

**Análise de 4 $\beta$ -hidroxi- $\Delta^5$ -esteroides em  
amostras biológicas:  
revisão sistemática dos métodos analíticos  
descritos, síntese dos padrões e validação de  
um método analítico**  
**Experiência profissionalizante na vertente de  
Investigação, Farmácia Comunitária e Farmácia  
Hospitalar**

**Joana Isabel Frias Mota**

Relatório para obtenção do Grau de Mestre em  
**Ciências Farmacêuticas**  
(Mestrado Integrado)

Orientador: Prof. Doutor Samuel Martins Silvestre  
Co-orientador: Prof. Doutora Maria Eugénia Gallardo Alba

**dezembro de 2022**

**Folha em branco**

## **Declaração de Integridade**

Eu, Joana Isabel Frias Mota, que abaixo assino, estudante com o número de inscrição 40110 do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Ciências da Saúde, declaro ter desenvolvido o presente trabalho e elaborado o presente texto em total consonância com o **Código de Integridades da Universidade da Beira Interior**.

Mais concretamente afirmo não ter incorrido em qualquer das variedades de Fraude Académica, e que aqui declaro conhecer, que em particular atendi à exigida referenciação de frases, extratos, imagens e outras formas de trabalho intelectual, e assumindo assim na íntegra as responsabilidades da autoria.

Universidade da Beira Interior, Covilhã, 10/10/2022

*Joana Isabel Frias Mota*

**Folha em branco**

# Agradecimentos

Primeiramente gostaria de agradecer aos meus orientadores Prof. Doutor Samuel Martins Silvestre e Prof. Doutora Maria Eugénia Gallardo Alba pelo tempo, ajuda e compreensão que me dedicaram ao longo deste percurso. Um muito obrigada a ambos do fundo do coração.

Aos meus colegas do laboratório de Síntese Orgânica, em especial ao Pedro, ao Octávio e ao Marco, que me ajudaram e orientaram quando eu não fazia ideia do que fazer, que me ensinaram tudo o que podiam e que despenderam imenso tempo comigo durante estes últimos anos. Muito obrigada, não só por toda a ajuda, mas também pela amizade e bons momentos.

Agradeço a toda a equipa da Farmácia Covilhã por me terem feito sentir parte da equipa. A minha experiência foi muito melhor graças a vocês e, por isso, agradeço-vos. Agradeço em especial à minha orientadora de estágio, Dr.<sup>a</sup> Carmo Santos, que para além de ter sido uma orientadora excecional, integrou-me como colega de trabalho e foi também uma amiga.

A toda a equipa dos Serviços Farmacêuticos do Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira por me receberem tão bem, integrarem e ajudarem sempre que precisava de uma mão amiga. Foi uma experiência enriquecedora e interessante, que nunca teria sido a mesma sem vocês. Muito obrigada por tudo. Um obrigada especial à minha orientadora de estágio, Prof. Dr.<sup>a</sup> Maria Olímpia Fonseca, por confiar em nós para trabalhar autonomamente e por estar sempre disponível para ouvir as nossas opiniões.

À minha família, que sempre me apoiou em tudo e, que espero continuar a ter ao meu lado durante muito tempo. Obrigada pela paciência, carinho e apoio incondicional.

Ao meu namorado Miguel, que durante este tempo, foi o principal revisor dos meus trabalhos. Obrigada àquele que me ajudou a crescer e a ser uma pessoa e uma profissional melhor e que nunca me deixou desistir, mesmo quando os obstáculos pareciam insuperáveis.

À Bárbara, Beatriz e Mariana, as minhas companheiras e amigas neste percurso e que o tornaram muito mais interessante e divertido. Fico feliz que a minha jornada na Covilhã tenha coincidido com a vossa e, que o fim deste ciclo, não seja o fim da nossa amizade.

**Folha em branco**

## Resumo

O presente relatório encontra-se dividido em três capítulos que abordam respetivamente, o meu projeto de investigação referente à análise de  $4\beta$ -hidroxi- $\Delta^5$ -esteroides em amostras biológicas, o meu estágio curricular em Farmácia Comunitária e o meu estágio curricular em Farmácia Hospitalar.

O primeiro capítulo foca-se na componente de investigação que foi desenvolvida no Centro de Investigação em Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior (CICS-UBI). Existe pouca informação na literatura sobre  $4\beta$ -hidroxi- $\Delta^5$ -esteroides, não só sobre a sua atividade biológica e possíveis aplicações farmacológicas, mas também sobre métodos analíticos validados para a sua análise. Os métodos analíticos utilizados atualmente são complexos e dispendiosos, pelo que o desenvolvimento e validação de métodos analíticos mais simples é vantajoso. Este capítulo engloba uma revisão sistemática acerca dos métodos analíticos descritos na literatura para a análise de  $4\beta$ -hidroxi- $\Delta^5$ -esteroides e descreve a parte experimental, na qual foram sintetizados padrões de  $4\beta$ -hidroxi- $\Delta^5$ -esteroides para utilização no processo de validação de um método HPLC/DAD para análise de  $4\beta$ -hidroxi- $\Delta^5$ -esteroides em amostras biológicas.

O segundo capítulo faz a descrição da minha aprendizagem, atividades desempenhadas e capacidades obtidas durante o meu estágio curricular em Farmácia Comunitária, realizado na Farmácia Covilhã do dia 8 de fevereiro de 2022 a 28 de abril de 2022, sob a orientação da Dr.<sup>a</sup> Carmo Santos.

O capítulo final diz respeito ao meu estágio em Farmácia Hospitalar, que foi realizado nos Serviços Farmacêuticos (SF) do Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira (CHUCB), no período de 2 de Maio de 2022 a 17 de Junho de 2022. Neste capítulo é feita uma descrição dos vários setores em que se divide os SF do CHUCB, são relatadas as atividades farmacêuticas realizadas em âmbito hospitalar e menciona as atividades que realizei durante o estágio.

## Palavras-chave

Esteroides; Hidroxilação alílica; Validação; Farmácia Comunitária; Farmácia Hospitalar

**Folha em branco**

# Abstract

This report is divided into three chapters that address my research project regarding the analysis of  $4\beta$ -hydroxy- $\Delta^5$ -steroids in biological samples, my curricular internship in Community Pharmacy, and my curricular internship in Hospital Pharmacy.

The first chapter focuses on the research component developed at the Health Sciences Research Center of the University of Beira Interior (CICS-UBI). There is little information in the literature on  $4\beta$ -hydroxy- $\Delta^5$ -steroids, not only on their biological activity and possible pharmacological applications but also on the validated analytical methods for their analysis. The analytical techniques currently used are complex and costly, so developing and validating simpler analytical methods is advantageous. This chapter encompasses a systematic review of the analytical methods described in the literature to analyze  $4\beta$ -hydroxy- $\Delta^5$ -steroids. Additionally, it describes the experimental part, in which  $4\beta$ -hydroxy- $\Delta^5$ -steroids standards were synthesized for use in the validation process of an HPLC/DAD method for the analysis of  $4\beta$ -hydroxy- $\Delta^5$ -steroids in biological samples.

The second chapter describes my learning, activities performed, and skills obtained during my curricular internship in Community Pharmacy, held at Covilhã Pharmacy from February 8, 2022, to April 28, 2022, under the guidance of Dr. Carmo Santos.

The final chapter concerns my hospital pharmacy internship at the Pharmaceutical Services of the Cova da Beira University Hospital Center (CHUCB), from May 2, 2022, to June 17, 2022. This chapter describes the various sectors in which the CHUCB Pharmaceutical Services is divided, reports the pharmaceutical activities carried out in the hospital and mentions the activities I performed during the internship.

## Keywords

Steroids; Allylic hydroxylation; Validation; Community Pharmacy; Hospital Pharmacy

**Folha em branco**

# Índice

<b>Capítulo 1 – Projeto de Investigação .....</b>	<b>1</b>
<b>1. Introdução.....</b>	<b>1</b>
1.1. <i>Generalidades sobre esteroides .....</i>	<i>1</i>
1.1.1. Estrutura e Estereoquímica .....	1
1.1.2. Importância fisiológica e farmacológica .....	2
1.1.3. Esteróis e colesterol .....	3
1.1.4. Desidroepiandrosterona .....	4
1.1.5. Diosgenina .....	5
1.2. <i>Generalidades sobre oxisteroides .....</i>	<i>6</i>
1.2.1. 4 $\beta$ -OH-colesterol .....	7
1.3. <i>Oxidação alílica na posição 4 de <math>\Delta^5</math>-esteroides .....</i>	<i>9</i>
1.4. <i>Métodos analíticos utilizados na determinação de 4<math>\beta</math>-hidroxi-<math>\Delta^5</math>-esteroides em amostras biológicas .....</i>	<i>13</i>
<b>2. Objetivos .....</b>	<b>14</b>
<b>3. Trabalho Experimental.....</b>	<b>14</b>
3.1. <i>Métodos da revisão sistemática .....</i>	<i>14</i>
3.1.1. Estratégia de Pesquisa.....	14
3.1.1.1. Critérios de Elegibilidade.....	15
3.1.2. Extração de dados e síntese .....	15
3.2. <i>Síntese Química .....</i>	<i>15</i>
3.2.1. Reagentes .....	15
3.2.2. Material e Equipamento.....	16
3.2.3. 4 $\beta$ -Hidroxilação de $\Delta^5$ -esteroides com dióxido de selênio.....	16
3.2.3.1. Procedimento Geral.....	16
3.2.3.2. 4 $\beta$ -Hidroxilação do colesterol.....	17
3.2.3.3. 4 $\beta$ -Hidroxilação da diosgenina.....	18
3.2.3.4. 4 $\beta$ -Hidroxilação do DHEA.....	19
3.3. <i>Ensaio analítico .....</i>	<i>20</i>
3.3.1. Reagentes .....	20
3.3.2. Material e Equipamento.....	20
3.3.3. Soluções.....	21
3.3.4. Sistema Cromatográfico e Detecção .....	21
3.3.4.1. Condições Cromatográficas .....	21
<b>4. Resultados e Discussão.....</b>	<b>21</b>
4.1. <i>Revisão sistemática .....</i>	<i>21</i>
4.1.1. Seleção dos artigos .....	21
4.1.2. Limitações .....	31
4.2. <i>Estratégia de síntese dos compostos .....</i>	<i>31</i>
4.3. <i>Ensaio analítico .....</i>	<i>33</i>
4.3.1. Identificação dos compostos .....	33
4.3.2. Padrão Interno.....	35
4.3.3. Validação do Método Analítico .....	36
4.3.3.1. Seletividade.....	37
4.3.3.2. Curva de calibração e linearidade.....	38
4.3.3.3. Precisão e exatidão .....	40
<b>5. Conclusão .....</b>	<b>42</b>

<b>6. Referências .....</b>	<b>43</b>
<b>Capítulo 2 - Estágio em Farmácia Comunitária .....</b>	<b>49</b>
<b>1. Introdução .....</b>	<b>49</b>
1.1. <i>Grupo de Farmácias Holon .....</i>	<i>50</i>
1.2. <i>Farmácia Covilhã .....</i>	<i>50</i>
1.2.1. <i>Localização e Caracterização .....</i>	<i>51</i>
1.2.2. <i>Espaço Físico .....</i>	<i>51</i>
1.2.2.1. <i>Espaço exterior da farmácia .....</i>	<i>51</i>
1.2.2.2. <i>Espaço interior da farmácia.....</i>	<i>51</i>
1.2.3. <i>Medidas de contingência COVID-19 .....</i>	<i>53</i>
1.2.4. <i>Recursos Humanos .....</i>	<i>53</i>
1.2.5. <i>Sistemas Informáticos.....</i>	<i>54</i>
<b>2. Aprovisionamento e Armazenamento .....</b>	<b>55</b>
2.1. <i>Encomendas e Seleção de Fornecedores.....</i>	<i>56</i>
2.2. <i>Receção de Encomendas .....</i>	<i>57</i>
2.3. <i>Reclamações e Devoluções.....</i>	<i>58</i>
2.4. <i>Preços e Margens Legais .....</i>	<i>59</i>
2.5. <i>Armazenamento .....</i>	<i>59</i>
2.5.1. <i>Gestão dos Prazos de Validade .....</i>	<i>61</i>
2.5.2. <i>Controlo da Temperatura e Humidade.....</i>	<i>61</i>
<b>3. Atendimento e Dispensa de Medicamentos .....</b>	<b>62</b>
3.1. <i>Medicamentos Sujeitos a Receita Médica .....</i>	<i>63</i>
3.1.1. <i>Medicamentos Estupefacientes e Psicotrópicos (MEP) .....</i>	<i>65</i>
3.2. <i>Regimes de Comparticipação.....</i>	<i>65</i>
3.3. <i>Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica .....</i>	<i>66</i>
3.4. <i>Medicamentos Hospitalares.....</i>	<i>68</i>
<b>4. Aconselhamento e Dispensa de Outros Produtos de Saúde.....</b>	<b>68</b>
<b>5. Medicamentos Manipulados e Preparações Extemporâneas .....</b>	<b>70</b>
<b>6. Outros Serviços de Saúde Prestados na Farmácia .....</b>	<b>72</b>
6.1. <i>Check Saúde .....</i>	<i>72</i>
6.2. <i>Preparação Individualizada de Medicação .....</i>	<i>72</i>
6.3. <i>Administração de Vacinas e Injetáveis.....</i>	<i>73</i>
<b>7. Gestão dos Resíduos de Medicamentos .....</b>	<b>74</b>
<b>8. Faturação e Receituário.....</b>	<b>74</b>
<b>9. Projetos na Comunidade .....</b>	<b>75</b>
<b>10. Trabalhos e Formações Efetuadas ao Longo do Estágio .....</b>	<b>76</b>
<b>11. Conclusão.....</b>	<b>76</b>
<b>12. Referências.....</b>	<b>78</b>

<b>Capítulo 3 - Estágio em Farmácia Hospitalar.....</b>	<b>82</b>
<b>1. Introdução.....</b>	<b>82</b>
1.1. <i>Serviços Farmacêuticos do Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira .....</i>	<i>82</i>
<b>2. Setor de Aquisição e Logística.....</b>	<b>83</b>
2.1. <i>Seleção e Aquisição.....</i>	<i>83</i>
2.2. <i>Receção e Conferência.....</i>	<i>84</i>
2.3. <i>Armazenamento .....</i>	<i>85</i>
2.3.1. <i>Controlo de Validades .....</i>	<i>87</i>
2.3.2. <i>Controlo de Stocks.....</i>	<i>88</i>
2.4. <i>Recolha de Lotes .....</i>	<i>88</i>
<b>3. Distribuição.....</b>	<b>88</b>
3.1. <i>Sistema de Distribuição Tradicional.....</i>	<i>88</i>
3.2. <i>Sistema de Distribuição por Reposição de Stocks Nivelados ou Reposição por Níveis</i>	<i>89</i>
3.3. <i>Sistema de Distribuição Semiautomática Pyxis™.....</i>	<i>90</i>
3.4. <i>Distribuição Individual Diária em Dose Unitária .....</i>	<i>91</i>
3.5. <i>Distribuição de Medicamentos em Regime de Ambulatório.....</i>	<i>93</i>
3.5.1. <i>Outros circuitos de distribuição no setor de ambulatório.....</i>	<i>96</i>
3.5.1.1. <i>Circuito especial de Hemoderivados.....</i>	<i>97</i>
3.5.1.2. <i>Circuito especial de Medicamentos Estupefacientes e Psicotrópicos.....</i>	<i>98</i>
<b>4. Farmacotecnia.....</b>	<b>99</b>
4.1. <i>Preparação de Formulações Estéreis.....</i>	<i>100</i>
4.1.1. <i>Preparação de Medicamentos Citotóxicos e Biológicos .....</i>	<i>100</i>
4.2. <i>Preparação de Nutrição Parentérica e Outras Preparações Estéreis.....</i>	<i>103</i>
4.2.1. <i>Controlo de Qualidade .....</i>	<i>105</i>
4.3. <i>Preparação de Manipulados Não Estéreis .....</i>	<i>106</i>
4.4. <i>Reembalagem de Medicamentos.....</i>	<i>108</i>
<b>5. Farmácia Clínica.....</b>	<b>109</b>
5.1. <i>Reconciliação Terapêutica.....</i>	<i>109</i>
5.2. <i>Acompanhamento Farmacêutico nas Visitas Clínicas .....</i>	<i>110</i>
5.3. <i>Consulta Farmacêutica .....</i>	<i>110</i>
5.4. <i>Farmacovigilância .....</i>	<i>111</i>
5.5. <i>Farmacocinética Clínica .....</i>	<i>112</i>
<b>6. Informação do Medicamento.....</b>	<b>113</b>
<b>7. Comissões Técnicas Hospitalares .....</b>	<b>114</b>
<b>8. Ensaio Clínicos.....</b>	<b>115</b>
<b>9. Sistema de Gestão de Risco.....</b>	<b>117</b>
<b>10. Sistema de Gestão de Qualidade .....</b>	<b>118</b>

<b>11. Conclusão.....</b>	<b>119</b>
<b>12. Referências .....</b>	<b>120</b>
<b>Anexos .....</b>	<b>123</b>
<i>Anexo 1.1. Estratégia de pesquisa usada na revisão sistemática.....</i>	<i>123</i>
<i>Anexo 1.2. - Fluxograma do procedimento a seguir no caso de derrame de citotóxicos elaborado durante o estágio. ....</i>	<i>123</i>

**Folha em branco**

# Lista de Figuras

Figura 1.1 - Esqueleto ciclopentanoperhidrofenantreno.....	2
Figura 1.2 - Esqueleto colestano (à esquerda) e estrutura do colesterol (à direita). .....	3
Figura 1.3 - Estrutura da DHEA (à esquerda) e do DHEA-S (à direita). .....	4
Figura 1.4 - Estrutura da diosgenina.....	5
Figura 1.5 - Estrutura do 4 $\beta$ -OH-colesterol. ....	7
Figura 1.6 - Fluxograma descritivo do processo de seleção dos artigos.....	22
Figura 1.7 - Cromatograma do colesterol (15,870 min), à concentração de 4 mg/mL, a 215 nm. ....	33
Figura 1.8 - Cromatograma do 4 $\beta$ -OH-colesterol (13,783 min), à concentração de 4 mg/mL, a 215 nm. ....	34
Figura 1.9 - Cromatograma da diosgenina (6,774 min), à concentração de 4 mg/mL, a 215 nm. ....	34
Figura 1.10 - Cromatograma da 4 $\beta$ -OH-diosgenina (5,396 min), à concentração de 4 mg/mL, a 215 nm. ....	35
Figura 1.11 - Cromatograma dos compostos em estudo, à concentração de 4 mg/mL, e do xanteno (padrão interno), à concentração de 1mg/mL, a 215 nm. ....	35
Figura 1.12 - Estrutura química do xanteno (padrão interno).....	36
Figura 1.13 - Cromatograma do xanteno (3,521 min), à concentração de 1 mg/mL, a 215 nm. ....	36
Figura 1.14 - Cromatograma relativo ao meio de cultura (seletividade), a 215 nm. ....	37
Figura 1.15 - Cromatograma da 4 $\beta$ -OH-diosgenina (5,381 min) e 4 $\beta$ -OH-colesterol (13,695 min) à concentração de 0,125 mg/mL (LLOQ) e respectiva ampliação. ....	38
Figura 1.16 - Organograma que resume os quadros da FC e respectivas funções. ....	54
Figura 1.17 - Serviços clínicos que dispõem de carro de emergência no CHUCB e respectiva quantidade. ....	90

**Folha em branco**

# Lista de Tabelas

Tabela 1.1 - Solventes com melhores rendimentos para obtenção de 4 $\beta$ -OH-colesterol - adaptado de <i>Ghosh, et al.</i> (38). .....	13
Tabela 1.2 - Resumo das reações de 4 $\beta$ -hidroxilação do DHEA feitas no trabalho experimental. ....	19
Tabela 1.3 - Métodos utilizados na determinação de 4 $\beta$ -OH-colesterol. ....	23
Tabela 1.4 - Substratos e as suas cadeias laterais, produto, tempo reacional médio e rendimento médio. ....	32
Tabela 1.5 - Condições cromatográficas, compostos analisados e respetivos tempos de retenção. ....	33
Tabela 1.6 - Resultados da linearidade para os compostos em estudo. ....	39
Tabela 1.7 - Precisão intra-dia e exatidão (n=6). ....	41
Tabela 1.8 - Precisão inter-dia e exatidão (n=6). ....	41
Tabela 1.9 - Comparticipação do Estado no Preço dos Medicamentos (20). ....	66
Tabela 1.10 - Documentos que devem acompanhar artigos específicos aquando a receção de pedidos. ....	85
Tabela 1.11 - Armazéns existentes nos SF do CHUCB. ....	86
Tabela 1.12 - Controlos microbiológicos realizados no setor de Farmacotecnia e respetiva periodicidade. ....	106
Tabela 1.13 - Armários do SEC, conteúdo e observações relevantes. ....	116

**Folha em branco**

# Lista de Esquemas

Esquema 1.1 - Possível mecanismo reacional para a 4 $\beta$ -hidroxilação de $\Delta^5$ -esteroides com recurso a SeO <sub>2</sub> proposto por <i>Ma, et al.</i> (34).....	9
Esquema 1.2 - Reação de síntese do 4 $\beta$ -OH-colesterol a partir do colesterol por <i>Rosenheim, et al.</i> (35). .....	10
Esquema 1.3 - Reação de síntese do 4 $\beta$ -OH-colesterol a partir do colesterol por <i>Kawamoto, et al.</i> (36). .....	11
Esquema 1.4 - Reação de síntese do 4 $\beta$ -OH-DHEA a partir do DHEA por <i>Snider, et al.</i> (31).....	11
Esquema 1.5 - Esquema reacional da síntese do 3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diacetoxi-4 $\beta$ -hidroxiandrost-5-eno a partir do 3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diacetoxiandrost-5-eno por <i>Li, et al.</i> (37).....	12
Esquema 1.6 - Reações de 4 $\beta$ -hidroxilação do colesterol, diosgenina e DHEA, realizadas por <i>Ma, et al.</i> (34). .....	12
Esquema 1.7 - Hidroxilação alílica do colesterol, reagentes e condições reacionais. ....	17
Esquema 1.8 - Hidroxilação alílica da diosgenina, reagentes e condições reacionais. ...	18
Esquema 1.9 - Hidroxilação alílica do DHEA, reagentes e condições reacionais. ....	20
Esquema 1.10 - Reação de hidroxilação alílica de $\Delta^5$ -esteroides, reagentes e condições reacionais. ....	31

**Folha em branco**

# Lista de Equações

Equação 1.1 - Cálculo do coeficiente de variação (CV).....	40
Equação 1.2 - Cálculo do BIAS. ....	41

**Folha em branco**

# Lista de Acrónimos

AgOAc	Acetato de Prata
AIM	Autorização de Introdução no Mercado
ANF	Associação Nacional de Farmácias
AO	Assistente Operacional
APCI	Ionização química à pressão atmosférica
APPI	Fotoionização à pressão atmosférica
AUE	Autorização de Utilização Especial
BHT	Butilhidroxitolueno
BPFC	Boas Práticas em Farmácia Comunitária
BPFH	Boas Práticas em Farmácia Hospitalar
Br <sub>2</sub>	Bromo
CA	Conselho de Administração
CAUL	Certificado de Autorização de Utilização de Lote
CC	Cromatografia em coluna
CCF	Centro de Conferência de Faturas
CE	Comissão de Ética
CEDIME	Centro de Documentação e Informação sobre Medicamentos
CF	Consulta Farmacêutica
CFLH	Câmara de Fluxo Laminar Horizontal
CFLV	Câmara de Fluxo Laminar Vertical
CFT	Comissão de Farmácia e Terapêutica
CH <sub>3</sub> COOH	Ácido acético glacial
CH <sub>3</sub> NaO	Metóxido de sódio
CHCl <sub>3</sub>	Clorofórmio
CHUCB	Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira
CIM	Centro de Informação de Medicamentos
CIMPI	Centro de Informação de Medicamentos de Preparação Individualizada
CNP	Cadastro Nacional de Produtos
CPA	Catálogo Público de Aprovisionamento
CPNPC	Cancro do Pulmão de Não Pequenas Células
CV	Coefficiente de variação
DAD	Detetor de <i>diode array</i>
DCI	Denominação comum internacional
DHEA	Desidroepiandrosterona
DHEA-S	Desidroepiandrosterona Sulfato
DIDDU	Distribuição individual diária em dose unitária
DLLME	Microextração líquido-líquido dispersiva
DMARDs	Fármacos Antirreumáticos Modificadores da Doença
DMG	N,N-dimetilglicina
DMSO	Dimetilsulfóxido
DT	Diretor Técnico
EI	Ionização por impacto eletrónico
EMA	<i>European Medicines Agency</i>
ESI	Ionização por eletrospray

FBS	Soro Fetal Bovino
FC	Farmácia Covilhã
FCS	Faculdade de Ciências da Saúde
FD	Farmácia Diamantino
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FDS	<i>Fast Dispensing Machine</i>
FEFO	<i>First Expire, First Out</i>
FGP	Formulário Galénico Português
FNM	Formulário Nacional do Medicamento
FP	Farmácia Pedroso
FSJ	Farmácia São João
GABA	Recetores $\gamma$ -aminobutíricos
GC	Cromatografia gasosa
GLC-PPCIRA	Grupo de Coordenação Local do Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e Resistência aos Antibióticos
H <sub>2</sub> O	Água
HDL	Lipoproteínas de Elevada Densidade
HEPA	<i>High Efficiency Particulate Air</i>
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
HR-MS	Espectroscopia de massa de alta resolução
IMC	Índice de Massa Corporal
IVA	Imposto de Valor Acrescentado
JCI	Joint Commission International
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Difosfato de potássio
KOH	Hidróxido de Potássio
LASA	<i>Look Alike, Sound Alike</i>
LC	Cromatografia líquida
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
LEF	Laboratório de Estudos Farmacêuticos
LLOQ	Limite inferior de quantificação
LOD	Limite de deteção
LOQ	Limite de quantificação
LXR	Ligandos dos Recetores Hepáticos X
MAPA	Medição Ambulatória da Pressão Arterial
MeOH	Metanol
MEP	Medicamentos Estupefacientes e Psicotrópicos
MG	Massa Gorda
MICF	Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
MNSRM	Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica
MNSRM-EF	Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica – Exclusivos de Farmácia
MS	Espectrometria de massa
MS/MS	Espectrometria de massa em tandem
MSAR	Máquina semiautomática de reembalagem
MSRM	Medicamentos Sujeitos a Receita Médica
MUV	Medicamentos de Uso Veterinário
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sulfato de sódio
NaCl	Cloreto de sódio
NaHCO <sub>3</sub>	Bicarbonato de sódio

NIF	Número de Identificação Fiscal
NMDA	Recetores N-metil-D-aspartato
NP	Nutrição Parentérica
OF	Ordem dos Farmacêuticos
OMS	Organização Mundial de Saúde
PA	Pressão arterial
PAP	Pedido de Acesso Precoce
PDA	<i>Personal Digital Assistant</i>
PDCA	<i>Plan, Do, Check, Act</i>
PEG	Sonda de gastronomia endoscópica percutânea
PIM	Preparação Individualizada da Medicação
PNV	Plano Nacional de Vacinação
PVA	Preço de Venda ao Armazenista
PVF	Preço de Venda à Farmácia
PVP	Preço de Venda ao Público
Py	Piridina
R <sup>2</sup>	Coefficiente de correlação
RAM	Reações Adversas a Medicamentos
RED	Receita Eletrónica Desmaterializada
REM	Receita Eletrónica Materializada
RGPD	Regulamento Geral sobre a Proteção de Dados
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
ROS	Espécies Reativas de Oxigénio
rx	Reação
SAMS	Serviço de Assistência Médico Social
SC	Serviço Clínico
SD	Desvio-padrão
SEC	Setor de Ensaio Clínicos
SeO <sub>2</sub>	Dióxido de Selénio
SF	Serviços Farmacêuticos
SFH	Serviços Farmacêuticos Hospitalares
SGICM	Sistema de Gestão Integrada do Circuito do Medicamento
SGQ	Sistema de Gestão de Qualidade
SIATS	Sistema de Informação para a Avaliação das Tecnologias de Saúde
SIGREM	Sistema Integrado de Gestão de Resíduos e Medicamentos
SLH	Setor de Logística Hospitalar
SNC	Sistema Nervoso Central
SNF	Sistema Nacional de Farmacovigilância
SNG	Sonda nasogástrica
SNS	Serviço Nacional de Saúde
SPE	Extração em Fase Sólida
SPMS	Serviços Partilhados do Ministério da Saúde
SREBP1c	Fator de transcrição 1c de ligação ao elemento regulador de esterol
SREBP2	Fator de transcrição 2 de ligação ao elemento regulador de esterol
TFG	Taxa de Filtração Glomerular
TLC	Cromatografia em camada fina
TMS	Tetrametilsilano
TRAg	Teste rápido de antigénio
TSDT	Técnico Superior de Terapêutica e Diagnóstico

UAH	Unidade de Apoio ao Hipertenso
UAVC	Unidade de Acidente Vascular Cerebral
UBI	Universidade da Beira Interior
UCI	Unidade de Cuidados Intensivos
UFC	Unidades Formadoras de Colónia
UHPLC	Cromatografia líquida de ultra performance
UV	Ultravioleta
VIH	Vírus da imunodeficiência humana
VMER	Viatura Médica de Emergência

**Folha em branco**

# Capítulo 1 – Projeto de Investigação

## 1. Introdução

### 1.1. Generalidades sobre esteroides

Os esteroides podem ser encontrados em organismos vivos, como animais (esteróis e outros compostos), plantas (fitoesteróis) e fungos (ergosteróis), nos quais parecem ser essenciais ao seu funcionamento fisiológico normal. Tendo em conta que estão vastamente distribuídos na Natureza e que parecem ser essenciais à sobrevivência dos seres vivos, são compostos cujo estudo é de elevado interesse. Deste modo, têm vindo a ser estudados inúmeros compostos esteroides isolados de fontes naturais; porém, uma parte significativa dos compostos esteroides estudados é obtida de forma semissintética e sintética (1).

Nos humanos, entre outras funções relevantes, os esteroides agem no sistema endócrino, onde atuam como mensageiros químicos, as hormonas esteroides endógenas. Adicionalmente, também podem agir como componentes estruturais das membranas celulares, como é o caso do colesterol (2). Todos os esteroides encontrados no corpo derivam do colesterol, o qual pode ser obtido da dieta e a partir da via biossintética do Acetil CoA (2). Circulam na corrente sanguínea essencialmente ligados a proteínas e, graças ao seu carácter não polar, conseguem atravessar as membranas das suas células alvo com facilidade (3).

#### 1.1.1. Estrutura e Estereoquímica

A nível estrutural, os compostos esteroides possuem um esqueleto ciclopentanoperhidrofenantreno, que consiste numa estrutura carbonada, com quatro anéis fundidos, três ciclohexanos e um ciclopentano (Figura 1.1) (4).

Estes compostos podem diferir entre si em contrações ou expansões de anéis ou derivações em uma ou mais ligações, dando origem a vários grupos de esteroides. Neste contexto, as designadas séries de esteroides são definidas pelos dois grupos metilo em C10 e C13 e pelas diferentes cadeias laterais ligadas ao C17 (4).

No que diz respeito à estereoquímica destas moléculas, os esteroides são moléculas grandes e rígidas devido aos anéis fundidos. Os anéis B, C e D sofrem geralmente uma fusão trans. Os anéis A e B podem sofrer uma fusão cis ou trans, apesar de a fusão trans também ser mais comum entre estes anéis, devido à sua maior estabilidade. Nestas moléculas, a substituição equatorial parece ser mais favorável, por razões de estabilidade, o que acontece com a molécula de colesterol, cujo grupo hidroxilo em C3 assume uma orientação equatorial e não axial (4).

Os substituintes apresentam configuração  $\beta$ , quando se encontram acima do plano geral do sistema de anéis (isto é, estão no mesmo plano que os metilos em C10 e em C13) e apresentam configuração  $\alpha$  quando se encontram abaixo do plano geral do sistema de anéis.

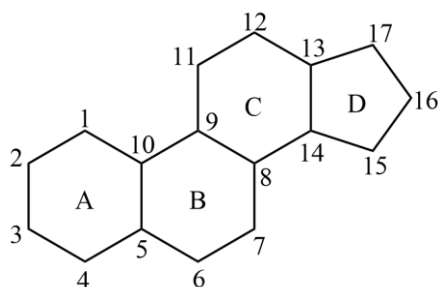


Figura 1.1 - Esqueleto ciclopentanoperhidrofenantreno.

### 1.1.2. Importância fisiológica e farmacológica

Como já referido, existem vários tipos de esteroides que atuam em diversos processos fisiológicos diferentes e em diferentes fases da vida. Uma das funções a destacar é o seu papel como reguladores endócrinos. De facto, os compostos esteroides regulam o processo reprodutivo, medeiam as alterações no organismo que ocorrem na adolescência e regulam o crescimento celular e dos órgãos. Ademais, influenciam a saúde cardiovascular, mantêm a homeostase sistémica e alguns parecem ter um efeito neuroprotetor (2,3).

Os corticosteroides são um tipo de compostos esteroides e dividem-se em glucocorticoides e mineralocorticoides. Os glucocorticoides, onde se enquadra o cortisol produzido pelo córtex adrenal, ligam-se aos recetores de cortisol e regulam vários componentes metabólicos e agem no sistema imune. O cortisol regula a resposta sistémica ao stress no ser humano e parece influenciar o desenvolvimento fetal ao estimular a maturação dos órgãos principais (sistema respiratório, trato gastrointestinal, cérebro e rins) numa fase mais tardia da gestação. Os glucocorticoides agem como hormonas catabólicas, ao estimularem a degradação de glicogénio e a degradação de proteínas em aminoácidos para serem consumidos no processo gluconeogénico. Adicionalmente, estimulam os adipócitos a libertar os ácidos gordos que armazenam (2,3). Os mineralocorticoides, do qual é exemplo a aldosterona, produzida no córtex adrenal, auxiliam na manutenção da homeostase de eletrólitos, principalmente nos rins e no cólon, através da interação com recetores mineralocorticoides. Pensa-se que a ativação dos recetores mineralocorticoides no cérebro possa controlar a sede e o apetite (2,3).

Os esteroides sexuais são hormonas que interagem com recetores androgénicos, prostagénicos e estrogénicos de modo a causarem o desenvolvimento das características sexuais secundárias observadas na adolescência e facilitar a reprodução em ambos os géneros. São exemplos de esteroides sexuais os androgénios (testosterona), os estrogénios (estradiol) e os progestagénios (progesterona) (2,3). Existe a possibilidade de os esteroides androgénicos DHEA e sulfato de desidroepiandrosterona (DHEA-S) terem um papel neuroprotetor nos recém-nascidos ao

atuarem no cérebro fetal em desenvolvimento (2). Vários esteroides androgénios também têm ação anabólica significativa, promovendo o crescimento de tecidos por ligação aos recetores androgénicos, estimulando o crescimento e proliferação celular. São exemplos de esteroides anabólicos a testosterona, de origem natural e a metandrostenolona, de origem sintética (3).

Tendo em conta os diversos efeitos a nível fisiológico que se observaram nos esteroides naturais, começaram a ser estudadas alternativas semissintéticas e sintéticas, com o objetivo de se obterem compostos com interesse terapêutico. Os contraceptivos hormonais orais são um bom exemplo da utilização de esteroides sexuais semissintéticos, como é o caso do etinilestradiol. Outro exemplo é a prednisona, um glucocorticoide semissintético que, após metabolismo, dá origem à prednisolona, um esteroide com ação anti-inflamatória. Outros exemplos de esteroides sintéticos são a dexametasona, a betametasona e a budesonida, usados na prática clínica (2,3).

A estrutura dos esteroides está intimamente relacionada com a sua atividade biológica. Por vezes, basta que exista uma alteração estrutural mínima na estrutura da molécula, por exemplo, a adição ou remoção de um grupo funcional, para que ocorra uma alteração significativa da atividade biológica do composto (5).

### 1.1.3. Esteróis e colesterol

Os esteróis são moléculas esteroides que possuem um esqueleto colestano (Figura 1.2) e, pelo menos, um grupo hidroxilo em C3. Adicionalmente, podem diferir nos átomos de carbono que possuem na cadeia lateral (4).

O colesterol (colest-5-en-3 $\beta$ -ol) (Figura 1.2) é o membro mais significativo da família dos esteróis e é sintetizado no fígado, gónadas, glândulas adrenais e intestinos. Cerca de um quarto do colesterol do organismo provém da dieta e os seus níveis endógenos apresentam variação circadiana, sendo mais elevados na primavera e mais baixos no verão (6,7).

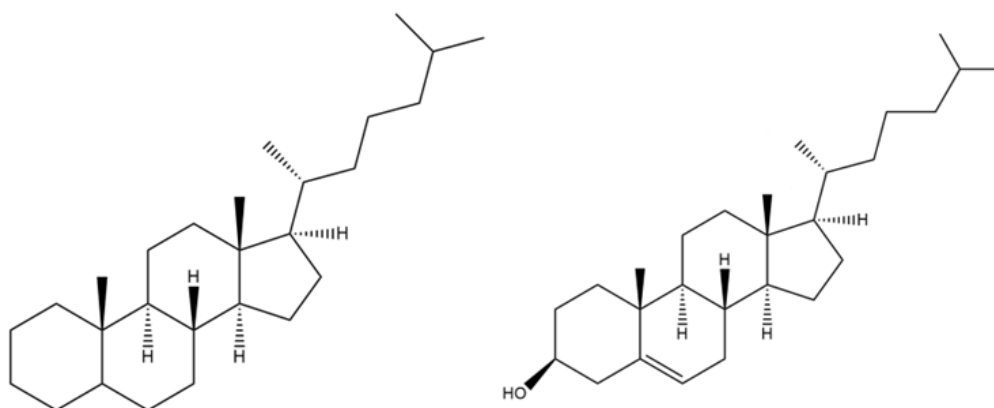


Figura 1.2 - Esqueleto colestano (à esquerda) e estrutura do colesterol (à direita).

A sua importância fisiológica advém do facto de este ser um constituinte essencial das membranas celulares e lipoproteínas e precursor na biossíntese de vitamina D, ácidos biliares e hormonas

esteroides (7). Adicionalmente, regula a função proteica, participa na formação de mielina e está envolvido em vários processos de transdução de sinais intracelulares (8).

#### 1.1.4. Desidroepiandrosterona

A desidroepiandrosterona (DHEA, 3 $\beta$ -hidroxiandrost-5-en-17-ona) (Figura 1.3) é um esteroide endógeno sintetizado a partir do colesterol, principalmente, na zona reticular da glândula adrenal, mas também nos testículos e ovários, onde atua como molécula intermediária na produção de testosterona e estradiol.

Este composto com 19 carbonos apresenta um grupo 3 $\beta$ -hidroxilo, uma cetona em C17 e uma ligação dupla entre C5 e C6 no anel B do núcleo esteroide (9,10).

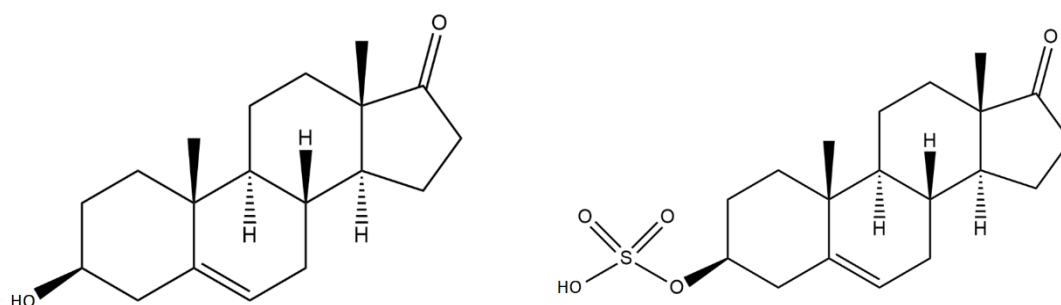


Figura 1.3 - Estrutura da DHEA (à esquerda) e do DHEA-S (à direita).

O DHEA circula no corpo maioritariamente na forma de DHEA-S (Figura 1.3). Os níveis de DHEA/DHEA-S variam ao longo do dia, aumentando à noite, e variam ao longo da vida, sendo que no feto os níveis destes compostos são elevados, descem após o nascimento e permanecem baixos durante os primeiros 6 anos de vida. Os níveis de DHEA/DHEA-S parecem atingir o pico por volta dos 20-30 anos, sendo os níveis mais baixos em mulheres. Com a idade, os níveis destes compostos começam a descer progressivamente e parecem estar ligados às alterações degenerativas associadas ao processo de envelhecimento (9–11).

O metabolismo oxidativo do DHEA foi extensivamente estudado e observou-se que o primeiro metabolito formado é o 7 $\alpha$ -OH-DHEA por ação da CYP3A4 e da CYP3A5. O 7-oxo-DHEA pode ser formado a partir do 7 $\alpha$ -OH-DHEA ou do 7 $\beta$ -OH-DHEA pela 11 $\beta$ -hidroxiesteroide desidrogenase, e pode ser convertido novamente em 7 $\alpha$ -OH-DHEA ou 7 $\beta$ -OH-DHEA pela mesma enzima. Contudo, parece haver uma formação preferencial de 7 $\beta$ -OH-DHEA a partir do 7-oxo-DHEA. Estes metabolitos também podem ser convertidos em ésteres sulfato, dióis e trióis. Os metabolitos 7 $\beta$ -hidroxilados do DHEA aparentam ter efeitos biológicos em processos termogénicos, inflamatórios, metabólicos e imunológicos (10). Até agora não está descrito na literatura se existe formação de 4 $\beta$ -OH-DHEA através do metabolismo endógeno deste esteroide.

O tempo de semivida do DHEA é entre 1 e 3 horas, sendo que o DHEA-S parece ter um tempo de semivida mais longo e uma maior ligação à albumina. Contudo, pensa-se que o DHEA-S não tem

atividade biológica relevante e, assim, tem de ser convertido novamente em DHEA para que possa exercer a sua ação (9,11).

Estudos em modelos animais mostraram que o DHEA pode exercer efeitos benéficos na aterosclerose, função imune, diabetes, obesidade e na prevenção do desenvolvimento de cancro. Em humanos, foram demonstrados efeitos benéficos da suplementação com DHEA na infertilidade, obesidade, função imune, atrofia vaginal, depressão, doença de Crohn, hipertensão pulmonar e lúpus eritematoso sistémico (9). É ainda de referir que o DHEA e o seu derivado sulfatado apresentam efeitos modulatórios dos recetores  $\gamma$ -aminobutíricos (GABA) e N-metil-D-aspartato (NMDA) e são também considerados esteroides neuroativos (10).

### 1.1.5. Diosgenina

A diosgenina [(25*R*)-espirost-5-en-3 $\beta$ -ol] (Figura 1.4) é uma sapogenina esteroide com 27 carbonos, que pode ser obtida a partir de espécies de plantas do género *Smilax*, *Discorea*, *Costus* e *Trigonella*, por hidrólise da dioscina, extraída das mesmas. Estas plantas são amplamente e tradicionalmente utilizadas no tratamento de diversas doenças e condições comuns, como asma, diabetes, doença cardiovascular, entre outras (12,13).

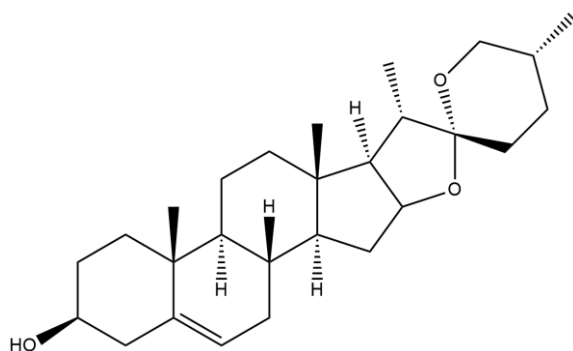


Figura 1.4 - Estrutura da diosgenina.

Este fitoesterol possui seis anéis, em que quatro deles formam o esqueleto esteroide, e os outros dois anéis ligam-se na forma de grupos acetal. O composto possui um grupo 3 $\beta$ -hidroxilo, apresenta configuração *R* em C25 e uma dupla ligação entre C5 e C6 (14). Considera-se que a semelhança estrutural da diosgenina com esteroides endógenos, como o 17 $\beta$ -estradiol, explica que consiga mimetizar o seu efeito, apresentando, por exemplo, alguma atividade estrogénica. Também apresenta efeitos semelhantes ao colesterol na bicamada lipídica, igualmente devido à semelhança estrutural com o mesmo (15).

A diosgenina também reduz o stress oxidativo, ao melhorar a atividade das enzimas antioxidantes, protegendo a função mitocondrial e ao inibir a produção de espécies reativas de oxigénio (ROS). Este composto tem atividade cardioprotetora derivada da sua capacidade de inibir ou diminuir a expressão de diversas citocinas que interferem na inflamação, e protege o

coração através da sua capacidade antiarrítmica. Além disso, a diosgenina melhora a tolerância à glucose (16).

Devido aos seus efeitos biológicos, a diosgenina e moléculas análogas podem ter efeitos benéficos em várias patologias, entre elas, osteoporose, diabetes *mellitus*, cancro, asma, artrite e fibrose hepática (17). Para além disso, inibem a adesão de leucócitos e, desta forma, reduzem a inflamação e disfunção endotelial. Também conseguem regular o metabolismo lipídico e melhorar a absorção local de lípidos e, assim, inibir a formação de placas ateroscleróticas. Estes compostos são também inibidores eficazes da absorção do colesterol e conseguem melhorar a hipercolesterolemia e aterosclerose (15).

De acordo com os poucos dados existentes, aparentemente, a diosgenina não é metabolizada no organismo, sendo que a sua baixa biodisponibilidade limita a sua aplicação clínica (17,18). No entanto, a alteração estrutural da molécula de diosgenina pode permitir obter derivados com características físico-químicas, farmacocinéticas e farmacodinâmicas melhoradas. Ademais, o desenvolvimento de novos sistemas de entrega, micronização do composto, dispersão sólida ou criação de pró-fármacos pode melhorar a biodisponibilidade, por exemplo, tornar a molécula mais hidrofílica pode ajudar a que mais quantidade chegue às células alvo (15,17).

## **1.2. Generalidades sobre oxisterois**

O colesterol pode dar origem a compostos oxidados de 27 carbonos, por reações enzimáticas, não enzimáticas ou ambas, os quais se designam como oxisterois. Estes diferem do colesterol por terem um acréscimo de um ou mais grupos polares (8,19). As referidas reações enzimáticas são mediadas por várias enzimas, incluindo enzimas pertencentes ao citocromo P450, e levam à formação de compostos com a cadeia lateral oxidada, como o 27-OH-colesterol, e a produtos oxidados no sistema de anéis, como o 4 $\beta$ -OH-colesterol. As reações não enzimáticas, geralmente envolvendo espécies reativas de oxigénio (ROS), dão origem a oxisterois como o 5,6-epoxicolesterol e o colestano-3 $\beta$ -5 $\alpha$ -6 $\beta$ -triol. O 7 $\beta$ -OH-colesterol e o 7-cetocolesterol são exemplos de oxisterois que podem ser formados por ambas as vias metabólicas. Para além disso, a dieta também pode ser uma fonte exógena de oxisterois no organismo (8,19).

O metabolismo dos oxisterois pode seguir diversas vias. Primeiramente, estes podem dar origem a oxisterois com maior grau de oxidação, por exemplo, a oxidação do 7-cetocolesterol a 27-OH-7-cetocolesterol, que podem depois ser transformados em espécies mais hidrofílicas. Podem, ainda, ser esterificados por colesterol acetiltransferases ou podem ser reduzidos pela 11 $\beta$ -hidroxiesteroide desidrogenase, por exemplo, o 7-cetocolesterol é reduzido a 7 $\beta$ -OH-colesterol. Adicionalmente, os oxisterois podem ser sulfatados pela enzima colesterol sulfotransferase, tanto nos anéis, como na cadeia lateral; por exemplo, o 7-cetocolesterol é metabolizado a 7 $\beta$ -OH-colesterol-3-sulfato (19).

Os oxisterois mais abundantes fisiologicamente resultam de reações enzimáticas, como é o caso do 4 $\beta$ -OH-colesterol (20). Estes metabolitos do colesterol parecem ter um papel importante a nível fisiológico e patológico, sendo que alterações das suas concentrações podem ser indicadoras de várias doenças. Parecem agir como reguladores da homeostase do colesterol, moduladores da permeabilidade celular, agentes aterogénicos, mediadores inflamatórios, reguladores do sistema imune e interagem com diversos recetores celulares, conseguindo ativar ou inibir várias vias de sinalização celular (8,19). Os oxisterois atuam como ligandos dos recetores hepáticos X (LXR $\alpha$  e LXR $\beta$ ), envolvidos no metabolismo de ácidos gordos e de colesterol, e agem como reguladores da expressão génica. Vários oxisterois têm a capacidade de afetar a apoptose, autofagia e oxiaoptofagia, por exemplo, o 7-cetocolesterol e o 7 $\beta$ -OH-colesterol. Os oxisterois estão igualmente envolvidos na regulação da proliferação celular (8).

Além disso, parecem estar ligados ao desenvolvimento de diversas doenças como doença de Alzheimer, aterosclerose, doenças cardiovasculares, diabetes *mellitus* tipo II, osteoporose e cataratas (19,21,22). Em relação ao cancro, enquanto alguns oxisterois parecem estar relacionados com o seu desenvolvimento, outros aparentam ter um efeito que previne a progressão cancerígena. De facto, vários estudos mostram a sua influência na migração, proliferação celular e apoptose de linhas celulares de vários carcinomas, por exemplo, de cancro da mama, cancro da bexiga, glioblastoma, entre outros (19,23).

### 1.2.1. 4 $\beta$ -OH-colesterol

Um dos oxisterois formados através do metabolismo do colesterol e que apresenta maiores concentrações no plasma é o 4 $\beta$ -OH-colesterol (Figura 1.5). Este produto oxidado do colesterol é, maioritariamente, formado por via enzimática, mediada pelas isoenzimas CYP3A4 e CYP3A5, sendo também formado, em baixa quantidade, através da auto-oxidação do colesterol (6,22,24).

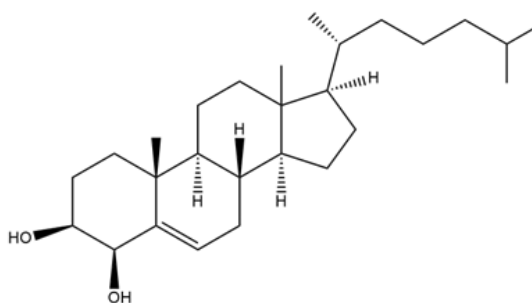


Figura 1.5 - Estrutura do 4 $\beta$ -OH-colesterol.

Em pessoas saudáveis, as concentrações séricas de 4 $\beta$ -OH-colesterol variam entre 10 e 60 ng/mL, o que equivale, aproximadamente, a 25 e 150 nmol/L e não parecem variar com o ritmo circadiano (25,26). No entanto, foi mostrado que pacientes tratados com indutores da CYP3A4, por exemplo, rifampicina ou carbamazepina, apresentam concentrações séricas de 4 $\beta$ -OH-colesterol até dez vezes mais elevadas que o normal. Por outro lado, os inibidores da CYP3A4, por exemplo, o

midazolam, também afetam os níveis séricos de 4 $\beta$ -OH-colesterol. Apesar disto, parece existir uma maior sensibilidade aos indutores, visto que ocorre uma maior alteração nos níveis séricos de 4 $\beta$ -OH-colesterol aquando do uso dos mesmos (25).

Assim, vários estudos sugerem que o 4 $\beta$ -OH-colesterol pode ser utilizado como um biomarcador da atividade das CYP3A. Contudo, existe alguma controvérsia acerca da utilização deste composto para esse propósito. Isto deve-se ao facto de as concentrações séricas de 4 $\beta$ -OH-colesterol serem afetadas por vários outros fatores. De facto, a produção de 4 $\beta$ -OH-colesterol é também afetada pela dieta, existência de doença renal ou hepática e parece variar entre etnias devido à diferença entre o número de alelos ativos da CYP3A5. Adicionalmente, este oxisterol também é metabolizado no fígado e no intestino, pela CYP7A1 e pela CYP27A1, a 4 $\beta$ ,7 $\alpha$ -dihidroxicolesterol e 4 $\beta$ ,27-dihidroxicolesterol, respetivamente, o que também contribui para os níveis séricos do mesmo (6,27).

É difícil determinar a taxa de eliminação do 4 $\beta$ -OH-colesterol, visto que este está constantemente a ser formado a partir do colesterol pelo metabolismo das CYP3A e tendo em conta que existem vários fatores que alteram a sua taxa de produção. No entanto, em grande parte da literatura, está descrito que este composto apresenta um tempo de semivida de cerca de 17 dias (6,26).

A atividade biológica do 4 $\beta$ -OH-colesterol ainda não está bem esclarecida. Sabe-se que este oxisterol ativa os recetores LXR $\alpha$  e  $\beta$ , envolvidos no metabolismo lipídico e atua como molécula reguladora dos transportadores de colesterol periféricos. Foi demonstrado através de estudos *in vitro*, que quando em concentrações relevantes, o 4 $\beta$ -OH-colesterol causa a inibição do influxo de colesterol e promove o efluxo de colesterol de células espumosas (macrófagos M2 preenchidos de lipoproteínas de baixa densidade, LDL). Existe ainda a possibilidade de o 4 $\beta$ -OH-colesterol circulante servir como molécula sinalizadora hepática que informa os tecidos extra-hepáticos da concentração de colesterol no fígado. Adicionalmente, o 4 $\beta$ -OH-colesterol pode ter a capacidade de ativar o transporte de colesterol dos tecidos periféricos para o fígado e intestino para ser excretado (transporte de colesterol reverso), como se observou com outros agonistas LXR. Isto pode atenuar a progressão da aterosclerose ao aumentar a excreção do colesterol em excesso. Contudo, são necessários mais estudos neste âmbito (28).

O 4 $\beta$ -OH-colesterol também parece ser um ativador seletivo do SREBP1c (fator de transcrição 1c de ligação ao elemento regulador de esterol), um mediador fundamental da homeostase lipídica, que regula a biossíntese de triglicéridos e ácidos gordos (lipogénese *de novo*). Este fator de transcrição vem acompanhado por outro, o SREBP2 (fator de transcrição 2 de ligação ao elemento regulador de esterol), que é um ativador da síntese de colesterol. Assim, ao ser seletivo para o SREBP1c, o 4 $\beta$ -OH-colesterol estimula a síntese de ácidos gordos e triglicéridos, mas não estimula a síntese de colesterol. Estudos realizados em hepatócitos primários de murganho mostraram que ao promover a ativação do SREBP1c, o 4 $\beta$ -OH-colesterol também estimulava a ação insulínica, o que, conseqüentemente, estimulava a síntese e armazenamento de triglicéridos. Com base nestes resultados, os autores sugerem que o 4 $\beta$ -OH-colesterol pode ser um fator lipogénico novo, que

através da regulação do SREBP1c, causa a alteração da homeostase lipídica, ao promover a acumulação de triglicéridos (29).

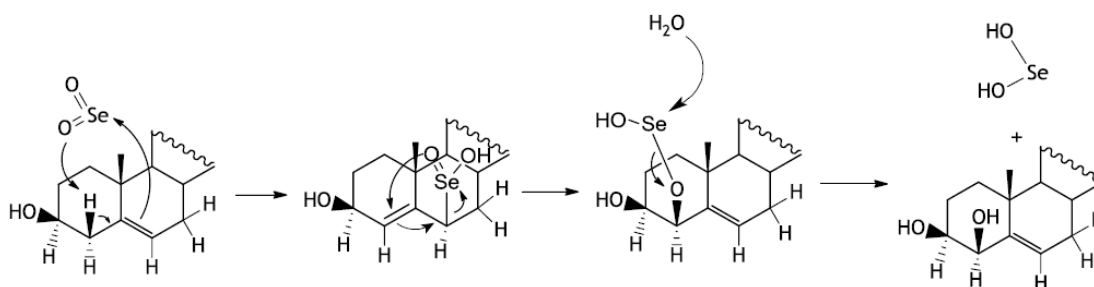
Ademais, o 4 $\beta$ -OH-colesterol tem vindo a ser estudado como composto de interesse no tratamento de neuroblastoma e glioma. De facto, este parece ter um efeito citostático em células tumorais, sem afetar células saudáveis do sistema nervoso central (SNC). Assim, ao conseguir exercer um efeito citostático sem aumentar significativamente a citotoxicidade, o 4 $\beta$ -OH-colesterol pode ajudar a minimizar o desenvolvimento tumoral (30).

### 1.3. Oxidação alílica na posição 4 de $\Delta^5$ -esteroides

A preparação de oxiesteroides pode ser feita através de vários processos oxidativos, entre eles, oxidação alílica, oxidação de álcoois, epoxidação, etc. (1). Esta secção foca principalmente as reações de hidroxilação alílica na posição 4 de  $\Delta^5$ -esteroides, executadas no trabalho experimental, para posterior aplicação na validação de um método analítico envolvendo 4 $\beta$ -hidroxiesteroides.

As reações de oxidação alílica possibilitam a síntese de álcoois alílicos, compostos carbonílicos  $\alpha,\beta$ -insaturados éteres e ésteres e permitem obter compostos com atividade biológica significativa. Vários estudos reportam um amplo número de reagentes e métodos que se podem aplicar na execução de reações de oxidação alílica em  $\Delta^5$ -esteroides (1). Neste contexto, foi demonstrado que era possível a introdução de grupos 4 $\beta$ -hidroxilo na molécula de colesterol e noutros esteroides semelhantes através da reação com SeO<sub>2</sub> (método direto) ou através de reação com bromo molecular em clorofórmio e tratamento posterior com acetato de prata e hidrólise subsequente (método indireto) (31,32).

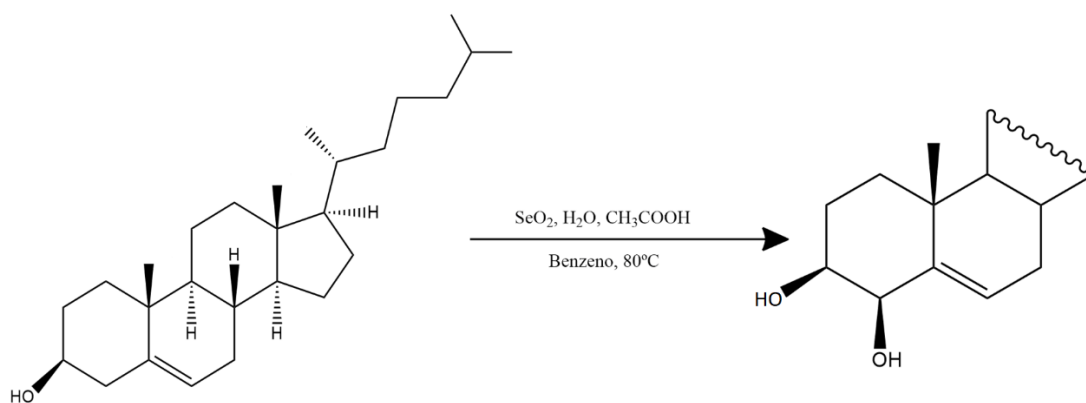
Neste trabalho experimental optou-se pela utilização de dióxido de selénio (SeO<sub>2</sub>). O SeO<sub>2</sub> é um composto muito utilizado em síntese orgânica como catalisador ou oxidante estequiométrico, não só por ser fácil de adquirir e barato, mas também porque a sua utilização é uma das formas mais preditivas e fiáveis para a introdução de um grupo hidroxilo em posição alílica, incluindo em esteroides (33,34).



Esquema 1.1 - Possível mecanismo reacional para a 4 $\beta$ -hidroxilação de  $\Delta^5$ -esteroides com recurso a SeO<sub>2</sub> proposto por Ma, et al. (34).

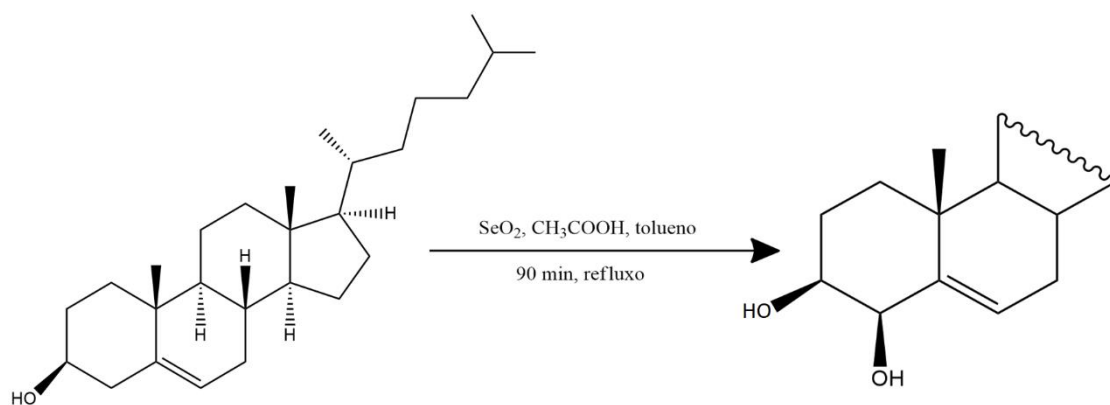
Estudos mostraram que a molécula de colesterol é principalmente atacada pelo  $\text{SeO}_2$  no grupo  $\text{CH}_2$  que se situa entre a ligação dupla  $\text{C}_5\text{-C}_6$  e o grupo hidroxilo presente em  $\text{C}_3$  (35). Um possível mecanismo para a  $4\beta$ -hidroxilação de  $\Delta^5$ -esteroides com  $\text{SeO}_2$  divide-se em dois passos (Esquema 1.1). No primeiro passo, ocorre uma reação eno em que existe transferência do próton alílico para o  $\text{SeO}_2$ , cujo ião selênio no núcleo é eletrofílico. Segundamente, ocorre uma reação sigmatrópica [2,3], ou seja, a alteração da ligação sigma ( $\sigma$ ) (34,35).

Num dos seus estudos, *Rosenheim, et al.* sintetizaram  $4\beta$ -OH-colesterol (Esquema 1.2), utilizando  $\text{SeO}_2$  em água e ácido acético glacial, ao qual adicionaram uma solução de colesterol em benzeno, ambos a  $80^\circ\text{C}$ . A mistura ficou em refluxo em banho durante 1 hora. Posteriormente, fizeram extração com benzeno e dissolveram o resíduo final em éter de petróleo  $40\text{-}60^\circ\text{C}$  e “lavaram” o resíduo, fazendo decantação. Recristalizaram o produto uma vez com acetona e outra com etanol 85% e obtiveram cristais com a forma de agulhas monolíticas. O rendimento obtido foi de 40% (35).



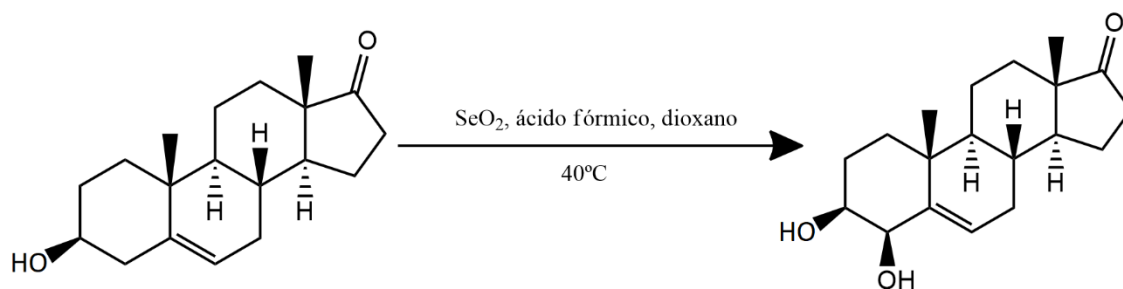
Esquema 1.2 - Reação de síntese do  $4\beta$ -OH-colesterol a partir do colesterol por *Rosenheim, et al.* (35).

*Kawamoto, et al.* executaram esta síntese de outra forma (Esquema 1.3). Mantiveram uma solução de ácido acético, colesterol e  $\text{SeO}_2$  em tolueno sob agitação e em refluxo durante 90 minutos. Adicionaram o acetato de sódio à solução, que foi agitada durante vários minutos à temperatura ambiente. Filtraram e fizeram extração com tolueno. Depois, realizaram cromatografia em coluna de sílica gel com os eluentes *n*-hexano e acetato de etilo (1:9, v/v) e procederam à recristalização do produto com etanol e obtiveram cristais incolores em forma de agulha e um rendimento final de 55% (36).



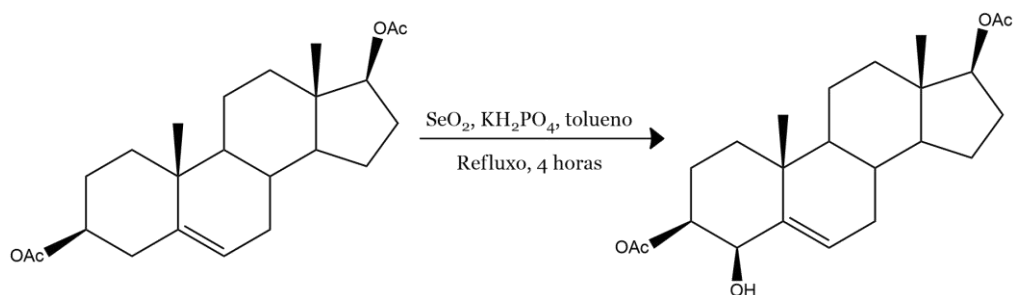
Esquema 1.3 - Reação de síntese do 4 $\beta$ -OH-colesterol a partir do colesterol por Kawamoto, *et al.* (36).

Além do colesterol, esta hidroxilação foi também realizada com outros esteroides. Neste contexto, Snider, *et al.* utilizaram o SeO<sub>2</sub> para introduzir um grupo hidroxilo na posição 4 do DHEA através de oxidação alílica em C4 (Esquema 1.4). Para isso, usaram dois equivalentes de SeO<sub>2</sub> e dois equivalentes de ácido fórmico em dioxano, e a mistura reacional permaneceu sob agitação a uma temperatura de 40°C durante 3 dias. No final, fizeram extração em fase líquida (éter), lavagem com solução aquosa de NaHCO<sub>3</sub> saturada e secagem da fase orgânica com um exsiccante (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), seguida de filtração. Depois, foi realizada cromatografia em coluna de sílica-gel em que se utilizou como eluente *n*-hexano/acetato de etilo numa proporção de 1:1. Com esta abordagem, obtiveram um rendimento de 41% de 4 $\beta$ -OH-DHEA (31). Esta metodologia foi utilizada no presente trabalho experimental para a síntese de 4 $\beta$ -OH-DHEA.



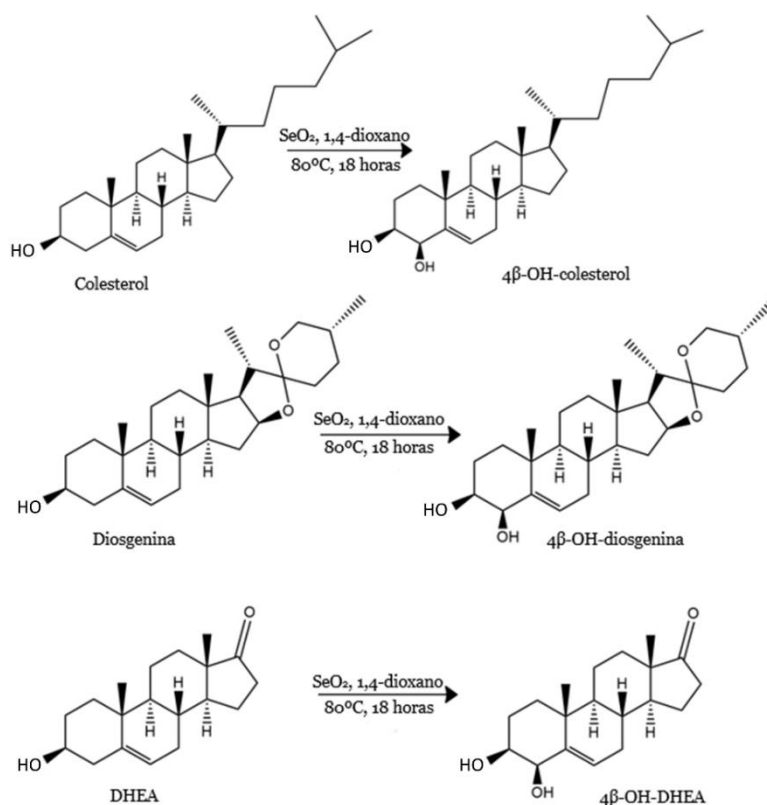
Esquema 1.4 - Reação de síntese do 4 $\beta$ -OH-DHEA a partir do DHEA por Snider, *et al.* (31).

Num outro estudo, os autores obtiveram 3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diacetoxi-4 $\beta$ -hidroxiandrost-5-eno, com um rendimento de 39%. Para tal, executaram a oxidação de 3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diacetoxiandrost-5-eno utilizando na reação uma mistura de SeO<sub>2</sub>, tolueno e difosfato de potássio (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>), que ficou em refluxo durante 4 horas (Esquema 1.5) (37).



Esquema 1.5 - Esquema reacional da síntese do 3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diacetoxi-4 $\beta$ -hidroxiandrost-5-eno a partir do 3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diacetoxiandrost-5-eno por *Li, et al.* (37).

*Ma, et al.* efetuaram reações de oxidação alílica com  $\text{SeO}_2$  a partir do DHEA, colesterol e diosgenina de modo a obter derivados 4 $\beta$ -hidroxilados (Esquema 1.6). Para isso, fizeram reagir o  $\Delta^5$ -esteroide com  $\text{SeO}_2$  em água e 1,4-dioxano, a 80°C e durante 18 horas. A reação foi parada após confirmação de que estava completa através de cromatografia em camada fina (TLC). Depois, filtraram e evaporaram a mistura reacional até obterem um óleo ou sólido. Este resíduo foi dissolvido em água e diclorometano para extração em fase líquida. Após extração, a fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e filtrada. Seguidamente, foi realizada cromatografia em coluna (*n*-hexano e acetato de etilo) para purificar os produtos. Obtiveram um rendimento de 59% na síntese de 4 $\beta$ -OH-DHEA, 68% na síntese de 4 $\beta$ -OH-colesterol e 66% na síntese de 4 $\beta$ -OH-diosgenina (34).



Esquema 1.6 - Reações de 4 $\beta$ -hidroxilação do colesterol, diosgenina e DHEA, realizadas por *Ma, et al.* (34).

Posteriormente, um estudo sistemático mostrou que neste tipo de reações a composição dos produtos é dependente do solvente. Os solventes que permitiram obter melhores rendimentos (> 50%) em reações com SeO<sub>2</sub> para obtenção de 4β-OH-colesterol a partir do colesterol foram os apresentados na Tabela 1.1 (38).

Tabela 1.1 - Solventes com melhores rendimentos para obtenção de 4β-OH-colesterol - adaptado de Ghosh, *et al.* (38).

Solvente(s)	Condições Reacionais	Rendimento (%)
1,4-dioxano/água (50:1)	100°C, 24 h	50
1,4-dioxano/água (5:1)	100°C, 24 h	64
1,2-dimetoxietano	Refluxo, 24 h	54
1,2-dietoxietano	Refluxo, 24 h	51
Tetrahidrofurano	Refluxo, 24 h	75
terc-Butanol	Refluxo, 24 h	57
Piridina	Refluxo, 24 h	62
DMSO	100°C, 24 h	60

\* DMSO - Dimetilsulfóxido

Adicionalmente, neste estudo foi também sintetizada 4β-OH-diosgenina a partir de diosgenina, sendo a reação executada com SeO<sub>2</sub> em 1,4-dioxano a 100°C, e foi obtido um rendimento de 58%. Assim, o Δ<sup>5</sup>-esteróide foi adicionado a uma mistura de 1,4-dioxano e SeO<sub>2</sub>, que foi aquecida a 100°C durante 24 horas. A reação foi parada, arrefecida e filtrada para remover o selênio preto depositado. Foi adicionado éter ao filtrado e foram feitas várias lavagens com água e depois com brine. Seguidamente, foi efetuada a secagem com sulfato de sódio anidro e evaporação a pressão reduzida. Os compostos foram separados por cromatografia em coluna (éter de petróleo, éter de petróleo/acetato de etilo 17:3 e éter de petróleo/acetato de etilo 3:2) (38).

#### 1.4. Métodos analíticos utilizados na determinação de 4β-hidroxi-Δ<sup>5</sup>-esteróides em amostras biológicas

Ao longo dos anos, a determinação de oxiesterois em amostras biológicas tem vindo a ser feita predominantemente através de métodos de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC-MS), em que geralmente usam padrões internos deuterados.

Ao longo do tempo começou a existir a necessidade de desenvolver métodos que precisassem de volumes de amostra cada vez menores. Isso foi conseguido com a utilização do método de cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa em tandem (LC-MS/MS) com recurso a ionização por eletrospray (ESI) em que a derivatização num éster picolinilo e hidrólise alcalina prévia das amostras permitiu diminuir o volume de plasma necessário de 400 μL para 50 μL (26). No entanto, 50 μL ainda é um volume de plasma considerável, pelo que continuam a ser desenvolvidos métodos que permitam usar quantidades inferiores de amostra.

Até hoje, não existem muitos estudos focados no desenvolvimento e validação de métodos analíticos para análise de 4 $\beta$ -hidroxiesteroides, e os que existem focam-se apenas no desenvolvimento de métodos para determinação do 4 $\beta$ -OH-colesterol.

É ainda de referir que a cromatografia líquida de alta eficiência com detetor de *diode array* (HPLC/DAD) é um dos métodos mais utilizados para estudar compostos esteroides (12). Para além disso, é um método analítico simples e económico (39). Porém, não existe na literatura evidência da análise de 4 $\beta$ -hidroxiesteroides através de HPLC/DAD.

## 2. Objetivos

Existe uma escassez de informação sobre os 4 $\beta$ -hidroxi- $\Delta^5$ -esteroides, não só quanto à sua formação no organismo (exceto para o 4 $\beta$ -OH-colesterol), atividade biológica e possível aplicação farmacológica, mas também quanto aos métodos analíticos disponíveis para a determinação destes compostos. Os métodos usados atualmente para a determinação de 4 $\beta$ -hidroxi- $\Delta^5$ -esteroides são complexos, demorados e só focam um destes compostos, o 4 $\beta$ -OH-colesterol. Assim, o desenvolvimento e validação de novos métodos analíticos é essencial para se conseguir ter um maior conhecimento sobre estes compostos.

Com isso em mente, um dos objetivos deste trabalho foi a realização de uma revisão sistemática dos métodos analíticos descritos na literatura para a análise de 4 $\beta$ -hidroxi- $\Delta^5$ -esteroides, de forma a identificar e resumir os métodos que são utilizados para a determinação destes compostos, complexidade e possíveis limitações destes.

Adicionalmente, este trabalho também teve como objetivo a validação de um método analítico por HPLC/DAD para a determinação de 4 $\beta$ -hidroxi- $\Delta^5$ -esteroides em amostras de cultura celular, visto que ainda não é um método utilizado na determinação de 4 $\beta$ -hidroxi- $\Delta^5$ -esteroides e pode simplificar a sua análise e estudo do seu metabolismo.

Foi também realizada a síntese química de padrões (4 $\beta$ -OH-colesterol, 4 $\beta$ -OH-diosgenina, 4 $\beta$ -OH-DHEA) para posterior utilização no processo de validação do método analítico.

## 3. Trabalho Experimental

### 3.1. Métodos da revisão sistemática

#### 3.1.1. Estratégia de Pesquisa

Foi realizada uma revisão da literatura disponível até 3 de setembro de 2022, tendo a pesquisa de artigos sido efetuada nas bases de dados PubMed e Web of Science.

O objetivo era fazer a pesquisa de artigos que descrevessem métodos analíticos para determinação de 4 $\beta$ -hidroxi- $\Delta^5$ -esteroides. Porém, percebeu-se que só existia literatura neste âmbito para o 4 $\beta$ -

OH-colesterol, pelo que se utilizaram os termos “4beta-hydroxycholesterol”, “4beta-OH-cholesterol”, “4-beta-hydroxycholesterol”, “4betahydroxycholesterol” na pesquisa.

Assim, o método de pesquisa consistiu numa combinação dos seguintes termos: “4beta-hydroxycholesterol”, “4beta-OH-cholesterol”, “4-beta-hydroxycholesterol”, “4betahydroxycholesterol”, “validation method”, “analytical method” e “quantification”, utilizando os operadores booleanos “AND” e “OR”. A pesquisa foi feita da mesma forma em ambas as bases de dados e a estratégia de pesquisa usada encontra-se descrita no Anexo 1.1.

#### **3.1.1.1. Critérios de Elegibilidade**

Para obter a informação mais adequada para a revisão sistemática, foram estabelecidos critérios de inclusão e critérios de exclusão. Definiram-se como critérios de inclusão artigos que descrevessem métodos analíticos para determinação de 4 $\beta$ -hidroxi- $\Delta^5$ -esteroides e artigos em português, inglês ou espanhol. Excluíram-se artigos de revisão, artigos cujo tema não estava relacionado com 4 $\beta$ -hidroxi- $\Delta^5$ -esteroides e/ou sem referência aos métodos analíticos utilizados e artigos que não estavam em português, inglês ou espanhol. O processo de seleção dos artigos encontra-se resumido na Figura 1.6, apresentada mais à frente nos resultados da revisão sistemática.

#### **3.1.2. Extração de dados e síntese**

Após a seleção dos artigos, os dados essenciais foram extraídos e analisados e foi construída uma tabela que resume os aspetos essenciais obtidos dos artigos revistos (Tabela 1.3), que é apresentada nos resultados da revisão sistemática. Esta tabela engloba os dados de como foi feita a preparação da amostra, quantidade de amostra para injeção no sistema cromatográfico, método analítico, condições cromatográficas, tempo de retenção, padrão interno utilizado, intervalo linear e LOD/LOQ.

### **3.2. Síntese Química**

#### **3.2.1. Reagentes**

O colesterol (99%) e a diosgenina (95%) foram adquiridos à Sigma-Aldrich. O agente oxidante utilizado neste trabalho experimental, dióxido de selénio (99,8%) foi adquirido à Acros Organics. Em todas as reações utilizou-se o solvente 1,4-dioxano, adquirido à Merck.

O éter dietílico e acetato de etilo foram adquiridos à Fisher Chemicals. O ácido fórmico (CHOOH) foi adquirido à Sigma-Aldrich. O éter de petróleo 40-60°C foi comprado à Chem-Lab. O ácido sulfúrico 97% utilizado para a preparação da solução de revelação de esteroides da cromatografia em camada fina foi adquirido à *VWR Chemicals* e o etanol a 99,9% foi adquirido à empresa Manuel Vieira & Companhia (Irmão) Sucessores, Lda. O cloreto de sódio para a preparação de brine no laboratório foi adquirido à Panreac. A solução saturada de bicarbonato de sódio (NaHCO<sub>3</sub>) foi preparada no laboratório e o NaHCO<sub>3</sub> adquirido à Fisher Chemicals. O sulfato de sódio anidro e o *n*-hexano foram adquiridos à José Manuel Gomes dos Santos.

O clorofórmio deuterado para a análise das amostras sujeitas a ressonância magnética nuclear (RMN) também foi adquirido à Sigma-Aldrich.

### **3.2.2. Material e Equipamento**

As reações de síntese química decorreram sob agitação e sob aquecimento com recurso a placas Lab-Mix 25 da Heidolph. O controlo das reações foi efetuado através de cromatografia em camada fina nas quais se utilizaram placas de sílica gel 60 UV<sub>254</sub> da *Macherey-Nagel GmbH & Co.* Para observação sob luz ultravioleta (UV) das placas cromatográficas antes da revelação utilizou-se a câmara CN-15.LC da *Vilber Lourmat*. Os evaporadores rotativos utilizados na evaporação de solventes dos produtos obtidos foram os Rotavapor R-215 da Büchi, obtidos através da Rotoquímica.

O isolamento e purificação dos compostos foi executado através de cromatografia em coluna em que se utilizou uma coluna de sílica-gel 0,040-0,063 mm adquirida à Merck.

Os espetros de RMN de prótão (<sup>1</sup>H) e carbono (<sup>13</sup>C) foram obtidos através do espectrofotómetro Bruker Avance III 400 e registados a 400 MHz e utilizou-se o tetrametilsilano (TMS) como referência. Os dados obtidos nos espetros de <sup>1</sup>H-RMN estão indicados pela ordem seguinte: desvio químico  $\delta$  (ppm), tipo de sinal, integração e indicação do respetivo hidrogénio responsável pelo sinal; apenas se apresentam os sinais mais relevantes. Os espetros de RMN foram analisados através do *MestreNova 12.0*, um *software* da *Mestrelab Research S.L.*

### **3.2.3. 4 $\beta$ -Hidroxilação de $\Delta^5$ -esteroides com dióxido de selénio**

O colesterol, a diosgenina e o DHEA foram sujeitos a uma reação de 4 $\beta$ -hidroxilação com recurso a dióxido de selénio (SeO<sub>2</sub>) como agente oxidante, baseada no procedimento descrito por *Ghosh, et al.* e *Ma, et al.* (34,38), pretendendo obter-se 4 $\beta$ -OH-colesterol, 4 $\beta$ -OH-diosgenina e 4 $\beta$ -OH-DHEA através da reação de hidroxilação alílica destes  $\Delta^5$ -esteroides.

#### **3.2.3.1. Procedimento Geral**

Num balão de fundo redondo, adicionou-se o solvente 1,4-dioxano/água numa proporção de 5:1 (1,56mL:312,5 $\mu$ L) a 0,25 mmol do  $\Delta^5$ -esteroide. Adicionou-se o dióxido de selénio, com a solução já sob aquecimento, a qual permaneceu em refluxo e sob agitação. A reação foi controlada através de cromatografia em camada fina (TLC), cujas placas cromatográficas eram observadas sobre luz UV (254 nm) e posteriormente reveladas com uma solução de revelação (etanol a 99,9% e ácido sulfúrico a 97%). Considerou-se a reação como completa quando já não era detetado o  $\Delta^5$ -esteroide na placa cromatográfica. Com o término da reação, o sistema ficou a arrefecer até à temperatura ambiente para ser posteriormente filtrado.

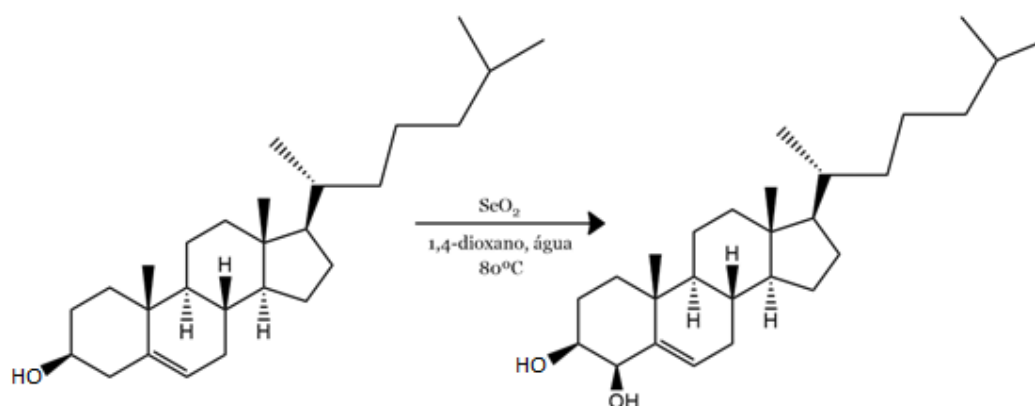
Foi executada filtração a vácuo utilizando um funil de Büchner com, aproximadamente, 1 cm de celite sobre a placa de funil. Foram adicionados 5 mL de éter dietílico ao balão com a mistura reacional à temperatura ambiente. Seguidamente, o balão e produtos reacionais foram lavados com mais 2x25 mL de éter dietílico e estas soluções também foram filtradas. O filtrado foi

transferido para uma ampola de decantação e lavou-se o kitasato utilizado na filtração com mais 2x25 mL de éter dietílico e transferiu-se também essa porção para a ampola de decantação para evitar a perda de resíduos de produto. Posteriormente, a solução orgânica foi lavada com 2x20 mL de brine e foi feita secagem com sulfato de sódio anidro. Seguidamente, foi feita uma nova filtração a vácuo, desta vez sem a utilização de celite no funil de Büchner, e o filtrado foi evaporado a baixa pressão até à secura.

Com o objetivo de isolar o produto de interesse, efetuou-se cromatografia em coluna do produto obtido após a evaporação a baixa pressão. Utilizou-se como eluente uma mistura de éter de petróleo 40-60°C/acetato de etilo. Após purificação do produto 4 $\beta$ -hidroxilado e quando este se encontrava totalmente seco, foi feita a pesagem do composto obtido e, de seguida, foi efetuada a caracterização através de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . Em certos casos foi necessário fazer a recristalização do composto com metanol.

### 3.2.3.2. 4 $\beta$ -Hidroilação do colesterol

Foram pesados 97,1 mg de colesterol (0,2510 mmol) e 97,4 mg de dióxido de selênio (0,2508 mmol). A reação foi mantida a 80°C e sob agitação durante 23 horas. Acompanhou-se a progressão da reação através da realização de várias TLC em que se usaram os eluentes éter de petróleo 40-60°C/acetato de etilo na proporção de 1:1. Na realização da cromatografia em coluna também foi preparado um eluente de éter de petróleo 40-60°C/acetato de etilo (1:1, v/v), que permitiu uma boa separação do produto de interesse dos outros compostos e, deste modo, foi possível isolar e purificar o 4 $\beta$ -OH-colesterol. O processo reacional está esquematizado no Esquema 1.7.



Esquema 1.7 - Hidroxilação alílica do colesterol, reagentes e condições reacionais.

Com esta reação foi possível obter 40,4 mg de 4 $\beta$ -OH-colesterol, sob a forma de um pó amarelado, correspondente a um rendimento ( $\eta$ ) da reação de 42%. Posteriormente, foi feita a recristalização do composto com metanol, devido à cor amarelada do produto, o qual, depois de seco, foi caracterizado, não sendo detetadas impurezas significativas. A caracterização espectral obtida é equivalente aos dados descritos na literatura (34):

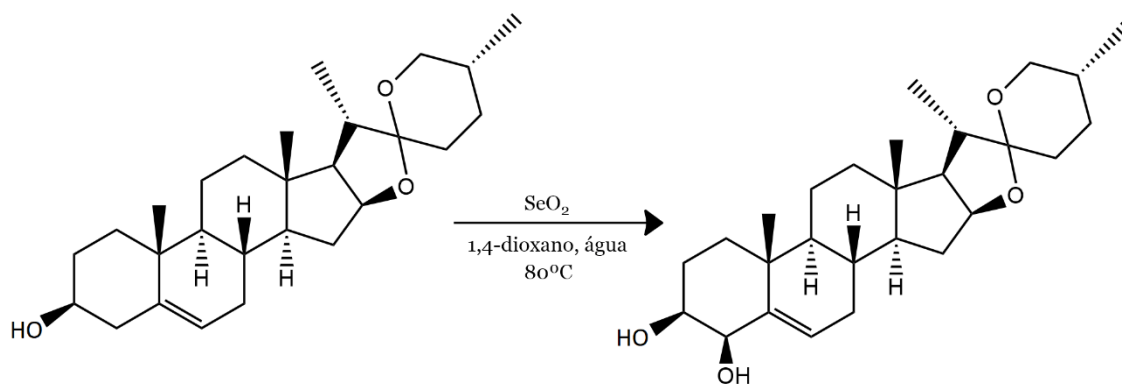
$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  0,61 (s, 3H, H-18), 0,80 (dd, 6H, H-26,27,  $J = 6.6$  Hz e  $J = 1.8$  Hz), 0,84 (d, 3H,  $J=6,5$  Hz, H-21), 1,11 (s, 3H, H-19), 3,46-3,51 (m, 1H, H-3), 4,07 (d, 1H,  $J=2,5$  Hz, H-4), 5,61 (m, 1H, H-6);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz):  $\delta$  22,78 (C26), 36,40 (C22), 72,72 (C3), 77,55 (C4), 129,96 (C6), 142,98 (C5).

### 3.2.3.3. 4 $\beta$ -Hidroxilação da diosgenina

Para esta reação foram pesados 109,9 mg de diosgenina (0,2516 mmol) e 98,4 mg de dióxido de selênio (0,2533 mmol). A reação foi mantida a 80°C e sob agitação e terminou depois de 4 dias e 21 horas. Mais uma vez, acompanhou-se a progressão da reação através da realização de várias TLC em que se usaram os eluentes éter de petróleo 40-60°C/acetato de etilo na proporção de 1:1. Para a execução da cromatografia em coluna também foi usado um eluente de éter de petróleo 40-60°C/acetato de etilo (1:1, v/v), e foi possível isolar o produto de interesse (4 $\beta$ -OH-diosgenina). O processo reacional está esquematizado no Esquema 1.8.

Com esta reação foi possível obter 40,6 mg de 4 $\beta$ -OH-diosgenina, sob a forma de cristais aciculares incolores, correspondente a um rendimento da reação de 33%. Foi feita a caracterização do produto por RMN e foi detetado que poderiam existir impurezas. Assim, foi feita a recristalização do composto com metanol, que depois de seco foi novamente caracterizado, já não sendo detetadas impurezas significativas.



Esquema 1.8 - Hidroxilação alílica da diosgenina, reagentes e condições reacionais.

Esta reação foi repetida mais uma vez para a obtenção do equivalente a 1 mmol de 4 $\beta$ -OH-diosgenina. Com esta segunda reação foram obtidos 123,1 mg do produto de interesse, desta vez sob a forma de cristais em grão amarelados, correspondente a um rendimento de 28%. Foi feita a recristalização em metanol do composto, que foi posteriormente caracterizado por RMN. A caracterização espectral obtida é equivalente aos dados descritos na literatura (34):

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  0,721 (d, 3H,  $J=6,4$  Hz, H-27), 0,892 (s, 3H, H-18), 0,909 (d, 3H,  $J=6.8$  Hz, H-21), 1,130 (s, 1H, H-19), 3,276 (t, 1H,  $J= 10,8,11.2$  Hz, H-26b), 3,303 (m, 1H, H-

26a), 3,487 – 3,496 (m, 1H, H-3), 4,067 (d, 1H, J=3,2 Hz, H-4), 4,368 (q, 1H, J=7,6, 7,2, 7,6 Hz, H-16), 5,607 (m, 1H, H-6);

<sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): δ 67,07 (C26), 72,63 (C3), 76,91 (C4), 109,53 (C22), 128,65 (C6), 143,05 (C5).

### 3.2.3.4. 4β-Hidroxilação do DHEA

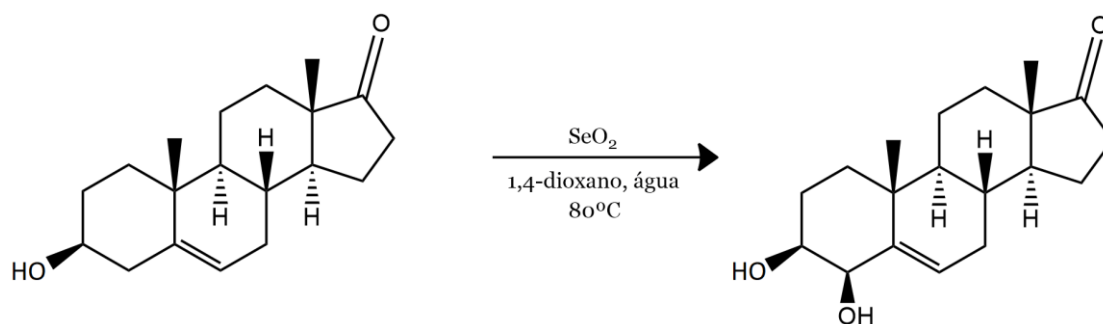
Para a síntese de DHEA foram efetuadas 5 reações devido aos rendimentos baixos obtidos e/ou à elevada quantidade de impurezas detetadas na caracterização. Os dados relativos a estas reações encontram-se resumidos na Tabela 1.2.

Foi feita recristalização em *n*-hexano dos produtos obtidos das cinco reações. Contudo, o rendimento da reação manteve-se baixo, ao contrário do descrito na literatura, e os produtos estavam impuros (31,34). Por este motivo, o DHEA/4β-OH-DHEA não foi usado no resto do trabalho experimental.

Tabela 1.2 - Resumo das reações de 4β-hidroxilação do DHEA feitas no trabalho experimental.

Rx	Quantidade a preparar	m(DHEA)	m(SeO <sub>2</sub> )	Tempo de rx	Eluente TLC/CC	η
1	0,25 mmol	72,7 mg (0,2524 mmol)	97,7 mg (0,2518 mmol)	1 dia	éter de petróleo 40-60°C/acetato de etilo (2:1 TLC; 3:1 CC)	7,8% (5,7 mg)
2	0,5 mmol	144,6 mg (0,5021 mmol)	194,9 mg (0,5023 mmol)	5 dias, 21 horas	éter de petróleo 40-60°C/acetato de etilo (2:1 TLC; 3:1 CC)	14,8% (21,4 mg)
3	0,5 mmol	146,2 mg (0,5076 mmol)	194,9 mg (0,5023 mmol)	6 dias *incompleta	éter de petróleo 40-60°C/acetato de etilo (2:1 TLC; 3:1 CC)	3,9% (5,6 mg)
4	2 mmol	577,5 mg (2,0052 mmol)	776,6 mg (2,0015 mmol)	1 dia, 8 horas	éter de petróleo 40-60°C/acetato de etilo (2:1 TLC; 3:1 CC)	0,92% (5,3 mg)
5	3 mmol	864,5 mg (3,0017 mmol)	660,4mg (3,0018 mmol)	6 dias, 8 horas *incompleta	<i>n</i> -hexano/acetato de etilo (1:1 TLC e CC)	1,7% (14,7 mg)

CC – Cromatografia em Coluna; TLC – Cromatografia em Camada Fina; rx – Reação.



Esquema 1.9 - Hidroxilação alílica do DHEA, reagentes e condições reacionais.

Nas primeiras quatro reações foi seguido o mesmo procedimento usado para os outros  $\Delta^5$ -esteroides, adaptado da síntese feita por *Ma, et al.* (Esquema 1.9) (34). O procedimento executado na quinta reação foi adaptado do descrito por *Snider, et al.* (Esquema 1.4) (31). Nesta reação a mistura reacional incluiu 3,0 mmol de DHEA, 6,0 mmol de dióxido de selênio e 6,0 mmol de ácido fórmico em 11 mL de dioxano e a reação foi mantida a 40°C, sob agitação, durante 6 dias e 8 horas. A reação foi acompanhada por TLC e foi parada antes de estar completa. De seguida, a mistura foi deixada arrefecer e adicionou-se 5 mL de éter dietílico ao balão, fez-se filtração a vácuo para remover os resíduos de dióxido de selênio e lavou-se o balão da reação com mais 15 mL de éter. Fez-se lavagem com mais 2x20 mL de éter dietílico e extração líquido-líquido com 3x20 mL de solução aquosa de  $\text{NaHCO}_3$ . A fase orgânica foi separada e seca utilizando sulfato de sódio anidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) e filtrou-se. Depois, foi feita cromatografia em coluna de sílica gel em que se utilizou como eluente *n*-hexano/acetato de etilo numa proporção de 1:1. O produto recuperado foi recristalizado com *n*-hexano.

Foi feita a caracterização por RMN de alguns dos produtos obtidos nas reações de 4 $\beta$ -hidroxilação do DHEA. No entanto, a caracterização mostrou que os produtos continham muitas impurezas. Nem todos os produtos puderam ser sujeitos a RMN por quantidade de amostra insuficiente.

### 3.3. Ensaio analíticos

#### 3.3.1. Reagentes

O metanol (LiChrosolv®), o acetato de etilo ( $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ ) (pro analysis), o ácido fórmico (LiChrosolv®) e o clorofórmio (pro analysis) foram adquiridos à Enzymatic. Também foi utilizada água desionizada Milli-Q adquirida no centro de investigação. O etanol puro usado na dissolução dos compostos pertencia ao laboratório.

O xanteno, utilizado como padrão interno, foi adquirido à Sigma-Aldrich.

#### 3.3.2. Material e Equipamento

Durante os ensaios analíticos utilizaram-se os seguintes equipamentos:

- Balança analítica da *Sartorius* – modelo CP225;

- Micropipetas automáticas da Gilson (volumes máximos de 20, 200, 1000 e 5000 $\mu$ L), *VWR Internacional*;
- Sistema de purificação de água Milli-Q Advantage A10® system da Milipore;
- Sistema cromatográfico HPLC (1290) com bomba quaternária acoplada a um DAD da *Agilent Technologies*;
- Coluna de fase reversa Zorbax 300 SB-C<sub>18</sub> (5 $\mu$ m, 4,6mm x 250 mm i.d.) da *Agilent Technologies*.

### 3.3.3. Soluções

A solução 0,1% de ácido fórmico em água foi preparada ao pipetar 250  $\mu$ L de ácido fórmico para um balão volumétrico de 250 mL. A solução foi aferida com água MilliQ e homogeneizada por inversão.

Foram preparadas soluções padrão do colesterol, diosgenina, 4 $\beta$ -OH-colesterol e 4 $\beta$ -OH-diosgenina à concentração de 4 mg/mL (solução-mãe) com etanol e do xanteno (padrão interno), à concentração de 1mg/mL, com metanol.

### 3.3.4. Sistema Cromatográfico e Detecção

Os compostos de interesse foram identificados com um sistema HPLC (1290) com bomba quaternária acoplada a um DAD, ambos da *Agilent Technologies*, e a separação dos compostos foi feita com recurso a uma coluna de fase reversa Zorbax 300 SB-C<sub>18</sub> (5 $\mu$ m, 4,6mm x 250 mm i.d.).

#### 3.3.4.1. Condições Cromatográficas

A fase móvel utilizada consistiu numa mistura de 0,1% de ácido fórmico em água numa proporção de 90:10 (v/v) e metanol e a eluição decorreu em modo isocrático. O fluxo aplicado à fase móvel foi de 1,0 mL/min. A coluna foi mantida a uma temperatura de 30°C, o injetor manteve-se uma temperatura de 4°C e o volume de injeção foi de 50  $\mu$ L. O comprimento de onda de deteção foi definido em 215 nm. O tempo de corrida foi de 20 minutos.

## 4. Resultados e Discussão

### 4.1. Revisão sistemática

#### 4.1.1. Seleção dos artigos

Como resultado da estratégia de pesquisa aplicada (Anexo 1.1), foram identificados 48 artigos a partir das bases de dados referidas e foi obtido 1 artigo de uma fonte externa, ficando assim 49 artigos na fase de identificação. Foram encontrados e removidos 12 duplicados, resultando 37 artigos. Desses 37 artigos, nenhum artigo foi excluído com base no título e abstract. Após a análise dos critérios de exclusão e inclusão foram retirados 10 artigos, ficando 27 artigos. Esses 27 artigos foram lidos de forma integral e foram excluídos 14 artigos, 8 por não terem informação suficiente sobre o 4 $\beta$ -OH-colesterol e 6 deles por não terem informação sobre o 4 $\beta$ -OH-colesterol.

Um fluxograma do processo de seleção dos artigos está apresentado na figura seguinte (Figura 1.6).

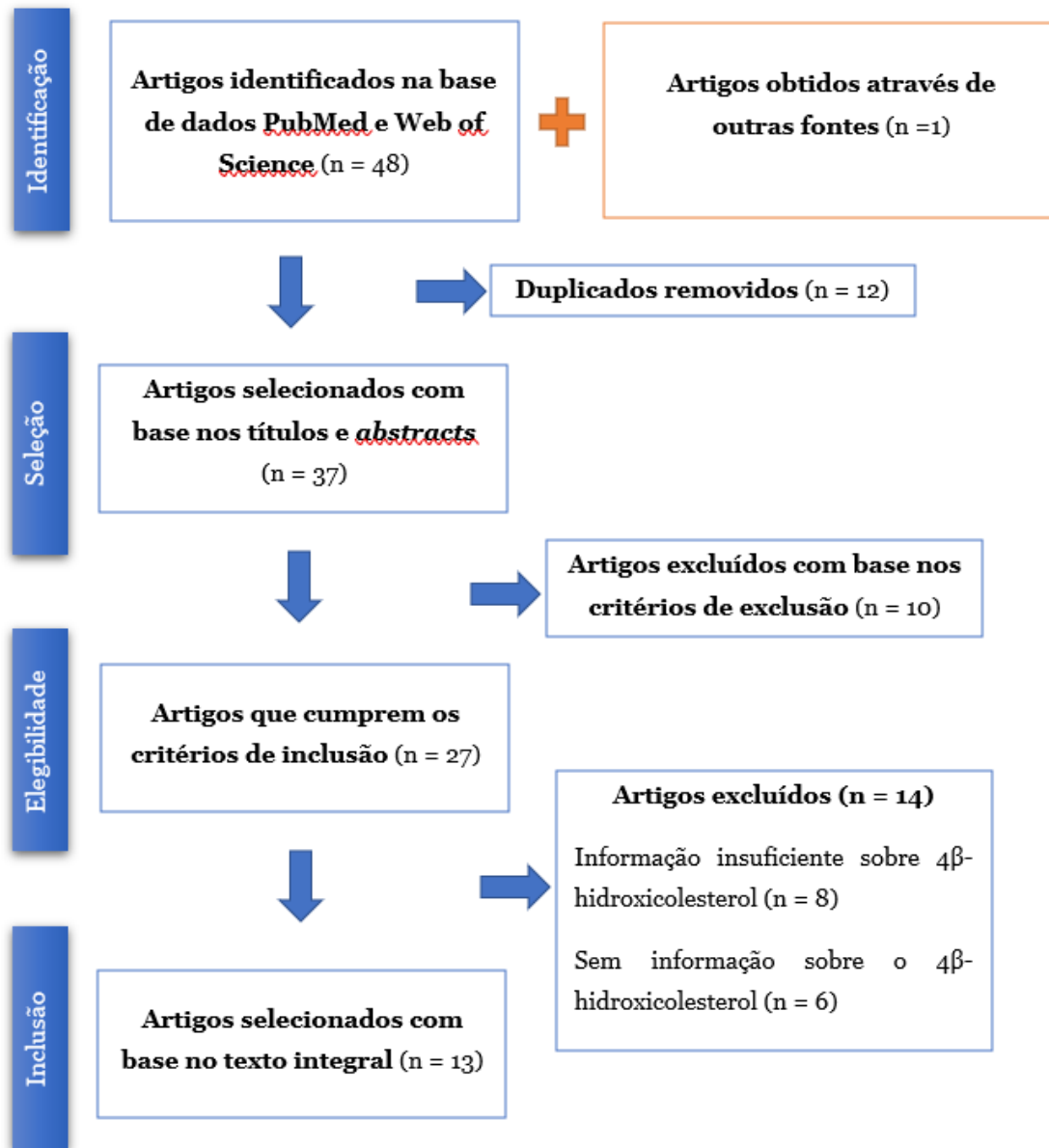


Figura 1.6 - Fluxograma descritivo do processo de seleção dos artigos.

Foi feita a revisão e análise dos 13 artigos individualmente e construiu-se a Tabela 1.3 que resume os aspetos mais relevantes presentes nos artigos.

Tabela 1.3 - Métodos utilizados na determinação de 4 $\beta$ -OH-colesterol.

<b>Autor, Ano</b>	<b>Preparação da amostra</b>	<b>Quantidade de amostra</b>	<b>Método Analítico</b>	<b>Condições Cromatográficas</b>	<b>Tempo de retenção</b>	<b>Padrão Interno</b>	<b>Intervalo linear</b>	<b>LOD/LOQ</b>
Bodin et al., 2001 (40)	Hidrólise alcalina (hidróxido de potássio + etanol) e extração em fase sólida (coluna sílica, <i>n</i> -hexano + isopropanol)	1 $\mu$ L	GC-MS	<u>Fase móvel:</u> Hélio; <u>Fluxo</u> de 0,8 mL/min; <u>Fase estacionária:</u> coluna capilar HP-5MS (0,25 $\mu$ m, 30 m x 0,25 mm); <u>Temperatura</u> da coluna: 180°C (1min), subida de 35°C/min até aos 270°C, subida de 20°C/min até aos 310°C (17 min).	16,1 min	4 $\beta$ -OH-colesterol-D6	N/A	N/A
Gjestad et al., 2015 (25)	Hidrólise alcalina (metanol + metóxido de sódio) e extração em fase líquida ( <i>n</i> -hexano + água)	10 $\mu$ L	UHPLC-MS/MS	<u>Fase móvel:</u> gradiente de água e metanol (85%-95%); <u>Fluxo</u> de 0,15 mL/min; <u>Fase estacionária:</u> coluna RP18 (1,7 $\mu$ m, 1 mm x 100 mm); <u>Temperatura da coluna:</u> 40°C	3 min	4 $\beta$ -OH-colesterol-D7	25 – 1600 nmol/L	LOD = 25 nmol/L
Wollmann et al., 2016 (41)	Hidrólise alcalina (metanol + metóxido de sódio) e extração em fase líquida ( <i>n</i> -hexano + água)	10 $\mu$ L	UHPLC – MS/MS	<u>Fase móvel:</u> gradiente de água e metanol (85%-95%); <u>Fluxo</u> de 0,15 mL/min; <u>Fase estacionária:</u> coluna RP18 (1,7 $\mu$ m, 1 mm x 100 mm); <u>Temperatura da coluna:</u> 40°C	3 min	4 $\beta$ -OH-colesterol-D7	N/A	LLOQ = 25 nmol/L

<b>Autor, Ano</b>	<b>Preparação da amostra</b>	<b>Quantidade de amostra</b>	<b>Método Analítico</b>	<b>Condições Cromatográficas</b>	<b>Tempo de retenção</b>	<b>Padrão Interno</b>	<b>Intervalo linear</b>	<b>LOD/LOQ</b>
Van de Merbel et al., 2011 (42)	Hidrólise alcalina (metanol + metóxido de sódio) e extração em fase líquida ( <i>n</i> -hexano + água) + extração em fase sólida (coluna SPE)	20 µL	LC-MS/MS	<u>Fase móvel:</u> gradiente de água e acetonitrilo (20%-80%); <u>Fluxo</u> de 1,0 mL/min; <u>Fase estacionária:</u> coluna ODS (2,2 µm, 3 mm x 100 mm); <u>Temperatura da coluna:</u> 50°C	9,64 min	4β-OH-colesterol-D7	10,0 – 250 nmol/L	LLOQ = 10 nmol/L
Mendiara et al., 2017 (43)	Hidrólise enzimática (fosfato de potássio + NaCl + ácido cólico + Triton X-100 + esterase do colesterol de <i>Pseudomonas sp.</i> ) e extração em fase sólida	20 µL	UHPLC-MS	<u>Fase móvel:</u> ácido fórmico 0,1% + metanol (A) e ácido fórmico 0,1% + água Milli-Q (B); <u>Fluxo</u> de 0,3 mL/min; <u>Fase estacionária:</u> coluna C18 (1,7 µm, 2,1 mm x 150 mm); <u>Temperatura da coluna:</u> 40°C	N/A	N/A	1 – 2000 ng/mL	LOD = 15 pg/mL LOQ = 48 pg/mL
Xu et al., 2013 (26)	Hidrólise alcalina (hidróxido de potássio + metanol + água) e extração em fase líquida ( <i>n</i> -hexano + água destilada)	5 µL	LC-MS/MS	<u>Fase móvel:</u> gradiente de ácido fórmico 0,1% + água destilada (A) e ácido fórmico 0,1% + acetonitrilo (B); <u>Fluxo</u> de 0,4 mL/min; <u>Fase estacionária:</u> coluna C18 (1,9 µm, 2,1 mm x 50 mm); <u>Temperatura da coluna:</u> 26°C	10,04 min	4β-OH-colesterol-D7	50 – 500 ng/L	LOQ = 5 ng/mL
Pataj et al., 2016 (44)	Hidrólise alcalina (hidróxido de potássio + etanol) e extração em fase líquida (NaCl + iso-octano)	5 µL	LC-MS/HR-MS	<u>Fase móvel:</u> gradiente de metanol + água + ácido fórmico 0,1% + acetato de amónio (A) e metanol + acetonitrilo + ácido fórmico 0,1% + acetato de amónio (B); <u>Fluxo</u> de 0,5 mL/min;	5,45 min	4β-OH-colesterol-D7	4,1 – 56,6 ng/mL	LOQ = 1 ng/mL

Autor, Ano	Preparação da amostra	Quantidade de amostra	Método Analítico	Condições Cromatográficas	Tempo de retenção	Padrão Interno	Intervalo linear	LOD/LOQ
				<u>Fase estacionária:</u> coluna com núcleo interno bifenil (2,6 µm, 2,1 mm x 50 mm); <u>Temperatura da coluna:</u> 30°C				
Huang et al., 2014 (45)	Hidrólise alcalina (hidróxido de potássio) e extração em fase líquida ( <i>n</i> -hexano + água)	5 µL	LC-MS/MS	<u>Fase móvel:</u> gradiente de ácido acético 0,1% + água (A) e ácido acético 0,1% + acetonitrilo (B); <u>Fluxo</u> de 0,4 mL/min; <u>Fase estacionária:</u> coluna C18 (1,9 µm, 2,1 mm x 50 mm); <u>Temperatura da coluna:</u> 40°C	6,7 min	4β-OH-colesterol-D7	5 – 500 ng/mL	LOQ = 5 ng/mL
Hautajärvi et al., 2018 (46)	Hidrólise alcalina (metóxido de sódio + etanol) e precipitação de proteínas (ácido fórmico 1,5% + acetonitrilo)	6 µL	UHPLC-HR-MS	<u>Fase móvel:</u> gradiente de ácido fórmico 0,1% + acetato de sódio + água ultrapura (A) e metanol (B); <u>Fluxo</u> de 0,5 mL/min; <u>Fase estacionária:</u> coluna T3 (1,8 µm, 2,1 mm x 30 mm); <u>Temperatura da coluna:</u> 50°C	3,64 min	4β-OH-colesterol-D7	0,5 – 1000 ng/mL	LOQ = 0,5 ng/mL
Hasan et al., 2016 (47)	Hidrólise alcalina (metóxido de sódio + etanol) e extração em fase líquida ( <i>n</i> -hexano + água)	100 µL	HPLC-MS/MS	<u>Fase móvel:</u> tampão de acetato de amônio + acetonitrilo; <u>Fluxo</u> de 0,3 mL/min; <u>Fase estacionária:</u> coluna fase reversa C8 (3,0 µm, 2,1 mm x 100 mm); <u>Temperatura da coluna:</u> 50°C	4,50 min	4β-OH-colesterol-D7	5 – 250 ng/mL	LOQ = 5 ng/mL
Suzuki et al. 2022 (48)	Hidrólise alcalina (metóxido de sódio + metanol) e extração em fase líquida ( <i>n</i> -hexano + água)	2 µL	UHPLC-MS/MS	<u>Fase móvel:</u> gradiente de solução aquosa de ácido fórmico 0,1% (A) e acetonitrilo + ácido fórmico 0,1%; <u>Fluxo</u> de 0,4 mL/min;	8,3 min	4β-OH-colesterol-D7	0,5 – 500 ng/mL	LOQ = 0,5 ng/mL

Autor, Ano	Preparação da amostra	Quantidade de amostra	Método Analítico	Condições Cromatográficas	Tempo de retenção	Padrão Interno	Intervalo linear	LOD/LOQ
				<u>Fase estacionária:</u> pré-coluna C18 (1,7 µm x 2,1 mm x 5 mm) + coluna C18 (1,7 µm, 2,1 mm x 150 mm); <u>Temperatura da coluna:</u> 55°C				
Oh e Shin, 2017 (49)	Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) (acetoneitrilo + tolueno)	10 µL	UHPLC – MS/MS	<u>Fase móvel:</u> gradiente de formato de amônio + água (A) e acetoneitrilo (B); <u>Fluxo</u> de 0,2 mL/min; <u>Fase estacionária:</u> coluna EC-C18 (2,7 µm, 2,1 mm x 50 mm)	9,72 min	N/A	5 - 500 µg/L	LOD = 1,0 µg/L LOQ = 3,2 µg/L
Xue et al., 2016 (50)	Hidrólise alcalina (BTH + hidróxido de potássio + etanol) e extração em fase líquida ( <i>n</i> -hexano + água)	200 µL	LC – MS/MS	<u>Fase móvel:</u> metanol + água + ácido fórmico 0,1% (A) e metanol + acetoneitrilo + ácido fórmico 0,1% (B); <u>Fluxo</u> de 0,5 mL/min; <u>Fase estacionária:</u> coluna C18 (2,6 µm, 2,1 mm x 100 mm)	7,7 min	4β-OH-colesterol -D4	2,0 – 600 ng/mL	LLOQ = 2 ng/mL

GC – Cromatografia Gasosa; LC – Cromatografia Líquida; HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência; MS – Espetrometria de Massa; HR-MS – Espetrometria de Massa de Alta Resolução; UHPLC – Cromatografia Líquida de Ultra Performance; BHT - Butilhidroxitolueno (antioxidante); Triton X-100 – detergente (surfactante não iônico); SPE – Extração em Fase Sólida; N/A – Não Aplicável.

Como explicado anteriormente, a utilização de GC-MS era um método comum para a determinação de oxisterois. Geralmente, para facilitar a análise por GC-MS, fazia-se a conversão do analito nos seus derivados trimetilsililo, um processo conhecido como derivatização química. A derivatização química é utilizada para melhorar a sensibilidade analítica da espectrometria de massa, diminuir o limite de detecção (LOD) e, assim, evitar estes problemas. Assim, a confirmação da existência e determinação do 4 $\beta$ -OH-colesterol no plasma era feita através do seu derivado éter trimetilsililo com recurso a GC-MS e ionização por impacto eletrónico (EI) e usando os analitos deuterados como padrões internos (26,40).

Existem alternativas de ionização para fazer a análise de oxisterois não derivatizados, como a ionização química à pressão atmosférica (APCI) e a fotoionização à pressão atmosférica (APPI). A APPI origina uma ionização mais eficiente quando se utilizam compostos não polares como os esteroides e uma maior sensibilidade do que a APCI, permitindo quantificar concentrações abaixo de 10 ng/mL com um tempo de corrida de 15 minutos. Porém, a APPI é menos utilizada, por necessitar da adição de reagente pós-coluna, um método usado para reduzir os efeitos da matriz, e por não estar facilmente disponível na maioria dos laboratórios (40).

O método de GC-MS apresenta boa resolução cromatográfica. Contudo, tem as desvantagens de necessitar de uma preparação da amostra demorada, apresentar tempos de corrida longos (> 25 min) e precisa de volumes de amostra grandes (26,40,41).

Devido a estas desvantagens do método GC-MS, este começou a ser substituído por outros métodos analíticos como a cromatografia líquida com detecção por espectrofotometria de massa em tandem (LC-MS/MS), que apresenta tempos de corrida mais rápidos, maior robustez e melhor compatibilidade com analitos não voláteis, como é o caso dos esteroides. Assim, alguns estudos descrevem a aplicação de LC-MS/MS com recurso a ionização por eletrospray (ESI) para a determinação de 4 $\beta$ -OH-colesterol em tecido cerebral e em culturas celulares. Contudo, foi reportado ser difícil ionizar oxisterois através de ESI, devido à ausência de grupos funcionais ácidos ou básicos (40). Assim, para a determinação de 4 $\beta$ -OH-colesterol tem sido preferida uma aproximação que permite melhorar a eficiência de ionização através de ESI em que se faz a derivatização do analito num éter picolinilo. No entanto, esta parece não ser uma abordagem muito melhor que a utilização de GC-MS, visto que é também necessário um passo de derivatização de, aproximadamente, 1 hora, e o tempo de corrida é cerca de 40 minutos (40,43). Adicionalmente, em métodos de LC-MS é necessário garantir que existe uma boa separação cromatográfica pois muitos dos oxisterois alvo apresentam as mesmas massas de transição (analitos isobáricos) (41). O método analítico também deve conseguir fazer a separação cromatográfica do 4 $\beta$ -OH-colesterol e do 4 $\alpha$ -OH-colesterol quando se utilizam amostras biológicas como o plasma (44).

Foi efetuada uma revisão sistemática com o objetivo de recolher informação sobre os métodos analíticos disponíveis para a análise de 4 $\beta$ -hidroxi- $\Delta^5$ -esteroides.

Nesta revisão sistemática foram analisados treze artigos nos quais eram apresentados métodos analíticos para a determinação de 4 $\beta$ -OH-colesterol em amostras de sangue (plasma e/ou soro) e de tecido. Nas metodologias em causa (Tabela 1.3) foram usados maioritariamente sistemas de cromatografia líquida de ultra performance acoplada a espectrofotometria de massa em tandem (UHPLC-MS/MS) e sistemas de cromatografia líquida acoplada a espectrofotometria de massa em tandem (LC-MS/MS), tendo dois deles utilizado um espectrómetro de massa de alta resolução como detetor (HR-MS). Apenas existe uma descrição da utilização do método de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrofotometria de massa em tandem (HPLC-MS/MS) e um outro artigo que reporta a utilização de cromatografia gasosa acoplada a espectrofotometria de massa (GS-MS).

Como padrão interno foram usados isótopos do composto de interesse: 4 $\beta$ -OH-colesterol-D7, 4 $\beta$ -OH-colesterol-D4 e 4 $\beta$ -OH-colesterol-D6. Foram escolhidos por serem estruturalmente comparáveis ao 4 $\beta$ -OH-colesterol, por possuírem características semelhantes e por terem massas diferentes (47).

*Van de Merbel, et al.* reportaram que a utilização de metóxido de sódio (CH<sub>3</sub>NaO) é uma melhor opção comparada à utilização de hidróxido de potássio (KOH) no passo de hidrólise alcalina. De facto, enquanto que com a utilização de KOH o procedimento pode demorar várias horas e, geralmente, necessita de aquecimento, com a utilização de CH<sub>3</sub>NaO o procedimento pode ser realizado à temperatura ambiente e pareceu estar concluído em 20 minutos. Também mencionaram que a seletividade e robustez do método analítico aumentou com a execução do passo extra de extração em fase sólida (SPE) do extrato com *n*-hexano, pois conseguiram remover cerca de 80% do colesterol e alguns oxiesteróis não identificados da amostra que eluíam perto do pico do analito de interesse. A SPE executada também permitiu obter extratos límpidos e preveniu que ocorresse um aumento excessivo de pressão na coluna, o que foi observado quando este passo não foi executado (42).

Adicionalmente, também estudaram a necessidade de adicionar um antioxidante, o hidroxitolueno butilado (BHT), como forma de prevenir a auto-oxidação do colesterol durante o processo analítico. Concluíram que não ocorria a formação *in vitro* de analitos durante o processo analítico, pois não existia diferença significativa nos níveis de 4 $\beta$ -OH-colesterol nas amostras com ou sem a adição de BHT (42). Ademais, *Xu, et al.* corroboram esta conclusão ao reportarem que não utilizaram antioxidante nas amostras e não viram diferença significativa na auto-oxidação do colesterol durante o procedimento analítico (26). É referido que a utilização de uma coluna cromatográfica de maior eficiência foi essencial à obtenção de um cromatograma com resolução suficiente e um tempo de corrida relativamente curto, visto que a MS não era seletiva o suficiente para conseguir diferenciar o 4 $\beta$ -OH-colesterol dos interferentes plasmáticos. Acrescentaram que ao alternar o fluxo de LC para os resíduos entre os 11 e os 13,5 minutos é vantajoso, pois é neste intervalo de tempo que elui o colesterol. Assim, evita-se que exista contaminação da fonte de iões devido à elevada concentração de colesterol, o que melhora o sinal de fundo do MS (42). Segundo

*Xu, et al.* é benéfico separar cromatograficamente o 4 $\beta$ -OH-colesterol do colesterol, que está presente em grandes quantidades no plasma, para que seja evitado o efeito de supressão iônica, pois este pode afetar a reprodutibilidade e sensibilidade da análise (26).

A utilização de hidrólise enzimática em vez da mais comum hidrólise alcalina foi avaliada por *Mendiara, et al.*, que sugeriram que a hidrólise enzimática mostra ter mais benefícios do que a hidrólise alcalina na preparação das amostras. Estes autores reportaram que a hidrólise enzimática forma menos compostos de degradação, permite a determinação de vários oxiesteróis em simultâneo com eficácia e permite uma recuperação de cerca de 90% do padrão interno. Ademais, mostraram uma melhoria do limite de deteção (LOD) e limite de quantificação (LOQ) quando comparado com procedimentos que utilizam hidrólise alcalina na preparação das amostras, o que permite que seja usada uma menor quantidade de amostra. Este método também requer uma menor manipulação da amostra ao eliminar os passos de extração pós-alcalina, evaporação e dissolução, o que leva a uma diminuição do tempo de processamento das amostras e aumenta o número de amostras que podem ser preparadas para análise. Por fim, reduz o impacto ambiental, pois não necessita da utilização de compostos alcalinos e cria menos resíduos químicos. Assim, os autores sugerem que o método enzimático proposto permite quantificar quantidades menores de oxiesteróis sem ser necessário derivatizar a amostra, permite obter cromatogramas com melhor resolução e alegam que é um método mais preciso que os métodos utilizados habitualmente (43).

O ensaio LC-ESI-MS/MS aplicado por *Xu, et al.* para a determinação das concentrações de 4 $\beta$ -OH-colesterol e colesterol no plasma implicou procedimentos de preparação da amostra e derivatização longos, o que torna a análise das amostras demorada. Os autores estudaram qual seria o passo mais conveniente do processo de preparação e de derivatização das amostras onde se pudesse interromper o procedimento sem afetar a corrida analítica. Assim, perceberam que após o primeiro ou segundo passo de evaporação poderiam interromper o procedimento, congelar a amostra (-20°C) durante a noite, sem que a corrida analítica fosse afetada (26).

Para conseguirem uma separação cromatográfica célere e fidedigna, *Pataj, et al.* avaliaram diferentes fases estacionárias, coluna C18 e coluna bifenilo Core-Shell e otimizaram a temperatura da coluna. Verificaram que a utilização da coluna bifenilo Core-Shell, à temperatura de 30°C mostrou ser mais eficiente e conseguiu separar os oxiesteróis avaliados, incluindo os oxiesteróis isobáricos, num tempo de corrida de apenas 8 minutos, tendo o 4 $\beta$ -OH-colesterol eluído aos 5,45 minutos (44). Já *Huang, et al.* constataram que quando o 4 $\beta$ -OH-colesterol é derivatizado num éster piconilo, a utilização de uma fase móvel constituída por uma solução aquosa de ácido acético 0,1% e acetonitrilo aumenta a sensibilidade da deteção por MS/MS (45).

*Hautajärvi, et al.* notaram que nos testes de seletividade os níveis de 4 $\beta$ -OH-colesterol eram diferentes em amostras de plasma humano em citrato, em soro humano e em plasma em K<sub>2</sub>EDTA. Sendo comum obter amostras de plasma utilizando tubos com citrato ou EDTA como

anticoagulante, sugerem que o impacto do anticoagulante na análise de 4 $\beta$ -OH-colesterol deve ser estudado, utilizando uma seleção mais ampla de anticoagulantes (46).

*Hasan, et al.* utilizaram o método HPLC-MS/MS e reportam ter conseguido separar o 4 $\beta$ -OH-colesterol dos restantes oxisterois presentes no sangue. Contudo, afirmam que o método utilizado não lhes permitiu distinguir o 4 $\beta$ -OH-colesterol do 4 $\alpha$ -OH-colesterol, sendo que o sinal analítico apresentado representa ambos os isómeros (47).

Como o 4 $\beta$ -OH-colesterol tem uma eficiência de ionização reduzida, esta pode ser aumentada ao derivatizar a amostra. No entanto, o processo de derivatização não é obrigatório para se conseguir determinar os níveis de 4 $\beta$ -OH-colesterol. *Hasan, et al.* e *Van de Merbel, et al.* foram capazes de determinar os níveis de 4 $\beta$ -OH-colesterol através de LC-MS/MS e sem fazer o passo de derivatização ao utilizarem detetores munidos com APPI e APCI, respetivamente. Contudo, é conseguida uma maior sensibilidade na deteção de 4 $\beta$ -OH-colesterol e 4 $\alpha$ -OH-colesterol quando se faz o passo de derivatização e se utiliza ESI na deteção do que ao usar APPI ou APCI sem derivatização (42,47,48).

Ao contrário dos seus pares, *Oh, et al.* utilizaram microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) para a preparação da amostra, que envolve o uso de um solvente dispersor (acetonitrilo), miscível num solvente extrator (tolueno, fase orgânica) que é imiscível na fase aquosa (plasma). Estes autores reportaram que a utilização deste método permite uma maior recuperação de todos os analitos, é económico, rápido, de baixa complexidade e permite obter rendimentos de extração elevados (49,51).

No que diz respeito à aplicação clínica destes métodos, existem relatos da sua aplicação em estudos observacionais. *Bodin, et al.* são os únicos que reportam ter usado o método analítico GS-MS, que foi utilizado na quantificação de 4 $\beta$ -OH-colesterol no plasma de 125 indivíduos para avaliar como os seus níveis séricos variam com a toma de fármacos antiepiléticos (40). *Gjestad, et al.* utilizaram o método UHPLC-MS/MS para a avaliação da atividade da CYP3A em 54 doentes a utilizar antiepiléticos, nomeadamente carbamazepina (25). *Wollmann, et al.* compararam os níveis de 4 $\beta$ -OH-colesterol em 41 doentes com artrite reumatoide, antes e depois do tratamento com fármacos antirreumáticos modificadores da doença (DMARDs) (41).

Como é possível observar por esta revisão sistemática, a análise de 4 $\beta$ -hidroxi- $\Delta^5$ -esteroides é usualmente feita por UHPLC-MS/MS ou LC-MS/MS. Apesar da elevada sensibilidade e seletividade destes métodos analíticos, estes são dispendiosos e exigem um procedimento de preparação da amostra complexo e demorado para que possa ser feita a deteção dos analitos. Existe na literatura evidência da utilização de métodos mais simples, como HPLC/DAD, para a determinação de compostos esteroides como o colesterol, a diosgenina, DHEA e hormonas esteroides (17 $\beta$ -estradiol e estriol) com boa sensibilidade e reprodutibilidade apesar de não terem sido utilizadas amostras biológicas (12,52-54).

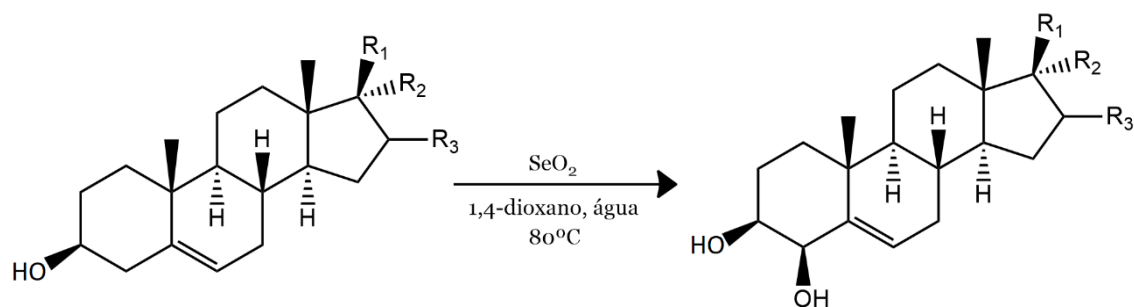
Assim, foi feita a validação de um método HPLC/DAD, baseado no método desenvolvido e otimizado por *Jesus, et al.* (55), para a determinação de 4 $\beta$ -OH-colesterol, 4 $\beta$ -OH-diosgenina e 4 $\beta$ -OH-DHEA em amostras biológicas, nomeadamente amostras de cultura celular.

#### 4.1.2. Limitações

Os estudos com foco na área dos 4 $\beta$ -hidroxi- $\Delta^5$ -esteroides são escassos, o que ficou evidenciado nos resultados desta revisão sistemática. Adicionalmente, algum dos estudos, apesar de descreverem o método analítico utilizado para a determinação do 4 $\beta$ -OH-colesterol, não fazem qualquer comentário acerca de que forma o método usado pode ter afetado os resultados obtidos. Outra limitação é não ter sido feita uma restrição das datas de publicação dos estudos, pelo que um dos artigos revistos é de 2001, enquanto os outros foram publicados de 2011 a 2022. O artigo publicado em 2001 é o único que utiliza cromatografia gasosa como metodologia, sendo que é um método cada vez menos usado na determinação de 4 $\beta$ -hidroxi- $\Delta^5$ -esteroides face aos melhores resultados obtidos com a utilização da cromatografia líquida.

#### 4.2. Estratégia de síntese dos compostos

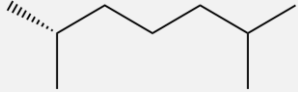
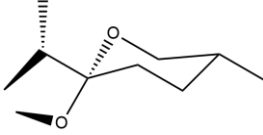

Foi necessário efetuar a síntese dos  $\Delta^5$ -esteroides 4 $\beta$ -hidroxilados através de hidroxilação alílica, para utilizar como padrões neste trabalho experimental (Esquema 1.10).



Esquema 1.10 - Reação de hidroxilação alílica de  $\Delta^5$ -esteroides, reagentes e condições reacionais.

Existe pouca informação sobre estes compostos e, no caso da 4 $\beta$ -OH-diosgenina e do 4 $\beta$ -OH-DHEA, não existe qualquer informação sobre a existência de atividade biológica. Sobre o 4 $\beta$ -OH-colesterol já existe mais informação, sendo mesmo assim insuficiente quando comparada com os seus análogos hidroxilados em C7 (28,29). Não foi possível sintetizar o 4 $\beta$ -OH-DHEA com pureza e quantidade suficiente para que pudesse ser usado como padrão. Já o 4 $\beta$ -OH-colesterol e 4 $\beta$ -OH-diosgenina foram preparados com sucesso, porém, foram obtidos rendimentos baixos e tempos de reação longos. Os dados relativos às reações efetuadas encontram-se descritos na Tabela 1.4.

Tabela 1.4 - Substratos e as suas cadeias laterais, produto, tempo reacional médio e rendimento médio.

Substrato	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Produto	Tempo reacional médio	Rendimento médio (%)
Colesterol	H		H	4 $\beta$ -OH- colesterol	23 horas	42
Diosgenina	H			4 $\beta$ -OH- diosgenina	5 dias e 12 horas	33
DHEA			H	4 $\beta$ -OH- DHEA	4 dias e 3 horas	6

Dos processos sintéticos descritos na literatura para obter estes compostos, foi escolhida a oxidação com dióxido de selênio por ser um dos métodos mais previsíveis, adequados e fiáveis para a hidroxilação em posição alílica principalmente quando o substrato é um composto esteroide (34,38).

Esta é uma reação dependente do solvente utilizado. Escolheu-se uma mistura de 1,4-dioxano/água em proporção de 5:1 para solvente reacional, pois, de acordo com a literatura, mostrava maior seletividade para a produção de compostos hidroxilados em C4. O rendimento esperado de uma reação de 4 $\beta$ -hidroxilação do colesterol executada utilizando este solvente seria de 64% se a reação fosse mantida a 100°C durante 24 horas (38). O rendimento obtido por nós nesta reação foi de 42%, ou seja, inferior ao esperado. Contudo, a temperatura de reação utilizada foi de 80°C e o tempo de reação foi de 23 horas, o que pode explicar a obtenção de um rendimento inferior.

Os rendimentos baixos obtidos nas reações de síntese efetuadas podem também dever-se à perda de produto ao longo do processo de isolamento e purificação feita após a síntese ou à formação de produtos secundários durante as reações.

Os rendimentos das reações de 4 $\beta$ -hidroxilação do DHEA foram todos muito baixos e obrigaram a que fossem realizadas várias tentativas para a ocorrer a síntese eficaz do produto, mas sem sucesso. Na síntese de 4 $\beta$ -OH-DHEA observava-se uma elevada formação de produtos secundários, o que dificultou a sua purificação e levou à diminuição do rendimento das reações.

Nos espectros de  $^1\text{H-RMN}$  aparece o sinal característico dos produtos de interesse destas reações, o sinal do H4. Este sinal surge perto dos 4,1 ppm e aparece como um duplete, o que caracteriza um carbono ligado a um grupo hidroxilo (34).

### 4.3. Ensaaios analíticos

O método analítico e condições cromatográficas utilizadas foram baseados num método desenvolvido e otimizado previamente por *Jesus, et al.* (55).

#### 4.3.1. Identificação dos compostos

A identificação dos compostos foi feita com base no seu tempo de retenção e no seu comprimento de onda, cujos dados estão descritos na Tabela 1.5. Os cromatogramas com os respetivos tempos de retenção encontram-se da Figura 1.7 a 1.10.

Tabela 1.5 - Condições cromatográficas, compostos analisados e respetivos tempos de retenção.

Fase Móvel	Composto	Tempo de retenção (min)	Comprimento de onda (nm)
0,1% de ácido fórmico em água na proporção de 90:10 (v/v)	Colesterol	15,870	215
	4 $\beta$ -OH-colesterol	13,783	
	Diosgenina	6,774	
	4 $\beta$ -OH-diosgenina	5,396	

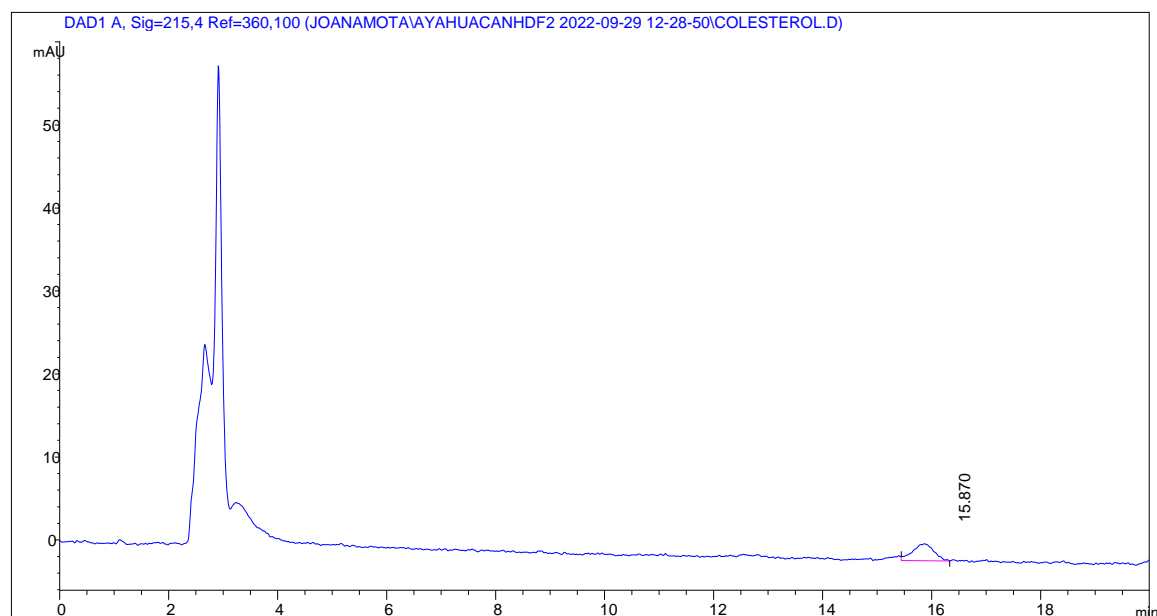


Figura 1.7 - Cromatograma do colesterol (15,870 min), à concentração de 4 mg/mL, a 215 nm.

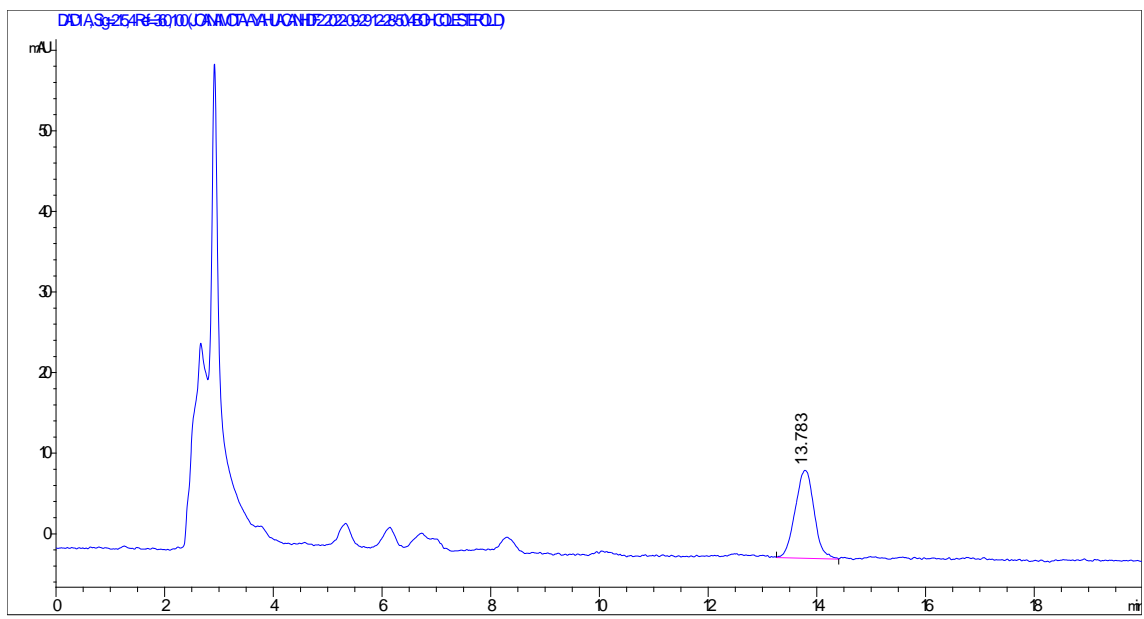


Figura 1.8 - Cromatograma do 4 $\beta$ -OH-colesterol (13,783 min), à concentração de 4 mg/mL, a 215 nm.

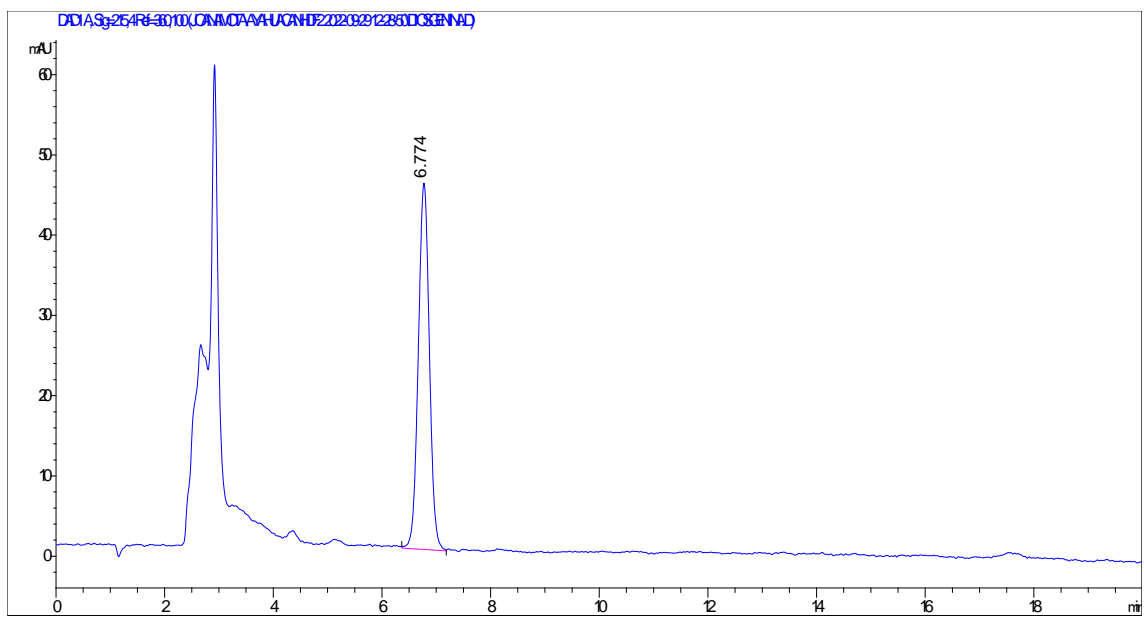


Figura 1.9 - Cromatograma da diosgenina (6,774 min), à concentração de 4 mg/mL, a 215 nm.

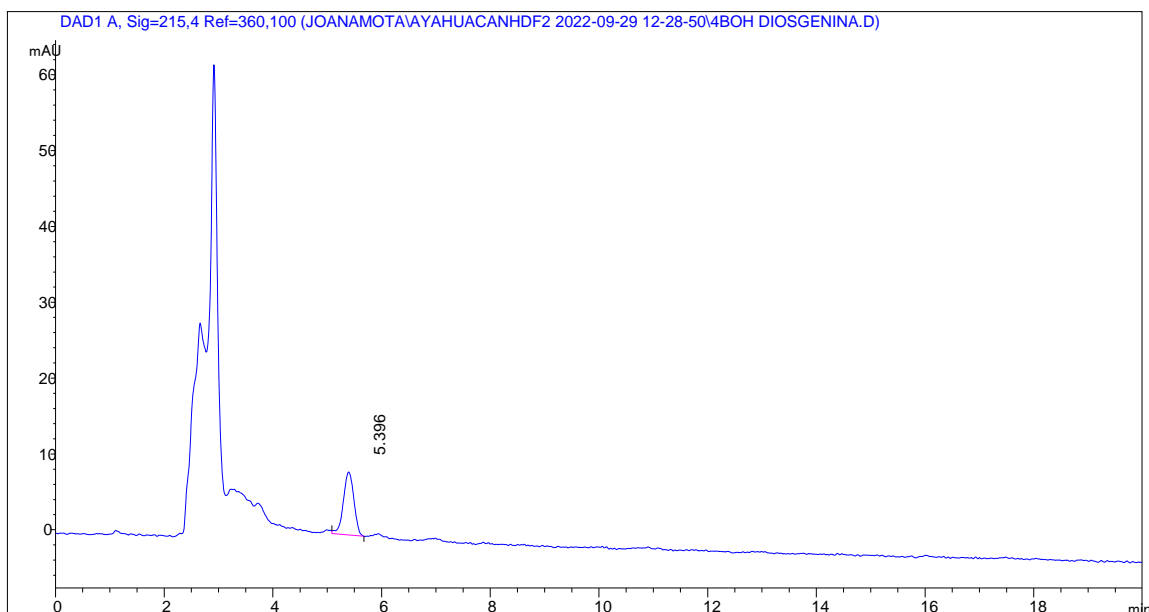


Figura 1.10 - Cromatograma da 4 $\beta$ -OH-diosgenina (5,396 min), à concentração de 4 mg/mL, a 215 nm.

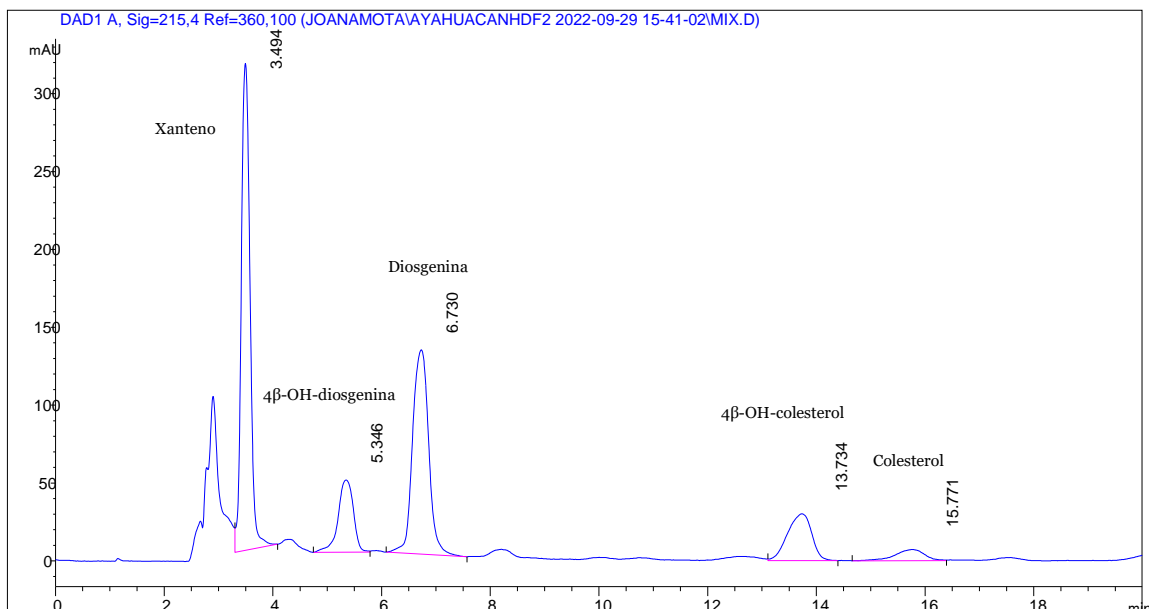


Figura 1.11 - Cromatograma dos compostos em estudo, à concentração de 4 mg/mL, e do xanteno (padrão interno), à concentração de 1mg/mL, a 215 nm.

Como se pode observar na Figura 1.11 foi possível obter uma separação cromatográfica adequada dos compostos em estudo e do padrão interno (xanteno).

#### 4.3.2. Padrão Interno

Para se poder controlar a reprodutibilidade do método analítico é comum fazer-se a adição de um composto conhecido à amostra, numa concentração constante, ao qual se dá o nome de padrão interno. O padrão interno deve ser escolhido com base nas suas características físico-químicas, que devem semelhantes às características dos compostos em estudo de modo a que o padrão interno se comporte de modo semelhante ao analito durante a corrida cromatográfica, mas a sua

eluição não pode interferir com a eluição dos compostos em estudo. Ademais, este deve ser exógeno ao meio em estudo (56).

A análise do padrão interno também permite calcular a área relativa do pico, que pode ser usada no desenvolvimento das curvas de calibração do método analítico. A área relativa é a razão entre a área cromatográfica do composto de interesse e da área cromatográfica do padrão interno. A utilização de um padrão interno permite melhorar a precisão, exatidão e linearidade do método analítico e reduz o efeito de possíveis perdas de analito (56).

O padrão interno escolhido foi o xanteno, um composto orgânico cuja estrutura se assemelha à estrutura esteroide (Figura 1.12) e que permitiu uma separação cromatográfica satisfatória, e o respectivo cromatograma encontra-se representado na Figura 1.13.

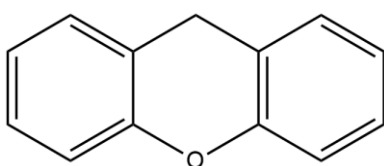


Figura 1.12 - Estrutura química do xanteno (padrão interno).

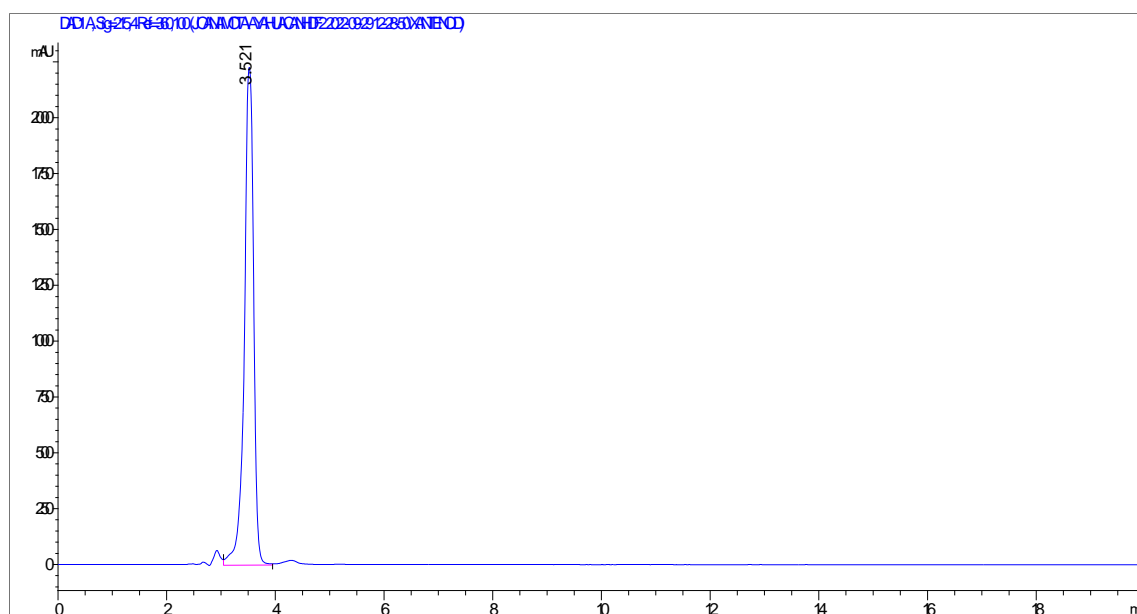


Figura 1.13 - Cromatograma do xanteno (3,521 min), à concentração de 1 mg/mL, a 215 nm.

#### 4.3.3. Validação do Método Analítico

Para ser possível obter resultados fiáveis, os métodos analíticos devem estar devidamente documentados, caracterizados e validados. A validação de métodos analíticos é de extrema importância na área farmacêutica, por exemplo, para a obtenção de métodos fidedignos para a avaliação quantitativa de analitos de interesse, como fármacos e os seus metabolitos (57,58).

Para o método analítico ser considerado adequado deve ser feita a avaliação de alguns parâmetros obrigatórios como a determinação de curvas de calibração e linearidade, limites de detecção e de quantificação, seletividade, recuperação, precisão e exatidão. Os procedimentos de validação executados neste trabalho experimental seguiram as normas da *European Medicines Agency* (EMA) e da *Food and Drug Administration* (FDA) (57,58).

#### 4.3.3.1. Seletividade

A capacidade que um método tem em diferenciar e quantificar o composto de interesse numa amostra com uma matriz complexa sem interferência de outros elementos que possam estar presentes designa-se por seletividade. Um método analítico que seja seletivo para o composto de interesse vai apresentar um pico de resposta que corresponde apenas a esse composto e é de extrema importância avaliar a seletividade durante o desenvolvimento e validação do método. Tendo em conta que existe a possibilidade de as amostras sofrerem degradação e formarem subprodutos que podem eluir com o composto de interesse, a seletividade é um parâmetro que deve ser reanalisado de forma contínua. Também existe a possibilidade de o método não ser específico, mas não existir interferência significativa dos outros componentes da amostra, por exemplo, se existir uma boa separação cromatográfica entre os picos dos compostos (57,58).

Tendo em conta que o propósito deste método é avaliar o metabolismo celular dos compostos esteroides para o estudo da seletividade foi analisada uma amostra de meio de cultura complexo filtrado utilizado na cultura celular de células HepaRG. Assim, foi utilizado o meio de cultura Williams suplementado com 10% de soro fetal bovino (FBS), 100 UI/mL de estreptomicina, 100 UI/mL de penicilina, 5 µg/mL de insulina,  $5 \times 10^{-5}$  M de hemissuccinato de hidrocortisona e 2 mM de glutamina (59). Foram analisadas diferentes alíquotas da amostra do meio de cultura complexo filtrado.

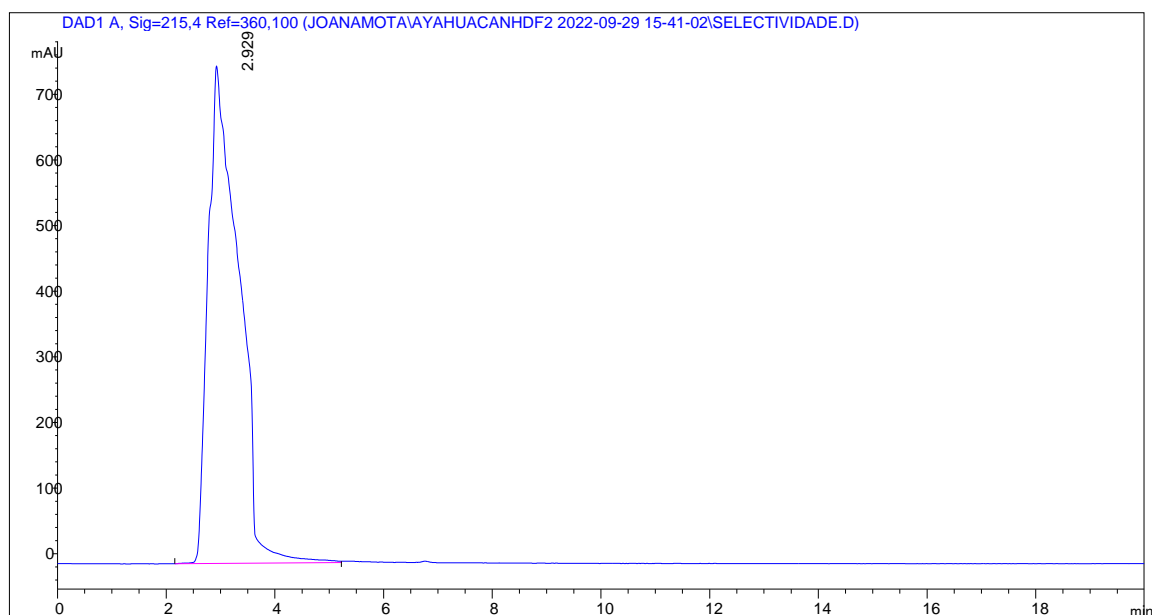


Figura 1.14 - Cromatograma relativo ao meio de cultura (seletividade), a 215 nm.

Como se pode verificar pelo cromatograma apresentado (Figura 1.14) não se observou nenhum interferente no tempo de retenção e comprimento de onda dos analitos em estudo.

#### 4.3.3.2. Curva de calibração e linearidade

A capacidade de o método analítico fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração do composto de interesse numa série de concentrações específicas designa-se como linearidade. O intervalo entre os níveis inferior e superior de concentração do composto de interesse determina a faixa linear do método, no qual se demonstra que é possível determinar com a exatidão, precisão e linearidade indispensáveis sob as condições definidas para o ensaio (57,58).

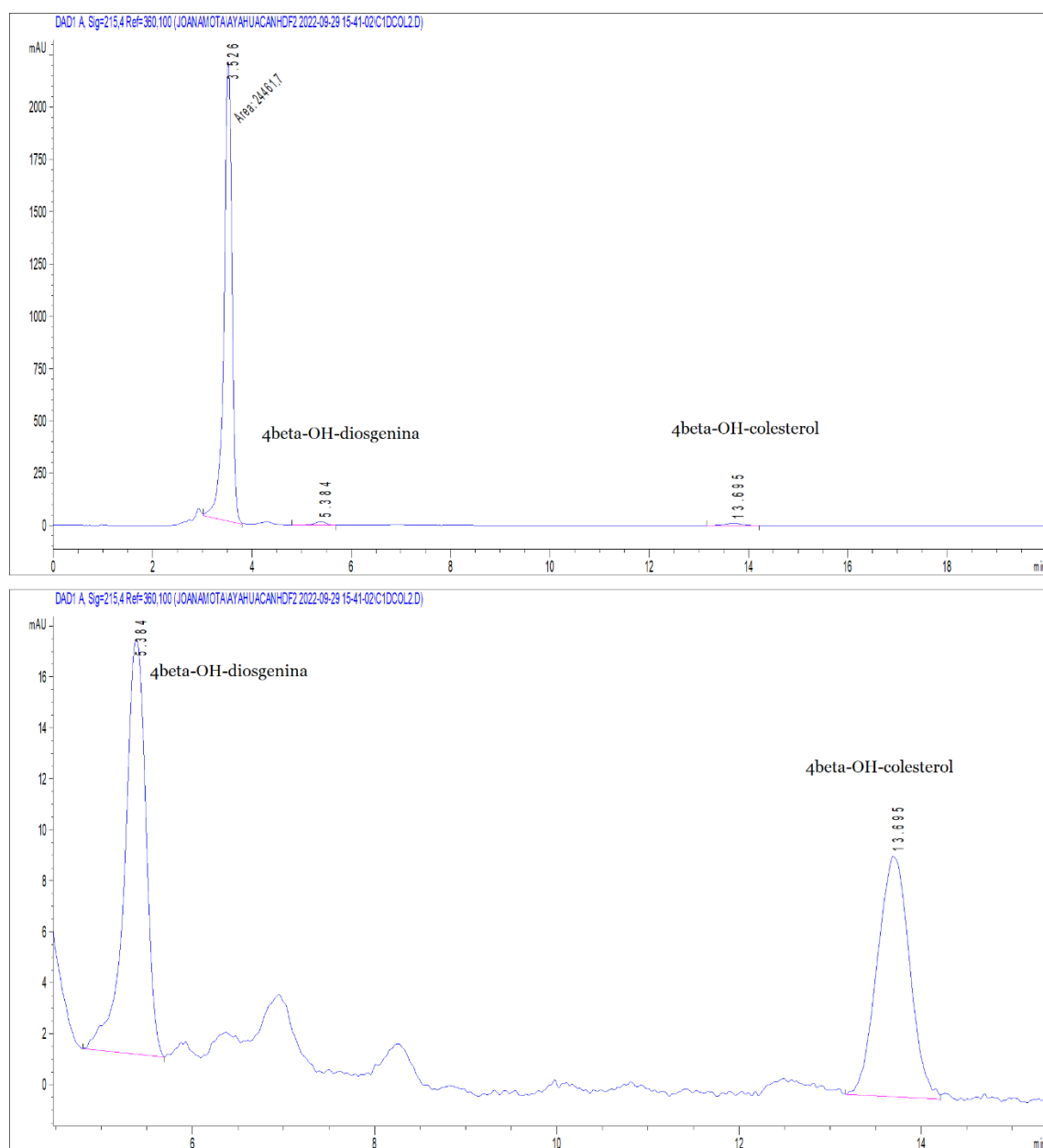


Figura 1.15 - Cromatograma da 4β-OH-diosgenina (5,381 min) e 4β-OH-cholesterol (13,695 min) à concentração de 0,125 mg/mL (LLOQ) e respetiva ampliação.

A relação entre a resposta do detetor e concentração conhecida do composto de interesse permite criar a curva de calibração. Para cada composto de interesse a analisar tem de ser construída a respetiva curva de calibração. Para construir a curva de calibração, o número de pontos de calibração tem de permitir a definição adequada da relação concentração-resposta. Assim, as concentrações dos padrões são selecionadas tendo em conta o intervalo de concentrações esperadas no estudo em que o método for aplicado (57,58,60).

As curvas de calibração foram determinadas usando amostras branco fortificadas com concentrações crescentes dos compostos em estudo, sintetizados previamente. Foi feita a preparação de 7 calibradores no intervalo de concentrações entre 0,125-4 mg/mL, nomeadamente com as concentrações de 0,125, 0,25, 0,5, 1, 2, 3 e 4 mg/mL. Estas concentrações foram definidas tendo em conta as concentrações que se utilizariam em ensaios *in vitro* de metabolismo de compostos esteroides.

Quando se desenvolve uma curva de calibração é necessário respeitar certos critérios, nomeadamente, o coeficiente de variação deve ser inferior a 20% e  $\pm 20$  do BIAS da concentração teórica no limite inferior de quantificação (LLOQ) e o coeficiente de variação (CV) deve ser inferior a 15% e  $\pm 15\%$  do BIAS da concentração teórica das restantes soluções de calibração (57,58). O valor do LLOQ foi de 0,125 mg/mL. Quanto ao limite de deteção (LOD) este não foi estudado de forma sistemática pelo que se considerou a concentração de 0,125 mg/mL como LOD (Figura 1.15).

Através do método matemático de regressão linear é possível estimar os coeficientes de uma curva analítica a partir de um conjunto de medições experimentais. A equação descritiva de uma curva analítica pode ser expressa por:  $y = mx + b$ . Onde y representa a resposta medida (área absoluta ou área relativa do pico), x representa a concentração do analito, m representa o declive da curva de calibração e b representa o coeficiente linear (interseção com o eixo das ordenadas).

Com base nos coeficientes de regressão m e b obtidos através da regressão linear é possível calcular o coeficiente de correlação ( $R^2$ ). O ideal é que o valor de  $R^2$  seja superior a 0,99, visto que quanto mais próximo de 1, menor será a incerteza dos coeficientes de regressão calculados e menor será a difusão do conjunto de pontos experimentais.

Tabela 1.6 - Resultados da linearidade para os compostos em estudo.

Composto	Tempo de retenção (min)	Gama de trabalho (mg/mL)	Linearidade (média $\pm$ SD)		$R^2$ (média $\pm$ SD)	LOQ/LOD (mg/mL)
			Declive (m)	Ordenada na origem (b)		
4 $\beta$ -OH-colesterol	15,3	0,125 – 4	1860,4 $\pm$ 12,8	22,5 $\pm$ 51,3	0,9953 $\pm$ 0,0025	0,125

4β-OH-diosgenina	5,6	0,125 – 4	1254,0 ± 9,5	97,8 ± 62,1	0,9957 ± 0,0029	0,125
------------------	-----	-----------	--------------	-------------	-----------------	-------

\*SD: desvio-padrão

Adicionalmente, foram preparados quatro controlos de qualidade dentro do intervalo de calibração estudado. Assim, foram estabelecidas as concentrações: 0,2 mg/mL (controlo de qualidade baixo), 0,6 mg/mL (controlo de qualidade baixo), 2,4 mg/mL (controlo de qualidade médio) e 3,4 mg/mL (controlo de qualidade alto) para o 4β-OH-colesterol e 4β-OH-diosgenina. Os coeficientes de variação e BIAS mantiveram-se dentro dos limites estabelecidos pelos critérios de validação ( $CV \leq 15\%$  e  $BIAS \pm 15\%$ ) (57,58).

Pode concluir-se, por análise da Tabela 1.6, que o método descrito é linear na gama de trabalho utilizada para os compostos em estudo, uma vez que os valores de  $R^2$  foram superiores a 0,99 para os compostos em estudo. Os valores de BIAS (não apresentados na Tabela) entre as concentrações teóricas e as concentrações calculadas são adequados, enquadrando-se no intervalo de  $\pm 15\%$  para todos os calibradores, com exceção do LLOQ que é de  $\pm 20\%$ .

#### 4.3.3.3. Precisão e exatidão

A proximidade dos valores individuais de um analito, quando o método é aplicado repetidamente nas mesmas condições e para uma mesma amostra homogénea, descreve a precisão do método analítico. Para a determinação da precisão devem usar-se, no mínimo, 5 determinações de cada concentração. A precisão avalia a dispersão de resultados entre ensaios independentes executados numa mesma amostra e nas mesmas condições. No decorrer da validação foram estudadas a precisão intra-dia e a precisão inter-dia. A precisão intra-dia, ou repetibilidade, representa o grau de concordância entre os resultados de medições sucessivas de um mesmo método, efetuadas sobre as mesmas condições de medição, que compreendem um mesmo procedimento, mesmo analista, mesmo instrumento, mesmo local e repetições num curto espaço de tempo. A precisão inter-dia, ou reprodutibilidade, envolve a avaliação da precisão quando existe a variação de certas condições previamente definidas, tais como: dias de análise diferentes, analistas diferentes e equipamentos diferentes (57,58,60,61).

Geralmente, a precisão é avaliada ao estimar o coeficiente de variação (CV) (Equação 1.1). A precisão traduz a repetibilidade da área do pico e o resultado ideal é quando o CV (%) para o método analítico é inferior a 5%. Quando não é possível que o CV seja abaixo de 5%, a precisão determinada para cada um dos níveis de concentração avaliados não deve ser superior a  $\pm 15\%$  do CV, com exceção do LLOQ, para o qual não pode ultrapassar  $\pm 20\%$  (57,58,60,61).

Equação 1.1 - Cálculo do coeficiente de variação (CV).

$$(Equação 1.1.) CV (\%) = \left( \frac{S}{\bar{X}} \right) \times 100$$

Também é importante determinar a exatidão do método analítico, que indica o grau de proximidade entre as médias dos resultados adquiridos com o método e o valor real de

concentração de analito na amostra. Este parâmetro é avaliado através do erro relativo médio ou BIAS (Equação 1.2).

Equação 1.2 - Cálculo do BIAS.

$$(Equação 1.2) \text{ BIAS}(\%) = \frac{(\text{Concentração calculada} - \text{Concentração nominal})}{\text{Concentração nominal}} \times 100$$

Para avaliar a exatidão é repetida a análise de amostras com quantidades conhecidas do composto de interesse. O valor médio não deve variar  $\pm 15\%$  do valor real (teórico), com exceção do LLOQ, em que o desvio não pode ser superior a  $\pm 20\%$ . A medida de exatidão é o desvio da média obtida do valor nominal (57,58).

Estes parâmetros foram estudados com as concentrações de 0,25, 0,50, 2 e 3 mg/mL (precisão inter-dia) e 0,125, 1 e 4 mg/mL (precisão intra-dia). Para cada uma destas concentrações foram efetuadas 6 réplicas para assim se proceder à avaliação da precisão das medidas efetuadas no mesmo dia (precisão intra-dia). O estudo da precisão inter-dia foi efetuado na gama de concentrações das amostras fortificadas (calibradores) durante toda a validação. Nas Tabelas 1.7 e 1.8 estão apresentados os resultados relativos à precisão intra-dia e inter-dia, respetivamente, e os valores de exatidão (BIAS).

Tabela 1.7 - Precisão intra-dia e exatidão (n=6).

Compostos	Concentração (mg/mL)	CV(%)	BIAS (%)
4 $\beta$ -OH-colesterol	0,125	18,5	-13,2
	1	1,39	-0,79
	4	5,74	-2,45
4 $\beta$ -OH-diosgenina	0,125	16,45	11,51
	1	14,39	9,30
	4	9,75	7,40

Tabela 1.8 - Precisão inter-dia e exatidão (n=6).

Compostos	Concentração (mg/mL)	CV(%)	BIAS (%)
4 $\beta$ -OH-colesterol	0,25	2,33	2,48
	0,50	10,95	12,53
	2	2,84	-3,22
	3	2,71	3,1
4 $\beta$ -OH-diosgenina	0,25	17,21	-9,89
	0,50	4,95	3,50
	2	7,17	3,24
	3	3,56	0,04

Pelos resultados apresentados pode inferir-se que estes valores estão em conformidade com os critérios de validação utilizados (57,58).

## 5. Conclusão

Um dos objetivos deste trabalho de investigação foi a realização de uma revisão sistemática sobre os métodos analíticos existentes para a análise de 4 $\beta$ -hidroxi- $\Delta^5$ -esteroides. Com esta revisão sistemática pretendia perceber-se que métodos são atualmente utilizados na determinação destes compostos, de modo a perceber a necessidade do desenvolvimento e necessidade de novas metodologias analíticas. Os resultados obtidos mostraram que, frequentemente, a análise destes compostos é feita por UHPLC-MS/MS ou LC-MS/MS. Estes métodos apesar de serem seletivos e sensíveis, são dispendiosos, complexos e com necessidade de procedimentos demorados.

Assim, foi feita a validação de um método HPLC/DAD para a análise de 4 $\beta$ -hidroxi- $\Delta^5$ -esteroides em amostras biológicas, nomeadamente, o 4 $\beta$ -OH-colesterol e a 4 $\beta$ -OH-diosgenina, tendo em conta a evidência na literatura da utilização deste método na análise de vários compostos esteroides.

Para a validação do método analítico, foi necessário sintetizar padrões (4 $\beta$ -OH-colesterol, 4 $\beta$ -OH-diosgenina e 4 $\beta$ -OH-DHEA) através de reações de hidroxilação alílica. Apesar dos baixos rendimentos obtidos, foi possível sintetizar o 4 $\beta$ -OH-colesterol e a 4 $\beta$ -OH-diosgenina. Contudo, não foi possível obter quantidade suficiente de 4 $\beta$ -OH-DHEA para que este pudesse ser utilizado no processo de validação do método analítico.

Com base nos critérios de validação aprovados pela EMA e pela FDA, o método HPLC/DAD mostrou ser sensível, seletivo, preciso, exato e linear dentro do intervalo de concentrações avaliado. De facto, o método demonstrou linearidade no intervalo de concentrações entre 0,125 mg/mL e 4 mg/mL para o 4 $\beta$ -OH-colesterol e para a 4 $\beta$ -OH-diosgenina, com valores de R<sup>2</sup> superiores a 0,99 e com um bom limite de deteção e de quantificação (0,125 mg/mL).

Assim, o objetivo de validar um método analítico mais simples que os métodos utilizados atualmente para a análise de 4 $\beta$ -hidroxi- $\Delta^5$ -esteroides foi cumprido.

No futuro, seria importante avaliar a aplicabilidade deste método na identificação e quantificação destes compostos em amostras de cultura celular.

## 6. Referências

1. Salvador JAR, *et al.* Catalytic Oxidative Processes in Steroid Chemistry: Allylic Oxidation, Selective Epoxidation, Alcohol Oxidation and Remote Functionalization Reactions. Vol. 10, Current Organic Chemistry. 2006.
2. Cole TJ, *et al.* The science of steroids. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2019 Jun 1;24(3):170–5.
3. Sarker SD, *et al.* Chemistry for Pharmacy Students: General, Organic and Natural Product Chemistry. Wiley; 2007.
4. International Union of Pure and Applied Chemistry, International Union of Biochemistry. Nomenclature of Steroids. In: Pure & Applied Chemistry. 1989. p. 1783–822.
5. Lemke TL, *et al.* Foye's Principles of Medicinal Chemistry. 7th ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2013.
6. Penzak SR, *et al.* 4 $\beta$ -Hydroxycholesterol as an Endogenous Biomarker for CYP3A Activity: Literature Review and Critical Evaluation. Vol. 59, *Journal of Clinical Pharmacology.* Blackwell Publishing Inc.; 2019. p. 611–24.
7. Li LH, *et al.* Analytical methods for cholesterol quantification. Vol. 27, *Journal of Food and Drug Analysis.* Elsevier Taiwan LLC; 2019. p. 375–86.
8. Freitas FA, *et al.* Impact of oxysterols on cell death, proliferation, and differentiation induction: Current status. Vol. 10, *Cells.* MDPI; 2021.
9. Klinge CM, *et al.* Dehydroepiandrosterone Research: Past, Current, and Future. In: *Vitamins and Hormones.* Academic Press Inc.; 2018. p. 1–28.
10. Kihel L *et al.* Oxidative metabolism of dehydroepiandrosterone (DHEA) and biologically active oxygenated metabolites of DHEA and epiandrosterone (EpiA) - Recent reports. Vol. 77, *Steroids.* 2012. p. 10–26.
11. Rutkowski K, *et al.* Dehydroepiandrosterone (DHEA): Hypes and hopes. Vol. 74, *Drugs.* Springer International Publishing; 2014. p. 1195–207.
12. Jesus M, *et al.* Diosgenin: Recent Highlights on Pharmacology and Analytical Methodology. Vol. 2016, *Journal of Analytical Methods in Chemistry.* Hindawi Limited; 2016.

13. Semwal P, *et al.* Diosgenin: An Updated Pharmacological Review and Therapeutic Perspectives. Vol. 2022, Oxidative Medicine and Cellular Longevity. Hindawi Limited; 2022.
14. Gan Q, *et al.* The role of diosgenin in diabetes and diabetic complications. Vol. 198, Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology. Elsevier Ltd; 2020.
15. Wang D, *et al.* Diosgenin and Its Analogs: Potential Protective Agents Against Atherosclerosis. Vol. 16, Drug Design, Development and Therapy. Dove Medical Press Ltd; 2022. p. 2305–23.
16. Li X, *et al.* Dioscin and diosgenin: Insights into their potential protective effects in cardiac diseases. Vol. 274, Journal of Ethnopharmacology. Elsevier Ireland Ltd; 2021.
17. Parama D, *et al.* Diosgenin, a steroidal saponin, and its analogs: Effective therapies against different chronic diseases. Vol. 260, Life Sciences. Elsevier Inc.; 2020.
18. Özdemir Z, *et al.* Wimmer Z. Synthesis and pharmacological effects of diosgenin–Betulinic acid conjugates. *Molecules*. 2020 Aug 1;25(15).
19. Kulig W, *et al.* Cholesterol oxidation products and their biological importance. *Chem Phys Lipids*. 2016 Sep 1;199:144–60.
20. Zmysłowski A, *et al.* Oxysterols as a biomarker in diseases. Vol. 491, *Clinica Chimica Acta*. Elsevier B.V.; 2019. p. 103–13.
21. Morzycki JW. Recent advances in cholesterol chemistry. Vol. 83, *Steroids*. 2014. p. 62–79.
22. Diczfalusy U, *et al.* 4 $\beta$ -hydroxycholesterol, an endogenous marker of CYP3A4/5 activity in humans. *Br J Clin Pharmacol*. 2011 Feb;71(2):183–9.
23. Kloudova-Spalenkova A, *et al.* Oxysterols in cancer management: From therapy to biomarkers. *Br J Pharmacol*. 2021;178:3235–47.
24. Bodin K, *et al.* Metabolism of 4 $\beta$ -hydroxycholesterol in humans. *Journal of Biological Chemistry*. 2002 Aug 30;277(35):31534–40.
25. Gjestad C, *et al.* 4-hydroxycholesterol correlates with dose but not steady-state concentration of carbamazepine: indication of intestinal CYP3A in biomarker formation? *Br J Clin Pharmacol*. 2016;81(2):269–76.

26. Xu Y, *et al.* LC-ESI-MS/MS quantification of 4 $\beta$ -hydroxycholesterol and cholesterol in plasma samples of limited volume. *J Pharm Biomed Anal.* 2013 Nov;85:145–54.
27. Bodin K, *et al.* Metabolism of 4 $\beta$ -hydroxycholesterol in humans. *Journal of Biological Chemistry.* 2002 Aug 30;277(35):31534–40.
28. Salonurmi T, *et al.* 4 $\beta$ -Hydroxycholesterol Signals From the Liver to Regulate Peripheral Cholesterol Transporters. *Front Pharmacol.* 2020 Mar 27;11.
29. Moldavski O, *et al.* 4 $\beta$ -Hydroxycholesterol is a prolipogenic factor that promotes SREBP1c expression and activity through the liver X receptor. *J Lipid Res.* 2021;62.
30. Nury T, *et al.* Improved synthesis and in vitro evaluation of the cytotoxic profile of oxysterols oxidized at C4 (4 $\alpha$ - and 4 $\beta$ -hydroxycholesterol) and C7 (7-ketocholesterol, 7 $\alpha$ - and 7 $\beta$ -hydroxycholesterol) on cells of the central nervous system. *Eur J Med Chem.* 2013;70:558–67.
31. Snider BB, *et al.* Syntheses of (E)- and (Z)-Volkendousin. *Tetrahedron.* 1999;
32. Morzycki JW. Recent advances in cholesterol chemistry. Vol. 83, *Steroids.* 2014. p. 62–79.
33. Młochowski J, *et al.* Selenium-Promoted Oxidation of Organic Compounds: Reactions and Mechanisms. *European Journal of Organic Chemistry.* Wiley-VCH Verlag; 2003. p. 4329–39.
34. Ma E, *et al.* An Efficient 4 $\beta$ -Hydroxylation of Steroidal 5-en-3 $\beta$ -ols and 1,4-Conjugation of Steroidal 4-en-3-ones Using SeO<sub>2</sub> Oxidation. *Bulletin of the Korean Chemical Society.* 2009;30(1):245.
35. Rosenheim O, *et al.* The action of selenium dioxide on sterols and bile acids. *Cholesterol.* 1937; III.
36. Kawamoto H, *et al.* An efficient synthesis of 4 $\alpha$ - and 4 $\beta$ -hydroxy- 7-dehydrocholesterol, biomarkers for patients with and animal models of the Smith-Lemli-Opitz syndrome. *Chem Phys Lipids.* 2013;175–176:73–8.
37. Li S, *et al.* The Synthesis of N-aryl androsterone pyrazoles as aromatase inhibitors. Vol. 7, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.* 1997.

38. Ghosh P, *et al.* Oxidation with selenium dioxide: The first report of solvent-selective steroidal aromatization, efficient access to 4 $\beta$ ,7 $\alpha$ -dihydroxy steroids, and syntheses of natural diaromatic ergosterols. *Tetrahedron*. 2012 Aug 12;68(32):6485–91.
39. André T, *et al.* Desenvolvimento e validação de um método de HPLC-DAD-FLD para a determinação de inibidores da enzima fosfodiesterase tipo-5 (PDE-5) em suplementos alimentares à base de plantas. 2015.
40. Bodin K, *et al.* Antiepileptic drugs increase plasma levels of 4 $\beta$ -hydroxycholesterol in humans. Evidence for involvement of cytochrome P450 3A4. *Journal of Biological Chemistry*. 2001 Oct 19;276(42):38685–9.
41. Wollmann BM, *et al.* 4-Hydroxycholesterol Level in Patients With Rheumatoid Arthritis Before vs. After Initiation of bDMARDs and Correlation With Inflammatory State. *Clin Transl Sci*. 2017;10(1):42–9.
42. Van de Merbel NC, *et al.* A validated liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the quantitative determination of 4 $\beta$ -hydroxycholesterol in human plasma. *J Pharm Biomed Anal*. 2011 Jul 15;55(5):1089–95.
43. Mendiara I, *et al.* Determination of total plasma oxysterols by enzymatic hydrolysis, solid phase extraction and liquid chromatography coupled to mass-spectrometry. *J Pharm Biomed Anal*. 2018;150:396–405.
44. Pataj Z, *et al.* Quantification of oxysterols in human plasma and red blood cells by liquid chromatography high-resolution tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2016 Mar 25;1439:82–8.
45. Huang MQ, *et al.* Quantitation of P450 3A4 endogenous biomarker - 4 $\beta$ -hydroxycholesterol - in human plasma using LC/ESI-MS/MS. *Biomedical Chromatography*. 2014;28(6):794–801.
46. Hautajärvi H, *et al.* Quantitative analysis of 4 $\beta$ - and 4 $\alpha$ -hydroxycholesterol in human plasma and serum by UHPLC/ESI-HR-MS. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2018 Nov 15;1100–1101:179–86.
47. Hasan M, *et al.* Rapid LC–MS/MS method for the determination of 4-hydroxycholesterol/cholesterol ratio in serum as endogenous biomarker for CYP3A activity in human and foals. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2016 Oct 15;1033–1034:193–9.

48. Suzuki Y, *et al.* Sensitive UHPLC-MS/MS quantification method for 4 $\beta$ - and 4 $\alpha$ -hydroxycholesterol in plasma for accurate CYP3A phenotyping. *J Lipid Res.* 2022 Mar 1;63(3).
49. Oh JA, *et al.* Trace-level determination of eight cholesterol oxidation products in human plasma by dispersive liquid-liquid microextraction and ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies.* 2017;40(13):691–8.
50. Xue YJ, *et al.* Use of 4 $\beta$ -hydroxycholesterol in animal and human plasma samples as a biomarker for CYP3A induction. *Bioanalysis.* 2016 Feb 1;8(3):215–28.
51. Martins ML, *et al.* Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME): fundamentos e aplicações. *Scientia Chromatographica.* 2012;4(1):35–51.
52. Olatunji OS, *et al.* Determination of selected steroid hormones in some surface water around animal farms in Cape Town using HPLC-DAD. *Environ Monit Assess.* 2017 Jul 1;189(7).
53. Aboul-Enein HY. High performance liquid chromatographic analysis of dehydroepiandrosterone and its pharmaceutical tablet formulation. *Biomedical Chromatography.* 2004 Jan;18(1):6–9.
54. Mousli Y, *et al.* A rapid and quantitative reversed-phase HPLC-DAD/ELSD method for lipids involved in nanoparticle formulations. *J Pharm Biomed Anal.* 2022 Oct;220:115011.
55. Jesus M, *et al.* A oxidação alílica na posição 4 de esteroides na preparação de potenciais compostos bioativos. Universidade da Beira Interior; 2017.
56. Wille SMR, *et al.* Practical aspects concerning validation and quality control for forensic and clinical bioanalytical quantitative methods. *Accreditation and Quality Assurance.* 2011 Jun;16(6):279–92.
57. U.S Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Veterinary Medicine (CVM). *Bioanalytical Method Validation.* 2018.
58. European Medicines Agency. *Guideline on bioanalytical method validation.* 2015.
59. Meirinho S, *et al.* Study of the metabolic stability profiles of perampanel, rufinamide and stiripentol and prediction of drug interactions using HepaRG cells as an in vitro human model. *Toxicology in Vitro.* 2022 Aug 1;82.

60. Cassiano NM, *et al.* Validação em métodos cromatográficos para análises de pequenas moléculas em matrizes biológicas. *Quim Nova.* 2009;32(4):1021–30.
61. Peters FT, *et al.* Bioanalytical method validation and its implications for forensic and clinical toxicology-A review Introduction. *Accreditation and Quality Assurance.* 2002; 7:441–9.

# Capítulo 2 - Estágio em Farmácia Comunitária

## 1. Introdução

A existência da profissão farmacêutica e das farmácias de oficina remonta ao século XV, quando os farmacêuticos eram designados de boticários, que preparavam medicamentos ou substâncias medicamentosas na sua botica (1).

Ao longo dos anos, a formação multidisciplinar destes profissionais tem vindo a ficar cada vez mais completa e permitiu aos farmacêuticos enveredarem por várias saídas profissionais. A Farmácia Comunitária é a mais escolhida, e sendo, por isso, os farmacêuticos comunitários aqueles que dão mais visibilidade à profissão farmacêutica.

O farmacêutico comunitário encontra-se na linha da frente na interação com os utentes, não só pelo acesso facilitado a estes, mas também porque muitos utentes veem os farmacêuticos como uma fonte fiável para se aconselharem acerca dos seus problemas de saúde. Deste modo, acabam por recorrer à farmácia antes de irem ao médico, sendo responsabilidade do farmacêutico referenciá-los ao médico quando é necessário. Este deve validar as prescrições apresentadas pelos utentes, detetar possíveis erros de medicação e, quando tal acontece, deve informar o utente e contactar o médico prescriptor para se corrigir o erro. Assim, é possível diminuir a morbilidade e mortalidade relacionada com medicamentos.

O farmacêutico comunitário tem o dever de promover a literacia em saúde e o uso racional do medicamento aos utentes da sua farmácia, visto que existe um grande aumento da prática de automedicação por parte dos utentes. Tem a responsabilidade de informar acerca da posologia e cuidados a ter na utilização de medicamentos, dispositivos médicos e produtos de saúde, nunca assumindo que o utente sabe, mas adotando uma abordagem proativa e esclarecendo qualquer dúvida que o utente possa ter. Deve também realçar a importância da adoção de um estilo de vida saudável sempre que possível.

Este contacto próximo com o utente permite ao farmacêutico identificar utentes em risco de determinadas patologias, reforçar a prevenção e diminuir a incidência de doenças crónicas, diminuindo assim também os encargos do Serviço Nacional de Saúde (SNS) nesta vertente.

Tive o prazer de realizar o meu estágio curricular em Farmácia Comunitária na Farmácia Covilhã (FC), no período de 8 de fevereiro de 2022 a 28 de abril de 2022, sob orientação da Dr.<sup>a</sup> Carmo Santos, Farmacêutica Substituta na FC. Tive a oportunidade de conhecer os diferentes elementos e características desta farmácia, que fornece aos clientes diversos serviços para manutenção da sua saúde e bem-estar. Este estágio começou numa altura em que se promovia um elevado nível

de testagem para diagnóstico da COVID-19, sendo que a FC disponibilizava o serviço de testagem com testes rápidos de antígeno SARS-CoV-2 (TRAg), compartilhado pelo SNS.

### **1.1. Grupo de Farmácias Holon**

O Grupo Holon, da qual faz parte a FC, é um grupo de farmácias que partilham a mesma marca e imagem, que se encontram distribuídas por todos o país. O Grupo Holon valoriza a confiança, inovação, tecnologia e sofisticação e acredita na uniformização dos serviços prestados pelas farmácias, tal como realça o seu lema “Farmácias Holon, um dia todas serão assim” (2–5).

O Grupo Holon pretende modelar as farmácias do seu grupo para que ofereçam um serviço de alta qualidade aos utentes e para que sejam ética e socialmente responsáveis, proativas, inovadoras e amigas do ambiente. Apostam na formação contínua e qualificação dos seus profissionais de saúde, os quais se mantêm atualizados a nível técnico-científico e comportamental, de modo a manter os padrões exigidos na representação das farmácias Holon (5). Os colaboradores das farmácias Holon têm acesso ao Portal Holon, onde lhes é possível consultar os projetos a decorrer, protocolos de dispensa e aconselhamento, portefólio de produtos, eventos do Grupo Holon e onde podem melhorar as suas competências através da Academia Holon, a plataforma de e-learning do grupo.

O Grupo Holon possui uma publicação bimensal, escrita por especialistas em temas da saúde, que visa informar e aumentar a literacia em saúde dos seus utentes, a “Revista H”.

As farmácias do Grupo Holon oferecem diversos serviços aos utentes tais como consulta farmacêutica, Check Saúde, administração de vacinas e medicamentos injetáveis, preparação individualizada da medicação (PIM), consultas de enfermagem (pé diabético), consultas de nutrição, consultas de reabilitação auditiva, consulta de aconselhamento ao viajante, consulta de cessação tabágica e consultas de podologia.

Adicionalmente, podemos encontrar nestas farmácias os produtos Holon, tais como produtos de dermofarmácia, suplementos vitamínicos, soro fisiológico, água do mar, produtos para bebé, entre outros. O Grupo Holon disponibiliza uma grande variedade de produtos de qualidade a preços que permitem competir com as marcas de referência.

Também é oferecido pelas farmácias do Grupo Holon um serviço de encomendas online, com opção de entrega ao domicílio ou de recolha na farmácia, e de agendamento online das consultas referentes aos diversos serviços, que podem, em certos casos, ser até teleconsultas, de modo a facilitar a vida dos utentes.

### **1.2. Farmácia Covilhã**

A Farmácia Covilhã pertence à mesma empresa que a Farmácia Pedroso (FP) e a Farmácia São João (FSJ), também localizadas na Covilhã, entre as quais existe partilha de recursos. A esta

ligação junta-se também a Farmácia Diamantino (FD), localizada no Fundão, a farmácia Corvo, no Montijo, e a farmácia Torre das Argolas, na Costa da Caparica.

### **1.2.1. Localização e Caracterização**

A FC está localizada na Alameda Pêro da Covilhã, numa zona residencial, perto do Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira (CHUCB) e da Faculdade de Ciências da Saúde (FCS), o que a torna acessível e conveniente a uma grande diversidade de utentes.

O horário de funcionamento da FC é das 8h às 24h, excetuando quando garante o serviço noturno, em que está aberta as 24h diárias. A FC assegura o serviço noturno das outras duas farmácias da mesma empresa, fazendo assim três noites de serviço por semana.

Os utentes da FC são muito diversificados em relação a faixa etária, patologias e nível socioeconómico. Mas ao longo do estágio, foi possível notar que existe um padrão no acesso dos utentes à farmácia.

De manhã, logo após a abertura, e ao final da tarde e noite, acedem à farmácia pessoas das faixas etárias jovens e adultos. Durante o resto da manhã e durante a tarde, recorrem à farmácia as pessoas mais idosas, polimedicadas e, geralmente, utentes habituais da farmácia. A partir das 22h nota-se uma menor afluência de utentes e os que recorrem à farmácia são, normalmente, pessoas vindas das urgências do hospital, tal como as que recorrem à farmácia durante o serviço noturno.

### **1.2.2. Espaço Físico**

#### **1.2.2.1. Espaço exterior da farmácia**

A FC está sinalizada por uma cruz verde, que está iluminada durante a noite e durante o serviço noturno, identificada pela palavra “farmácia” e com uma placa com o nome do Diretor Técnico (DT) (6). A estrutura da FC possui fachadas em vidro na qual estão afixados o horário de funcionamento, calendarização das farmácias de serviço do mês corrente e contactos de emergência e pósteres informativos.

A FC possui também estacionamento para os utentes e uma rampa de acesso para pessoas com mobilidade reduzida e portadoras de deficiência (7).

#### **1.2.2.2. Espaço interior da farmácia**

O interior da farmácia é espaçoso e luminoso, oferecendo um bom ambiente aos utentes e colaboradores da FC. Está exposta sinalização com referência à existência de livro de reclamações, serviços prestados, respetivos preços, e atendimento prioritário (6,7). Além disso, a FC dispõe de uma área de atendimento ao público, instalações sanitárias, laboratório e armazém (6).

A FC possui cinco balcões de atendimento em pé e um balcão de atendimento sentado, para atendimento de utentes idosos ou com limitação motora. Também está disponível uma zona de espera com cadeiras para utentes e acompanhantes (7). Atrás dos balcões de atendimento,

encontram-se os lineares de Medicação Familiar, que integram vários Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM) para problemas mais prevalentes (p. ex.: indigestão e azia, tosse, herpes labial, entre outros), medicamentos de uso veterinário e suplementos, e às quais o utente não tem acesso.

De frente para a porta de entrada encontra-se um linear com produtos em destaque ou promocionais, tal como acontece com as gôndolas em frente aos balcões de atendimento, que permitem um acesso fácil ao utente. Existem outros lineares às quais os utentes podem aceder facilmente, identificados de modo apropriado: Dermofarmácia, Produtos capilares, Bebê e Mamã (Puericultura), Ortopedia, Primeiros Socorros, Saúde Oral, Sexualidade, Suplementos e Nutrição Clínica. Apesar de os produtos nestes lineares estarem acessíveis aos utentes, cabe aos farmacêuticos e técnicos de farmácia conhecer os produtos lá presentes e saber aconselhar em relação a estes.

Para melhorar as condições de armazenamento e facilitar o acesso aos medicamentos, a FC utiliza um robô de armazenamento e dispensa de medicamentos (Rowa®). A automatização deste processo permite dedicar mais tempo à dispensa e aconselhamento farmacêutico. Permite também gerir melhor o espaço de armazenamento, controlar prazos de validade e o robô permite repor o stock de forma simples, facilitando o trabalho e poupando tempo aos colaboradores.

A FC possui quatro gabinetes, um dos quais situa-se anexo aos balcões de atendimento e que está destinado à realização do Check Saúde, ou seja, a medição de pressão arterial e parâmetros bioquímicos, preparação de xaropes extemporâneos ou outras atividades que requeiram um espaço mais sossegado e com mais privacidade. Outro dos gabinetes está destinado à administração de vacinas não integradas no Plano Nacional de Vacinação (PNV) e medicamentos injetáveis e, o terceiro gabinete, geralmente, destina-se a albergar os serviços de nutrição, aconselhamento farmacêutico, dermofarmácia, enfermagem, reabilitação auditiva e podologia. O quarto gabinete é para utilização da direção técnica da farmácia.

Existe também um vestiário com instalações sanitárias exclusivas dos colaboradores e uma copa.

A FC dispõe de um armazém, que no momento de elaboração deste relatório, estava a ser usado como local de realização dos TRAg, evitando assim que as pessoas a ser testadas tivessem de entrar na farmácia.

O laboratório da FC encontra-se equipado de acordo com a legislação, no entanto, a preparação dos medicamentos manipulados está centralizada na Farmácia Diamantino (8).

A FC possui uma biblioteca onde se pode encontrar a literatura obrigatória nas farmácia de oficina: o *Prontuário Terapêutico*, *Simposium Terapêutico*, *Índice Nacional Terapêutico*, *Farmacopeia Portuguesa* e *Formulário Galénico Português* (6,7).

O *backoffice* é de acesso restrito à equipa da farmácia e situa-se posteriormente à área de atendimento. Destina-se aos processos de gestão e organização, nomeadamente, realização e receção de encomendas, etiquetagem dos produtos, impressão de cartões de clientes, realização de processos de devolução, organização de reservas, armazenamento de medicamentos e produtos de saúde com stocks mais elevados, segregação de produtos fora de prazo ou com prazo de validade prestes a terminar e armazenamento dos produtos com necessidade de refrigeração nos dois frigoríficos presentes neste local. Adicionalmente, o *backoffice* também é utilizado para guardar os medicamentos de uso hospitalar recebidos de vários centros hospitalares para posterior dispensa aos utentes.

### **1.2.3. Medidas de contingência COVID-19**

Devido à pandemia COVID-19, as farmácias viram-se obrigadas a tomar medidas especiais para evitar a disseminação do vírus e, assim, proteger colaboradores e utentes.

Para os utentes, essas medidas passam pela obrigatoriedade de utilização de máscara dentro da farmácia e disponibilização de gel desinfetante na entrada da farmácia para estes desinfetarem as mãos.

Para colaboradores também é obrigatória a utilização de máscara e são disponibilizadas máscaras FFP2 diariamente. Além disso, existe gel desinfetante atrás dos balcões para que estes possam desinfetar as mãos entre atendimentos.

Os terminais multibanco são cobertos por película diariamente e desinfetados com um desinfetante apropriado antes da sua utilização pelos utentes.

Os balcões encontram-se protegidos por barreiras de acrílico para proteção de colaboradores e utentes e são desinfetados sempre que possível.

### **1.2.4. Recursos Humanos**

Legalmente, o quadro farmacêutico de uma farmácia deve ser constituído, no mínimo, por um diretor técnico e por outro farmacêutico (6). A farmácia também pode possuir um quadro não farmacêutico, constituído por técnicos de farmácia ou outros profissionais com habilitações na área farmacêutica (6).

Os quadros farmacêutico e não farmacêutico da FC são constituídos por 18 elementos, sendo uma equipa jovem e dinâmica, que divide as funções de forma a conseguirem uma melhor organização das atividades farmacêuticas e todos eles imprescindíveis ao bom funcionamento da farmácia e melhor qualidade dos serviços prestados aos utentes. Esta equipa é composta por 13 farmacêuticos, 4 técnicos de farmácia e 1 auxiliar de farmácia, cumprindo os requisitos legais.

O DT é o Dr. Pedro Diamantino, também proprietário da farmácia. O DT da farmácia tem a responsabilidade de garantir que é feito o melhor aconselhamento farmacêutico possível aos

utentes e assumir a responsabilidade por estas atividades, incentivar ao uso racional do medicamento, assegurar as condições adequadas dos medicamentos e produtos de saúde dispensados, garantir que os Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM) apenas são dispensados em casos devidamente justificados, assegurar condições adequadas de segurança e higiene na farmácia, garantir que a farmácia possui um abastecimento aceitável de medicamentos, certificar-se de que as regras deontológicas da atividade farmacêutica e legislação em vigor aplicável são cumpridas (6). Adicionalmente, o Dr. Pedro Diamantino assume a responsabilidade de negociação com os fornecedores. O resumo dos quadros da FC está apresentado na Figura 1.16.

Os Farmacêuticos Substitutos são aqueles que assumem as responsabilidades do DT na ausência deste e na FC esse cargo é assegurado por 5 farmacêuticos (6). A FC possui também na equipa um estafeta e uma auxiliar de limpeza.

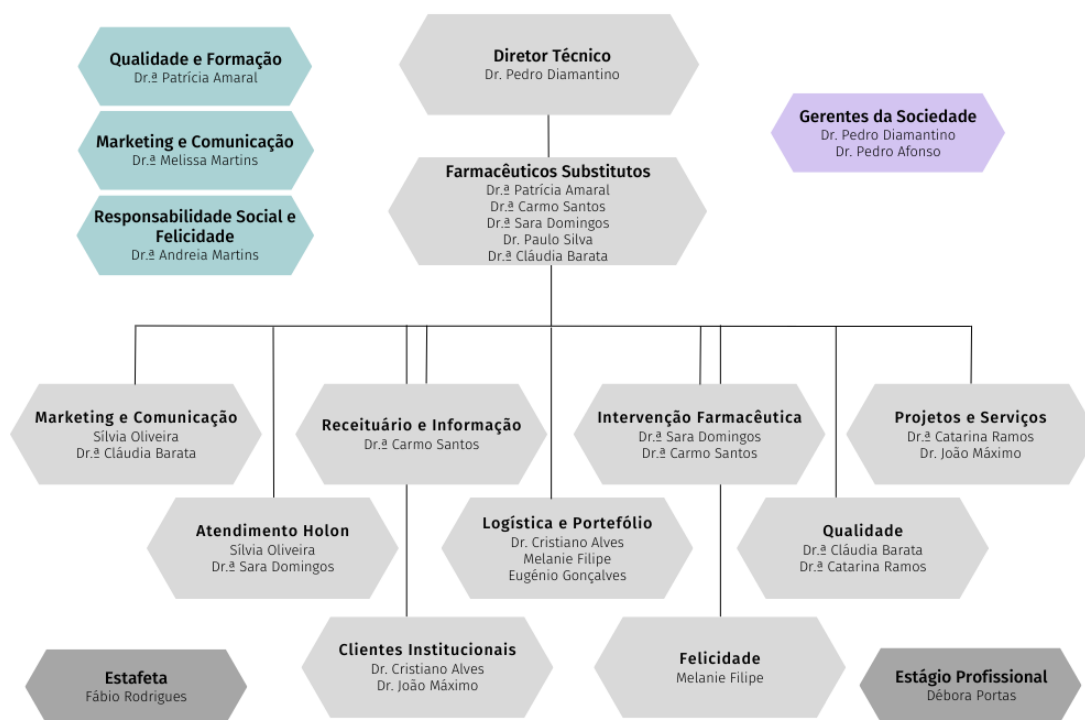


Figura 1.16 - Organograma que resume os quadros da FC e respetivas funções.

### 1.2.5. Sistemas Informáticos

A utilização de um sistema informático nas farmácias comunitárias permite garantir uma melhor qualidade dos serviços prestados aos utentes, nomeadamente no decorrer do atendimento, e permite fazer uma melhor gestão e organização das atividades necessárias ao bom funcionamento da farmácia.

Na FC, o sistema informático de gestão e atendimento utilizado é o *Sifarma 2000* da Glintt. Possui também o software *Farmaco*, utilizado para criação dos cartões de cliente, atribuição e desconto dos pontos ganhos por compra. Quando se cria a ficha do utente na farmácia ou um cartão de

cliente, é necessário pedir que este assine um consentimento de utilização de dados, de acordo com o Regulamento Geral sobre a Proteção de Dados (RGPD).

Para aceder ao *Sifarma 2000*, o colaborador deve aceder com a sua chave de acesso, de modo a mudar o “Operador”, que no meu caso era o “Estag 2”.

Este software permite criar uma ficha de acompanhamento farmacoterapêutico para o utente, composta por informações como o nome, contacto, número de identificação fiscal (NIF) e onde é possível ver o histórico de dispensas. A verificação do histórico de dispensas é vantajosa na verificação dos laboratórios dos medicamentos que o utente costuma tomar e permite controlar se o utente está a levantar certos medicamentos antes da data expectável para o fazer. Também na criação da ficha do utente é necessário que o utente assine um consentimento de utilização de dados.

O *Sifarma 2000* permite também aceder à informação científica dos medicamentos, cedida pelo Centro de Documentação e Informação sobre Medicamentos (CEDIME), que inclui a classe farmacoterapêutica do fármaco, indicações terapêuticas, posologia, efeitos secundários, possíveis interações e respetiva gravidade. A presença destas informações no momento do atendimento permite melhorar o aconselhamento ao utente e foi uma ajuda valiosa quando comecei a fazer atendimentos.

Adicionalmente, quando o utente precisa de um medicamento ou produto que a farmácia não tem em stock, o *Sifarma 2000* permite fazer uma reserva em nome do utente e fazer uma encomenda instantânea, que é depois facilmente distinguida da encomenda diária feita ao fornecedor pois vem em separado. O software também permite efetuar devoluções.

O *Sifarma 2000* também possibilita controlar o robô, fazer faturação/receituário, efetuar encomendas e devoluções aos fornecedores e fazer a receção de encomendas recebidas. O software permite controlar prazos de validade, preços, margens e stocks dos produtos e possibilita a colocação da localização do produto na sua ficha para que qualquer colaborador saiba onde o pode encontrar. Também é utilizado para confirmar o dinheiro em caixa e nos terminais multibanco no final do dia de trabalho e obter os documentos necessários aos procedimentos de fim de mês.

Recentemente, o *Sifarma 2000* também tem a função de faturação dos TRAg. Tive a oportunidade de auxiliar nesta tarefa ao longo do estágio.

## **2. Aprovisionamento e Armazenamento**

As funções de aprovisionamento e armazenamento são processos essenciais ao bom funcionamento da farmácia. Integram os processos de elaboração e receção de encomendas, armazenamento, notas de devolução, regularização de stock, transferências entre farmácias, controlo dos prazos de validade, que serão descritas de seguida.

O processo de aprovisionamento tem de ser realizado de forma a garantir que a farmácia é rentável e o portefólio de produtos deve ser adaptado à população de utentes da farmácia. Por exemplo, é necessário garantir que existem em stock os produtos com taxas de compra mais elevadas e maior margem para a farmácia, e minimizar a compra de produtos cujas vendas são baixas.

Foi por estas funções de backoffice que iniciei o meu estágio e que continuei a exercer no decorrer do mesmo, sempre que necessário. Assumir estas funções permitiu que me familiarizasse com o nome comercial dos medicamentos, MNSRM, com o portefólio da farmácia e a localização dos produtos, o que me permitiu melhorar o meu atendimento e aconselhamento aos utentes.

## **2.1. Encomendas e Seleção de Fornecedores**

De acordo com o manual de Boas Práticas em Farmácia Comunitária (BPFC), o DT ou farmacêutico responsável pelas aquisições deve definir e documentar os protocolos de avaliação e seleção de fornecedores de produtos sempre que exista influência na qualidade dos serviços farmacêuticos. Adicionalmente, faz parte das Boas Práticas garantir uma boa gestão e controlo contínuo do inventário de compras de produtos com relevância, pelo registo de notas de encomenda, registo de compras e vendas dos produtos, abrangendo, sempre que adequado, o registo de lotes e prazos de validade (7).

A escolha dos fornecedores deve ser feita com base nas condições comerciais e portefólio de produtos que estes oferecem, necessidades da farmácia, horários e frequência das entregas diárias e qualidade do serviço. A FC trabalha principalmente com os distribuidores grossistas OCP Portugal e Cooprofar. Nos dias úteis, a FC recebe três encomendas destes fornecedores, sendo que a OCP realiza duas entregas por dia, uma de manhã e outra ao início da tarde e a Cooprofar realiza apenas uma entrega de tarde. No fim de semana e feriados, os horários de entrega são reduzidos e as encomendas devem ser realizadas tendo isso em conta.

As encomendas diárias têm de ser efetuadas nos horários estipulados pelos distribuidores para que sejam entregues no prazo previsto. Para não falharem o horário de submissão das encomendas, os colaboradores da FC instalaram um alarme no computador do backoffice. O *Sifarma 2000* cria uma proposta de encomenda diária tendo em conta os stocks mínimos e máximos definidos para cada produto e no registo de compras e vendas efetuadas. Esta proposta é avaliada e alterada preferencialmente pelos colaboradores responsáveis pela Logística, que ao fazer a encomenda têm em conta o Preço de Venda à Farmácia (PVF), descontos e tabelas de bónus e que ajustam a encomenda às necessidades reais da farmácia.

Noutras situações podem ser feitas encomendas a outros fornecedores por telefone, como acontece com a Mediven, que é o fornecedor de meias de compressão da FC, ou com a Bastos Viegas, que fornece dispositivos médicos não ativos e equipamentos médicos.

Adicionalmente, são feitas encomendas de grande dimensão diretamente aos laboratórios ou marcas, como a Filorga®, Native®, Nestlé®, Pierre Fabre®, Origens®, Johnson & Johnson®, devido à possibilidade de descontos em encomendas maiores e bonificações associadas.

Os medicamentos rateados são medicamentos cuja disponibilidade é limitada e controlada pelo INFARMED de modo a que todas as farmácias tenham acesso equitativo aos mesmos. Estes podem ser adquiridos excecionalmente através da Via Verde do Medicamento emitida no *Sifar* e apenas com apresentação de uma prescrição médica válida. Os distribuidores grossistas são responsáveis por entregar estes medicamentos, que têm um stock próprio para este canal, disponibilizado pelo titular de autorização de introdução no mercado (AIM) (9).

Na ausência de stock de um produto na FC é possível verificar o stock do mesmo nas farmácias associadas através do “stock remoto” e pedir o envio do mesmo para a FC, havendo uma transferência de stock. Caso o utente assim o decida também pode ir levantar o medicamento em falta à farmácia associada. Esta ligação entre as farmácias permite que os utentes tenham acesso ao medicamento de forma mais rápida e pode ser crucial em casos urgentes.

Tive a oportunidade de acompanhar a realização das encomendas diárias e de algumas encomendas diretas. Fiz várias encomendas instantâneas associadas às reservas dos utentes. Também fiz transferências de stock para as farmácias associadas após requisição das mesmas e tratei da requisição de envio da encomenda aos CTT – Correios de Portugal , nos casos em que tal era necessário. Para além disso, fiz a regularização de stock quando o produto anteriormente emprestado era devolvido pela outra farmácia.

## **2.2. Receção de Encomendas**

A receção das encomendas deve ser feita assim que possível, com atenção na introdução da quantidade de produtos, prazos de validade, de modo a evitar erros de stock e das validades dos medicamentos.

No horário de entrega, o estafeta deixa as banheiras da encomenda diária daquele horário com a respetiva fatura e guia de transporte. A fatura original deve ser datada e rubricada pelo colaborador que dá entrada da encomenda e é arquivada para a contabilidade. Quando a encomenda contém estupefacientes e psicotrópicos, estes têm de ser acompanhados por uma nota de requisição, em duplicado, em que o original fica arquivado na farmácia e o duplicado deve ser datado e rubricado pelo DT ou farmacêutico responsável e enviado para o respetivo distribuidor.

Quando chega a encomenda diária, a prioridade é dar entrada e armazenar os produtos refrigerados. No caso da OCP, estes são entregues em banheiras azuis refrigeradas e com isolamento térmico. A Cooprofar coloca os produtos refrigerados em caixas térmicas dentro das banheiras normais acompanhadas de um aviso no exterior. Caso não seja possível fazer a receção da encomenda de imediato, devem colocar-se os medicamentos no frigorífico na prateleira rotulada com “Produtos Não Rececionados” até que seja possível dar entrada dos mesmos.

Outra prioridade é dar entrada dos produtos com reserva associada, cujo pedido é feito por Encomenda Instantânea. Estes são entregues em banheiras em separado da encomenda diária e a fatura também vem em separado para facilitar a sua identificação. Os produtos associados a reserva têm uma localização separada na farmácia, dividida em reservas Pagas e Não Pagas. Os produtos são associados ao respetivo talão de reserva e colocados na linear correspondente para que sejam facilmente localizados quando o utente vai levantar a reserva.

Para se proceder à receção das encomendas pode ser necessário fazer o agrupamento de várias encomendas presentes no *Sifarma*, dependendo dos números de encomenda indicados na fatura. Ao fazer a receção da encomenda tem de se colocar o número da fatura, valor da encomenda e número de embalagens aviadas e registam-se os produtos através do seu QRcode, único para cada embalagem, ou código de barras. É importante ter em atenção os prazos de validade, o PVF, o preço de venda ao público (PVP), integridade das embalagens e se a quantidade faturada e a quantidade rececionada são iguais. No final, apenas se confirma a receção caso o valor da encomenda e número de embalagens seja igual ao faturado.

Todas as encomendas efetuadas fora do *Sifarma* vão necessitar da criação de uma encomenda manual na Gestão de Encomendas, algo que fiz diversas vezes, para se poder efetuar a receção da encomenda, o que acontece com as encomendas feitas por telefone e encomendas diretas ao laboratório/marca.

Ao longo do meu estágio tive a oportunidade de rececionar encomendas várias vezes, seguindo os princípios descritos acima. Fazer a receção das encomendas ajudou-me a conhecer melhor os produtos do portefólio da FC e ajudou-me a associar os nomes comerciais ao princípio ativo e respetivas embalagens, e permitiu com que me familiarizasse com MNSRM, suplementos e dispositivos médicos que anteriormente desconhecia. Também auxiliei na conferência da conformidade com as faturas e etiquetagem dos produtos rececionados nas encomendas diretas.

## **2.3. Reclamações e Devoluções**

Na existência de não conformidades ao rececionar a encomenda é possível fazer uma reclamação ao fornecedor para posterior devolução. Os motivos de não conformidade podem incluir: o envio de embalagens danificadas, produtos com prazo de validade próximo, preço de faturação diferente do estipulado, produto não encomendado ou quantidade do produto rececionada diferente da quantidade pedida. Outros motivos para se fazer a devolução de um produto são quando o pedido foi feito por engano ou quando é emitido um pedido de recolha do produto ou de alguns lotes deste pelo INFARMED, fornecedor ou titular da AIM.

Para se proceder à devolução do produto é necessário emitir uma nota de devolução no *Sifarma*. Para tal, tem de ser indicado o nome do fornecedor, identificação do produto, o número da fatura original, o preço de faturação do produto a ser devolvido e o motivo da devolução. Depois de aprovada e comunicada à Autoridade Tributária, a nota de devolução é impressa em triplicado e

todos os documentos têm de ser carimbados e rubricados pelo colaborador que realizou a devolução. O original e o duplicado são anexados ao produto e enviados ao fornecedor e o triplicado depois de assinado pelo distribuidor, fica arquivado na farmácia.

O distribuidor pode aceitar ou não a devolução. Caso a devolução seja aceite, a regularização pode ser efetuada através da emissão de uma nota de crédito ou através da entrega de um produto de substituição. Se a devolução não for aceite, o produto é enviado de volta para a farmácia com uma nota que explica o motivo pelo qual a devolução não foi aceite. Nesse caso, faz-se a regularização do stock ou considera-se o produto como “quebra”, perdendo o valor do mesmo.

Durante o estágio fiz a devolução de produtos aos fornecedores por erros no pedido ou embalagens danificadas.

## **2.4. Preços e Margens Legais**

A regulação e autorização dos preços dos medicamentos comparticipados pelo SNS é competência do INFARMED e indica também que o PVP de todos os MSRM deve estar presente na embalagem (PIC) (10).

O Preço de Venda ao Público (PVP) máximo em vigor é estabelecido pela conjugação do Preço de Venda ao Armazenista (PVA) médio, taxa de comercialização de medicamentos, margem de comercialização do distribuidor grossista e Imposto sobre o Valor Acrescentado (IVA) (11). O PVA médio é definido tendo em conta os preços em vigor nos países de referência para o mesmo medicamento ou, na ausência deste, de formas farmacêuticas semelhantes. No ano de 2022, os países de referência são a França, a Espanha, a Itália e a Eslovénia (11,12).

O PVP máximo dos medicamentos genéricos deve ser, no mínimo, 50% inferior ao PVP do medicamento de referência, ou 25% inferior no caso dos medicamentos cujo PVA de todas as apresentações seja igual ou menor que 10 euros (13).

O preço dos MNSRM é calculado com base na concorrência presente no mercado, PVF, IVA e margem de lucro estabelecida pela farmácia, tendo em conta o regime de preços livres (14).

Todos os medicamentos e produtos de saúde devem estar etiquetados com o respetivo PVP e o preço dos serviços prestados também deve ser apresentado na farmácia.

Durante o estágio tive a oportunidade de calcular os preços de MNSRM e Medicamentos Veterinários (MUV) tendo em conta a margem que a FC estabeleceu para produtos com IVA a 6% e com IVA a 23%. Adicionalmente, a margem da FC sobre produtos veterinários é diferente da margem sobre produtos para uso humano.

## **2.5. Armazenamento**

O correto armazenamento dos produtos rececionados permite uma melhor gestão do espaço disponível na farmácia e uma melhor gestão dos produtos em stock. Esta foi uma das funções que mais me auxiliou a conhecer a localização dos produtos no espaço da farmácia, sendo algo que fiz diariamente durante o meu estágio e que considero essencial para se conseguir prestar um melhor atendimento aos utentes.

A organização dos produtos deve ser efetuada para que os produtos com menor prazo de validade sejam os primeiros a ser dispensados (*“First-Expire; First-Out”*) e devem ocorrer a dispensa preferencial dos produtos que já foram rececionados há mais tempo, ou seja, que se encontram há mais tempo na farmácia, nos casos em que o prazo de validade é igual (*“First In- First Out”*). Adicionalmente, no que toca à organização de lineares, expositores, gôndolas, frigoríficos e lineares de armazenamento do backoffice devem colocar-se os produtos com menor validade à frente para que sejam dispensados primeiro.

Como explicado anteriormente, no espaço de atendimento ao público da FC existem diversos lineares, expositores e gôndolas com produtos de indicações diversas. Existem 7 lineares de Medicação Familiar localizados atrás dos balcões de atendimento onde são colocados MNSRM, suplementos, medicamentos veterinários e dispositivos médicos. Estes lineares possuem produtos para problemas de saúde de aconselhamento frequente durante os atendimentos. A restante área da farmácia possui diversos lineares identificados de acordo com os produtos que contêm e expositores e gôndolas com produtos promocionais e em destaque selecionados pelos colaboradores encarregados do Marketing.

Os Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM), alguns dos MNSRM e alguns suplementos são armazenados no sistema automático de armazenamento e dispensa (robô). O robô é uma mais-valia para a farmácia visto que permite poupar espaço de armazenamento na farmácia, garante as condições necessárias ao correto armazenamento dos produtos e dispensa os produtos com menor prazo de validade primeiro. Para além disso, dispensa os produtos de forma rápida e permite que o farmacêutico ou técnico de farmácia não tenha de sair do balcão de atendimento, o que permite com que este tempo poupado possa ser utilizado para otimizar o aconselhamento ao utente.

Os produtos termolábeis são armazenados nos dois frigoríficos existentes no backoffice, cuja temperatura é monitorizada e onde os medicamentos estão arrumados por ordem alfabética e por ordem crescente de prazo de validade.

Os excessos dos produtos em stock são armazenados no backoffice em lineares identificados para o efeito.

No backoffice também existem dois lineares para produtos reservados onde estes se encontram organizados por número de reserva. Após feita a reserva de um produto, este sai de stock e é colocado nos lineares rotulados com “Pago” ou “Não Pago”, dependendo do tipo de reserva, com

o talão de reserva associado. Adicionalmente, existe um linear reservado para produtos “Fora de Prazo”, onde se colocam os produtos que estão fora de validade, para se proceder a devolução ou quando tal não é possível dar “quebra” do produto. Antes de colocar o produto neste linear é necessário realizar uma transferência para “Fora de Prazo”, de modo a que o produto saia de stock.

Fiz o armazenamento dos produtos rececionados quase todos os dias durante o estágio.

### **2.5.1. Gestão dos Prazos de Validade**

A verificação rigorosa dos prazos de validade dos produtos em stock é importante para não serem dispensados produtos fora da validade, e para permitir que os produtos com menor validade sejam dispensados primeiro e, consequentemente, evitar que a farmácia tenha prejuízo por devolução de produtos fora de validade.

Todos os meses é emitida, através do *Sifarma 2000*, uma listagem dos produtos cuja validade expira no prazo de 6 meses, que inclui o código de Cadastro Nacional de Produtos (CNP), localização, quantidade em stock. Com base nessa lista de produtos é feita a verificação dos prazos de validade ou correção dos mesmos, se necessário, e do respetivo stock. Os produtos com prazo de validade reduzido são separados e colocados num linear para “Produtos de Validade Reduzida”.

No caso dos MNSRM, a equipa de Marketing pode criar campanhas para acelerar a sua venda ou podem ser sinalizados para dispensa prioritária. Quando tal não é possível, faz-se a devolução ao fornecedor.

Quando os produtos listados possuem um prazo de validade ou stock diferente do registado no *Sifarma 2000* é necessário fazer a correção no sistema informático.

Adicionalmente, é importante verificar as validades no ato de dispensa.

Durante o estágio fiz a verificação das validades dos produtos listados de março a outubro de 2022.

### **2.5.2. Controlo da Temperatura e Humidade**

Segundo as BPF, as zonas de armazenamento têm de satisfazer as exigências específicas dos produtos de saúde em relação às condições de temperatura, humidade, iluminação e ventilação. Deve existir uma verificação e registo frequente destas condições para garantir a manutenção do bom estado dos produtos armazenados (7).

A temperatura dos frigoríficos deve ser mantida entre 2°C e 8°C, tendo em conta as variações devido à abertura dos mesmos. Na FC, existe um termohigrómetro dentro de cada frigorífico para registo de temperatura e humidade.

A temperatura e humidade das restantes áreas da farmácia também são medidas por termohigrómetros, estando estes colocados no robô, backoffice e área de atendimento. Neste caso, a temperatura deve variar entre 15°C e 25°C e a humidade deve ser mantida abaixo dos 60%.

A cada semana, os registos obtidos pelos termohigrómetros são analisados pela farmacêutica responsável. É necessário descarregar os dados para serem analisados através de um software específico, o g-log, e estes são transferidos para um ficheiro Excel. A farmacêutica responsável deve assinalar os desvios aos valores padrão e justificar esses desvios quando se sabe a causa provável.

Durante o estágio, tive de apontar as temperaturas manualmente durante um dia por necessidade de calibração dos termohigrómetros.

### **3. Atendimento e Dispensa de Medicamentos**

A Farmácia Comunitária é um espaço de saúde constante na vida dos utentes, quer para dispensa das suas prescrições médicas, aconselhamento acerca de problemas que não precisam de referência médica, dúvidas acerca do plano terapêutico como para a compra de MNSRM e outros produtos de saúde.

Cabe ao farmacêutico a responsabilidade de promover a segurança e eficiência da terapêutica quando da dispensa dos medicamentos aos utentes. Existe a necessidade de fazer a validação farmacoterapêutica da medicação prescrita, avaliar possíveis interações ou qualquer alteração ao plano terapêutico que se deva referir ao utente (alteração de dosagem, alteração ou cessação de um medicamento, por exemplo) e clarificar qualquer dúvida que o utente possa ter. O utente também pode necessitar de aconselhamento de MNSRM para automedicação, algo que acontece com frequência na farmácia. Adicionalmente, durante a dispensa é importante promover o uso correto do medicamento através da explicação ao utente da posologia, modo de administração, duração do tratamento e indicação de possíveis efeitos adversos, se tal for relevante. Estas informações devem ser transmitidas oralmente e de forma simples, e também por escrito, através de pictogramas, etiquetas de posologia ou folhetos informativos.

Durante o estágio tive a oportunidade de dispensar e fazer aconselhamento de MSR, MNSRM e outros produtos de saúde.

As farmácias do grupo Holon, como a FC, promovem a padronização dos atendimentos e incentivam os colaboradores a ser proativos, demonstrar interesse pelas necessidades do utente e transmitir confiança, de modo a que o atendimento aos utentes seja feito com qualidade. É importante adaptar o aconselhamento ao utente e situação. Para além disso, os grupos especiais como bebés, crianças, grávidas, lactentes e idosos, requerem uma atenção especial por parte do farmacêutico, visto que têm necessidades diferentes dos restantes utentes.

### **3.1. Medicamentos Sujeitos a Receita Médica**

Os medicamentos são sujeitos a receita médica quando podem apresentar risco para a saúde do utente quando utilizados sem vigilância médica ou quando utilizados frequentemente em quantidades significativas e para indicações terapêuticas aos quais não se destinam, quando contém substâncias ou preparações destas substâncias cuja atividade e efeitos secundários devem ser aprofundados ou quando se destinam a administração por via parentérica (15).

Para dispensa de MSRM o utente tem de se fazer acompanhar da prescrição médica, que pode ser uma Receita Eletrónica Desmaterializada ou Materializada ou uma Receita Manual. O farmacêutico deve validar a receita quando esta lhe é apresentada pelo utente, devendo confirmar o nome do utente, dados do médico prescriptor, local de prescrição e entidade financeira responsável pela comparticipação. É necessário confirmar a denominação comum internacional (DCI), forma farmacêutica, apresentação, posologia, modo de administração e duração do tratamento com o utente. Além disso, é importante verificar a data de validade e autenticidade da receita, se existe alguma portaria ou despacho de regime especial de comparticipação (16).

A Receita Eletrónica Desmaterializada (RED) ou Receita Sem Papel é enviada ao utente por mensagem com o número da receita, código de acesso e dispensa e código do direito opção, sendo que também fica disponível na aplicação SNS24 e Portal do Utente do SNS associado ao número de utente. Pode ser fornecida ao utente em papel pelo médico prescriptor como “Guia de Tratamento”. Neste tipo de receita cada linha de prescrição permite escolher qual o medicamento a dispensar dentro do respetivo grupo homogéneo (16). Durante o meu estágio apercebi-me que este tipo de prescrição é aquela que confere mais vantagens porque permite que sejam prescritos medicamentos diferentes e em maiores quantidades, permite que se faça o levantamento da receita de forma parcial em qualquer farmácia e diminui os erros na leitura da receita e dispensa dos medicamentos.

A Receita Eletrónica Materializada (REM) aparece em suporte papel dividida em 2 partes, a receita médica, que fica na farmácia, e a guia de tratamento, que fica para o utente e têm 30 dias de validade após a sua emissão. Caso a REM tenha 3 vias, a validade estende-se para 6 meses. As receitas REM seguem regras semelhantes às receitas manuais, cada receita pode conter até 4 medicamentos diferentes, com um máximo de 2 embalagens cada, e um máximo de 4 embalagens por receita, com exceção das doses unitárias. A receita deve estar assinada pelo médico para ser válida e não permite dispensa parcial, pois a receita ou justificação de dispensa tem de ficar na farmácia para fins de comparticipação (16).

As prescrições podem ser feitas através de uma receita manual se houver uma falência do sistema informático, se o prescriptor não se adaptar ao sistema informático de prescrição, se a prescrição for feita no domicílio do utente ou quando o médico prescreve, no máximo, 40 receitas por mês (17). Antes de dispensar uma receita manual, o farmacêutico deve fazer a validação da mesma. É necessário verificar se a receita foi passada no impresso legalmente em vigor, se inclui a vinheta

que identifica o médico prescritor, a identificação da especialidade médica, se aplicável, contacto do prescritor e se tem a vinheta que identifica o local de prescrição. A receita deve também estar assinada pelo médico prescritor e deve incluir a denominação comum internacional da substância ativa. Caso se aplique algum plano de comparticipação especial, o(a) respetivo(a) Despacho ou Portaria terá de estar escrito em todas as linhas com os medicamentos prescritos. O limite de embalagens de medicamentos que pode ser prescritas nas receitas manuais é o mesmo que nas REM, abordadas anteriormente. Para além disso, a dispensa deste tipo de receitas tem de ser feita totalmente num único momento, tal como acontece com as REM. As receitas manuais não podem estar rasuradas, não podem ser prescritas a lápis, com canetas diferentes ou caligrafias diferentes, pois caso isso aconteça podem ser devolvidas à farmácia sem a respetiva comparticipação. Tanto as receitas manuais como as REM, devem ser assinadas pelo utente, que declara que recebeu os medicamentos impressos no verso da receita (16).

Em algumas situações, o médico prescritor pode incluir a denominação comercial do medicamento na prescrição. Isto pode acontecer quando não existe um genérico participado desse medicamento ou quando existir uma justificação técnica como: o medicamento prescrito é um medicamento com margem terapêutica estreita (levotiroxina sódica, tacrolimus, ciclosporina), existe uma reação adversa reportada a outros medicamentos com a mesma substância ativa ou se a prescrição é feita com o objetivo de garantir a continuidade de tratamento superior a 28 dias (17).

Tive a oportunidade de fazer a dispensa de todos os tipos de receita descritos, sendo que me mostrou a importância da validação e atenção por parte do farmacêutico durante a dispensa. Durante o estágio deparei-me com algumas situações de irregularidades na prescrição das receitas manuais no momento do atendimento.

Para além da dispensa de MSRM, durante o meu estágio ensinei utentes a utilizar o dispositivo inalatório que estava a dispensar e, sempre que possível e necessário, acompanhava a sua técnica de inalação num dos gabinetes de atendimento para garantir que estes percebam o procedimento. Nunca esquecendo de realçar a importância de bochechar e lavar a boca com água após a inalação quando eram utilizadas dispositivos inalatórios com corticoide, que os doentes podiam fazer na farmácia após usarem a bomba.

Na altura do meu estágio, ocorreu um surto de gripe A, e por esse motivo, fizemos várias dispensas de Tamiflu® (oseltamivir). Uma dessas dispensas era para administração em crianças, pelo que a dose administrada é menor, e as cápsulas só se comercializam na dose para adulto (75 mg). Perante esta situação tivemos de ensinar o pai das crianças como devia preparar uma solução oral extemporânea do medicamento para administrar a dose correta.

Adicionalmente, fiz dispensa de terapêutica para erradicação de *Helicobacter pylori* (omeprazol, claritromicina, amoxicilina) e de antibioterapia para uma infeção por *Staphylococcus aureus* (rifampicina, flucloxacilina) a um utente que já fazia linezolida em ambulatório hospitalar.

Também fiz a dispensa de laxantes de contacto, como o Citrafleet®, para preparação de colonoscopia, esclareci os utentes acerca da posologia e outras dúvidas que tivessem e expliquei novamente as regras que deviam seguir para se prepararem para a colonoscopia, fornecendo um folheto com essas informações.

### **3.1.1. Medicamentos Estupefacientes e Psicotrópicos (MEP)**

Os medicamentos estupefacientes e psicotrópicos (MEP) atuam sobre o sistema nervoso central (SNC), causando alterações a nível comportamental e mental. Os MEP têm potencial de causar dependência e por este motivo estão sujeitos a uma legislação especial (18,19).

A dispensa é efetuada de forma diferente aos outros MSRM, apesar de os MEP também estarem sujeitos ao Estatuto do Medicamento (6).

Quando se efetua a dispensa de MEP, o sistema informático pede, de forma automática, dados adicionais da pessoa a quem o medicamento é dispensado (adquirente), como o nome completo, morada, data de nascimento, número do Cartão de Cidadão ou Bilhete de Identidade e respetivo prazo de validade. Se a pessoa que levanta o medicamento é diferente da pessoa para quem o medicamento foi prescrito é necessário indicar também o nome completo e morada da pessoa a quem se destina a medicação. É importante ter em atenção que os MEP não podem ser dispensados a menores de 18 anos e que o documento de identificação apresentado pelo utente deve estar dentro da validade (16).

Posteriormente, é impresso o talão de dispensa, que contém o número de registo dos MEP, que deve ser assinado pelo adquirente e que é arquivado, durante 3 anos, num dossier específico. No caso de Receitas Manuais ou REM, o talão de dispensa deve ser anexado a uma cópia da receita em questão, e também deve ser arquivada durante 3 anos (16).

Mensalmente, até ao dia 8, é necessário enviar para as cópias das receitas manuais e registo de saída dos MEP relativos ao mês anterior para o INFARMED (16).

### **3.2. Regimes de Participação**

A existência de regimes de participação permite ao utente pagar apenas uma percentagem do PVP dos medicamentos, sendo que a restante percentagem é paga pela entidade responsável pela participação. Por exemplo, o Estado Português é responsável pelo pagamento da percentagem de participação dos beneficiários do SNS e de outros subsistemas de saúde públicos (20).

A percentagem coberta pelo regime de participação é variável, estando dividida em 4 escalões de participação como mostra a Tabela 1.9. Essa variabilidade tem por base a classificação farmacoterapêutica dos medicamentos (20).

Tabela 1.9 - Comparticipação do Estado no Preço dos Medicamentos (20).

Escalão	Comparticipação (%)
A	90
B	69
C	37
D	15

Adicionalmente, existem regimes especiais de comparticipação que se baseiam no rendimento dos utentes, objetivos de saúde pública, grupos especiais de doentes e/ou certas indicações terapêuticas e prevalência de certas patologias (21).

Ao estagiar na cidade da Covilhã, um dos regimes de comparticipação excecionais com o qual tive mais contacto, foi o plano dos Lanifícios (LA). Desde 2016 que os pensionistas e futuros pensionistas que tenham descontado até 1984 para o Fundo Especial de Segurança Social do Pessoal da Indústria de Lanifícios usufruem de um regime de comparticipação especial (22). Este regime garante a comparticipação de 100% do preço de todos os MSRM comparticipados desde 2018 (23).

Para usufruir dos regimes de comparticipação excecionais é obrigatório que o diploma legal associado esteja mencionado na receita médica (20).

Os utentes também podem usufruir de modelos de complementaridade à entidade de comparticipação principal, sendo que apenas necessitam de apresentar um cartão de beneficiário válido durante a dispensa, cujo número é registado no sistema informático. No caso das receitas manuais é sempre necessário fotocópia da receita, talão de faturação e do cartão de beneficiário, e assinatura pelo utente da receita original. Os cartões mais recentes já dispensam este passo, bastando o registo no sistema informático. Durante o estágio tive contacto com vários modelos de complementaridade, por exemplo, o Serviço de Assistência Médico Social (SAMS) do Sindicato dos Bancários.

Outra entidade responsável por comparticipação são as seguradoras. Neste caso, a prescrição é feita em impresso próprio e é necessário fazer o registo do número do sinistro no sistema.

Durante os atendimentos que fiz, o plano de comparticipação mais comum foi a comparticipação pelo SNS, que se divide em regime geral (O1) e em regimes excecionais, como o plano 45 (diplomas legais), o plano 46 (trabalhador migrante), plano 48 (pensionista) ou plano DS (Diabetes). Contudo, existem muitos mais planos de comparticipação em vigor.

### **3.3. Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica**

A automedicação tem vindo a aumentar ao longo dos anos. Esta engloba o uso de MNSRM por parte dos utentes para tratar problemas de saúde que, frequentemente, são eles próprios que identificam (24,25). Em Portugal, mais de metade da população evita ir aos cuidados de saúde

primários e prefere recorrer à automedicação, sendo que recorrem às farmácias comunitárias e ao aconselhamento farmacêutico com este objetivo (26).

É importante ter em mente que o recurso excessivo à automedicação tem riscos elevados para a saúde, principalmente se não existir aconselhamento prévio por profissionais de saúde qualificados. Além disso, a automedicação é uma das causas de aumento das resistências a antibióticos (25).

Contudo, sendo uma prática tão comum na população portuguesa, o Ministério da Saúde considera a automedicação como parte integrante do sistema de saúde e foi criada uma lista de situações clínicas em que o recurso à automedicação é aprovado, desde que exista acompanhamento por parte dos profissionais de saúde (27).

O aconselhamento farmacêutico torna-se crucial na dispensa de MNSRM para automedicação, visto que podem avaliar se o utente realmente precisa do medicamento e se este é seguro tendo em conta as características do utente, por exemplo, na gravidez e amamentação. O farmacêutico fala com o utente de modo a perceber a sintomatologia que levou o doente a procurar um MNSRM, faz a dispensa do medicamento que acha ser mais adequado e presta aconselhamento não farmacológico e farmacológico. Contudo, deve advertir que na permanência dos sintomas o utente deve consultar um médico. Além disso, o doente também deve ser direcionado para um médico em casos de maior gravidade que não possam ser solucionados na farmácia.

Os MNSRM não são apenas vendidos na farmácia, mas também em parafarmácias e em hipermercados, onde não existe um protocolo de dispensa nem aconselhamento na compra do medicamento. Por este motivo, foi criada uma subcategoria de MNSRM, os Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica – Exclusivos de Farmácia (MNSRM-EF), que estão sujeitos a intervenção farmacêutica e seguimento de protocolos de dispensa, apesar de não ser necessária prescrição médica, por exemplo, o ibuprofeno 400 mg. Neste momento, a lista de MNSRM-EF inclui 48 medicamentos e os respetivos protocolos de dispensa encontram-se disponíveis no site do INFARMED (28).

O Grupo Holon disponibiliza aos seus colaboradores vários protocolos de aconselhamento para situações mais frequentes, como casos de obstipação, tosse e herpes labial, e cuja leitura me ajudou no momento de aconselhar os utentes acerca dos MNSRM mais adequados e medidas não farmacológicas que poderiam aliviar o problema.

De fevereiro a março, notei que havia queixas recorrentes de tosse, corrimento nasal e dor de garganta. A partir de abril, os utentes procuravam principalmente anti-histamínicos. Porém, a procura de MNSRM para aliviar a tosse que persistia após infeção por SARS-CoV-2 foi constante ao longo de todo o meu período de estágio.

Tive a oportunidade de dispensar MNSRM para diversas situações e fazer o respetivo aconselhamento farmacêutico. Deparei-me com queixas de herpes labial, tosse seca ou com expetoração, gripe, constipação, dor de garganta, candidíase vaginal, obstipação, entre outras situações. Tive a oportunidade de aconselhar uma utente na obtenção de MNSRM e produtos de saúde para um “kit de farmácia” para esta levar para uma viagem com um destino tropical, sendo que precisava de diversos produtos como repelente, antidiarreico, entre outros. Deparei-me com uma situação de uma utente que apresentava picadas de inseto grandes, com edema e criação de bolhas de água num braço, que já tinha colocado gelo, dimentindeno (Fenistil®) e já tinha tomado um anti-histamínico (bilastina) há algum tempo, sendo que reportou não ter havido melhoria. Nesta situação, aconselhei a utente a dirigir-se ao médico assim que possível.

As situações em que senti mais dificuldade em aconselhar os utentes foi na dispensa de MNSRM destinados à faixa pediátrica e a grávidas.

### **3.4. Medicamentos Hospitalares**

A emergência da pandemia por COVID-19 fez com que fosse necessário minimizar a deslocação dos cidadãos para que estes se mantivessem em recolhimento domiciliário, como recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS). Assim, foi emitido um protocolo de dispensa de medicamentos que autoriza que os medicamentos que eram dispensados por farmácias hospitalares em regime de ambulatório pudessem ser dispensados numa farmácia comunitária, à escolha do utente. Este sistema de acesso em proximidade requer que o utente faça o seu pedido e continua em vigor até ao momento (29,30).

Ao fazer a receção de medicamentos hospitalares devem ser avaliadas as condições de transporte e verificar se os medicamentos correspondem ao que vem na guia. Posteriormente, o farmacêutico contacta o doente para informar da chegada da sua medicação para que este a possa ir levantar. A dispensa de medicamentos hospitalares só pode ser efetuada por um farmacêutico, que deve falar com o utente e avaliar se existe alguma indicação de efeitos indesejáveis relacionados com o medicamento ou interações medicamentosas. Caso isso ocorra, deve informar o farmacêutico hospitalar responsável. A informação de que a dispensa da medicação foi efetuada é feita informaticamente, através do sistema informático, sendo necessários diversos dados, tanto do utente como do medicamento dispensado (31).

Durante o meu estágio tive a oportunidade de acompanhar a dispensa dos medicamentos hospitalares aos utentes e a introdução dos dados necessários no sistema informático. Na FC existe um dossier específico com os documentos de seguimento dos utentes que recebem ali a sua medicação proveniente de diversos centros hospitalares.

## **4. Aconselhamento e Dispensa de Outros Produtos de Saúde**

Para além dos medicamentos também se dispensa na farmácia comunitária outros produtos de saúde relacionados com: dermofarmácia e cosmética, higiene íntima e oral, nutrição clínica e dietética, fitoterapia e suplementos alimentares, produtos e medicamentos para uso veterinário, puericultura, podologia e dispositivos médicos.

Ao iniciar o estágio tive a oportunidade de analisar a descrição e modo de utilização de vários produtos de saúde disponíveis na FC enquanto fazia a receção e reposição dos mesmos, o que mais tarde me veio a auxiliar no aconselhamento aos utentes.

Durante o estágio, tive a oportunidade de aconselhar e dispensar diversos produtos de saúde. Na FC, eram dispensadas com muita frequência máscaras cirúrgicas e máscaras FFP2. Adicionalmente, também era muito comum a dispensa de fórmulas lácteas infantis, tanto leite para lactentes (0-6 meses) como leites de transição (a partir dos 6 meses). É importante relembrar que é legalmente proibido fazer qualquer tipo de desconto ou promoção nos leites para lactentes para que não seja desencorajada a amamentação materna (32).

Pude aconselhar medicamentos fitoterapêuticos, cuja preferência pelos utentes parece ter aumentado, principalmente para utilização em casos de ansiedade e insónia. Aconselhei e dispensei suplementos alimentares para falta de apetite, multivitamínicos e para melhorar a memória e cognição.

Fiz aconselhamento e dispensa de produtos veterinários, especialmente antiparasitários externos e internos, e medicamentos de uso veterinário (MUV), por exemplo, pílula anticoncepcional para cães e gatos.

Efetuei a dispensa de dispositivos médicos de diferentes classes, por exemplo, colírios, compressas, pensos, testes de gravidez, dispositivo ortopédico para fixação do ombro, sacos de ostomia. Na altura do estágio, as meias de compressão eram dispositivos médicos com muita saída na FC. Durante o estágio tive a oportunidade de ensinar um utente a utilizar o medidor de glicémia que lhe tinha sido facultado, sendo que este fez a própria medição da glicémia num dos gabinetes com o meu auxílio.

No que diz respeito a produtos de dermofarmácia e cosméticos fiz aconselhamento e dispensa de produtos como champôs para alopecia, champôs para prurido capilar, cremes de hidratação facial e sérums para diferentes tipos de pele e cremes cicatrizantes.

Aconselhei e dispensei produtos de higiene como emulsões para higiene íntima e produtos de higiene oral, por exemplo, pasta de dentes e escovas de dentes.

Também fiz aconselhamento e dispensa de produtos de puericultura, nomeadamente aconselhamento de cremes de hidratação, cremes para a muda da fralda, champô e gel de banho, biberões e tetinas e papas em pó.

Adicionalmente, a FC dispunha de produtos de nutrição clínica para apoio nutricional de pessoas idosas e doentes desnutridas, as gamas Nestlé® Resource e Meritene, sobre os quais me foi cedida formação, e as quais também tive a possibilidade de aconselhar e dispensar após avaliação das necessidades dos utentes.

Apesar de não serem medicamentos, auxiliam no tratamento e melhoram a qualidade de vida dos utentes. Estar informado acerca de outros produtos de saúde disponíveis e saber como os aconselhar também é uma função importante do farmacêutico para que possa ser prestado o melhor serviço possível ao utente, priorizando sempre a segurança e eficácia dos produtos dispensados.

## **5. Medicamentos Manipulados e Preparações Extemporâneas**

Os medicamentos manipulados dividem-se em dois grupos: as Fórmulas Magistrais e os Preparados Oficiais. Nas Fórmulas Magistrais a preparação é feita de acordo com uma receita médica específica para o utente a quem o medicamento se destina. Já os Preparados Oficiais são preparados com base nas indicações presentes em compêndios, como a Farmacopeia ou o Formulário Galénico Português (FGP) (33).

Tal como na dispensa de outros medicamentos e produtos de saúde, também com os medicamentos manipulados é importante fornecer ao utente todas as informações relevantes que este possa necessitar para a correta utilização do medicamento, por exemplo, posologia, prazo de validade e condições de conservação.

O preço dos medicamentos manipulados é calculado de acordo com o preço das matérias-primas, materiais de embalagem e honorários de preparação (34). É necessário ter em conta que nem todos os medicamentos manipulados são comparticipados, existe uma listagem legal dos medicamentos comparticipados pelo SNS, que devem ser sempre acompanhados de uma receita eletrónica (35).

Como referido anteriormente, a FC não faz preparação de medicamentos manipulados. As prescrições de medicamentos manipulados recebidas na FC são enviadas para a Farmácia Diamantino. A preparação dos medicamentos manipulados do grupo (FC, FP, FSJ e FD) é centralizada na FD, sendo possível reduzir custos associados às matérias-primas e calibração de equipamentos, por exemplo.

Assim sendo, desloquei-me à FD para acompanhar e auxiliar na preparação dos medicamentos manipulados a preparar nesse dia. Auxiliei a Dr.<sup>a</sup> Natália, responsável pela preparação dos medicamentos manipulados, na preparação de duas soluções orais de cloridrato de propranolol para uso pediátrico, utilizadas no tratamento de hemangioma infantil (36).

Para obter as fichas de preparação desta solução foi necessário contactar o Laboratório de Estudos Farmacêuticos (LEF), que através do Centro de Informação de Medicamentos de Preparação Individualizada (CIMPI), disponibiliza apoio técnico-científico que se foca na preparação de medicamentos manipulados, medicamentos magistrais, entre outros (37).

Antes de iniciarmos a preparação, fiz a validação dos cálculos efetuados anteriormente pela farmacêutica e organizamos as fichas de preparação, rótulos, matérias-primas, material de acondicionamento e material de laboratório que íamos necessitar.

Apesar de as soluções serem iguais e com a mesma indicação terapêutica, estas foram preparadas de forma diferente devido à idade das crianças a que se destinavam. A primeira solução oral de cloridrato de propranolol foi preparada com recurso a comprimidos de Inderal (propranolol) 40 mg e xarope simples. A segunda solução foi preparada utilizando propranolol em pó e um veículo próprio. A primeira solução destinava-se a uma criança com cerca de 3 anos, que provavelmente a iria rejeitar se esta não tivesse um sabor doce, conferido pelo xarope simples. A segunda solução destinava-se a uma criança de 9 anos e a sua preparação foi feita da forma mais indicada visto que se retirou a interferência dos excipientes presentes nos comprimidos de Inderal ao trocá-los pelo uso de propranolol em pó.

As propriedades organolépticas das soluções preparadas foram avaliadas, foram acondicionadas em frascos de vidro âmbar adequados e foram rotuladas. Foram depois colocadas no frigorífico até ao seu envio para a FC.

Durante este dia também tive a oportunidade de fazer a verificação da ficha de preparação de uma solução de ácido acético medicinal a 2%, presente no FGP e usada no tratamento de afeções auriculares.

Ao longo do estágio tive a possibilidade de preparar e dispensar preparações extemporâneas com frequência. As preparações extemporâneas com as quais lidei mais foram antibióticos para uso pediátrico, por exemplo, cefuroxima, azitromicina, amoxicilina e amoxicilina com ácido clavulânico. Estes antibióticos apresentam-se na forma de um pó ou granulado para que se mantenha a estabilidade durante o armazenamento. No ato da dispensa é efetuada a preparação da suspensão oral se o utente assim o desejar. Para se reconstituir as preparações extemporâneas é necessário agitar bem o frasco de modo a que todo o pó/granulado no seu interior se solte das paredes e, de seguida, vai-se adicionando água purificada aos pouco enquanto se agita para homogeneizar, até se atingir o traço delimitado no frasco. É necessário garantir que a suspensão se encontra o mais homogénea possível e que não existe separação de fases.

Ao dispensar as preparações extemporâneas é essencial informar o utente do prazo de utilização do medicamento e das condições de conservação, por exemplo, se precisa de ser armazenado no frigorífico ou não. Adicionalmente, é de extrema importância avisar o utente de que o frasco deve ser agitado antes de cada utilização.

## **6. Outros Serviços de Saúde Prestados na Farmácia**

As farmácias do Grupo Holon prestam uma vasta gama de serviços. Na FC pude acompanhar os seguintes serviços: Check Saúde, Preparação Individualizada de Medicação (PIM) e administração de vacinas e injetáveis.

Em seguida, faço uma breve descrição dos serviços com os quais pude colaborar e/ou trabalhar durante o estágio.

### **6.1. Check Saúde**

O serviço Check Saúde é um dos serviços mais requisitados pelos utentes e engloba a medição de parâmetros fisiológicos (pressão arterial (PA)), medição de parâmetros bioquímicos (glicemia capilar, colesterol total, HDL, LDL e ácido úrico) e parâmetros antropométricos (índice de massa corporal (IMC) e percentagem de massa gorda (MG)).

Este serviço é executado num dos gabinetes de atendimento, onde se encontra o equipamento e material necessário e que garante a privacidade do utente.

O utente é questionado acerca da motivação para fazer a medição dos seus parâmetros, patologias que tem e medicação que toma, para que conforme os resultados obtidos se possa fazer o melhor aconselhamento possível. Podemos sugerir medidas não farmacológicas, verificar a adesão à terapêutica e até avaliar a necessidade de referenciar para consulta médica.

Durante o estágio tive a oportunidade de efetuar medições dos parâmetros englobados no Check Saúde, em especial, medições da pressão arterial e da glicemia capilar. Também acompanhei diversas vezes a minha orientadora durante a prestação deste serviço.

A FC também presta o serviço de Medição Ambulatória da Pressão Arterial (MAPA) 48 horas, fazendo parte da rede de farmácias parceiras da Unidade de Apoio ao Hipertenso (UAH). Este serviço consiste na utilização de um equipamento ambulatório de medição da PA, que vai fazer medições de hora a hora, inclusive durante a noite, durante 2 dias. O utente pode requerer o serviço na FC, sendo a marcação dependente da presença das farmacêuticas com formação, vai instalar o equipamento e, passado 48 horas, volta para remover o equipamento. São-lhe fornecidos os dados obtidos durante a avaliação, que este deve entregar ao médico requerente do exame. A realização do MAPA está indicada para o diagnóstico de hipertensão verdadeira, pois permite ver a variação da PA ao longo do dia e de noite.

### **6.2. Preparação Individualizada de Medicação**

O serviço de Preparação Individualizada da Medicação (PIM) permite aos utentes fazer uma melhor gestão da sua terapêutica farmacológica, conseguir uma melhor adesão à terapêutica e

evitar os erros na toma da medicação. É um serviço com bastante adesão por parte das instituições de apoio a pessoas idosas e utentes polimedicados. A preparação dos PIM está centralizada na Farmácia Pedroso, onde se encontra o equipamento e material para a preparação dos mesmos e pode ser feita a preparação da medicação até um mês para um mesmo utente.

É feita uma consulta farmacêutica com o utente ou responsável institucional de modo a preencher uma ficha com os dados do(s) utente(s) a quem se destina o PIM, patologias diagnosticadas, esquema terapêutico e faz-se a avaliação de qualquer duplicação ou interação que possa existir.

O utente ou a instituição fornece as prescrições médicas e, no caso dos particulares, o utente deve levar qualquer medicação que tenha em casa para que se evitem erros de medicação.

O farmacêutico faz a dispensa das receitas médicas, regista lotes e validades e coloca os medicamentos de cada utente num saco individual identificado, que é posteriormente enviado para a Farmácia Pedroso, onde se procede à preparação dos PIM.

Na FP, é feita a desblisteração e reposição dos medicamentos necessários no robô antes de se iniciar a preparação dos PIM. O esquema terapêutico de cada utente é inserido no sistema informático associado ao robô, que embala automaticamente a medicação de uma semana em saquetas, sendo que cada semana corresponde a um rolo de saquetas, estando cada saqueta devidamente rotulada com a data, horário de toma (jejum, manhã, tarde, noite) ou refeição (pequeno-almoço, almoço, lanche, jantar), medicamentos embalados na saqueta e respetivos pictogramas. O rolo é verificado e validado e depois é colocado numa caixa de plástico reutilizável com a data da semana a que se destina a toma, da qual o utente pode retirar apenas a saqueta com os medicamentos que vai tomar no momento. Também ainda são feitas algumas caixas semanais na forma de moldura, mas essa abordagem está em processo de descontinuação.

Dirigi-me à FP para acompanhar o processo de preparação dos PIM. Auxiliei na desblisteração e reposição de medicamentos no robô, colaborei na inserção de dados no sistema informático, assisti à preparação das saquetas pelo robô e auxiliei na validação das mesmas. Também assisti e colaborei na rotulagem dos PIM na forma de moldura.

### **6.3. Administração de Vacinas e Injetáveis**

A FC faz a administração de medicamentos injetáveis e vacinas não pertencentes ao Plano Nacional de Vacinação (PNV). Este serviço só pode ser prestado por farmacêuticos que possuam formação certificada pela Ordem dos Farmacêuticos (OF).

O utente é questionado sobre a existência de reações adversas anteriores a medicamentos injetáveis ou vacinas, se é a primeira administração do medicamento em questão e faz-se o preenchimento da ficha de identidade do utente com os seus dados clínicos relevantes. É registado o nome do utente, data de nascimento, medicamentos/vacinas a ser administrados, prazo de validade, lote, via de administração e identificação do farmacêutico que faz a administração.

A administração é feita num dos gabinetes de atendimento, devidamente preparado com o material necessário e que assegura a privacidade necessária.

Ao longo do estágio tive a oportunidade de assistir à administração, por via intramuscular, de dois medicamentos. Foi feita a administração, na mesma utente, do complexo vitamínico, Neurobion®, e o relaxante muscular, Relmus® (tiocolquicosido). Os medicamentos foram administrados em separado, visto que o Neurobion® não deve ser administrado na mesma seringa que outros medicamentos (38). A utente ficou em observação durante algum tempo após a administração.

## **7. Gestão dos Resíduos de Medicamentos**

O facto de os medicamentos serem um resíduo específico, que não deve ser tratado como lixo urbano levou ao aparecimento da sociedade sem fins lucrativos, VALORMED. Esta faz a gestão dos resíduos dos medicamentos fora de uso e das suas embalagens vazias através do SIGREM (Sistema Integrado de Gestão de Resíduos e Medicamentos) (39).

O farmacêutico deve informar os utentes da necessidade de se desfazerem adequadamente dos seus medicamentos e explicar o funcionamento dos pontos de recolha VALORMED.

Nas farmácias comunitárias, este sistema funciona através da instalação de contentores onde os utentes podem colocar as embalagens vazias, medicamentos que já não usam ou que estão fora do prazo (40). Contudo, não pode ser colocado qualquer material cortante ou perfurante.

Na FC, quando o contentor está cheio, este é fechado e substituído por um novo. Através do sistema informático, é feito um pedido de recolha ao distribuidor, neste caso, à OCP Portugal, e neste pedido é inserido o número de série do contentor a recolher. É impresso um talão aquando da confirmação do pedido de recolha que deve ser assinado pelo farmacêutico responsável e colocado junto do contentor. Durante o meu estágio, tive a possibilidade de executar este processo diversas vezes.

## **8. Faturação e Receituário**

Para a farmácia receber o reembolso das comparticipações é feito e enviado o receituário para as entidades responsáveis no início de cada mês.

Nas receitas manuais é importante conferir o nome do utente, número de beneficiário, identificação, assinatura e vinheta do prescriptor, data da receita, ausência de rasuras. Faz-se a comparação entre os medicamentos prescritos e os medicamentos dispensados e faz-se a verificação da data da dispensa, carimbo da farmácia, assinatura do farmacêutico e do utente. No caso das REM deve verificar-se os medicamentos dispensados, data e número da receita, carimbo da farmácia e as assinaturas do médico, utente e farmacêutico. Caso exista alguma inconformidade, a receita é separada e corrigida, se possível.

As receitas em papel são conferidas e separadas de acordo com o organismo de participação e lotes, que contêm cada um, no máximo, 30 prescrições. No final do mês os lotes são fechados e é emitido um Verbete de Identificação do Lote para cada um dos lotes, que é assinado e carimbado por um farmacêutico.

Assim, devem ser enviados, obrigatoriamente, os seguintes documentos: receitas agrupadas por lotes, Verbetes de Identificação de Lote agrupadas ao lote ou Resumo de Relação de Lotes, talões fatura e guia de fatura, se aplicável. Para a contabilidade segue um quadruplicado de todos os documentos enviados.

As receitas são enviadas para o Centro de Conferência de Faturas (CCF) e para a Associação Nacional de Farmácias (ANF) através dos CTT – Correios de Portugal, respeitando os prazos definidos. As receitas referentes a outras entidades devem ser acompanhadas pelos recibos de complementaridade, assinados pelos utentes e com uma cópia do cartão de beneficiário anexada.

Durante o estágio tive a oportunidade de acompanhar a conferência das receitas em papel, sendo que os enganos mais comuns encontrados nas verificações eram receitas rasuradas, não assinadas pelo médico prescriptor e/ou sem menção do tamanho da embalagem. Também acompanhei a elaboração do receituário no início do mês de março.

## **9. Projetos na Comunidade**

Durante o meu estágio tive a oportunidade de participar em projetos desenvolvidos na comunidade e na farmácia. Através da FC, participei num rastreio que decorreu em comemoração do Dia Mundial da Saúde, organizado em parceria com a Câmara Municipal da Covilhã, e que decorreu no Pavilhão Inatel. O rastreio consistia na medição de parâmetros antropométricos, fisiológicos e bioquímicos dos participantes das aulas desportivas que estavam a decorrer e que quisessem participar no rastreio, sendo que tivemos uma grande adesão.

Também participei num rastreio no qual trabalhamos em parceria com os alunos do MedUBI e Bombeiros Voluntários de Belmonte, em representação da Associação dos Diabéticos da Serra da Estrela, na II Feira da Saúde e do Desporto, realizada em Belmonte. Neste rastreio fizemos a aplicação de questionários, fizemos a medição de parâmetros antropométricos, fisiológicos e bioquímicos e fizemos o aconselhamento de medidas não farmacológicas adequadas aos participantes.

Para além dos rastreios desenvolvidos fora da farmácia, a FC também realizou um rastreio de Doença Venosa Crónica, para o qual tive a possibilidade de fazer uma formação prévia de modo a poder prestar um melhor aconselhamento aos utentes.

## **10. Trabalhos e Formações Efetuadas ao Longo do Estágio**

No decorrer do estágio, elaborei um protocolo de dispensa interno para o MNSRM-EF Dextazin® e fiz um resumo sobre os diversos expetorantes disponíveis, para consulta pela equipa da farmácia.

Adicionalmente, li o material formativo do Grupo Holon como o Manual de Atendimento, Protocolos de Dispensa (por exemplo, Psoríase e Acne Moderado), Protocolos de Aconselhamento (por exemplo, Herpes Labial e Conjuntivite Alérgica) e material formativo adicional que me foi fornecido pela minha orientadora ao longo do estágio.

Assisti a diversas formações, algumas propostas pela farmácia e outras por iniciativa própria, sendo elas as seguintes:

- “Desvendar a Homeopatia”;
- “Saúde Oral: Do Cuidado Diário à Diferenciação”;
- “Cross-Selling: A pessoa com diabetes na Farmácia”;
- “O Contributo da Farmácia no Auxílio do Diagnóstico e Tratamento de Afeções Vaginais”;
- “Medicamentos e Produtos Veterinários”;
- “Os novos 50+: Oportunidades para a Farmácia na Gestão do Envelhecimento”;
- “Noções básicas de Saúde Animal para um bom aconselhamento na farmácia”;
- “Doença Venosa Crónica”;
- “Saúde Oral, produtos bucodentários e cross selling - PierreFabre®”;
- “Cessação Tabágica”.

## **11. Conclusão**

O estágio em Farmácia Comunitária permitiu-me desenvolver não só as minhas competências profissionais, mas também as minhas competências interpessoais através do trabalho em equipa com os restantes colaboradores e através do contacto com os utentes.

Tive a possibilidade de acompanhar o funcionamento da Farmácia Covilhã, desde a gestão até ao atendimento e aconselhamento, e acredito que os conhecimentos que adquiri me vão ser muito úteis no futuro.

Inicialmente, foi um desafio. Não só porque a FC é uma farmácia com grande afluência e diversidade de utentes e produtos, mas porque existiam diversos assuntos que não abordamos ao longo do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF). Porém, os colegas da FC ajudaram-me a conseguir adquirir as capacidades que precisava para tirar um maior proveito do

estágio e conseguir sentir-me mais confortável com o ritmo de trabalho e na interação com os utentes.

Acabei este estágio com mais confiança nas minhas competências como farmacêutica e agradeço a toda a equipa da FC por toda a ajuda que me deram. Agradeço, em especial, à minha orientadora, Dr.<sup>a</sup> Carmo Santos, que foi incansável comigo.

## 12. Referências

1. Farmacêuticos O dos. A Farmácia Comunitária - Farmácia Comunitária - Áreas Profissionais [Internet]. [cited 2022 Feb 16]. Available from: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/a-farmacia-comunitaria/>
2. Farmácias Holon. Quem somos | Farmácias Holon [Internet]. [cited 2022 Feb 21]. Available from: <https://www.farmaciasholon.pt/quem-somos>
3. Farmácias Holon. Valores | Farmácias Holon [Internet]. [cited 2022 Feb 21]. Available from: <https://www.farmaciasholon.pt/quem-somos/valores-da-marca-farmacias-holon>
4. Farmácias Holon. Missão | Farmácias Holon [Internet]. [cited 2022 Feb 21]. Available from: <https://www.farmaciasholon.pt/quem-somos/missao>
5. Farmácias Holon. Visão | Farmácias Holon [Internet]. [cited 2022 Feb 21]. Available from: <https://www.farmaciasholon.pt/quem-somos/visao>
6. Diário da República. Legislação Compilada: Decreto-Lei n.º 307/2007, de 31 de Agosto.
7. Ordem dos Farmacêuticos. Boas Práticas Farmacêuticas para a farmácia comunitária (BPF). Ordem dos Farmacêuticos. 2009;3ª Edição:53.
8. Medicamento M da SIN da F e do M. Deliberação n.º 1500/2004 | DRE [Internet]. [cited 2022 Mar 5]. Available from: <https://dre.pt/dre/detalhe/deliberacao/1500-2004-3185393>
9. INFARMED IP. Protocolo Via Verde Medicamento. 2018.
10. Diário da República. Decreto-Lei n.º 20/2013, de 14 de Fevereiro [Internet]. 2013 [cited 2022 Mar 28]. Available from: <https://dre.pt/dre/detalhe/decreto-lei/20-2013-258706>
11. INFARMED IP. Atribuição de preços [Internet]. [cited 2022 Mar 28]. Available from: [https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/avaliacao-economica/regulamentacao-preco-medicamentos/atribuicao\\_precos](https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/avaliacao-economica/regulamentacao-preco-medicamentos/atribuicao_precos)
12. Diário da República. Portaria n.º 280/2021, de 3 de Dezembro [Internet]. 2021 [cited 2022 Mar 28]. Available from:

<https://www.infarmed.pt/documents/15786/1065780/Portaria+n.o+2802021/aocd195b-e50e-bc36-c14d-d98c28b4d8bo>

13. Diário da República. Portaria n.o 195-C/2015, de 30 de Junho [Internet]. 2015 [cited 2022 Mar 28]. Available from: <https://files.dre.pt/1s/2015/06/12501/0000600011.pdf>
14. Jaba Recordati. Produtos Farmacêuticos [Internet]. [cited 2022 Mar 28]. Available from: <https://www.jaba-recordati.pt/pt/produtos-farmaceuticos>
15. República D da. Legislação Consolidada - Decreto-Lei n.o 176/2006 - Diário da República n.o 167/2006, Série I de 2006-08-30 | DRE [Internet]. [cited 2022 May 8]. Available from: <https://dre.pt/dre/legislacao-consolidada/decreto-lei/2006-34530575>
16. Administração Central do Sistema de Saúde. Normas relativas à dispensa de medicamentos e produtos de saúde. Ministério da Saúde. 2018;3:1-42.
17. Diário da República. Portaria n.o 224/2015 | DRE [Internet]. [cited 2022 May 8]. Available from: <https://dre.pt/dre/detalhe/portaria/224-2015-69879391>
18. Diário da República. Legislação Consolidada - Decreto-Lei n.o 15/93 - Diário da República n.o 18/1993, Série I-A de 1993-01-22 | DRE [Internet]. 1993. [cited 2022 Jul 16]. Available from: <https://dre.pt/dre/legislacao-consolidada/decreto-lei/1993-58872437>
19. Diário da República. Legislação Consolidada - Decreto Regulamentar n.o 61/94 - Diário da República n.o 236/1994, Série I-B de 1994-10-12 | DRE [Internet]. 1994. [cited 2022 Jul 16]. Available from: <https://dre.pt/dre/legislacao-consolidada/decreto-regulamentar/1994-117822535>
20. Diário da República. Decreto-Lei n.o 48-A/2010 [Internet]. 2010. [cited 2022 Jun 28]. Available from: <https://dre.pt/dre/detalhe/decreto-lei/48-a-2010-227779>
21. Diário da República. Legislação Consolidada - Decreto-Lei n.o 97/2015 - Diário da República n.o 105/2015, Série I de 2015-06-01 [Internet]. 2015. [cited 2022 Jun 28]. Available from: <https://dre.pt/dre/legislacao-consolidada/decreto-lei/2015-108117229>
22. Diário da República. Legislação Consolidada - Portaria n.o 287/2016 - Diário da República n.o 216/2016, Série I de 2016-11-10 [Internet]. 2016. [cited 2022 Jun 28]. Available from: <https://dre.pt/dre/legislacao-consolidada/portaria/2016-115397205>
23. Diário da República. Portaria n.o 154/2018 [Internet]. 2018. [cited 2022 Jun 28]. Available from: <https://dre.pt/dre/detalhe/portaria/154-2018-115397198>

24. World Health Organization. Guidelines for the Regulatory Assessment of Medicinal Products for use in Self-Medication. 2000;
25. Zeramarium Araia Z, Kiros Gebregziabher N, Mesfun AB. Self medication practice and associated factors among students of Asmara College of Health Sciences, Eritrea: a cross sectional study.
26. Visão Saúde. Visão | Mais de metade dos que não procuram sistema saúde quando estão doentes automedicam-se. 2021.
27. Diário da República. Despacho n.o 17690/2007 | DRE [Internet]. 2007. [cited 2022 Jul 14]. Available from: <https://dre.pt/dre/detalhe/despacho/17690-2007-3189825>
28. INFARMED I.P. Lista de DCI - MNSRM-EF - INFARMED, I.P. [Internet]. [cited 2022 Jul 15]. Available from: [https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/autorizacao-de-introducao-no-mercado/alteracoes\\_transferencia\\_titular\\_aim/lista\\_dci](https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/autorizacao-de-introducao-no-mercado/alteracoes_transferencia_titular_aim/lista_dci)
29. Diário da República. Despacho n.o 4270-C/2020 | DRE [Internet]. 2020. [cited 2022 May 15]. Available from: <https://dre.pt/dre/detalhe/despacho/4270-c-2020-131246680>
30. Ministério da Saúde. Despacho n.o 5315/2020. Diário da República. 2020;4270.
31. Ordem dos Farmacêuticos. Colégio de Especialidade em Farmácia Hospitalar. Colégio de Especialidade em Farmácia Comunitária. Orientações sobre acesso a medicamentos dispensados por farmácia hospitalar em regime de ambulatório num regime de proximidade. 2020;1-9.
32. Diário da República. Decreto-Lei n.o 62/2017 | DRE [Internet]. 2017. [cited 2022 Jul 29]. Available from: <https://dre.pt/dre/detalhe/decreto-lei/62-2017-107495709>
33. INFARMED I.P. Medicamentos manipulados - INFARMED, I.P. [Internet]. [cited 2022 Jul 29]. Available from: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/inspecao-medicamentos/medicamentos-manipulados>
34. Ministérios da Economia e da Saúde. Portaria n.o 769/2004 | DRE [Internet]. Diário da República. 2004 [cited 2022 Jul 30]. Available from: <https://dre.pt/dre/detalhe/portaria/769-2004-517633>

35. Ministério da Saúde. Despacho n.o 18694/2010 | DRE [Internet]. Diário da República. 2010 [cited 2022 Jul 29]. Available from: <https://dre.pt/dre/detalhe/despacho/18694-2010-2283127>
36. Parikh SR, Darrow DH, Grimmer JF, Manning SC, Richter GT, Perkins JA. Propranolol use for infantile hemangiomas: American Society of Pediatric Otolaryngology Vascular Anomalies Task Force practice patterns. JAMA Otolaryngol Head Neck Surg. 2013 Feb;139(2):153–6.
37. Laboratório de Estudos Farmacêuticos. Apoio às Farmácias - LEF [Internet]. [cited 2022 Jul 29]. Available from: [https://www.lef.pt/pt/servicos/Paginas/Apoio\\_Farmacias.aspx](https://www.lef.pt/pt/servicos/Paginas/Apoio_Farmacias.aspx)
38. INFARMED I.P. RCM - Neurobion solução injetável [Internet]. Infomed. 2021 [cited 2022 Aug 4]. Available from: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
39. VALORMED. Quem somos :: ValorMed [Internet]. [cited 2022 Aug 11]. Available from: <https://www.valormed.pt/paginas/2/quem-somos/>
40. VALORMED. PROCESSO :: ValorMed [Internet]. [cited 2022 Aug 11]. Available from: <https://www.valormed.pt/paginas/8/processo>

# Capítulo 3 - Estágio em Farmácia Hospitalar

## 1. Introdução

Depois da Farmácia Comunitária, a Farmácia Hospitalar é a área de maior atividade dos farmacêuticos em Portugal, e os farmacêuticos são essenciais nas equipas multidisciplinares de saúde que trabalham nos hospitais (1,2). Estes estão não só envolvidos na gestão do circuito do medicamento, mas também nas atividades relativas à Farmácia Clínica e Ensaio Clínicos (2).

O Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira (CHUCB) é uma unidade do SNS, constituída pelo Hospital Pêro da Covilhã e pelo Hospital do Fundão. É considerada uma instituição de referência na prestação de cuidados de saúde e é acreditada pela *Joint Commission International* (JCI) desde 2010. Em 2013, foi acreditada como Centro Médico Académico e colabora com a Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior (FCS-UBI) na docência e investigação. Adicionalmente, integram o CHUCB vários serviços certificados pela norma ISO 9001, sendo um deles os Serviços Farmacêuticos.

Fiz o meu estágio curricular em Farmácia Hospitalar nos Serviços Farmacêuticos (SF) do Hospital Pêro da Covilhã, no período de 2 de Maio a 17 de Junho de 2022, sob a orientação da Dr.<sup>a</sup> Maria Olímpia Fonseca, diretora técnica dos Serviços Farmacêuticos do CHUCB.

Neste relatório descrevo o funcionamento geral dos SF, conhecimentos que adquiri e atividades que tive a possibilidade de executar no tempo que passei em cada um dos setores dos SF do CHUCB: Aquisição e Logística, Ambulatório, Dose Unitária e Farmacotecnia.

### 1.1. Serviços Farmacêuticos do Centro Hospitalar

#### Universitário Cova da Beira

A missão dos SF é assegurar que são prestados aos doentes os melhores cuidados de saúde a nível farmacoterapêutico e garantir que é praticado o uso seguro, eficaz e racional dos medicamentos no CHUCB. Os SF desempenham diversas funções, para as quais as instalações estão adaptadas. Estas funções podem sintetizar-se em 3 áreas: Logística Farmacêutica, Farmácia Clínica e Tecnologia Farmacêutica, e serão descritas neste relatório, evidenciando a importância do farmacêutico e das atividades que exerce no hospital. Os SF do CHUCB são acreditados pela *Joint Commission International* e certificados pela norma ISO 9001:2015, o que reflete a elevada qualidade das atividades exercidas neste serviço (3).

Os SF do CHUCB contam com 26 colaboradores, dos quais 10 são Farmacêuticos, 8 são Técnicos Superiores de Terapêutica e Diagnóstico (TSDT), 7 são Assistentes Operacionais (AO) e 1 é Assistente Técnico (4). Para exercer as suas funções da melhor forma, os colaboradores dos SF

têm disponíveis Procedimentos Internos e Operativos, que devem estar atualizados, para se que possa garantir a padronização e qualidade das atividades desempenhadas neste serviço.

As atividades desempenhadas nos SF são auxiliadas pela utilização do Sistema de Gestão Integrada do Circuito do Medicamento (SGICM), desenvolvido pela Glintt. Este sistema informático permite acompanhar o circuito do medicamento, por exemplo, realizar encomendas, consultar existências nos diversos armazéns, validar as prescrições médicas e deixar observações para o médico prescritor e realizar a imputação dos medicamentos a serviços ou doentes. Adicionalmente, o SGICM é compatível com o software *SClínico* dos Serviços Partilhados do Ministério da Saúde (SPMS), utilizado pelos serviços clínicos do CHUCB, o facilita a colaboração com os outros profissionais de saúde.

## **2. Setor de Aquisição e Logística**

Para assegurar um bom funcionamento dos SF e dos restantes serviços do CHUCB é necessário garantir que os medicamentos, dispositivos médicos e outros produtos de saúde são entregues em boas condições e nos horários estipulados, esta responsabilidade é do setor de aquisição e logística dos SF. Este setor trata da seleção, aquisição, receção, armazenamento e distribuição de medicamentos e produtos de saúde, e articula-se com o Setor de Logística Hospitalar (SLH) (5).

O farmacêutico hospitalar afeto a este setor também tem de ser membro da Comissão de Farmácia e Terapêutica (CFT) devido ao seu dever de auxiliar na seleção de medicamentos que devem ser mantidos ou excluídos do Guia Farmacoterapêutico do CHUCB (4).

### **2.1. Seleção e Aquisição**

O elevado número de medicamentos, dispositivos médicos e outros produtos de saúde, que surgiram no mercado nos últimos anos, tornou o processo de seleção destes muito complexo.

O processo de seleção deve fundamentar-se no Formulário Nacional do Medicamento (FNM) e nas necessidades terapêuticas dos doentes. Podem ser feitas adendas ao FNM, previamente validadas e fundamentadas pela CFT, que serão adicionados ao Guia Farmacoterapêutico da instituição. A adenda pode ser fundamentada com base em critérios farmacoeconómicos e com a estimativa do impacto que a terapêutica terá na qualidade de vida dos doentes, ou seja, uma abordagem custo-utilidade ou custo-efetiva (6). Adicionalmente, o farmacêutico pode sinalizar à CFT oportunidades de melhoria das condições de aquisição através da seleção de fármacos mais favoráveis e elaborar estudos acerca do impacto económico dos fármacos propostos para inclusão no Guia Farmacoterapêutico (4).

O setor de aquisição e logística articula-se com SLH para efetuar as aquisições de medicamentos e produtos de saúde. O farmacêutico afeto a este setor é responsável pela gestão de existências, por exemplo, consumo diário e mensal, pontos de encomenda e stocks de segurança. O farmacêutico lista os artigos que se encontram abaixo do ponto de encomenda e, com base nessa

lista, efetua os pedidos de compra através do SGICM. O SLH avalia os pedidos de encomenda, faz a emissão de uma nota de encomenda, envia a mesma ao fornecedor e monitoriza se a encomenda é entregue no prazo acordado (4).

As aquisições são maioritariamente realizadas de forma centralizada com apoio dos SPMS, que estabelecem os contratos públicos de aprovisionamento, posteriormente publicados no Catálogo Público de Aprovisionamento (CPA). O CPA serve como base para selecionar os fornecedores que sejam mais vantajosos. Além disso, a aquisição pode ser feita por compra direta ao laboratório, após negociação, ou através de concursos públicos limitados. Quando existe urgência na aquisição de um medicamento pode ser feita a compra urgente a fornecedores locais (Plural) ou a farmácias comunitárias, ou pode ser pedido um empréstimo entre hospitais.

Excepcionalmente, quando é necessário um medicamento que não possui Autorização de Introdução no Mercado (AIM) em Portugal e do qual não há medicamento similar é necessário fazer um pedido de Autorização de Utilização Especial (AUE) ao INFARMED, como é o caso do soro contra o veneno da víbora europeia. Cada medicamento precisa de uma AUE específica, que permanece válida durante 3 anos e na qual deve ser indicada a quantidade que se considera necessária para esse período. Depois desse período é necessária a renovação da AUE (7,8).

## **2.2. Receção e Conferência**

As encomendas de medicamentos, dispositivos médicos e produtos de saúde são rececionadas num local estratégico, de modo a facilitar o armazenamento dos artigos. A área de receção situa-se numa das extremidades dos SF, que tem acesso ao exterior e que se encontra próximo do armazém central (armazém 10). Este local possui um frigorífico para artigos termolábeis, uma bancada metálica e uma estante exclusiva para medicamentos citotóxicos, devidamente sinalizada. Na área de receção existe uma lista dos citotóxicos que existem no CHUCB para que sejam separados aquando a receção e o pessoal que os manuseia deve usar luvas (4).

Todas as encomendas rececionadas necessitam de ser conferidas pelos TSDT dos SF e por um assistente técnico dos SLH, encarregue de levar a guia de remessa de cada produto, em duplicado. É feita a conferência quantitativa e qualitativa dos artigos, sendo confrontados os artigos, quantidade, lote e prazo de validade com o que está na guia de remessa e é verificada a integridade dos artigos rececionados. Se for verificada a conformidade de todos os artigos rececionados, o TSDT responsável assina e carimba a ambas as guias de remessa, das quais uma das folhas fica arquivada nos SF e a outra volta para o SLH. Se for detetada alguma não conformidade na receção das encomendas, estas são registadas e sinalizadas ao farmacêutico responsável pela aquisição. Se forem rececionados gases medicinais deve verificar-se o estado do cilindro e válvula e devem trocar-se os cilindros vazios (4).

Se aquando da receção de um medicamento, este apresentar uma validade igual ou inferior a 6 meses, o farmacêutico responsável pela aquisição ou a Direção do Serviço devem ser avisados

para que se avalie a viabilidade de consumo do medicamento em questão e têm de autorizar a receção do mesmo. Devem ser rejeitados artigos cuja embalagem esteja danificada ou cujo transporte não assegure as condições especiais de conservação, por exemplo, se houver interrupção da cadeia de frio de artigos termolábeis (4).

As matérias-primas, medicamentos hemoderivados e medicamentos estupefacientes e psicotrópicos (MEP) têm de ser acompanhados por documentos específicos que ficam arquivados nos SF. A tabela 1.10 indica os documentos que devem ser entregues com estes artigos (4).

Tabela 1.10 - Documentos que devem acompanhar artigos específicos aquando a receção de pedidos.

<b>Artigo</b>	<b>Documentos necessários</b>
<b>Matérias-Primas</b>	Boletim de Análise
<b>Medicamentos Hemoderivados</b>	Boletim de Análise e CAUL
<b>Medicamentos Estupefacientes e Psicotrópicos</b>	Duplicado do Anexo VII
<b>Gases Medicinais</b>	Cópia do Certificado de Análise do Gás e Folha com os Dados de Segurança

CAUL - Certificado de Autorização de Utilização de Lote

Finalizada a conferência, os artigos são transportados para o armazém central e efetua-se o registo de entrada no sistema informático, indicando o lote, prazo de validade e fornecedor/distribuidor do produto (4).

No caso dos medicamentos citotóxicos, estes são rececionados e transportados para o armazém em separado dos outros medicamentos, e todas as embalagens são inspeccionadas para garantir a ausência de derrames. Caso tenha ocorrido algum derrame, existe um kit de contenção de derrames na área de receção.

Durante o estágio tive a oportunidade de ajudar no preenchimento de formulários de reclamação para enviar ao laboratório Biogen, devido ao mau funcionamento de canetas de peginterferão beta-1a, Plegridy®.

### **2.3. Armazenamento**

Os SF do CHUCB possuem diversos armazéns para além do armazém central. A existência de diversos armazéns tem como objetivo facilitar o acesso aos medicamentos e assegurar as condições de conservação ideais, respeitando as Boas Práticas em Farmácia Hospitalar (BPFH) (5). Os armazéns existentes nos SF do CHUCB e respetivas correspondências encontram-se descritos na Tabela 1.11. (4).

Tabela 1.11 - Armazéns existentes nos SF do CHUCB.

<b>Armazém</b>	<b>Correspondência</b>
<b>10</b>	Armazém Central
<b>11</b>	Farmácia do Hospital do Fundão
<b>12</b>	Armazém do Setor de Dose Unitária
<b>13</b>	Armazém do Setor de Farmacotecnia
<b>14-17</b>	Pyxis™ dos Serviços Clínicos
<b>18</b>	Armazém de Quarentena
<b>19</b>	Armazém do Setor de Ensaio Clínicos
<b>20</b>	Armazém do Setor de Ambulatório

As condições de armazenamento devem garantir que os medicamentos, dispositivos médicos e produtos de saúde se mantêm estáveis e sem qualquer dano. Nos SF do CHUCB, as áreas destinadas a armazenamento estão protegidas da luz solar direta, a temperatura é mantida abaixo de 25°C ou entre 2°C e 8°C nas câmaras frigoríficas, e a humidade mantém-se abaixo de 60%. Nestes locais existem sensores de humidade e temperatura, que fazem uma monitorização constante desses parâmetros e cujos dados são geridos informaticamente. Se os valores saírem dos intervalos estipulados existe um sistema de alarme. A conformidade destes parâmetros é verificada por um TSDT (4).

A maioria dos artigos fica armazenada no armazém central, sendo a partir deste que se faz a distribuição para os outros armazéns dos SF e para os serviços clínicos. Este armazém engloba uma sala principal onde os medicamentos estão armazenados em prateleiras deslizantes, por ordem alfabética de denominação comum internacional, e onde se armazenam também outros produtos mais específicos como colírios, leites pediátricos ou material de penso. Os artigos são armazenados de acordo com o princípio FEFO (“*First Expire, First Out*”), ou seja, os produtos com validade menor são colocados de forma a saírem do armazém primeiro e, quando aplicável, está presente a sinalética de alerta (4).

Na sala existem também prateleiras fixas para colocar medicamentos excedentes, que não se conseguem armazenar no local designado, e prateleiras para a nutrição entérica e parentérica. Outra exceção são os MEP e medicamentos destinados a ensaios clínicos, que exigem um maior controlo, e que por esse motivo ficam armazenados em armários com fechadura dupla (cofre). O armazém central engloba mais duas salas destinadas ao armazenamento de injetáveis de grandes dimensões, duas câmaras frigoríficas para os medicamentos termolábeis e nutrição parentérica,

uma sala com desinfetantes e antissépticos e um armazém destinado a produtos inflamáveis, separado do restante armazém e adaptado às condições especiais de armazenamento dos inflamáveis, por exemplo, existência de porta corta-fogo, sistema de ventilação e chuveiros de deflagração automática. As matérias-primas utilizadas na preparação de manipulados não-estéreis e armazenadas no laboratório de Farmacotecnia também pertencem ao armazém 101. Os citotóxicos ficam armazenados em separado, no armazém 13, numa estante sinalizada com fita vermelha e branca, na qual as prateleiras se encontram viradas para cima de modo a evitar quedas ou derrames (4).

Antes de serem armazenados, os medicamentos devem ser preparados para a distribuição por dose unitária, ou seja, devem estar rotulados individualmente com a indicação do princípio ativo, dosagem, forma farmacêutica, lote e prazo de validade. Contudo, medicamentos para a reposição da FDS (*Fast Dispensing Machine*) e artigos que saem em grande quantidade para o setor de Ambulatório não necessitam de rotulagem. Esta tarefa é executada pelos AO. São também os AO, que sob a supervisão dos TSDT, fazem o armazenamento dos artigos, excetuando no caso dos MEP, que tem de ser um TSDT a armazenar (4).

### **2.3.1. Controlo de Validades**

Mensalmente é feita uma auditoria qualitativa, na qual emitida uma listagem que engloba os produtos cuja validade expira dentro de 4 meses. Essa listagem é utilizada para verificar o respetivo prazo de validade e o stock do produto. As embalagens são depois rotuladas com a sinalética de “Validade Reduzida”, de modo a que sejam dispensadas primeiro (4).

O farmacêutico encarregue da logística faz uma avaliação da viabilidade de consumo desses artigos até a validade expirar. Caso seja pouco provável conseguir escoar o artigo antes de o prazo de validade expirar, o farmacêutico deve contactar o fornecedor com objetivo de pedir nota de crédito ou substituição do produto. Os artigos que foram aceites para crédito ou troca pelos fornecedores são transferidos para o armazém informático 202, após contacto com o SLH, que depois efetua a devolução. Também é possível tentar trocar os artigos com outros hospitais que tenham um consumo maior dos mesmos. Se a validade expirar, os artigos são transferidos para o armazém de quarentena, onde aguardam a recolha pelo fornecedor. Se o fornecedor não aceita a devolução, são abatidos com os restantes resíduos do CHUCB e é reportado ao Conselho de Administração (CA) (4).

Todos os meses é feito o controlo das gavetas de stock de apoio da sala de distribuição em dose unitária, na qual é feita a verificação de prazos de validade e das condições de armazenamento e é feito o registo dos medicamentos com prazo de validade inferior a 6 meses. No fim de cada mês, os medicamentos expirados são retirados do stock e são transferidos para o armazém quarentena (4).

Até ao dia 10 de cada mês, o farmacêutico afeto à logística elabora uma listagem de medicamentos propostos para abate, que é encaminhada para a direção dos SLH (4).

### **2.3.2. Controlo de Stocks**

O armazém central e o armazém da dose unitária fazem contagens diárias (auditoria quantitativa) ao stock existente, fazendo a confrontação dessas contagens com o stock informático. Fazem a contagem de medicamentos termolábeis e nutrição, contagem no armazém central por grupo terapêutico e fazem as contagens com base na classificação ABC.

Trimestralmente são feitas as contagens de existências nos serviços clínicos, nas quais se confirmam os prazos de validade e se fazem as respetivas regularizações. Durante estas visitas é possível transferir medicamentos de validade reduzida para serviços com um maior consumo dos mesmos, de forma a evitar o desperdício. Se houver medicamentos que se encontrem em quantidade superior ao stock definido, estes são devolvidos aos SF. Qualquer medicamento que apresente alterações, sinais de má conservação ou cujo prazo de validade expirou deve ser retirado do SC e colocado em contentor próprio para posterior incineração (4).

### **2.4. Recolha de Lotes**

Quando é recebido um pedido de recolha de lotes pelo laboratório fornecedor, distribuidor ou INFARMED, o farmacêutico afeto à logística precisa de verificar se os lotes referidos na circular deram entrada nos SF. Caso exista registo de entrada desses lotes é necessário localizá-los, tanto nos SF como nos serviços clínicos, e procede-se à sua recolha. Depois de recolhidos, é emitida uma listagem das quantidades existentes por lote e os artigos são transferidos para o armazém de quarentena (4).

O farmacêutico contacta o SLH para se combinar uma forma de devolução com o laboratório/distribuidor e para se definir a forma de compensação ao hospital através de nota de crédito ou substituição. Depois, é feita a transferência dos artigos para o armazém de devoluções (armazém informático 202) e é emitida uma guia de transferência, que acompanha os medicamentos devolvidos (4).

## **3. Distribuição**

Existem vários tipos de distribuição de medicamentos para os serviços clínicos e doentes. A distribuição através do sistema tradicional, sistema de distribuição por stock nivelados e sistema de distribuição semiautomática através dos Pyxis™ são feitas a partir do armazém 10. A distribuição aos doentes por ambulatório e distribuição individual diária em dose unitária são feitas a partir do armazém 20 e armazém 12, respetivamente.

### **3.1. Sistema de Distribuição Tradicional**

A distribuição a partir do sistema de distribuição tradicional ou clássico tem como base a definição de um ou vários perfis de consumo, qualitativo e quantitativo, do serviço ou armazém periférico dos SF (9). Nos serviços clínicos, esses perfis são definidos entre o farmacêutico afeto à logística,

o Diretor do Serviço e o Enfermeiro-Chefe, com base nos perfis de consumo anteriores do serviço (4).

Os stocks pré-definidos são inseridos no SGICM e é possível gerar uma requisição eletrónica para reposição de stock tendo em conta os consumos do serviço/armazém. Quando é gerada uma requisição é recebida uma notificação do pedido no armazém central, onde um TSDT a imprime e inicia a sua preparação. Se o pedido for efetuado até às 14h, o AO dos SF fará a entrega no mesmo dia. Nas situações em que o pedido é recebido após as 14h, este é entregue apenas no dia seguinte. Se for uma situação urgente, tem de ser o AO do próprio serviço clínico (SC) a deslocar-se aos SF para recolher o pedido. Em caso de rutura de stock ou qualquer dúvida, o solicitante deve ser contactado (4).

Os pedidos podem ser preparados por um TSDT ou por um AO, sob supervisão de um TSDT. Quando se conclui a preparação dos pedidos, estes são conferidos por um TSDT que dá saída dos artigos no sistema informático ou no PDA (*Personal Digital Assistant*). Quando o pedido chega ao serviço clínico é conferido pela equipa de enfermagem (4).

## **3.2. Sistema de Distribuição por Reposição de Stocks**

### **Nivelados ou Reposição por Níveis**

Alguns serviços clínicos necessitam de acesso imediato aos medicamentos, sendo que não é possível fazer uma requisição aos SF e esperar pela entrega. O sistema de reposição por níveis foi criado para colmatar esta necessidade, e permite que os serviços clínicos tenham os medicamentos de que necessitam disponíveis para administração imediata, através de carros de armazenamento de medicamentos ou carros de emergência (9). Dispõem de carros de emergência: a Unidade de Cuidados Intensivos (UCI), a Unidade de Acidente Vascular Cerebral (UAVC), a Neonatologia, a Unidade de Cirurgia em Ambulatório, a Urgência Obstetrícia e a Viatura Médica de Emergência (VMER) (4).

Tal como acontece no sistema tradicional, são analisados os perfis de consumo do serviço clínico para se definir a composição qualitativa e quantitativa dos stocks do carro e para se ajustar a periodicidade da reposição/troca dos carros. A reposição dos carros é executada por um TSDT ou por um AO, sob supervisão, e os artigos colocados no carro são imputados ao SC por leitura ótica dos códigos de barras existentes nas gavetas do carro. Mensalmente, faz-se a verificação da validade dos medicamentos existentes nos carros de emergência (4).

A UCI e a UAVC são os únicos serviços clínicos que têm dois carros, visto que não podem ficar sem carro de emergência, mesmo que temporariamente. Assim, nos dias estipulados o carro de emergência presente nestes serviços é levado para os SF e, ao mesmo tempo, é levado para o serviço um carro de emergência dos SF previamente repostos. Já os outros serviços dispõem de apenas um carro de emergência que é repostos nos SF e entregue ao respetivo serviço no mesmo

dia. O carro de emergência da VMER é repostos nos SF (4). A Figura 1.17 resume os serviços clínicos e respetiva quantidade de carros de emergência disponíveis.



Figura 1.17 - Serviços clínicos que dispõem de carro de emergência no CHUCB e respetiva quantidade.

### 3.3. Sistema de Distribuição Semiautomática Pyxis™

Alguns serviços possuem sistemas semiautomáticos de distribuição de medicamentos, os Pyxis™, que são armários para armazenamento de medicamentos informatizados e que funcionam de forma semelhante à distribuição de reposição por níveis (9). Este tipo de distribuição permite um melhor controlo de existências e prazos de validade, permite assegurar as condições de armazenamento e minimiza os erros na seleção dos medicamentos.

No CHUCB existem quatro serviços clínicos que dispõem de Pyxis™: a Urgência Geral, a Urgência Pediátrica, a Unidade de Cuidados Agudos Diferenciados e o Bloco Operatório. A existência de Pyxis™ nestes serviços permite a minimização de erros, tendo em conta que geralmente existe urgência na administração dos medicamentos e a pressa em obter a medicação pode levar a enganos. A existência destes sistemas semiautomáticos também permite fazer uma melhor gestão de stocks, pois estes estão todos ligados ao computador do armazém central dos SF, a partir do qual se emite a listagem para a reposição de stocks dos Pyxis™. O stock existente nos Pyxis™ e periodicidade de reposição dos mesmos é definido da mesma forma que nos outros sistemas de distribuição descritos, através da análise dos perfis de consumo dos serviços. Tendo em conta a capacidade do Pyxis™, é definido um stock mínimo e um stock máximo. Quando se atinge o stock mínimo de algum medicamento este passa a aparecer na listagem de mínimos, que é usada para efetuar a reposição (4).

Sempre que é necessário retirar um medicamento dos Pyxis™, os enfermeiros precisam de se identificar (nº mecanográfico e impressão digital), identificar o doente, que pode ou não ter uma

prescrição associada, escolher o medicamento a retirar e só depois lhe é dado o acesso à gaveta do respetivo medicamento. O consumo do medicamento fica registado e a informação é enviada para o computador do armazém central dos SF que está ligado ao sistema Pyxis™ (4).

A reposição de stock dos Pyxis™ é feita de acordo com a calendarização acordada com os serviços clínicos e é feita de modo a que os medicamentos fiquem no seu stock máximo. A reposição destes sistemas semiautomáticos é feita pelos TSDT afetos à logística, que também têm de se identificar no sistema para poderem fazer a reposição, que fica registada. A reposição de MEP só pode ser feita por farmacêuticos com base numa listagem homologada pelo INFARMED (4).

O farmacêutico responsável pela logística deve monitorizar as discrepâncias geradas, que devem ser discutidas com o Enfermeiro Chefe do serviço em questão periodicamente, e pode propor medidas corretivas. Em caso de recorrência não justificada, deve informar-se o Diretor do Serviço e a Direção dos SF (4).

Todos os meses é emitida uma lista de artigos existentes nos Pyxis™ próximos do prazo de validade. Os TSDT fazem a confirmação da sua existência e transferem esses artigos para serviços de maior consumo, onde ainda possam vir a ser escoados. No final do mês são retirados todos os medicamentos cuja validade expirou e estes são transferidos para o armazém central e é feito um registo de consumo ao respetivo serviço, que é impresso e arquivado com a listagem de medicamentos retirados. Trimestralmente faz-se um inventário total, no qual se confronta o stock informático dos Pyxis™ com o sistema informático dos SF e são feitas as correções necessárias, que ficam registadas (4).

### **3.4. Distribuição Individual Diária em Dose Unitária**

A distribuição individual diária em dose unitária (DIDDU) consiste na distribuição da medicação para os serviços clínicos com internamento, de forma individualizada. A preparação da medicação é feita para um período de 24 horas, excetuando na véspera de feriados ou de fim de semana em que se prepara para 48 ou 72 horas, dependendo do serviço. Nesta coloca-se o número certo de medicamentos devidamente identificados, prontos a ser administrados, numa cassette etiquetada com as informações do doente (9). Este tipo de distribuição permite entender melhor o perfil farmacoterapêutico dos doentes, fazer uma melhor racionalização da terapêutica, diminuir o risco de interações, melhorar a segurança no circuito do medicamento, fazer uma atribuição correta dos custos e reduzir o tempo que os enfermeiros gastam na gestão e preparação de medicamentos (4).

Os SF do CHUCB possuem duas salas para a gestão e preparação deste circuito de distribuição, a Sala de Dose Unitária, onde se prepara os medicamentos em dose unitária e a partir do qual se faz a distribuição dos medicamentos pelas cassetes individuais, e a Sala de Validação, onde os farmacêuticos hospitalares responsáveis por este setor fazem a validação das prescrições médicas e reconciliação farmacêutica.

A DDDU inicia-se com a validação da prescrição médica, presente no SGICM, pelo farmacêutico encarregue do respetivo serviço clínico. Durante a validação é importante ter em atenção a dose, via e frequência de administração, possíveis duplicações, alergias conhecidas, interações medicamentosas e justificações para a prescrição de antibióticos de uso restrito (por exemplo, o meropenemo e a linezolida). Sempre que é detetado um erro durante a validação, o farmacêutico contacta o médico para esclarecimento. A validação também permite verificar o cumprimento do Guia Farmacoterapêutico do CHUCB e ajustar o plano terapêutico ao perfil farmacológico, características fisiológicas e patológicas do doente (4). Durante o estágio tive a oportunidade acompanhar a validação das prescrições pelos farmacêuticos do setor da dose unitária.

Após a validação, realiza-se a preparação dos medicamentos a distribuir. É impresso o mapa terapêutico de cada serviço de internamento, que é utilizado pelos TSDT como guia da medicação a distribuir para cada serviço, por doente. O mapa é posteriormente enviado para os sistemas semiautomáticos *Kardex* e FDS, que auxiliam na preparação da medicação. O *Kardex* é um equipamento com gavetas giratórias que contém os medicamentos com mais rotatividade, em que cada gaveta contém o mesmo medicamento e com o qual a preparação da DDDU é feita por medicamento. A FDS é um equipamento de embalagem que é utilizado para embalar formas farmacêuticas orais sólidas, como cápsulas e comprimidos. Esta faz a preparação da medicação por doente, ao contrário do que acontece com o *Kardex*, e é utilizada para medicamentos com menos rotação. Estes sistemas semiautomáticos permitem diminuir o tempo gasto e reduzir erros na preparação da medicação. Consequentemente, permitem melhorar a qualidade dos serviços prestados e uma melhor gestão dos stocks nas unidades de distribuição (4).

Como mencionado anteriormente, a distribuição é preparada para cada doente na sala de dose unitária e a partir do armazém 12, que abrange toda a medicação da sala de distribuição, *Kardex* e FDS. Esta é preparada em cassetes/gavetas individualizadas etiquetadas com o nome, número de processo, serviço clínico, cama e data da distribuição. Nas situações em que existem doentes no mesmo serviço com nomes semelhantes, coloca-se uma etiqueta com o aviso “Nomes Idênticos” na cassette, de modo a diminuir o risco de trocas de medicação. Cada cassette está dividida em 4 partes nas quais se separa os medicamentos da manhã, do almoço/tarde, do jantar/noite e SOS. A única exceção a esta repartição é o serviço de Psiquiatria cujos medicamentos vão divididos da seguinte forma: manhã, almoço, tarde, jantar/noite/SOS. Quando é necessário distribuir medicamentos de dimensões maiores, que não cabem nas cassetes, estes são etiquetados da mesma forma que a cassette do doente e são transportados nas caixas de apoio respetivas a cada serviço clínico. Quando é necessário enviar um medicamento de frio deve ser colocado uma etiqueta com essa indicação na cassette do doente. Qualquer alteração feita ao plano terapêutico deve ser validada e comunicada aos TSDT pelos farmacêuticos para que a cassette seja modificada de acordo com as alterações feitas na prescrição. No final é feita a conferência das cassetes para confirmar que toda a medicação está de acordo com os planos terapêuticos validados (4).

Posteriormente, os medicamentos são imputados e os módulos da dose unitária são entregues aos serviços clínicos pelos AO nos horários definidos com os serviços. Adicionalmente, existem horários estabelecidos para entrega de pedidos urgentes aos serviços clínicos, sendo os AO responsáveis por estas entregas. Caso os serviços clínicos necessitem de medicação fora destes horários, cabe aos AO do respetivo serviço ir aos SF levantar o medicamento (4).

Os medicamentos que não são administrados nos serviços clínicos são devolvidos aos SF. Se estes estiverem em bom estado e dentro do prazo de validade, são revertidos informaticamente no nome do doente ou do serviço e podem ser distribuídos novamente. Medicamentos de algumas classes terapêuticas, como imunomoduladores e antineoplásicos, necessitam de registo do lote antes de serem imputados ou revertidos, de modo a garantir a sua rastreabilidade (4).

Alguns doentes, devido a disfagia ou outros problemas de saúde, necessitam a colocação de sonda nasogástrica (SNG) ou sonda de gastrostomia endoscópica percutânea (PEG). Tendo em conta que para administrar os medicamentos de formulação sólida oral é necessário dissolvê-los e que nem todos os medicamentos podem ser partidos ou triturados, os farmacêuticos deste setor adicionam nas observações da prescrição as indicações para dissolução do medicamento ou indicação de medicamento alternativo, caso este não possa ser administrado desta forma. Durante a minha permanência no setor de dose unitária, confirmei e adicionei, conforme necessário, as informações de administração de medicamentos através de SNG e PEG para consulta pela equipa de enfermagem.

### **3.5. Distribuição de Medicamentos em Regime de Ambulatório**

Os SF fazem a dispensa gratuita de medicamentos em ambulatório, preparam medicação para o Hospital de Dia e fazem a distribuição de medicamentos sujeitos a circuitos especiais de distribuição como os MEP e Hemoderivados.

A dispensa de medicamentos em regime de ambulatório abrange os medicamentos legislados ou autorizados pelo CA do hospital e permite que os medicamentos dispensados sejam comparticipados na totalidade, o que não acontece em farmácia comunitária. A terapêutica de algumas patologias, por exemplo, a esclerose múltipla, é sujeita a dispensa gratuita quanto cedida numa farmácia hospitalar (10). Também pode ser efetuada a dispensa gratuita de medicamentos não abrangidos pela legislação se o CA aprovar, após consideração da CFT do hospital. Neste âmbito, podem ser providenciadas autorizações genéricas ou por patologia, ou autorizações individuais por doente (4).

Os medicamentos destinados ao tratamento de doentes com espondilite anquilosante, artrite reumatoide, artrite psoriática, artrite idiopática juvenil poliarticular e psoríase em placas são comparticipados se dispensados em farmácia hospitalar. Os SF podem ceder estes medicamentos biológicos a doentes de outras instituições de saúde, públicas ou privadas e os doentes devem

fazer-se acompanhar da respetiva prescrição eletrónica impressa com a indicação do número de consulta certificada (11). Em 2021, os medicamentos antipsicóticos do grupo II, prescritos por médicos especialistas, também passaram a ser dispensados gratuitamente pelas instituições de saúde pertencentes ao SNS (12). Excepcionalmente, os SF podem dispensar gratuitamente medicamentos que são normalmente dispensados em farmácia comunitária, porém, isto apenas se aplica em casos de necessidade económica comprovada ou, quando em caso de emergência, as farmácias comunitárias locais não forem capazes de dispensar esses medicamentos. Adicionalmente, existe um procedimento especial para a dispensa da talidomida devido ao seu potencial teratogénico, de modo a evitar exposição durante a gravidez e monitorizar outros riscos clínicos do fármaco. Desde o início da pandemia, os SF disponibilizam um programa de acesso em proximidade que permite aos doentes levantar a medicação numa farmácia hospitalar mais próxima do seu local de residência (13).

A dispensa de medicação para administração no domicílio a partir do ambulatório é uma vantagem, tanto para os doentes como para o hospital, pois permite reduzir as despesas associadas ao internamento hospitalar e evitar os riscos a que os doentes internados estão sujeitos, nomeadamente, infeções nosocomiais. A dispensa de medicamentos em ambulatório tem de ser realizada por farmacêuticos hospitalares, com apoio de um sistema informático, numa área reservada e separada do resto da farmácia, com acesso pelo exterior, de modo a que a privacidade e confidencialidade dos doentes seja assegurada (6).

A dispensa dos medicamentos é efetuada com base numa receita médica eletrónica (14). Essa prescrição aparece no sistema informático de uso interno no CHUCB, após o médico emitir ou renovar a prescrição. O farmacêutico valida a prescrição antes de fazer a dispensa, devendo confirmar sempre com o doente ou cuidador o nome completo e data de nascimento, e pedir um documento de identificação. Deve também confirmar a identificação do médico prescriptor, serviço em que foi feita a prescrição, medicamentos prescritos, forma farmacêutica, dosagem, posologia, quantidade e verificação da medicação dispensada anteriormente (data da dispensa e quantidade dispensada para avaliar a adesão à terapêutica). A validação das prescrições é uma forma de assegurar a segurança do doente, verificar se é cumprida a política do medicamento em vigor no CHUCB.

A dispensa é feita através do sistema informático que fornece informação sobre o médico prescriptor, centro de custo, informações do doente, data da prescrição e data agendada para a próxima consulta, medicamentos dispensados anteriormente (data da dispensa e custo respetivo), legislação ou autorização do CA ao abrigo da qual se faz a dispensa, observações relevantes sobre o utente e sobre a dispensa dos medicamentos. É necessário introduzir no sistema informático a quantidade dispensada e respetivo lote, de modo a garantir a rastreabilidade, garantir que se fez a dispensa do medicamento correto e para se conseguir fazer uma melhor gestão de existências nos SF. Os medicamentos são imputados por doente e com associação a uma consulta. Geralmente, deve ser feita a dispensa de medicação suficiente para

apenas um mês de tratamento, no entanto, devido à pandemia por COVID-19, o INFARMED autorizou os Serviços Farmacêuticos Hospitalares a dispensar medicação para períodos maiores com o intuito de diminuir a ida dos doentes ao hospital. No CHUCB, são cedidos, no máximo, medicamentos para 3 meses, tendo sempre em conta a data da próxima consulta, stock disponível e adesão à terapêutica do doente. É possível calcular a quantidade de medicação a dispensar com base na duração do tratamento e/ou data da próxima consulta.

Ao dispensar a medicação é importante fazer o aconselhamento farmacêutico, adaptando o discurso ao doente, e nos casos de primeira dispensa de um fármaco devem ser fornecidos folhetos informativos com informação como modo de administração, cuidados a ter, possíveis efeitos adversos, medidas não farmacológicas importantes e condições de armazenamento. Além disso, podem ser colocados pictogramas para auxiliar na compreensão da informação cedida. Um aconselhamento adequado permite que o doente faça a toma correta do medicamento, permite obter um melhor resultado do tratamento e lembra o doente da importância da adesão à terapêutica. Tive a oportunidade de acompanhar diversas dispensas de medicação a utentes, o que me ajudou a perceber como funciona o procedimento de dispensa, como funciona o SGICM e como se deve fazer um aconselhamento correto.

Na primeira dispensa, o doente assina um termo de responsabilidade no qual se compromete a aderir à terapêutica e em que se compromete a usar o medicamento de forma adequada. Quando o tratamento tem um valor mais avultado, o doente é sensibilizado para o custo total do mesmo com o objetivo de promover, uma vez mais, a adesão à terapêutica e reduzir o desperdício. Os medicamentos dispensados devem ser adequadamente embalados e identificados com o nome e número de processo do utente. Nas observações é registado se foi o próprio doente a levantar a medicação ou se foi outra pessoa a levantar e também se regista qualquer outra informação relevante como situações em que é cedida medicação para mais tempo como, por exemplo, por motivo de consulta próxima (4).

Os farmacêuticos hospitalares fazem a monitorização individual, por exemplo, registo de reações alérgicas, adesão à terapêutica e verificação de interações entre qualquer medicação nova que o doente inicie e a medicação habitual que este faça. Durante a minha permanência no setor de ambulatório fiz a verificação de interações para um início de terapêutica com anastrozol e para um início de terapêutica com isoniazida e piridoxina, incluindo as modificações que se poderiam fazer para evitar as interações detetadas. Todos os dias é efetuada a conferência das dispensas feitas no dia anterior, em que se avalia o medicamento, lote, centro de custo e quantidade cedida. Os documentos internos de seguimento farmacoterapêutico são atualizados diariamente com o registo da data de dispensa do medicamento e quando deverá ser a dispensa seguinte, com associação ao número de processo e nome do doente. No CHUCB faz-se o seguimento de fármacos ou planos terapêuticos com características passíveis de uma monitorização mais rigorosa. Por exemplo, faz-se o seguimento de doentes com VIH, tuberculose, hepatite B ou C, esclerose múltipla e doentes que fazem certos fármacos como fármacos biológicos, citotóxicos,

antipsicóticos injetáveis, entre outros. Durante o estágio pude fazer o seguimento farmacoterapêutico dos doentes e avaliar a adesão à terapêutica com base nas datas de dispensa, observações guardadas no SGICM e quantidade de medicamento dispensado anteriormente.

A sala onde é efetuada a dispensa de medicação aos doentes também é utilizada para armazenar os medicamentos, organizados por ordem alfabética e ordem crescente de dosagem, permitindo assim um acesso mais rápido aos mesmos. Na sala existem dois armários refrigerados para armazenamento de medicamentos termolábeis. Existe um cofre metálico com fechadura dupla para armazenamento dos MEP e alguns hemoderivados, e um armário para armazenamento de antipsicóticos. Para facilitar a dispensa dos medicamentos e poupar espaço de armazenamento na sala, há um sistema semiautomático de dispensa de medicamentos, o *Consis*. Contudo, este apresenta algumas desvantagens pois não dispensa os medicamentos com validade mais curta primeiro e não aceita embalagens grandes. Na sala há ainda outro armário, organizado com gavetas, destinado ao armazenamento dos restantes medicamentos cuja dimensão da embalagem ou abertura prévia não permite que sejam colocados no *Consis*.

Semanalmente, os Assistentes Operacionais (AO) fazem a contagem de existências, cujas irregularidades são posteriormente verificadas pelos farmacêuticos hospitalares. No mesmo dia é feito o pedido de reposição de existências ao Armazém Central da Farmácia (armazém 10) para o Armazém do Setor de Ambulatório (armazém 20), sendo esta transferência realizada no dia seguinte (4). Durante o meu estágio tive a oportunidade de auxiliar os AO na execução da contagem de existências, realizar a verificação da contagem de existências feita anteriormente pelos AO e participar na regularização de existências de modo a garantir a qualidade da atividade farmacêutica no CHUCB.

### **3.5.1. Outros circuitos de distribuição no setor de ambulatório**

O setor de ambulatório assegura a distribuição dos medicamentos para o Hospital de Dia, que são administrados por profissionais de saúde habilitados. A medicação para o Hospital de Dia é preparada diariamente, após indicação da equipa de enfermagem de quem são os doentes que vão realizar tratamento. Podem ser os próprios doentes a levantar a medicação ou ela é enviada para o Hospital de Dia através de um colaborador (4). A maioria dos medicamentos dispensados são medicamentos para doentes oncológicos de administração injetável como o ácido zoledrónico. Durante o estágio pude colaborar na preparação dos medicamentos destinados ao Hospital de Dia, o que me ajudou a aprender a localização dos medicamentos no setor de ambulatório, protocolo de dispensa no SGICM e procedimentos internos associados.

Para além disso, os SF dispensam os medicamentos prescritos nas consultas externas. Neste contexto são dispensados gratuitamente medicamentos prescritos nas consultas de Planeamento Familiar (15). Geralmente, o serviço tem o produto a administrar em stock e depois é feita uma constituição de stock. O medicamento é imputado por doente e, por esta razão, deve ser registado o lote que foi administrado e não o lote do medicamento dispensado para reposição de stock.

### **3.5.1.1. Circuito especial de Hemoderivados**

Todas as requisições clínicas, distribuição aos serviços e administração de medicamentos derivados do plasma humano aos doentes devem ser registados num impresso próprio (Modelo n.º 1804), exclusivo da Imprensa Nacional – Casa da Moeda, S.A. (10). Este impresso é constituído por duas vias, a “via farmácia” e a “via serviço”, autocopiables e divide-se em três quadros:

- Quadro A – Identificação do médico prescritor e doente;
- Quadro B – Requisição e justificação clínica;
- Quadro C – Registo de distribuição.

Quando se recebe a requisição é necessário confirmar o preenchimento correto dos quadros A e B pelo médico prescritor, que deve ter o apoio clínico de um especialista em imunohemoterapia em situações como requisição de fatores de coagulação ou fibrinogénio para confirmar a requisição (4).

Em cada impresso só pode ser prescrito um fármaco. O farmacêutico deve calcular a quantidade do fármaco que é necessário dispensar com base dos dados fornecidos pelo médico como a dose a administrar ou calcular essa dose com base no peso do doente. O farmacêutico deve preencher o Quadro C, onde fica registado o número de cedência (sequencial), lote, laboratório ou fornecedor e o número de identificação oficial de lotes de medicamentos de origem biológica, emitido pelo INFARMED e que permite validar a segurança do hemoderivado. A pessoa que recebe o hemoderivado deve assinar o impresso e as vias são separadas. Quando é um doente a levantar, ambas as vias ficam na farmácia. Se quem levanta o hemoderivado é um AO de um serviço clínico, a via serviço é levada e arquivada no processo do doente nesse serviço (4).

Após a dispensa, o farmacêutico tem de fazer a imputação do hemoderivado, associado ao doente, com identificação do número do processo. Tive a oportunidade de fazer este tipo de imputação diversas vezes durante o estágio.

Caso os produtos cedidos não sejam administrados devem ser obrigatoriamente devolvidos aos SF no prazo de 24 horas, tendo em conta as condições de conservação presentes na embalagem. Deve fazer-se a anotação da devolução na “via farmácia”, registando o número de embalagens devolvidas e o número de registo da devolução (4).

Todos os dias é feita a validação das dispensas de hemoderivados do dia anterior. É importante confirmar o nome do doente e número de processo, centro de custo, fármaco, quantidade dispensada, lote dispensado e Certificado de Autorização de Utilização de Lotes (CAUL) de medicamentos derivados do sangue ou plasma humano. Durante a minha permanência no ambulatório tive a oportunidade de fazer esta conferência diariamente.

O serviço de imunohemoterapia possui um armazém avançado (armazém 94) com um stock de hemoderivados fixo e pode ceder estes medicamentos quando há uma situação emergente e os SF

não estão disponíveis, fazendo depois uma requisição para constituição de stock. O farmacêutico tem de fazer a validação das dispensas posteriormente, validando o lote e respetivo certificado, assinar o original da requisição e atribuir o número de distribuição. A imputação é feita a partir do armazém 94 em nome do doente (4).

### **3.5.1.2. Circuito especial de Medicamentos Estupefacientes e Psicotrópicos**

Os MEP são cedidos em ambulatório nos SF mediante a apresentação do Anexo X (Modelo n.º1509), de venda exclusiva da Imprensa Nacional – Casa da Moeda S.A. e aprovado pelo INFARMED. O impresso de requisição deve estar devidamente preenchido pelo enfermeiro e assinado pelo Diretor do Serviço que requer o medicamento ou substituto legal. Esta cedência é uma reposição de stock após administração a um doente e, deste modo, deve ser registado o nome do fármaco, dosagem, forma farmacêutica e nome do doente, n.º do processo, quantidade/dose administrada, data de administração e assinatura do enfermeiro que fez a administração. O mesmo impresso só pode ser usado para um medicamento/dosagem/forma farmacêutica, mas pode conter a identificação de vários doentes. Após validação da requisição e a cedência pelo farmacêutico, que prepara a medicação e identifica os lotes cedidos, o impresso é assinado por quem recebe os medicamentos. Cada ficha de requisição é constituída por duas vias, o original e o duplicado, autocopiables. Estas são separadas, sendo que o original fica na farmácia e o duplicado vai para o serviço clínico. O farmacêutico faz a imputação dos MEP por serviço, e não por doente como acontece com os outros medicamentos, com o registo dos lotes cedidos. Quando ocorre uma quebra de stock por acidente ou validade reduzida num dos serviços clínicos, esta deve ser registada e assinada por dois enfermeiros antes de fazerem a requisição para reposição de stock (4).

Os MEP ficam armazenados nos Pyxis™, nos serviços que destes dispõem, e os farmacêuticos do setor de ambulatório são responsáveis por fazer a reposição de stock dos mesmos quando são atingidos os níveis mínimos ou para assegurar o stock durante o fim de semana, sendo esta reposição imputada ao armazém 107. Tive a oportunidade de acompanhar e auxiliar a reposição de stock dos Pyxis™ com o objetivo de garantir um stock adequado para assegurar as necessidades durante o fim de semana.

O stock de MEP nos Pyxis™ pode ser consultado, em tempo real, no computador ligado ao sistema Pyxis™ presente no armazém 10 dos SF. O sistema informático pode dar um alerta quando ocorrer rutura de stock ou quando se atinge uma quantidade crítica. Este sistema semiautomático faz a emissão da listagem de consumo por doente, que substitui o Anexo X. Em caso de não conformidades na listagem, o serviço tem de entregar o Anexo X nos SF com todas as informações necessárias para que exista um comprovativo de consumo (4).

A validação das dispensas de MEP do dia anterior é feita diariamente por um farmacêutico, sendo essencial confirmar o centro de custo, fármaco, quantidade dispensada e lote dispensado. Além disso, também se confirma se o impresso se encontra bem preenchido, com todos os campos

assinhalados, existindo assim uma dupla validação. Durante a minha permanência no ambulatório fiz a validação das cedências de MEP diariamente.

Todos os documentos relacionados com a cedência de MEP são organizados pela Assistente Técnica e assinados pela Diretora dos SF do CHUCB. A Assistente Técnica elabora um Mapa Geral de Estupefacientes e Psicotrópicos, que é enviado ao INFARMED a cada trimestre (4).

Os MEP ficam armazenados em gavetas próprias dos Pyxis™ ou em cofres metálicos com fechadura dupla sendo os seus stocks conferidos todas as semanas no armazém 10, 11 e 20. Quando se deteta uma irregularidade repete-se a contagem do medicamento em causa. Caso a não conformidade permaneça, faz-se uma análise de todos os consumos, transferências, devoluções e respetivos registos para que se encontre a causa do erro e este possa ser corrigido. No final, cria-se um mapa de existências de produtos por armazém que é assinado e arquivado por um farmacêutico e pela Assistente Técnica. Adicionalmente, nos SC, o(a) Enfermeiro(a) Chefe de cada serviço clínico verifica o stock de MEP diariamente (4).

Os farmacêuticos hospitalares verificam e atualizam as existências de MEP dos serviços clínicos (quantidade, lote e prazos de validade) todos os meses, o que torna possível fazer a transferência de embalagens com validade reduzida para os serviços de maior consumo, minimizando o desperdício. Todo o processo é registado em impresso próprio para controlo de stocks de MEP dos SF (4).

## **4. Farmacotecnia**

Na última década houve uma diminuição dos medicamentos produzidos em âmbito hospitalar. Atualmente, as preparações executadas pelo setor de Farmacotecnia dos SF reservam-se ao tratamento de doentes de grupos especiais, preparações com necessidade de manipulação assética, preparações de citotóxicos e outras preparações estéreis e reembalagem de doses unitárias sólidas. Deste modo, continua a ser necessário assegurar que se produzem preparações seguras e eficazes (6).

No CHUCB, o setor de Farmacotecnia é responsável por:

- Preparação de medicamentos citotóxicos;
- Preparação da nutrição parentérica (NP) e de outras preparações estéreis;
- Preparação de manipulados não estéreis;
- Reembalagem de medicamentos.

O setor de Farmacotecnia também é responsável pela farmacovigilância de alguns medicamentos (doxorrubicina lipossómica peguilada, cabazitaxel e transtuzumab emtansina) e pela realização de Consultas Farmacêuticas.

Nos SF dos CHUCB, a preparação de estéreis é realizada por um farmacêutico e a preparação de não estéreis é executada por um TSDT sob supervisão e posterior validação por um farmacêutico afeto ao setor de Farmacotecnia.

Semanalmente, os AO fazem a contagem das existências do armazém 13, que diz respeito aos medicamentos e produtos de saúde do setor de farmacotecnia. Auxiliei na realização desta contagem semanal de existências (4).

## **4.1. Preparação de Formulações Estéreis**

As preparações estéreis devem ser manipuladas em áreas limpas, na qual a entrada de materiais e pessoal é feita por pré-salas de modo a evitar contaminações. Deve ser sempre feita uma dupla verificação dos medicamentos, consumíveis e documentação para minimizar a ocorrência de erros (6,16).

### **4.1.1. Preparação de Medicamentos Citotóxicos e Biológicos**

Os medicamentos citotóxicos devem estar separados dos outros medicamentos e produtos farmacêuticos pelo risco que acarreta a sua manipulação. Devem estar devidamente identificados e sinalizados, e devem ser armazenados em local apropriado para evitar quebras/derrames acidentais. Todo o pessoal envolvido no circuito dos medicamentos citotóxicos deve ter formação adequada (16). Existe rotatividade dos farmacêuticos responsáveis pelo setor de Farmacotecnia devido aos riscos associados à exposição a citotóxicos.

No CHUCB, a preparação dos medicamentos citotóxicos para todo o hospital é feita numa unidade centralizada. Esta unidade possui um sistema modular de salas limpas Misterium®, constituído por pré-sala e sala de preparação. Na sala de preparação existe uma Câmara de Fluxo de Ar Laminar Vertical (CFLV), Classe II, tipo b que assegura a proteção do produto, do operador e do ambiente. A CFLV contém dois filtros HEPA (*High Efficiency Particulate Air*), um deles filtra o fluxo de ar que entra na zona de trabalho e o outro filtra o ar que sai para o exterior. A sala de preparação deve ter uma pressão negativa (<0 mmH<sub>2</sub>O) e a pré-sala deve estar a uma pressão superior à pressão atmosférica (>1 mmH<sub>2</sub>O). Esta diferença de pressão entre as salas garante que os aerossóis dos medicamentos citotóxicos não saem da sala de preparação durante a manipulação ou em caso de derrame. A sala de preparação do sistema modular possui um transfer de dupla porta que impede a abertura em simultâneo da porta interna e externa e, deste modo, assegura que é mantida a pressurização da sala e o ambiente assético. Diariamente é feito o registo da temperatura e pressão da pré-sala e sala de preparação e é verificado se os valores estão dentro do definido antes de se iniciarem as preparações (4).

O circuito de preparação de medicamentos citotóxicos é iniciado com a prescrição médica, que é realizada após a avaliação do doente pelo médico. A prescrição deve indicar a identificação do doente (nome e número do processo), parâmetros relevantes para calcular as doses terapêuticas certas como o peso, altura, área de superfície corporal, creatinina e clearance de creatinina. Deve

também referir o protocolo terapêutico e a fase do tratamento (linha terapêutica, número do ciclo, dia do ciclo). A equipa de enfermagem faz a confirmação dos doentes que fazem quimioterapia nesse dia para que se proceda à preparação dos medicamentos (4).

Tal como acontece no setor de dose unitária, as prescrições médicas têm de ser validadas para maximizar a segurança e eficácia da terapêutica e para assegurar que as normas aprovadas no hospital são cumpridas (16). Deve ser confirmada a identificação do doente e do médico prescriptor, a data da prescrição e deve ser confirmado se o protocolo/esquema terapêutico prescrito está de acordo com o historial clínico do doente. Tive a oportunidade de assistir à validação das prescrições médicas.

A dose para cada medicamento é calculada pelo sistema informático com base nos parâmetros do doente e na fórmula previamente definida. Semanalmente, o farmacêutico efetua a verificação da exatidão dos cálculos do SGICM, sendo escolhido um protocolo de forma aleatória e feitos os cálculos da dosagem dos medicamentos para o doente em questão. Acompanhei a verificação dos cálculos das doses de dois protocolos diferentes.

A compatibilidade entre os medicamentos citotóxicos e as soluções de diluição são avaliadas aquando a elaboração do protocolo de quimioterapia para evitar que se coloque em risco a segurança, eficácia e estabilidade do medicamento. No setor de farmacotecnia existe uma tabela de compatibilidade entre os medicamentos citotóxicos e as soluções de diluição para usar quando é necessário fazer a reconstituição dos fármacos. Dependendo do medicamento, estes podem ser diluídos e/ou reconstituídos em glucose 5%, cloreto de sódio 0,9% ou água para soluções injetáveis.

Depois de validar a prescrição, o farmacêutico deve fazer a emissão, em duplicado, do formulário de citotóxicos, que deve assinar. Um dos formulários é enviado com a quimioterapia e fica com a equipa de enfermagem, e o outro é enviado para que seja assinado pelo enfermeiro responsável e é reenviado para os SF. No formulário consta a identificação do doente, parâmetros físicos, diagnóstico, protocolo de quimioterapia, número e dia do ciclo de tratamento, medicamentos a preparar (DCI e dosagem), via de administração, volume do solvente no qual é diluído e tempo de administração. Adicionalmente, deve imprimir os rótulos para identificar as embalagens dos medicamentos citotóxicos. No rótulo deve constar a identificação o doente, fármaco e dosagem, forma e data de preparação, via de administração do medicamento e prazo de validade. Deve ter a designação “CITOTÓXICO”, sublinhada com marcador amarelo fluorescente para captar a atenção. É organizado todo o material (bombas perfusoras, filtros, seringas), soluções de diluição e fármacos necessários para proceder à preparação da quimioterapia, que são colocados no transfer, previamente desinfetados com álcool a 70%. São sempre registados os lotes, validades e quantidades que se vão utilizar e é feita uma dupla verificação (4).

A CFLV deve ser ligada cerca de 30 minutos antes de ser utilizada para que o fluxo de ar possa estabilizar. Antes de entrar na pré-sala, o operador deve retirar a bata e quaisquer acessórios como

relógios ou brincos. Coloca a touca, máscara P2/P3 e protetores de sapatos, e faz a lavagem asséptica das mãos. Veste uma bata esterilizada, desinfeta as mãos e coloca umas luvas próprias para a manipulação de citotóxicos. Depois pode entrar na sala de preparação (4).

É feita a desinfecção da CFLV com álcool a 70% esterilizado antes de se começarem as preparações. Na CFLV só devem estar os medicamentos para a preparação da medicação de um doente, de modo a minimizar a ocorrência de erros e de contaminações cruzadas, e para o operador ter mais espaço para trabalhar.

Na preparação é aconselhado utilizar seringas com sistemas de conexão *luer-lock* e de tamanho superior ao volume a aspirar, de modo a que o volume aspirado ocupe, no máximo, 75% da seringa. Sempre que possível é recomendada a utilização de spikes em alternativa às agulhas, pois minimizam o risco de acidentes durante a manipulação, simplificam a aspiração e reconstituição dos fármacos, têm sistema de conexão *luer-lock*, possuem um filtro de ar de 0,2 µm que reduz a libertação de aerossóis e um filtro de 5 µm que remove partículas contaminantes que possam estar na solução e têm uma válvula antirrefluxo. Se existirem frascos com remanescentes de medicamento, cuja estabilidade permita que sejam utilizados em preparações posteriores, estes são guardados na SLV ou no frigorífico para reduzir o desperdício (4).

Assim que a preparação é concluída, é embrulhada em papel de alumínio, coloca-se o rótulo e a preparação é colocada no transfer. Na sala exterior, depois de se fazer a validação das preparações novamente, é colocada a sinalética respetiva tendo em conta a agressividade do fármaco, as preparações são colocadas num saco transparente em conjunto com o formulário para a equipa de enfermagem e, por fim, coloca-se num saco autoadesivo apropriado para acondicionar citotóxicos. Os sacos são colocados numa maleta hermética com termoacumulador, etiquetada com “Transporte de Citotóxicos”, e são enviados para o Hospital de Dia, onde o enfermeiro responsável assina o formulário e aponta a hora da receção da quimioterapia (4).

No setor de Farmacotecnia também é efetuado o seguimento farmacoterapêutico dos doentes que fazem quimioterapia, no qual é feita a monitorização das doses cumulativas de medicamentos citotóxicos. Quando o doente atinge a dose cumulativa máxima, contacta-se o médico para que ajuste a terapêutica.

Os resíduos de citotóxicos e material contaminado são considerados resíduos hospitalares específicos (Grupo IV), que devem ser incinerados, e devem ser colocados em saco vermelho identificado como “Lixo Citotóxico”. Todos os materiais cortantes ou perfurantes utilizados têm de ser colocados em contentores amarelos rígidos (*biobox*), que é depois colocado num saco vermelho. A embalagem de acondicionamento secundário e folhetos informativos podem ser colocados em saco preto (resíduos de Grupo I) (4).

Nem todos os medicamentos citotóxicos preparados na CFLV se destinam a quimioterapia. Durante o meu estágio também tive a oportunidade de assistir à preparação de cefuroxima

(cataratas), bevacizumab (edema da retina), metotrexato (artrite reumatoide, gravidez ectópica) e de uma solução oral de hidroxycarbamida para uso pediátrico.

Durante a minha permanência no setor de Farmacotecnia tive a oportunidade de colaborar na organização do material, soluções de diluição e medicamentos para as preparações. Assisti à preparação dos medicamentos citotóxicos e ajudei o operador a partir da sala exterior sempre que necessário. Também pude colocar a sinalética adequada e acondicionar as preparações para envio posterior para o Hospital de Dia. Adicionalmente, fiz os cálculos dos tempos de preparação e entrega da terapêutica de cada doente do dia e do tempo médio de preparação e entrega de todas as preparações do dia.

Em caso de derrame, estão disponíveis kits para contenção de derrame de citotóxicos, devidamente identificados, em todos os locais dos SF que fazem parte do circuito de medicamentos citotóxicos. Nos SF do CHUCB, existem kits de contenção de derrame de citotóxicos na divisão onde se encontra a sala modular de preparação de citotóxicos, na receção e dentro da sala de preparação de citotóxicos. A utilização destes kits deve ser efetuada por pessoal com formação específica e este tipo de formação deve ser dado a todos os profissionais intervenientes no circuito dos medicamentos citotóxicos. Os kits de derrames devem incluir: procedimento de utilização do kit, material de demarcação (sinalética e/ou fita de restrição de acesso), luvas para manusear citotóxicos, máscara de proteção respiratória (P2 ou P3), óculos de segurança, touca, bata com reforço à frente, proteção para calçado, material absorvente (compressas e resguardos), espátula ou pá, pinça para recolha de vidros, soro fisiológico para irrigação, detergente alcalino, contentor amarelo rígido para cortantes, saco do lixo vermelho e um formulário de registo do acidente/derrame. Depois de utilizado, o kit deve ser reposto de imediato (16). Em caso de exposição accidental, existe um chuveiro de emergência e um lava-olhos nos SF. O profissional afetado deve ser observado por um médico e o acidente deve ser registado através do preenchimento do formulário presente no kit e seguindo as normas em vigor no hospital. A averiguação das causas dos derrames e exposição accidental indica quais as causas mais comuns e, assim, é possível instituir medidas para evitar que estes acidentes aconteçam (4).

## **4.2. Preparação de Nutrição Parentérica e Outras**

### **Preparações Estéreis**

É considerada nutrição parentérica (NP) o aporte de nutrientes por via endovenosa e está recomendada no caso de doentes que não se alimentam o suficiente para suprirem as suas necessidades energéticas. Esta pode ser total, quando contém as quantidades apropriadas de todos os nutrientes essenciais, ou parcial, quando apenas contém parte dos nutrientes. Para escolher a nutrição terapêutica mais indicada, o médico faz a avaliação do estado nutricional do doente com base em parâmetros clínicos, biológicos e biofísicos (17).

A constituição das bolsas de NP faz com que estas sejam favoráveis a contaminação microbiológica pelo que sempre que houver necessidade de aditivar ou manipular estas bolsas, o

processo deve ser conduzido em meio asséptico. Assim, para garantir a esterilidade, a reconstituição e aditivação das bolsas de NP é feita na Câmara de Fluxo Laminar Horizontal (CFLH) existente num segundo sistema de salas limpas modulares Misterium®, semelhante ao sistema de salas limpas modulares para preparação de citotóxicos. O sistema de salas para preparação de nutrição parentérica e outras formulações estéreis é constituído por uma pré-sala, com pressão entre 1 e 2 mmH<sub>2</sub>O, e uma sala de preparação, com pressão entre 3 e 4 mmH<sub>2</sub>O, ambas com temperatura abaixo de 25°C. Diariamente é feito o registo da temperatura e pressão da pré-sala e sala de preparação, tal como acontece com as salas para preparação de citotóxicos. A CFLH possui um filtro HEPA que filtra o ar que entra na zona de preparação e que cria um fluxo de ar horizontal, que estabelece uma pressão positiva na zona de trabalho e, deste modo, protege o produto de contaminação microbológica. A CFLH não é utilizada unicamente na preparação de NP, mas também é utilizada para a preparação de outras formulações estéreis, como por exemplo, colírios (4).

No caso da NP também é necessário existir uma prescrição médica eletrónica. O farmacêutico faz a validação da prescrição tendo em atenção a identificação do doente, composição da nutrição prescrita, posologia, dosagens, inexistência de incompatibilidades e interações, seguindo sempre as indicações do fabricante. É necessário fazer as requisições das bolsas de NP ao armazém 10 através do SGICM. São registados os lotes das bolsas de NP e de todos os aditivos, caso se aplique e, seguidamente, é emitida a ficha de preparação e os rótulos (4).

As bolsas de NP são constituídas por 3 compartimentos isolados correspondentes à solução de glucose monohidratada, emulsão lipídica e solução de aminoácidos com eletrólitos. Estes compartimentos encontram-se selados para que seja garantida a estabilidade durante o prazo de validade. As bolsas Nutriflex® (Braun) possuem duas portas, uma delas é a porta para a infusão e a outra é a porta por onde se realizam as aditivações. As bolsas Olimel® (Baxter) para além destas duas portas, possuem uma porta cega resultante do enchimento do compartimento dos lípidos.

A CFLH deve ser ligada aproximadamente 30 minutos antes de iniciar a manipulação. Este tipo de câmara só deve ser utilizado para trabalhar com produtos não perigosos e que não tenham tendência a formar aerossóis, visto que a filtração do ar é condicionada pelos movimentos do operador perto da câmara. Todo o material é preparado e colocado no transfer. A reconstituição e aditivação das bolsas de NP devem ser executadas sempre de acordo com as indicações do fabricante e é importante ter em conta a ordem de reconstituição e adição, tipo de aditivos que podem ser adicionados e limites quantitativos máximos dos aditivos (4).

Após a preparação, faz-se o controlo de qualidade no qual se avalia a integridade da bolsa, inexistência de partículas em suspensão, ausência de precipitação ou separação de fases e verifica-se o rótulo. A preparação é depois considerada conforme ou não conforme. Caso seja considerada como “não conforme” deve ser justificado o motivo (4).

As bolsas são colocadas em sacos fotoprotetores com o respetivo rótulo e são armazenadas na câmara frigorífica até que sejam transportadas para o serviço clínico requisitante. Após a reconstituição, as bolsas têm 7 dias de validade se permanecerem no frio e, quando saem do frigorífico, têm mais 48 horas de estabilidade à temperatura ambiente. Contudo, a validade das bolsas depende do laboratório que as produz. Quando as bolsas de NP não são administradas, e se ainda estiverem dentro do prazo de validade, podem ser reaproveitadas para se minimizar o desperdício. Faz-se uma nova rotulagem e é alterada a imputação para um novo doente. À sexta-feira são preparadas bolsas de NP para assegurar o fim de semana (4).

No CHUCB existem 4 bolsas de NP disponíveis para prescrição e que variam no seu aporte calórico, composição quantitativa e veia de administração (veia central ou veia periférica). As bolsas de NP para administração por via central ou por via periférica diferem na osmolalidade. As bolsas administradas por veia central têm uma osmolalidade mais elevada, sendo que uma bolsa para administração periférica pode ser administrada por veia central, mas o contrário não é possível devido ao risco de tromboflebite. Por este motivo, a veia de administração deve estar realçada no rótulo.

Durante o estágio tive a oportunidade de fazer a reconstituição de uma bolsa Olimel<sup>®</sup>, a qual não foi necessário manipular na câmara e em que se rompem todos os selos em simultâneo. Além disso, pude fazer a reconstituição e aditivção de uma bolsa de NP Nutriflex<sup>®</sup> na CFLH. Para tal foi necessário romper primeiro o selo que separa o compartimento dos aminoácidos e da glucose, adicionar os oligoelementos, romper o selo do compartimento dos lípidos e adicionar as vitaminas. Durante este processo é importante homogeneizar bem a mistura e avaliar a estabilidade (precipitação ou separação de fases) após a mistura/adição de cada componente.

#### **4.2.1. Controlo de Qualidade**

Para garantir a segurança e eficácia dos medicamentos preparados é necessário que exista um sistema de qualidade implementado ao longo de todo o circuito dos medicamentos. É efetuado controlo de qualidade na preparação de citotóxicos, preparação de nutrição parentérica, preparação de outros produtos estéreis e na preparação de manipulados não estéreis (4).

Inicialmente, é verificado se os medicamentos a preparar são os que estão prescritos e indicados no rótulo. Verifica-se o lote, prazo de validade, integridade das embalagens, inexistência de partículas em suspensão, separação de fases e/ou formação de precipitado, se aplicável. Quando o medicamento está preparado é feita a confirmação da ausência de partículas em suspensão e/ou separação de fases, a integridade da embalagem e verifica-se a conformidade do rótulo. É sempre feita uma dupla validação das preparações e é feito o registo de conformidade informaticamente e não informaticamente. Na existência de uma não conformidade, esta é descrita no verso da folha de registo e ficha de preparação e deve ser devidamente justificado o motivo da rejeição da preparação (4).

É efetuado o controlo de qualidade a nível microbiológico dos produtos e do espaço de trabalho com a periodicidade indicada na tabela 1.12 (4):

Tabela 1.12 - Controlos microbiológicos realizados no setor de Farmacotecnia e respetiva periodicidade.

<b>Controlo microbiológico</b>	<b>Periodicidade</b>
<b>Controlo do produto</b>	Semanal
<b>Controlo de amostras de superfície</b>	Quinzenal
<b>Controlo das “dedadas” da luva</b>	Quinzenal
<b>Controlo de ar passivo</b>	Quinzenal

O controlo do produto é efetuado semanalmente. É enviada uma amostra, em duplicado, da preparação final. No caso das bolsas de NP são enviadas duas seringas de 5 mL. Estas amostras são depois enviadas para o serviço de patologia clínica com o respetivo impresso. No caso dos citotóxicos, devido ao perigo da sua manipulação, não são enviadas amostras destas preparações. Em alternativa são enviadas duas amostras de uma mistura de água para preparações injetáveis com cloreto de sódio (NaCl) 0,9%, abertas e aspiradas na CFLV, para simular a manipulação assética da preparação de citotóxicos. Para fazer o controlo microbiológico de ambas as câmaras (superfície) utiliza-se uma zaragatoa embebida em meio de cultura que são passadas por dois locais da câmara, sendo a área de trabalho um controlo obrigatório e o outro controlo varia semanalmente. Também é feito um controlo microbiológico das salas de preparação, sendo enviada uma amostra das paredes, que variam de controlo para controlo. Adicionalmente, é feito o controlo das “dedadas” da luva, no qual o operador pressiona gentilmente os dedos de cada mão, com a luva, em placas de gelose de sangue distintas para cada mão. Finalmente, para o controlo de ar passivo são necessárias duas placas com meio gelose sangue, em que uma é deixada aberta na câmara previamente limpa e a outra é deixada fechada para servir como controlo e são retiradas após 4 horas. São registados os resultados, previamente assinados pelo técnico responsável pela análise, que ficam arquivados nos SF (4).

Durante o estágio tive a oportunidade de assistir à colheita de amostras para controlo do produto e amostras para controlo de superfície, em que todos os resultados das análises foram negativos ( $UFC < 1$ ).

### **4.3. Preparação de Manipulados Não Estéreis**

No CHUCB, a preparação dos manipulados não estéreis é efetuada por um TSDT, devidamente equipado, no laboratório de Farmacotecnia. Os farmacêuticos afetos ao setor de Farmacotecnia têm a responsabilidade de supervisionar e validar a preparação.

Primeiramente, pode ser o serviço clínico ou outro setor dos SF a fazer uma requisição ou pode ser uma emitida uma prescrição médica. O farmacêutico valida o pedido, tendo em atenção as dosagens das substâncias ativas, ausência de incompatibilidades e interações entre componentes e avalia se o manipulado e quantidades pedidas se adequam ao serviço requisitante (4).

É criada uma guia de produção no SGICM que indica o serviço requisitante, identificação do doente (se aplicável), via de administração, quantidades de cada matéria-prima, armazém de saída, lotes, certificados de análise das matérias-primas e material de acondicionamento. É gerada uma ficha de preparação, feita com base no Formulário Galénico Português (FGP) e é impresso o rótulo, em duplicado (4).

A ficha de preparação indica todas as matérias-primas a utilizar e deve ser indicado o lote, prazo de validade e origem da matéria-prima. Também descreve toda a técnica de preparação e ensaios de verificação a efetuar no final da preparação.

Antes de se iniciar a preparação é feita a verificação da limpeza do laboratório, material e equipamento. No laboratório, o material está dividido em dois grupos, o material destinado à preparação de formulações de uso interno (etiquetado a verde) e o material para utilização na preparação de formulações de uso externo (etiquetado a vermelho), que se encontram armazenados em armários separados. Os manipulados de uso externo e de uso interno também são preparados em zonas separadas. Os SF do CHUCB produzem água purificada para uso interno. Esta é utilizada na preparação de manipulados para uso externo. Por uma questão de segurança do doente, nas formulações de uso interno é usada água para preparações injetáveis (4).

Após a preparação devem ser feitos os ensaios de verificação presentes no FGP, que possam ser efetuados no laboratório de Farmacotecnia. É obrigatório fazer a verificação das características organolépticas (cor, odor, aspeto) e a determinação do pH de todas as formulações destinadas a uso interno. Se não existir um valor de referência presente na literatura, deve ser definido um intervalo de referência interno tendo em conta os valores obtidos previamente para a mesma formulação. O farmacêutico também valida os cálculos, matérias-primas e quantidades utilizadas. Se estiver tudo conforme a preparação é embalada e rotulada. Tive a oportunidade de fazer a validação de manipulados preparados por um TSDT como, por exemplo, o Xarope de Hidrato de Cloral a 10% (m/v).

É importante que o rótulo indique o prazo de validade atribuído, condições de conservação, precauções e cuidados e via de administração. Caso se destine a uso externo, deve estar etiquetado com “Uso Externo” em fundo vermelho. Uma cópia do rótulo é colocada na ficha de preparação e este também deve ser validado (4). As embalagens devem ser identificadas com pictogramas indicativos do grau de toxicidade do manipulado:

- Sinalética verde: Toxicidade Reduzida;
- Sinalética amarela: Toxicidade Moderada;

- Sinalética vermelha: Toxicidade Elevada.

Mensalmente, faz-se a contagem das matérias-primas do laboratório (armazém 10), processo no qual tive a oportunidade de colaborar. Durante o estágio também fiz uma listagem dos manipulados preparados nos SF do CHUCB e respetiva indicação terapêutica.

#### **4.4. Reembalagem de Medicamentos**

O setor de Farmacotecnia tem a responsabilidade de fazer a reembalagem e rotulagem de medicamentos. A reembalagem de medicamentos tem como objetivos (4,6):

- Garantir que o medicamento reembalado está disponível para ser utilizado com rapidez e segurança;
- Proteger o medicamento reembalado de fatores ambientais;
- Permitir que os SF tenham o medicamento disponível na dose individualizada, de modo a facilitar a sua utilização na distribuição por dose unitária;
- Assegurar que o medicamento reembalado está devidamente identificado.

O processo de reembalagem é somente usado nos medicamentos de formulação oral sólida e é principalmente usado quando os medicamentos precisam de ser fracionados ou quando são de acondicionamento multidose. Contudo, se a reembalagem causar alterações nas características farmacológicas do medicamento, este não deve ser reembalado (4).

Nos SF do CHUCB existe uma sala de Reembalagem dividida em 3 áreas: a área de fracionamento e desblisteração, a área de reembalados não conferidos e a área de reembalados conferidos. Nesta sala existe uma máquina semiautomática de reembalagem (MSAR), que é utilizada na reembalagem de medicamentos fotossensíveis e/ou citotóxicos por utilizar uma película fotoprotetora, e uma FDS, usada na reembalagem de outros fármacos (4).

Antes de se iniciar o processo de reembalagem, os equipamentos e a área de trabalho devem ser devidamente limpos com álcool a 70%. Deve ser verificada a integridade do medicamento a reembalar e, caso o medicamento esteja acondicionado em blister, deve ser feita desblisteração. Esta deve ser efetuada de forma a garantir a estanquicidade, proteção do ar e luz, e proteção mecânica. Adicionalmente, deve ser reembalado um medicamento de cada vez para evitar contaminações cruzadas e erros na reembalagem. A validade atribuída ao medicamento após reembalagem é 6 meses, exceto se a validade original for inferior a esse período, sendo que nessas situações permanece a validade original. Quando é necessário reembalar comprimidos fracionados estes devem ser devidamente rotulados com um pictograma identificativo da fração reembalada para minimizar a ocorrência de trocas (4).

No CHUCB, a reembalagem é feita por um TSDT e é posteriormente validada por um farmacêutico afeto ao setor de Farmacotecnia, que vai confirmar, a partir do documento de registo, o princípio ativo, forma farmacêutica, dosagem, quantidade, lote, laboratório e/ou distribuidor, validade original, validade após reembalagem, rótulo e faz a verificação da manga. Ao documento de

registo, que fica arquivado, são anexadas as cartonagens das embalagens dos medicamentos originais e uma saqueta de reembalagem vazia e rotulada para que possam servir de comprovativo dos dados validados. A reposição de medicamentos na FDS também é validada pelo farmacêutico. Qualquer não conformidade nestes processos deve ser corrigida.

Durante a minha permanência no setor de Farmacotecnia pude fazer a validação da reembalagem de medicamentos na MSAR e FDS e também validei a reposição de medicamentos na FDS.

## **5. Farmácia Clínica**

A Farmácia Clínica é uma áreas de atuação dos farmacêuticos na qual estes promovem o uso racional dos medicamentos, prestam cuidados de saúde ao doente através da prevenção de doenças, promoção da saúde e otimização da terapêutica medicamentosa (18). Nesta área, o farmacêutico integra e colabora com a equipa clínica e faz o acompanhamento dos doentes nos serviços clínicos para otimização dos cuidados de saúde prestados, o que é de extrema importância devido à elevada incidência de mortalidade e morbidade associada com os medicamentos (6). Adicionalmente, as atividades afetas à Farmácia Clínica incluem ainda a promoção do uso do Guia Farmacoterapêutico do CHUCB, controlo do tempo de antibioterapia e recurso a antibióticos de uso restrito, monitorização da utilização dos medicamentos, acompanhamento da nutrição artificial, monitorização do nível sérico de certos fármacos, monitorização da adesão à terapêutica, colaboração no desenvolvimento de guidelines e protocolos, atividades de farmacovigilância e transmissão de informação de medicamentos a outros profissionais de saúde e doentes.

### **5.1. Reconciliação Terapêutica**

A reconciliação terapêutica é um procedimento padronizado que envolve a obtenção do plano terapêutico atualizado dos doentes e comparação com a medicação prescrita aquando a admissão no internamento do hospital. Este método tem como objetivo identificar e resolver quaisquer disparidades que possam existir tanto na lista de medicamentos, como na dose, frequência e/ou via de administração, garantindo a segurança e eficácia da terapêutica. Assim, permite diminuir a quantidade de erros devido a omissões, duplicações e interações. A reconciliação terapêutica tem um impacto positivo não só a nível da saúde e segurança do doente, mas também a nível económico ao diminuir os internamentos por causas iatrogénicas (19).

No setor de dose unitária do CHUCB, é recolhida a medicação habitual do doente (DCI/nome comercial, dosagem, forma farmacêutica, posologia, via de administração) a partir do registo médico e/ou de enfermagem. Seguidamente, faz-se a comparação com a prescrição feita aquando a admissão no internamento. Qualquer discrepância relevante encontrada é colocada nas observações para o médico e, em casos mais complexos, o médico é contactado para esclarecimento e possível ajuste do plano terapêutico. Algumas discrepâncias no plano terapêutico podem ser intencionais e não um erro na prescrição, por exemplo, o estado clínico do

doente pode levar o médico a suspender a toma de alguns medicamentos habituais por motivo de contraindicação. As reconciliações terapêuticas e discrepâncias encontradas são registadas nos documentos internos do setor.

Para que os resultados da aplicação deste procedimento sejam os melhores, é importante que o doente ou cuidador seja informado das alterações feitas no seu plano terapêutico e que, no momento da alta, leve uma lista atualizada da sua medicação.

Durante a minha permanência no setor de dose unitária, fiz a reconciliação terapêutica dos doentes internados diariamente. A discrepância mais comum com que me deparei foi a omissão de medicamentos da medicação habitual do doente na prescrição feita no internamento. Existiram alguns casos de interações medicamentosas mais complexas, que necessitaram de deslocação ao serviço para falar com os médicos e/ou enfermeiros ou com o próprio doente para confirmar a medicação. Por exemplo, surgiu o caso de uma doente que estava a fazer quatro fármacos antidepressivos (trazodona, sertralina, duloxetine e mirtazapina) na sua medicação habitual, cuja toma concomitante pode desencadear síndrome serotoninérgica. Todos eles foram prescritos novamente aquando da admissão para internamento. Foi necessário contactar vários médicos para se conseguir alterar a prescrição e o problema foi sinalizado ao médico que seguia a doente em consulta externa. Este é um exemplo da importância do farmacêutico e da reconciliação terapêutica para a saúde e segurança dos doentes.

## **5.2. Acompanhamento Farmacêutico nas Visitas Clínicas**

Os farmacêuticos afetos ao setor de dose unitária têm a responsabilidade de acompanhar as visitas semanais aos serviços clínicos com o resto da equipa clínica. A equipa clínica é uma equipa multidisciplinar, cuja constituição pode variar dependendo do serviço e da qual fazem parte, para além do farmacêutico, médicos, enfermeiros, assistentes sociais, entre outros. Durante a visita clínica é feita uma apresentação do historial clínico do doente, diagnóstico e prognóstico, exames e intervenções realizadas e também se discute a terapêutica farmacológica, sendo assim essencial a presença do farmacêutico. O acompanhamento das visitas clínicas permite que o farmacêutico obtenha todas as informações relevantes acerca do estado clínico do doente, o que vai permitir otimizar o aconselhamento ao médico acerca do plano terapêutico.

Durante o estágio tive a oportunidade de acompanhar uma visita clínica ao serviço de Gastroenterologia, na qual a equipa clínica discutiu a situação clínica dos doentes internados naquele serviço.

## **5.3. Consulta Farmacêutica**

A Consulta Farmacêutica (CF) permite avaliar a adesão à terapêutica, detetar possíveis interações ou Reações Adversas a Medicamentos (RAM) e promover a literacia em saúde dos doentes.

Primeiramente, é necessário preparar a CF através da análise do historial clínico e registos médicos do doente. Aqui devemos registar diagnósticos prévios, situações de urgência ou internamento anteriores, medicação habitual descrita, respetiva pesquisa de interações e qualquer outra observação relevante.

A consulta requer a deslocação ao Hospital de Dia para falar com os doentes acerca de como se têm sentido desde que iniciaram o tratamento de quimioterapia e é importante confirmar se a medicação habitual apurada anteriormente é a que o doente está realmente a fazer. Também podemos dar folhetos informativos acerca dos medicamentos ao doente, oferecer aconselhamento não farmacológico e fornecer o contacto dos SF. Após a consulta, é elaborado um relatório para o médico responsável pelo doente com as informações apuradas na CF.

Enquanto estive no setor de Farmacotecnia, acompanhei a CF de dois doentes de Pneumologia. Tive a oportunidade de preparar a CF e fiz a atualização dos dados nas fichas de ambos os doentes após a mesma, para que a farmacêutica responsável pudesse proceder à escrita do relatório para a médica responsável.

## **5.4. Farmacovigilância**

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), a Farmacovigilância é a ciência e atividades relacionadas com a deteção, avaliação, compreensão e prevenção de efeitos adversos ou outros problemas relacionados com medicamentos. A Farmacovigilância tem como objetivos principais a prevenção de danos devido a reações adversas a medicamentos e a promoção da utilização segura e efetiva dos medicamentos (20). Em Portugal, o Sistema Nacional de Farmacovigilância (SNF) foi criado em 1992, sendo coordenado pelo INFARMED (21,22).

Os diversos setores dos SF do CHUCB fazem a farmacovigilância ativa de vários fármacos, sendo estes diferentes nos vários setores. Geralmente, são escolhidos fármacos sujeitos a monitorização adicional ou fármacos introduzidos recentemente no Guia Farmacoterapêutico do hospital. A lista de fármacos a monitorizar é atualizada anualmente. Para exemplificar, em 2022, no setor de dose unitária está a ser feita a monitorização da dapagliflozina, remdesivir, isavuconazol, baricitinib, tocilizumab e da associação de ceftazidima com avibactam.

A Farmacovigilância Ativa implica que exista uma intervenção mais proativa por parte do farmacêutico, que questiona o doente e/ou cuidador encarregue do doente sobre como este se tem sentido desde que iniciou tratamento com o medicamento monitorizado e se sentiu algum dos efeitos adversos do mesmo. Também pode consultar os registos médicos do doente, falar com os profissionais de saúde que o acompanham e obter informações relevantes durante as visitas clínicas. Com as informações recolhidas é preenchido um impresso de farmacovigilância com a descrição geral do medicamento (substância ativa, nome comercial, lote), informações sobre o doente (nome, nº de processo, idade, peso, altura e serviço em que se encontra internado). O impresso contém a lista de efeitos adversos do medicamento monitorizado dos quais devem ser

selecionados os que o doente sentiu, caso isso aconteça, ou registadas quaisquer observações relevantes (4).

Tive a oportunidade de fazer a farmacovigilância ativa do remdesivir e de preencher os respetivos impressos do Sistema de Farmacovigilância Ativa, sendo que dos doentes que avalei nenhum reportou efeitos adversos ao medicamento.

## **5.5. Farmacocinética Clínica**

A farmacocinética é utilizada a nível hospitalar para otimizar os cuidados farmacêuticos prestados aos doentes internados. Os fundamentos farmacocinéticos permitem fazer o ajuste das concentrações de fármacos de modo a encontrar a dosagem adequada, calcular a exposição ao fármaco e perceber como o fármaco se distribui a nível corporal. O farmacêutico hospitalar aplica os princípios farmacocinéticos na monitorização da concentração de fármacos, para reduzir toxicidade e obter um melhor efeito terapêutico, o que permite atingir concentrações terapêuticas ótimas e diminuir a mortalidade e morbilidade dos doentes por causa iatrogénica (23). A monitorização da concentração sérica dos fármacos é proveitosa quando o efeito terapêutico não pode ser avaliado clinicamente ou quando o fármaco tem uma janela terapêutica estreita (24).

O setor de dose unitária é o setor responsável pela monitorização das concentrações séricas dos fármacos e ajuste do esquema posológico. Monitorizam fármacos como a vancomicina, gentamicina e amicacina. Os farmacêuticos deste setor determinam qual a melhor posologia e dosagem para um doente tendo em conta as monitorizações séricas do fármaco e os parâmetros fisiológicos do doente, como a taxa de filtração glomerular (TFG). Cada fármaco tem um tempo ótimo para a colheita das amostras (concentração em vale, em pico, estado de equilíbrio estacionário), de forma a que a sua análise forneça a informação que se pretende. Por exemplo, para a análise das concentrações séricas da vancomicina a colheita da amostra deve ser feita antes de ser administrada uma nova dose de vancomicina (concentração sérica em vale).

A interpretação destes resultados é feita recorrendo ao software *Abbott PKS System* (PKS). Para esta análise é necessário ter em conta vários dados: idade, altura e peso do doente, creatinina, dose de fármaco administrada, datas da administração e a concentração sérica do fármaco num determinado momento. Isto possibilita ao PKS calcular os parâmetros farmacocinéticos (clearance, volume de distribuição e tempo de meia-vida), sendo possível estimar as concentrações séricas do doente. O objetivo é definir um esquema posológico que mantenha as concentrações séricas do fármaco dentro da janela terapêutica, ou seja, que permita evitar que se atinja uma concentração sérica do fármaco que seja tóxica para o doente ou uma concentração que não tenha efeito terapêutico. Após esta análise é feita ao médico uma proposta de esquema posológico adaptado ao doente, que este pode ou não aceitar.

Foi-me possível acompanhar a análise de esquemas farmacocinéticos para terapêuticas com vancomicina e tive a oportunidade de trabalhar com o PKS para estimar o esquema posológico mais adequado para um doente com osteíte do calcâneo.

## 6. Informação do Medicamento

Nos últimos anos houve um crescimento exponencial do número de medicamentos disponibilizados no mercado e é cada vez mais difícil para os profissionais de saúde estarem a par de toda a informação técnico-científica acerca dos mesmos. A criação de um Centro de Informação de Medicamentos (CIM) nos SF adveio da necessidade de analisar e compilar a informação pertinente para que esta seja transmitida aos profissionais de saúde e doentes. A transmissão da informação pode ser feita de forma ativa ou passiva (6).

A informação passiva compreende a resposta a perguntas colocadas pelos profissionais de saúde ou doentes. É feito o registo da informação prestada sobre medicamentos, no qual é preciso indicar quem fez a questão, que tipo de questão foi feita, qual o meio de resposta (verbal ou escrita), o tempo de resposta, a questão, sobre que medicamento era a questão, a resposta que foi facultada, bibliografia consultada e o farmacêutico responsável. Este registo permite que a resposta possa ser dada de forma mais rápida se a questão for colocada de novo. Durante a minha permanência no setor de dose unitária fiz o registo de duas perguntas feitas por médicos, sendo elas as seguintes: “Qual/Quais as alternativas terapêuticas ao calcitriol (esgotado no mercado naquele momento) para terapêutica de um doente com hipoparatiroidismo?” e “É necessário ajuste do esquema posológico de metronidazol 250 mg em comprimidos num doente com uma clearance de creatinina de 23 mL/min?”. Fiz a pesquisa necessária para resposta a perguntas sobre interações entre medicamentos, sobre ajustes posológicos em doentes com insuficiência renal e sobre a possibilidade de um certo efeito adverso se dever a uma terapêutica nova que o doente iniciou.

A informação ativa é facultada por iniciativa do CIM através da elaboração de folhetos informativos para os doentes, documentos e newsletters disponibilizados para os profissionais de saúde do CHUCB na intranet. São disponibilizados documentos sobre a reconstituição de medicamentos, listas de medicamentos perigosos ou com maior risco de erro, como os LASA (“*Look Alike – Sound Alike*”). As newsletters quadrimestrais dos SF abordam temas que são novidade ou com necessidade de melhor esclarecimento como, por exemplo, “Descontinuação de Inibidores de Bomba de Protões” e “Ajuste de dose à insuficiência renal de citotóxicos injetáveis”. Também são indicados os medicamentos e outros produtos de saúde que foram incluídos no Guia Farmacoterapêutico do CHUCB. Durante a minha estadia no setor de ambulatório elaborei folhetos informativos dos seguintes medicamentos: Rezolsta® (darunavir + cobicistate, 800mg + 100mg, comprimidos revestidos por película), Xeljanz® (tofacitinib, 11mg, comprimidos de libertação prolongada) e Zejula® (niraparib, 100mg, cápsulas). Fiz uma formação interna acerca do procedimento a seguir em caso de derrame de citotóxicos e elaborei um fluxograma resumo

deste procedimento a seguir, dentro e fora da Câmara de Fluxo Laminar Vertical (CFLV), para colocar nos kits de derrames de citotóxicos dos SF e facilitar o seguimento do processo em caso de derrame (Anexo 1.2.). Adicionalmente, auxiliei na atualização de uma tabela de uso interno com a conversão de mL em gotas das soluções orais existentes nos SF do CHUCB.

## **7. Comissões Técnicas Hospitalares**

As comissões técnicas hospitalares são órgãos consultivos, de apoio ao Conselho de Administração, que visam assegurar a qualidade dos serviços prestados na instituição. Estas são compostas por profissionais especializados na área em questão.

Existem várias comissões técnicas no CHUCB, contudo, neste relatório irei abordar aquelas nas quais os farmacêuticos têm um papel significativo, focando-me mais na CFT, que foi a comissão com a qual tive mais contacto durante o estágio.

A Comissão de Farmácia e Terapêutica faz a união entre a atividade médica à atividade farmacêutica. Esta comissão engloba na sua composição três farmacêuticos, três médicos, um gestor, representantes da logística hospitalar e um administrativo. Tem como objetivo principal promover o uso seguro e racional de medicamentos na instituição, bem como garantir a aplicação de estratégias custo-efetivas e uniformidade dos critérios aplicados. No CHUCB, a CFT reúne semanalmente e as deliberações e informações são divulgadas a partir de notas internas (4).

Entre as responsabilidades da CFT incluem-se (4):

- Elaboração, atualização e garantia do cumprimento do guia farmacoterapêutico no CHUCB;
- Promoção da elaboração de protocolos terapêuticos;
- Divulgação de normas de orientação clínica;
- Emissão de pareceres e relatórios de medicamentos a incluir ou excluir do guia farmacoterapêutico;
- Validação de pedidos de terapêutica caso a caso;
- Monitorização de novos tratamentos.

O Grupo de Coordenação Local do Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e Resistência aos Antibióticos (GCL-PPCIRA) também é constituído por uma equipa multidisciplinar, da qual têm de fazer parte um dos farmacêuticos pertencente à CFT, e que reúne mensalmente. Esta comissão tem como propósito a promoção do uso correto dos antimicrobianos, diminuição de infeções hospitalares e a redução de resistências microbianas. São os membros do GCL-PPCIRA que avaliam as prescrições de antibióticos sujeitos a justificação obrigatória (4).

A Comissão de Ética (CE) é um órgão obrigatório nas instituições públicas, com autonomia técnica e científica. A equipa multidisciplinar que a constitui dá apoio consultivo ao Conselho de Administração (CA) e reúne sempre que convocada. No momento, a CE do CHUCB é presidida

por um farmacêutico hospitalar. A CE visa a que sejam cumpridos os princípios éticos e bioéticos nas atividades exercidas no CHUCB, prestação de cuidados de saúde e no âmbito da investigação clínica (4).

Durante o meu estágio tive a possibilidade de acompanhar a realização de um Pedido de Acesso Precoce (PAP) através do portal SIATS (Sistema de Informação para a Avaliação das Tecnologias de Saúde) para obtenção de financiamento do tratamento com sotorasib de uma doente com cancro do pulmão de não pequenas células (CPNPC) avançado com KRAS G12C mutado e acompanhei a redação do respetivo relatório para apresentação à CFT.

Também acompanhei a redação de um relatório para pedido caso a caso à CFT de início de uma terapêutica com daratumumab em associação com lenalidomida e dexametasona para tratamento de mieloma múltiplo em doente não elegível para transplante autólogo.

Elaborei uma listagem de doentes com VIH tratados no CHUCB de 2017 a 2022, com a respetiva identificação, terapêutica inicial e data da primeira dispensa para apoio à CFT. Fiz uma listagem dos doentes, dos serviços de Reumatologia e Gastroenterologia, a realizar tratamento com adacatumab, infliximab e etanercept, respetivas marcas comerciais e médico prescriptor, também para apoio à CFT.

## **8. Ensaios Clínicos**

Os SF do CHUCB possuem um Setor de Ensaios Clínicos (SEC), para o qual está reservado um gabinete e ao qual estão afetos farmacêuticos em tempo parcial. No momento do meu estágio só estava a decorrer um ensaio clínico.

Os farmacêuticos afetos a este setor têm a responsabilidade de participar nas reuniões dos ensaios clínicos ou relacionadas, devem colaborar com a equipa para que sejam definidos procedimentos internos e devem gerir os medicamentos experimentais (receção, armazenamento, dispensa e devolução) (4).

No gabinete do SEC são feitos os atendimentos dos participantes dos ensaios clínicos e é neste local que ficam guardados os medicamentos experimentais pertencentes aos ensaios clínicos, em armários fechados e com acesso restrito, e separados dos outros medicamentos. É feita a monitorização e registo dos valores de temperatura e humidade do gabinete diariamente. No gabinete existe uma câmara frigorífica com fechadura (SEC FRIO) para armazenamento de medicamentos experimentais termolábeis (2-8°C). O SEC inclui também 4 armários para armazenamento de documentos e medicamentos experimentais: SEC 1, SEC2, SEC3 e SEC4 (Tabela 1.13) (4).

Tabela 1.13 - Armários do SEC, conteúdo e observações relevantes.

<b>Armário</b>	<b>Conteúdo</b>	<b>Observações</b>
<b>SEC 1</b>	Armazenamento da medicação experimental dos ensaios clínicos em curso	Controlo de temperatura e humidade Armário está dividido por ensaio clínico e devidamente identificado
<b>SEC 2</b>	Medicação devolvida pelos participantes dos ensaios clínicos	O promotor recolhe estes medicamentos Armário está dividido por ensaio clínico e devidamente identificado
<b>SEC 3</b>	Toda a documentação relativa aos ensaios clínicos em curso e documentação geral do SEC	Exemplo de documentos: registos de medição de temperaturas, legislação
<b>SEC 4</b>	Documentação relativa a ensaios clínicos encerrados	Este armário encontra-se no gabinete da Diretora dos SF

Inicialmente, os SF devem garantir que são satisfeitas as condições necessárias para a realização do ensaio clínico. É feita uma reunião inicial com o promotor para que se conheçam os protocolos e características do ensaio clínico. Seguidamente, é avaliada a documentação e são criados os documentos para controlo interno (4).

A medicação só pode ser rececionada por um farmacêutico afeto ao SEC. Cada kit de remessa possui um código específico que é utilizado na conferência mensal dos stocks e na prescrição médica. Esta é armazenada de acordo com as indicações do fabricante e procedimentos estipulados. A temperatura é continuamente controlada e registada através de sonda e *data logger*. Caso exista algum desvio na temperatura ou humidade, o medicamento fica em quarentena e o promotor é contactado para avaliar se o medicamento ainda pode ser administrado ou se é devolvido para destruição (4).

O médico faz a prescrição, em formulário específico, e atribui o código do kit de remessa ao doente. A prescrição é validada pelo farmacêutico. Caso a prescrição não esteja de acordo com as indicações do ensaio clínico deve ser contactado o investigador responsável. Ao validar a prescrição é feita a dispensa da medicação ao participante, sendo importante fornecer toda a informação necessária para o uso correto do medicamento, incluindo informação verbal e escrita (folhetos informativos), e lembrar a importância de levar as embalagens vazias e medicação excedente para a consulta seguinte para que possa ser avaliada a adesão à terapêutica. Idealmente, deve ser feita uma dupla validação da dispensa (4).

Se o doente devolver medicação ao SEC esta deve ser contabilizada e armazenada no armário SEC 2. Esta é devolvida ao promotor de acordo com as indicações estabelecidas no protocolo do ensaio clínico. O promotor pode recolher estes medicamentos para contabilizar e destruir ou pode pagar ao CHUCB para fazer a destruição, o que é comum com medicamentos experimentais que exibam alguma perigosidade (4).

Todas as receções, dispensas e devoluções de medicamentos experimentais são registadas e os registos são arquivados. Quando o ensaio clínico é encerrado, a documentação geral (por exemplo, contactos e protocolo) e a documentação específica (por exemplo, instruções para os pacientes e formulários de contabilização da medicação por participante) ficam arquivados no armário SEC 4 durante 15 anos (4).

## **9. Sistema de Gestão de Risco**

O Sistema de Gestão de Risco institui estratégias que visam reduzir a ocorrência de erros durante o circuito do medicamento. Estas estratégias, descritas de seguida, permitem aumentar a segurança do doente e reduzir os encargos resultantes de erros relacionados com medicamentos. É feita a identificação, através de sinalética nos locais de armazenamento e embalagens, de medicamentos com potencial para originar equívocos e de medicamentos, que devido ao seu potencial de causar dano, carecem de uma maior atenção.

Para reconhecer fármacos disponíveis em várias dosagens e para distinguir a toxicidade dos manipulados com embalagens idênticas utilizam-se cores diferentes, por exemplo, o rótulo de “toxicidade reduzida” ou “dosagem mais baixa” é verde e um rótulo de “toxicidade elevada” ou “dosagem mais elevada” é vermelho. Os medicamentos com embalagens idênticas, quando armazenados em proximidade são identificados com um rótulo de “embalagens idênticas”. Para diferenciar os medicamentos LASA mais facilmente, utiliza-se o método de inserção de letras maiúsculas e o sublinhado, por exemplo, BETAmetasona e DEXAmetasona. Medicamentos de elevado risco para o doente também estão devidamente sinalizados com o rótulo “potencialmente perigosos” e são armazenados separadamente e em armário fechado nos serviços clínicos, como é o caso das soluções concentradas de eletrólitos. Medicamentos fotossensíveis têm um revestimento individual e possuem rótulos de cor ou revestimento do local de armazenamento (por exemplo, gavetas protegidas da luz). Foi implementada a utilização de rótulos informativos nas embalagens externas dos medicamentos para minimizar erros de administração, como a identificação de medicamentos de frio e a colocação de um aviso de “diluição obrigatória” nas soluções de eletrólitos concentradas. Nos citotóxicos, após preparação, é colocada a sinalética respetiva tendo em conta a agressividade do fármaco: citotóxico neutro, citotóxico irritante ou citotóxico vesicante. Como mencionado anteriormente, se existirem doentes internados no mesmo serviço clínico com nomes semelhantes, as respetivas cassetes da medicação devem ter uma etiqueta de “nomes semelhantes” para o profissional de saúde estar atento e, assim, minimizar erros na preparação e/ou administração dos medicamentos (4).

Todas estas estratégias despertam uma maior atenção e incitam um maior cuidado aos profissionais de saúde e, deste modo, promovem a minimização de erros associados com medicação.

## 10. Sistema de Gestão de Qualidade

Tendo em conta a importância das atividades realizadas nos SF, a existência de um Sistema de Gestão de Qualidade (SGQ) é essencial ao seu correto funcionamento. Deve existir um objetivo de melhoria contínua e promoção do uso seguro e eficaz dos medicamentos (25,26). Para existir um sistema de Garantia de Qualidade é necessária a existência de procedimentos padronizados para todas as atividades realizadas pelos SF, que devem ser escritos, documentados e revistos e atualizados periodicamente (6). O farmacêutico hospitalar é responsável por assegurar o SGQ. Este depende da existência de indicadores de qualidade que permitam monitorizar o desempenho das atividades farmacêuticas. Estes indicadores permitem que exista um processo de melhoria contínua, que se pode realizar com base no ciclo de planeamento, execução, verificação e atuação ou PDCA (“*Plan-Do-Check-Act*”) (25).

Os SF do CHUCB seguem um SGQ e são certificados pela norma ISO 9001:2015 e acreditados pela *Joint Commission International* (JCI). Isto implica que sejam realizadas auditorias internas e externas com alguma frequência. As auditorias têm como objetivo assegurar que todos os processos estão em conformidade com o SGQ implementado, atuar para reduzir riscos e avaliar formas de melhoria. Após as auditorias é recebido um relatório que compila os resultados da auditoria realizada e que indica as medidas preventivas e corretivas que devem ser implementadas para corrigir discrepâncias que tenham sido verificadas (25). Durante o estágio assisti a uma auditoria interna e a uma auditoria externa feitas aos SF. Para além disso, pude acompanhar a auditoria interna ao circuito do medicamento, realizada pelos SF, ao Serviço de Endoscopia Digestiva e ao Hospital de Dia.

Existem vários indicadores de qualidade nos setores dos SF associados às várias atividades realizadas e nos quais tive a oportunidade de acompanhar e colaborar durante o estágio. No setor de Farmacotecnia, o tempo que demora desde a hora de confirmação da quimioterapia e a hora que a equipa de enfermagem recebe a quimioterapia é um indicador de qualidade, sendo que este período não deve exceder os 120 minutos. O controlo microbiológico também é um dos indicadores de qualidade, que corresponde ao número de ensaios negativos sobre o número total de ensaios realizados. A correção de erros detetados na validação da reposição e reembalagem é outro dos indicadores de qualidade. No setor de Ambulatório, a conferência diária das dispensas feitas no dia anterior é um indicador de qualidade. No setor de Dose Unitária, o cumprimento dos horários de entrega e o número de reconciliações terapêuticas feitas constituem indicadores de qualidade, tal como o número de monitorizações de efeitos adversos (farmacovigilância) feitas por trimestre e o número de perguntas respondidas pelo CIM. Ainda no setor de Dose Unitária, para atingir os objetivos de qualidade, o número de erros encontrados durante a conferência das cassetes destinadas à distribuição por dose unitária deve ser inferior a 0,4% por mês e, na

monitorização farmacocinética, devem ser aceites pelos médicos 90% ou mais das propostas de esquemas posológicos feitas pelos farmacêuticos. No setor de Aquisição e Logística, o registo das não conformidades na receção das encomendas é um indicador de qualidade, tal como o registo de todos os medicamentos rotulados. A percentagem de regularizações efetuadas após a contagem de existências deve ser inferior a 3% de modo a manter os objetivos de qualidade. Por fim, também conta para os indicadores de qualidade o número de reclamações feitas pelos SC acerca dos erros na satisfação dos pedidos efetuados para distribuição tradicional. Existem mais indicadores de qualidade para além dos mencionados.

## **11. Conclusão**

A realização do estágio curricular em Farmácia Hospitalar permitiu-me não só compreender como funcionam os SFH, mas também perceber a importância da atividade farmacêutica na garantia da prestação dos melhores cuidados de saúde possíveis aos doentes do hospital, seja no ambulatório ou no internamento.

Ao passar por cada um dos setores dos SF aprendi as funções realizadas em cada um e a sua importância. Aprendi também de que forma os vários setores dos SF se interligam entre si, com os serviços clínicos e com os doentes. Tive a possibilidade de realizar algumas tarefas com autonomia e pude auxiliar os farmacêuticos e, por vezes, os TSDT e AO, com as suas funções.

Tive a oportunidade de colaborar com uma equipa dinâmica e de participar ativamente em atividades farmacêuticas que seguem um sistema de qualidade exigente. Participei em visitas aos serviços clínicos e contactei com doentes e com outros profissionais de saúde.

Aumentei o meu espectro de conhecimento no que toca a medicamentos de uso exclusivo hospitalar e acerca de certas patologias e foi-me possível aplicar conhecimentos adquiridos durante o estágio curricular em Farmácia Comunitária nas atividades realizadas no âmbito da Farmácia Clínica.

Deste modo, concluo que a realização deste estágio é uma mais-valia no meu percurso profissional e que, independentemente da área que decidir seguir no futuro, o conhecimento que adquiri no decorrer deste estágio fará de mim uma melhor farmacêutica.

Agradeço a toda a equipa dos SF do CHUCB por me terem recebido tão bem, em especial, à minha orientadora de estágio, a Dr.<sup>a</sup> Maria Olímpia Fonseca.

## 12. Referências

1. Ordem dos Farmacêuticos. Farmacêuticos em Números. Accessed July 1, 2022. <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/numeros/>
2. Ordem dos Farmacêuticos. Farmácia Hospitalar - Áreas Profissionais. Accessed July 1, 2022. <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-hospitalar/>
3. Beira C da. Serviços Farmacêuticos – CH | Cova da Beira. Accessed July 1, 2022. <https://www.chcbeira.min-saude.pt/servicos-clinicos/servicos-farmaceuticos/>
4. Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHUCB. *Procedimentos Internos e Operativos*; 2022.
5. Ordem dos Farmacêuticos. Manual de Boas Práticas de Farmácia Hospitalar - Aquisição e Armazenamento. *Man Boas Práticas Farmácia Hosp.* Published online 2019:1-31. [https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/capitulo\\_b\\_manual\\_de\\_boas\\_praticas\\_de\\_farmacia\\_hospitalar\\_10322027965d07676coed23.pdf](https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/capitulo_b_manual_de_boas_praticas_de_farmacia_hospitalar_10322027965d07676coed23.pdf)
6. Ministério da Saúde. Manual da Farmácia Hospitalar. Published online 2005:69. [http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/PUBLICACOES/TEMATICOS/MANUAL\\_FARMACIA\\_HOSPITALAR/manual.pdf](http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/PUBLICACOES/TEMATICOS/MANUAL_FARMACIA_HOSPITALAR/manual.pdf)
7. INFARMED I.P. Deliberação n.º 105/CA/2007. Published online 2007:1-20.
8. Infarmed. Circular Informativa, n.º 174/CD/100.20.200 - Pedidos de Autorização de Utilização Excecional (AUE). Published online 2018:2018-2019. [www.infarmed.pt](http://www.infarmed.pt)
9. Ordem dos Farmacêuticos – Conselho do Colégio de Especialidade de Farmácia Hospitalar. Manual de Boas Práticas de Farmácia Hospitalar - Distribuição. *Man Boas Práticas Farmácia Hosp.* Published online 2021.
10. Diário da República. Legislação Consolidada - Portaria n.º 330/2016 - Diário da República n.º 242/2016, Série I de 2016-12-20 | DRE. 2016. Accessed May 9, 2022. <https://dre.pt/dre/legislacao-consolidada/portaria/2016-117114269>
11. Diário da República. Portaria n.º 48/2016 | DRE. 2016. Accessed May 6, 2022. <https://dre.pt/dre/detalhe/portaria/48-2016-73934158>
12. Diário da República. Despacho n.º 5609/2021 | DRE. 2021. Accessed May 9, 2022. <https://dre.pt/dre/detalhe/despacho/5609-2021-164706454>

13. Diário da República. Despacho n.º 4270-C/2020 | DRE. 2020. Accessed May 15, 2022. <https://dre.pt/dre/detalhe/despacho/4270-c-2020-131246680>
14. Diário da República. Despacho n.º 13382/2012 | DRE. 2012. Accessed May 9, 2022. <https://dre.pt/dre/detalhe/despacho/13382-2012-2178734>
15. Diário da República. Despacho n.º 12781/98 (2.ª Série) | DRE. 1998. Accessed May 13, 2022. <https://dre.pt/dre/detalhe/despacho/12781-3011500>
16. Ordem dos Farmacêuticos. *Manual de Boas Práticas de Farmácia Hospitalar - Manual de Preparação Citóxicos.*; 2013.
17. Pignatelli N. Alimentação parentérica - Monografia: indicações, modalidades e suas complicações. *Hosp Fernando Fonseca*. Published online 2008. <http://repositorio.hff.min-saude.pt/handle/10400.10/1279>
18. American College of Clinical Pharmacy. Definition of Clinical Pharmacy. Accessed May 25, 2022. <https://www.accp.com/stunet/compass/definition.aspx>
19. International Pharmaceutical Federation. Medicines reconciliation A toolkit for pharmacists. Published online 2021:6-27. [www.fip.org](http://www.fip.org)
20. European Medicines Agency. Guidelines on good pharmacovigilance practices (GVP). Published online 2022. Accessed May 26, 2022. [www.ema.europa.eu](http://www.ema.europa.eu)
21. Herdeiro MT. O Sistema Português de Farmacovigilância. Published online 2012. Accessed May 26, 2022. [www.actamedicaportuguesa.com](http://www.actamedicaportuguesa.com)
22. INFARMED IP. Farmacovigilância. Accessed May 26, 2022. <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/farmacovigilancia>
23. Shawahna R, *et al.* Views, knowledge, and practices of hospital pharmacists about using clinical pharmacokinetics to optimize pharmaceutical care services: a cross-sectional study. *BMC Health Serv Res.* 2021;22:411. doi:10.1186/s12913-022-07819-4
24. Suthakaran C, *et al.* Therapeutic Drug Monitoring – Concepts, Methodology, Clinical Applications and Limitations. *Heal Adm.* 2006;XIX(1):22-26.
25. Ordem dos Farmacêuticos – Conselho do Colégio de Especialidade de Farmácia Hospitalar. Manual de Boas Práticas de Farmácia Hospitalar - Processos de Suporte. *Man Boas Práticas Farmácia Hosp.* Published online 2018.

26. Joint Commission International. *Padrões de Acreditação Da Joint Commission International Para Hospitais*. 7th ed.; 2021.

# Anexos

## Anexo 1.1. Estratégia de pesquisa usada na revisão sistemática.

<u>PubMed</u>	<u>Web of Science</u>
1. 4beta-hydroxycholesterol – 149	1. 4beta-hydroxycholesterol – 5
2. 4beta-OH-cholesterol – 4	2. 4beta-OH-cholesterol – 0
3. 4-beta-hydroxycholesterol – 6	3. 4-beta-hydroxycholesterol – 196
4. 4betahydroxycholesterol – 123	4. 4betahydroxycholesterol – 0
5. Validation method – 616.607	5. Validation method – 370.196
6. Analytical method – 276.481	6. Analytical method – 456.966
7. Quantification – 189.607	7. Quantification – 382.447
8. (1 OR 2 OR 3 OR 4) AND (5 OR 6 OR 7) - 23	8. (1 OR 2 OR 3 OR 4) AND (5 OR 6 OR 7) – 25

## Anexo 1.2. - Fluxograma do procedimento a seguir no caso de derrame de citotóxicos elaborado durante o estágio.

