

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA
ANALÍTICA PARA O CONTROLE QUÍMICO DA QUALIDADE
DE FITOTERÁPICOS À BASE DE EXTRATO SECO
DE ALCACHOFRA**

Eduardo Castello Branco Tinoco Guimarães

Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
Fundação Oswaldo Cruz

Orientadora: Dra. Tereza Cristina dos Santos

Rio de Janeiro

2007

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA O
CONTROLE QUÍMICO DA QUALIDADE DE FITOTERÁPICOS
À BASE DE EXTRATO SECO DE ALCACHOFRA

Eduardo Castello Branco Tinoco Guimarães

Dissertação submetida à Comissão Examinadora composta pelo corpo docente do Programa de Pós-graduação em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz e por professores convidados de outras instituições, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre.

Aprovado:

Prof. _____
Dr. Lúcio Mendes Cabral

Prof. _____
Dr. Leonardo Lucchetti Caetano da Silva

Prof. _____
Dr. Marcelo de Pádula

Orientadora: _____
Dra. Tereza Cristina dos Santos

Rio de Janeiro

2007

Guimarães, Eduardo Castello Branco Tinoco

Desenvolvimento e validação de metodologia analítica para o controle químico da qualidade de fitoterápicos à base de extrato seco de alcachofra / Eduardo Castello Branco Tinoco Guimarães. Rio de Janeiro: INCQS / FIOCRUZ, 2007.

xvii, 87 p., il., fig.

Dissertação (Mestrado) - Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Rio de Janeiro, 2007.

Orientadora: Dra. Tereza Cristina dos Santos

1. Validação. 2. Controle químico da qualidade.
3. Extrato seco de alcachofra. I. Título.

Título em inglês: *Development and validation of analytical methodology for the quality chemical control of herbal medicinal products from commercial dry extract of artichoke leaves.*

**Dedico este trabalho
à minha mãe.**

“Ninguém ignora tudo. Ninguém sabe tudo. Todos nós sabemos alguma coisa. Todos nós ignoramos alguma coisa. Por isso aprendemos sempre”.

Paulo Freire

v

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Paulo Márcio de Mello, Diretor do CEPUERJ, que tornou possível a realização deste trabalho ao conceder minha liberação para o mestrado.

À minha orientadora Dra. Tereza Cristina dos Santos, pelo incentivo e pela ação exigente com a qual conduziu a orientação.

Ao professor Lúcio Mendes Cabral, pelos ensinamentos e pela ajuda no tratamento estatístico.

À Coordenação de Pós-graduação do INCQS.

A todos os professores do curso de Mestrado em Vigilância Sanitária por terem contribuído para minha formação profissional.

À Dra. Paula Fernandes Aguiar (UFRJ), à Dra. Maria Raquel Figueiredo (FIOCRUZ) e ao Dr. Leonardo Lucchetti (FIOCRUZ) pelas críticas e sugestões apresentadas no Seminário de Dissertação.

Aos amigos do Laboratório de Controle da Qualidade em Saúde (LABCON) da Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ, pela convivência diária.

Ao Laboratório Farmacêutico Millet Roux pela gentil contribuição no fornecimento dos padrões e da amostra de extrato seco de alcachofra.

À Luciana de Barros Gonçalves e Sérgio Kazumasa de Farmanguinhos, pela ajuda na obtenção dos cromatogramas.

Aos funcionários da Secretaria Acadêmica do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária do INCQS, pela atenção e ajuda.

Ao meu amigo Maurício Barroso, pelo incentivo.

Aos colegas do curso de mestrado e à todos que nas mais diferentes circunstâncias participaram da realização do presente trabalho, meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

A alcachofra (*Cynara scolymus L.*) é uma espécie vegetal conhecida desde a antiguidade, preconizada por suas ações coleréticas e diuréticas. A ação farmacológica e terapêutica das folhas de alcachofra não é devida exclusivamente à cinarina, mas a um conjunto de constituintes quimicamente semelhantes denominados polifenóis.

Muitos métodos analíticos são citados na literatura para a quantificação do teor de cinarina ou de ácido clorogênico presente na folhas de alcachofra ou em preparações farmacêuticas. Neste trabalho foram utilizadas duas metodologias oficiais: da Farmacopéia Européia 5ª edição (2006) e a da Farmacopéia Brasileira 3ª edição (1977). Uma terceira metodologia foi desenvolvida e validada, utilizando o reativo de Arnou como agente complexante dos polifenóis totais.

Uma amostra de extrato seco de alcachofra e três amostras de fitoterápicos encontradas no mercado foram analisadas.

Na amostra de extrato seco analisada pela metodologia da Farmacopéia Européia foi encontrado um teor de ácido clorogênico (0,16%) bem inferior ao mínimo estabelecido pela própria Farmacopéia de 0,8% para as folhas de alcachofra.

O método espectrofotométrico da Farmacopéia Brasileira mostrou-se inexato e com grande variação de resultados encontrados.

O método com o reativo de Arnou foi considerado linear, exato e repetitivo e de menor custo, rapidez e praticidade quando comparado com o método por CLAE da Farmacopéia Européia.

Palavras-chave: validação; controle químico da qualidade, extrato seco de alcachofra.

ABSTRACT

Artichoke (*Cynara scolymus* L.) is a vegetal species known since antiquity, praised for its choleric and diuretic actions. The pharmacologic and therapeutic actions of the artichoke leaves aren't exclusively related to cinarine, but also to a group of constituents with similar chemistry called polyphenols.

Some analytical methods are cited in literature to quantify the cinarine or chlorogenic acid content in the leaves of the artichoke or in pharmaceutical preparations. In this work, two official methodologies were used, one from European Pharmacopeia 5th edition (2006) and another from Brazilian Pharmacopeia 3rd edition (1977). A third methodology was developed and validated, using the Arnow reactive as complexant agent of the total polyphenols.

A sample of dry extract of artichoke and three samples of phytotherapics found in the market were analyzed.

The spectrophotometric method of the Brazilian Pharmacopeia was inexact and showed great variation of results.

The proposed method was considered linear, accurate, reproducible and cheaper, faster and more practical when compared with the European Pharmacopeia method.

Key words: validation; quality chemical control; artichoke dry extract.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Evolução da definição de “medicamento fitoterápico” no Brasil entre 1995 e 2004.....	24
Tabela 2 - Evolução da definição de “marcador” no Brasil entre 1995 e 2004....	25
Tabela 3 - Extratos de plantas mais vendidos na Alemanha em 1996.....	26
Tabela 4 - Medicamentos com princípios ativos de origem vegetal vendidos em farmácias no Brasil (1994).....	27
Tabela 5 - Soluções e absorvâncias medidas para a análise de cinarina pelo método da Farmacopéia Brasileira 3ª edição.....	60
Tabela 6 - Soluções e absorvâncias medidas para a análise de ácido clorogênico pelo método da Farmacopéia Brasileira 3ª edição.....	60
Tabela 7 - Resultados obtidos na análise de cinarina e ácido clorogênico pela metodologia de Arnow.....	64
Tabela 8 - Resultados obtidos na análise do extrato seco de alcachofra frente às retas de calibração de cinarina e ácido clorogênico pela metodologia de Arnow.....	64
Tabela 9 - Valores de absorvância da leitura do extrato seco de alcachofra em níveis de concentração de 60 a 120% pela metodologia de Arnow.....	66

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Classificação científica da alcachofra.....	29
Quadro 2 - Fitoterápico tradicional de alcachofra.....	33
Quadro 3 - Métodos oficiais de quantificação dos marcadores das folhas de alcachofra.....	35
Quadro 4 - Gradiente utilizado na metodologia.....	42
Quadro 5 - Concentração das soluções preparadas.....	44
Quadro 6 - Concentração das soluções das amostras.....	45
Quadro 7 - Concentração das soluções padrão de cinarina.....	49
Quadro 8 - Concentração das soluções padrão de ácido clorogênico.....	50
Quadro 9 - Concentração das soluções de extrato seco de alcachofra.....	51
Quadro 10 - Valores obtidos do cromatograma da figura 7.....	56
Quadro 11 - Valores obtidos do cromatograma da figura 8.....	56
Quadro 12 - Valores obtidos do cromatograma da figura 9.....	58
Quadro 13 - Valores obtidos do cromatograma da figura 10.....	58
Quadro 14 - Resultados obtidos na análise de extrato seco de alcachofra pela metodologia da Farmacopéia Brasileira 3ª edição.....	61
Quadro 15 - Resultados obtidos na análise do fitoterápico A pela metodologia da Farmacopéia Brasileira 3ª edição.....	62
Quadro 16 - Valores de absorvância da leitura do extrato seco de alcachofra obtidos no teste de exatidão.....	67
Quadro 17 - Percentual de recuperação do extrato seco de alcachofra obtidos no teste de exatidão.....	67
Quadro 18 - Teores obtidos pela aplicação da reta de calibração de extrato seco de alcachofra padronizado (100% 200 mg).....	68
Quadro 19 - Resultados da análise de teor de extrato de alcachofra utilizando-se a metodologia de análise espectrofotométrica de Arnow.....	69

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - <i>Cynara scolymus</i> L.	28
Figura 2 - <i>Cynara scolymus</i> L.	29
Figura 3 - Estrutura química da cinarina	31
Figura 4 - Fluxograma do preparo da curva de calibração	46
Figura 5 - Fluxograma do método espectrofotométrico de doseamento de cinarina em fitoterápicos à base de folhas de alcachofra da Farmacopéia Brasileira 3ª edição.....	47
Figura 6 - Fluxograma do procedimento de doseamento de polifenóis do extrato seco de alcachofra utilizando o reativo de Arnow.....	52
Figura 7 - Cromatograma obtido da solução padrão de ácido clorogênico (REPLICATA 1).....	55
Figura 8 - Cromatograma obtido da solução padrão de ácido clorogênico (REPLICATA 2).....	55
Figura 9 - Cromatograma obtido da solução do extrato seco de alcachofra (REPLICATA 1).....	57
Figura 10 - Cromatograma obtido da solução do extrato seco de alcachofra (REPLICATA 2).....	57
Figura 11 - Degradação do ácido clorogênico em decorrência da armazenagem da solução a 5-8°C.....	59
Figura 12 - Retas de calibração da análise de cinarina e ácido clorogênico pelo método da Farmacopéia Brasileira 3ª edição.....	60
Figura 13 - Retas de calibração da análise de cinarina (esquerda) e ácido clorogênico (direita) obtidas pela metodologia de Arnow.....	63
Figura 14 - Reta de calibração obtida da leitura do extrato seco de alcachofra em níveis de concentração de 60 a 120% pela metodologia de Arnow.....	65

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Categorias terapêuticas de fitoterápicos na Europa (1995).....	25
Gráfico 2 - Maiores produtores mundiais de alcachofra.....	30

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS OU SIGLAS.

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BPF: Boas Práticas de Fabricação

CLAE: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

DMSO: Dimetilsulfóxido

FB: Farmacopéia Brasileira

FIOCRUZ: Fundação Oswaldo Cruz

HPLC: High Performance Liquid Chromatography

INCQS: Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

OMS: Organização Mundial de Saúde

RSD: Relative Standard Deviation (desvio-padrão relativo)

SD: Standard Deviation (desvio-padrão)

SQR: Substância Química de Referência

UERJ: Universidade do Estado do Rio de Janeiro

UFRJ: Universidade Federal do Rio de Janeiro

USP: The United States Pharmacopoeia

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	vi
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	x
LISTA DE QUADROS.....	xi
LISTA DE FIGURAS.....	xii
LISTA DE GRÁFICOS.....	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS OU SIGLAS.....	xiv
1 INTRODUÇÃO.....	18
1.1 Breve Histórico do Uso de Plantas Medicinais.....	18
1.2 Medicamentos Fitoterápicos.....	20
1.3 Legislação de Fitoterápicos.....	21
1.4 Mercado de Fitoterápicos.....	25
1.5 Alcachofra (<i>Cynara scolymus</i> Linné).....	28
1.5.1 Princípios ativos.....	30
1.5.2 Ações farmacológicas	31
1.5.3 Efeitos colaterais.....	32
1.6 Fitoterápicos à base de Extrato Seco de Alcachofra.....	33
1.6.1 Doseamento dos princípios ativos.....	34
1.6.1.1 Métodos colorimétricos e espectrofotométricos.....	34
1.6.1.2 Métodos por cromatografia líquida.....	34
1.7 Validação de Métodos Analíticos.....	35
2 OBJETIVOS.....	39
3 METODOLOGIA.....	40
3.1 Metodologias Oficiais.....	40
3.1.1 Análise de Ácido Clorogênico por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – Monografia da Farmacopéia Européia 5ªedição 2006.....	40
3.1.1.1 Equipamentos e acessórios.....	40
3.1.1.2 Substância-padrão.....	40
3.1.1.3 Solventes.....	40
3.1.1.4 Amostra.....	41

3.1.1.5 Preparo da fase móvel.....	41
3.1.1.6 Preparo da solução padrão.....	41
3.1.1.7 Preparo da solução-amostra.....	41
3.1.1.8 Condições cromatográficas.....	41
3.1.1.9 Procedimento.....	42
3.1.2 Método Espectrofotométrico da Farmacopéia Brasileira 3ª edição.....	43
3.1.2.1 Equipamentos e acessórios.....	43
3.1.2.2 Substâncias-padrão.....	43
3.1.2.3 Amostras.....	43
3.1.2.4 Preparo do tampão acetato.....	43
3.1.2.5 Preparo da solução de hidróxido de sódio a 10%.....	43
3.1.2.6 Preparo da solução de nitrito de sódio a 40%.....	44
3.1.2.7 Preparo da solução padrão de cinarina.....	44
3.1.2.8 Preparo da solução padrão de ácido clorogênico.....	44
3.1.2.9 Preparo da solução da droga vegetal (extrato seco de alcachofra).....	44
3.1.2.10 Preparo das soluções da amostra.....	44
3.1.2.11 Preparo da curva de calibração de cinarina.....	45
3.1.2.12 Preparo da curva de calibração de ácido clorogênico.....	45
3.1.2.13 Procedimento.....	45
3.2 Desenvolvimento e Validação da Metodologia de Dosagem de polifenóis adaptada de Arnow.....	48
3.2.1 Desenvolvimento da metodologia analítica	48
3.2.1.1 Equipamentos e acessórios.....	48
3.2.1.2 Substâncias-padrão.....	48
3.2.1.3 Amostras.....	48
3.2.1.4 Preparo do reativo de Arnow.....	49
3.2.1.5 Preparo da reta de calibração padrão de cinarina.....	49
3.2.1.6 Preparo da reta de calibração padrão de ácido clorogênico.....	50
3.2.1.7 Preparo da reta de calibração padrão de extrato seco de alcachofra..	50
3.2.1.8 Preparo das soluções das amostras.....	51
3.2.1.9 Procedimento.....	51
3.2.2 Validação da metodologia analítica.....	53
3.2.2.1 Linearidade.....	53

3.2.2.2 Exatidão.....	53
3.2.2.3 Precisão.....	53
4 RESULTADOS.....	54
4.1 Resultados do método cromatográfico.....	54
4.2 Resultados do método espectrofotométrico da Farmacopéia Brasileira.....	60
4.3 Resultados do método desenvolvido.....	63
5 CONCLUSÕES.....	70
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71
ANEXO 1.....	80

1 INTRODUÇÃO

1.1 Breve Histórico do Uso de Plantas Medicinais

As plantas têm sido, desde a antiguidade, um recurso ao alcance do ser humano. Durante milênios, o homem empiricamente aprofundou seus conhecimentos a fim de melhoria nas condições de alimentação e cura de suas enfermidades, demonstrando uma estreita inter-relação entre o uso das plantas e sua evolução (MIGUEL & MIGUEL, 2004).

As primeiras descrições sobre plantas medicinais feitas pelo homem remontam às sagradas escrituras e ao papiro de Ebers. Este papiro foi descoberto e publicado pelo egiptólogo alemão Georg Ebers, sendo traduzido pela primeira vez, em 1890, por H. Joachin. Foi encontrado nas proximidades da casa mortuária de Ramsés II, porém pertence à época da XVIII dinastia. Enumera mais ou menos 100 doenças e descreve um grande número de drogas de natureza animal e vegetal (PINTO *et al.*, 2002).

Durante o período anterior à era cristã, que ficou conhecido como civilização grega, vários filósofos podem ser destacados por suas obras sobre história natural. Dentre esses, sobressaem-se Hipócrates (460-377 A.C.), considerado o pai da medicina moderna, que se caracterizou por tomar a natureza como guia na escolha dos remédios (*Natura medicatrix*) e Teofrasto (372 A.C.), discípulo de Aristóteles, que escreveu vários livros sobre a história das plantas (PINTO *et al.*, 2002).

No século I da era cristã destaca-se o eminente médico grego Dioscórides, autor de notável obra sobre medicina e farmácia intitulada “De Materia Medica” que serviu como guia de ensino nestas áreas até a época do Renascimento. No século seguinte sobressai Claudius Galeno (130-200 D.C.), farmacêutico e médico grego, autor de vários livros sobre medicina e farmácia. Suas formulações medicamentosas originaram a farmácia galênica (PINTO *et al.*, 2002).

As grandes navegações trouxeram a descoberta de novos continentes, legando ao mundo moderno um grande arsenal terapêutico de origem vegetal até hoje indispensável à medicina. As culturas americanas, especialmente a Inca, Asteca e Maya consignaram à civilização moderna a quina, a ipecacuanha, a coca e muitas outras drogas de valor terapêutico (PINTO *et al.*, 2002).

A partir da publicação, em 1673, da “*Histoire générale des Drogues*” pelo farmacêutico Pierre Pomet, o estudo das plantas entra no período científico ao

adotar, nessa obra e noutras que se seguiram, a classificação e a descrição taxonômica, ponto de partida essencial para uma identificação segura (CUNHA, 1999).

O desenvolvimento da química orgânica ocorreu paralelamente ao estudo de plantas, principalmente a partir do século XIX, quando foram registrados os primeiros estudos sobre plantas, com base científica. Isso resultou no isolamento de alguns princípios ativos de plantas, já então conhecidas como medicinais. Desses estudos foram obtidas algumas substâncias que se consagraram como princípios ativos eficazes, e que até hoje, são muito empregados no tratamento de certas doenças, a exemplo de morfina, quinina, cânfora e cocaína (MONTANARI, 2001).

O termo planta medicinal foi oficialmente reconhecido em 1978, durante a 31ª Assembléia da Organização Mundial da Saúde (OMS), sendo então definido como “todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semi-sintéticos” (VEIGA JUNIOR *et al.*, 2005).

De acordo com dados da OMS, cerca de 65 a 80% da população mundial (estimada em 6 bilhões de pessoas) não têm acesso ao atendimento primário de saúde, e recorre à medicina tradicional, especialmente às plantas medicinais, na procura do alívio para muitas doenças. A própria OMS não só reconhece, como também estimula o uso de plantas medicinais pela população nos países pobres, embora recomende cuidados especiais com esta prática, por intermédio da distribuição de manuais para orientar estudos científicos, que confirmem a segurança e a eficácia clínica das mesmas (CALIXTO, 2001).

A mesma OMS aponta que no ano 2020 a população mundial chegará a 7,5 bilhões de pessoas; destas, cerca de 75% viverão em países em desenvolvimento, os quais consomem hoje menos de 15% do mercado total de medicamentos, o que indica que esta população deverá depender, no futuro, mais ainda das plantas medicinais (MIGUEL & MIGUEL, 2004).

Considerando a finalidade da sua utilização e a forma de uso das plantas medicinais, estas podem ser classificadas como aquelas destinadas: 1) à obtenção de substâncias puras; 2) à produção de fitoterápicos; 3) à utilização na medicina caseira (DAVID & DAVID, 2002).

1.2 Medicamentos Fitoterápicos

De acordo com a definição proposta pela OMS, os medicamentos fitoterápicos são substâncias ativas presentes na planta como um todo, ou em parte dela, na forma de extrato total ou processado (AKERELE, 1993; WHO, 1993 *apud* CALIXTO, 2001).

Os medicamentos fitoterápicos são comercializados nas formas de líquidos, sólidos ou semi-sólidos obtidos de extratos padronizados, preparados normalmente por maceração ou destilação. Os extratos fluidos são normalmente extraídos com etanol e com água, ou através de mistura de etanol e água. Para os extratos sólidos e moles, os solventes são evaporados e processados até a *secura* (SIANI, 2003).

Para garantir a qualidade de um extrato é necessário isolar um componente desse extrato que seja quantificável, estabelecendo-se depois a variação admissível desse componente. Assim, os diversos lotes terão uma composição qualitativa e quantitativa semelhante (RIBEIRO, 2000).

A padronização de fitoterápicos é realizada em base a concentração de um princípio ativo único ou através de uma substância marcadora presente em um extrato concentrado. No caso da padronização, através de uma substância marcadora, assume-se que se a mesma está presente numa quantidade apropriada também todos os demais componentes necessários estão igualmente representados, assegurando-se, com isto, uma atividade farmacológica uniforme (DAVID *et al.*, 2004).

O controle de qualidade, a padronização e a estabilização dos medicamentos fitoterápicos constituem uma tarefa bastante complexa, embora atualmente possível, em função dos avanços crescentes alcançados nos métodos analíticos de alta resolução. Essas técnicas permitem o isolamento e a identificação dos constituintes químicos presentes em baixíssimas concentrações nas plantas (SIANI, 2003).

Apesar do vasto uso dos fitoterápicos em todo o mundo, poucos deles foram, até o momento, validados cientificamente visando à comprovação da eficácia clínica e à avaliação de sua segurança (SIANI, 2003).

1.3 Legislação de Fitoterápicos

A regulamentação e o registro de fitoterápicos pode variar de acordo com o país, sendo que encontram-se bem estabelecidos nos países europeus liderados pela Alemanha, onde se apresenta o sistema mais avançado de controle (CALIXTO, 2001).

No Brasil, a normatização de fitoterápicos teve uma notável evolução a partir de 1967, quando o então Serviço Nacional de Fiscalização de Medicina e Farmácia (SNFMM) publicou a Portaria nº 22, que estabeleceu instruções para o licenciamento da produção e comercialização de produtos fitoterápicos (LAMARÃO, 2003).

Pela Portaria SNFMM nº 22/67 o produto fitoterápico ficou entendido como: “a preparação obtida de droga de origem vegetal”. Incorporando em suas exigências, precisamente no relatório de petição de licença dados técnicos sobre a identificação da droga, a preparação fitoterápica, a fórmula, indicações terapêuticas, rótulo e bula. A existência de monografia na Farmacopéia Brasileira era um ponto favorável ao licenciamento. (BRASIL, 1967).

A partir de 1973 se iniciou uma fase de importante revisão da legislação sanitária, com a edição de leis e decretos que vigoram até os dias de hoje. Destacam-se as Leis nº 5.991/73 e a Lei nº 6.360/76, chamada Lei de Vigilância Sanitária (COSTA & ROZENFELD, 2000).

A Lei nº 5.991/73 dispõe sobre o controle sanitário do comércio de drogas, medicamento, insumos farmacêuticos e correlatos, em todo território nacional. Entre seus aspectos inovadores, destacam-se a explicitação da finalidade dos produtos de interesse da saúde, a necessidade de obediência a padrões de qualidade e o estabelecimento da colheita periódica de amostras para exames laboratoriais (BRASIL, 1973).

A Lei nº 6.360/76 dispõe sobre a vigilância sanitária a que ficam sujeitos os medicamentos, as drogas, os insumos farmacêuticos e correlatos, cosméticos, saneantes e outros produtos. Esta, atendendo a recomendação da OMS de 1967, incorporou o conceito de controle da qualidade como “conjunto de medidas destinadas a garantir, a qualquer momento, a produção de lotes de medicamentos e demais produtos abrangidos por esta Lei, que satisfaçam às normas de

atividade, pureza, eficácia e inocuidade”. Adotou ainda, o procedimento de registro do medicamento e não mais a licença, contingenciando às exigências da Lei, podendo ser cassada, a bem do interesse público, à vista de razões fundamentadas (BRASIL, 1976).

Entretanto, os produtos fitoterápicos estavam isentos de registro no Ministério da Saúde, de acordo com o Artigo 28 do Decreto nº 79.094, de 5 de janeiro de 1977 (BRASIL, 1977).

Em 1994, o Secretário de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, considerando a situação crítica em que se encontrava o mercado de fitoterápicos no país e a necessidade de revisão da Portaria SNFMF nº 22/67 estabeleceu, através da Portaria nº 123/SVS, de 19 de outubro de 1994, normas para o registro de produtos fitoterápicos. Conforme texto, esta portaria teria sua redação definitiva 30 (trinta) dias após a data de publicação, aceitando, neste período, sugestões de todos os setores da sociedade civil envolvidos (BRASIL, 1994).

Então, baseando-se parcialmente nas sugestões enviadas pela Associação dos Laboratórios Farmacêuticos Nacionais (Alanac), o Secretário Nacional de Vigilância Sanitária assinou a Portaria nº 6, de 31 de janeiro de 1995, com objetivo de instituir e normatizar o registro de produtos fitoterápicos junto ao Sistema de Vigilância Sanitária, modificando e introduzindo novas definições tais como: matéria-prima vegetal, droga vegetal, preparado fitoterápico intermediário, princípio ativo e marcadores (BRASIL, 1995a).

Em 6 de março de 1995 foi publicado a Portaria nº 16 pela qual, a Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária determinava que, todos os estabelecimentos produtores de medicamentos deveriam cumprir as diretrizes estabelecidas pelo “Guia de Boas Práticas de Fabricação para a Indústria Farmacêutica” aprovado pela Assembléia Mundial de Saúde (1965) e revisada em 1992 (BRASIL, 1995b).

Cinco anos depois deu-se a publicação da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 17, de 24 de fevereiro de 2000, que dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. A partir dessa resolução o produto fitoterápico como era tratado na Portaria SVS/MS nº 6/1995, recebeu a denominação de

medicamento fitoterápico e assim passou a ter a mesma atenção e determinadas exigências, tal qual um medicamento obtido por síntese (BRASIL, 2000).

A RDC nº 134, de 29 de maio de 2003, que dispõe sobre a adequação dos medicamentos já registrados, em seu artigo 18 diz que: “os medicamentos fitoterápicos registrados anteriormente a 31/01/1995, exceto os já enquadrados como fitoterápicos tradicionais, devem apresentar na primeira renovação de registro após a publicação desta Resolução:

I – avaliação de toxicidade pré-clínica do medicamento fitoterápico, compreendendo, no mínimo a determinação da DL50 em 2 espécies animais, uma das quais obrigatoriamente não-roedor (coelho, cachorro, gato, etc); toxicidade crônica (mínimo de 90 dias), quando se tratar de medicamento de uso freqüente, ou por período prolongado (+ de 2 semanas); toxicidade dérmica, no caso de produtos destinados a uso tópico.

II – relatórios de produção e controle de qualidade atualizados de acordo com a legislação vigente.” (BRASIL, 2003a).

A Resolução de Diretoria Colegiada – RDC nº 210, de 4 de agosto de 2003 atualizou o regulamento técnico de Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos (RDC nº 134, de 13 de julho de 2001). Neste regulamento são instituídas normas de inspeção e auto-inspeção, aos órgãos de Vigilância Sanitária e aos fabricantes de medicamentos, respectivamente. Além disso, são estabelecidos os procedimentos técnicos necessários à garantia da qualidade dos produtos. No que se refere ao controle de qualidade é estabelecido que os métodos analíticos, empregados nos ensaios de controle sejam validados (BRASIL, 2003b).

Entretanto, a RDC nº 17/2000 e o artigo 18 da RDC nº 134/2003 foram revogados pela publicação da Resolução (RDC) nº 48, de 16 de março de 2004, que dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. De acordo com esta Resolução, a partir de 16 de março de 2005, a ANVISA exigirá todos os resultados dos testes de controle de qualidade no ato do registro e na renovação do registro de um medicamento fitoterápico, com exceção daqueles registrados anteriormente a 31/01/1995 (BRASIL, 2004a).

A tabela 1 (página 24) e tabela 2 (página 25) mostram, respectivamente, a evolução das definições de “medicamento fitoterápico” e de “marcador” no Brasil, no período de 1995 à 2004.

Também em 2004 foram publicadas as seguintes Resoluções: RE nº 88/2004 – Lista de Referências Bibliográficas para Avaliação de Segurança e Eficácia de Fitoterápicos, a RE nº 89/2004 – Lista de Registro Simplificado de Fitoterápicos, a RE nº 90/2004 – Guia para a Realização de Estudos de Toxicidade Pré-Clínica de Fitoterápicos e a RE nº 91/2004 – Guia para Realização de Alterações, Inclusões, Notificações e Cancelamentos Pós-Registro de Fitoterápicos (BRASIL, 2004b; BRASIL, 2004c; BRASIL, 2004d; BRASIL, 2004e).

Tabela 1 - Evolução da definição de “medicamento fitoterápico” no Brasil entre 1995 e 2004.

Portaria nº 6/1995	RDC nº 17/2000	RDC nº 48/2004
<p>Produto fitoterápico: é todo medicamento obtido e elaborado, empregando-se exclusivamente matérias-primas ativas vegetais com finalidade profilática, curativa ou para fins de diagnósticos, com benefícios para o usuário. É caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade: é o produto final acabado, embalado e rotulado.</p>	<p>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. É caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade. Não se considera medicamento fitoterápico aquele que, na sua composição, inclua substâncias ativas isoladas, de qualquer origem, nem as associações destas com extratos vegetais.</p>	<p>Fitoterápico: medicamento obtido empregando-se exclusivamente matérias-primas ativas vegetais. É caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade. Sua eficácia e segurança é validada através de levantamentos etnofarmacológicos de utilização, documentações tecnocientíficas em publicações ou ensaios clínicos fase 3. Não se considera medicamento fitoterápico aquele que, na sua composição, inclua substâncias ativas isoladas, de qualquer origem, nem as associações destas com extratos vegetais.</p>

Tabela 2 – Evolução da definição de “marcador” no Brasil entre 1995 e 2004.

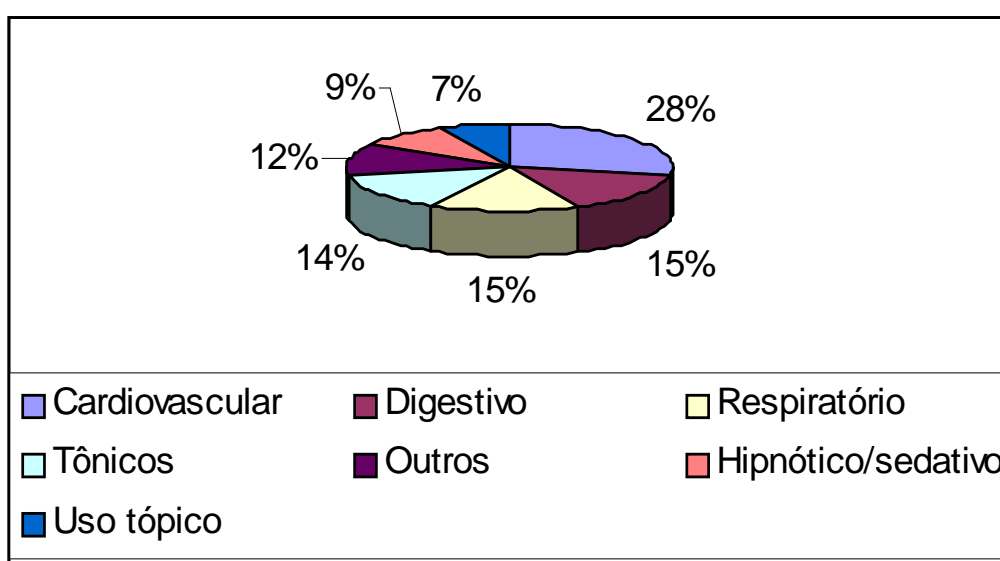
Portaria nº 6/1995	RDC nº 17/2000	RDC nº 48/2004
<p>Marcadores: são constituintes quimicamente definidos, presentes na matéria-prima vegetal, preferencialmente os próprios ativos, destinados ao controle de qualidade da matéria-prima vegetal, dos preparados fitoterápicos intermediários e dos produtos fitoterápicos.</p>	<p>Marcadores: componentes presentes na matéria-prima vegetal, preferencialmente o próprio princípio ativo, utilizados como referência no controle de qualidade da matéria-prima vegetal e dos medicamentos fitoterápicos.</p>	<p>Marcador: componente ou classe de compostos químicos (ex: alcalóides, flavonóides, ácidos graxos, etc.) presente na matéria-prima vegetal, idealmente o próprio princípio ativo, e preferencialmente que tenha correlação com o efeito terapêutico, que é utilizado como referência no controle de qualidade da matéria-prima vegetal e dos medicamentos fitoterápicos.</p>

1.4 Mercado de Fitoterápicos

O mercado mundial de fitoterápicos movimenta cerca de US\$ 22 bilhões por ano e vem seduzindo a cada ano mais adeptos nos países desenvolvidos. Em 2000, o setor faturou US\$ 8,5 bilhões na Europa e US\$ 6,6 bilhões nos EUA (PINTO *et al.*, 2002).

Na Europa, os medicamentos originados de plantas distribuem-se pelas principais categorias terapêuticas conforme gráfico 1, página 25 (GRÜNWALD, 1995, *apud* FERREIRA *et al.*, 1998).

Gráfico 1 - Categorias terapêuticas de fitoterápicos na Europa (1995).



Na Alemanha, maior mercado mundial de fitoterápicos, onde se consome metade dos extratos vegetais comercializados em toda a Europa (cerca de US\$ 3,5 bilhões ou US\$ 42,90 *per capita*, em valores de 1997), plantas medicinais são utilizadas pela população para tratar resfriados (66%), gripe (38%), doenças do trato digestivo ou intestinal (25%), dores de cabeça (25%), insônia (25%), úlcera estomacal (36%), nervosismo (21%), bronquite (15%), doenças de pele (15%), fadiga e exaustão (12%) (CALIXTO, 2000 *apud* VEIGA JUNIOR, 2005).

Os extratos de plantas prescritos com mais frequência na Alemanha estão representados na tabela 3, página 26.

Tabela 3 - Extratos de plantas mais vendidos na Alemanha em 1996.

Plantas	Indicação	Vendas (milhões em \$ DM*)
<i>Ginkgo biloba</i> L.	Insuficiência vascular cerebral periférica	461
<i>Aesculus hippocastanum</i> L.	Insuficiência venosa	114
<i>Crataegus</i> spp.	Cardiotônico	65
<i>Hypericum perforatum</i> L.	Depressão	59
<i>Urtica dioica</i> L.	Problemas urológicos	35
<i>Echinacea</i> sp.	Imunoestimulantes	34

* marco alemão

Fonte: HOSTETTMANN *et al.*, 2003.

Com uma receita anual de mais de um bilhão de dólares, os extratos padronizados das folhas do *Ginkgo biloba* L. representavam, em 2003, o fitoterápico mais vendido no mundo (HOSTETTMANN, 2003).

De acordo com o *Information Resources Inc.* em 2004, os dez fitoterápicos mais vendidos são: Ginseng, Alho, *Ginkgo biloba*, *Echinacea*, Erva-de-São-João, *Serenoa repens*, *Hidrastris canadensis/echinaceae*, Extrato de semente de *Vitex*, *Hidrastris canadensis*, *Oenothera biennis* (DAVID *et al.*, 2004).

Já o mercado brasileiro de medicamentos fitoterápicos não é facilmente mensurável, uma vez que esses produtos são comercializados informalmente como “remédios populares” (SIANI, 2003).

Em 1994, as vendas de medicamentos em farmácias no Brasil somaram US\$3.831 milhões, dos quais US\$ 212 milhões, em torno de 5,5% daquele valor, correspondiam a produtos contendo exclusivamente princípios ativos de origem vegetal. Como mostra a tabela 4 (página 27), os 25 principais medicamentos contendo apenas princípios ativos de origem vegetal venderam em farmácias US\$ 145 milhões (representando 68% do total de vendas desse tipo de produto) (FERREIRA *et al.*, 1998).

Tabela 4 - Medicamentos com princípios ativos de origem vegetal vendidos em farmácias no Brasil (1994).

Produto	Laboratório	US\$ mil (*)
VICK VAPORUB LEP.M	BIOLAB/SEARLE	14.742
HYDERGINE	SANDOZ	14.374
FLORATIL	MERCK S.A.	11.560
DIGOXINA	WELLCOME ZENECA	10.459
TEBONIN	BYK QUIMICA E FARM	8.399
VENOCUR TRIPLEX	KNOLL	8.391
TAMARINE	BARRENNE	7.379
TANAKAN	KNOLL	6.136
TRANSPULMIN	ASTA MEDICA	5.766
VALDA	CANONNE	5.687
EPAREMA	BYK QUIMICA E FARM	5.662
NATURETTI	MERRELL/LEPETIT	5.050
PASSIFLORINE	MILLET-ROUX	5.043
GIAMEBIL	HEBRON	3.823
METAMUCIL	BIOLAB/SEARLE	3.544
NICOTINELL TTS	BIOGALENICA	3.424
TANAKAN F	KNOLL	3.334
CHOPHYTOL	MILLET-ROUX	3.314
BUSCOPAN	BOEHRINGER ANGELI	3.195
LEGALON	BYK QUIMICA E FARM	3.110
POLYTAR	STIEFEL	2.753
PASALIX	MARJAN	2.421
AGIOLAX	BYK QUIMICA E FARM	2.409
PROSTEM PLUS	BALDACCI	2.396
HYDROCARE	ALLERGAN-LOK	2.336
Total		144.707

(*) Vendas em farmácia de medicamento contendo um ou mais princípios ativos de origem vegetal exclusivamente.

Segundo projeções do Instituto Brasileiro de Plantas Medicinais (IBPM), o mercado de fitoterápicos movimentou, atualmente, de US\$ 400 milhões a US\$ 500 milhões por ano no Brasil.

Os fitoterápicos registrados pela ANVISA em 2006 encontram-se listados no Anexo 1.

1.5 Alcachofra (*Cynara scolymus* Linné)

A alcachofra (figuras 1 e 2, páginas 28 e 29) é a denominação comum de uma planta da família Asteraceae, *Cynara scolymus* L. É uma espécie doméstica de cultivo, proveniente das espécies selvagens *Cynara cardunculus* e *Cynara horrida*, próprias da flora mediterrânea europeia (ALONSO, 1998).



Figura 1 – *Cynara scolymus* L. (<http://www.botanical.com>)



Figura 2 - *Cynara scolymus* L.
(www.hydra.usc.edu/langholz/images/artichoke%20plant.jpg)

Antigamente, foi muito cultivada nos jardins e palácios gregos. Na época do Renascimento seu cultivo se tornou bastante popular devido, principalmente, aos horticultores italianos (ALONSO, 1998).

Trata-se de uma planta perene, cuja classificação científica está descrita no quadro 1, página 29.

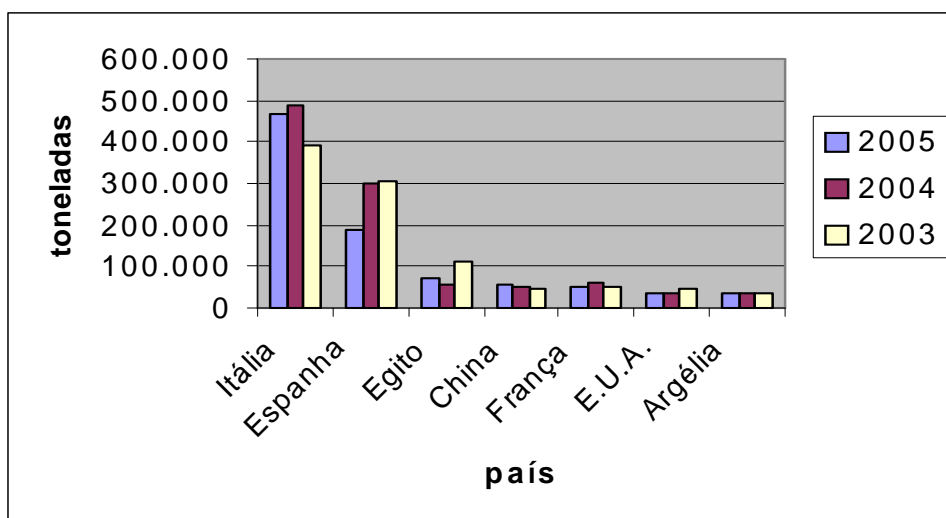
Quadro 1 – Classificação científica da alcachofra.

Classificação científica	
Reino:	Plantae
Divisão:	Magnoliophyta
Classe:	Magnoliopsida
Ordem:	Asterales
Família:	Asteraceae
Gênero:	<i>Cynara</i>
Espécie:	<i>Cynara scolymus</i> L.

De acordo com dados da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) relativo a 2004, a superfície cultivada de alcachofra no mundo é estimada em cerca de 122.000 hectares, com uma produção de cerca de 1,33 milhões de toneladas, cuja maior parte distribuída na Europa (cerca 85.000 hectares), seguida da África, América e Ásia com cerca de 12.000 hectares cada uma (MARTELLONI, 2005).

O maior produtor de alcachofra é a Itália, com 50.000 hectares cultivados e com uma produção de cerca de 500.000 toneladas (gráfico 2, página 30), o equivalente a 40% de toda a produção mundial (MARTELLONI, 2005).

Gráfico 2 – Maiores produtores mundiais de alcachofra.



Fonte: Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO)

1.5.1 Princípios ativos

As folhas da alcachofra se caracterizam pela sua composição em ácidos fenólicos (até 2%), como ácido caféico, ácido clorogênico e cinarina; flavonóides (0,1 a 1%), e óleos voláteis (CARVALHO, 2004).

A composição do extrato vegetal em ácidos fenólicos depende da forma de secagem das folhas e do seu processo extrativo, devido à possibilidade de hidrólise e trans-esterificações que podem ocorrer em meio aquoso. Assim, a cinarina, citada usualmente como o componente principal, pode não ser detectada (CARVALHO, 2004).

A cinarina (figura 3, pág. 31) foi isolada em estado puro pelos italianos PANIZZI e SCARPATI (1954) como sendo um diéster caféico do ácido quínico. Eles acreditavam na época ser o ácido 1,4-dicafeoilquínico mas constataram posteriormente (1965) que, na planta fresca existe o ácido 1,3-dicafeoilquínico, e que na extração aquosa por decocção ele se transforma no ácido 1,5-dicafeoilquínico ou cinarina (é este composto que é preparado por síntese).

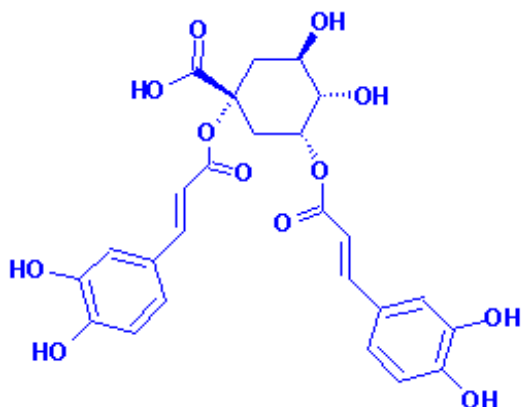


Figura 3 – Estrutura química da cinarina.

1.5.2 Ações farmacológicas

A alcachofra é uma das plantas medicinais mais antigas do mundo. As primeiras descrições sobre suas propriedades medicinais surgem a partir de Nilzaud em 1578 e de Bauderon em 1672. Nos inícios do século XVIII, diversos autores, entre eles Lemery, Alexandre e Lange-Murray, preconizaram o uso da alcachofra nos casos de icterícia e hidropisia (ALONSO, 1998).

No início do século XX, as pesquisas científicas sobre as propriedades da alcachofra prosseguem com um interesse renovado, principalmente após os estudos de Leclerc (1928) e Brel (1930) que evidenciaram as propriedades estimulantes do fígado dos extratos das folhas de *Cynara*, preconizadas pelos médicos do século XVIII. Todas as pesquisas imediatamente seguintes (Chabrol em 1931; Rosa, Begge e Dettori, Tixier, Eck e Desbordes em 1934, Schonholzer em 1939) se concentraram sobre as possíveis interferências bioquímicas entre os extratos de alcachofra e o metabolismo hepático do colesterol (MARTELLONI, 2005).

A atividade colerética tem sido atribuída principalmente aos derivados cafeoilquínicos. Estudos em animais indicaram atividade hipocolesterolêmica dos extratos purificados e brutos de alcachofra em ratos (LIETTI, 1977 *apud* CARVALHO, 2004).

De acordo com experiências realizadas em humanos, a administração diária entre 60 mg e 1500 mg de cinarina, ao longo de três meses, reduz as taxas plasmáticas de colesterol e triglicerídios (WOJICICKI *et al.*, 1981, *apud* ALONSO, 1998). Entretanto, existem trabalhos em que se coloca em dúvida a efetividade da cinarina em casos de hiperlipidemias familiares tipo IIa e IIb (HECKERS *et al.*, 1977 *apud* ALONSO, 1998).

Um ensaio clínico em pacientes com hiperlipoproteinemia em que a cinarina foi administrada 15 minutos antes das refeições na dose de 250 mg a 750 mg (dose diária), não mostrou efetividade após um período de 3 meses de tratamento (HECKERS *et al.*, 1977 *apud* CARVALHO, 2004).

Tem sido apontado, através de ensaios *in vitro*, um efeito protetor da necrose celular em culturas de hepatócitos tratadas com tetracloreto de carbono ou clorofórmio, atividade essa atribuída à presença de substâncias antioxidante nas folhas de alcachofra (ADZET *et al.*, 1987; GEBHARDT, 1977 *apud* CARVALHO, 2004).

1.5.3 Efeitos colaterais

Não foram observados efeitos colaterais nos 143 pacientes com hipercolesterolemia, tratados com placebo e com uma dose de 1.800 mg/dia de extrato seco de alcachofra por 6 semanas (ENGLISCH *et al.*, 2000).

A ocorrência de dermatite de contato alérgica foi relatada para alcachofra. Essa ação é atribuída à presença de lactonas sesquiterpênicas como a cinaropicrina (MEDING, 1983; QUIRCE *et al.*, 1996 *apud* CARVALHO, 2004).

Um estudo sobre a composição química e atividades biológicas das folhas de alcachofras cultivadas na cidade de Curitiba constatou que a cinaropicrina é o componente majoritário. Conforme os autores deste estudo, esta substância é considerada neurotóxica e este fato pode comprometer o uso da alcachofra cultivada no Brasil (NOLDIN *et al.*, 2003).

1.6 Fitoterápicos a base de extrato seco de alcachofra

O extrato seco de alcachofra é feito a partir das folhas frescas da planta e não das folhas secas, já que o processo de secagem resulta num produto final com teores inferiores de princípios ativos (SANTOS, 2000).

Na França, a legislação sobre medicamentos à base de plantas permite a utilização de folhas de alcachofra para chá, droga moída ou extratos hidroalcoólicos com as indicações *tradicionalmente usada como colerético e colagogo e tradicionalmente usada para promover a eliminação renal da água* (FRANCE, 1990 *apud* CARVALHO, 2004).

Na Alemanha, há comercialização da droga moída, suco fresco da planta e outras preparações com a indicação de colerético (DEUTSCHLAND, 1990 *apud* CARVALHO, 2004).

No Brasil, a alcachofra constitui uma das plantas com maior número de produtos farmacêuticos no mercado, indicados principalmente como coleréticos e colagogos (ORTEGA *et al.*, 1989; DEF 97/98 *apud* CARVALHO, 2004).

A partir da publicação da Resolução (RE) nº89, de 16 de março de 2004, a alcachofra passa a fazer parte da “Lista de Registro Simplificado de Fitoterápico” conforme quadro 2, página 33 (BRASIL, 2004c).

Quadro 2 – Fitoterápico tradicional de alcachofra^(*)

Nomenclatura botânica	<i>Cynara scolymus</i> L.
Nome popular	Alcachofra
Parte usada	Folhas
Padronização / Marcador	Cinarina ou derivados do ácido cafeoilquínico expressos em ácido clorogênico
Formas de uso	Tintura, extratos
Indicações / Ações terapêuticas	Colerético, colagogo
Dose diária	7,5 mg a 12,5 mg de cinarina ou derivados
Via de administração	Oral
Restrições de uso	Venda sem prescrição médica

* Extraído da “Lista de Registro Simplificado de Fitoterápicos” (RE nº89, de 16/03/04, da ANVISA).

1.6.1 Doseamento dos princípios ativos

1.6.1.1 Métodos colorimétricos e espectrofotométricos

NICHIFORESCO & COUCOU (1965) utilizaram o reativo de Arnow (nitrito de sódio e molibdato de sódio) no doseamento dos compostos polifenólicos em folhas de alcachofra. Este reativo é específico (coloração vermelha) para todos os compostos o-dihidroxifenóis, hoje mais conhecidos como polifenóis.

A Farmacopéia Brasileira 3ª edição (1977) descreve o método de doseamento da cinarina utilizando tampão acetato de sódio, nitrito de sódio e hidróxido de sódio como reagentes. O resultado é expresso em percentagem de cinarina. Entretanto, não há descrição do preparo da amostra nem de como se obter a curva de calibração do padrão (cinarina).

Pelo método da Farmacopéia Italiana (1991), a porcentagem de ácidos cafeoilquínicos é obtida através da precipitação com acetato de chumbo, dissolução em metanol e a determinação espectrofotométrica a 325 nm, com o resultado expresso como ácido clorogênico.

1.6.1.2 Métodos por cromatografia líquida

A análise quantitativa de cinarina presente em preparações farmacêuticas utilizando cromatografia líquida foi descrita pela primeira vez por BETTERO (1981).

MULINACCI *et al.* (2004) compararam o método espectrofotométrico de doseamento descrito na Farmacopéia Italiana com um método por cromatografia líquida de alta eficiência com auxílio de detector de arranjo de fotodiodos (CLAE/DAD). Eles concluíram que aplicando o método da Farmacopéia Italiana há uma superestimação do resultado em relação ao obtido pelo método CLAE/DAD para todas as amostras de extratos.

Até recentemente, não existia um método oficial de quantificação dos princípios ativos da alcachofra por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Em julho de 2006, a Farmacopéia Européia (5ª edição) editou em seu suplemento um método de quantificação de ácido clorogênico em folhas de alcachofra por CLAE.

O quadro 3, página 35, relaciona as metodologias oficiais para a quantificação dos marcadores das folhas de alcachofra.

Quadro 3 – Métodos oficiais de quantificação dos marcadores das folhas de alcachofra.

Farmacopéia	Método	Limites	Resultado expresso em
Farmacopéia Brasileira (1977)	espectrofotométrico	entre 0,7 e 1,5%	cinarina
Farmacopéia Italiana (1991)	espectrofotométrico	entre 4,5 e 6,0%	ácido clorogênico
Farmacopéia Européia (2006)	CLAE	0,8% no mín.	ácido clorogênico

1.7 Validação de métodos analíticos

O primeiro registro que se tem do uso oficial do termo validação encontra-se nas *Good Manufacturing Products – GMPs*, as quais foram publicadas na *Food and Drug Administration – FDA* (1978), porém, somente em 1980, recebeu a seguinte definição: “Validação é o estabelecimento da evidência documentada de que o desenvolvimento de um processo específico permite cumprir com o objetivo para o qual foi desenhado (VALENTINI, 2002).

No Brasil, com a publicação da Portaria SVS/MS nº 6/1995, a validação dos métodos utilizados no controle de qualidade de produtos fitoterápicos tornou-se uma exigência legal para o registro dos mesmos. Além dessa exigência legal, a validação dos métodos analíticos também faz parte das Boas Práticas de Fabricação (BRASIL, 1995a, BRASIL, 1995b).

Através da Resolução - RE nº 899, de 29 de maio de 2003, a ANVISA publicou o “Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos” que diz que, no caso de metodologia analítica não descrita em farmacopéias ou formulários oficiais, devidamente reconhecidos pela ANVISA, a metodologia será considerada validada, desde que sejam avaliados e observados os seguintes parâmetros (BRASIL, 2003b):

- especificidade e seletividade
- linearidade
- intervalo

- precisão
- limite de detecção (sensibilidade)
- limite de quantificação
- exatidão
- robustez

A ANVISA define estes termos e fornece diretrizes gerais para testá-los:

A **especificidade** é definida como a capacidade que o método possui de medir exatamente um composto em presença de outros componentes tais como impurezas, produtos de degradação e componentes da matriz. Para análise quantitativa (teor) e análise de impurezas, a especificidade pode ser determinada pela comparação dos resultados obtidos de amostras (fármaco ou medicamento) contaminadas com quantidades apropriadas de impurezas ou excipientes e amostras não contaminadas, para demonstrar que o resultado do teste não é afetado por esses materiais. Quando a impureza ou o padrão do produto de degradação não estiverem disponíveis, pode-se comparar os resultados do teste das amostras contendo impurezas ou produtos de degradação com os resultados de um segundo procedimento bem caracterizado (por exemplo metodologia farmacopéica ou outro procedimento validado). Em métodos cromatográficos, deve-se tomar as precauções necessárias para garantir a pureza dos picos cromatográficos.

A **linearidade** é a capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado. Recomenda-se que a linearidade seja determinada pela análise de, no mínimo, cinco concentrações diferentes. No caso da determinação quantitativa do analito em matérias-primas ou em formas farmacêuticas, os limites percentuais do teor do analito que devem estar contidos no intervalo de linearidade devem ser de 80 a 120% da concentração teórica do teste. Se houver relação linear aparente após exame visual do gráfico, os resultados dos testes deverão ser tratados por métodos estatísticos apropriados para determinação do coeficiente de correlação, intersecção com o eixo Y, coeficiente angular, soma residual dos quadrados

mínimos da regressão linear e desvio padrão relativo. Se não houver relação linear, realizar transformação matemática. O critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação (r) deve ser $\geq 0,99$. Deve-se apresentar as curvas obtidas (experimental e a resultante do tratamento matemático).

A **faixa de concentração de trabalho** ou **intervalo** é a faixa entre os limites de quantificação superior e inferior de um método analítico. Normalmente é derivado do estudo de linearidade e depende da aplicação pretendida do método. Para o doseamento de substâncias ativas, a faixa de trabalho deve incluir, no mínimo, os limites de 80 a 120% da concentração esperada. É estabelecido pela confirmação de que o método apresenta exatidão, precisão e linearidade adequados quando aplicados a amostras contendo quantidades de substâncias dentro do intervalo especificado.

A **precisão** é a avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra. É expressa pelos ensaios de repetitividade, precisão intermediária e reprodutibilidade. A **repetitividade** (precisão intra-corrída) se refere à concordância entre os resultados dentro de um curto período de tempo com o mesmo analista e mesma instrumentação. A repetitividade do método é verificada por, no mínimo, 9 (nove) determinações, contemplando o intervalo linear do método, ou seja, 3 (três) concentrações, baixa, média e alta, com 3 (três) réplicas cada ou mínimo de 6 (seis) determinações a 100% da concentração do teste. A **precisão intermediária** (precisão inter-corrídas) se refere à concordância entre os resultados do mesmo laboratório, mas obtidos em dias diferentes, com analistas diferentes e/ou equipamentos diferentes. Recomenda-se um mínimo de 2 (dois) dias diferentes com analistas diferentes. A **reprodutibilidade** (precisão inter-laboratorial) se refere à concordância entre os resultados obtidos em laboratórios diferentes como em estudos colaborativos, geralmente aplicados à padronização de metodologia analítica, por exemplo, para inclusão de metodologias em farmacopéias. A precisão de um método analítico pode ser expressa como o desvio padrão ou desvio padrão relativo (coeficiente de variação) de uma série de medidas. O valor máximo aceitável do desvio padrão relativo deve ser definido de acordo com a metodologia empregada, a

concentração do analito na amostra, o tipo de matriz e a finalidade do método, não se admitindo valores superiores a 5%.

A **exatidão** é definida como a proximidade dos resultados obtidos pelo método em estudo em relação ao valor verdadeiro. A exatidão é calculada como porcentagem de recuperação da quantidade conhecida do analito adicionado à amostra, ou como a diferença porcentual entre as médias e o valor verdadeiro aceito, acrescida dos intervalos de confiança. A exatidão do método deve ser determinada após o estabelecimento da linearidade, do intervalo linear e da especificidade do mesmo, sendo verificada a partir de, no mínimo, 9 (nove) determinações contemplando o intervalo linear do procedimento, ou seja, 3 (três) concentrações, baixa, média e alta, com 3 (três) réplicas cada. A exatidão é expressa pela relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a concentração teórica correspondente.

A **robustez** de um método analítico é a medida de sua capacidade em resistir a pequenas e deliberadas variações dos parâmetros analíticos. Indica sua confiança durante o uso normal. Durante o desenvolvimento da metodologia, deve-se considerar a avaliação da robustez. Constatando-se a susceptibilidade do método à variações nas condições analíticas, estas deverão ser controladas e precauções devem ser incluídas no procedimento. No caso de um método analítico por cromatografia líquida, os fatores que devem ser considerados são: variação do pH da fase móvel, variação na composição da fase móvel, diferentes lotes ou fabricantes de colunas, temperatura e fluxo da fase móvel.

Essas diretrizes gerais, embora visem os medicamentos contendo substâncias vegetais isoladas ou de síntese, sozinhas ou em associação, são aplicáveis também, por definição, aos fitoterápicos. Para estes, no entanto, o estabelecimento de parâmetros de aceitação do método deve levar em consideração as peculiaridades dos fitoterápicos enquanto matrizes biológicas complexas (PETRY, 1999).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Desenvolver e validar metodologia analítica por espectrofotometria no UV/VIS destinada ao doseamento de polifenóis em extrato seco de alcachofra, conforme controle de qualidade estabelecido na resolução RDC nº 48, de 16 de março de 2004, da ANVISA.

2.2 Objetivos Específicos

- a) Desenvolver metodologia analítica por espectrofotometria no UV/VIS para quantificação de ácido clorogênico e extrato seco de alcachofra em produtos fitoterápicos;
- b) Validação da metodologia analítica por espectrofotometria no UV/VIS;
- c) Aplicação da metodologia validada em outros fitoterápicos a base de extrato seco de alcachofra.

3 METODOLOGIA

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ).

3.1 Metodologias oficiais

3.1.1 Análise de Ácido Clorogênico por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – Monografia da Farmacopéia Européia 5ªedição 2006.

3.1.1.1 Equipamentos e acessórios

- Cromatógrafo líquido Shimadzu modelo LC-20AT, com injetor automático e detector com arranjo de fotodiodos modelo SPD-M20A;
- Coluna de fase reversa ODS Hypersil (marca Thermo) 250 x 4,6 mm (5 μ), lote 7465, n° de série 0951309T;
- Balança analítica Mettler Toledo, modelo XS205, com incerteza de $\pm 0,01$ mg, calibrada em 7/08/2006;
- Filtro Chromafil RC-45/25 (celulose regenerada), marca Macherey-Nagel, de 0,45 μ m de poro, lote: 5346;
- Membrana filtrante para a fase móvel RC55 (celulose regenerada), marca SeS, de 0,45 μ m de poro, lote: FC0230-1.

3.1.1.2 Substância-padrão

- A substância-padrão primária utilizada foi o ácido clorogênico, fabricado por SIGMA-ALDRICH, teor: 98%.

3.1.1.3 Solventes

- Acetonitrila UV/HPLC, marca VETEC, lote: 0507026;
- Ácido fosfórico P.A., marca VETEC, lote: 0505805;
- Metanol UV/HPLC, marca VETEC, lote: 0506186;
- Água Milli-Q.

3.1.1.4 Amostra

A droga vegetal testada consistia em um extrato seco de alcachofra padronizado a 1% em cinarina, lote: 82.209, fornecida pelo Laboratório Farmacêutico Millet Roux.

3.1.1.5 Preparo da fase móvel

Solução (A): Numa proveta de 1000 mL, foram misturados 995 mL de água Milli-Q com 5 mL de ácido fosfórico P.A. Solução (B): Numa proveta de 1000 mL, foram misturados 995 mL de acetonitrila UV/HPLC com 5 mL de ácido fosfórico P.A. As duas soluções foram filtradas através de membrana de 0,45 µm.

3.1.1.6 Preparo da solução padrão

A solução padrão foi preparada pesando cuidadosamente, cerca de 1,0 mg de ácido clorogênico. Em seguida transferindo para balão volumétrico de 20,0 mL e completando o volume com metanol. Após homogeneização, transferiu-se 10,0 mL dessa solução para um balão volumétrico de 20,0 mL e completou-se o volume com água Milli-Q. Uma pequena quantidade da solução foi filtrada através de membrana de 0,45 µm antes de ser injetada. Concentração final da solução: 0,025 mg/ mL = 25 µg/mL.

3.1.1.7 Preparo da solução-amostra

Pesou-se 0,500 g de extrato seco de alcachofra e transferiu-se para balão volumétrico de 200,0 mL. Adicionou-se 50,0 mL de metanol levando ao banho de ultra-som por aproximadamente 20 minutos e completando o volume com água Milli-Q após a solução ter atingido a temperatura ambiente. Finalmente, uma pequena quantidade da solução foi filtrada através de membrana de 0,45µm antes de ser injetada. Concentração final da solução: 0,0025 g/mL = 2,5 mg/mL.

3.1.1.8 Condições cromatográficas

- Temperatura da coluna: 40°C;
- Fluxo: 1,2 mL/min;
- Comprimento de onda: 330 nm;
- volume injetado: 25 µL;

- Fase móvel: mistura das soluções (A) (água:ácido fosfórico) e (B) (acetonitrila:ácido fosfórico) de acordo com o gradiente apresentado no quadro 4, página 42.

Quadro 4 - Gradiente utilizado na metodologia.

Tempo (min.)	Fase A (% V/V)	Fase B (%V/V)
0 - 1	92	8
1 - 20	92→75	8→25
20 - 33	75	25
33 - 35	75→0	25→100
35 - 37	0→92	100→8
37 - 47	92	8

3.1.1.9 Procedimento

Foram injetados, em duplicata, 25 µL de cada preparação (padrão e amostra), sendo realizadas duas preparações de amostra, tanto do padrão quanto da solução da amostra.

O cálculo de teor de ácido clorogênico na solução-amostra (extrato seco de alcachofra) deve ser executado a partir da comparação da média das áreas dos cromatogramas da solução-padrão com a área de cada replicata da solução-amostra. Sendo a porcentagem de ácido clorogênico calculada para cada solução-amostra pela expressão:

$$\% \text{ ácido clorogênico} = \frac{A_{am} \times P_p \times T_p \times F_d}{A_p \times P_{am}}$$

Onde,

A_{am} = área do pico do ácido clorogênico no cromatograma obtido com a solução da amostra;

P_p = peso do padrão utilizado na preparação da solução-padrão, em gramas;

T_p = teor do padrão (%);

A_p = média das áreas dos picos do ácido clorogênico no cromatograma obtido com a solução padrão;

P_{am} = peso da droga vegetal (extrato seco de alcachofra) utilizado na preparação da solução-amostra, em gramas;

F_d = fator de diluição.

3.1.2 Método Espectrofotométrico da Farmacopéia Brasileira 3ª edição

3.1.2.1 Equipamentos e acessórios

- Espectrofotômetro Biospectro SP220 (India);
- Balança analítica, marca GEHAKA, modelo AG 200, com incerteza de $\pm 0,1$ mg.

3.1.2.2 Substâncias-padrão

- cinarina, teor: 99,96% fornecida pelo Laboratório Millet Roux;
- ácido clorogênico, marca SIGMA-ALDRICH, teor: 98%.

3.1.2.3 Amostras

• A droga vegetal usada para a curva de calibração foi o extrato seco de alcachofra (ESA) padronizado a 1,0% em cinarina (lote: 82.209) fornecida pelo Laboratório Farmacêutico Millet Roux.

• A amostra de fitoterápico na forma de solução oral (fitoterápico A) foi obtida no mercado, lote: 1004060. De acordo com a bula, cada mL da solução oral contém 0,225 g de extrato seco de alcachofra padronizado a 1,0% em cinarina, o que corresponde a 2,25 mg de cinarina.

3.1.2.4 Preparo do tampão acetato

O tampão foi preparado dissolvendo com leve aquecimento 50 g de acetato de sódio em 50 mL de ácido acético a 10%. Transferiu-se para balão volumétrico de 100 mL e após resfriamento completou-se o volume com a mesma solução de ácido acético.

3.1.2.5 Preparo da solução de hidróxido de sódio a 10%

Foi preparada dissolvendo com leve agitação cerca de 5 g de lentilhas de NaOH em 100 mL de água destilada.

3.1.2.6 Preparo da solução de nitrito de sódio a 40%

Foi preparada dissolvendo com leve agitação cerca de 4 g de NaNO_2 em 10 mL de água destilada.

3.1.2.7 Preparo da solução padrão de cinarina

A solução padrão foi preparada pesando, cuidadosamente, 0,010 g de cinarina. Em seguida transferindo para balão volumétrico de 200,0 mL e completando o volume com água purificada. Concentração final da solução: $0,05 \text{ mg/mL} = 50 \text{ }\mu\text{g/mL} = 0,005\%$.

3.1.2.8 Preparo da solução padrão de ácido clorogênico

A solução padrão foi preparada pesando, cuidadosamente, 5,0 mg de ácido clorogênico. Em seguida transferindo para balão volumétrico de 50,0 mL e completando o volume com metanol. Após homogeneização, transferiu-se 5,0 mL dessa solução para um balão volumétrico de 20,0 mL, adicionou-se 5 mL de metanol e completou-se o volume com água destilada. Concentração final da solução: $0,025 \text{ mg/mL} = 25 \text{ }\mu\text{g/mL} = 0,0025\%$

3.1.2.9 Preparo da solução da droga vegetal (extrato seco de alcachofra)

Duas soluções foram preparadas pesando-se, cuidadosamente, 200,0 mg da droga vegetal. Em seguida, uma massa foi transferida para balão volumétrico de 500,0 mL e a outra para balão volumétrico de 100,0 mL, completando-se o volume de ambos com água destilada. (quadro 5, página 44).

Quadro 5 – Concentração das soluções preparadas

Solução	Massas pesadas da droga vegetal	Volume de diluição	Concentração final de extrato seco
ESA1	201 mg	500 mL	400 $\mu\text{g/mL}$
ESA2	200 mg	100 mL	2000 $\mu\text{g/mL}$

3.1.2.10 Preparo das soluções da amostra

Com a ajuda de pipetas volumétricas, foram transferidas duas alíquotas da amostra (fitoterápico A) para balões volumétricos de 500,0 mL e completando-se o volume de ambos com água destilada (quadro 6, página 45).

Quadro 6 – Concentração das soluções da amostra

Alíquota da amostra	Volume de diluição	Extrato seco de alcachofra correspondente	Quantidade de cinarina correspondente na solução-mãe
1,0 mL	500 mL	225 mg	2250 µg/mL
2,0 mL	500 mL	450 mg	4500 µg/mL

3.1.2.11 Preparo da curva de calibração de cinarina

Foram feitas 4 diluições a partir da solução inicial de 50 µg/mL, obtendo-se as seguintes concentrações: 2,5 µg/mL; 5 µg/mL; 10 µg/mL e 25 µg/mL.

As absorbâncias das cinco soluções padrão foram medidas utilizando o fluxograma mostrado na figura 4, página 46. A solução branco foi utilizada para zerar o espectrofotômetro. A absorbância resultante é a absorbância da solução A menos a absorbância da solução C1.

3.1.2.12 Preparo da curva de calibração de ácido clorogênico

Foram feitas 4 diluições a partir da solução inicial de 25 µg/mL, obtendo-se as seguintes concentrações: 1,25 µg/mL; 2,5 µg/mL; 5 µg/mL e 10 µg/mL.

As absorbâncias das cinco soluções padrão foram medidas utilizando o fluxograma mostrado na figura 4, página 46. A solução branco foi utilizada para zerar o espectrofotômetro. A absorbância resultante é a absorbância da solução A menos a absorbância da solução C1.

3.1.2.13 Procedimento

As absorbâncias das duas soluções-mãe do fitoterápico A foram medidas a 505 nm segundo o fluxograma mostrado na figura 5, página 47. A solução branco foi utilizada para zerar o espectrofotômetro. As absorbâncias dos tubos 1, 2 e 3 foram diminuídas das absorbâncias dos tubos C1, C2 e C3, respectivamente. A quantidade de cinarina presente em cada uma das soluções do fitoterápico A foi encontrada utilizando a curva de calibração. O valor por 1,0 mL da solução-amostra foi calculado utilizando a expressão:

$$\mu\text{g/mL} \times \text{fator de diluição} = \% \text{ peso/volume}$$

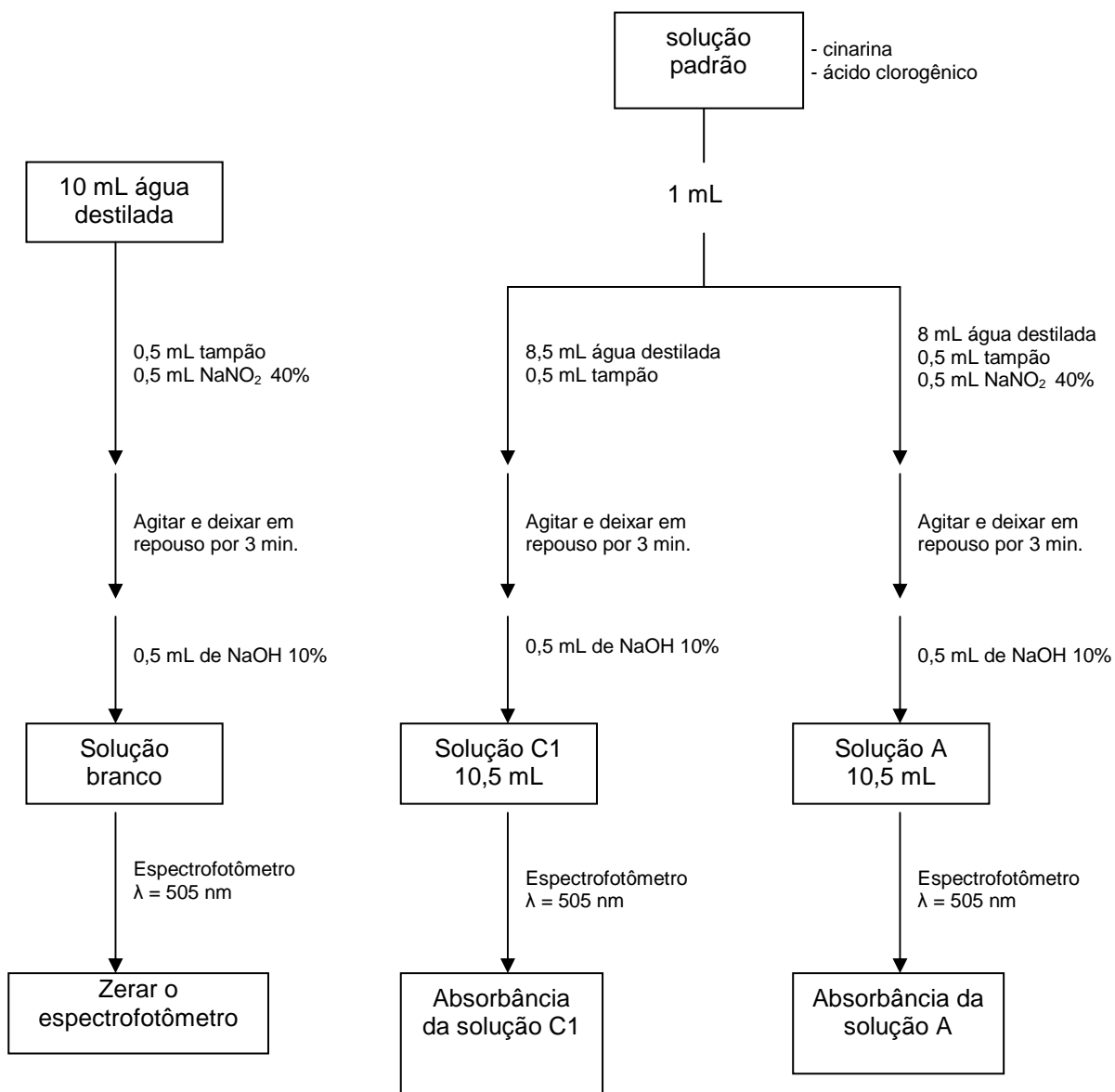


Figura 4 – Fluxograma do preparo da curva de calibração

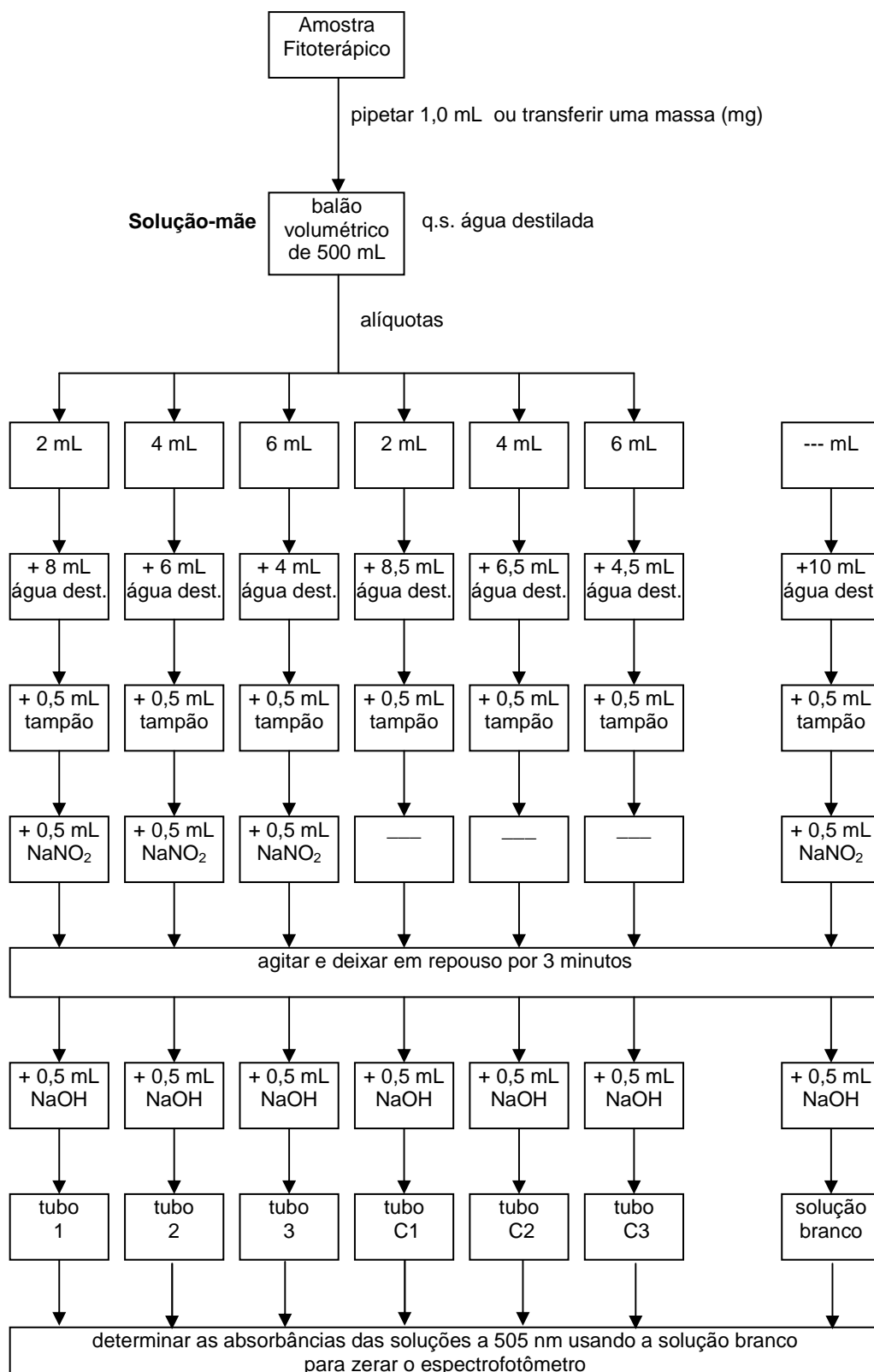


Figura 5 – Fluxograma do método espectrofotométrico de doseamento de cinarina em fitoterápicos à base de folhas de alcachofra da Farmacopéia Brasileira 3ª ed.

3.2 Desenvolvimento e Validação da Metodologia de Dosagem de Polifenóis adaptada de Arnow.

3.2.1 Desenvolvimento da metodologia analítica

A metodologia de análise de doseamento de polifenóis em fitoterápicos à base de folhas de alcachofra foi selecionada a partir de periódicos e artigos científicos (NICHIFORESCO & COUCOU, 1965; RODRIGUEZ, 1966). Baseia-se na quantificação dos polifenóis por espectrofotometria no UV/VIS utilizando o reativo de Arnow (nitrito/molibdato de sódio). Sendo que três curvas de calibração foram construídas: com cinarina (SQR), com ácido clorogênico (SQR) e com uma amostra de extrato seco de alcachofra (a mesma que foi usada na metodologia por CLAE).

3.2.1.1 Equipamentos e acessórios

- Espectrofotômetro Biospectro SP220;
- Balança analítica, marca GEHAKA, modelo AG 200, com incerteza de \pm 0,1 mg.

3.2.1.2 Substâncias-padrão

- ácido clorogênico, marca SIGMA-ALDRICH, teor: 98%. Cinarina, teor, 99,96% fornecida pelo Laboratório Millet Roux.

3.2.1.3 Amostras

A droga vegetal usada para a curva de calibração foi o extrato seco de alcachofra (ESA) padronizado a 1,0% em cinarina (lote: 82.209) fornecida pelo Laboratório Millet Roux.

Três amostras de fitoterápicos à base de alcachofra de empresas distintas foram adquiridas no mercado, com as seguintes características:

- Fitoterápico A - na forma de solução oral, lote: 10040601. De acordo com a bula, cada mL da solução oral contém 0,225 g de extrato seco de alcachofra padronizado a 1% em cinarina, o que corresponde a 2,25 mg de cinarina.

- Fitoterápico B - na forma de cápsulas, lote: B04J4268. De acordo com a bula, cada cápsula contém 350 mg de extrato seco de alcachofra padronizado a 0,5% em cinarina, o que corresponde a 1,75 mg de cinarina.

- Fitoterápico C - na forma de cápsulas, lote: 947786. De acordo com a bula, cada cápsula contém 300 mg de extrato seco de alcachofra padronizado a 0,45-0,55% em cinarina, o que corresponde a 1,35-1,65 mg de cinarina.

3.2.1.4 Preparo do reativo de Arnow

10 g de nitrito de sódio (grau P.A.) e 10 g de molibdato de sódio (grau P.A.) foram dissolvidos em água destilada, completando-se o volume para 100,0 mL.

3.2.1.5 Preparo da reta de calibração padrão de cinarina

Cinco soluções padrão foram preparadas pesando cuidadosamente, cerca de 10,0 mg; 15,0 mg; 18,0 mg; 22,0 mg e 26,0 mg de cinarina. Em seguida transferindo cada massa para balão volumétrico de 1000,0 mL, adicionando 500 mL de uma solução de dimetilsulfóxido (DMSO)/Água 10/90, levando ao banho de ultra-som por 30 minutos e completando o volume com água ultra-pura após a solução ter atingido a temperatura ambiente. De forma a não se observar valores de absorvância muito baixos, o que comprometeria a análise realizada, a reta de calibração foi feita em triplicata variando-se de 100 a 260% do valor teórico de cinarina que porventura contivesse a amostra (quadro 7, página 49).

Quadro 7 - Concentração das soluções padrão de cinarina.

Massas pesadas de cinarina (mg)	Concentração final de análise (µg/mL)	Percentual de ativo (%)
10,0	10	100
15,0	15	150
18,0	18	180
22,0	22	220
26,0	26	260

3.2.1.6 Preparo da reta de calibração padrão de ácido clorogênico

Cinco soluções padrão foram preparadas pesando, cuidadosamente, 10,0 mg; 12,5 mg; 15,0 mg; 20,0 mg e 22,0 mg de ácido clorogênico. Em seguida transferindo cada massa para balão volumétrico de 1000,0 mL, adicionando 500 mL de uma solução de dimetilsulfóxido (DMSO)/Água 10/90, levando ao banho de ultra-som por 30 minutos e completando o volume com água ultra-pura após a solução ter atingido a temperatura ambiente. A mesma situação observada para a cinarina se refletiu na análise do ácido clorogênico, trabalhando-se com valores de 100 a 220% de ácido clorogênico, considerando-se a presença de cerca de 1,0% desta substância na droga vegetal (quadro 8, página 50).

Quadro 8 - Concentração das soluções padrão de ácido clorogênico.

Massas pesadas de ácido clorogênico (mg)	Concentração final de análise ($\mu\text{g/mL}$)	Percentual de ativo (%)
10,0	10,0	100
12,5	12,5	125
15,0	15,0	150
20,0	20,0	200
22,0	22,0	220

3.2.1.7 Preparo da reta de calibração padrão de extrato seco de alcachofra

A solução-mãe foi preparada pesando o equivalente a 200,0 mg de extrato seco de alcachofra (padronizado a 1,0% em cinarina) e transferindo para balão volumétrico de 200,0 mL, dissolvendo com 150 mL de uma solução de dimetilsulfóxido (DMSO)/Água 10/90 e colocando no banho de ultra-som por 30 minutos. Completou-se o volume com água destilada até a marca requerida. Concentração da solução-mãe: 1,0 mg/mL em extrato seco e 0,01 mg/mL (10 $\mu\text{g/mL}$) de cinarina.

Foram feitas diluições de forma a se obter cinco soluções com concentrações variando entre 60 a 140% acordo com o quadro 9, página 51.

Quadro 9 - Concentrações das soluções de extrato seco de alcachofra.

Massa pesadas de extrato em mg.	Concentração final de análise em µg/mL	Percentual de ativo (%)
120	120	60
160	160	80
200	200	100
240	240	120
280	280	140

3.2.1.8 Preparo das soluções das amostras

a) Fitoterápico A

Transferiu-se, com auxílio de uma pipeta volumétrica, 1,0 mL (2,25 mg de cinarina) do fitoterápico para balão volumétrico de 200,0 mL. Adicionou-se 150 mL de solução DMSO/Água 10/90 colocando no banho ultra-som por aproximadamente 30 minutos. Após resfriamento, completou-se o volume do balão com água destilada até a marca requerida. Foram preparadas triplicatas da solução-mãe. Concentração da solução: 11,25 µg/mL em cinarina.

b) Fitoterápico B

Inicialmente foi determinado o peso médio do conteúdo de 20 cápsulas que, em seguida, foram misturados num becker.

A solução-mãe foi preparada pesando o equivalente a 200,0 mg de extrato seco de alcachofra e transferindo para balão volumétrico de 200,0 mL, dissolvendo com 150 mL da solução DMSO/Água 10/90 e colocando no banho de ultra-som por aproximadamente 30 minutos. Após resfriamento, completou-se o volume com água destilada. A solução foi filtrada através de papel de filtro comum. Foram preparadas triplicatas da solução-mãe. Concentração da solução-mãe: 1,0 mg/mL de extrato seco (10,0 µg/mL em cinarina).

c) Fitoterápico C

Preparada da mesma forma que o fitoterápico B.

Concentração da solução-mãe: 1,0 mg/mL de extrato (10,0 µg/mL em cinarina).

3.2.1.9 Procedimento

As absorbâncias das soluções foram medidas utilizando o fluxograma mostrado na figura 6, página 52.

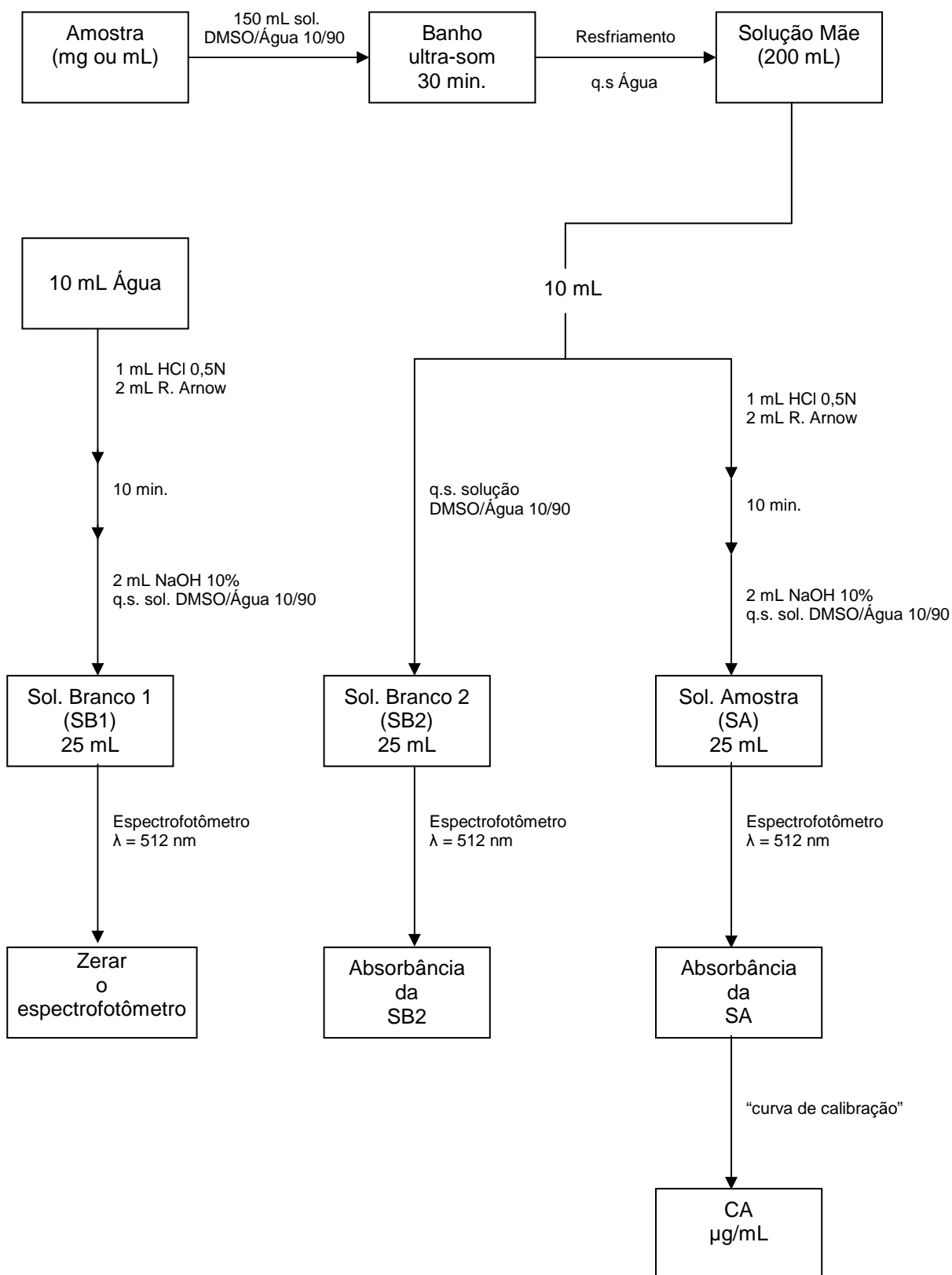


Figura 6 – Fluxograma do procedimento de doseamento de polifenóis do extrato seco de alcachofra utilizando o reativo de Arnow.

3.2.2 Validação da metodologia analítica

3.2.2.1 Linearidade

A linearidade de um método analítico é a capacidade de demonstrar que as respostas obtidas são diretamente proporcionais à concentração da substância de interesse, em diferentes concentrações dentro de determinada faixa. Um mínimo de 5 (cinco) concentrações é recomendado pela Resolução (RE) nº 899 da ANVISA (BRASIL, 2003c).

A linearidade do método desenvolvido foi analisada frente às três substâncias: cinarina, ácido clorogênico e extrato seco de alcachofra.

A partir dos valores das absorvâncias encontrados, foi executado o tratamento estatístico e os resultados obtidos analisados, sendo apresentados no Capítulo 4 - Resultados, item 4.3 desta dissertação.

3.2.2.2 Exatidão

Na exatidão do método são calculados percentuais de recuperação do analito de uma matriz contendo os excipientes utilizados na formulação estudada em 3 (três) níveis, 80, 100 e 120%.

3.2.2.3 Precisão

Para determinação da precisão do método foi utilizado um produto encontrado no mercado com uma fórmula idêntica que a utilizada na determinação da exatidão. Neste trabalho, a precisão foi expressa pelo ensaio da repetitividade (precisão intra-corrída).

Para verificação da repetitividade foram feitas 6 (seis) determinações da amostra na concentração de 100% e o desvio padrão relativo (RSD) foi calculado, este não deverá ser superior a 5% para que o método seja considerado repetitivo segundo a Resolução (RE) nº 899 da ANVISA (BRASIL, 2003c).

4 RESULTADOS

4.1 Resultados do método cromatográfico

Diferentes métodos cromatográficos têm sido propostos para a análise de dos marcadores da alcachofra, especificamente, a cinarina e o ácido clorogênico (BETTERO, 1981; MULINACCI et al., 2004; ROMANI et al., 2006). Na maioria dos casos, os diferentes sistemas cromatográficos utilizados se mostram capazes de separar estes dois compostos dos demais constituintes do extrato sem, contudo, apresentar dados sobre a validação da metodologia analítica, ou ainda, que considerasse a estabilidade da cinarina nos sistemas de solventes utilizados, visto sua elevada instabilidade (CARVALHO, 2004)

Recentemente, uma metodologia oficial de análise para o ácido clorogênico foi proposta pela Farmacopéia Européia (EUROPEAN PHARMACOPOEIA, 2006), a qual determina a possibilidade de quantificar esta substância em folhas de alcachofra, o que poderia ser transposto para a análise do extrato seco derivado destas. Considera-se toda metodologia analítica farmacopeica como sendo validada conforme a Resolução (RE) nº 899 da ANVISA (BRASIL, 2003c).

Entretanto, a mudança da matriz, folhas de alcachofra para extrato seco de alcachofra, poderia levar a conclusão de que este *status* validado se perdeu. Porém, a validade da metodologia para a quantificação do marcador no extrato seco é inegável, prestando-se também como forma de avaliar a especificidade de métodos não cromatográficos, como por exemplo, métodos de dosagem de polifenóis por espectroscopia de ultravioleta (NICHIFORESCO & COUCOU, 1965).

A metodologia foi testada substituindo-se, no entanto, as folhas de alcachofra pelo extrato seco de alcachofra (o qual necessita de simples dissolução, não sendo necessário a prévia extração com metanol). A injeção em duplicata de duas amostras do padrão de ácido clorogênico levou a obtenção de dois picos praticamente com o mesmo tempo de retenção, conforme as figuras 7 e 8, página 55 e quadros 10 e 11, página 56.

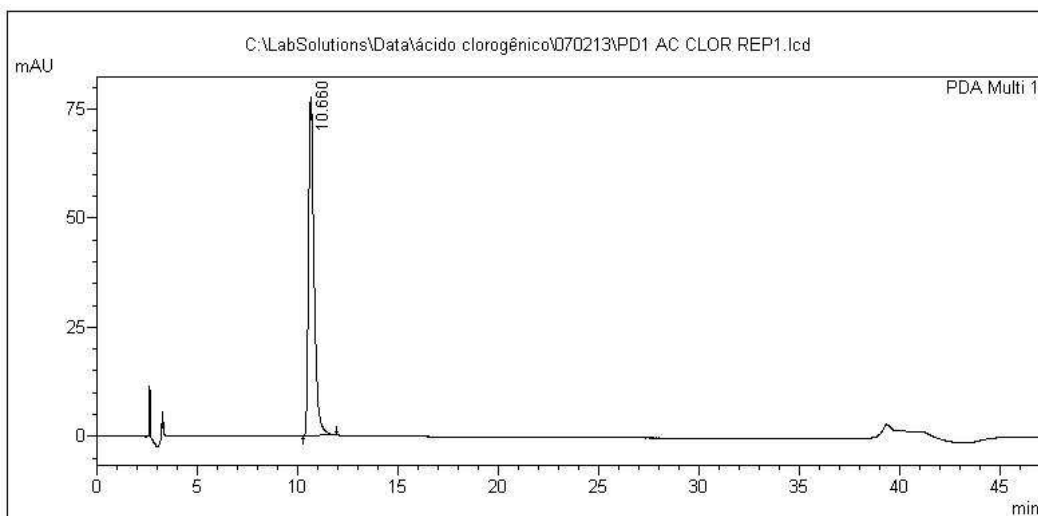


Figura 7 – Cromatograma obtido da solução padrão de ácido clorogênico (REPLICATA 1)

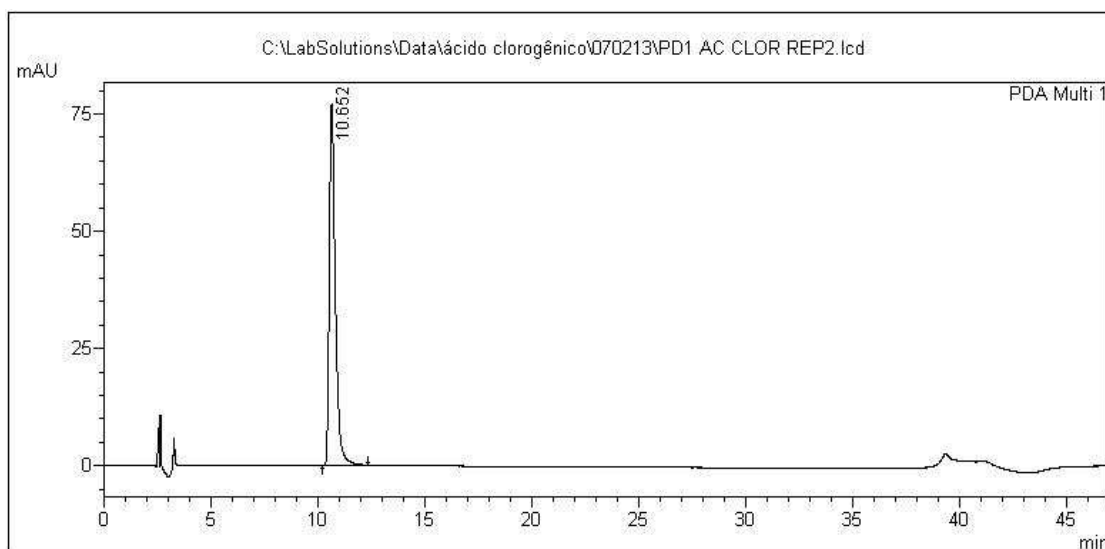


Figura 8 – Cromatograma obtido da solução padrão de ácido clorogênico (REPLICATA 2)

Quadro 10 - Valores obtidos do cromatograma da figura 7:

PeakTable					
PDA Ch1 330nm 4nm					
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	10.660	1487301	77614	100.000	100.000
Total		1487301	77614	100.000	100.000

Quadro 11 - Valores obtidos do cromatograma da figura 8:

PeakTable					
PDA Ch1 330nm 4nm					
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	10.652	1498586	77026	100.000	100.000
Total		1498586	77026	100.000	100.000

A metodologia foi então empregada na análise do extrato seco de alcachofra que seria utilizado nas análises subseqüentes por espectroscopia de UV/VIS. Como anteriormente relatado, o extrato foi apenas dissolvido na fase móvel a ser utilizada na análise dispensando-se a etapa de extração necessária para análise das folhas de alcachofra. Os cromatogramas (figuras 9 e 10, página 57) e os resultados (quadros 12 e 13, página 58) obtidos da injeção em duplicata de duas amostras diferentes de extrato seco, permitiu a resolução do pico referente ao ácido clorogênico em relação aos demais constituintes do extrato, apesar da proximidade com outro pico não identificado em um tempo de retenção de cerca de 10 minutos. Em todas as injeções foi possível se integrar o pico do ácido clorogênico sem a interferência dos demais sinais em torno deste, sendo o teor de marcador encontrado de 0,16%, bem inferior aos 0,8% regulamentados na farmacopéia européia.

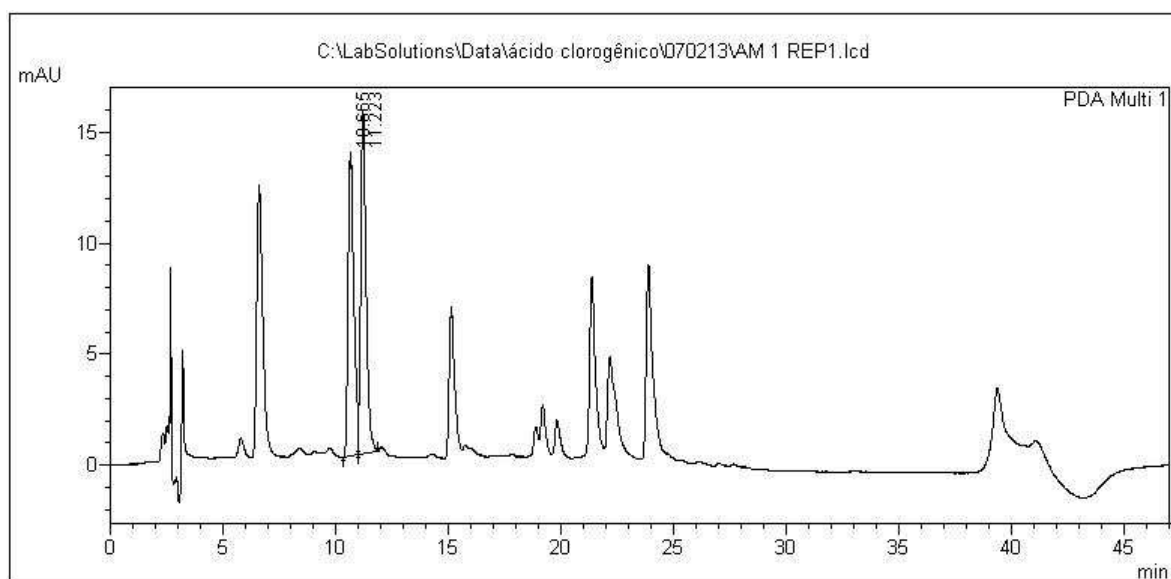


Figura 9 – Cromatograma obtido da solução do extrato seco de alcachofra (REPLICATA 1)

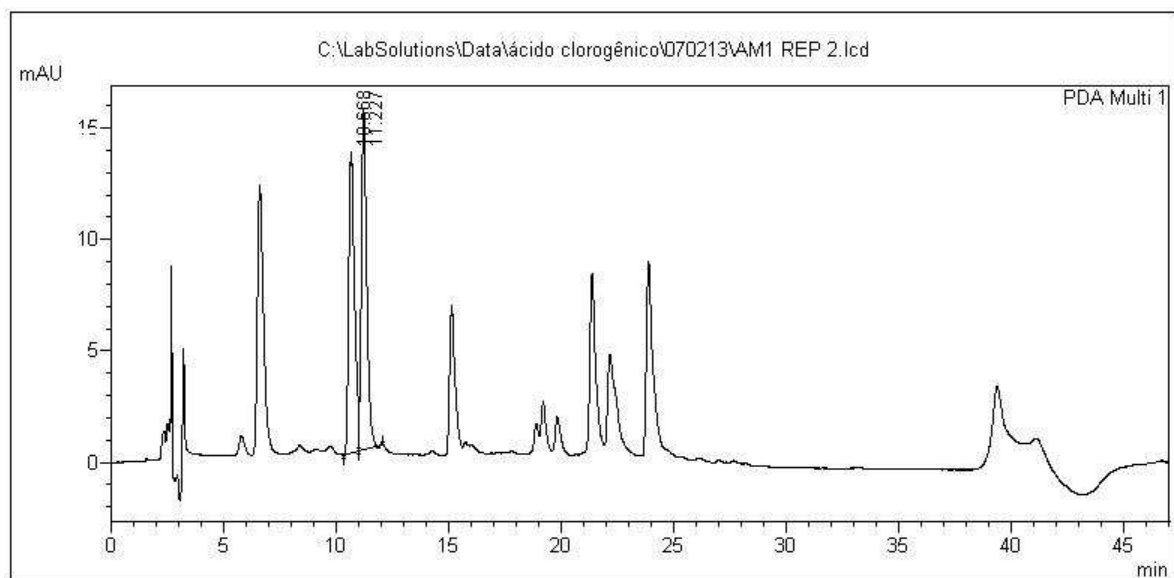


Figura 10 – Cromatograma obtido da solução do extrato seco de alcachofra (REPLICATA 2)

Quadro 12 - Valores obtidos do cromatograma da figura 9.

PeakTable					
PDA Ch1 330nm 4nm					
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	10.665	243514	13721	48.800	46.924
2	11.223	255489	15520	51.200	53.076
Total		499003	29242	100.000	100.000

Quadro 13 - Valores obtidos do cromatograma da figura 10.

PeakTable					
PDA Ch1 330nm 4nm					
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	10.668	241309	13524	49.097	46.917
2	11.227	250189	15301	50.903	53.083
Total		491498	28825	100.000	100.000

Cálculos de teor de ácido clorogênico nas amostras analisadas:

$$A_{p1} = 1487301$$

$$A_{p2} = 1498586 \quad \Rightarrow \quad \text{Média} = 1492944$$

$$A_{am1} = 243514$$

$$A_{am2} = 241309$$

$$P_p = 1,02 \text{ mg}$$

$$T_p = 98,0 \%$$

$$P_{am} = 500,0 \text{ mg}$$

$$F_d = 5$$

$$\text{Teor (\%)} 1 = 0,16\%$$

$$\text{Teor (\%)} 2 = 0,16\% \quad \Rightarrow \quad \text{Média: } 0,16\% \text{ ácido clorogênico}$$

Os picos vizinhos ao ácido clorogênico podem ser atribuídos às várias substâncias estruturalmente relacionadas, como aquelas formadas pela

esterificação de um ou mais derivados do ácido trans-cinâmico com o ácido quínico (DE MARIA & MOREIRA, 2004).

O método cromatográfico se mostrou adequado para a análise do extrato seco de alcachofra, admitindo-se a possibilidade de ser esta substância utilizada como marcador da espécie, conforme a Resolução (RE) n° 89 da ANVISA (BRASIL, 2004c).

Cabe-se ressaltar que, a armazenagem da solução do padrão de ácido clorogênico por 30 dias em geladeira na fase móvel utilizada para a análise, leva a degradação quase que total da amostra (figura 11, página 59), indicando a necessidade do preparo da solução do padrão no mesmo dia da realização da análise.

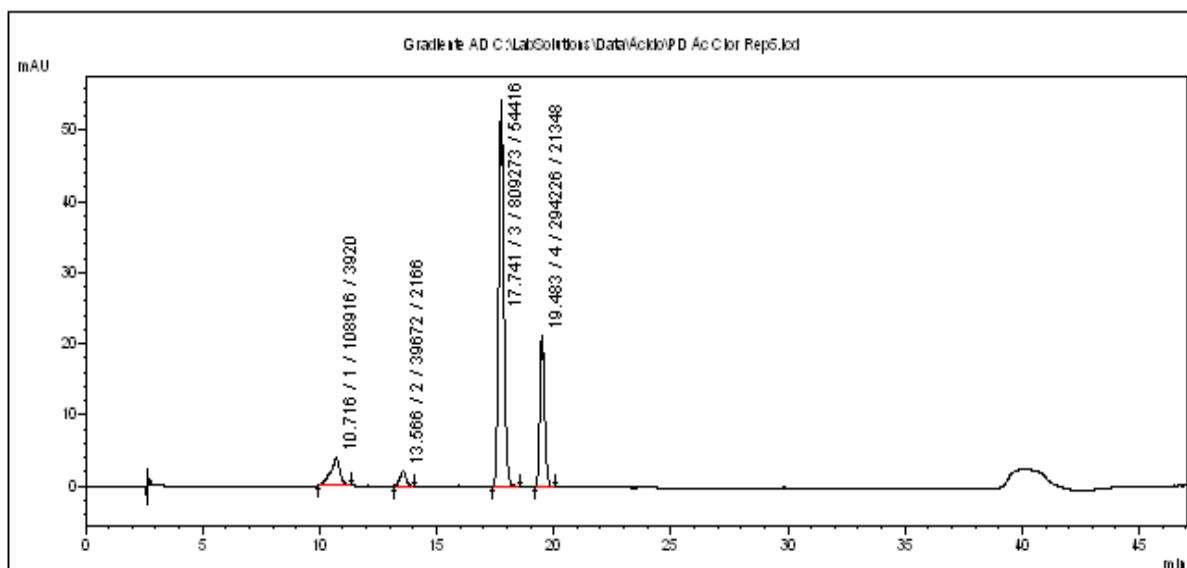


Figura 11 - Degradação do ácido clorogênico em decorrência da armazenagem da solução a 5-8°C

4.2 Resultados do método espectrofotométrico da Farmacopéia Brasileira

Quando se procedeu a leitura das absorvâncias das soluções preparadas verificou-se valores elevados tanto para a cinarina como para o ácido clorogênico, salvo em valores de concentração menores que 10 µg/mL. Ambas as retas apresentaram linearidade adequada, considerando-se os coeficientes de correlação observados 0,9985 para a cinarina e 0,9905 para o ácido clorogênico (tabelas 5 e 6 , página 60 e figura 12, página 60).

Tabela 5 - Soluções e absorvâncias medidas para a análise de cinarina pelo método da Farmacopéia Brasileira 3ª Edição.

Concentração de cinarina (µg/mL)	Absorvância resultante
2,5	0,027
5,0	0,043
10,0	0,065
25,0	0,131
50,0	0,270

Tabela 6 - Soluções e absorvâncias medidas para a análise de ácido clorogênico pelo método da Farmacopéia Brasileira 3ª Edição.

Concentração de ácido clorogênico (µg/mL)	Absorvância resultante
1,25	0,028
2,5	0,028
5	0,030
10	0,054
25	0,240

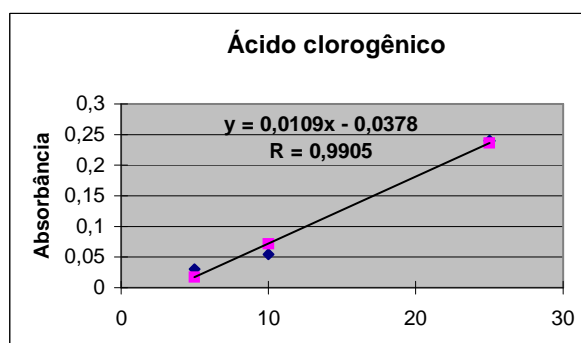
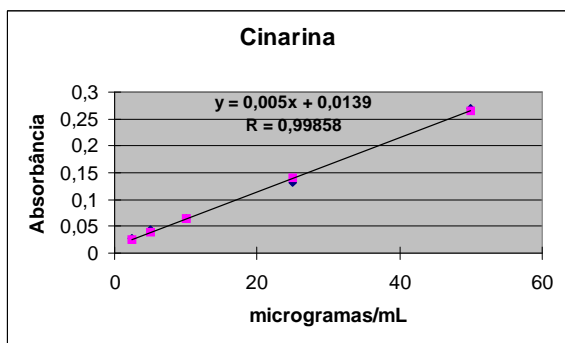


Figura 12 - Retas de calibração da análise de cinarina e ácido clorogênico pelo método da Farmacopéia Brasileira 3ª Edição

A análise com o extrato seco tomou como padrão a posologia média de fitoterápicos à base de alcachofra, em especial, sólidos orais, que trabalha com 200 mg de material como dosagem farmacologicamente ativa. Os resultados obtidos demonstram valores muito baixos de absorvância, próximos ao erro de medida do equipamento, com imensas variações dentro de uma mesma tomada de amostra, apesar dos resultados obtidos se mostrarem condizentes com o teor esperado de cinarina no extrato. Quando se preparou uma nova amostra com 200 mg de amostra diluídos em 100 mL (visto que na primeira pesada se tomou 201 mg em 500 mL), valores maiores do que o esperado pela Lei de Beer (CIENFUEGOS, 2000) e irreprodutíveis foram obtidos, indicando claramente a impossibilidade de se utilizar esta metodologia para dosagem de cinarina no extrato seco de alcachofra (quadro 14, página 61).

As médias das absorvâncias medidas nas duas diluições, quando inseridas na reta de calibração obtida para o ácido clorogênico, demonstram concentrações 0,22 % e 2,25 % com elevadas variações intermedidas e teores muito acima e muito abaixo do esperado pela Farmacopéia Européia (0,8%) ou Brasileira (0,7%), confirmando a inviabilidade de uso desta metodologia, até mesmo com o uso de ácido clorogênico como marcador da espécie.

Quadro 14: Resultados obtidos na análise de extrato seco de alcachofra pela metodologia da Farmacopéia Brasileira 3ª Edição

a) peso de extrato seco = 201 mg em balão de 500 mL (ESA1)			
Absorvância resultante	$\mu\text{g/mL}$ (curva de calibração de cinarina)	(%) de cinarina na amostra	Valor teórico esperado
0,006	1,190	0,300	1,000%
0,005	0,990	0,250	
0,015	2,990	0,750	
b) peso de extrato seco = 200 mg em balão de 100 mL (ESA2)			
Absorvância resultante	$\mu\text{g/mL}$ (curva de calibração de cinarina)	(%) de cinarina na amostra	Valor teórico esperado
0,046	9,190	0,460	1,000%
0,093	15,800	0,920	
0,173	31,800	1,730	

Estes resultados confirmam a variabilidade inerente aos métodos espectrofotométricos, em especial, quando se considera a complexa composição de uma matéria-prima vegetal, em especial, a alcachofra, que além de composição variada, possui várias substâncias estruturalmente assemelhadas (DE MARIA & MOREIRA, 2004; NOLDIN *et al.*, 2003). Ao se analisar a amostra do fitoterápico A, onde se esperava teores de cinarina de 0,225% de cinarina e 0,18% de ácido clorogênico, foram obtidas novamente medidas erráticas, de grande variação e fora do esperado segundo os valores oficiais para ambos os marcadores (quadro 15, página 62).

Quadro 15 - Resultados obtidos na análise do fitoterápico A pela metodologia da Farmacopéia Brasileira 3ª Edição

a) Com alíquota de 1 mL:			
Absorvância resultante	µg/mL (curva de calibração de cinarina)	% de cinarina (p/V)	Valor teórico esperado
0,018	0,800	0,040	0,225%
0,021	1,400	0,070	
0,037	4,600	0,230	
b) Com alíquota de 2 mL:			
Absorvância resultante	µg/mL (curva de calibração de cinarina)	% de cinarina (p/V)	Valor teórico esperado
0,022	1,600	0,040	0,225%
0,053	7,800	0,195	
0,070	11,200	0,280	
c) Com alíquota de 1 mL:			
Absorvância resultante	µg/mL (curva de calibração de ác. clorogênico)	% de ác. clorogênico (p/V)	Valor teórico esperado
0,018	5,100	0,260	0,180%
0,021	5,400	0,270	
0,037	6,800	0,340	
d) Com alíquota de 2 mL:			
Absorvância resultante	µg/mL (curva de calibração de ác. clorogênico)	% de ác. clorogênico (p/V)	Valor teórico esperado
0,022	5,500	0,140	0,180%
0,053	8,300	0,210	
0,070	9,900	0,250	

4.3 Resultados do método desenvolvido

Nesta nova proposta, largamente utilizada para análise de polifenóis em folhas de alcachofra como descrito por NICHIFORESCO & COUCOU (1965), tem-se como diferencial a utilização de molibdato de sódio (reativo de Arnow) como agente complexante específico para os compostos denominados “o-dihidroxifenóis” (RODRIGUEZ, 1966), o que poderia determinar uma maior seletividade no método. Entretanto, como já havia sido citado anteriormente, tanto os marcadores da alcachofra, quanto muitos outros de seus constituintes possuem estrutura fenólicas ou capazes de complexação, o que indicaria a dificuldade de se relacionar os valores de absorvância medidos para o produto de reação do extrato ou outra fonte de matéria-prima vegetal com retas de calibração de cinarina ou ácido clorogênico individualmente. Entretanto, caberia se avaliar a variabilidade de resultados obtidos com o uso do reagente de Arnow de forma a se analisar comparativamente sua aplicabilidade quando comparado a metodologia da Farmacopéia Brasileira. Duas retas de calibração foram então preparadas com cinarina e ácido clorogênico utilizando-se a primeira metodologia. Para a cinarina não se pode considerar que a análise conduziu a resultados lineares, o que poderia se explicar pela possível instabilidade desta substância no meio de análise (coeficiente de correlação de 0,9817). Já para o ácido clorogênico, os resultados obtidos indicaram uma boa linearidade, com um coeficiente de correlação de 0.9908 (figura 13, página 63).

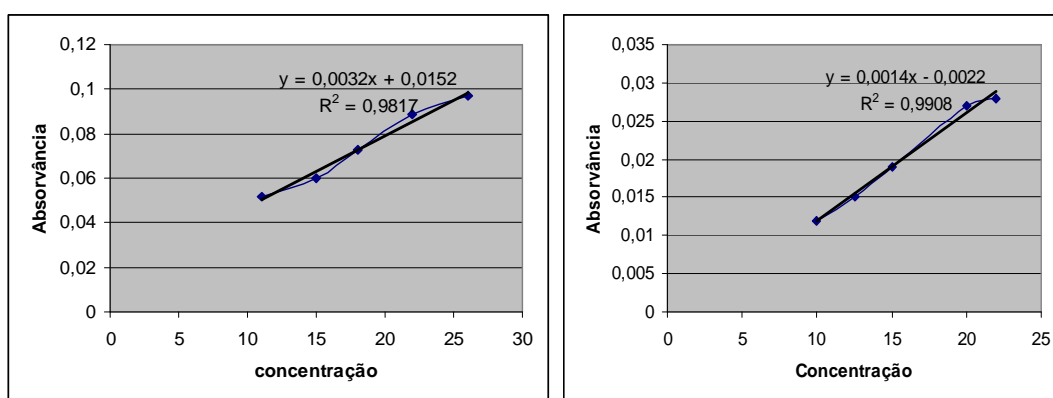


Figura 13 - Retas de calibração para a cinarina (esquerda) e ácido clorogênico (direita) obtidas pela metodologia de Arnow.

Uma menor variabilidade de resultados foi observada nestas medidas, mesmo se considerando a não linearidade das análises realizadas com cinarina (tabela 7, página 64).

Tabela 7 - Resultados obtidos na análise de cinarina e ácido clorogênico pela metodologia de Arnou

Cinarina		Ácido clorogênico	
Concentração final de análise em µg/mL	Absorvância lida	Concentração final de análise em µg/mL	Absorvância lida
11,0	0,052	10,0	0,012
15,0	0,060	12,5	0,015
18,0	0,073	15,0	0,019
22,0	0,089	20,0	0,027
26,0	0,097	22,0	0,028

A análise do extrato seco de alcachofra (considerando-se 200 mg como dose farmacologicamente ativa usual) confrontando-se os valores de absorvância medidos frente às retas de calibração de cinarina e ácido clorogênico demonstraram valores muito maiores de marcadores do que o esperado, confirmando-se a hipótese de que outras substâncias, além dos marcadores, reagiriam na proposta de Arnou, levando a teores maiores do que os realmente presentes (tabela 8, página 64).

Tabela 8 - Resultados obtidos na análise do extrato seco de alcachofra frente às retas de calibração de cinarina e ácido clorogênico pela metodologia de Arnou.

Massa pesadas de extrato Em mg.	Absorvância lida	Concentração final em ácido clorogênico (µg/mL)	Concentração final em cinarina (µg/mL)
120	0,050	35,72	15,64
160	0,068	48,57	21,27
200	0,082	58,57	25,64
240	0,101	72,15	31,58
280	0,120	85,74	37,52

Obs.: Considerando-se o extrato a 1,0% de cinarina e 0,8% de ácido clorogênico, teremos para 200 mg de extrato concentrações finais de 10 µg/mL para a cinarina e 8,0 µg/mL para o ácido clorogênico.

Desta forma, se torna necessário propor uma nova alternativa utilizando-se a metodologia de Arnou, mais reprodutível e robusta que a proposta pela Farmacopéia Brasileira, mas que informasse de maneira mais real o teor de marcador presente na amostra em análise, ou ainda, que pudesse ser utilizada

como metodologia de rotina para o controle de qualidade de indústrias produtoras de medicamentos fitoterápicos. Neste sentido, uma proposta seria utilizar o extrato seco vegetal padronizado em termos do teor de ácido clorogênico como analito a ser quantificado em fitoterápicos produzidos com esta matéria-prima vegetal, garantindo-se não só a manutenção da quantidade de matéria vegetal presente no produto final obtido, como também, o teor de marcador, obtido da correlação da quantidade de extrato presente e o teor de ácido clorogênico determinado no material por CLAE. Essa proposta resume a análise inicial da matéria-prima por CLAE segundo o método anteriormente por nós adaptado, a análise de teor de rotina por UV através do uso da metodologia de Arnow (UV/VIS) e a análise de estabilidade do produto por CLAE novamente, o que reduziria sobremaneira os custos operacionais das indústrias produtoras de medicamentos fitoterápicos, e tornaria as análises mais rápidas, reduzindo o tempo médio de produção de medicamentos a base de alcachofra, mantendo-se no entanto a segurança de uso e a qualidade requerida para os mesmos.

A confirmação desta proposta se iniciou pela avaliação da linearidade do método onde se utilizou o extrato de alcachofra e registrou-se as absorvâncias lidas em níveis de concentração variando de 60 a 120 % do teor tido como mais usual, 200 mg de extrato. Os resultados demonstraram uma excelente linearidade para o método, visto o coeficiente de correlação medido 0,9974 (figura 14, página 65 e tabela 9, página 66).

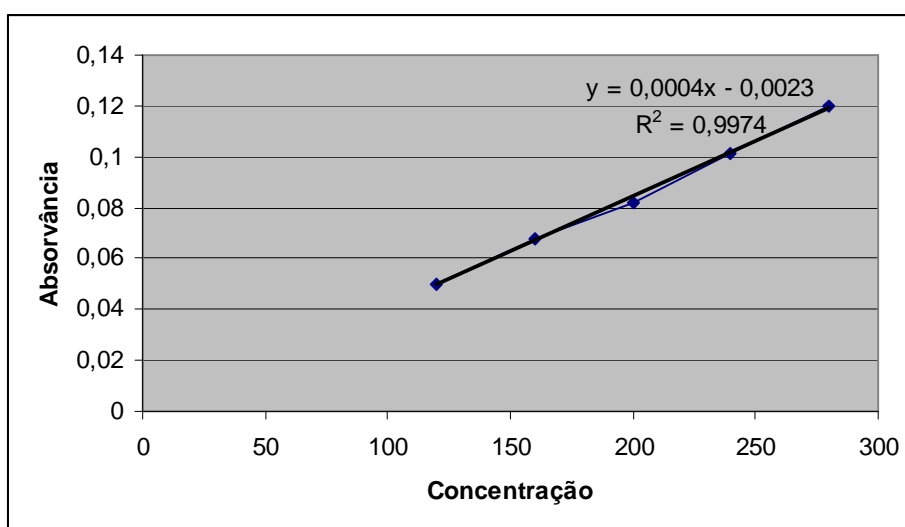


Figura 14 - Reta de calibração obtida da leitura do extrato seco de alcachofra em níveis de concentração de 60 a 120 % pela metodologia de Arnow.

Tabela 9 - Valores de absorvância da leitura do extrato seco de alcachofra em níveis de concentração de 60 a 120 % pela metodologia de Arnow.

Massa pesadas de extrato (mg)	Concentração final de análise (µg/mL)	Percentual de ativo (%)	Absorvância lida
120	120	60	0,050
160	160	80	0,068
200	200	100	0,082
240	240	120	0,101
280	280	140	0,120

A exatidão do método foi avaliada utilizando-se o extrato de alcachofra como ativo a ser inserido em uma matriz que simulasse uma formulação farmacêutica complexa. Como proposta, a seguinte formulação foi considerada:

- 1- Extrato de alcachofra CF03.....200,00 mg
- 2- Aerosil.....7.82mg
- 3- Talco.....4.60mg
- 4- Estearato de magnésio.....4.60mg
- 5- AcDiSol.....4.60mg
- 6- Celulose Microcristalina.....20,00 mg

Avaliou-se então o percentual de recuperação pela comparação com e reta de calibração confeccionada com a utilização de extrato seco de alcachofra, com os resultados obtidos utilizando-se o extrato seco de alcachofra adicionado ao placebo, seguindo-se a formulação acima. Foi adicionado extrato de alcachofra equivalente a 80, 100 e 120% do teor, tido como 100% equivalendo a 200 mg. Os seguintes resultados foram obtidos (quadro 16, página 67).

Quadro 16 - Valores de absorvância da leitura do extrato seco de alcachofra obtidos no teste de exatidão.

Análise 01:			
Massas pesadas de extrato (mg)	Concentração final de análise (mg/mL)	Percentual de ativo (%)	Absorvância lida
161,7	161,7	80	0,063
200,0	200,0	100	0,084
240,7	240,7	120	0,096
Análise 02:			
Massas pesadas de extrato (mg)	Concentração final de análise (mg/mL)	Percentual de ativo (%)	Absorvância lida
160,3	160,3	80	0,069
200,9	200,9	100	0,087
240,2	240,2	120	0,096
Análise 03:			
Massas pesadas de extrato (mg)	Concentração final de análise (mg/mL)	Percentual de ativo (%)	Absorvância lida
161,8	161,8	80	0,065
201,7	201,7	100	0,085
241,5	241,5	120	0,097

Os valores médios recuperados de acordo com a reta de calibração de extrato de alcachofra ($y = 0,0004x - 0,0023$) foram listados na quadro 17, página 67.

Quadro 17 - Percentual de recuperação do extrato seco de alcachofra obtidos no teste exatidão.

Teórico (%)	Real (%)	RSD
80	81,44	3,39
100	106,47	3,21
120	120,01	3,14

Os valores de absorvância se mantiveram muito próximos àqueles obtidos em todas as análise de linearidade e exatidão, justificando a aplicação do método.

A precisão do método foi avaliada realizando-se 06 análises em triplicata com um produto de mercado, que possuía a fórmula idêntica a utilizada na exatidão. Elegeram-se os produtos com número de lote 09090416, sendo obtidos os seguintes resultados (quadro 18, página 68).

Quadro 18 - Teores obtidos pela aplicação da reta de calibração de extrato seco de alcachofra padronizado (100% 200 mg)

Análise	Absorbância medida	RSD	Teor
Anal. 01	0,084	1,28	102,43
Anal. 02	0,087	1,13	106,09
Anal. 03	0,082	0,98	100,00
Anal. 04	0,085	2,15	103,65
Anal. 05	0,083	2,05	101,21
Anal. 06	0,083	1,73	101,22

Considerando-se 0,8% o teor médio de ácido clorogênico no extrato, conforme monografias farmacopeicas, a concentração destes marcadores poderia ser estimada comparando-se o teor de ácido clorogênico medido por CLAE e a absorvância determinada na metodologia anteriormente validada. Desta forma, o valor de absorvância de 0,78 a 0,82, determinaria um teor de 0,16% de ácido clorogênico no extrato (considerando-se uma diluição de 1,0 mg de extrato para 100 mL de solvente) visto que o extrato analisado anteriormente por CLAE era o mesmo utilizado no esforço de validação.

Outros fitoterápicos a base de alcachofra foram analisados de forma a se confirmar a aplicabilidade do método. Iniciou-se a pesquisa com o uso de um elixir a base de extrato seco de alcachofra (fitoterápico A), onde se observa 0,255 mg de extrato por cada mL de produto. Diluiu-se então 1,0 mL da amostra em balão volumétrico de 200 mL e se procedeu a análise segundo a proposta anterior. O valor médio de absorvância registrado após três amostras preparadas foi de 0,186. Considerando-se a absorvância de 0,92 o valor esperado para 225 mg de extrato, se verifica um teor real de 45,49 mg de extrato, muito inferior ao valor teórico rotulado, o que reportaria a um teor de 0,03% de ácido clorogênico.

Um placebo do elixir contendo sacarose, etanol, água, nipagim, e essência de baunilha foi preparado, adicionando-se posteriormente 200 mg de extrato de

alcachofra por mL no mesmo. A leitura foi realizada em três amostras preparadas com este novo analito, levando a um valor médio de 0,84 de absorvância, provando não haver interferência do veículo aquoso ou dos excipientes utilizados na eficiência da metodologia analítica aqui proposta.

Foram ainda analisados os fitoterápicos B e C, ambos cápsulas gelatinosas duras, os quais continham 350 e 300 mg de extrato seco de alcachofra (teoricamente) em suas composições. Ao se proceder a análise deste material, segundo a proposta já citada, foram determinados valores de absorvância muito abaixo do esperado, o que indica a possibilidade de utilização de valores de extrato muito menores que os rotulados na preparação destes produtos, como também, a possibilidade de não se estar utilizando sequer extrato seco de alcachofra na preparação do mesmo (quadro 19, página 69).

Quadro 19 - Resultados da análise de teor de extrato de alcachofra utilizando-se a metodologia de análise espectrofotométrica de Arnow.

Fitoterapico B	Absorbância lida	Quantidade (mg) de extrato seco obtido da curva de calibração	Concentração de extrato seco esperado (mg)
	0,160	39,02	350
Fitoterapico C	Absorbância lida	Quantidade (mg) de extrato seco obtido da curva de calibração	Concentração de extrato seco esperado (mg)
	0,130	31,71	300

5 CONCLUSÕES

Com os resultados aqui obtidos, pode-se afirmar que a aplicação da combinação de análise de matéria-prima e estudos de estabilidade por CLAE, segundo a metodologia aqui adaptada e de teor de produto por espectroscopia de UV/VIS, torna-se possível atender as exigências legais para a rotina de controle de qualidade de produtos fitoterápicos, conforme estabelecido na Resolução RDC nº 48, de 16 de março de 2004, da ANVISA.

A quantificação de ácido clorogênico pela metodologia da Farmacopéia Européia, utilizando o extrato seco ao invés das folhas de alcachofra pode ser considerada reprodutível confirmando a maior aplicabilidade do ácido clorogênico em relação à cinarina como marcador analítico da alcachofra, visto a maior instabilidade desta última em diferentes condições de análise.

A metodologia analítica baseada na espectrofotometria no UV/VIS descrita pela Farmacopéia Brasileira se mostra falha e inadequada para a rotina de controle de qualidade. Por outro lado, a adaptação da proposta da metodologia de Arnow, aqui desenvolvida e validada se mostrou linear, exata e repetitiva, se prestando como valioso instrumento para o bom funcionamento dos laboratórios de controle de qualidade de fitoterápicos, visto seu menor custo, rapidez e praticidade.

Por fim, a aplicação desta metodologia em produtos existentes no mercado nacional, vem ressaltar a gravidade da situação deste seguimento do mercado farmacêutico, apontando para sérias distorções de qualidade de diferentes fitoterápicos à base de alcachofra, indicando a necessidade de um maior rigor nas ações pós-registro de medicamentos a serem adotadas em nosso sistema de vigilância sanitária para que se possa assegurar a saúde da população e garantir os direitos do consumidor destes produtos, entre os quais, o direito a vida, garantidos constitucionalmente.

6 REFERÊNCIAS

ALONSO, J. **Tratado de Fitomedicina - Bases clínicas y farmacológicas**. Buenos Aires:Ibis, 1998.

BETTERO, A. Determinazione di cinarina per HPLC in forme farmaceutiche. **Boll. Chim. Farm.**, 120, p. 49-54, 1981.

BRASIL, 1967. Portaria SNFMM nº 22, de 30 de outubro de 1967. Estabelece normas para o emprego de preparações fitoterápicas. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 16 de novembro de 1967.

BRASIL, 1973. Lei nº 5.991, de 17 de dezembro de 1973. Dispõe sobre o controle sanitário do comércio de drogas, medicamentos, insumos farmacêuticos e correlatos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 19 de dez. de 1973, retificada em 21 de dez. de 1973.

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

BRASIL, 1977. Decreto nº 79.094, de 5 de janeiro de 1977. Regulamenta a Lei Federal nº 6.360/76, que submete ao sistema de vigilância sanitária os medicamentos, cosméticos, drogas, insumos, correlatos, produtos de higiene, saneantes e outros produtos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 5 de janeiro de 1977.

BRASIL, 1994. Portaria SVS/MS nº 123, de 19 de outubro de 1994. Estabelece as normas para o registro de produtos fitoterápicos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 20 de outubro de 1994.

BRASIL, 1995a. Portaria SVS/MS nº 6, de 31 de janeiro de 1995. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2 de fevereiro de 1995.

BRASIL, 1995b. Portaria SVS/MS nº 16, de 6 de março de 1995. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação para Indústrias Farmacêuticas. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 09 de mar. de 1995.

BRASIL, 2000. Resolução (RDC) nº 17, de 24 de fevereiro de 2000. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 24 de fevereiro de 2000.

BRASIL, 2003a. Resolução RDC nº 134, de 29 de maio de 2003. Dispõe sobre a adequação dos medicamentos já registrados. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 26 de setembro de 2003.

BRASIL, 2003b. Resolução RDC nº 210, de 04 de agosto de 2003. Determina a todos os estabelecimentos fabricantes de medicamentos, o cumprimento das diretrizes estabelecidas no Regulamento Técnico das Boas Práticas para a Fabricação de Medicamentos, conforme ao Anexo I da presente Resolução. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 14 de agosto de 2003.

BRASIL, 2003c. Resolução (RE) nº 899, de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos". **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 02 de junho de 2003.

BRASIL, 2004a. Resolução (RDC) nº 48, de 16 de março de 2004. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 18 de março de 2004.

BRASIL, 2004b. Resolução (RE) nº 88, de 16 de março de 2004. Determina a publicação da "Lista de Referências Bibliográficas para Avaliação de Segurança e

Eficácia de Fitoterápicos”. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 18 de março de 2004.

BRASIL, 2004c. Resolução (RE) nº 89, de 16 de março de 2004. Determina a publicação da “Lista de Registro Simplificado de Fitoterápicos”. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 18 de março de 2004.

BRASIL, 2004d. Resolução (RE) nº 90, de 16 de março de 2004. Determina a publicação da “Guia para a Realização de Estudos de Toxicidade Pré-Clínica de Fitoterápicos”. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 18 de março de 2004.

BRASIL, 2004e. Resolução (RE) nº 91, de 16 de março de 2004. Determina a publicação da “Guia para a Realização de Alterações, Inclusões, Notificações e Cancelamentos Pós-Registro de Fitoterápicos”. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 18 de março de 2004.

BRITO, A.R.M.S. Legislação de Fitoterápicos. In DI STASI, Luiz Claudio (org.). **Plantas medicinais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar.** São Paulo: Editora UNESP, 1996. p. 187-197.

CALIXTO; J.B. Medicamentos Fitoterápicos. In: YUNES, R. A. & CALIXTO, J. B. (Orgs.). **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna.** Chapecó: Argos, 2001. p.297-315.

CARVALHO, J.C.T.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E.P. Compostos fenólicos simples e heterosídicos. In: **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 5 ed. rev. ampl., primeira reimpressão. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2004. p. 371-400.

CASS, Q.B. & DEGANI, A.L.G. **Desenvolvimento de métodos por HPLC: fundamentos, estratégias e validação.** São Paulo: Editora da Universidade Federal de São Carlos, 2001. 77 p.

CELEGHINI, R.M.S.; VILEGAS, J.H.Y.; LANÇAS, F.M. Extraction and quantitative HPLC analysis of coumarin in hydroalcoholic extracts of *Mikania glomerata* Spreng. ("guaco") leaves. **J. Braz. Chem. Soc.** v.12, n. 6, 2001. p.706-709.

CIENFUEGOS, F.; VAITSMAN, D. **Análise Instrumental**. Rio de Janeiro: Interciência, 2000.

COSTA, E.A. & ROZENFELD, S. Marcos Históricos e conceituais. In: ROZENFELD, S. (org.). **Fundamentos da Vigilância Sanitária**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2000. p. 15-48.

CUNHA, A.P. da. Aspectos históricos sobre plantas medicinais, seus constituintes activos e fitoterapia. 1999 Disponível em: <<http://www.antoniopcunha.com.sapo.pt/>> . Acesso em: 20 mai. 2005.

DAVID, J.P.L.; NASCIMENTO, J.A.P.; DAVID, J.M. Produtos fitoterápicos: uma perspectiva de negócio para a indústria, um campo pouco explorado pelos farmacêuticos. **Infarma**. São Paulo, v.16, n.9-10, 2004. p.71-76.

DAVID, J.P.; DAVID, J.M. Plantas Mediciniais. Fármacos derivados de plantas. In: **Farmacologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 134-145.

DE MARIA, C.A.B.; MOREIRA, R.F.A. Métodos para análise de ácido clorogênico. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 27, n. 4, p. 586-592, 2004.

ENGLISCH, W.; BECKERS, C.; UNKAUF, M.; RUEPPZINSERLING, V. Efficacy of artichoke dry extract in patients with hyperlipoproteinemia. **Arzneimittelforschung**, v. 50, p. 260-265. 2000.

EUROPEAN Pharmacopoeia. 5 ed., suppl. 5.5, jul/2006.

FARMACOPÉIA Brasileira. 3 ed. São Paulo: Andrei Editora, 1977.

FARMACOPEA Ufficiale della Repubblica Italiana, 10 ed. Roma, 1991.

FERREIRA, S.H. (org.) **Medicamentos a partir de plantas medicinais no Brasil**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1998.

GARCIA, E.S.; SILVA, A.C.P.; GILBERT, B.; CORRÊA, C.B.V.; CAVALHEIRO, M. V.S.; SANTOS, R.R.; TOMASSINI, T. Biodiversidade: perspectivas e oportunidades tecnológicas, Base de Dados Tropical – BDT, Fundação André Tosello, 1998.

GEBHARDT, R. Antioxidative and protective properties of extracts from leaves of the artichoke (*Cynara scolymus* L.) against hydroperoxide-induced oxidative stress in cultured rat hepatocytes. **Toxic. Appl. Pharmacol.**, v. 144, p. 279-286, 1997.

HAMMOUDA, F.M.; SEIF EL-NASR, M.M.; SHAHAT, A.A. Flavonoids of *Cynara scolymus* L. cultivated in Egypt. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 44, p. 163-169, 1993.

HECKERS, H. et al. Inefficiency of cynarin as therapeutic regimen in familial type II hyperlipoproteinaemia. **Atherosclerosis**, v. 26, p. 249-253, 1977.

HOSTETTMANN, K.; QUEIROZ, E.F.; VIEIRA, P.C. **Princípios ativos de plantas superiores**. São Carlos: EdUFSCarlos, 2003. 152p.

LAMARÃO, M.L.N. **Controle da qualidade de preparações farmacêuticas com *Kalanchoe pinnata* (Lam) Pers., por cromatografia líquida de alta eficiência**. Rio de Janeiro, INCQS/FIOCRUZ, 2003. Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária) – Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.

LIETTI, A. Choleric and cholesterol lowering properties of two artichoke extracts. **Fitoterapia**, v. 48, p. 153-158, 1977.

MARTELLONI, L. **Effetto della micorrizazione sul contenuto in fenoli e sul potere antiossidante di piante di carciofo (*Cynara scolymus* L.)** Pisa: Università degli Studi di Pisa, 2005. 69p. Monografia de Graduação (Especialização em Biotecnologia Alimentar) – Universidade de Pisa, Faculdade de Ciências Agrárias, Pisa.

MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G. **Desenvolvimento de fitoterápicos.** Ribeirão Preto: Tecmedd, 2004. 115p.

MONTANARI, C.A.; BOLZANI, V.S. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 105-111, 2001.

MULINACCI, N.; PRUCHER, D.; PERUZZI, M.; ROMANI, A.; PINELLI, P.; GIACCHERINI, C.; VINCIERI, F.F. Commercial and laboratory extracts from artichoke leaves: estimation of caffeoyl esters and flavonoidic compounds content. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 34, p. 349-357, 2004.

NICHIFORESCO, E.; COUCOU, V. Sur le dosage des o-dihydrophénols de type acide caféique présents dans les feuilles d'Artichaut (*Cynara scolymus* L.) **Annales pharmaceutiques françaises**, v. 23, n. 6, p. 419-427, 1965.

NOLDIN, V.F.; CECHINEL FILHO, V.; MONACHE, F.D.; BENASSI, J.C.; CHRISTMANN, I.L.; PEDROSA, R.C.; YUNES, R.A. Composição química e atividades biológicas das folhas de *Cynara scolymus* L. (alcachofra) cultivada no Brasil. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 26, n. 3, p. 331-334, mai/jun. 2003.

PETROWICZ, O.; GEBHARDT, R.; DONNER, M.; SCHWANDT, P.; KRAFT, K. Effects of artichoke leaf extract (ALE) on lipoprotein metabolism in vitro and in vivo. **Atherosclerosis**, v. 129, p.147, 1997.

PETRY, R.D. **Desenvolvimento e validação de métodos de doseamento de flavonóides de *Passiflora edulis* Sims. (maracujá).** Porto Alegre: UFRGS, 1999. 208p. il. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Porto Alegre.

PINTO, A.C.; SILVA, D.H.S.; BOLZANI, V.S. *et al.* Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 25, supl. 1, p.45-61, 2002.

RIBANI, M. *et al.* Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 27, n. 5, p.771-780, set./out. 2004.

RIBEIRO, C.A.F. Justifica-se o uso de extractos de plantas medicinais na terapêutica da ansiedade e da depressão? **Revista Saúde Mental**, v. II, n. 4, p. 9-14, 2000.

RODRIGUEZ, H.B. Determinacion de principios activos em hojas de alcachofas. **Revista Farmaceutica**, v. 108, p. 199-211, 1966.

ROMANI, A.; PINELLI, P.; CANTINI, C.; CIMATO, A.; HEIMLER, D. Characterization of Violetto di Toscana, a typical Italian variety of artichoke (*Cynara scolymus* L.). **Food Chemistry**, v. 95, p. 221-225, 2006.

SANTOS, E.V.M. Extração de matérias-primas vegetais. In: **Fundamentos de tecnologia de produtos fitoterápicos**. Santafé de Bogotá, DC: Convênio Andrés Bello (CAB) e Programa Ibero-americano de Ciência e Tecnologia para o Desenvolvimento (CYTED), 2000. 248p.

SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P.R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5 ed. rev. ampl., primeira reimpressão. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2004. p. 371-400.

SIANI, A.C. (Coord.). **Desenvolvimento tecnológico de fitoterápicos: plataforma metodológica**. Rio de Janeiro: Scriptorio, 2003. 97p.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P.R. (Org.); **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.

ed. rev. ampl., primeira reimpressão. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2004. 1102 p.

VALENTINI, S.R. **Atributos da validação da metodologia analítica do captopril num programa de garantia de qualidade.** Florianópolis: UFSC, 2002. 75p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) – Universidade Federal de Santa Catarina, Faculdade de Engenharia, Florianópolis.

VEIGA JUNIOR, V.F.; PINTO, A.C.; MACIEL, M.A.M. Plantas medicinais: cura segura ? **Quím. Nova**, São Paulo, v. 28, n. 3, p.519-528, 2005.

ANEXOS

Anexo 1

Lista de Fitoterápicos registrados na ANVISA

	Produto	Cod.	Categoria
1	ARNICA MONTANA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
2	ARNICA MONTANA L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
3	CASSIA ANGUSTIFOLIA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
4	ECHINACEA PURPUREA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
5	EUCALIPTUS GLOBULUS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
6	EUCALYPTUS GLOBULUS LABILL.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
7	EXTRATO SECO DE CENTELLA ASIATICA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
8	GINKGO BILOBA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
9	GINKGO BILOBA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
10	GINKGO BILOBA L	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
11	HYPERICUM PERFORATUM	0904015	ANTIDEPRESSIVOS
12	HYPERICUM PERFORATUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
13	HYPERICUM PERFORATUM L	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
14	HYPERICUM PERFORATUM L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
15	PIPER METHYSTICUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
16	SERENOA REPENS, EXTR. LIPIDO - ESTEROLICO	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
17	VITIS VINIFERA L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
18	A. MIRANDUM, Z. OFFICINALE, P. CUPANA, P. OLACOIDES	1201050	FITOTERAPICO COMPOSTO
19	ACALMIL	1201050	FITOTERAPICO COMPOSTO
20	ACHEFLAN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
21	Ad-Muc	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
22	ADPREX	0904015	ANTIDEPRESSIVOS
23	AESCLUSUS HIPPOCASTANUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
24	AESCLUSUS HIPPOCASTANUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
25	AESCLUSUS HIPPOCASTANUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
26	AESCLUSUS HIPPOCASTANUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
27	AESCLUSUS HIPPOCASTANUM L	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
28	AESCLUSUS HIPPOCASTANUM L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
29	AESCLUSUS HIPPOCASTANUS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
30	AESCLUSUS HIPPOCASTANUS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
31	Affinato Ledal	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
32	ALCACHOFRA HERBARIUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
33	ALCACHOFRA AMAZON ERVAS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
34	ALCACHOFRA BIOHS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
35	ALCACHOFRA BRASMED	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
36	ALCACHOFRA FLORA MEDICINAL	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
37	ALCACHOFRA ORIENT	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
38	ALCACHOFRA PURA CRONIN	0105007	COLAG., COLERET. E HEPATOPR.
39	ALCACHOFRA YANTEN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
40	ALCACHOYAN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
41	ALÇAÇUZ FLORA MEDICINAL	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
42	ALCALERGIN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
43	ALLIUM HEXAL	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
44	ALLIUM SATIVUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
45	ALLIUM SATIVUM L	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
46	ALOE GEL	0401056	CICATRIZANTES
47	ALOE GEL	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
48	AMENOPAN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
49	ARCTOSTAPHYLOS UVA URSI	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
50	ARCTOSTAPHYLOS UVA-URSI L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
51	ARNICA MONTANA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
52	Artrinon	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
53	BACCARIS TRIMERA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
54	BINKO	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
55	BIOFLAVIN GOTAS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
56	BIOHERB	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
57	BOLDO AMAZON ERVAS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
58	BOLDO BRASMED	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
59	BOLDO FLORA MEDICINAL	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES

60	BOLDO GOTAS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
61	BOLDO 350	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
62	BOLDOVITA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
63	BROMELIN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
64	BRONQUIVITA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
65	BUONA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
66	CALMAZIL	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
67	CAMOMILA	0103012	ANTIESPASMODICOS
68	CASCARA SAGRADA FLORA AMAZON	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
69	CASCARA SAGRADA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
70	CASCARA SAGRADA AMAZON ERVAS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
71	CASCARA SAGRADA BRASMED	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
72	CASCARA SAGRADA D.C.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
73	CASCARA SAGRADA FLORA MEDICINAL	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
74	CASCARA SAGRADA HERBARIUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
75	CÁSCARA SAGRADA ORIENT	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
76	CASCARA SAGRADA YANTEN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
77	CASCARA SAGRADA 330	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
78	CASSIA ANGUSTIFOLIA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
79	CASSIA ANGUSTIFOLIA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
80	CASSIA ANGUSTIFOLIA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
81	CASSIA ANGUSTIFOLIA VAHL	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
82	CASSIA ANGUSTIFOLIA VAHL	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
83	CASSIA ANGUSTIFOLIA VAHL	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
84	CASSIA ANGUSTIFOLIA VAHL.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
85	CASSIA SENE L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
86	CASSIA SENNA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
87	CASSIA SENNA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
88	CASTANHA DA INDIA AMAZON ERVAS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
89	CASTANHA DA INDIA BIOHS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
90	CASTANHA DA INDIA FLORA MEDICINAL	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
91	CASTANHA DA INDIA MILLER	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
92	CASTANHA DA INDIA ORIENT	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
93	CASTANHA DA INDIA VITAHERVAS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
94	CASTANHADAÍNIDIA BRASMED	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
95	CASTANHEX	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
96	CASTANWAY	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
97	CAT'S CLAW	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
98	CAVALINHA HERBARIUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
99	CAVALINHA BRASMED	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
100	CELLUFAN VITA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
101	CELOX	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
102	CENTELA AMAZON ERVAS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
103	CENTELLA ORIENT	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
104	CENTELLA ASIATICA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
105	CENTELLA ASIATICA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
106	CENTELLA ASIATICA (L.) URBAN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
107	CENTELLA ASIATICA (L.) URBAN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
108	CENTELLA ASIATICA (L.) URBAN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
109	CENTELLA BIOHS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
110	CENTELLA BRASMED	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
111	CICLOGIN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
112	CIMICIFUGA BIOHS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
113	CIMICIFUGA BRASMED	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
114	CIMICIFUGA RACEMOSA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
115	CIMICIFUGA RACEMOSA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
116	CIMICIFUGA RACEMOSA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
117	CIMICIFUGA RACEMOSA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
118	CIMICIFUGA RACEMOSA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
119	CIMICIFUGA RACEMOSA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
120	CIMICIFUGA RACEMOSA L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
121	CIMICIFUGA RACEMOSA NUTT.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
122	CIPERICO	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
123	CLIFEMIN HERBARIUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
124	CLIMADIL	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
125	CRATAEGUS BRASMED	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
126	CRATAEGUS FLORA MEDICINAL	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES

127	CRATAEGUS ORIENT	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
128	CRATAEGUS OXYACANTHA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
129	C. OXYACANTHA / P. INCARNATA E SALIX ALBA	1201050	FITOTERAPICO COMPOSTO
130	CRATAEGUS OXYACANTHA ,EXTRATO	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
131	CURCUMA LONGA L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
132	CYNARA SCOLIMUS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
133	CYNARA SCOLUMUS L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
134	CYNARA SCOLYMUS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
135	CYNARA SCOLYMUS	0105007	COLAG., COLERET. E HEPATOPR.
136	CYNARA SCOLYMUS L	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
137	CYNARA SCOLYMUS L	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
138	CYNARA SCOLYMUS L	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
139	CYNARA SCOLYMUS L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
140	CYNARA SCOLYMUS L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
141	CYNARA SCOLYMUS L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
142	CYNARA SCOLYMUS L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
143	CYNARA SCOLYMUS L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
144	CYRD	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
145	DEPRESSIVE	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
146	DEPRONON VITA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
147	DIANIS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
148	DISPESAN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
149	ECHINACEA PURPUREA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
150	ECHINACEA PURPUREA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
151	ECHINACEA PURPUREA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
152	ECHINACEA PURPUREA (L.) MOENCH	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
153	ECNAN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
154	ENAX	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
155	ENDORUS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
156	ENERSENG	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
157	ENXAMED	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
158	EQUAVIT	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
159	EQUINACEA BRASMED	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
160	EQUINACEA FLORA MEDICINAL	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
161	EQUISETUM ARVENSE	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
162	EQUISETUM ARVENSE L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
163	ERVA DE SÃO JOÃO ORIENT	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
164	ESBELIN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
165	ESPINHEIRA SANTA FL MEDICINAL	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
166	ESPINHEIRA-SANTA BIOHS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
167	ESPINHEIRA-SANTA BRASMED	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
168	ESPINHEIRA-SANTA HERBARIUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
169	EUCAPTUS GLOBULUS COMPOSTO KRIFF	1003021	ANTITUSSIGENOS-ASSOC. MEDIC.
170	EX-LAX	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
171	EXTRATO DE FLUIDO GLYCYRRHIZA GLABRA	1004001	EXPECTORANTES
172	EXTR. SECO DE CAST. DA INDIA+EXTR. SECO DE HAMAMELIS	0303003	TERAP. VARICOSA INCLUSIVE ANTI-HEMORR.
173	EXTR. SECO DE CIMICIFUGA RACHEMOS L. NUTT	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
174	EXTRATO SECO DE CIMICIFUGA RACHEMOS L NUTT	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
175	EXTRATO SECO DE HYPERICUM PERFORATUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
176	EXTRATO SECO DE HYPERICUM PERFORATUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
177	EXTRATO SECO DE HYPERICUM PERFORATUM L.	0904015	ANTIDEPRESSIVOS
178	EXTRATO SECO DE HYPERICUM PERFORATUM L.	0904015	ANTIDEPRESSIVOS
179	EXTRATO SECO DE PANAX GINSENG	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
180	EXTRATO SECO DE PANAX GINSENG	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
181	EXTRATO SECO DE PIPER METHYSTICUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
182	EXTRATO SECO DE PIPER METHYSTICUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
183	EXTRATO SECO DE RHAMNUS PURSHIANA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
184	EXTRATO SECO DE VACCINIUM MYRTILLUS L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
185	EXTRATO SECO DE VALERIANA OFFICINALIS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
186	EXTRATO SECO DE VITEX AGNUS CASTUS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
187	FARMAKAVA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
188	FEMIKLIMAN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
189	FEMITEX	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
190	FIBRACARE	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
191	FISIOGEN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES

192	FITOBOLDUS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
193	FITOCASTAN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
194	FITOCOLD	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
195	FITODRIL	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
196	FITOGEST	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
197	FITOGIBRE	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
198	FITOHIPÉRICO	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
199	FITOKAVA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
200	FITOSOY	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
201	FLAVOMAX	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
202	FORTILAN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
203	FUCUS HERBARIUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
204	FUCUS VESICULOSUS L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
205	FUCUS VESICULOSUS L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
206	FUCUS VESICULOSUS L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
207	FUCUS VESICULOSUS L. , EXTRATO SECO	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
208	GAMALINE V	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
209	GAMAX	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
210	GARRA DO DIABO BRASMED	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
211	GARRA DO DIABO GOTAS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
212	GARRA DO DIABO ORIENT	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
213	GASTRINON	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
214	GENGIBRE HERBARIUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
215	Giamebil	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
216	GINCOBEM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
217	GINKGO ES	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
218	GINKGO BILOBA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
219	GINKGO BILOBA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
220	GINKGO BILOBA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
221	GINKGO BILOBA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
222	GINKGO BILOBA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
223	GINKGO BILOBA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
224	GINKGO BILOBA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
225	GINKGO BILOBA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
226	GINKGO BILOBA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
227	GINKGO BILOBA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
228	GINKGO BILOBA L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
229	GINKGO BILOBA L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
230	GINKGO BILOBA L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
231	GINKGO BILOBA L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
232	GINKGO BILOBA L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
233	GINKGO BILOBA L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
234	GINKGO BILOBA L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
235	GINKGO BILOBA L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
236	GINKGO BILOBA L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
237	GINKGO BIOHS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
238	GINKGO BRASMED	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
239	GINKGO FLORA MEDICINAL	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
240	GINKGO MAX	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
241	GINKGOBILON	0405019	ANTIVERTIGINOSOS
242	GINKGOBILON	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
243	GINKGOKAPS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
244	GINKGOTI	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
245	GINKHERB	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
246	GINKO BILOBA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
247	GINKOFARMA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
248	Ginkoloba	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
249	Ginseng Biohs	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
250	GINSENG BRASILEIRO HERBARIUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
251	GINSENG BRASMED	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
252	GINSENG FLORA MEDICINAL	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
253	GINSENG ORIENT	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
254	GLICOSE HYPERTONICA	0111041	NUTRIENTES PARENTERAIS
255	GLYCINE MAX L. MERRIL	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
256	GLYCYRRHIZA GLABRA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
257	GREENSENG	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
258	GUACOFLUS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES

259	GUACOVITA	1201050	FITOTERAPICO COMPOSTO
260	GUAPA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
261	GUARANÁ	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
262	Guaraná - Flora Amazon	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
263	GUARANÁ GOTAS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
264	GUARANA BIOHS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
265	GUARANÁ DO AMAZONAS SANITAS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
266	GUARANA HERTZ	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
267	Guaraná Yanten	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
268	GUARANAX	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
269	HAKOP	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
270	HAMAMÉLIS POMADA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
271	HARPAGOPHYTUM PROCUMBENS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
272	HARPAGOPHYTUM PROCUMBENS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
273	HARPAGOPHYTUM PROCUMBENS (BURCHEL) DC.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
274	HARPAGOPHYTUM PROCUMBENS DC.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
275	HARPAGOPHYTUM PROCUMBENS, EXTRATO SECO	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
276	HEPATOZAN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
277	HERCAP	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
278	Hilaris	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
279	HIPERICO BRASMED	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
280	HIPERIFARMA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
281	HYPERICUM PERFORATUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
282	HYPERICUM PERFORATUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
283	HYPERICUM PERFORATUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
284	HYPERICUM PERFORATUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
285	HYPERICUM PERFORATUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
286	HYPERICUM PERFORATUM EXTRATO	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
287	HYPERICUM PERFORATUM L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
288	HYPERICUM PERFORATUM L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
289	HYPERICUM PERFORATUM L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
290	HYPERICUM PERFORATUM L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
291	HYPERICUM PERFORATUM L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
292	HYPERIGREEN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
293	HYPERSONIL	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
294	HYPNORM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
295	HYVEN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
296	IMUNNAL	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
297	IMUNOFEN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
298	IMUNOGREEN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
299	ISOFARMA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
300	ISOFLAVERITAS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
301	ITIÔ	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
302	KALYPTOSAN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
303	KAVA KAVA FLORA MEDICINAL	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
304	KAVA KAVA BRASMED	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
305	KAVACIN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
306	KAVAGREEN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
307	KAVAHEXAL	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
308	KAVAKAN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
309	KAVA-KAVA BIOHS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
310	Kava-Kava Herbarium	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
311	KAVAMED	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
312	KAWA KAWA ORIENT	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
313	KELP	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
314	KG	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
315	KG	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
316	LAX BIOHS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
317	LAXOFIBRA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
318	LAXSOTRIN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
319	LINEVIT	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
320	LUTENE HERBARIUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
321	MALVA SYLVESTRE	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
322	MALVIN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
323	MARACUJA GOTAS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
324	MARACUJÁ HERBARIUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
325	MATRICARIA RECUTITA EXTRATO DAS FLORES	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES

326	MAYTENUS ILICIFOLIA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
327	MELISSAM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
328	MELXI	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
329	MENCIRAX	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
330	MENOCIMED	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
331	MENOVITA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
332	MIGREX	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
333	NALLE	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
334	NASTURTIUM OFFICINALE	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
335	NASTURTIUM OFFICINALE + ASSOCIAÇÕES	1003003	ANTITUSSIGENOS
336	NATUBILOBA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
337	NERVITON	1201042	FITOTERAPICOS ASSOCIADOS
338	OENOTHERA BIENNIS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
339	OXIAN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
340	PANAX GINSENG	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
341	PANAX GINSENG	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
342	PANAX GINSENG	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
343	PANAX GINSENG C. A. MEY	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
344	PANAX GINSENG C. A. MEYER	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
345	PANAX GINSENG C.A. MEY.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
346	PANAX GINSENG C.A. MEYER	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
347	PASIC	1201050	FITOTERAPICO COMPOSTO
348	PASSICALM	1201050	FITOTERAPICO COMPOSTO
349	PASSIFLORA INCARNATA L	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
350	PASSIFLORA ORIENT	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
351	PAULINIA CUPANA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
352	PAULINIA CUPANA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
353	PAULINIA CUPANA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
354	PAULINIA CUPANA, KUNTH	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
355	PAULLINIA CUPANA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
356	PAULLINIA CUPANA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
357	PAULLINIA CUPANA KUNTH	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
358	PERMEAR	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
359	PEUMUS BOLDUS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
360	PEUMUS BOLDUS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
361	PEUMUS BOLDUS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
362	PEUMUS BOLDUS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
363	PEUMUS BOLDUS, MOLINA.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
364	PHYTOVEIN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
365	P.INCARNATA + S.ALBA + C. OXYACANTHA L.	1201050	FITOTERAPICO COMPOSTO
366	PIPER METHISTICUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
367	PIPER METHYSTICUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
368	PIPER METHYSTICUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
369	PIPER METHYSTICUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
370	PIPER METHYSTICUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
371	PIPER METHYSTICUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
372	PIPER METHYSTICUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
373	PIPER METHYSTICUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
374	PIPER METHYSTICUM G. FORSTER	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
375	PIPER METHYSTICUM (KAVA-KAVA)	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
376	POMADA DE ARNICA BRASMED	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
377	PRINACHOL	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
378	PRISOVENTRIL	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
379	PROBEKS	0401056	CICATRIZANTES
380	PROCTOCAPS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
381	PRO-IMMUNE	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
382	PROSNAT	0504998	OUTROS PROD. COM ACAO NO TRATO URINARIO
383	PROSNAT	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
384	PROSTACAL	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
385	PROSTAGEM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
386	PROSTASAW	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
387	PRYMOX	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
388	QUIMBEL	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
389	RANA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
390	Recalm	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
391	REDUFAT	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES

392	RESFRINON	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
393	REUMALIV	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
394	Reumatri	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
395	REVIGONAL	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
396	RHAMMUS PUSHIANA DC.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
397	RHAMNUS PURSHIANA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
398	RHAMNUS PURSHIANA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
399	RHAMNUS PURSHIANA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
400	RHAMNUS PURSHIANA D.C.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
401	RHAMNUS PURSHIANA D.C.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
402	RHEUM PALMATUM L.	0106992	OUTROS LAXANTES
403	ROSMARINUS OFFICINALIS L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
404	RUSCUS ACULEATUS L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
405	SABUGUEIRO YANTEN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
406	SAW PALMETTO BRASMED	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
407	SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
408	SEDACAL	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
409	SEMENTE DE UVA ORIENT	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
410	SENE BRASMED	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
411	SENE HERBARIUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
412	Sene icar	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
413	SENE ORIENT	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
414	SENE YANTEN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
415	SENNA ALEXANDRINA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
416	SENNA ALEXANDRINA MILLER	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
417	SENSIFEMI	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
418	SERENOA REPENS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
419	SERENOA REPENS BART.	0504998	OUTROS PROD. COM ACAO NO TRATO URINARIO
420	SERENOA REPENS (BARTRAM) SMALL	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
421	SERENOA REPENS (Bartr.)Small.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
422	SERENUS	1201042	FITOTERAPICOS ASSOCIADOS
423	SILYBUM MARIANUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
424	SOY 50	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
425	Soyfemme	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
426	SP	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
427	STEINONIT	0105015	COLAGOGOS E COLERETICOS
428	TANACETO BIOHS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
429	TANACETO BRASMED	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
430	TANACETUM PARTHENIUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
431	TANACETUM PARTHENIUM (L.) SCHULTZ BIP.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
432	TANACIL	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
433	TANAFEW	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
434	TENAG	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
435	TENITRAT	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
436	TENLIV	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
437	TENSIANE	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
438	TILIV L	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
439	TINTURA DE HIPERICO HERBARIUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
440	TINTURA DE JALAPA COMPOSTA	0106003	LAXANTES
441	TP - A	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
442	TRAMINER	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
443	TRIPULMIN	1004026	EXPECT. BALSAM. E MUCOLITICO
444	UEPG-CALENDULA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
445	UNHA DE GATO HERBARIUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
446	UROMED	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
447	URTIGA DIOICA L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
448	VALECALM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
449	VALEGIN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
450	VALERIANA BRASMED	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
451	VALERIANA OFFICINALIS + HUMULUS LUPULUS	1201042	FITOTERAPICOS ASSOCIADOS
452	VALERIANA OFFICINALIS L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
453	VALERIANA OFFICINALIS L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
454	VALERIMED	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
455	VALERIN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
456	VALERIX	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
457	VALLERIANA OFFICINALIS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES

458	VARILISE	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
459	VECASTEN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
460	VENAESCULUS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
461	VENOCIN	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
462	VERILAX	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
463	VINIVIT	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
464	VITAKAVA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
465	VITATRAT	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
466	VITENON	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
467	VITEX AGNUS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
468	VITEX AGNUS - CASTUS L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
469	VITEX AGNUS CASTUS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
470	VITEX AGNUS CASTUS L.	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
471	VITEX BRASMED	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
472	VITIS VINIFERA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
473	VITIS VINIFERA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
474	VITIS VINIFERA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
475	VITIS VINIFERA	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
476	VITTIS	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
477	XAROPE DE EUCALIPTO BRASMED	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
478	XAROPE DE GUACO HERBARIUM	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
479	ZARV	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES
480	ZORTRIX	1201034	FITOTERAPICO SIMPLES