

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

Thaís Ramos Dal Molin

**INVESTIGAÇÃO DE ADULTERANTES EM SUPLEMENTOS
ALIMENTARES POR CROMATOGRÁFIA DE TROCA IÔNICA COM
DETECÇÃO CONDUTOMÉTRICA**

Santa Maria, RS
2016

Thaís Ramos Dal Molin

**INVESTIGAÇÃO DE ADULTERANTES EM SUPLEMENTOS ALIMENTARES POR
CROMATOGRÁFIA DE TROCA IÔNICA COM DETECÇÃO CONDUTOMÉTRICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre em Ciências Farmacêuticas**.

Orientador: Prof. Dr. Leandro Machado de Carvalho
Co-orientadora: Profa. Dra. Carine Viana Silva

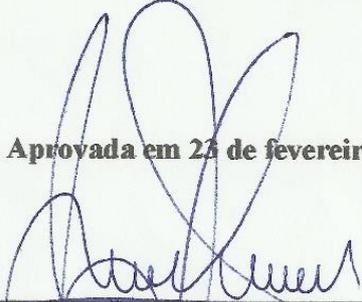
Santa Maria, RS
2016

Thaís Ramos Dal Molin

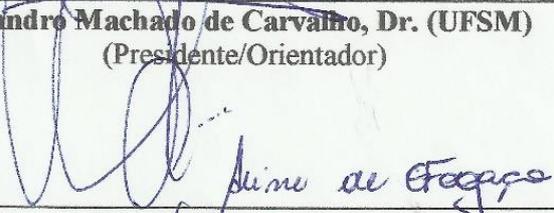
**INVESTIGAÇÃO DE ADULTERANTES EM SUPLEMENTOS ALIMENTARES POR
CROMATOGRÁFIA DE TROCA IÔNICA COM DETECÇÃO CONDUTOMÉTRICA**

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre em Ciências Farmacêuticas**.

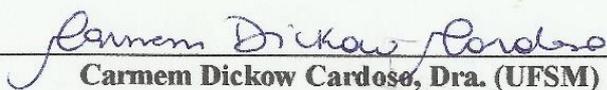
Aprovada em 23 de fevereiro de 2016



Leandro Machado de Carvalho, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)



Aline de Oliveira Fogaça, Dra. (UNIFRA)



Carmem Dickow Cardoso, Dra. (UFSM)

Santa Maria, RS
2016

DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho ao meu eterno anjo da guarda, meu
irmão Diego Ramos Dal Molin (in memoriam).
Aos meus exemplos de vida, amor e dedicação, meus
pais Maribel Ramos Dal Molin e João Carlos Dal Molin.
Amo muito todos vocês*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer ao meu orientador, Prof. Leandro Machado de Carvalho pela confiança posta em mim desde o início da minha graduação e me auxiliando no meu crescimento pessoal e profissional. À minha co-orientadora Prof. Carine Viana Silva pelas orientações dadas para o desenvolvimento deste trabalho e pela amizade. Aos professores Paulo C. Nascimento e professora Denise Bohrer, agradeço por serem sempre tão carinhosos e zelosos. Ao professor Barcellos por sempre estar disposto a tirar qualquer dúvida. À professora Aline Fogaça que esteve presente desde minha graduação, muito obrigada pelas orientações e pela amizade. À banca por se dispor à avaliar e contribuir com o meu trabalho.

Aos meus amigos, e praticamente irmãos ou pais (dependendo da situação), Alex, Ananda e Bruna por sempre estarem presente quando eu mais precisei, por me fazerem rir, pelos conselhos dados, pelos abraços apertados, pelas lágrimas secadas e pelos mates tomados. Muito obrigada pela presença de vocês dentro e fora do laboratório, amo muito vocês.

À Patrícia, Carol, Diana, Márcia, Fernanda, Larissa, Rayane, Chrys e Gabriela por tornar a rotina de trabalho muito mais alegre, descontraída e prazerosa. Aos meus colegas do LACHEM muito obrigada por tudo e por todos estes anos de companheirismo e trabalho. A pesquisa se torna muito mais inspiradora e divertida com vocês.

Aos meus amigos William, Camilla, Ana Paula, Murilo, Comarella e Tati. A amizade de vocês é a melhor coisa que eu poderia ter recebido na minha vida, muito obrigada por fazerem parte das minhas conquistas.

Aos meus pais João e Maribel, meus amigos e companheiros, serei eternamente grata. Vocês foram fundamentais ao longo da minha caminhada. Muito obrigada por todo o apoio dado, pela confiança nas minhas escolhas e pelas vezes em que me ajudaram em ir em busca dos meus sonhos. Amo muito vocês!!!

Meu namorado, Diego Aguiar de Arruda, não poderia ter encontrado pessoa melhor. Meu companheiro, amigo, amante. Sou muito abençoada por te ter ao meu lado, muito obrigada por todo o teu amor, pela tua paciência e por ser quem tu és. Agradecerei, também, eternamente pela segunda família que tu me deste, pelos teus pais, tuas avós e tias. Amo muito vocês.

Enfim, agradeço a todos aqueles que de uma maneira passaram em minha vida, seja me trazendo bons frutos, me auxiliando na construção do meu caráter ou até mesmo me dando força para demonstrar de que eu sou capaz. Muito obrigada a todos.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

Marthin Luther King

RESUMO

INVESTIGAÇÃO DE ADULTERANTES EM SUPLEMENTOS ALIMENTARES POR CROMATOGRAFIA DE TROCA IÔNICA COM DETECÇÃO CONDUTOMÉTRICA

AUTORA: Thaís Ramos Dal Molin

ORIENTADOR: Prof. Dr. Leandro Machado de Carvalho

CO-ORIENTADORA: Profa. Dra. Carine Viana Silva

Com o aumento no número de frequentadores de academias esportivas, cresce concomitantemente a busca por resultados rápidos e eficazes, através do consumo de produtos ergogênicos e suplementos alimentares. Os suplementos alimentares são produtos indicados para atletas a fim de repor nutrientes e outras substâncias perdidas ao longo das intensas atividades físicas, ou então para suplementar uma dieta quando esta é insuficiente. No Brasil não existe legislação oficial para suplementos alimentares, e muitas vezes um mesmo produto pode ser regularizado por mais de uma resolução. Devido a popularização destes produtos, aliado ao forte apelo comercial de que eles são capazes de modificar a forma física e auxiliar na perda de peso, os próprios fabricantes buscam chamar a atenção do consumidor através da adição de substâncias que não são permitidas em alimentos. A adulteração deliberada ocorre quando fármacos são adicionados propositalmente com a finalidade de induzir a falsa imagem de que o produto realmente funciona. As classes farmacêuticas comumente descritas na literatura utilizadas como adulterantes são os anorexígenos, diuréticos e laxantes, sendo neste trabalho representados pela sibutramina, anfepramona, femproporex, amilorida e bisacodil. Todos estes medicamentos apresentam efeitos colaterais graves, e quando administrados em excesso podem trazer desde desidratação e perda de eletrólitos e até danos irreversíveis ao organismo, como Acidente Vascular Cerebral (AVC) e Infarto Agudo do Miocárdio (IAM). Em decorrência disso, busca-se metodologias analíticas rápidas, eficientes e seletivas a fim de investigar e evitar as possíveis adulterações em suplementos alimentares. A cromatografia de troca iônica com detecção condutométrica (IEC-CD) consiste na interação eletrostática entre os analitos de interesse e os sítios de ligação da coluna, associada a um detector universal. Logo, este trabalho teve como objetivo principal otimizar, validar e aplicar um método de *screening* para a investigação da presença de anfepramona, femproporex, sibutramina, bisacodil e amilorida em amostras de suplementos alimentares obtidas em *websites* brasileiros. O método foi desenvolvido com uma coluna de troca catiônica Metrosep C4 100/4.0. A fase móvel consistiu de 1,8 mM de HNO₃ contendo 2% de acetonitrila, com um fluxo de 0,9 mLmin⁻¹ e detecção por condutividade sem supressão iônica. Os limites de detecção (LOD) variaram de 1,01 a 3,62 mg.L⁻¹, enquanto que os limites de quantificação (LOQ) ficaram na faixa de 1,48 a 8,72 mg.L⁻¹. O método foi aplicado em 78 amostras sólidas de suplementos alimentares, sendo que duas apresentaram suspeita de adulteração. Uma amostra apresentou concentração de sibutramina de 9,877 ± 0,05 mg g⁻¹ e a outra de 8,076 ± 0,01 mg g⁻¹ de bisacodil. O método apresentou-se linear, seletivo e aplicável para grandes quantidades de amostras. A provável presença destes adulterantes sugere maiores investigações quanto às reais informações descritas no rótulo dos suplementos alimentares, testes pré-mercado de segurança e eficácia e a exigência do comprometimento por parte dos fabricantes com as legislações vigentes.

Palavras-chaves: IEC-CD. Adulterantes. Suplementos alimentares.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ADULTERANTS IN DIETARY SUPPLEMENTS BY ION EXCHANGE CHROMATOGRAPHY WITH CONDUCTOMETRIC DETECTION

AUTHOR: Thaís Ramos Dal Molin
ADVISOR: Prof. Dr. Leandro Machado de Carvalho
CO-ADVISOR: Prof. Dr. Carine Viana Silva

With the increase in the number of regulars gym, concomitantly increases the search for fast and effective results through the consumption of ergogenic products and food supplements. The dietary supplements are products suitable for athletes, in order to replenish nutrients and other substances lost over the intense physical activities, or else to supplement a diet when this is insufficient. In Brazil, there is no official legislation for dietary supplements, and many times the same product can be regulated by more than one resolution. Because of the popularization of these products, associated to strong commercial appeal that they are able to modify the physical form, or promotes the weight loss, the manufactures seek to draw consumers' attention by adding substances that are not allowed in foods. Deliberated adulteration occurs when medicinal drugs are added proposal in order to induce the false impression that the product really works. The pharmaceuticals class commonly describes in the literature used as adulterants are the appetite suppressants, diuretics and laxatives, and in this work represented for the sibutramine, amfepramone, femproporex, amiloride and bisacodyl. All these drugs have serious side effects, that when administered in excess can bring from dehydration with electrolyte loss and even irreversible damages for the organism, such as Cerebrovascular Accident (CVA) and Acute Myocardial Infarction (AMI). As a result, we seek to rapid analytical methodologies, efficient and selective in order to investigate and prevent the possible adulterations in dietary supplements. Ion Exchange Chromatography with Conductivity Detection (IEC-CD) consisted in the electrostatic interaction between the interest analytes and binding sites of the column, combined with a universal detector. Thus, this work aimed to the optimization, validation and application of a screening method for the investigation of the presence of amfepramone, femproporex, sibutramine, bisacodyl and amiloride in dietary supplements samples obtained from Brazilian website. The method was development with a cation exchange column Metrosep C4 100/4.0. The mobile phase consisted of 1.8 mM HNO₃ containing 2% of acetonitrile, with flow rate of 0.9 mL.min⁻¹, and conductivity detection without suppression. The limits of detection (LOD) varied from 1.01 until 3.62 mg.mL⁻¹, whereas the limits of quantification (LOQ) were in the range of 1.48 to 8.72 mg.mL⁻¹. The proposal method was applied in 78 solids samples of dietary supplements, and two were suspected of adulteration. One sample showed 9.877 ± 0.05 mg.g⁻¹ of sibutramine, and another 8.076 ± 0.01 mg.g⁻¹ of bisacodyl. The method presented be linear, specific, selective and applicable for large number of samples. The possible presence of these adulterants suggests more investigations about the real information describes on the labels of dietary supplements, pre-market safety and efficacy tests and the requirement of commitment from manufactures with the current legislation.

Key words: IEC-CD. Adulterants. Dietary supplements.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Gráfico representativo do número de *recalls* realizados nos últimos cinco anos pelo FDA. 28
- Figura 2 - Principais causas da retirada de suplementos alimentares do mercado americano nos últimos 5 anos. 28
- Figura 3 - Cromatógrafo de Íons utilizado para o desenvolvimento do método proposto Modelo IC 883 Plus da Metrohm®. 46
- Figura 4 - Amostras de suplementos alimentares obtidas em websites brasileiros 48
- Figura 5 - Esquema de preparo das amostras de suplemento alimentar. 49
- Figura 6 - Estrutura molecular dos compostos investigados no presente trabalho. Os grupos em destaque representam os sítios de protonação que irão interagir na fase estacionária..... 51
- Figura 7 - Cromatograma da separação das três classes de fármacos pesquisadas como adulterantes em suplementos alimentares (a) 20 mg.L⁻¹ de femproporex, (b) 50 mg.L⁻¹ de anfepramona, (c) 50 mg.L⁻¹ de amilorida, (d) 100 mg.L⁻¹ de bisacodil e (e) 100 mg.L⁻¹ de sibutramina. Condições cromatográficas: fase móvel 1,8 mM HNO₃ e 2% de acetonitrila, coluna Metrosep C4 100/4.0, fluxo 0,9 mL.min⁻¹ e volume de injeção de 20 µL..... 53
- Figura 8 - Cromatograma com o tempo de análise reduzido para 15 minutos, no qual foi detectado sinefrina (a) e hordenina (b) como interferentes e femproporex (c), anfepramona (d) e amilorida (e) como os fármacos de escolha para o estudo, todos na concentração de 50 mg.L⁻¹. Condições cromatográficas: fase móvel 1,8 mM HNO₃ e 2% de acetonitrila, coluna Metrosep C4 100/4.0, fluxo 0,9 mLmin⁻¹ e volume de injeção de 20 µL - 55
- Figura 9 - Curva de calibração dos padrões constituída de sete pontos..... 56
- Figura 10 - Resumo das informações declaradas pelos fabricantes no rótulo quanto aos aspectos regulatórios dos suplementos alimentares. 73
- Figura 11 - Relação dos ingredientes citados nos rótulos das amostras pelos produtores. 75
- Figura 12 - Amostra diluída 200 vezes sem adição de padrões (a) e com adição de padrão (b), com a presença de um pico desconhecido..... 78
- Figura 13 - Cromatograma da amostra “A” com pico sugestivo de presença de sibutramina. Condições cromatográficas: fase móvel 1,8 mM HNO₃ e 2% de acetonitrila,

coluna Metrosep C4 100/4.0, fluxo 0,9 mL.min⁻¹ e volume de injeção de 20 µL.

..... 79

Figura 14 - Cromatograma da amostra “B” com pico sugestivo de presença de bisacodil.

Condições cromatográficas: fase móvel 1,8 mM HNO₃ e 2% de acetonitrila,
coluna Metrosep C4 100/4.0, fluxo 0,9 mL.min⁻¹ e volume de injeção de 20 µL

..... 80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Resumo da RDC nº 18 de 2010 quanto à definição de alimentos para atletas.	21
Tabela 2 - Resumo das legislações em que também é possível enquadrar os suplementos alimentares.	23
Tabela 3 - Trabalhos descritos recentemente na literatura para a investigação de adulterantes em suplementos alimentares e os métodos de análise disponíveis.	31
Tabela 4 - Trabalhos descritos na literatura para a análise de fármacos por IEC-CD.	34
Tabela 5 - Principais resinas de troca iônica para a cromatografia de íons.	37
Tabela 6 - Informações descritas nas bulas de anorexígenos, diurético e laxante a serem estudados.	40
Tabela 7 - Padrões dos fármacos estudados como adulterantes e interferentes para a otimização e validação do método.	45
Tabela 8 - Tempo de retenção e pKa dos analitos de interesse para o método de IEC-CD.	52
Tabela 9 - Concentração dos fármacos para a realização dos ensaios de precisão intradias e interdias.	57
Tabela 10 - Resultado dos parâmetros validados para o método proposto.	58
Tabela 11 - Amostras de suplementos alimentares com as respectivas descrições encontradas no rótulo.	61
Tabela 12 - Tabela representativa das amostras suspeitas de adulteração, sua composição e a concentração de adulterantes encontrada e suas doses diárias recomendadas.	81

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemists</i>
AVC	Acidente Vascular Cerebral
CD	Detecção por condutividade, do inglês <i>Conductivity detection</i>
CZE-C ⁴ D	Eletroforese Capilar de Zona com Detecção por Condutividade
DAD	Detecção por Arranjo de Diodos
DMAA	Dimetilamilamina
DSHEA	<i>Dietary Supplement Health and Education Act</i>
EAs	Esteroides Androgênicos Anabólicos
ESI	Ionização por Eletrospray
FDA	<i>Food and Drugs Administration</i>
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, do inglês <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
HPLC-UV-ESI-MS	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detecção Ultravioleta e Espectrometria de Massas com Ionização por Eletrospray
HPTLC –UV	Cromatografia Líquida de Camada Fina de Alta Eficiência com Detecção Ultravioleta
IEC	Cromatografia de Troca Iônica do inglês <i>Ion Exchange Chromatography</i>
iMAO	Inibidores da monoaminoxidase
IR	Infravermelho do inglês <i>Infrared</i>
LACHEM	Laboratório de Análises Químicas
LC	Cromatografia líquida, do inglês <i>Liquid chromatography</i>
LC-MS	Cromatografia Líquida com Detecção por Massas, do inglês <i>Liquid Chromatography with Mass Detection</i>
LC/ESI-MS	Cromatografia Líquida com Ionização por Eletrospray e Detecção por Massas
LC/PDA	Cromatografia líquida com arranjo de fosfodiodos
LOD	Limite de Detecção
LOQ	Limite de Quantificação
MCT	Triglicerídeos de Cadeia Média, do inglês <i>Medium Chain Triglyceride</i>
MS/MS	Espectrometria de Massas Sequencial
NMR	Ressonância Magnética Nuclear do inglês <i>Nuclear Magnetic Resonance</i>
PDA	Detecção por Arranjo de Fosfodiodos
PDE-5	Fosfodiesterase-5
RSD	Desvio Padrão Relativo
SVS	Secretária de Vigilância Sanitária
TLC – SERS	Cromatografia de Camada Fina com espalhamento de superfície melhorada de Raman (do inglês <i>Thin-layer Chromatography and Surface-enhanced Raman scattering</i>)
UFMS	Universidade Federal de Santa Maria
UPLC	Cromatografia Líquida de Ultraalta Eficiência
UV	Detecção Ultravioleta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.2 OBJETIVOS	17
1.2.1 Objetivo geral	17
1.2.2 Objetivos específicos.....	17
2 REFERENCIAL TEÓRICO	18
2.1 SUPLEMENTOS ALIMENTARES	18
2.1.1 Regulamentação de suplementos alimentares	20
2.1.2 Práticas de adulterações em suplementos alimentares	26
2.2 METODOLOGIAS DISPONÍVEIS PARA A INVESTIGAÇÃO DE ADULTERANTES EM SUPLEMENTOS ALIMENTARES	29
2.2.1 Cromatografia de Troca Iônica com Detecção Condutométrica (IEC-DC)	32
2.2.2 Aplicação da IEC-CD para a análise de fármacos	33
2.3 ANOREXÍGENOS, DIURÉTICOS E LAXANTES	38
3 MATERIAL E MÉTODOS	44
3.1 REAGENTES E PADRÕES	44
3.2 INSTRUMENTAÇÃO	46
3.3 ROTINA DE ANÁLISE E VALIDAÇÃO DO MÉTODO	47
3.4 AMOSTRAGEM E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS	48
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
4.1 OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DO MÉTODO PARA A DETERMINAÇÃO DE ANOREXÍGENOS, DIURÉTICO E LAXANTE	50
4.2 ASPECTOS REGULATÓRIOS DOS SUPLEMENTOS ALIMENTARES.....	59
4.3 APLICAÇÃO DO MÉTODO NAS AMOSTRAS DE SUPLEMENTOS ALIMENTARES	77
5 CONCLUSÃO	83
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	85

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o segundo país no número de academias de prática esportiva do mundo. Em 2004 haviam cerca de 7000 academias, onde 2,8 milhões de brasileiros realizavam suas atividades físicas (CONFEEF, 2015). Em 2010 o número de academias aumentou para 16 mil estabelecimentos com 4,2 milhões de frequentadores (ACAD, 2004). Dentre os serviços encontrados em uma academia está a comercialização de produtos ergogênicos e suplementos alimentares. Entretanto o consumo destes produtos nem sempre é indicada por um nutricionista ou médico (DOMINGUES; MARINS, 2007).

Suplemento é o nome comum utilizado para designar vitaminas, minerais, produtos naturais e outras substâncias administrados por via oral, que visam suprir uma ou mais necessidades da dieta (PETRÓCZI et al., 2008). São produtos compostos em sua maioria por vitaminas, minerais, fibras, ácidos graxos ou aminoácidos (SBME, 2003). Em suas formulações é proibida a presença de estimulantes, hormônios e outras substâncias consideradas como *dopping* contidas na lista de substâncias proibidas pela Agência Mundial Antidopping (WADA), assim como substâncias com ação ou finalidade terapêutica ou medicamentosa (BRASIL, 2010a). Todavia, o grande número de produtos disponíveis no mercado e comercializados livremente com o auxílio da *internet* e, adicionalmente, sem a devida fiscalização, tem facilitado a ocorrência de fraudes e adulterações (CORREIA, 2008).

Em virtude de ser um alimento isento de registro e de livre comercialização e importação (BRASIL, 2010b; USA, 2010), somado a intenção de promover comercialmente o produto, a prática de adulteração é cada vez mais recorrente (CHO et al., 2015; SONG et al., 2014; USA, 2014). No Brasil, apenas os testes de índice protéico ou de valores de carboidratos presentes nas amostras são realizados pelo órgão regulador deste tipo de produto (BRASIL, 2014a), tornando-se questionável a presença de outras substâncias não declaradas, como os fármacos sintéticos.

Medicamentos como os anorexígenos, diuréticos e laxantes são os alvos de pesquisas como adulterantes, pois são adicionados com o intuito de promoverem a diminuição do peso corporal (MOREIRA et al., 2013). Por se tratar de um componente desconhecido do consumidor, torna-se preocupante os possíveis danos causados ao organismo provenientes da presença de fármacos, como interações medicamentosas e até mesmo associação dos medicamentos aos componentes da formulação de suplementos alimentares.

Diferentes metodologias para a pesquisa de adulterantes sintéticos em amostras ditas naturais ou isentas de fármacos, são descritas na literatura. A cromatografia líquida de alta

eficiência com espectrômetro de massas (LC-MS) é o método mais descrito (HUANG et al., 2008; CHEN et al., 2009; LU et al., 2010; GUO et al., 2014; SONG et al., 2014; ZHANG et al., 2014). Entretanto, por ser um método dispendioso, de difícil acesso, com alto consumo de reagentes, acaba-se tornando inviável quando há um grande número de amostras, ou quando se busca uma investigação com a utilização de equipamentos de bancada. Na técnica HPLC inclui-se a cromatografia de íons ou, mais precisamente, cromatografia de troca iônica. Esse método é baseado em uma reação química estequiométrica entre os íons de uma solução e uma substância sólida contendo os grupos funcionais, que podem fixar íons como resultado de forças eletrostáticas (METROHM, 2006). Além do baixo custo, a cromatografia de troca iônica com detecção condutométrica traz inúmeras vantagens. Por se tratar de um detector universal, e devido às interações específicas dos íons com a fase estacionária, as medidas de fármacos são sensíveis, seletivos e reprodutíveis.

Dentro do contexto apresentado, esse trabalho traz a otimização de um método analítico por cromatografia de troca iônica com detecção condutométrica e sua aplicação para a determinação de três classes distintas de fármacos comumente descritas na literatura como adulterantes em amostras de suplementos alimentares adquiridas da *internet*.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

O presente trabalho tem por objetivo otimizar, validar e aplicar um método para a investigação de alguns fármacos representantes das principais classes de fármacos utilizadas como adulterantes em suplementos alimentares empregando a cromatografia de troca iônica.

1.2.2 Objetivos específicos

- Propor e otimizar um método para a determinação de fármacos nas formas catiônicas por cromatografia de troca iônica com detecção condutométrica;
- Validar o método proposto de acordo com as diretrizes da AOAC (2013) e da Anvisa (BRASIL, 2003) para a investigação de fármacos da classe dos anorexígenos (anfepromona, femproporex e sibutramina), diuréticos (amilorida) e laxantes (bisacodil);
- Analisar, de acordo com a legislação vigente, a composição e os aspectos regulatórios declarados pelos fabricantes dos suplementos alimentares comercializados via *websites* no Brasil;
- Aplicar o método desenvolvido a fim de investigar possíveis adulterações nas amostras de suplementos alimentares obtidas na *internet*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 SUPLEMENTOS ALIMENTARES

De acordo com a legislação americana, suplementos alimentares são produtos administrados via oral com a intenção de suplementar a dieta (USA, 2014). Esses produtos podem conter vitaminas, minerais, produtos naturais, aminoácidos ou outras substâncias (GLISSON; WALKER, 2010). Eles são indicados para atletas que possuem deficiência em um ou mais nutriente devido ao grande gasto energético, ou até mesmo comercializados como recursos ergogênicos, ou seja, apresentados ao consumidor como capazes de melhorar a forma física (HALLAK; FABRINI; PELUZIO, 2007).

O uso indiscriminado de suplementos se difundiu nas academias, principalmente entre os adolescentes, ou seja, esses produtos que antes eram consumidos apenas por atletas, passaram a ser consumidos por praticantes ou não de exercícios físicos. As principais justificativas para o consumo são: compensar uma dieta inadequada, melhorar a imunidade, aprimorar o desempenho e prevenir doenças. Outrossim, muitas vezes, a recomendação de ingestão desses produtos ocorre de forma equivocada através da indicação de amigos ou profissionais inaptos (ALVES; LIMA, 2009; CALFEE; FADALE, 2006).

Em virtude do grande apelo comercial em busca do corpo perfeito, o uso de suplementos alimentares pelos consumidores vem aumentando no mundo inteiro (GÖKER; COSKUN; ALP, 2010). De acordo com um estudo realizado nos Estados Unidos, menos de 40% da população adulta fazia uso de suplementos entre 1988 até 1994, e aumentando para mais da metade da população entre 2003 até 2006 (GAHCHE et al., 2011). Um estudo realizado por Bell e colaboradores (2004) com alunos de uma escola do Canadá, demonstrou que 42% dos estudantes consumiam algum tipo de suplemento e entre os mais populares estavam as preparações multivitamínicas e minerais. Além disso, 68% dos entrevistados declararam que usariam suplementos proteicos e 50% deles acreditavam que estes produtos promoveriam alguma melhora no desempenho.

Goston e Correia (2010) entrevistaram 1102 pessoas em 50 academias de Belo Horizonte. Dos entrevistados, 36,8% responderam que consumiam algum tipo de suplemento, sendo a maioria do sexo masculino, com idade inferior a 31 anos. Os mais citados foram os produtos ricos em proteínas, consumidos por 58% dos entrevistados. Os autores também ressaltaram que os suplementos consumidos mais regularmente, ou seja, aqueles que eram

ingeridos mais de cinco vezes por semana, eram os vitamínicos e minerais, seguidos dos fitoterapêuticos.

Petróczi e colaboradores (2008) pesquisaram o uso de suplementos entre atletas do Reino Unido com idades entre 12 e 21 anos. Como resultado, 48,1% dos entrevistados reportaram terem usado pelo menos um suplemento e uma considerável proporção de atletas utilizavam mais de um ao mesmo tempo. Ao serem perguntados sobre os resultados desejados com o uso dos suplementos, 72,2% dos jovens responderam que consumiam a fim de promover a manutenção de força e 23,2% utilizavam para remediar a dieta desequilibrada.

Juntamente com a busca por suplementos alimentares, cresce também a demanda por suplementos naturais, provenientes de plantas. De acordo com Rocha, Amaral e Oliveira (2016), a aceitação por esses produtos ocorre devido a três fatores: (1) uma desconfiança crescente na medicina convencional, juntamente com uma maior demanda e interesse em terapias alternativas; (2) a percepção de que são produtos “naturais”, “saudáveis” e por se tratarem de produtos vegetais, são seguros; (3) uma tendência crescente pela automedicação com o objetivo de aumentar o controle sobre a própria saúde e tomada de decisões que possam afetá-la.

Em 2012, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) emitiu um comunicado sobre o uso indiscriminado de suplementos alimentares. A agência ainda ressaltou que alguns produtos apresentavam ingredientes que não são seguros para o consumo ou que poderiam conter substâncias com propriedades terapêuticas, que não podem ser consumidas sem acompanhamento médico (BRASIL, 2012).

O mercado dos suplementos alimentares cresce a cada ano no mundo inteiro. Apenas no Brasil, esse mercado movimentou R\$ 3,520 milhões em 2014. Nos Estados Unidos, o valor foi de U\$ 1,8 bilhões (EUROMONITOR, 2015). No Reino Unido, em 2011, o mercado de suplementos movimentou £ 0,5 bilhões (PETRÓCZI; TAYLO; NAUGHTON, 2011). A mídia tornou-se o principal veículo de estímulo ao uso de suplementos alimentares. Só em 2001, a indústria de publicidade investiu globalmente cerca U\$ 46 bilhões em propagandas, gerando, dessa forma, um maior consumo desses produtos (MAUGHAN; KING; LEA, 2004; SCOFIELD; UNRUH, 2006; ALVES; LIMA, 2009).

Contudo há poucos estudos que comprovem os efeitos benéficos dos suplementos na saúde, ou que promovam mudanças favoráveis ao corpo humano e/ou aprimoramento no desempenho. De acordo com Stickel e Shouval (2015) há uma relação alarmante entre o consumo de suplementos alimentares e lesões hepáticas, semelhantes às aquelas atribuídas por drogas sintéticas convencionais. Eles ainda afirmam que a apresentação clínica da hepatotoxicidade

pode ser altamente variável para o mesmo produto. Carvalho e colaboradores (2003) sugerem que um manejo dietético adequado seja capaz de suprir as reais necessidades, tornando o uso de suplementos alimentares restrito apenas em casos especiais.

2.1.1 Regulamentação de suplementos alimentares

No Brasil não existe a definição de suplementos alimentares, contudo é a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) responsável pela regulamentação e comercialização desses produtos (NEVES; CALDAS, 2015). Esses produtos são classificados como alimentos e, de acordo com a sua composição, podem ser enquadrados em diferentes resoluções. Basicamente, suplementos alimentares que contenham creatina, proteínas ou cafeína, são descritos como alimentos para atletas de acordo com a RDC nº 18 de 27 de abril de 2010. Além do mais, esta resolução define atletas como “praticantes de exercício físico com especialização e desempenho máximos com o objetivo de participação em esportes com esforço muscular intenso” (BRASIL, 2010a). A tabela 1 especifica os produtos definidos como alimentos para atletas e as suas designações de acordo com a resolução.

Tabela 1 – Resumo da RDC nº 18 de 2010 quanto à definição de alimentos para atletas.

Categoria do alimento	Definição legal	Pode adicionar	Não pode conter
Suplemento hidroeletrolítico	Produto destinado a auxiliar a hidratação	Vitamina e minerais	Outros nutrientes e não nutrientes; fibras alimentares
Suplemento energético	Produto destinado a complementar as necessidades energéticas	Vitaminas e minerais; lipídios, proteínas intactas e/ou parcialmente hidrolisadas	Fibras alimentares e não nutrientes
Suplemento proteico	Produto destinado a complementar as necessidades proteicas/	Vitaminas e mineiras	Fibras alimentares e não nutrientes
Suplemento para substituição parcial de refeições	Produto destinado a complementar as refeições de atletas em situações nas quais o acesso a alimentos que compõem a alimentação habitual seja restrito	Vitaminas e minerais; fibras alimentares	n.i.
Suplemento de creatina	Produto destinado a complementar os estoques endógenos de creatina	Carboidratos	Fibras alimentares
Suplemento de cafeína	Produto destinado a aumentar a resistência aeróbia em exercícios físicos de longa duração	n.i.	Nutrientes e não nutrientes

n.i. – não informado
 Fonte: BRASIL, 2010a.

Contudo essa resolução não abrange todas as categorias de alimentos comercializadas como suplementos alimentares, ainda podendo ser enquadrados como suplementos vitamínicos e/ou minerais, alimentos com alegação de propriedade funcional e/ou saúde, compostos bioativos ou então novos alimentos e novos ingredientes (BRASIL, 1998; BRASIL, 1999a; 1999b; BRASIL, 2002a). Vale ressaltar que os suplementos vitamínicos e minerais são considerados alimentos apenas quando apresentarem valores de 25 à 100% da Ingestão Diária Recomendada (IDR) pela Anvisa, caso contrário, acima desses valores eles são considerados medicamentos específicos (BRASIL, 2005). Não obstante, de acordo com o Decreto-Lei nº 986/69, estão excluídos da categoria de alimentos substâncias com alegação de propriedade terapêutica, qualquer que seja a forma apresentada e não devem estar inclusas nestes produtos, devendo ser classificados e regulamentados como medicamentos (BRASIL, 1969; NEVES; CALDAS, 2015). Logo, suplementos alimentares que apresentem produtos naturais, como os fitoterápicos, e vitaminas e minerais com valores de IDR maior que 100%, devem possuir comprovação de segurança e eficácia por meio de testes específicos, e comercializados dentro das diretrizes medicamentosas (BRASIL, 2003; BRASIL, 2014e). A tabela 2 descreve as resoluções nas quais os suplementos alimentares se enquadram, quando comercializados como alimentos ou medicamentos no Brasil.

Tabela 2 - Resumo das legislações em que também é possível enquadrar os suplementos alimentares.

(continua)

Categoria	Definição legal	Exemplos	Legislação
Alimentos			
Vitaminas e minerais	Alimentos que servem para completar a dieta diária de uma pessoa saudável. Devem conter um mínimo de 25% e no máximo 100% da IDR de vitaminas ou minerais.	Suplementos vitamínicos e minerais como Centrum®	Portaria nº 32/1998
Alimentos com alegação de propriedade funcional ou saúde	Alegação de propriedade funcional: relativa ao papel metabólico e fisiológico que o nutriente e o não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções. Alegação de saúde: é aquela que sugere a existência da relação entre o alimento com doença ou condição relacionada à saúde	Carotenóides, fitoesteróis, flavonoides, ômega-3, luteína, inulina.	RDC nº 18/1999
Novos alimentos e novos ingredientes	Alimentos ou substâncias sem históricos de consumo no país, ou alimentos com substâncias já consumidas, e que entretanto venham a ser adicionadas ou utilizadas em níveis muito superiores aos já consumidos.	Guaraná em pó ou comprimido; quitosana; psillium em pó; espirulina em pó.	RDC nº 16/1999
Substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedades funcional e ou de saúde	Bioativos: nutrientes ou não-nutrientes que possuem ação metabólica ou fisiológica específica. Probióticos: microrganismos vivos capazes de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal.	<i>Bifidobacterium</i> sp.	RDC nº 02/2002

Tabela 2 - Resumo das legislações em que também é possível enquadrar os suplementos alimentares.

(conclusão)

Medicamentos

Medicamentos específicos	Medicamentos à base de vitaminas, minerais e aminoácidos, isolados ou associados entre si, com pelo menos um dos componentes acima dos limites de IDR.	Vitamina C (45 mg); cálcio (1000 mg); proteína (50 g)	RDC nº 132/2003
Fitoterápicos	Produtos obtidos com o emprego de matérias-primas ativas vegetais cuja segurança e eficácia sejam baseadas em evidências clínicas e sejam caracterizadas pela constância de qualidade.	<i>Tribullus terrestris</i> ; <i>Corynanthe yohimbe</i> (ioimbina); <i>Hibiscus sabdarrifa</i> ; <i>Ilex paraguensis</i> ; <i>Coleus forskohlii</i>	RDC nº 26/2014

Fonte: Adaptado de Neves e Caldas (2015); BRASIL, 1998; 1999a; 1999b; 2002a; 2003;2014e.

A RDC nº 27/2010 determina quais os alimentos devem ou não apresentar registro sanitário e testes de segurança e eficácia comprovados, e obrigatoriamente dispor de um número de registro junto a Anvisa e o Ministério da Saúde no rótulo. De acordo com essa resolução, devem possuir registro os alimentos com alegações de propriedade funcional e ou de saúde, novos alimentos e novos ingredientes e substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedade funcional e ou saúde. Os alimentos para atletas, junto com os suplementos vitamínicos e minerais, ficam dispensados de registro, devendo alegar em seu rótulo os seguintes dizeres “Produto dispensado de registro de acordo com a RDC nº 27/2010” (BRASIL, 2010b).

Há um projeto de lei no Senado, que visa regularizar a comercialização e importação dos suplementos alimentares no Brasil. Uma das justificativas desse projeto é que o setor de suplementos em geral é complexo em consequência da fragmentação e equívocos das normativas vigentes, ou seja, são muitas normas que devem ser observadas para regularizar apenas um produto (BRASIL, 2014g).

Nos Estados Unidos, a situação legal dos suplementos alimentares pode ser simplificada em duas categorias: aqueles comercializados antes de 1994, com pouca regulamentação e que poderiam conter substâncias com fim terapêutico e aqueles vendidos depois da passagem da *Dietary Supplement Health and Education Act* (DSHEA). Após a DSHEA, a *Food and Drug Administration* (FDA) foi delineada como autoridade legal para regulamentar os suplementos alimentares (GLISSON; WALKER, 2010; USA, 1994). Embora os fabricantes de suplementos alimentares devam ter um registro de suas instalações, eles não são obrigados a terem uma aprovação da FDA antes de produzir ou vender seus suplementos. Os próprios fabricantes e distribuidores devem certificar-se de que todas as afirmações e informações no rótulo do produto e em outras inscrições são verdadeiras e não enganosas (USA, 2014).

Em 2010, a FDA e a Anvisa promoveram um acordo em que a agência americana se disponibilizava a compartilhar informações não públicas relativas à segurança, eficácia ou qualidade de produtos regulamentados por ela (USA, 2010). Logo, suplementos importados ficaram isentos de registro no Brasil. Para se comercializar esses produtos, basta o importador preencher o formulário de importação disponível na RDC nº 22, de 15 de março de 2000 (BRASIL, 2000).

Na União Europeia (EU), a legislação define os alimentos como “qualquer substância ou produto, completamente, parcialmente ou não processada com a intenção de ser ingerida por humanos”. Por conseguinte, alimentos incluem bebidas, gomas de mascar e qualquer

substância, incluindo água, intencionalmente incorporada nos alimentos durante o processo de fabricação, preparação e tratamento (EC, 2002; NEVES; CALDAS, 2015). Já os medicamentos são qualquer substância ou combinação de substâncias as quais podem ser usadas por humanos a fim de reorganizar, corrigir ou modificar funções fisiológicas através de efeitos farmacológicos, imunológicos, ações metabólicas ou até para diagnóstico médico (EC, 2004). Devido à dificuldade de enquadrar alguns produtos, como os suplementos alimentares, em alimentos ou medicamentos, a EU incluiu os chamados “produtos incertos” (do inglês *bordeline products*), referindo-se àqueles produtos que contenham substâncias que podem ou não ter ação farmacológica dependendo da dosagem (NEVES; CALDAS, 2015). Ainda, a *European Food Safety Authority* (EFSA) define os suplementos alimentares como um “concentrado de fontes de nutrientes ou outras substâncias com efeito nutricional ou fisiológico, cujo propósito é suplementar a dieta normal” (PETRÓCZI; TAYLOR; NAUGHTON, 2011).

Petróczi, Taylor e Naughton (2011) afirmam que é de se esperar que regulamentar os suplementos alimentares seja algo inatingível, visto a dificuldade de classificá-los entre um produto alimentício ou terapêutico e os equívocos significativos que ocorrem quando se tenta determinar a natureza exata desses produtos. LeDoux e colaboradores (2015) complementam que as críticas mais frequentes quanto à segurança dos suplementos alimentares é que não são requeridos, muitas vezes, os testes clínicos pré-mercado, que conduziriam às avaliações de segurança antes de colocar o produto no mercado.

2.1.2 Práticas de adulterações em suplementos alimentares

A prática de adulteração com fármacos não declarados em amostras ditas como naturais ou suplementos alimentares é cada vez mais frequente (LIANG et al., 2006; CIANCHINO et al., 2008; CHEN et al., 2009; KIM et al., 2009; GÖKER; COSKUN; ALP, 2010; LU et al., 2010; CARVALHO et al., 2012; MOREIRA et al., 2013). A adulteração deliberada ocorre quando outros produtos, que não estão descritos nos ingredientes, são adicionados propositalmente a fim de intensificar o efeito farmacológico desejado, e impulsionar o consumo de suplementos (CHAMPAGNE; EMMEL, 2011).

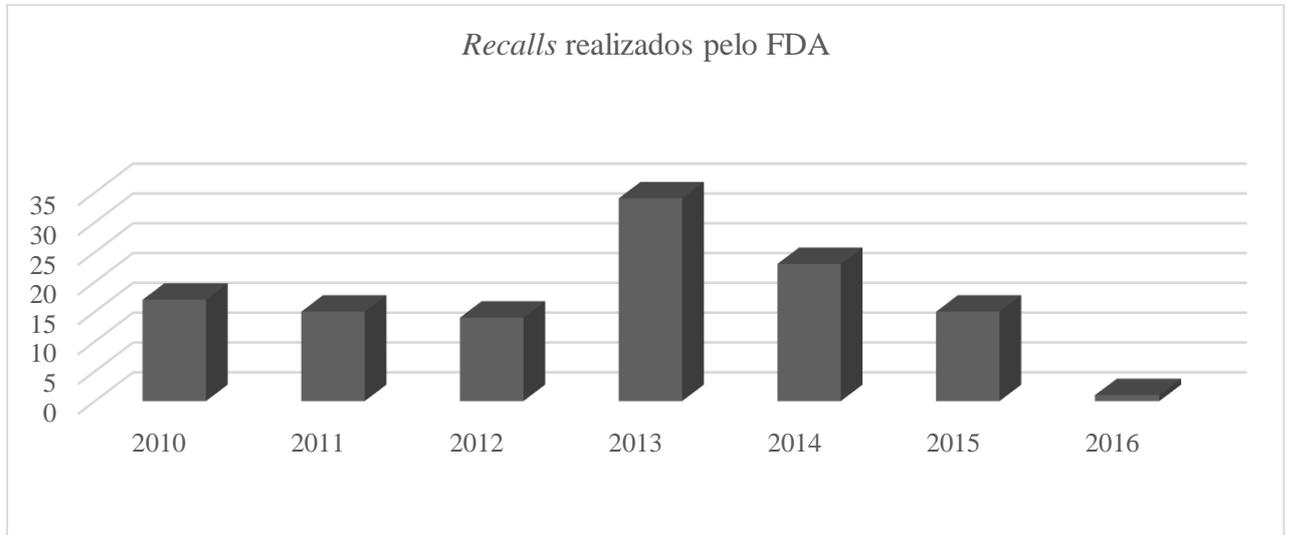
Atualmente, suplementos alimentares são popularmente conhecidos por serem utilizados como terapia, prevenção e tratamento inofensivo de doenças. Alguns fabricantes adicionam ilegalmente drogas sintéticas tais como, sibutramina, fenolftaleína, bisacodil, ioimbina, sildenafil, vardenafil e tadalafil a suplementos alimentares com a finalidade de

aumentar o efeito terapêutico em um menor tempo, contudo, esses produtos podem causar danos irreversíveis à saúde (ZHANG, 2010; DUNN et al., 2012). A não exigência de registro para muitos desses produtos, bem como a livre comercialização e a falta de fiscalização têm aumentado a ocorrência de fraudes, tais como casos de contaminação, alteração da espécie botânica e adulterações com produtos farmacêuticos (CORREIA, 2008).

Em 27 de fevereiro de 2014, a Anvisa avaliou 25 marcas de suplementos proteicos para atletas. Entre esses, 20 lotes de diferentes marcas tiveram sua comercialização proibida devido a irregularidades na quantidade de carboidratos e proteínas declarados na embalagem, caracterizando fraude contra o consumidor. Vale ressaltar que, nos testes realizados pela Anvisa, apenas um produto apresentou resultados satisfatórios quanto à rotulagem e a quantidade de produtos declarados (BRASIL, 2014a). Ainda em 2014, a Anvisa proibiu a comercialização de mais quatro produtos que continham ingredientes não declarados no rótulo ou valores de carboidratos maiores que o permitido (BRASIL, 2014a; BRASIL, 2014b; BRASIL, 2014c; BRASIL, 2014d; BRASIL, 2014f).

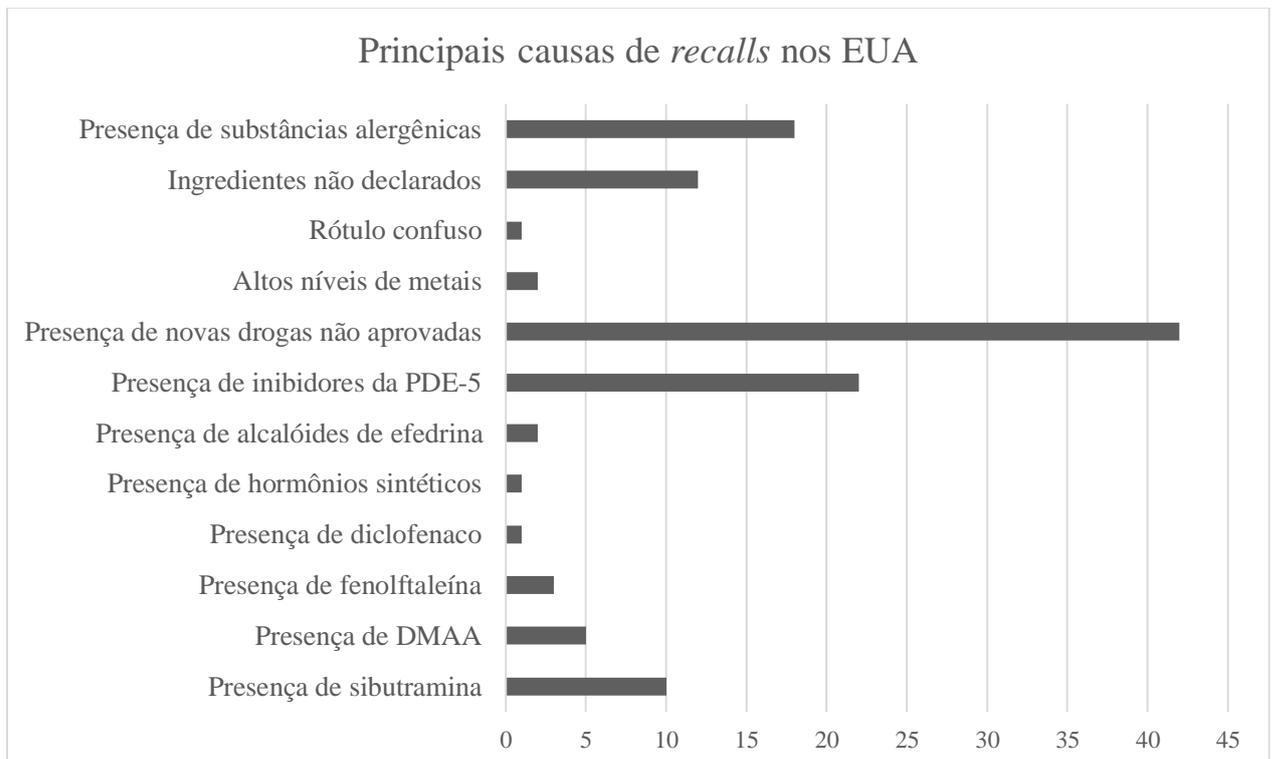
Em 2012, a FDA realizou o *recall* de quinze suplementos alimentares contendo sibutramina, vardenafil, sildenafil, alcaloides de efedrina, análogos do tadalafil, fragmentos de metais e outros produtos não declarados. Em 2013, o número de produtos apreendidos subiu para 34 *recalls*. Os mesmos continham sibutramina, sildenafil, tadalafil, dimetilamilamina (DMAA) ou então apresentavam produtos hepatotóxicos ou nefrotóxicos. Neste ano, já foi realizado um *recall* de suplemento alimentar por conter ingredientes não declarados no rótulo (USA, 2016). A figura 1 resume os *recalls* realizados pela FDA, e o gráfico da figura 2 demonstra as principais causas da retirada desses produtos do mercado.

Figura 1 - Gráfico representativo do número de *recalls* realizado nos últimos cinco anos pelo FDA.



Fonte: USA (2016)

Figura 2 - Principais causas da retirada de suplementos alimentares do mercado americano nos últimos 5 anos.



Fonte: USA (2016)

Entre os fármacos comumente encontrados em suplementos para perda de peso encontram-se a fluoxetina, sibutramina, anfepramona, fenolftaleína e furosemida (MOREIRA; MARTINI; CARVALHO, 2014). Além do mais, não existem concentrações definidas para a adição deliberada de fármacos, o que torna a adulteração ainda mais perigosa. Dunn e colaboradores (2012), detectaram sibutramina em níveis de 0,1 até 40 mg por cápsula de suplemento. Huang e colaboradores (2008) desenvolveram um método de análise por cromatografia líquida de alta eficiência com espectrômetro de massas (sigla do inglês LC-MS) e aplicaram em 15 amostras de suplementos alimentares para controle de peso. A sibutramina foi encontrada em duas amostras nas concentrações de 0,51 mg/mL e 2,17 mg/mL. Um análogo da sibutramina, o N-di-desmetilsibutramina, também esteve presente em duas amostras, nas concentrações de 1,73 mg/g e 0,23 mg/g.

Song e colaboradores (2014) pesquisaram sibutramina e fenolftaleína em 17 suplementos alimentares indicados para perda de peso. Ao realizar um *screening* por LC-MS/MS, onze amostras foram positivas para a presença de sibutramina e seus análogos em concentrações que variavam de 0,34 a 19,1 mg/por unidade (cápsula, comprimido) e nove amostras apresentavam fenolftaleína em suas formulações em níveis de 18,2 a 69,8 mg por unidade.

À vista disso, a adição de fármacos não declarados promove um risco em potencial à saúde, uma vez que a sua presença não é de conhecimento do consumidor. Além do mais a adulteração promove outros riscos, tais como reações adversas, possíveis interações medicamentosas quando adicionado mais de um produto ou até mesmo a ocorrência de superdosagens (GRYNIEWICZ et al., 2009; DUNN et al., 2011).

2.2 METODOLOGIAS DISPONÍVEIS PARA A INVESTIGAÇÃO DE ADULTERANTES EM SUPLEMENTOS ALIMENTARES

Há inúmeros métodos descritos para a análise de fármacos na literatura, entretanto o que determina as análises é a matriz em que eles se encontram (MOREIRA et al., 2013). O método mais comumente utilizado para determinar fármacos adulterantes em suplementos alimentares é a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (HUANG et al., 2008; CHEN et al., 2009; LU et al., 2010; GUO et al., 2014; SONG et al., 2014; ZHANG et al., 2014; VIANA et al., 2015). Outros métodos também são descritos na literatura, como a espectrometria de mobilidade de íons (DUNN et al., 2011; DUNN et al., 2012), ressonância magnética nuclear (MUSTAZZA et al., 2014), espectroscopia de infravermelho

(DECONINCK et al., 2014) e eletroforese capilar (CIANCHINO et al., 2008; MOREIRA et al., 2013).

ZHU e colaboradores (2005) encontraram estimulantes sexuais em suplementos através de método por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção ultravioleta e espectrometria de massas ionização eletro spray (HPLC-UV-ESI-MS). Outras pesquisas que envolvem a aplicação de diferentes métodos relatam a presença de estimulantes sexuais sintéticos em fitoterápicos e suplementos alimentares com o intuito de aumentar a habilidade e vitalidade sexual (FLESHNER et al., 2005; LIANG et al., 2006; SINGH et al., 2009; DING et al., 2011).

Com base nos periódicos encontrados no *Scopus*, a tabela 3 representa os métodos descritos na literatura, que possibilitam a identificação de adulterantes em suplementos alimentares.

Tabela 3 - Trabalhos descritos recentemente na literatura para a investigação de adulterantes em suplementos alimentares e os métodos de análise disponíveis.

Adulterantes	Número de amostras	Método	Referência
Análogo do Tadalafil	1 suplemento alimentar	HPLC, NMR, IR	Huang et al. (2015)
EAA's	19 suplementos alimentares	UPLC MS/MS	Cho et al. (2015)
9 analgésicos, codeína e cafeína	5 suplementos alimentares	LC-DAD	Deconinck et al. (2015)
Efedrina e seus análogos	n.i.	TLC-SERS	LV et al. (2015)
Estimulantes	46 suplementos alimentares	HPLC-DAD	Viana et al. (2015)
Sibutramina	52 suplementos para perda de peso	HPTLC-UV	Mathon et al. (2013)
Sibutramina	n.i.	HPLC-DAD, NMR	Csupor et al. (2013)
Diuréticos e laxantes	26 suplementos naturais	CZE – C ⁴ D	Moreira et al. (2013)
17 laxantes	16 suplementos dietéticos	HPLC e LC-MS/MS	Woo et al. (2013)
Femproporex e sibutramina	106 suplementos naturais	CZE-C ⁴ D	Carvalho et al. (2012)
Sibutramina, efedrina, norpseudoefedrina, fenfluramina e clopamida	12 suplementos alimentares	HPLC-ESI-MS/MS	Shi et al. (2011)
14 hipoglicemiantes	30 suplementos alimentares	UPLC MS/MS	Li et al. (2010)
Anti-hipertensivos, diuréticos	18 suplementos alimentares e naturais	LC/ESI-MS	Lu et al. (2010)
6 hipoglicemiantes, efedrina, fluoxetina e sibutramina	n.i.	LC/PDA e LC/MS/MS	Kim et al. (2009)

n.i. – Não Informado

2.2.1 Cromatografia de Troca Iônica com Detecção Condutométrica (IEC-CD)

De acordo com Collins (2010) os primeiros relatos do processo de troca iônica surgiram há muito tempo e estão até descritos na Bíblia, no capítulo Êxodos a. C. Ao se deparar com um lago em que a água apresentava um sabor amargo, Moisés arrancou galhos de uma árvore e os jogou na água, então, devido ao processo de troca iônica, os cátions e ânions presentes na água foram substituídos por íons de sabor mais agradável. Entretanto, o termo “cromatografia” não pode ser aplicado a esse caso, pois ocorre a passagem de uma fase móvel, contendo as substâncias a serem estudadas, por uma fase estacionária.

A cromatografia de troca iônica foi descrita, pela primeira vez, por Thompson e Way, em 1850, os quais realizaram experimentos com diferentes solos, na tentativa de remover a amônia do esterco líquido. (COLLINS, 2006; COLLINS, 2010). Em 1917, Follin e Bell relataram uma das primeiras tentativas de emprego da troca iônica na investigação bioquímica, para a determinação de amônio na urina (COLLINS; BRAGA; BONATO 1997).

Na cromatografia líquida de alta eficiência, pressões elevadas são necessárias para forçar a passagem do solvente através de colunas fechadas que contenham partículas capazes de proporcionar separações eficientes. O primeiro equipamento de HPLC foi construído por C. Horváth em 1965 na Universidade de Yale (HARRIS, 2012). Quando a cromatografia líquida de alta eficiência tornou-se disponível comercialmente, a cromatografia de troca iônica foi um forte candidato para a análise de qualquer mistura que possuía ácidos ou bases orgânicas.

Todavia, o auge da cromatografia iônica foi em 1975, quando Small, Stevens e Bauman desenvolveram o sistema de supressão. A alta condutância dos eletrólitos da fase móvel acabavam por diminuir a resolução dos picos cromatográficos, afetando na análise de substâncias em baixa concentração (SMALL; STEVENS; BAUMAN, 1975). A resina trocadora de íons do supressor convertia os íons do eluente para espécies moleculares de baixa condutividade sem afetar a condutividade das substâncias de interesse (SKOOG, 2007; HARRIS, 2012). Desde então, a supressão tornou-se essencial para técnicas de análise por cromatografia iônica, principalmente para a análise de ânions e, devido a condutividade dos analitos serem menores do que da fase móvel, ela torna-se dispensada, em alguns casos, para a análise de cátions (TROJANOWICZ, 2011).

Desde então, a IEC tornou-se de grande importância dentro das metodologias analíticas. A cromatografia iônica é uma versão de alto desempenho da cromatografia por troca iônica em coluna. Basicamente, o termo “cromatografia iônica” é aplicado para qualquer

método que combina o processo de separação analítica, realizada através da diferença de migração dos íons em virtude da atração com os sítios carregados da coluna. (JENKE, 2011; HARRIS, 2012).

A característica mais importante da IEC para aplicações analíticas é sua seletividade única em relação aos outros modelos de coluna cromatográfica. A troca iônica é baseada na interação eletrostática reversível de grupos carregados na coluna com as cargas oposta do analito. Ou seja, na troca catiônica, a coluna possui ligantes aniônicos associados com os sítios catiônicos do eluente e na troca aniônica ocorre o inverso. A retenção da amostra pode ser alterada com a mudança das cargas do soluto através da mudança do pH da fase móvel ou, em alguns casos, a troca dos ligantes da coluna. (SNYDER; KIRKLAND; DOLAN, 2010).

O detector condutométrico está intimamente ligado com a cromatografia de troca iônica (TROJANOWICZ, 2011). Ele permite detectar analitos na concentração de 1-10 ng/mL e, graças às cargas dos compostos, sendo considerado um detector universal (HARRIS, 2012).

Em virtude da sua reprodutibilidade, sensibilidade, especificidade e baixo custo, um desenvolvimento de método para análise de fármacos por cromatografia troca iônica com detecção condutométrica torna-se interessante (SHEN et al., 2005). Além do mais, a cromatografia iônica apresenta inúmeras aplicabilidades tanto na área farmacêutica quanto na área química (JENKE, 2011).

2.2.2 Aplicação da IEC-CD para a análise de fármacos

A IEC-CD está comumente relacionada a pesquisas de íons em amostras líquidas. Ainda, essa metodologia analítica apresenta várias aplicabilidades de análise na área farmacêutica (tabela 4), podendo ser utilizada para a determinação de princípios ativos e excipientes de fármacos (JENKE, 2011). Diferentemente do LC-MS/MS, a cromatografia iônica é um método simples, de baixo custo, com reagentes de menor custo e de fácil manuseio.

Tabela 4 - Trabalhos descritos na literatura para a análise de fármacos por IEC-CD.

Referência	Analitos	Eluente	Coluna
Chen et al., 1998	Cafeína, teobromina e teofilina.	100 mM HCl; 15 mM KOH/1% acetonitrila.	Dionex, HPIC- CS3; Dionex OmniPac PAX- 100.
Law; Appleby, 1996	Halofantrina, minoxidila, haloperidol, reserpina, cimetidina, verapamil, clomipramina	0,02 M de formato de amônia, 80% metanol	Spherisorb 5SCX.
Kumar et al., 2011	Ibandronato de sódio	1% de ácido fórmico aquoso e acetone 98:2%	Allsep anion 150 mm x 4,6 mm
Hall et al., 1995	Trometamina	10 mM HCl	Dionex IonPac CS5
Kothapalli et al., 2012	Nevirapina e moxifloxacina	5 mM HCl, 10% acetonitrila	Metrosep C4
Kaleemullah et al., 2011	Citrato de sódio e ácido fórmico em classes de penicilinas	0,05 mM ácido sulfúrico	Hamilton PRP- X 300
Lau; Mok, 1995	Hidrocloro de bromexina, maleato de clorfeniramina, fosfato de codeína, dextrometorfano, hidrocloro de efedrina e hidrocloro de papaverina.	Mistura de água, acetonitrila e etanol (38:60:2) contendo 1 mM de ácido perclórico	Coluna analítica Ultrasphere 5 mm CN
Lau; Mok, 1997	Atropina e alcalóides de atropina em preparações farmacêuticas	Água-acetonitrila-tetrahidrofurano (67:30:3, v/v/v) contendo 1 mM de ácido perclórico.	Ultrasphere 5 mm CN

Em 2011, Jenke realizou uma revisão bibliográfica sobre a aplicação de cromatografia iônica para análises farmacêuticas e de drogas. Em seu levantamento, a cromatografia de troca iônica com detector de condutividade foi utilizada em seis monografias da Farmacopéia Americana. O autor também apresentou três trabalhos na literatura que determinaram os princípios ativos dos medicamentos por tal método, e 33 trabalhos para a determinação de excipientes e outros produtos marcadores de degradação de fármacos (JENKE, 2011).

Ainda, outros insumos farmacêuticos, ou até mesmo componentes provenientes de matrizes biológicas, podem ser determinados por cromatografia de troca iônica. Rochelau (2008) avaliou os métodos para a determinação de contra-íons em sais farmacêuticos. A cromatografia de troca iônica com sistema de supressão para ânions, assim como a eletroforese capilar, mostrou-se um método eficaz para tal análise.

Fekete e colaboradores (2015) desenvolveram um método para separação de anticorpos monoclonais por cromatografia de troca catiônica. O eluente utilizado foi ácido etanossulfônico. Ainda, com este estudo, eles inferiram que os anticorpos monoclonais podem ser eluídos tanto em pH ácido quanto em pH básico, logo a coluna cromatográfica a ser utilizada pode ser tanto a catiônica, quanto a aniônica.

Inúmeros fatores interferem no desenvolvimento e otimização de métodos por cromatografia iônica. Alguns trabalhos descreveram a influência da fase móvel nos analitos de interesse, como o de Solte e colaboradores (2011), que aplicaram uma técnica de cromatografia iônica para pesquisa de íons orgânicos e inorgânicos em matrizes naturais. Eles desenvolveram dois métodos para a análise de cátions e de ânions separadamente. Na análise de cátions, foi utilizada uma coluna de troca Metrosep C4® contendo grupos carboxílicos e para ânions Metrosep A Supp® constituída por álcool polivinílico e grupos de amônio quartenário. Para os cátions eles analisaram a influência do ácido nítrico e da acetonitrila. De acordo com os autores, os tempos de retenção aumentaram com a diminuição da concentração de ácido nítrico. A acetonitrila, utilizada como modificador orgânico demonstrou um menor tempo de retenção com o aumento de concentração. Logo, para os analitos de interesse, que eram íons do grupo dos imidazólicos, as condições do eluente ideais foram as concentrações de 2 mM de HNO₃ e 30% de acetonitrila. Contudo, eles afirmaram que os tempos de análise e o menor alargamento dos picos podem ser melhorados quando há uma menor concentração de modificador. Ainda, para a análise dos ânions, foi monitorada apenas a influência do modificador orgânico. Para os ânions apolares, a acetonitrila não acarretou em diferenças de separação, entretanto a separação de misturas complexas pode ser visualizada com a presença de 5% de acetonitrila em um eluente contendo 3,2 mM Na₂CO₃ e 1 mM de NaHCO₃.

Na cromatografia de troca iônica, o detector mais utilizado é o condutométrico (TROJANOWICZ, 2011). Os detectores de condutividade são considerados universais, ou seja, respondem a todos os íons. Quando utilizada a cromatografia com supressão iônica, a condutividade do eluente diminui praticamente a zero, promovendo uma melhor visualização dos picos cromatográficos dos analitos (HARRIS, 2012). Contudo, outras formas de detecção associada com a cromatografia de íons também são descritas na literatura. Mirza e Tan (2000), por exemplo, determinaram a presença de captopril em comprimidos farmacêuticos por cromatografia de troca aniônica com detecção fotométrica.

Heidbreder e colaboradores (2001) aplicaram um método para a análise de dopamina, 5-hidroxitriptamina e norepinefrina presente em cérebro de ratos, em concentrações de 1 a 50 ng/mL. O método foi baseado em colunas trocadoras de cátion e as condições foram otimizadas com a detecção amperométrica. O alendronato de sódio, um fármaco indicado para o tratamento de osteoporose, de acordo com a Farmacopéia Portuguesa, pode ser determinado por cromatografia de troca iônica, utilizando uma coluna trocadora de ânions e a detecção se dá por índice de refração (PORTUGAL, 2002).

Outro fator importante na cromatografia de íons é a escolha da resina trocadora de íons mais apropriada para os analitos de interesse. As colunas analíticas são recheadas com diferentes trocadores e os constituintes de suas resinas são fundamentais para o desenvolvimento dos métodos cromatográficos. Os principais trocadores presentes no mercado estão descritos na tabela 5.

Tabela 5 - Principais resinas de troca iônica para a cromatografia de íons.

Tipo de Resina	Constituição química	Forma usual disponível comercialmente	Seletividade
Trocador de cátions fortemente ácido	Ácido sulfônico ligado ao estireno e divinilbenzeno	$-\text{SO}_3^-\text{H}^+$	$\text{Ag}^+ > \text{Rb}^+ > \text{Cs}^+ > \text{K}^+ > \text{NH}_4^+ > \text{Na}^+ > \text{H}^+ > \text{Li}^+ > \text{Zn}^{2+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Co}^{2+}$
Trocador de cátions fracamente ácido	Ácido carboxílico ligado ao acrílico e divinilbenzeno	$-\text{CH}_2-\text{COO}-\text{Na}^+$	$\text{H}^+ \gg \text{Ag}^+ > \text{K}^+ > \text{Na}^+ > \text{Li}^+ > \text{H}^+ \gg \text{Fe}^{2+} > \text{Ba}^{2+} > \text{Sr}^{2+} > \text{Ca}^{2+} > \text{Mg}^{2+}$
Trocador de ânions fortemente básico	Amônio quartenário ligado ao estireno e divinilbenzeno	$-\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)\text{Cl}^-$	$\text{I}^- > \text{fenolato}^- > \text{HSO}_4^- > \text{ClO}_3^- > \text{NO}_3^- > \text{Br}^- > \text{CN}^- > \text{HSO}_3^- > \text{NO}_2^- > \text{Cl}^- > \text{HCO}_3^- > \text{IO}_3^- > \text{HCOO}^- > \text{acetato}^- > \text{OH}^- > \text{F}^-$
Trocador de ânions fracamente básico	Polialquilamina	$-\text{N}^+\text{HR}_2\text{Cl}^-$	$\text{Arl}-\text{SO}_3\text{H} > \text{cítrico} > \text{CrO}_3 > \text{H}_2\text{SO}_4 > \text{tartárico} > \text{oxálico} > \text{H}_3\text{PO}_4 > \text{H}_3\text{AsO}_4 > \text{HNO}_3 > \text{HI} > \text{HBr} > \text{HCl} > \text{HF} > \text{HCO}_2\text{H} > \text{CH}_3\text{CO}_2\text{HV} > \text{H}_2\text{CO}_3$

Adaptado de Harris (2012).

Chen e colaboradores (1998) realizaram a determinação simultânea de cafeína, teobromina e teofilina em alimentos e preparações farmacêuticas por cromatografia iônica com detecção UV. Eles avaliaram tanto a separação por colunas trocadoras de cátions quanto por colunas separadoras de ânions. Na cromatografia de troca catiônica, duas colunas sulfonadas foram ligadas entre si para aumentar a eficiência de separação dos compostos. O HCl como eluente foi preferível do que o HNO₃, pois o último poderia agir como agente oxidante. Ao aumentar a concentração do eluente (0,1 – 500 mmol.L⁻¹) os tempos de retenção diminuiriam, entretanto a acidez elevada poderia diminuir a vida útil da bomba. O estudo da acetonitrila como modificador orgânico demonstrou que com o aumento da concentração os tempos de retenção diminuiriam, porém provocaram danos na coluna analítica devido ao aumento de pressão. Já, na cromatografia de troca aniônica, eles realizaram um estudo com o KOH como fase móvel e o efeito da hidrofobicidade das colunas sobre o analito. Ao escolher uma coluna de média hidrofobicidade, a cafeína, por apresentar-se na forma neutra, era eluída

junto ao volume morto. No momento em que os autores elegeram uma coluna mais hidrofóbica, a cafeína passou a apresentar o seu pico cromatográfico após o volume morto. Por fim, foi realizado um estudo da concentração do eluente. Ao aumentar a concentração de KOH, os autores verificaram que tanto a teofilina quanto a teobromina, apresentaram tempos de retenção menores. No entanto, não houve diferença no tempo de retenção da cafeína, logo eles sugeriram que a cafeína seja retida na coluna não pelo mecanismo de troca aniônica, mas sim por mecanismo de adsorção.

2.3 ANOREXÍGENOS, DIURÉTICOS E LAXANTES

No momento da adulteração em suplementos alimentares, os fabricantes muitas vezes utilizam, como recurso fármacos aplicados na terapêutica do tratamento da obesidade, incluindo substâncias que reduzam o apetite, diminuem a ansiedade e/ou aumentam a mobilidade intestinal e o fluxo urinário (MOREIRA et al., 2013). As classes farmacológicas comumente empregadas são os anorexígenos, antidepressivos, ansiolíticos, diuréticos e laxantes. Ainda, as duas últimas classes são utilizadas para induzir a falsa sensação de perda de peso, visto que elas apenas estimulam a perda de água pelo organismo, não afetando a composição de gordura (CARVALHO et al., 2011; MOREIRA et al., 2013).

O uso de drogas medicamentosas como adulterantes é preocupante, visto que elas podem trazer sérios danos à saúde, como dependência psicológica, distúrbios gastrointestinais, desidratação grave e alterações cardiorrespiratórias (KATZUNG, 2004; CARVALHO et al., 2012; MOREIRA et al.; 2013; MOREIRA; MARTINI; CARVALHO, 2014; BRASIL, 2015). Além do mais, podem ocorrer graves interações entre o fármaco utilizado como adulterante, cuja presença é desconhecida no produto, e alguma terapia medicamentosa já realizada por parte do consumidor (CSUPOR et al., 2012).

Agentes diuréticos são aqueles que promovem um aumento de volume na urina. Muitos diuréticos exercem efeitos sobre proteínas transportadoras específicas de membrana nas células epiteliais dos túbulos renais. Outros diuréticos exercem efeitos osmóticos que impedem a reabsorção de água, interferem em receptores de hormônios nas células epiteliais renais, ou inibem enzimas, como é o caso da acetazolamida (KAZTUNG, 2004). Os agentes diuréticos podem ser classificados de acordo com a sua estrutura química ou local de ação. As principais classes são: tiazídicos (hidroclorotiazida, clortalidona), os poupadores de potássio (amilorida, triantereno), diuréticos da alça (furosemida), antagonistas da aldosterona (espironolactona) e inibidores da anidrase carbônica (acetazolamida) (SILVA, 2006).

Agentes laxativos são aqueles que promovem a defecação e diminuem a constipação. Os laxantes podem ser classificados com base no seu principal mecanismo de ação, todavia, muitos deles atuam por mais de um mecanismo. O bisacodil é um derivado do difenilmetano, o qual promove a evacuação dentro de 6 a 10 horas quando administrado por via oral. (KATZUNG, 2004). A fenolftaleína é outro representante desta classe, porém foi retirada do mercado em 2002, devido à sua carcinogenicidade e cardiotoxicidade (BRASIL, 2002b; KATZUNG, 2004). Por não serem medicamentos controlados, diuréticos e laxativos são comumente utilizados sem prescrição médica em casos em que se deseja perder peso, principalmente por pacientes com disfunções alimentares (JEFFERS; BENOTSCH, 2014).

Os anorexígenos são muito utilizados no controle da obesidade. A anfepramona, femproporex e o mazindol são fármacos derivados da anfetamina (KATZUNG, 2004). Já a sibutramina é um inibidor da recaptção de neurotransmissores, e é estruturalmente relacionado com as anfetaminas. Ela reduz a recaptção da serotonina, norepinefrina e noradrenalina, resultando em um aumento destes nas fendas sinápticas e, então, reduzindo o apetite (DECONINCK et al., 2014).

A Anvisa realizou um estudo técnico sobre a segurança e eficácia dos anorexígenos comercializados no Brasil, a fim de justificar o motivo pelo qual a anfepramona, mazindol, femproporex e sibutramina não apresentam adequada relação benefício/risco. De acordo com a agência regulatória, estes medicamentos tem sido desviados do seu uso clínico para uso recreacional e até mesmo no *dopping* esportivo. Conforme o levantamento realizado, apenas 30,4% dos usuários de sibutramina apresentaram perda de pelo menos 5% do seu peso corporal em 3 meses. Ainda, houve um acréscimo de 16% quanto ao risco de infarto agudo do miocárdio (IAM) e acidente vascular cerebral (AVC). Além do mais, desde 2010 a sibutramina não é mais comercializada na Europa, Estado Unidos e Canadá (BRASIL, 2011; JAMES et al., 2010).

Em setembro de 2014, a Anvisa liberou a comercialização, prescrição e dispensação de medicamentos contendo anfepramona, femproporex, mazindol ou sibutramina. Tais medicamentos devem ter sua prescrição e dispensação realizadas por meio da notificação da receita “B2” (BRASIL, 2014h). A Anvisa ainda publicou uma nota técnica, informando que a prescrição médica contendo sibutramina deve conter a quantidade necessária para o tratamento no período de 60 dias, não devendo exceder este prazo (BRASIL, 2015). As informações contidas nos rótulos dos medicamentos propostos como adulterantes neste estudo, estão descritas na tabela 6.

Tabela 6 - Informações descritas nas bulas de anorexígenos, diurético e laxante a serem estudados.

(continua)

Fármaco	Nome comercial	Dose diária	Reações adversas	Interações medicamentosas	Contraindicação	Referências
Anorexígenos						
Anfepramona	Dulid-S	50-75 mg	Vertigem, caquexia, insônia, nervosismo, irritabilidade, depressão, boca seca, alterações do paladar, náuseas, vômitos, diarreia ou constipação, hipertensão, taquicardia, arritmias, perturbações das funções sexuais, distúrbio da micção e ginecomastia.	Inibidores da monoaminoxidase (iMAO), medicamentos com ação na tireóide, anti-hipertensivos e anestésicos voláteis.	Pacientes com hipertensão grave, arteriosclerose avançada, insuficiência e/ou hepática, pacientes com antecedentes de distúrbios psiquiátricos, epilepsia e alcoolismo crônico.	Brasil, 2014h

Tabela 6 – Informações descritas nas bulas de anorexígenos, diurético e laxante a serem estudados.

(continuação)

Femproporex	Desobesi-M	25 mg	Vertigem, tremor, Lítio e alfametilrosina. irritabilidade, reflexos hiperativos, fraqueza, tensão, insônia, confusão, ansiedade, cefaleia, calafrios, palpitações, arritmia cardíaca, dor anginal, hipertensão, boca seca, náusea, vômito e alteração do líbido.	Pacientes com distúrbios cardiovasculares, hipertensão moderada à severa, hipertireoidismo, glaucoma e alterações extrapiramidais.	Brasil, 2014h
-------------	------------	-------	---	---	---------------

Tabela 6 – Informações descritas nas bulas de anorexígenos, diurético e laxante a serem estudados.

(continuação)

Sibutramina	10 – 15 mg	Taquicardia, palpitações, hipertensão, vasodilatação, constipação, boca seca, insônia, sudorese, cefaleia, ansiedade, delírios, alterações do paladar, náuseas e hemorroidas.	Drogas que agem no sistema nervoso central, substâncias que podem aumentar a pressão arterial e frequência cardíaca (descongestionantes, antitussígenos, antigripais e substâncias inibidoras do metabolismo P450, (cetoconazol, eritromicina, cimetidina) e álcool.	Pacientes com histórico ou presença de transtornos alimentares, que fazem o uso de iMAO, ou que recebem outros medicamentos supressores de apetite.	Brasil, 2014h	
Diurético						
Amilorida	Amilorid®	2,5 – 5 mg	Cefaleia, fraqueza, náusea/falta ou perda de apetite, erupção cutânea e tontura.	Lítio, anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) e inibidores da enzima conversora de angiotensina (ECA).	Pacientes que apresentam níveis elevados de potássio no sangue, insuficiência renal ou pacientes que fazem suplementação de potássio.	Brasil, 2011b

Tabela 6 – Informações descritas nas bulas de anorexígenos, diurético e laxante a serem estudados.

(conclusão)

Laxante

Bisacodil	Ducolax®	5-10 mg	Cólicas, dor abdominal, diarreia, náusea, sangue nas fezes, desconforto abdominal e anorretal, vômitos e desidratação.	Diuréticos, adrenocorticóides e glicosídeos cardíacos.	Pacientes com íleo paralítico, obstrução intestinal, doenças inflamatórias agudas do intestino e casos de intensa desidratação.	Brasil, 2013
-----------	----------	---------	--	--	---	--------------

3 MATERIAL E MÉTODOS

A otimização e validação do método proposto, bem como sua aplicação em amostras de suplementos alimentares, foram realizadas no Laboratório de Análises Químicas (LACHEM), localizado no Prédio 15 B, na Universidade Federal de Santa Maria (RS).

3.1 REAGENTES E PADRÕES

Para o desenvolvimento do presente trabalho foram utilizados reagentes e solventes com alto grau de pureza (HPLC ou PA): Ácido Nítrico 91% de pureza (Merck), Metanol (Tedia), Acetonitrila (Tedia) e Ácido Dipicolínico (Merck). A água utilizada para o preparo das soluções primeiramente sofreu um processo de destilação, seguido de deionização e, após, purificação em um sistema Milli-Q de resistividade de $18,2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}^{-1}$.

Tanto para as análises dos adulterantes em questão, quanto para a investigação dos possíveis interferentes no método, foram utilizadas substâncias químicas de referência como padrões. As substâncias empregadas eram matérias-primas de grau farmacêutico obtidas juntos a farmácia de manipulação ou fornecedores do segmento farmacêutico, acompanhadas do laudo de análise e grau de pureza. A tabela 7 indica o fornecedor e pureza das matérias-primas utilizadas para este estudo.

Tabela 7 - Padrões dos fármacos estudados como adulterantes e interferentes para a otimização e validação do método.

	Fármaco	Fornecedor	Pureza (%)
ADULTERANTES	Anorexígenos		
	Anfepramona	Genix Ind. Farm. Ltda	98,0
	Femproporex	Genix Ind. Farm. Ltda	100,42
	Sibutramina	Deg	99,30
	Diurético		
	Amilorida	Deg	100,46
	Laxante		
	Bisacodil	Dermapelle	98,76
INTERFERENTES	Antidepressivos		
	Sertralina	Deg	99,26
	Fluoxetina	Deg	100,5
	Bupropiona	Genix Ind. Farm. Ltda	100,0
	Paroxetina	Genix Ind. Farm. Ltda	99,94
	Estimulantes		
	Tiramina	Sigma-Aldrich	99,0
	Octopamina	Sigma-Aldrich	95,0
	Hordenina	Sigma-Aldrich	97,0
	Tirosina	Sigma-Aldrich	99,0
	Ansiolíticos		
	Alprazolam	Deg	100,18
	Medazepam	Pharma Nostra	98,79
	Diazepam	Deg	98,99
	Flurazepam	Deg	99,56
	Clordiazepóxido	Opção Fênix Dist. Ins. Ltda	99,57
	Midazolam	Pharma Nostra	100,06
Clonazepam	Opção Fênix Dist. Ins. Ltda	99,9	
Bromazepam	Opção Fênix Dist. Ins. Ltda	99,8	

Os padrões foram pesados e preparados em soluções de metanol na concentração de 1 mg.L⁻¹, colocadas no banho ultrassônico por 30 minutos e estocadas à temperatura de 4° C por no máximo sete dias. Para a injeção no sistema, as soluções eram diluídos na fase móvel até a concentração desejada.

3.2 INSTRUMENTAÇÃO

O método analítico proposto foi desenvolvido em um Cromatógrafo de Íons Modelo IC 833 Plus da Metrohm® (Figura 3), sem supressão, com detector de condutividade Metrohm® acoplado e software ICNet 4.5 para a análise dos dados. Para a separação dos cátions de interesse foi utilizada uma coluna de troca catiônica fraca de sílica gel ligada a grupos carboxílicos modelo Metrosep C4 100/4.0 da Metrohm®.

Para o desenvolvimento do presente trabalho também foi utilizado o sistema de banho ultrassônico Unique® para a desaeração das amostras, padrões e fase móvel. Para a pesagem dos padrões, amostras e reagentes, foi utilizada uma balança analítica Shimadzu® com quatro casas de precisão depois da vírgula. Também foram utilizados sistema de filtração à vácuo, pHmetro digital Metrohm®, deionizador de água Permutation®, sistema de ultrapurificação de água MilliPore®.

Figura 3 – Cromatógrafo de Íons utilizado para o desenvolvimento do método proposto Modelo IC 833 Plus da Metrohm®.



3.3 ROTINA DE ANÁLISE E VALIDAÇÃO DO MÉTODO

Antes de cada análise, o sistema cromatográfico sofria uma lavagem prévia de trinta minutos com água ultra pura no fluxo de $1,0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. A fase móvel constituída de $1,8 \text{ mM}$ de ácido nítrico e 2% de acetonitrila era preparada diariamente. Após a preparação da solução, a mesma era filtrada no sistema à vácuo através de uma membrana Sartorius® $0,45 \mu\text{m}$ de celulose regenerada. O pH do eluente também era controlado diariamente. A fase móvel então era levada ao banho ultrassônico para desaeração por 1 hora. Primeiramente o sistema era colocado em equilíbrio com o eluente por cerca de 40 minutos no fluxo de trabalho de $0,9 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ e então as injeções eram realizadas. O volume de injeção foi de $20 \mu\text{L}$ e o tempo de análise de 35 minutos. Ao fim do dia de trabalho, o sistema passava por uma nova lavagem com a solução de $1,7 \text{ mM}$ de ácido nítrico e $0,7 \text{ mM}$ de ácido dipicolínico no fluxo de $1,2 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. As medidas ocorriam em uma sala fechada à temperaturas de $20 \text{ }^\circ\text{C} \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$ sem variação de analista ou de instrumento.

A validação do método foi baseado de acordo com a diretrizes da AOAC (2013), e os guias de validação de métodos analíticos e bioanalíticos da Anvisa (BRASIL, 2003). A curva de calibração foi constituída de sete pontos de acordo com a faixa linear de cada padrão. Os valores de LOD e LOQ foram calculados de acordo com a relação 3 vezes e 10 vezes, respectivamente, o sinal ruído da linha base dividido pelo *slope* da curva. Os testes de precisão intradias e interdias foram expressos de acordo com o desvio padrão relativo (RSD) dos resultados obtidos através das triplicatas das medidas de três concentrações diferentes para cada analito. O ensaio de recuperação foi avaliado através do método de adição de padrão nas amostras ($n = 3$), antes do processo de filtração, com três concentrações conhecidas e medidas em triplicatas, os resultados foram expressados em porcentagem e analisados de acordo com as diretrizes propostas pela AOAC (2013). A faixa linear foi determinada de acordo com Ribani e colaboradores (2004), em que foi feita uma relação entre os dados do sinal e suas respectivas concentrações. Foi construído um gráfico com as respostas relativas no eixo y e as concentrações correspondentes no eixo x, a linha horizontal obtida correspondeu a faixa linear. Por fim, a robustez foi avaliada através de variações do pH $\pm 0,1$, execução do método por outros analistas e com o uso de outras marcas de solventes e reagentes para a preparação da fase móvel.

3.4 AMOSTRAGEM E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras de suplementos alimentares foram obtidas em *websites* brasileiros através das ferramentas de busca do *Google*. As seguintes palavras-chaves foram determinantes para a escolha e aquisição dos produtos: suplemento alimentar para emagrecer, termogênicos, suplemento alimentar para perda de peso, suplemento para substituição de refeições. No total foram adquiridos 94 suplementos alimentares de 30 lojas virtuais diferentes, preconizando àqueles que possuíam maior apelo comercial para perda de peso e os produtos fabricados no Brasil. As amostras foram recebidas via Correios, cadastradas em uma base de dados na qual recebiam um código de identificação e estocadas à temperatura ambiente para posterior análise (Figura 4)

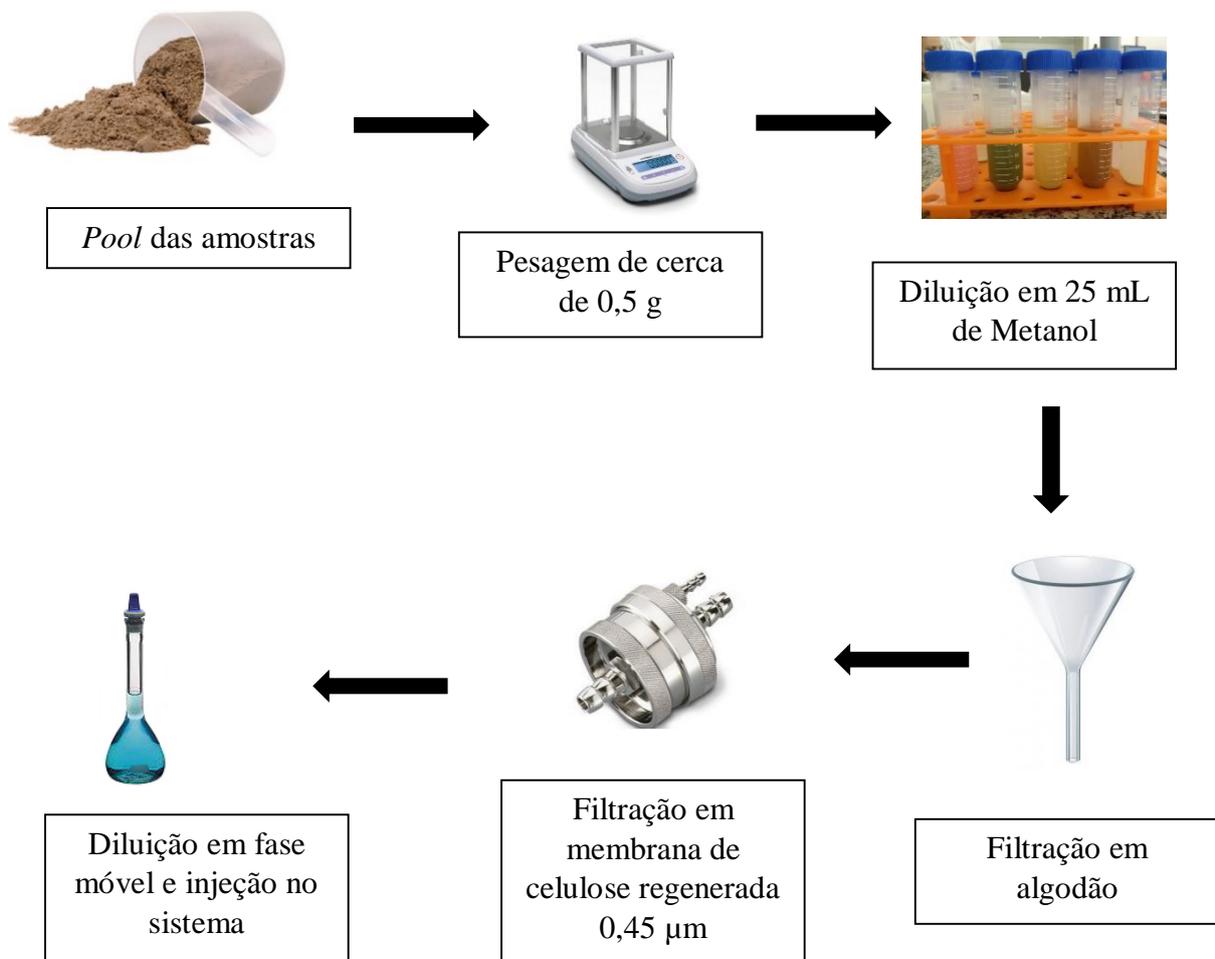
Figura 4 - Amostras de suplementos alimentares obtidas em *websites* brasileiros



Primeiramente foram analisadas as composições descritas nos rótulos, os aspectos regulatórios fornecidos pelos fabricantes, lote, validade e forma de apresentação das amostras. As amostras em sua maioria apresentavam-se na forma de pó à granel, cápsula, comprimidos, cápsulas oleosas e preparações oleosas. Contudo, para a investigação de adulterantes, apenas as amostras sólidas ($n = 78$) foram utilizadas. Foram realizados *pools* ($n = 10$) do material

presente no interior das cápsulas e armazenados de acordo com a identificação de cada amostra. Para os comprimidos, foram pesados 10 amostras, trituradas com o auxílio de gral e pistilo e então estocadas. Por fim, foram retiradas dez alíquotas de diferentes lugares dos suplementos apresentados na forma de pó à granel até que a massa total fosse de 5 g e, então, armazenados. Para a injeção das amostras no sistema cromatográfico, calculou-se o peso médio dos *pools* (aproximadamente 0,5 g), e o mesmo foi diluído em 25 mL de metanol. As diluições foram levadas ao banho ultrassônico por 30 minutos, filtradas previamente em algodão para posterior filtração em membrana regenerada de 0,45 μm (Figura 5) e então 1mL da solução diluída na fase móvel. Quando necessário, as amostras eram armazenadas à temperatura de 4 °C.

Figura 5 - Esquema de preparo das amostras de suplemento alimentar.



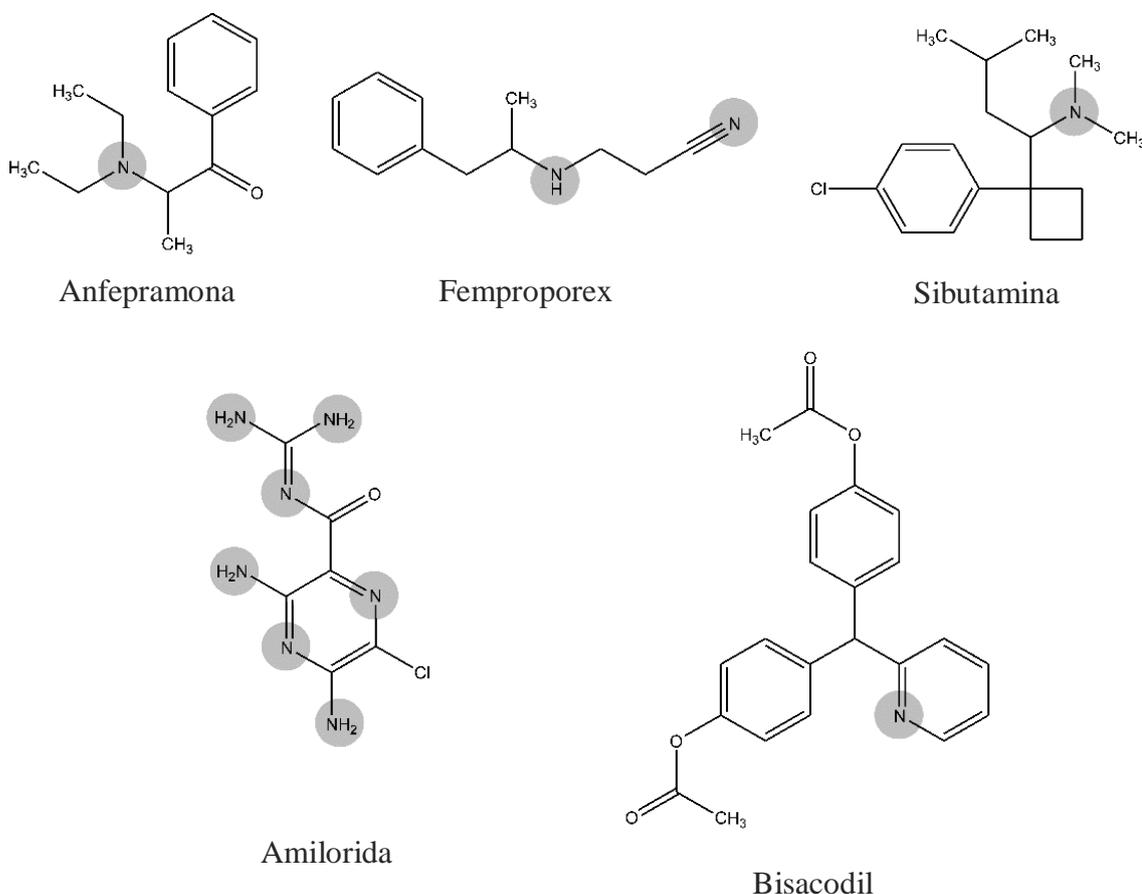
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DO MÉTODO PARA A DETERMINAÇÃO DE ANOREXÍGENOS, DIURÉTICO E LAXANTE

O objetivo do presente trabalho foi otimizar um método por IEC-CD para a separação e determinação de três classes distintas de fármacos: três anorexígenos, um diurético e um laxante. A cromatografia iônica consiste na interação eletrostática entre os íons dos analitos com os sítios da coluna e, devido a estrutura molecular dos compostos de interesse (Figura 6), escolheu-se uma coluna de trocas catiônicas como fase estacionária. Além disso, o detector de condutividade está comumente relacionado à cromatografia de troca iônica, ou seja, a detecção é proporcional à condutividade do analito no sistema. Em consequência disso, a maioria dos métodos desenvolvidos para a análise de ânions na cromatografia iônica requerem um sistema de supressão devido à alta condutividade da fase móvel. Como os fármacos em estudo são bases fracas com sítios de protonação em pH baixo, não foi necessário o uso do sistema de supressão da fase móvel, pois os analitos apresentavam condutividades menores do que o eluente; logo, a fase móvel não influenciou na detecção indireta dos picos (sinais negativos).

Além dos fármacos estudados, outros pertencentes às classes dos diuréticos (hidroclorotiazida, furosemida, clortalidona e espironolactona), laxantes (fenolftaleína) e anorexígenos (mazindol) foram testados na fase móvel escolhida. Porém, a ausência de sinal na detecção tanto direta quanto indireta eliminou a possibilidade de análise destes fármacos como possíveis adulterantes. No entanto, a ausência de sinal destes analitos atesta a seletividade do método IEC-CD para os cinco fármacos em estudo, o que será discutido mais detalhadamente na validação do método.

Figura 6 - Estrutura molecular dos compostos investigados no presente trabalho. Os grupos em destaque representam os sítios de protonação que irão interagir na fase estacionária.



Foram pesquisados artigos na literatura que abrangessem a determinação de fármacos por IEC-CD na forma catiônica. Devido a semelhança de materiais dispostos no laboratório e das estruturas dos fármacos, utilizou-se como base para as condições preliminares o trabalho realizado por Shen e colaboradores (2005) no qual desenvolveram um método para a determinação de β -2 agonistas em formulações farmacêuticas. Com isso, foram realizados testes a fim de se obter o método de análise ideal. Um vez que a coluna requer os fármacos na sua forma catiônica, foi necessário a realização de estudos com eluentes ácidos. Fases móveis constituídas de ácidos fracos, como os ácidos carboxílicos e o ácido fosfórico, não eram suficiente para manter os fármacos na sua forma protonada, conseqüentemente eles não interagiam com os sítios da coluna. Além do mais, ácidos muito fortes, como o ácido sulfúrico, poderiam afetar a vida útil da bomba e comprometer o sistema. O ácido clorídrico também foi testado em diferentes concentrações, porém não obteve-se a separação dos fármacos propostos no presente trabalho. Levando em consideração esses detalhes, o ácido de escolha para a constituição da fase móvel foi o ácido nítrico. Fixou-se o fluxo de trabalho em

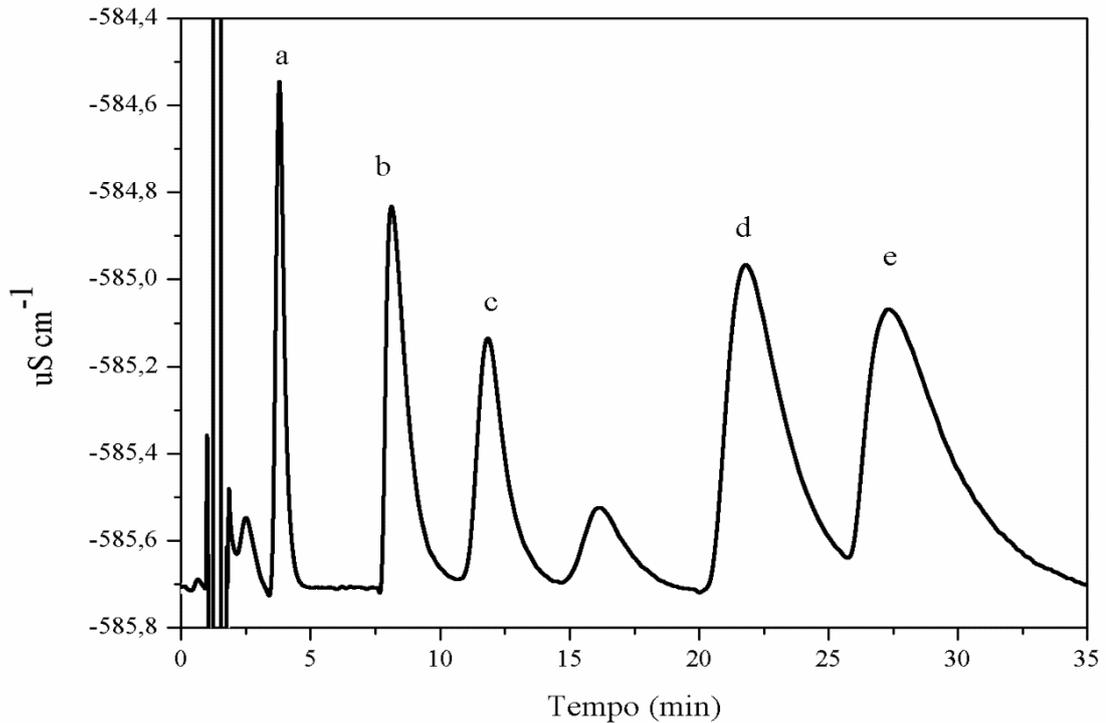
1,0 mL.min⁻¹ com o objetivo de realizar os estudos para se obter concentração de ácido capaz de carrear os íons pela coluna. De acordo com os fabricantes da coluna, a faixa aceitável de pH é de 2 a 7; conseqüentemente, a concentração mínima proposta de ácido nítrico era de 1,8 mM a fim de manter a fase móvel em pH 2,3. Além disso, baixas concentrações de ácido nítrico aumentavam o tempo de análise dos compostos e, concentrações maiores que 1,8 mM promoviam coeluição da anfepramona e amilorida. Por conseguinte, a fim de melhorar a resolução dos picos, a presença de um modificador orgânico foi estudada. A acetonitrila foi o solvente de escolha, uma vez que a coluna não aceitava álcoois, como o metanol, em altas concentrações. As concentrações de acetonitrila testadas foram de 1, 2 e 3%. A concentração de 1% promoveu resoluções de picos menores, enquanto que na concentração de 3% foi possível visualizar coeluição entre a anfepramona e amilorida, e sibutramina e bisacodil. Logo, a fase móvel otimizada para este estudo foi de 1,8 mM de ácido nítrico e 2% de acetonitrila.

Por fim, dentre os parâmetros de otimização do método, foram estudadas as condições de fluxo. Os fluxos testados foram de 0,5 mL.min⁻¹ até 1,2 mL.min⁻¹ levando-se em consideração os valores máximos de pressão suportados pelo sistema. Fluxos menores tornaram o tempo de corrida menor, enquanto que o fluxo de 1,2 mL.min⁻¹ promoviam corridas mais rápidas; entretanto as coeluições entre os compostos foram maiores. Por essas razões, o melhor fluxo de análise foi de 0,9 mL.min⁻¹, o qual apresentou tempo de corrida menor sem afetar a resolução dos picos. A Tabela 8 demonstra o tempo de retenção de cada analito de interesse, e o cromatograma do método otimizado para o estudo dos fármacos pode ser visualizado na Figura 7.

Tabela 8 - Tempo de retenção e o pKa dos analitos de interesse para o método de IEC-CD.

Fármaco	pKa	Tempo de retenção (min)
Femproporex	7,88	3,22
Anfepramona	7,44	6,67
Amilorida	8,70	9,33
Bisacodil	4,08	17,91
Sibutramina	9,77	23,63

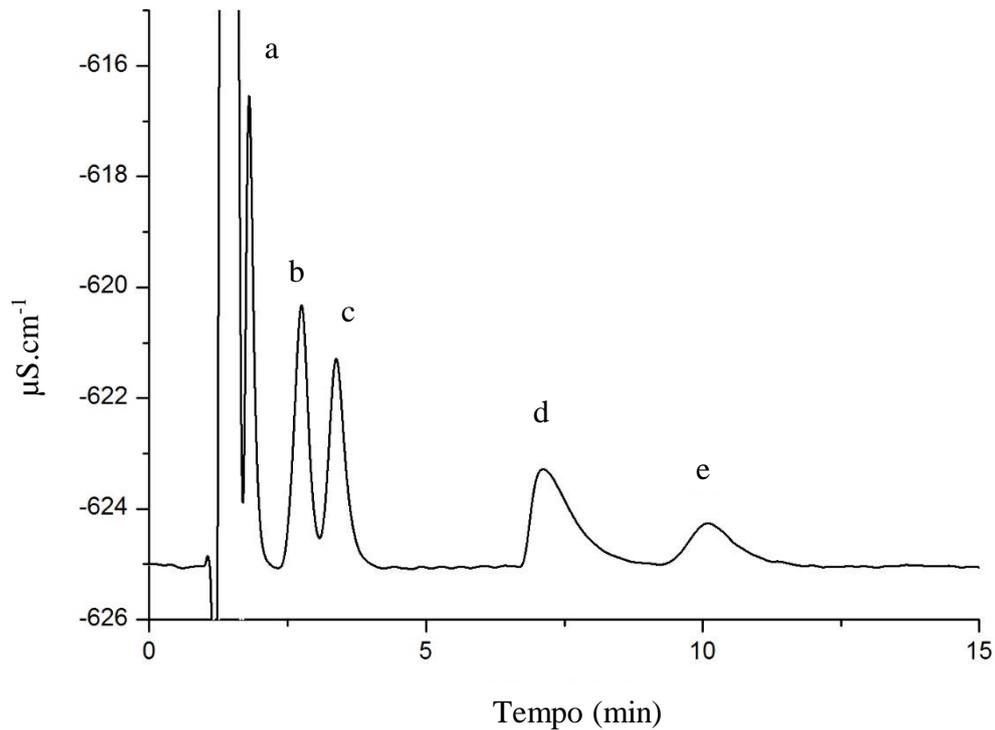
Figura 7 - Cromatograma da separação das três classes de fármacos pesquisadas como adulterantes em suplementos alimentares (a) 20 mg.L⁻¹ de femproporex, (b) 50 mg.L⁻¹ de anfepramona, (c) 50 mg.L⁻¹ de amilorida, (d) 100 mg.L⁻¹ de bisacodil e (e) 100 mg.L⁻¹ de sibutramina. Condições cromatográficas: fase móvel 1,8 MM HNO₃ e 2% de acetonitrila, coluna Metrosep C4 100/4.0, fluxo 0,9 mL.min⁻¹ e volume de injeção de 20 µL.



Os suplementos alimentares são produtos que apresentam uma matriz complexa, um vez que, eles possuem muitos ingredientes para compor uma só formulação. Levando isso em consideração, foram realizados estudos dos possíveis interferentes através da injeção de padrões e matérias-primas nas condições otimizadas do método. Primeiramente, foram estudadas as presenças dos compostos comumente declarados dos rótulos como quitosana, sinefrina, cafeína, espirulina, proteínas, vitaminas e minerais. No método em estudo, apenas sinefrina pode ser detectada e ainda sem interferir no método de análise dos fármacos em estudo, visto que seu tempo de retenção era muito próximo do volume morto, conforme mostra a Figura 8. Todavia, como esse composto está naturalmente presente nos frutos de *Citrus aurantium* (laranja amarga) e encontrava-se descrito nos rótulos dos suplementos alimentares, ele não é considerado como adulterante em potencial, diferentemente do que é proposto neste trabalho. Ainda, outros fármacos, os quais poderiam ser utilizados como

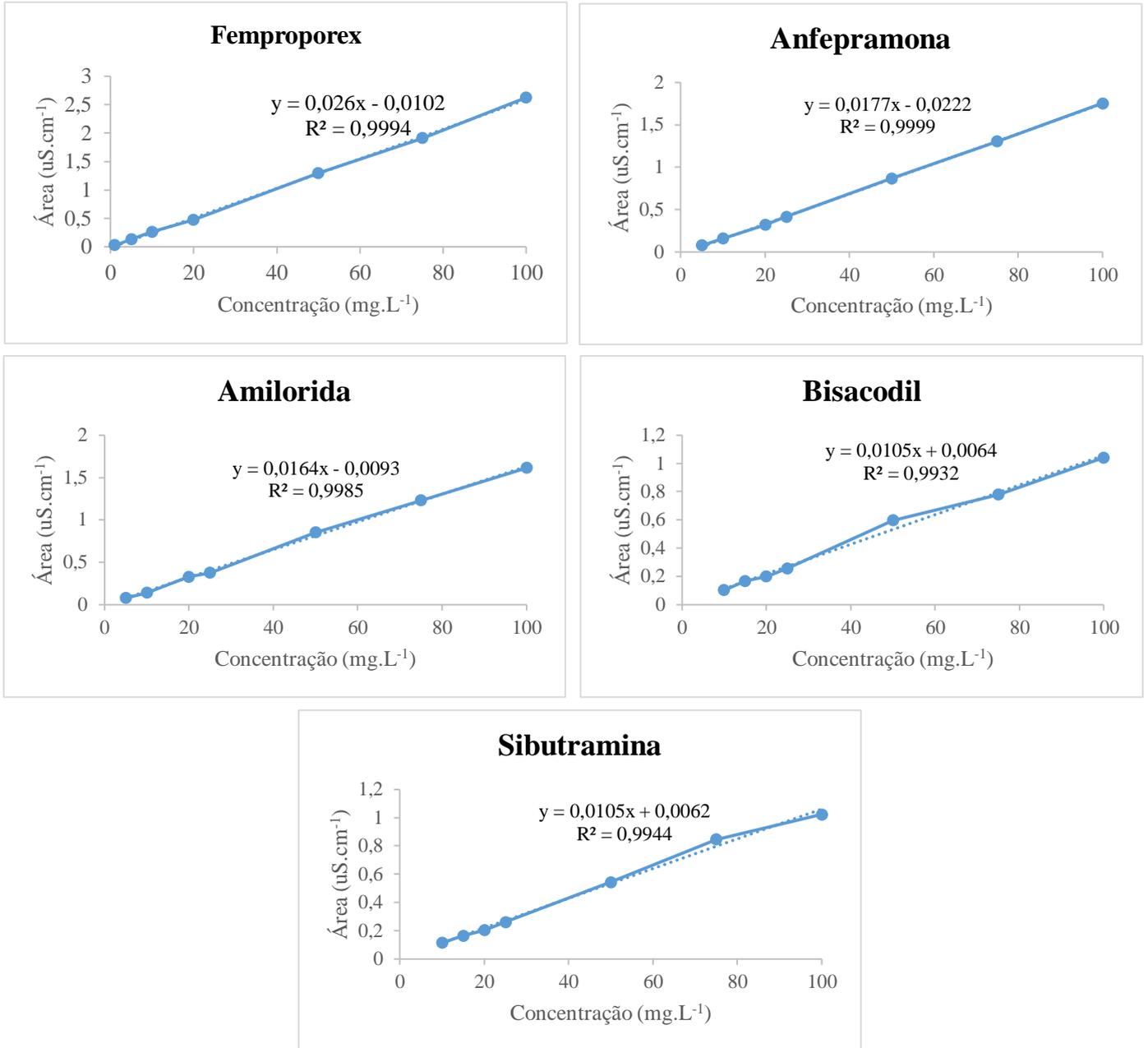
adulterantes, foram testados. Entre eles estavam os antidepressivos (sertralina, fluoxetina, bupropiona e paroxetina), os estimulantes (tiramina, octopamina, hordenina e tirosina) e os ansiolíticos (alprazolam, medazepam, diazepam, midazolam, flurazepam, clordiazepóxido, clonazepam e bromazepam). Dentre os fármacos previamente citados, foi possível detectar nesse método, além da sinferina, a hordenina (Figura 8). Contudo, como a resolução do pico cromatográfico de femproporex foi um pouco afetada, e já foi realizado um estudo prévio sobre a presença deste composto em suplementos alimentares (ZEMOLIN, 2015), não considerou-se adicionar esse composto na validação do método. Os outros compostos não interferiram no método, provavelmente pela baixa ionização deles ou por não interagirem especificamente com os sítios da coluna. Além disso, pela baixa ionização na fase móvel, a condutividade destes compostos não foi suficientemente grande para gerar um sinal na passagem pela célula de detecção condutométrica. Desta forma, a não interferência destes fármacos testados na separação dos cinco adulterantes em estudo se dá tanto pela fraca interação com a fase estacionária como pela baixa condutividade em relação ao eluente.

Figura 8 - Cromatograma com o tempo de análise reduzido para 15 minutos, no qual foi detectado sinefrina (a) e hordenina (b) como interferentes e femproporex (c), anfepramona (d) e amilorida (e) como os fármacos de escolha para o estudo, todos na concentração de 50 mg.L^{-1} . Condições cromatográficas: fase móvel $1,8 \text{ MM HNO}_3$ e 2% de acetonitrila, coluna Metrosep C4 $100/4.0$, fluxo $0,9 \text{ mL.min}^{-1}$ e volume de injeção de $20 \text{ }\mu\text{L}$ -



A validação do método foi baseado no “Guia de Validação para os Suplementos Alimentares” (AOAC, 2013), e no “Guia de Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos” da Anvisa (BRASIL, 2003). A curva de calibração, constituída de sete pontos de acordo com a faixa linear de cada padrão, /pode ser visualizada na Figura 9, juntamente com a equação da reta e o coeficiente de correlação.

Figura 9 - Curva de calibração dos padrões constituída de sete pontos.



O ensaio de exatidão foi realizado através da escolha de uma amostra que apresentou o cromatograma com menos picos cromatográficos. Em seguida, a amostra foi “contaminada” com três níveis de concentrações para cada fármaco (20 mg.L^{-1} , 50 mg.L^{-1} e 100 mg.L^{-1}) antes do processo de filtração, e todas as medidas foram realizadas em triplicatas. Ainda, de acordo com a AOAC (2008), a faixa aceitável para o ensaio de exatidão é de 80-115%. O ensaio de precisão intradia e interdía também foi realizado em três níveis de concentração para cada fármaco (Tabela 9), com medidas em triplicatas. Os valores foram expressos de acordo com o desvio padrão relativo (RSD) das medidas, os quais encontraram-se dentro dos valores máximos aceitáveis pela AOAC ($\text{RSD} \leq 5$). Além dos valores obtidos dos ensaios de precisão e recuperação, é possível também visualizar na Tabela 10 outros resultados das figuras de mérito. Ainda, o método mostrou-se robusto para variações de pH ($2,3 \pm 0,1$), temperatura do ambiente de análise ($20 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$), execução do método por diferentes analistas e quando foram utilizadas outras marcas de reagentes e solventes. Por conseguinte, todos os parâmetros analisados para a validação do método, estavam de acordo com as diretrizes utilizadas para a determinação de fármacos em suplementos alimentares.

Tabela 9 - Concentração dos fármacos para a realização dos ensaios de precisão intradias e interdias.

Fármacos	Nível 1 (mg.L^{-1})	Nível 2 (mg.L^{-1})	Nível 3 (mg.L^{-1})
Anfepramona	10	25	75
Femproporex	5	20	75
Sibutramina	10	20	75
Amilorida	5	25	75
Bisacodil	15	20	50

Tabela 10 - Resultado dos parâmetros validados para o método proposto.

Parâmetros	Anfepramona	Femproporex	Sibutramina	Amilorida	Bisacodil
Faixa linear (mg.L ⁻¹)	5 - 100	5 - 100	10 - 100	5 - 100	10 - 100
Faixa de trabalho (mg.L ⁻¹)	20-100	5-100	20-100	10-100	20-100
LOD (mg.L ⁻¹)	1,01	1,88	2,90	3,62	1,64
LOQ (mg.L ⁻¹)	1,48	2,19	8,72	4,80	4,89
R ²	0,999	0,998	0,994	0,999	0,993
Exatidão (%)	90,3 - 106,5	97-104,5	82,4-111,5	92,5-100,5	90,56-101,2
Precisão intradia (RSD)					
Nível 1	4,12	2,72	0,76	4,97	2,66
Nível 2	4,86	1,56	3,11	3,24	2,54
Nível 3	0,44	1,96	4,07	0,59	3,43
Precisão interdia (RSD)					
Nível 1	4,67	0,17	0,50	3,30	0,48
Nível 2	3,81	1,12	2,04	1,72	0,75
Nível 3	0,77	2,35	2,04	2,27	5,00

4.2 ASPECTOS REGULATÓRIOS DOS SUPLEMENTOS ALIMENTARES

A análise dos *websites* brasileiros mostrou que os suplementos alimentares apresentavam fortes apelos comerciais para sua capacidade de promover mudanças na performance e melhoras no desempenho físico, e em consequência disso, auxiliando na perda de peso. Os suplementos alimentares mais populares encontrados nos *websites* brasileiros para aquisição das amostras, eram os proteicos à base de *whey protein* e os suplementos indicados para substituição parcial de refeições. Os suplementos à base de proteína do soro do leite hidrolisada (*whey protein*) eram indicados para a finalidade de perda de peso devido ao seu consumo em substituição a refeições que continham alto teores de carboidratos e gorduras. Quanto aos requisitos regulatórios, eles estão classificados dentro dos “alimentos para atletas”, bem como os suplementos energéticos, suplementos de creatinina e suplementos termogênicos (BRASIL, 2010a). De acordo com a Anvisa (BRASIL, 2010a), os alimentos para atletas não devem conter em seu rótulo expressões indicativas como “*fat burner* (queimador de gordura)”, “anabólico”, “hipertrofia muscular” ou “estimulante da capacidade sexual”; contudo nem sempre esse requisito é cumprido por parte dos fabricantes.

Neves e Caldas (2015) afirmam que não há uma maneira simples de regulamentar suplementos alimentares. Isso pode ser evidenciado, por exemplo, na dificuldade de classificar legalmente suplementos que contenham um medicamento, como um fitoterápico, e um alimento na mesma formulação. Nas amostras adquiridas para o presente trabalho, foram observados inúmeras não-conformidades na rotulagem. Por exemplo, suplementos proteicos não podem ser adicionados de fibras alimentares ou não nutrientes. Contudo, em uma das amostras, estavam descritos os seguintes ingredientes no rótulo: proteína do leite concentrada, proteína de soro do leite isolada, albumina, e adição não aprovada de outros ingredientes como leite desnatado, triglicerídeo de cadeia média, cloreto de sódio, caseinato de sódio, óleo de girassol, óleo de canola, caseína, cacau em pó com álcalis. Outros casos como designação errônea, produtos inadequados de acordo com as leis brasileiras, ou comercialização irregular, também foram observados durante o processo de amostragem e aquisição dos produtos. Outra situação que provem de brechas da legislação é a comercialização dos Triglicerídeos de Cadeia Média (MCT), produtos nos quais possuem o apelo de queimadores de gordura e promovedores de ganhos de energia. Entretanto, os MCT não se enquadram em nenhuma resolução brasileira, não são considerados alimentos para atletas e também não estão descritos na lista de novos ingredientes e novos produtos disponibilizada pela Anvisa (BRASIL, 1999a). As informações descritas no rótulo quanto à composição, forma de apresentação e

aspectos regulatórios declarados pelos fabricantes e dosagem indicada estão dispostas na Tabela 11.

Tabela 11 - Amostras de suplementos alimentares com as respectivas descrições encontradas no rótulo.

(continua)

Amostras	Nome comercial	Descrição Formulação	Forma de Apresentação	Dosagem	Aspectos regulatórios
1	RIPPABS	Guaraná, mate, mix de vitaminas e minerais	Cápsula em pó	4 cápsulas por dia	Registro na Anvisa/MS
2	Therma Pro Hardcore	Guaraná em pó	Cápsula em pó	2 cápsulas por dia	n.i.
3	Black Bee	Triglicerídeos de cadeia média (MCT), cafeína em microesferas	Cápsula oleosa com 2 fases: óleo/sólido	2 cápsulas por dia	n.i.
4	Mega Maltodextrin	Maltodextrina (carboidrato de absorção gradativa)	À granel	40g de pó em 250 ml de água	n.i.
5	THERMO SYN	Maltodextrina, guaraná, laranja amarga, chá verde, cromo, niacina, vitamina C	À granel	4 g em 250 ml de água - 2x por dia	RDC nº 27/2010
6	Bea Goji Green	Extrato de acerola, extrato de café verde, extrato de chá verde, extrato de goji berry, vit C, vit A, vit E, picolinato de cromo, selênio quelato, zinco quelato	Cápsula em pó	1 cápsula 2x ao dia	RDC nº 27/2010
7	Bea Café Verde	Extrato de acerola, café verde, picolinato de cromo, vit C, amido de milho, vit A, vit E, selênio quelato, zinco quelato	Cápsula em pó	2 cápsulas 2x ao dia	RDC nº 27/2010

Tabela 11 – Amostras de suplementos alimentares com as respectivas descrições encontradas no rótulo

(continuação)

8	Sineflex	Cafeína anidra, fibra de laranja, psilium, quitosana, vitaminas e minerais	Cápsula em pó	2 cápsulas incolor 2x ao dia + 1 cápsula vermelha 1x ao dia	Registro na Anvisa/MS
9	Energy Maxiwaize	Amido de milho ceroso (carboidrato complexo)	À granel	30 g em 250 ml de água 2x ao dia	n.i.
10	Hydro Fusion	Proteína hidrolisada e isolada	À granel	4 doses de 25 g/125 ml de água	Importado –FDA
11	Iso.100 Hydrolyzed	Proteína do soro do leite isolada e hidrolisada	À granel	31 g em 300 ml de água	RDC nº 27/2010
12	Linolen	<i>Carthamos tinctorius</i>	Cápsula oleosa	2 cápsulas 2x ou 3x ao dia	n.i.
13	Efa Lean Gold	Óleo de linhaça, óleo de gergelim, óleo de cártamo, óleo de borragem, óleo de girassol	Cápsula oleosa	3 cápsulas ao dia	Registro na Anvisa/MS
14	Thermo Cuts Black	Cafeína 220 mg	Comprimido revestido	1 cápsula ao dia	n.i.
15	Charge	Guaraná, colina, psillium, vitaminas	Cápsula em pó	2 cápsulas 2x ao dia	Registro na Anvisa/MS
16	LA	Óleo de cártamo, vitaminas, biotina (vit. H)	Cápsula oleosa	2 cápsulas 2x ao dia	Registro na Anvisa/MS
17	Ripped Rave	Maltodextrina, suplemento a base de colina, magnésio, vitaminas, cromo, ácido fólico, extrato de chá verde, extrato de guaraná, laranja amarga e canela	Cápsula em pó	2 cápsulas 2x ao dia	n.i.

Tabela 11 – Amostras de suplementos alimentares com as respectivas descrições encontradas no rótulo

(continuação)

18	Thermo Reduction	Suplemento 100% cafeína para atletas	Cápsula em pó	1 cápsula 1x ao dia	n.i.
19	Chitosan Plus	Quitosana, psillium, farelo de aveia	Cápsula em pó	2 cápsulas 2x ao dia	Registro na Anvisa/MS
20	Lady Slim	Microgrânulos de cafeína, óleo de cártamo	Cápsula oleosa com 2 fases: óleo/sólido		RDC nº 27/2010
21	Long Jack 200 mg	n.i.	Cápsula em pó	1 cápsula 2x ao dia	n.i.
22	Thermo Active	Guaraná em pó com alta concentração de cafeína, citrus, café verde, picolinato de cromo, suplemento vitamínico e mineral	Cápsula em pó	4 cápsulas ao dia	RDC nº 27/2010
23	30 ervas	Psillium, abacaxi, acerola, açai, amora, ameixa, banana, laranja, maçã, mamão, morango, maracujá, tamarindo, uva, berinjela, beterraba, brócolis, cenoura, espinafre, tomate, guaraná, cogumelo <i>Agaricus blazei</i> , gérmen de soja, aveia, trigo, linhaça, gergelim, cacau, alho	Cápsula em pó	2 a 3 cápsulas 3X ao dia	Registro na Anvisa/MS
24	BCAA	L-valina, L-leucina, L-isoleucina, vit. B6, arginina	Cápsula em pó	4 cápsulas ao dia	RDC nº 27/2010

Tabela 11 – Amostras de suplementos alimentares com as respectivas descrições encontradas no rótulo

(continuação)

25	Cellu Control	Cromo, colina, cálcio, silício, zinco, magnésio, café verde, vit. C, vit. B3, ácido fólico	Cápsula em pó	3 cápsulas ao dia	RDC nº 27/2010
26	Blue Burn Control	Chá verde, colágeno, inulina, gengibre, vitaminas e minerais	Pó à granel	1 colher de chá (5g) em 200 ml água após as refeições	RDC nº 27/2010
27	White Hot	Cafeína, fosfato dicálcico, dióxido de silício, chá verde, leucina, tirosina, extrato de casca de pinheiro, garcínia	Tabletes	4 tabletes dia, ingerir 2 tabletes 2X ao dia	RDC nº 27/2010
28	Colágeno Hidrolisado	Colágeno, betacaroteno, vit. C	Pó à granel	10g em 200 ml	n.i.
29	Citrus	Fibra de laranja amarga	Cápsula em pó	Ingerir 2 cápsulas 2X ao dia	Registrado na Anvisa/MS
30	Adrena Syntex	Cafeína anidra	Cápsula em pó	2 cápsulas ao dia	n.i.
31	Black Jack	Cafeína anidra	Cápsula em pó	2 cápsulas ao dia	n.i.
32	Vitamin E 1000 mg softgel	Ácido linoléico do óleo de cártamo, vit. E	Cápsula oleosa	5 cápsulas por dia	Registrado na Anvisa/MS
33	MCT	Triglicerídeos de cadeia média	Pó à granel	10 g em 150 ml de líquido	RDC nº 27/2010
34	Caffeine Foods	Cafeína anidra, óleo de soja, gordura vegetal emulsificante, lecitina de soja	Cápsula oleosa	Máximo de 2 cápsulas ao dia	RDC nº 27/2010
35	FatBlocker	Aminopolissacarídeo	Cápsula em pó	2 cápsulas 3x ao dia	Registrado na Anvisa/MS

Tabela 11 – Amostras de suplementos alimentares com as respectivas descrições encontradas no rótulo

(continuação)

36	Delight	Proteína do soro do leite, albumina, caseína, L-leucina, L-valina, L-isoleucina	Pó a granel	24,7 g em 300 ml de água	RDC nº 27/2010
37	Carb Locker	Chá branco, colágeno, <i>Phaseolus vulgaris</i> , cromo	Sachês em pó	1 sachê (5g) em 200 ml	RDC nº 278/2005
38	Burnout	Cafeína anidra	Comprimido revestido	2 tabletes ao dia	RDC nº 27/2010
39	Ultimate fire white	Cafeína anidra	Cápsula em pó	1 a cápsulas ao dia	RDC nº 27/2010
40	Black Burn ultra concentrada	Cafeína	Cápsula em pó	2 cápsulas ao dia	n.i.
41	Gold Standard Whey	Proteína do soro do leite isolada, peptídeos do soro do leite	Pó a granel	32 g em 300 ml de água ou leite diariamente	RDC nº 27/2010
42	Glutamine Fuel	Glutamina	Pó a granel	5g ao dia em 60 ml de água junto com as refeições	Registrado na Anvisa/MS
43	Ultimate fire white	Cafeína anidra	Cápsula em pó	2 cápsulas ao dia (no máximo)	RDC nº 18/2010
44	MCT Powder	Triglicerídeos de cadeia média	Pó a granel	10 g em 200 ml de bebida	n.i.
45	Thermo Max Appetite Control	<i>Citrus aurantium</i> , chá verde colina, cromo, magnésio, vit. B3 e b6, vit. C e ácido fólico	Cápsula em pó	4 cápsulas ao dia	Registrado na Anvisa/MS
46	Thermo Plus	Chá verde, laranja amarga, guaraná, vitaminas e minerais	Sachês em pó	1 sachê em 300 ml de água antes das refeições	Registrado na Anvisa/MS
47	Silouet Absolute Control	Colina, cromo, magnésio e <i>citrus aurantium</i>	Cápsula em pó	2 cápsulas ao dia	RDC nº 27/2010

Tabela 11 – Amostras de suplementos alimentares com as respectivas descrições encontradas no rótulo

(continuação)

48	Amino	Aminoácidos de cadeia ramificada	Pó a granel	1 scoop (13,37g) em 350 ml dia	RDC nº 27/2010
49	Carnivor	Proteína de carne bovina hidrolisada e isolada, maltodextrina	Pó a granel	31,3 g do pó em 200-300 ml de água	Importado – FDA
50	Ultimate 2HOT	Cafeína, taurina, chá verde, <i>Citrus aurantium</i> , gengibre e pimenta vermelha	Pó a granel	2 doses de 6g em 200 ml de água por dia	RDC nº 27/2010
51	Slim Factor	Cafeína e óleo de gergelim	Cápsula oleosa	1 a 2 cápsulas por dia 30 min antes do treino	RDC nº 27/2010
52	Quitosan	Quitosana	Cápsula em pó	3 cápsulas 2x ao dia	Registrado na Anvisa/MS
53	NO	Creatina, arginina, extrato de guaraná com alto teor de cafeína	Cápsula em pó	Abaixo de 70 kg : 8 cápsulas ao dia, entre 70 e 90 kg: 9 cápsulas ao dia, acima de 90 kg: 10 cápsulas ao dia	RDC nº 27/2010
54	Elektra focus dynamic	Cápsula oleosa - óleo de cártamo / cápsula em pó - cafeína anidra 210 mg	Cápsula oleosas e cápsula em pó	1 cápsula em pó ao dia e 2 cápsulas oleosas	Registrado na Anvisa/MS
55	Blast Combat	Dextrose, maltodextrina, creatina, guaraná, cálcio arginina quelato, cálcio ornitina quelato, taurina	Pó à granel	Misturar 15 g e 200 ml de água e consumir 45 min antes do treino	RDC nº 18/2010

Tabela 11 – Amostras de suplementos alimentares com as respectivas descrições encontradas no rótulo

					(continuação)
56	Carnicaps	Carnitina	Cápsula em pó	1 a 2 cápsulas por dia	Registrado na Anvisa/MS
57	Ultimate Fire Black	Cafeína anidra	Cápsula em pó	1 a 2 cápsulas ao dia antes do treino	RDC nº 18/2010
58	Thermo Shake Diet	Maltodextrina, soro de leite, leite em pó desnatado, proteína isolada de soja, fibra de aveia, vitaminas e minerais, ácido pantotênico, óleo vegetal de coco em pó	Pó a granel	3 1/2 colheres de sopa em 250 ml de leite desnatado	n.i.
59	L-carnitine 2000	L-carnitina	Líquido	30 ml ao dia	Registrado na Anvisa/MS
60	Thermogenic Extreme Black	Cafeína 420 mg	Cápsula em pó	1 cápsulas ao dia antes do treino	RDC nº 27/2010
61	Thermo Fire Hardcore	Cafeína 420 mg	Tabletes	1 tablete ao dia	RDC nº 27/2010
62	Phenbuterol	Cafeína 420 mg	Cápsula em pó	2 cápsulas ao dia	n.i.
63	Lidoprol	Cafeína 286 mg, óleo de gergelim	Cápsula oleosa com 2 fases: óleo/sólido	2 cápsulas ao dia	Importado – FDA
64	L-carnitine 2000	L-carnitina	Cápsula em pó	Ingerir 2 cápsulas (1000 mg) a 4 cápsulas (2000 mg) ao dia	Registrado na Anvisa/MS
65	Lipodraw	Óleo de linhaça, girassol, gergelim, barragem, cártamo, vitaminas e minerais	Cápsula de 2 fases	1 cápsula ao dia pela manhã em jejum	Importado – FDA

Tabela 11 – Amostras de suplementos alimentares com as respectivas descrições encontradas no rótulo

(continuação)

66	OxyLinpro	Cafeína anidra 300 mg	Cápsula em pó	Consumir 1 cápsulas ao dia	RDC nº 27/2010
67	Fat Max	Complexo B, biotina, colina, cromo e vit. C	Cápsula em pó	4 cápsulas ao dia com a bebida de preferência	Registrado na Anvisa/MS
68	Super F-destroyer	Taurina, cafeína, picolinato de cromo, guaraná, laranja amarga, chá verde, café verde	Pó a granel	Diluir 5g em 200 ml de água, consumir 1 x ao dia	n.i.
69	Psyllium	Psyllium (plantago ovate)	Cápsula em pó	2 cápsulas, 3 vezes ao dia	Registrado na Anvisa/MS
70	Thermo Food caps	Guaraná, citrato de colina, cromo, nicotinamida, pantenoato de cálcio, tiamina	Cápsula em pó	4 cápsulas 1x ao dia	RDC nº 27/2010
71	Super HD	Cafeína, n-acetyl-L-tirosina, niacina, vit B6 e B12, <i>Camellia sinensis</i>	Cápsula em pó	1 cápsula de manhã em jejum e outra 5-6 horas mais tarde	Importado – FDA
72	T_SEK	Colágeno, polpa de frutas de <i>Bromelia ananas</i> L., flores de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L., folhas de <i>Cymbopogon citratus</i> Stapf, folhas e talos de <i>Ilex paraguariensis</i> , folhas de carqueja, folhas e talos de chá verde, folhas e talos de chá branco, óxido de magnésio, nicotinamida, matodextrina, pantotenato de cálcio.	Pó a granel	4 g em 400 ml de água a qualquer hora do dia	RDC nº 27/2010

Tabela 11 – Amostras de suplementos alimentares com as respectivas descrições encontradas no rótulo

(continuação)

73	Thermo Cuts Black	Cafeína 220 mg	Tabletes	1 tablete ao dia 30 min antes do treino	n.i.
74	Redline Ultra Hardcore	Cafeína, trans-resveratrol	Cápsulas 2 fases	1 a 2 cápsulas por dia antes do café da manhã e 1 ou 2 cápsulas adicionais 7 horas depois se desejado	Importado –FDA
75	Formula alpha axcell	Cafeína anidra 210 mg	Cápsulas em pó	1 cápsula 1X ao dia	RDC nº 27/2010
76	Quitosan	Quitosana, espirulina, acerola e biotina	Cápsula em pó	7 cápsulas ao dia junto com líquidos	Registrado na Anvisa/MS
77	GTF FACTOR	Picolinato de cromo 200 mg	Cápsula em pó	1 cápsulas ao dia	Registrado na Anvisa/MS
78	Furian	Laranja amarga, guaraná, chá verde, erva mate, canela do ceilão, gengibre, abacaxi, framboesa, maltodextrina	Pó a granel	5g em 240 ml de água	n.i.
79	Hydroxycut hardcore	Cafeína, extrato de café verde, extrato de <i>Coleus Farskohlii</i> , extrato de cacau, extrato de <i>yohimbe</i>	Cápsula em pó	Dia 1 e 2: 1 cápsulas 1 x ao dia, dia 3 e 4: 2 cápsulas 1x ao dia, dia 5 e 6 2 cápsulas na 1ª refeição e 1 cápsulas na 2ª refeição, 7 em diante: 2 cápsulas 2x ao dia	Importado – FDA

Tabela 11 – Amostras de suplementos alimentares com as respectivas descrições encontradas no rótulo

(continuação)

80	Maca Peruana	Maca peruana, acerola, vit. E, vit. A, Zn, picolinato de cromo, se	Cápsula em pó	2 cápsulas por dia	RDC nº 27/2010
81	Syntha-6	Proteína do leite concentrada, proteína de soro do leite isolada, albumina, leite desnatado, triglicerídeos de cadeia média, cloreto de sódio, caseinato de sódio, óleo de girassol, óleo de canola, caseína, cacau em pó com álcalis	Pó a granel	1 colher média com 1 copo de água	Importado - FDA
82	100% Whey fuel	Mistura de proteínas do soro do leite, glicina, creme de leite vegetal, cacau	Pó a granel	37,8 g em 200 ml de água fria	RDC nº 27/2010
83	Jack3d	Laranja amarga, beterraba, chá verde, mate, guaraná, feno grego, açafraão, alecrim	Pó a granel	3g em 250 ml de água	Importado – FDA
84	Redsize	Quitosana, composto de laranja, guaraná, psillium, vit.C, cromo	Cápsulas em pó	2 cápsulas antes do café da manhã, 2 antes do almoço, 1 cápsulas antes do jantar	Registrado na Anvisa/MS
85	Zman	Complexo de magnésio, zinco e vit. B6	Cápsulas em pó	2 cápsulas por dia	Importado – FDA
86	Universal ripped fast	Psillium, lecitina de soja	Cápsulas em pó	2 cápsula antes dos exercícios físicos, não exceder 4 cápsulas por dia	Registrado na Anvisa/MS

Tabela 11 – Amostras de suplementos alimentares com as respectivas descrições encontradas no rótulo

(continuação)

87	Fit trainer	Creatina, beta-alanina	Pó a granel	5,6 g em 150 ml de água 30 min antes da atividade física	RDC nº 27/2010
88	Roxylean	360 mg de cafeína por cápsula	Cápsula em pó	1 cápsulas ao dia de preferência em jejum	n.i.
89	OxyElite	Cafeína anidra	Cápsula em pó	1 cápsula 15 a 30 min antes do café da manhã	n.i.
90	Fireball	Vit. C e picolinato de cromo, aromatizantes naturais (chá verde, guaraná, laranja amarga, ginseng e gengibre)	Cápsula em pó	2 cápsulas ao dia, 30 min antes da atividade física	RDC nº 27/2010
91	Animal Pak	Proteína do soro do leite, fígado bovino, maltodextrina, carbonato de cálcio, óleo de linhaça, citrato de colina, óleo de palma, óxido de magnésio, ácido fólico, vit. C, vit. B3, vit. E, óxido de zinco, sulfato de manganês, biotina, picolinato de cromo	Tabletes	11 tabletes (1 porção) ao dia junto as refeições	RDC nº 27/2010
92	Chromium picolinate	Picolinato de cromo 35 mg	Cápsula em pó	1 cápsulas ao dia	RDC nº 27/2010
93	Magic Blue	Cafeína, carbonato de cálcio, maltodextrina, estearato de magnésio, dióxido de silício	Tabletes	1 tablete ao dia	RDC nº 27/2010

Tabela 11 – Amostras de suplementos alimentares com as respectivas descrições encontradas no rótulo

(conclusão)

94	Iron Cuts	Cafeína, carbonato de cálcio, maltodextrina, estearato de magnésio, dióxido de silício	Cápsulas em pó	Homens: Como suplemento dietético tomar 3 cápsulas diariamente na primeira refeição. Programa de treinamento intensivo - Homens: como suplemento dietético servir 3 cápsulas duas vezes ao dia. De manhã: tomar 3 cápsulas com o café-da-manhã. A tarde: tomar 3 cápsulas com o lanche. Não deve ser tomado com menos de 6 horas antes de dormir	Importado - FDA
----	-----------	--	----------------	--	-----------------

n.i. – Não Informado

Registro na Anvisa/MS – Apresentavam número de registro no rótulo

RDC nº 27/2010 – Produto dispensado de registro de acordo com a RDC nº 27/2010

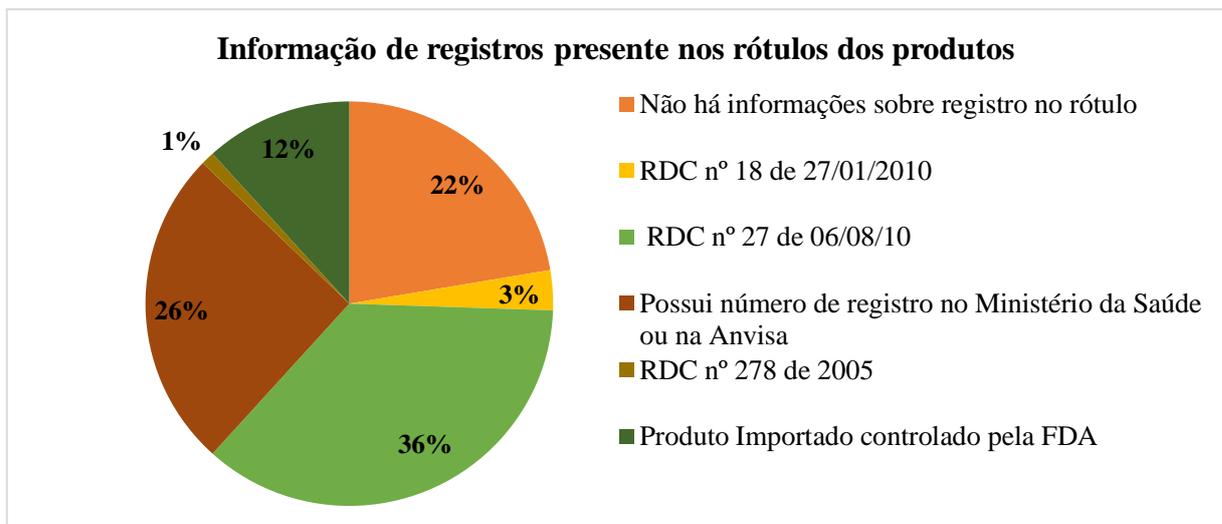
RDC nº 18/2010 – Produto dispensado de registro de acordo com a RDC nº 18/2010

RDC nº 278/2005 – Produto dispensado de registro de acordo com a RDC nº 278/2005

Importado – FDA – Produto regulamento pela FDA.

Dos 94 suplementos alimentares adquiridos para este trabalho, 40% declaravam-se como termogênicos, 12% proteicos, 11% tinha o apelo comercial de suplementos energéticos, 11% vitamínicos e minerais, 21% declararam ser supressor de apetite e/ou diuréticos e/ou queimadores de gordura e 5% diziam ser fixadores muscular. Além disso, dentre os aspectos regulatórios declarados pelos fabricantes, 26% (n=24) possuíam o número de registro sanitário expedido pela Anvisa e/ou Ministério da Saúde, 36% (n=34) diziam estar dispensados de registro de acordo com a RDC 27/2010, 3% (n=3) declaravam estar dispensados da obrigatoriedade de registro de acordo com a RDC 18/2010 e 1% (n=1) estava dispensado de registro sanitário de acordo com a RDC 278/2005, 12% (n=11) eram produtos importados regulamentados pela FDA e 22% (n=21) não possuíam qualquer informação no rótulo sobre dispensação ou obrigatoriedade de registro (Figura 10).

Figura 10 - Resumo das informações declaradas pelos fabricantes no rótulo quanto aos aspectos regulatórios dos suplementos alimentares.



De acordo com as legislações vigentes no Brasil, a RDC 27/2010 é a que determina quais os produtos que devem ou não possuir o registro sanitário declarado no rótulo. Ainda, de acordo com essa resolução, os novos ingredientes e novos alimentos, alimentos com alegação de propriedade funcional e ou saúde, substâncias bioativas e probióticos, devem possuir o atestado de segurança e eficácia bem como deve estar declarado o número de registro junto ao Ministério da Saúde ou Anvisa (BRASIL, 2010b; NEVES e CALDAS, 2015). Ao contrário do que foi reportado em alguns rótulos, a RDC 18/2010 não dispensa ou requer o registro sanitário dos suplementos alimentares. Essa regulamentação apenas determina a classificação, a designação e a composição que deve ser declarada nesses

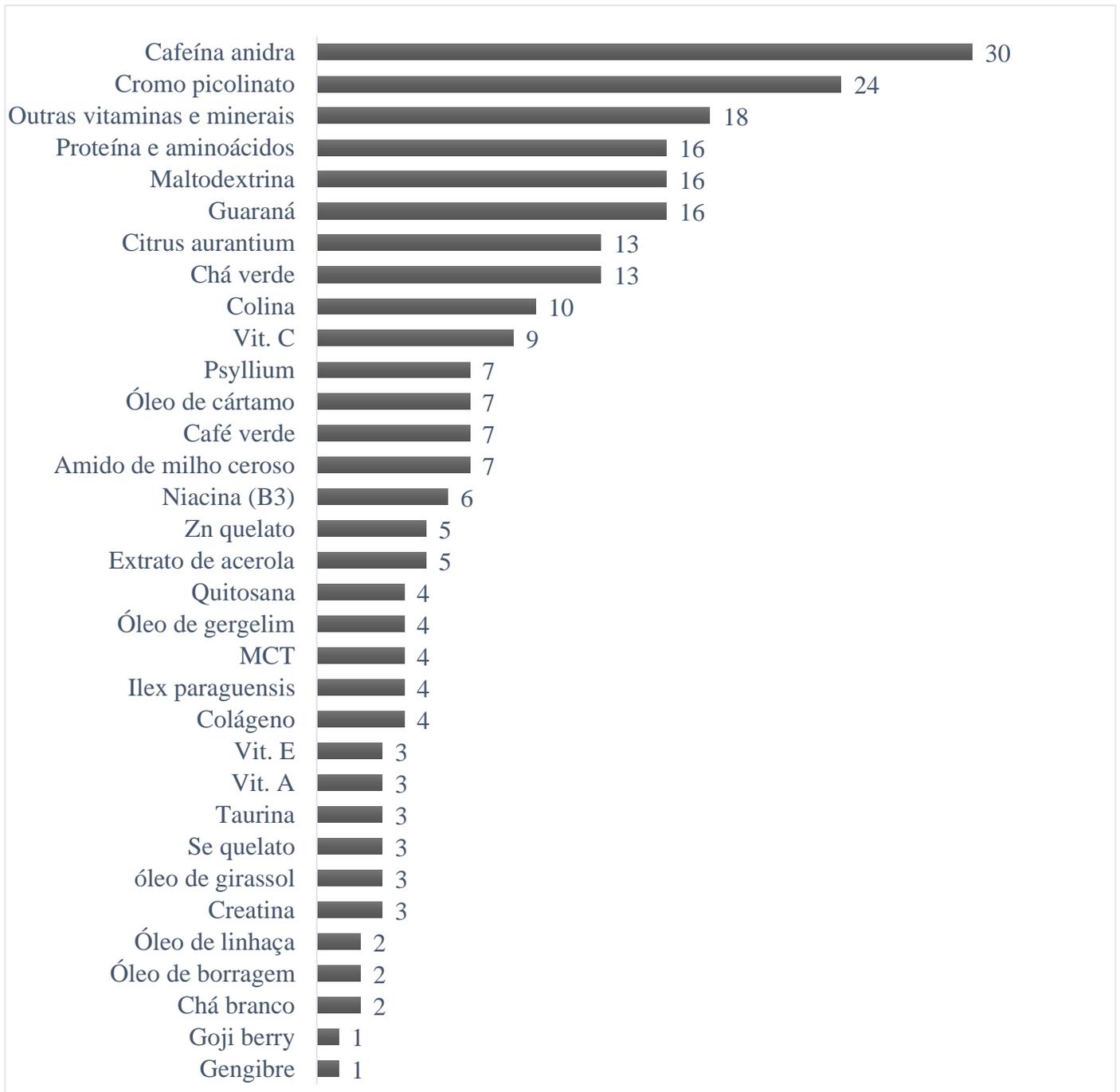
produtos (BRASIL, 2010a). Além disso, dentre os rótulos analisados, um produto alegou ser dispensando de registro sanitário de acordo com a RDC 278/2005, a qual encontrava-se revogada no momento da fabricação desse produto. Ademais, o mesmo produto alegou em sua composição *Phaseolus vulgaris*, chá branco, colágeno e cromo na forma de pó. Em consequência de sua composição, o suplemento deve ser regulamentado dentro das diretrizes de Novos Alimentos, ou seja, é requerido a comprovação de segurança e eficácia e, ainda, a presença do número do registro sanitário declarado no rótulo.

Das amostras adquiridas, 31 unidades apresentavam erros quanto a regulamentação especificada, e 25 suplementos possuíam ingredientes que não poderiam estar presente na formulação do produto. Como o produto que se dizia dispensado de registro, mas que continha fitoterápicos declarados no rótulo, como as folhas de *Hibiscus sabdarrifa* e do *Cymbopogon citratus* Stapf, além de outros compostos como polpa de *Bromelia ananas* L. que são considerados Novos Ingredientes.

Foi realizado um estudo dos principais ingredientes descritos pelos fabricantes nas amostras de suplementos alimentares. Como priorizou-se a busca por amostras com que possuíam o apelo de perda de peso, foi analisada a justificativa por parte dos fabricantes para adição de algumas substâncias nos suplementos alimentares. A cafeína anidra foi o ingrediente mais encontrado nas amostras adquiridas devido ao seu uso como um produto termogênico, ou seja, ela é capaz de transformar em energia as calorias provenientes da gordura corporal e da alimentação. Outros ingredientes também são considerados como termogênicos pelos consumidores, como o chá verde, café verde, *Ilex paraguensis*, chá branco, taurina e guaraná. Além do mais, suplementos a base de cafeína são destinados a aumentar a resistência aeróbica de exercícios de longa duração. O cromo picolinato é muito utilizado como suplemento alimentar devido seu apelo de inibidor de apetite por doces e de auxílio no emagrecimento. As proteínas e aminoácidos são consumidos por frequentadores de academias a fim de repor a matriz muscular perdida ao longo de exercícios intensos, e na substituição de refeições ricas em carboidratos e gorduras. A colina junto com outras vitaminas e minerais, possuem o apelo comercial de perda de peso, devido a regulação do metabolismo e aceleração dos processos biológicos. O *Citrus aurantium*, *Psyllium*, quitosana, goji berry, gengibre, colágeno, e outros produtos de extratos e óleos naturais são caracterizados como suplementos vegetais indicados para dietas de restrição de calorias. A maltodextrina, é o resultado da hidrólise do amido da fécula de batata que mantém os níveis de energia constante durante as atividades físicas. Outras substâncias que também possuem

apelo emagrecedor, seja ele promovido de forma direta ou indireta, estavam descritas nos rótulos das amostras de suplementos alimentares adquiridas (Figura 11).

Figura 11 - Relação dos ingredientes citados nos rótulos das amostras pelos produtores.



Durante o processo de amostragem foi possível adquirir, através de *websites* brasileiros, dois suplementos alimentares importados (Jack3D e Oxy Elite Pro produzidos pela USPLabs®) os quais estavam com a comercialização proibida no Brasil pela agência regulatória (BRASIL, 2012). Em um comunicado emitido pela Anvisa, foram realizados testes prévio, em que esses produtos apresentaram ingredientes como, por exemplo, a presença de dimetilamina (DMAA). Esses ingredientes não passaram na avaliação da segurança e poderiam trazer efeitos adversos como hepatotoxicidade, danos cardiovasculares, alterações no sistema nervoso e até levar ao óbito (BRASIL, 2012).

Ainda, de acordo com Viana e colaboradores (2015), em consequência das facilidades de compra em países fronteiriços com o Brasil, como o Uruguai e Paraguai, somado ao forte apelo comercial, muitos consumidores procuram por produtos que contenham DMAA declarado no rótulo. Mesmo sabendo dos riscos, eles buscam obter efeitos visíveis a curto prazo. Além do mais, sua procura é justificada por ser um estimulante relacionado com a perda de peso e no auxílio do rendimento atlético (BRASIL, 2012). Outrossim, a agência regulatória brasileira permite a importação por pessoas físicas de suplementos alimentares para o uso próprio, desde que eles não contenham substâncias proibidas (como o DMAA e efedrina) ou estar sujeito a controle especial no país (BRASIL, 2012). Mesmo depois de uma ação fiscal da agência americana FDA, proibindo a produção de produtos que apresentavam DMAA em composição, ainda é possível encontrar alguns suplementos em outros países contendo essa substância (FDA, 2013). A fim de buscar novos clientes, muitos comerciantes aproveitam algumas brechas nas legislações, importando produtos que contenham substâncias ilegais no Brasil. No momento em que recebem esses suplementos, os importadores, ao traduzirem a composição dos ingredientes no rótulo, acabam por retirar aqueles componentes que não são permitidos.

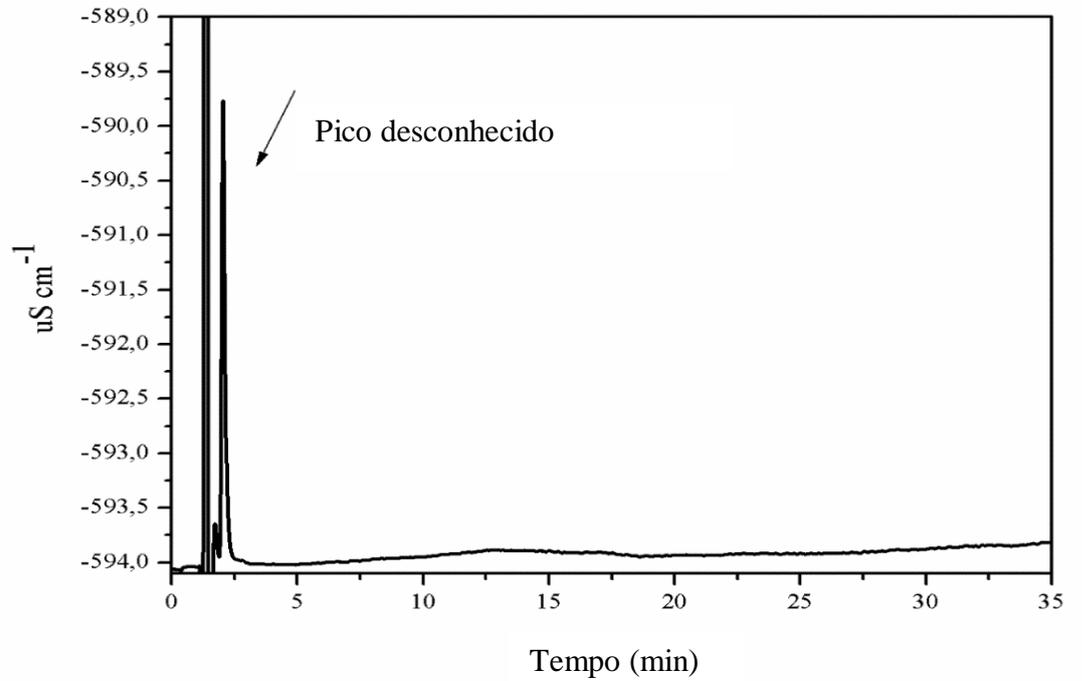
A dificuldade para controlar os adulterantes não é restrita apenas ao DMAA, mas também a outros compostos presentes ilegalmente nos suplementos alimentares, como substâncias com finalidade terapêutica. A Anvisa (BRASIL, 2012; BRASIL, 2015) já emitiu comunicados alertando os consumidores sobre a presença de fármacos como a sibutramina e a fenolftaleína em suplementos alimentares e o risco associado a essas substâncias. Além do mais, a agência regulatória enfatiza que, de acordo com as Regras Básicas dos Alimentos, estão excluídos dessa categoria os produtos alimentícios com fármacos ou que contenham finalidade terapêutica, qualquer que seja sua forma de apresentação.

4.3 APLICAÇÃO DO MÉTODO NAS AMOSTRAS DE SUPLEMENTOS ALIMENTARES

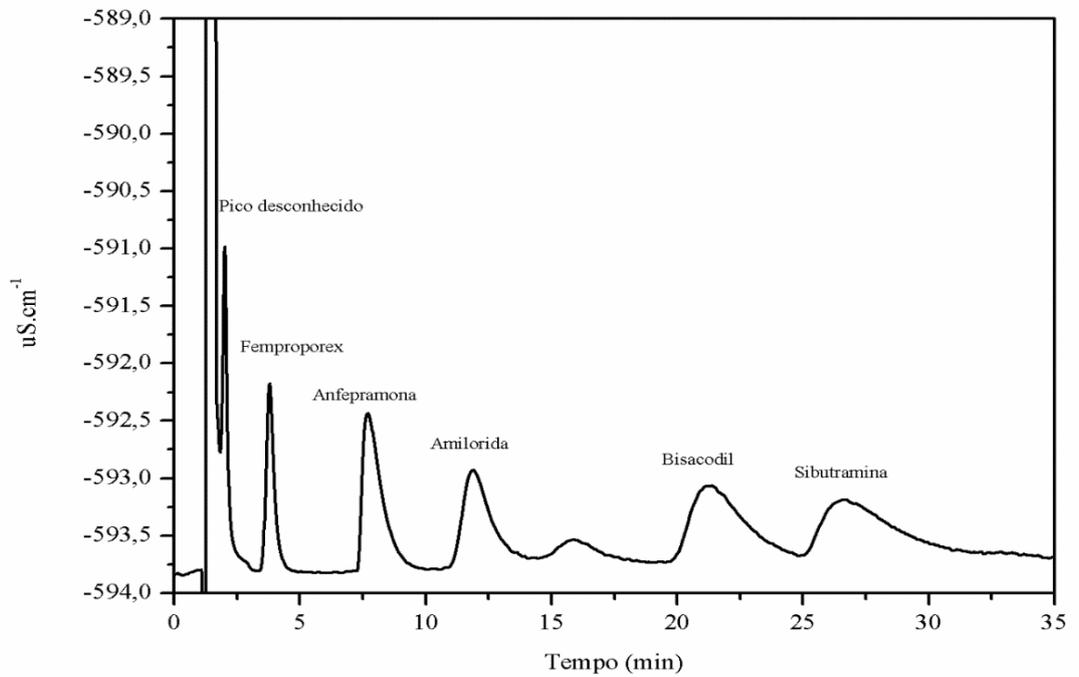
O método proposto foi aplicado em 78 amostras sólidas adquiridas de lojas virtuais brasileiros. Foram utilizadas palavras-chaves como “suplementos alimentares” e “suplemento para perda de peso” para a pesquisa dos produtos. Primeiramente, ao serem recebidas, as amostras eram registradas com um código de análise e então estocadas em temperatura ambiente protegidas da umidade, para análise posterior. Antes das injeções foi realizado um tratamento prévio, no qual as amostras foram dissolvidas em metanol, filtradas e sonicadas como feito para as soluções padrões. Em seguida, todas as amostras foram injetadas no sistema a fim de investigar os sinais cromatográficos da matriz. De acordo com a Figura 12, é possível afirmar que as matrizes das amostras não ocasionavam interferências no método. Por conseguinte, o método foi aplicado para o *screening* de possíveis adulterantes. Quando uma amostra apresentava sinais suspeitos de adulteração, era realizada a adição de padrão a fim de avaliar a possível presença do analito.

Figura 12 - Amostra diluída 200 vezes sem adição de padrões (a) e com adição de padrão (b), com a presença de um pico desconhecido.

(a)



(b)



Das 78 amostras analisadas, duas apresentaram sinais suspeitos de adulteração, visto que os tempos de retenção e o formato dos picos cromatográficos dos suplementos foram compatíveis com o dos padrões de sibutramina e bisacodil (Figura 13, 14). A Tabela 12 demonstra a composição, as declarações afirmadas no rótulo e a concentração de adulterante encontrado nas amostras.

Figura 13 - Cromatograma da amostra "A" com pico sugestivo de presença de sibutramina. Condições cromatográficas: fase móvel 1,8 mM HNO₃ e 2% de acetonitrila, coluna Metrosep C4 100/4.0, fluxo 0,9 mL.min⁻¹ e volume de injeção de 20 µL.

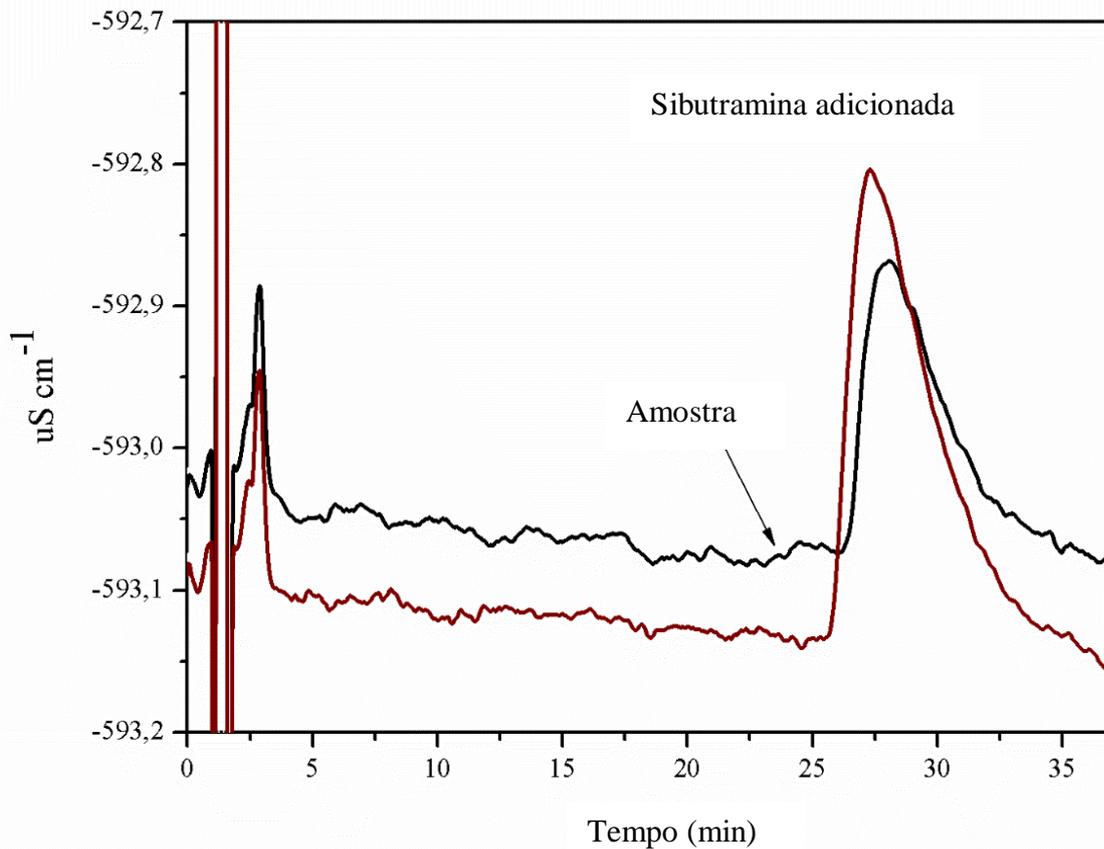
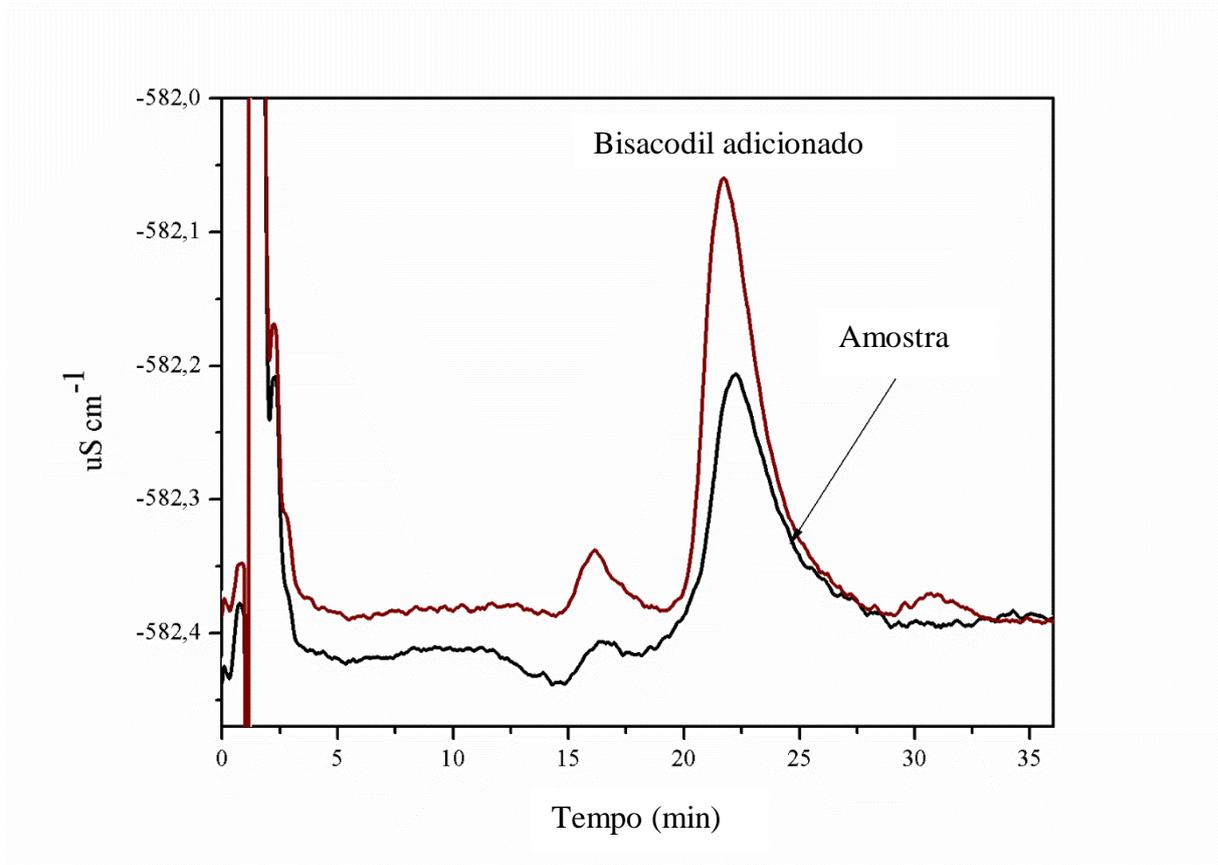


Figura 14 - Cromatograma da amostra "B" com pico sugestivo de presença de bisacodil. Condições cromatográficas: fase móvel 1,8 mM HNO₃ e 2% de acetonitrila, coluna Metrosep C4 100/4.0, fluxo 0,9 mL.min⁻¹ e volume de injeção de 20 µL



Conforme as normas técnicas para a determinação de adulterantes, é necessário a confirmação da presença destes fármacos através da análise por outra metodologia analítica, e então promover a proibição de venda destes produtos. Contudo, a suspeita da presença deles, já é suficiente para suspensão de venda dos suplementos alimentares até a confirmação de segurança por parte dos fabricantes e das agências regulatórias. Além do mais, tanto para a sibutramina quanto para o bisacodil, as concentrações encontradas estavam dentro dos parâmetros de LOD e LOQ validados no método, enfatizando ainda mais a necessidade de maiores investigações quanto a presença destas substâncias.

Tabela 12 - Tabela representativa das amostras suspeitas de adulteração, sua composição e a concentração de adulterantes encontrada e suas doses diárias recomendadas.

Amostra	Composição	Local de fabricação	Possível adulterante	Possível concentração (dose \pm desvio padrão)	Indicação de uso	Dose diária recomendada pela Anvisa
A	Cafeína anidra em cápsulas	Brasil	Sibutramina	$9,877 \pm 0,05 \text{ mg.g}^{-1}$	2 tabletes ao dia	15 mg por dia ^a
B	Quitosana, compostos de laranja, psillium, vitamina C e cromo em cápsula	Brasil	Bisacodil	$8,976 \pm 0,01 \text{ mg.9g}^{-1}$	5 cápsulas por dia	10 mg por dia ^b

Fonte:

^a ANVISA (2011b).

^b ANVISA (2013).

Ainda, levando em consideração as indicações de uso para cada amostra, os fármacos eram equivalentes ou superiores a dosagem máxima indicada, acentuando os riscos da adulteração deliberada. Além do mais, sabe-se que tanto a sibutramina quanto o bisacodil apresentam efeitos colaterais graves; o primeiro pode acentuar perigosamente os problemas cardiovasculares e pode causar alterações no sistema nervoso central; enquanto que o segundo pode induzir a dependência psicológica, desidratação e perda grave de eletrólitos. O abuso dessas drogas sem um controle médico adequado é extremamente danoso e pode levar a efeitos irreversíveis no organismo.

Outra situação que agrava a adulteração com esses fármacos são riscos das interações medicamentosas. Sabe-se que o uso de sibutramina está diretamente associado à hipertensão e taquicardia (BRASIL, 2011b). Sua associação à cafeína aumenta consideravelmente os riscos de infarto agudo do miocárdio e AVC. Além do mais, há estudos que comprovem que quando administrados concomitantemente, a cafeína e a sibutramina podem agravar os sintomas de hipertireoidismo e levar a intoxicação tireoidiana (CHAN, 2009; POON et al., 2008). Para o caso da amostra “B” que apresentou em seu rótulo quitosana e cromo, dois compostos que aumentam a motilidade intestinal (ZEMOLIN, 2014), quando associados ao bisacodil, podem provocar graves diarreias, com desidratação e perda de eletrólitos.

5 CONCLUSÃO

A popularização dos suplementos alimentares entre os praticantes de atividade física, e o forte apelo de que promovem efeitos mais rápidos a curto prazo, tem contribuído para o uso abusivo destes produtos sem controle médico. Além do mais, muitos fabricantes tem a intenção de promover aos consumidores a falsa imagem de que o produto realmente funciona. Em consequência disso, a adulteração deliberada vem crescendo mundialmente, tornando-se um grave problema de saúde pública. Consequentemente, tem se a necessidade do desenvolvimento de novas metodologias analíticas de fácil acesso e baixo custo que promovam uma investigação rápida e confiável para, então, a liberação dos suplementos alimentares no mercado.

A regulamentação de suplementos alimentares no Brasil é confusa e fragmentada, o que favorece fraudulências nesses produtos. Outro fator preocupante é a falta de fiscalização dos *websites* brasileiros a comercialização de suplementos que contenham substâncias muitas vezes proibidas, ou que não são autorizadas no Brasil. Durante a amostragem realizada para o desenvolvimento deste trabalho, observou-se erros quanto aos apelos comerciais dos produtos, induzindo o consumidor a aquisição e consumo destes produtos. Além do mais, foram analisadas informações fornecidas pelos fabricantes nos rótulos. Das 94 amostras adquiridas, 31 suplementos apresentavam erros quanto a regulamentação especificada e 25 declaravam a presença de ingredientes que não poderiam ser adicionados à formulação. Durante a aquisição dos suplementos, foram adquiridos dois produtos que apresentavam a comercialização proibida pela Anvisa devido à presença comprovada de DMAA. Outros problemas em relação a comercialização também foram observados, como a aquisição de medicamentos fitoterápicos através da internet, cuja dispensação deve ocorrer exclusivamente em farmácias comerciais ou magistrais.

O método de *screening* proposto provou ser eficiente, seletivo e específico para a investigação das classes de fármacos mais comumente utilizadas como o adulterantes, os anorexígenos (anfeparamona, femproporex e sibutramina), diurético (amilorida) e laxante (bisacodil). Ainda, das 94 amostras adquiridas, foram estudadas 78 amostras sólidas. Destas, duas apresentaram possíveis adulterantes, sibutramina e bisacodil. A adulteração é preocupante pelos fármacos apresentarem sérios efeitos colaterais, muitas vezes danosos ao organismo, devendo obrigatoriamente serem administrados junto com um acompanhamento médico. Mesmo que apenas um método de análise não seja determinante para a confirmação

de adulteração, a suspeita da presença desses fármacos serve como alerta para a população e as agências regulatórias de suplementos alimentares.

Para inibir a ação dos fabricantes quanto a adulteração deliberada, contaminação e fraudes contra o consumidor, tem se a necessidade de uma legislação específica para o suplementos alimentares, a fim de estabelecer testes pré-mercado quanto a sua segurança e composição. Além do mais, por se tratarem de produtos indicados somente para atletas, é essencial que os consumidores estejam cientes quanto aos riscos à saúde relacionados ao consumo abusivo desses produtos sem o acompanhamento de um profissional adequado.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACAD – **Associação Brasileira de Academias**. Rio de Janeiro, 2004. Disponível em: <http://www.acadbrasil.com.br/artigos/artigos_mercado_01.htm>. Acesso em: 25 de outubro de 2015.
- ALVES; C.; LIMA, R. V. B. Dietary supplements use by adolescents. **Jornal de Pediatria**, v. 85, n. 4, p. 287-294, 2009.
- AOAC. Guidelines for dietary supplements and botanicals. AOAC Official methods: Appendix K, p. 32, 2013.
- BELL, A. et al. A look at nutritional supplements use in adolescents. **Journal of Adolescent Health**, v. 34, p. 508-516, 2004.
- BRASIL. Decreto-Lei nº 986, de 21 de outubro de 1969. Institui normas básicas sobre alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 21 de out. de 1969. Disponível em: <<http://www2.camara.leg.br/legin/fed/declei/1960-1969/decreto-lei-986-21-outubro-1969-377556-publicacaooriginal-1-pe.html>>. Acesso em 19 de jan. de 2016.
- BRASIL. Portaria nº 32, de 13 de janeiro de 1998. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Suplementos Vitamínicos e ou de Minerais. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 13 de jan. 1998.
- BRASIL. Resolução nº 16, de 30 de abril de 1999. Aprova o regulamento técnico de procedimentos para registro de Alimentos e Novos ingredientes, constante do anexo desta Portaria. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 30 de abr. 1999(a).
- BRASIL. Resolução nº 18, de 19 de novembro de 1999. Regulamento técnico que estabelece as diretrizes para análise e comprovação de propriedade funcionais e ou se saúde alegadas em rotulagem de alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 19 de nov. 1999(b).
- BRASIL. Resolução nº 22, de 15 de março de 2000. Dispõe sobre os Procedimentos Básicos de Registro e Dispensa da Obrigatoriedade de Registro de Produtos Importados Pertinentes à Área de Alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 16 mar. 2000.
- BRASIL. Resolução RDC nº 2, de 07 de janeiro de 2002. Aprova o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedade Funcional e ou Saúde. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 07 de jan. de 2002(a).
- BRASIL. Resolução nº 571, de 8 de abril de 2002. Suspensão de fabricação e venda de medicamentos contendo fenolftaleína. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 08 abr. 2002. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2002/571_02re.htm>. Acesso em: 18 out. 2014(b).

BRASIL. Resolução nº 132, de 29 de maio de 2003. Institui a categoria de registro de medicamentos específicos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 29 de maio de 2003.

BRASIL. Portaria nº 269, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteínas, vitaminas e minerais. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 22 de setembro de 2005.

BRASIL. Resolução RDC nº 18 de 27 de abril de 2010. Dispõe sobre alimentos para atletas. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 30 de abril de 2010 (a).

BRASIL. Resolução RDC nº 27 de 6 de agosto de 2010. Dispõe sobre as categorias de alimentos e embalagens isentos e com obrigatoriedade de registro sanitário. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 10 de agosto de 2010 (b).

BRASIL, ANVISA. Eficácia e segurança dos medicamentos inibidores de apetite. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Brasília, DF, 23 de fev. 2011(a). Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/hotsite/anorexigenos/pdf/Nota_Tecnica_Anorexigenos.pdf>. Acesso em: 25 de jan. de 2016.

BRASIL, ANVISA. Bula Amilorid. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Brasília, DF, 22 de ago. 2011(b). Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=7929702013&pIdAnexo=1796005>. Acesso em: 25 de jan. 2016.

BRASIL, ANVISA. Anvisa alerta risco de consumo de suplemento alimentar. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, DF, 10 jul. 2012. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/anvisa+portal/anvisa/sala+de+imprensa/assunto+de+interesse/noticias/anvisa+alerta+para+risco+de+consumo+de+suplemento+alimentar%20>>. Acesso em: 18 dez. 2015.

BRASIL, ANVISA. Bula Ducolax. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Brasília, DF, 14 mar. 2013. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=2802132013&pIdAnexo=1566809>. Acesso em: 25 jan. 2016.

BRASIL. Resolução nº 729 - 748, de 14 de fevereiro de 2014. Proibir a distribuição e a comercialização, em todo território nacional de suplementos alimentares. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 28 fev. 2014(a). Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Alimentos/Assuntos+de+Interesse/Acoes+Fiscais/Proibicoes/Ano+2014>>. Acesso em: 18 dez. 2015.

BRASIL. RE n. 1.206, de 1 de abril de 2014. Proibir a distribuição e a comercialização, em todo território nacional, do lote 02060513 do produto Suplemento Protéico para Atletas sabor Chocolate Brigadeiro, marca Body 100% Whey -Body Nutry, data de validade: 15/05/2015 **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 3 abr. 2014(b). Disponível em:

<<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Alimentos/Assuntos+de+Interesse/Acoes+Fiscais/Proibicoes/Ano+2014>>. Acesso em: 18 out. 2015.

BRASIL. RE n. 1.207, de 1 de abril de 2014. Proibir a distribuição e a comercialização, em todo território nacional, do lote 0032221 do produto Suplemento Protéico para Atletas Sabor Baunilha, marca Super Whey 100% Pure – IntegralMedica, data de validade: 1º/3/2015.

Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 3 abr. 2014(c).

Disponível em:

<<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Alimentos/Assuntos+de+Interesse/Acoes+Fiscais/Proibicoes/Ano+2014>>. Acesso em: 18 out. 2015.

BRASIL. RE n. 1.367, de 11 de abril de 2014. Proibir a distribuição e a comercialização, em todo território nacional, do lote L29 do produto Suplemento Protéico para Atletas sabor Morango e Banana, marca Whey Protein Optimazer -Cyberform, data de validade: 12/08/2015. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, DF, 11 abr. 2014(d).

Disponível em:

<<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Alimentos/Assuntos+de+Interesse/Acoes+Fiscais/Proibicoes/Ano+2014>>. Acesso em: 18 out. 2015.

BRASIL. Resolução nº 26, de 13 de maio de 2014. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e registro e notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 13 de maio de 2014(e)

BRASIL. RE n. 2.708, de 24 de julho de 2014. Proibir a distribuição e a comercialização, em todo território nacional, do lote 003522 2 (Val.: 04/2015) do produto SUPLEMENTO PROTEÍCO PARA ATLETAS SABOR BAUNILHA, marca – SUPER WHEY 3W INTEGRALMÉDICA. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 25 jul. 2014(f). Disponível em:

<<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Alimentos/Assuntos+de+Interesse/Acoes+Fiscais/Proibicoes/Ano+2014>>. Acesso em: 18 out. 2015.

BRASIL, Projeto de Lei do Senado nº 233, de 2014. Dispõe sobre os suplementos alimentares nutricionais. **Congresso Nacional**, Brasília, DF, 16 jul. 2014(g). Disponível em:

<<http://www.senado.leg.br/atividade/materia/getPDF.asp?t=153032&tp=1>>. Acesso em: 18 out. 2015.

BRASIL, RDC nº 50, de 25 de setembro de 2014. Anvisa aprova novo regulamento técnico para anorexígenos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 26 set. 2014(h). Disponível em:

<<http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=26/09/2014&jornal=1&pagina=66&totalArquivos=240>>. Acesso em: 21 out. 2014.

BRASIL, Anvisa. Esclarecimento: tempo máximo de tratamento que as receitas contendo medicamentos à base de sibutramina podem conter. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, DF, 7 de jul. 2015. Disponível em:

<<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/anvisa+portal/anvisa/Inicio/medicamentos/publicacao+medicamentos/esclarecimento+tempo+mximo+de+tratamento+que+as+receitas+contendo+medicamentos+base+de+sibutramina+podem+conter>>. Acesso em: 25 de jan. 2016.

CALFEE, R.; FADALE, P. Popular ergogenic drugs and supplements in young athletes. **Pediatrics**, v. 117, p. 577-589, 2006.

CARVALHO, T. et al. Modificações dietéticas, reposição hídrica, suplementos alimentares e drogas: comprovação de ação ergogênica e potenciais riscos à saúde. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 9, n.2, mar.-abr. 2003.

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

CARVALHO, L. M. et. al. A new approach to determining pharmacologic adulteration of herbal weight loss products. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 29, n. 11, p. 1661 – 1667, nov. 2012.

CHAMPAGNE, A. B.; EMMEL, K. V. Rapid screening test of adulteration in raw materials of dietary supplements. **Vibrational Spectroscopy**, v. 55, p. 216-223, 2011.

CHAN, T. Y. K. Potential risks associated with the use of herbal anti-obesity products. **Drug Safety**, v. 32, n. 6, p. 453-456, 2009.

CHEN, Q. et al. Simultaneous determination of caffeine, theobromine and theophylline in foods and pharmaceutical preparations by using ion chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v. 137, p. 287-296, 1998

CHEN, Y. et al. Determination of synthetic drugs used to adulterate botanical dietary supplements using QTRAP LC/MS. **Food Additives and Contaminants**, v. 26, n. 5, p. 595-603, 2009.

CHO, S. H. et al. Determination of anabolic-androgenic steroid adulterants in counterfeit drugs by UPLC MS/MS. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 111, p. 138-146, 2015.

CIANCHINO, V. et al. Analysis of potential adulteration in herbal medicines and dietary supplements for the weight control by capillary electrophoresis. **Food Chemistry**, v. 108, p. 1075-1081, 2008.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Introdução a métodos cromatográficos**. 7 ed. Campinas: Editora da UNICAMP, 1997.

COLLINS, C. Cem anos das palavras cromatografia e cromatograma. **Química Nova**, v. 29, n.4, p. 889-890, 2006.

COLLINS, C. Alguns antecedentes da cromatografia por troca iônica. **Scientia Chromatographica**, v. 2, n.3, p. 13-17, 2010.

CONFED – Conselho Federal de Educação Física. **Brasil é o 2º país do mundo em número de academias**. 2015. Disponível em: <<http://www.confef.org.br/extra/clipping/view.asp?id=4>>. Acesso em: 25 de outubro de 2015.

CORREIA, D. **Determinação voltamétrica de 1,4-benzodiazepínicos e dietilpropiona como adulterantes em fitoterápicos para emagrecimento**. Dissertação de mestrado, Departamento de Pós Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Maria, 2008.

CSUPOR, D. et al. Rapid identification of sibutramine in dietary supplements using a stepwise approach. **Pharmazie**, v. 68, n. 1, p. 15-18, 2013.

DECONINCK, E. et al. Detection of sibutramine in adulterated dietary supplement using attenuated total reflectance-infrared spectroscopy. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis** v, 100, p. 279 – 283, 2014.

DECONINCK, E. et al. Development of stationary phase optimized selectivity liquid chromatography based screening method for adulterants of food supplements for the treatment of pain. **Talanta**, v. 138, p. 240-246, 2015.

DING, M. et al. Synthesis of core-shell magnetic molecularly imprinted polymers and detection of sildenafil and vardenafil in herbal dietary supplements. **Journal of Hazardous Materials**, vol. 191, p. 177–183, 2011.

DOMINGUES, S. F., MARINS, J. C. B. Utilização de recursos ergogênicos e suplementos alimentares por praticantes de musculação em Belo Horizonte – MG. **Fitness & Performance**, v. 6, n. 4, p. 219-226, 2007.

DUNN, J. D. et al. Using a portable ion mobility spectrometer to screen dietary supplements for sibutramine. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 54, p. 469-474, 2011.

DUNN, J. D. et al. Qualitative screening for adulterants in weight-loss supplements by ion mobility spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 71, p. 18 – 26, 2012.

EC, European Parliament and European Council. Regulation 178/2002 of the European Parliament and of the Council of 28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European food safety authority and laying down procedures in matters of food safety. **Off. J. Eur. Comm.** L31, 1-24, 2002.

EC, European Parliament and European Council. Directive 2004/27/EC of the European Parliament and of the Council of 31 March 2004 amending Directive 2001/83/EC on the community code relating to medicinal products for human use. **Off. J. Eur. Comm.** L136, 34e57, 2004.

EUROMONITOR, 2015. **Vitamins and Dietary supplements in Brazil**. Disponível em: <<http://www.euromonitor.com/vitamins-and-dietary-supplements-in-brazil/report> > Acesso em 16 de dezembro de 2015.

FEKETE, S. et al. Method development for the separation of monoclonal antibody charge variants in cation exchange chromatography, Part II: pH gradient approach. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 102, p. 282-289, 2015.

FLESHNER, N. et al. Evidence for contamination of herbal erectile dysfunction products with phosphodiesterase type 5 inhibitors. **The Journal of Urology**, vol. 174, p. 636–641, 2006.

GAHCHE, M. P. H. et al. Dietary Supplement Use Among U.S. Adults has Increased Since NHANES II (1988-1994). **NCHS Data Brief**, n. 61, apr. 2011.

GLISSON, J. K.; WALKER, L. A. How physicians should evaluated dietary supplements. **The American Journal of Medicine**, v. 123, n. 7, July 2010.

GÖKER, H.; COSKUN, M.; ALP, M. Isolation and identification of a new acetildenafil analogue used to adulterate a dietary supplement: dimethylacetildenafil. **Turkish Journal of Chemistry**, Turquia, v. 34, p. 157-163, 2010.

GOSTON, J. L.; CORREIA, M. I. T. D. Intake of nutritional supplements among people exercising in gyms and influencing factors. **Nutrition**, v. 26, p. 604-611, 2010.

GRYNIEWICZ, C. M. et al. Detection of undeclared erectile dysfunction drugs and analogues in dietary supplements by ion mobility spectrometer. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 49, p. 601-606, 2009.

GUO, C. et al. Simultaneous identification, confirmation and quantification of illegal adulterated antidiabetes in herbal medicines and dietary supplements using high-resolution benchtop quadrupole-Orbitrap mass spectrometry. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Science**, v. 967, p. 174-182, 2014.

HALL, R. E., et al. Ion chromatographic method for rapid and quantitative determination of tromethamine. **Journal of Chromatography A**, v. 718, p. 305-308, 1995.

HALLAK, A.; FABRINI, S.; PELUZIO M. do C. G. Avaliação do consumo de suplementos nutricionais em academias da zona sul de Belo Horizonte, MG. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v.1, n. 2, p. 55-60, Mar/Abr 2007.

HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa**. 8. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2012, 898 p.

HEIDBREDER, C. A. et al. Development and application of a sensitive high performance ion-exchange chromatography method for the simultaneous measurement of dopamine, 5-hydroxytryptamine and norepinephrine in microdialysates from de rat brain. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 112, p. 135-144, 2001.

HUANG, Z. et al. Simultaneous determination of sibutramine and N-di-desmethylsibutramine in dietary supplements for weight control by HPLC-ESI-MS. **Journal of Chromatographic Science**, v. 46, set. 2008.

HUANG, Y. C. et al. Separation and identification of a novel tadalafil analogue adulterant in dietary supplement. **Food Additives and Contaminants: Part A**, p. 1-7, 26 Dec. 2015.

JAMES, W. P. T. et al. Effect of sibutramine on cardiovascular outcome in overweight and obese subjects. **The New England Journal of Medicine**, v. 363, n. 10, set. 2010.

JEFFERS, A. J.; BENOTSCH, E. G. Non-medical use of prescription stimulants for weight loss, disordered eating, and body image. **Eating Behaviors**, v. 15, p. 414-418, 2014.

JENKE, D. Application of ion chromatography in pharmaceutical and drug analysis. **Journal of Chromatographic Science**, v. 49, Aug. 2011.

KALEMULLAH, T. et al. Sensitive ion chromatographic determination of citrate and formate in pharmaceuticals. **Rasayan Journal of Chemistry**, v. 4, n.4, 2011.

KATZUNG, B. G.; MASTERS, S. B; TREVOR, A. J. **Farmacologia Básica e Clínica**. 12. ed. Porto Alegre: AMGH, 2014, 1202 p.

KIM, S. H. et al. Simultaneous determination of anti-diabetes/anti-obesity drugs by LC/PDA, and targeted analysis of sibutramine analog in dietary supplements by LC/MS/MS. **Biomedical Chromatography**, v. 23, p. 1259-1265, 2009.

KOTHAPALLI, P. K. S. R. et al. Simple and sensitive stability-indicating ion chromatography method for the determination of cyclopropylamine in nevirapine and moxifloxacin hydrochloride drug substances. **Scientia Pharmaceutica**, v. 80, p.77-87, 2012.

KUMAR, M. et al. Stability indicating ion chromatographic method for the simultaneous determination of ibandronate sodium drug substance and its impurities. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 54, p.596-601, 2011.

LAU, O.; MOK, C. High-performance liquid chromatographic determination of active ingredients in cough-cold syrups with indirect conductometric detection. **Journal of Chromatography A**, v. 693, p. 45-54, 1995.

LAU, O.; MOK, C. High –performance liquid chromatographic determination of atropine and atropine-like alkaloids in pharmaceutical preparations with indirect conductometric detection. **Journal of Chromatography A**, v. 766, p. 270-276, 1997

LAW, B; APPLEBY, J. R. G. Re-evaluation of strong cation-exchange high performance liquid chromatography for the analysis of basic drugs. **Journal of Chromatography A**, v. 725, p. 335-341, 1996.

LEDOUX, M A. et al. A quality dietary supplement: before you start and after it's marketed – a conference report. **European Journal of Nutritional**, v. 54, S1-S8, 2015.

LI, N. A rapid and reliable UPLC-MS/MS method for the identification and quantification o fourteen synthetic anti-diabetic drugs in adulterated Chinese proprietary medicines and dietary supplements. **Biomedical Chromatography**, v. 24, n. 11, p. 1255-1260, 2010.

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

LU, Y. L. et al. Detection of adulteration of anti-hypertension dietary supplements and traditional Chinese medicines with synthetic drugs using LC/MS. **Food Additives and Contaminants**, v. 27, n. 7, p. 893-902, Jul. 2010.

LV, D. et al. Rapid on-site detection of ephedrine and its analogues used as adulterants slimming dietary supplements by TLC-SERS. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 5, p. 1313-1325, 2015.

MATHON, C. et al. Screening and determination of sibutramine in adulterated herbal slimming supplements by HPTLC-UV densiometry. **Food Additives and Contaminants: Part A**, v. 31, n. 1, 2013.

MAUGHAM, R.J.; KING, D. S.; LEA, T. Dietary supplements. **Journal of Sports Sciences**, v. 22, p. 95-113, 2004.

METROHM. **Práticas em Cromatografia de íons**. 2ª edição, 2006.

MIRZA, T.; TAN, H. S. I. Determination of captopril in pharmaceutical tablets by anion-exchange HPLC using indirect photometric detection: a study in systematic method development. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 25, p. 39-45, 2001

MOREIRA, A. P. L. et al. Determination of diuretics and laxatives as adulterants in herbal formulations for weight loss. **Food Additives and Contaminants**, v. 30, p.1230-1237, 2013.

MOREIRA, A. P. L.; MARTINI, M.; CARVALHO, L. M. Capillary electrophoresis methods for the screening and determination of pharmacologic adulterants in herbal-based pharmaceutical formulations. **Electrophoresis**, v. 35, p. 3212-3230, 2014.

MUSTAZZA, C. et al. Characterization of sildenafil analogs by MS/MS and NMR: A guidance for detection and structure elucidation of phosphodiesterase-5 inhibitors. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 96, p. 170-186, 2014.

NEVES, D. B. da J.; CALDAS, E. D. Dietary supplements: international legal framework and adulteration profiles, and characteristics of products on the Brazilian clandestine market. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 73, p. 93-105, 2015.

PETRÓCZI, A. et al. Nutritional supplement use by elite young UK athletes: fallacies of advice regarding efficacy. **Journal of the International Society of Sports and Nutrition**, v. 5, n. 22, 2008.

PETRÓCZI, A.; TAYLOR G.; NAUGHTON, D. P. Mission impossible? Regulatory and enforcement issues to ensure safety of dietary supplements. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, p. 393-402, 2011.

POON, W. T. et al. Factitious thyrotoxicosis and herbal dietary supplement for weight reduction. **Clinical Toxicology**, v. 46, p. 209-292, 2008.

PORTUGAL, FARMACOPÉIA PORTUGUESA VII. 7ª edição. **Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento**: Lisboa, 2002

RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

ROCHA, T.; AMARAL, J. S.; OLVEIRA, B. P. P. Adulteration of dietary supplements by the illegal addition of synthetic drugs: A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, 2016.

ROCHELAU, M-J. Analytical Methods for Determination of Counter-ions in Pharmaceutical Salts. **Current Pharmaceutical Analysis**, v. 4, p. 25-32, 2008.

SBME – Sociedade Brasileira de Medicina do Exercício e do Esporte. Modificações dietéticas, reposição hídrica, suplementos alimentares e drogas: comprovação da ação ergo gênica e potenciais riscos para a saúde. **Revista Brasileira Medicina do Esporte**, vol. 9, n° 2 Março/Abril, 2003.

SCOFIELD, D. E.; UNRUH, S. Dietary supplements use among adolescent athletes in central Nebraska and their sources of information. **Journal of Strength and Conditional Research**, v. 20, p. 452-455, 2006.

SHEN, S. et al. Determination of beta2-agonists by ion chromatography with direct conductivity detection. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 38, p. 166-172, 2005.

SHI, Y. et al. Development of a liquid chromatography tandem mass spectrometry method for simultaneous determination of eight adulterants in slimming food supplements. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 42, p. 7655-7662, 2011.

SILVA, P. **Farmacologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

SINGH, S. et al. Strategies for characterizing sildenafil, vardenafil, tadalafil and their analogues in herbal dietary supplements, and detecting counterfeit products containing these drugs. **Trends in Analytical Chemistry**, vol. 28, n° 1, 2009.

SKOOG, D. A. **Fundamentos da Química Analítica**. 8. ed. São Paulo: Thomson, 2007.

SMALL, H; STEVENS, T; BAUMAN, W. Novel ion exchange chromatographic method using conductometric detection. **Analytical Chemistry**, v. 47, n. 11, 1975

SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J.; DOLAN, J. W. **Introduction to modern liquid chromatography**. 3 rd ed. United States of America: Wiley, 2010.

SOLTE, S. Ion chromatographic determination of structurally varied ionic liquid cations and anions –a reliable analytical methodology applicable to technical and natural matrices. **Analytical Methods**, v. 3, n. 919, 2011.

SONG, F. et al. Screening of multiple weight loss and related drugs in dietary supplement materials by flow injection tandem mass spectrometry and their confirmation by liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 88, p. 136-143, 2014.

STICKEL, F.; SHOUVAL, D. Hepatotoxicity of herbal and dietary supplements: an update. **Arch Toxicol**, v. 89, p. 851-865, 2015.

TROJANOWICZ, M. Recent developments in electrochemical flow detections – A review Part II. Liquid Chromatography. **Analytical Chimica Acta**, v. 688, p. 8-35, 2011.

USA. Dietary Supplement Health and Education Act, **Estados Unidos da América**. 1994. Disponível em: < https://ods.od.nih.gov/About/DSHEA_Wording.aspx>. Acesso em 19 de jan. de 2016.

USA, Anvisa-FDA – Confidentiality Commitments. United States Food and Drugs Administration, **Estados Unidos da América**. 24 set. 2010. Disponível em: <<http://www.fda.gov/InternationalPrograms/Agreements/ConfidentialityCommitments/ucm228083.htm>>. Acesso em 19 de jan. de 2016.

USA. DMAA in dietary supplements, United States Food and Drugs Administration, **Estados Unidos da América**. 16 jul. 2013. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/DietarySupplements/ProductsIngredients/ucm346576.htm>>. Acesso em 21 de jan. de 2016.

USA, Dietary Supplements. **United States Food and Drugs Administration**, Estados Unidos da América, 22 set. 2014. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/DietarySupplements/>>. Acesso em 18 out. 2015

USA. Recall Dietary Supplements. United States Food and Drugs Administration, **Estados Unidos da América**, 22 set. 2016. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/DietarySupplements/>>. Acesso em 19 de jan. de 2016.

VIANA, C. Liquid chromatographic determination of caffeine and adrenergic stimulants in food supplements sold in Brazil e-commerce for weight loss and physical fitness. **Food Additives and Contaminants: Part A**, 2015.

ZEMOLIN, G. M. **Análise de estimulantes em suplementos alimentares e produtos naturais a base de plantas comercializadas para fins emagrecimento no Brasil**. 2015.115 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2015.

ZHANG, Y. et al. Simultaneous determination of yohimbine, sildenafil, vardenafil and tadalafil in dietary supplements using high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **J. Sep. Sci.** vol. 33, p. 2109–2114, 2010.

ZHANG, G. et al. Separation and structural elucidation of a new tadalafil analogue diethylaminopretadalafil included as an adulterant in dietary supplements. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 94, p. 210-214, 2014

WOO, H. et al. Simultaneous analysis of 17 diuretics in dietary supplements by HPLC and LC-MS/MS. **Food Additives and Contaminants: Part A**, v. 30, n. 2, p. 209-217, 2013.