada do cálcio elementar, é essencial para o fluxo de corrente elétrica através das membranas excitáveis, fusão e liberação de vesículas de armazenamento e contração muscular. No líquido extracelular, quando em concentrações milimolares, promove a coagulação sanguínea e atua na formação e contínua remodelagem do esqueleto [21]. Encontra-se em equilíbrio no organismo a partir da renovação corporal que acontece envolvendo o intestino, o tecido ósseo e os rins, sendo regulado também por hormônios específicos. Esse equilíbrio é afetado em situações patológicas, quando ocorre depleção ou acúmulo de cálcio de forma inapropriada [21].

Biologicamente o fósforo encontra-se nas formas orgânica e inorgânica. No líquido extracelular, a maior parte é encontrada como fosfato inorgânico, na forma de  $NaH_2PO_4$  e  $Na_2HPO_4$ , não existindo fósforo elementar livre no organismo humano. É constituinte principal das moléculas energéticas (ATP)

fornecendo energia para as reações bioquímicas celulares através da quebra das ligações entre os átomos de fósforo [21].

O fosfato é absorvido pelo trato gastrointestinal, onde também é secretado em grau limitado. Seu processo de absorção é estimulado pela vitamina D. Apresenta-se conjugado ao cálcio na forma de hidroxapatitas no osso, com o qual é regulado também por hormônios [21]. A presença de sais contendo íons fosfatos em quantidades elevadas nas formulações de medicamentos pode então contribuir para uma alta absorção desses componentes e interferir na homeostase corporal.

O sódio é o íon mais importante do espaço extracelular e a manutenção do volume do líquido extracelular depende do balanço de sódio. Pode haver alterações no equilíbrio de sódio plasmático, aumentando ou diminuindo sua concentração, ocorrendo hiper ou hiponatremia. As primeiras manifestações da hipernatremia são: agitação, letargia e irritação [34]. Além disso, a elevação dos níveis plasmáticos ou séricos ativam os mecanismos compensatórios fisiológicos, aumentando a pressão arterial, o que pode se tornar patológico a longo prazo.

O potássio é um íon predominantemente intracelular. Do ponto de vista clínico, a hiperpotassemia (aumento dos níveis plasmáticos de potássio) pode manifestar-se desde a ausência de qualquer sintoma até parada cardíaca. As células excitáveis do coração e as fibras neuromusculares são mais sensíveis a altos valores de potássio, o que pode levar a fraqueza, paralisia muscular (inclusive respiratória) e alterações cardíacas. Dentre as causas para hiperpotassemia destaca-se a carga de potássio exógena, que pode ser proveniente de qualquer fonte, como alimentos, líquidos, medicamentos, entre outros substratos [34].

### 1.3. TÉCNICAS EXPLORATÓRIAS

Os métodos de estatística multivariada são utilizados com o propósito de simplificar ou facilitar a interpretação do fenômeno que está sendo estudado

através da construção de índices ou variáveis alternativas que sintetizam a informação original dos dados [35]. Para as análises químicas, os dados provenientes das determinações analíticas são organizados em uma matriz de dados, a qual servirá como ponto de partida para a análise estatística.

Um dado vetor aleatório  $w$  apresenta seus componentes  $w_1, w_2, \dots, w_n$ , os quais representam variáveis. Tais variáveis podem ser, para uma análise química, intensidades, absorvâncias e até concentrações de determinados elementos químicos. Estatisticamente, a variância revela o quão disperso encontram-se todos os valores de uma variável em relação à sua média. Já a covariância mede o grau de relacionamento linear entre duas variáveis aleatórias [35]. Para o processo de análise multivariada, ambas podem ser utilizadas. Embora a covariância evidencie relacionamento linear, essa não é a medida mais adequada; a correlação avalia o grau de relacionamento linear entre duas variáveis quantitativamente, já que seus valores estão entre os valores de referência -1 e 1. Uma grande quantidade de valores exige a construção de uma matriz de covariância ou correlação [35].

A partir da decomposição da matriz de dados, obtem-se os autovalores, e então seus autovetores. Os componentes de cada vetor são então divididos pelo seu comprimento gerando o vetor correspondente normalizado, cuja resolução fornecerá a matriz ortogonal. A ligação de variáveis por interdependência gera uma variável nova chamada de fator ou componente principal e seu valor numérico - score - é calculado para cada componente amostral [35].

A dispersão de uma componente principal é chamado de autovalor. Os autovalores são classificados em ordem decrescente e seu número é igual ao número de variáveis iniciais. Cada componente ou fator corresponde a um autovalor. Costuma-se admitir os primeiros autovalores diferentes de zero. Os autovetores que geram os eixos dos fatores são os autovetores da matriz de correlação associados aos autovalores [36].

A primeira componente principal obtida é sempre a de maior representatividade em termos de variância total e a  $n$ -ésima é sempre a de

menor representatividade. Objetiva-se a construção de  $k$  componentes principais, sendo que  $k < n$ , a partir das combinações lineares construídas.

A obtenção das componentes principais (CPs) envolve a decomposição da matriz de covariâncias do vetor aleatório de interesse. Pode-se proceder também ao escalonamento dos dados (padronização) resultando em valores centrados na média. Então obtém-se as CPs a partir desse novo conjunto. Uma vez determinada as CPs, os seus valores numéricos (escores), podem ser calculados para cada elemento amostral.

É importante saber o quanto cada componente principal contribui para a variância total, em percentual. Dessa forma, as componentes mais representativas vão conter as informações mais relevantes sobre o conjunto de dados amostrais. Para a escolha das  $k$  componentes principais aponta-se: a análise da representatividade de cada CP em relação à variância total, a análise da qualidade de aproximação da matriz de covariâncias ou correlação e a análise prática dos componentes [35].

A combinação linear das CPs corresponde a rotação dos eixos espaciais coordenados para que então a variância explicada de cada CP seja maximizada. Essa técnica permite a redução do maior para o menor espaço dimensional objetivando a simplificação da representação gráfica [37].

A análise de componentes principais (PCA) é um método de reconhecimento padrão não supervisionado. Descreve a relação de matrizes de dados multidimensionais entre variáveis e objetos de forma ajustada e abrangente, reduzindo grandemente os dados e apresentando diferentes maneiras para interpretação. Em termos matemáticos, PCA depende da decomposição de autovetores das matrizes de covariância ou correlação [38]. Sua ideia central baseia-se na quantificação da significância das variáveis que explicam os padrões e agrupamentos observados das propriedades inerentes dos objetos individuais [39].

Em particular, a análise de componentes principais é uma potente técnica de redução de dados, que tem como objetivo explicar a maior parte da variância dos dados enquanto reduz o número de variáveis para poucas componentes não relacionadas representativas, que compõem a análise [40].

Essa técnica é comumente utilizada na redução de dados para identificar um número pequeno de fatores que explicam a maior parte da variância observada em um número grande de variáveis. A análise de componentes principais também pode ser usada para gerar hipóteses em relação à mecanismos casuais ou separar variáveis para análises subsequentes [41].

A análise de agrupamentos, também conhecida como análise de conglomerados, classificação ou *cluster*, tem como objetivo dividir os elementos da amostra, ou população, em grupos de forma que os elementos pertencentes a um mesmo grupo sejam similares entre si com respeito às variáveis (características) que neles foram medidas, e os elementos em grupos diferentes sejam heterogêneos em relação a estas mesmas características [35].

Análise de agrupamento é o termo aplicado a um número de técnicas que permitem dividir um conjunto de objetos em muitos grupos. Assim objetos de um mesmo grupo são mais similares entre si quando comparados a objetos de grupos diferentes [42].

A construção de *clusters* ou grupamentos pode ser de forma hierárquica ou não hierárquica. As técnicas hierárquicas, na maioria das vezes, são utilizadas em análises exploratórias dos dados com o intuito de identificar possíveis grupamentos e o valor provável do número de grupos [35].

Em se tratando da hierarquia dos conglomerados formados, é possível a construção de um dendograma, cuja estrutura reflete a formação dessa hierarquia.

O dendograma é um gráfico em forma de árvore no qual a escala vertical indica o nível de similaridade. No eixo horizontal são marcados os elementos amostrais numa ordem conveniente relacionada à história de agrupamento. As linhas verticais, partindo dos elementos amostrais agrupados, têm altura correspondente ao nível em que os elementos foram considerados semelhantes, isto é, a distância do agrupamento ou o nível de similaridade [35].

A análise de agrupamentos, então, é baseada no conceito de similaridade. O modo mais fácil e intuitivo para definir matematicamente a similaridade entre dois objetos é baseado na distância Euclidiana [43]. No plano cartesiano, admitindo-se os pontos A ( $x_1; y_1$ ) e B ( $x_2; y_2$ ), sua distância Euclidiana pode ser calculada de acordo a Equação 1 abaixo:

$$d_{AB} = \{(x_2-x_1)^2 + (y_2-y_1)^2\}^{1/2}$$

Equação 1

Uma vez que o primeiro grupo é formado, é necessário definir a similaridade entre o novo grupo e os objetos remanescentes [44]. O modo como ocorre a ligação entre os grupos ou entre os objetos e ainda entre grupos e objetos se dá através de algoritmos, sendo estes de cinco tipos: ligação simples (método do vizinho mais próximo), ligação completa (método do vizinho mais distante), método de Ward (obtido com dados de variância), método da média das distâncias e método do centróide (utiliza a distância entre os vetores das médias) [35].

A escolha do algoritmo mais apropriado requer a análise prévia dos dados, especialmente sobre a ordem de grandeza dos mesmos. O auto escalamento dos dados é imprescindível, pois permite a harmonização dos valores. Para escalar, a matriz de dados é subtraída da média e dividida pelo desvio padrão.

As ferramentas estatísticas comentadas podem ser complementares entre si, permitindo a análise de um conjunto de dados no que se refere às possibilidades de classificação e separação. É possível extrair informações conclusivas sobre a organização, distribuição e importância de dados individuais e variáveis de um estudo a partir das observações analíticas dos gráficos gerados na análise multivariada.

A aplicação de PCA e HCA pode ser exemplificada na caracterização multivariada de fitoterápicos e seus respectivos solos de cultivo vegetal acerca

de diversos elementos químicos, evidenciando a quimiometria como estratégia de exploração das fontes naturais e antropogênicas desses elementos em amostras complexas [45].

A análise de componentes principais é uma excelente técnica para discriminar plantas medicinais ou medicamentos fitoterápicos para controle de qualidade. O método quantitativo de similaridade é um método matemático valioso e rápido para comparar formulações de fitoterápicos e até amostras vegetais cruas [46].

## 2. OBJETIVO

Determinar e avaliar o teor de Ca, K, Mg, Na, P, Se e Zn em amostras de medicamentos fitoterápicos comercializados em farmácias e drogarias de Salvador-Ba por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), através de ferramentas quimiométricas.

### 2.1. OBJETIVO ESPECÍFICOS

- Determinar a concentração dos elementos Ca, K, Mg, Na, P, Se e Zn nas amostras de medicamentos empregando ICP OES;
- Avaliar o teor dos macro e microelementos e a distribuição dos mesmos nas amostras a partir da análise de componentes principais e da análise de agrupamentos hierárquicos;
- Investigar os excipientes utilizados nas formulações, a fim de avaliar se os elementos químicos determinados são provenientes desses excipientes ou da matriz vegetal;
- Calcular a ingesta dos elementos determinados conforme a posologia indicada para utilização de cada medicamento fitoterápico;
- Avaliar as concentrações dos macro e microelementos à luz da legislação vigente.



### 3. METODOLOGIA

#### 3.1. PREPARO DE AMOSTRA: DIGESTÃO EM BLOCO

30 amostras de medicamentos fitoterápicos foram adquiridas em farmácias e drogarias no município de Salvador-Ba. A composição vegetal, indicação terapêutica e a forma farmacêutica de cada medicamento está descrito na Tabela 2. As amostras sólidas (comprimido e drágea) foram pulverizadas empregando gral com pistilo de porcelana, a fim de se obter um pó fino e homogêneo. As amostras sob a forma de cápsula apenas tiveram seus invólucros removidos, uma vez que o conteúdo das mesmas já se encontram como um pó fino.

Tabela 2. Descrição das amostras de medicamentos fitoterápicos analisados

<b>Amostra</b>	<b>Composição (espécie vegetal)</b>	<b>Indicação terapêutica</b>	<b>Forma farmacêutica</b>
<b>CASB</b>	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Insuf. Venosa	Comprimido
	<i>Valeriana officinalis, Crataegus oxyacantha,</i>	Calmante	Comprimido
<b>SOMI</b>	<i>Passiflora incarnata</i>		
<b>GINK</b>	<i>Ginkgo biloba</i>	Problemas vasculares	Comprimido
<b>GINM</b>	<i>Ginkgo biloba</i>	Problemas vasculares	Comprimido
<b>BIOS</b>	<i>Mikania glomerata</i>	Expectorante	Xarope
	<i>Chamomilla recutita,</i>	Calmante	Solução
<b>CALI</b>	<i>Cymbopogon citratus, Citrus sinensis, Passiflora alata</i>		
<b>JOAC</b>	<i>Echites peltata,</i>	Problemas	Solução

	<i>Chondrodendron platiphyllum,</i> <i>Plumeria lancifolia,</i> <i>Romasrinus officinalis,</i> <i>Gossypium herbaceum</i>	menstruais	
<b>GUAV</b>	<i>Nasturtium officinale, Mikania glomerata, Cephaelis ipecacuanha, Aconitum napellus, Plygala senega, Myroxylon balsamum</i>	Expectorante	Xarope
<b>GUAN</b>	<i>Mikania glomerata</i>	Expectorante	Xarope
<b>RITM</b>	<i>Passiflora incarnata</i>	Calmante	Cápsula
<b>EPAL</b>	<i>Peumus boldus</i>	Problemas hepatobiliares	Cápsula
<b>HEPA</b>	<i>Cynara scolymus</i>	Problemas hepatobiliares	Gotas
<b>HEVE</b>	<i>Hedera helix</i>	Expectorante	Xarope
<b>JAPA</b>	<i>Anacardium occidentale, Pilocarpus microphyllus, Syzygium jambolanum, Bauhinia forficata, Myrcia sphaerocarpa, Bowdichia major</i>	Hipoglicemiante	Solução
<b>ARLI</b>	<i>Hedera helix</i>	Expectorante	Xarope
<b>SPIR</b>	<i>Spirulina maxima</i>	Complemento dietético	Cápsula
<b>SOYN</b>	<i>Glycine max</i>	Menopausa	Cápsula
<b>VART</b>	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Insuf. Venosa	Cápsula
<b>ESPN</b>	<i>Maytenus ilicifolia</i>	Dispepsia	Cápsula

<b>FIGA</b>	<i>Cynara scolymus, Rosmarinus officinalis, Peumus boldus, Heckeria umbellata</i>	Problemas hepatobiliares	Solução
<b>BRON</b>	<i>Eucalyptus globulus</i>	Expectorante	Xarope
<b>PEIT</b>	<i>Mikania glomerata</i>	Expectorante	Xarope
<b>EXPC</b>	<i>Mikania glomerata</i>	Expectorante	Xarope
<b>CALM</b>	<i>Passiflora incarnata, Crataegus oxyacantha, Salix alba</i>	Calmante	Comprimido
<b>ALCV</b>	<i>Cynara scolymus</i>	Problemas hepatobiliares	Comprimido
<b>GARR</b>	<i>Harpagophytum procumbens</i>	Antiinflamatório	Comprimido
<b>CATT</b>	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Insuf. Venosa	Drágea
<b>SEAK</b>	<i>Passiflora incarnata</i>	Calmante	Comprimido
<b>VALE</b>	<i>Valeriana officinalis</i>	Calmante	Comprimido
<b>VARX</b>	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Insuf. Venosa	Comprimido

Toda a vidraria utilizada foi previamente descontaminada em solução de ácido nítrico 10% (v/v) (Chemis) por 24 h. Após esse período, os utensílios foram lavados com água Milli-Q e dispostos a secagem para posterior utilização.

A massa de 0,2 g das apresentações líquidas, assim como do conteúdo pulverizado dos medicamentos sólidos, foi adicionada a tubos de digestão e, em seguida, misturada a 2 mL de ácido nítrico concentrado bidestilado e 2 mL de peróxido de hidrogênio 30% (v/v) (Merck, Darmstadt, Alemanha). Esses tubos foram aquecidos a 150°C por 4 horas em bloco digestor com sistema de resfriamento por dedo frio (modelo TE-040/25 - TECNAL, São Paulo, Brasil) [47].

### 3.2. PREPARO DA CURVA DE CALIBRAÇÃO

Preparou-se uma solução multielementar de Na, K, Ca, Mg, P, Zn e Se a partir de solução padrão aquosa 4000 mg L<sup>-1</sup> (Na, K, Ca, Mg e P) e 1000 mg L<sup>-1</sup> (Se e Zn) (Merck, Darmstadt, Alemanha). A faixa de concentração dos macroelementos variou entre 1 e 100 mg L<sup>-1</sup>. Os microelementos variaram entre 0,02 e 10 mg L<sup>-1</sup>. Para os elementos Se e Zn, uma solução intermediária contendo 50 mg L<sup>-1</sup> foi realizada, a partir da qual as alíquotas foram retiradas para a solução multielementar final. Essa solução foi preparada em meio ácido.

Todas as soluções foram obtidas utilizando água ultrapura obtida a partir do sistema Milli-Q (18.2 MΩ cm<sup>-1</sup>) (Millipore, MA, EUA).

A curva de calibração foi construída a partir da determinação dos elementos supracitados utilizando espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (Varian, modelo Vista PRO - Mulgrave, Austrália). A Tabela 3 contempla as condições de funcionamento desse equipamento.

Tabela 3. Condições operacionais do ICP OES

<b>Parâmetros</b>	<b>Especificações</b>
<b>RF gerador de frequência (MHz)</b>	40
<b>RF potência (kW)</b>	1.0
<b>Vazão do plasma (L min<sup>-1</sup>)</b>	15.0
<b>Vazão do gás auxiliar (L min<sup>-1</sup>)</b>	1.5
<b>Pressão do nebulizador (KPa)</b>	200
<b>Sistema de nebulização</b>	V-Groover com câmara de spray de PTFE <i>Sturman-Masters</i>
<b>Linhas espectrais selecionadas (nm)</b>	Ca(II) 422.673 Na(I) 588.995 P(I) 213.618 K(II) 769.897 Zn(II) 213.857 Mg(II) 280.270 Se (II) 196.026

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO

#### 4.1.1. Linearidade e faixa dinâmica de trabalho

A determinação dos analitos em estudo ocorreu conforme as recomendações da IUPAC no tocante à linearidade da curva analítica de calibração [48]. A linearidade refere-se à capacidade do método de gerar resultados linearmente proporcionais à concentração do analito, enquadrados em faixa analítica especificada [49]. A Tabela 4 apresenta os coeficientes de correlação e a faixa dinâmica de trabalho para cada elemento.

Tabela 4. Coeficientes de correlação ( $R^2$ ) e faixa dinâmica de trabalho

Elemento	$R^2$	Faixa dinâmica ( $\text{mg L}^{-1}$ )
Ca	0,9991	0,4155 – 100
P	0,9997	0,1448 – 100
Na	0,9989	0,0530 – 100
K	0,9992	0,7700 – 100
Mg	0,9996	0,1420 – 100
Se	0,9993	0,0210 – 10
Zn	0,9990	0,0180 – 10

#### 4.1.2. Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ)

Os parâmetros de limite de detecção e limite de quantificação estão relacionados, mas têm definições distintas e não devem ser confundidos.

Durante a execução de um método analítico, a intenção é definir a menor concentração do analito que pode ser detectada sem garantia do viés ou imprecisão que ocorre sobre a determinação; definir a concentração na qual a quantificação é estabelecida conforme o viés e a precisão (sendo viável); e, finalmente, definir a concentração na qual o analito pode ser quantificado à luz de uma resposta linear [50]. Então, o LD é tido como a menor concentração do analito numa amostra que pode ser detectado, mas não necessariamente quantificado, sob as condições estabelecidas do teste. O LQ é a menor concentração do analito em uma amostra que pode ser determinado com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas [51].

Para obtenção dos valores de LD e LQ procedeu-se à medida de 10 brancos da digestão no ICP OES. Os valores de LD e LQ foram calculados a partir da divisão de três vezes o desvio padrão do branco pelo coeficiente angular da curva de calibração ( $3\sigma/s$ ) e dez vezes o desvio padrão pelo referido coeficiente angular ( $10\sigma/s$ ), respectivamente, para cada elemento químico. Estão dispostos na Tabela 5 os valores de LD e LQ calculados.

Tabela 5. Limites de detecção (LD) e limites de quantificação (LQ)

<b>Elemento</b>	<b>LD (mg g<sup>-1</sup>)</b>	<b>LQ (mg g<sup>-1</sup>)</b>
<b>Ca</b>	0,0062	0,0207
<b>P</b>	0,0021	0,0072
<b>Na</b>	0,0008	0,0026
<b>K</b>	0,0115	0,0385
<b>Mg</b>	0,0021	0,0071
<b>Se</b>	0,0003	0,0010
<b>Zn</b>	0,0002	0,0009

Os valores dos limites da Tabela 5 foram calculados, inicialmente, em  $\text{mg L}^{-1}$ . Contudo, os mesmos foram transformados para  $\text{mg g}^{-1}$ , uma vez que todas as amostras foram pesadas (massa de 0,2 g) antes de serem digeridas. Os valores de LD ( $\text{mg L}^{-1}$ ) 0,1246; 0,0434; 0,016; 0,231; 0,042; 0,006; 0,005 e de LQ ( $\text{mg L}^{-1}$ ) 0,4155; 0,1448; 0,053; 0,770; 0,142; 0,021; 0,018 dos elementos Ca, P, Na, K, Mg, Se e Zn, respectivamente, foram expressos em  $\text{mg g}^{-1}$  conforme Tabela 5, multiplicando o valor ( $\text{mg L}^{-1}$ ) por 0,010 L (volume da solução do branco) e pelo fator de diluição 10, dividindo pela massa 0,2 g.

#### 4.1.3. Precisão

A precisão descreve a reprodutibilidade das medidas – em outras palavras, a proximidade entre os resultados que foram obtidos exatamente da mesma forma. Em geral, a precisão de uma medida é prontamente determinada simplesmente pela repetição da medida em réplicas da amostra [52].

Para avaliação da precisão, foram calculados valores de desvio padrão relativo (do inglês *relative standard deviation RSD*) usando duas amostras com concentrações diferentes dos analitos analisados. A amostra RITM, por apresentar níveis elevados e a amostra SEAK por apresentar menores concentrações dos analitos, a fim de avaliar os resultados de precisão em diferentes níveis de concentração. Os valores de RSD estão dispostos na Tabela 6.

Tabela 6. Concentrações dos analitos em duas amostras distintas e seus valores de RSD (%)

	Amostra RITM		Amostra SEAK	
	[Conc $\text{mg g}^{-1}$ ]	RSD (%)	[Conc $\text{mg g}^{-1}$ ]	RSD (%)
<b>Na</b>	6,5218	3,45	0,6399	2,33

<b>K</b>	10,5372	9,29	0,7670	3,32
<b>Mg</b>	27,9024	2,43	0,2846	1,44
<b>P</b>	2,7834	3,28	1,0265	1,27
<b>Ca</b>	5,5430	2,99	4,1197	1,15
<b>Se</b>	0,0041	2,4	0,0026	7,69
<b>Zn</b>	0,0312	14,1	0,0011	9,09

Os valores de RSD encontram-se inferiores a 20%. Dessa forma, o método proposto é preciso para a investigação desses elementos.

#### 4.1.4. Exatidão

A exatidão indica a proximidade do valor medido em relação ao valor verdadeiro, ou aceito, e é expressa pelo erro. Mede a concordância entre um resultado e o valor aceito [49].

A exatidão desse trabalho foi avaliada através da determinação dos analitos em material de referência certificado (CRM) Folha de Espinafre (*Spinach Leaves* - NIST 1570a) fornecido pelo National Institute of Standards and Technology (Gaithersburg, MD, EUA).

A massa de 0,2 g desse CRM foi digerida conforme o mesmo procedimento descrito para o preparo das amostras, utilizando ácido nítrico concentrado. Em seguida, os analitos em estudo foram determinados empregando ICP OES. Os valores obtidos foram comparados com os valores certificados como evidenciado na Tabela 7. Aplicou-se o teste *t* de *student*, a fim de avaliar estatisticamente a comparação desses resultados. De acordo com a Tabela 7, os valores de *t* calculados foram inferiores aos valores de *t* críticos, o que corrobora a ausência de diferença significativa entre os valores, concluindo assim a exatidão do método.



Tabela 7. Comparação estatística dos resultados obtidos na análise de material certificado *Spinach Leaves* (NIST 1570a) por ICP OES. 95% de confiança ( $N=3$ )

<b>Elemento</b>	<b>Valor certificado</b>	<b>Valor encontrado</b>	<b>t<sub>crítico</sub></b>	<b>T<sub>calculado</sub></b>
<b>Ca (%)</b>	1,527 ± 0,041	1,456 ± 0,093	4,303	1,32
<b>K (%)</b>	2,903 ± 0,052	2,856 ± 0,126	4,303	0,64
<b>Mg (%)</b>	0,890 ± 0,060	0,860 ± 0,090	4,303	0,57
<b>Na (%)</b>	1,818 ± 0,043	1,912 ± 0,107	4,303	1,52
<b>P (%)</b>	0,518 ± 0,011	0,467 ± 0,085	4,303	1,04
<b>Zn (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	82 ± 3	90 ± 11	4,303	1,26
<b>Se</b>	-	-	-	-

#### 4.2. DETERMINAÇÃO DE MACRO E MICROELEMENTOS EM MEDICAMENTOS FITOTERÁPICOS POR ICP OES

Após digestão das amostras por via úmida em sistema fechado, procedeu-se à determinação dos elementos de interesse utilizando ICP OES. Previamente, a acidez das amostras foi confirmada através de titulação com hidróxido de sódio (0,09677 mol L<sup>-1</sup>), adicionando fenolftaleína como indicador. Obteve-se o valor de 3,2 mol L<sup>-1</sup> para a concentração dos íons H<sup>+</sup> nas amostras. Dessa forma, não houve necessidade de diluição para a realização das medidas dos analitos, já que a acidez não foi elevada. A Tabela 8 contempla a média dos valores de concentração dos elementos obtidos para cada amostra e seus respectivos valores de desvio padrão, calculados a partir das triplicatas realizadas.

Tabela 8. Concentrações dos analitos nas amostras de medicamentos fitoterápicos (mg g<sup>-1</sup>)

<b>Amostra</b>	<b>Na</b>	<b>K</b>	<b>Mg</b>	<b>P</b>	<b>Ca</b>	<b>Se</b>	<b>Zn</b>
<b>CASB</b>	<0,0026	<0,0385	<0,0071	0,75 ± 0,0314	2,89 ± 0,0238	<0,0010	<0,0009
<b>SOMI</b>	10,48 ± 0,3162	0,86 ± 0,0137	6,16 ± 0,0869	0,29 ± 0,0038	3,06 ± 0,1596	0,0020 ± 0,0004	0,0012 ± 0,0002
<b>GINK</b>	15,17 ± 0,2150	0,16 ± 0,0021	9,04 ± 0,3232	0,18 ± 0,0005	1,15 ± 0,1469	0,0048 ± 0,0001	0,0017 ± 0,0009
<b>GINM</b>	16,31 ± 0,1993	0,04 ± 0,0022	5,04 ± 0,0965	0,18 ± 0,0020	4,88 ± 0,5453	0,0021 ± 0,0011	0,0038 ± 0,0003
<b>BIOS</b>	22,78 ± 0,1281	<0,0385	0,03 ± 0,0009	<0,0072	1,59 ± 0,0783	0,0029 ± 0,0002	0,0013 ± 0,0002
<b>CALI</b>	<0,0026	<0,0385	<0,0071	0,14 ± 0,0031	2,17 ± 0,1441	0,0032 ± 0,0010	<0,0009
<b>JOAC</b>	<0,0026	<0,0385	<0,0071	<0,0072	1,12 ± 0,3075	0,0029 ± 0,0001	<0,0009
<b>GUAV</b>	1,41 ± 0,0908	0,05 ± 0,0022	0,10 ± 0,0029	0,30 ± 0,0022	1,30 ± 0,0324	0,0021 ± 0,0002	<0,0009
<b>GUAN</b>	3,14 ± 0,1694	0,37 ± 0,0038	<0,0071	<0,0072	1,23 ± 0,1713	0,0024 ± 0,0002	0,0012 ± 0,0002
<b>RITM</b>	6,52 ± 0,2252	10,54 ± 0,9793	27,90 ± 0,6784	2,78 ± 0,0914	5,54 ± 0,1658	0,0041 ± 0,0001	0,0312 ± 0,0044
<b>EPAL</b>	4,28 ± 0,2171	4,85 ± 0,0793	8,46 ± 0,0564	0,49 ± 0,0099	1,38 ± 0,0830	0,0037 ± 0,0007	0,0076 ± 0,0004
<b>HEPA</b>	0,02 ± 0,0038	0,05 ± 0,0039	<0,0071	0,17 ± 0,0064	0,23 ± 0,0040	0,0029 ± 0,0005	0,0012 ± 0,0001
<b>HEVE</b>	0,22 ± 0,0103	0,51 ± 0,0027	0,26 ± 0,0015	0,22 ± 0,0034	<0,0207	0,0029 ± 0,0008	<0,0009
<b>JAPA</b>	0,18 ± 0,0964	0,22 ± 0,0010	0,26 ± 0,0162	<0,0072	<0,0207	0,0034 ± 0,0014	0,0024 ± 0,0001
<b>ARLI</b>	0,36 ± 0,1207	0,64 ± 0,0034	0,21 ± 0,0040	<0,0072	<0,0207	0,0022 ± 0,0003	<0,0009

<b>SPIR</b>	5,46 ± 0,0770	0,38 ± 0,0064	0,21 ± 0,0033	2,42 ± 0,0297	4,35 ± 0,0514	0,0024 ± 0,0006	0,0009 ± 0,0001
<b>SOYN</b>	0,65 ± 0,0117	<0,0385	<0,0071	<0,0072	0,79 ± 0,0180	<0,0010	<0,0009
<b>VART</b>	1,29 ± 0,0759	3,42 ± 0,1621	3,14 ± 0,2138	0,65 ± 0,0402	0,13 ± 0,0212	0,0014 ± 0,0003	0,0013 ± 0,0002
<b>ESPN</b>	12,56 ± 0,3080	1,24 ± 0,0397	5,38 ± 0,1708	0,20 ± 0,0019	0,22 ± 0,0016	0,0022 ± 0,0004	<0,0009
<b>FIGA</b>	0,15 ± 0,0601	0,58 ± 0,0058	0,43 ± 0,0223	0,08 ± 0,0019	<0,0207	0,0032 ± 0,0009	<0,0009
<b>BRON</b>	0,91 ± 0,0569	0,09 ± 0,0015	0,08 ± 0,0020	0,09 ± 0,0030	0,03 ± 0,0021	0,0022 ± 0,0007	<0,0009
<b>PEIT</b>	6,38 ± 0,0481	0,12 ± 0,0012	0,14 ± 0,0008	<0,0072	<0,0207	0,0021 ± 0,0005	<0,0009
<b>EXPC</b>	0,43 ± 0,0051	0,37 ± 0,0076	0,02 ± 0,0055	<0,0072	<0,0207	0,0017 ± 0,0001	<0,0009
<b>CALM</b>	0,12 ± 0,0040	<0,0385	<0,0071	0,16 ± 0,0032	0,80 ± 0,0062	0,0022 ± 0,0006	<0,0009
<b>ALCV</b>	5,54 ± 0,1279	1,22 ± 0,0242	9,60 ± 0,5207	3,28 ± 0,0510	<0,0207	0,0041 ± 0,0010	0,0023 ± 0,0006
<b>GARR</b>	7,21 ± 0,0350	1,98 ± 0,0414	12,78 ± 0,4048	0,13 ± 0,0021	0,23 ± 0,0064	0,0021 ± 0,0009	0,0015 ± 0,0004
<b>CATT</b>	1,08 ± 0,1244	2,98 ± 0,0575	16,99 ± 0,8711	0,47 ± 0,0038	<0,0207	0,0017 ± 0,0003	0,0070 ± 0,0002
<b>SEAK</b>	0,64 ± 0,0149	0,77 ± 0,0255	0,28 ± 0,0041	1,03 ± 0,0131	4,12 ± 0,0474	0,0026 ± 0,0002	0,0011 ± 0,0001
<b>VALE</b>	0,19 ± 0,0064	0,30 ± 0,0079	0,02 ± 0,0002	2,04 ± 0,0461	0,19 ± 0,0090	0,0022 ± 0,0001	<0,0009
<b>VARX</b>	<0,0026	0,05 ± 0,0014	<0,0071	0,50 ± 0,0033	0,06 ± 0,0035	0,0035 ± 0,0009	<0,0009

± SD (desvio padrão)

### 4.3. ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS

Para avaliar o teor dos elementos em estudo e a distribuição dos mesmos nos medicamentos fitoterápicos, dentre outros aspectos, realizou-se a análise de componentes principais utilizando o programa Statistica 6.0. Organizou-se uma matriz (90x7), em cujas linhas e colunas foram dispostas as concentrações de cada replicata e as variáveis (analitos), respectivamente, totalizando 90 valores de concentração referentes a 7 elementos de interesse.

Os valores dessa matriz de dados foram autoescalados, a fim de padronizar suas ordens de grandeza em um mesmo nível, permitindo a análise estatística dos dados.

Para a escolha das componentes principais que serão utilizadas no estudo é necessário a avaliação prévia dos autovalores de cada componente principal formada. Admite-se autovalores superiores a 1 como sendo aceitáveis para discriminação da variância dos resultados [35].

De acordo com a Tabela 9, observa-se que as três primeiras componentes principais formadas (PC1 47,61 %; PC2 16,79 % e PC3 14,16 %) apresentam autovalores igual ou superiores a 1. Essas três componentes juntas permitem explicar 78,55 % da variância total dos resultados, sendo então utilizadas para análise das amostras em questão.

Tabela 9. Autovalores e percentual de variância cumulativo

<b>CP</b>	<b>Autovalor</b>	<b>% Variância</b>	<b>% Variância Cumulativo</b>
<b>1</b>	<b>3,332924</b>	<b>47,61320</b>	<b>47,6132</b>
<b>2</b>	<b>1,175057</b>	<b>16,78653</b>	<b>64,3997</b>
<b>3</b>	<b>0,990951</b>	<b>14,15645</b>	<b>78,5562</b>
<b>4</b>	0,748433	10,69190	89,2481
<b>5</b>	0,530375	7,57679	96,8249

<b>6</b>	0,119559	1,70799	98,5329
<b>7</b>	0,102700	1,46714	100,0000

A tabela 10 abaixo permite avaliar os pesos das variáveis em relação às componentes principais formadas, uma vez que o total de fatores corresponde ao número de variáveis. Essa tabela permite identificar as variáveis que mais representam a variância dos resultados em cada fator criado.

Tabela 10. Relação entre as variáveis e as componentes principais formadas

	<b>PC 1</b>	<b>PC 2</b>	<b>PC 3</b>	<b>PC 4</b>	<b>PC 5</b>	<b>PC 6</b>	<b>PC 7</b>
<b>Na</b>	-0,2750	<b>-0,8655</b>	0,1391	-0,2298	-0,3077	0,0923	-0,0027
<b>K</b>	<b>-0,9031</b>	0,2376	-0,1265	-0,1998	0,0707	0,1344	0,2214
<b>Mg</b>	<b>-0,8942</b>	0,0459	-0,1318	-0,2964	-0,1546	-0,2625	-0,0148
<b>P</b>	-0,6313	0,2354	0,1548	0,5736	-0,4386	0,0273	-0,0083
<b>Ca</b>	-0,5907	-0,5186	0,0549	0,4497	0,4101	-0,0792	0,0493
<b>Se</b>	-0,1878	0,1720	<b>0,9466</b>	-0,1664	0,1054	-0,0151	-0,0029
<b>Zn</b>	<b>-0,9270</b>	0,1162	-0,1231	-0,0947	0,1875	0,1298	-0,2257

Os maiores pesos são observados para as variáveis K, Mg e Zn, na primeira componente principal, responsáveis por explicar a maior variância dos resultados nesse fator. Já a variável Na apresenta maior peso em PC 2, enquanto que o Se é a variável de maior peso em PC 3. É sabido que a grandeza dos pesos é avaliada assumindo seus valores numéricos em módulo.

### 4.3.1. Análise de PC1 x PC2

Obteve-se os gráficos de pesos (Figura 2) e escores (Figura 3) para a análise de PC1 x PC2. Não se observa separação dos analitos pela componente principal 1, porque todos encontram-se com valores negativos. Através da componente principal 2, é possível separar os analitos Na e Ca dos demais. Confrontando as informações do gráfico de pesos e de escores, nota-se a formação de três grandes grupos. Um primeiro grupo deslocado à esquerda, composto pela amostra RITM, um segundo grupo composto pelas amostras GINM e BIOS e um terceiro grupo formado pelas demais amostras.

Figura 1. Gráfico de pesos PC1 x PC2

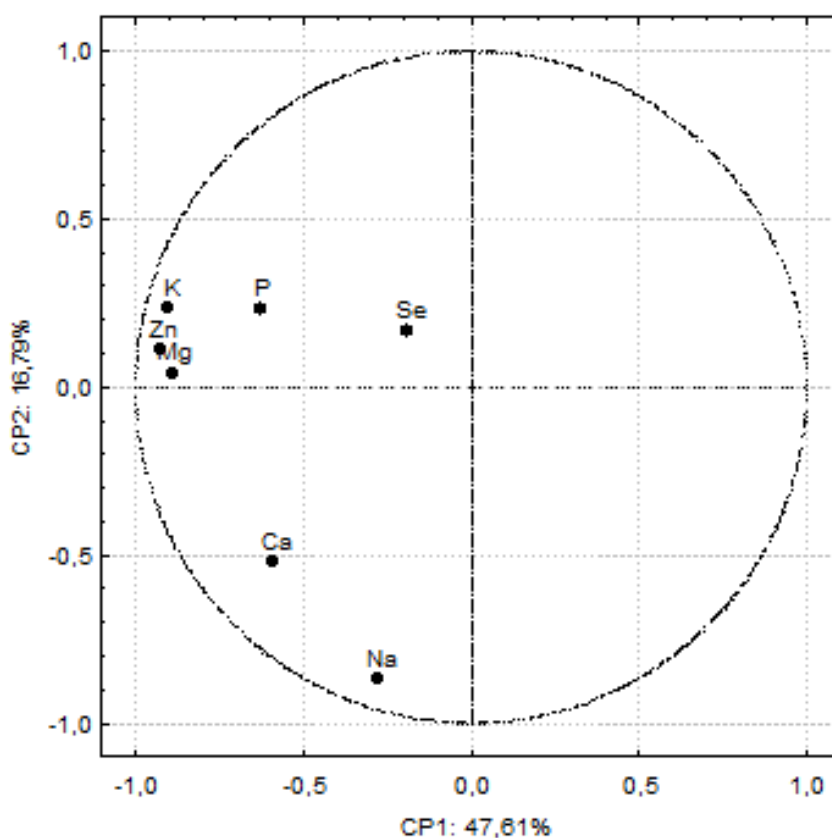
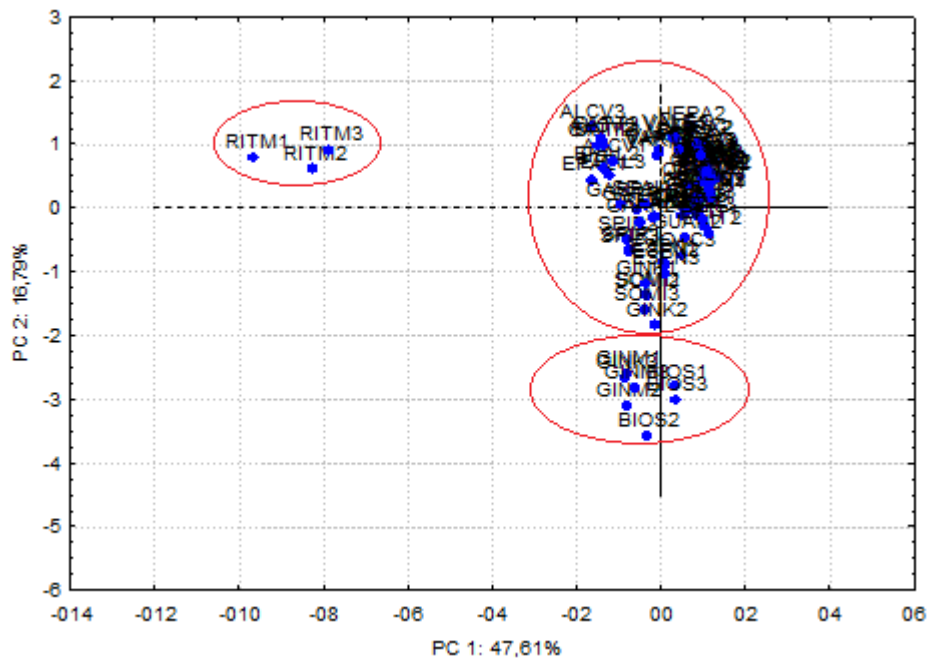


Figura 2. Gráfico de escores PC1 x PC2



Conforme evidenciado na Figura 3, de acordo com PC2, o grupo formado pelas amostras GINM e BIOS apresentam concentrações maiores dos elementos Na e Ca em relação às outras amostras. O medicamento RITM apresenta maiores concentrações de K, Mg e Zn quando comparado a todos os outros fitoterápicos. Ao centro do gráfico de escores, ainda na Figura 3, o grupo formado pelos demais medicamentos fitoterápicos – com exceção dos mencionados RITM, GINM e BIOS - exibe menor teor de todos os elementos químicos determinados.

#### 4.3.2. Análise de PC1 X PC3

A terceira componente principal explica 14,16% da variância dos dados. Analisou-se o comportamento das amostras através de PC1 x PC3, de acordo com as Figuras 4 (gráfico de pesos) e 5 (gráfico de escores).

Figura 3. Gráfico de pesos PC1 x PC3

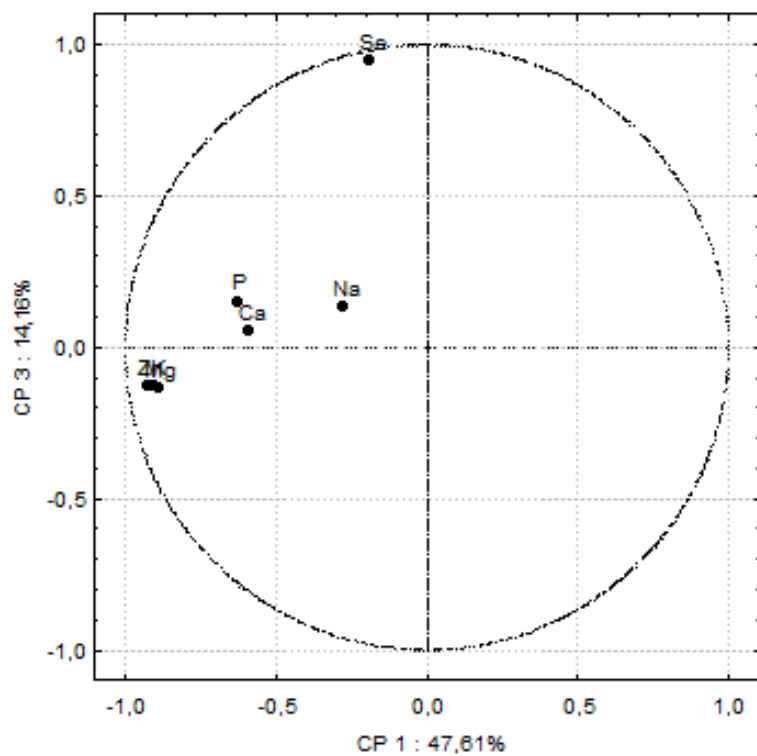
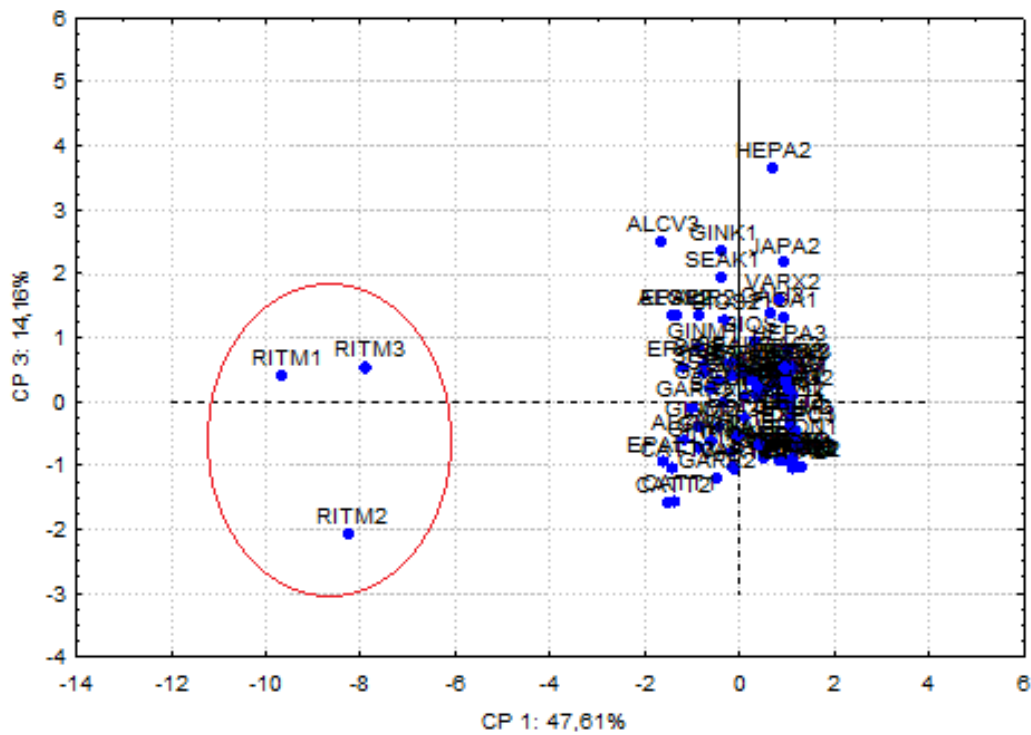


Figura 4. Gráfico de escores PC1 x PC3





O grupo formado pelo medicamento RITM aparece isolado dos demais, apresentando maiores concentrações de K, Mg e Zn, de acordo com PC1, confirmando a mesma segregação encontrada na análise de PC1 x PC2. Além disso, os demais fitoterápicos, agrupados ao centro, expressam menores concentrações de todos os analitos, como evidenciado nos gráficos de pesos e escores.

Realizou-se outra análise de componentes principais desconsiderando as amostras RITM, GINM e BIOS, com o objetivo de explorar possíveis informações contidas no grande grupo de amostras observados no PCA anterior.

Os autovalores obtidos para essa nova matriz de dados estão dispostos na Tabela 10. Observou-se autovalores superiores a 1 nas três primeiras componentes principais formadas, cujo percentual de variância foi calculado em 35,16% (PC1), 19,30% (PC2) e 15,03% (PC3), totalizando 69,48% da variância total dos resultados.

Tabela 11. Autovalores e variâncias para a matriz de dados sem a amostras RITM, GINK e BIOS

<b>CP</b>	<b>Autovalor</b>	<b>% Variância</b>	<b>% Variância Cumulativo</b>
<b>1</b>	<b>2,460905</b>	<b>35,15579</b>	<b>35,1558</b>
<b>2</b>	<b>1,351170</b>	<b>19,30244</b>	<b>54,4582</b>
<b>3</b>	<b>1,051839</b>	<b>15,02627</b>	<b>69,4845</b>
<b>4</b>	0,926315	13,23308	82,7176
<b>5</b>	0,649318	9,27597	91,9935
<b>6</b>	0,440951	6,29931	98,2929
<b>7</b>	0,119500	1,70715	100,0000

#### 4.3.3. Análise de PC 1 x PC 2 da segunda matriz

As duas primeiras componentes principais explicam cerca de 54% da variância dos resultados. Observando-se o gráfico de pesos (Figura 6) é possível separar os analitos K, Mg e Zn dos demais. Esses analitos apresentam pesos mais negativos que os outros elementos (Na, P, Ca e Se). Através do gráfico de escores (Figura 7), não se observa a formação de grupos distintos, devido a proximidade dos valores de concentração da maioria dos analitos nessas amostras. Observa-se apenas um afastamento entre algumas amostras por causa da diferença de concentração dos elementos.

Figura 5. Gráfico de pesos PC 1 x PC 2 para a segunda matriz

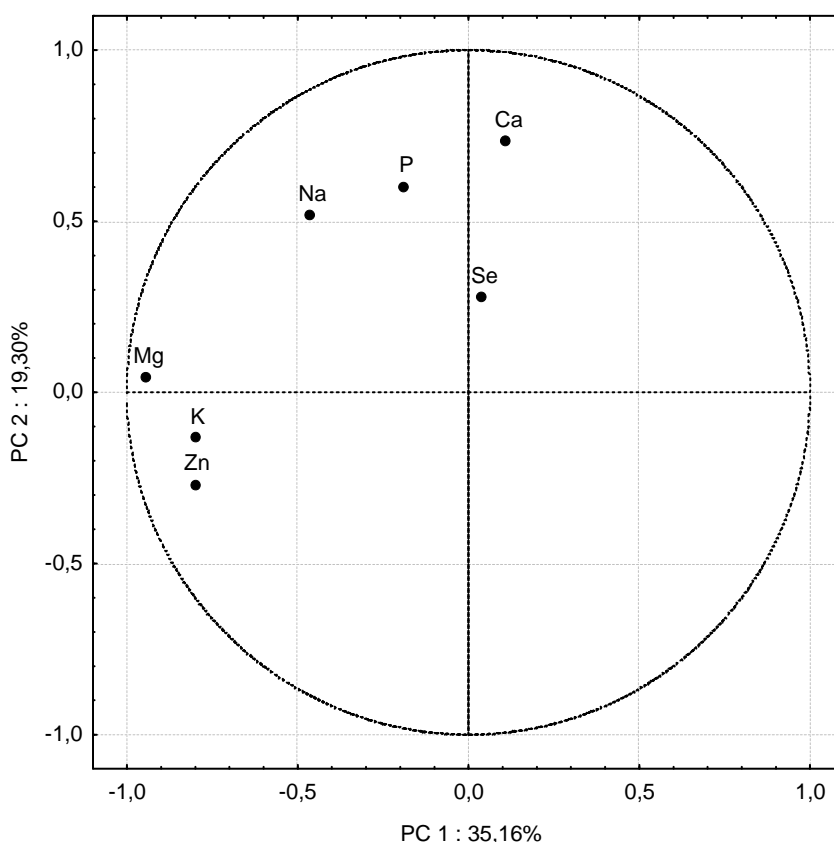
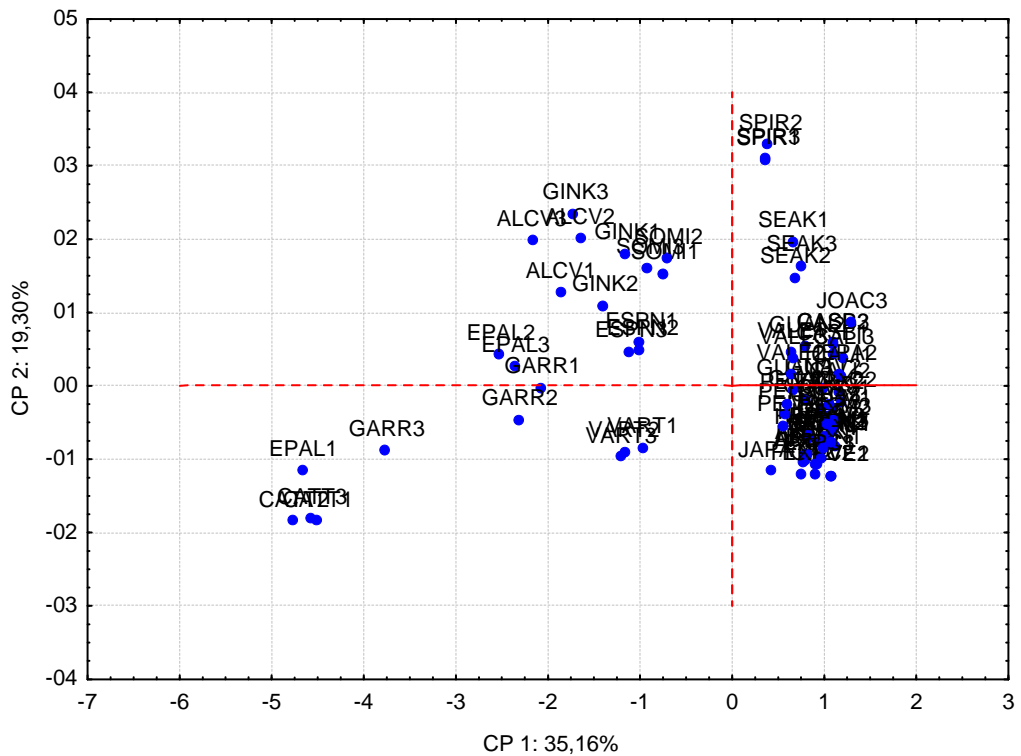


Figura 6. Gráfico de escores PC 1 x PC 2 para a segunda matriz



#### 4.3.4. Análise de PC 1 x PC 3 da segunda matriz

A terceira componente principal permitiu a separação do Se em relação aos demais analitos, por apresentar maior peso negativo. Também é possível observar a separação de Mg, Zn e K, em PC 1, com maiores pesos. A separação desses elementos tanto em PC 1 como em PC 3 já foi confirmada na primeira PCA com todas as amostras. A Figura 8 representa o gráfico de pesos e a Figura 9, o gráfico de escores. Não é possível discriminar a formação de grupos distintos.

Figura 7. Gráfico de pesos PC 1 x PC 3 para a segunda matriz

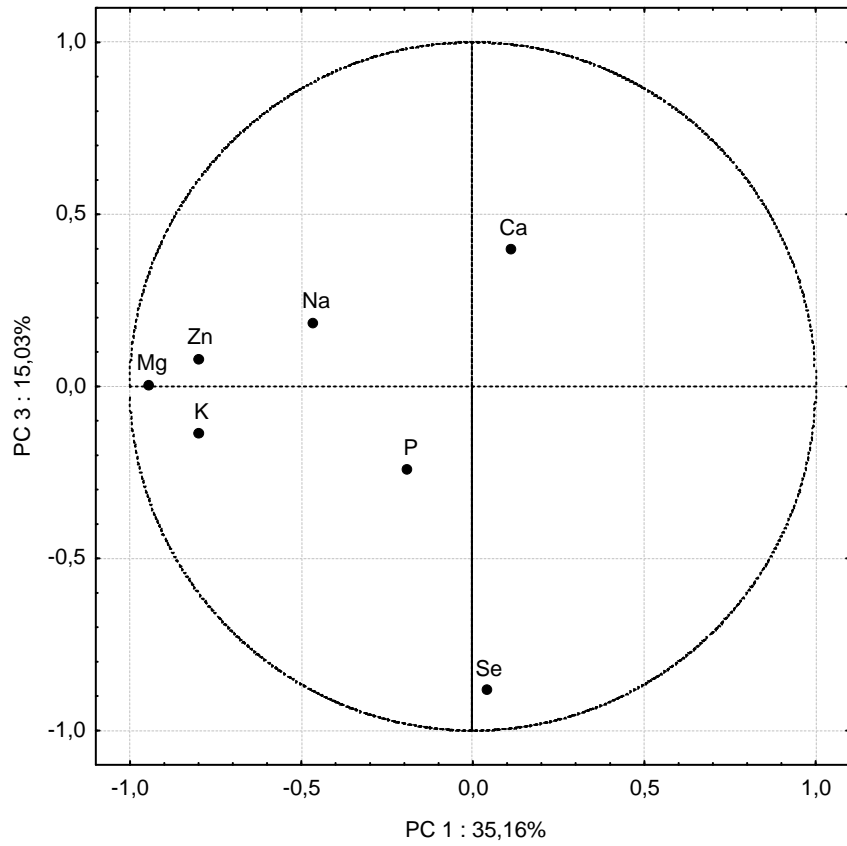
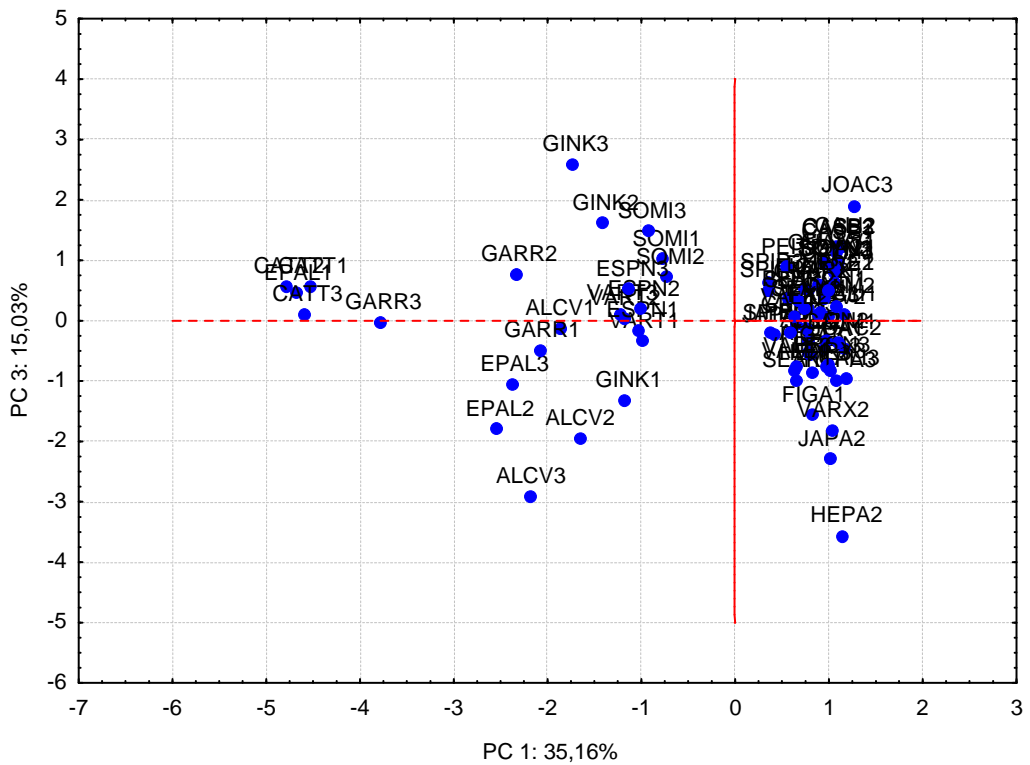


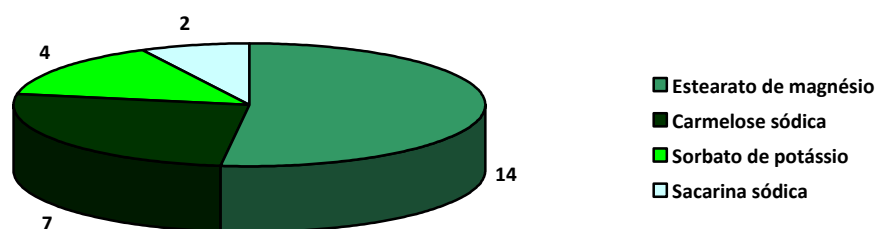
Figura 8. Gráfico de escores PC 1 x PC 3 para a segunda matriz



#### 4.4. INVESTIGAÇÃO DE EXCIPIENTES

Investigou-se a composição dos medicamentos no que se refere aos excipientes, realizando um levantamento sobre quais excipientes contém em sua estrutura química os elementos analisados. Foram identificados quatro excipientes majoritários nas formulações em estudo: estearato de magnésio, carmelose sódica, sorbato de potássio e sacarina sódica. Avaliando a distribuição desses excipientes, é possível observar na Figura 10 que 14 medicamentos apresentam estearato de magnésio em sua composição. Dentre essas amostras, o medicamento RITM apresentou  $27,9 \text{ mg g}^{-1}$  de Mg, a maior concentração.

Figura 9. Gráfico dos principais excipientes encontrados nos medicamentos analisados



São descritos na Farmacopeia Brasileira – 5ª edição – os ensaios limites para Ca, Mg e íons fosfatos. Esses ensaios podem ser utilizados com o objetivo de quantificar os referidos analitos em uma amostra de medicamento. Alternativamente, é sugerido o uso de espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado para determinação desses elementos. Não estão dispostos os limites máximos de cada macroelemento que pode conter em medicamentos. Além disso, também não existem referências de níveis máximos de microelementos como zinco e selênio nesse compêndio [53].

O estearato de magnésio, bem como o dióxido de silício coloidal, são utilizados principalmente como lubrificantes ou deslizantes, a fim de facilitar o fluxo de pós ou grânulos para o interior dos invólucros, na preparação de cápsulas em escala industrial utilizando equipamento automatizado de alta velocidade [3]. Estruturalmente o estearato de magnésio é formado por duas cadeias carbônicas (18 átomos de carbono) com um éster substituído em uma das extremidades, com o qual o  $Mg^{2+}$  está ligado.

A ingestão diária recomendada de magnésio, para adultos, é de 260mg conforme demonstrado na Tabela 12 [54].

Tabela 12. Ingestão diária recomendada (IDR) para adultos

<b>ELEMENTO</b>	<b>QUANTIDADE (mg)</b>
<b>Ca</b>	1000
<b>Mg</b>	260
<b>P</b>	700
<b>Zn</b>	7
<b>Se</b>	0,034

Fonte Anvisa, 2005 [54].

A toxicidade do magnésio pode ocorrer quando medicamentos contendo magnésio, usualmente antiácidos, são ingeridos cronicamente por indivíduos com insuficiência renal grave. Os efeitos tóxicos podem progredir de náuseas e vômitos para hipotensão, anormalidades eletrocardiográficas e efeitos secundários no sistema nervoso central [55].

Como não se tinha a matéria-prima vegetal (que foi usada na fabricação do medicamento) para realizar a determinação dos analitos, não foi possível concluir a procedência da quantidade do magnésio determinada, bem como dos outros elementos, se eram originados desses excipientes ou se eram oriundos da própria matriz vegetal.

#### 4.5. QUANTIFICAÇÃO DOS ANALITOS CONFORME POSOLOGIA

É sabido que o teor desses elementos, se elevado, pode contribuir para uma maior ingestão, haja visto que ocorre ingestão dos elementos através de outras fontes. Dessa forma, o somatório da quantidade de elemento ingerido pode ser nocivo à saúde humana.

O consumo de sódio e potássio deve ser equilibrado, uma vez que sua relação de concentração deve estar em harmonia no organismo, interferindo diretamente na pressão arterial. A Organização Mundial da Saúde (OMS) preconiza a ingestão diária de potássio de 3510 mg [56]. Para o sódio, recomenda-se o consumo máximo de 2000 mg [57].

Calculou-se a quantidade ingerida de cada elemento nas amostras analisadas conforme posologia descrita nas bulas dos medicamentos para adultos. A Tabela 13 apresenta a dose administrada e a quantidade de cada elemento consumido por dia conforme o modo de uso.

Tabela 13. Consumo de macro e microelementos conforme posologia

Amostra	Concentração do analito (mg g <sup>-1</sup> )	Dose (massa em g)	Quantidade de analito por dose (mg)	Posologia	Quantidade de analito consumido (mg)	
<b>CASB</b>	Na	<0,0026	-	-	-	
	K	<0,0385	-	-	-	
	Mg	<0,0071	-	-	-	
	P	0,75	1 comp (0,39)	0,29	1comp 3x/dia	0,87
	Ca	2,89	1 comp (0,39)	1,13	1comp 3x/dia	3,39
	Se	<0,0010	-	-	-	-
	Zn	<0,0009	-	-	-	-
<b>SOMI</b>	Na	10,48	1 comp (0,48)	5,03	2comp 2x/dia	20,12
	K	0,86	1 comp (0,48)	0,41	2comp 2x/dia	1,64
	Mg	6,16	1 comp (0,48)	2,96	2comp 2x/dia	11,84
	P	0,30	1 comp (0,48)	0,14	2comp 2x/dia	0,56
	Ca	3,05	1 comp (0,48)	1,46	2comp 2x/dia	5,84
	Se	0,0020	1 comp (0,48)	0,001	2comp 2x/dia	0,004
	Zn	0,0012	1 comp (0,48)	0,0006	2comp 2x/dia	0,0024

Continuação da Tabela 13. Consumo de macro e microelementos conforme posologia

Amostra	Concentração do analito (mg g <sup>-1</sup> )	Dose (massa em g)	Quantidade de analito por dose (mg)	Posologia	Quantidade de analito consumido (mg)	
<b>GINK</b>	Na	15,17	1 comp (0,21)	3,19	2comp 3x/dia	19,14
	K	0,16	1 comp (0,21)	0,03	2comp 3x/dia	0,18
	Mg	9,04	1 comp (0,21)	1,90	2comp 3x/dia	11,4
	P	0,18	1 comp (0,21)	0,04	2comp 3x/dia	0,24
	Ca	1,15	1 comp (0,21)	0,24	2comp 3x/dia	1,44
	Se	0,0048	1 comp (0,21)	0,001	2comp 3x/dia	0,006
	Zn	0,0017	1 comp (0,21)	0,0004	2comp 3x/dia	0,0024
<b>GINM</b>	Na	16,31	1 comp (0,34)	5,54	1comp 3x/dia	16,62
	K	0,04	1 comp (0,34)	0,01	1comp 3x/dia	0,03
	Mg	5,04	1 comp (0,34)	1,71	1comp 3x/dia	5,13
	P	0,18	1 comp (0,34)	0,06	1comp 3x/dia	0,18
	Ca	4,88	1 comp (0,34)	1,66	1comp 3x/dia	4,9967
	Se	0,0021	1 comp (0,34)	0,0007	1comp 3x/dia	0,0021
	Zn	0,0038	1 comp (0,34)	0,0013	1comp 3x/dia	0,0039
<b>BIOS</b>	Na	22,78	10 mL (12,16)	277,0	10mL 3x/dia	831,0
	K	<0,0385	-	-	-	-
	Mg	0,03	10 mL (12,16)	0,36	10mL 3x/dia	1,08
	P	<0,0072	-	-	-	-
	Ca	1,59	10 mL (12,16)	19,33	10mL 3x/dia	57,99
	Se	0,0029	10 mL (12,16)	0,035	10mL 3x/dia	0,11
	Zn	0,0013	10 mL (12,16)	0,016	10mL 3x/dia	0,05
<b>CALI</b>	Na	<0,0026	-	-	-	-
	K	<0,0385	-	-	-	-
	Mg	<0,0071	-	-	-	-
	P	0,14	15 mL (14,80)	2,07	15mL 4x/dia	8,28
	Ca	2,17	15 mL (14,80)	32,11	15mL 4x/dia	128,4
	Se	0,0032	15 mL (14,80)	0,05	15mL 4x/dia	0,20
	Zn	<0,0009	-	-	-	-
<b>JOAC</b>	Na	<0,0026	-	-	-	-
	K	<0,0385	-	-	-	-
	Mg	<0,0071	-	-	-	-
	P	<0,0072	-	-	-	-
	Ca	1,12	15 mL (14,34)	16,06	15mL 4x/dia	64,24
	Se	0,0029	15 mL (14,34)	0,04	15mL 4x/dia	0,16
	Zn	<0,0009	-	-	-	-
<b>GUAV</b>	Na	1,41	15 mL (19,59)	27,62	15mL 8x/dia	221,0
	K	0,05	15 mL (19,59)	0,98	15mL 8x/dia	7,84
	Mg	0,10	15 mL (19,59)	1,96	15mL 8x/dia	15,68
	P	0,30	15 mL (19,59)	5,88	15mL 8x/dia	47,0
	Ca	1,30	15 mL (19,59)	25,47	15mL 8x/dia	203,8
	Se	0,0022	15 mL (19,59)	0,043	15mL 8x/dia	0,34
	Zn	<0,0009	-	-	-	-
<b>GUAN</b>	Na	3,14	15 mL (14,62)	45,9	15mL 3x/dia	137,7
	K	0,37	15 mL (14,62)	5,41	15mL 3x/dia	16,23
	Mg	<0,0071	-	-	-	-
	P	<0,0072	-	-	-	-
	Ca	1,23	15 mL (14,62)	17,99	15mL 3x/dia	53,9
	Se	0,0024	15 mL (14,62)	0,035	15mL 3x/dia	0,11
	Zn	0,0012	15 mL (14,62)	0,018	15mL 3x/dia	0,05



Continuação da Tabela 13. Consumo de macro e microelementos conforme posologia

Amostra	Concentração do analito (mg g <sup>-1</sup> )	Dose (massa em g)	Quantidade de analito por dose (mg)	Posologia	Quantidade de analito consumido (mg)	
<b>RITM</b>	Na	6,52	1 caps (0,36)	2,35	2caps 3x/dia	14,1
	K	10,54	1 caps (0,36)	3,79	2caps 3x/dia	22,74
	Mg	27,90	1 caps (0,36)	10,0	2caps 3x/dia	60,0
	P	2,79	1 caps (0,36)	1,00	2caps 3x/dia	6,00
	Ca	5,54	1 caps (0,36)	1,99	2caps 3x/dia	11,94
	Se	0,0041	1 caps (0,36)	0,002	2caps 3x/dia	0,012
	Zn	0,0312	1 caps (0,36)	0,01	2caps 3x/dia	0,06
<b>EPAL</b>	Na	4,28	1 caps (0, 54)	2,31	1caps 3x/dia	6,93
	K	4,85	1 caps (0, 54)	2,62	1caps 3x/dia	7,86
	Mg	8,46	1 caps (0, 54)	4,57	1caps 3x/dia	13,7
	P	0,49	1 caps (0, 54)	0,26	1caps 3x/dia	0,78
	Ca	1,38	1 caps (0, 54)	0,74	1caps 3x/dia	2,22
	Se	0,0037	1 caps (0, 54)	0,002	1caps 3x/dia	0,006
	Zn	0,0076	1 caps (0, 54)	0,004	1caps 3x/dia	0,012
<b>HEPA</b>	Na	0,02	35 gotas (1,58)	0,03	35gts 3x/dia	0,09
	K	0,05	35 gotas (1,58)	0,08	35gts 3x/dia	0,24
	Mg	<0,0071	-	-	-	-
	P	0,17	35 gotas (1,58)	0,27	35gts 3x/dia	0,81
	Ca	0,24	35 gotas (1,58)	0,38	35gts 3x/dia	1,14
	Se	0,0029	35 gotas (1,58)	0,005	35gts 3x/dia	0,015
	Zn	0,0012	35 gotas (1,58)	0,002	35gts 3x/dia	0,006
<b>HEVE</b>	Na	0,22	7,5 mL (8,86)	1,95	7,5mL 3x/dia	5,85
	K	0,51	7,5 mL (8,86)	4,52	7,5mL 3x/dia	13,56
	Mg	0,26	7,5 mL (8,86)	2,30	7,5mL 3x/dia	6,90
	P	0,22	7,5 mL (8,86)	1,95	7,5mL 3x/dia	5,85
	Ca	<0,0207	-	-	-	-
	Se	0,0029	7,5 mL (8,86)	0,03	7,5mL 3x/dia	0,09
	Zn	<0,0009	-	-	-	-
<b>JAPA</b>	Na	0,18	15 mL (13,96)	2,51	15mL 4x/dia	10,0
	K	0,22	15 mL (13,96)	3,07	15mL 4x/dia	12,28
	Mg	0,26	15 mL (13,96)	3,63	15mL 4x/dia	14,52
	P	<0,0072	-	-	-	-
	Ca	<0,0207	-	-	-	-
	Se	0,0034	15 mL (13,96)	0,05	15mL 4x/dia	0,20
	Zn	0,0024	15 mL (13,96)	0,03	15mL 4x/dia	0,12
<b>ARLI</b>	Na	0,36	7,5 mL (8,17)	2,94	7,5mL 3x/dia	8,82
	K	0,64	7,5 mL (8,17)	5,23	7,5mL 3x/dia	15,7
	Mg	0,21	7,5 mL (8,17)	1,72	7,5mL 3x/dia	5,16
	P	<0,0072	-	-	-	-
	Ca	<0,0207	-	-	-	-
	Se	0,0022	7,5 mL (8,17)	0,02	7,5mL 3x/dia	0,06
	Zn	<0,0009	-	-	-	-
<b>SPIR</b>	Na	5,46	1 caps (0,51)	2,78	2caps 2x/dia	11,12
	K	0,38	1 caps (0,51)	0,19	2caps 2x/dia	0,76
	Mg	0,21	1 caps (0,51)	0,10	2caps 2x/dia	0,40
	P	2,42	1 caps (0,51)	1,23	2caps 2x/dia	4,92
	Ca	4,35	1 caps (0,51)	2,22	2caps 2x/dia	8,88
	Se	0,0024	1 caps (0,51)	0,001	2caps 2x/dia	0,004
	Zn	0,0009	1 caps (0,51)	0,0005	2caps 2x/dia	0,002

Continuação da Tabela 13. Consumo de macro e microelementos conforme posologia

Amostra	Concentração do analito (mg g <sup>-1</sup> )	Dose (massa em g)	Quantidade de analito por dose (mg)	Posologia	Quantidade de analito consumido (mg)	
<b>SOYN</b>	Na	0,65	1 caps (0,36)	0,23	1caps 2x/dia	0,46
	K	<0,0385	-	-	-	-
	Mg	<0,0071	-	-	-	-
	P	<0,0072	-	-	-	-
	Ca	0,80	1 caps (0,36)	0,29	1caps 2x/dia	0,58
	Se	<0,0010	-	-	-	-
	Zn	<0,0009	-	-	-	-
<b>VART</b>	Na	1,29	1 caps (0,44)	0,57	2caps 3x/dia	3,42
	K	3,42	1 caps (0,44)	1,50	2caps 3x/dia	9,0
	Mg	3,14	1 caps (0,44)	1,38	2caps 3x/dia	8,28
	P	0,65	1 caps (0,44)	0,29	2caps 3x/dia	1,74
	Ca	0,14	1 caps (0,44)	0,06	2caps 3x/dia	0,36
	Se	0,0014	1 caps (0,44)	0,0006	2caps 3x/dia	0,0036
	Zn	0,0013	1 caps (0,44)	0,0006	2caps 3x/dia	0,0036
<b>ESPN</b>	Na	12,56	1 caps (0,58)	7,28	3caps 3x/dia	65,52
	K	1,24	1 caps (0,58)	0,72	3caps 3x/dia	6,48
	Mg	5,38	1 caps (0,58)	3,12	3caps 3x/dia	28,1
	P	0,20	1 caps (0,58)	0,12	3caps 3x/dia	1,08
	Ca	0,22	1 caps (0,58)	0,13	3caps 3x/dia	1,17
	Se	0,0022	1 caps (0,58)	0,001	3caps 3x/dia	0,009
	Zn	<0,0009	-	-	-	-
<b>FIGA</b>	Na	0,15	15 mL (13,61)	2,04	15mL 4x/dia	8,16
	K	0,58	15 mL (13,61)	7,89	15mL 4x/dia	31,56
	Mg	0,43	15 mL (13,61)	5,85	15mL 4x/dia	23,4
	P	0,08	15 mL (13,61)	1,09	15mL 4x/dia	4,36
	Ca	<0,0207	-	-	-	-
	Se	0,0032	15 mL (13,61)	0,044	15mL 4x/dia	0,18
	Zn	<0,0009	-	-	-	-
<b>BRON</b>	Na	0,91	15 mL (18,26)	16,62	15mL 8x/dia	133,0
	K	0,09	15 mL (18,26)	1,64	15mL 8x/dia	13,12
	Mg	0,08	15 mL (18,26)	1,46	15mL 8x/dia	11,68
	P	0,08	15 mL (18,26)	1,46	15mL 8x/dia	11,68
	Ca	0,03	15 mL (18,26)	0,55	15mL 8x/dia	4,40
	Se	0,0022	15 mL (18,26)	0,04	15mL 8x/dia	0,32
	Zn	<0,0009	-	-	-	-
<b>PEIT</b>	Na	6,38	15 mL (16,96)	108,2	15mL 3x/dia	324,6
	K	0,12	15 mL (16,96)	2,04	15mL 3x/dia	6,12
	Mg	0,14	15 mL (16,96)	2,37	15mL 3x/dia	7,11
	P	<0,0072	-	-	-	-
	Ca	<0,0207	-	-	-	-
	Se	0,0021	15 mL (16,96)	0,036	15mL 3x/dia	0,11
	Zn	<0,0009	-	-	-	-
<b>EXPC</b>	Na	0,43	5 mL (6,21)	2,67	5mL 3x/dia	8,00
	K	0,37	5 mL (6,21)	2,30	5mL 3x/dia	6,90
	Mg	0,02	5 mL (6,21)	0,12	5mL 3x/dia	0,6
	P	<0,0072	-	-	-	-
	Ca	<0,0207	-	-	-	-
	Se	0,0017	5 mL (6,21)	0,01	5mL 3x/dia	0,03
	Zn	<0,0009	-	-	-	-

Continuação da Tabela 13. Consumo de macro e microelementos conforme posologia

Amostra	Concentração do analito (mg g <sup>-1</sup> )		Dose (massa em g)	Quantidade de analito por dose (mg)	Posologia	Quantidade de analito consumido (mg)
<b>CALM</b>	Na	0,12	1 comp (0,58)	0,07	4comp 2x/dia	0,56
	K	<0,0385	-	-	-	-
	Mg	<0,0071	-	-	-	-
	P	0,16	1 comp (0,58)	0,09	4comp 2x/dia	0,72
	Ca	0,80	1 comp (0,58)	0,46	4comp 2x/dia	3,68
	Se	0,0022	1 comp (0,58)	0,0013	4comp 2x/dia	0,01
	Zn	<0,0009	-	-	-	-
<b>ALCV</b>	Na	5,54	1 comp (0,70)	3,88	1comp 8x/dia	31,0
	K	1,22	1 comp (0,70)	0,85	1comp 8x/dia	6,80
	Mg	9,60	1 comp (0,70)	6,62	1comp 8x/dia	53,0
	P	3,28	1 comp (0,70)	2,30	1comp 8x/dia	18,4
	Ca	<0,0207	-	-	-	-
	Se	0,0041	1 comp (0,70)	0,003	1comp 8x/dia	0,024
	Zn	0,0023	1 comp (0,70)	0,002	1comp 8x/dia	0,02
<b>GARR</b>	Na	7,21	1 comp (0,54)	3,90	1comp 3x/dia	11,7
	K	1,98	1 comp (0,54)	1,07	1comp 3x/dia	3,21
	Mg	12,78	1 comp (0,54)	6,90	1comp 3x/dia	20,7
	P	0,13	1 comp (0,54)	0,07	1comp 3x/dia	0,21
	Ca	0,23	1 comp (0,54)	0,12	1comp 3x/dia	0,36
	Se	0,0021	1 comp (0,54)	0,001	1comp 3x/dia	0,003
	Zn	0,0015	1 comp (0,54)	0,0008	1comp 3x/dia	0,0024
<b>CATT</b>	Na	1,08	1drágea (0,44)	0,48	1drg 3x/dia	1,44
	K	2,98	1drágea (0,44)	1,31	1drg 3x/dia	3,93
	Mg	16,99	1drágea (0,44)	7,48	1drg 3x/dia	22,4
	P	0,47	1drágea (0,44)	0,21	1drg 3x/dia	0,63
	Ca	<0,0207	-	-	-	-
	Se	0,0017	1drágea (0,44)	0,0008	1drg 3x/dia	0,0024
	Zn	0,0070	1drágea (0,44)	0,003	1drg 3x/dia	0,009
<b>SEAK</b>	Na	0,64	1 comp (0,44)	0,28	2comp 2x/dia	1,12
	K	0,77	1 comp (0,44)	0,34	2comp 2x/dia	1,36
	Mg	0,28	1 comp (0,44)	0,12	2comp 2x/dia	0,48
	P	1,03	1 comp (0,44)	0,45	2comp 2x/dia	1,80
	Ca	4,12	1 comp (0,44)	1,81	2comp 2x/dia	7,24
	Se	0,0026	1 comp (0,44)	0,001	2comp 2x/dia	0,004
	Zn	0,0011	1 comp (0,44)	0,0005	2comp 2x/dia	0,002
<b>VALE</b>	Na	0,19	1 comp (0,47)	0,09	1comp 2x/dia	0,18
	K	0,30	1 comp (0,47)	0,14	1comp 2x/dia	0,28
	Mg	0,02	1 comp (0,47)	0,009	1comp 2x/dia	0,02
	P	2,04	1 comp (0,47)	0,96	1comp 2x/dia	1,92
	Ca	0,19	1 comp (0,47)	0,09	1comp 2x/dia	0,18
	Se	0,0022	1 comp (0,47)	0,001	1comp 2x/dia	0,002
	Zn	<0,0009	-	-	-	-
<b>VARX</b>	Na	<0,0026	-	-	-	-
	K	0,05	1 comp (0,36)	0,02	1comp 3x/dia	0,06
	Mg	<0,0071	-	-	-	-
	P	0,50	1 comp (0,36)	0,18	1comp 3x/dia	0,54
	Ca	0,06	1 comp (0,36)	0,02	1comp 3x/dia	0,06
	Se	0,0035	1 comp (0,36)	0,001	1comp 3x/dia	0,003
	Zn	<0,0009	-	-	-	-

Em 11 amostras, a quantidade de selênio consumida num dia, em relação à posologia, foi igual ou até 10 vezes maior que seu IDR. Essa ingestão seria apenas proveniente do medicamento fitoterápico.

Três amostras apresentaram teor de sódio elevado em relação às demais, para a ingestão em um dia de tratamento. As amostras GUAV e PEIT oferecem em torno de 221 mg e 324 mg, respectivamente. Isso seria cerca de 11% e 16% da ingestão diária recomendada. A amostra BIOS apresentou a maior quantidade de sódio por dia de utilização do medicamento, sendo próximo de 831 mg, o que significa cerca de 42% da IDR do Na.

#### 4.6. ANÁLISE DE AGRUPAMENTOS HIERÁRQUICOS

A análise de componentes principais é realizada através dos valores de variância representados graficamente em eixos. Já a análise de agrupamentos hierárquicos permite a formação de grupos ou conglomerados, que são descritos na forma de um dendograma. A variância dos dados pode servir como forma de ligação entre os grupos. Ward é um método de ligação utilizado para a formação dos grupos, tende a produzir grupos com aproximadamente o mesmo número de elementos e tem como base principal os princípios de análise de variância [35].

Pode-se perceber que métodos espaciais (ex. PCA) e aglomerativos (ex. Ward) envolvem modelos diferentes e, às vezes, complementares, os quais são apropriados aos dados usando o mesmo princípio matemático. Isso acontece porque na prática os resultados do agrupamento através do Ward são prováveis para delinear *clusters* que correspondem visualmente a regiões de alta densidade de pontos na ordenação do PCA [58].

Dessa forma, utilizou-se Ward como método de ligação entre as amostras estudadas para obtenção dos conglomerados. O dendograma obtido é exposto na Figura 11.

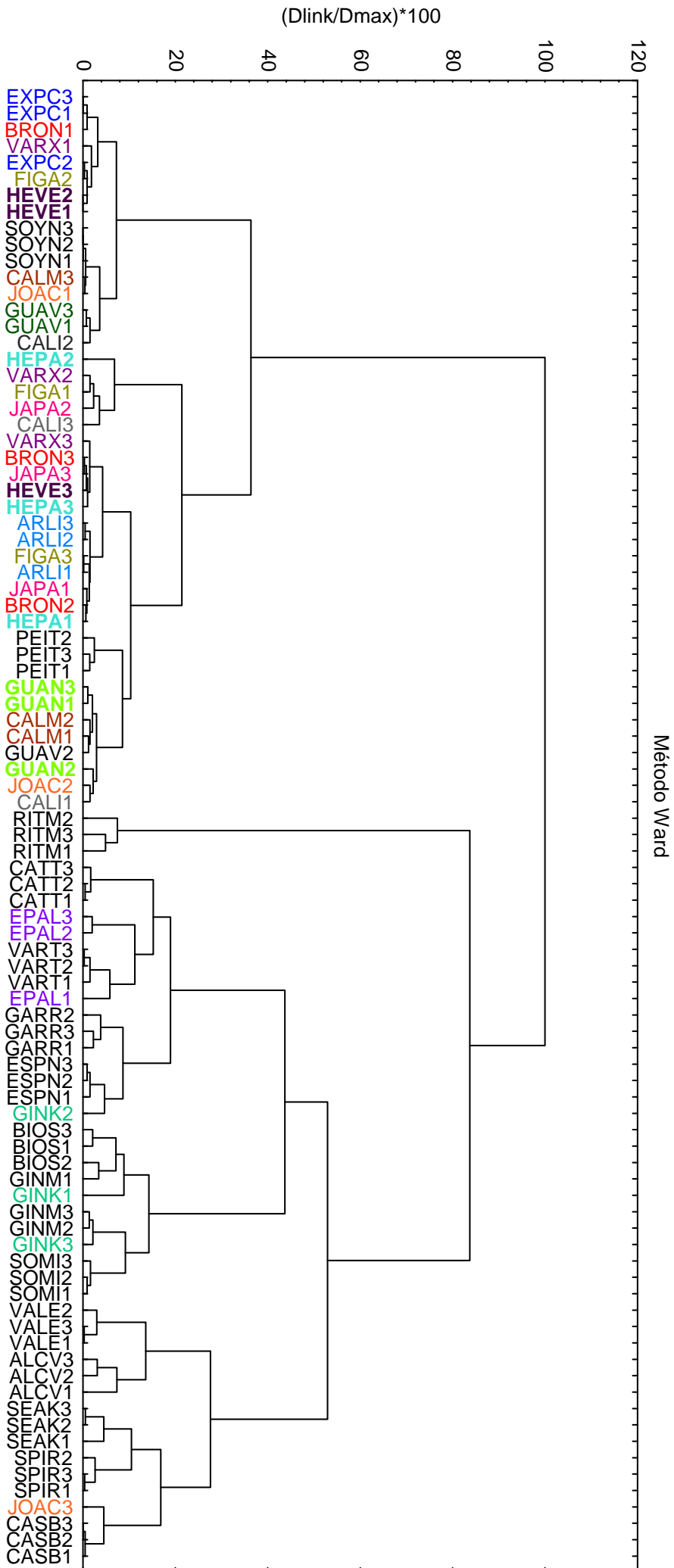


Figura 10. Dendrograma para a análise de agrupamentos hierárquicos em medicamentos fitoterápicos

A partir da análise de HCA foi possível identificar grupos homogêneos, nos quais as replicatas obtidas de um mesmo medicamento foram agrupadas. Para as amostras GINM e BIOS observou-se um *cluster* formado a uma distância de ligação inferior a 15%, o que confirma o grupamento formado na análise de PCA entre a PC1 e PC2 (Figuras 2 e 3). Observou-se também que algumas replicatas de diferentes amostras foram agrupadas. Exemplificando, as amostras EXPC e BRON, VARX e FIGA tiveram replicatas agrupadas distintamente, o que não é observado na análise de componentes principais. A heterogeneidade de alguns grupos pode ser explicada pelas baixas concentrações dos analitos apresentadas pela grande maioria das amostras observadas no grupo formado durante a análise de componentes principais.

As replicatas da amostra RITM apareceram em um grupo isolado a uma distância de ligação superior a 80%, como demonstrado no dendograma da Figura 11, confirmando sua segregação observada na análise de componentes principais, pelos elevados valores de concentração de K, Mg, Zn e P.

## 5. CONCLUSÕES

O ICP OES demonstrou ser uma boa técnica para medida de elementos químicos em fitoterápicos. A determinação de macro e microelementos nesses medicamentos é de extrema importância, já que não há parâmetros de limites máximos estabelecidos pelos órgãos nacionais. Esses elementos podem estar em níveis elevados, o que comprometeria diretamente a saúde humana, aumentando problemas de saúde crônicos e prevalentes, a exemplo da hipertensão arterial.

O emprego de ferramentas quimiométricas como a análise de componentes principais e a análise de agrupamentos hierárquicos para exploração de dados de concentração dos elementos de interesse se mostraram adequadas, pertinentes e valiosas para estudos iniciais da composição de macro e microelementos em amostras complexas.

A análise de PCA permitiu a identificação de amostras com teores diferenciados de Na, Ca, K, Mg, P, Se e Zn. Confirmou-se o alto nível de Na na amostra BIOS, obtendo-se o valor de Na total de acordo a posologia descrita para esse fitoterápico para um dia de tratamento, representando cerca de 42% de sua IDR. Além disso, as amostras GUAV e PEIT apresentaram cerca de 11% e 16%, respectivamente quanto ao teor de Na para IDR.

Onze amostras indicaram concentração de Se igual ou até 10 vezes superior ao seu IDR.

Em relação a análise de agrupamentos hierárquicos, foram observados grupos de amostras diferentes, o que pode ser explicado pelas baixas concentrações dos analitos na grande maioria dos medicamentos, evidenciado no grande grupo formado na análise de PCA. Além disso, percebeu-se grupos homogêneos, referentes às amostras com elevadas concentrações de Na e Ca (GINM e BIOS). A aplicação do HCA, aliada ao PCA, mostrou-se fundamental para a análise multivariada de dados, consolidando-se em estratégia indispensável para abordagens de diferentes elementos químicos em amostras complexas.

A Farmacopeia Brasileira deve incluir valores máximos desses elementos com o objetivo de garantir a segurança dos medicamentos.



## REFERÊNCIAS

---

[1] BRASIL. RDC n. 48 de 16 de março de 2004. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. ANVISA, 2004. Disponível em: <<http://www.cpqba.unicamp.br/plmed/docs/Resolucao%20RDC%2048%20de%2016032004.PDF>>, Acesso em: 24 jan, 2015.

[2] RATES, S. M. K. Promoção do uso racional de fitoterápicos: uma abordagem no ensino de Farmacognosia. **Revista brasileira de farmacognosia**, v. 11, n. 2, p. 57 a 69, 2001.

[3] ANSEL, H. C., ALLEN Jr, L. V. POPOVICH, N. G. **Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. 8 ed. Porto Alegre: Artmed, 2007.

[4] SIMÕES, C. M. O., SCHENKEL, E. P., GOSMANN, G., MELLO, J. C. P. de, MENTZ, L. A., PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6 ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2007.

[5] FIGUEREDO, C. A., GURGEL, I. G. D., GURGEL JUNIOR, G. D. A política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos: construção, perspectivas e desafios. **Revista de saúde coletiva**, Rio de Janeiro, n. 24, v. 2, p. 381 – 400, 2014. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/physis/v24n2/0103-7331-physis-24-02-00381.pdf>>, Acesso em: 20 jan, 2015.

[6] BARNES J. Quality, efficacy and safety of complementary medicines: fashions, facts and the future. Part I. Regulation and quality. **Br J Clin Pharmacol**. n. 55, n. 3, p. 226 a 233, 2003. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2125.2003.01810.x/epdf>>, Acesso em: 29 mar, 2015.

[7] TUROLLA, M. S. R., NASCIMENTO, E. S. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências**

---

**Farmacêuticas**. v. 42, n. 2, 2006. Disponível em: < <http://www.revistas.usp.br/rbcf/article/view/44128/47749>>, Acesso em: 12 fev, 2015.

[8] WHO. The importance of pharmacovigilance - safety monitoring of medicinal products. Geneva, 2002.

[9] VALDIR, F. V. J., PINTO, A. C., MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura?. **Quim Nova**, v. 28, n. 3, p. 519 a 528, 2005. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/qn/v28n3/24145.pdf>> Acesso em: 10 jan, 2015.

[10] YUNES R. A., PEDROSA R. C., CECHINEL FILHO V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Quim Nova**, n. 24, p. 147 a 152, 2001. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/qn/v24n1/4464.pdf>>, Acesso em 22 mar, 2015.

[11] FREITAS, A. Estrutura de mercado do segmento de fitoterápicos no contexto atual da indústria farmacêutica brasileira. Ministério da Saúde / OPAS, Brasília. 2007.

[12] MARQUES, L. C. Fitoterápicos: perspectivas de novos e antigos produtos. In: HARAGUCHI, L. M. M., CARVALHO, O. B. **Plantas medicinais**. Secretaria Municipal do Verde e do Meio Ambiente, São Paulo, 2010.

[13] KANDIL, O. The pharmaceutical industry in the Arab world challenger, controversies and future outlook. **Drug Discovery Today**. v. 9, n. 13, p. 543-545, 2004. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/sci-hub.org/science/article/pii/S1359644603029908>>, Acesso em 29 mar, 2015.

[14] MARQUES, L. C., SOUZA, C. M. Pesquisa e desenvolvimento de fitoterápicos: relatos de experiência em indústria farmacêutica nacional. **Revista Fitos**. v. 7, n. 1, jan-mar, 2012.

---

[15] BAŞGEL, S., ERDEMOĞLU, S. B. Determination of mineral and trace elements in some medicinal herbs and their infusions consumed in Turkey. **Science of the Total Environment**. n. 359, p. 82 a 89, 2006.

[16] RODUSHKIN I., RUTH T., HUHTASAARI A. Comparison of two digestion methods for elemental determinations in plant material by ICP techniques. **Anal Chim Acta**. n. 378, p. 191 a 200, 1999.

[17] BRASIL. Instrução normativa nº 4, de 18 de junho de 2014. Determina a publicação do Guia de orientação para registro de Medicamento Fitoterápico e registro e notificação de Produto Tradicional Fitoterápico. ANVISA, Ministério da Saúde, 2014. Disponível em: < <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/10f7288044703a8bbb8fffe3a642e80/Guia+final+dicol+180614.pdf?MOD=AJPERES>> Acesso em: 18 jan, 2015.

[18] BRASIL. RDC nº 37, de 6 de julho de 2009. Trata da admissibilidade das farmacopeias estrangeiras. Ministério da Saúde. ANVISA, 2009. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/e9d6f98048e524df8f859f466b74119d/RDC\\_37\\_2009\\_Trata%2Bda%2Badmissibilidade%2Bdas%2BFarmacop%C3%A9ias%2Bestrangeiras..pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/e9d6f98048e524df8f859f466b74119d/RDC_37_2009_Trata%2Bda%2Badmissibilidade%2Bdas%2BFarmacop%C3%A9ias%2Bestrangeiras..pdf?MOD=AJPERES)>. Acesso em: 26 jan, 2015.

[19] BRASIL. 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, ANVISA. 2014. Disponível em: < [http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0026\\_13\\_05\\_2014.pdf](http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0026_13_05_2014.pdf)>, Acesso em: 26 jan, 2015.

[20] VALENTINI, S. R., SOMMER, W. A., MATIOLI, G. Validação de métodos analíticos. **Arq Mudi**. v. 11, n. 2, p. 26 a 31, 2007. Disponível em: <

---

<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ArqMudi/article/viewFile/19999/10838>>, Acesso em: 25 mar, 2015.

[21] GOODMAN, Louis Sanford; GILMAN, Alfred Goodman; BRUNTON, Laurence L. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 11. ed. Rio de Janeiro, RJ: McGraw-Hill: AMGH Ed., 2006. xxiv, 1821 p.

[22] FILIPIAK-SZOK, A., KURZAWA, M., SZLYK, E. Determination of toxic metals by ICP-MS in asiatic and european medicinal plants and dietary supplements. **Journal of trace elements in medicine and biology**. 2014.

[23] BROWN, K. M., ARTHUR, J. R. Selenium, selenoproteins and human health: a review. **Public Health Nutr.** v. 4, n. 2B, p. 593 a 599, 2001. Disponível em: < <http://journals.cambridge.org/sci-hub.org/action/displayAbstract?fromPage=online&aid=1357440&fileId=S1368980001001495>>, Acesso: 29 mar, 2015.

[24] WHANGER, P. D. Selenocompounds in plants and animals and their biological significance. **J. Am. Coll. Nutr.** v. 21, p. 223 a 232, 2002. Disponível em: < <http://www.tandfonline.com/sci-hub.org/doi/abs/10.1080/07315724.2002.10719214>>, Acesso em: 29 mar, 2015.

[25] THOMSON, C.D. Assessment of requirements for selenium and adequacy of selenium status: a review. **Eur. J. Clin. Nutr.** v. 58, p. 391 a 402, 2004. Disponível em: < <http://www.nature.com/ejcn/journal/v58/n3/full/1601800a.html> >, Acesso em: 10 fev, 2015.

[26] YANG, G. Q., XIA, Y. M. Studies on human dietary requirements and safe range of dietary intakes of selenium in china and their application in the prevention of related endemic diseases. **Biomed Environ Sci.** v. 8, p. 187 a 201, 1995.

[27] KOLACHI, N. F., KAZI, T. G., AFRIDI, H. I., KAZI, N. G., MUGHAL, M. A., KHAN, S. Effects of selenium and zinc status in biological samples of hepatitis c

---

patient after herbal and pharmaceutical supplements. **Biol Trace Elem Res.** v. 152, p. 187 a 194, 2013.

[28] KREBS, N. E., HAMBIDGE, K. M. Zinc metabolism and homeostasis: the application of tracer techniques to human zinc physiology. **Biometals.** v. 14, p. 397 a 412, 2001. Disponível em: < <http://link.springer.com/sci-hub.org/article/10.1023/A:1012942409274>>, Acesso em: 22 dez, 2014.

[29] INSTITUTE OF MEDICINE, USA. Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc . A report of the panel of micronutrients, subcommittees on upper reference levels of nutrients and of interpretation and uses of dietary reference intakes and the standing committee on the scientific evaluation of dietary reference intakes. **National Academy Press.** Washington, DC, 2001.

[30] PRASAD, A. S. Deficiency of zinc in man and its toxicity. In: PRASAD, A.S., OBERLEAS, D. (Eds.), **Trace Elements in Human Health and Disease**, v. 1. Zinc and Copper. Academic Press, New York, p. 1 a 20, 1976.

[31] BURCH, R. E., HAHN, H. K. J., SULLIVAN, J. F. Newer aspects of the roles of zinc, manganese and copper in human nutrition. **Clin Chem.** v. 21, n. 4, p. 501 a 520, 1975. Disponível em: < <http://www.clinchem.org/content/21/4/501.long>>, Acesso em: 6 fev, 2015.

[32] ROMANI A. Regulation of magnesium homeostasis and transport in mammalian cells. **Arch Biochem Biophys.** v. 458, p. 90 a 102, 2007.

[33] WITKOWSKI, M., HUBERT, J., MAZUR, A. Methods of assessment of magnesium status in humans: a systematic review. **Magnesium Research.** v. 24, n. 4, p. 163 a 80, 2011.

---

[34] VIEIRA NETO, O. M., MOYSÉS NETO, M. Distúrbios do equilíbrio hidroeletrólítico. **Medicina, Ribeirão Preto**. v. 36, p. 325 a 337, 2003. Disponível em: < [http://revista.fmrp.usp.br/2003/36n2e4/17disturbios\\_equilibrio\\_hidroeletrolitico.pdf](http://revista.fmrp.usp.br/2003/36n2e4/17disturbios_equilibrio_hidroeletrolitico.pdf)>, Acesso em: 27 dez, 2014.

[35] MINGOTI, S. A. Análise de dados através de métodos de estatística multivariada: uma abordagem aplicada. Belo Horizonte: **UFMG**, 2007.

[36] SINESCU, I., CHIBILEAN, C., SURCEL, C., STEFANESCU, M. V., FERRARA, M. Principal component analysis and classification with applications in medicine. **Economic computation and economic cybernetics studies and research**. v. 43, p. 57 a 72, 2009. Disponível em: < <http://www.ecocyb.ase.ro/pdfrev/V%20%20Stefanescu.pdf>>, Acesso: 11 mar, 2015.

[37] FADIGAS, J. C., SANTOS, A. M. P. dos, JESUS, R. M. de, LIMA, D. C., FRAGOSO, W. D., DAVID, J. M., FERREIRA, S. L. C. Use of multivariate analysis techniques for the characterization of analytical results for the determination of the mineral composition of kale. **Microchemical Journal**. n. 96, p. 352 – 356, 2010.

[38] TOKALIOĞLU, Şerife. Determination of trace elements in commonly consumed medicinal herbs by ICP-MS and multivariate analysis. **Food chemistry**. n. 134, p. 2504 – 2508, 2012. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/sci-hub.org/science/article/pii/S030881461200756X> >, Acesso em: 09 mar, 2015.

[39] ARUMUGAM, R., KANNAN, R. R. R., JAYALAKSHMI, J., MANIVANNAN, K., DEVI, G. K., ANANTHARAMAN, P. Determination of element contents in herbal drugs: chemometric approach. **Food chemistry**. n. 135, p. 2372 – 2377,

---

2012. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/sci-hub.org/science/article/pii/S0308814612011521>>, Acesso em: 26 mar, 2015.

[40] ANDERSON, T. W. An introduction to multivariate statistical analysis. 3 ed. Hoboken, NJ: John Wiley and Sons, 2003.

[41] KARADAŞ, Cennet., KARA, Derya. Chemometric approach to evaluate trace metal concentrations in some spices and herbs. **Food chemistry**. n. 130, p. 196 a 202, 2012. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/sci-hub.org/science/article/pii/S0308814611009538>>, Acesso em: 17 mar, 2015.

[42] BRATCHELL, N. **Cluster analysis**, Chemometr. Intell. Lab. Syst. v. 6, p. 105–125, 1989.

[43] KELLNER, R., MERMET, J., OTTO, M., VALCÁRCEL, M., WIDMER, H. M. (Eds.) **Analytical Chemistry: a Modern Approach to Analytical Science**, 2 ed, Wiley, p. 176 a 189, cap. 8, 2004.

[44] BRERETON, R.G. **Chemometrics, Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant**, 1 ed, Wiley, London, 2004.

[45] RAZIC, S. S., DOGO, S. M., SLAVKOVIC, L. J. Multivariate characterization of herbal drugs and rhizosphere soil samples according to their metallic content. **Microchemical journal**. v. 84, p. 93 a 101, 2006.

[46] SINGH, S. K., JHA, S. K., CHAUDHARY, A., YADAVA, R. D. S., RAI, S. B. Quality control of herbal medicines by using spectroscopic techniques and multivariate statistical analysis. **Pharmaceutical Biology**, v. 48, n. 2, p. 134 a 141, 2010. Disponível em: < <http://informahealthcare.com/sci-hub.org/doi/abs/10.3109/13880200903059388>>, Acesso em: 29 mar, 2015.

---

[47] FERREIRA, S. L. C., SILVA, L. O. B., SANTANA, F. A. de, SANTANA Jr, M. M., MATOS, G. D., SANTOS, W. N. L. dos. A review of reflux systems using cold finger for sample preparation in the determination of volatile elements. **Microchemical journal**. v. 106, p. 307 a 310, 2013.

[48] THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. Harmonized guidelines for single laboratory validation of methods of analysis - (IUPAC technical report). **Pure Appl. Chem.**, v. 74, n. 5, p.835–855, 2002.

[49] BRITO, N. M., AMARANTE JUNIOR, O. P., POLESE, L., RIBEIRO, M. L. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticidas: R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente**. Curitiba, v. 13, p. 129-146, 2003.

[50] ARMBRUSTER, D. A., PRY, T. Limit of Blank, Limit of Detection and Limit of Quantitation. **Clin Biochem Rev**. v. 29, p. 49 a 52, 2008. Disponível em: <[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2556583/pdf/cbr29\\_s\\_pgs49.pdf](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2556583/pdf/cbr29_s_pgs49.pdf)> , Acesso em: 30 jan, 2015.

[51] Federal Register (Notices). Analytical Procedures and Methods Validation: chemistry, manufacturing, and controls. v. 65, p. 776 - 777, 2000.

[52] SKOOG, D. A., WEST, D. M., HOLLER, F. J., CROUCH, S. R. Fundamentos de química analítica. Sao Paulo: **Cengage Learning**, 8 ed, 2010.

[53] ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Farmacopeia Brasileira, volume 1. 5ª Ed. Brasília, 2010.

[54] BRASIL, ANVISA. RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005. Dispões sobre o regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. Ministerio da Saúde, 2005. Disponível em: <



---

[http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/1884970047457811857dd53fbc4c6735/RDC\\_269\\_2005.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/1884970047457811857dd53fbc4c6735/RDC_269_2005.pdf?MOD=AJPERES)>, Acesso em: 14 dez, 2014.

[55] GOYER, R. A., CLARKSON, T. W. Toxic Effects of Metals. In: CASERETT and DOULL'S. **Toxicology: the Basic Science of Poisons**, 5 ed, Curtis D. Klaasen. New York: McGraw-Hill. 1996

[56] WHO. Guideline: Potassium intake for adults and children. Geneva, 2012.

[57] WHO. Guideline: Sodium intake for adults and children. Geneva, 2012.

[58] MURTAGH, F., LEGENDRE, P. Ward's hierarchical agglomerative clustering method: which algorithms implement ward's criterion?. **Journal of Classification**. v. 31, p. 274 a 295, 2014. Disponível em: <<http://link.springer.com/sci-hub.org/article/10.1007/s00357-014-9161-z>>, Acesso em: 19 mar, 2015.