



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ENERGIA NUCLEAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIAS ENERGÉTICAS E
NUCLEARES

SUZANA OLIVEIRA SANTOS

**METODOLOGIA ALTERNATIVA PARA A DETERMINAÇÃO DE
ELEMENTOS QUÍMICOS EM MEDICAMENTOS DE REFERÊNCIA,
GENÉRICO E SIMILAR**

Recife

2020

SUZANA OLIVEIRA SANTOS

**METODOLOGIA ALTERNATIVA PARA A DETERMINAÇÃO DE
ELEMENTOS QUÍMICOS EM MEDICAMENTOS DE REFERÊNCIA,
GENÉRICO E SIMILAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Dosimetria e Instrumentação Nuclear.

Orientador: Prof. Dr. Romilton dos Santos Amaral.

Coorientadora: Dra. Vivianne Lúcia Bormann de Souza.

Recife

2020

Catálogo na fonte
Bibliotecária Margareth Malta, CRB-4 / 1198

S237m Santos, Suzana Oliveira.
Metodologia alternativa para determinação de elementos químicos em medicamentos de referência, genérico e similar / Suzana Oliveira Santos. - 2020.
51 folhas, il., gráfs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Romilton dos Santos Amaral.
Coorientadora: Dra. Vivianne Lúcia Bormann de Souza.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares, 2020. Inclui Referências.

1. Energia nuclear. 2. Medicamento. 3. Contaminação. 4. Indústria. 5. Metais-traço. 6. Saúde. I. Amaral, Romilton dos Santos (Orientador). II. Souza, Vivianne Lúcia Bormann de (Coorientadora). III. Título.

UFPE

612.01448 CDD (22. ed.)

BCTG/2021-89

SUZANA OLIVEIRA SANTOS

METODOLOGIA ALTERNATIVA PARA A DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS QUÍMICOS EM MEDICAMENTOS DE REFERÊNCIA, GENÉRICO E SIMILAR

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Aprovada em: 28/09/2020

Orientador: Prof. Dr. Romilton dos Santos Amaral.

Coorientadora: Profa. Dra. Vivianne Lúcia Bormann de Souza.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Araújo dos Santos Júnior (Examinador Interno)

Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Mariana Brayner Cavalcanti Freire Bezerra (Examinadora Interna)

Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Alberto Antonio da Silva (Examinador Externo)

Instituto Federal de Pernambuco

Dedico esse trabalho a minha neta, Manuela Santos de Melo Medeiros Pedrosa, que nasceu em um ano difícil para todos, mas que veio para me incentivar e alegrar a minha vida.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, eu gostaria de agradecer a Deus por ter me guiado até o momento, sinto-me abençoada por Ele ter me dado força e coragem para prosseguir.

Agradeço ao meu professor orientador Dr. Romilton dos Santos Amaral pela grande oportunidade de fazer parte do grupo de Radioecologia e ainda por acreditar na pesquisa desenvolvida, apesar das dificuldades que existiram ao longo do caminho.

Gostaria de agradecer a minha coorientadora Dra. Vivianne Souza por ter me acompanhado nesse caminho e me fazer acreditar que nada pode nos parar. E aos participantes da banca, Professor Dr. Alberto, Professor Dr. José Araújo e Professora Dra. Mariana Brayner por aceitarem o convite e contribuírem com suas considerações valiosas.

Agradeço a minha mãe Zilda, minha filha Bárbara, minhas irmãs Silvana e Suely, minha sobrinha Rafaela, meus sobrinhos Rafael, Gabriel e Vinícius e todos os familiares e amigos, por me incentivarem, sempre que tudo parecia que iria sucumbir.

Agradeço também a todos os colegas do grupo de Radioecologia por me incentivarem a prosseguir e por acreditarem que todos somos capazes de alcançar nossos objetivos com humildade e coragem.

E agradeço a outros colegas do DEN por dividirem não só os momentos de alegria, mas alguns momentos de lágrimas.

Os agradecimentos também se estendem ao CRCN por disponibilizar o equipamento EDXRF para as análises da matriz estudadas no laboratório de Análises Ambientais, e à CNEN pela bolsa de fomento do mestrado durante os dois anos dessa jornada; e a todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para o desenvolvimento desse estudo.

RESUMO

Metais em níveis de traços são altamente bioacumuláveis podem causar intoxicação ao organismo humano, embora os seres vivos necessitem de pequenas quantidades, incluindo Co, Cu, Mn, Mo, V, Sr, e Zn, para a realização de funções vitais no organismo. Níveis excessivos desses elementos podem ser altamente tóxicos. Outros metais como o Hg, Pb e Cd não possuem função relacionada aos sistemas orgânicos, e sua acumulação pode provocar patologias. De acordo com o Conselho Internacional de Harmonização de Requisitos Técnicos para Produtos Farmacêuticos de Uso Humano (ICH) que desenvolve diretrizes regulatórias para a indústria farmacêutica existem limites máximos aceitáveis para a presença de metais-traço em medicamentos, esses metais-traço podem estar como componentes dos fármacos ou como contaminantes provenientes de máquinas ou no manuseio de extratos de plantas medicinais e em embalagens dos medicamentos. O controle da qualidade da indústria farmacêutica é indiscutivelmente de alto padrão. Porém alguns estudos têm demonstrado a presença de metais-traço em medicamentos e vem se tornando um assunto relevante para avaliar o grau de exposição e possíveis consequências para a saúde humana. O objetivo do trabalho foi desenvolver uma metodologia para análise quantitativa de metais-traço em medicamentos com diferentes ingredientes ativos para tratamento de pressão arterial (Furosemida e Captopril) e diminuição do colesterol (Sinvastatina) procedentes de diferentes laboratórios (referência, genérico e similar) foram adquiridos em farmácias da região metropolitana de Recife-PE. As amostras foram analisadas com um sistema EDX-RF de baixo custo de análise. Entre os elementos investigados, o Fe foi quem apresentou os valores mais altos (50%) acima dos permitidos pela Farmacopeia Brasileira em amostras de Captopril similar e Sinvastatina de referência. Concentrações elevadas (90%) acima para alumínio também foram encontradas em amostras de Captopril genérico, Furosemida de referência, similar e genérico e na Sinvastatina de referência. Alguns elementos não foram detectados, pois ficaram abaixo do limite de detecção do equipamento. Estudos com uso de outras metodologias são necessários para demonstrar que o equipamento EDX-RF também pode ser utilizado para análise de metais traços em medicamentos, por ser uma técnica não destrutiva, torna-se uma técnica relevante para análise de matriz dessa natureza.

Palavras-chave: Medicamento. Contaminação. Indústria. Metais-traço. Saúde.

ABSTRACT

Metals at trace levels are highly bioaccumulative and can cause intoxication to the human organism, although living beings need small amounts of some metals, including Co, Cu, Mn, Mo, V, Sr, and Zn, to perform functions vital in the body. Excessive levels of these elements can be extremely toxic. Other metals such as Hg, Pb and Cd have no function related to organic systems, and their accumulation can cause pathologies. According to the International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceutical Products for Human Use (ICH) which develops regulatory guidelines for the pharmaceutical industry, there are maximum acceptable limits for the presence of trace metals in medicines, these trace metals can be as components of drugs or as contaminants from machines or in the handling of extracts of medicinal plants and in drug packaging. The quality control of the pharmaceutical industry is undoubtedly of a high standard. However, some studies have demonstrated the presence of trace metals in medicines and have become a relevant subject to assess the degree of exposure and possible consequences for human health. The objective of the work was to develop a methodology for quantitative analysis of trace metals in medicines with different active ingredients for blood pressure treatment (Furosemide and Captopril) and cholesterol lowering (Simvastatin) from different laboratories (reference, generic and similar) were purchased from pharmacies in the metropolitan region of Recife-PE. The samples were analyzed with a low-cost EDX-RF analysis system. Among the elements investigated, Fe was the one that presented the highest values (50%) above those allowed by the Brazilian Pharmacopeia in samples of similar Captopril and reference Simvastatin. High concentrations (90%) above for aluminum have also been found in samples of generic Captopril, reference, similar and generic Furosemide and in reference Simvastatin. Some elements were not detected, as they were below the detection limit of the equipment. Studies using other methodologies are necessary to demonstrate that the EDX-RF equipment can also be used for the analysis of trace metals in medicines, as it is a non-destructive technique, it becomes a relevant technique for matrix analysis of this nature.

Keywords: Medication. Contamination. Industry. Trace metals. Health.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Diagrama a seguir mostra um exemplo de materiais ou componentes típicos usados na produção de um medicamento	22
Figura 2 - Fórmula estrutural do captopril	29
Figura 3 - Fórmula estrutural da furosemida.....	30
Figura 4 - Fórmula estrutural da sinvastatina.....	31
Figura 5 - Preparação para triturar os medicamentos	33
Figura 6 - Preparo para Análise das Amostras	34
Figura 7 - EDX-RF 720 da Shimadzu.....	35
Figura 8 - Esquema do funcionamento do EDXRF.....	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Limites de exposição estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira	21
Tabela 2 - Limites de exposição estabelecidos pelo ICH.....	24
Tabela 3 - Limites de exposição estabelecidos pelos Estados Unidos	26
Tabela 4 - Medicamentos analisados no presente estudo.....	32
Tabela 5 - Resultados da concentração de metais traço em padrões certificados.....	37
Tabela 6 - Análise de metais em níveis de traços no medicamento Sinvastatina	38
Tabela 7- Análise de metais em níveis de traço no medicamento Furosemida	39
Tabela 8 - Análise de metais em níveis de traços no medicamento Captopril	40

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	14
2.1	OBJETIVO GERAL.....	14
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
3	REVISÃO DE LITERATURA	15
3.1	EVOLUÇÃO FARMACÊUTICA	15
3.2	ESTUDO DOS METAIS EM NÍVEIS DE TRAÇOS	16
3.3	ANÁLISE DE METAIS EM NÍVEIS DE TRAÇOS EM PRODUTOS FARMACÊUTICOS	17
3.4	RAIOS-X	18
3.5	ASPECTOS GERAIS SOBRE APLICAÇÕES ANALÍTICAS UTILIZANDO EDX - RF.....	19
3.6	LEGISLAÇÃO VIGENTE.....	20
3.6.1	Farmacopeia Brasileira	20
3.6.2	Conselho Internacional para Harmonização de Requisitos Técnicos para Medicamentos (ICH)	21
3.6.3	Análise de metais em nível de traços sugerida pela Farmacopeia dos Estados Unidos	25
3.7	PRINCIPAIS TIPOS DE MEDICAMENTOS UTILIZADOS NO BRASIL	26
3.7.1	Medicamentos de Referência	26
3.7.2	Medicamento Genérico	28
3.7.3	Medicamento Similar	28
3.8	MEDICAMENTOS ALVO DO ESTUDO	29
3.8.1	Captopril	29
3.8.2	Furosemida	30
3.8.3	Sinvastatina	30
4	MATERIAL E MÉTODOS	32
4.1	CARACTERIZAÇÃO E COLETA DAS AMOSTRAS	32
4.2	PROCEDIMENTOS PARA TRATAMENTO DAS AMOSTRAS	32
4.3	ANÁLISE POR FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X POR DISPERSÃO DE ENERGIA (EDX-RF).....	34
4.4	CONTROLE DE QUALIDADE E ANÁLISE ESTATÍSTICA	36

SUMÁRIO

6	CONCLUSÃO	44
	REFERÊNCIAS	45

1 INTRODUÇÃO

Nos medicamentos podem existir metais em nível de traço que, quando em excesso, são prejudiciais à saúde. Alguns destes podem causar intoxicação ao organismo humano, pois, podem ser altamente reativos e bioacumuláveis (EC COMMISSION, 2006). Metais em nível de traço como, As, Pb, Cd e Hg estão entre os mais tóxicos, quando em seus estados de oxidação biodisponíveis, necessitando de prioridade de monitoramento e controle, de acordo com a Agência para o Registro de Substâncias Tóxicas e Doenças (ATSDR), vinculada ao governo americano (GUILHERME, 1999). Estudos mostram que esses elementos podem induzir a uma maior toxicidade, por não estar relacionados com nenhuma função biológica (LOZI, 2019).

De maneira geral, elementos em nível de traços englobam metais e não metais, tais como Se, e alguns biologicamente essenciais, como Co, Mn, Zn, Cu e B que, podem ser tóxicos, quando a concentração no organismo for superior aos níveis toleráveis. Entretanto, outros fatores devem ser incluídos para poder se relatar a real toxicidade desses elementos, tais como: concentração, tipo de organismos expostos, capacidade de assimilação dos metais, vias de exposição (oral, parenteral e inalatório), entre outros (PEIJNENBURG; JAGER, 2003).

Segundo publicação de ERNST (2020), elementos traços tanto podem fazer parte das preparações farmacêuticas, como serem encontrados como contaminantes provenientes do atrito entre os ingredientes e a superfície interna das máquinas, nesse caso podendo estar na forma neutra, manuseio ou extratos de plantas medicinais, mesmo involuntariamente, ou seja, como um erro operacional, ou falta de limpeza de máquinas ou utensílios ou mesmo absorvidos pelo solo no caso de plantas medicinais. Assim, dependendo da concentração, existe a possibilidade desses contaminantes provocarem sérias consequências para a saúde humana pelo consumo dos medicamentos com excesso de metais traço principalmente aqueles que são de uso prolongado, tais como os anti-hipertensivos (Captopril e Furosemida), e os medicamentos hipolipidêmicos que evitam problemas cardiovasculares (Sinvastatina).

A Farmacopeia brasileira não apresenta em suas orientações, uma metodologia para análise quantitativa para determinação de elementos químicos em medicamentos quanto se trata da especificação de padrões certificados. Desta forma, esses padrões devem ser analisados juntamente com as amostras de medicamentos por equipamentos de laboratórios que tenham registro de certificação oficial. As farmacopeias internacionais como, por exemplo, a dos Estados Unidos e da Europa apresentam métodos de análise ainda não tão eficientes, por ainda adotarem metodologias que são baseadas em testes de comparação de padrões pré-preparados

de turvação, que determinam os valores apenas de forma qualitativa, por meio de análise visual. Porém a análise qualitativa será apenas um parâmetro para as análises quantitativas.

É provável que, utilizando-se de uma melhor metodologia na análise de medicamentos o governo possa, no futuro, evitar custos dispendiosos com patologias secundárias adquiridas em consequência da à presença de metais em nível de traços acima do especificado pelos organismos governamentais ligados a saúde, aumentando a segurança da população para utilização de medicamentos, principalmente os que são prescritos para serem utilizados ao longo da vida do paciente.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi utilizar Florescência de raios-X por dispersão de energia (EDX-RF) para quantificar metais em nível de traço em medicamentos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Mostrar que a técnica EDX-RF é viável para definir níveis traço de metais em medicamentos como uma metodologia alternativa, rápida e sem a necessidade de um procedimento dispendioso em relação a custo e tempo de digestão da amostra (ou seja, técnica não destrutiva);
- b) Qualificar e quantificar elementos traços em medicamentos (Furosemida, Captopril e Sinvastatina) de uso prolongado através de EDX-RF.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 EVOLUÇÃO FARMACÊUTICA

Ao longo dos séculos, a humanidade sempre esteve susceptível a doenças e buscava maneiras de tratá-las de acordo com o que era utilizado em cada época e disposição na natureza. Mesmo sem o conhecimento científico, os povos utilizavam ervas de acordo com suas culturas e crenças. Por volta do século XIX não haviam moléculas desenvolvidas e os medicamentos eram à base de produtos naturais e com formulações ainda não conhecidas (MELO et al., 2006). Assim, com o crescimento da indústria farmacêutica, houve a necessidade de criar agências reguladoras. A principal função dessas instituições é atuar no sentido de prevenir, eliminar ou minimizar o risco sanitário envolvido nas áreas de atuação, promovendo e protegendo a saúde da população.

Para evitar intoxicação ou efeitos adversos houve a necessidade também de controlar as prescrições médicas e automedicação, foram desenvolvidas normativas para que houvesse controle e vendas de vários produtos farmacêuticos.

A criação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) integrou a responsabilidade da Farmacopeia Brasileira a agência tornando a fiscalização sanitária de medicamentos mais rígida. Assim, a indústria farmacêutica teve a necessidade de acelerar inovações em mecanização e técnicas analíticas para adequação das normas implantadas pela ANVISA.

Houve também, a necessidade de se fazer algumas definições quanto à diferenciação entre medicamentos, drogas, fármaco e remédio. Sendo: medicamentos - fármacos com propriedades benéficas, comprovadas experimentalmente (Lei n° 5991, dezembro de 1973); droga - substância que modifica a função fisiológica com ou sem interação benéfica (Organização Mundial de Saúde, 1993); fármaco - é uma droga que tem uma estrutura química já definida e, devido a vários estados químicos, são conhecidos seus efeitos no organismo sendo utilizada para uso benéfico (Portaria n.º 3916/MS/GM, 1998); remédio - segundo o Dicionário Aurélio da Língua Portuguesa (FERREIRA, 2001) é qualquer agente que cure, alivie ou evite doença, contudo é um conjunto mais amplo, desde um medicamento até fisioterapia. Portanto, o nome medicamento será considerado para a Furosemida, Captopril e Sinvastatina, utilizados no presente trabalho.

3.2 ESTUDO DOS METAIS EM NÍVEIS DE TRAÇOS

Essa denominação tem sido aceita em muitas publicações, em relação à utilização de “metais pesados”, pois nem mesmo a União internacional da Química Pura e Aplicada (IUPAC) oficializou essa definição (ANDRADE, 2011). Sendo assim, o termo utilizado no presente estudo será metais em nível de traço, para que seja melhor compreendido em relação a outros constituintes que possuem outras concentrações, como por exemplo, elementos minoritário, majoritários e ultra traço.

Nas avaliações de Garcia (2016), os metais em nível de traço considerados essenciais, tais como Fe, Co, Cu, Zn, Mn, Mo, Se, entre outros, participam de complexos processos fisiológicos e bioquímicos envolvidos no metabolismo humano. O organismo humano requer, de maneira geral, a presença de minerais, que são elementos inorgânicos, sem os quais o ciclo de crescimento e a reprodução não podem ser concluídos. Em seus estudos publicado em 1987, Baker constatou que a ação desses elementos ocasiona estresse nos organismos vivos, por proporcionarem mudanças fisiológicas, reduzindo as funções vitais do organismo. No geral, Pb, Cd, Hg, Cr, F, Br e I são relatados como tóxicos, porém, a necessidade diária de Cr para um indivíduo adulto é de 50 µg/dia, Se é no máximo 200 µg, e I a partir dos 14 anos até a idade adulta é de 150 µg.

Em relação a alguns metais traço, Bredesen (2018) comprovou que a presença de As, Pb e Cd no organismo humano pode afetar o funcionamento cerebral de forma negativa. Entretanto, esta toxicidade vai depender do tempo e do tipo de exposição, ou seja, doses iguais de diferentes metais podem ser absorvidas em concentrações distintas dependendo do órgão em questão. Como os metais são bioacumuláveis a exposição em um período longo de tempo ao Cd, por exemplo, pode levar a acumulação deste metal em órgãos-alvos como os rins, mas não produzirá efeitos clínicos óbvios até que essa acumulação seja em excesso, de modo a levar a uma deficiência renal inicial e conseqüentemente ao aparecimento da doença renal crônica ou outras doenças como a osteoporose (FORUM, 2007).

Elementos essenciais como o Al e o Fe, estão presentes no cotidiano do homem por serem aplicados na indústria em geral, em medicamentos e em utensílios domésticos. Todavia estudos realizados por Falongola (2015) e Walton (2010), comprovaram que, o acúmulo de Fe em excesso no sistema nervoso central (SNC) é responsável por doenças neurodegenerativas como Alzheimer e Parkinson. Também se deve esclarecer que concentrações elevadas de Ba, Cu, Mn, Ni e Zn, podem causar vômitos, dores abdominais, diarreia, falta de apetite, problemas

de fertilidade além de patologias mais graves, entre elas, disfunção cerebral, conforme consta na publicação da "Agency for Toxic Substances and Disease Registry" (2012).

3.3 ANÁLISE DE METAIS EM NÍVEIS DE TRAÇOS EM PRODUTOS FARMACÊUTICOS

O meio acadêmico demonstrou interesse em análises de metais em níveis de traço em produtos farmacêuticos, até mesmo antes da publicação de normativas. As pesquisas iniciaram pela preocupação com a intoxicação que os metais em nível de traço podiam causar ao longo da vida e a necessidade de serem implantadas diretrizes que contribuíssem para a publicação de novos estudos envolvendo metais em níveis de traços. Desde a década de 90 já haviam artigos publicados com análise por espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) (GARCIA, 2016).

Os métodos descritos para análise de metais em níveis de traços são a espectrometria de emissão atômica, baseada na emissão da radiação eletromagnética das regiões visível e ultravioleta do espectro eletromagnético por átomos neutros ou átomos ionizados excitados e o segundo método empregado é o ensaio limite para formação de partículas, sendo esta apenas uma análise de comparação visual de acordo com a intensidade da cor formada de partículas sólidas dos sulfetos de metais pesados, em suspensão (Farmacopeia Brasileira, 2019).

Porém, outras técnicas espectroanalíticas foram desenvolvidas para análise de produtos farmacêuticos. As metodologias farmacopeicas descrevem a utilização de equipamentos para análise de metais em nível de traços, como, Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS), AAS com forno de grafite (GFAAS), Espectrometria de Emissão Ótica por Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES) e Espectrometria de Massas por Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS).

A técnica FAAS é utilizada para análises em níveis de mg/L onde a chama possui finalidade de transformar íons e moléculas em átomos no seu estado fundamental, a análise vai depender inteiramente do fato de que átomos não combinados e livres irão absorver a luz a um determinado comprimento de onda, a fonte de energia para a produção do átomo livre é o calor e a maior limitação da técnica é o sistema de nebulizador-chama onde tem um sistema de amostragem relativamente ineficiente, porque apenas uma parte da amostra chega até a chama, portanto tecnologias foram desenvolvidas para automatizar o método e atomização eletrotérmica usando um forno de grafite foi desenvolvido e o método GFAAS é utilizado para determinação de baixa concentração ($\mu\text{g/L}$), a chama do FAAS é substituída por um tubo de

grafite aquecido. O ICP-OES é uma técnica que se baseia na detecção da radiação eletromagnética emitida por átomos neutros ou íons excitados nas regiões do espectro eletromagnético visível e ultravioleta e o ICP-MS, diferente do AAS, possui energia suficiente para promover a excitação da maioria dos elementos químicos existentes, possibilitando a quantificação de uma ampla faixa de analitos.

Apesar das farmacopeias descreverem os equipamentos para análise de metais traços, os métodos de digestão diferem para cada elemento, com utilização de diferentes ácidos para cada um deles, o que torna o método oneroso e exige bastante tempo.

3.4 RAIOS-X

Os raios-X foram descobertos em 1895, pelo físico Wilhelm Röntgen quando realizava experimentos com os raios catódicos; é uma forma de radiação eletromagnética, onde o comprimento de onda tem uma variação entre 0.005 e os 10nm.

Os raios-X têm a capacidade de ionizar matéria e produzir danos biológicos (alteram as funções específicas das células).

A regra geral para elétrons, partículas alfa ou prótons é que quando uma fonte composta por partículas carregadas irradia um conjunto de átomos, ocorre uma desaceleração dessas mesmas partículas devido às forças de Coulomb e devido à capacidade de ionizar os átomos do alvo, irão ocorrer também transições eletrônicas nas diversas camadas dos mesmos (GONÇALVES, 2017), ocorrendo assim a emissão dos raios-X.

De acordo com Jenkins et. al. (1981), quando um feixe monocromático de raios-X interage com uma amostra, ocorre dois fenômenos básicos: dispersão e fluorescência.

Segundo Egito (2017), as fluorescências de raios-X são vistos em um espectro como uma linha, e um átomo pode emitir mais de um raio-X característico de energia única (mais de uma linha), pois diferentes elétrons podem ser ejetados e elétrons de camadas distintas podem preencher as vacâncias. O conjunto de linhas emitidas é característico de cada elemento.

Uma das utilidades da fluorescência de raio-X é a possibilidade de ser utilizada em métodos analíticos para determinação da composição química das amostras, pois o raio-x de fluorescência é característico de cada elemento, isto porque o comprimento de onda é específico do elemento que sofreu a transição do elétron. Contudo, conclui-se que é possível determinar a identidade de cada elemento e a quantidade disponível nas amostras.

Atualmente duas técnicas são utilizadas para analisar raios-x de fluorescência, sendo o EDX-RF e o WDXRF (fluorescência de raio-X por dispersão de comprimento de onda). O

EDX-RF, os raios são selecionados através de pulsos elétricos, sendo proporcionais às energias dos raios-X. WDXRF é feita a partir da separação dos comprimentos de onda característicos dos raios-X que emanam da amostra por difração, usando cristais.

3.5 ASPECTOS GERAIS SOBRE APLICAÇÕES ANALÍTICAS UTILIZANDO EDX-RF

O equipamento EDX-RF é uma técnica analítica elementar utilizado para análises quantitativas de diversos tipos de amostras independente das matrizes, como: solo, planta e sedimentos. O método consiste em excitar a amostra com um feixe de raios X e se obter o espectro emitido pela amostra, ao qual vai conter picos característicos dos diferentes elementos presentes, permitindo assim, uma determinação quali-quantitativa da mesma, permitindo avaliar vários elementos químicos de maneira simultânea a partir de concentrações de 10 µg/g (JOSHI et al., 2006; SOUSA et al. 2013), porém a sensibilidade do sistema pode variar bastante dependendo do elemento analisado e de algumas interferências. Esse equipamento apresenta grandes vantagens, pois possui execução rápida, baixo custo, dispensa o preparo químico, ou seja, é uma técnica não destrutiva.

A técnica de EDX-RF pode medir quase todos os elementos da tabela periódica, como as medições dessa técnica são realizadas na atmosfera, ocorre uma atenuação severa dos raios X de fluorescência de baixa energia, a menos que precauções especiais sejam tomadas e dessa forma existe uma limitação quanto à detecção de elementos leves. (POTTS, 2008)

O método exige curvas de calibração com materiais de referências certificados para cada elemento presente na amostra, tornando-se uma técnica comparativa que relaciona a intensidade da concentração dos elementos com os raios X característicos.

Diversos setores utilizam a técnica tanto para pesquisa, quanto para monitoramento, como, produção de cimento, produção de vidro, mineração, beneficiamento mineral, ferro, aço e metais não ferrosos, petróleo e petroquímicas, polímeros e setores relacionados, perícia forense, produtos farmacêuticos, produtos de saúde, meio ambiente, alimentos, cosméticos e bens do Patrimônio Histórico Cultural; por ser um método direto, rápido, econômico e necessitando de pouco ou nenhum tratamento químico. O método EDX-RF, apesar de ser utilizado em diversos setores, tem sido pouco utilizado para produtos farmacêuticos e a farmacopeia brasileira indica o método, mas não descreve uma metodologia utilizando esse equipamento.

3.6 LEGISLAÇÃO VIGENTE

3.6.1 Farmacopeia Brasileira

No Brasil, o código Oficial Farmacêutico do país é a Farmacopeia Brasileira (FB), que é um documento oficial, que lista os requisitos mínimos (RDC 166/17) para a garantia da qualidade e da segurança dos medicamentos comercializados no país, permitindo os registros, o controle da qualidade e a fiscalização, sejam elas para medicamentos de referência, genéricos, similares, fitoterápicos, e para outras ações sanitárias de controle (ANVISA, 2017). Sendo assim, o Brasil possui farmacopeia própria e os parâmetros devem ser analisados de acordo com as recomendações.

De acordo com a Lei 6.360/76, quando um medicamento fiscalizado não está de acordo integralmente com às exigências impostas pela farmacopeia, poderá resultar no enquadramento do produto como alterado, adulterado ou impróprio para uso, incorrendo os responsáveis nas sanções e providências estabelecidas na Lei 6.437/77.

A Farmacopeia Brasileira reflete o avanço da ciência e da tecnologia do país, assegurando a qualidade de insumos para fins farmacêuticos importados ou medicamentos em uso no país, tornando os medicamentos mais confiáveis no mercado nacional e internacional (ANVISA 2010).

Os limites máximos de metais traços em medicamentos são descritos pelo método que estabelece limites de exposição no guia do ICH (2013) aceitos pela ANVISA e os mesmos estão descritos na farmacopeia brasileira.

Segundo o ICH (2013), níveis de exposição aceitáveis para impurezas elementares foram estabelecidos pelo cálculo de valores de PDE de acordo com os procedimentos para definir limites de exposição em produtos farmacêuticos (Pharmacopeial Forum, novembro-dezembro de 1989), e o método adotado pelo IPCS para avaliação de risco de produtos químicos à saúde humana (Critérios de Saúde Ambiental [EHC], OMS, 1994). Esses métodos são semelhantes aos usados pela US EPA (IRIS) e pela US FDA (Red Book) e outros. O método é descrito aqui para dar uma melhor compreensão da origem dos valores PDE.

Segundo a FB (2019), os valores máximos para os elementos relatados (Tabela 1) sugere o uso de espectrometria de absorção atômica e espectrometria de massas com fonte de plasma induzido.

Tabela 1- Limites de exposição estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira

Elemento	Uso oral Limite Máximo (µg/g)
Al	1,5
Cd	0,5
Pb	1,0
Hg	1,5
Cr	25
Cu	250
Mn	250
Mo	25
Ni	25
Pd	10
Pt	10
V	25

Fonte: Adaptado Farmacopeia Brasileira (2019).

Elementos como As, Cd, Pb e Hg devido à elevada toxicidade apresentam limites mais baixos que os demais. Devido à maior biodisponibilidade de elementos eventualmente presentes em substâncias utilizadas na fabricação de produtos parenterais, os limites especificados são inferiores aqueles relacionados para utilização por via oral (FARMACOPÉIABRASILEIRA, 2019).

Contudo, é importante ressaltar que, na ausência de monografia oficial de matéria-prima, formas farmacêuticas, correlatos e métodos gerais escritos na Farmacopeia Brasileira, poderá ser adotada monografia oficial, última edição, de um dos seguintes compêndios internacionais: Farmacopeia Alemã, Farmacopeia Americana, Farmacopeia Argentina, Farmacopeia Britânica, Farmacopeia Europeia, Farmacopeia Francesa, Farmacopeia Internacional (OMS), Farmacopeia Japonesa, Farmacopeia Mexicana, Farmacopeia Portuguesa (ANVISA, 2010).

3.6.2 Conselho Internacional para Harmonização de Requisitos Técnicos para Medicamentos (ICH)

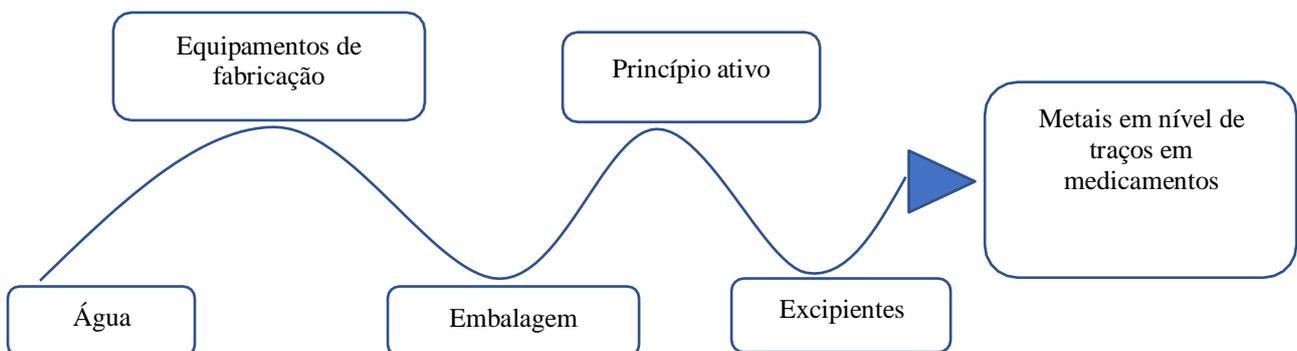
O ICH é responsável por elaborar guias técnicos que são a principal referência a nível mundial para o desenvolvimento e registo de medicamento, onde ao longo dos anos (desde sua criação em 1990), houve uma evolução para obter respostas, de maneira global, sobre o desenvolvimento de medicamentos.

Entre os guias técnicos do ICH, cita-se o Guia de Impurezas Elementares (Guideline for Elemental Impurities- Q3D) onde são estabelecidos limites das quantidades de Exposição Diária Permitida (PDE) para elementos tóxicos (ICH-Q3D, 2013).

De acordo com ICH (2013), os elementos avaliados nesta diretriz foram elaborados através da revisão dos dados disponíveis pelas publicações em revistas científicas, relatórios e estudos de pesquisas governamentais, padrões regulatórios internacionais, orientações, relatórios de pesquisa e avaliação da autoridade reguladora.

O guia também considera algumas fontes potenciais de impurezas elementares, ou seja, ao produzir um medicamento, podem ocorrer contaminações por materiais ou até mesmo componentes que fazem parte da fabricação. Assim, é necessário no momento da avaliação elementar, observar o que pode contribuir para contaminação (ICH-Q3D, 2013). Entretanto, a indústria farmacêutica possui um controle da qualidade na água utilizada para a produção, que deve ser tratada e purificada para o uso, a limpeza e descontaminação dos equipamentos (maquinários) metálicos, controle dos excipientes e do princípio ativo (após produção), a limpeza e esterilização das embalagens, de modo a evitar metais em nível de traços no produto final, como mostrado no diagrama da Figura 1.

Figura 1 - Diagrama a seguir mostra um exemplo de materiais ou componentes típicos usados na produção de um medicamento



Fonte: Adaptado do ICH (2013).

De acordo com o ICH 2013, as impurezas do tipo traços podem estar associadas a uma fonte ou múltiplas fontes. Entretanto, essas impurezas serão irrelevantes, desde que não exceda os limites diários permitidos (PDE) aceitáveis em produtos farmacêuticos para o organismo humano (ICH, 2013).

Através de revisão de dados validados e publicados em periódicos científicos, relatórios e estudos de pesquisa do governo, regulamentação internacional padrões (aplicáveis a

medicamentos) e orientação, e relatórios de pesquisa e avaliação de autoridade regulatória, foram elaborados pelo ICH diretrizes para determinar limites de exposições diárias no organismo.

As normas regidas pelo ICH classificam os elementos de acordo com o limite tóxico (Tabela 2). Segundo PINTO (2020), A classe 1, por exemplo, são elementos limitados e até mesmo proibidos que não devem estar presentes em medicamentos, a presença deles em medicamentos são tipicamente oriundas de materiais comumente usados (excipientes extraídos). A classe 2 é dividida em duas subclasses A e B, as duas classes mostram que a toxicidade depende da rota de administração, a classe 2A são elementos com relativamente alta probabilidade de ocorrência em medicamentos e então requerem análise de risco de todas as potenciais fontes de impurezas e vias de administração e a classe 2B são elementos que possuem uma probabilidade reduzida de ocorrência em medicamentos relacionados com suas baixas abundâncias e baixo potencial de ser co-isolado com outros materiais.

A classe 3 embora sejam considerados de baixa toxicidade por via oral, merece atenção em caso de rota inalatória ou parenteral (intravenosa, intramuscular e subcutânea).

Tabela 2 - Limites de exposição estabelecidos pelo ICH

Elemento	Classe	Exposição oral ($\mu\text{g/g}$)
Cd		0,5
Ph	1	0,5
As		1,5
Hg		3
Co		5
Mo		18
Se	2A	17
V		12
Tl		0,8
Au		10
Pd		10
Ir	2B	10
Os		10
Rh		10
Ru		10
Li		78
Sb		120
Ba		130
Ni	3	60
Cu		13
Sn		64
Cr		1.100

Fonte: Adaptado do ICH (2013)

De acordo com o ICH (2013) os elementos Al, B, Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na, W e Zn, fazem parte da classe 4, os valores de toxicidade para esses elementos não foram estabelecidos dentro do ICH, portanto são abordadas por outras diretrizes e / ou regulamentos e práticas regionais que podem ser aplicáveis para elementos específicos, porque a toxicidade desses elementos vai depender do órgão alvo e do nível de comprometimento em que se encontra, como por exemplo o Al em altas concentrações em um paciente com a função renal comprometida pode agravar o quadro clínico.

3.6.3 Análise de metais em nível de traços sugerida pela Farmacopeia dos Estados

Unidos

A metodologia usada para análise de metais em nível de traços é descrita na Farmacopeia dos Estados Unidos e baseia-se em método de precipitação com sulfeto em solução aquosa e comparação visual da cor com a solução padrão para determinação dos metais-traço (NAGESWARA; KUMAR, 2007, SILVA, 2017). De acordo com a Farmacopeia Americana (2009), é proposto um ensaio limite, semiquantitativo para determinar metais em medicamentos, o resultado do teste é expresso como o somatório das concentrações dos metais pesados na amostra, não devendo ultrapassar 20 $\mu\text{g g}^{-1}$. (LEWEN, 2011). Porém a determinação de metais traços por precipitação de sulfetos apresenta várias limitações, consome tempo, apresenta baixa sensibilidade e especificidade e por vezes não detecta elementos-traço essenciais à saúde e que possam estar acima dos limites da legislação, talvez a manutenção dessa técnica esteja relacionada à logística e custos (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2008).

A Farmacopeia dos Estados Unidos especifica outros métodos analíticos, como, a espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS), a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GFAAS), a espectrometria de emissão ótica em plasma de argônio acoplado por indução (ICP-OES), e a espectrometria de massas com fonte de plasma acoplado por indução (ICP-MS) são indicadas para determinação de elementos traços em medicamentos. Sendo estes mais sensíveis e específicos do que o anteriormente citado (THE UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2013).

A aplicação de técnicas por espectrometria na maioria das vezes requer um pré-tratamento das amostras, tendo como finalidade convertê-la em uma forma adequada para introdução nos equipamentos analíticos. A etapa de pré-tratamento da amostra pode ser considerada a etapa crítica do processo analítico, uma vez que requer um gasto de tempo elevado e está sujeita a problemas, tais como, a contaminação das amostras e perdas do analito durante a manipulação das amostras (OLIVEIRA, 2003; VALCÁRCEL, 1999).

Contudo, busca-se desenvolver métodos que forneçam informações de forma mais rápida e específica, tendo como necessidade atender às demandas das indústrias farmacêuticas.

Assim como toda farmacopeia, os Estados Unidos também definem o limite de exposição de cada elemento e os valores, apresentados na Tabela 3, representam concentrações permitidas em microgramas por grama para impurezas elementares em medicamentos, substâncias medicamentosas e excipientes. Os limites de concentração destinam-se a ser

utilizados em medicamentos com doses diárias não superiores a 10 gramas por dia, via oral, padronizadas pelo ICH, podendo ser utilizados esses valores também no Brasil, visto que a Farmacopeia Brasileira regida pela ANVISA aceita esses limites (do ICH), desde que os mesmos não apresentem limites na legislação brasileira.

Tabela 3 - Limites de exposição estabelecidos pelos Estados Unidos.

Elemento	Exposição oral (µg/g)
Cd	2,5
Ph	0,5
As inorg.	0,15
Hg inorg.	1,5
Ir	10
Os	10
Pd	10
Pt	10
Rh	10
Ru	10
Cr	--
Mo	10
Ni	50
V	10
Cu	100

Fonte: AAutora (2020)

3.7 PRINCIPAIS TIPOS DE MEDICAMENTOS UTILIZADOS NO BRASIL

3.7.1 Medicamentos de Referência

O medicamento de referência é um produto inovador registrado no órgão federal brasileiro, e comercializado no Brasil, cuja eficácia, qualidade e segurança tenham sido comprovados, cientificamente, no órgão federal competente, por ocasião do registro (ANVISA, 2010).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária divide os medicamentos de referências por grupos, onde o grupo A contém apenas um insumo farmacêutico ativo, grupo B contém dois ou

mais insumos farmacêuticos ativos em uma única forma farmacêutica e o grupo C, contém dois ou mais insumos farmacêuticos ativos nas mesmas ou em diferentes formas farmacêuticas, para uso simultâneo ou sequencial. Contudo, a ANVISA (2010) descreve insumo farmacêutico como qualquer substância introduzida na formulação de uma forma farmacêutica, ao qual, quando ingerida por um paciente, vai atuar como ingrediente ativo.

Os medicamentos de referência têm o custo mais elevado porque uma indústria que desenvolve um medicamento novo gasta com estudos clínicos que levam anos para serem concluídos, para ter autorização da sua comercialização. Os medicamentos genéricos e similares não precisam de estudos clínicos para fabricação, sendo necessário apenas teste que comprovem a sua intercambialidade com o medicamento de referência, tendo assim redução de gastos na sua produção, tendo como vantagem a redução nos custos dos tratamentos, sem prejuízo terapêutico.

3.7.2 Medicamento Genérico

O medicamento genérico é aquele que contém o mesmo princípio ativo, ou seja, a mesma fórmula farmacêutica comprovada pela ANVISA, na mesma dose e, que seja administrado pela mesma via e com a mesma indicação terapêutica do medicamento de referência, demonstrando a mesma segurança e podendo ser intercambiável, com o de referência. Essa intercambialidade (substituição) só poderá ser realizada pelo farmacêutico responsável, pela farmácia ou drogaria e deverá ser registrada na receita médica (ANVISA, 2007; ANVISA, 2009). Os genéricos são cópias de medicamentos de referência cujas patentes já expiraram (PRÓ-GENÉRICOS, 2011).

A intercambialidade entre os medicamentos baseia-se no conceito de equivalência terapêutica entre os mesmos. Porém, essa intercambialidade é assegurada pela comprovação da equivalência farmacêutica, bioequivalência e boas práticas de fabricação. Equivalência entre medicamentos exigidos pela ANVISA, leva em consideração à comprovação de que ambos contêm o mesmo fármaco (mesma base, sal ou éster da molécula terapeuticamente ativa), mesma dosagem e forma formulação (BRUM et al.,2012).

3.7.3 Medicamento Similar

O medicamento similar é aquele que contém o mesmo ou os mesmos princípios ativos, deve apresentar a mesma concentração, mesma forma farmacêutica, mesma via de administração, mesma posologia e indicação terapêutica, e que seja equivalente ao medicamento registrado no órgão federal responsável pela vigilância sanitária, podendo diferir somente em características relativas ao tamanho e forma do produto, embalagem, rotulagem, prazo de validade, excipientes e veículos, devendo sempre ser identificado por nome comercial ou marca (ANVISA, 2009). Entretanto os similares não são bioequivalentes e recebe a denominação de biodisponibilidade relativa. Segundo a ANVISA (1999), a biodisponibilidade é definida de acordo com a extensão de absorção de um princípio ativo em forma de dosagem, a partir de sua curva concentração/tempo na circulação sistêmica ou sua excreção na urina.

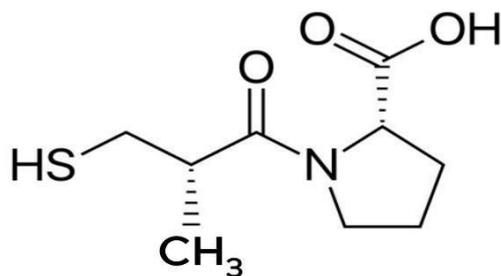
Existem outras definições de biodisponibilidade relacionadas a medicamento similar. Para a "Food and Drug Administration" (FDA), a biodisponibilidade está relacionada à quantidade absorvida de um fármaco, a partir de sua forma farmacêutica e da velocidade do efeito, disponível no local de ação (FDA,2002).

3.8 MEDICAMENTOS ALVO DO ESTUDO

3.8.1 Captopril

A Farmacopeia Brasileira 2010 caracteriza o medicamento captopril como um pó cristalino branco ou quase branco, solúvel em água, facilmente solúvel em metanol e cloreto de metileno e solúvel em soluções diluídas de hidróxidos alcalinos e possui sua fórmula molecular como: $C_9H_{15}NO_3S$ (Figura 2).

Figura 2 - Fórmula estrutural do captopril



Fonte: Farmacopeia Brasileira (2010).

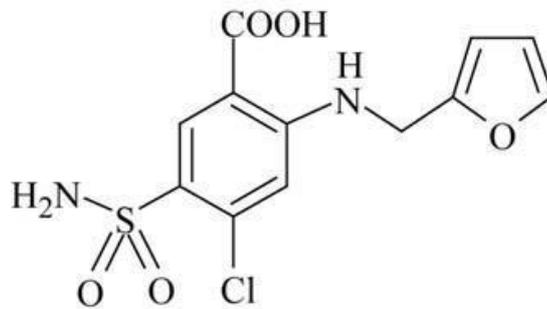
Descoberto como o primeiro fármaco anti-hipertensivo; esse medicamento inibe a Enzima Conversora de Angiotensina I (ECA I), através de estudos que evidenciaram os efeitos hipotensores do veneno da jararaca, da espécie *Bothrops jararaca* (BARREIRO; FRAGA, 2001). Atua no controle da pressão arterial e a terapêutica medicamentosa tem se apresentado eficaz, colaborando para a diminuição de eventos cardiovasculares (RIBAS; GUIMARÃES, 2006).

Indicado também para outras patologias cardíacas como Infarto do Miocárdio e para o tratamento da Nefropatia Diabética (proteinúria >500 mg/dia) em pacientes com diabetes mellitus insulino-dependentes. Nestes pacientes, o captopril previne a progressão da doença renal e reduz sequelas clínicas associadas (diálise, transplante renal e morte). Melhora a sobrevida pós-infarto do miocárdio, auxilia para diminuir a recorrência de internações por complicações cardíacas, assim como, redução de infarto e revascularização das coronárias (Farmacopeia Brasileira, 2010). Também é indicado como terapia pós-infarto do miocárdio em pacientes clinicamente estáveis com disfunção ventricular esquerda assintomática ou sintomática para melhorar a sobrevida, protelar o início da insuficiência cardíaca sintomática.

3.8.2 Furosemida

A substância ativa do medicamento apresenta-se como um pó cristalino, branco ou quase branco, inodoro, insolúvel em água de fácil solubilidade em acetona, dimetilformamida e também em metanol; em etano e éter etílico é pouco solúvel, sendo de fácil solubilidade em soluções aquosas de hidróxidos (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010). A fórmula molecular apresenta-se como: $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$ (Figura 3).

Figura 3 - Fórmula estrutural da furosemida



Fonte: Farmacopeia Brasileira (2010).

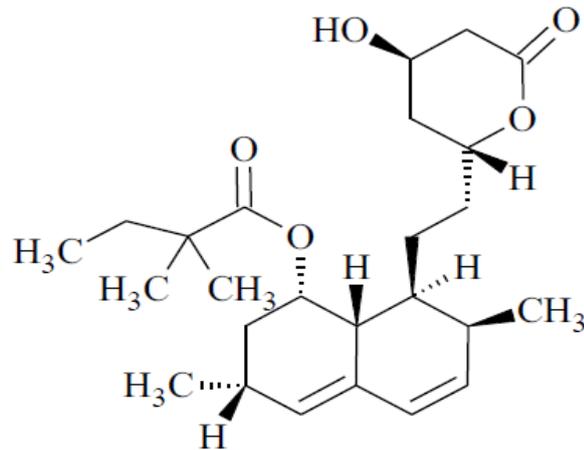
É considerado um diurético eficiente, com rápido início de ação e curta duração e tem uma ampla utilização em situação de emergência. Sua principal prescrição é para o uso no tratamento da hipertensão, com associação de anti-hipertensivo, sendo indicado também no tratamento de edema pulmonar. Pode ser utilizada para tratar doenças hepáticas, hipercalcemia (excesso de cálcio no sangue) e oligúria (redução do volume urinário) causado por insuficiência renal (SWEETMAN, 2004).

3.8.3 Sinvastatina

A sinvastatina faz parte do grupo das estatinas, isoladas em cultura de colônia *Penicillium citrinium*. Entre as estatinas encontra-se a mevastatina que foi a primeira estatina estudada, demonstrando-se um potencial terapêutico satisfatório na classe desses fármacos (GOODMAN; GILMAN, 2003). Existem outras estatinas que são produtos naturais, isoladas a partir do metabolismo de fungos, como a lovastatina, a pravastatina e a sinvastatina. Algumas são totalmente sintéticas, como a atorvastatina, a cerivastatina e a fluvastatina (LAZZERINI, 2011).

De acordo com a Farmacopeia Brasileira 5ª edição, segundo suplemento (2017), a sinvastatina está descrita como um pó cristalino branco ou quase branco. Praticamente insolúvel em água e facilmente solúvel em álcool etílico, com fórmula molecular $C_{25}H_{38}O_5$ (Figura 4).

Figura 4 - Fórmula estrutural da sinvastatina.



Fonte: Farmacopeia Brasileira 5ª edição, segundo suplemento (2017).

As estatinas possuem efeitos pleiotrópicos (múltiplos efeitos), ou seja, possuem efeitos benéficos de redução do colesterol e controle do sistema cardiovascular. Alguns desses efeitos benéficos foram identificados no tratamento de doenças reumáticas, proteção contra a doença de Alzheimer, efeitos contra tumores, síntese de óxido nítrico endotelial, reduz espécies reativas de oxigênio, apresenta efeito anti-inflamatório e outros (FERRO; WIERZBICKI; POSTON, 2003).

A "Heart Association" e o Colégio Americano de Cardiologia (American College of Cardiology) recomendam o uso da sinvastatina por ela ser a segunda estatina com um grande potencial de eficácia. Essa classe de fármacos possui uma atuação potente na redução do ácido mevalônico, que é o precursor do colesterol (CARVALHO; CAMPO, 2007).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 CARACTERIZAÇÃO E COLETA DAS AMOSTRAS

Os procedimentos de tratamento e análise foram executados no Laboratório de Análises Ambientais do Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste (CRCN-NE/CNEN).

Os medicamentos de uso prolongados trabalhados no estudo foram adquiridos em períodos diferentes e procedentes de diferentes laboratórios comerciais da região metropolitana de Recife-PE, na tentativa de encontrar amostras de lotes diferentes de um mesmo fabricante para garantir uma amostragem mais significativa dos medicamentos de referência, genérico e similar, que constam na Tabela 4 (Furosemida, Sinvastatina e Captopril).

Foi padronizado o uso de 5 comprimidos de cada modalidade de medicamento, selecionados de forma cruzada nas cartelas dos medicamentos.

Tabela 4 - Medicamentos analisados no presente estudo.

Medicamentos	Concentração Mg	Fabricação	Validade	Total de comprimidos na caixa
Furosemida similar	40	03/2018	03/2020	20
Furosemida genérico	40	10/2018	10/2020	20
Furosemida referencia	40	08/2018	07/2021	20
Sinvastatina similar	20	02/2018	02/2020	30
Sinvastatina genérico	20	06/2018	06/2021	30
Sinvastatina referencia	20	02/2018	02/2020	30
Captopril similar	25	05/2018	05/2020	30
Captopril genérico	25	04/2018	04/2020	30

Fonte: A Autora (2020)

4.2 PROCEDIMENTOS PARA TRATAMENTO DAS AMOSTRAS

Para o controle das amostras foi necessário o preenchimento de Registro da Qualidade (RQ)/Cadastro de Amostras para Análise Radiométrica (RQ). Nesse formulário também foi gerado um código para registro da matriz e outras informações importantes para identificar as

amostras. Após seguir o protocolo de controle da qualidade do laboratório, as amostras foram retiradas de suas embalagens e trituradas manualmente com o auxílio de pistilo e almofariz de porcelana (Figura 5), fazendo uso de ambiente adequado e capela biológica com filtro HEPA, com exaustão e fluxo laminar de classe B2 para evitar contaminação nesse processo. Em seguida as amostras foram pesadas em balança analítica.

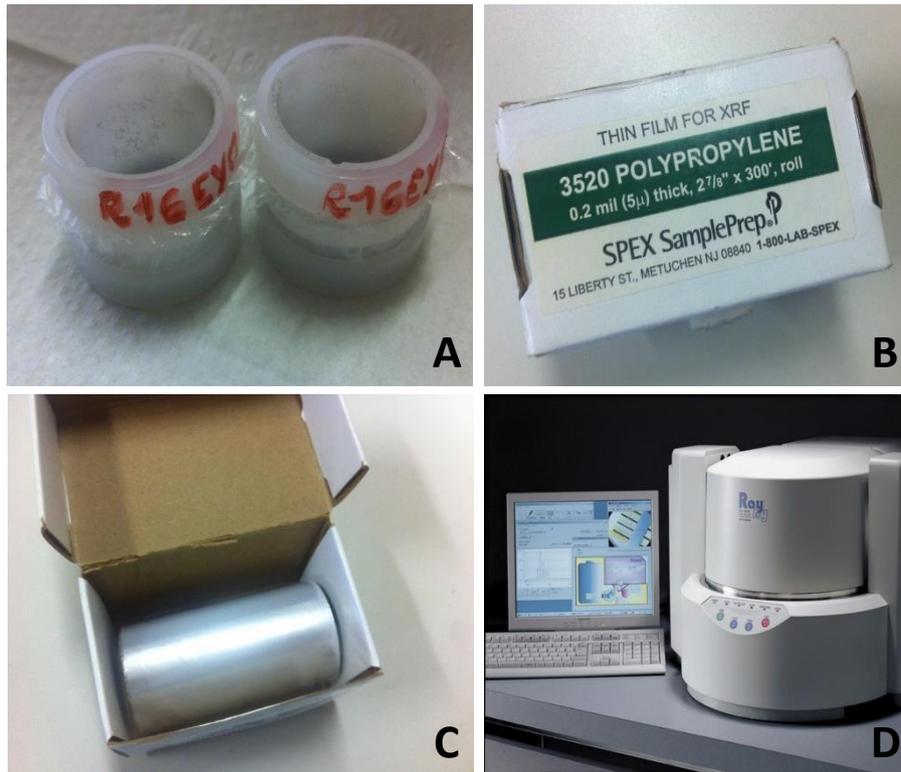
Figura 5 - Preparação para triturar os medicamentos



Fonte: A Autora (2020).

Após a trituração, as amostras foram armazenadas em recipientes de plástico esterilizados e codificados. Na sequência, cada amostra foi quarteada, ao qual segundo a Farmacopeia (2019), quartear a amostra é distribuir homogeneamente a amostra na forma de um quadrado, dividi-la em quatro partes iguais e desprezar as porções em dois quadrados opostos em uma das diagonais e dividida em triplicatas (réplicas) contendo 0,5 g cada, transferidas para cápsulas de polietileno cobertas com filme fino de polipropileno e seguiram para análise em EDX-RF (Fluorescência de Raios X por Dispersão de Energia) do CRCN-NE (Figura 6 A,B,C,D).

Figura 6 - Preparo para Análise das Amostras



Fonte: Fonseca (2018)

(A, B e C) Arquivo pessoal. (D) <http://www.bpress.cn/im/author/algous/page/28872/>

(A) Preparação das amostras para análise em equipamento de EDXRF. (B e C) Filme de Polipropileno utilizado. (D) Equipamento EDXRF para quantificação de metais em níveis de traço.

4.3 ANÁLISE POR FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X POR DISPERSÃO DE ENERGIA (EDX-RF)

O equipamento utilizado no estudo foi o modelo EDX-RF 720 da Shimadzu (Figura 7A), consiste em um tubo de ródio que tem como função gerar raio X, a câmara para análise de amostras em vácuo tendo pressão inferior a 30 Pa e um detector de Si (Li) para medir a radiação induzida. Previamente foi feita calibração no equipamento de acordo com o padrão interno A-750, fornecido pelo fabricante do equipamento e testado a partir do padrão SUS (2006) (código do padrão baseado no qual as concentrações dos metais são qualificadas) de acordo com o manual do fabricante.

As amostras foram transferidas para tubos de polietileno (Figura 6A) e vedados com filme de polipropileno (Figura 6B), sendo a condição especificamente adotada para análise instrumental das amostras no equipamento Shimadzu. As medições das radiações induzidas emitidas pelos metais são feitas para elaboração das curvas de calibração dos padrões líquidos do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST), ocorreram em triplicata com voltagem

de 15 kV para a determinação dos elementos químicos de número atômico inferior que 22 e voltagem de 50 kV para os elementos químicos mais pesados, na elaboração das curvas de calibração (SOUSA et al., 2013).

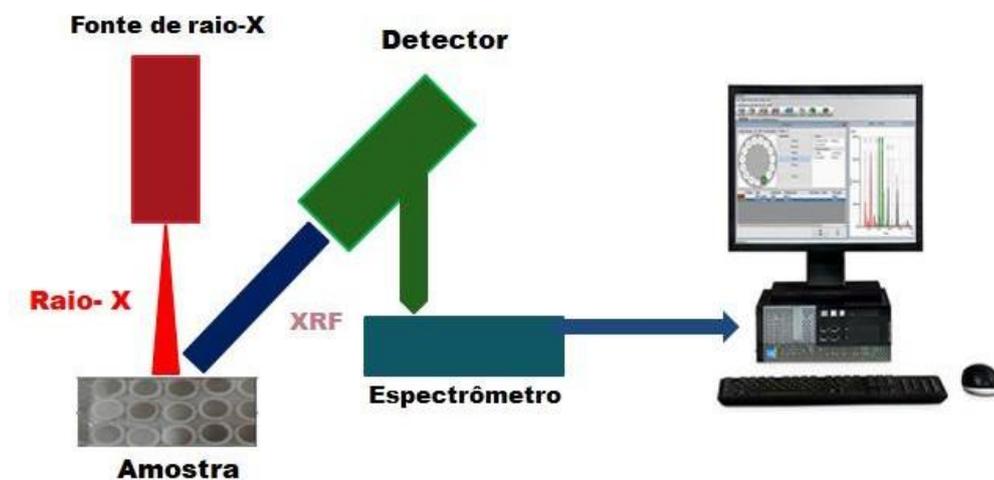
O sistema de análise por Fluorescência de Raios-X por Dispersão de Energia usado para as análises é mostrado na Figura 8.

Figura 7 - EDX-RF 720 da Shimadzu.



Fonte: Fonseca (2018)

Figura 8 - Esquema do funcionamento do EDXRF



Fonte: Adaptado de HORIBA Scientific (2015).

4.4 CONTROLE DE QUALIDADE E ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para o controle da qualidade do procedimento analítico, alíquotas dos materiais de referência certificados foram analisadas juntamente com as amostras, sendo calculadas as incertezas, fazendo uso do Standard Reference Materials (SRM) 1570a (Spinach leaves, folhas de espinafre) e 1547 (Peach leaves, folhas de pêssegos) medidos com os valores certificados fornecidos pela NIST, no qual esses padrões são destinados principalmente para uso na validação de métodos analíticos para determinação de elementos principais, secundários e traço em materiais botânicos, produtos agrícolas alimentares e semelhantes, são utilizados também para garantir a qualidade ou atribuir valores a materiais de controle interno.

De acordo com o guia de EURACHEM (2012), a incerteza analítica é estimada por fontes individuais de incerteza devido à precisão e veracidade e a confirmação do procedimento analítico, com os padrões certificados, foi feita calculando-se o número E_n (Equação 1), que descreve a exatidão das medidas no EDX-RF. A faixa adequada para os resultados do Número E_n é entre -1 e 1, conforme recomendação da ISO 13528/2005 (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, 2005), com nível de confiança de 95%. Esse cálculo analítico assemelha-se ao teste Z-score.

$$E_n = (X_{obs} - X_{ref}) / \sqrt{U_{obs}^2 + U_{ref}^2} \quad (1)$$

X_{obs} = valor observado na análise do material de referência;

X_{ref} = valor certificado do material de referência;

U_{obs}^2 = incerteza analítica expandida em nível de 95% de confiança do valor obtido do material de referência;

U_{ref}^2 = incerteza analítica expandida em nível de 95% de confiança do valor certificado.

Para o cálculo das incertezas obtidas após a análise das amostras em triplicatas foram consideradas as incertezas combinadas e expandidas, cuja incerteza expandida já corresponde a duas vezes a incerteza combinada. Ainda, também foram calculadas as incertezas, calculando-se a raiz quadrada da soma das incertezas ao quadrado das réplicas (triplicatas).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises realizadas com os padrões SRM-1570a (“Spinach leaves”, folhas de espinafre) e SRM 1547 (“Peach leaves”, folhas de pêsegos) serviram para confirmar a adequação do procedimento analítico no EDX-RF para quantificação de metais em níveis de traços, conforme recomendação da ISO 13528/2005, cujos os resultados são mostrados na Tabela 5. Considerando os valores do número En ($-1 < En < 1$) não foram observadas diferenças significativas no nível de confiança de 95% para as concentrações calculadas e os valores certificados (ISO, 2005).

Tabela 5 - Resultados da concentração de metais traço em padrões certificados

Elemento Químico	Concentração do Padrão ($\mu\text{g/g}$)	Concentração Determinada ($\mu\text{g/g}$)	En
Al	310 \pm 15	309 \pm 13*	1,0
Mn	97,8 \pm 1,8	90 \pm 76**	- 0,10
Zn	82,3 \pm 3,9	88,15 \pm 4,2*	- 0,56
Sr	55,54 \pm 0,5	60 \pm 8*	0,30
Ca	15.590 \pm 160	15.340 \pm 177**	- 0,25
P	1.371 \pm 82	1.187 \pm 78**	1,0
K	24.330 \pm 380	24.395 \pm 192**	0,08
Fe	219,8 \pm 6,8	260 \pm 25**	0,55
Mg	4.320 \pm 150	6.645 \pm 1.003**	1,0

Fonte: A Autora (2020)

* SRM-1570^a (metais micronutrientes/minoritários).

** SRM 1547 (metais macronutrientes/majoritários).

A Farmacopeia Brasileira reporta valores máximos para alguns elementos como, por exemplo, Cu, Mg, Ni e Fe. Embora a responsabilidade de avaliar o medicamento genérico seja da ANVISA, sugere-se que os elementos em nível de traços sejam analisados nesses medicamentos para determinar as concentrações desses metais em medicamentos de referência, genéricos e similares, pois a farmacopeia 5^a edição, volume 1, 2010 não descreve um método específico para digestão da amostra, nem padrões usados para análise de metais nesses medicamentos. E uma metodologia rápida, barata e adequada utilizada poderá contribuir para ajudar as agências de supervisão a ter um melhor controle sobre os medicamentos vendidos.

Apesar dos possíveis problemas de heterogeneidade e auto-absorção, que são típicos na análise por EDX-RF para amostras sólidas (MARGUÍ; GRIEKEN, 2013), conseguiu-se traçar as curvas analíticas no medicamento Sinvastatina para Fe, Mg e Al; Furosemida para Mg e Al; e no medicamento Captopril conseguiu-se traçar Fe, Mg e Al.

A Tabela 6 relata os resultados obtidos na análise dos metais em nível de traços presentes no medicamento Sinvastatina.

Tabela 6 - Análise de metais em níveis de traços no medicamento Sinvastatina

Elementos Químicos	Referência ($\mu\text{g/g}$)	Similar ($\mu\text{g/g}$)	Genérica ($\mu\text{g/g}$)
Fe	$1.535 \pm 90,5$	160 ± 63	152 ± 43
Mg	ND*	ND*	1.391 ± 540
Al	$551,5 \pm 172$	ND*	ND*

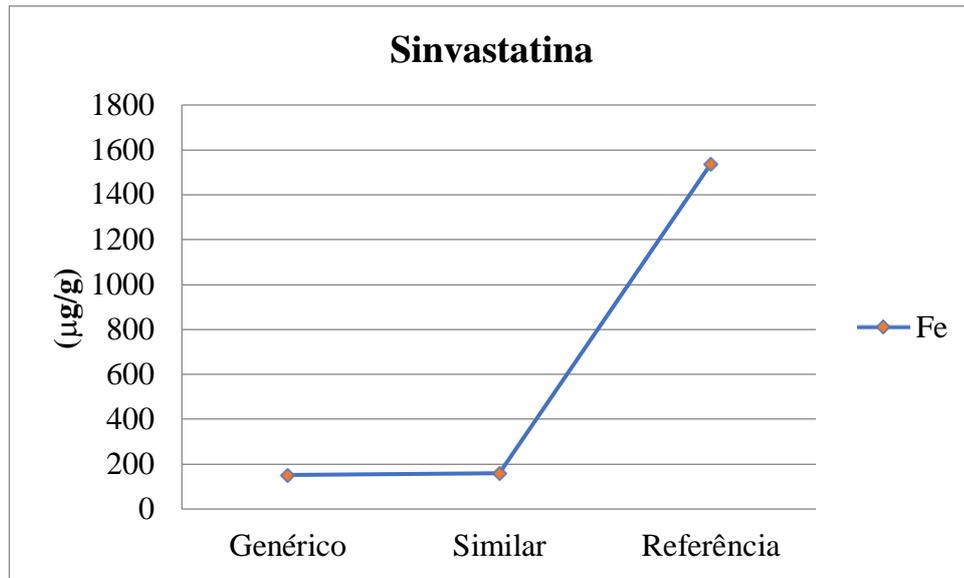
Fonte: A Autora (2020)

*Abaixo do limite de detecção para EDX-RF.

Os elementos validados pela análise no medicamento Sinvastatina (Tabela 6), foram Fe, Mg, Al. De acordo com a análise, foi possível observar que no Sinvastatina similar encontrou-se uma quantidade menor de elementos, quando comparado aos medicamentos de referência e genérico.

Os valores dos elementos químicos no medicamento de referência da Sinvastatina diferem dos valores encontrados para o mesmo medicamento similar e genérico, para os elementos encontrados. Na Sinvastatina similar e na Sinvastatina genérica os valores para o Fe, demonstraram valores similares; estando esses valores menores quando comparados com a medicação de referência (Gráfico 1). Ainda, a medicação de referência da Sinvastatina também apresentou valor alto para Al, e esse elemento não foi detectado nos medicamentos da Sinvastatina similar e genérica.

Gráfico 1 – Teor de Fe no Sinvastatina



Fonte: A Autora (2020)

A Tabela 7 relata os resultados obtidos na análise dos metais em nível de traços presentes no medicamento Furosemida de referência, genérico e similar.

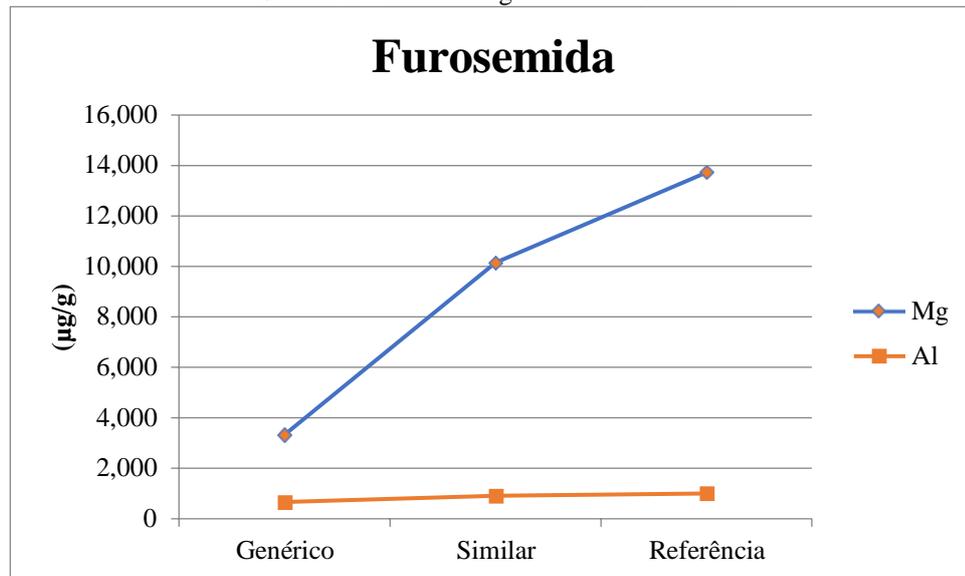
Tabela 7- Análise de metais em níveis de traço no medicamento Furosemida.

Elementos Químicos	Referência (µg/g)	Similar (µg/g)	Genérico (µg/g)
Mg	13.722 ± 1.587	10.150 ± 1533	3.334 ± 366
Al	1.008 ± 198	921 ± 199	673 ± 184

Fonte: A Autora (2020)

Observa-se que nas três classes de Furosemida o sistema não detectou a presença Fe. De acordo com os resultados anteriormente mostrados, para o medicamento Furosemida, nota-se que os valores de Mg e Al estão em concentrações mais elevadas no medicamento de referência do que na medicação genérica e similar da Furosemida (Gráfico 2).

Gráfico 2 – Teor de Mg e Al no Furosemida



Fonte: A Autora (2020)

A Tabela 8 relata os resultados obtidos na análise dos metais em nível de traços presentes no medicamento Captopril de Referência, Genérico e Similar.

Tabela 8 - Análise de metais em níveis de traços no medicamento Captopril.

Elementos Químicos	Genérico (µg/g)	Similar (µg/g)
Fe	ND	1.990 ± 130
Mg	1.260±250	1.550±550
Al	898±167	753 ± 190,5

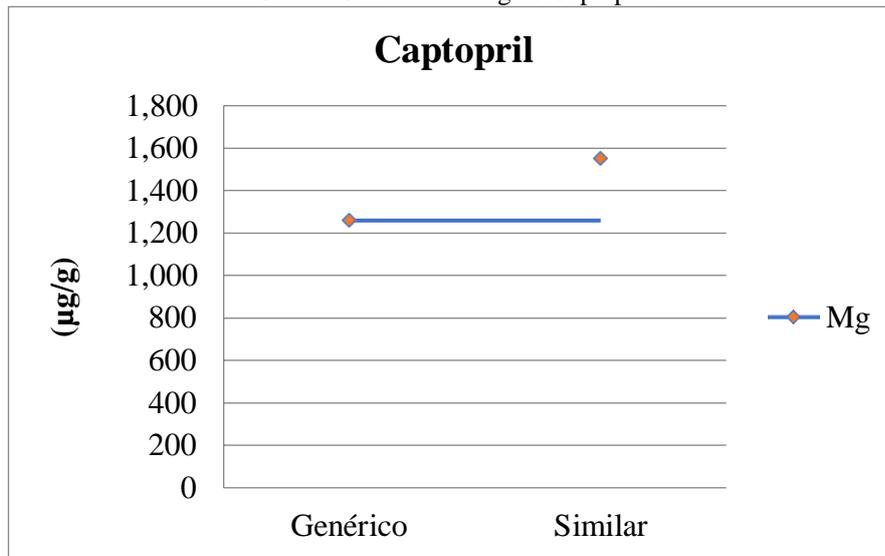
Fonte: A Autora (2020)

ND – Não detectado

O Captopril, diferente dos outros medicamentos, não foi encontrado na pesquisa de mercado o medicamento de referência e as análises realizadas no medicamento genérico foi detectado a presença de Mg e Al e no medicamento similar foi detectado os elementos Fe, Mg e Al.

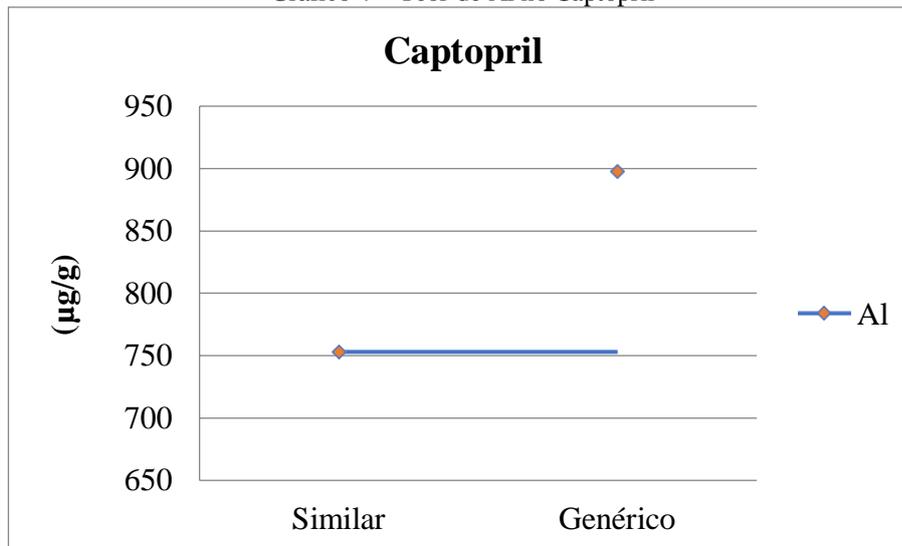
No Gráfico 3, é possível analisar que o Mg foi detectado de forma mais elevada no medicamento similar e o Gráfico 4 mostra que o teor de Al encontrado nas análises foi maior no medicamento genérico, sendo assim inversamente proporcional.

Gráfico 3 – Teor de Mg no Captopril



Fonte: A Autora (2020)

Gráfico 4 – Teor de Al no Captopril



Fonte: A Autora (2020)

Em geral, em todos os medicamentos (Sinvastatina, Furosemida e Captopril) nota-se a presença de Fe, Mg e Al em concentrações mais elevadas do que o limite recomendado pela ANVISA para ingestão diária pelo ser humano. Esses elementos são essenciais para o organismo humano, porém em quantidades elevadas podem trazer risco para a saúde, porque são elementos bioacumuláveis. É importante analisar quais os efeitos que podem causar a longo prazo e as possíveis patologias que podem ser originadas da acumulação desses metais no organismo.

Há a possibilidade de consequências para a saúde humana pelo consumo de medicamentos contaminados por metais em níveis de traços, principalmente em medicação de uso prolongado, como anti-hipertensivos (Captopril e Furosemida), medicamento para o trato gastrointestinal (Omeprazol) e hiperlipidemias causadoras de problemas cardiovasculares (Sinvastatina).

Durante um período de tempo, o alumínio não era um elemento considerado de risco para o ser humano, porém estudos iniciados na década de 70, começaram a indicar doenças relacionadas ao alumínio, com isso iniciaram as avaliações toxicológicas (LIUKKONEN-LILJA; PIEPPONEN 1992). Segundo Ramos (2011), o excesso de alumínio provoca problemas intestinais e abdominais, hiperatividade, convulsões, demência, além da diminuição das funções hepáticas e renais. De acordo com Vanduyt et al. (2013), existe uma associação entre os transportadores mediadores de alumínio e a neurodegeneração. De acordo com Walton (2010), investigações bioquímicas microscópicas, correlacionaram o alumínio com o Alzheimer (DANTAS et al., 2007), além de se ligar também aos rins e em alguns pacientes pode agravar patologias renais e tudo isso ocorre porque é um elemento reativo, assim em excesso agride rapidamente as moléculas orgânicas e compromete a sua função. Contudo, é importante uma atenção especial para o elemento Al nos medicamentos analisados, já que os mesmos apresentaram concentrações acima do permitido na legislação.

Fernandez et al. (2007) afirma que quando encontrado em excesso no organismo o Fe pode desencadear reações oxidativas, aumentando o estresse oxidativo, causando reações que pode desencadear a neurodegeneração, causando doenças como Parkinson e demência de Alzheimer. Pesquisa realizada por Falangola et al. (2005) afirma que, o ferro é encontrado duas vezes mais em agrupamentos neuronais (neurópilos) do sistema nervoso central de pacientes com doença de Alzheimer do que em quem não apresentam a doença. No caso da doença de Parkinson o ferro é armazenado em grandes quantidades na neuromelanina (pigmento) da substância cinza do cérebro, que através da migração pelo citosol, geram espécies reativas de oxigênio (ROS). Quando esse processo de migração e armazenamento ocorre, faz com que os neurônios dopaminérgicos sejam vulneráveis ao estresse oxidativo (FERNANDEZ et al., 2005). Apesar do Fe ser um elemento essencial para o organismo, pode causar patologias secundárias quando em quantidades acima do permitido pela ANVISA.

O Mg é responsável por carregar carga elétrica quando dissolvidos em líquidos no corpo humano, mas nem todo o Mg no corpo possui carga e esses se ligam a proteínas ou são armazenados nos ossos. Sendo assim, é um elemento essencial para o organismo, mas em grandes quantidades pode ocorrer a hipermagnesemia (nível de magnésio elevado), surge

somente quando uma pessoa com insuficiência renal recebe sais de magnésio ou toma medicamentos que contêm magnésio, causando fraqueza muscular, pressão arterial baixa, comprometimento da respiração e em casos mais graves, o coração para de bater (LEWIS 2018).

Os elementos bioacumuláveis como não são passíveis de metabolização, tornam-se um veneno silencioso que permanece por muito tempo. Eles acabam danificando a saúde do indivíduo lentamente ao longo dos anos sem sequer demonstrar efeitos notórios. Portanto é extremamente importante a população estar sempre informada sobre os riscos dos efeitos adversos para evitar automedicação, visto que todos esses medicamentos estudados são de uso prolongado e podem causar problemas em pacientes, que os utilizam ao longo da vida, causando também prejuízo ao Estado, pois, os pacientes podem vir a desenvolver patologias secundárias com utilização inadequada de medicamentos.

É provável que o Fe, Al e o Mg nos medicamentos tenham origem da matéria-prima utilizada na preparação dos três medicamentos ou observar as fontes prováveis de contaminação descritas no ICH 2013.

6 CONCLUSÃO

A metodologia EDX-RF foi implementada no Laboratório de Análises Ambientais do Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste, com nível metrológico satisfatório para quantificar Fe, Al e Mg nos medicamentos Captopril, Sinvastatina e Furosemida.

É importante a continuidade do estudo para analisar possíveis fontes de contaminação e outros medicamentos de uso prolongado, já que o Fe e o Al foram encontrados em quantidades acima do recomendado pela legislação e esses são responsáveis por patologias neurodegenerativas ocasionando altos custos para o sistema de saúde e o Mg responsável por doenças renais podendo levar o indivíduo a morte.

Contudo, a presente pesquisa proporcionou dados preliminares para análise de metais traços nos medicamentos de uso prolongado selecionados para esse estudo, além de contribuir para estudos futuros e base de dados.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Farmacopeia Brasileira**. 5. ed. Brasília: ANVISA, 2010. v. 1. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33832/260079/5%C2%AA+edi%C3%A7%C3%A3o+-+Volume+1/4c530f86-fe83-4c4a-b9076a96b5c2d2fc>. Acesso em: 18 abr. 2020.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Política vigente para a regulamentação de medicamentos no Brasil**. Brasília: ANVISA, 2004.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **RDC n. 17/2007**. Brasília: ANVISA, 2009.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **RDC nº 167, de 24 de julho de 2017**. 2º Suplemento da Farmacopeia Brasileira. 5. ed. Brasília: ANVISA, 2017.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **RDC Nº 16**. Regulamento técnico para medicamentos genéricos. Brasília: ANVISA, 2007.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **RDC Nº 17**. Boas práticas de fabricação de medicamentos, farmacopeia. Brasília: ANVISA, 2010.

ANDRADE M. G. **Elementos-traço As, Ba, Cd, Cr, Cu, Hg, Mo, Ni, Pb, Se e Zn em latossolos e plantas de milho após treze aplicações anuais de lodo de esgoto**. Tese (Doutorado em Ciências do Solo) - Departamento de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, São Paulo, 2011.

ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. 2010. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/farmacopeia/conceitos-e-definicoes>. Acesso em: 15 abr. 2020.

BAKER, A. J. M. Accumulators and excluders-strategies in response of plants to heavy metals. **Journal of Plant Nutrition**, v. 3, n. 1 – 14, p. 643 – 644, 1987.

BARREIRO, J.; FRAGA, C. A. M. Planejamento racional baseado no mecanismo de ação: fármacos inteligentes. *In: Química medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos.* Porto Alegre: Artmed, p. 83-124, 2001.

BRASIL. Lei n. 5991, de 17 de dezembro DE 1973. Dispõe sobre o controle sanitário do comércio de drogas, medicamentos, insumos farmacêuticos e correlatos, e dá outras providências. **Diário oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 19 dez. 1973.

BRASIL. Portaria n.º 3916/MS/GM, DE 30 DE OUTUBRO DE 1998. Aprova a política nacional de medicamentos. **Diário oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 10 jul. 1998.

BREDESEN, D. E. **O fim do Alzheimer:** o primeiro programa para prevenir e reverter o declínio cognitivo. 1. ed. Rio de Janeiro: Editora Objetiva, 2018.

BRUM, T. F.; LAPORTA, L. V.; JÚNIOR, F. R. P.; GONÇALVES, C. A.; SANTOS, M. R. Equivalência farmacêutica e estudo comparativo dos perfis de dissolução de medicamentos genéricos contendo paracetamol. **Revista de Ciências Farmacêutica Básica e Aplicada**, v. 33, n. 3, p. 373 – 378. 2012.

CARVALHO, I.; CAMPO, L. V. Estatinas hipolipêmicas e novas tendências terapêuticas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 425-430, 2007.

DAMMENHAIN, R. A. **Manual prático para prescrição de medicamentos de acordo com a legislação sanitária brasileira.** Instituto Brasileiro de Auditoria em Vigilância Sanitária (INBRAVISA), 2010.

DANTAS, S. T.; SARON, E. S.; DANTAS, F. B. H.; YAMASHITA, D. M.; KIYATAKA, P. H. M. Determinação da dissolução de alumínio durante cozimento de alimentos em panelas de alumínio. **Food Science and Technology**, v. 27, n. 2, 2007.

EC COMMISSION - COMISSÃO DAS COMUNIDADES EUROPEIAS, Regulamento (CE) n.º 466/2001 da Comissão, de 8 de Março de 2001, que **fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos gêneros alimentícios.** 2006.

EURACHEM. **Quantifying uncertainty in analytical measurement**. 2012.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY (EMA). **Guideline on the Specification Limits for Residues of Metal Catalysts or Metal Reagents**. Regulation Document, p. 1-34. 2008.

ERNST, E. Toxic heavy metals and undeclared drugs in Asian herbal medicines. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 23, p.136-139. 2002.

FARMACOPEIA BRASILEIRA, 5ª edição, Brasília, 2010.

FARMACOPEIA BRASILEIRA, 5ª edição, Segundo Suplemento, p.272. Brasília, 2017.

FALANGOLA, M. F.; LEE S. P.; NIXON R. A.; DUFF, K.; HELPERN J. A. Histological co-Localization of iron in Ab plaques of PS/APP transgenic mice. **Neurochemical research** 2005; 30:2015.

FERNANDEZ, L. L.; FORNARI L. H. T.; BARBOSA M. V.; SCHRODER N. Iron and neurodegeneration. *Scientia Medica*, Porto Alegre, v. 17, n. 4, p. 218-224, out./dez. 2005.

FERREIRA, A. B. H. **Dicionário**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 2001.

FERRO, A.; WIERZBICKI, A.S.; POSTON, R. The lipid and non-lipid effects of statins. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 99, p. 95-112, 2003.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Guidance for industry**; bioavailability and bioequivalence studies for orally administered drug products, 2002.

FONSECA. C. K. L. **Avaliação da concentração de metais-traço em mytella falcata (mollusca, bivalvia) e sedimentos no canal de Santa Cruz, PE**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Departamento de Ciências Biológicas) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2018.

FORUM, R. A. **Framework for metals risk assessment. enviromentl protection**. Washington,DC: Office of the Science Advisor. US Environmental Protection Agency, 2007.

GARCIA, M. O. **Preparo de amostras e análise elementar de produtos farmacêuticos**. 2016. Dissertação (Mestrado em Química Tecnológica) - Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 2016.

GIRIO, T. M. S. **Qualidade microbiológica de rações para cães comercializadas no varejo em embalagens fechada e a granel**. 2007. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2007. 45f.

GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Mc Graw-Hill, 2003. p. 739-744.

GUILHERME, L. R. G. Poluição do solo e qualidade ambiental. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 26., 1999, Brasília. **Anais [...]**. Brasília: CBCS, 1999.

GUIDELINE FOR ELEMENTAL IMPURITIES (ICH). **Q3D Current Step 2b version** dated 26 July 2013. HORIBA Scientific. Disponível em: <http://www.horiba.com/scientific/products/xrayfluorescence-analysis/tutorial/xrf-spectroscopy/>. Acesso em: 05 jun. 2019.

JOSHI, G. C.; AGRAWAL, H. M.; MOHANTA, B.; SUDARSHAN, M.; SINHA; A. K. Elemental study of Nainital Lake water by EDXRF. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B**, v.251, p. 223-226, 2006.

LAZZERINI, P. E.; CAPECCHI P. L.; LORENZENI S.; BISOGNO S.; BALDARI C. T.; GALEAZZI M.; PAISINI, F. L. Statins and the Joint: Multiple Targets for a Global Protection. **Seminars Arthritis Rheumatism**, v. 40, p. 430-446, 2011.

LEWEN, N.; **J. Pharm. Biomed. Anal.**v. 55p. 653, 2011.

LIUKKONEN-LILJA, H.; PIEPPONEN, S. Leaching of aluminium from aluminium dishes and packages. **Food Additives and Contaminants**, v. 9, n. 3, p. 213-223, 1992.

LOZI A. A. **Toxicidade comparada dos metais pesados, arsênio, cádmio, chumbo, cromo e níquel, sobre parâmetros reprodutivos de camundongos machos adultos após exposição**

aguda. 2019. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) - Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, p. 3, 2019.

MARTINS, A. P. C.; POSPISSIL, M. C.; FIGUEROA, M. C.; RINCON, P.; WERNER, B.; SERAPIÃO, M. J.; NORONHA, L. Cirrose hepática e hemocromatose neonatal secundárias associadas à tirosinemia tipo 1: relato de um caso e diagnóstico diferencial com hemocromatose primária hereditária. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 42, n. 2, p. 127-132. 2006.

MELO, D. O.; RIBEIRO E.; STORPIRTIS S. A importância e a história dos estudos de utilização de medicamentos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 42, n. 4, 2006.

MORAIS, P. M.; LOUREIRO, V. R; PADILHA, P. M. Determinação de fósforo em rações de peixes utilizando extração assistida por ultra som e espectrofotometria no visível. **Química Nova**, v. 30, n. 4, 2009.

NAGESWARA, R. R.; KUMAR, T. M. V. N. An overview of recent applications of inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) in determination of inorganic impurities in drugs and pharmaceuticals. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical analysis**, v. 43, n.1, p. 1-13. 2007.

OLIVEIRA, E.; **J. Braz. Chem. Soc.** v. 14, p.174, 2003.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Classificação de transtornos mentais e de comportamento da CID-10**: descrições clínicas e diretrizes diagnósticas. Tradução: Dorgival Caetano. 1. ed. Porto Alegre: Artes Médicas. p. 69-82. 1993

PEIJNENBURG, W. J. G. M.; JAGER, T. Monitoring approaches to assess bioaccessibility and bioavailability of metals: matrix issues. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.56, p. 63-77. 2003.

POTTS, P. J.; WEST, M. **Portable X-ray Fluorescence Spectrometry: capabilities for in situ analysis**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2008. Livro eletrônico.

PRÓ-GENÉRICO - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE MEDICAMENTOS GENÉRICOS. **Medicamentos genéricos**, 2011 . Disponível em <http://www.progenericos.org.br/index.php/medicamento-generico>. Acesso em: 08 jul. 2019.

RAMOS, S. V. C. **Avaliação da concentração de metais traço em ostra de mangue *Crassostrea rhizophorae* Guilding, 1828), sururu (*Mytella charruana* D'Orbigny, 1846) e sedimentos superficiais no estuário do Rio Formoso, Pernambuco**. 2011. Dissertação (Mestrado Departamento de Oceanografia) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.

RIBAS, L. F. O.; GUIMARÃES, V. M. Avaliação da compreensão dos pacientes hipertensos a respeito da hipertensão arterial e seu tratamento versus controle pressórico. **Revista Brasileira de Medicina de Família e Comunidade**, v. 1, n. 4, p. 152-164, 2006.

SILVA, M. F. J. **Avaliação de riscos para a saúde resultantes de misturas de metais potencialmente presentes em medicamentos**. Almada, Portugal: Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, 2017.

SOUSA, E. E.; PAIVA, J. D. D.; FRANÇA, E. J.; ALMEIDA, M. E. S.; CANTINHA, R. S.; HAZIN, C. A. Qualidade nas análises químicas de matrizes biológicas pela fluorescência de raio-X por dispersão de energia. **International Nuclear Atlantic Conference – INAC 2013**. Recife, 2013. 1 DVD – Rom.

SWEETMAN, S. C. **Martindale: the complete drug reference**. 34. ed. London: Pharmaceutical press, 2004.

THE UNITED STATES PHARMACOPEIA. **The National Formulary** - USP 32; NF- 27, 2009

THE UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION. Elemental Impurities - Procedures. **Revision Bulletin (c)**, p. 232-234. 2013.

TOXICOLOGICAL PROFILE FOR MANGANESE U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES **Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry**, 2012.

VALCÁRCEL, M.; Principios de Química Analítica, Springer-Iberica: Barcelona, 1999.

VANDUYN, N; SETTIVARI R.; LEVORA J.; ZHOU S.; UNRINE J.; NASS R. The metal transporter SMF-3/DMT-1 mediates aluminum-induced dopamine neuron degeneration. *Journal of Neurochemistry*; v. 124, n. 1: p. 147-157, 2013.

WALTON, J.R. Evidence for participation of aluminum in neurofibrillary tangle formation and growth in Alzheimer's disease. **Journal of Alzheimer's disease**; v. 22, n.1, p. 65-72, 2010.