

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

Ana Paula Lançanova Moreira

**ESTUDO DA ADULTERAÇÃO COM FÁRMACOS DE SUPLEMENTOS
ALIMENTARES PARA EMAGRECIMENTO E AVALIAÇÃO *IN SILICO*
DA INTERAÇÃO FÁRMACO-ALIMENTO ENTRE SIBUTRAMINA E
GRAPEFRUIT**

**Santa Maria, RS
2016**

Ana Paula Lançanova Moreira

ESTUDO DA ADULTERAÇÃO COM FÁRMACOS DE SUPLEMENTOS ALIMENTARES PARA EMAGRECIMENTO E AVALIAÇÃO *IN SILICO* DA INTERAÇÃO FÁRMACO-ALIMENTO ENTRE SIBUTRAMINA E GRAPEFRUIT

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração em Controle de Qualidade e Avaliação Biofarmacêutica de Insumos e Medicamentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de **Doutor em Ciências Farmacêuticas**.

Orientador: Prof. Dr. Leandro Machado de Carvalho

**Santa Maria, RS
2016**

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Lançanova Moreira, Ana Paula

Estudo da adulteração com Fármacos de Suplementos Alimentares para Emagrecimento e Avaliação in silico da Interação Fármaco-Alimento entre a Sibutramina e o Grapefruit / Ana Paula Lançanova Moreira.- 2016.
155 f.; 30 cm

Orientador: Leandro Machado de Carvalho
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, RS, 2016

1. Adulteração 2. Suplementos Alimentares 3. Interação Medicamentosa I. Machado de Carvalho, Leandro II. Título.

Ana Paula Lançanova Moreira

ESTUDO DA ADULTERAÇÃO COM FÁRMACOS DE SUPLEMENTOS ALIMENTARES PARA EMAGRECIMENTO E AVALIAÇÃO *IN SILICO* DA INTERAÇÃO FÁRMACO-ALIMENTO ENTRE SIBUTRAMINA E GRAPEFRUIT

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração em Controle de Qualidade e Avaliação Biofarmacêutica de Insumos e Medicamentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de **Doutor em Ciências Farmacêuticas**.

Aprovado em 22 de Agosto de 2016



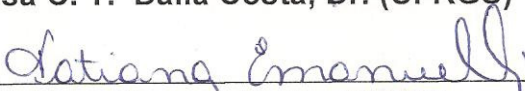
Leandro Machado de Carvalho, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)



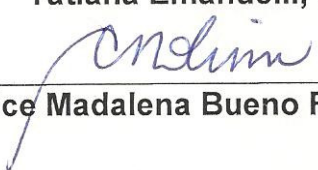
Rosângela Gonçalves Peccinini, Dr. (UNESP)



Teresa C. T. Dalla Costa, Dr. (UFRGS)



Tatiana Emanuelli, Dr. (UFSM)



Clarice Madalena Bueno Rolim, Dr. (UFSM)

Santa Maria, RS
2016

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Leandro Machado de Carvalho, meu orientador, sou grata pela confiança, pelos ensinamentos, pelos desafios, pela amizade e por me manter perseverante ao longo desta trajetória.

Ao Prof. Dr. Hartmut Derendorf, da Universidade da Flórida (FI, EUA), por orientar meu projeto sanduíche e possibilitar que eu abrisse portas que jamais serão fechadas.

À minha família, por ser todo o tipo de suporte na minha vida, pela confiança, e pelo amor incondicional. Por me mostrar que ir atrás dos sonhos é tão importante quanto alcançá-los. Pai, mãe e mana... Amo vocês!

Ao Diogo Pizutti Koller, pela compreensão e apoio em todas as minhas escolhas. Pela tua dedicação, pelo carinho, pela amizade e por teu amor, obrigada!

Às minhas amigas amadas Larissa, Mariele, Géssica, Monique, Luciana e Gabriela. Sou grata por compartilharmos dessa amizade tão especial e sincera. Vocês enchem minha vida de alegria.

Aos meus queridos, Nívea, Alex, Uta, Tobias, Fred e Lauren. Minha "família *brazilian-german-americana*". Obrigada por todo o suporte, cuidado e amizade. Meu carinho por vocês não tem tamanho.

Aos demais professores e colegas do Lachem sou grata pela convivência e parceria ao longo desses anos. Sei que alguns posso não mais encontrar daqui há um tempo, outros talvez a vida me permitirá cruzar mais vezes no caminho, muitos levarei como amigos pra vida mas todos serão lembrados com muito carinho.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram com a realização deste trabalho.

À banca examinadora pela disponibilidade em avaliar este trabalho e por todas as contribuições feitas.

À Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) e ao Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas por permitirem a realização desta tese de doutorado.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudo de doutorado e pela bolsa do Programa Doutorado Sanduíche no Exterior (PDSE).

À Deus, por Sua luz, benção e proteção.

**“Podemos escolher recuar em direção à segurança
ou avançar em direção ao crescimento.
A opção pelo crescimento tem que ser feita repetidas vezes.
E o medo tem que ser superado a cada momento”**

Abraham Maslow

RESUMO

ESTUDO DA ADULTERAÇÃO COM FÁRMACOS DE SUPLEMENTOS ALIMENTARES PARA EMAGRECIMENTO E AVALIAÇÃO *IN SILICO* DA INTERAÇÃO FÁRMACO-ALIMENTO ENTRE SIBUTRAMINA E GRAPEFRUIT

AUTORA: Ana Paula Lançanova Moreira
ORIENTADOR: Prof. Dr. Leandro Machado de Carvalho

Os suplementos alimentares são considerados produtos seguros para o consumo sobretudo porque muitos são de origem natural. Estes produtos vêm sendo cada vez mais utilizados como alternativa na prevenção e tratamento de diversas patologias. No entanto, os suplementos alimentares não são submetidos a exigências rígidas quanto à comprovação de segurança e eficácia, como é exigido para os medicamentos. O que vem sendo observado com o consumo crescente são inúmeros relatos de reações adversas decorrentes do uso desses produtos. Essas reações podem ser resultado, entre outros fatores, da adulteração dessas formulações com fármacos sintéticos ou de interações entre os componentes dessas formulações e outros fármacos. O risco de interações do tipo fármaco-alimento se torna ainda maior com a presença de fármacos não declarados em suplementos alimentares adulterados. Considerando isso, este trabalho propôs o desenvolvimento de um método analítico por LC-MS/MS para a determinação de 33 adulterantes (anorexígenos, estimulantes, diuréticos, laxantes, ansiolíticos e antidepressivos) em suplementos alimentares emagrecedores bem como o desenvolvimento de um modelo farmacocinético baseado na fisiologia (PBPK) utilizando o software Simcyp Simulator para estimar a exposição ao fármaco sibutramina e seus dois metabólitos ativos e avaliar o risco de interação medicamentosa quando administrado concomitantemente com o *grapefruit* no tratamento da obesidade. O método desenvolvido por LC-MS/MS empregou uma fonte de ionização por eletro nebulização (ESI) com aplicação de temperatura de 350 °C para o gás de secagem, fluxo do gás de 10 L min⁻¹, pressão do nebulizador de 30 psi e 2000 V para voltagem do capilar. A separação dos compostos ocorreu em coluna Zorbax (2.1 x 50 mm, 1.8µm) por meio de gradiente com acetonitrila e ácido fórmico 0,05% (v/v) possibilitando a separação de 33 adulterantes em 15 minutos. A extração das amostras foi realizada com metanol em banho ultrassônico por 15 minutos e filtração em membrana hidrofílica 0,2µm. O método foi aplicado em 114 amostras de suplementos alimentares. Cafeína foi o estimulante mais declarado e também o mais detectado nas formulações seguido da sinefrina (*Citrus aurantium*). Entretanto cafeína e sinefrina foram também encontrados como adulterantes em duas formulações que não declaravam conter essas substâncias nem outros compostos contendo cafeína, como chá verde ou guaraná, ou sinefrina, como *C.aurantium*. O modelo farmacocinético PBPK, desenvolvido para a sibutramina e seus metabólitos ativos, empregou um processo de absorção avançada (ADAM), dados do metabolismo *in vitro* da sibutramina obtidos da literatura e dados de estudos clínicos que permitiram aproximar o modelo da exposição ao fármaco *in vivo* aumentando a confiabilidade da predição para os estudos de interação fármaco-alimento. A interação entre sibutramina, um substrato da CYP3A4, com o *grapefruit*, um inibidor competitivo e irreversível desta mesma enzima, ambos com ação emagrecedora, foi avaliada simulando o uso de ambos no tratamento da obesidade. O *grapefruit* provocou um aumento de 25% na exposição à sibutramina o que pode aumentar o efeito terapêutico, mas, sobretudo, potencializar os efeitos adversos deste fármaco, os quais já levaram, inclusive, à retirada da sibutramina do mercado em muitos países. Com base no estudo realizado constatamos que os suplementos alimentares não estão isentos de causar riscos à saúde dos usuários e que, portanto, avaliar a segurança desses produtos deve tornar-se uma questão importante para as agências regulatórias e profissionais da saúde a fim de garantir um tratamento de qualidade e sem maiores riscos aos usuários.

Palavras Chave: Adulteração. Suplemento Alimentar. Interação fármaco-alimento

ABSTRACT

STUDY OF DRUG ADULTERATION IN DIETARY SUPPLEMENTS TO LOSE WEIGHT AND *IN SILICO* EVALUATION OF FOOD-DRUG INTERACTION BETWEEN SIBUTRAMINE AND GRAPEFRUIT

AUTHOR: Ana Paula Lançanova Moreira
ADVISOR: Leandro Machado de Carvalho

Dietary supplements are considered safe products for consumption because many of them are from natural source. The consumption of these products has increased as an alternative in the prevention and treatment of several diseases. However, dietary supplements are not under strict requirements regarding proof of safety and efficacy as it is required for synthetic drugs, and numerous reports of adverse events have been observed with increasing consumption of these products. The reactions can be the result of adulteration with synthetic drugs or drug interactions between components of these formulations and other prescription drugs. The risk of food-drug interactions becomes even greater with the presence of drugs not declared in adulterated dietary supplements. Considering this, this thesis proposed the development of an analytical method by LC-MS / MS for determination of 33 adulterants (anorectics, stimulants, diuretics, laxatives, anxiolytics and antidepressants) in slimming dietary supplements. In addition, it was proposed the development of a physiologically based on pharmacokinetic (PBPK) model by Simcyp Simulator to estimate the pharmacokinetic exposition of sibutramine and its two active metabolites, evaluating the risk of drug-food interactions when administrated simultaneously with *grapefruit* in the treatment of obesity. The method developed by LC-MS / MS employed an electrospray ionization source (ESI) with application of 350 °C of temperature for the drying gas, gas flow rate of 10 L min⁻¹, nebulizer pressure of 30 psi and 2000 V for capillary voltage. The separation of the compounds was in a Zorbax column (2.1 x 50 mm, 1.8µm) in a gradient with acetonitrile and formic acid 0.05% (v/v) allowing the separation of 33 adulterants in 15 minutes. Extraction of samples was performed with methanol in ultrasonic bath during 15 minutes and filtration in hydrophobic membrane 0.2 µm. The method was applied in 114 samples of dietary supplements. Caffeine was the stimulant most frequently declared and detected in the formulations followed by synephrine (*Citrus aurantium*). However, caffeine and synephrine were also found as adulterants in two formulations that did not contain these substances or other compounds containing caffeine such as green tea or guarana, or synephrine as *C.aurantium* declared on the label. The PBPK model, developed for sibutramine and its active metabolites, employed an ADAM absorption process, sibutramine *in vitro* metabolism data and clinical trial data obtained from literature that allowed approaching the model to the *in vivo* drug disposition, improving the prediction for drug-drug interaction studies. The drug-drug interaction between sibutramine, a CYP3A4 substrate, with *grapefruit*, a competitive and irreversible inhibitor of CYP3A4 enzyme, both with slimming action, was evaluated by simulating the simultaneous use in the treatment of obesity. *Grapefruit* increased in 25% the exposure to sibutramine, what can increase the therapeutic effect but above all, can potentiate the adverse effects of this drug, which leded the sibutramine to be withdrawal from the market in many countries. Based on the conducted study we found that dietary supplements are not free of health risks to users. Assessing the safety of these products has become an important issue for the regulatory agencies and health professionals in order to ensure treatment of quality, without increase damage to the users.

Keywords: Adulteration. Dietary Supplements. Drug-drug interaction

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação dos suplementos alimentares de acordo com a legislação sanitária brasileira	26
Tabela 2 - Fármacos aprovados para o tratamento do sobrepeso e da obesidade e a atual situação no mercado	48
Tabela 3 - Métodos analíticos para a determinação de fármacos emagrecedores em suplementos alimentares	67
Tabela 4 - Dados e ferramentas necessários para o desenvolvimento de um estudo <i>in silico</i> empregando modelagem PBPK	81
Tabela 5 – Fármacos emagrecedores e coadjuvantes estudados como adulterantes em suplementos alimentares e suas respectivas estruturas químicas	88
Tabela 6 - Parâmetros de entrada utilizados na simulação para a sibutramina e seus dois metabólicos ativos M1 e M2	95
Tabela 7 – Dados do metabolismo <i>in vitro</i> da sibutramina	96
Tabela 8 – Tempo de retenção e condições da análise por MRM para os adulterantes estudados	99
Tabela 9 – Estudo da supressão com aditivos de fase móvel	104
Tabela 10 – Estudo da supressão/ aumento do sinal por co-eluição de adulterantes	105
Tabela 11 – Dados de validação do método desenvolvido para a determinação dos adulterantes de interesse	107
Tabela 12 – Tempo de retenção e condições da análise por MRM para os interferentes estudados para avaliação da seletividade	108
Tabela 13 - Amostras de suplementos alimentares com a respectiva composição descrita nos rótulos	109
Tabela 14 – Dados preditos e observados pra a exposição à sibutramina (15 mg) sem interação com <i>grapefruit</i> e dados preditos de interação com o <i>grapefruit</i>	130

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Principais fármacos já identificados como adulterantes classificados de acordo com a respectiva classe farmacológica	60
Figura 2 - Aplicações do detector de massas para a análise qualitativa e quantitativa de adulterantes em suplementos alimentares (1997-2014) e as classes farmacológicas listadas na ordem decrescente de casos	66
Figura 3 - Aplicação de modelagem farmacocinética com base na fisiologia (PBPK) e simulação para avaliar o efeito de vários fatores extrínsecos e intrínsecos na exposição e resposta do fármaco	79
Figura 4 – Esquema geral para a introdução de parâmetros dependentes do fármaco no modelo PBPK	81
Figura 5 – Modelo de absorção ADAM (Advanced dissolution, absorption and metabolismo)	96
Figura 6 - Cromatograma de íons totais (TIC) dos adulterantes estudados. (1) Sinefrina, (2) Amilorida, (3) Efedrina, (4) Acetazolamida, (5) Femproporex, (6) Hidroclorotiazida, (7) Anfepriamo, (8) Cafeína, (9) Selegilina, (10) Bupropiona, (11) Clortalidona, (12), Venlafaxina, (13) Clordiazepóxido, (14) Medazepam, (15) Midazolam, (16) Bromazepam, (17) Citalopram, (18) Flurazepam, (19) Furosemida, (20) Paroxetina, (21) Imipramina, (22) Nortriptilina, (23) Amitriptilina, (24) Fenolftaleína, (25) Clonazepam, (26) Fluoxetina, (27) Sibutramina, (28) Sertralina, (29) Lorazepam , (30) Alprazolam, (31) Bisacodil, (32) Diazepam e (33) Espironolactona	100
Figura 7a - Cromatograma dos íons extraídos (MRM) dos adulterantes estudados. (1) Sinefrina, (2) Amilorida, (3) Efedrina, (4) Acetazolamida, (5) Femproporex, (6) Hidroclorotiazida, (7) Anfepriamo, (8) Cafeína e (9) Selegilina	101
Figura 7b - Cromatograma dos íons extraídos (MRM) dos adulterantes estudados. (10) Bupropiona, (11) Clortalidona, (12), Venlafaxina, (13) Clordiazepóxido, (14) Medazepam, (15) Midazolam, (16) Bromazepam, (17) Citalopram, (18) Flurazepam e (19) Furosemida	102
Figura 7c - Cromatograma dos íons extraídos (MRM) dos adulterantes estudados. (20) Paroxetina, (21) Imipramina, (22) Nortriptilina, (23) Amitriptilina, (24) Fenolftaleína, (25) Clonazepam, (26) Fluoxetina, (27) Sibutramina, (28) Sertralina, (29) Lorazepam, (30) Alprazolam, (31) Bisacodil, (32) Diazepam e (33) Espironolactona	103
Figura 8 - Distribuição percentual das amostras de suplementos alimentares de acordo com a função declarada na embalagem	119
Figura 9 - Distribuição percentual das amostras de suplementos alimentares de acordo com os aspectos regulatórios	120
Figura 10 – Cromatograma obtido da análise da amostra 93a com a identificação de cafeína (a), declarada na composição e sinefrina (b), não declarada na composição	124
Figura 11 – Cromatograma obtido da análise da amostra 62a com a identificação de acetazolamida (a), cafeína (b) e sinefrina (c) na composição.....	125
Figura 12 - Distribuição da participação das enzimas CYP no metabolismo da sibtramina	128
Figura 13 – Perfis de concentração plasmática para sibutramina (15	

mg) e seus metabólitos ativos. Sibutramina (● and ○), M1 (■ and □) e M2 (▲ and Δ) para dados preditos e observados, respectivamente	129
Figura 14 – Predição do efeito do <i>grapefruit</i> no perfil farmacocinético da sibutramina (Sib) e de seus metabólitos ativos M1 e M2	131

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ADME – Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção
APCI – Ionização química à pressão atmosférica
APPI – Foto ionização à pressão atmosférica
Anvisa – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASC – Área sob a curva
ASC_i – Área sob a curva na presença do inibidor
B/P – Razão sangue/plasma
BPF – Boas práticas de fabricação
C4D – Detecção por condutividade sem contato
CCD – Cromatografia em camada delgada
CE – Eletroforese capilar
Cl – *Clearance*
Cl_{int} – *Clearance* intrínseco
C_{max} – Concentração máxima
Cl_{po} – *Clearance* oral aparente
CV – Coeficiente de variação
CYP450 – Enzimas do citocromo P450
CZE – Eletroforese capilar de zona
DAD – Detector de arranjo de diodos
DC – Detector de condutividade
DHB – 6',7'- Dihidroxierygamotina
DMA - Dimetilamina
DPR – Desvio padrão relativo
DSHEA – Dietary Supplement Health and Education Act
EMA – European Medicine Agency
ESI – Ionização por eletro nebulização
EUA – Estados Unidos da América
F – Biodisponibilidade
f_a – Fração absorvida
FDA – Food and Drug Administration
FDCA – Food, Drug and Cosmetic Administration
fg – Biodisponibilidade intestinal
f_u – Fração não ligada às proteínas plasmáticas
f_{u gut} – Fração livre dentro do enterócito
f_{u inc} – Fração não ligada na incubação microsomal
GC – Cromatografia gasosa
HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência
HPCE – Eletroforese capilar de alta eficiência
IMC – Índice de massa corporal
IT – Armadilha de íons
IV – Infravermelho
K_a – Constante de absorção
K_{deg} – Constante de degradação
K_i – Constante de inibição
K_i – Constante de inibição irreversível
K_{inact} – Constante de inativação
K_m – Constante de Michaelis

K_p – Coeficiente de partição do fármaco entre plasma e tecidos
K_{syn} – Constante de síntese
LC – Cromatografia líquida
LD – Limite de detecção
LQ – Limite de quantificação
Log P – Coeficiente de partição óleo/água
M1 – Desmetil-sibutramina
M2 – Didesmetil-sibutramina
MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MRM – Monitoramento de reações múltiplas
MS – Espectrometria de massas
MS/MS – Espectrometria de massas em tandem
m/z – Razão massa/carga
NHANES – National Health and Nutrition Examination Survey
NHPR – Natural Health Products Regulations
OMS – Organização Mundial da Saúde
PBPK – Farmacocinética baseada na fisiologia
P_{eff} – Permeabilidade efetiva
P-gp – Glicoproteína - P
pKa – Constante de dissociação ácida
PSA – Área de superfície polar
Q_{gut} – Fluxo nominal de sangue que passa pelo intestino
QqQ – Triplo quadrupolo
r – Coeficiente de correlação
SCOUT – Sibutramine Cardiovascular OUTcomes
SFDA – State Food and Drug Administration
SIM – Monitoramento de íon selecionado
SNC – Sistema nervoso central
SVS - Secretaria de Vigilância Sanitária
t_{1/2} – Meia vida
TIC – Cromatograma de íons totais
TGA – Therapeutics Goods Administration
TOF – Tempo de voo
UE – União Europeia
UHPLC – Ultra cromatografia de alta eficiência
UV - Ultravioleta
V_d – Volume de distribuição
V_{ss} – Volume de distribuição no estado de equilíbrio
V_{max} – Velocidade máxima

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 OBJETIVO GERAL	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1 SUPLEMENTOS ALIMENTARES	18
3.1.1 REGULAMENTAÇÃO DOS SUPLEMENTOS ALIMENTARES	19
3.1.1.1 <i>Regulamentação dos Suplementos Alimentares nos Estados Unidos da América (EUA)</i>	19
3.1.1.2 <i>Regulamentação dos Suplementos Alimentares na União Europeia (UE)</i>	21
3.1.1.3 <i>Regulamentação dos Suplementos Alimentares no Brasil</i>	23
3.2. PLANTAS MEDICINAIS E OS MEDICAMENTOS FITOTERÁPICOS	30
3.3. CONSUMO DE SUPLEMENTOS ALIMENTARES	37
3.4 O USO DE FÁRMACOS PRESCRITOS E SUPLEMENTOS ALIMENTARES NO TRATAMENTO DA OBESIDADE	39
3.5 RISCOS ASSOCIADOS AO USO DE SUPLEMENTOS ALIMENTARES	52
3.5.1 Adulteração com fármacos convencionais	53
3.5.1.1 <i>Casos de adulteração de suplementos alimentares e produtos naturais</i>	55
3.5.1.2 <i>Casos de adulteração de suplementos alimentares e produtos naturais para emagrecimento</i>	61
3.5.1.3 <i>Métodos aplicados ao estudo da adulteração de suplementos alimentares e produtos naturais emagrecedores</i>	65
3.6 O RISCO DE INTERAÇÕES MEDICAMENTOSAS	70
3.6.1 Métodos para avaliação das interações medicamentosas entre fármacos e suplementos à base de plantas medicinais	72
3.6.1.1 <i>Modelos in vitro</i>	75
3.6.1.2 <i>Modelos in vivo</i>	76
3.6.1.3 <i>Modelos in silico</i>	77
3.6.2 Avaliação da interação medicamentosa entre a sibutramina e o Grapefruit (<i>Citrus paradise</i>) por modelagem farmacocinética	83
4 MATERIAL E MÉTODOS	87
4.1 DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS EMAGRECEDORES EM SUPLEMENTOS ALIMENTARES	87
4.1.1 Instrumentação	87
4.1.2 Reagentes e Soluções	87
4.1.3 Procedimento analítico	90
4.1.4 Amostragem e preparo das amostras de suplementos alimentares	92
4.2 MODELAGEM FARMACOCINÉTICA PARA O ESTUDO DA INTERAÇÃO MEDICAMENTOSA DA SIBUTRAMINA COM O GRAPEFRUIT	93
4.2.1 Software Simcyp	93
4.2.2 Desenho do Estudo	94
4.2.3 Compostos e parâmetros de entrada	94
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	97

5.1 DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS EMAGRECEDORES EM SUPLEMENTOS ALIMENTARES	97
5.1.1 Otimização da Fonte de Ionização ESI	97
5.1.2 Otimização das condições de separação	98
5.1.3 Estudo de supressão de sinal por co-eluição dos adulterantes.	104
5.1.4 Validação do método analítico por LC-MS/MS	106
5.1.5 Determinação analítica dos suplementos alimentares e aspectos regulatórios	108
5.2 MODELAGEM FARMACOCINÉTICA PARA O ESTUDO DA INTERAÇÃO MEDICAMENTOSA DA SIBUTRAMINA COM O GRAPEFRUIT	126
5.2.1 Modelagem farmacocinética para predição do perfil farmacocinético da sibutramina e de seus metabólitos	126
5.2.2 Predição da interação medicamentosa	129
7. CONCLUSÃO	133
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	135

1 INTRODUÇÃO

O termo “suplemento alimentar” foi definido pela primeira vez com o DSHEA (Dietary Supplement Health and Education Act) em 1994, nos Estados Unidos, como sendo um produto que se destina a complementar a dieta (UNITED STATES, 1994). A legislação sanitária brasileira não prevê a categoria “suplemento alimentar” sendo que esses produtos são regulamentados como medicamentos ou alimentos de acordo com sua composição e finalidade de uso. A falta de uma legislação unificada leva a um cenário regulatório inseguro e confuso para o consumidor, o setor regulado e até mesmo para os órgãos fiscalizadores.

Os suplementos alimentares são considerados produtos seguros para o consumo, sobretudo, porque muitos são de origem natural. Esses produtos costumam ser de baixo custo e de fácil acesso comparado aos fármacos convencionais e vem sendo utilizados cada vez mais como alternativa na prevenção e tratamento de diversas patologias (DICKINSON; MACKAY, 2014). No entanto, os suplementos alimentares não são submetidos a exigências rígidas quanto a comprovação de segurança e eficácia, como é exigido para os medicamentos, e o que se tem observado são inúmeros relatos de reações adversas decorrentes do uso desses produtos (HE et al., 2015).

Essas reações são atribuídas principalmente à toxicidade intrínseca das plantas medicinais, contaminação por patógenos, pesticidas ou metais pesados, adulteração com fármacos sintéticos ou interações medicamentosas que podem ocorrer entre os componentes das formulações ou com outros fármacos prescritos que podem estar sendo utilizados simultaneamente com o suplemento. A presença de fármacos sintéticos não declarados em suplementos alimentares é ilegal, uma vez que a formulação é registrada em desacordo com a sua real composição. Fraudes desse tipo tem sido recorrentes e praticadas como forma de impulsionar o comércio destes produtos por proporcionar um efeito “milagroso” e o resultado desejado pelo público consumidor. As possibilidades de adulteração são vastas e os fármacos emagrecedores têm estado entre os mais descritos como adulterantes atualmente, sobretudo em suplementos alimentares destinados à perda de peso (CARVALHO et al., 2011 (b); NEVES; CALDAS, 2015).

Os suplementos alimentares adulterados com fármacos sintéticos tornam ainda mais complexa a previsão do risco de uma interação medicamentosa devido a

presença desse fármaco na formulação. Os estudos envolvendo interações medicamentosas do tipo fármaco-planta, ainda que de grande relevância clínica, são escassos e muitas vezes pouco confiáveis, o que pode ser atribuído ao fato de que não se tem conhecimento da incidência destas interações já que muitas ocorrem sem ser percebidas (CHAVEZ; JORDAN; CHAVEZ, 2006). Este cenário vem sendo reavaliado diante do crescente consumo de suplementos alimentares e produtos naturais, somado à existência mais que comprovada de produtos adulterados no mercado que são facilmente comercializados no mundo todo.

Investigações aplicadas na análise de suplementos alimentares a fim de avaliar a qualidade destes e detectar possíveis fraudes envolvendo a adição ilegal de fármacos sintéticos vem sendo realizadas e têm possibilitado a retirada do mercado de muitos produtos que representam riscos para os consumidores. Do mesmo modo, estudos de interações medicamentosas têm sido aprimorados com a maior disponibilidade de recursos alternativos que substituem a necessidade de estudos clínicos, os quais costumam ser dispendiosos, demorados e cada vez menos estimados do ponto de vista ético (NA et al., 2011).

Com base no exposto, tem se buscado aperfeiçoar as regulamentações e as exigências sobre a produção e comercialização dos suplementos alimentares a fim de garantir a segurança e a eficácia dos mesmos, possibilitando tratamentos sem maiores riscos à saúde dos seus usuários e justificando, assim, a importância na realização desses estudos.

Esta tese apresenta uma visão global da regulamentação dos suplementos alimentares em diferentes países no que tange o controle de qualidade e o controle fiscal sobre a produção e comercialização dos mesmos. Uma abordagem analítica em relação a adulteração dos suplementos alimentares é também apresentada e foi desenvolvida como parte de um projeto aprovado pela Anvisa juntamente do CNPq (Chamada CNPq/Anvisa No 05/2014 – Pesquisas em Vigilância Sanitária) o qual teve como uma de suas linhas de pesquisa “Estudos de controle de qualidade, aspectos nutricionais e de rotulagem de alimentos”, subitem “presença de substâncias anorexígenas, psicotrópicas e diuréticas em alimentos (suplementos alimentares)”, tema diretamente vinculado a esta tese. E, por fim, o trabalho traz uma abordagem clínica relacionada aos estudos de interação medicamentosa entre fármacos sintéticos e produtos naturais, desenvolvida durante o doutorado sanduíche na Universidade da Flórida (FI, EUA), sob orientação do professor Dr. Hartmut Derendorf.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a presença não declarada de fármacos emagrecedores em suplementos alimentares bem como avaliar o risco de interação farmacocinética, por modelagem *in silico*, decorrente do uso simultâneo de fármacos prescritos e suplementos alimentares no tratamento da obesidade.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver e validar um método analítico para a determinação de fármacos emagrecedores e coadjuvantes no tratamento da obesidade (anorexígenos, psicotrópicos, diuréticos, laxantes e estimulantes), como adulterantes em suplementos alimentares, por cromatografia líquida acoplada a detecção por espectrometria de massas em tandem (LC-MS/MS).

- Aplicar a metodologia desenvolvida e validada na investigação de fármacos emagrecedores (anorexígenos, psicotrópicos, diuréticos, laxantes e estimulantes) em suplementos alimentares emagrecedores adquiridos no Brasil e avaliar a qualidade desses produtos.

- Desenvolver *in silico* (utilizando o software Simcyp®) um modelo farmacocinético baseado na fisiologia (PBPK) para obter o perfil farmacocinético do anorexígeno sibutramina e de seus metabólitos ativos (N-desmetilsibutramina e N-didesmetilsibutramina), fazendo uso de população virtual e extrapolação de dados *in vitro-in vivo* (IVIVE) a partir de dados obtidos da literatura.

- Simular *in silico* (utilizando o software Simcyp®), a administração simultânea da sibutramina e do *grapefruit* (*Citrus paradise*), que vem sendo estudado recentemente devido seu efeito emagrecedor, no tratamento da obesidade.

- Avaliar os resultados de exposição à sibutramina e seus dois metabólitos ativos (N-desmetilsibutramina e N-didesmetilsibutramina) obtidos na ausência e na presença do *grapefruit* e prever a possibilidade ou não de interação fármaco-alimento.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 SUPLEMENTOS ALIMENTARES

O termo “suplemento alimentar” foi definido por lei, pela primeira vez, com o DSHEA (Dietary Supplement Health and Education Act) em 1994, como sendo um produto (com exceção do tabaco) que se destina a complementar a dieta e que contém um ou mais dos seguintes ingredientes: vitamina, mineral, planta ou produto botânico, aminoácido, substância dietética para suplementação da dieta por aumento da ingestão diária total. Concentrados, metabólitos, constituintes, extratos, ou combinações desses ingredientes também qualificam um suplemento alimentar (UNITED STATES, 1994).

Os suplementos alimentares compõem uma das maiores classes de nutracêuticos, juntamente com os alimentos funcionais. Os alimentos funcionais incluem alimentos que tenham sido enriquecidos ou fortificados para restaurar os níveis de nutrientes originais ou para melhorar a qualidade nutricional de alimentos deficientes em nutrientes a fim de resolver questões de saúde pública. Já os suplementos alimentares não são destinados à alimentação ou como substitutos de refeições, entretanto, a partir da sua composição, podem apresentar efeitos nutricionais, metabólicos e fisiológicos que se destinam a complementar a dieta normal, garantindo a ingestão de nutrientes em quantidade e qualidade adequada caso esta seja insuficiente (PHILLIPS; RIMMER, 2013). Os suplementos alimentares são, portanto, uma categoria ampla de nutrientes e de outras substâncias bioativas que contribuem significativamente para o total da ingestão dietética (DWYER; ALLISON; COATES, 2005).

Embora grande parte dos suplementos alimentares apresente-se de forma similar aos medicamentos, esses produtos não tem por objetivo a cura ou o tratamento de doenças. Os suplementos podem porém, auxiliar na redução do risco de doenças considerando a importância de uma alimentação saudável para a saúde e os vários fatores que representam um desafio na sociedade atual para a manutenção de uma dieta balanceada. Essa seria uma das razões para o número cada vez maior de consumidores recorrendo a estes produtos no mundo todo, acompanhado do número crescente e diversificado de suplementos alimentares disponíveis para consumo, fazendo com que a avaliação e a qualidade dos mesmos

tornem-se uma questão permanente para os governos e para a comunidade científica (ALMEIDA, 2014).

3.1.1 Regulamentação dos suplementos alimentares

3.1.1.1 Regulamentação dos Suplementos Alimentares nos Estados Unidos da América (EUA)

Historicamente, a primeira referência feita aos alimentos “para uso especial” e “vitaminas, minerais e outras propriedades nutricionais desses alimentos” foi em 1938 através da promulgação de uma lei federal Food, Drug and Cosmetic Administration (FDCA) nos Estados Unidos (21 USC § 343(j), 1988) (BASS; YOUNG, 1996 (a)). Considerando que vitaminas e minerais não tinham sido tratados dentro de qualquer legislação alimentar anterior, o FDCA estabeleceu uma categoria de alimentos para uso dietético especial e exigiu que sua rotulagem fornecesse informações sobre as vitaminas, minerais e outras propriedades dietéticas da formulação (GERSHWIN et al., 2010). Após a aprovação do FDCA, o FDA (Food Drug and Administration) fez várias abordagens na tentativa de regular os suplementos alimentares. Com um número cada vez maior de produtos, que não se limitavam apenas a vitaminas e minerais, sendo comercializados como suplementos alimentares, o FDA tentou enquadrar esses produtos na categoria de aditivos alimentares, os quais precisavam ser aprovados antes de serem lançados no mercado. Isso foi até 1994, quando leis específicas para suplementos alimentares foram aprovadas, excluindo estes da definição de aditivos dietéticos (GERSHWIN et al., 2010). Assim, os suplementos alimentares foram divididos em duas fases: os comercializados antes e depois de 1994 sendo que, antes de 1994 os suplementos tinham pouca regulamentação, sendo submetidos às mesmas exigências regulatórias que outros alimentos, além de ser permitido fazer alegações à saúde nos rótulos das embalagens (GLISSON; WALKER, 2010).

Em outubro de 1994 o DSHEA foi assinado criando um novo quadro para a segurança e rotulagem dos suplementos alimentares e substituindo a lei criada pelo FDCA. O DSHEA expandiu a definição de suplemento alimentar para além de vitaminas e minerais. Os mesmos deixaram de ser considerados aditivos alimentares e foram isentados de prescrição médica e de qualquer estudo que comprovasse

segurança e eficácia. As indústrias passaram a ser responsáveis por determinar se o suplemento produzido e distribuído por elas era seguro para o consumo. A partir desta lei os suplementos alimentares não necessitaram mais de aprovação prévia do FDA para serem comercializados desde que contivessem somente ingredientes antigos (UNITED STATES, 1994).

Foram definidos como ingredientes antigos todos aqueles que já eram comercializados antes do DSHEA e, portanto, presumia-se ser seguro. Se um suplemento alimentar contivesse um novo ingrediente (definido por lei como todo ingrediente dietético que não era comercializado nos EUA antes de outubro de 1994) a indústria deveria, então, notificar o FDA antes de lançar o produto no mercado, provar que o mesmo era seguro para o consumo e garantir que as informações no rótulo do produto fossem verdadeiras e não enganosas (NOONAM; NOONAM, 2006; GLISSON; WALKER, 2010).

Com o DSHEA não era exigido por lei que as indústrias e distribuidoras de suplementos investigassem ou encaminhassem ao FDA qualquer relato que tivessem recebido sobre danos ou injúrias provocadas por seus suplementos (GIUNTA; BASILE; TIBUZZI, 2010). Coube ao FDA tomar medidas contra os suplementos alimentares que já estavam sendo comercializados, mas que se apresentavam como inseguros. O FDA monitorava a segurança do suplemento alimentar seguindo relatos de eventos adversos ocorridos e revendo os requisitos específicos de rotulagem (GLISSON; WALKER, 2010). O FDA precisava provar que o produto não era seguro antes de restringir o uso do mesmo ou de removê-lo do mercado (GIUNTA; BASILE; TIBUZZI, 2010).

Ficou claro que a aprovação do DSHEA diminuiu o poder regulatório do FDA e que esse fator tornou o mercado dos suplementos alimentares ainda mais atrativo. A venda de suplementos alimentares nos EUA cresceu de 8,8 bilhões de dólares em 1994 para 15,7 bilhões de dólares em 2000 (GIUNTA; BASILE; TIBUZZI, 2010).

Porém, o DSHEA deu autoridade para o FDA estabelecer as Boas Práticas de Fabricação (BPF) para os suplementos alimentares e exigir que estes fossem fabricados de acordo com as mesmas. Assim, ao mesmo tempo em que o DSHEA minimizava os obstáculos regulatórios para a comercialização de suplementos alimentares, os legisladores do FDA tentavam com a elaboração das BPF proteger o público da qualidade inferior destes produtos (MELETHIL, 2006).

No entanto, somente em 2007 o FDA anunciou as regras finais das BPF. As novas regras garantem que os suplementos alimentares sejam produzidos com qualidade, não apresentem nenhum tipo de contaminação ou impureza e sejam rotulados adequadamente. As regras incluem ainda requisitos para os procedimentos de controle de qualidade, acondicionamento adequado e controle de contaminação com toxinas, pesticidas, bactérias, metais pesados e quaisquer outras substâncias potencialmente tóxicas. Também incluem requisitos para a manutenção de registros de reclamações dos consumidores sobre o produto, sendo que a indústria agora é obrigada a informar ao FDA os relatos de efeitos adversos relacionado aos seus suplementos (GERSHWIN et al., 2010; GIUNTA; BASILE; TIBUZZI, 2010).

3.1.1.2 Regulamentação dos Suplementos Alimentares na União Europeia (UE)

A regulamentação dos suplementos alimentares tem sido alvo de harmonização na UE a fim de garantir a segurança dos consumidores e a livre circulação de produtos entre os países membros. Até 2002, os suplementos alimentares na UE estavam sujeitos às regulamentações nacionais, que variavam consideravelmente entre os países membros criando obstáculos para a livre comercialização (ALMEIDA, 2014). Em 10 de Junho de 2002 foi instituída a Diretiva 2002/46/CE do Parlamento Europeu e do Conselho da UE relativa à aproximação da legislação dos Estados-Membros no que diz respeito aos suplementos alimentares (EUROPEAN UNION, 2002).

Segundo a Diretiva de 2002, suplementos alimentares são gêneros alimentícios que se destinam a complementar e ou suplementar o regime alimentar normal e que constituem fontes concentradas de determinadas substâncias nutrientes ou outras com efeito nutricional ou fisiológico, comercializadas em forma doseada, que se destinam a ser tomados em quantidade reduzida, considerando que nutrientes são vitaminas e minerais (EUROPEAN UNION, 2002). Vitaminas e minerais são, portanto, os únicos nutrientes reconhecidos e enumerados na Diretiva 2002/46/CE. De acordo com a mesma, a regulamentação específica sobre outros nutrientes e outras substâncias com efeito nutricional ou fisiológico utilizadas como ingredientes de suplementos alimentares seria estabelecida em uma fase posterior, quando dados científicos adequados à avaliação de cada um desses nutrientes

estivessem disponíveis (EUROPEAN UNION, 2002). Neste caso, os suplementos alimentares podem ainda conter uma infinidade de outras substâncias com efeito nutricional ou fisiológico, incluindo aminoácidos, ácidos graxos essenciais, fibras, enzimas, várias plantas e extratos de plantas, probióticos e pré-bióticos, entre outros, que, no entanto, não se encontram regulamentados (ALMEIDA, 2014).

A Diretiva exige que os suplementos alimentares demonstrem ser seguros para consumo, no que se refere à quantidade e qualidade. A ingestão excessiva de vitaminas e minerais pode provocar efeitos adversos, sendo fixados, quando necessário, limites máximos de segurança para estas substâncias, garantindo que a utilização normal dos produtos, de acordo com as instruções de utilização fornecidas pelo fabricante seja segura para o consumidor (GIUNTA; BASILE; TIBUZZI, 2010). Os Anexos I e II da Diretiva compõem a chamada “lista positiva” de vitaminas e minerais permitidos na fabricação de suplementos. A inclusão de uma nova substância alimentar a estas listas deve ser requerida à Comissão Europeia.

A Diretiva também regulamenta a rotulagem dos produtos que devem ser denominados com “suplemento alimentar” e não podem conter menções que atribuam ao produto propriedades profiláticas, de tratamento, prevenção ou cura de doenças, nem fazer referência a essas propriedades. A rotulagem deve incluir ainda os nomes das categorias de nutrientes ou substâncias que caracterizam o produto, a dose recomendada do produto para o consumo diário, um aviso para não exceder a dose recomendada e uma declaração explicando que os suplementos não devem ser usados como substitutos de uma dieta variada (EUROPEAN UNION, 2002).

A indústria de suplementos alimentares do Reino Unido, que apresenta o maior mercado (2,6 bilhões de dólares) da UE se opôs fortemente à Diretiva de 2002 alegando restrições injustificadas à livre escolha dos consumidores. As indústrias argumentaram ainda que a legislação ameaçou 5000 produtos que continham mais de 200 nutrientes e que era injusto para os fabricantes de suplementos arcar com o custo do pedido de aprovação de produtos que já vinham sendo comercializados por muitos anos. O Tribunal de Justiça Europeu decidiu que as medidas eram necessárias e adequadas para o propósito de proteger a saúde pública, mas garantiu simplificar e acelerar o processo de aprovação para novos ingredientes. A

regulamentação sucessiva à 2002/46/CE, a CE nº 1924/2006 de Dezembro de 2006 estabeleceu então disposições específicas em relação aos suplementos fornecidos aos consumidores bem como suporte para as pequenas e médias empresas que operam neste mercado (GIUNTA; BASILE; TIBUZZI, 2010).

O perfil regulatório nos EUA e na UE descrevem atitudes e decisões governamentais quase opostas no que tange a aplicação prática das normas para os suplementos alimentares. Enquanto o DSHEA nos EUA dava suporte às indústrias de suplementos, levando a um forte apelo por parte dos consumidores para uma regulamentação que realmente garantisse a proteção à saúde, a Diretiva 2002/46/CE na UE estabelecia regras mais rígidas para a indústria e mostrava-se realmente em defesa da saúde pública. Em consequência às reações por parte dos consumidores bem como da indústria, tanto os EUA quanto a UE aperfeiçoaram suas regulamentações, aumentando o controle sobre os suplementos nos EUA e amenizando a sobrecarga de procedimentos longos e onerosos para as indústrias na UE.

3.1.1.3 Regulamentação dos Suplementos Alimentares no Brasil

A legislação sanitária brasileira não prevê a categoria “suplemento alimentar” sendo que esses produtos são regularizados como medicamentos ou alimentos de acordo com sua composição e finalidade de uso, o que leva a um cenário regulatório inseguro e confuso, onde as definições se sobrepõem, confundindo o consumidor, o setor regulado e até mesmo parte dos órgãos fiscalizadores. Na área de alimentos os produtos podem ser classificados em: suplementos vitamínicos ou minerais (BRASIL, 1998 (d)), novos alimentos/ingredientes (BRASIL, 1999 (a)), substâncias bioativas e probióticos (BRASIL, 2002), alimentos com alegação de propriedade funcional (BRASIL, 1999 (b)), e alimentos para atletas (BRASIL, 2010 (a)). Na área dos medicamentos estão os medicamentos fitoterápicos (BRASIL, 2014 (b)), medicamentos específicos (incluindo vitaminas, minerais, ômega 3, dentre outras substâncias), medicamentos biológicos e outras substâncias sujeitas a controle especial (BRASIL, 2003 (a)).

Esses produtos, a depender de sua composição, têm finalidades diversas e público alvo tão diferentes quanto abrangentes. A regulamentação de cada tipo específico de produto leva à existência de muitos regulamentos técnicos, os quais

não são atualizados de forma a englobar todos os produtos na velocidade necessária para acompanhar o desenvolvimento, a inovação tecnológica e as descobertas da ciência. A fabricação e comercialização destes suplementos no Brasil são regulamentadas pelo Ministério da Saúde por meio da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e, alguns deles, fiscalizados também pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (DA SILVA; FERREIRA, 2014).

A regulação atual para os suplementos alimentares que englobam os alimentos para atletas, é composta pelo Decreto-Lei nº 986, de 21 de Outubro de 1969 e por três leis bastante relevantes para o setor, as Leis nºs 5.991, de 1973, 6.360, de 1976 e 6.437, de 1977. O Decreto-Lei introduziu o padrão de identidade e qualidade e instituiu normas básicas sobre alimentos, estando ainda em vigor. Percebe-se que a regulação do setor sofre com a desatualização visto que o Decreto-Lei nº 986 foi publicado há mais de quatro décadas e que nesse período os hábitos e as atividades rotineiras dos brasileiros mudaram bastante.

O ano de 1998 foi um marco na regulamentação dos produtos alimentícios no Brasil. A Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária (SVS) instituiu, através da Portaria nº 29 de 13 de Janeiro de 1998, uma regulamentação para alimentos para fins especiais, na qual se encontravam os alimentos para dietas restritivas, alimentos para grupos populacionais específicos e alimentos para ingestão controlada de nutrientes, incluindo alimentos destinados para praticantes de atividade física. De acordo com o regulamento, todos estes alimentos deveriam ser registrados e classificados em uma das categorias ou subcategorias especificadas na legislação (BRASIL, 1998 (a)). Com a Portaria nº 30, de 13 de Janeiro de 1998 foi aprovado o regulamento técnico para a fixação de identidade e qualidade de alimentos para controle de peso utilizados para a redução ou manutenção de peso por substituições parciais das refeições, ou para ganho de peso por acréscimo às refeições, estabelecendo a composição e os requisitos exigidos (BRASIL, 1998 (b)). Através da Portaria nº 31, de 13 de Janeiro de 1998 a SVS também aprovou o regulamento técnico referente aos alimentos adicionados de nutrientes essenciais com o objetivo de fixar a identidade e as características mínimas de qualidade a que devem obedecer esses alimentos bem como definir os critérios para a adição desses nutrientes essenciais (BRASIL, 1998 (c)). Também em 1998, por meio da Portaria nº 32 (Portaria nº 32, de 13 de Janeiro de 1998) aprovou-se o regulamento técnico para

suplementos vitamínicos e ou de minerais a fim de normatizar o uso desses suplementos no país. Foram definidos como suplementos vitamínicos ou de minerais os alimentos que servem para complementar com estes nutrientes a dieta diária de uma pessoa saudável, podendo ser compostos de minerais isolados ou associados entre si, vitaminas isoladas ou associadas entre si, associação de minerais e vitaminas ou produtos fontes naturais de minerais e ou vitaminas, legalmente regulamentados (BRASIL, 1998 (d)). Por fim a Portaria nº 33, de 13 de Janeiro de 1998 aprovou que os valores de Ingestão Diária Recomendada (IDR) para vitaminas, minerais e proteínas deve ser utilizado como parâmetro de ingestão desses nutrientes por indivíduos e diferentes grupos populacionais (BRASIL, 1998 (e)) e de modo que a Portaria nº 33, de 13 de Janeiro de 1998 classificou como medicamento à base de vitaminas e ou minerais todos os produtos cuja composição contenha nutrientes acima de 100% da IDR (BRASIL, 1998 (f)).

Em 2010, a ANVISA aprovou a Resolução nº 18 de 27 de Abril de 2010, que estabeleceu a classificação, designação, requisitos de composição e de rotulagem da categoria Alimentos para Atletas, revogando os itens referentes à categoria alimentos para praticantes de atividade física previstos na Portaria nº 29 de 1998. A Resolução classifica os alimentos destinados ao consumo por atletas como, suplemento hidroeletrólítico para atletas, suplemento energético para atletas, suplemento proteico para atletas, suplemento para a substituição parcial de refeições de atletas, suplemento de creatina para atletas e suplemento de cafeína para atleta (BRASIL, 2010 (a)). Ainda em 2010, por meio da Resolução nº 27 de 06 de Agosto de 2010 e com intuito de desburocratizar o sistema de registro a Anvisa dispensou 15 categorias de alimentos da obrigatoriedade de registro, entre elas, alimentos para controle de peso e alimentos para atletas (BRASIL 2010 (b)). A decisão da Anvisa de isentar 15 categorias de alimentos da obrigatoriedade de registro pode intensificar uma realidade que já vem sendo observada: produtos no mercado registrados em uma categoria, mas sendo comercializados em outra.

A Tabela 1 apresenta como os produtos categorizados como suplementos alimentares são classificados dentro da legislação brasileira.

Tabela 1: Classificação dos suplementos alimentares de acordo com a legislação sanitária brasileira

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	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 sp</i>	RDC nº 02/2002

Alimentos para atleta	Alimentos especialmente formulados para auxiliar atletas para atender suas necessidades nutricionais e auxiliar no desempenho do exercício.	<i>Whey protein</i> , creatina e cafeína	RDC nº 18/2010
Medicamentos			
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 sabdarrafa</i> , <i>Ilex paraguensis</i> , <i>Coleus forskohlii</i>	RDC nº 26/2014
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

Fonte: Adaptado de Neves e Caldas, 2015.

É visível a necessidade de ser criado um marco regulatório único para os suplementos alimentares a fim de que as normas vigentes possam incorporar os avanços técnicos e científicos verificados neste amplo campo econômico e sanitário e, sobretudo, garantir aos consumidores o acesso a produtos seguros que possam de fato trazer benefícios à saúde. Com base nisso foi elaborado pelo Senado Federal o Projeto de Lei nº 233 de 2014, que dispõe sobre os suplementos alimentares e nutricionais. Este projeto de lei busca abranger os suplementos alimentares e nutricionais atualmente existentes que, de forma inadequada, são regulados pelas leis que regem os alimentos convencionais, além de aproximar a regulação nacional da regulação adotada em outros países, como EUA e países da UE, respeitando as peculiaridades nacionais e permitindo a comercialização de produtos seguros, a inovação na indústria e a proteção dos consumidores (BRASIL, 2014(a)).

A proposta prevê o uso e a associação de diversos ingredientes na composição dos suplementos. Além das vitaminas e minerais, já comercializados no Brasil como ingredientes comuns, também outros nutrientes e não nutrientes igualmente importantes, mas não previstos na regulamentação de alimentos, a despeito de serem cada vez mais utilizados na produção de suplementos alimentares e nutricionais. Portanto, passariam a ser considerados suplementos alimentares e nutricionais os produtos constituídos por nutrientes (carboidratos, proteínas, aminoácidos e derivados, lipídeos e derivados, fibras, vitaminas e minerais), fitonutrientes (compostos orgânicos de origem vegetal que não são classificados como nutrientes, mas contribuem para a manutenção da saúde do organismo) e outras substâncias encontradas nos alimentos (culturas microbianas, incluindo probióticos isolados, enzimas e substâncias de origem animal) e compostos bioativos que se destinam a suplementar a dieta habitual ou suprir necessidades nutricionais, metabólicas ou fisiológicas (BRASIL, 2014(a)). Excluir-se-iam no âmbito de aplicação dessa lei os produtos com finalidade medicinal ou terapêutica.

Os suplementos alimentares e nutricionais deverão também ser seguros e produzidos de acordo com as BPF e padrões de identidade e qualidade, nos termos definidos nos regulamentos e normas técnicas específicas. E para garantir a segurança de uso os produtos deverão ser comercializados com advertências sobre cuidados de consumo e tempo de uso e advertências dirigidas a grupos

populacionais específicos, nos termos dos regulamentos, das normas técnicas e do Código de Defesa do Consumidor. Passaria a ser obrigatória a comprovação da segurança dos suplementos alimentares e nutricionais com base nas diretrizes estabelecidas em regulamentos técnicos específicos ou guias publicados pelo órgão regulamentador competente ou por organismos por ele reconhecidos quando em sua formulação fossem usados ingredientes cuja segurança ainda não é reconhecida ou quando sua formulação levasse à ingestão de ingredientes habituais da dieta em concentrações muito superiores àquelas tradicionalmente consumidas (BRASIL, 2014 (a)).

Em relação à rotulagem, esta não deverá levar a erro, engano ou confusão quanto à sua origem, natureza, composição ou qualidade. A rotulagem, apresentação e publicidade dos suplementos alimentares não deverá atribuir a estes propriedades de prevenção, tratamento e cura de doenças, nem fazer referência a tais propriedades. O responsável pela produção ou comercialização dos suplementos deverá manter em seu poder todos os documentos necessários para comprovar qualidade, segurança, idoneidade dos respectivos dizeres de rotulagem, rastreabilidade dos produtos e atendimento aos requisitos técnicos estabelecidos, documentos esses que deverão ser apresentados aos órgãos de vigilância sanitária sempre que solicitados ou durante as inspeções (BRASIL, 2014 (a)).

Acerca do registro dos suplementos alimentares e nutricionais, fica previsto um sistema flexível a fim de desburocratizar a regularização, sem que sua qualidade e controle sejam afetados, levando em conta a obrigatoriedade de adoção das BPFs, a apresentação de documentos comprobatórios de qualidade e segurança, e o uso de ingredientes comprovadamente seguros. A Anvisa já vem adotando modelos de registro simplificado para produtos cuja tradição e histórico de uso respaldem sua segurança, como demonstram recentes regulamentos sobre medicamentos e produtos fitoterápicos, a exemplo da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 26, de 2014 (BRASIL, 2014 (b)). O reconhecimento de documentos técnicos e científicos publicados por outras agências reguladoras, organismos e comitês científicos internacionais também tende a tornar mais ágil a comprovação de segurança e eficácia de alegações funcionais, com economia de tempo, recursos humanos e materiais necessários à análise dos pedidos de avaliação pela Anvisa.

A atual legislação dos suplementos alimentares no Brasil trata de uma normatização extensa, complexa e de difícil entendimento. É necessário que

providências sejam tomadas no sentido de consolidar as normas em vigor em uma única resolução específica para os suplementos alimentares. Nesse sentido, buscase harmonizar a legislação atual, com a proposta de defesa e proteção da saúde individual e coletiva e de assegurar uma ação sistêmica no processo de regulamentação de políticas voltadas para o setor, permitindo que o país tenha uma legislação moderna, segura e eficaz na regulação dos suplementos alimentares e nutricionais.

3.2 PLANTAS MEDICINAIS E OS MEDICAMENTOS FITOTERÁPICOS

A utilização de plantas com fins medicinais é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade (JUNIOR; PINTO, 2005). Apesar dos grandes avanços observados na medicina moderna, as plantas medicinais têm desempenhado um papel fundamental no sistema de saúde de muitos países, sobretudo àqueles em desenvolvimento ou onde o acesso aos medicamentos ainda é escasso. Estima-se que em torno de 80% da população mundial faça uso de plantas medicinais para o tratamento, cura ou prevenção de doenças (BODEKER et al., 2005).

Embora os produtos naturais sejam considerados de menor risco, comparados aos medicamentos convencionais, eles não estão livres de apresentar alguma toxicidade ou efeito adverso. Pode-se considerar que a maioria dos problemas associados ao uso das plantas medicinais cresce principalmente com a classificação desses produtos como suplementos alimentares em alguns países e com evidência de qualidade, eficácia e segurança não sendo muitas vezes requerida antes da comercialização. Também os testes de qualidade e padrões de produção tendem a ser menos controlados (EKOR, 2014). Sendo assim, o controle de qualidade dos produtos à base de plantas medicinais tem se tornado uma questão de interesse crescente não apenas entre os consumidores, mas também para as indústrias e agências reguladoras (HE et al., 2015).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) publicou um guia definindo os critérios básicos para a avaliação da qualidade, segurança e eficácia das plantas medicinais a fim de auxiliar as autoridades regulatórias, organizações científicas e indústrias (WHO, 2005). No entanto, as legislações e regulamentações dos produtos

à base de plantas medicinais mudam de um país para outro, sobretudo pelo envolvimento de aspectos culturais (CALIXTO, 2000). As definições e categorizações dadas a esses produtos também são bastante variadas. Dependendo da regulamentação vigente para alimentos e medicamentos, uma planta medicinal pode ser enquadrada como alimento, alimento funcional, suplemento alimentar ou mesmo um medicamento (WHO, 2005). Essas diferenças nas leis, regulamentações e guias tem permitido que uma harmonização global para os produtos à base de plantas medicinais ainda não tenha sido alcançada, dificultando também o controle de qualidade dos mesmos.

Nos Estados Unidos as plantas medicinais são consideradas suplementos alimentares na categoria de ingredientes botânicos e estão, portanto, sujeitas à regulamentação especificada no DSHEA de 1994, o qual apresenta uma estrutura de regulamentação muito diferente quando comparado à aplicada aos medicamentos convencionais em termos de exigências relativas à eficácia, segurança e vigilância pós-mercado (BENT; KO, 2004). As plantas medicinais, assim como os demais suplementos, não devem pretender tratar, curar, prevenir ou diagnosticar alguma doença e as indústrias não precisam da aprovação prévia do FDA para a comercialização desses produtos.

A fiscalização limitada para os produtos à base de plantas medicinais nos Estados Unidos contrasta fortemente com as regulações em muitos outros países. Na União Europeia, por exemplo, a Agência Europeia de Medicamentos (EMA) tem publicado várias diretivas para a fabricação e avaliação da qualidade dos produtos à base de plantas medicinais. As plantas medicinais são regulamentadas pela Diretiva 2004/24/EC de 31 de Março de 2004 que substituiu parte da antiga Diretiva 2001/83/EC de 06 de Novembro de 2001.

Com a Diretiva 2004/24/EC foi adotado o termo “medicamento tradicional à base de plantas” para qualquer produto medicinal que contenha exclusivamente compostos ativos provenientes de uma ou mais plantas ou uma ou mais preparações à base de planta ou mesmo a combinação destes, para o qual se estabelece um processo de registro simplificado, desde que o mesmo, como o próprio nome diz, apresente um uso comprovado na medicina tradicional (pelo menos 30 anos, e no mínimo 15 anos dentro da comunidade europeia), sem apresentar efeitos nocivos nas condições de utilização e com efeitos farmacológicos

e de eficácia plausíveis, tendo em conta a utilização e a experiência de longa data (EUROPEAN UNION, 2004).

Uma lista de substâncias, preparações ou combinações de plantas medicinais, mesmo as consideradas como medicamentos tradicionais à base de plantas medicinais deve ser estabelecida, contendo informações como posologia, via de administração ou qualquer outra informação que se mostre necessária para seu uso seguro. O rótulo da embalagem deve também especificar que o produto deve ser exclusivamente utilizado para a indicação baseada na tradição de uso (EUROPEAN UNION, 2004). A presença de vitaminas e minerais nos produtos à base de plantas, desde que evidenciada a sua segurança, não impede que o produto seja elegível para o registro como medicamento tradicional à base de plantas, visto que a maioria das associações de plantas com ingredientes não botânicos são combinações com vitaminas e minerais (SILANO et al., 2004).

O Canadá é um dos países que tem melhor estabelecido um sistema de regulamentação para os produtos medicinais à base de plantas e outros ingredientes naturais. Os produtos naturais são regulados sob a NHPR (Natural Health Products Regulations) à qual exige que todos devam ser registrados antes de serem comercializados. A segurança e a eficácia desses produtos e suas alegações à saúde devem ser provadas adequadamente e o tipo de documentação requerida depende da proposta do produto e dos riscos que o mesmo oferece (FAN et al., 2012). Produção, armazenamento e rotulagem devem ser feitas com base nas BPFs criadas especificamente para os produtos naturais e as indústrias devem também reportar todo e qualquer efeito adverso decorrente do uso do produto (JORDAN; CUNNINGHAM; MARLES, 2010).

Na Austrália os produtos naturais são regulados de acordo com a Therapeutics Goods Administration (TGA), sendo avaliados de acordo com os riscos oferecidos com base na toxicidade dos ingredientes, a dosagem, efeitos adversos e interações. Os produtos considerados de baixo risco podem ser comercializados sem registro pelas indústrias licenciadas desde que sigam as BPFs e façam apenas alegações à manutenção da saúde ou para condições não graves de saúde. Os produtos naturais classificados como de alto risco devem ser avaliados quanto à qualidade, segurança e eficácia antes de receberem um registro e a autorização para a comercialização (WARUDE; PATWARDHAN, 2005; JORDAN; CUNNINGHAM; MARLES, 2010).

Na Argentina a lei que regulamenta os produtos à base de plantas medicinais é a mesma que regulamenta os medicamentos em geral. A Lei nº 16.463 de 1964 define as normas de assistência técnica e controladoria econômica de medicamentos, drogas e qualquer outro produto para uso e aplicação na medicina humana. Em 1993, um regulamento do Ministério da Saúde determinou o registro obrigatório de plantas medicinais sendo que na Lei nº 16.463 não estava claro quais as exigências que deveriam ser cumpridas para solicitar o registro de um novo medicamento à base de plantas medicinais (CALIXTO 2008). Também não havia controle sobre o plantio, coleta, métodos de secagem e conservação das plantas medicinais. Na Farmacopeia Nacional da Argentina existem três categorias de plantas e suas preparações: fármacos brutos, extratos ou frações e princípios ativos puros. Quando o produto é descrito na farmacopeia, pode ser feita referência a tal monografia, caso contrário uma “pré-monografia” deve ser apresentada para aprovação. No total a farmacopeia contém 899 monografias sendo que 56 fazem referência a extratos brutos e 33 descrevem extratos e frações (WHO, 1998).

No Chile, em 1992, foi estabelecida a Unidade de Medicina Tradicional com o objetivo de incorporar os medicamentos tradicionais com eficácia comprovada nos programas de saúde. A regulação para o controle e a prática da medicina tradicional foi desenvolvida tendo como base legal a Lei nº 19.253 de Outubro de 1993. Os registros e autorizações para a comercialização dividem os produtos naturais em fármacos pretendidos para cura, alívio ou prevenção de doenças, produtos alimentícios de uso medicinal e com propriedades terapêuticas e produtos alimentícios para fim nutricional. De acordo também com a Diretiva nº 435/81 que regulamenta os medicamentos, produtos medicinais e cosméticos, os produtos à base de plantas medicinais com indicação terapêutica e recomendação de dose são considerados medicamentos tendo sua distribuição e venda restritas às farmácias e drogarias (WHO, 1998; CALIXTO, 2008).

Na Índia, a Lei de Medicamentos e Cosméticos de 1940 controla a produção, a distribuição e a venda de medicamentos e cosméticos. Em 1959 o governo reconheceu e passou a regular sob a mesma lei os produtos da medicina tradicional indiana. Em 1993 foram desenvolvidos guias para a segurança e eficácias das plantas medicinais e incorporados na legislação. A classificação das plantas medicinais foi proposta considerando a disponibilidade no mercado (já em uso há mais de cinco anos; em uso há menos de cinco anos; novas plantas medicinais) e os

requerimentos de segurança e eficácia variam de acordo com a classificação (WHO, 1998). Em 2002 foi publicada a Farmacopeia Indiana de Plantas Medicinais contendo 52 monografias de plantas medicinais amplamente utilizadas na Índia, visto que a farmacopeia indiana de 1996 quase não abrangia as plantas da medicina Ayurvedic e a farmacopeia indiana Ayurvedic não apresentava padrões adequados para o controle de qualidade dos produtos medicinais (WARUDE; PATWARDHAN, 2005).

Na China, a medicina tradicional chinesa (TCM) tem uma longa história de quatro mil anos e a Matéria Médica Chinesa é uma das fontes mais bem documentadas incluindo mais de sete mil espécies de plantas medicinais. As plantas medicinais são reguladas pelo SFDA (State Food and Drug Administration) e podem ser registradas como alimento funcional ou medicamento. Na maioria das vezes as plantas são utilizadas de acordo com as teorias da medicina chinesa sendo, portanto, consideradas medicamentos tradicionais chineses e tendo o processo de fabricação regulado do mesmo modo que os fármacos convencionais com especiais requerimentos para comercialização como a comprovação da qualidade, avaliação de segurança e qualidade e rotulagem adequada (FAN et al., 2012; He et al., 2015).

Apesar da imensa flora, dos aspectos culturais e do amplo uso de plantas medicinais no Brasil, pouco ainda se tem feito para estabelecer a qualidade, a segurança e a eficácia desses produtos. Em 1967 o Ministério da Saúde formulou a Portaria no 22 de 30 de Outubro (BRASIL, 1967) na qual se estabeleciam normas para o emprego de preparações fitoterápicas. Essa portaria trouxe uma nova realidade à fitoterapia, ressaltando conceitos importantes para o controle de qualidade desses medicamentos. Em 1994 o Ministério da Saúde criou uma comissão para avaliar a situação dos produtos naturais no país e uma diretiva foi proposta com base nas regulações da França e da Alemanha e nos guias da OMS para as plantas medicinais. Em 1995 foram estabelecidos pela Portaria nº 6, de 31 de Janeiro, os requerimentos para o registro de plantas medicinais e definido como produto fitoterápico todo o medicamento processado contendo, exclusivamente, ingredientes ativos de plantas medicinais ou preparações destas com finalidades profiláticas, curativas ou para fins de diagnóstico, com benefícios para o usuário (BRASIL, 1995).

Essa Portaria ficou em vigor por cinco anos quando então a RDC nº 17, de 24 de Fevereiro de 2000, revogou todas as outras normas estabelecidas anteriormente.

Os produtos fitoterápicos foram classificados como medicamento fitoterápico (medicamento farmacêutico obtido por processos tecnologicamente adequados, empregando-se exclusivamente matérias-primas vegetais, com finalidade profilática, curativa, paliativa ou para fins de diagnóstico), medicamento fitoterápico novo (aquele cuja eficácia, segurança e qualidade, sejam comprovadas cientificamente junto ao órgão federal competente, por ocasião do registro, podendo servir de referência para o registro de similares), medicamento fitoterápico tradicional (aquele elaborado a partir de planta medicinal de uso alicerçado na tradição popular, sem evidências, conhecidas ou informadas, de risco à saúde do usuário, cuja eficácia é validada através de levantamentos etnofarmacológicos e de utilização, documentações tecnocientíficas ou publicações indexadas) e medicamento fitoterápico similar (aquele que contém as mesmas matérias-primas vegetais, na mesma concentração de princípios ativos ou marcadores, utilizando a mesma via de administração, forma farmacêutica, posologia e indicação terapêutica de um medicamento fitoterápico considerado como de referência) (BRASIL, 2000). Foi a partir dessa lei que começou a ser exigido o modo como os medicamentos seriam apresentados ao público. A isenção de registro só iria ser concedida às plantas que possuíssem formulação descrita na Farmacopeia Brasileira ou em códigos similares (SOARES; MENDONÇA, 2010).

Visando atualizar a normatização do registro dos fitoterápicos foi aprovada em 2004 a RDC nº 48 que revogou a RDC nº 17 de 2000. Essa resolução preocupou-se em exigir o certificado BPF e controle para as linhas de produção sendo definido que os testes referentes à qualidade do produto deveriam ser realizados apenas por laboratórios credenciados. Além disso, todos os fitoterápicos registrados antes de 31 de Janeiro de 1995, com exceção daqueles já enquadrados como fitoterápicos tradicionais, deveriam apresentar uma série de relatórios atestando a segurança e eficácia por meio de ensaios clínicos e pré-clínicos bem como as normas de produção e controle de qualidade. Foram considerados fitoterápicos tradicionais aqueles que tivessem pelo menos vinte anos de uso com segurança e eficácia já comprovadas (BRASIL, 2004; JUNIOR; PINTO, 2005).

A RDC nº 48 de 2004 foi revogada em 2010 pela RDC nº 14 de 31 de Março. De acordo com essa, os medicamentos fitoterápicos são obtidos com emprego exclusivo de matérias-primas ativas vegetais, cuja segurança e eficácia são validadas por meio de levantamentos etnofarmacológicos, de utilização,

documentações tecnocientíficas ou evidências clínicas. Não se considera medicamento fitoterápico aquele que inclui na sua composição substâncias isoladas, sintéticas ou naturais, nem a associação destas com extratos vegetais (BRASIL 2010 (c)) O diferencial dessa lei é que ela regula, a título provisório, medicamentos obtidos a partir de algas e fungos multicelulares, pelo fato desses não contarem ainda com regulamentação específica (SOARES; MENDONÇA, 2010).

A atual regulamentação em vigor para os fitoterápicos no Brasil é a RDC nº 26 de 13 de Maio de 2014 que dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação para produtos tradicionais fitoterápicos (BRASIL, 2014 (b)). São considerados medicamentos fitoterápicos “os obtidos com emprego exclusivo de matérias-primas ativas vegetais cuja segurança e eficácia sejam baseadas em evidências clínicas e que sejam caracterizados pela constância da sua qualidade”. São considerados produtos tradicionais fitoterápicos “os obtidos com emprego exclusivo de matérias-primas vegetais cuja segurança e efetividade sejam baseadas em dados de uso seguro e efetivo publicados na literatura técnico-científica e que sejam concebidos para serem utilizados sem a vigilância de um médico para fins de diagnóstico, de prescrição ou de monitorização” (BRASIL, 2014 (b)). De acordo com esta resolução, os medicamentos fitoterápicos são passíveis de registro enquanto que os produtos tradicionais fitoterápicos são passíveis de registro ou notificação. As plantas medicinais sob a forma de droga vegetal, denominadas chás medicinais passam a ser dispensadas de registro, devendo ser notificadas, conforme descrito na resolução, na categoria de produto tradicional fitoterápico. A nova resolução segue o mesmo padrão das anteriores, entretanto traz no corpo normativo definições mais claras dos objetos de registro e notificação, e destaca a importância em avaliar a qualidade dos estudos clínicos submetidos no processo de registro.

Fica visível que com o passar do tempo e com o crescente interesse no uso das plantas medicinais vem se tentando aperfeiçoar o controle regulatório sobre esses produtos no mundo. No entanto, vários modelos regulatórios têm sido adotados para as plantas medicinais (medicamentos de venda livre, medicamentos com venda sob prescrição médica, suplementos alimentares, alimentos funcionais) e a necessidade de estabelecer uma regulamentação global é imprescindível para que se possa garantir a qualidade desses produtos, sobretudo no que diz respeito à segurança de uso e eficácia.

3.3. CONSUMO DE SUPLEMENTOS ALIMENTARES

O uso de suplementos alimentares é especialmente comum no esporte (PETROCZI; TAYLOR; NAUGHTON, 2011), no entanto, estes produtos vêm ganhando popularidade uma vez que as sociedades têm modificado os seus padrões de vida e os consumidores estão cada vez mais interessados em assumir um papel ativo na sua saúde e bem-estar. Os consumidores têm gasto anualmente milhões de dólares em suplementos alimentares para as mais variadas condições de doenças como artrite, osteoporose, resfriados, problemas cardíacos, doença de Alzheimer, bem como para promover a saúde da mente e do corpo com o uso de suplementos para perda de peso, ganho de massa muscular e estimulantes sexuais. O crescente consumo de suplementos alimentares vem sendo observado desde a década de 90 e acredita-se que a instituição do DSHEA, nos EUA, tenha sido em parte responsável por estimular o mercado em decorrência do suporte dado às indústrias de suplementos. Em 1994 havia em torno de 4000 produtos no mercado e esse número passou para 75.000 em 2008 (FDA, 2015).

O consumo de suplementos alimentares está vinculado a uma combinação de fatores sociais, psicológicos, educacionais e econômicos (CONNER et al., 2005). Algumas pesquisas mostraram que os usuários de suplementos alimentares apresentam características demográficas diferenciadas dos não usuários. Os estudos confirmam que o uso de suplementos alimentares aumenta com a idade e que, dentro de uma faixa etária, é maior entre as mulheres (MESSERER; JOHANSSON; WOLK, 2001; FOOTE et al., 2003; RADIMER et al., 2004; REINERT et al., 2007; BAILEY et al., 2011; BAILEY et al., 2013). Também se pode observar que quanto maior a escolaridade maior é a busca por este tipo de produto (MESSERER; JOHANSSON; WOLK, 2001; BAILEY et al., 2011). Os usuários tendem também a adotar hábitos saudáveis como não fumar e praticar exercícios físicos (FOOTE et al., 2003; RADIMER et al., 2004; REINERT et al., 2007).

Nos Estados Unidos, o NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey) tem sido usado para monitorar o consumo de suplementos alimentares pelos norte-americanos desde 1970. O NHANES I (1971-1974) apontou que 28% dos homens adultos e 38% das mulheres adultas faziam uso de suplementação. No NHANES II (1976-1980) essa taxa aumentou para 32% e 43% respectivamente, resultados próximos aos obtidos no NHANES III (1988-1994) no qual a prevalência

foi de 35% para homens adultos e 43% para mulheres (BAILEY et al., 2011). A análise de dados realizada pelo NHANES no período de 2007 a 2010 revelou que 49% dos norte-americanos adultos relataram o uso de algum suplemento alimentar no prazo de 30 dias de estudo e as principais razões identificadas para o uso foram o intuito de manter (33%) e promover a saúde (45%) (BAILEY et al., 2013). Estes estudos não sugerem que pessoas doentes repentinamente comecem a fazer uso de suplemento alimentar e sim que usuários de suplementação venham a usar mais algum suplemento para o tratamento de uma nova patologia (DICKINSON; MACKAY, 2014).

O NHANES de 1999-2000 mostrou que multivitaminas e multiminerais são os suplementos alimentares com maior prevalência de consumo entre os americanos (35%), seguidos de vitamina E (12,7%), vitamina C (12,4%), cálcio (10,4%), vitaminas do complexo B (5,2%), cromo (2,2%), ferro (1,8%) e ácido fólico (1,4%). Os multivitamínicos foram também os suplementos mais vendidos em 2006 de acordo com os dados de uma pesquisa de mercado publicada no Nutrition Business Journal (SADOVSKY et al., 2008). Outro estudo realizado em 2002 levou em consideração apenas o uso de suplementos que não fossem à base de vitaminas e minerais, como por exemplo os suplementos à base de plantas medicinais, e os dados apontaram que 18,9% da população adulta americana fizeram uso dessas naquele ano. Equinácia (40,3%), Ginseng (24,1%), *Ginkgo biloba* (21,1%) e suplementos à base de alho (*Allium sativum*) (19,9%) foram os mais relatados (BARNES et al., 2004).

Equinácia (*Echinacea purpúrea/augustifolia*) é comumente utilizada para o tratamento de resfriados, porém os estudos avaliando a sua eficácia para esse fim são inconsistentes (LINDE et al., 2006). Ginseng, comercializado com fim de fornecer energia e melhorar o desempenho físico e cognitivo, foi estudado em comparação com placebos avaliando-se o desempenho físico, psicomotor, função cognitiva, função imunomoduladora e diabetes mellitus, mas nenhuma evidência de eficácia para qualquer uma dessas indicações foi encontrada (VOGLER; PITTLER; ERNST, 1999). Extratos de *Ginkgo biloba* estão entre os mais bem caracterizados e estudados e, embora revisões de triagens clínicas tenham encontrado resultados inconsistentes, *Ginkgo* parece ser efetivo para demência e doença de Alzheimer (OKEN; STORZBACH; KAYE, 1998). O alho (*Allium sativum*) tem sido usado para muitos propósitos na medicina popular. Alguns estudos avaliam o efeito do alho na

redução do colesterol e constatam que a redução do colesterol é quase insignificante se comparada com o efeito das estatinas. Além disso, dois casos associaram o uso do alho com um possível aumento no risco de hemorragia (STEVINSON; PITTLER; ERNEST, 2000). A falta de evidências para estas e muitas outras plantas medicinais bem como para alguns suplementos não indica a falta de benefícios, mas sim a falta de estudos conclusivos, positivos ou negativos, para a eficácia da maioria desses produtos (BENT, 2008).

Ainda que muitas vezes os suplementos alimentares não apresentem um efeito terapêutico nem mesmo a necessidade do uso comprovados (GIUNTA; BASILE; TIBUZZI, 2010; PALAMAR, 2011), existe uma superestimação por parte dos consumidores em relação ao grau de regulamentação sobre estes produtos. Muitos usuários e mesmo não usuários acreditam que os suplementos alimentares são aprovados para segurança e eficácia antes de serem lançados no mercado, da mesma forma como os medicamentos. Além disso, a crença de que por se tratarem de produtos naturais não causariam danos à saúde ainda é bem estabelecida. A grande disponibilidade dos mesmos (farmácias, mercados e internet), a não obrigatoriedade de receita médica, o baixo custo comparado com muitos medicamentos tradicionais associado a campanhas publicitárias bastante persuasivas acabam por estimular ainda mais o consumo dos suplementos alimentares.

Atentas a estas tendências, a indústria, farmacêutica e alimentar, vêm desenvolvendo e lançando no mercado um número cada vez maior de suplementos para diversos fins, promovendo não só um aumento na quantidade como também na variedade dos mesmos. Hoje a indústria de suplementos é um dos negócios mais lucrativos no mercado de saúde, avaliada globalmente em cerca de 180 bilhões de dólares em 2010 de acordo com a Euromonitor International (BRASIL, 2014 (a)).

3.4 O USO DE FÁRMACOS PRESCRITOS E SUPLEMENTOS ALIMENTARES NO TRATAMENTO DA OBESIDADE

Em 1997 a OMS descreveu a obesidade como uma perigosa epidemia mundial (WHO, 2000). Desde então a incidência da obesidade tem aumentado em taxas alarmantes e se tornado um dos mais preocupantes problemas de saúde pública, não limitado a países desenvolvidos visto que, obesos e com sobrepeso tem

mais do que triplicado em países em desenvolvimento, alcançando em torno de 900 milhões de adultos (ODI, 2014). Além disso, a obesidade está diretamente relacionada com o desenvolvimento de doenças metabólicas como diabetes e hipertensão, doenças cardiovasculares e outras doenças crônicas como dislipidemia e câncer. Estas doenças crônicas são resultantes da complexa interação entre fatores genéticos, comportamentais e ambientais correlacionados com as condições socioeconômicas e o estilo de vida da população (ORDOVÁS; SHEN, 2008).

O sobrepeso (índice de massa corporal (IMC) maior ou igual a 25 kg/m²) e a obesidade (IMC maior ou igual a 30 kg/m²) são assumidos ser produtos de um desequilíbrio entre a ingestão e o gasto de calorias. Portanto, o aumento nas atividades físicas juntamente com uma dieta de baixa caloria são as principais requisições para um paciente nessas condições (WHO, 2004). No entanto, em muitos casos de obesidade a farmacoterapia se faz necessária para que se tenha algum êxito no tratamento. Os fármacos usualmente atuam pela supressão do apetite, inibição da absorção de gordura ou aumento do consumo de energia e da termogênese (LI; CHEUNG, 2009).

A farmacoterapia da obesidade ganhou propulsão em meados de 1950 com o amplo uso das anfetaminas, principalmente como drogas de abuso. Os agentes serotoninérgicos abriram então uma nova fase de fármacos emagrecedores (1973-1996) com a fenfluramina e a fentermina como principais representantes (CHEUNG; CHEUNG; SAMARANAYAKE, 2013). Nas últimas décadas diversos fármacos para o tratamento da obesidade têm sido introduzidos no mercado como a sibutramina (Reductil[®], Meridia[®], Reduxade[®] e Zeliun[®]), rimonabant (Acomplia[®]), orlistat (Xenical[®]). Porém, na maioria dos casos, a farmacoterapia anti-obesidade não tem oferecido resultados satisfatórios que, associados aos substanciais efeitos adversos e ao potencial de abuso, não compensam os benefícios de curto prazo, o que leva muitos dos medicamentos aprovados a serem subsequentemente retirados do mercado (CHEUNG; CHEUNG; SAMARANAYAKE, 2013). O fato é que o orlistat é o único fármaco mundialmente disponível para o tratamento da obesidade hoje.

Sibutramina: Sibutramina foi aprovada pelo FDA em 1997 para o tratamento da obesidade para longo prazo (>12 meses) (LI; CHEUNG, 2009). Sibutramina é um inibidor da recaptação da noradrenalina e serotonina que reduz o apetite e aumenta a termogênese e a taxa metabólica sem causar sedação ou mudanças

comportamentais. Além disso, leva à diminuição da glicose plasmática, dos triglicerídeos e do colesterol e em pacientes com diabetes tipo 2, à uma redução na hemoglobina glicada (NISOLI; CARRUBA, 2003). Os efeitos adversos mais comumente relatados pelo uso de sibutramina foram dor de cabeça, insônia, boca seca, e constipação. Provoca também um aumento na pressão arterial, o que potencializa o risco de infarto e morte súbita em pacientes com problemas cardiovasculares (NISOLI; CARRUBA, 2003).

Quando foi aprovada pela EMA, já se tinha o conhecimento dos agravantes cardiovasculares causados pela sibutramina. Um estudo de longo prazo foi então requerido para investigar a segurança desse fármaco em pacientes com fatores de risco para doenças cardiovasculares. O SCOUT (Sibutramine Cardiovascular OUTcomes) teve uma duração de 5 anos e envolveu 10742 pacientes obesos ou com sobrepeso que apresentavam algum fator de risco cardiovascular. Os resultados finais do SCOUT mostraram que a sibutramina oferecia redução do peso corporal e da circunferência, porém aumentava significativamente os riscos de eventos cardiovasculares não fatais (JAMES et al., 2010).

Com base nos estudos clínicos do SCOUT, em janeiro de 2010 a EMA suspendeu a autorização para a comercialização da sibutramina e demais medicamentos contendo sibutramina dentro da EU e em outubro do mesmo ano o FDA proibiu a comercialização da sibutramina também nos EUA (EMA, 2010; FDA, 2010). No Brasil a sibutramina continua tendo seu consumo permitido sob regras mais rígidas de controle sanitário sendo necessária notificação de receita “B2” de acordo com a RDC nº 58 de 05 de Setembro de 2007, além da assinatura de um termo de responsabilidade por parte do paciente (BRASIL, 2007), não sendo permitida, de acordo com a RDC nº 50 de 20 de Setembro de 2014, a comercialização, prescrição e dispensação em doses acima da dose máxima permitida de 15 mg (BRASIL, 2014 (c)).

Anfepramona (Dietilpropiona)/Fentermina: Fentermina e anfepramona são medicamentos mais antigos, sem patente e que não foram submetidos a uma avaliação rigorosa como os fármacos mais modernos (LI; CHEUNG, 2009). O uso de anfepramona/fentermina é aprovado nos EUA apenas para tratamentos por um curto período de tempo (até 3 meses). Fentermina era parte da combinação “Fen-Fen” (fentermina-fenfluramina) que causou anomalias valvulares cardíacas, atribuídas, na

época, à fenfluramina. A fentermina é um derivado anfetamínico e exerce seus efeitos terapêuticos principalmente aumentando a atividade adrenérgica, o que reduz a ingestão de alimentos bem como aumenta o gasto energético de repouso (KAPLAN, 2010). A anfepramona foi introduzida no mercado mundial em 1958, na expectativa de ser um medicamento supressor do apetite, sem os efeitos da estimulação do sistema nervoso central. Embora aprovada para curto tempo de tratamento pelo FDA em 1959, ainda faltam evidências que demonstrem sua segurança e eficácia a longo prazo (LI; CHEUNG, 2009). A anfepramona é um pró-fármaco da etilpropiona apresenta efeitos que parecem ser mediados pela ação nos neurônios dopaminérgicos, promovendo, como outros medicamentos tipo anfetamínicos, aumento da liberação de dopamina nos terminais pré-sinápticos. Ambos, fentermina e anfepramona, podem aumentar a pressão arterial e a frequência cardíaca e são, portanto, contra indicados em pacientes com doenças cardiovasculares (CHEUNG, 2011). Outros efeitos secundários incluem a estimulação do sistema nervoso central, tonturas, dor de cabeça, insônia, agitação e sintomas gastrintestinais. Esses medicamentos apresentam efeito de “reforço farmacológico” e por isso os usuários podem se tornar dependentes, já que muitos abusos por uso de medicamentos ocorrem devido a esse efeito.

A anfepramona juntamente com os outros derivados anfetamínicos, femproporex e mazindol, tiveram sua comercialização proibida no Brasil em 2011 com a RDC nº 52 de 06 de Outubro de 2011 da Anvisa devido à falta de eficácia e segurança comprovadas (BRASIL, 2011). Em 2014, a RDC nº 50, de 25 de setembro, liberou novamente a comercialização, a prescrição e a dispensação da anfepramona, femproporex e mazindol como inibidores de apetite desde que dentro da dose máxima permitida (BRASIL, 2014 (c)).

Femproporex: O femproporex é um agente estimulante central e um simpatomimético indireto com efeitos similares a dextroanfetamina. É usado como adjuvante no tratamento da obesidade moderada a grave (BELL et al., 2001). Esse princípio ativo induz alterações neurológicas, inclusive comportamentais e cardiovasculares, como arritmia cardíaca até colapso cardiovascular. O femproporex é sintetizado a partir de modificações na estrutura química da anfetamina (α -metil- β -fenetilamina), produzindo derivados β -fenetilamínicos com influência na neurotransmissão noradrenérgica e dopaminérgica (HALPERN; MANCINI, 2003). A

síntese visa aumentar o efeito anoréxico e reduzir o efeito estimulante central. Assim acreditou-se que o femproporex estaria livre dos efeitos estimulantes das anfetaminas. Por esse motivo, ele foi recomendado como medicamento anorexígeno para tratamento de pacientes obesos com doença cardiovascular. No entanto, reações como inquietude, nervosismo, irritabilidade, insônia, agressividade, psicose, transtorno obsessivo-compulsivo, ansiedade generalizada e pânico são comumente associadas ao femproporex (BELL, et al. 2001). O femproporex nunca foi registrado nos EUA e em 1999 foi retirado do mercado Europeu devido a sua ineficácia. Uma vez que não há estudos clínicos publicados com femproporex, isso demonstra a inexistência de evidências que indiquem a segurança e eficácia desse medicamento, o que faz ser questionada sua permanência no mercado brasileiro.

Mazindol: Mazindol é um fármaco de ação central que bloqueia a recaptação da noradrenalina pelos neurônios pré-sinápticos, aumentando os níveis de noradrenalina dentro da fenda sináptica. O resultado é a estimulação dos receptores adrenérgicos β_2 , no hipotálamo lateral e a inibição da fome. Também inibe a secreção de ácido gástrico e de insulina além de aumentar a atividade locomotora (GUARALDI; PAGOTTO; PASQUALI, 2011). As reações mais comuns associadas ao uso do mazindol são boca seca, constipação, desconforto gástrico, náuseas, insônia e tontura, além de efeitos cardiovasculares como taquicardia, palpitação e elevação da pressão arterial (STALH; IMPERIALE, 1993). O mazindol nunca foi registrado nos EUA e não está disponível para consumo na Europa.

Orlistat: orlistat é um derivado semi-sintético da lipstatina o qual se liga seletivamente e irreversivelmente às lipases pancreáticas, reduzindo a absorção de gordura em cerca de 30% e conseqüentemente as calorias ingeridas, levando à perda de peso (GUARALDI; PAGOTTO; PASQUALI, 2011; KAKKAR; DAHIYA, 2015). Orlistat foi aprovado pelo FDA em 1999, sob prescrição médica, e em 2007 passou a ter venda livre. Com a proibição do uso da sibutramina em 2010, orlistat se tornou o único medicamento aprovado para longo tempo de tratamento na Europa e Estados Unidos. A dose prescrita é de 120 mg, três vezes / dia junto das refeições. Estudos mostraram que pacientes que fizeram uso de orlistat apresentaram além da redução de peso, redução na circunferência abdominal, redução do colesterol total e do LDL, diminuição da pressão sanguínea e uma melhora nos níveis sanguíneos de

glicose comparado com pacientes que receberam placebo (TORGERSON et al., 2004; SHI et al., 2005). No entanto, a utilização de orlistat é limitada pelos seus efeitos adversos, principalmente devido a gordura não ser absorvida no intestino, o que causa dor abdominal, diarreia, flatulência e dispepsia. A suplementação de vitamina pode ser necessária para repor as vitaminas lipossolúveis (CHEUNG, 2009).

Rimonabant: O sistema endocanabinóide desempenha um importante papel na determinação da ingestão de alimentos. Os endocanabinóides agem como ligantes endógenos que ativam os receptores canabinóides do tipo 1 (CB1) e 2 (CB2). O receptor CB1 é expresso no sistema nervoso central e nos tecidos periféricos tais como o tecido adiposo, o trato gastrintestinal, fígado e músculos, que estão envolvidos no metabolismo dos lipídios e da glicose. O receptor CB2 é localizado em células do sistema imunológico e hematopoiético. O aumento da atividade do receptor CB1 no sistema nervoso central (SNC) resulta na ingestão excessiva de alimentos devido à estimulação das vias de recompensa. Uma vez que o sistema endocanabinóide parece estar ativado na obesidade, suprimi-lo pode levar à redução do peso corporal (CHEUNG; CHEUNG; SAMANARAYAKE, 2013). Rimonabant foi o primeiro medicamento desenvolvido para bloquear os receptores CB1 no SNC e periférico levando à supressão do apetite e à perda de peso (PAGOTTO; PASQUALI, 2005). Além do efeito anorexígeno este medicamento apresenta ainda efeito termogênico, aumenta a saciedade, inibe a lipogênese e reduz o armazenamento de gordura no tecido adiposo (CHEUNG; CHEUNG; SAMANARAYAKE, 2013). Rimonabant nunca foi aprovado pelo FDA, mas em 2006 a EMA aprovou seu uso no tratamento da obesidade desde que associado à dieta e exercícios (CHEUNG, 2009). No entanto, este foi removido do mercado pela EMA em 2008 devido ao aumento no risco de efeitos adversos psíquicos como ansiedade, depressão e tendência ao suicídio. Neste mesmo ano a Anvisa também proibiu a sua comercialização.

Locarserin: Em 2012 o FDA aprovou o locarserin para tratamento de longo prazo da obesidade. Locarserin é um agonista potente e seletivo para receptores serotoninérgicos 5HT_{2C} indicado para pacientes obesos e com sobre peso associado a condições de dislipidemia, hipertensão arterial ou diabetes tipo 2. A

função da serotonina na homeostase da energia é bem conhecida e clinicamente exemplificada pela eficácia de outros agentes emagrecedores, como a sibutramina e a fenfluramina, os quais aumentam a disponibilidade de serotonina na fenda sináptica. Por exercer atividade mínima nos receptores 5-HT_{2A} e 5-HT_{2B}, os quais medeiam os efeitos colaterais cardiovasculares, este medicamento é mais seguro não oferecendo os riscos que levaram os fármacos serotoninérgicos anteriores a serem retirados do mercado (THOMSEN et al., 2008). Os eventos adversos mais comuns foram infecção no trato respiratório, dor de cabeça, tontura e náusea. Mesmo assim, o locaserin não foi aprovado na Europa nem no Brasil devido ao risco de carcinogenicidade, distúrbios psiquiátricos e valvulopatia notificados durante ensaios clínicos realizados.

Fentermina/Topiramato: A formulação de liberação prolongada que combina fentermina e topiramato foi aprovada também em 2012 pela FDA para o tratamento de longo prazo da obesidade. O topiramato é um anticonvulsivante agindo em sódio e canais de cálcio do tipo T. O mecanismo exato pelo qual o topiramato age na perda de peso não é claro, mas induz a supressão no apetite e aumenta a saciedade (VERROTTI et al., 2011). Quando combinados, fentermina e topiramato podem ser prescritos no início do tratamento a doses abaixo das doses recomendadas, 3,75 mg para fentermina e 23 mg para topiramato. A dose recomendada é de 7,5 mg e 46 mg podendo chegar a doses máximas de 15 mg e 92 mg para fentermina e topiramato, respectivamente (CHEN, 2016). A combinação do topiramato com a fentermina foi melhor tolerada pelos pacientes e resultou em maior redução no peso e na pressão sanguínea. Os efeitos adversos esperados são parestesia, alterações no paladar, tonturas, perda de memória, insônia e sonolência (GUARALDI; PAGOTTO; PASQUALI, 2011).

Bupropiona/Naltrexona: A combinação de naltrexona e bupropiona foi recentemente aprovada nos EUA como uma formulação de liberação prolongada (Contrave[®]) para os tratamentos da obesidade (FDA, 2014). A bupropiona é um antidepressivo que aumenta a neurotransmissão dopaminérgica e noradrenérgica através da inibição da recaptação. É indicada para o tratamento da depressão e cessação do tabagismo. A naltrexona é um antagonista opióide indicado para o tratamento do alcoolismo. Os eventos adversos mais comuns reportados para esta

associação foram náusea, dor de cabeça, vômito, tontura e insônia. Devido à presença de bupropiona, a formulação de liberação prolongada carrega uma tarja preta advertindo o aumento do risco de comportamento suicida bem como risco de sintomas neuropsiquiátricos, comuns em indivíduos que fazem uso de bupropiona para parar de fumar.

A Tabela 2 sumariza os principais fármacos já empregados no tratamento da obesidade e do sobrepeso, seus mecanismos de ação, principais reações adversas associadas e a atual situação no mercado.

A segurança dos fármacos para o tratamento da obesidade é prejudicada pela má compreensão da fisiopatologia da obesidade. Muitos fármacos tratam apenas uma parte desta complexa interação e produzem efeitos colaterais inaceitáveis. Assim, apesar de resultados favoráveis em termos de redução de peso corporal, a maioria dos fármacos emagrecedores desenvolvidos até agora não têm sido aprovados ou os que foram aprovados têm sido retirados do mercado devido aos efeitos adversos. Essa realidade tem estimulado ainda mais a busca por tratamentos alternativos para a perda de peso, entre os principais, o uso de suplementos alimentares emagrecedores.

A disponibilidade de suplementos alimentares naturais para o tratamento da obesidade tem crescido drasticamente nos últimos anos embora a eficácia clínica destes ainda se mostre incerta na maioria dos casos, assim como em outros tantos tratamentos emagrecedores alternativos. O interesse nesses produtos emagrecedores tem incentivado as pesquisas na área mas há ainda a necessidade de investigação sobre a eficácia dos mesmos, a segurança a longo prazo, a dosagem ideal, possíveis efeitos colaterais e os mecanismos de ação (ESTEGHAMATI et al., 2015).

Os suplementos alimentares têm sido propostos para a perda de peso por fornecerem nutrientes para a dieta restritos em calorias ou ainda por estimular a perda de peso através de mecanismos que diminuem o apetite ou aumentem o metabolismo, semelhantemente aos fármacos convencionais. O suposto mecanismo de ação varia, dependendo do composto (DWYER; ALLISON; COATES, 2005). Pode estar relacionado ao aumento do gasto energético (caféina, efedrina, *Citrus aurantium* (laranja amarga), guaraná e erva mate), aumento da saciedade (fibras solúveis como goma guar, glucomannan e psyllium), aumento da queima de gordura

(chá verde), bloqueio da absorção de gordura (quitosana), modulação do metabolismo de carboidratos (cromo picolinato) ou aumento da eliminação de água (cáscara sagrada).

Cafeína: muitos dos suplementos alimentares comercializados para perder peso contêm misturas de ingredientes que incluem cafeína. A cafeína age sobre o SNC aumentando a taxa metabólica através da inibição da fosfodiesterase e estimulação dos receptores de adenosina que leva ao acúmulo intracelular de monofosfato cíclico de adenosina (AMPc), o qual é metabolicamente excitatório para as células (VAUGHAN; CONN; MERMIER, 2014). Além da estimulação do SNC, o consumo moderado de cafeína (≤ 200 mg) pode causar um aumento transiente na pressão sanguínea, ansiedade, insônia e tremor, mas o seu uso tem se mostrado seguro. Entretanto em quantidades excessivas (≥ 2000 mg) pode causar efeitos tóxicos como náusea, vômito, taquicardia, hipertensão severa, arritmia e até mesmo a morte. Individual sensibilidade aos efeitos da cafeína podem provocar essas reações mesmo a doses mais baixas (GURLEY; STEELMAN; THOMAS, 2014). Em adultos saudáveis a ingestão de até 400 mg de cafeína é considerada tolerável, os efeitos tóxicos agudos iniciam próximo de doses de 1000mg e, 5000 mg a 10000 mg pode ser letal.

Efedra/ Efedrina: *Efedra sinica* ou Ma Huang é um arbusto nativo da Ásia central que contém efedrina como principal substância ativa, um composto simpaticomimético que causa o aumento no gasto de energia. O estimulante β -adrenérgico efedrina age aumentando a biossíntese de AMPc, enquanto a cafeína inibe a degradação deste. Suplementos alimentares contendo efedrina, combinados ou não com cafeína ou outros estimulantes, foram amplamente utilizados a partir de meados de 1990 para estimular a perda de peso. A eficácia em estudos de curto prazo foi comprovada, porém, estudos de eficácia em longo prazo não foram realizados. Em abril de 2004 o FDA proibiu a comercialização de suplementos à base de efedra, chamando a atenção para os riscos cardiovasculares em nível de SNC associados a estes suplementos (DWYER; ALISSON; COATES, 2005) que incluíam palpitação, convulsão, acidente vascular cerebral, arritmia, psicose e até a morte.

Tabela 2 - Fármacos aprovados para o tratamento do sobrepeso e da obesidade e a atual situação no mercado.

Fármaco	Mecanismo de Ação	Efeitos adversos	Situação atual
Sibutramina	Inibição da receptação da serotonina e norepinefrina. Inibidor de apetite.	Dor de cabeça, insônia, boca seca, constipação, taquicardia, hipertensão, infarto e morte súbita.	Retirada do mercado em 2010 pelo FDA e EMA. Permitido pela Anvisa.
Anfepramona (dietilpropiona)/ Fentermina	Liberação de norepinefrina. Supressor de apetite	Dor de cabeça, insônia, irritabilidade, taquicardia e nervosismo.	Permitido a curto prazo pelo FDA. Permitido pela Anvisa (anfepramona).
Femproporex	Aumenta a liberação de neurotransmissores e inibe a receptação de dopamina	Nervosismo, irritabilidade, insônia, agressividade, psicose, transtorno obsessivo-compulsivo, ansiedade e pânico	Nunca aprovado pelo FDA. Retirado do mercado Europeu em 1999. Permitido pela Anvisa.
Mazindol	Inibe a receptação de serotonina e noradrenalina e a secreção de suco gástrico.	Efeitos cardiovasculares como taquicardia, palpitação e elevação da pressão arterial além de boca seca, constipação, desconforto gástrico, náuseas, insônia e tontura.	Nunca registrado pelo FDA e retirado do mercado europeu. Permitido pela Anvisa.
Fenfluramina/ Dexfenfluramina	Inibidores seletivos da receptação da serotonina.	Hipertensão pulmonar e valvulopatia.	Retirado do mercado mundial.
Orlistat	Inibidor da lipase. Reduz a absorção da gordura	Diarreia, flatulência, dor abdominal e dispepsia.	Comercializado para tratamento de longo prazo.
Rimonabant	Bloqueador seletivo do receptor canabinoide (CB1). Inibição de apetite.	Náusea, tontura, artralgia e diarreia.	Retirado do mercado pela EMA e Anvisa em 2008. Nunca aprovado pelo FDA.

Locarsetin	Agonista dos receptores serotoninérgicos 5HT _{2C}	Infecção no trato respiratório, dor de cabeça, tontura e náusea.	Aprovado pelo FDA em 2012. Não aprovado pela EMA nem pela Anvisa.
Bupropiona/ Topiramato	Inibidor da recepção de dopamina e /Antagonista opióide	Náusea, dor de cabeça, vômito, tontura e insônia.	Aprovado pelo FDA em 2014.

Fonte: Autor

Citrus aurantium: também conhecido como laranja amarga tem sido indicado como emagrecedor, efeito atribuído a um de seus principais ingredientes ativos, a sinefrina (oxidrina), amina simpaticomimética estruturalmente similar à epinefrina. Com a proibição da venda de suplementos à base de efedra, os suplementos contendo *C. aurantium* surgiram como uma alternativa para perder peso, sendo responsável por um terço da venda anual de produtos emagrecedores em 2006 (HAAZ et al., 2006). A maioria dos produtos contém de 10-40 mg de sinefrina por dose. A sinefrina pode causar aumento da pressão arterial e, portanto, deve ser usada com cuidado por indivíduos hipertensos, com doenças cardiovasculares ou glaucoma. Ainda assim é reconhecida como segura pelo FDA. Entretanto, estudos mais rigorosos ainda são necessários para avaliar a segurança e eficácia na perda de peso com *C. aurantium* bem como com a sinefrina (DWYER; ALLISON; COATES, 2005).

Guaraná/ Erva mate: o guaraná (*Paulinia cuprana*) contém quantidades relativamente grandes de cafeína e é descrito por retardar o tempo de esvaziamento gástrico. Tem sido usado em preparações combinadas com erva mate (*Ilex Paraguariensis*). Os principais efeitos adversos relatados são irritabilidade, palpitação cardíaca e ansiedade (PITTLER; SCHMIDT, ERNST; 2005).

Fibras solúveis: O Glucomannan é um componente de raiz konjac, derivado de *Amorphophallus konjac* C. Koch. A sua estrutura química é semelhante à do galactomann da goma guar e compreende uma cadeia de polissacarídeo de glucose e manose. Sugere perda de peso significativa quando comparado ao placebo em estudos clínicos. Não apresenta eventos adversos (DWYER; ALLISON; COATES, 2005). A goma guar é uma fibra dietética derivada do feijão indiano (*Cyamopsis tetragonolobus*) e é eficaz na redução do peso corporal de acordo com algumas meta-análises. Alguns efeitos gastrointestinais podem ser observados (DWYER; ALLISON; COATES, 2005; PITTLER; SCHMIDT, ERNST; 2005). O Psyllium é uma fibra derivada das sementes de *Plantago ovata*. Há controvérsias com relação a um efeito emagrecedor significativo em estudos quando comparado ao placebo. Além disso são reportados efeitos adversos como flatulência, distensão abdominal, indigestão e náusea (DWYER; ALLISON; COATES, 2005; PITTLER; SCHMIDT, ERNST; 2005).

Chá verde (Cammelia sinensis): o mecanismo de ação do chá verde pode ser descrito como um estímulo simpaticomimético no SNC que provoca o aumento no consumo de energia e a oxidação de gorduras. Mostrou-se clinicamente ineficaz na redução de peso em estudo com duração de 12 semanas (ESTEGHAMATI et al., 2015).

Quitosana: quitosana é um polissacarídeo produzido da quitina, substância derivada do exoesqueleto de crustáceos, que atua reduzindo a absorção de gordura. Estudos sugerem uma redução de peso significativa, além de reduzir o colesterol e a pressão sanguínea, quando comparado com o placebo. A dose sugerida é de 4.5 g/dia (NAJM; LIE, 2010). Efeitos adversos mais frequentes são constipação e flatulência (PITTLER; SCHMIDT, ERNST; 2005).

Cromo picolinato: o cromo é um elemento traço essencial e cofator para a melhor atividade da insulina, por isso acredita-se que atue na facilitação da receptação de glicose pelo tecido muscular com consequente aumento da massa magra, diminuição da porcentagem de gordura corporal e aumento da taxa metabólica (PITTLER; SCHMIDT, ERNST; 2005). O cromo é usualmente comercializado em formulações para perda de peso individualmente ou em combinação com outros produtos naturais. As doses recomendadas são de 200-400 mg/dia (NAJM; LIE, 2010).

Garcínea Camboja: contém o ácido hidroxicítrico cujo mecanismo de ação é inibir a atividade da enzima citrato liase dependente de ATP (a qual estimula a degradação de citrato em oxaloacetato e acetil-CoA) induzindo uma sensação de saciedade ou reduzindo o apetite e suprimindo a síntese de novos ácidos graxos. É indicada no tratamento da obesidade, sobretudo, por não apresentar efeitos colaterais uma vez que as evidências de eficácia não são convincentes (ESTEGHAMATI et al., 2005).

Apesar de muitos ingredientes naturais apresentarem um efeito sobre a perda de peso existem ainda muitas incertezas em relação à magnitude desse efeito e sua real eficácia no tratamento do sobrepeso e da obesidade (VAUGHAN; CONN; MERMIER, 2014). Além disso, os suplementos alimentares não estão isentos de

oferecer riscos para a saúde dos consumidores. O controle de qualidade destes produtos não é o mesmo exigido para os produtos químicos de grau farmacêutico e a variabilidade do conteúdo pode estar presente de lote para lote o que pode intervir na eficácia, bem como nas reações indesejáveis, de um produto para outro.

3.5 RISCOS ASSOCIADOS AO CONSUMO DE SUPLEMENTOS ALIMENTARES

A ideia geral sobre os suplementos alimentares é de que eles são seguros e não apresentam efeitos adversos. Porém, ao contrário do que a maioria dos consumidores de suplementos alimentares imagina, esses produtos oferecem riscos dos mais diversos à saúde. O equívoco comum em se acreditar que esses produtos são totalmente seguros à saúde se contrapõe aos riscos já relatados devido ao uso inadequado dos mesmos. Os fatores que afetam a segurança dos suplementos alimentares podem ser classificados como intrínsecos e extrínsecos.

Os efeitos adversos devido a fatores intrínsecos dizem respeito àqueles causados pela toxicidade intrínseca dos constituintes da própria planta, os quais podem ser farmacologicamente ativos e produzir as mais diversas reações adversas, até mesmo a morte. Os efeitos indesejados mais observados decorrentes do uso de suplementos à base de plantas medicinais incluem reações alérgicas, hepatotoxicidade, nefrotoxicidade, cardiotoxicidade, citotoxicidade e genotoxicidade (GLISSON; WALKER, 2010).

Já os efeitos adversos extrínsecos podem ser associados a erros de identificação de espécie, contaminação, falta de padronização, preparação incorreta ou dosagem inadequada.

Confusões de nomenclatura podem ser uma das razões para erros de identificação de espécies, visto que as plantas medicinais são conhecidas por diferentes nomes como o nome científico, o nome popular (que pode variar de um local para outro) e os nomes comerciais. Na China, por exemplo, prescrições de *Caulis akebiae* (Mu Tong) substituídas por *Aristolochia Manshuriensis* (Guan Mu Tong) e *Stephania tetradra* (Han Fangji) substituída por *Aristolochia fangchi* (Guang Fangji) têm causado sérios problemas de nefropatia em virtude do ácido aristoláquico (VANHAELEN et al., 1994; LORD et al., 1999).

A contaminação de suplementos alimentares é definida como uma divergência a partir das informações contidas na embalagem. A contaminação em geral ocorre

acidentalmente devido a contaminantes presentes na própria matéria-prima ou resultante dos processos de manufatura, transporte e armazenamento. Quando a contaminação é intencional passa a ser chamada de adulteração e ambas podem ser distinguidas pelo tipo e efeito do contaminante, se este visa melhorar o produto ou se sua presença é irrelevante para os efeitos reivindicados para o suplemento (COLE; FETROW, 2003). Os contaminantes prevalentemente identificados em suplementos alimentares, sobretudo naqueles à base de plantas medicinais, incluem, mas não se limitam a metais pesados, pesticidas, microrganismos patogênicos e toxinas. A adulteração, caracterizada pela adição não declarada de fármacos sintéticos é uma prática intencional, ilegal e recorrente. Observa-se, então, que a segurança dos suplementos alimentares está criticamente associada à sua qualidade. Enquanto os produtos à base de plantas estão inevitavelmente ligados a reações intrínsecas todos os casos de efeitos extrínsecos poderiam ser minimizados e até mesmo evitados com apropriado controle de qualidade no processo de fabricação (HE et al., 2015). Existe ainda uma terceira classificação para os efeitos adversos dos suplementos alimentares relacionada aos casos de interação medicamentosa com outros suplementos ou com medicamentos convencionais.

3.5.1 Adulteração com fármacos convencionais

A adulteração de suplementos alimentares é sempre dita fraudulenta e consiste em “tornar impuro” pela adição extra, imprópria ou inferior de ingredientes. A adulteração pode acontecer pela substituição de um produto botânico por outro, em geral de menor valor, ou pela adição intencional de fármacos sintéticos à formulação com o intuito de intensificar o efeito farmacológico desejado e promover comercialmente o produto. Os fármacos sintéticos adicionados, ditos adulterantes, não são declarados na embalagem dos produtos visto que, de acordo com as regulamentações, a presença destes é proibida em suplementos alimentares.

Os adulterantes identificados em suplementos alimentares não se restringem somente a fármacos prescritos, aprovados para uso. Muitos análogos desses fármacos, substâncias ainda em fase de estudo e inclusive medicamentos já removidos do mercado em decorrência dos riscos que ofereciam aos usuários são relatados com frequência (HUANG; WEN; HSIAO, 1997; ERNST, 2002 (c); COLE; FETROW, 2003). Além disso, não se observa um critério de dose quando esses

adulterantes são quantificados. Alguns estão presentes em doses baixas, outros em concentrações dentro da faixa terapêutica e muitos excedem significativamente a sua dose terapêutica. As adulterações também não se limitam à adição de um único fármaco por formulação. Em vários produtos são identificados coquetéis de adulterantes que geralmente estão associados por apresentarem uma ação sinérgica potencializando ainda mais o efeito farmacológico ou com o intuito de mascarar a presença de outros adulterantes na formulação, quando um adulterante é capaz de minimizar os efeitos adversos de outro. Algumas vezes, porém, a presença de vários adulterantes parece não ter propósito (CARVALHO et al., 2011 (b)).

Vários estudos têm mostrado o crescente número de casos de adulteração de suplementos alimentares e enfatizado sobre os riscos que essas formulações oferecem à saúde dos consumidores (FRASER et al., 1997; ERNST, 2002 (c); CARVALHO et al., 2011 (b); NEVES; CALDAS, 2015). Fármacos das classes dos anti-inflamatórios, analgésicos e relaxantes musculares vêm sendo detectados como adulterantes em suplementos alimentares desde que os primeiros casos de adulteração foram identificados na década de 70 nos Estados Unidos (FRASER et al., 1997). Desde então outras classes farmacológicas, sobretudo aquelas voltadas para o tratamento de doenças crônicas como diabetes e hipertensão arterial, têm sido também relatadas com certa frequência. Suplementos alimentares para redução de peso estão entre os principais alvos da prática da adulteração hoje. Fármacos anorexígenos, ansiolíticos, antidepressivos, diuréticos, laxantes e estimulantes são os mais frequentemente encontrados nessas formulações (CARVALHO et al., 2011 (a)). Outro grupo de suplementos alimentares frequentemente adulterados são aqueles voltados para os atletas profissionais e amadores que auxiliam no ganho de massa muscular e são, portanto, frequentemente investigados por poderem conter anabolizantes não declarados na sua composição (CHO et al., 2015). Além desses, os estimulantes sexuais inibidores da fosfodiesterase tipo 5 (PDE-5), bem como seus análogos, representam um grande e importante grupo de fármacos que são adicionados ilegalmente em suplementos visando o melhoramento da performance masculina (VENHUS; KASTE, 2012; PATEL et al., 2014).

A seguir serão descritos alguns dos principais casos de adulteração de suplementos alimentares e produtos à base de plantas medicinais já relatados na literatura. Os casos reportados envolvendo formulações com propósito emagrecedor

bem como os principais adulterantes descritos serão revisados mais adiante na sessão 3.5.4.2.

3.5.1.1 Casos de adulteração de suplementos alimentares e produtos naturais

Na década de 70, uma formulação de origem chinesa conhecida por Black Pearls e indicada para o tratamento da dor associada à artrite reumatoide, teve sua importação e venda banida nos Estados Unidos pelo FDA após seu uso ter sido associado a quatro casos de agranulocitose (febre alta, fraqueza e ulceração) incluindo morte em um dos casos. Na época foi identificada a presença não declarada de aminopirina e fenilbutazona nos produtos. Outros laboratórios do FDA passaram a analisar amostras de Black pearls e também encontraram indometacina, hidroclorotiazida e clordiazepóxido. Internacionalmente, laboratórios relataram ter encontrado ainda combinações de prednisona, indometacina, hidroclorotiazida, diazepam, ácido mefenâmico e dexametasona. Entretanto, mesmo após a proibição das Black pearls nos Estados Unidos, ainda era possível ter acesso a esses produtos através de lojas orientais e pelo serviço de correios. No período de 1992-1996 o centro de química forense do FDA voltou a examinar o conteúdo das Black pearls em quase cem amostras representativas de seis diferentes produtos, provindo de cinco diferentes manufaturas. Dessas, 13 amostras estavam adulteradas com 7 diferentes combinações de diazepam, diclofenaco, hidroclorotiazida, indometacina e ácido mefenâmico. Este tem sido descrito como um dos primeiros casos de adulteração revelados nos Estados Unidos (FRASER et al., 1997).

No período de 1990 a 1997, 2080 produtos naturais de origem chinesa foram analisados em Singapura com o intuito de detectar a presença de fármacos não declarados. Trinta e duas amostras revelaram conter 19 diferentes adulterantes pertencentes às classes dos anti-histamínicos (clorfeniramina, prometazina, ciproheptadina), anti-inflamatórios não esteroidais (diclofenaco, indometacina, ibuprofeno), analgésicos antipiréticos (paracetamol, dipirona) e corticosteroides (prednisolona, dexametasona, fluocinonide). Além desses, barberina, hidroclorotiazida, cafeína, teofilina, efedrina, diazepam, fenformina e tetraidropalmitina também foram identificados (KOH; WOO, 2000).

Uma investigação analítica realizada por Huang e colaboradores (1997) mostrou que 618 (23,7%) das 2609 amostras adquiridas em Taiwan eram

contaminadas com pelo menos um adulterante e 53% destas continham mais de um adulterante na formulação. Produtos com indicação para tratamento da artrite reumatoide e com indicações analgésicas e anti-inflamatórias foram as que mais apresentaram adulteração. Mais de um terço das amostras continham cafeína e pelo menos um quarto continham paracetamol ou indometacina. Além desses fármacos foram detectados ainda hidroclorotiazida, prednisolona, clorzoxazona, etoxibenzamida, fenilbutazona, betametasona, teofilina, dexametasona, diazepam, butesin, clorfeniramina, prednisona, oxifenbutazona, diclofenaco, ibuprofeno, cortisona, hidrocortisona, cetoprofeno, fenobarbital entre outros de menor ocorrência (HUANG; WEN; HSIAO, 1997). Fenilbutazona e oxifenbutazona além de cafeína foram também identificadas em produtos à base de plantas medicinais na Indonésia (LAU et al., 2003).

Um trabalho de revisão abordando relatos de casos de suplementos alimentares adulterados foi publicado por Ernst em 2002. Dezenove casos reportados no período de 1975-2001 ocorridos nos Estados Unidos, Reino Unido, Austrália, Holanda, Bélgica, Nova Zelândia e China foram descritos. Uma ampla variedade de adulterantes foi identificada como aminopirina, fenilbutazona, fenacetina, dexametasona, indometacina, diazepam, hidroclorotiazida, hidrocortisona, fluocinolona, diclofenaco, ácido mefenâmico, clobetasol, fenitoína, metilsalicilato e glibenclamida (ERNST, 2002 (c)).

Analgésicos e anti-inflamatórios foram também os adulterantes encontrados em 53 de 214 amostras de suplementos alimentares coletadas na Coreia do Sul no período de 2010 a 2012. Ibuprofeno foi o mais comumente utilizado sendo quantificado em concentrações que variaram de 1,06 - 233,40 mg/g de amostra. Além deste foram também identificados paracetamol, diclofenaco, indometacina, naproxeno e piroxicam (KIM et al., 2014).

Na África do Sul dois casos de intoxicação grave foram registrados após o uso de plantas medicinais tradicionais, nos quais a análise dos medicamentos indicou a adulteração com fármacos sintéticos. O anticonvulsivante trimetadiona foi detectado no produto utilizado em um dos casos e ambos, propofol e diclofenaco, no outro produto (SNYMAN et al., 2005).

Um estudo analítico realizado por um laboratório de Nova Iorque analisou 90 amostras de suplementos alimentares comercializadas na cidade. Cinco delas continham 9 diferentes fármacos sintéticos: prometazina, clometiazol, clorfeniramina,

diclofenaco, clordiazepóxido, hidroclorotiazida, triamtereno, difenidramina e sildenafil (MILLER; STRIPP, 2007).

Oitenta fármacos pertencentes a oito classes farmacológicas (analgésicos, antibióticos, hipoglicemiantes, antiepiléticos, estimulantes sexuais, hormônios e anabolizantes, psicotrópicos e fármacos emagrecedores), considerados como os mais relatados em casos de adulteração foram incluídos em uma investigação analítica de adulteração em produtos à base de plantas medicinais, publicada por Bogusz e colaboradores na Arábia Saudita. Nove amostras analisadas foram detectadas com a presença de sildenafil, tadalafil, testosterona, glibenclamida, fenfluramina, fentermina, cafeína, fenilbutazona e ou dipirona não declarados nas formulações (BOGUSZ et al., 2006).

Na China, uma pesquisa avaliou 200 amostras de produtos naturais chineses e detectou em 74 delas a presença de pelo menos um dos adulterantes investigados: sildenafil (28), famotidina (18), ibuprofeno (3), prometazina (2), diazepam (3), nifedipina (6), captopril (8), amoxicilina (2) e dextrometorfano (4) (LIANG et al., 2006)

Também na China, cápsulas do suplemento Gold Nine Soft declarado possuir somente compostos naturais e com uso recomendado para o tratamento da hipertensão arterial foram identificadas com a presença de três fármacos anti-hipertensivos sintéticos, amlodipina (bloqueador dos canais de cálcio), indapamida (diurético) e valsartan (antagonista dos receptores de Angiotensina II), cabendo muito provavelmente a estes o efeito hipotensor da formulação (KESTING; HUANG; SØRENSEN, 2010). Outro anti-hipertensivo, clonidina, e o diurético hidroclorotiazida foram detectados em amostras de suplemento alimentar analisadas em outro estudo (LU et al., 2010).

Uma investigação analítica focada na determinação de agentes hipoglicemiantes (metformina, fenformina, rosiglitazona, pioglitazona, glipizida, tolbutamina, gliclazida, repaglinida, glimepirida, gliquidona) em 63 suplementos alimentares e 34 produtos à base de plantas medicinais encontrou em sete das amostras analisadas os adulterantes glibenclamida (6), metformina (5) e fenformina (2) sozinhos ou em combinação (GUO et al., 2014). Outro estudo que avaliou 17 amostras (9 suplementos alimentares e 8 produtos de origem chinesa) identificou a presença de glibenclamida e rosiglitazona em um dos produtos chineses e glibenclamida bem como rosiglitazona e glimepirida em dois suplementos

(WANG et al., 2009). Metformina foi também detectada como adulterante em duas amostras de suplemento à base de plantas medicinais adquiridas na China (ZHOU et al., 2011) e glibenclamida foi encontrada no produto chinês Liow-Wey-Dih-Hwang-Wan (KU et al., 2003).

Uma inspeção farmacêutica na Bélgica interceptou, ao longo do ano de 2004, 19 amostras de suplementos alimentares suspeitas de conter anabolizantes esteroides. Após um *screening* para 49 compostos anabolizantes, quase 60% das amostras revelaram conter ao menos um dos compostos. Os esteroides mais frequentemente identificados foram testosterona e β -boldenona (VAN POUCKE et al., 2007). Outras 19 amostras coletadas em 2014 pela internet foram submetidas a um *screening* para 26 anabolizantes. Nesta investigação analítica quase 50% das amostras (9/19) estavam adulteradas e os principais anabolizantes identificados foram testosterona, testosterona-17-propionato, boldenona e testosterona-17-valeriato (CHO et al., 2015).

Mais de 90 amostras de suplementos alimentares fabricados nos Estados Unidos (62), na Ásia (15) e com origem não identificada (14) foram analisadas para adulteração com inibidores da PDE-5. Embora nenhuma amostra declarasse conter alguma substância sintética, em 74 amostras (81%) foram detectados sildenafil e ou tadalafil e análogos. Em 18 amostras das que continham sildenafil e ou tadalafil, esses fármacos foram quantificados em doses acima de 110% da dose recomendada (CAMPBELL et al., 2013).

Na França, 150 amostras de suplementos alimentares comercializadas para a melhora do desempenho sexual e que declaravam conter apenas produtos naturais, como extratos de plantas e vitaminas, foram investigadas. 61% das amostras adulteradas com inibidores da PDE-5 (sildenafil, tadalafil, vardenafil) e 34% com seus análogos modificados estruturalmente. 25% das amostras adulteradas continham esses fármacos em doses acima das doses terapeuticamente recomendadas e 5,5% continham ainda a presença de outros adulterantes como testosterona, deidroepiandrosterona, ioimbina, flibanserina e fentolamina (GILARD et al., 2015). Desde que o Viagra[®] (sildenafil) foi aprovado no mercado e também mais tarde com a aprovação do Cialis[®] (tadalafil) e Levitra[®] (vardeafil) um número cada vez maior de análogos desses fármacos tem sido desenvolvido e comercializado no mercado ilegal ou sendo identificados como adulterantes de suplementos alimentares. Estima-se que já existam em torno de 50 diferentes análogos

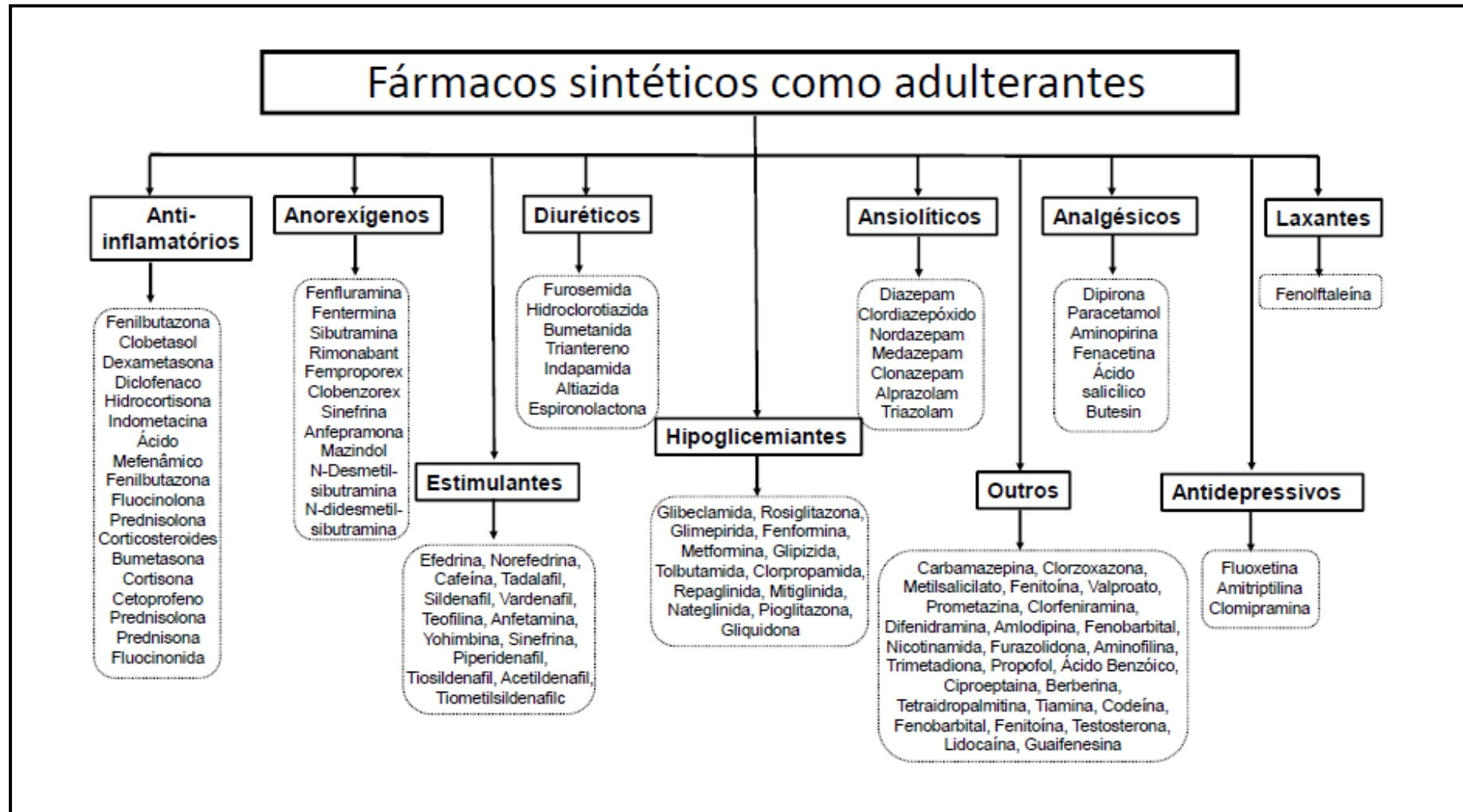
reportados, aos quais se somam além dos riscos terapêuticos (similares aos dos fármacos aprovados) a falta de conhecimento da farmacocinética e da real toxicidade dessas substâncias (VENHUIS; KASTE, 2012).

Um estimulante sintético nunca usado antes em humanos foi encontrado em 12 diferentes marcas de suplemento alimentar comercializado nos Estados Unidos que tinham como propósito melhorar o desempenho atlético, estimular a perda de peso e a função cerebral. 1,3-dimetilbutilamina, análogo do 1,3-dimetilamilamina, o qual foi banido pelo FDA recentemente, foi detectado nos suplementos em uma faixa de 13 a 120 mg/cápsula. Seguindo as recomendações de dose os consumidores poderiam vir a ter uma ingestão de 26 a 320 mg da substância por dia (COHEN; TRAVIS; VENHUIS, 2015).

Baseado nos casos de adulteração de suplementos alimentares e produto à base de plantas medicinais relatados na literatura nas últimas décadas, um artigo de revisão publicado em 2011 por Carvalho e colaboradores descreveu esquematicamente os principais fármacos já identificados como adulterantes classificando-os de acordo com a respectiva classe farmacológica. A Figura 1 mostra este esquema adaptado a partir do trabalho citado (CARVALHO et al., 2011 (b)).

De acordo com os casos descritos acima é possível observar a gama de possibilidades de adulteração que pode ser identificada nestas formulações ditas naturais. Os fármacos descritos são capazes de causar os mais variados efeitos adversos podendo estes ser ainda potencializados pela combinação de mais de um adulterante em um mesmo produto ou mesmo pelo risco de interação medicamentosa com ingredientes ativos da própria formulação ou com outros medicamentos prescritos que o consumidor possa estar fazendo uso. Além disso, ficou clara, em muitos casos, a falta de critério para a escolha dos adulterantes ilegalmente adicionados, inconsistentes com o propósito do produto, bem como as doses quantificadas (dose baixa, dose terapêutica, sobre dose) que, muitas vezes, apresentaram uma grande variação de conteúdo entre cápsulas de um mesmo produto.

Figura 1: Principais fármacos já identificados como adulterantes classificados de acordo com a respectiva classe farmacológica.



Fonte: Adaptado de CARVALHO et al., 2011 (b).

3.5.1.2 Casos de adulteração de suplementos alimentares e produtos naturais para emagrecimento

Os suplementos alimentares para perda de peso estão entre os mais consumidos hoje em dia. Carvalho e colaboradores (2011(a)) revisaram os casos de adulteração que envolvem as formulações para o emagrecimento. As principais classes farmacológicas reportadas foram anorexígenos, ansiolíticos, antidepressivos, diuréticos e laxantes.

Um estudo realizado no Brasil relatou a ocorrência de adulteração de produtos naturais comercializados para perda de peso com anorexígenos e ou benzodiazepínicos em pelo menos 50% dos produtos analisados (AURICCHIO; BATISTIC; MARKMAN, 1991). Em outro caso, também no Brasil, Almeida e colaboradores investigaram a adulteração de produtos naturais empregados no tratamento da obesidade. Das amostras analisadas, 40% estavam adulteradas com pelo menos um dos adulterantes anfepramona, femproporex e/ou diazepam (ALMEIDA; RIBEIRO; POLESE, 2000). Cunha e colaboradores conduziram também um estudo com 40 suplementos brasileiros detectando em 18% dos produtos a presença de anfepramona, femproporex, fluoxetina e/ou benzocaína (CUNHA et al., 2002).

A adulteração com fármacos sintéticos de produtos naturais de origem asiática foi relatada em diversos trabalhos de Ernst e colaboradores (ERNST; WHITE, 2000; ERNST, 2002(b); ERNST, 2002(c)). Além dos casos com produtos emagrecedores, comercializados principalmente nos Estados Unidos, Europa e Ásia, foram descritos também outras classes farmacológicas compreendendo os hipoglicemiantes, anti-inflamatórios e antiepiléticos.

Corns e Metcalfe (2002) descreveram três casos, na Inglaterra, de usuários de suplementos emagrecedores que desenvolveram sintomas como aumento da pressão arterial, palpitação, náuseas e alucinações. Nos três casos a descrição dos produtos eram semelhantes indicando se tratar da mesma formulação, entretanto em um dos casos a análise do suplemento revelou a presença não declarada de efedrina enquanto que nos outros dois fenfluramina foi o adulterante encontrado (CORNS; METCALFE, 2002). Fenfluramina foi também encontrada em duas amostras de produtos medicinais naturais analisadas por Ku e colaboradores (KU et

al., 1999). Além da fenfluramina, clobenzorex e anfepramona foram também identificados por este autor em outros dois produtos do mesmo gênero.

Em 2006 uma investigação analítica de pelo menos 60 fármacos em suplementos à base de plantas medicinais para diferentes propósitos, inclusive emagrecedores, foi realizada na Arábia Saudita. Foi detectada em um dos produtos a presença de fenfluramina, fentermina e cafeína (BOGUSZ et al., 2006). Tanto fenfluramina quanto fentermina foram retirados do mercado na década de 90 devido aos riscos para os usuários.

Na Alemanha uma série de casos de intoxicações relacionadas ao uso de suplementos alimentares foi investigada no período de 2005 a 2008. Todas as amostras analisadas revelaram a presença ilegal de sibutramina sendo que a dose quantificada nas cápsulas era aproximadamente o dobro da dose recomendada (MÜLLER; WEINMANN; HERMANNNS-CLAUSEN, 2009). Sibutramina também foi identificada em produtos naturais de origem chinesa após alguns usuários relatarem sintomas de dor de cabeça e vertigem. Nesses casos a análise da urina dos usuários e a análise das amostras confirmaram a presença de sibutramina (JUNG; HERMANNNS-CLAUSEN; WEINMANN, 2006).

Um levantamento de casos em Hong Kong identificou a relação de quatro pacientes hospitalizados devido ao uso de suplementos emagrecedores adulterados. Um dos pacientes apresentou grave lesão hepática necessitando de transplante. Neste caso foram encontrados no suplemento N-nitrosafenfluramina, fenfluramina, cafeína e nicotinamida. Um segundo paciente teve crise de psicose aguda sendo que no suplemento foi detectado um metabólito ativo da sibutramina (didesmeti-sibutramina). Outros dois pacientes fizeram uso do mesmo produto no qual foram identificados N-nitrosafenfluramina, fenfluramina, sibutramina, fenolftaleína, propranolol e cafeína. Um desses pacientes apresentou completa recuperação com o uso de agentes simpaticomiméticos, porém o outro veio a óbito (YUEN et al., 2007).

Na Índia, amostras de suplementos emagrecedores à base de ervas foram analisados para a presença de sibutramina ou rimonabant. Em duas das amostras analisadas foi encontrado rimonabant enquanto que uma terceira amostra apresentou sibutramina. A amostra adulterada com sibutramina continha uma dose de 38,64 mg de sibutramina por cápsula, mais do que o dobro da dose diária recomendada para este fármaco (15mg/dia) (KANAN et al., 2009)

Em 2009 Cohen reportou dois casos de adulteração de suplementos alimentares fabricados no Brasil, ocorridos nos Estados Unidos. Em uma das formulações foram identificados femproporex e clordiazepóxido e na outra femproporex e fluoxetina de acordo com informações publicadas oficialmente pelo FDA. Os usuários relataram sintomas que incluíam dor de cabeça, palpitação, insônia, náusea e fadiga. Estes relatos levaram à investigação analítica das formulações confirmando a adulteração (COHEN, 2009). Também em 2009, o FDA identificou diversos produtos naturais contendo, ilegalmente, sibutramina, fluoxetina, furosemida, bumetanida, sildenafil, tadalafil, vardenafil, entre outros (FDA, 2009a; FDA, 2009b, FDA, 2009c). A maioria destes suplementos era comercializada para a perda de peso, para melhorar a performance de atletas e o desempenho sexual (COHEN; ERNST, 2010).

Ainda em 2009, na Holanda, uma inspeção de formulações naturais utilizadas para emagrecer identificou 16 diferentes produtos farmacêuticos presentes em pelo menos 248 produtos analisados. Entre os adulterantes foram detectados os diuréticos furosemida, hidroclorotiazida e espironolactona. Fenolftaleína foi o único laxante identificado nas formulações. Sibutramina e outras aminas como efedrina, sinefrina e cafeína também foram detectadas em vários dos suplementos (RIVM, 2009). Diuréticos, laxantes e estimulantes foram descritos também como os principais adulterantes identificados em suplementos emagrecedores em casos reportados na Jordânia (AL-SAFI et al., 2007).

Outro estudo realizado na Holanda, visando avaliar a qualidade dos suplementos alimentares comercializados no país, encontrou, em 41 das amostras analisadas, sibutramina e seus dois metabólitos ativos (desmeti-sibutramina e didesmetil-sibutramina), rimonabant, sildenafil e/ou fenolftaleína, os quais não constavam nos rótulos das embalagens (REEUVIJK et al., 2014).

Um método de análise desenvolvido por Rebiere e colaboradores (2012) foi aplicado na investigação de 34 compostos emagrecedores em 32 diferentes suplementos alimentares e formulações à base de plantas medicinais na França. Em todas as amostras analisadas foram detectados pelo menos um dos seguintes fármacos na condição de adulterante: cafeína, clenbuterol, nicotinamida, fenolftaleína, rimonabant, sibutramina, sinefrina e yohimbina. As concentrações foram bem variadas mesmo quando se tratava do mesmo adulterante (REBIERE et al., 2012).

Outra investigação analítica de 29 fármacos utilizados para a perda de peso em suplementos alimentares para este propósito foi realizada por Kim e colaboradores (KIM et al., 2014). Das 122 amostras coletadas para análise, 61 estavam adulteradas com um ou mais dos fármacos estudados. Sibutramina foi encontrada em 25,7% das amostras, seguido de sennoside A, sennoside B, fluoxetina, desmetil-sibutramina, bisacodil, efedrina, pseudoefedrina e didesmetil-sibutramina.

Oito suplementos alimentares emagrecedores comercializados no Irã foram também analisados para sibutramina, fenolftaleína, bumetonida, fenitoína e rimonabant, na condição de adulterantes. Apenas uma das amostras não estava adulterada e somente rimonabant não foi detectado como adulterante neste caso (KAZAN et al., 2014).

Em 2014 também foi reportado o primeiro caso de adulteração com lorcaserina, um fármaco emagrecedor aprovado pelo FDA em 2012 sob controle especial devido aos efeitos alucinógenos. A dose detectada no suplemento foi de 6,6 mg/capsula, abaixo da dose diária recomendada (10-20 mg/dia) o que não isenta o produto de oferecer riscos aos usuários (HACHEM; MALET-MARTINO; GILARD, 2014).

Com base no que foi previamente reportado percebe-se que há duas formas principais de identificar a prática ilegal da adulteração. Uma é através do relato de casos clínicos e outra através da investigação analítica.

A identificação a partir dos usuários que fazem uso desses produtos é dependente da manifestação de reações adversas que nem sempre ocorrem e, ainda assim, a correlação desses sintomas com o consumo de suplementos alimentares ou produtos naturais à base de plantas medicinais muitas vezes não se torna evidente, o que dificulta a confirmação da fraude. Ainda assim, uma situação ideal seria a de que esses produtos fossem identificados e retirados do mercado antes mesmo de chegar ao consumidor e causar algum dano à saúde destes.

Nesse contexto a investigação analítica mostra-se essencial para revelar um maior número de casos de adulteração e tentar assegurar a qualidade dos produtos que estão disponíveis para o consumo de um número cada vez maior de usuários. Para isso, no entanto, são necessários métodos analíticos seletivos e sensíveis para a detecção e quantificação destes adulterantes nestas formulações como será visto a seguir.

3.5.1.3 Métodos aplicados ao estudo da adulteração de suplementos alimentares e produtos naturais emagrecedores

Com o uso crescente e globalizado dos suplementos alimentares associado ao aumento nos casos de produtos adulterados existe a necessidade de um aumento no número de métodos capazes de detectar uma grande variedade de adulterantes, preferencialmente em uma única análise. Os casos de adulteração de suplementos alimentares com fármacos sintéticos até hoje relatados foram identificados e confirmados porque esses métodos foram previamente desenvolvidos e validados.

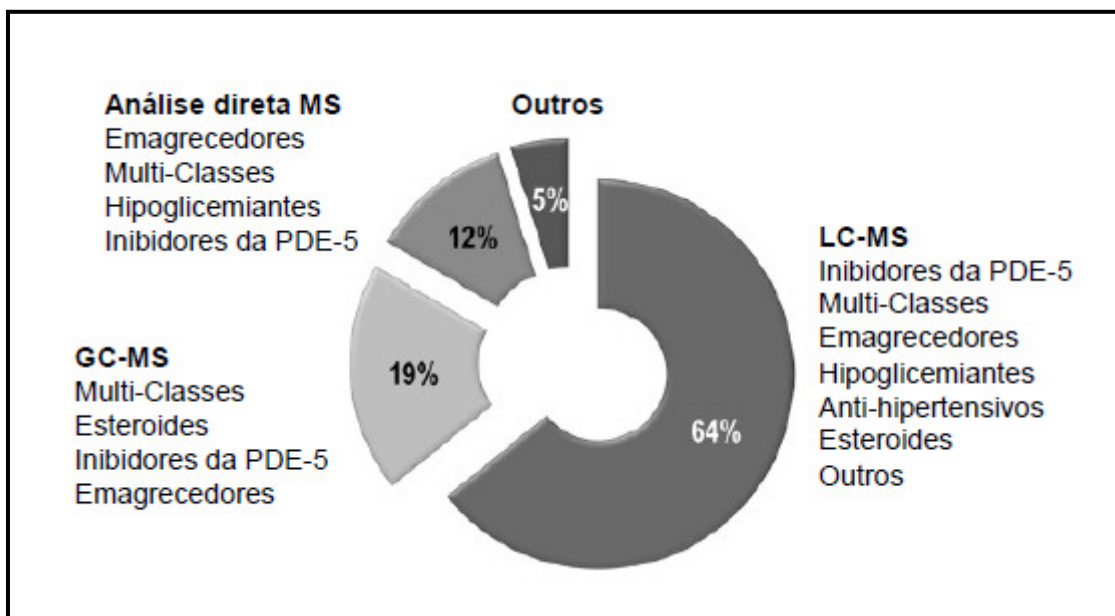
A estratégia geral para a análise de uma formulação suspeita começa com o *screening* para a procura dos mais diversos compostos. Visto o panorama das adulterações se faz necessário que os métodos sejam seletivos, permitindo rastrear um ou mais adulterantes simultaneamente mesmo na presença de interferentes, e de alta sensibilidade, capazes de detectar a presença do adulterante mesmo em doses mínimas.

A grande maioria dos métodos desenvolvidos para este propósito emprega cromatografia como técnica de separação, sendo a cromatografia líquida a mais utilizada. Métodos por eletroforese capilar e espectrofotometria também têm sido descritos. Os métodos diferem grandemente no princípio de detecção da medida. Em geral são empregados detectores ditos universais, como os de raio ultravioleta (UV), os detectores de arranjo de diodo (DAD) e os detectores de condutividade (DC). A confirmação dos adulterantes nas amostras pode ser alcançada, no entanto, com o uso de métodos de separação acoplados a detectores específicos como espectrômetro de massas (MS) ou espectrômetro de massas em tandem (MS/MS) (CARVALHO et al., 2011). A Tabela 3 mostra um levantamento dos principais métodos analíticos disponíveis na literatura para a determinação de fármacos na condição de adulterantes em amostras de suplementos alimentares emagrecedores.

O uso da cromatografia combinado com o detector de massas tornou-se a principal ferramenta para a análise de fármacos em suplementos alimentares e plantas medicinais devido à sua aplicabilidade para uma gama de fármacos adulterantes e sua capacidade de proporcionar informações tanto quantitativas quanto estruturais, sendo esta última fundamental na determinação de novos análogos.

Um trabalho de revisão publicado em 2014 realizou um levantamento dos métodos para a determinação de adulterantes de diversas classes farmacológicas em suplementos alimentares e produtos botânicos publicados entre 1997 e 2014 constatando a predominância desses métodos e as principais classes de adulterantes determinados como pode ser visto na Figura 2.

Figura 2: Aplicações do detector de massas para a análise qualitativa e quantitativa de adulterantes em suplementos alimentares (1997-2014) e as classes farmacológicas listadas na ordem decrescente de casos.



Fonte: Adaptado de VACLAVIK; KRYNITSKY; RADER, 2014

Tabela 3: Métodos analíticos para a determinação de fármacos emagrecedores em suplementos alimentares

Adulterantes	Produto	Método-Deteção	Referência
Furosemida, fluoxetina, fenfluramina, mazindol, anfepramona, femproporex, benzocaína. Bromazepam, cafeína, clordiazepóxido, diazepam, flurazepam, midazolam, nitrazepam.	Fitoterápicos	CCD-UV CCD- Reveladores químicos	AZEREDO et al., 2005.
Anfepramona, diazepam e femproporex	Cápsulas naturais	HPLC-UV	ALMEIDA; RIBEIRO; POLESE, 2000.
266 fármacos (ansiolíticos, diuréticos, antidepressivos, entre outros).	Medicina Tradicional Chinesa	HPLC-DAD GC-MS	LIU et al., 2001
80 fármacos (entre eles emagrecedores)	Produtos à base de plantas medicinais	LC-MS/MS GC-MS	BOGUSZ et al., 2006.
Fenformina, rosiglitazona, glipizida, glimepirida, glibenclamida, gliclazida, efedrina, fenfluramina, T3, T4, fluoxetina e sibutramina	Suplemento alimentar	LC-DAD	KIM et al., 2008
Fenfluramina, fenolftaleína, Desmetil-sibutramina, didesmetil-sibutramina, sibutramina e orlistat	Suplemento à base de plantas medicinais	LC-MS	WANG; CHEN; YAO, 2008.
Rimonabant e sibutramina	Formulações à base de plantas medicinais.	HPLC-DAD	KANAN et al., 2009.
23 fármacos anti-hipertensivos, hipocolesterolemiantes, ansiolíticos, emagrecedores, hipoglicemiantes, estimulantes e	Suplemento à base de plantas medicinais	LC-MS/MS	CHEN et al., 2009.

Bumetanida, clopamida, furosemida, hidroclorotiazida e sibutramina	Suplemento alimentar e produtos à base de plantas medicinais	HPLC-UV	WANG et al., 2009.
Efedrina, norpseudoefedrina, fenfluramina, sibutramina, clopamida, emodin, reína, crisofanol	Suplementos funcionais emagrecedores	HPLC-MS/MS	SHI et al., 2011.
34 fármacos emagrecedores	Preparações emagrecedoras	HPLC-DAD	REBIERE et al., 2012.
Sibutramina, modafinil, efedrina, norefedrina, metformina, teofilina, cafeína, anfepramona e orlistat	Produtos emagrecedores	HPLC-DAD	DECONINCK et al., 2012.
Acetazolamida, clorotiazida, hidroclorotiazida, hidroflumetiazida, triantereno, clortalidona, triclormetiazida, tosemeida, metilclotiazida, metolazona, furosemida, indapamida, ciclotiazida, bendroflumetiazida, bumetanida, espironolactona e ácido etacrínico.	Suplemento alimentar	LC-MS/MS	WOO et al., 2013
Sibutramina, fenolftaleína, fenitoína, bumetanida e rimonabant.	Suplemento à base de plantas medicinais	HPLC-MS GC-MS	KHAZAN et al., 2014.
29 fármacos emagrecedores.	Suplemento alimentar	LC-MS/MS	KIM et al., 2014.
Efedrina, cafeína, fentermina, fendimetrazina, fenmetrazina, fenfluramina, benfluorex, mefentermina, fencanfamina, sibutramina, sildenafil, tadalafil e vardenafil	Suplemento alimentar	LC-MS	STRANO-ROSSI et al., 2015.
Clobenzorex, anfepramona, fenfluramina, metanfetamina, fenilpropanolamina e fentermina	Medicina Tradicional Chinesa	HPCE-UV	KU et al., 1999.

Efedrina, norefedrina, cefeína e furosemida.	Suplemento alimentar e Produtos à base de plantas	CE-DAD	CIANCHINO et al., 2008
Anfepramona, bupriona, femproporex, fluoxetina, flurazepam, paroxetina, sertralina e sibutramina	Fitoterápicos	CZE-C4D	CARVALHO et al., 2010 (b)
Sibutramina	Ervas medicinais	Espectroscopia-IV	FENG et al., 2007.
Anfepramona e benzodiazepínicos	Fitoterápicos	Voltametria de Redissolução	CARVALHO et al., 2010 (a).

Fonte: autor

C4D – Detecção por condutividade sem contato

CCD – Cromatografia em camada delgada

CE – Eletroforese capilar

CZE – Eletroforese capilar de zona

DAD – Detecção por arraste de diodo

GC – Cromatografia gasosa

HPCE – Eletroforese capilar de alta performance

HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência

IV – Infravermelho

LC – Cromatografia líquida

MS – Massas

MS/MS – Massas tandem

UV- Ultravioleta

3.6 O RISCO DE INTERAÇÕES MEDICAMENTOSAS

Aproximadamente 80% dos adultos com mais de 50 anos nos EUA fazem uso de pelo menos um medicamento e mais de 20% destes fazem uso de 5 ou mais medicamentos prescritos. Entre os usuários de medicamentos convencionais, mais de 50% usam simultaneamente suplementos alimentares. O potencial para interações medicamentosas clinicamente significantes entre suplementos alimentares tem sido estimado variar entre 21 e 46%, dos quais aproximadamente 30% possuem relevância clínica (UNITED STATES, 2010).

Suplementos alimentares são produtos que podem conter mais de 1100 ingredientes desconhecidos, os quais incluem vitaminas, minerais, aminoácidos, enzimas e plantas medicinais. Devido à complexidade das plantas medicinais as preparações à base destas devem conter numerosos compostos que podem ou não apresentar atividade farmacológica dependendo da dose. Muitos suplementos relatam a dose dos ingredientes ativos, porém em muitos casos os constituintes ativos são até mesmo desconhecidos (GLISSON; WALKER, 2010). O risco de interação medicamentosa, portanto, é alto, seja entre as substâncias presentes no próprio suplemento, seja dessas substâncias com medicamentos utilizados simultaneamente pelos usuários em terapias convencionais.

No caso de suplementos alimentares adulterados com fármacos sintéticos, o risco de interação medicamentosa passa a ser potencializado, pois não se tem o conhecimento da presença desses adulterantes na formulação. Portanto, além de todas as possibilidades de interação dos compostos naturalmente presentes no suplemento e declarados no rótulo da embalagem há ainda o risco destes fármacos não declarados interagirem com os componentes da formulação ou com outros medicamentos prescritos utilizados pelos usuários.

As interações medicamentosas tanto entre fármacos quanto entre fármacos e os constituintes dos suplementos alimentares e das plantas medicinais seguem os mesmos princípios farmacológicos e podem ser classificadas em interações farmacodinâmicas ou farmacocinéticas.

Interações farmacodinâmicas podem ocorrer quando os compostos que estão interagindo têm qualquer atividade sinérgica ou antagônica um em relação ao outro. Como resultado, a atividade de uma molécula terapêutica é alterada no local da ação.

Interações farmacocinéticas incluem aquelas que alteram a absorção, metabolismo, distribuição e ou eliminação de um fármaco ou constituinte do suplemento alimentar resultando no aumento ou na diminuição da concentração do agente ativo no local de ação (CHAVEZ; JORDAN; CHAVEZ, 2006). Interações farmacocinéticas podem ocorrer por diferentes mecanismos. Quando se trata de alterações na absorção do fármaco, esta pode ser devido a alterações no pH gastrintestinal, adsorção ou complexação do fármaco ou mudança na motilidade gastrintestinal. A distribuição do fármaco pode ser afetada pela ligação a proteínas plasmáticas (SCHMIDT; GONZALEZ; DERENDORF, 2010; GONZALEZ et al., 2011; HEUBERGER; SCHMIDT; DERENDORF, 2013). Interações medicamentosas que modificam a biotransformação podem ser explicadas por alterações em enzimas presentes no fígado e em tecidos extra-hepáticos, que podem ser caracterizadas por indução ou inibição enzimática. Salientam-se as enzimas do citocromo hepático P450 (CYP-450) as quais são responsáveis pelo metabolismo de muitos medicamentos (ZHANG et al., 2009). Já a excreção pode ser influenciada por mudanças no pH urinário e no fluxo sanguíneo renal. Independente da natureza da interação medicamentosa o resultado esperado pode ser um efeito farmacológico aumentado ou diminuído, ou ainda o aparecimento de um efeito novo, desejado ou indesejado, que não está previsto quando as substâncias são utilizadas isoladamente.

Diferente das interações medicamentosas entre fármacos sintéticos as quais costumam ser bem descritas na literatura, as interações entre fármacos e suplementos alimentares ou produtos naturais são, na maioria das vezes, evidências baseadas em alguma atividade farmacológica conhecida, dados baseados em algum estudo *in vitro* ou *in vivo* ou ainda nos relatos de casos isolados, os quais nem sempre são confirmados (CHAVEZ; JORDAN; CHAVEZ, 2006).

São poucos os produtos naturais que possuem estudos aprofundados de interações medicamentosas como o *Hypericum perforatum* (erva de St. John's), o *Ginkgo biloba* e o *Ginseng* (MADABUSHI et al., 2006; HERMANN; RICHTER, 2012). Sabe-se que o *Hypericum perforatum* assim como o *Allium sativum* (alho) apresentam um efeito indutor moderado a grande sobre a CYP3A4 e, portanto, sobre seus substratos (sinvastatina, verapamil, amlodipina, diazepam, e outros), diminuindo o efeito destes. A valeriana e a kava, no entanto, inibem a CYP3A4 aumentando o efeito dos fármacos metabolizados pela mesma. O *Hypericum*

perforatum apresenta também um efeito moderado sobre os substratos da CYP2C9 (glipizida, ibuprofeno, carvedilol, celecoxib e outros) induzindo também a enzima e diminuindo o efeito destes fármacos ao passo que o *Ginkgo biloba* apresenta efeito oposto, inibindo a enzima e aumentando o efeito de seus substratos. A varfarina (de estreita janela terapêutica) é certamente um dos fármacos com maior potencial para sofrer interação medicamentosa com suplementos alimentares. Calcula-se que mais de 150 suplementos alimentares podem afetar a coagulação sanguínea quer por aumentar ou diminuir a agregação plaquetária. Suplementos contendo gengibre, alho, Ginkgo ou glucosamina têm sido associados a um aumento no risco de hemorragia em associação à varfarina. Já o *Hypericum perforatum*, coenzima Q-10 e vitamina K aumentam a coagulação sanguínea diminuindo, portanto, a eficácia da varfarina (ZEROWITZ, 2010).

Enquanto as interações medicamentosas entre fármacos e suplementos alimentares têm ganhado mais atenção em virtude do amplo consumo destes, o real conhecimento sobre essas interações na grande maioria dos casos continua sendo extremamente limitado devido à falta de informações para caracterizar o efeito farmacológico e a composição dos produtos naturais.

3.6.1 Métodos para Avaliação das Interações Medicamentosas entre Fármacos e Suplementos alimentares à base de plantas medicinais

A importância clínica das interações medicamentosas entre fármacos e plantas medicinais depende de fatores relacionados aos fármacos co-administrados (dose, regime de dose, via de administração, farmacocinética e faixa terapêutica), aos produtos naturais (espécie vegetal, dose e via de administração) bem como aos usuários (polimorfismo genético, idade, gênero e patologias) (ZHOU et al., 2007).

O mecanismo pelo qual os produtos naturais e os fármacos sintéticos interagem não é completamente elucidado. Assim como nas interações medicamentosas entre fármacos, ambos os mecanismos, farmacocinético e farmacodinâmico, devem implicar também nessas interações. O principal mecanismo compreendido nessas interações entre fármacos e plantas medicinais é a indução/inibição de enzimas intestinais e hepáticas, particularmente as da família CYP. As enzimas do citocromo P450 são responsáveis pelo metabolismo de mais de 50% dos fármacos. Portanto avaliar o papel de uma determinada enzima em dada

etapa metabólica é essencial para prever o potencial dessas interações e tentar evitar ou minimizar os riscos na clínica (FASINU; BOUIC; ROSENKRANZ, 2012). Alguns fármacos que também interagem clinicamente com as plantas medicinais são substratos da glicoproteína-P (P-gp), bem como de outros transportadores presentes no intestino, fígado e rins, os quais desempenham papel importante na absorção, distribuição e eliminação dos fármacos e de seus metabólitos. Quando um fármaco é substrato tanto das enzimas CYP-450 quanto de transportadores, o potencial de interação com produtos à base de plantas medicinais tende a aumentar consideravelmente (CHEN et al., 2012).

A indução enzimática é caracterizada pelo aumento da atividade da enzima como resultado do aumento da mRNA transcrito e consequente aumento dos níveis fisiológicos de proteína. A indução enzimática provoca um aumento na taxa do metabolismo dos fármacos afetando tanto a biodisponibilidade oral quanto a disposição sistêmica destes. A administração concomitante de produtos naturais capazes de causar indução enzimática com fármacos, substratos destas enzimas, pode resultar em níveis plasmáticos baixos levando a falha terapêutica. O ajuste na dose de formulações orais se faz necessário a fim de que a biodisponibilidade sistêmica prevista seja alcançada (FASINU; BOUIC; ROSENKRANZ, 2012).

Já a inibição das enzimas do citocromo P450 pelas plantas medicinais é o mais comum e bem estudado mecanismo e pode ocorrer por três diferentes mecanismos: inibição competitiva, não competitiva ou irreversível.

A inibição competitiva ocorre quando o agente inibidor se liga no sítio ativo da enzima evitando a ligação do fármaco de interesse. O caso mais simples é de quando dois substratos da mesma enzima são administrados concomitantemente, embora o inibidor não necessite ser substrato da enzima para inibi-la competitivamente. Na inibição competitiva o aumento nas concentrações do fármaco substrato se faz necessário para que este possa competir pelo local de ligação na enzima (LIN; LU, 1998; HOLLENBERG, 2002).

A inibição não competitiva ocorre quando o inibidor se liga em um sítio da enzima diminuindo a capacidade da enzima para metabolizar seus substratos. Uma vez que o inibidor não se liga no mesmo local do substrato, o aumento na concentração do substrato não compensará a redução na atividade da enzima. Independentemente do modo de inibição reversível, competitivo ou não competitivo, o retorno da atividade enzimática pode ser alcançado através da remoção do

inibidor. Clinicamente, a inibição reversível leva ao aumento na exposição sistêmica do fármaco substrato devido à diminuição da sua depuração metabólica e ou aumento da biodisponibilidade (LIN; LU, 1998; HOLLENBERG, 2002).

As inibições enzimáticas por inibidores que não são capazes de se associar ou dissociar rapidamente da enzima são chamadas de irreversíveis e dependem de tempo para que ocorra a recuperação da enzima. Assim como a inibição reversível, estas se manifestam com o aumento da exposição sistêmica do fármaco substrato e, ao contrário da reversível, a interação pode persistir mesmo depois da remoção do agente inibidor sendo a recuperação da atividade da enzima dependente da síntese de novas enzimas (GRIM et al., 2009).

A medida da potência das inibições é expressa pela constante de inibição (K_i) para inibidores reversíveis ou pela constante de inativação (K_{inact}) em combinação com a taxa de degradação da CYP inativada (K_{deg}) e o valor de K_i para inibidores irreversíveis.

As proteínas transportadoras como a glicoproteína-P se encontram ligadas à membrana e regulam o efluxo de fármacos através da membrana plasmática. Comparado com as interações envolvendo as enzimas CYP-450, as informações sobre o mecanismo de interação com estes transportadores ainda são bastante limitadas. Similarmente às enzimas, as proteínas transportadoras são susceptíveis à inibição reversível competitiva e não competitiva dependendo se o inibidor se liga bloqueando o sítio de ligação para o fármaco ou se causa mudança conformacional na proteína reduzindo a sua atividade. Da mesma forma a indução é resultado do aumento na transcrição de mRNA e da atividade da proteína. Diferentemente das enzimas, tanto a indução quanto a inibição dos transportadores poderá manifestar o aumento ou diminuição da concentração tecidual ou sistêmica do fármaco dependendo do sítio de expressão do transportador e da direção do fluxo do mesmo (BRANTLEY et al., 2014).

Sabendo-se parte do mecanismo envolvido nas interações medicamentosas entre fármacos e suplementos alimentares, sobretudo àqueles à base de plantas medicinais, é possível estimar a ocorrência das mesmas a fim de evitar ou minimizar as consequências não desejáveis dessas interações. Sendo assim, além dos casos de interação que são ocasionalmente reportados, o emprego de ensaios *in vitro* e modelos *in vivo* tem permitido explorar e identificar cada vez mais interações de relevância clínica. Os modelos *in silico* ainda são um pouco restritos, mas devem

representar um papel cada vez mais importante à medida que os compostos naturais envolvidos nas interações sejam identificados e tenham suas estruturas elucidadas. Tais modelos apresentam suas vantagens e desvantagens, como diferentes custos, confiabilidade e rendimento de estudo, podendo ser utilizada uma combinação entre eles para obter informações suficientemente úteis na prática clínica.

3.6.1.1 Modelos *in vitro*

Os modelos *in vitro* são fundamentais para estimar a contribuição das enzimas metabolizadoras e dos transportadores na disposição das interações fármaco-plantas medicinais. Os resultados obtidos dos experimentos *in vitro* podem ser usados para prever quantitativamente o potencial da interação *in vivo*. Os métodos *in vitro* são preferíveis em relação aos *in vivo* porque eles são menos complexos, fáceis de serem executados, confiáveis e fornecem informações mecânicas (KREMERS, 2002).

Para a investigação de uma interação medicamentosa *in vitro* é desejável que todas as etapas metabólicas envolvidas na biotransformação dos fármacos, as enzimas específicas responsáveis por essas reações de biotransformação e os metabólitos gerados pelo processo sejam previamente identificados. A disponibilidade dessas informações viabiliza a antecipação e a exploração racional das prováveis interações entre fármacos e suplementos alimentares. No entanto, uma vez que as plantas medicinais são misturas complexas contendo vários constituintes químicos, para a maioria dessas misturas o composto ativo é desconhecido (BUTTERWECK; DERENDORF, 2008).

Outro importante fator nos estudos de interação *in vitro* é o uso de concentração clinicamente relevante tanto para inibidores quanto para os substratos. O uso de concentrações acima das terapêuticas pode resultar em uma interação *in vitro*, porém não *in vivo*. Entretanto, diferente dos fármacos convencionais, os dados de farmacocinética não são disponíveis para a maioria das plantas medicinais, logo, não se sabe qual a concentração envolvida no metabolismo e no transporte. Faixas de concentração são geralmente escolhidas e avaliadas. Portanto não se espera que estudos *in vitro* reflitam exatamente as interações observadas *in vivo* (BUTTERWECK; DERENDORF, 2008).

Os estudos *in vitro* são então utilizados, em sua maior parte, para a triagem de interações medicamentosas baseado em ensaios enzimáticos. Os sistemas geralmente utilizados para avaliar o metabolismo incluem frações subcelulares (microsomas hepáticos ou intestinais, citosol, homogenatos), cultura de hepatócitos, enzimas recombinantes. Além disso a atividade dos transportadores é determinada pelo uso de linhagens celulares de células Caco-2 ou MDCK as quais expressam transportadores humanos específicos e por meio das quais o transporte bidirecional pode ser mensurado (KREMERS, 2002). Os métodos para mensurar as reações enzimáticas incluem fluorescência, luminescência, radiometria e cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas em tandem (LC-MS/MS).

3.6.1.2 Modelos *in vivo*

Embora os modelos *in vitro* sejam métodos rápidos de triagem para predizer as interações medicamentosas entre fármacos e plantas medicinais os estudos *in vivo* são geralmente necessários para evidenciar sua importância clínica (ZHOU et al., 2003).

Os modelos *in vivo* envolvem estudos metabólicos, geralmente em animais, os quais permitem levar em consideração informações como concentrações plasmáticas e a biodisponibilidade dos fármacos de interesse. Essas informações são úteis como meio de revelar o potencial de interações clinicamente significativas quando avaliadas em conjunto nos métodos de extrapolação *in vitro/in vivo*.

No entanto, sozinhos, esses modelos são não preditivos para interações em humanos devido às diferenças entre as espécies nas taxas metabólicas dos substratos, na seletividade do inibidor e na farmacocinética como um todo, visto que enzimas e transportadores diferem de animais para humanos em expressão e especificidade (NA et al., 2011).

Desse modo torna-se difícil predizer com exatidão os efeitos das interações medicamentosas em humanos baseando-se em estudos em animais e acabam sendo requeridos estudos em humanos para confirmar essas interações. Estudos *in vivo* com humanos são conduzidos com voluntários sadios ou com pacientes e fornecem os dados farmacocinéticos e farmacodinâmicos clinicamente mais relevantes. Em 2007 o FDA emitiu um guia com orientações para estudos clínicos de

interação medicamentosa (FDA, 2007). Os estudos *in vivo* com humanos embora muitas vezes necessários, são dispendiosos, demorados e podem não fornecer informações mecanísticas (NA et al., 2011).

3.6.1.3 Modelos *in silico*

Os estudos *in silico* são modelos matemáticos de sistemas fisiológicos e farmacológicos desenvolvidos e testados em um computador. Assim como nos modelos *in vivo*, a modelagem *in silico* foi concebida para mimetizar o comportamento do organismo como um todo, do mesmo modo que nos modelos *in vitro*, não exigem experimentação animal. Porém, ao contrário dos modelos *in vitro*, os quais existem isoladamente, os modelos *in silico* permitem incluir uma variedade praticamente ilimitada de dados clínicos, os quais tornam o resultado mais confiável (COLQUITT; COLGUHOUN; THIELE, 2011).

Os estudos *in silico* tem provado ser uma ferramenta útil para prever as propriedades ADME (absorção, distribuição, metabolismo e excreção) possibilitando caracterizar e modelar processos farmacológicos e fisiológicos em estágios recentes do desenvolvimento de novos fármacos bem como avaliar interações medicamentosas (BOOBIS et al., 2002). Um interesse crescente também tem sido visto nos programas e base de dados que podem ajudar a avaliar a probabilidade de interações medicamentosas incluindo as interações fármaco-planta pela identificação de dados relevantes de estudos *in vitro*, facilitando o acesso a estas informações. Quando estritamente integrada com experimentos laboratoriais, as modelagens *in silico* podem representar um método eficiente não somente para prever interações medicamentosas como para compreender a base molecular destas (AI; FAN; EKINS, 2015).

O desenvolvimento das extrapolações *in vitro/in vivo* (IVIVE) para prever os parâmetros farmacocinéticos e as interações medicamentosas tem acelerado devido, sobretudo, à melhor compreensão dos vários mecanismos envolvidos nessas interações e à disponibilidade de sistemas *in vitro* adequados para delinear vários elementos relevantes para os processos ADME. A dificuldade de extrapolação a partir do *in vitro* para o *in vivo* é bem conhecida e várias abordagens têm sido utilizadas para esse fim. Propriedades de ligação entre os substratos e as enzimas CYP, enzimas de conjugação de fase II e os transportadores podem ser estimadas

por meio de estudos baseados na relação quantitativa entre estrutura-atividade e modelos farmacóforos. Estes métodos são relativamente rápidos e vantajosos à medida que requerem parâmetros facilmente mensuráveis tais como fração livre do fármaco (f_u), constante de inibição (K_i) e previsão de concentração plasmática do inibidor. Os principais inconvenientes destes métodos são as limitações que regem os modelos. Embora a estrutura química seja o fator determinante na afinidade da ligação de um fármaco à uma proteína, vários outros elementos biológicos podem causar confusão no reconhecimento de uma interação medicamentosa, tais como a dose a ser administrada, a variabilidade genética e demográfica, a restrição a substratos cuja eliminação é controlada por uma única enzima. Esses fatores são difíceis de serem incorporados em modelos ditos estáticos (DICKINS; WATERBEEMD, 2004).

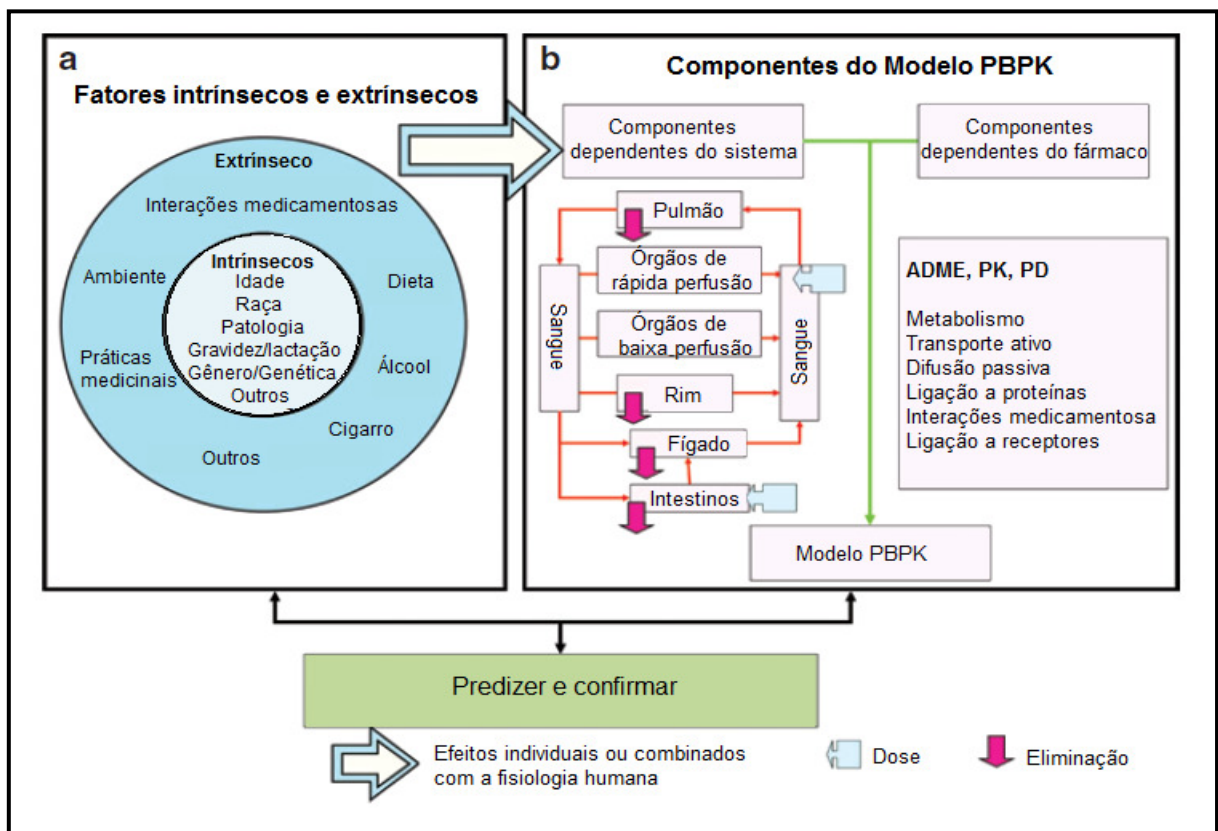
Mais recentemente, simulações *in silico* usando modelos farmacocinéticos baseados na fisiologia (modelagem PBPK) tem emergido com uma nova abordagem para prever a probabilidade e a magnitude de potenciais mudanças na disposição de um fármaco resultante da administração concomitante com outros fármacos ou compostos de plantas medicinais.

O desenvolvimento destes modelos data de 1937, quando Teorell derivou várias fórmulas para descrever as concentrações de um fármaco ao longo do tempo no sangue e nos tecidos afetados. Embora seu modelo fosse bastante rudimentar, a ênfase na distribuição dos fármacos e na concentração sanguínea e tecidual como uma função do tempo fazem deste, provavelmente, o primeiro modelo PBPK descrito. Durante várias décadas esforços tem sido feitos para refinar os modelos PBPK, mas somente ao longo das últimas duas décadas, com os avanços na ciência da computação e da explosão dos conhecimentos nas ciências biomédicas foi possível desenvolver modelagens PBPK de base populacional altamente sofisticadas (ZHAO et al., 2011).

A modelagem PBPK tem como objetivo prever a farmacocinética clínica dos fármacos através da combinação de dados específicos do fármaco (físico-químicos, de permeabilidade e de biotransformação) que podem ser obtidos de estudos *in vitro* com um modelo *in silico* que descreve a fisiologia e a anatomia do corpo humano. Dessa forma o comportamento do fármaco pelo corpo pode ser simulado de maneira mecânica, tendo os processos moleculares e bioquímicos como ponto de partida. A modelagem PBPK fornece uma predição mais realista das interações

medicamentosas quando comparada às abordagens estáticas tradicionalmente utilizadas (como o uso de $1/K_i$) justamente por considerarem estes múltiplos fatores e mecanismos que impactam na interação. A Figura 3 mostra os componentes de um modelo PBPK, incluindo dados dependentes do fármaco bem como dados dependentes do organismo humano.

Figura 3 - Aplicação de modelagem farmacocinética com base na fisiologia (PBPK) e simulação para avaliar o efeito de vários fatores extrínsecos e intrínsecos na exposição e resposta do fármaco.



Fonte: adaptado de ZHAO et al., 2011.

Esta modelagem, juntamente com os avanços no conhecimento das variáveis populacionais (fatores demográficos, anatômicos, genéticos e fisiológicos) necessários para IVIVE fornece um alto poder de predição da farmacocinética populacional. Uma população virtual pode ser gerada a partir de dados e fórmulas descrevendo essas variáveis demográficas, anatômicas e fisiológicas usando as correlações de Monte Carlo. Isto permite prever a variabilidade antes mesmo do estudo clínico ao contrário das abordagens estáticas, as quais requerem prévios estudos clínicos para caracterizar a variabilidade. Este aspecto é particularmente

importante quando consideramos o risco associado às interações medicamentosas, as quais usualmente afetam poucos indivíduos com determinadas características que os tornam mais propensos ao risco de interação do que a média individual (YEO; JAMEI; ROSTAMI-HODJEGAN, 2013).

A previsão de interações medicamentosas através da modelagem PBPK permite o envolvimento de vários fármacos que sejam substratos das enzimas CYP ou de transportadores, bem como cenários envolvendo enzimas e transportadores juntos. Esta característica é particularmente importante para prever complexas interações entre medicamentos e produtos naturais, os quais podem conter vários constituintes químicos interferindo na interação. Esta aplicação fica limitada à falta de conhecimento e de estudos *in vitro* dos compostos que estariam modulando enzimas e transportadores, o que é essencial para o desenvolvimento de modelos PBPK.

O FDA recomenda a utilização de modelos PBPK para prever quantitativamente a magnitude de interações medicamentosas em diversas situações clínicas. Além disso, essa modelagem pode oferecer informações úteis para facilitar o delineamento de estudos clínicos, auxiliar na previsão da farmacocinética na fase de descoberta de novos fármacos ou em situações clínicas específicas de disfunção orgânica, faixa etária ou genótipos populacionais (UNITED STATES, 2012).

Na Tabela 4 encontramos os principais dados e ferramentas necessários para o desenvolvimento de um estudo *in silico* empregando modelagem PBPK para a avaliação de interações medicamentosas enquanto que a Figura 4 apresenta o esquema para a introdução dos parâmetros dependentes do fármaco dentro do modelo PBPK.

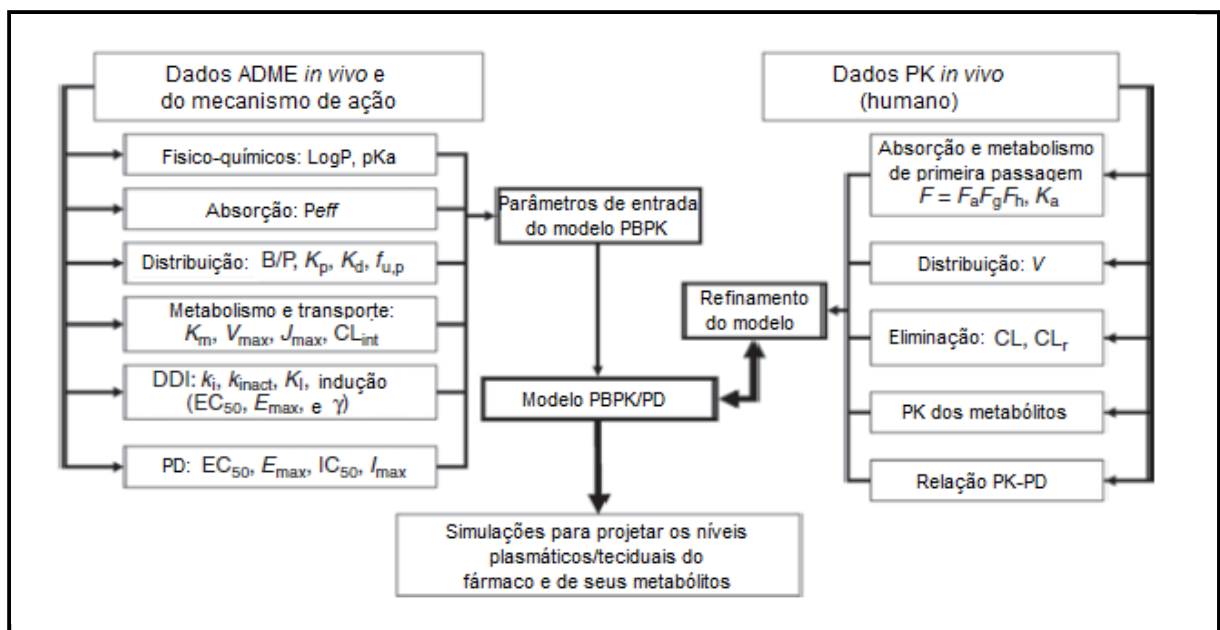
As modelagens PBPK consistem portanto de propriedades específicas do sistema, como a massa ou volume dos órgãos e o fluxo sanguíneo venoso e arterial que flui através dos órgãos e tecidos; parâmetros relacionados ao fármaco como a afinidade de ligação a proteínas plasmáticas, o particionamento entre os tecidos, a captação mediada por transportadores de influxo/efluxo; e do modelo estrutural, o qual compreende a disposição anatômica dos tecidos e órgão do corpo humano como entidades distintas que estão ligadas pela perfusão sanguínea a qual é codificada por uma série de equações diferenciais de modo a acompanhar a concentração do fármaco no sangue e nos tecidos em determinado curso de tempo

Tabela 4: Dados e ferramentas necessários para o desenvolvimento de um estudo *in silico* empregando modelagem PBPK.

Dados e Ferramentas para modelagem PBPK	
Ferramentas para modelagem PBPK	Simcyp, GastroPlus, PK-Sim, Matlab-Simulink
Propriedades físico químicas para o fármaco e o inibidor	pKa, log P, f_u plasma, razão B/P, P_{eff} , solubilidade
Etapas de clearance de estudos <i>in vitro</i> ou <i>in vivo</i> (enzimas CYP, enzimas de fase II, transportadores)	K_m , V_{max} , Cl_{int} , K_i , f_m , K_{inact} , K_{deg} , K_{syn}
Simulação do perfil farmacocinético do fármaco	C_{max} , ASC, CI, CI/F, $t_{1/2}$
Comparação dos dados farmacocinéticos obtidos e do perfil simulado com o observado <i>in vivo</i>	Checagem visual das previsões (conduzir análise sensitiva)
Simulação do perfil farmacocinético do fármaco na presença do inibidor	ASC_i/ASC

Fonte: Adaptado de Won; Oberlies; F. Paine, 2012.

Figura 4 – Esquema geral para a introdução de parâmetros dependentes do fármaco no modelo PBPK.



Fonte: adaptado de ZHAO et al., 2011

(YEO; JAMEI; ROSTAMI-HODJEGAN, 2013). Sem uma profunda compreensão dos processos ADME para um fármaco individual é difícil quantificar o efeito dos fatores extrínsecos e intrínsecos na farmacocinética do fármaco bem como avaliar o potencial de interações medicamentosas.

A caracterização e determinação quantitativa das vias de eliminação de um fármaco e de seus metabólitos é um primeiro passo importante para a construção de um modelo PBPK e simulações, com a caracterização apropriada da contribuição de enzimas e transportadores específicos na disposição do fármaco (ZHAO et al., 2011). O metabolismo *in vitro* somado aos parâmetros de indução/inibição enzimática necessários para descrever a depuração dos fármacos bem como o mecanismo de interações medicamentosas são determinados experimentalmente e introduzidos no modelo PBPK. A estimativa da eliminação do fármaco a partir de dados enzimáticos *in vitro* é realizado em duas etapas. Primeiramente a depuração intrínseca por unidade de enzima é escalonada para considerar a depuração metabólica intrínseca de um órgão de eliminação, como o fígado, que, combinado com os parâmetros de fluxo sanguíneo (hepático, nesse caso) permitirá extrapolar a depuração para o órgão como um todo (YEO; JAMEI; ROSTAMI-HODJEGAN, 2013).

Parâmetros físico-químicos como LogP, pKa e a área de superfície polar (determinados experimentalmente ou calculados com base na estrutura química utilizando modelos *in silico*) são importantes para avaliar o particionamento do fármaco entre os diferentes tecidos. Estes parâmetros também são utilizados para estimar a ligação do fármaco às proteínas microssomais e a permeabilidade efetiva, os quais não são passíveis de determinação experimental. Subsequente etapa importante é a integração de dados clínicos conhecidos como forma de refinar o modelo e qualificar o mesmo por comparação dos perfis farmacocinéticos obtidos por simulação e através de estudos *in vivo* (ZHAO et al., 2011).

Com o passar das décadas, o número de publicações como modelagem PBPK tem aumentado consideravelmente, demonstrando o amplo uso desta abordagem dentro da comunidade científica. Como consequência aumentou também o número de plataformas comerciais que integram esta metodologia. O simulador de ADME com base populacional Simcyp (Simcyp® Simulator Ltd, Sheffield, UK; <http://www.simcyp.com>) é um software comercialmente disponível que permite a modelagem PBPK integrando a variabilidade interindividual para a previsão da

disposição dos fármacos em populações virtuais. Por combinar informações sobre fisiologia, genética e demografia com dados *in vitro*, este simulador tende a melhorar a confiabilidade na extrapolação *in vitro/ in vivo* fornecendo maior conhecimento sobre as causas de incerteza e variabilidade na avaliação das simulações. Assim, o uso de dados gerados em estudos *in vitro* combinados com informações farmacocinéticas clínicas, serve como um mecanismo de triagem para descartar a necessidade de estudos *in vivo* e fornecem uma base mecanística para simular um estudo *in vivo* através da simulação e modelagem.

Até o momento, a modelagem *in silico* para a previsão de interações medicamentosas tem sido bastante útil, mas a sua confiabilidade depende diretamente da abrangência e da qualidade das fontes de dados para a modelagem. Apesar dos desafios descritos, a modelagem computacional é possível e tende a ser cada vez mais utilizada com a maior compreensão e aprimoramento das ferramentas e abordagens disponíveis para as simulações.

3.6.2 Avaliação da interação medicamentosa entre sibutramina e o *Grapefruit (Citrus Paradise)* por modelagem farmacocinética

Com a retirada de vários fármacos emagrecedores do mercado, devido aos seus efeitos adversos ou à falta de eficácia comprovada, estabeleceu-se um cenário duvidoso em relação à segurança e a efetividade desses medicamentos. Em vista disso a busca por tratamentos alternativos cresceu consideravelmente, sobretudo, o uso de suplementos alimentares emagrecedores.

Suplementos alimentares contendo efedrina, combinados ou não com cafeína ou outros estimulantes, foram amplamente utilizados a partir de meados de 1990 para estimular a perda de peso. No entanto, com a proibição da venda de suplementos alimentares emagrecedores à base de efedrina, pelo FDA em 2004, devido aos riscos de doenças cardiovasculares, muitos fabricantes de suplementos alteraram seus produtos para formulações “livres de efedrina”, sendo a efedrina substituída principalmente pelo *Citrus aurantium* (também conhecido como laranja amarga ou laranja azeda) (BENT; PADULA; NEUHAUS, 2004).

Recentemente o *grapefruit (Citrus paradise)*, também conhecido como toranja e com propriedades similares às do *C. aurantium*, vem sendo estudado por apresentar também um potente efeito como inibidor de apetite podendo ser

terapeuticamente empregado como emagrecedor (PAPANDREOU; PHILY, 2014; FAROUK et al, 2015). Este efeito estaria associado ao polifenóis e antocianinas presentes no fruto. Um estudo clínico com pacientes obesos já havia demonstrado em 2006 que o consumo de suco ou extrato de *grapefruit* está associado com significativa perda de peso em indivíduos obesos, indicando os efeitos benéficos do *grapefruit* no controle de peso (FUJIOKA et al., 2006).

Entretanto o *grapefruit* é bem conhecido por estar envolvido em vários casos de interações com fármacos prescritos. O aumento considerável na exposição sistêmica de fármacos, substratos da CYP3A4, após administração oral com *grapefruit* sugerem que este seja responsável por um efeito inibidor sobre esta enzima. Uma vez que *grapefruit* aumenta a biodisponibilidade dos fármacos quando administrados por via oral, mas não altera os parâmetros cinéticos dos fármacos quando administrados por via intravenosa, pressupõe-se que o efeito inibitório do *grapefruit* seja decorrente da inibição da CYP3A4 intestinal e não da CYP3A4 hepática (MALHOTRA et al., 2001; KAKAR et al., 2004).

Inicialmente acreditou-se que os flavonoides naringina e a quercetina fossem os ingredientes ativos responsáveis pela inibição, uma vez que ambos apresentavam efeito inibidor *in vitro* e estão presentes em concentrações elevadas no *grapefruit* (MINISCALCO et al., 1992). No entanto, o efeito destes compostos não foi provado *in vivo* (BAILEY et al, 1993).

Hoje sabe-se que as furanocumarinas são as principais substâncias responsáveis pelo efeito inibitório do *grapefruit*. Várias furanocumarinas foram isoladas do *grapefruit* e identificadas como potentes inibidores da CYP3A4 *in vitro* (SCHMIEDLIN-REN et al, 1997). Bergamotina e 6',7'-dihidroxi-bergamotina (DHB) são as mais abundantes furanocumarinas presentes no *grapefruit*. Como DHB está presente em maior concentração no suco do *grapefruit* (10-60 μM) e apresentou maior potência como inibidor da CYP3A4 em comparação com a bergamotina, tem sido considerada a principal substância responsável pelas interações entre fármacos e o *grapefruit* (EDWARDS et al, 1999; PAINE; CRISS; WATKINS, 2004).

Estudos mostraram que a DHB possui ação inibitória reversível ($K_i \sim 0,8 \mu\text{M}$) e irreversível ($K_I \sim 3,0 \mu\text{M}$; $K_{inact} \sim 0,3-0,4 \text{ min}^{-1}$) sobre a CYP3A4 com constante de inibição bem abaixo da concentração presente no suco do *grapefruit* (PAINE; CRISS; WATKINS, 2004).

O suco de laranja amarga (*C. aurantium*) contém concentrações de DHB similares às encontradas no suco do *grapefruit* e apresenta atividade inibitória da CYP3A4, *in vitro*, semelhante a este (EDWARDS; BERNIER, 1996). Ambos os sucos provocaram aumento similar na biodisponibilidade oral da felodipina e alteraram a disposição de seu metabólito, mediado pela CYP3A4, a deidrofelodipina. O suco da laranja amarga também contém bergamotina, mas em baixas concentrações, bem como outra furanocumarina, o bergapteno, que também possui atividade inibitória sobre a CYP3A4, mas bem menos potente comparado à DHB (MALHOTRA et al., 2001). Relatos de interação medicamentosa com o *C. aurantium*, no entanto, são pouco frequentes uma vez que o fruto não costuma ser consumido devido ao seu sabor amargo. Além disso, um estudo recente de suplementos alimentares emagrecedores contendo extratos de *C. aurantium* mostrou que o conteúdo de furanocumarinas presente nos extratos é menor que 20 µg/g, quantidade insuficiente para exercer efeito significativo no metabolismo de fármacos suscetíveis nas doses comumente usadas (STOHS; MILLER; ROMANO, 2014).

O *grapefruit* parece também inibir o transporte de fármacos mediados pela P-glicoproteína intestinal. No entanto, esse efeito não tem sido atribuído à DHB e também não é observado no *C. aurantium*, o que sugere que as substâncias responsáveis pela inibição da P-glicoproteína intestinal sejam diferente das que inativam a CYP3A4 (EDWARDS et al., 1999).

Muitas das interações medicamentosas clinicamente relevantes envolvem a CYP3A4, enzima do citocromo P450 mais abundante no fígado e no intestino humano (PAINE et al., 1997). A CYP3A4 representa mais de 70% das enzimas P450 em termos de abundância no jejuno e duodeno e, embora os níveis de expressão dessa enzima no trato gastrintestinal seja menos de 1% comparado ao fígado, o metabolismo de primeira passagem intestinal pela CYP3A4 tem provado ser significativo para muitos fármacos (PAINE et al., 1996).

Uma vez que a CYP3A4 está envolvida no metabolismo de mais de 50% dos fármacos utilizados terapeuticamente (WIENKERS; HEATH, 2005) é importante avaliar o potencial de interação do *grapefruit* com substratos da CYP3A4.

A sibutramina, um inibidor da recaptação da serotonina, foi originalmente desenvolvida como um antidepressivo e, posteriormente, verificou-se ter efeito emagrecedor (PADWAL; MAJUMDAR, 2007). A sibutramina é hoje um dos poucos fármacos emagrecedores disponíveis no Brasil. Continua sendo comercializada no

Brasil mesmo após ter sido removida do mercado pelo FDA e EMA em 2010 devido aos seus graves efeitos cardiovasculares.

A sibutramina é administrada por via oral em doses de 10 ou 15 mg e é rapidamente absorvida a partir do trato gastrointestinal, com uma biodisponibilidade média de 77%. A sibutramina sofre um extenso metabolismo de primeira passagem principalmente pelo citocromo P450, isoenzima (3A4) e é convertida em dois principais metabólitos ativos, N-desmetil (M1) e N-didesmetilsibutramina (M2). Uma vez que a sibutramina é metabolizada pelo sistema enzimático CYP3A4, fármacos ou substâncias que inibem ou induzem este sistema podem afetar a sua disposição. Pequeno a moderado aumento nos valores de área sob a curva (ASC) e de concentração máxima (C_{max}) foram observados quando sibutramina foi administrada concomitantemente, por exemplo, com cetoconazol, eritromicina, e cimetidina (OLIVE, 1997).

Por ser um fármaco emagrecedor e substrato da CYP3A4 é de grande importância avaliar o risco associado a uma possível interação medicamentosa entre o grapefruit e a sibutramina, considerando a possibilidade da utilização de ambos no tratamento da obesidade. Além disso, a sibutramina tem sido um dos fármacos mais encontrados como adulterante em suplementos alimentares emagrecedores, fato que potencializa o risco de interação medicamentosa entre o fármaco e outros componentes do suplemento ou outros produtos naturais. Desse modo, toda e qualquer interação medicamentosa que provoque o aumento na exposição à sibutramina deve ser investigada devido à sua importância clínica, visto que este fármaco oferece inúmeros riscos à saúde, riscos estes que levaram à proibição da sibutramina na maior parte do mundo.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS EMAGRECEDORES EM SUPLEMENTOS ALIMENTARES

4.1.1 Instrumentação

O método analítico para a determinação de fármacos emagrecedores e coadjuvantes foi desenvolvido em cromatógrafo líquido (LC) (Agilent[®] Technologies 1260 Infinity) com bomba binária e injetor automático acoplado a detector de massas (MS/MS) triplo quadrupolo (Agilent[®] Technologies 6430).

Os compostos foram separados em coluna UPLC Zorbax modelo SB-C18 (Agilent[®]) (2.1 x 50 mm, 1.8 μ m).

Foram utilizados ainda balança analítica Sartorius[®] (Alemanha) com quatro casas de precisão, banho de ultrassom Bandelin Sonorex[®] RK 510 H (Alemanha) e sistema de purificação de água Milli-Q Millipore Synergy[®] UV (resistividade de 18,2 M Ω .cm@25 °C).

4.1.2 Reagentes e Soluções

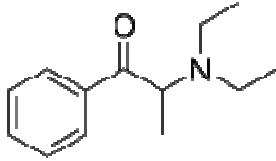
Como padrões foram utilizadas matérias-primas de grau farmacêutico, obtidas de distribuidoras de insumos farmacêuticos e farmácias de manipulação acompanhadas de certificados de análises do controle de qualidade.

Os fármacos estudados como adulterantes (Tabela 5) pertencem às classes dos anorexígenos (anfepirama, femproporex e sibutramina), ansiolíticos (diazepam, alprazolam, clonazepam, lorazepam, bromazepam, medazepam, midazolam, flurazepam e clordiazepóxido), antidepressivos (fluoxetina, sertralina, paroxetina, bupropiona, citalopram, selegilina, venlafaxina, amitriptilina, imipramina e nortriptilina), diuréticos (furosemida, hidroclorotiazida, clortalidona, amilorida, acetazolamida e espironolactona), laxantes (bisacodil e fenolftaleína) e estimulantes (cafeína, efedrina e sinefrina). Foram analisados ainda anti-hipertensivos (propranolol, atenolol, metoprolol, nadolol, captopril, enalapril, losartan e valsartan) e estimulantes sexuais (sildenafil, tadalafil, vardenafil e yohimbine) como interferentes para avaliação da seletividade. Metanol (Panreac[®]) e acetonitrila (Fluka[®]) grau LC-

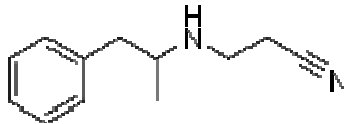
MS. Ácido acético 99,7%, ácido fórmico 95%, acetato, formiato e hidróxido de amônia da Sigma-Aldrich® foram também utilizados.

Tabela 5 – Fármacos emagrecedores e coadjuvantes estudados como adulterantes em suplementos alimentares e suas respectivas estruturas químicas.

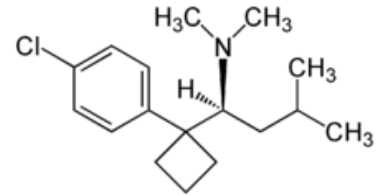
Anorexígenos



Anfepramona

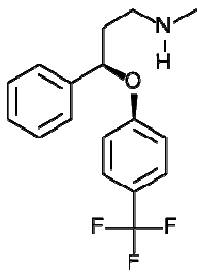


Femproporex

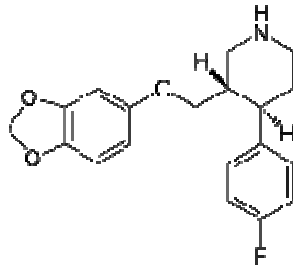


Sibutramina

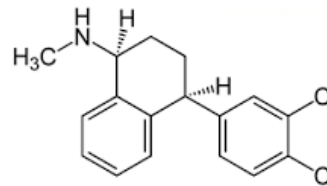
Psicotrópicos



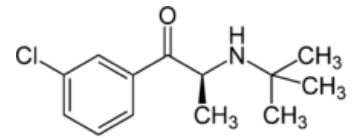
Fluoxetina



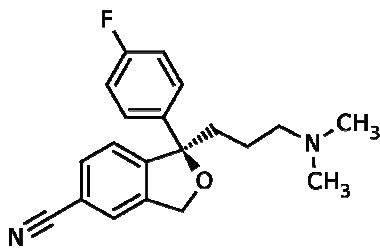
Paroxetina



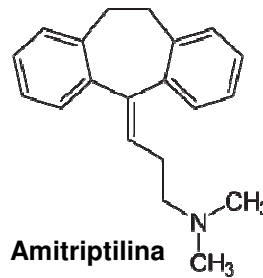
Sertralina



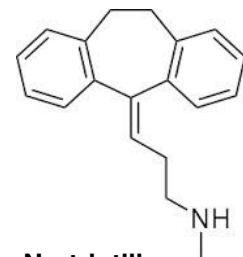
Bupropiona



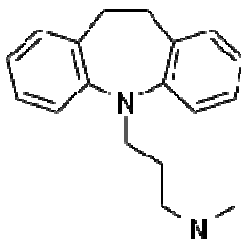
Citalopram



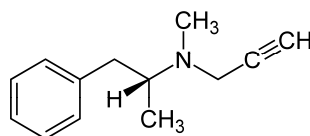
Amitriptilina



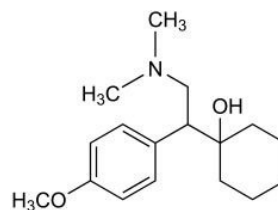
Nortriptilina



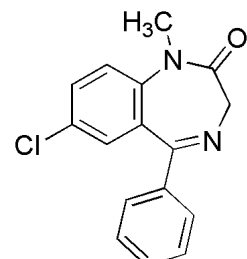
Imipramina



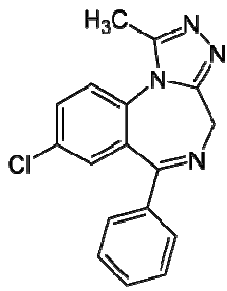
Selegilina



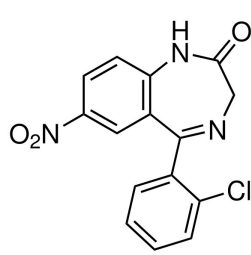
Venlafaxina



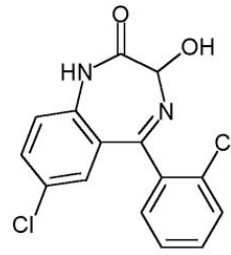
Diazepam



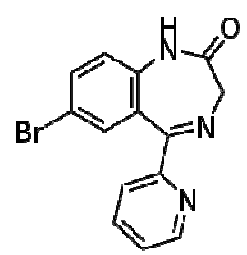
Alprazolam



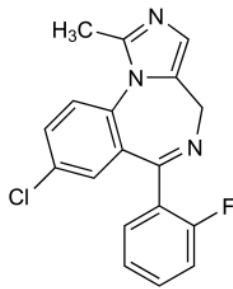
Clonazepam



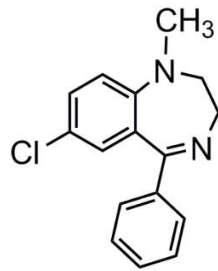
Lorazepam



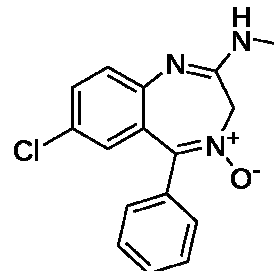
Bromazepam



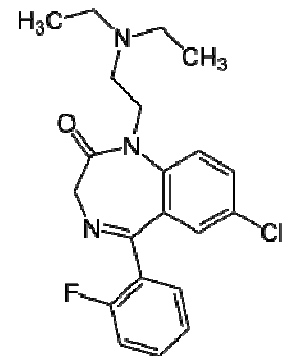
Midazolam



Medazepam

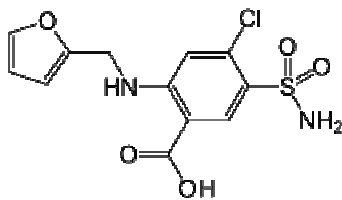


Clordiazepóxido

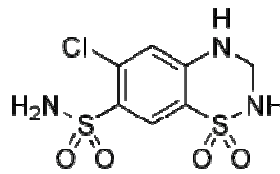


Flurazepam

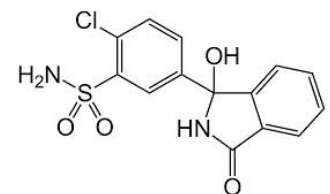
Diuréticos



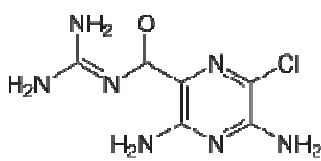
Furosemida



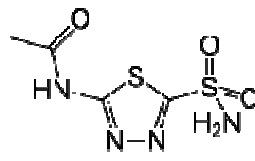
Hidroclorotiazida



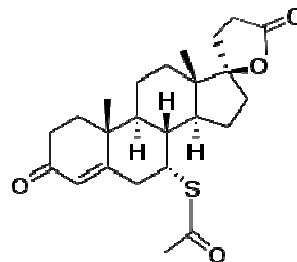
Clortalidona



Amilorida

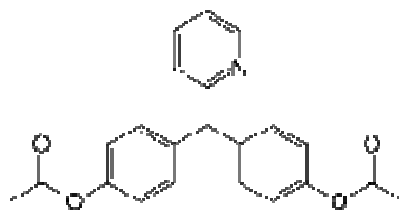


Acetazolamida

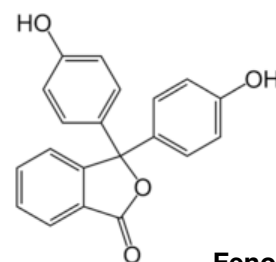


Espironolactona

Laxantes

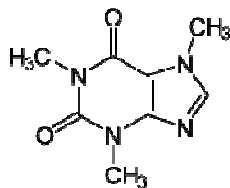
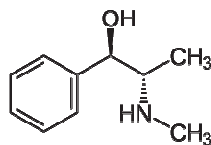
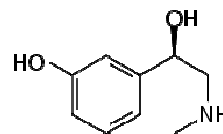


Bisacodil



Fenolftaleína

Estimulantes

**Cafeína****Efedrina****Sinefrina**

Fonte: autor

As soluções padrão foram preparadas em metanol grau LC-MS na concentração de 1 g L⁻¹. As soluções de trabalho foram preparadas pela diluição da solução padrão também em metanol, de acordo com a necessidade, sendo filtradas antes da injeção no equipamento. Todas as soluções foram preparadas em metanol uma vez que este solvente dissolve muito bem todos os adulterantes e, por ser protonado mais facilmente que a acetonitrila, facilita a etapa de ionização dos compostos.

4.1.3 Procedimento analítico

O desenvolvimento da metodologia iniciou com a análise individual de cada um dos adulterantes na concentração de 1 mg L⁻¹, a fim de obter o espectro de massas bem como determinar os íons produtos gerados para cada adulterante quando diferentes energias de colisão eram aplicadas na célula de colisão. A energia de colisão que gerava fragmentos de maior abundância foram eleitas, respectivamente, para cada um dos analitos.

Uma vez que todos os adulterantes apresentaram sinal com o uso da fonte de ionização ESI, os parâmetros da fonte como temperatura do gás de secagem, fluxo do gás de secagem, pressão do nebulizador e a voltagem do capilar foram otimizados a fim de obter a maior abundância de sinal para os adulterantes estudados.

Também a fim de melhorar o sinal, estudos de supressão com aditivos de fase móvel foram realizados. Para isso, acetato e formiato (5, 10, 20 e 50 mmol L⁻¹), ácido fórmico, ácido acético e hidróxido de amônia (0,05, 0,1, 0,5 e 1,0 % (v/v)) foram testados em diferentes concentrações na fase móvel e observado com qual aditivo e

em qual concentração obteve-se o maior sinal dos analitos. O aditivo, na respectiva concentração que resultou em maior abundância de sinal para a maioria dos analitos foi combinado então com metanol ou acetonitrila foi variado em diferentes gradientes (proporções e fluxos) para alcançar a melhor separação entre os adulterantes. Um mix de todos os adulterantes na concentração de 1 mg L^{-1} foi utilizado nesta etapa do trabalho.

Com o gradiente de separação estabelecido foi realizado o teste de supressão/aprimoramento do sinal por co-eluição para os adulterantes cuja separação não foi conseguida. Estes foram analisados junto e separadamente de cada adulterante com o qual co-eluíram e com a comparação entre as áreas obtidas foi possível observar a existência ou não de um efeito supressor ou de aprimoramento no sinal.

O método foi por fim validado de acordo com o guia de validação da Anvisa para métodos analíticos e bioanalíticos, RDC nº 899, de 2003 (BRASIL, 2003 (b)) e o International Conference and Harmonization (ICH) para a validação de procedimentos analíticos (ICH, 2005). A linearidade do método foi verificada pela regressão linear com base na resposta do equipamento em função da concentração. Diferentes concentrações dos adulterantes foram preparadas a partir da solução estoque para a obtenção da curva analítica. Os limites de detecção e de quantificação foram calculados a partir da relação sinal/ruído. A estimativa do limite de detecção teve por base a relação de três vezes o desvio (7 replicatas) do ruído de linha de base, enquanto que a do limite de quantificação foi considerada dez vezes o desvio (7 replicatas) do ruído da linha de base ambos divididos pela inclinação da curva analítica de cada adulterante. A precisão intra-dia foi calculada pelo desvio padrão relativo obtido das medidas, em triplicata, de cada concentração da curva analítica. Para a precisão inter-dia este mesmo procedimento foi realizado três dias depois e o desvio padrão considerado foi o obtido a partir das duplicatas dos dois dias. A precisão foi expressa pelo coeficiente de variação percentual (CV%). A exatidão do método foi avaliada pelo método da adição do padrão, com a adição prévia ao processo de extração de uma concentração conhecida de cada adulterante em uma amostra “limpa”, que não apresentou sinal de nenhum dos adulterantes estudados. O procedimento para a quantificação após a extração, que foi realizado tanto para o teste de exatidão quanto para a quantificação dos adulterantes nas amostras, está detalhado na seção 4.1.4.

4.1.4 Amostragem e preparo das amostras de suplementos alimentares

As amostras de suplementos alimentares foram obtidas em *websites* brasileiros através das ferramentas de busca do *Google*. As seguintes palavras-chaves foram utilizadas para a seleção e aquisição das amostras: suplemento alimentar para emagrecer, termogênicos, suplemento alimentar para perda de peso, suplemento para substituição de refeições. No total foram adquiridos 94 suplementos alimentares diferentes (sendo que de alguns produtos foram comprados mais de um lote) de 30 lojas virtuais diferentes, priorizando alguns produtos sugeridos pela Anvisa, aqueles que possuíam maior apelo comercial para perda de peso e produtos fabricados no Brasil. As amostras foram recebidas pelo correio, cadastradas em uma base de dados na qual recebiam um código de identificação e estocadas à temperatura ambiente para posterior análise.

As amostras em sua maioria apresentavam-se na forma de pó a granel, cápsula, comprimidos, cápsulas oleosas e preparações oleosas. Contudo, para a investigação dos adulterantes neste trabalho, apenas as amostras sólidas foram utilizadas. Foram realizados *pools* (n = 10) do conteúdo das cápsulas. Para os comprimidos, foi determinada a massa de 10 unidades de cada amostra, seguido de trituração com o auxílio de gral e pistilo. Para os produtos em pó a granel, 10 alíquotas dos suplementos foram tomadas completando uma massa final de 5 g.

O peso médio das amostragens foi calculado e utilizado para o preparo das amostras. A massa correspondente ao peso médio (e 0,5 g de pó, quando a granel) foi pesada em balança analítica e transferida para balão de 25 mL. Um volume um pouco inferior à 25 mL de metanol foi adicionado ao balão. A amostra foi então sonicada durante 15 minutos em banho ultrassônico. Após sonicação o volume do balão foi completado com metanol (qsp 25mL). Para a etapa de *screening* a amostra foi diluída 100 vezes, filtrada em membrana hidrofílica 0,2 µm e transferida para os vials para ser analisada. Quando o resultado do *screening* foi positivo para algum dos adulterantes analisados a amostra foi novamente diluída (1000, 2000, 4000 ou 10000 vezes) a fim de ajustar as concentrações à curva analítica do adulterante e foi quantificada pelo método da adição do padrão. Metanol foi o solvente de escolha para a extração da amostra porque além de solubilizar bem todos os adulterantes, por ser protonado com maior facilidade que a acetonitrila, melhora a ionização causando um aumento no sinal dos compostos.

Para a quantificação a amostra foi dividida em quatro balões de 5 mL (completando o balão até aferição com a amostra) sendo adicionado a três deles quantidades crescentes do padrão do adulterante à 50 mg L^{-1} (25 μL , 50 μL e 75 μL). A amostra de cada balão foi filtrada em membrana hidrofílica 0,2 μm e transferida para os vials para ser analisada. Com os resultados de área encontrados foi construída uma curva analítica considerando a área do balão que não teve adição de padrão como concentração zero e as áreas obtidas para as amostras dos outros três balões correspondentes às concentrações adicionadas em cada balão: 0,2487 mg L^{-1} ; 0,495 mg L^{-1} ; 0,7389 mg L^{-1} (concentrações corrigidas para os volumes finais de 5,025 mL; 5,050 mL e 5,075 mL, respectivamente). O valor encontrado, em módulo, para “x” com a extrapolação da curva (“y” = 0) é a concentração do adulterante presente na amostra analisada.

Outros processos de extração, como a diluição direta da amostra ou sonicação por 30 minutos, seguida ou não de centrifugação da amostra, foram também testados. O método de extração utilizado foi escolhido por apresentar melhores resultados de recuperação para todos os adulterantes.

4.2 MODELAGEM FARMACOCINÉTICA PARA O ESTUDO DA INTERAÇÃO MEDICAMENTOSA DA SIBUTRAMINA COM O *GRAPEFRUIT*

4.2.1 Software Simcyp

Simcyp é um simulador ADME comercialmente disponível para modelagem PBPK que integra a variabilidade interindividual para a predição da disposição de fármacos e interações medicamentosas. As variáveis demográficas, anatômicas, fisiológicas e genéticas são geradas para cada indivíduo, pelo método matemático de Monte Carlo, a partir da base de dados de cada população obtidas da literatura (HOWGATE et al., 2006). Pela combinação destas variáveis com os dados *in vitro* o simulador pode realizar a extrapolação para situações *in vivo* e populações virtuais (JAMEI et al., 2009).

Um modelo farmacocinético baseado na fisiologia (PBPK) foi desenvolvido para a sibutramina e seus dois metabólitos ativos (N-desmetilsibutramina (M1) e N-didesmetilsibutramina (M2)) utilizando o Simcyp Population Based ADME Simulator, versão 14.0 (Simcyp® Ltd, Sheffield, UK; <http://www.simcyp.com>). Além da base de

dados populacional, as propriedades fármaco-dependentes constituíram os parâmetros necessários para descrever os processos ADME e o mecanismo de interação medicamentosa.

4.2.2 Desenho do Estudo

O modelo foi desenhado a partir das definições da população mais adequada a ser utilizada, bem como o número de indivíduos, gênero e faixa etária. Informações como regime de dose, e administração do fármaco em jejum ou no estado alimentado (administração oral) também puderam ser definidas. Todas essas informações foram definidas baseados nos dados de um estudo clínico já publicado (BAE et al., 2010) no qual foi avaliado o perfil farmacocinético da sibutramina e de seus dois metabólitos ativos. Os pontos da curva farmacocinética do estudo clínico foram extraídos fazendo uso da ferramenta online Web Plot Ditizer.

O estudo clínico, entretanto, foi realizado em população coreana a qual não consta no banco de dados do Simcyp. Levando em consideração a existência de polimorfismo genético para as enzimas CYP450 em relação à diferentes populações demográficas, o qual poderia inferir no metabolismo da sibutramina e na formação dos metabólitos ativos, o modelo foi então avaliado para três diferentes populações. Duas populações asiáticas, as populações japonesa e chinesa de voluntários saudáveis (demograficamente mais próximas da população coreana do estudo) e a população caucasiana de voluntários saudáveis (*health volunteers*), default do software. Uma vez que não tínhamos conhecimento da expressão enzimática na população coreana optou-se por realizar as simulações com a população que oferecesse os resultados de perfil farmacocinético mais próximos dos apresentados no estudo clínico, que nesse caso foi a população caucasiana de voluntários saudáveis. A utilização dos dados clínicos desse estudo possibilitou aproximar a simulação *in silico* dos resultados observados no estudo *in vivo*.

4.2.3 Compostos e parâmetros de entrada

Os dados físico-químicos dos compostos utilizados como parâmetros de entrada como peso molecular, constante de dissociação (pKa), coeficiente de partição (log P), solubilidade em água em condições de pH definidos,

permeabilidade, fração livre do fármaco no plasma (F_{up}), fração livre do fármaco na incubação microssomal ($f_{u,inc}$), razão de concentração do fármaco entre sangue e plasma (B/P) foram obtidos a partir de dados experimentais da literatura ou preditos pelo próprio software (Tabela 6). A permeabilidade efetiva humana (P_{eff}) foi prevista com base em dados físico-químicos da área de superfície polar (PSA) e o número de ligações doadoras de hidrogênio. Além desses dados, informações acerca da formulação como tamanho de partícula dos grânulos do comprimido e ensaios de dissolução permitiram introduzir no modelo um processo de absorção (ADAM – Advanced dissolution, absorption and metabolism) que considera toda a etapa de dissolução quando envolve as formas farmacêuticas sólidas (Figura 5).

Tabela 6 – Parâmetros de entrada utilizados na simulação para a sibutramina e seus dois metabólitos ativos M1 e M2.

Parâmetros de entrada	Valor	Referência
<i>Sibutramina</i>		
Peso molecular	279,84	-
pKa	9,77	Pubchem (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)
Log P	5,2	ChemAxon (https://www.chemaxon.com)
$f_{u, plasma}$	0,04	Predito pelo Simcyp
Razão B/P	0,8225	Predito pelo Simcyp
Fa	0,99	Predito pelo Simcyp
k_a (h^{-1})	10,78	Predito pelo Simcyp
Q_{gut}	17,69	Predito pelo Simcyp
PSA ($Å^2$)	3,24	ChemAxon (https://www.chemaxon.com)
Hidrogênios doadores	0	ChemAxon (https://www.chemaxon.com)
Solubilidade ($mg mL^{-1}$)	2.9	Drug Bank (http://www.drugbank.ca/)
P_{eff} ($10^{-4} cm/s$)	26,20	Predito pelo Simcyp
<i>M1</i>		
Peso molecular	265,81	-
pKa	10,72	Aproximado
Log P	4,82	Drug Bank (http://www.drugbank.ca/)
$f_{u, plasma}$	0,068	Predito pelo Simcyp
Razão B/P	0,8692	Predito pelo Simcyp
<i>M2</i>		
Peso molecular	251,79	-
pKa	10,64	aproximado
Log P	4,5	Pubchem (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)
$f_{u, plasma}$	0,093	Predito pelo Simcyp
Razão B/P	0,9192	Predito pelo Simcyp

Fonte: autor.

Os dados de metabolismo *in vitro* (CL_{int}) da sibutramina foram acessados pela atividade catalítica das enzimas CYP450 recombinantes. A análise da cinética da taxa de formação do M1 a partir da sibutramina e de M2 a partir de M1 foi realizada em microsomas hepáticos humanos conforme trabalho publicado por BAE e colaboradores (BAE et al., 2008) (Tabela 7). O perfil farmacocinético do estudo clínico (BAE et al., 2011) serviu ainda para estimar o volume de distribuição e a depuração do fármaco.

Figura 5 – Modelo de absorção ADAM (Advanced dissolution, absorption and metabolismo).

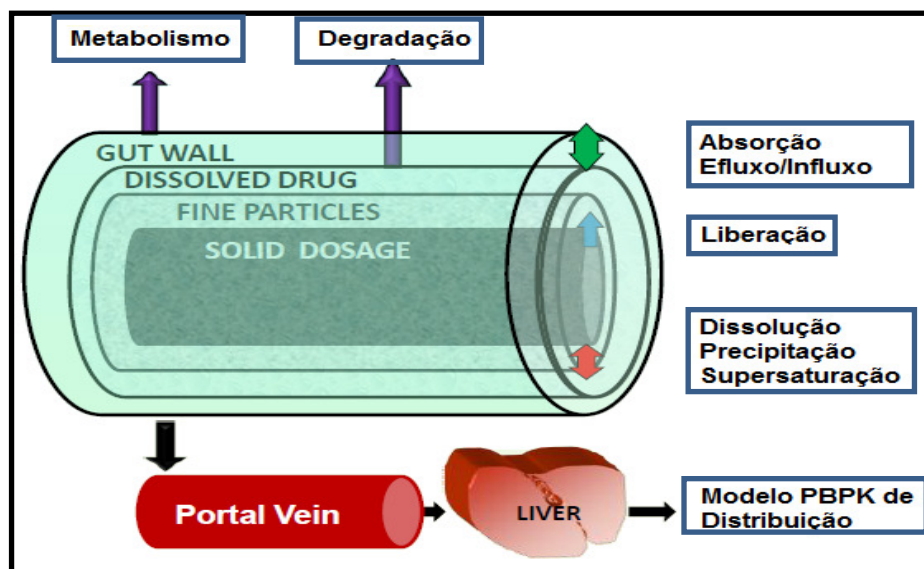


Tabela 7 – Dados do metabolismo *in vitro* da sibutramina

	Enzima	V_{max} (pmol/min/pmol de isoforma)	K_m (μM)	CL_{int} ($\mu L/min / pmol$ de isoforma)
M1 a partir da Sibutramina	CYP2B6	$5,53 \pm 0,0317$	$8,02 \pm 1,63$	$0,710 \pm 0,154$
	CYP2C19	$4,54 \pm 0,0130$	$388 \pm 83,7$	$0,710 \pm 0,154$
	CYP3A4	$4,54 \pm 0,0130$	$84,7 \pm 3,66$	$0,125 \pm 0,00163$
	CYP3A5	$26,4 \pm 1,01$	$392 \pm 20,7$	$0,0675 \pm 0,000983$
M2 a partir de M1	CYP2B6	$15,1 \pm 0,279$	$52,1 \pm 3,04$	$0,291 \pm 0,0230$
	CYP2C19	$1,84 \pm 0,182$	$112 \pm 25,0$	$0,0166 \pm 0,00202$
	CYP3A4	$5,06 \pm 0,524$	$266 \pm 33,0$	$0,0192 \pm 0,00142$
	CYP3A5	$6,15 \pm 0,131$	$220 \pm 4,48$	$0,0280 \pm 0,000252$

Fonte: BAE et al., 2008.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS EMAGRECEDORES EM SUPLEMENTOS ALIMENTARES

5.1.1 Otimização da Fonte de Ionização ESI

O detector de massas com a fonte de ionização por eletro nebulização (ESI) foi utilizado como interface no processo de ionização dos adulterantes. Os parâmetros da fonte foram otimizados pela injeção direta dos adulterantes no espectrômetro de massas variando-se as condições a fim de definir quais ofereciam maior intensidade do sinal no espectro obtido para os adulterantes estudados. Os parâmetros avaliados foram temperatura do gás de secagem, fluxo do gás, pressão do nebulizador e a voltagem do capilar.

A faixa de temperatura estudada para o gás de secagem foi de 200 a 350 °C. Temperaturas menores levaram a fraca ionização dos adulterantes pela menor capacidade de secar a fase móvel. O fluxo do gás foi analisado pelo mesmo motivo da temperatura e variado em uma faixa de 6-12 L min⁻¹. O fluxo de gás muito alto pode causar dispersão dos íons dificultando a entrada destes para o analisador. A pressão do nebulizador foi avaliada na faixa de 10 a 50 psi a fim de determinar a pressão ideal para a formação das gotículas no eletro nebulizador. E finalmente a voltagem do capilar, testada de 1000 a 4000 V, avaliou a eficiência em tornar as gotículas carregadas. A condição considerada ideal que proporcionou maior intensidade de sinal para a análise dos adulterantes foi temperatura do gás de secagem de 350 °C, fluxo do gás de 10 L min⁻¹, pressão do nebulizador de 30 psi e 2000 V para voltagem do capilar.

Para aumentar a confiabilidade no resultado final deste estudo os adulterantes foram analisados pelo modo de monitoramento de reações múltiplas (MRM) que permite identificar um composto não só pelo seu íon precursor como também pelo seu íon produto. Nesse caso um estudo de fragmentação foi realizado para otimizar as condições de quebra desses adulterantes de modo que oferecessem íons produtos com boa abundância de sinal. Os parâmetros analisados para cada um dos adulterantes foram *fragmentor* de 50 a 300 V e energia de colisão de 0 – 30 V. A voltagem de aceleração da célula foi de 7 V para todos os adulterantes. A

espironolactona foi o único adulterante analisado pelo modo SIM visto que a intensidade do sinal de seus íons produtos foram muito baixas. Embora com o LC-MS/MS seja possível obter até dois íons produtos para cada composto, alguns dos adulterantes apresentaram um segundo íon produto com intensidade de sinal muito baixa inviabilizando o monitoramento do mesmo. Deste modo optou-se por monitorar apenas o íon produto mais abundante de cada adulterante. Dados dos íons precursores, íons produtos, *fragmentor* e energia de colisão estão na Tabela 8.

5.1.2 Otimização das condições de separação

Para a separação dos adulterantes foi utilizada uma coluna Zorbax (SB-C18 2.1 x 50 mm, 1.8 μ m) como fase estacionária e diferentes composições de fase móvel com modificadores orgânicos metanol ou acetonitrila e aditivos como ácido acético, ácido fórmico, hidróxido de amônia, acetato de amônia e formiato de amônia. Ácido acético, ácido fórmico e hidróxido de amônia foram variados nas concentrações de 0,05; 0,1; 0,5; 1,0 % (v/v) enquanto que acetato de amônia e formiato de amônia foram variados em 5, 10, 20 e 50 mM (mmol L⁻¹).

Todos os aditivos foram aptos a ionizar os adulterantes mas, em geral, quanto maior a concentração do aditivo menor era a intensidade do sinal. Ácido fórmico 0,05% (v/v) foi escolhido por oferecer melhor sinal para a maioria dos adulterantes (Tabela 9). Acetonitrila foi definida como modificador orgânico por proporcionar melhor separação dos adulterantes com boa resolução dos picos. A separação dos adulterantes foi alcançada utilizando um gradiente de eluição que consistiu inicialmente de 10% acetonitrila / 90% ácido fórmico (0,05%) chegando a 30% acetonitrila / 70% ácido fórmico (0,05%) nos primeiros dez minutos e então chegando a 50% acetonitrila / 50% ácido fórmico (0,05%) dos 10 aos 15 minutos. Um tempo de 4 minutos foi necessário entre cada análise para alcançar a estabilização da condição inicial. Fluxo de 0,6 mL min⁻¹ e temperatura da coluna de 50 °C completaram as condições da separação. As injeções foram feitas com volume de injeção de 2 μ L.

O cromatograma dos 33 compostos analisados na condição acima proposta é mostrado na Figura 6. É possível observar que nem todos os adulterantes foram totalmente separados uns dos outros quando visualizados no cromatograma de íons totais (TIC). Entretanto quando as massas desses adulterantes (íons precursores e

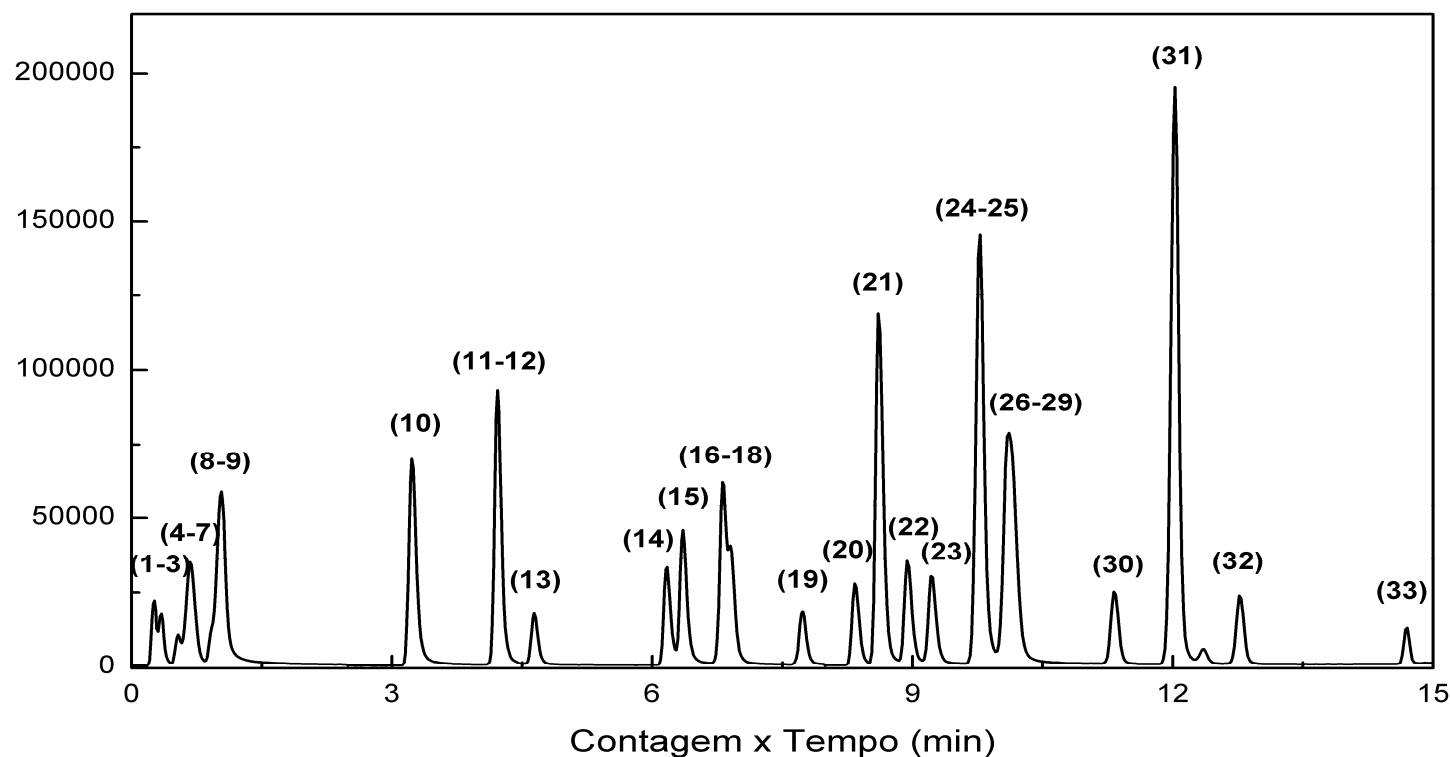
Tabela 8 – Tempo de Retenção e condições da análise por MRM para os adulterantes estudados.

Adulterante	Polaridade	Tempo de Retenção (min)	Íon Precursor (m/z)	Íon Produto (m/z)	Fragmentor (V)	Energia de Colisão (eV)
Espironolactona	+	14,5	439,20	439,2	148	0
Flurazepam	+	6,9	388,16	315,1	112	20
Bisacodil	+	11,62	362,14	184,1	118	24
Paroxetina	+	8,32	330,15	70,1	118	28
Midazolam	+	6,29	326,09	291,1	156	24
Citalopram	+	6,81	325,17	109,0	124	24
Lorazepam	+	10,27	321,02	275,0	122	16
Fenoltaleína	+	9,65	319,10	225,1	118	16
Clonazepam	+	9,76	316,05	270,0	124	32
Bromazepam	+	6,62	316,01	182,1	124	32
Fluoxetina	+	10,03	310,14	148,1	64	0
Alprazolam	+	11,21	309,09	281,1	118	24
Sertralina	+	10,17	306,08	159,0	64	24
Clordiazepóxido	+	4,46	300,09	282,1	116	20
Diazepam	+	12,63	285,08	193,1	110	32
Imipramina	+	8,62	281,20	86,1	68	12
Sibutramina	+	10,13	280,19	125,0	76	24
Venlafaxina	+	4,23	278,21	91,1	82	16
Amitriptilina	+	9,24	278,19	91,1	108	28
Medazepam	+	6,12	271,10	91,1	118	36
Nortriptilina	+	8,96	264,18	233,1	76	8
Bupropiona	+	3,29	240,12	184,1	70	4
Amilorida	+	0,36	230,00	171,1	120	18
Acetazolamida	+	0,505	223,00	180,8	72	8
Anfepramona	+	0,743	206,16	105,5	108	20
Cafeína	+	0,933	195,10	138,2	82	16
Femproporex	+	0,651	189,14	91,5	62	16
Selegilina	+	1,03	188,15	91,1	64	16

Sinefrina	+	0,276	168,10	107,9	40	28
Efedrina	+	0,372	166,10	115,9	68	28
Clortalidona	-	4,107	337,00	146,1	120	13
Furosemida	-	7,65	329,10	285,1	101	10
Hidroclorotiazida	-	0,707	296,00	269,0	120	18

Fonte: autor

Figura 6 – Cromatograma de íons toais (TIC) dos adulterantes estudados nas condições cromatográficas estabelecidas. (1) Sinefrina, (2) Amilorida, (3) Efedrina, (4) Acetazolamida, (5) Femproporex, (6) Hidroclorotiazida, (7) Anfepramona, (8) Cafeína, (9) Selegilina, (10) Bupropiona, (11) Clortalidona, (12), Venlafaxina, (13) Clordiazepóxido, (14) Medazepam, (15) Midazolam, (16) Bromazepam, (17) Citalopram, (18) Flurazepam, (19) Furosemida, (20) Paroxetina, (21) Imipramina, (22) Nortriptilina, (23) Amitriptilina, (24) Fenolftaleína, (25) Clonazepam, (26) Fluoxetina, (27) Sibutramina, (28) Sertralina, (29) Lorazepam , (30) Alprazolam, (31) Bisacodil, (32) Diazepam e (33) Espironolactona.



íons produtos) são extraídas do TIC e analisadas no modo MRM é possível distinguir o sinal de cada adulterante independente das co-eluições (Figuras 7a, 7b e 7c).

Figura 7a - Cromatograma dos íons extraídos (MRM) dos adulterantes estudados nas condições cromatográficas estabelecidas. (1) Sinefrina, (2) Amilorida, (3) Efedrina, (4) Acetazolamida, (5) Femproporex, (6) Hidroclorotiazida, (7) Anfeparamona, (8) Cafeína e (9) Selegilina.

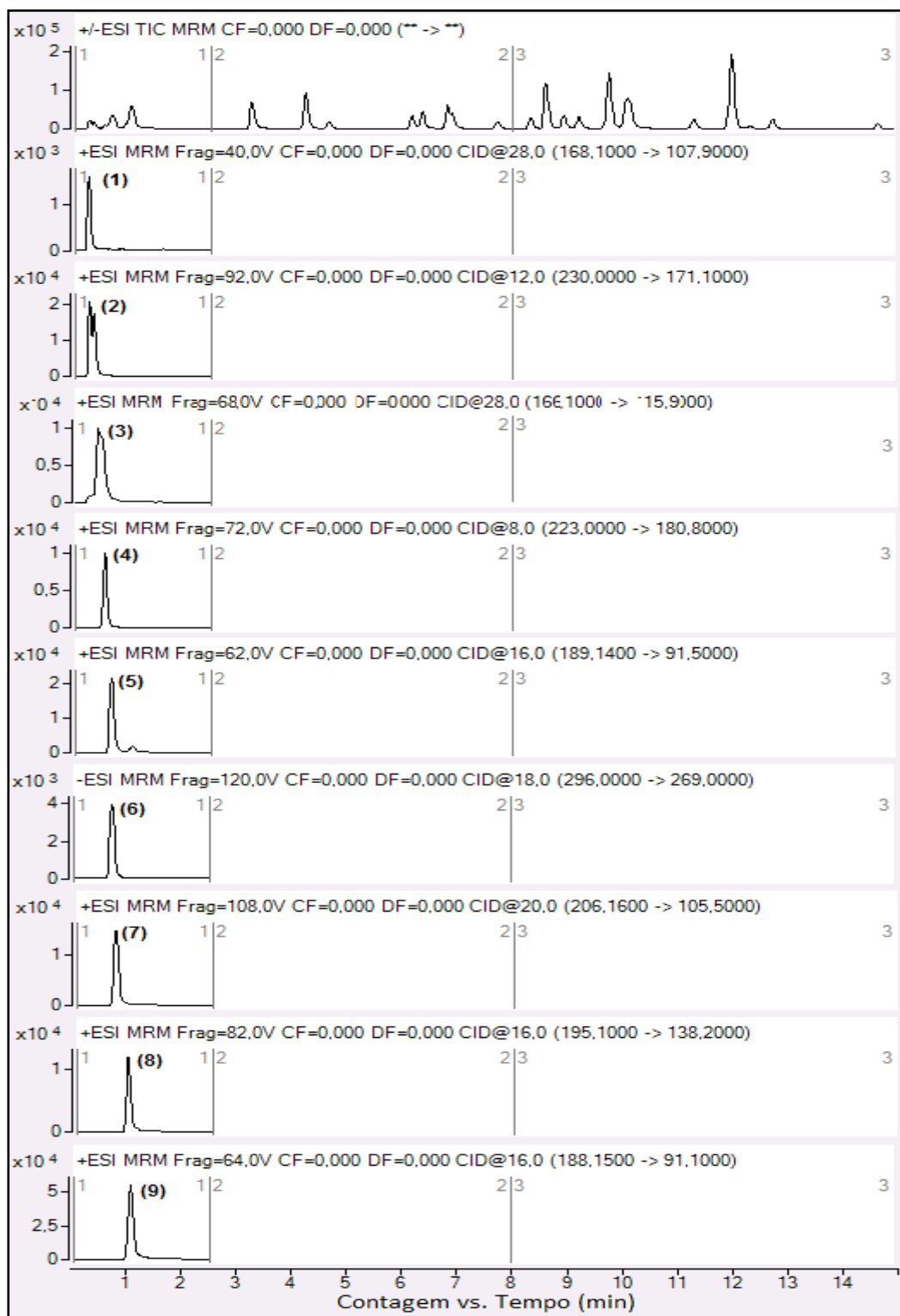


Figura 7b - Cromatograma dos íons extraídos (MRM) dos adulterantes estudados nas condições cromatográficas estabelecidas. (10) Bupropiona, (11) Clortalidona, (12), Venlafaxina, (13) Clordiazepóxido, (14) Medazepam, (15) Midazolam, (16) Bromazepam, (17) Citalopram, (18) Flurazepam e (19) Furosemida.

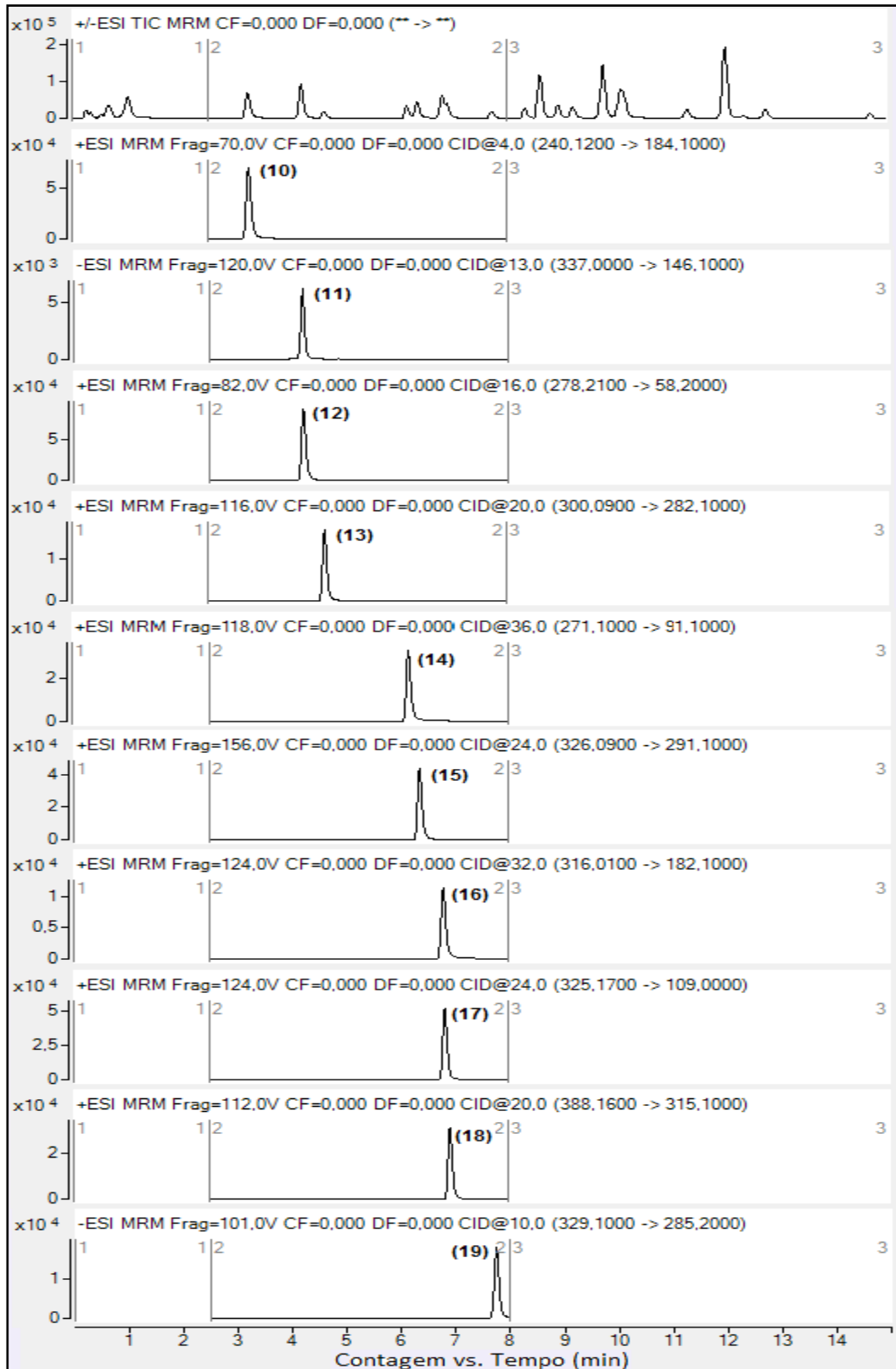


Figura 7c - Cromatograma dos íons extraídos (MRM) dos adulterantes estudados nas condições cromatográficas estabelecidas. (20) Paroxetina, (21) Imipramina, (22) Nortriptilina, (23) Amitriptilina, (24) Fenolftaleína, (25) Clonazepam, (26) Fluoxetina, (27) Sibutramina, (28) Sertralina, (29) Lorazepam, (30) Alprazolam, (31) Bisacodil, (32) Diazepam e (33) Espironolactona.

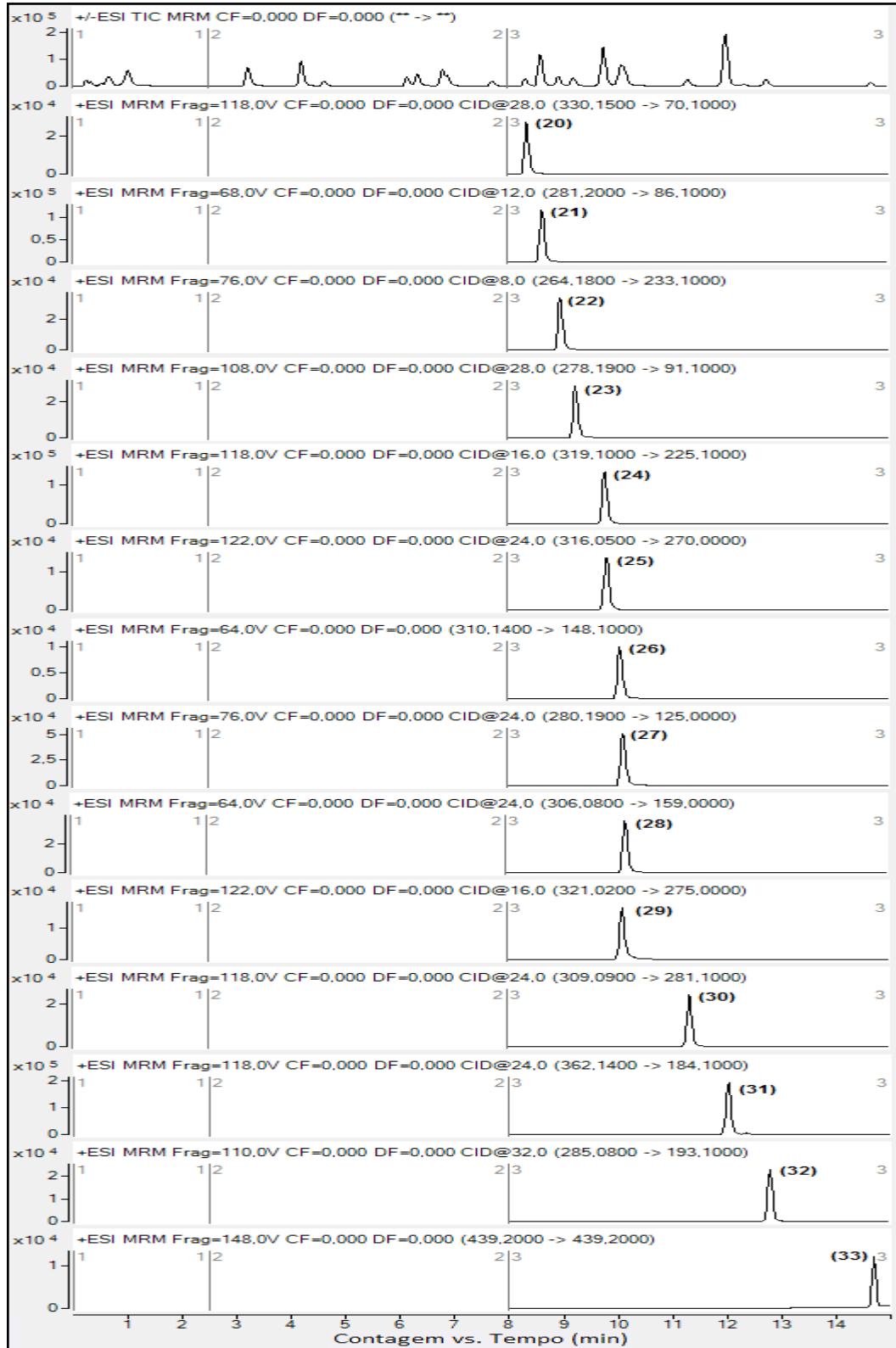


Tabela 9 – Estudo da supressão com aditivos de fase móvel

Condição	Área obtida em Metanol	Área obtida em Acetonitrila
Água:Metanol / Acetonitrila	61378981	53565342
Acetato 50 mM	30624625	47257251
Acetato 20 mM	53477386	61526473
Acetato 10 mM	57789955	71109136
Acetato 5 mM	55777803	46258614
Formiato 50 mM	69849072	68965718
Formiato 20 mM	74700679	76644337
Formiato 10 mM	80031941	82631061
Formiato 5 mM	83708177	89547478
Ácido Acético 1,0 % (v/v)	60003785	59920491
Ácido Acético 0,5 % (v/v)	65294589	57019015
Ácido Acético 0,1 % (v/v)	75813283	73497079
Ácido Acético 0,05 % (v/v)	34706988	47190478
Ácido Fórmico 1,0 % (v/v)	62444426	53405356
Ácido Fórmico 0,5 % (v/v)	68225706	81421167
Ácido Fórmico 0,1 % (v/v)	88760419	118389275
Ácido Fórmico 0,05 % (v/v)	100365767	123963664
Hidróxido de Amônia 1,0 % (v/v)	98689236	89619584
Hidróxido de Amônia 0,5 % (v/v)	96670229	86509337
Hidróxido de Amônia 0,1 % (v/v)	96354997	76418237
Hidróxido de Amônia 0,05 % (v/v)	78335530	77337160

Fonte: autor

5.1.3 Estudo de supressão de sinal por co-eluição dos adulterantes

Um estudo para avaliar o efeito de um adulterante sobre o sinal de outro adulterante quando estes estão co-eluídos foi realizado. Para isso todos os adulterantes foram analisados juntos em uma única corrida cromatográfica. Posteriormente os adulterantes foram divididos em quatro grupos separando em grupos diferentes os adulterantes que co-eluíam entre si.

As áreas obtidas para os adulterantes quando analisados juntamente de outros com os quais co-eluem foram comparadas às áreas obtidas quando analisados separadamente destes. Observou-se o efeito de supressão ou aumento de sinal, ou ainda se a co-eluição de dois ou mais adulterantes não teve nenhuma influência no sinal dos demais. Os resultados deste estudo encontram-se na Tabela 10.

Tabela 10 – Estudo da supressão/ aumento do sinal por co-eluição de adulterantes.

Par de co-eluição		Influência de B em A	Influência de A em B
Adulterante A	Adulterante B	(média, %)	(média, %)
Sinefrina	Amilorida	8.39 (4.24)	-16.47 (6.74)
Acetazolamida	Fenproporex	2.06 (6.44)	-0.39 (4.82)
Fenproporex	Hidroclorotiazida	-0.39 (4.82)	4.60 (3.03)
Fenproporex	Amfepramona	-0.39 (4.82)	3.56 (4.41)
Amfepramona	Hidroclorotiazida	3.56 (4.41)	4.60 (3.03)
Cafeína	Selegilina	5.85 (4.20)	-19.88 (3.15)
Venlafaxina	Clortalidona	-0.53 (3.97)	2.73 (4.95)
Venlafaxina	Clordiazepóxido	-0.53 (3.97)	-3.06 (4.00)
Medazepam	Midazolam	1.00 (2.91)	-0.26 (4.46)
Bromazepam	Citalopram	5.14 (2.13)	15.85 (5.96)
Citalopram	Flurazepam	15.85 (5.96)	3.31 (3.59)
Lorazepam	Sibutramina	1.83 (3.46)	5.28 (6.97)
Lorazepam	Fluoxetina	1.83 (3.46)	-30.73 (3,31)
Lorazepam	Sertralina	1.83 (3.46)	12.78 (1.49)
Sibutramina	Fluoxetina	5.28 (6.97)	-30.73 (3,31)
Sibutramina	Sertralina	5.28 (6.97)	12.78 (1.49)
Fluoxetina	Sertralina	-30.73 (3,31)	12.78 (1.49)

Fonte: autor

Embora seja possível perceber uma influência relativamente alta em algumas co-eluições, tanto de supressão quanto de aumento do sinal, essa informação se torna relevante a partir do momento que os dois adulterantes que co-eluem são encontrados juntos em uma mesma amostra podendo um interferir na quantificação do outro. Caso contrário a co-eluição não se torna uma interferência na quantificação. Além disso, em todas as amostras nas quais foram identificadas a presença de algum dos adulterantes estudados, a quantificação foi realizada pelo método da adição do padrão, ou seja, pela construção de uma curva interna na própria amostra, minimizando o efeito de matriz e desvios da curva externa.

5.1.4 Validação do método analítico por LC-MS/MS

Após a otimização o método foi validado considerando o maior número de parâmetros de validação analítica importantes para o estudo dos adulterantes. A validação do método foi baseada na RDC nº 899 de 2003 (BRASIL, 2003 (b)) e no ICH (ICH, 2005).

A faixa linear foi obtida pela injeção em triplicata de pelo menos sete níveis de concentração entre 3,9 e 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$. Os coeficientes de correlação obtidos foram todos maiores do que 0,99. Além da faixa linear foram determinados os limites de detecção e de quantificação, a precisão intra-dia e inter-dia e a recuperação do método conforme descrito na seção 4.1.3 (Procedimento analítico). A precisão do método variou de 0,15 a 4,98% e a exatidão apresentou uma variação entre 80,02 a 119,76%. Os valores foram satisfatórios de acordo com o que é requerido para os métodos bioanalíticos que preconiza para a precisão um coeficiente de variação de até 15% e para a exatidão uma recuperação entre 80-120%. Embora o método tenha sido validado com o uso de padrões, foram adotados valores relativos aos métodos bioanalíticos tendo em vista a aplicação do mesmo em amostras de matriz complexa como são os suplementos alimentares e os produtos naturais. Estes dados estão também de acordo com a AOAC (Association of Official Analytical Chemists) para a validação de métodos para a análise de suplementos alimentares e produtos botânicos (AOAC, 2013). Os resultados obtidos para os parâmetros de validação são apresentados na Tabela 11.

A validação do método não foi realizada para a efedrina devido ao término do padrão e à dificuldade na aquisição deste. No caso de uma amostra de suplemento alimentar estar adulterada com efedrina, esta poderia ser facilmente identificada, porém não quantificada na amostra.

A seletividade do método foi determinada pela análise de outras classes de adulterantes não abordadas neste estudo, mas que poderiam interferir na determinação das classes de interesse. Os fármacos anti-hipertensivos propranolol, atenolol, metoprolol, nadolol, captopril, enalapril, losartan e valsartan, assim como os fármacos estimulantes sexuais sildenafil, vardenafil, tadalafil e yohimbine foram analisados nas mesmas condições de separação e detecção dos adulterantes estudados. Todos foram analisados em polaridade positiva. Embora alguns interferentes tenham apresentado mesmo tempo de retenção e, portanto, co-eluído

com alguns dos adulterantes de interesse (atenolol e sinefrina, enalapril e medazepam, losartan e bisacodil, vardenafil e flurazepam), todos eles apresentam massas de íons precursores e íons produtos diferentes dos demais (Tabela 12), podendo ser facilmente identificados quando extraídos seus espectros de massas ou analisados por MRM.

Tabela 11 – Dados de validação do método desenvolvido para a determinação dos adulterantes de interesse

Adulterante	Faixa Linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Precisão Intra dia (%)	Exatidão (%)
Espironolactona	156,2 – 5000	11,46	38,20	1,04-3,48	119,76
Flurazepam	3,90 – 1000	0,04	0,14	0,59-3,42	109,14
Bisacodil	3,90 – 1000	0,06	0,20	0,62-2,22	93,90
Paroxetina	3,90 – 1000	0,01	0,64	0,25-4,83	80,00
Midazolam	3,90 – 1000	0,0	0,18	0,20-2,37	111,97
Citalopram	3,90 – 1000	0,07	0,23	0,90-4,24	82,54
Lorazepam	3,90 – 1000	0,05	0,19	0,34-4,04	116,98
Fenolftaleína	19,5 – 5000	0,70	2,34	0,76-2,99	109,33
Clonazepam	3,90 – 1000	0,05	0,19	0,57-4,47	84,75
Bromazepam	7,80 – 2000	0,22	0,76	0,66-3,98	114,23
Fluoxetina	7,80 – 2000	0,41	1,37	0,60-4,92	102,43
Alprazolam	3,90 – 1000	0,04	0,14	0,27-3,44	116,08
Sertralina	3,90 – 1000	0,08	0,28	0,59-3,20	119,27
Clordiazepóxido	3,90 – 1000	0,10	0,35	0,68-4,43	111,86
Diazepam	3,90 – 1000	0,10	3,41	0,64-4,29	110,59
Imipramina	3,90 – 1000	0,08	0,26	0,20-4,26	113,52
Sibutramina	3,90 – 1000	0,12	0,40	0,22-3,97	96,37
Venlafaxina	3,90 – 1000	0,05	0,17	0,15-3,46	89,43
Amitriptilina	3,90 – 1000	0,15	0,52	0,51-4,62	110,17
Medazepam	3,90 – 1000	0,04	0,15	0,60-4,95	105,22
Nortriptilina	3,90 – 1000	0,07	0,25	0,61-4,72	103,43
Bupropiona	3,90 – 1000	0,05	0,18	0,92-4,51	100,90
Amilorida	3,90 – 1000	0,09	0,31	0,48-2,91	96,37
Acetazolamida	7,80 – 2000	1,05	3,51	0,92-3,04	119,48
Anfepramona	3,90 – 1000	0,07	0,24	0,20-2,83	82,42
Cafeína	7,80 – 2000	0,36	1,20	0,35-3,82	98,18
Femproporex	3,90 – 1000	0,11	0,38	0,38-4,00	111,45
Selegilina	3,90 – 1000	0,04	0,15	0,70-3,10	110,53
Sinefrina	7,80 – 2000	2,31	1,71	0,84-4,64	108,30
Clortalidona	7,80 – 2000	0,75	2,52	1,43-4,87	105,90
Furosemida	7,80 – 2000	1,21	0,40	0,80-4,98	110,42
Hidroclorotiazida	7,80 – 2000	1,17	3,92	1,42-4,22	96,52

Tabela 12 – Tempo de retenção e condições da análise por MRM para os interferentes estudados para avaliação da seletividade.

Adulterante	Tempo de Retenção (min)	Íon Precursor (m/z)	Íon Produto (m/z)	Fragmentor (V)	Energia de Colisão (eV)
Propranolol	5,179	260,1	116,2	96,0	14
Atenolol	0,269	267,2	190,1	110,0	11
Metoprolol	1,96	268,2	159,1	80,0	14
Nadolol	0,720	310,2	254,1	120,0	14
Captopril	1,97	218,1	116,0	95,0	5
Enalapril	6,14	377,2	234,2	110,0	10
Losartan	11,68	423,2	207,1	120,0	2
Valsartan	14,31	458,2	300,2	105,0	14
Sildenafil	8,15	475,2	100,1	214,0	25
Tadalafil	11,12	390,1	268,0	136,0	5
Vardenafil	6,90	489,2	151,0	208,0	40
Yohimbine	2,80	355,2	144,0	186,0	35

Fonte: autor

5.1.5 Determinação analítica dos suplementos alimentares e aspectos regulatórios

Foram adquiridos de *websites* brasileiros 94 diferentes suplementos alimentares em 30 lojas virtuais. Alguns destes produtos foram comprados mais de uma vez, com lotes diferentes, resultando em um total de 128 amostras de suplementos. Das 128 amostras, 13 continham cápsulas oleosas e uma era líquida. As 114 demais amostras consistiam de comprimidos, cápsulas ou pó a granel. Todas as 114 amostras sólidas foram analisadas.

A Tabela 13 contém a descrição de todas as amostras de suplementos alimentares, a indicação de dose diária, o resultado das análises realizadas pela aplicação do método desenvolvido bem como a regulamentação à qual estas amostras estão submetidas.

Os suplementos alimentares apresentaram, no geral, fortes apelos comerciais para sua capacidade de promover mudanças na performance e melhoras no desempenho físico e na perda de peso. Os suplementos alimentares mais populares encontrados foram os proteicos à base de proteína do soro do leite hidrolisada (*whey protein*) e os suplementos indicados para substituição parcial de refeições.

Tabela 13 - Amostras de suplementos alimentares com a respectiva composição descrita nos rótulos.

Amostra	Composição	Indicação de uso	Dose diária encontrada	Registro
1	Guaraná, mate, mistura de vitaminas e minerais (cálcio, colina, cromo, niacina, ácido pantotênico, vitamina B2 e vitamina B1)	4 caps/dia	Lote a) Cafeína 209,48 mg Lote b) Cafeína 191,16 mg	Anvisa/MS
2	Guaraná em pó, dióxido de silício	2 caps/dia	Lote a) Cafeína 84,72 mg Lote b) Cafeína 67,96 mg	n.i.
3	Triglicerídeos de cadeia média (MCT), cafeína em microesferas	2 caps/dia	Amostra oleosa (2 lotes)	n.i.
4	Maltodextrina (carboidrato de absorção gradativa), contém fenilalanina	40g / 250 mL H ₂ O 1x dia	Lote a) n.d. Lote b) n.d.	n.i.
5	Maltodextrina, guaraná, laranja amarga, chá verde, cromo, niacina, vitamina C	4g / 250 mL H ₂ O 2x dia	Cafeína 191,44 mg	RDC nº 27/2010
6	Extrato de acerola, extrato de chá verde, extrato de goji berry, vitamina C, vitamina A, vitamina E, picolinato de cromo, selênio quelato, zinco quelato	1 caps / 2x dia	Cafeína 21,18 mg	RDC nº 27/2010
7	Extrato de acerola, café verde, picolinato de cromo, vitamina C, amido de milho, vitamina A, vitamina E, selênio quelato, zinco quelato	2 caps / 2x dia	Cafeína 0,008 mg	RDC nº 27/2010
8	Cafeína anidra, fibra de laranja, psillium, quitosana, vitaminas e minerais	2 caps incolor / 2x dia 1 cap verm. /	Lote a) Cafeína 188,23 mg Lote b) Cafeína 174,43 mg	Anvisa/MS

		dia		
9	Amido de milho ceroso (carboidrato complexo)	30g / 250 mL H ₂ O 2x dia	Lote a) n.d. Lote b) n.d.	n.i.
10	Proteína hidrolisada e isolada	4 doses de 25g / 125 mL H ₂ O	n.d.	Importado FDA
11	Proteína do soro do leite isolada e hidrolisada	31g / 300 mL H ₂ O	n.d.	RDC nº 27/2010
12	<i>Carthamos tinctorius</i>	2 caps / 2x ou 3x dia	Amostra oleosa	n.i.
13	Óleo de linhaça, óleo de gergelim, óleo de cártamo, óleo de borragem, óleo de girassol	3 caps / dia	Amostra oleosa	Anvisa/MS
14	Cafeína 220 mg	1 caps / dia	Lote a) Cafeína 267,44 mg Lote b) Cafeína 270,80 mg	n.i.
15	Guaraná, colina, psillium, vitaminas	2 caps / 2x dia	Lote a) Cafeína 575,60 mg Lote b) Cafeína 580,32 mg	Anvisa/MS
16	Óleo de cártamo, vitaminas, biotina (vitamina H)	2 caps / 2x dia	Amostra oleosa	Anvisa/MS
17	Maltodextrina, suplemento a base de colina, magnésio, vitaminas, cromo, ácido fólico, extrato de chá verde, extrato de guaraná, extrato de laranja amarga, extrato de canela	2 caps / 2x dia	Lote a) Cafeína 417,92 mg Lote b) Cafeína 427,64 mg	n.i.
18	Suplemento 100% cafeína (420 mg) para atletas	1 caps / dia	Cafeína 285 mg	n.i.
19	Quitosana, psyllium, farelo de aveia	2 caps / 2x dia	n.d.	Anvisa/MS

20	Microgrânulos de cafeína, óleo de cártamo	-	Amostra oleosa	RDC nº 27/2010
21	Sem composição declarada	1 caps / 2x dia	n.d.	n.i.
22	Guaraná em pó (1254 mg) com alta concentração de cafeína (280 mg), <i>Citrus aurantium</i> (364 mg), café verde (281 mg), picolinato de cromo, suplemento vitamínico e mineral	4 caps/dia	Cafeína 468,16 mg	RDC nº 27/2010
23	Psyllium, abacaxi, acerola, açaí, 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	2 ou 3 caps / 3x dia	Cafeína 40,14 / 60,21 mg	Anvisa/MS
25	Cromo, colina, cálcio, silício, zinco, magnésio, café verde, vitamina C, vitamina B3, ácido fólico	3 caps / dia	Cafeína 80,19 mg	RDC nº 27/2010
26	Chá verde, colágeno, inulina, gengibre, vitaminas e minerais	5g / 200 mL H ₂ O	Cafeína 12,70 mg	RDC nº 27/2010
27	Termogênico, cafeína (210 mg), fosfato dicálcico, dióxido de silício, chá verde, leucina, tirosina, extrato de casca de pinheiro, <i>Garcinia camboja</i>	2 tabletes / 2x dia	Cafeína 210,04	RDC nº 27/2010
28	Colágeno, betacaroteno, vitamina C	10g / 200mL	n.d.	n.i.
29	Fibra de laranja amarga	2 caps / 2x dia	Cafeína 0,008 mg	Anvisa/MS

			Sinefrina 0,009 mg	
30	Cafeína anidra (420 mg)	2 caps / dia	Cafeína 252,80 mg	n.i.
31	Cafeína anidra (420 mg)	2 caps / dia	Cafeína 421,16 mg	n.i.
32	Ácido linoléico do óleo de cártamo, vitamina E	5 caps / dia	Amostra oleosa	Anvisa/MS
33	Triglicerídeos de cadeia média	10g / 150 mL H ₂ O	n.d.	RDC nº 27/2010
34	Cafeína anidra, óleo de soja, gordura vegetal emulsificante, lecitina de soja	2 caps / dia	Amostra oleosa	RDC nº 27/2010
35	Aminopolissacarídeo	2 caps / 3x dia	Lote a) n.d. Lote b) n.d.	Anvisa/MS
36	Proteína do soro do leite, albumina, caseína, L-leucina, L-valina, L-isoleucina	24,7g / 300mL H ₂ O	Lote a) n.d. Lote b) n.d.	RDC nº 27/2010
37	Chá branco, colágeno, <i>Phaseolus vulgaris</i> ,cromo	1 sachê (5g) / 200 mL H ₂ O	Cafeína 171,8 mg	RDC nº 278/2005
38	Cafeína anidra (420 mg)	2 tabletes / dia	Cafeína 371,16 mg	RDC nº 27/2010
39	Cafeína anidral	1 caps / dia	Lote a) Cafeína 149,92 mg Lote b) Cafeína 158,06 mg	RDC nº 27/2010
40	Cafeína (420 mg)	2 caps / dia	Lote a) Cafeína 375,58 mg Lote b) Cafeína 343,60 mg	n.i.
41	Proteína do soro do leite isolada, peptídeos do soro do leite	32g / 300 mL H ₂ O	Lote a) n.d. Lote b) n.d.	RDC nº 27/2010

42	Glutamina	5g / 60 mL H ₂ O	n.d.	Anvisa/Ms
43	Cafeína anidra (420 mg)	2 caps / dia	Cafeína 203,14 mg	RDC nº 18/2010
44	Triglicerídeos de cadeia média	10g / 200 mL	Lote a) n.d. Lote b) n.d.	n.i.
45	<i>Citrus aurantium</i> , chá verde, colina, cromo, magnésio, vitaminas B3 e B6, vitamina C e ácido fólico	4 caps / dia	Cafeína 6,07 mg Sinefrina 5,28 mg	Anvisa/Ms
46	Chá verde, laranja amarga, guaraná, vitaminas e minerais	4g (sachê) / 300 mL H ₂ O	Cafeína 140 mg Sinefrina 25,44 mg	Anvisa/Ms
47	Colina, cromo, magnésio e <i>Citrus aurantium</i>	2 caps / dia	Cafeína 0,02 mg	RDC nº 27/2010
48	Aminoácidos de cadeia ramificada	1 scoop (13,37g) / 200- 300 mL H ₂ O	n.d.	RDC nº 27/2010
49	Proteína de carne bovina hidrolisada e isolada, maltodextrina	31,3g / 200- 300 mL H ₂ O	Lote a) n.d. Lote b) n.d.	Importado FDA
50	Cafeína, taurina, chá verde, <i>Citrus aurantium</i> , gengibre e pimenta vermelha	2x 6g / 200 mL H ₂ O dia	Lote a) Cafeína 151,32 mg Sinefrina 1,16 mg Lote b) Cafeína 189,24 mg Sinefrina 1,38 mg	RDC nº 27/2010
51	Cafeína e óleo de gergelim	1-2 caps / dia	Amostra oleosa	RDC nº 27/2010
52	Quitosana	3 caps / 2x dia	n.d.	Anvisa/MS

53	Creatina, arginina, extrato de guaraná com alto teor de cafeína	8 - 10 caps / dia	Cafeína 276,64 - 345,80 mg	RDC nº 27/2010
54	Cápsula oleosa - óleo de cártamo / Cápsula em pó - cafeína anidra 210 mg	1 caps pó / dia 2 caps oleosa / dia	Cafeína 133,94 mg	Anvisa/MS
55	Dextrose, maltodextrina, creatina, guaraná, cálcio arginina quelato, cálcio ornitina quelato, taurina	15g / 200 mL H ₂ O dia	Cafeína 531,60 mg	RDC nº 18/2010
56	Carnitina	1-2 caps / dia	Cafeína 0,38-0,76 mg	Anvisa/MS
57	Cafeína anidra	1-2 caps / dia	Lote a) Cafeína 31,88 mg Lote b) Cafeína 35,2 mg	RDC nº 18/2010
58	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	3 ½ colher / 250 mL leite dia	Lote a) Cafeína 0,36 mg/g Lote b) Cafeína 0,24 mg/g	n.i.
59	L-carnitina	30 mL / dia	Amostra líquida	Anvisa/MS
60	Cafeína 420 mg	1 cps / dia	Lote a) Cafeína 205,97 mg Lote b) Cafeína 215,24 mg	RDC nº 27/2010
61	Cafeína 420 mg	1 tablete / dia	Cafeína 220,87 mg	RDC nº 27/2010
62	Cafeína 420 mg	2 caps / dia	Lote a) Cafeína 347,98 mg Sinefrina 5,14 mg Acetazolamida 1mg Lote b) Cafeína 292,80 mg	n.i.

		Sinefrina 5,28 mg Acetazolamida 0,83 mg		
63	Cafeína 286 mg, óleo de gergelim	2 caps / dia	Amostra oleosa	Importado FDA
64	L-carnitina 2000 mg	2-4 caps / dia	Lote a) Cafeína 0,584 -1,16 mg Lote b) Cafeína 0,78 – 1,56 mg	Anvisa/MS
65	Óleo de linhaça, girassol, gergelim, borragem, cártamo, vitaminas e minerais	1 caps/ dia	Amostra oleosa	Importadp FDA
66	Cafeína anidra 300 mg	1 caps / dia	Lote a) Cafeína 89,86 mg Lote b) Cafeína 232,62 mg Lote c) Cafeína 296,28 mg	RDC nº 27/2010
67	Complexo B, biotina, colina, cromo, vitamina C, guaraná e chá verde	4 caps / dia	Lote a) Cafeína 65,16 mg Lote b) Cafeína 58,36 mg	Anvisa/MS
68	Taurina, cafeína, picolinato de cromo, guaraná, laranja amarga, chá verde, café verde	5g / 200 mL dia	Lote a) Cafeína 174,35 mg Lote b) Cafeína 153,35 mg	n.i.
69	Psyllium (<i>plantago ovate</i>)	2 caps / 3x dia	n.d.	Anvisa/MS
70	Guaraná, citrato de colina, cromo, nicotinamida, pantenoato de cálcio, tiamina	4 caps / dia	Cafeína 250,88 mg	RDC nº 27/2010
71	Cafeína (160 mg), n-acetil-L-tirosina, niacina, vitaminas B6 e B12, <i>Camellia sinensis</i>	1 caps / dia	Cafeína 242,06 mg	Importado FDA
72	Colágeno, pola de frutas de <i>Bromelia ananás</i> L.,	4g / 400 mL	Lote a) Cafeína 6,30 mg	RDC nº 27/2010

	flores de <i>Hibiscus sabdarriffa</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, cianocobalamina, picolinato de cromo, biotina	H ₂ O dia	Lote b) Cafeína 8,08 mg	
73	Cafeína 220 mg	1 tablete / dia	Cafeína 188,28 mg	n. i.
74	Cafeína, trans-resveratrol	1-2 caps / dia	Amostra oleosa	Importado FDA
75	Cafeína anidra 210 mg	1 caps / dia	Lote a) Cafeína 278,18 mg Lote b) Cafeína 366,92 mg	RDC nº 27/2010
76	Quitosana, <i>spirulina</i> , acerola e biotina	7 caps / dia	Cafeína 0,875 mg	Anvisa/MS
77	Picolinato de cromo 200 µg	1 caps / dia	Cafeína 0,05 mg	Anvisa/MS
78	Laranja amarga, guaraná, chá verde, erva mate, canela do ceilão, gengibre, abacaxi, framboesa, maltodextrina	5g / 240 mL H ₂ O dia	Cafeína 518,75 mg	n.i.
79	Produto termogênico. Contém cafeína, extrato de café verde, extrato de <i>Caleus farskohlii</i> , extrato de cacau, extrato de yohimbe	1-2 caps / dia	Cafeína 249,26 – 498,52 mg	Importado FDA
80	Maca peruana, acerola, vitamina E, vitamina A, zinco, picolinato de cromo, selênio	2 caps / dia	n.d.	RDC nº 27/2010
81	Proteína do leite concentrada, proteína de soro do leite isolada, albumina, leite desnatado,	1 colher / 250 mL H ₂ O dia	n.d.	Importado FDA

	triglicerídeos de cadeia média, cloreto de sódio, caseinato de sódio, óleo de girassol, óleo de canola, caseína, cacau em pó com álcalis			
82	Mistura de proteínas do soro do leite, glicina, creme de leite vegetal, cacau	37,8 mg / 200 mL H ₂ O dia	Lote a) Cafeína 3,78 mg Lote b) Cafeína 3,55 mg	RDC nº 27/2010
83	Laranja amarga, beterraba, chá verde, mate, guaraná, feno grego, açafraão, alecrim	3g / 250 mL H ₂ O	Cafeína 367,05 mg Sinefrina 12,26 mg	Importado FDA
84	Quitosana, composto de laranja, guaraná, psyllium, vitamina C, cromo	5 caps / dia	Cafeína 39,5 mg	Anvisa/MS
85	Complexo de magnésio, zinco, cromo e vitamina B6	2 caps / dia	Cafeína 0,096 mg	Importado FDA
86	Psyllium, lecitina de soja e colina	2-4 caps / dia	Lote a) Cafeína 0,194 – 0,388 mg Lote b) Cafeína 0,120 – 0,240 mg	Anvisa/MS
87	Creatina e beta-alanina	5,6g / 150 mL H ₂ O dia	Cafeína 129,13 mg Acetazolamida 0,59 mg	RDC nº 27/2010
88	Cafeína (430 mg)	1 caps / dia	Cafeína 612, 51 mg	n.i.
89	Cafeína anidra (320 mg)	1 caps / dia	Lote a) 301,56 mg Lote b) 320,96 mg	n.i
90	Vitamina C e picolinato de cromo, aromatizantes naturais (chá verde, guaraná, laranja amarga, ginseng e gengibre)	2 caps / dia	Cafeína 551,10 mg	RDC nº 27/2010

91	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, vitamina C, vitamina B3, vitamina E, óxido de zinco, sulfato de manganês, biotina, picolinato de cromo	11 tabletes / dia	Lote a) Cafeína 1,1 mg Lote b) Cafeína 0,33 mg	RDC nº 27/2010
92	Picolinato de cromo 35 mg	1 caps / dia	Cafeína 0,1 mg	RDC nº 27/2010
93	Cafeína, carbonato de cálcio, maltodextrina, estearato de magnésio, dióxido de silício	1 tablete / dia	Lote a) Cafeína 359,56 mg Sinefrina 5,13 mg Lote b) Cafeína 446,20 mg Sinefrina 0,19 mg	RDC nº 27/2010
94	Cafeína, carbonato de cálcio, maltodextrina, estearato de magnésio, dióxido de silício	3-6 caps / dia	Cafeína 282,99 – 565,98 mg	Importado FDA

Fonte: autor

Registro Anvisa/MS - Apresenta número de registro no rótulo.

RDC nº 18/2010 – Dispõe sobre alimentos para atletas.

RDC nº 27/2010 - Dispõe sobre as categorias de alimentos e embalagens isentos e com obrigatoriedade de registro sanitário.

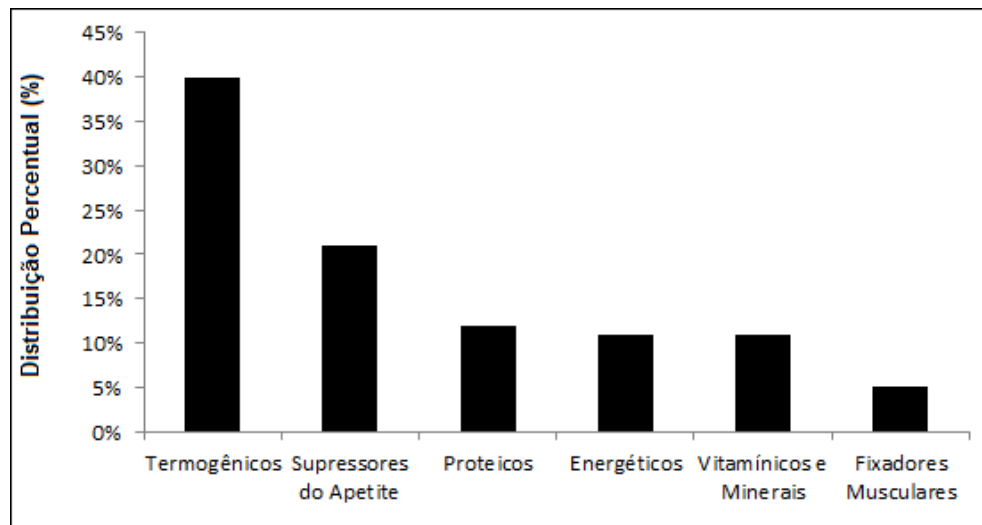
Importado FDA – Produto regulamentado pelo FDA.

n. i. - não identificado.

n.d. - não detectado

Dos 94 suplementos alimentares adquiridos, 40% declaravam-se como termogênicos, 12% proteicos, 11% tinham apelo comercial de suplementos energéticos, 11% eram vitamínicos e minerais, 21% declararam ser supressor de apetite e/ou diuréticos e/ou queimadores de gordura e 5% diziam ser fixadores muscular como pode ser visto na Figura 8.

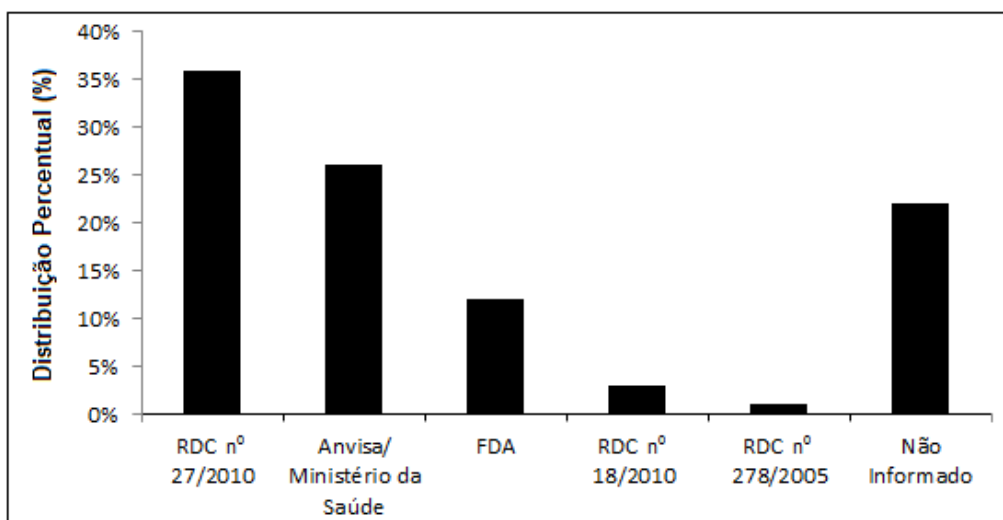
Figura 8 - Distribuição percentual das amostras de suplementos alimentares de acordo com a função declarada na embalagem.



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 nº 27/2010, 3% (n = 3) foram registrados como alimento para atletas de acordo com a RDC nº 18/2010, 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 9).

Na amostra 37 (1%) constava a dispensa de registro sanitário de acordo com a RDC nº 278/2005, a qual já havia sido revogada pela RDC nº 27/2010 no momento da fabricação do produto. Este produto declarou em sua composição *Phaseolus vulgaris*, chá branco, colágeno e cromo. De acordo com sua composição o suplemento deveria estar regulamentado dentro das diretrizes de Novos Alimentos, sendo requerido a comprovação de segurança e eficácia, além de um número do registro sanitário declarado no rótulo.

Figura 9: Distribuição percentual das amostras de suplementos alimentares de acordo com os aspectos regulatórios.



Trinta e um dos suplementos adquiridos apresentaram algum desacordo quanto à regulamentação especificada e às características do produto. Dentre esses, suplementos que possuíam ingredientes que não poderiam estar presentes na formulação, como a amostra 72 apresentava dispensa de registro, mas que continha fitoterápicos declarados no rótulo, como as folhas de *Hibiscus sabdariffa* e do *Cymbopogon citratus*, além de outros compostos como polpa de *Bromelia ananas* L.

Outro exemplo são os suplementos proteicos que não podem ser adicionados de fibras alimentares ou não nutrientes. A amostra 81, por exemplo, continha declarado, além de proteína do leite concentrada, proteína de soro do leite isolada e albumina, a 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 e álcalis.

Outra falha na legislação que pode ser citada em cima da amostragem realizada para este estudo são os triglicerídeos de cadeia média (amostra 3) que não se enquadram em nenhuma resolução brasileira, não são considerados alimentos para atletas e nem estão descritos na lista de novos ingredientes e novos produtos disponibilizada pela Anvisa (BRASIL, 1999 (a)).

A cafeína foi o ingrediente mais citado nos rótulos dos suplementos, compatível com o principal apelo comercial entre eles, o de termogênicos. Seguidos da cafeína estavam o cromo picolinato (24), vitaminas e minerais (18), proteínas e

aminoácidos (16), maltodextrina (16), guaraná (16), *C. aurantium* (13) e chá verde (13) entre outros presentes em menor número.

Trinta e três suplementos alimentares continham cafeína em sua composição, alguns deles com a dose declarada que variou de 210 a 420 mg. A análise dessas amostras confirmou a presença de cafeína, porém a quantidade determinada na maioria das vezes não foi similar com a quantidade declarada. Algumas amostras apresentaram doses de cafeína muito menores do que as contidas no rótulo enquanto em outras foram quantificadas doses que ultrapassaram inclusive a dose diária recomendada de 400 mg (amostra 15, 22, 55, 79 e 88). As doses encontradas variaram de 0,008 a 612,51 mg. Essas altas dosagens de cafeína se somadas a ingestões extras de cafeína decorrentes do consumo diário de cafés, guaraná, bebidas energéticas, entre outros, poderiam alcançar doses consideradas tóxicas (1000 mg) e resultar no aparecimento de reações adversas de maior gravidade.

Além dos suplementos com cafeína declarada, outros 19 suplementos continham declarados compostos como guaraná, *Ilex paraguariensis*, chá verde, chá branco e taurina, os quais contém cafeína. Nessas amostras é esperado encontrar doses menores dessa substância. Porém, em muitas delas foram quantificadas altas doses indicando a adição extra e não declarada de cafeína ao suplemento (ex. amostras 15 e 90). A adulteração também foi observada na amostra 87 que declarava na embalagem conter apenas creatina e β -alanina e na qual foi encontrada uma quantidade de quase 130 mg de cafeína por dose diária recomendada do suplemento.

Em outros suplementos ainda foi possível detectar quantidades extremamente baixas de cafeína (amostras 7, 29, 47, 58, 64, 76, 77, 85, 86, 91, 92) que não proporcionariam nenhum efeito terapêutico nas dosagens indicadas para o consumo sugerindo a existência de contaminação deste suplemento com cafeína em alguma etapa da produção.

Uma observação relevante a ser feita foi a falta de uniformidade entre os diferentes lotes amostrados. Em alguns casos as doses de cafeína quantificadas apresentaram variações consideráveis entre os lotes, como no caso da amostra 66, a qual apresentou mais de 300% de variação na concentração de cafeína encontrada entre um lote e outro.

O *C. aurantium* foi outro composto declarado em vários dos suplementos adquiridos em decorrência de seu efeito emagrecedor atribuído à sinefrina. De

acordo com alguns estudos o conteúdo de *p*-sinefrina nas folhas de *C. aurantium* é de aproximadamente 0,15 g% enquanto que nos frutos são encontrados de 0,10 a 0,22 g% de *p*-sinefrina (VIANA et al., 2013). No entanto, extratos secos de *C. aurantium* costumam apresentar em torno de 6,9 g % (69 mg g^{-1}) de *p*-sinefrina pela concentração dessa substância durante o processo de extração.

Na maior parte das amostras que declararam conter extrato de *C. aurantium* na formulação foi possível detectar a presença da sinefrina (amostras 45, 46, 83). Infelizmente não constava em nenhuma amostra a quantidade de extrato por dose de suplemento, de modo que não foi possível relacionar a quantidade encontrada de sinefrina à quantidade de extrato de *C. aurantium* no suplemento. Devido à isso não se pôde afirmar se toda a sinefrina quantificada nas amostras provinha do *C. aurantium* ou se poderia ser resultado de adição extra de sinefrina, que, uma vez não declarada, caracterizaria uma adulteração. As doses de sinefrina variaram de 0,009 a 25,44 mg por dose de suplemento.

Em algumas amostras que diziam conter *C. aurantium*, a sinefrina não foi detectada o que permite supor que, ou o suplemento não continha extrato de *C. aurantium* como declarava, ou a quantidade de sinefrina estava abaixo dos níveis de detecção do método (amostras 5, 8, 17, 22, 60 e 78). Ainda assim, em algumas amostras foi possível quantificar a sinefrina mesmo quando o *C. aurantium* era declarado apenas como aromatizador no suplemento (ex: amostra 93).

Ao contrário disso, nos dois lotes da amostra 62 foi detectada a presença de aproximadamente 5 mg de sinefrina por dose em cada lote sendo que a descrição do produto não declarava conter sinefrina ou *C. aurantium*, o que consideramos como um caso de adulteração.

Também na amostra 62 (ambos os lotes) assim como na amostra 87 foi detectada a presença não declarada do diurético acetazolamida. No entanto, em ambas as formulações, a dose quantificada foi extremamente baixa, em torno de 1 mg, muito menor que a dose terapêutica de 250 mg para esse diurético. Não se pode afirmar portanto que se trata da adulteração de um suplemento alimentar visto que a dose encontrada não deve fornecer nenhum efeito terapêutico intencional à formulação. Mesmo assim, essa concentração, ainda que mínima, poderia ser um risco em casos de exames antidoping. A presença de acetazolamida nas concentrações detectadas pode ser justificada por uma contaminação durante o processo de produção o que aponta para falhas nas Boas Práticas de Fabricação

que deveria reger todo o processo de fabricação desses produtos. Do mesmo modo as Boas Práticas de Fabricação mostraram-se falhas no que diz respeito às discrepâncias de doses declaradas nas embalagens e quantificadas nas amostras bem como às variações de doses encontradas entre lotes do mesmo produto, como discutido anteriormente. A Figura 10 mostra o cromatograma obtido da amostra 62a, na qual foram identificados, além da cafeína declarada, sinefrina e acetazolamida. E a Figura 11 apresenta o cromatograma da amostra 87 que declarava conter creatina e β -alanina mas na qual foi detectado também cafeína na dose de 130 mg e acetazolamida.

A Anvisa mesmo já emitiu alguns comunicados alertando sobre a presença de fármacos emagrecedores como a sibutramina e a fenolftaleína em suplementos alimentares e os riscos associados a essas substâncias. Além disso, a agência regulatória enfatiza que, de acordo com as Regras Básicas dos Alimentos, não são permitidos produtos alimentícios que contenham fármacos ou finalidade terapêutica, qualquer que seja sua forma de apresentação.

De todas as amostras investigadas neste trabalho apenas duas encontravam-se adulteradas. Comparado com outros trabalhos já publicados e descritos anteriormente, muitos dos quais relataram números bem mais expressivos de suplementos alimentares adulterados, poder-se-ia pensar que os casos de adulteração vem diminuindo, uma vez que, tem se cada vez mais buscado investigar e melhorar a qualidade desses produtos. No entanto é difícil acreditar nessa possibilidade, uma vez que, o mercado dos suplementos alimentares tem expandido consideravelmente e se tornado cada vez mais atrativo e lucrativo. O fato de apenas duas amostras estarem adulteradas pode sim estar relacionado ao processo de amostragem e ao número de suplementos amostrados. Além disso, todos os suplementos foram adquiridos através de websites, o que aumenta a visibilidade sobre estes produtos e conseqüentemente o risco em disponibilizar suplementos alimentares adulterados para serem vendidos em lojas *online*. Desse modo é esperado que esses produtos fraudados sejam preferencialmente comercializados em lojas físicas.

Pelo fato de no Brasil não haver ainda uma legislação única que regulamente os suplementos alimentares, muitos produtos que se assemelham a medicamentos, pela forma de obtenção, produção e apresentação ou por apresentarem propriedades terapêuticas, são ainda classificados como alimentos. Esses produtos

acabam sendo categorizados dentro de alguma das legislações vigentes as quais nem sempre conseguem abranger toda a diversidade de suplementos alimentares disponíveis no mercado, abrindo brechas na fiscalização que acabam permitindo que fraudes, como as adulterações desses produtos, ocorram.

Esse problema se torna ainda maior quando produtos importados são introduzidos no país e as autoridades devem determinar se eles são alimentos, medicamentos ou nenhum dos dois. O espectro da legislação brasileira é tão grande que nem sempre é bem conhecido ou entendido pelos profissionais das leis nas fronteiras nacionais e aduaneiras. Isso acaba levando a apreensão desnecessária de produtos legais ou que são livres de controle ou ainda permitindo a entrada de produtos proibidos.

Figura 10 – Cromatograma obtido da análise da amostra 62 com a identificação de acetazolamida (a), cafeína (b) e sinefrina (c) na composição.

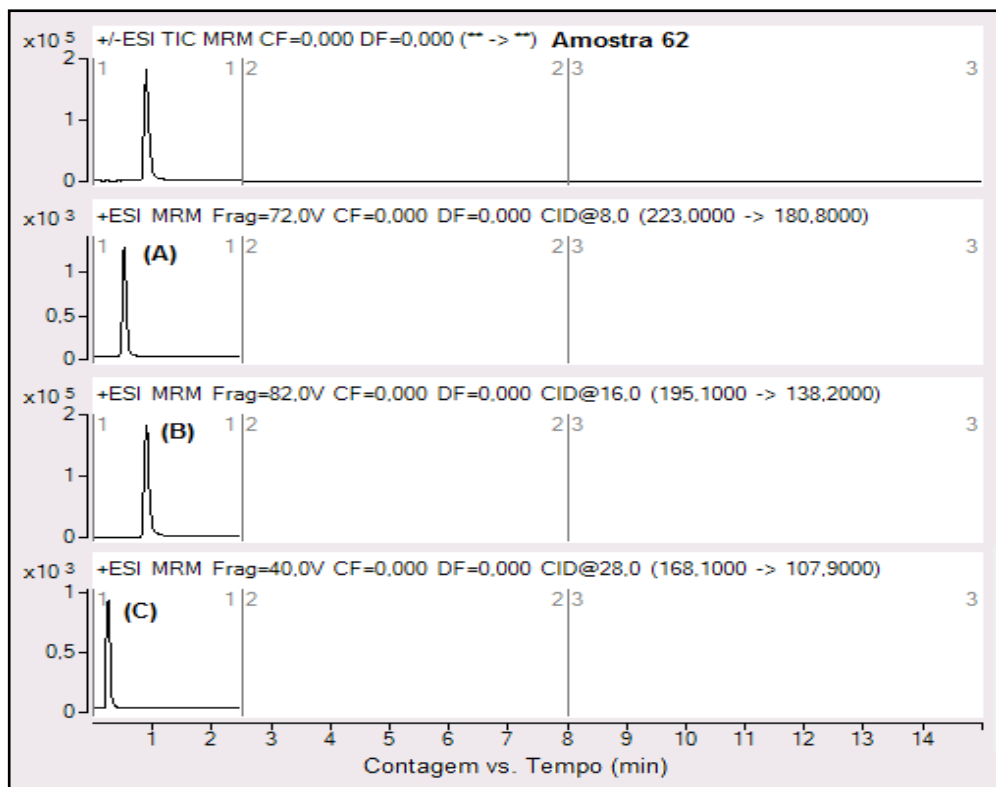
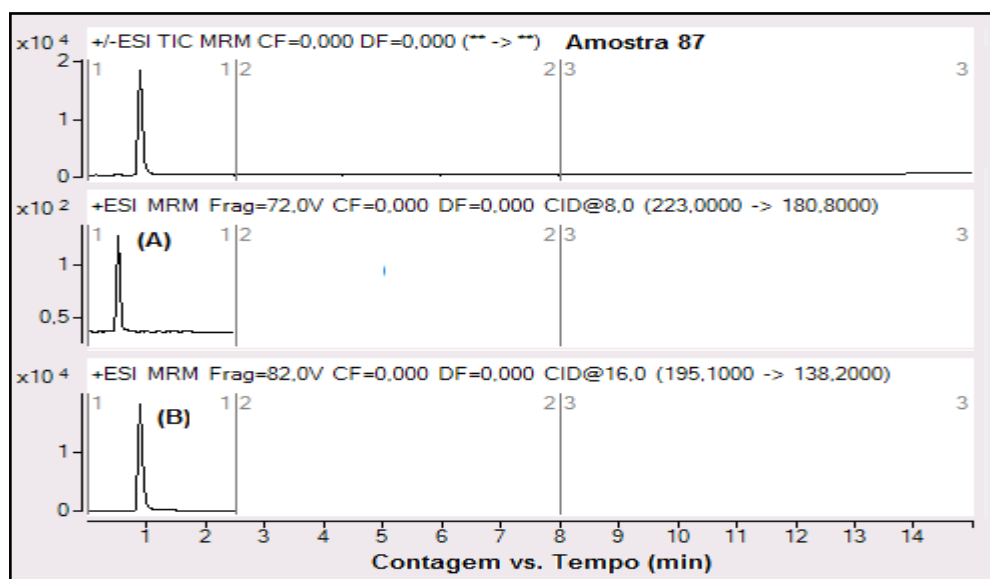


Figura 11 – Cromatograma obtido da análise da amostra 87 com a identificação de acetazolamida (a) e cafeína (b) na amostra não declaradas na composição da amostra.



Vale lembrar que é legal adquirir produtos importados, ainda que sem registro nacional, desde que para consumo próprio e que não contenha substâncias proibidas ou controladas pela Anvisa. Porém não há uma definição de qual quantidade pode ser considerada “para consumo próprio”. Em contrapartida, a venda ou distribuição desses produtos sem registro é considerado crime contra a saúde pública.

Dois suplementos alimentares importados adquiridos nesta amostragem, Jack3D e Oxy Elite Pro produzidos pela USPLabs[®] (amostras 83 e 89 respectivamente) tiveram seus usos alertados pela Anvisa em 2012 devido aos riscos oferecidos à saúde. Esses produtos contêm substâncias proibidas para a categoria de alimentos, como a dimetilamina (DMAA) além de outros estimulantes, hormônios e outras substâncias consideradas doping pela Agência Mundial Antidoping que não passaram na avaliação de segurança podendo causar efeitos adversos como hepatotoxicidade, danos cardiovasculares, alterações no sistema nervoso central e até levar a óbito (BRASIL, 2012). Mesmo depois de o FDA ter proibido em 2013 a produção de produtos contendo DMAA na composição, ainda é possível encontrar suplementos importados contendo essa substância (UNITED STATES, 2013).

Percebe-se assim que a dificuldade em controlar produtos adulterados não é restrita a alguns países ficando visível que a qualidade dos suplementos alimentares é um problema no mundo todo. Se de um lado temos as agências regulatórias tentando melhorar o controle sobre a produção e a fiscalização no comércio dos mesmos, de outro temos as indústrias que, visando lucros, tentam minimizar essa fiscalização. No Brasil a situação se agrava ainda mais por não haver uma definição legal de suplemento alimentar o que gera uma série de desacordos e confusões nos registros desses produtos favorecendo as práticas ilegais e as falhas no controle fiscal.

5.2 MODELAGEM FARMACOCINÉTICA PARA O ESTUDO DA INTERAÇÃO MEDICAMENTOSA DA SIBUTRAMINA COM O *GRAPEFRUIT*

5.2.1 Modelagem farmacocinética para predição do perfil farmacocinético da sibutramina e de seus metabólitos

O modelo PBPK desenvolvido para a sibutramina descreveu o processo de absorção por “dissolução avançada, absorção e metabolismo” (ADAM). A forma farmacêutica considerada na simulação foi um comprimido de sibutramina (15 mg) de liberação imediata com tamanho de partícula de 100 μm , densidade de 1.2 g/mL e solubilidade de 2,9 mg/mL em pH 5,2. O modelo foi otimizado incorporando o auxílio das micelas biliares na solubilização e absorção da sibutramina a partir do intestino. A constante de absorção (k_a) e a fração absorvida (f_a), após a simulação da administração de dose oral, foram preditas pelo Simcyp baseado nos valores estimados de permeabilidade (P_{eff}). O valor obtido para a constante de absorção (k_a) foi de 10,78 h^{-1} sendo que 0,99 (99%) da dose administrada foi absorvida (f_a).

O modelo ADAM representa o trato gastrointestinal como compartimentos com base na sua anatomia e fisiologia. Um modelo de metabolismo de primeira passagem foi utilizado para estimar a biodisponibilidade intestinal (f_g), ou seja, a quantidade de fármaco absorvida que passa pelo intestino sem ser metabolizada. Para isto foram considerados a fração do fármaco livre dentro do enterócito ($f_{u_{\text{gut}}}$) e o fluxo nominal de sangue (Q_{gut}), que reflete a taxa de absorção do fármaco a partir do lúmen intestinal, a remoção do fármaco a partir do enterócito, ambos dependentes do fluxo de sangue que passa pelo enterócito e do volume deste. A

biodisponibilidade intestinal (f_g) encontrada foi de 0,81 ou 81%. Esta biodisponibilidade pode ser explicada pela ação da CYP3A4, enzima predominante no trato intestinal.

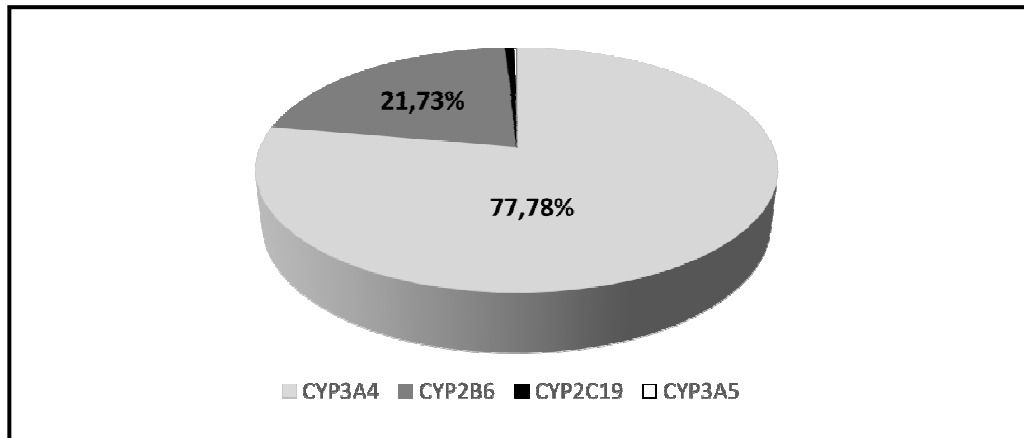
Para a descrever o volume de distribuição (V_d) da sibutramina foi adotado o modelo de distribuição completa (*full PBPK*). O volume de distribuição foi assumido ser limitado apenas pela perfusão sanguínea visto que a sibutramina não depende de nenhum transportador para atingir os tecidos. O volume de distribuição no estado de equilíbrio (V_{ss}) e o coeficiente de partição do fármaco entre o plasma e os diversos tecidos (K_p) foram estimados utilizando a composição de equações desenvolvida por Poulin Theil e Berezchkovski (método 1). Um modelo de distribuição mínima foi assumido para ambos os metabólitos, M1 e M2, com ajuste do K_p escalar para 2,5 e 1,5 respectivamente. O método 1 de distribuição também foi aplicado neste caso. Os volumes de distribuição preditos para sibutramina, M1 e M2 foram 4,37 L/Kg; 10,42 L/Kg e 6,14 L/Kg respectivamente.

A fim de acessar o potencial de interação medicamentosa da sibutramina com o *grapefruit*, dados da cinética do metabolismo *in vitro* das enzimas envolvidas no metabolismo da sibutramina e seus metabólitos foram integradas no modelo. Segundo os dados do estudo utilizado como fonte para acessar a atividade catalítica das CYP450 recombinantes *in vitro*, a CYP2B6 mostra-se como sendo a principal enzima catalítica no metabolismo sequencial da sibutramina para M1 e depois de M1 para M2 (BAE et al., 2008). No entanto a CYP3A4 é a enzima CYP mais abundantemente expressa tanto no fígado quanto no intestino mostrando ser responsável por quase 78% do metabolismo da sibutramina quando os dados do metabolismo *in vitro* são inseridos no Simcyp (Figura 12). Esta informação é compatível com os dados de desenvolvimento do fármaco que implicam a CYP3A4 como a principal enzima responsável pela formação de M1 e M2 (bula Meridia; Knoll Pharmaceutical Co., 1997) (OLIVE, 1997).

Para estimar a depuração *in vitro* da sibutramina e de seu primeiro metabólito, a depuração plasmática oral aparente (CL_{po}) foi retro-calculada para obter a depuração intrínseca (Cl_{int}) com a contribuição das enzimas CYP envolvidas no metabolismo usando a opção do modelo retrógrado do Simcyp que leva em conta a fração do fármaco absorvida (f_a), a fração que escapa do metabolismo intestinal (f_g) e a fração eliminada metabolicamente pelas CYP ($F_{m,CYP}$). Para a eliminação do

segundo metabólito, M2, foi considerada a depuração oral calculada com base no estudo clínico.

Figura 12 - Distribuição da participação das enzimas CYP no metabolismo da sibutramina.



Fonte: autor

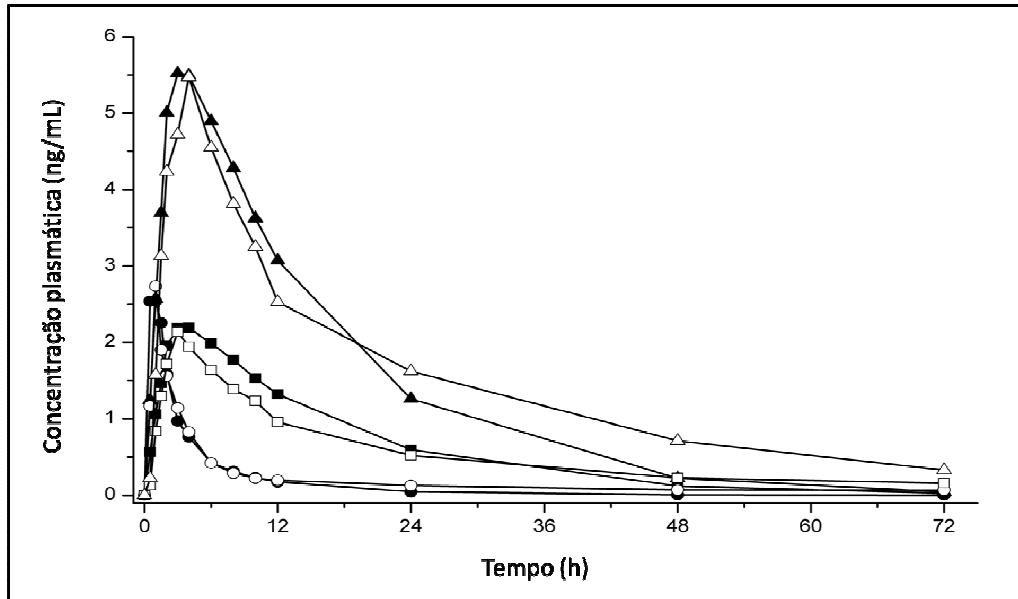
Uma vez que a sibutramina não alterada não tem sido encontrada na urina e que os metabólitos M1 e M2 podem ser detectados na urina mas em concentrações muito baixas (Link et al., 2006), assumiu-se não haver depuração renal (0 L/h) da sibutramina e seus metabólitos ativos nas simulações. As taxas de depuração preditas no modelo foram de 1436 L/h para sibutramina, 408,8 L/h para M1 e 137,25 L/h para M2. Os coeficientes de variação (CV) para todos os dados de entrada foram inalterados, mantendo-se como padrão os definidos pelo software.

A simulações para a obtenção do perfil farmacocinético da sibutramina e de seus dois metabólitos ativos foram realizadas utilizando a base de dados da população virtual de voluntários saudáveis. Para garantir que as características dos sujeitos virtuais tivessem maior proximidade com os sujeitos analisados no estudo clínico, foram considerados 15 voluntários saudáveis do sexo masculino com faixa etária entre 23 e 27 anos. Foi considerado ainda a administração de uma dose única de 15 mg de sibutramina em jejum.

O modelo PBPK desenvolvido para a predição do perfil farmacocinético da sibutramina, de M1 e M2 foi apto para recuperar as concentrações plasmáticas após a administração de uma dose única de liberação imediata de 15 mg de sibutramina com bom ajuste entre os perfis simulados e observados em estudo clínico como pode ser visto na Figura 14. Os valores de área sob a curva (ASC) e concentração

máxima encontrados para a sibutramina e seus dois metabólitos ativos estão na Tabela 14 e podem ser comparados com os valores que foram encontrados no estudo clínico.

Figura 13 – Perfis de concentração plasmática para sibutramina (15 mg) e seus metabólitos ativos. Sibutramina (● and ○), M1 (■ and □) e M2 (▲ and △) para dados preditos e observados, respectivamente.



5.2.2 Predição da interação medicamentosa

A fração do fármaco livre no intestino ($F_{u_{gut}}$) pode ser o parâmetro mais importante a ser considerado ao quantificar o metabolismo de primeira passagem intestinal e avaliar as interações medicamentosas que ocorrem em nível de intestino. A fração do fármaco livre no intestino não pode ser obtida experimentalmente, mas pode ser estimada utilizando o Simcyp.

Levando em conta que o *grapefruit* é um inibidor fármaco independente tanto competitivo quanto irreversível da CYP3A4, foi considerado que todas as enzimas CYP3A4 intestinais foram inibidas pelo *grapefruit*, uma vez este administrado, ou seja, toda a dose de sibutramina administrada oralmente passou pelo intestino sem ser metabolizada. Nesse caso $f_{u_{gut}}$ foi assumido ser zero e f_g foi assumido ser 1, configurando a inexistência de metabolismo intestinal para simular a existência de interação medicamentosa.

O modelo farmacocinético foi o mesmo utilizado para a obtenção dos perfis da sibutramina e de seus metabólitos. A interação medicamentosa foi determinada pelas mudanças na área sob a curva (ASC) e concentrações plasmáticas máximas (C_{max}), comparando os dados obtidos para a sibutramina, M1 e M2 na ausência e na presença do *grapefruit*. A mudança na exposição sistêmica à sibutramina e seus dois metabólitos ativos pode ser observada na Figura 13 e os valores encontrados para ASC e C_{max} considerando a interação com o *grapefruit* estão na Tabela 14.

Tabela 14 – Dados preditos e observados para a exposição à sibutramina (15 mg) sem interação com *grapefruit* e dados preditos de interação com o *grapefruit*.

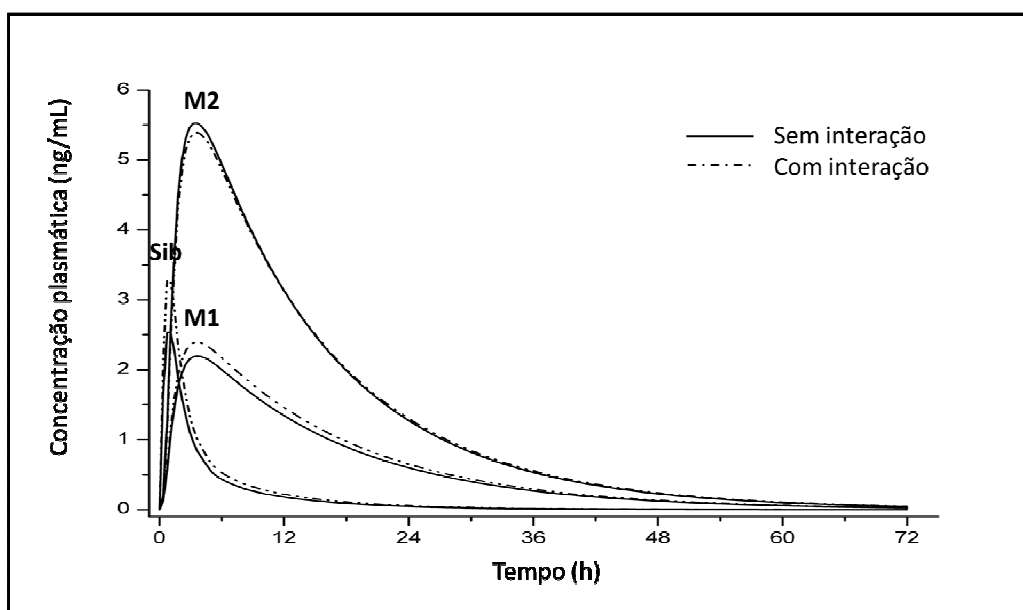
Variáveis	Predito (sem interação)	Observado (sem interação)	Exatidão (%)	Predito (com interação)
Sibutramina				
C_{max} (ng/mL)	2,54 (\pm 0,778)	2,7 (\pm 2,2)	94,07	3,29 (\pm 1,39)
T_{max} (h)	1,08	1,1 (\pm 0,6)	98,18	0,73
ASC (ng h/mL)	10,6 (\pm 5,35)	10,6 (\pm 8,3)	100	13,2 (\pm 6,12)
M1				
C_{max} (ng/mL)	2,19 (\pm 0,804)	2,2 (\pm 0,9)	99,54	2,39 (\pm 0,856)
T_{max} (h)	3,61	3,4 (\pm 1,3)	106,17	3,61
ASC (ng h/mL)	39,9 (\pm 19,2)	39,3 (\pm 19,4)	101,52	43,4 (\pm 19,9)
M2				
C_{max} (ng/mL)	5,52 (\pm 1,21)	5,4 (\pm 2,1)	102,22	5,39 (\pm 1,14)
T_{max} (h)	3,61	4,0 (\pm 1,8)	90,25	3,61
ASC (ng h/mL)	91,4 (\pm 24,0)	114,5 (\pm 31,7)	79,83	91,3 (\pm 24,0)

Fonte: autor

A modelagem e a simulação estão se tornando cada vez mais prevalentes para a avaliação de potenciais interações medicamentosas. Casos de interações medicamentosas causadas pelo efeito de um composto sobre o metabolismo de outro são considerações importantes a serem feitas na prática clínica uma vez que o uso concomitante de medicamentos bem como de suplementos alimentares é bastante comum em diferentes terapias como na perda de peso. A previsão dessas interações medicamentosas é uma das abordagens da PBPK que mais tem tido

avanço nos últimos anos. Este estudo demonstrou a aplicação da modelagem PBPK para a predição dos resultados de farmacocinética e avaliação do risco de interação para a sibutramina e seus dois metabólitos ativos com validação do modelo por comparação com dados clínicos previamente publicados, aumentando a confiança nos resultados da simulação.

Figura 14 – Predição do efeito do *grapefruit* no perfil farmacocinético da sibutramina (Sib) e de seus metabólitos ativos M1 e M2.



A sibutramina é substrato da CYP3A4 e mostrou ser suscetível à interação medicamentosa clinicamente relevante quando co-administrado com *grapefruit*. O *grapefruit* contém uma concentração de furanocumarinas na sua composição muito mais elevada do que a concentração inibitória mínima necessária tanto para a inibição competitiva quanto para a inibição irreversível da CYP3A4, o que permitiu assumir que todas as enzimas CYP3A4 intestinais foram inibidas após a administração de *grapefruit*. A ocorrência de interação medicamentosa também só foi predita com êxito pela disponibilidade de dados do metabolismo *in vitro* da sibutramina.

A extensão da interação foi avaliada pela razão entre as áreas e as concentrações máximas obtidas para a sibutramina, M1 e M2 com e sem a presença de *grapefruit*. Observou-se um aumento de aproximadamente 30% na C_{max} e de 25% na ASC da sibutramina quando a administração simultânea com *grapefruit* foi

simulada. Se observarmos a média dos resultados dos dados obtidos no estudo clínico juntamente com seus respectivos desvios padrões, tanto para a C_{max} quanto para ASC poderíamos assumir os resultados obtidos com e sem a presença do *grapefruit* foram similares. Entretanto, se levarmos em consideração os critérios aceitação para testes de bioequivalência, para os quais a diferença entre as médias das ASCs não deve ser maior que 20% para que se considere a equivalência entre dois estudos, e, considerando que neste caso encontramos uma variação de 25% entre as ASCs, podemos dizer que houve diferença entre os perfis farmacocinéticos com e sem o *grapefruit* e portanto, houve interação medicamentosa.

A farmacocinética dos metabólitos foi menos afetada pela presença do grapefruit. Isto pode ser explicado uma vez que a sibutramina quando administrada por via oral pode ser metabolizada por ambos, intestino e fígado, enquanto que os metabólitos devem ser metabolizados principalmente no fígado. Outro fator a ser considerado é a inibição da Pg-P pelo *grapefruit*. Não existem dados ainda que apontem o envolvimento da Pg-P no transporte da sibutramina, sendo o transporte desta considerado dependente apenas da perfusão sanguínea. No entanto grande parte dos substratos da CYP3A4 é substrato também da Pg-P e se esse for o caso da sibutramina, a inibição da Pg-P pelo *grapefruit* também afetaria na disposição tanto do fármaco quanto dos metabólitos.

A interação medicamentosa do tipo farmacodinâmica não foi avaliada neste estudo mas, um aumento na resposta da sibutramina deve ser esperado como consequência do aumento à sua exposição. É importante avaliar o risco toxicológico que este aumento na exposição pode oferecer para o paciente considerando que a sibutramina já foi retirada do mercado em muitos países devido seus efeitos adversos graves.

6. CONCLUSÃO

Neste trabalho foi desenvolvido um método analítico por cromatografia líquida acoplado à detecção por espectrometria de massas (LC-MS) para a determinação de adulterantes em suplementos alimentares destinados ao emagrecimento. A validação do método apresentou resultados satisfatórios de acordo com os requerimentos da Anvisa e do ICH. O método proposto apresentou alta sensibilidade e seletividade, características imprescindíveis quando se trata da investigação de adulterantes em amostras complexas como os suplementos alimentares. Além disso, a detecção por espectrometria de massas oferece vantagens sobre os outros tipos de detecção, pois permite uma análise confirmatória do adulterante pela massa do composto, a massa dos íons produtos resultantes da quebra do composto e o tempo de retenção na separação cromatográfica. O método possibilitou ainda a análise simultânea de 33 adulterantes em um tempo de apenas 15 minutos assim como permitiu a extração através de um processo simples e rápido, aspectos relevantes para a aplicação do método em análises de rotina para o controle de qualidade de suplementos alimentares.

O método foi aplicado na análise de 114 amostras de suplementos como o intuito de investigar a presença de adulterantes das classes dos anorexígenos, estimulantes, diuréticos, laxantes, ansiolíticos e antidepressivos. Dentre os compostos estudados, cafeína foi o composto majoritário declarado nas formulações e pôde ser quantificado desde doses muito baixas até doses acima da dose diária recomendada de 400 mg. Sinefrina foi outro estimulante identificado nos suplementos alimentares devido à presença de *Citrus aurantium* na composição. Em uma das amostras, no entanto, foi encontrada sinefrina, sem que a presença desta ou de *C. aurantium* estivesse especificada no rótulo, confirmando a adulteração da amostra pela adição não declarada deste estimulante. Do mesmo modo, a amostra 87 não continha cafeína nem outro composto contendo cafeína descrito na formulação, mas foram encontrados 130 mg de cafeína por dose do suplemento, resultado de outro caso de adulteração.

Este estudo demonstrou ainda a aplicação da modelagem e simulação PBPK para prever a farmacocinética da sibutramina e seus metabólitos ativos e avaliar o potencial da interação medicamentosa quando administrada simultaneamente com o *grapefruit*. O modelo farmacocinético desenvolvido para a sibutramina e seus

metabólitos ativos apresentou resultados satisfatórios comparados aos dados obtidos em estudos clínicos e puderam ser aplicados com confiança na avaliação da interação medicamentosa. Observou-se um aumento de 25% na área de exposição de sibutramina quando a presença de *grapefruit* foi simulada no modelo. Esse aumento na exposição pode representar maior resposta à sibutramina no tratamento da obesidade, mas especialmente um maior risco com eventos adversos e danos cardiovasculares para os usuários.

Embora o consumo de suplementos alimentares seja cada vez maior, as diretrizes regulatórias vigentes em vários países não possuem um sistema padronizado para a avaliação da qualidade e segurança desses produtos não sendo exigidos também estudos de interação medicamentosa prévios à comercialização. Avaliar a segurança dos suplementos alimentares e produtos naturais tem se tornado, portanto, uma importante questão, sobretudo para as agências regulatórias e profissionais da saúde a fim de garantir um tratamento de qualidade e sem maiores danos à saúde dos usuários.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AI, N.; FAN, X.; EKINS, S. In silico methods for predicting drug-drug interactions with cytochrome P-450, transporters and beyond. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Netherland, v. 86, p. 46-60, Jun 2015.

ALMEIDA, A. E.; RIBEIRO, M. L.; POLESE, L. Determination of amfepramone hydrochloride, fenproporex, and diazepam in so-called "natural" capsules used in the treatment of obesity. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**, United States, v. 23, n. 7, p. 1109-1118, Feb 2000.

ALMEIDA, I. M. da C. **Segurança e biodisponibilidade de suplementos alimentares**. 2014. 139 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade do Porto, Porto, 2014.

AL-SAFI, S. A.; AYOUB, N. M.; AYOUB, A. M.; AL-MOMANY, E.; AL-DOGHIM, I.; AL-BALAS, M. ALKOFABI, A. S.; ABOUL-ENEIN, B. H.; Public awareness of the abuse of herbs and drugs to decrease body weight: a novel national survey in Jordan. **Journal of Public Health**, England, v. 16, n. 3, p. 205-213, June 2008.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Guidelines for dietary supplements and botanicals**. AOAC Official methods: Appendix K, p. 32, 2013.

AURICCHIO, M. T.; BATISTIC, M. A.; MARKMAN, B. E. O. Detecção de anorexígenos e benzodiazepínicos em formulações "naturais" empregados em regimes de emagrecimento. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, Brasil, v. 51, n. 1-2, p. 105-110, 1991.

AZEREDO, F. S.; GUIMARÃES, R. I.; PAULA, J. L.; CUNHA, L. C. Validação de técnica analítica em cromatografia em camada delgada comparativa para identificação de fármacos anorexígenos sintéticos em produtos fitoterápicos. **Infarma**, Brasil, v. 17, n. 5-6, p. 86-88, 2005.

BAE, S. K.; CAO, S.; SEO, K. A.; KIM, M. J.; SHON, J. H.; LIU, K. H.; ZHOU, H. H.; SHIN, J. G. Cytochrome P450 2B6 catalyzes the formation of pharmacologically active sibutramine (N-{1-[1-(4-chlorophenyl)cyclobutyl]-3-methylbutyl}-N,N-dimethylamine) metabolites in human liver microsomes. **Drug Metabolism Disposition**, United States, v. 36, n. 8, p. 1679-1688, Aug 2008.

BAE, J. W.; CHOI, C. I.; JANG, C. G.; LEE, S. Y. Simultaneous determination of sibutramine and its active metabolites in human plasma by LC-MS/MS and its application to a pharmacokinetic study. **Bomedical Chromatography**, England, v. 25, n. 11, p. 1181-1188, Feb 2011.

BAILEY, D. G.; ARNOLD, J. M.; STRONG, H. A.; MUNOZ, C. SPENCE, J. D. Effect of grapefruit juice and naringin on nisoldipine pharmacokinetic. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, United States, v. 54, n. 6, p. 589-594, Dec 1993.

BAILEY, R. L.; GAHCHE, J. J.; LENTINO, C. V.; DWYER, J. Y.; ENGEL, J. S.; THOMAS, P. R.; BETZ, J. M.; SEMPOS, C. T.; PICCIANO, M. F. Dietary supplement use in the United States, 2003-2006. **The Journal of Nutrition**, United States, v. 141, n. 2, p. 261-266, Feb 2011.

BAILEY, R. L.; GAHCHE, J. J.; MILLER, P. E.; THOMAS, P. R.; DWYER, J. T. Why US Adults Use Dietary Supplements. **JAMA Internal Medicine**, United States, v. 173, n. 5, p. 355-361, Mar 2013.

BARNES, P. M.; POWELL-GRINGER, E.; MCFANN, K.; NAHIN, R. L. Complementary and alternative medicine use among adults: United States, 2002. **Advanced Data from Vital Health and Statistics**, United States, v. 27, n. 343, p. 1-19, May 2004.

BASS, I. S.; YOUNG, A. L. Dietary Supplement Health, Education Act: A Legislative History and Analysis. **The Food and Drug Law Institute**, United States, p. 9, 1996.

BELL, R. R.; CROOKHAM, S. B.; DUNN, W. A.; GRATES, K. M.; REIBER, T. M. A contemporaneous finding of fenproporex in a polydrug suicide. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 25, n. 7, p. 652-656, Oct 2001.

BENT, S. KO, R. Commonly Used Herbal Medicines in the United States: A Review. **The American Journal of Medicine**, United States, v. 116, n. 12 p. 478-485, Jun 2004.

BENT, S.; PADULA, A.; NEUHAUS, J. Safety and efficacy of citrus aurantium for weight loss. **The American Journal of Cardiology**, United States, v. 94, n. 10, p. 1359-1361, Nov 2004.

BENT, S. Herbal medicine in the United States: Review of efficacy, safety, and regulation. **Journal of General Internal Medicine**, United States, v. 23, n. 6, p. 854-859, Apr 2008.

BODEKER, C.; BODEKER, G.; ONG, C. K.; GRUNDY, C. K.; BURFORD, G.; SHEIN, K. **WHO Global Atlas of Traditional, Complementary and Alternative Medicine**. Geneva, Switzerland: WHO Kobe Centre, 2005, 347 p.

BOGUSZ, M. J.; HASSAN, H.; AL-ENAZI, E.; IBRAHIN, Z.; AL-TUFAIL, M. Application of LC-MSI-MS-MS for detection of synthetic adulterants in herbal remedies. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, England, v. 41, n. 2, p. 554-564, May 2006.

BOOBIS, A.; GUNDERT-REMY, U.; KREMERS, P.; MACHERAS, P.; PELKONEN, O. *In silico* prediction of ADME and pharmacokinetics. Report of an expert meeting organized by COST B15. **European Journal of Pharmaceutical Science**, Netherlands, v. 17, n. 4-5, p. 183-193, Dec 2002.

BRANTLEY, S. J.; ARGIKAR, A. A.; LIN, Y. S.; NAGAR, S.; PAINE, M. F. Herb-drug interactions: challenges and opportunities for improved predictions. **Drug Metabolism and Disposition**, United States, v. 42, n. 3, p. 301-317, Mar 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº 22, de 30 de Outubro de 1967.** Estabelece normas para o emprego de preparações fitoterápicas.

BRASIL. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria nº 6, de 31 de Janeiro de 1995.** Institui e normatiza o registro de produtos fitoterápicos junto ao sistema de vigilância sanitária.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria nº 29, de 13 de Janeiro de 1998.** Aprova o Regulamento Técnico Referente a Alimentos para Fins Especiais. (a)

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria nº 30, de 13 de Janeiro de 1998.** Aprova o Regulamento Técnico Referente a Alimentos para Controle de Peso. (b)

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria nº 31, de 13 de Janeiro de 1998.** Aprova o Regulamento Técnico Referente a Alimentos Adicionados de Nutrientes Essenciais. (c)

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria nº 32, de 13 de Janeiro de 1998.** Aprova o Regulamento Técnico para a Fixação de Identidade e Qualidade de Suplementos Vitamínicos e ou de Minerais. (d)

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria nº 33, de 13 de Janeiro de 1998.** Adota valores como IDR para vitaminas, minerais e proteínas. (e)

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria nº 40, de 13 de Janeiro de 1998.** Regulamenta e Estabelece Normas para Níveis de Dosagens Diárias de Vitaminas e Minerais em Medicamentos. (f)

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC 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. (a)

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC 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. (b)

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC nº 17, de 24 de Fevereiro de 2000.** Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **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.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC nº 132, de 29 de Maio de 2003**. Institui a categoria de registro de medicamentos específicos. (a)

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. **RDC nº 899 de 2003**. Guia para validação de métodos Analíticos e Bioanalíticos. (b)

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC nº 48, de 16 de Março de 2004**. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de vigilância Sanitária. **RDC nº 58 de 05 de Setembro de 2007**. Dispõe sobre o aperfeiçoamento do Controle e Fiscalização de substâncias Psicotrópicas anorexígenas e dá outras providências.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC nº 18, de 27 de Abril de 2010**. Dispõe sobre alimentos para atletas. (a)

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC nº 27, de 06 de Agosto de 2010**. Dispõe sobre as categorias de alimentos e embalagens isentos e com obrigatoriedade de registro sanitário. (b)

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC nº 14, de 31 de Março de 2010**. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. (c)

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC nº 52 de 06 de Outubro de 2011**. Dispõe sobre a proibição do uso das substâncias anfepramona, femproporex e mazindol, seus sais e isômeros, bem como intermediários e medidas de controle da prescrição e dispensação de medicamentos que contenham a substância sibutramina, seus sais e isômeros, bem como intermediários e dá outras providências.

BRASIL. Ministérios da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Anvisa alerta para risco de consumo de suplemento alimentar. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/noticias/-/asset_publisher/FXrpx9qY7FbU/content/anvisa-alerta-para-risco-de-consumo-de-suplemento-alimentar/219201/pop_up?_101_INSTANCE_FXrpx9qY7FbU_viewMode=print&_101_INSTANCE_FXrpx9qY7FbU_languageId=pt_BR. Acessado em Jun 2016.

BRASIL. Congresso Nacional. **Projeto de Lei do Senado nº 233 de 2014**. Dispõe Sobre os Suplementos e Nutricionais. (a)

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC nº 26, de 13 de Maio de 2014**. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. (b)

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC nº 50, de 20 de Setembro de 2014**. Dispõe sobre as medidas de controle de comercialização, prescrição e dispensação de medicamentos que contenham as substâncias anfepramona, femproporex, mazindol e sibutramina, seus sais e isômeros, bem como intermediários e dá outras providências. (c)

BUTTERWECK, V.; DERENDORF, H. Potential of pharmacokinetic profiling for detecting herbal interactions with drugs. **Clinical Pharmacokinetics**, Switzerland, v. 47, n. 6, p. 383-397, 2008.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicine (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Brazil, v. 33, n. 2, p. 179-189, Feb 2000.

CAMPBELL, N.; CLARK, J. P.; STECHER, V. J.; THOMAS, J. W.; CALLANAN, A. C.; DONNELLY, B. F.; GOLDSTEIN, I.; KAMINETSKY, J. C. Adulteration of purported herbal and natural sexual performance enhancement dietary supplements with synthetic phosphodiesterase type 5 inhibitors. **Journal of Sexual Medicine**, Netherland, v. 10, n. 7, p. 1842-1849, Jul 2013.

CARVALHO, L. M. de; CORREIA, D.; GARCIA, S. C.; BAIRROS, A. V. de; NASCIMENTO, P. C. do; BOHRER, D. A new method for the simultaneous determination of 1,4-benzodiazepines and amfepramone as adulterants in phytotherapeutic formulations by voltammetry. **Forensic Science International**, Ireland, v. 202, n. 1-3, p. 75-81, Oct 2010 (a).

CARVALHO, L. M.; MARTINI, M.; MOREIRA, A. P.; GARCIA, S. C.; NASCIMENTO, P. C.; BOHRER, D. Determination of synthetic pharmaceuticals in phytotherapeutics by capillary zone electrophoresis with contactless conductivity detection (CZE-C4D). **Microchemical Journal**, United States, v. 96, p. 114-119, Feb 2010 (b).

CARVALHO, L. M.; MARTINI, M.; MOREIRA, A. P.; LIMA, A. P. S.; CORREIA, D.; FALCAO, T.; GARCIA, S. C.; BAIRROS, A. V.; NASCIMENTO, P. C.; BOHRER, D. Presence of synthetic pharmaceuticals as adulterant in slimming phytotherapeutic formulations and their analytical determination. **Forensic Science International**, Ireland, v. 204, n. 1-3, p. 6-12, Jan 2011 (a).

CARVALHO, L. M.; MOREIRA, A. P.; MARTINI, M.; FALCÃO, T. The illegal use of synthetic pharmaceuticals in herbal formulations: An overview of adulteration practices and analytical investigation. **Forensic Science Review**, Taiwan, v. 23, n. 2, p. 73-89, Jul 2011 (b).

CHAVEZ, M. L., JORDAN, M. A., CHAVEZ, P. I. Evidenced-based drug-herbals interactions. **Life Sciences**, Netherland, v. 78, n. 18, p. 2146-2157, Mar 2006.

CHEN, X. W.; SNEED, K. B.; PAN, S. Y.; CAO, C.; CHEW, H.; ZHOU, S. F. Herb-drug interactions and mechanistic and clinical considerations. **Current Drug Metabolism**, Netherland, v. 1, n. 13, p. 640-651, Jun 2012.

CHEN, Y. Regulation of food intake and the development of anti-obesity drugs. **Drug Discoveries & Therapeutics**, Japan, v. 10, n. 2, p. 62-73, April 2016.

CHEUNG, B. M. Y. Drug treatment for obesity in the post-sibutramine era. **Drug Safety**, New Zealand, v. 34, n. 8, p. 641-650, Aug 2011.

CHEUNG, B. M. Y.; CHEUNG, T. T.; SAMARANAYAKE, N. R. Safety of antiobesity drugs. **Therapeutic Advances in Drug Safety**, England, v. 4, n. 4, p. 171-181, Aug 2013.

CHO, S. H.; PARK, H. J.; LEE, J. H.; DO, J. A.; HEO, S.; JO, J. H.; CHO, S. Determination of anabolic-androgenic steroid adulterants in counterfeit drugs by UHPLC-MS/MS. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, England, v. 111, p. 138-146, Jul 2015.

CIANCHINO, V.; ACOSTA, G.; ORTEGA, C.; MARTÍNEZ, L. D.; GOMEZ, M. R. Analysis of potential adulteration in herbal medicines and dietary supplements for the weight control by capillary electrophoresis. **Food Chemistry**, England, v. 108, b. 3, p. 1075-1082, Jun 2008.

COHEN, P. A. Imported fenproporex-based diet pills from Brazil: a report of two cases. *Journal of General Internal Medicine*, United States, v. 24, n. 3, p. 430-433, Mar 2009.

COHEN, P. A.; ERNST, E. Safety of Herbal Supplements: A Guide for Cardiologists. **Cardiovascular Therapeutics**, England, v. 28, p. 246-253, Aug 2010.

COHEN, P. A.; TRAVIS, J. C.; VENHUIS, B. J. A synthetic stimulant never tested in humans, 1,3-dimethylbutylamine (DMBA), é identified in multiples dietary supplements. **Drug Test and Analysis**, England, v. 7, n. 1, p. 83-87, Jan 2015.

COLE, M. R.; FETROW, C. W. Adulteration of dietary supplements. **American Journal of Health System Pharmacy**, United States, v. 60, n. 15, p. 1576-1580, Aug 2003.

COLQUITT, R. B.; COLGUHOUN, D. A.; THIELE, R. H. In silico modelling of physiologic systems. **Best Practice and Research**, Netherlands, v. 25, n. 4, p. 499-510, Dec 2011.

CONNER, M.; KIRK, S. F. L.; CADE, J. E., BARRETT, J. H. Why do woman use dietary supplements? The use of theory of planned behavior to explore beliefs about their use. **Social Science and Medicine**, England, v. 52, n. 4, p. 621-633, Feb 2001.

CORNS, C.; METCALFE, K. Risks associated with herbal slimming remedies. **The Journal of the Royal Society for the Promotion for Health**, England, v. 122, n. 4, p. 213-219, Dec 2002.

CUNHA, C.; L.; AZEREDO, S. F.; GUIMARÃES, I. R.; PAULA, R. J. Revisão e avaliação crítica da incidência de fármacos anorexígenos sintéticos em “produtos naturais” para o emagrecimento em Goiania-GO. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v. 15, n. 2, p. 69-73, 2002.

DA SILVA, L. F. M.; FERREIRA, K. S. Segurança alimentar de suplementos comercializados no Brasil. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, Brasil, v. 20, n. 5, p. 374-378, Set/Out 2014.

DECONINCK, E.; VERLINDE, K.; COURSELLE, P.; BEER, J. O. A validates ultra high pressure liquid chromatographic method for the characterisation of confiscated illegal slimming products containing anorexics. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, England, v. 59, p. 38-43, Feb 2012.

DICKINS, M.; WATERBEEMD, van de H. Simulation models for drug disposition and drug interactions. **Drug Discovery Today. Biosilico**, England, v. 2, n. 1, p. 38-45, Jan 2004.

DICKINSON, A.; MACKAY, D. Health habits and other characteristics of dietary supplement users: a review. **Nutrition Journal**, England, v. 13, n. 14, p. 1-8, Feb 2014.

DWYER, J. T.; ALISSON, D. B.; COATES, P. M. Dietary Supplements in Weight Reduction. **Journal of the American Dietetic Association**, United States, v. 105, n. 5, p. 80-86, May 2005.

EDWARDS, D. J.; BERNIER, S. M. Narigin and naringerin are not the primary CYP3A inhibitors in grapefruit juice. **Life Sciences**, Netherland, v. 59, n. 13, p. 1025-1030, 1996.

EDWARDS, D. J.; FITZSIMMONS, M. E.; SCHUETZ, E. G.; YASUDA, K.; DUCHARME, M. P.; WARBASE, L. H.; WOSTER, P. M.; SHUETZ, J. D.; WATKINS, P. 6',7'-Dihydroxybergamottin in grapefruit juice and Sevilla orange juice: effects on cyclosporine disposition, enterocyte CYP3A4, and P-glycoprotein. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, United States, v. 65, n. 3, p. 237-244, Mar 1999.

EKOR, M. The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. **Frontiers in Pharmacology**, Switzerland, v. 4, p. 1-10, Jan 2014.

EMA. European Medicines Agency. **European Medicines Agency recommends suspension of marketing authorization for sibutramine (2010)**. Available at: http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/news_and_events/news/2010/01/news_detail_000985.jsp. Accessed on 19 Sep 2015.

ERNST, E; WHITE, A. R. The BBC survey of complementary medicine use in the UK. **Complementary Therapies in Medicine**, Scotland, v. 8, n. 1, p. 32-36, Mar 2000.

ERNST, E.; THOMPSON, J. C. Heavy metals in traditional Chinese medicine: a systematic review. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, United States, v. 70, n. 6, p. 497-504, Dec 2001.

ERNST, E. Heavy metals in traditional Indian remedies. **European Journal of Clinical Pharmacology**, Germany, v. 57, n. 12, p. 891-896, Feb 2002. (a).

ERNST, E. Toxic heavy metals and undeclared drugs in herbal Asian medicines. **TRENDS in Pharmacological Science**, England, v. 23, n. 3, p. 136-139, Mar 2002 (b).

ERNST E. Adulteration of Chinese herbal with synthetic drugs: A systematic review. **Journal of Internal Medicine**, England, v.252, n.2, p. 107-113, Aug 2002 (c).

ESTEGHAMATI, A.; MAZAHERI, T.; RAD, M. V.; NOSHAD, S. Complementary and alternative medicine for the treatment of obesity: a critical review. **International Journal of Endocrinology and Metabolism**, Iran, v. 13, n. 2, April 2015.

EUROPEAN UNION. **Directive 2002/46/CE of the European Parliament and of the Council of 10 June 2002**. Relative on the approximation of the laws of the Member States relating to food supplements. Available at: <http://eur-lex.europa.eu>. Accessed on 9 June 2015.

EUROPEAN UNION. **Directive 2004/24/EC of the European Parliament and of the Council of 10 June 2002**. Amending, as regards traditional herbal medicinal products, Directive 2001/83/EC on the Community code relating to medical products for human use. Available at: http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-1/dir_2004_24_en. Accessed on 29 June 2015.

FAN, T.-P.; DEAL, G.; KOO, H.-L.; REES, D.; SUN, H.; CHEN, S.; DOU, J.-H.; MAKAROV, V. G.; POZHARITSKAYA, O. N.; SHIKOV, A. N.; KIM, Y. S.; HUANG, T.-T.; CHANG, Y. S.; JIA, W.; DIAS, A.; WONG, V. C.; CHAN, K. Future development of global regulations of Chinese herbal products. **Journal of Ethnopharmacology**, Ireland, v. 140, n. 3, p. 568-586, Apr 2012.

FAROUK H.; MAHMOUD, S. S.; EL-SAYEH, B. A.; SHARAF, O. A. Effect of grapefruit juice and sibutramine on body weigh loss in obeses rats. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, Nigeria, v. 9, n. 8, p. 376-381, 2014.

FASINU, P. S.; BOUIC, P. J.; ROSENKRANZ, B. An overview of the evidence a mechanisms of the herb-drug interactions. **Frontiers in Pharmacology**, Switzerland, v. 30, n. 3, p. 69, April 2012.

FDA. Food and Drug Administration. **FDA news release: FDA uncovers additional tainted weight loss products. Food and Drug Administration Documents and Publications (2009)**. Disponível em: <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm149547>. Acessado em Maio de 2016. (a)

FDA. Food and Drug Administration. **Hidden risks of erectile dysfunction “treatments” sold online (2009)**. Disponível em: <http://www.fda.gov/ForConsumers/ConsumerUpdates/ucm048386.htm>. Acessado em Maio de 2016. (b)

FDA. Food and Drug Administration. **Nature & Health Co. Issues voluntary nationwide recall of six male enhancement products marketed as dietary supplements (2009)**. Disponível em: <http://www.fda.gov/Safety/Recalls/ucm172264.htm>. Acessado em Maio de 2016. (c)

FDA. Food Drug and Administration. **FDA Drug Safety Communication: FDA Recommends against the Continued Use of Meridia (sibutramine) (2010)**.

Available at: <http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/ucm228746.htm>. Accessed on 19 Sep 2015

FDA. Food and Drug Administration. New **Dietary Ingredients in Dietary Supplements- Background for Industry**. Available at: http://www.fda.gov/Food/DietarySupplement/ucm109764.htm#what_info. Accessed on 29 June 2015.

FDA. Food and Drug Administration. Commissioner O of the press announcements — FDA approves weight-management drug Contrave (2014). Available at: <http://www.fda.gov/downloads/advisorycommittees/committeesmeetingmaterials/drugs/endocrinologicandmetabolicdrugsadvisorycommittee/ucm237335.pdf>. Accessed on 17 May 2016.

FENG, L.; SHU, L.; JIAN, L.; GILIANG, C.; YAN, C.; YUNPENG, O.; YIFENG, C.; YUTIAN, W. A new method for testing synthetic drugs adulterated in herbal medicines based on infrared spectroscopy. **Analytica Chimica Acta**, Netherlands, v. 589, n. 2, p. 200-207, Apr 2007.

FOOTE, J. A.; MURPHY, S. P.; WILKENS, L. R.; HANKIN, J. H.; HENDERSON, B. E.; KOLONEL, L. N. Factors associated with dietary supplement use among healthy adults of five ethnicities: the Multiethnic Cohort Study. **American Journal of Epidemiology**, United States, v. 157, n. 10, p. 888-897, May 2003.

FORONCEWICZ, B.; MUCHA, K.; GRYSZKIEWICZ, J.; FLORCZAK, M.; MULKA, M.; CHMURA, A.; SCMIDT, J.; PATKOWSKI, W.; PAŃCZEC, L. Dietary Supplement and Herbal Preparation in Renal and Liver Transplant Recipients. **Transplantation Proceedings**, United States, v. 43, n. 8, p. 2935-2937, Oct 2011.

FRASER, D. B.; TOMLINSON, J.; TURNER, J.; SATZGER, D. Determination of undeclared prescription drugs in black pearl products. **Journal of Food and Drug Analysis**, China, v. 5, n.4, p. 329-336, Nov 1997.

FUJIOKA, K.; GREENWAY, F.; SHEARD, J.; YING, Y. The effects of grapefruit on weight and insulin resistance: relationship to the metabolic syndrome. **Journal of Medicinal Food**, United States, v. 8, n. 1, p. 49-54, Spring 2006.

GERSHWIN, M. E.; BORCHERS, A. T.; KEEN, C. L.; HENDLER, S.; HAGIE, F.; GREENWOOD, M. R. C. Public safety and dietary supplementation. **Annals of the New York Academy of Science**, United States, v. 1190, p. 104-117, Mar 2010.

GILARD, V.; BALAYSSAC, S.; TINAUGUS, A.; MARTINS, N.; MARTINO, R.; MALET-MARTINO, M. Detection, identification and quantification by H NMR of adulterants in 150 herbal dietary supplements marketed for improving sexual performance. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, England, v. 102, p. 476-493, Jan 2015.

GIUNTA, R.; BASILE, G.; TIBUZZI, A. Legislation on Nutraceuticals and Food Supplements: a Comparison between Regulation on US and EU. **Bio-Farms for**

Nutraceuticals. Functional Food and Safety Control by Biosensors, New York: Springer, 2010. Cap. 24, p. 322-328.

GLISSON, J. K.; WALKER, L. A. How Physicians Should Evaluate Dietary Supplements. **The American Journal of Medicine**, United States, v. 123, n. 7, p. 577-582, July 2010.

GONZALEZ, D.; CONRADO, D. J.; THEURETZBACHER, U.; DERENDORF, H. The effect of critical illness on drug distribution. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, Netherlands, v. 12, n. 12, p. 2030-2036, Dec 2011.

GRIM, S. W.; EINOLF, H. J.; HALL, HE, K.; LIM, K. H.; LI, C.; NOMEIER, A. A.; SEIBERT, E.; SKORDOS, K. W.; TONN, G. R.; VAN HORN, R.; WANG, R. W.; WONG, Y. N.; YANG, T. J.; OBACH, R. S. The conduct of in vitro studies to address time-dependent inhibition of drug-metabolizing enzymes: a perspective of the pharmaceutical research and manufactures of America. **Drug Metabolism and Disposition**, United States, v. 37, n. 7, p. 1355-1370, Jul 2009.

GUARALDI, F.; PAGOTTO, U.; PASQUALI, R. Predictors of weight loss and maintenance in patients treated with antiobesity drugs. **Diabetes Metabolic Syndrome and Obesity**, New Zealand, v.4, p. 229-243, Jun 2011

GUO, C.; SHI, F.; JIANG, S.; GONG, L.; ZHAO, Y.; ZHANG, J.; ZENG, S. Simultaneous identification, confirmation and quantification of illegal adulterated antidiabetics 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**, Netherlands, v. 967, p. 174-182, Sep 2014.

GURLEY, B. J.; STEELMAN, S. C.; THOMAS, S. L. Multi-ingredient, caffeine-containing dietary supplements: history, safety, and efficacy. **Clinical Therapeutics**, United States, v. 37, n. 2, p. 275-301, Feb 2015.

HAAZ, S.; FONTAINE, K. R.; CUTTER, G.; LIMDI, N.; PERUMEAN-CHANEY, S.; ALLISON, D. B. Citrus aurantium and synephrine alkaloids in the treatment of overweight and obesity: an update. **Obesity Reviews**, England, v. 7, n. 1, p. 79-88, Feb 2006.

HACHEM, R.; MALET-MARTINO, M.; GILARD, V. First identification and quantification of lorcaserin in an herbal slimming dietary supplement. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, England, v. 98, p. 94-99, Sep 2014.

HACKMAN, R. M.; HAVEL, P. J.; SCHWARTZ, H. J.; RUTLEDGE, J. C.; WATNIK, M. R.; NOCETI, E. M.; STOHS, S. H.; STERN, J. S.; KEEN, C. L. Multinutrient supplement containing ephedra and caffeine causes weight loss and improves metabolic risk factors in obese women: a randomized controlled trial. **International Journal of Obesity**, England, v. 30, n. 10, p. 1545-1556, Oct 2006.

HALPERN, A.; MANCICI, M. C. Treatment of obesity: an update on anti-obesity medications. **Obesity Reviews**, England, v. 4, n. 1, p. 25-42, Feb 2003.

HASHIMOTO, K.; HIGUSHI, M.; MAKINO, B.; SAKAKIBARA, I.; KUBO, M.; KOMATSU, Y.; MARUNO, M.; OKADA, M. Quantitative analysis of aristolochic acids, toxic compounds, contained in some medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, Ireland, v. 64, n. 2, p. 185-189, Feb 1999.

HE, T.; UNG, C. O. L.; HU, H.; WANG, Y.-T. Good manufacture practice (GMP) regulation of herbal medicine in comparative research: China GMP, Cgmp, WHO-GMP, PIC/S and EU-GMP. **European Journal of Integrative Medicine**, Netherlands, v. 7, n. 1, p. 55-66, Feb 2015.

HERMANN, R.; von RICHTER, O. Clinical evidence of herbal drugs as perpetrators of pharmacokinetic drug interaction. **Planta Medica**, Germany, v. 78, n. 13 p. 1458-1477, Sep 2012.

HEUBERGER, J.; SCHMIDT, S.; DERENDORF, H. When is protein binding important? **Journal of Pharmaceutical Sciences**, United States, v. 102, n. 9, p. 3458-3467, Sep 2013.

HOLENBERG, P. F. Characteristics and common properties of inhibition, inducers, and activators of CYP enzymes. **Drug Metabolism Reviews**, England, v. 34, n. 1-2, p. 17-35, Feb 2002.

HOWGATE, E. M.; ROWLAND, Y. K.; PROCTOR, N. J.; TUCKER, G. T.; ROSTAMI-HODJEGAN, A. Prediction of in vivo drug clearance from in vitro data. Impact of inter-individual variability. **Xenobiotica**, England, v. 36, n. 6, p. 473-497, Jun 2006.

HUANG, W. F.; WEN, K. C.; HSIAO, M. L. Adulteration by synthetic therapeutic substances of traditional Chinese medicines in Taiwan. **Journal of Clinical Pharmacology**, England, v. 37, n. 4, p. 344-350, Apr 1997.

ICH. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. **ICH Q2A Guideline Validation of analytical procedures: definitions and methodology**, 2005. Available at: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1_Guideline.pdf. Accessed on Dec 2015.

JAMEI, M.; MARCINIAK, S.; FENG, K.; BARNETT, A.; TUCKER, G.; ROSTAMI-HODJEGAN, A. The Simcyp population-based ADME simulator. **Expert Opinion in Drug Metabolism and Toxicology**, England, v. 5, n. 2, p. 211-223, Feb 2009.

JAMES, W. P.; CATERSON, I. D.; COUTINHO, W.; FINER, N.; VAN GAAL, L. F.; MAGGIONI, A. P.; TORP-PEDERSEN, C.; SHARMA, A. M.; SHEPHERD, G. M.; RODE, R. A.; RENZ, C. L. Effect of sibutramine on cardiovascular outcomes in overweight and obese subjects. **The New England Journal of Medicine**, England, v. 363, n. 10, p. 905-917, Sep 2010.

JORDAN, S. A.; CUNNINGHAM, D. G.; MARLES, R. J. Assessment of herbal medicine products: Challenges, and opportunities to increase the knowledge base for

safety assessment. **Toxicology and Applied Pharmacology**, United States, v. 243, n. 2, p. 198-216, Mar 2010.

JUNG, J.; HERMANN-CLAUSEN, M.; WEINMANN, W. Anorectic sibutramine detected in a Chinese herbal drug for weight loss. **Forensic Science International**, Ireland, v. 161, n. 2-3, p. 221-222, Sep 2006.

JUNIOR, V. F.V.; PINTO, A. C. Plantas Medicinais: Cura Segura? **Química Nova**, Brasil, v. 28, n. 3, p. 519-528, Maio/Jun 2005.

KAKAR, S. M.; PAINE, M. F.; STEWART, P. W.; WATKINS, P. B. Dihydroxybergamottin contributes to the grapefruit juice effect. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, United States, v. 75, n. 6, p. 569-579, Jun 2004.

KAKKAR, A. K.; DAHIYA, D. Drug treatment of obesity: Current status and future prospects. **European Journal of Internal Medicine**, Netherlands, v. 26, n. 2, p. 89-94, Mar 2015.

KANAN, S.; ABU-YOUSEF, I. A.; GUNASEKAR, C.; ABDO, N.; NARASIMHAN, S. Detection and quantification of synthetic drugs in herbal slimming formule. **European Journal of Scientific Research**, v.34, n. 3, p.348-357, 2009.

KAPLAN, L. M. Pharmacology therapies for obesity. **Gastroenterology Clinics of North America**, United States, v. 39, n. 1, p. 69-79, Mar 2010.

KESTING, J. R.; HUANG, J.; SØRENSEN, D. Identification of adulterants in a Chinese herbal medicine by LC-MS-SPE/NMR and comparative in vivo study with standards in a hypertensive rat model. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, England, v. 51, n. 3, p. 705-711, Feb 2010.

KHAZAN, M.; HEDAYATI, M.; KOBARFARD, F.; ASKARI, S.; AZIZI, F. Identification and determination of synthetic pharmaceuticals as adulterants in eight common herbal weight loss supplements. **Iranian Red Crescent Society**, United Arab Emirates, v. 16, n. 3, Mar 2014.

KIM, S. H.; LEE, J.; YOON, T.; CHOI, D.; KIM, D.; KNOW, S. W. Simultaneous determination of anti-diabetic/antiobesity drugs by LC/PDA, and targeted analysis of sibutramine analog in dietary supplements by LC/MS/MS. **Biomedical Chromatography**, England, v. 23, n. 12, p. 1259-1265, Dec 2009.

KIM, H. J.; LEE, J. H.; PARK, H. J.; KIM, J. Y.; CHO, S.; KIM, W. S. Determination of non-opioid analgesics in adulterated food and dietary supplements by LC-MS/MS. **Food Additive and Contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure and risk assessment**, England, v. 31, n. 6, p. 973-978, May 2014.

KIM, H. J.; LEE, J. H.; PARK, H. J.; CHO, S. H.; CHO, S.; KIM, W. S. Monitoring of 29 weight loss compounds in foods and dietary supplements by LC-MS/MS. **Food Additive and Contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure and risk assessment**, England, v. 31, n. 5, p. 777-783, Mar 2014.

KO, R. Safety of Ethnic & Imported Herbal and Dietary Supplement. **Clinical Toxicology**, United States, v. 44, n. 5, p. 611-616, May 2006.

KO, R. J. Adulterants in Asian patent medicines, **The New England Journal of Medicine**, England, v. 339, n. 12, p. 847, Sep 1998.

KOH, H.-L.; WOO, S.-O. Chinese proprietary medicine in Singapore. Regulatory control of toxic heavy metals and undeclared drugs. **Drug Safety**, New Zealand, v. 23, n.5, p. 351-362, Nov 2000.

KREMERS, P. Can drug-drug interactions be predicted from in vitro studies? **TheScientificWorldJournal**, United States, v. 19, n.2, p. 751-766, Mar 2002.

KU, Y.-R.; CHANG, Y.-S.; WEN, K.-C., HO, L.-K. Analysis and confirmation of synthetic anorexics in adulterated traditional Chinese medicines by high-performance capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, Netherlands, v. 848, n. 1-2, p. 537-543, Jul 1999.

KU, Y. R.; CHANG, L. Y.; HO, L. K.; LIN, J. H. Analysis of synthetic anti-diabetic drugs in adulterated traditional Chinese medicines by high-performance capillary electrophoresis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, England, v. 33, n.2, p. 329-334, Sep 2003.

LAU, A. J.; HOLMES, M. J.; WOO, S. O.; KOH, H. L. Analysis of adulterants in a traditional herbal medicinal product using liquid chromatography-mass spectrometry-mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, England, v. 31, n. 2, p. 401-406, Feb 2003.

LEE, T. Y.; WU, M. L.; DENG, J. F.; HWANG, D. F. High-performance liquid chromatographic determination for aristolochic acid in medicinal plants and slimming products. **Journal of Chromatography B. Analytical technologies and the biomedical and life sciences**, Netherlands, v. 766, n. 1, p. 169-174, Jan 2002.

LI, M.; CHEUNG, B. M. Y. Pharmacotherapy for obesity. **British Journal of Clinical Pharmacology**, England, v. 68, n. 6, p. 804-810, Dec 2009.

LIANG, Q.; QU, J.; LUO, G.; WANG, Y. Rapid and reliable determination of illegal adulterant in herbal medicines and dietary supplements by LC/MS/MS. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, England, v. 40, n. 2, p. 305-311, Feb 2006.

LIN, J. H.; LU, A. Y. Inhibition and induction of cytochrome P450 and the clinical implications. **Clinical Pharmacokinetics**, Switzerland, v. 35, n. 5, p. 361-390, Nov 1998.

LINDE, K.; BARRETT, B.; VOLKART, K.; BAUER, R.; MELCHART, D. Echinacea for preventing and treating the common cold. **Cochrane Database Systematic Reviews (CDSR)**, CD000530, Jan 2006.

LINK, M.; HAKALA, K. S.; WSÓL, V.; KOSTIAINEN, R.; KETOLA, R. A. Metabolite profile of sibutramine in human urine: a liquid chromatography- electrospray ionization mass spectrometric study. **Journal of Mass Spectrometry**, England, v. 41, n. 9, p. 1171-1178, Sep 2006.

LIU, S. Y.; WOO, S. O.; KOH, H. L. HPLC and GC-MS screening of Chinese proprietary medicine for undeclared therapeutics substances. **Journal of Pharmacology and Biomedical Analysis**, England, v. 24, n. 5-6, p. 983-992, Mar 2001.

LORD, G. M.; TAGORE, R.; COOK, T.; GOWER, P.; PUSEY, C. D. Nephropathy caused by Chinese herbs in the UK. **The Lancet**, England, v. 354, n. 9177, p. 481-482, Aug 1999.

LU, Y. L.; ZHOU, N. L.; LIAO, S. Y.; SU, N.; HE, D. X.; TIAN, Q. Q.; CHEN, B.; YAO, S. Z. Detection of adulteration of anti-hypertensive dietary supplements and traditional Chinese medicine with synthetic drugs using LC/MS. **Food Additive and Contaminants**, England, v. 27, n. 7, p. 893-902, July 2010.

MADABUSHI, R.; FRANK, B.; DREWELow, B.; DERENDORF, H.; BUTTERWECK, V. Hyperforin in St. John's wort drug interactions. **European Journal of Clinical Pharmacology**, Germany, v. 62, n. 3, p. 225-233, Mar 2006.

MALHORTA, S.; BAILEY, D. G.; PAINE, M. F.; WATKINS, P. B. Sevilla orange juice-felodipine interaction: comparison with dilute grapefruit juice and involvement of furanocoumarins. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, United States, v. 69, n. 1, p. 14-23, Jan 2001.

MELETHIL, S. Proposed rule: Current good manufacturing practice in manufacturing, packing, or holding dietary ingredients and dietary supplements. **Life Science**, Netherlands, v. 78, n. 18, p. 2049-2053, Mar, 2006.

MESSERER, M.; JOHANSSON, S.-E.; WOLK, A. Original Communication Sociodemographic and health behaviour factors among dietary supplement and natural remedy users. **European Journal of Clinical Nutrition**, England, v.55, n.12, p. 1104-1110, Dec 2001.

MILLER, G. M.; STRIPP, R. A study of western pharmaceuticals contained within samples of Chinese herbal/patent medicines collected from New York City's Chinatown. **Legal Medicine**, United States, v. 9, n. 5, p. 258,264, Sep 2007.

MINISCALCO, A.; LUNDAHL, J.; REGARDH, C. G.; EDGAR, B.; ERIKSSON, U. G. Inhibition of dihydropyridine metabolism in rat and human liver microsomes by flavonoids found in grapefruit juice. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, United States, v. 261, n. 3, p. 1195-1199, Jun 1992.

MÜLLER, D.; WEINMANN, W.; HERMANN-CLAUSEN, M. Chinese slimming capsules containing sibutramine sold over the internet: a case of series. **Deutsches Ärzteblatt international**, Germany, v. 106, n. 13, p. 218-222, Mar 2002.

NA, D. H.; JI, H. Y.; PARK, E. J.; KIM, M. S.; LIU, K. H.; LEE, H. S. Evaluation of metabolism-mediated herb-drug interactions. *Archives of Pharmacal Research, Korea (South)*, v. 34, n. 11, p. 1829-1842, Nov 2011.

NAJM, W.; LIE, D. Herbals used for diabetes, obesity, and metabolic syndrome. **Primary Care**, United States, v.37, n. 2, p. 237-254, Jun 2010.

NEVES, D. B. 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, Netherland*, v. 73, n. 1, p. 93-104, Oct 2015.

NISOLI, E.; CARRUBA, M. O. A benefit-risk assessment of sibutramine in the management of obesity. **Drug Safety**, New Zealand, v. 16, n. 14, p. 1027-1048, 2003.

NOONAM, C.; NOONAM, W. P. Marketing dietary supplements in the United States: A review of the requirements for new dietary ingredients. **Toxicology**, Ireland, v. 221, n. 1, p. 4-8, Apr 2006.

ODI. Overseas Development Institute. **Overweight and obese adults reaching almost a billion in developing countries, as numbers continue to grow in richer nations (2014)**. Available at: <http://www.odi.org/news/703-overweight-obese-adults-reaching-almost-billion-developing-countries-as-numbers-continue-grow-richer-nations>. Accessed on 19 Sep 2015.

OKEN, B. S.; STORZBACH, D. M.; KAYE, J. A. The efficacy of Ginkgo biloba on cognitive function in Alzheimer disease. **Archives of Neurology**, United States, v. 55, n. 11, p. 1409-1415, 1998.

OLIVE, N.J. Package insert Meridia (sibutramine). Knoll Pharmaceutical Co., 1997.

ORDOVÁS, J. M.; SHEN, J. Gene-environment interactions and susceptibility to metabolic syndrome and other chronic disease. **Journal of Periodontology**, United States, v. 79, n.8, p. 1508-1513, Aug 2008.

PADWAL, R. S.; MAJUMDAR, S. R. Drug treatment for obesity: orlistat, sibutramine, and rimonabant. **Lancet**, England, v. 369, n. 9555, p. 71-77, Jan 2007.

PAINE, M. F.; SHEN, D. D.; KUNZE, K. L.; PERKINS, J. D.; MARSH, C. L.; MCVICAR, J. P.; BARR, D. M.; GILLIES, B. S.; THUMMEL, K. E. First-pass metabolism of midazolam by human intestine. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, United States, v. 60, n. 1, p. 14-24, Jul 1996.

PAINE, M. F.; KHALIGHI, M.; FISHER, J. M.; SHEN, D. D.; KUNZE, K. L.; MARSH, C. L.; PERKINS, J. D.; THUMMEL, K. E. Characterization of interintestinal and intrainestinal variations in human CYP3A-dependent metabolism. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, United States, v. 283, n. 3, p. 1552-1562, Dec 1997.

PAINE, M. F.; CRISS, A. B.; WATKINS, P. B. Two major grapefruit juice components differ in intestinal CYP3A4 inhibition kinetic and binding properties. **Drug Metabolism and Disposition**, United States, v. 32, n. 10, p. 1146-1153, Oct 2004.

PAGOTTO, U.; PASQUALI, R. Fighting abesity and associated risk factors by antagonizing cannabinoid type 1 receptors. **Lancet**, England, v. 365, n. 9468, p. 1363-1364, Apr 2005.

PALAMAR, J. How ephedrine escaped regulation in the United States: A historical review of misuse and associates policy. **Health Policy**, United States, v. 99, n. 1, p. 1-9, Aug 2010.

PAPANDREOU, D.; PHILY, A. An update mini review on grapefruit: Interactions with drugs, obesity and cardiovascular risks factors. **Food and Nutrition Science**, v. 5, n. 4, p. 376-381, Feb 2014.

PATEL, D. N.; LI, L.; KEE, C. L.; GE, X.; LOW, M. Y.; KOH, H. L. Screening of synthetic PDE-5 inhibitors and their analogues as adulterants: analytical techniques and challenges. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, England, v. 87, p. 176-190, Jan 2014.

PATIL, L.; KULKARNI, K.; KHANVILKAR, V.; KADAM, V. *In vitro* evaluation of herb-drug interaction: a review. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science**, India, v. 6, n. 2, p. 9-12, Feb 2014.

PENG, C. C.; GLASSMAN, P. A.; TRILLI, L. E.; HAYES-HUNTER, J.; GOOD, C. B. Incidence and Severity of Potential Drug–Dietary Supplement Interactions in Primary Care Patients: An Exploratory Study of 2 Outpatient Practices. **Archives of Internal Medicine**, United State, v. 164, n. 6, p. 630-636, Mar 2004.

PETROCZI, A.; TAYLOR, G.; NAUGHTON, D. P. Mission Impossible? Regulatory and enforcement issues to ensure safety of dietary supplements. **Food and Chemical Toxicology**, England, v. 49, n. 2, p. 393-402, Feb 2011.

PHILLIPS, M. M; RIMMER, C. A. Functional foods and dietary supplements. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Germany, v. 405, n. 13, p. 4323-4324, May 2013.

PITTLER, M. H.; SCHMIDT, K.; ERNST, E. Adverse events of herbal food supplements for body weight reduction: systematic review. **Obesity Reviews**, England, v. 6, n. 2, p. 93-111, May 2005.

RADIMER, K.; BINDEWALD, B.; HUGHES, J.; ERVIN, B.; SWANSON, C.; PICCIANO, M. F. Dietary supplement use by US adults: data from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2000. **American Journal of Epidemiology**, United States, v. 160, n. 4, p. 339-349, Aug 2004.

REBIERE, H.; GUINOT, P.; CIVADE, C.; BONNET, P.-A.; NICOLAS, A. Detection of hazardous weight-loss substances in adulterated slimming formulations using ultra-high pressure liquid chromatography with diode-array detection. **Food Additives &**

Contaminants. Patr A, Chemistry, analisys, control, exposure & risk assessment, England, v. 29, n.2, p. 161-171, Feb 2012.

REINERT, A.; ROHRMANN, S.; BECKER, N.; LINSEISEN, J. Lifestyle and diet in people using dietary supplements. A German cohort study. **European Journal of Nutrition**, Germany, v. 46, n. 3, p. 165-173, Apr 2007.

REEUVIJK, N. M.; VENHUIS, B. J.; KASTE, D.; HOOGENBOOM, R. L.; RIETJENS, I. M.; MARTENA, M. J. Active pharmaceutical ingredients detected in herbal food supplements for weight loss sampled on the Dutchmarket. **Food Additives & Contaminants. Patr A, Chemistry, analisys, control, exposure & risk assessment**, England, v. 31, n. 11, p. 1783-1793, Sept 2014.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, Brasil, v. 27, n. 5, p. 771-780, Oct 2004.

RIVM Report 370030002/2009. Trends in drug substances detected in illegal weight-loss medicines and dietary supplements. A 2002-2007 survey and health risk analysis. Netherland. Disponível em: <http://rivm.nl/bibliotheek/rapporten/370030002.pdf>. Acesso em 16 mai. 2011.

ROMANI, S.; SACCHETTI, G.; CHAVES LOPES, C.; PINNAVAIA, G. G.; DALLA ROSA, M. Screening on the occurrence of ochratoxin A in green coffee beans of different origins and types. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Slovakia, Italy, v. 48, n. 8, p. 3616-3619, Aug 2000.

ROSTAMI-HODJEGAN, A.; TUCKER, G. T. Simulation and prediction of *in vivo* drug metabolism in human populations from *in vitro* data. **Nature Reviews**, England, v. 6, p. 140-148, Feb 2007.

SADOVSKY, R; COLLINS, N.; TIGHE, A. P.; BRUTON, S. A.; SAFEER, R. Patient use of dietary supplements: a clinician's perspective. **Current Medical Research and Opinion**, England, v. 24, n. 4, p. 1209-1216, Apr 2008.

SCHMIDT, S.; GONZALEZ, D.; DERENDORF, H. Significance of protein binding in pharmacokinetics and pharmacodynamics. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, United States, v. 99, n. 3, p. 1107-1122, Mar 2010

SCHMIEDLIN-REN, P.; EDWARDS, D. J.; FITSZIMMONS, M. E. Mechanisms of enhanced oral availability of CYP3A4 substrates by grapefruit constituents. Decreased enterocytes CYP3A4 concentration and mechanism-based inactivation by furanocoumarins. **Drug Metabolism and Disposition**, United States, v. 25, n. 11, p. 1228-1233, 1997

SHI, Y. F.; PAN, C. Y.; HILL, J.; GAO, Y. Orlistat in the treatment of overweight or obese Chinese patients with newly diagnosed type 2 diabetes. **Diabetic Medicine**, England, v. 22, n. 12, p. 1737-1743, Dec 2005.

SHI, Y.; SUN, C.; GAO, B.; SUN, A. Development of a liquid chromatography tandem mass spectrometry method for simultaneous determination of eight adulterants in slimming functional food. **Journal of Chromatography A**, Netherlands, v. 1218, n.42 p. 7655-7662, Oct 2011.

SILANO M.; DE VINCENZI, M.; DE VINCENZI, A.; SILANO, V. The new European legislation on traditional herbal medicines: main features and perspectives. **Fitoterapia**, Netherlands, v.75, n. 2, p. 107-116, Mar 2004

SNYMAN, T.; STEWART, M. J.; GROVE, A.; STEENKAMP, V. Adulteration of South Africa traditional herbal remedies. **Therapeutic Drug Monitoring**, United States, v. 27, n. 1, p. 86-89, Feb, 2005.

SOARES, E. I.; MENDONÇA, L. G. Chá ou Fitoterápico? Um regate histórico de como a legislação sanitária brasileira encara a planta medicinal desde o Brasil colônia. **Perspectivas da Ciência e Tecnologia**, Brasil, v. 2, n. 1-2, p. 20-31, 2010.

SONG, F.; MONROE, D.; EL-DEMERDASH, A.; PALMER, C. Screening for 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**, England, v. 88, p. 136-143, Jan 2014.

STAHL, K. A.; IMPERIALE, T. F. An overview of the efficacy and safety of fenfluramine and mazindol in treatment of obesity. **Archives of Family Medicine**, United States, v. 2, n. 10, p. 1033-1038, Oct 1993.

STEVINSON, C.; PITLLER, M. H.; ERNST, E. Garlic for treating hypercholesterolemia. A meta-analysis of randomized clinical trials. **Annals of Internal Medicine**, United States, v. 133, n. 6, p. 420-429, Sep 2000.

STOHS, S. J.; MILLER, H.; ROMANO, F. Absence of furanocoumarins in Advantra Z® (Citrus aurantium, bitter orange) extracts. **Journal of Dietary supplements**, Journal of Dietary Supplements, England, v. 11, n. 3, p. 288-293, Sep 2014.

STRANO-ROSSI, S.; ODOARDI, S.; CASTRIGNANO, E.; SERPELLONI, G.; CHIAROTTI, M. Liquid chromatography high resolution mass spectrometry (LC-HRMS) determination of stimulants, anorectic drugs and phosphodiesterase 5 inhibitors (PDE-5I) in food supplements. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, England, v. 106, p. 144-152, Mar 2015.

THOMSEN, W. J.; GROTTICK, A. J.; MENZAGUI, F.; REYES-SALDANA, H.; SPITIA, S.; YUSKIN, D.; WHELAN, K.; MARTIN, M.; MORGAN, M.; CHEN, W.; AL-SHAMMA, H.; SMITH, B.; CHALMERS, D.; BEHAN, D. Lorcaserin, a novel selective human 5-hydroxytryptamine_{2C} agonist: in vitro and in vivo pharmacological characterization. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, United States, v. 325, n. 2, p. 577-587, May 2008.

TORGERSON, J. S.; HAUPTMAN, J.; BOLDRIN, M. N.; SJÖSTRÖM, L. XENical in the prevention of diabetes in obese subjects (XENDOS) study: a randomized study of

orlistat as an adjunct to lifestyle changes for the prevention of type 2 diabetes in obese patients. **Diabetes Care**, United States, v. 27, n. 1, p. 155-161, Jan 2004.

UNITED STATES. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health. **AARP and National Center for Complementary and Alternative Medicine Survey Report. Complementary and Alternative Medicine: What People Aged 50 and Older Discuss With Their Health Care Providers**. Rockville, MD: April 2010. Available at: <https://nccih.nih.gov/research/statistics/2010>. Accessed Jun 2016.

UNITED STATES. Food and Drug Administration. **Dietary Supplement Health and Education Act of 1994**. Available at: <http://www.fda.gov/RegulatoryInformation/Legislation/FederalFoodDrugandCosmeticActFDCAct/SignificantAmendmentstotheFDCAct/ucm148003.htm>. Accessed Jun 2015.

UNITED STATES. Food and Drug Administration. Draft Guidance for Industry: Drug Interaction Studies—Study Design, Data Analysis, and Implications for Dosing and Labeling, Administration. 2012. Available at: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm292362.pdf>. Accessed Mar 2015

UNITED STATES. Food and Drug Administration. DMAA in dietary supplements. 2013. Available at: <http://www.fda.gov/Food/DietarySupplements/ProductsIngredients/ucm346576.htm>. Accessed Jul 2016.

VACLAVIK, L.; KRYNITSKY, A. J.; RADER, J. I. Mass spectrometric analysis of pharmaceutical adulterants in products labeled as botanical dietary supplements or herbal remedies: a review. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Germany, v. 406, n. 27, p. 6767-6790, Nov 2014.

VAN POUCKE, C.; DETAVERNIER, C.; VAN CAUWENBERGHE, R.; VAN PETEGHEM, C. Determination of anabolic steroids in dietary supplements by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, Netherlands, v. 586, n. 1-2, p. 35-42, Mar 2007.

VANHAELEN, M.; VANHAELEN-FASTRE, R.; BUT, P.; VANHERWEGHEM, J. L. Identification of aristolochic acid in Chinese herbs. **The Lancet**, England, v. 343, n. 8890, p. 174, Jan 1994.

VAUGHAN, R. A.; CONN, C. A.; MERMIER, C. M. Effects of commercially available dietary supplements on resting energy expenditure: a brief report. **ISRN Nutrition**, Egypt, v. 2, p. 1-7, Jan 2014.

VENHUS, B.J.; KASTE, D. Towards a decade of detecting new analogues of sildenafil, tadalafil and vardenafil in food supplements: a history, analytical aspects and health risks. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, England, v. 69, p. 196-208, Oct 2012.

VERROTTI, A.; SCAPARROTTA, A.; AGOSTINELLI, S.; DI PILLO, S.; CHIARELLI, F.; GROSSO, S. Topiramate-induced weight-loss: a review. **Epilepsy Research**, Netherlands, v. 95, n. 3, p. 189-199, Aug 2011.

VIANA, C.; ZEMOLIN, G. M.; LIMA, F. O.; de CARVALHO, L. M.; BOTTOLI, C. B.; LIMBERGER, R. P. High-performance liquid chromatographic analysis of biogenic amines in pharmaceutical products containing Citrus aurantium. **Food Additives and Contaminants. Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment**, England, v. 30, n. 4, p. 634-642, Apr 2013.

VOGLER, B. K.; PITTLER, M. H.; ERNST, E. The efficacy of ginseng. A systematic review of randomized clinical trials. **European Journal of Clinical Pharmacology**, Germany, v. 55, n. 8, p. 567-575, 1999

WANG, J.; CHEN, B.; YAO, S. Analysis of six synthetic adulterants in herbal weight-reducing dietary supplements by LC electrospray ionization-MS. **Food Additives and Contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure and risk assessment**, England, v. 25, n. 7, p. 822-830, Jul 2008.

WANG, J.; YANG, D.; WANG, Z.; CHEN, B.; YAO, S. Simultaneous of illegal additives of dietary supplements and traditional medicines by high performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. **Food Chemistry**, England, v. 113, n. 1, p. 227-232, Mar 2009.

WARUDE, D; PATWARDHAN, B. Botanicals: Wuality and regulatory issues. **Journal of Scientific & Industrial Research**, India, v. 64, n. 2, p. 83-92, Feb. 2005.

WIENKERS, L. C.; HEATH, T. G. Predicting in vivo drug interactions from in vitro drug discovery data. **Nature Reviews**, England, v. 4, n. 10, p. 825-833, Oct 2005.

WHO. World Health Organization. **Regulatory Situation of Herbal Medicines. A Worldwide Review (1998)**. Available at: <http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/whozip57e/whozip57e.pdf>. Accessed 29 June 2015.

WHO. World Health Organization. **Obesity: preventing and managing the global epidemic report of a WHO consultation on obesity**. Geneva, Switzerland, 2000. Available at: www.who.int/nutrition/publications/obesity/WHO_TRS_894/en/. Accessed 08 September 2015.

WHO. World Health Organization. **Global strategy on diet, physical activity and health**. Geneva, Switzerland, 2004. Available at: www.who.int/dietphysicalactivity/strategy/eb11344/strategy_english_web.pdf. Accessed 08 September 2015.

WHO. World Health Organization. **National Policy on Traditional Medicine and Regulation of Herbal Medicines**. Report of a World Health Organization Global Survey, Geneva, Switzerland, 2005.

WON, C. S.; OBERLIES, N. H.; PAINE, M. F. Mechanism underlying food-drug interactions: inhibition of intestinal metabolism and transport. **Pharmacology & Therapeutics**, England, v. 136, n. 2, p. 186-201, Nov 2012.

WOO, H.; KIM, J. W.; HAN, K. M.; LEE, J. H.; HWANG, I. S.; LEE, J. H.; KIM, J.; KWEON, S. J.; CHO, S.; CHAE, K. R.; HAN, S. Y.; KIM, J. Simultaneous analysis of 17 diuretics in dietary supplements by HPLC and LC-MS/MS. **Food Additives and Contaminants. Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment**, England, v. 30, n. 2, p. 209-217, 2013.

YEO, K. R.; JAMEI, M.; ROSTAMI-HODJEGAN, A. Predicting drug-drug interactions: application of physiologically based pharmacokinetic models under a systems biology approach. **Expert Review Clinical Pharmacology**, England, v. 6, n. 2, p. 143-157, Mar 2013.

YUEN, Y. P.; LAI, C. K.; POON, W. T.; NG, S. W.; CHAN, A. Y.; MAK, T. W. Adulteration of over-the-counter slimming products with pharmaceutical analogues: an emergency threat. *Honk Kong Medical Journal*, China, v. 13, n. 3, p. 216-220, Jun 2007.

ZEROWITZ, B. J. Complementary and alternative medicine: dietary supplement interactions with medication. **Geriatric Nursing**, United States, v. 31, n. 3, p. 206-211, May-Jun 2010.

ZHANG, L.; ZHANG, Y.; ZHAO, P.; HUANG, S.-M. Predicting drug-drug interactions: an FDA perspective. **The AAPS Journal**, United States, v. 11, n. 2, p. 300-306, Jun 2009.

ZHAO, P.; ZHANG, L.; GRILLO, J. A.; LIU, Q.; BULLOCK, J. M.; MOON, Y. J.; SONG, P.; BRAR, S. S.; MADABUSHI, R.; WU, T. C.; BOOTH, B. P.; RAHMAN, N. A.; REYNOLDS, K. S.; GIL BERGLUND, E.; LESKO, L. J.; HUANG, S. M. Application of physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling and simulation during regulatory review. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, United States, v. 89, n. 2, p. 259-267, Feb 2011.

ZHOU, S.; GAO, Y.; JIANG, W.; HUANG, M.; XU, A.; PAXTON, J. W. Interactions of herbal with cytochrome P450. **Drug Metabolism Reviews**, England, v. 35, n. 1, p. 35-98, Feb 2003.

ZHOU, S. F.; ZHOU, Z. W.; LI, C. G.; CHEN, X.; YU, X.; WUE, C. C.; HERINGTON, A. Identification of drugs that interact with herbs in drug development. **Drug Discovery Today**, England, v. 12, n. 15-16, p. 664-673, Aug 2007.

ZHOU, Z.; ZHANG, J.; ZHANG, W.; BAI, Y.; LIU, H. Rapid screening for synthetic antiabetic drug adulteration in herbal dietary supplements using direct analysis in real time mass spectrometry. **Analyst**, England, v. 136, n. 12, p. 2613-2618, Jun 2011.

ZHOU, J.; OUEDRAOGO, M.; QU, F.; DUEZ, P. Potential genotoxicity of traditional Chinese medicinal plants and phytochemicals: an overview. **Phytotherapy Research**, England, v. 27, n. 12, p. 1745-1755, Dec 2013.