

**A oxidação da diosgenina no desenvolvimento
de novos agentes antitumorais**
**Experiência profissionalizante na vertente de
Investigação, Farmácia Comunitária e Hospitalar**

Micaela Matos Martins

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

Orientador: Prof. Doutor Samuel Martins Silvestre
Coorientadora: Mestre Vanessa Sofia Figueiredo de Brito

outubro de 2021

Dedicatória

Aos meus pais e irmão, que sempre acreditaram em mim ao longo desta jornada.

Agradecimentos

Com o culminar desta etapa de 5 anos, resta agradecer às pessoas que me acompanharam ao longo deste percurso académico.

Em primeiro lugar, demonstro o meu mais sincero agradecimento ao meu orientador, Professor Doutor Samuel Martins Silvestre, por ter aceitado acompanhar-me no desenvolvimento deste trabalho e pela partilha de conhecimento, dedicação, apoio, bem como incentivo nos momentos mais difíceis.

À minha coorientadora, Mestre Vanessa de Brito, pela simpatia, compreensão, paciência e disponibilidade para me auxiliar e esclarecer todas as dúvidas que iam surgindo.

Aos meus colegas de laboratório, por se mostrarem sempre disponíveis para me ajudar em qualquer situação e pela força dada para não desistir na primeira dificuldade. Um agradecimento especial ao Sérgio, pelo companheirismo e pela cooperação neste desafio.

À minha orientadora de estágio, Dr.^a Tânia Correia, pelo profissionalismo, pela exigência e por todo auxílio e empenho na transmissão de conhecimentos. Estou imensamente grata pela confiança que depositou em mim ao longo do meu estágio curricular. Será sempre uma referência enquanto farmacêutica. Mais do que uma tutora, revelou-se uma verdadeira amiga, que espero levar para o resto da vida.

À Dr.^a Diana Lopes e ao Dr. João Paiva, pelo carinho, boa disposição e contributo dado no meu processo de aprendizagem. Nunca esquecerei os seus ensinamentos.

Ao Pepe e à Cristina, pela amabilidade e simpatia com que me receberam na sua farmácia. A sua colaboração foi fundamental para o sucesso do estágio.

À equipa dos Serviços Farmacêuticos do Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira, por todos os conhecimentos transmitidos, bem como metodologia de trabalho abordada, a qual se caracteriza pelos mais altos padrões de excelência.

Aos meus pais e irmão, os grandes pilares da minha vida, a quem devo muito do meu sucesso, pelo amor, conselhos e força dada para continuar a lutar e a persistir. Sem eles, este percurso não seria possível. Ao resto da minha família, pelo apoio incondicional.

Aos meus amigos, pelas palavras de coragem e por todos os sorrisos e momentos inesquecíveis. Ao Ivan, por ter sempre acreditado em mim, até mesmo quando eu própria duvidava. À Ânia e à Mariana C., por estarem presentes em todas as etapas da minha vida. À Rita, Mariana G. e ao João, pelo companheirismo e pela motivação transmitida.

Resumo

O presente relatório encontra-se dividido em três componentes distintas. O primeiro capítulo descreve o trabalho de investigação intitulado “A oxidação da diosgenina no desenvolvimento de novos agentes antitumorais”, o qual foi desenvolvido no Centro de Investigação em Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior, sob orientação do Professor Doutor Samuel Martins Silvestre e coorientação da Mestre Vanessa Sofia Figueiredo de Brito. Os restantes capítulos abordam a experiência profissionalizante nas vertentes de Farmácia Comunitária e Farmácia Hospitalar.

O cancro é uma patologia com elevada morbilidade e mortalidade, cuja incidência tem vindo a aumentar ao longo dos anos. Atualmente são várias as terapias usadas para combater esta doença. Contudo, é bem conhecida a baixa eficácia e o surgimento de efeitos secundários severos, bem como o frequente aparecimento de resistências. Estas adversidades têm impulsionado a investigação no desenvolvimento de novos fármacos mais seletivos, potentes e seguros, designadamente partindo de produtos naturais com atividade antitumoral estabelecida. Assim, o presente trabalho de investigação teve como primeiro objetivo a síntese e purificação de derivados oxidados da diosgenina, uma sapogenina esteroide bem conhecida pela sua vasta diversidade de atividades biológicas, incluindo ação antitumoral. Posteriormente, procedeu-se à avaliação biológica dos mesmos através de um ensaio de viabilidade celular (MTT) e um ensaio enzimático. Entre os derivados obtidos, a $5\alpha,6\beta$ -dihidroxi-diosgenina foi o composto mais promissor nas células cancerígenas da próstata não responsivas a androgénios (PC-3) ($IC_{50}=15,22 \mu M$) e responsivas a androgénios (LNCaP) ($IC_{50}=23,24 \mu M$). Ambos os compostos sintetizados não afetaram tão significativamente a viabilidade das células cancerígenas da mama (MCF-7). Além disso, os compostos estudados não revelaram inibir eficazmente a enzima 5α -redutase, em comparação com a finasterida.

O segundo capítulo relata as principais atividades desenvolvidas no âmbito do estágio curricular em Farmácia Comunitária, o qual decorreu na Farmácia Modelar do Teixoso, entre 1 de março e 21 de maio de 2021, sob orientação da Dr.^a Tânia Correia e supervisão do Dr. João Paiva. Esta experiência permitiu-me conhecer as diversas responsabilidades e atividades atribuídas ao farmacêutico comunitário.

Todas as atividades realizadas durante o estágio em Farmácia Hospitalar estão descritas no terceiro capítulo. Este estágio decorreu nos Serviços Farmacêuticos do Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira, no período de 24 de maio a 9 de julho de 2021, sob orientação da Dr.^a Maria Olímpia Fonseca. Ao longo das 7 semanas, tive oportunidade de compreender a importância do farmacêutico em ambiente hospitalar.

Palavras-chave

Cancro; derivados de diosgenina; atividade antitumoral; viabilidade celular; inibição da 5 α -redutase; Farmácia Comunitária; Farmácia Hospitalar

Abstract

This report is divided into three distinct components. The first chapter describes the research work entitled “The oxidation of diosgenin in the development of new antitumor agents”, which was developed at the Center for Research in Health Sciences of the University of Beira Interior, under scientific supervision of Professor Samuel Martins Silvestre and Master Vanessa Sofia Figueiredo de Brito. The remaining chapters address the professional experience in the areas of Community Pharmacy and Hospital Pharmacy.

Cancer is a disease with high morbidity and mortality, whose incidence has been increasing over the years. Currently, there are several therapies used to fight against this disease. However, the low efficacy and the manifestation of severe side effects, as well as the frequent manifestation of resistance, are well known. These adversities have driven research into the development of new, more selective, potent, and safer drugs, namely based on natural products with established antitumor activity. Thus, the present research work had as its first objective the synthesis and purification of oxidized derivatives of diosgenin, a steroid sapogenin well known for its vast diversity of biological activities, including antitumor action. Subsequently, their biological evaluation was carried out through a cell viability assay (MTT) and an enzymatic assay. Among the derivatives obtained, $5\alpha,6\beta$ -dihydroxydiosgenin was the most promising compound in androgen-nonresponsive (PC-3) ($IC_{50}=15.22 \mu\text{M}$) and androgen-responsive (LNCaP) ($IC_{50}=23.24 \mu\text{M}$) prostate cancer cells. Both synthesized compounds did not markedly affect the viability of breast cancer cells (MCF-7). Furthermore, the studied compounds were not shown to effectively inhibit the 5α -reductase enzyme compared to finasteride.

The second chapter reports the main activities developed under the curricular internship in Community Pharmacy, which took place at Farmácia Modelar in Teixoso, between March 1 and May 21, 2021, under the guidance of Dr. Tânia Correia and the supervision of Dr. João Paiva. This experience allowed me to know the different responsibilities and activities assigned to the community pharmacist.

All activities performed during the internship in Hospital Pharmacy are described in the third chapter. This internship took place at the Pharmaceutical Services of the Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira, from May 24 to July 9, 2021, under the supervision of Dr. Maria Olímpia Fonseca. Over the 7 weeks, I had the opportunity to understand the importance of the pharmacist in the hospital environment.

Key Words

Cancer; diosgenin derivatives; antitumor activity; cell viability; 5 α -reductase inhibition;
Community Pharmacy; Hospital Pharmacy

Índice

Dedicatória	iii
Agradecimentos	v
Resumo	vii
Abstract.....	ix
Lista de Figuras	xvii
Lista de Gráficos	xix
Lista de Tabelas	xxi
Lista de Acrónimos	xxiii
Capítulo I: A oxidação da diosgenina no desenvolvimento de novos agentes antitumorais	1
1. Introdução.....	1
1.1 Cancro - generalidades	1
1.2 Biologia molecular do cancro	2
1.3 Abordagens terapêuticas atuais para o cancro e desenvolvimento de novos agentes antitumorais.....	5
1.4 Diosgenina – origem, estrutura e propriedades	7
1.5 Análogos semissintéticos da diosgenina com atividade antitumoral	11
2. Objetivos.....	15
2.1 Objetivo geral	15
2.2 Objetivos específicos.....	15
3. Materiais e Métodos	16
3.1 Síntese Química.....	16
3.1.1 Reagentes e solventes.....	16
3.1.2 Materiais e equipamentos	16
3.1.3 Técnicas de monitorização e purificação.....	17
3.1.4 Reações químicas.....	18
3.1.4.1 Reação de epoxidação da diosgenina: 5,6-epoxidiosgenina (C1).....	18
3.1.4.2 Reação de abertura do anel epóxido: espirostano-3 β ,5 α ,6 β -triol (C2)	19
3.1.4.3 Tentativa de reação de eliminação do álcool terciário com formação de um ciclohexeno: espirost-4-eno-3 β ,6 β -diol (C3)	20
3.1.4.4 Tentativa de reação de oxidação do 3 β -OH e do 6 β -OH: espirost-4-eno-3,6-diona (C4)	21
3.1.4.5 Reação de oxidação do 3 β -OH e 6 β -OH: 5 α -hidroxiespirostano-3,6-diona (C5)	22

3.2 Avaliação biológica	23
3.2.1 Materiais e Reagentes.....	23
3.2.2 Equipamentos	23
3.2.3 Ensaio de viabilidade celular	24
3.2.3.1 Linhas celulares	24
3.2.3.1.1 LNCaP	24
3.2.3.1.2 MCF-7.....	24
3.2.3.1.3 PC-3.....	25
3.2.3.2 Técnicas de Cultura Celular.....	25
3.2.3.2.1 Preparação dos meios de cultura	25
3.2.3.2.2 Manutenção das culturas celulares.....	26
3.2.3.2.3 Tripsinização.....	26
3.2.3.2.4 Contagem e sementeira celular.....	27
3.2.3.3 Preparação de soluções e incubação das células com os compostos.....	27
3.2.3.4 Ensaio MTT	28
3.2.4 Ensaio de inibição da enzima 5 α -redutase	30
3.2.4.1 Preparação de soluções	31
3.2.4.2 Incubação	31
3.2.4.3 Processamento das amostras	31
3.2.5 Análise estatística.....	32
4. Resultados e Discussão.....	33
4.1 Síntese Química.....	33
4.2 Avaliação biológica	37
4.2.1 Avaliação da viabilidade celular	37
4.2.1.1 LNCaP.....	37
4.2.1.2 PC-3.....	39
4.2.1.3 MCF-7	40
4.2.2 Determinação dos IC ₅₀ dos compostos sintetizados e comparação da sua ação nas diferentes linhas celulares	41
4.2.3 Ensaio enzimático	42
5. Conclusão e Perspetivas Futuras	44
6. Referências Bibliográficas	45

Capítulo II: Estágio em Farmácia Comunitária	51
1. Introdução.....	51
2. Organização da Farmácia Modelar.....	52
2.1 Recursos Humanos	52
2.1.1 Composição do quadro de pessoal da Farmácia	52
2.1.2 Funções de cada um dos seus elementos.....	52
2.2 Instalações e equipamentos.....	53
2.2.1 Espaço físico da Farmácia e divisões funcionais	53
2.2.2 Elementos interiores e exteriores da Farmácia	54
2.2.3 Equipamentos gerais e específicos.....	55
2.2.4 Recursos informáticos.....	55
3. Informação e documentação científica.....	56
4. Medicamentos e outros produtos de saúde.....	56
4.1 Principais sistemas de classificação usados em FC.....	56
4.2 Conceitos.....	57
4.3 Produtos disponíveis na Farmácia.....	58
4.4 Verificação da existência de qualquer medicamento ou produto de saúde e sua localização nas instalações da Farmácia.....	58
5. Aprovisionamento e armazenamento.....	58
5.1 Critérios para a seleção de um fornecedor/armazenista.....	59
5.2 Critérios de aquisição dos diferentes medicamentos e produtos de saúde	59
5.3 Armazenamento.....	59
5.4 Encomendas e devoluções	60
5.4.1 Criação de uma encomenda.....	60
5.4.2 Receção de uma encomenda	60
5.4.3 Devoluções	61
5.5 Margens legais de comercialização de preços.....	62
5.6 Controlo de prazos de validade.....	62
6. Interação Farmacêutico-Utente-Medicamento.....	62
6.1 Aspetos éticos, deontológicos e técnicos	62
6.2 Farmacovigilância.....	63
6.3 Reencaminhamento de medicamentos fora de uso.....	64
7. Dispensa de medicamentos	64
7.1 Prescrições médicas.....	64
7.1.1 Receção, leitura e confirmação da sua validade.....	64
7.1.2 Avaliação/Interpretação	66
7.1.3 Verificação farmacêutica (após a dispensa).....	66

7.2 Utilização da aplicação informática na dispensa de medicamentos.....	67
7.3 Regimes de participação	67
7.4 Dispensa de psicotrópicos/estupefacientes	68
7.5 Produtos ao abrigo de um protocolo.....	69
7.6 Dispensa de genéricos.....	69
7.7 Dispensa de medicamentos hospitalares	70
8. Automedicação	71
8.1 Distinção entre MSRM e MNSRM	71
8.2 Quadros sintomáticos que exigem cuidados médicos	72
8.3 Riscos de automedicação.....	72
8.4 Quadros que podem ser abordados com medidas não farmacológicas.....	72
8.5 Indicação farmacêutica de um MNSRM.....	73
9. Aconselhamento e dispensa de outros produtos de saúde.....	73
9.1 Produtos dermocosméticos e de higiene.....	73
9.2 Produtos dietéticos para alimentação	74
9.3 Produtos dietéticos infantis	74
9.4 Fitoterapia e suplementos nutricionais	75
9.5 Medicamentos e produtos de uso veterinário.....	76
9.6 Dispositivos médicos	77
10. Outros cuidados de saúde prestados na Farmácia	77
10.1 Serviços farmacêuticos	77
10.2 Outros serviços disponibilizados	79
11. Preparação de Medicamentos	79
11.1 Cálculo do preço dos medicamentos manipulados.....	80
11.2 Rotulagem e enquadramento legal.....	80
11.3 Atribuição da validade ao produto acabado	81
11.4 Especificações da água purificada para a preparação de manipulados.....	81
11.5 Bibliografia adequada e necessária para a preparação de manipulados	81
12. Contabilidade e gestão	82
12.1 Caracterização, nos seus aspetos funcionais e legais, de documentos contabilísticos	82
12.2 Definição de conceitos.....	83
13. Outras atividades desenvolvidas.....	83
14. Impacto da pandemia COVID-19 na sociedade.....	83
15. Conclusão	85
16. Referências bibliográficas	86

Capítulo III: Estágio em Farmácia Hospitalar	91
1. Introdução.....	91
2. Caracterização da Farmácia Hospitalar do Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira.....	92
3. Recursos Humanos.....	92
4. Organização e Gestão dos Serviços Farmacêuticos	92
4.1 Aprovisionamento	93
4.2 Sistemas e Critérios de Aquisição	94
4.3 Receção e Conferência dos Produtos Adquiridos	95
4.4 Armazenamento.....	96
4.4.1 Condições gerais de armazenamento	96
4.4.2 Condições especiais de armazenamento	98
4.4.3 Controlo de <i>Stocks</i>	99
4.4.4 Controlo de Validades	99
4.4.5 Recolha de lotes.....	100
5. Distribuição	100
5.1 Distribuição Clássica/Tradicional	100
5.2 Distribuição por reposição por <i>stocks</i> nivelados	101
5.2.1 Distribuição por carregamento e troca de carros	102
5.2.2 Distribuição por verificação do <i>stock</i> de medicamento nos Serviços Clínicos	102
5.2.3 Distribuição semiautomática através do sistema <i>PyxisTM</i>	103
5.3 Distribuição Individual Diária em Dose Unitária.....	104
5.4 Distribuição a doentes em ambulatório.....	108
5.5 Distribuição de medicamentos sujeitos a controlo especial	113
5.5.1 Medicamentos Estupefacientes, Psicotrópicos e Benzodiazepinas	113
5.5.2 Hemoderivados	115
5.5.3 Reposição dos <i>stocks</i> de complexo Protrombínico e Fibrinogénio Humano no Serviço de Imunohemoterapia	116
6. Produção e Controlo	117
6.1 Preparação de formulações estéreis	117
6.1.1 Preparação de nutrição parentérica	118
6.1.2 Reconstituição de fármacos citotóxicos.....	121
6.1.3 Outras preparações estéreis.....	125
6.2 Controlo microbiológico	125
6.3 Preparação de Formas Farmacêuticas não estéreis.....	127
6.4 Produção de água purificada	129
6.5 Reembalagem.....	129

7. Atividades de Farmácia Clínica	131
7.1 Visita aos Serviços Clínicos	132
7.2 Farmacovigilância	132
7.3 Farmacocinética Clínica: monitorização de fármacos na prática clínica.....	133
7.4 Informação do Medicamento	135
8. Participação do farmacêutico nos ensaios clínicos	136
9. Comissões Técnicas	137
10. Considerações Finais	138
11. Referências Bibliográficas	139
Anexos	143
Anexo 1 - Espectro de ^1H RMN do composto C1 (5,6-epoxidiosgenina).	143
Anexo 2 - Espectro de ^1H RMN do composto C2 (espirostano-3 β ,5 α ,6 β -triol).....	144
Anexo 3 - Espectro de ^1H RMN do composto C5 (5 α -hidroxiespirostano-3,6-diona).	145
Anexo 4 - Modelo de requisição de medicamentos estupefacientes e psicotrópicos (Anexo X) - Portaria n.º 981/98, de 8 de junho.	146
Anexo 5 - Modelo de requisição, distribuição e administração de medicamentos hemoderivados (Despacho n.º 1051/2000).....	147
Anexo 6 - Bolsas de nutrição parentérica disponíveis para prescrição no CHUCB. .	149

Lista de Figuras

Figura 1 – Núcleo esteroide com a respectiva identificação dos anéis e numeração dos carbonos.	8
Figura 2 - Estrutura química da diosgenina.....	9
Figura 3 - Principais mecanismos de ação antitumoral da diosgenina.....	11
Figura 4 - Estruturas químicas de análogos semissintéticos da diosgenina.....	14
Figura 5 - Síntese de 5,6-epoxidiosgenina.	18
Figura 6 - Síntese de espirostano-3 β ,5 α ,6 β -triol.	19
Figura 7 - Síntese de espirost-4-eno-3 β ,6 β -diol.....	20
Figura 8 - Síntese de espirost-4-eno-3,6-diona.	21
Figura 9 - Síntese de 5 α -hidroxiespirostano-3,6-diona.	22
Figura 10 - Esquema ilustrativo das microplacas multiwells utilizadas no ensaio de curva dose-resposta. A solução de cada concentração (μ M) foi colocada em 4 poços da mesma linha (n= 4).....	29
Figura 11 - Esquema geral da síntese química.....	33
Figura 12 - Mapa da Farmácia Modelar.	53
Figura 13 - Resumo das principais atividades afetas a cada setor dos SF do CHUCB....	91

Lista de Gráficos

Gráfico 1 - Viabilidade celular relativa nas células LNCaP incubadas com o composto C2, numa gama de concentrações entre 0,01 μM e 100 μM por 48 horas. Os resultados são apresentados como média \pm desvio padrão. 38

Gráfico 2 - Viabilidade celular relativa nas células LNCaP incubadas com o composto C5, numa gama de concentrações entre 0,01 μM e 100 μM por 48 horas. Os resultados são apresentados como média \pm desvio padrão. 38

Gráfico 3 - Viabilidade celular relativa nas células PC-3 incubadas com o composto C2, numa gama de concentrações entre 0,01 μM e 100 μM por 48 horas. Os resultados são apresentados como média \pm desvio padrão. 39

Gráfico 4 - Viabilidade celular relativa nas células PC-3 incubadas com o composto C5, numa gama de concentrações entre 0,01 μM e 100 μM por 48 horas. Os resultados são apresentados como média \pm desvio padrão. 40

Gráfico 5 - Viabilidade celular relativa nas células MCF-7 incubadas com o composto C2, numa gama de concentrações entre 0,01 μM e 100 μM por 48 horas. Os resultados são apresentados como média \pm desvio padrão. 40

Gráfico 6 - Viabilidade celular relativa nas células MCF-7 incubadas com o composto C5, numa gama de concentrações entre 0,01 μM e 100 μM por 48 horas. Os resultados são apresentados como média \pm desvio padrão. 41

Gráfico 7 - Inibição da atividade da 5AR por parte dos compostos a uma concentração de 10 μM . Os resultados são apresentados como média \pm desvio padrão. 43

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Rendimentos finais dos compostos sintetizados.	36
Tabela 2 - Valores de IC ₅₀ para os compostos sintetizados nas diferentes linhas celulares.....	41
Tabela 3 - Resumo das atividades executadas entre 1 de março e 21 de maio.....	51
Tabela 4 - Periodicidade das monitorizações microbiológicas.....	126

Lista de Acrónimos

Ab	Solução com 10.000unidades/mL de penicilina, 10mg/mL de estreptomicina e 25µg/mL de anfotericina-B
ADME	Assistência na Doença aos Militares do Exército
AIF	Fator indutor de apoptose
AIM	Autorização de Introdução no Mercado
ANF	Associação Nacional das Farmácias
AO	Assistente Operacional
ATC	Do inglês <i>Anatomical Therapeutic Chemical Code</i>
QUE	Autorização de Utilização Excecional
AVC	Acidente Vascular Cerebral
BDNP	Base de Dados Nacional de Prescrições
bFGF	Fator de crescimento de fibroblástico básico
C	Controlo
CA	Conselho de Administração
CAPS	Catálogo de Aprovisionamento Público da Saúde
CCF	Centro de Conferência de Faturas
CCF	Cromatografia de camada fina
CDKs	Cinases dependentes de ciclinas
CE	Comunidade europeia
CFALH	Câmara de fluxo de ar laminar horizontal
CFALV	Câmara de fluxo de ar laminar vertical
CFT	Comissão de Farmácia e Terapêutica
CHUCB	Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira
CN	Controlo Negativo
CNFT	Comissão Nacional de Farmácia e Terapêutica
CNPEM	Código Nacional de Prescrição Eletrónica de Medicamentos
COX-2	Enzima ciclooxigenase-2
D	Dupleto
DCI	Denominação Comum Internacional
DGS	Direção Geral de Saúde
DHT	Dihidrotestosterona
DIDDU	Distribuição Individual Diária em Dose Unitária
DMEM	Do inglês <i>Dullbecco's Modified Eagle Medium</i>
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EPI	Equipamento de Proteção Individual
Er α	Recetor de estrogénios α
Er β	Recetor de estrogénios β
FC	Farmácia Comunitária
FDS	Do inglês <i>Fast Dispensing System</i>
FEFO	Do inglês <i>First-Expire, First-Out</i>
FF	Fórmulas Farmacêuticas
FGP	Formulário Galénico Português
FH	Farmácia Hospitalar
FHNM	Formulário Hospitalar Nacional de Medicamentos

FIN	Finasterida
HBP	Hiperplasia benigna da próstata
HDI	Hospital de Dia
HEPA	Do inglês <i>High-Efficiency Particulate Air</i>
HPLC	Do inglês <i>High performance liquid chromatography</i>
¹ H RMN	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogénio
hTERT	Transcriptase reversa da telomerase humana
IASFA	Instituto de Ação Social das Forças Armadas
IMC	Índice de Massa Corporal
INF- γ	Interferão-gama
INFARMED	Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P.
IPAQ	Instituto Português de Qualidade
IRC	Imposto sobre o Rendimento das pessoas Coletivas
IRS	Imposto sobre o Rendimento das pessoas Singulares
IVA	Imposto sobre o Valor Acrescentado
JAKs	Janus cinases
LASA	Do inglês <i>Look-alike, Sound-alike</i>
LLOQ	Do inglês <i>Lower Limit of Quantification</i>
M	Multiplato
MEP	Medicamentos Estupefacientes e Psicotrópicos
MMPs	Metaloproteinases da matriz
MMPP	Monoperoxifitalato de magnésio hexa-hidratado
MNSRM	Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica
MNSRM-EF	Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica de dispensa exclusiva em farmácia
MSAR	Máquina Semiautomática de Reembalagem
MSRM	Medicamentos Sujeitos a Receita Médica
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio
MUV	Medicamentos de uso veterinário
NF- κ B	Fator nuclear κ B
NOC	Normas de Orientação Clínica
NOF	Normas de Orientação Farmacêuticas
NP	Nutrição Parentérica
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PARP	Polimerase de poli-ADP-ribose
PAS	Pressão Arterial Sistólica
PBS	Tampão fosfato salino
PCC	Clorocromato de piridínio
PDA	Do inglês <i>Personal Digital Assistant</i>
PI	Padrão interno
PI3-cinase/Akt	Fosfatidilinositol 3-cinase/Akt
PKS	Do inglês <i>Abbottbase pharmacokinetic system</i>
PPCIRA	Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistência aos Antimicrobianos
Ppi	Para preparações injetáveis
Ppm	Partes por milhão
PR	Recetor de progesterona
PRM	Problemas Relacionados com Medicamentos

PT	Prontuário Terapêutico
PVF	Preço de Venda à Farmácia
PVP	Preço de Venda ao Público
PUV	Produtos de uso veterinário
Q	Quarteto
QR	Do inglês <i>Quick Response</i>
RAM	Reações Adversas a Medicamentos
RCM	Resumo das Características do Medicamento
RMN	Ressonância magnética nuclear
RNA	Ácido Ribonucleico
ROS	Espécies reativas de oxigênio
RPMI	Do inglês <i>Roswell Park Memorial Institute</i>
S	Singleto
SAL	Serviço de Aprovisionamento e Logística
SAMS	Serviço de Assistência Médico-Social do Sindicato dos Bancários
SARS-CoV-2	Síndrome respiratória aguda grave-coronavírus 2
SC	Serviço Clínico
SFB	Soro fetal bovino
SF	Serviços Farmacêuticos
SFH	Serviços Farmacêuticos Hospitalares
SGICM	Sistema de Gestão Integrada do Circuito do Medicamento
SI	Serviço de Imunohemoterapia
SIE	Serviço de Instalações e Equipamento
SNF	Sistema Nacional de Farmacovigilância
SNS	Serviço Nacional de Saúde
SP	Solução com 10.000 unidades de penicilina e 10mg/mL de estreptomicina
SPMS	Serviços Partilhados do Ministério da Saúde
STAT3	Fator de transcrição e transdutor de sinal 3
T	Tripleto
TSDT	Técnico Superior de Diagnóstico e Terapêutica
UAVC	Unidade de Acidentes Vasculares Cerebrais
UBI	Universidade da Beira Interior
UCAD	Unidade de Cuidados Agudos Diferenciados
UCI	Unidade de Cuidados Intensivos
UCPC	Unidade Centralizada para a Preparação de Citotóxicos
EU	União Europeia
URF	Unidades Regionais de Farmacovigilância
UV	Ultravioleta
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular
VMER	Viatura Médica de Emergência e Reanimação
5AR	5 α -redutase
5-FU	5-fluorouracilo
5-LOX	5-lipoxigenase

Capítulo I: A oxidação da diosgenina no desenvolvimento de novos agentes antitumorais

1. Introdução

1.1 Cancro - generalidades

O cancro é considerado uma doença não contagiosa e fatal, sendo uma das principais causas de morbidade e mortalidade e, a sua incidência tem vindo a aumentar. Consiste numa proliferação celular anormal, que leva à formação progressiva de um tumor derivado de um tipo de célula. Um tumor pode ser denominado de benigno ou maligno, conforme a capacidade de invasão. Um tumor maligno caracteriza-se por invadir ou espalhar-se para outras partes do corpo, designando-se este processo por metastização, contrariamente a um tumor benigno, que é local [1-3].

Atualmente, os países com recursos mais escassos abrangem grande parte da percentagem global de cancro, o que não se verificava em 1965, em que o cancro era considerado uma doença dos países desenvolvidos. O panorama alterou-se ao longo dos anos, porque as comunidades dos países com baixo desenvolvimento económico ainda não consideram o controlo do cancro uma prioridade, não direcionando os esforços para esse mesmo fim. Como resultado, os sistemas de saúde destes países, uma vez que possuem um orçamento limitado, poderão, no futuro, não conseguir gerir adequadamente o aumento progressivo do número de casos de cancro, podendo ocorrer consequências sociais e económicas drásticas para a população, devido à morte prematura por cancro. Nos países altamente industrializados, observa-se comumente casos de cancro do pulmão, mama, próstata e colorretal, enquanto nos países com menos recursos, predominam os cancros do estômago, fígado, cavidade oral e cérvix [4].

Segundo um estudo realizado em 2012, o cancro mais frequentemente diagnosticado entre os homens em 87 países, sobretudo na América do Norte e do Sul, Norte, Oeste e Sul da Europa e Oceânia, foi o cancro da próstata. Por outro lado, o cancro da mama é o mais comum entre as mulheres, na América do Norte, Europa e Oceânia. No mesmo ano, ocorreram 14.1 milhões de novos casos de cancro e 8.2 milhões de mortes por cancro em todo mundo. Com o crescimento exponencial da população, o envelhecimento da mesma e certos hábitos de vida, como o uso do tabaco, sedentarismo, excesso de peso corporal e modificação dos padrões reprodutivos, os quais aumentam o risco de cancro, é expectável um aumento acentuado do número de casos e de mortes devidas ao cancro [5]. Em 2020, estes números subiram significativamente, registando-se 19.3 milhões de

novos casos de cancro e quase 10 milhões de mortes por cancro. Neste último ano, o cancro da mama feminino passou a ser o cancro mais comumente diagnosticado, ultrapassando assim o cancro do pulmão, o qual permaneceu, no entanto, a principal causa de morte por cancro [6]. Em 2030, prevêem-se 27 milhões de novos casos de cancro, 17 milhões de mortes por cancro anualmente e 75 milhões de pessoas com cancro, sendo que tais números ir-se-ão fazer sentir principalmente nos países menos desenvolvidos, como referido anteriormente [4].

1.2 Biologia molecular do cancro

Para o surgimento de um tumor é necessária a ocorrência de várias etapas que levam à acumulação de mutações genéticas, como a ativação de oncogenes a partir de proto-oncogenes, inativação de genes supressores de tumor e desregulação de genes de reparação de ácido desoxirribonucleico (DNA). Normalmente, em humanos, a taxa de mutação basal é baixa; contudo, a exposição a carcinogéneos ambientais (ex.: radiação, vírus tumorais e químicos mutagénicos) pode propiciar o aumento desta e, consequentemente, a probabilidade de desenvolver cancro [7,8].

Os oncogenes, derivados de reguladores fisiológicos da proliferação celular e diferenciação, os proto-oncogenes, são responsáveis pelo desenvolvimento tumoral, através de uma proliferação descontrolada e/ou de uma reduzida sensibilidade à morte celular, não dependendo de fatores de crescimento ou de outros sinais externos. Os oncogenes podem ter origem numa translocação cromossómica, mutação pontual, amplificação de genes, vírus tumoral ou transferência de genes. Estes são classificados de acordo com os seus efeitos na célula e atividade bioquímica envolvida, pelo que podem originar cancro por diferentes mecanismos, como, por exemplo, produção excessiva de fatores de crescimento, acumulação de sinais de replicação, estimulação descontrolada das vias intermediárias e aumento dos níveis de fatores de transcrição [7,8].

Por outro lado, os genes supressores de tumor podem inibir o crescimento celular de forma direta ou indireta, sendo que se designam *gatekeepers* ou *caretakers*, respetivamente. Os *gatekeepers* regulam, principalmente, a proliferação celular através de mecanismos de morte celular. Os *caretakers* atuam ao nível dos genes de reparação de DNA, favorecendo a estabilidade genética. As mutações que ocorrem nestas duas categorias de genes supressores de tumor podem advir da linha germinativa, predispondo ao cancro [8].

Além disso, proteínas envolvidas na regulação da proliferação e progressão do ciclo celular podem estar comprometidas e, como resultado, pode aumentar a sobrevivência das células tumorais. Entre estas, destaca-se a proteína pro-apoptótica p53, pois

constatou-se que em mais de metade de todos os tumores humanos, há alterações na via bioquímica que envolve esta proteína. Normalmente, em células saudáveis, esta proteína é responsável pela paragem do ciclo celular e indução da morte celular programada, isto é, apoptose, impedindo a proliferação de células danificadas, que aguardam reparação ou que não podem ser reparadas definitivamente. Quando ocorre a inativação desta via, causada por uma mutação, não é possível a sinalização e posterior ativação da apoptose [7]. Neste contexto, uma família de proteases, as caspases, revelou também ter um papel crítico na ativação de recetores que desencadeiam a apoptose. As caspases subdividem-se em iniciadoras, como as caspases -8 e -9, e efetoras, por exemplo, as caspases -3, -6 e -7. Relativamente às caspases iniciadoras, estas atuam mediante ativação das caspases efetoras e estímulos apoptóticos. As caspases efetoras originam a clivagem específica de diversas proteínas celulares e a degradação inerente à apoptose. Outro mecanismo associado à apoptose é a libertação do citocromo c da mitocôndria, controlada por reguladores positivos (Bax, Bak, Bik e Bid) e negativos (Bcl-2 e Bcl-xL), todos membros da família Bcl-2. Neste sentido, considera-se que a apoptose de uma célula é dependente da proporção Bax/Bcl-2. Quando a proteína Bcl-2 inibe a atividade positiva da proteína Bax, há supressão da apoptose, o que acontece em alguns tumores humanos, em que a Bcl-2 está sobreexpressa [8].

A carcinogénese consiste num processo evolutivo complexo, resultante de uma acumulação de mutações genéticas induzidas por agentes físicos e químicos. Consequentemente, as células obtêm características diferentes das células ditas normais, proporcionando-lhes uma maior capacidade de crescimento, sobrevivência e invasão [7,8].

Este processo divide-se em três fases distintas: iniciação, promoção e progressão. Na iniciação, ocorre uma mutação irreversível de DNA num único gene, normalmente regulador de crescimento celular, devido à exposição a um agente químico genotóxico ou a um seu metabolito reativo. Esta primeira fase envolve três etapas, nomeadamente o metabolismo do carcinogénico, a reparação de DNA e a proliferação celular. A maioria dos carcinogénicos ou seus metabolitos ativos são eletrófilos fortes que se ligam ao DNA para formar adutos, os quais devem ser posteriormente removidos por mecanismos de reparação de DNA. Caso estes mecanismos falhem, podem ocorrer alterações permanentes ou mutações no genoma e, por conseguinte, propiciar-se a conversão de proto-oncogenes em oncogenes ou a desregulação da expressão de genes supressores de tumores [8].

Contrariamente à iniciação, a promoção é um processo reversível, em que agentes químicos não genotóxicos estimulam a proliferação celular, sem formar adutos de DNA ou causar danos ao DNA. Normalmente, a exposição a agentes promotores de tumor desencadeia a geração de tumores não invasivos; contudo, a exposição constante a estes agentes pode facilitar o desenvolvimento de carcinomas invasivos. Assim, com o intuito de impedir a formação destes tumores, é essencial reduzir a exposição aos agentes referidos. É de notar que o desenvolvimento de um tumor é dependente não só de um agente promotor como também de um agente iniciador prévio [8].

Por fim, a progressão consiste na acumulação de várias mutações genéticas ao longo do tempo, que favorecem o surgimento de tumores malignos e metástases. Complementando a informação mencionada anteriormente, a progressão de um tumor é altamente dependente de um agente iniciador. Neste contexto e como exemplo, a proteína ciclooxygenase-2 (COX-2), quando sobreexpressa nas células, desempenha um papel fundamental na progressão do cancro, dado que há uma maior secreção do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e fator de crescimento fibroblástico básico (bFGF). A COX-2 apresenta potencial metastático pela ativação de metaloproteinases da matriz (MMPs) e capacidade de supressão da apoptose pela regulação positiva de Bcl-2 [8].

Tal como supracitado, o processo responsável pela disseminação das células cancerígenas para locais distantes do corpo através da circulação sanguínea ou linfática designa-se metastização. As células que adquirem este potencial de passar barreiras do tecido, como a matriz extracelular do tecido conjuntivo circundante e a membrana basal dos vasos sanguíneos, conseguem fazê-lo essencialmente devido ao facto de serem menos adesivas, comparativamente com as células normais. Outro processo fundamental no crescimento e na invasividade dos tumores sólidos é a angiogénese, ou seja, a formação de novos vasos sanguíneos. A angiogénese ocorre devido à sinalização proporcionada por certas proteínas e pequenas moléculas libertadas pelos tumores, destacando-se o VEGF, presente na maioria dos tumores humanos, e o bFGF [7]. A ativação aberrante do transdutor de sinal e ativador de transcrição 3 (STAT3), em células cancerígenas, está também relacionada com a angiogénese, assim como com a proliferação, sobrevivência celular, invasão e metástase. Entre as proteínas da família STAT, a STAT3 é regularmente identificada na maioria dos cancros humanos [9].

1.3 Abordagens terapêuticas atuais para o cancro e desenvolvimento de novos agentes antitumorais

Tendo em conta a difícil cura e o aumento significativo da incidência e mortalidade, nas últimas décadas, a população científica tem trabalhado intensamente e cada vez mais na pesquisa de terapias contra o cancro, sendo, ainda hoje, esta considerada uma área altamente desafiante. Assim, ao longo dos anos, foi-se observando um rápido desenvolvimento de terapias direcionadas para o cancro, envolvendo, principalmente, a descoberta de novos alvos terapêuticos, a identificação de mutações genéticas e o desenvolvimento de vários compostos e formulações antitumorais, com o objetivo de ultrapassar as dificuldades constantes na terapia anticancerígena: a baixa eficácia e o surgimento de efeitos secundários limitantes, e o frequente aparecimento de resistências [1,10].

O primeiro antitumoral foi introduzido no mercado em 1949, tratando-se da mecloretamina, um agente alquilante da classe das mostardas azotadas [10]. Nos anos 50, a síntese de 5-fluorouracilo (5-FU), um análogo de pirimidina, foi um marco importante, uma vez que demonstrou ser eficaz no tratamento de tumores gastrointestinais, particularmente do cancro colorretal. Hoje, este antimetabolito é usado ativamente em associação com outros fármacos anticancerígenos. A descoberta dos compostos de platina com a cisplatina (primeira geração), em 1965, veio revolucionar o tratamento de vários tumores sólidos, devido à sua ampla atividade antitumoral [11]. De facto, desde o início da utilização clínica da mecloretamina, tem-se verificado, gradativamente, um aumento no número de novos antitumorais autorizados no mercado. Passadas mais de 6 décadas, cerca de 160 agentes antitumorais estavam disponíveis para uso clínico. Neste contexto, entre 2011 e 2016, observou-se a introdução no mercado, em média, de 10 novos anticancerígenos por ano. Este facto pode ser justificado pelo crescente investimento das empresas farmacêuticas na pesquisa de novas terapias contra o cancro. Diferentes estratégias focadas em particularidades biológicas e moleculares da patofisiologia do cancro têm sido abordadas, nos últimos 60 anos, conferindo uma grande diversificação de abordagens possíveis para a descoberta de novos tratamentos [10].

Atualmente, os tratamentos mais utilizados para combater esta doença são cirurgia, imunoterapia, radioterapia e quimioterapia, usadas isoladamente ou em combinação, sendo que todos estão associados a riscos relevantes [12]. A cirurgia surge, frequentemente, como intervenção de primeira linha; no entanto, por vezes, pode não ser possível a remoção total da massa tumoral, principalmente em tumores mais avançados. No que diz respeito à imunoterapia, novos anticorpos monoclonais

direcionados para antígenos tumorais e conjugados de anticorpos com pequenas moléculas têm vindo a surgir, estando associados a maior seletividade e menos efeitos colaterais [10,11].

Por outro lado, a radioterapia consiste numa opção terapêutica que utiliza radiação fracionada, procurando minimizar os efeitos adversos associados ao tratamento. Desde há vários anos, a radioterapia molecular, que tem por base o uso de compostos radioativos denominados radiofármacos, desempenha um papel importante na prática clínica, sobretudo no tratamento de metástases [11]. Porém, regularmente, a quimioterapia convencional é a única abordagem viável, principalmente para a terapia sistémica quando já existem metástases. A quimioterapia mais clássica atua diretamente no DNA da célula, podendo afetar tanto células cancerígenas como também células normais, principalmente em tecidos de replicação rápida, sendo que isso pode provocar efeitos adversos graves (mielossupressão, imunossupressão, alopecia, mucosite, náuseas e vômitos, diarreia e sintomas idênticos aos da gripe, entre outros). Tendo em conta o seu mecanismo de ação, os fármacos quimioterápicos atuais distribuem-se por várias categorias, tais como modificadores de DNA, os quais incluem agentes alquilantes (ex.: ciclofosfamida) e complexos de platina (ex.: cisplatina), antimetabolitos (ex.: 5-FU), inibidores de topoisomerasas (ex.: etopósido), que interditam a transcrição e replicação do DNA, antibióticos citotóxicos (ex.: doxorubicina), que também bloqueiam topoisomerasas e suprimem a síntese de DNA e ácido ribonucleico (RNA) e venenos do fuso mitótico, especialmente alcalóides (ex.: vinblastina) e terpenóides vegetais (ex.: paclitaxel), que impossibilitam a divisão celular por inibição da função dos microtúbulos [11-14].

Com o intuito de reduzir os efeitos colaterais nos tecidos saudáveis, os investigadores têm-se focado muito no desenvolvimento de terapias mais direcionadas, que agem seletivamente nas células cancerígenas, principalmente atuando em proteínas anormais presentes nestas células e inibindo vias de sinalização celular responsáveis pelo fenótipo maligno. Moléculas pequenas, anticorpos monoclonais e vacinas constituem exemplos de abordagens terapêuticas direcionadas. As moléculas pequenas, por exemplo, inibidores de tirosina-cinases, são capazes de alcançar alvos extracelulares e intracelulares. No caso dos anticorpos monoclonais, como não conseguem atravessar membranas celulares, apenas atingem alvos extracelulares. Estes desencadeiam respostas imunológicas e, quando acoplados a moléculas tóxicas ou radioativas, direcionam a citotoxicidade para células tumorais. Antígenos específicos ou sobreexpressos nestas células são alvo das vacinas terapêuticas, originando, consequentemente, uma resposta imune antitumoral. Contudo, a quimioterapia

direcionada apresenta limitações, especialmente o aparecimento de resistências e, ainda, alguma toxicidade relacionada. A multirresistência tumoral é um verdadeiro problema atual, restringindo a eficácia dos tratamentos e a erradicação completa do cancro [13,14].

Deste modo, é determinante a contínua pesquisa na descoberta de novos antitumorais, sendo que compostos naturais provenientes de plantas e animais continuam a ser determinantes neste contexto. De facto, tem vindo a demonstrar-se que vários destes produtos de origem vegetal e animal são bastante promissores, podendo ser menos tóxicos e manifestar propriedades anticancerígenas marcadas. Apesar do aumento de compostos derivados de plantas capazes de prevenir o desenvolvimento de um tumor e/ou tratá-lo, frequentemente, os mecanismos moleculares envolvidos na atividade antitumoral destes produtos permanecem desconhecidos [12].

Em suma, os avanços na identificação das mutações genéticas presentes nos cancros, juntamente com a evolução de métodos de biologia molecular, têm permitido desenvolver novos instrumentos de diagnóstico e novas abordagens terapêuticas. É de salientar que o reconhecimento de alvos moleculares pertinentes é essencial para o desenvolvimento adequado de agentes direcionados; todavia, esta é uma área bastante complexa. Atualmente, a comunidade científica continua à procura de alternativas e soluções para combater esta doença. Aguarda-se o surgimento de novas terapias revolucionárias, mais assentes numa perspetiva mais personalizada para cada pessoa. A combinação de várias terapias, que têm como alvo diferentes vias de sinalização celular, é uma outra abordagem em estudo, pois pode reduzir o desenvolvimento de resistências tumorais. Por outro lado, e não menos importante, a promoção da saúde e a prevenção primária e secundária são fundamentais para diminuir a incidência de cancro na população [7,11,14].

1.4 Diosgenina – origem, estrutura e propriedades

As saponinas, compostos frequentemente bioativos existentes em plantas e classificados de acordo com os seus esqueletos carbonados, em triterpenos e esteroides, consistem em metabolitos secundários com propriedades detergentes e surfactantes. Estas possuem uma porção de açúcar, que exibe solubilidade em água, ligada a uma aglicona solúvel em lípidos (hidrofóbica), designada sapogenina, através de uma ligação glicosídica. Uma sapogenina esteroide natural, bastante conhecida e utilizada pela indústria na produção de esteroides sintéticos é a diosgenina [12,15].

Os compostos esteroides desempenham várias funções nos organismos vivos, ao nível da regulação fisiológica, controlo hormonal, entre outros, pelo que são regularmente utilizados como substratos para a síntese de moléculas biologicamente ativas.

Estruturalmente, estes possuem um núcleo base formado por quatro anéis (A, B, C e D), denominado ciclopentanoperidrofenantreno (figura 1) [16,17]. Existem diversas séries de esteroides estabelecidas (ex.: androstano, pregnano, colano, colestano, ergostano) com base nos substituintes presentes em C-10, C-13 e, principalmente, em C-17. Relativamente à sua estereoquímica, a posição de um substituinte pode ser considerada α (abaixo do plano definido pelos anéis fundidos) ou β (acima, no mesmo plano que os grupos metilo angulares em C-10 e C-13) [17,18].

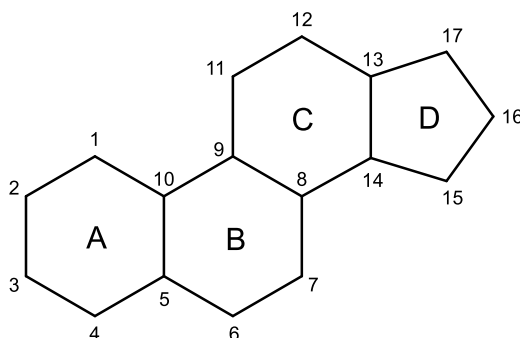


Figura 1 – Núcleo esteroide com a respectiva identificação dos anéis e numeração dos carbonos. Figura criada no software ChemDraw v. 17.1.

A diosgenina [(3 β ,25*R*)-espirost-5-en-3-ol] (figura 2) é um fitoesteroide que apresenta um núcleo espirostano funcionalizado, o qual está associado a diversas atividades biológicas [19]. Este composto, estruturalmente semelhante ao colesterol e outros esteroides, provém da hidrólise da saponina dioscina, presente de forma significativa em legumes (*Trigonella sp.*) e também em tubérculos de inhame (*Dioscorea sp.*). De acordo com a informação existente, esta sapogenina não é sintetizada nem metabolicamente convertida em outros esteroides no organismo humano. A diosgenina tem potencialidade terapêutica contra uma grande diversidade de doenças, nomeadamente cancro, inflamação e doenças metabólicas, incluindo hipercolesterolemia, diabetes e obesidade. Além disso, este esteroide detém propriedades antioxidantes, efeitos neuroprotetores, estrogénicos (efeito de interesse na menopausa), imunomoduladores e protetores cardiovasculares (efeito de interesse na trombose e aterosclerose) e da pele (efeito de interesse no envelhecimento). É de notar que a atividade biológica da diosgenina está, maioritariamente, com a conformação estrutural e substituintes nos átomos de carbono C-5 e C-25 [15,20,21].

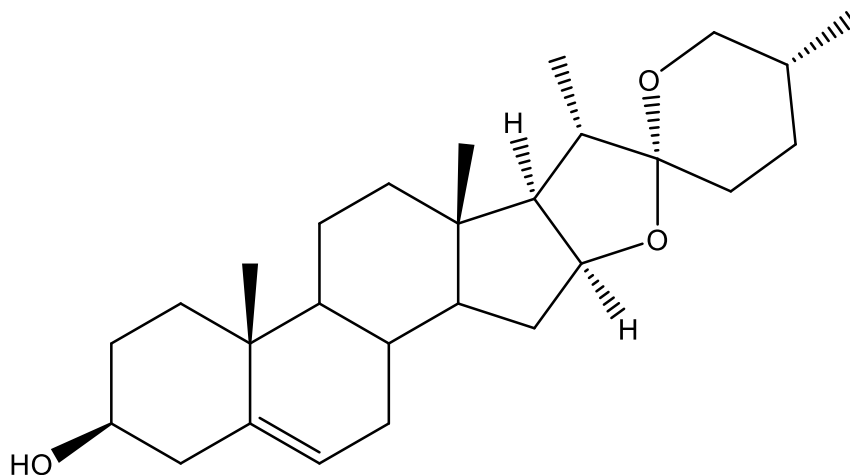


Figura 2 - Estrutura química da diosgenina. Figura criada no software ChemDraw v. 17.1.

Relativamente à atividade anticancerígena da diosgenina, dependendo do tipo de célula, concentração e tempo de exposição, esta ação observa-se em várias linhas celulares tumorais, especialmente células do cancro da próstata, carcinoma do cólon, cancro do pulmão, eritroleucemia, carcinoma escamoso, cancro gástrico, carcinoma hepatocelular, cancro da mama e leucemia mieloide crónica humana. Neste contexto, sabe-se que a diosgenina pode atuar em várias etapas da tumorigénese, particularmente na proliferação celular, diferenciação, transição mesenquimal epitelial, migração celular, apoptose, oncogénese e angiogénese. Também, novamente dependendo do tipo de célula, concentração e tempo de exposição, é responsável pela indução da morte celular por apoptose, supressão de fenótipo maligno, prevenção do stress oxidativo e inflamação através do bloqueio da produção de citocinas pró-inflamatórias, enzimas e moléculas de adesão. Todas estas ações antitumorais podem ser mediadas pela ativação da proteína p53, paragem do ciclo celular, imunomodulação, ativação da via de sinalização de transcrição STAT3 e modulação da atividade da caspase-3. Outras vias aparentemente afetadas pela diosgenina, como o metabolismo dos ácidos gordos e a biossíntese de eicosanóides, estão também envolvidas na morte de células cancerígenas [15,20,21].

No que diz respeito à sua capacidade de inibir a proliferação de células epiteliais do adenocarcinoma mamário metastático (MCF-7), tal é possível devido à ativação da proteína p53 e ao aumento dos níveis de caspase-3 causados pela diosgenina. Nas células do carcinoma hepatocelular humano, a diosgenina também suprime a proliferação celular através da inibição da via de sinalização STAT3, promove a paragem do ciclo celular na fase G1, e leva à indução da apoptose por ativação da caspase-3 e clivagem da polimerase de poli-ADP-ribose (PARP). Esta sapogenina, ao regular positivamente a COX-2, aumentar a proporção Bax/Bcl-2, causar fragmentação do DNA e clivagem da

PARP, também estimula a apoptose da linha celular de HEL, de eritroleucemia humana. Por outro lado, a diosgenina, ao regular negativamente, de maneira dependente do tempo, a expressão do gene hTERT (transcriptase reversa da telomerase humana) nas células A549 do cancro do pulmão, afeta o crescimento das mesmas. Além disso, a diosgenina consegue inibir, de forma dependente da dose, a expressão do VEGF e, por conseguinte, a proliferação, invasão e migração de células PC-3 do cancro da próstata, limitando os níveis de MMPs, pelo que, por isso, pode ser utilizada no tratamento de metástases. Assim, este esteroide tem vários efeitos antimetastáticos, nomeadamente a supressão da proteína Vav2, restringindo também a migração de células MDA-MB-231 do cancro da mama humano [20].

O mecanismo subjacente à sua ação antimetastática passa igualmente pela modulação da transição mesenquimal epitelial e do citoesqueleto de actina, a fim de modificar a motilidade celular, impedindo a degradação da barreira da matriz e a angiogénese [15].

Para além dos mecanismos de ação antitumoral supracitados, a diosgenina regula (figura 3) negativamente a via fosfatidilinositol 3-cinase/Akt (PI3-cinase/Akt), que é essencial para a sobrevivência das células cancerígenas, o fator nuclear κ B (NF- κ B), sendo este um supressor da apoptose e da cascata de caspases, as cinases dependentes de ciclinas (CDKs) e a via Janus cinase/transdutores de sinal e ativadores de transcrição (JAK/STAT), em que as Janus cinases (JAKs) estimulam a proliferação celular, diferenciação e migração celular. Positivamente, esta sapogenina regula a ativação do gene supressor de tumor p21, do inibidor de cinase dependente de ciclina p27, uma enzima capaz de induzir a paragem do ciclo celular na fase G1, comprometendo assim o crescimento das células cancerígenas, do fator indutor de apoptose (AIF), da enzima 5-lipoxigenase (5-LOX) e proteína p53, que induz a produção de espécies reativas de oxigénio (ROS), as quais danificam a mitocôndria, levando consequentemente à apoptose [22].

Tendo em conta estudos toxicológicos efetuados em modelos experimentais *in vivo*, constatou-se que a diosgenina era segura e não provocava toxicidade sistémica ou genotoxicidade. Contudo, quando usada por um longo período, um aumento de fibrose renal e inflamação do fígado podem ser expectáveis. Neste momento, a informação sobre a segurança da diosgenina ainda é escassa, sendo necessário realizar mais estudos toxicológicos, como avaliar o risco de neurotoxicidade, potencial alergénico, entre outros [21].

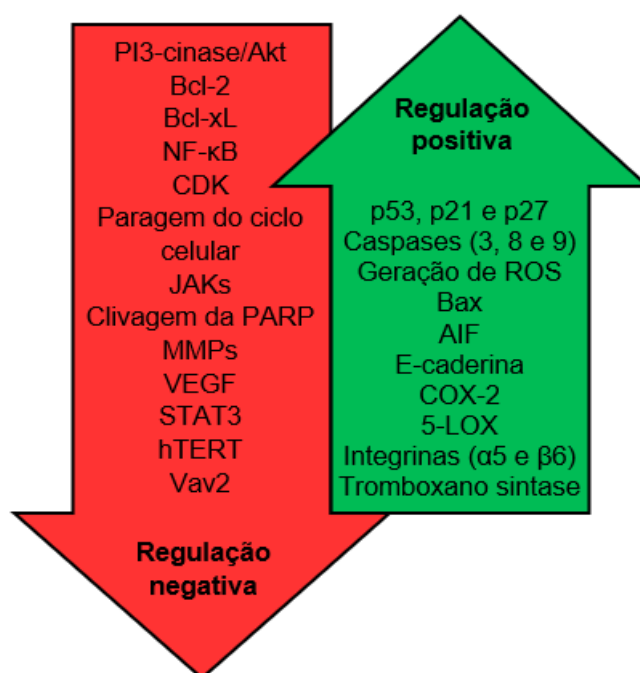


Figura 3 - Principais mecanismos de ação antitumoral da diosgenina (Adaptado de [22]). Figura criada no software Microsoft Word.

1.5 Análogos semissintéticos da diosgenina com atividade antitumoral

Estudos que avaliam a relação estrutura-atividade da diosgenina são essenciais, dado que ajudam a perceber quais as alterações sintéticas que poderão eventualmente aumentar a atividade biológica desta sapogenina em prol da sua potencial utilização como agente terapêutico. Visto que a diosgenina é bastante promissora na prevenção e tratamento de várias doenças crónicas, embora tenha uma relativa baixa potência e algumas limitações, especialmente um perfil farmacocinético inadequado, baixa solubilidade aquosa e instabilidade, a comunidade científica tem sido incentivada a desenvolver novos derivados e, posteriormente, avaliar as suas atividades biológicas. Assim, têm sido sintetizados vários derivados da diosgenina, para melhoria das suas propriedades, nomeadamente na biodisponibilidade oral, nas características farmacocinéticas e na bioatividade, designadamente, atividade antitrombótica e outras. Neste contexto, uma série de estudos *in vitro* e *in vivo* também têm vindo a ser realizados para analisar o potencial antitumoral da diosgenina e seus derivados nos diversos tipos de cancro, particularmente cancro da mama, próstata, cólon, pulmão, sangue, oral, entre outros [21,23].

De entre os análogos da diosgenina estudados, os derivados 26-tioacetil-pseudodiosgenona e 26-cianoselenopseudodiosgenona (compostos 2 e 3, figura 4) apresentaram atividade citotóxica relevante, numa gama de concentrações mais baixa, comparativamente à diosgenona (composto 1, figura 4), contra uma linha celular humana de cancro colorretal (HCT 116), principalmente o análogo que possui um grupo cianoselênio no C-26 [24]. Outro derivado, um composto denominado (22 β ,25 R)-3 β -hidroxiespirost-5-en-7-iminóxi-ácido heptanóico (composto 4, figura 4), revelou ser ativo contra uma linha celular humana de cancro da próstata (DU145). O mecanismo responsável por esta atividade passa pela paragem do ciclo celular na fase S e pela indução da apoptose através da modulação dos níveis de caspases [23,25].

Num estudo que teve como objetivo a síntese de novos triazóis a partir da diosgenina, alguns derivados preparados (compostos 5-7, figura 4) demonstraram atividade antiproliferativa relevante contra diferentes linhas celulares de cancro humano (mama, pulmão e cólon). Um análogo com um radical fenilo ligado via triazol à molécula parental (diosgenina) destacou-se pelo seu potencial antitumoral na linha celular de cancro do pulmão, A549. Além disso, análogos portadores dos radicais *o*-nitrofenilo e *o*-cianofenilo inibiram a proliferação de todas as linhas celulares referidas [26]. Segundo uma outra investigação realizada sobre a capacidade inibitória da proliferação de células PC-3 do cancro da próstata, HeLa do cancro cervical e HepG2 de hepatoma humano por vários compostos análogos da diosgenina, a molécula 1 α ,2 α -epoxi-(22 R ,25 R)-espirosola-4,6-dien-3-ona (composto 8, figura 4) salientou-se das restantes, por possuir uma taxa inibitória moderada à concentração de 10 μ M [27].

A abertura do anel F-espiroacetal da diosgenina originou novos análogos de furostano. O derivado acetato de (22 β ,25 R)-3 β ,26-dihidroxifurost-5-en-3 β -ilo (composto 9, figura 4) foi o composto mais potente, pois inibiu eficazmente a proliferação de vários tipos de células de cancro humano, nomeadamente A549, MCF-7, DU145 e células do carcinoma cervical (C33A), levando à indução da apoptose [28]. Noutra investigação, a oxima de acetato de 23-acetil diosgenina (composto 10, figura 4) apresentou também atividade antiproliferativa em duas linhas celulares diferentes de cancro cervical (HeLa e CaSki), não evidenciando citotoxicidade em células normais. Este derivado exibiu um aumento no potencial inibitório da proliferação destas células cancerígenas, em comparação com a diosgenina, pelo que a presença do grupo oxima na cadeia lateral é favorável para esta bioatividade [29].

Noutro trabalho, um análogo da diosgenina designado FZU-0021-194-P2 (P2) (composto 11, figura 4) distinguiu-se pela sua atividade antitumoral em duas linhas celulares humanas, concretamente de cancro do pulmão de células não pequenas A549 e PC-9, sendo que o grupo ciano do P2 favorece a ligação a proteínas específicas e os centros quaternários de carbono proporcionam uma maior flexibilidade à molécula. De modo a aumentar a solubilidade deste derivado em água, procedeu-se à preparação e caracterização de fitossomas P2 (<100 nm). Estes revelaram atividade antiproliferativa em células do cancro do pulmão, através da indução da paragem do ciclo celular e apoptose [30].

Recentemente, a partir de alterações efetuadas nos anéis A e B da diosgenina, foram desenvolvidos novos azaesteroides. Neste contexto, o ácido (25*R*)-3β-acetoxi-5-oxo-5,6-seco-espirostan-6-óico (composto 12, figura 4), um coproduto obtido num dos passos para obter os referidos azaesteroides, inibiu a proliferação de células do cancro cervical (HeLa) e cólon (HCT-15), numa concentração baixa. Este composto e o acetato de (25*R*,7*E*)-hidroximinoespirost-5-eno (composto 13, figura 4) revelaram maior afinidade para o recetor de estrogénios α (ERα) e para o recetor de progesterona (PR) do que para o recetor de estrogénios β (ERβ), pelo que afetam o crescimento de células HeLa, pois estas expressam ERα e PR. Outro derivado, o (25*R*)-3β-acetoxi-1-aza-B-homo-5-espirosten-7-ona (composto 14, figura 4), exibiu atividade antiproliferativa na linha celular MDA-MB-231, numa concentração também baixa [31].

Resumidamente, a síntese de novos análogos da diosgenina tem como finalidade retificar algumas das limitações presentes na molécula original, que podem estar a reprimir o seu potencial futuro uso como agente terapêutico, e, conseqüentemente, aumentar a atividade antitumoral deste esteroide sem toxicidade associada.

A oxidação da diosgenina no desenvolvimento de novos agentes antitumorais

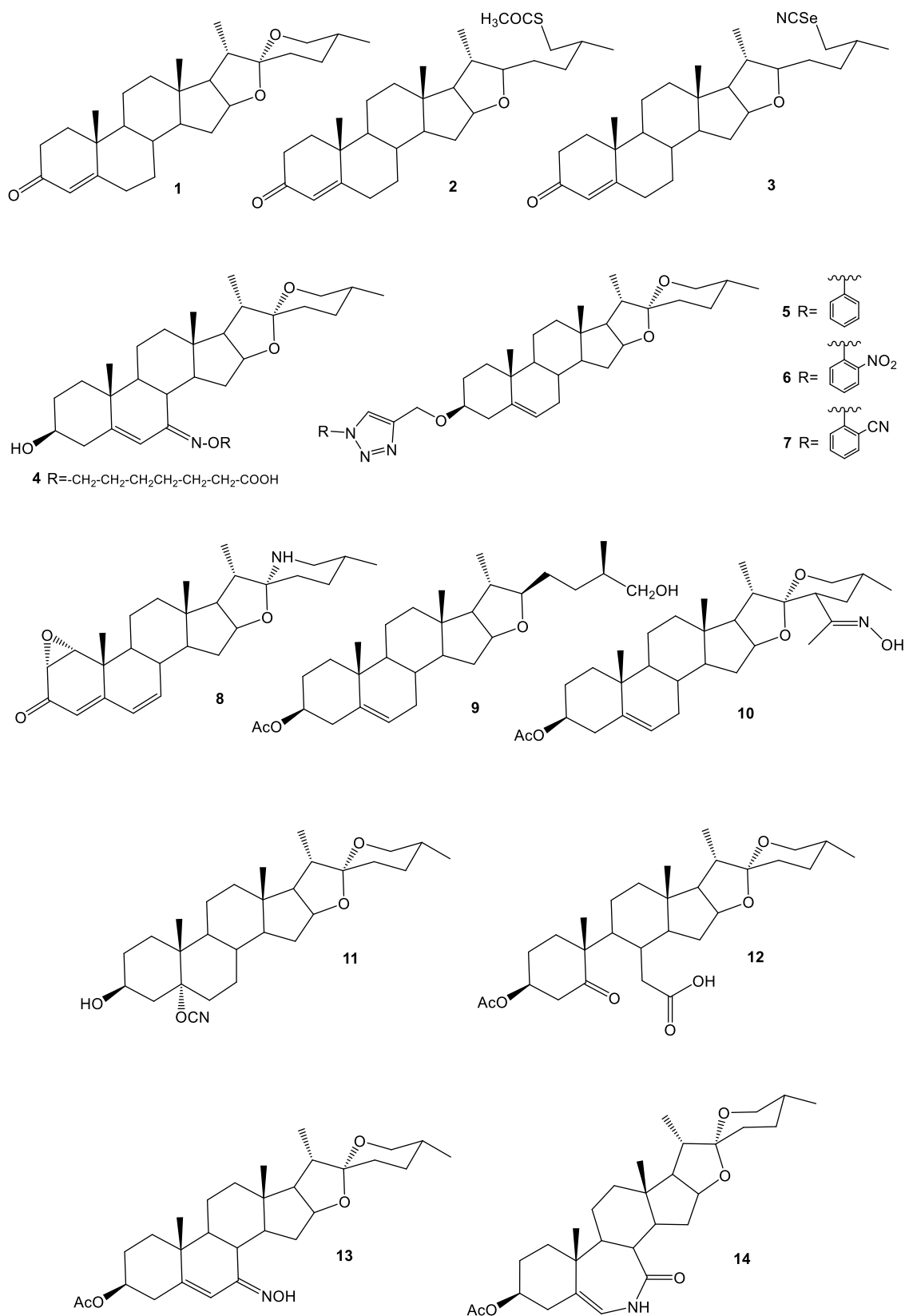


Figura 4 - Estruturas químicas de análogos semissintéticos da diosgenina. Figura criada no *software ChemDraw v. 17.1*.

2. Objetivos

2.1 Objetivo geral

O cancro é visto como uma doença tenebrosa que apresenta, atualmente, uma elevada morbidade e mortalidade, sendo que a sua incidência tem vindo a aumentar, ao longo dos anos.

A prevenção e o tratamento do cancro continuam em constante investigação e atualização. Neste sentido, a procura de novas abordagens terapêuticas por meio do desenvolvimento de novas moléculas antitumorais, eventualmente mais seguras e seletivas, é fundamental. Esta investigação pode envolver a síntese química de derivados de moléculas já descritas ou o estudo de compostos naturais que possam inviabilizar células cancerígenas.

A diosgenina, uma sapogenina esteroide natural, é conhecida por possuir atividade antiproliferativa em várias linhas celulares. Por este motivo, análogos semissintéticos da diosgenina têm sido estudados por demonstrarem características antitumorais relevantes.

Assim, o objetivo principal deste estudo traduziu-se na síntese química de derivados oxidados da diosgenina e posterior avaliação biológica da sua ação antitumoral em diferentes linhas celulares e da sua atividade como inibidores da 5 α -redutase (5AR), com o intuito de descobrir potenciais agentes anticancerígenos.

2.2 Objetivos específicos

A fim de alcançar o objetivo geral foram delineados os seguintes objetivos específicos:

- Proceder à síntese de derivados oxidados da diosgenina por uma reação de epoxidação, seguida de uma reação de abertura do anel epóxido, e posterior oxidação de dois grupos hidroxilos ou remoção de um grupo OH, sendo esta última seguida de oxidação dos restantes grupos hidroxilos presentes;
- Monitorizar as reações químicas efetuadas, purificar os produtos obtidos e analisar estruturalmente os mesmos;
- Avaliar a ação antitumoral em diferentes linhas celulares por meio de um ensaio *in vitro* de viabilidade celular, mais propriamente o ensaio de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT);
- Avaliar a atividade inibitória da enzima 5AR por parte dos compostos sintetizados, através da quantificação de testosterona por HPLC (*High performance liquid chromatography*).

3. Materiais e Métodos

3.1 Síntese Química

3.1.1 Reagentes e solventes

Todos os reagentes e solventes adquiridos comercialmente foram utilizados conforme recebidos, nos diversos procedimentos da síntese química realizada.

Na síntese química, os reagentes usados foram a diosgenina (*Sigma Aldrich*), monoperoxifalato de magnésio hexahidratado (MMPP) (*Sigma Aldrich*), sulfito de sódio (Na_2SO_3) (*José M. Vaz Pereira, S.A.*), bicarbonato de sódio (NaHCO_3) (*Fisher Scientific*), sulfato de magnésio anidro (MgSO_4) (*Merck*), ácido perclórico (HClO_4) (*Panreac*), cloreto de sódio (NaCl) (*Fisher Scientific*), sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) (*Panreac*), cloreto de tionilo (SOCl_2) (*Sigma Aldrich*), clorocromato de piridínio (PCC) (*Sigma Aldrich*), ácido sulfúrico (H_2SO_4) (*VWR, Prolabo*) e celite (*VWR, Prolabo*).

Para a realização das várias reações e procedimentos de purificação, os solventes utilizados foram o diclorometano (CH_2Cl_2), acetona, acetato de etilo (EtOAc), éter de petróleo 40-60 °C, ácido clorídrico (HCl), piridina, metanol (MeOH) e éter dietílico, fornecidos pela *Fisher Scientific*. O solvente utilizado para dissolver os compostos, antes da análise RMN, foi o clorofórmio deuterado (CDCl_3), o qual foi adquirido à *Sigma Aldrich*.

3.1.2 Materiais e equipamentos

A medição da massa de qualquer composto foi realizada na balança analítica *Radwag AS 220.R2*. Todas as reações foram efetuadas em balões de fundo redondo, sobre placas de aquecimento e de agitação *Heidolph*. Para evaporação dos solventes utilizaram-se evaporadores rotativos da *Büchi*. As placas de alumínio revestidas por sílica-gel (*Macherey-Nagel 60 G/UV254*) usadas na cromatografia em camada fina (CCF) permitiram monitorizar as diversas reações, sendo que em algumas foi efetuada visualização sob radiação ultravioleta (UV), a um comprimento de onda de 245 nm, no leitor CN-15.LC. No final de cada reação, os compostos sintetizados foram secos em atmosfera de vácuo na estufa *Raypa drying oven digit*. Sempre que necessário, os compostos foram previamente homogeneizados ou dissolvidos com o auxílio do sonificador *Branson*, para a análise por ressonância magnética nuclear (RMN) ou procedimentos cromatográficos, respetivamente.

Os espectros de ^1H RMN, obtidos através do espectrómetro *Bruker Avance III* 400 MHz, foram registados a 400 MHz, sendo depois processados e analisados no *software TopSpin 3.1*. Na caracterização dos compostos, os principais dados dos espectros de ^1H RMN estão indicados pela seguinte ordem: solvente, desvio químico (δ) em partes por milhão (ppm), integração, multiplicidade do sinal [s (singleto), d (duplete), t (triplete), q (quarteto) ou m (multiplete)], constante de acoplamento [J em Hertz (Hz)] e indicação do próton da molécula responsável pelo sinal.

3.1.3 Técnicas de monitorização e purificação

No decorrer das várias reações, de forma a monitorizar as mesmas, realizou-se CCF. Esta técnica de separação de substâncias é muito usada, tendo ampla aplicação num vasto número de amostras distintas, baixo custo, elevada sensibilidade, rápida separação e facilidade de uso. Com base na CCF, é possível analisar a pureza de um composto, separar e até identificar e quantificar os constituintes de uma mistura reacional, sendo que a separação ocorre durante a eluição da fase móvel através da fase estacionária [32]. Neste trabalho, a sílica-gel correspondeu à fase estacionária e o eluente utilizado foi maioritariamente a mistura de acetato de etilo/éter de petróleo 40-60 °C, em diferentes proporções (v:v), o que se encontra descrito em cada secção relativa às diversas reações. Para uma melhor visualização das manchas dos compostos, após a leitura sob radiação UV, acima referida, as placas de CCF foram impregnadas numa solução reveladora constituída por uma mistura de etanol a 99,9 % e ácido sulfúrico (95:5) e, após secarem, foram aquecidas em placa de aquecimento a 120 °C.

Por vezes, houve necessidade de purificação dos compostos, quando se observou na CCF a presença de manchas secundárias além da mancha principal correspondente ao produto esperado, ou a existência de impurezas pela análise RMN. Para isso, recorreu-se à cromatografia em coluna ou à recristalização. A cromatografia em coluna é uma cromatografia líquida, em que a fase móvel é um líquido e a separação completa dos componentes pode dar-se num breve período ou demorar horas. Para seleccionar a fase estacionária e a fase móvel apropriadas, tem de se considerar a natureza dos compostos [32]. Assim, nesta investigação, utilizou-se sílica-gel (0,063-0,200 nm ou 0,035-0,070 nm, conforme a quantidade a purificar e a coluna a utilizar) da *Merck*, como fase estacionária, e os eluentes (fase móvel) usados e respetivas proporções, aquando da realização da cromatografia em coluna, estão detalhados no procedimento experimental.

No que diz respeito à recristalização, esta técnica de purificação permite a separação de um sólido a partir de uma solução, quando se atinge um estado de saturação. As numerosas partículas sólidas da fase dispersa, cuja formação é um processo que pode ser

extremamente lento, constituem depois o produto final [33]. No presente trabalho, o MeOH foi o solvente usado para dissolver o composto resultante da reação, usando uma manta de aquecimento para o efeito. O arrefecimento desta solução permitiu, mais tarde, formação do precipitado/cristais.

3.1.4 Reações químicas

3.1.4.1 Reação de epoxidação da diosgenina: 5,6-epoxidiosgenina (C1) [34]

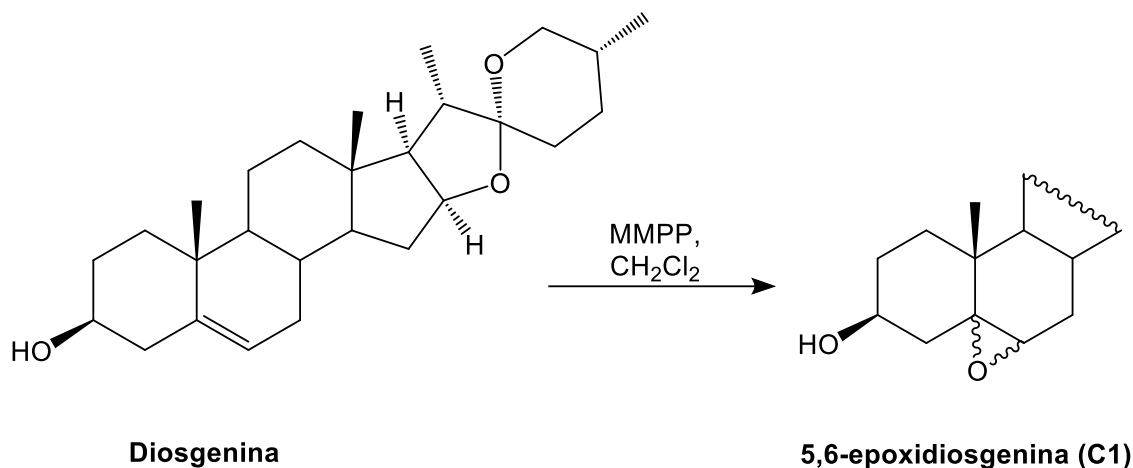


Figura 5 - Síntese de 5,6-epoxidiosgenina. Figura criada no *software ChemDraw v. 17.1*.

Primeiramente, procedeu-se à dissolução do substrato diosgenina (1,50 mmol, 622 mg) em 28,5 mL de CH_2Cl_2 , num balão de fundo redondo. Posteriormente, adicionou-se 600 μL de água e 816 mg de MMPP, ficando a mistura sob agitação magnética por cerca de 8 horas, à temperatura ambiente. Ao fim desse período, realizou-se uma CCF, cujo eluente consistiu em acetato de etilo/éter de petróleo 40-60 $^\circ\text{C}$ (1:2), observando-se uma única mancha ($R_f = 0,28$) de produto e consumo do substrato. Assim, a reação deu-se completamente e, foi parada.

Após o término da reação, filtrou e evaporou-se o solvente, obtendo-se um sólido branco. Este foi, subsequentemente, dissolvido em 150 mL de diclorometano. Numa ampola de decantação, efetuou-se a lavagem da fase orgânica com 50 mL de solução aquosa de Na_2SO_3 a 10%, 50 mL de solução saturada de NaHCO_3 e, por fim, 50 mL de água. De seguida, utilizou-se MgSO_4 anidro para secar a fase orgânica, filtrou e evaporou-se a mesma à secura. Finalmente, o produto foi seco em estufa de vácuo, obtendo-se aproximadamente 639 mg de um sólido branco, em que $\eta = 98\%$. Este foi depois analisado por espectroscopia ^1H RMN, onde se observou os sinais corretos do produto principal:

^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) ppm: 4,31 (1H, q, $J=7,48$ Hz, CH-16), 3,83 (1H, m, CH-3), 3,40 (1H, m, CH-26), 3,29 (1H, t, $J=10,90$ Hz, CH-26), 3,00 e 2,84 (1H, 2d, $J=2,22$ Hz e $J=4,38$ Hz, CH-6; proporção: 17:83), 1,01 (3H, s, CH_3 -19), 0,88 (3H, d, $J=6,94$ Hz, CH_3 -21), 0,72 (3H, d, $J=6,36$ Hz, CH_3 -27), 0,65 (3H, s, CH_3 -18).

3.1.4.2 Reação de abertura do anel epóxido: espirostando-3 β ,5 α ,6 β -trioi (C2) [35]

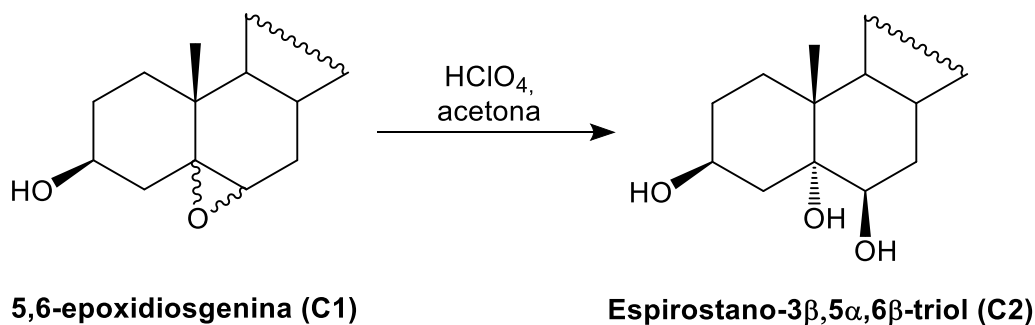


Figura 6 - Síntese de espirostando-3 β ,5 α ,6 β -trioi. Figura criada no *software ChemDraw v. 17.1*.

O substrato 5,6-epidiosgenina (1,48 mmol, 639 mg), proveniente da reação anterior, foi dissolvido em 37 mL de acetona, num balão de fundo redondo. Seguidamente, adicionou-se 6,7 mL de água e 610 μL de HClO_4 , e a mistura reacional deixou-se a reagir, sob agitação magnética e à temperatura ambiente. Ao fim de 6 horas, por observação de CCF, em que o eluente foi acetato de etilo/éter de petróleo 40-60 $^\circ\text{C}$ (1:2), constatou-se a existência de substrato por reagir. Apenas depois de 27 horas, novamente por visualização de CCF, considerou-se a reação de abertura do anel epóxido concluída, apesar da existência de uma mancha ténue de substrato, além de uma mancha notória ($R_f = 0,08$), correspondente ao produto pretendido.

Posteriormente, parou-se a reação e procedeu-se à remoção do solvente orgânico sob pressão reduzida, com o auxílio do evaporador rotativo. Após evaporação da acetona, adicionou-se 200 mL de EtOAc. Para a lavagem da fase orgânica, usou-se 3 \times 15 mL de solução saturada de cloreto de sódio (Brine) e 3 \times 15 mL de solução aquosa saturada de NaHCO_3 . Depois, fez-se a secagem da fase orgânica com Na_2SO_4 anidro, filtração a vácuo e evaporação da mesma. Por fim, o produto obtido foi colocado em estufa de vácuo para secar.

Mais tarde, através da análise do produto por espectroscopia de ^1H RMN, detetou-se a presença de impurezas. Neste sentido, efetuou-se a purificação deste composto por cromatografia em coluna de sílica (eluente: acetato de etilo/éter de petróleo 40-60 $^\circ\text{C}$, 1:1), obtendo-se cerca de 486 mg de produto final (sólido branco), equivalente a $\eta = 73$ %. Este composto foi então caracterizado com base na análise por ^1H RMN:

^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) ppm: 4,33 (1H, q, $J=7,40$ Hz, CH-16), 4,03 (1H, m, CH-3), 3,48 (1H, s, CH-6), 3,40 (1H, m, CH-26), 3,30 (1H, t, $J=10,84$ Hz, CH-26), 1,13 (3H, s, CH_3 -19), 0,89 (3H, d, $J=6,75$ Hz, CH_3 -21), 0,72 (6H, m, CH_3 -18 e CH_3 -27).

3.1.4.3 Tentativa de reação de eliminação do álcool terciário com formação de um ciclohexeno: espirost-4-eno-3 β ,6 β -diol (C3) [36]

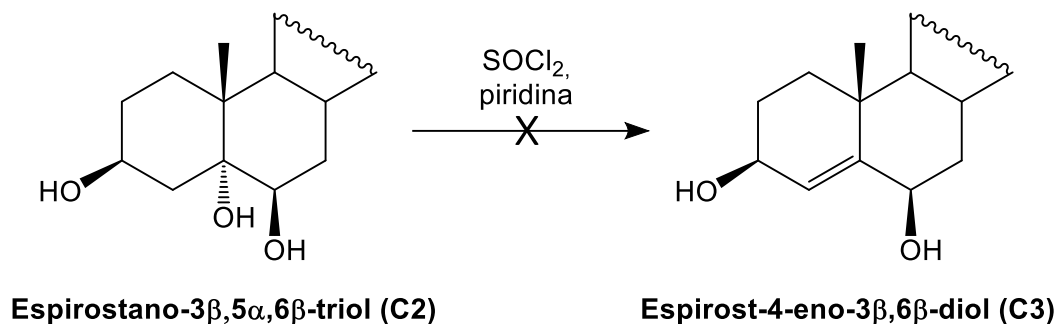


Figura 7 - Síntese de espirost-4-eno-3 β ,6 β -diol. Figura criada no *software ChemDraw v. 17.1*.

Inicialmente, num balão de fundo redondo, dissolveu-se o substrato espirostan-3 β ,5 α ,6 β -trioi (0,50 mmol, 224 mg) em 3,6 mL de piridina, à temperatura de 0 °C. De seguida, adicionou-se 364 μL de SOCl_2 e manteve-se a mistura reacional sob agitação magnética, durante sensivelmente 15 minutos, à temperatura referida. Neste período, observou-se uma mudança súbita de cor de esbranquiçado para azul/verde escuro. Tendo por base a CCF realizada (eluente: acetato de etilo/éter de petróleo 40-60 °C, 1:2) após o tempo estabelecido, observou-se a presença de uma mancha principal ($R_f = 0,26$), diferente da mancha do substrato, pelo que se admitiu a reação como concluída e foi parada.

Subsequentemente, verteu-se a mistura do balão reacional para cerca de 46 mL de água gelada, presenciando-se novamente uma alteração de cor para laranja. Após extração com EtOAc (2 \times 45 mL), a fase orgânica foi lavada, sequencialmente, com 15 mL de solução aquosa de HCl a 10 %, 15 mL de solução de NaHCO_3 a 5 % e 15 mL de água. Finalmente, sucedeu-se a secagem da fase orgânica com MgSO_4 anidro, seguida de filtração e evaporação em evaporador rotativo, sendo que o produto obtido foi seco em estufa de vácuo.

Depois da secagem adequada do produto, este foi submetido à análise por espectroscopia ^1H RMN. Tendo em conta que se identificaram algumas impurezas, com o objetivo de purificar o composto, realizou-se uma recristalização com MeOH, originando, após arrefecimento, filtração e secagem em estufa de vácuo, 98 mg de um sólido branco, $\eta =$

46 %. Este foi novamente examinado por ^1H RMN, mas a caracterização do produto obtido não foi possível, pois este continuou a apresentar impurezas, não permitindo identificar corretamente os sinais do mesmo. Contudo, o composto foi utilizado na reação descrita na secção 3.1.4.4.

3.1.4.4 Tentativa de reação de oxidação do $3\beta\text{-OH}$ e do $6\beta\text{-OH}$: espirost-4-eno-3,6-diona (C4) [37]

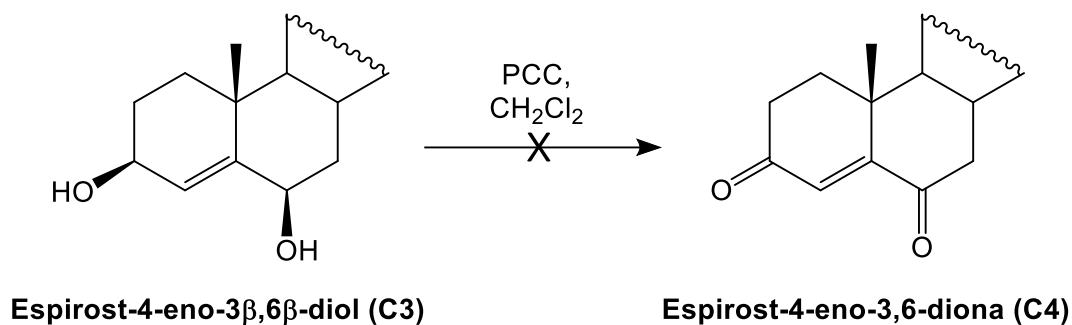


Figura 8 - Síntese de espirost-4-eno-3,6-diona. Figura criada no *software ChemDraw v. 17.1*.

Num balão de fundo redondo, o produto sólido obtido na reação anterior (74 mg) foi dissolvido em 1,48 mL de CH_2Cl_2 seco. Seguidamente, adicionou-se 261 mg de PCC e a mistura reacional permaneceu sob agitação magnética durante 15 horas, à temperatura ambiente. Após esse período, a reação considerou-se completa, uma vez que se verificou desaparecimento da mancha inicial na CCF efetuada (eluente: acetato de etilo/éter de petróleo 40-60 °C, 1:2), bem como o surgimento de manchas diferentes, com $R_f = 0,76$ e outra com $R_f = 0,53$.

Posteriormente, removeu-se o solvente, recorrendo ao evaporador rotativo, e adicionou-se éter dietílico ao resíduo ainda presente no balão. De seguida, procedeu-se à filtração, sob vácuo, através de uma camada de celite. Esta foi lavada também com éter dietílico para garantir que apenas os resíduos do oxidante (PCC) e outras impurezas da reação ficavam retidos na celite. O filtrado foi concentrado sob pressão reduzida, sendo depois seco em estufa de vácuo. Pela análise ^1H RMN, constatou-se que, como esperado, o produto apresentava impurezas na sua composição.

Assim, o composto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel, usando acetato de etilo/éter de petróleo 40-60 °C (1:3) como eluente. Deste processo obteve-se dois produtos, os quais foram analisados por espectroscopia ^1H RMN. Apesar de exibirem menos impurezas, a caracterização de ambos os compostos sintetizados não foi

exequível, uma vez que os poucos sinais identificados não permitiram ser conclusivos acerca dos possíveis produtos.

3.1.4.5 Reação de oxidação do 3 β -OH e 6 β -OH: 5 α -hidroxiespirostando-3,6-diona (C5) [37,38]

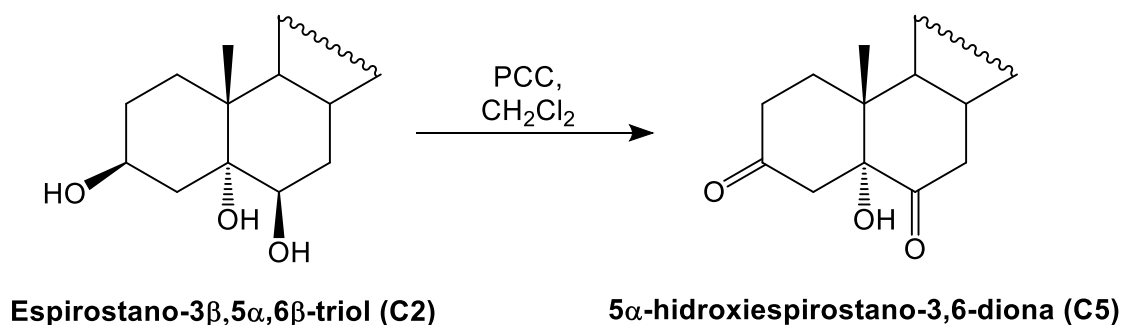


Figura 9 - Síntese de 5 α -hidroxiespirostando-3,6-diona. Figura criada no *software ChemDraw v. 17.1*.

Primeiramente, efetuou-se a dissolução do substrato espirostando-3 β ,5 α ,6 β -triol (224 mg; 0,50 mmol) em 4,30 mL de CH₂Cl₂, num balão de fundo redondo. Ao conteúdo do balão adicionou-se 759 mg de PCC, mantendo-se o sistema reacional sob agitação magnética, à temperatura ambiente. A reação foi controlada ao longo do tempo através da realização de CCF (eluente: acetato de etilo/éter de petróleo 40-60 °C, 1:2), sendo que ao fim de 4 horas, deu-se por concluída a reação, surgindo uma única mancha principal com R_f= 0,56, diferente da mancha do substrato.

Após evaporação do solvente, adicionou-se éter dietílico, seguindo-se a filtração, sob vácuo, por uma coluna de celite. A lavagem da camada de celite com éter dietílico contribuiu para a remoção de quaisquer resíduos insolúveis provenientes da reação. Depois da filtração, evaporou-se novamente o solvente, obtendo-se 85,2 mg de um sólido branco, η = 38 %, que foi seco em estufa de vácuo.

Mais tarde, o composto foi submetido à análise por ¹H RMN, onde se observou a ausência de impurezas e a presença dos sinais corretos do produto principal:

¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) ppm: 4,35 (1H, q, *J*= 7,29 Hz, CH-16), 3,41 (1H, m, CH-26), 3,30 (1H, t, *J*= 10,92 Hz, CH-26), 2,84 (1H, d, *J*= 16,21 Hz, CH-4), 2,70 (1H, t, *J*= 10,98 Hz, CH-4), 0,95 (3H, s, CH₃-19), 0,91 (3H, d, *J*= 6,68 Hz, CH₃-21), 0,73 (6H, m, CH₃-18 e CH₃-27).

3.2 Avaliação biológica

Para avaliar a atividade antiproliferativa dos compostos sintetizados a partir da diosgenina, realizaram-se vários ensaios de viabilidade celular em três linhas celulares distintas, concretamente células de adenocarcinoma da próstata sensíveis a androgénios (LNCaP), células de adenocarcinoma da próstata não sensíveis a androgénios (PC-3) e células epiteliais de adenocarcinoma mamário metastático sensíveis a estrogénios (MCF-7).

A atividade inibitória dos compostos derivados da diosgenina sobre a enzima 5AR, proveniente de fígados de murganhos, foi analisada através da quantificação de testosterona. Este ensaio foi previamente estudado e otimizado pelo grupo de investigação onde estive inserida.

3.2.1 Materiais e Reagentes

Nos ensaios com células, o meio de cultura RPMI 1640 (*Roswell Park Memorial Institute*) e meio de cultura DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*), adquiridos à *Sigma Aldrich*, foram utilizados para manter as linhas celulares. Com exceção do ensaio de proliferação celular, os meios foram suplementados com Soro Fetal Bovino (SFB) da *Biochrom AG* e antibióticos Ab (solução com 10 000 unidades/mL de penicilina, 10 mg/mL de estreptomicina e 25 µg/mL de anfotericina-B) e SP (solução com 10 000 unidades/mL de penicilina e 10mg/mL de estreptomicina), ambos da *Merck*. O corante azul de triptano (0,4 %) foi fornecido também pela *Merck*. A tripsina (1 g de tripsina para 666 mL de PBS/EDTA), MTT e dimetilsulfóxido (DMSO) foram adquiridos à *Sigma Aldrich*. Para a realização dos ensaios de viabilidade celular, as células foram semeadas em microplacas de 96 wells da *Thermo Fisher Scientific*.

No ensaio enzimático, a testosterona, da *Sigma Aldrich*, foi o substrato da reação catalisada pela 5AR, a qual foi interrompida pelo CH₂Cl₂, fornecido pela *Fisher Scientific*. O acetonitrilo, um dos componentes da fase móvel selecionada para a análise HPLC, foi adquirido igualmente à *Fisher Scientific*.

3.2.2 Equipamentos

No decurso dos ensaios de avaliação biológica foram utilizados os seguintes equipamentos: câmara de fluxo laminar vertical *NuAire* de Classe II, para manutenção da assepsia durante os trabalhos de investigação; incubadora *NuAire DHD Autoflow CO2 Air-Jacketed*, para preservar as células a 37 °C, numa atmosfera humidificada, contendo 5 % de CO₂; centrífuga *Bioblock Scientific (Sigma-3K18C)*, para separação das

células do meio; microscópio ótico *Olympus CKX 40/41*, para observação das células; banho de aquecimento *Fisher Scientific*, para aquecer os meios de cultura, entre outros; *Bio-rad xMark™ Microplate Absorbance Spectrophotometer*, para leitura e quantificação da absorvância produzida pelos cristais de formazano formados no ensaio de MTT; dispersor *Ultra-turrax*, para homogeneizar os fígados de murganhos; *Labnet Vortex Mixer VX-220*, para agitação das amostras; centrífuga *Beckman Coulter Allegra™ X-22R*, para realização dos ciclos de centrifugação no processamento das amostras; o equipamento *Shimadzu LC-2010A HT Liquid Chromatography* com o detetor DAD (*diode array detector*) *Shimadzu SPD-M20A* e a coluna de fase reversa *LiChroCART® Purospher Star (C18, 55mm × 4mm; 3µm)*, protegida por pré-coluna *LiChroCART® Purospher Star (C18, 4mm × 4mm; 5µm)*, foram usados para a análise por HPLC.

3.2.3 Ensaio de viabilidade celular

3.2.3.1 Linhas celulares

3.2.3.1.1 LNCaP [39]

As células LNCaP (*Lymph node carcinoma of the prostate*) consistem em células humanas do adenocarcinoma da próstata sensíveis a androgénios, que foram isoladas pela primeira vez em 1977, a partir de uma metástase num nódulo linfático supraclavicular esquerdo de um homem caucasiano de 50 anos. Este tipo de células epiteliais caracteriza-se pela sua aderência, podendo crescer sob a forma de agregados ou de forma isolada. Neste estudo, as células LNCaP foram mantidas em meio de cultura RPMI-1640, suplementado com 10 % de SFB e 1 % de antibiótico SP.

3.2.3.1.2 MCF-7 [40]

As células MCF-7 (*Michigan Cancer Foundation-7*) são células epiteliais de um adenocarcinoma mamário metastático, que foram isoladas a partir de uma efusão pleural de uma mulher caucasiana de 69 anos. O acrónimo atribuído a esta linha celular faz referência ao Instituto responsável pelo seu primeiro isolamento. Estas células, além de serem sensíveis a estrogénios, são aderentes e têm crescimento em monocamada. No presente trabalho, as células MCF-7 foram mantidas em meio de cultura DMEM, suplementado com 10 % SFB e 1 % de antibiótico Ab.

3.2.3.1.3 PC-3 [41,42]

As células epiteliais PC-3, de um adenocarcinoma prostático de grau IV, obtidas a partir de uma metástase óssea de um homem caucasiano de 62 anos, são células aderentes, não sensíveis a androgênios e o seu crescimento é em *clusters*. Esta linha celular revela baixa atividade de fosfatases ácidas e de testosterona-5 α -redutase. Neste estudo, as células PC-3 foram mantidas em meio de cultura RPMI-1640, suplementado com 10 % de SFB e 1 % de antibiótico SP.

3.2.3.2 Técnicas de Cultura Celular

As diferentes linhas celulares foram cultivadas em *T-flasks* com 75 cm² ou 175 cm² de área. A incubação de todas as células foi realizada a uma temperatura de 37 °C, em atmosfera humidificada com 5 % de CO₂. O respectivo meio de cultura das células foi substituído a cada 2/3 dias e, sempre que as mesmas estavam próximas da confluência, as células foram tripsinizadas e expandidas para novos *T-flasks*.

Todos os procedimentos das técnicas de cultura celular foram executados cuidadosamente, seguindo as normas de segurança e mantendo as condições assépticas.

3.2.3.2.1 Preparação dos meios de cultura

Os meios de cultura utilizados no presente trabalho foram preparados com água Milli-Q. O pH dos mesmos foi medido através de um potenciômetro e, quando necessário, ajustado através de soluções de HCl e NaOH 1 M, sendo que o pH dos meios DMEM e RPMI deve ser 7,4 e 7,2, respectivamente. O meio de cultura completo, o qual é suplementado com SFB e antibióticos adequados, foi usado na cultura de células nos *T-flasks*, na tripsinização e na preparação das soluções dos compostos a diferentes concentrações. O meio de cultura incompleto, ou seja, meio sem adição de SFB e antibióticos, foi utilizado para a realização do ensaio de MTT.

Para garantir a esterilidade dos meios, estes foram filtrados com o auxílio do sistema de vácuo, na câmara de fluxo laminar. Após a sua preparação, os meios foram devidamente identificados, datados e armazenados a uma temperatura de 4 a 8 °C. Antes do uso dos meios, quer em ensaios, quer em alguma técnica de cultura celular, os mesmos foram previamente aquecidos num banho de água a 37 °C.

3.2.3.2.2 Manutenção das culturas celulares

Com o tempo, vai ocorrendo o consumo de nutrientes presentes no meio de cultura e com o metabolismo celular vai havendo acidificação do meio e, com isso, há alteração da sua cor (observa-se alteração de cor de rosa para vermelho-alaranjado). Cada meio usado nesta investigação contém um indicador de pH, que é responsável por esta mudança de cor. Assim, os meios de cultura foram adequadamente substituídos, o que ocorreu a cada 2 a 3 dias nas linhas celulares em estudo. Todos os meios de cultura foram conservados no frigorífico, pelo que, antes de se proceder à substituição propriamente dita, o seu aquecimento foi necessário. Após descarte do meio consumido, o novo meio de cultura foi colocado cuidadosamente no *T-flask*, para não perturbar as células aderentes. No final do processo, observou-se novamente as células ao microscópio e o *T-flask* voltou a ser reservado na incubadora.

3.2.3.2.3 Tripsinização

A tripsinização é uma técnica que permite a dissociação das células entre si, libertando-as também do frasco de cultura (*T-flask*). A tripsina, uma enzima proteolítica, é habitualmente usada para promover a degradação das proteínas associadas à adesão celular. Quando as células atingem uma confluência entre 70 % a 90 % (variável, consoante o tipo de células; a avaliação foi feita por observação microscópica), as mesmas devem ser tripsinizadas [43].

O processo de tripsinização iniciou-se sempre com a aspiração do meio de cultura do *T-flask*, o qual foi lavado depois com 10 mL de tampão fosfato salino (PBS) (90 % água milli-Q e 10 % PBS; 10 x), previamente aquecido. Após a aspiração deste, 5 mL de solução de tripsina foram adicionados ao *T-flask*, sendo que se colocou o mesmo na incubadora durante 3-5 minutos, para que as células aderidas se dissociassem e soltassem. Seguidamente, verificou-se ao microscópico a formação da suspensão celular, promovendo a dissociação das células com ligeiros movimentos mecânicos, caso necessário. Posto isto, a ação da tripsina foi neutralizada através da adição de 5 mL do respetivo meio de cultura completo, previamente aquecido. A suspensão celular resultante foi transferida para um *falcon*, centrifugando-se o mesmo a 1000 rpm durante 8 minutos. Após descarte do sobrenadante, ressuspendeu-se o *pellet* com alguns mL do respetivo meio de cultura completo (quantidade ajustável conforme o *pellet*), até ficar homogeneizado. Finalmente, um pequeno volume desta suspensão celular (dependente da concentração celular pretendida e ajustável ao tamanho do *T-flask*), retirado com uma alíquota, foi colocado em novos *T-flasks* ou usado para contagem, preparação de novas

suspensões e sementeira para posterior realização de um ensaio de viabilidade celular (ensaio MTT).

3.2.3.2.4 Contagem e sementeira celular

A contagem do número de células existentes na suspensão resultante do último passo da tripsinização permite semear depois as células na densidade adequada. Primeiramente, retiraram-se 10 µl da suspensão celular para um tubo *ependorf*, ao qual se adicionaram 10µl de solução de azul de triptano (0,4 %). De seguida, aplicou-se o conteúdo resultante na câmara de *Neubauer*, posicionando-se adequadamente a lamela, e procedeu-se à contagem do número de células em cada quadrante. A quantidade a retirar da suspensão celular em estudo foi determinada através da seguinte expressão:

$$(1) \quad Vi = \frac{Vf \times Cf}{\bar{x} \times 2 \times 10^4}$$

em que Vi é o volume a retirar da suspensão celular inicial, Vf representa o volume final pretendido, Cf corresponde à concentração final desejada e \bar{x} é a média de células existentes por quadrante. O denominador desta expressão representa a concentração inicial de células, a qual é então calculada com base na fórmula de *Neubauer* (2×10^4).

Na presente avaliação biológica, microplacas de 96 poços foram utilizadas para semear as células, preparando-se previamente uma suspensão celular de 2×10^4 células/mL. Em cada um dos 60 poços centrais da placa colocou-se 100 µL de suspensão e nos restantes poços circundantes adicionou-se apenas água esterilizada (“zeros”). As microplacas permaneceram na incubadora durante 48 horas, de modo a promover a aderência e o crescimento celular, antes da aplicação dos compostos em estudo.

3.2.3.3 Preparação de soluções e incubação das células com os compostos

Precedentemente ao ensaio MTT, procedeu-se à preparação de soluções-mãe (10 mM) dos compostos C2 e C5, dissolvendo os mesmos em DMSO. Relativamente à sua conservação, estas soluções foram armazenadas no frigorífico (4 °C).

A partir das soluções-mãe foram preparadas soluções diluídas no meio de cultura completo correspondente a cada linha celular com as seguintes concentrações: 0,01 µM; 0,1 µM; 1 µM; 10 µM; 50 µM; 100 µM. Os compostos referidos foram testados nestas concentrações, nas três linhas celulares distintas, com a finalidade de obter curvas de concentração-resposta para subsequente determinação do IC₅₀, ou seja, a concentração de composto que inibe 50 % do crescimento celular.

Após as primeiras 48 horas de incubação, as células foram observadas ao microscópio e removeu-se o meio de cultura dos vários poços. Posteriormente, colocou-se o respetivo meio de cultura nos poços designados de controlo (colunas indicadas com um “C” na figura 10) e adicionaram-se as soluções diluídas dos compostos em estudo às células existentes na placa (n= 4), segundo a disposição representada na figura 10. A microplaca foi novamente incubada durante 48 horas. Passado esse período, o ensaio MTT foi realizado, a fim de avaliar a viabilidade celular.

3.2.3.4 Ensaio MTT

O ensaio MTT é uma metodologia frequentemente utilizada para avaliar o potencial antitumoral dos compostos em vários tipos de células, baseando-se na clivagem redutiva do sal brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (solúvel em água) a cristais de formazano insolúveis (composto azul-arroxeadado) pela enzima mitocondrial succinato-desidrogenase, que somente existe e está funcional no interior das células viáveis. Estes cristais de formazano não atravessam as membranas celulares, e considera-se que a quantidade de formazano produzida é proporcional ao número de células viáveis com respiração celular ativa. Após a dissolução dos cristais formados, os mesmos são quantificados por espectrofotometria, visto que estes compostos têm a capacidade de absorver na região do visível. O ensaio permite então medir a citotoxicidade, proliferação ou ativação celular, bem como a sensibilidade a diferentes fármacos em linhas de culturas celulares e em culturas primárias de células [44-46].

Apesar de ser um teste sensível, preciso, rápido e económico, o MTT é fotossensível e carcinogénico, pelo que o seu manuseamento (pesagem, adição e remoção) deve ser extremamente cuidadoso e realizado na ausência de luz, sempre que possível. Assim, neste trabalho experimental, o ensaio de viabilidade celular foi efetuado com toda a prudência, cumprindo estas condições.

A avaliação biológica através do ensaio MTT é realizada depois da sementeira celular nas placas, a qual é precedida da tripsinização das células e seguida pela incubação destas com os compostos em estudo durante 48 horas, neste caso.

No que diz respeito à sua preparação, o MTT foi dissolvido em PBS para obtenção de uma concentração de 5 mg/mL e filtrado com o auxílio de uma seringa e um filtro. Esta solução resultante foi misturada com meio de cultura incompleto, num *falcon*.

Após o contacto das células com os diferentes compostos, procedeu-se à observação microscópica das mesmas e aspirou-se cuidadosamente o meio de cultura de cada poço, bem como a água existente nos poços da primeira coluna da microplaca (de B a G,

inclusive, como representado na figura 10), constituindo os “zeros” do ensaio. Por outro lado, as colunas assinaladas com um “C” na figura 10 funcionaram como controlos negativos neste ensaio, uma vez que não foram aplicados compostos nestes poços (apenas células e meio de cultura completo).

De seguida, fez-se rapidamente a lavagem com PBS, o qual foi removido com bastante cuidado para não destacar as células do fundo dos poços. Depois da adição de 100 µL da solução de MTT a cada poço, na ausência de luz, as microplacas foram mais uma vez incubadas numa atmosfera de 37 °C em 5 % de CO₂, durante 4 horas. Após o tempo de incubação, efetuou-se a aspiração do conteúdo existente nos poços e adicionou-se, em cada poço, 100 µL de DMSO, solubilizando os cristais de formazano formados.

Finalmente, a solução de cor arroxeadada obtida foi quantificada através da medição da absorvância, a 570 nm, num leitor espectralfotométrico, sendo que a intensidade da cor é diretamente proporcional à quantidade de cristais formazano formados. Neste sentido, a absorvância está relacionada com o número de células viáveis, uma vez que os compostos arroxeadados existem apenas no interior destas. Todos os resíduos contaminados com MTT, incluindo as placas *multiwells*, foram descartados no contentor vermelho.

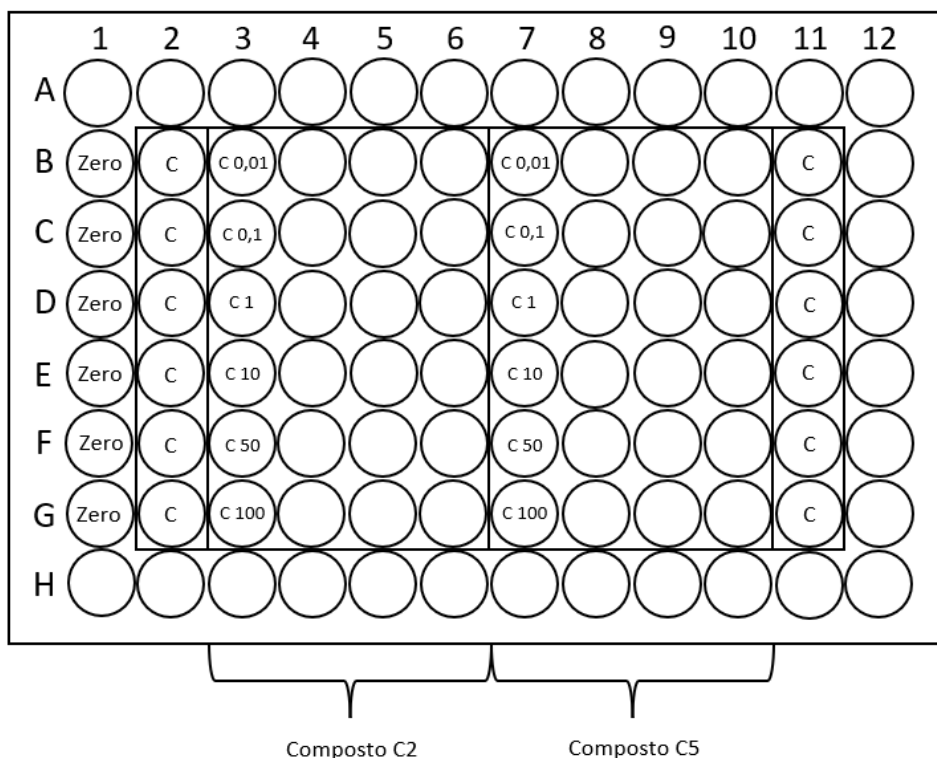


Figura 10 - Esquema ilustrativo das microplacas *multiwells* utilizadas no ensaio de curva dose-resposta. A solução de cada concentração (µM) foi colocada em 4 poços da mesma linha (n= 4). Figura criada no software Microsoft Word.

3.2.4 Ensaio de inibição da enzima 5 α -redutase

A enzima 5AR, juntamente com o cofator NADPH, é responsável pela conversão de testosterona a um androgénio ativo e mais potente, dihidrotestosterona (DHT), o qual possui maior afinidade pelos recetores de androgénios e menor taxa de dissociação, desencadeando várias ações hormonais. Embora seja necessário para o normal crescimento dos indivíduos masculinos, a formação excessiva de DHT nos tecidos responsivos a androgénios pode causar diversas doenças, nomeadamente acne, hirsutismo, alopecia androgénica, hiperplasia benigna da próstata (HBP) e cancro da próstata. Atualmente, inibidores da 5AR estão disponíveis para o tratamento destes distúrbios, destacando-se a finasterida para a HBP. No entanto, este fármaco pode provocar os seguintes efeitos adversos: impotência (disfunção erétil), ejaculação anormal, diminuição do volume ejaculatório, função sexual anormal, ginecomastia, dor testicular e mialgia. Para evitar que tais efeitos indesejáveis se manifestem, a comunidade científica tem investido no desenvolvimento de novos compostos anti-androgénicos mais seletivos, partindo de produtos naturais [47-49].

Nesta investigação, a capacidade de inibição da enzima 5AR pelos compostos C2 e C5 foi determinada através da quantificação de testosterona por HPLC-DAD, uma técnica comumente utilizada para este tipo de análise [50]. O controlo positivo deste ensaio consistiu numa solução de finasterida a 10 μ M, enquanto o controlo negativo foi uma solução sem qualquer composto com atividade inibitória da enzima, considerando a sua concentração de testosterona antes e depois da incubação (t_0 e t_{30} , respetivamente). Para padrão interno (PI) usou-se perampanel, um fármaco antiepilético. O desenvolvimento do método analítico usado e a obtenção de uma reta de calibração para calcular a concentração de testosterona foram anteriormente efetuados pela Mestre Vanessa Brito, no âmbito dos trabalhos para a sua tese de doutoramento. Na reta de calibração, obteve-se uma equação $y = bx + a$, em que y corresponde ao rácio entre a área do pico de testosterona e a área do pico do PI e x representa a concentração de testosterona (μ g/mL).

Os resultados foram expressos em percentagem de inibição da atividade da enzima 5AR (%), através da seguinte equação [48]:

$$(2) \quad \% \text{ inibição} = \frac{C_{\text{exp amostra}} - C_{\text{exp_CNEG_t30}}}{C_{\text{exp_CNEG_t0}} - C_{\text{exp_CNEG_t30}}} \times 100$$

3.2.4.1 Preparação de soluções [48]

No presente ensaio, fígados isolados de murganhos constituíram a fonte da enzima em estudo. Após a sua pesagem, estes foram homogeneizados com 4 volumes de tampão Tris-HCl gelado (no *Ultra-turrax*) e centrifugados durante 20 minutos (2400 rpm, 4 °C). Os sobrenadantes resultantes foram armazenados a -80 °C até ao seu uso.

A partir das soluções-mãe (10 mM) dos compostos C2 e C5 procedeu-se inicialmente à preparação de soluções intermédias (100 µM), as quais foram posteriormente utilizadas para a preparação das soluções de trabalho (10 µM) dos compostos a testar. O DMSO foi o solvente usado para diluir as diferentes soluções.

No que concerne à solução de testosterona, também se preparou uma solução intermédia (0,7 mg/mL), dissolvendo um pequeno volume de solução *stock* (5 mg/mL) em MeOH. De seguida, a solução de trabalho (0,35 mg/mL) foi obtida através da diluição da solução intermédia em tampão Tris-HCl.

Em relação ao PI, a solução de trabalho de perampanel, com uma concentração de 0,1 mg/mL, foi preparada a partir de uma solução *stock* deste fármaco (1 mg/mL), a qual foi diluída em MeOH e água.

3.2.4.2 Incubação [47]

Primeiramente, os sobrenadantes de fígado foram retirados do frio com alguma antecedência. Para cada composto em estudo fizeram-se quatro replicados. Em cada *falcon* de 15 mL adicionou-se 250 µL de tampão Tris-HCl, 50 µL de solução de composto a testar, 100 µL de solução de testosterona, 350 µL de sobrenadante de fígado, 100 µL de solução de PI e 150 µL de solução de NADPH, cofator fundamental para se desencadear a reação. As diferentes misturas foram subsequentemente incubadas a 37 °C, durante 30 minutos. Após esse período, interromperam-se as reações pela adição de 5 mL de CH₂Cl₂.

3.2.4.3 Processamento das amostras [47,48]

Depois da agitação das amostras por 60 segundos, no *vortex*, estas completaram dois ciclos de centrifugação com condições distintas. O primeiro ciclo foi realizado a 500 rpm, durante 10 minutos e o segundo efetuou-se a 4500 rpm por 25 minutos, sendo que ambos foram executados a uma temperatura de 4 °C. Estes passos de centrifugação foram previamente otimizados pelo grupo de investigação do qual fiz parte.

No final, a fase orgânica (CH₂Cl₂) foi cuidadosamente decantada para um tubo de ensaio, evaporando-se seguidamente a mesma. Os resíduos que ficaram nos tubos de ensaio foram reconstituídos com 1 mL da fase móvel estabelecida para este ensaio, que consiste numa mistura de acetonitrilo e água Milli-Q (40:60). Após agitação em *vortex* (60 segundos), 200 µL do conteúdo de cada um dos tubos foi transferido para crioviais, injetando-se ulteriormente 10 µL de cada amostra no sistema de HPLC.

Para a separação e quantificação da testosterona, além da fase móvel supracitada, o sistema foi equipado com uma coluna de fase reversa *LiChroCART*[®] *Purospher Star* (C18, 55mm × 4mm; 3µm), protegida por pré-coluna *LiChroCART*[®] *Purospher Star* (C18, 4mm × 4mm; 5µm), constituindo a fase estacionária, cuja temperatura foi mantida a 40 °C. Neste ensaio, a taxa de fluxo foi de 1 mL/min e o DAD foi ajustado para 245 nm para detetar os componentes que eluem do HPLC. O limite inferior de quantificação (LLOQ) definido para o equipamento foi de 5 µg/mL. Outros parâmetros que se consideraram relevantes no ensaio foram os tempos de retenção da testosterona (3,01 min) e do PI (4,05 min).

3.2.5 Análise estatística

A análise estatística foi utilizada para comparar adequadamente os resultados obtidos. O tratamento dos resultados gráficos provenientes, quer do ensaio de viabilidade celular, quer do ensaio enzimático, foi efetuado no programa *Microsoft Excel*, sendo que os mesmos foram expressos como valores médios ± desvio padrão. Para a análise comparativa entre os múltiplos grupos recorreu-se ao teste *t-Student*, que permitiu determinar a eventual existência de diferenças significativas entre as médias. Esta diferença foi considerada estatisticamente significativa quando $p < 0,05$.

Relativamente aos valores de IC₅₀, estes foram calculados com base na curva dose-resposta de regressão não linear, através de cálculos de ajustamento sigmoide.

4. Resultados e Discussão

4.1 Síntese Química

A síntese química que se tentou efetuar, representada na figura 11, pretendia a obtenção de cinco derivados oxidados da diosgenina, envolvendo reações de oxidação, inclusivamente epoxidação e oxidação de álcoois secundários, bem como abertura de epóxido e desidratação.

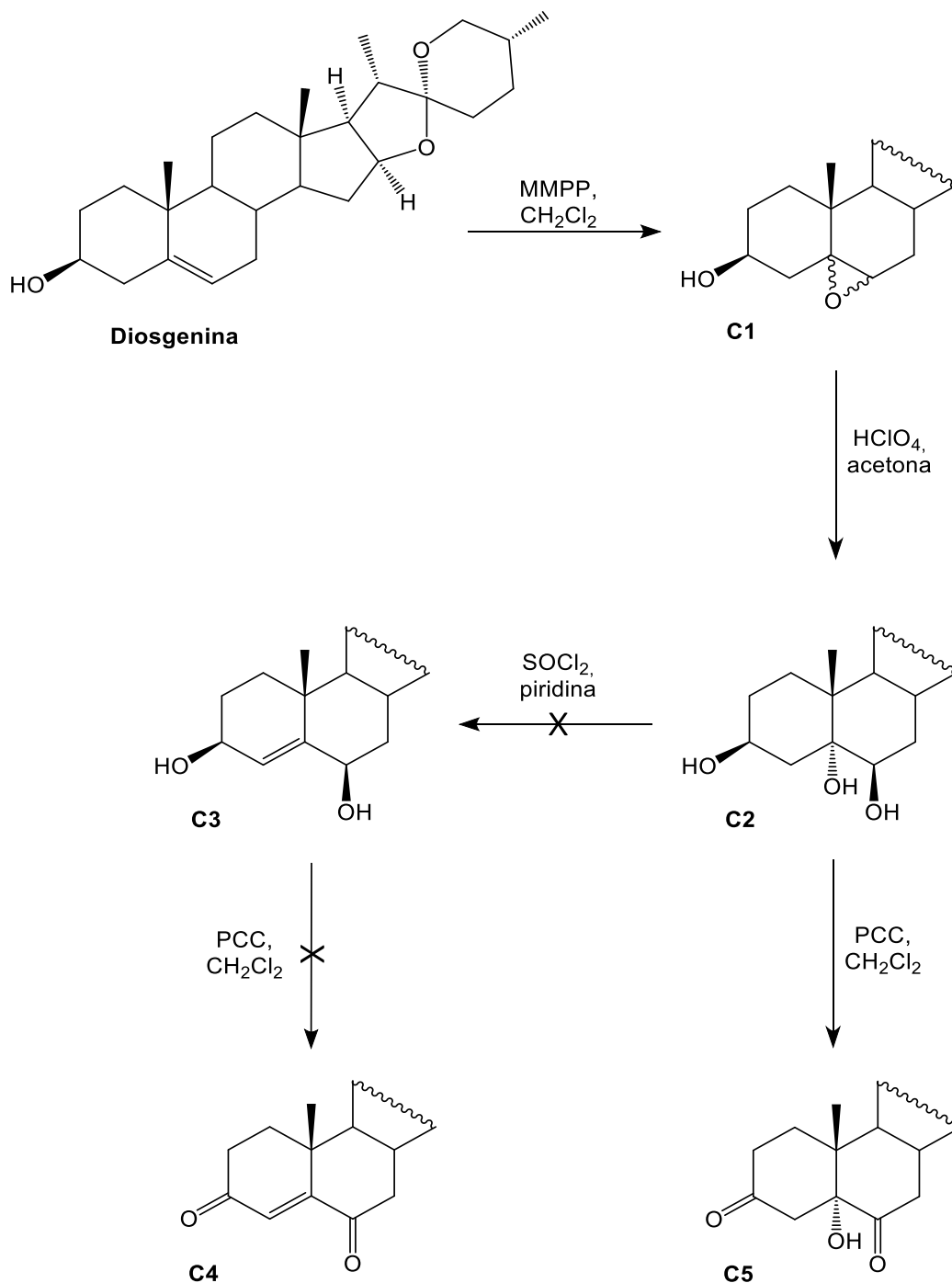


Figura 11 - Esquema geral da síntese química. Figura criada no software ChemDraw v. 17.1.

Primeiramente, o composto 5,6-epoxidiosgenina (C1) foi sintetizado a partir da diosgenina, usando o MMPP como oxidante. Dado que este reagente é relativamente estável, a sua manipulação não é muito perigosa. Outra vantagem associada ao MMPP é a sua alta solubilidade em água, facilitando a sua remoção por extração com solventes aquosos, aquando da realização do *workup*. Assim, a utilização deste oxidante na epoxidação de Δ^5 -esteroides, que são pouco polares, tem-se revelado bastante vantajosa e útil, permitindo uma elevada estereosseletividade, apesar da relativa lenta velocidade de reação [34]. No presente trabalho, esta transformação deu-se como concluída ao fim de 8 horas sob agitação magnética, ou seja, o composto C1 foi obtido em menos de 24 horas (tempo descrito num estudo realizado anteriormente pelo grupo de investigação onde estive inserida). Esta redução de tempo reacional pode dever-se, essencialmente, à otimização prévia das quantidades de CH_2Cl_2 e água. Na primeira tentativa, como a epoxidação não ocorreu totalmente após 24 horas de agitação, adicionaram-se pequenas porções de CH_2Cl_2 e água para a favorecer, por aumentarem a solubilidade dos componentes reacionais, as quais foram consideradas logo no início da reação nas tentativas seguintes. Como o produto obtido não sofreu qualquer procedimento adicional de purificação além do *workup* convencional, não houve perdas relevantes e o rendimento final da reação de epoxidação foi substancialmente elevado (98 %).

A hidrólise do epóxido com HClO_4 originou o diol correspondente, porém, impuro. Embora para esta reação se tenham também otimizado as quantidades de solvente (acetona e água), passadas 27 horas de agitação (período superior ao que está indicado em experiências anteriores), verificou-se ainda a presença do substrato epóxido, além do diol pretendido. Assim, o esteroide originado pela abertura do epóxido foi purificado por coluna cromatográfica [35]. No decorrer deste procedimento, alterou-se a composição do eluente, para acelerar a eluição do composto C2. Como, de acordo com a CCF, o triol é mais polar que o substrato da reação e que as impurezas formadas, este caracteriza-se por uma maior afinidade para a sílica na coluna, ou seja, para a fase estacionária, ficando, assim, mais tempo retido na coluna. Neste sentido, o primeiro eluente usado consistiu numa mistura de acetato de etilo e éter de petróleo 40-60 °C (1:1). Após eluição das porções não correspondentes ao produto de interesse (tempos de retenção menores), o metanol passou a ser a fase móvel, para eluir o espirostano-3 β ,5 α ,6 β -triol. Apesar de haver perdas de produto ao longo de todo o procedimento, principalmente durante a cromatografia em coluna, o rendimento final foi de 73 %.

Para a eliminação do álcool terciário presente no carbono 5 e consequente formação de um ciclohexeno, utilizou-se SOCl_2 como reagente e piridina como solvente. Esta reação ocorreu a uma baixa temperatura (0°C), observando-se rapidamente por CCF a formação de uma mancha que se pensou ser o produto pretendido [36,51]. Em estudos anteriores, foi descrito que o uso de SOCl_2 em piridina promoveu efetivamente a desidratação de álcoois; porém o SOCl_2 também se caracteriza por elevada reatividade e, por isso, por vezes, também são relatados problemas nesta transformação [52,53]. No caso do presente trabalho, embora se tenha observado o consumo do substrato e, aparentemente, uma única mancha de produto na CCF depois de 15 minutos de reação, a análise do composto obtido por RMN revelou sinais não característicos do produto pretendido, bem como a existência de impurezas. Assim, tentou-se purificar o produto obtido através de uma recristalização em MeOH. Nesta reação, não se recorreu a uma coluna cromatográfica, porque se obteve uma quantidade muito reduzida de produto. Contudo, no espectro de ^1H RMN, a situação anteriormente descrita manteve-se.

Mesmo desconhecendo o composto principal obtido na reação com SOCl_2 , decidiu-se arriscar efetuar uma oxidação com PCC [37]. Este oxidante (sólido amarelo-alaranjado) é um reagente estável, que se caracteriza por uma alta seletividade reacional e baixa higroscopicidade. De facto, o PCC é conhecido pela sua capacidade de oxidar álcoois, gerando compostos carbonílicos. Esta conversão conduz habitualmente a rendimentos superiores a 80 % [54-56]. Como na tentativa efetuada a CCF evidenciou a presença de duas manchas diferentes da do aparente substrato, e a análise por RMN detetou a presença de impurezas, a mistura resultante da reação descrita na secção 3.1.4.4 foi sujeita a cromatografia em coluna de sílica. Deste procedimento obtiveram-se dois compostos, cuja identificação dos sinais exibidos nos respetivos espectros de ^1H RMN foi também impossível.

Considerando o insucesso nas duas últimas reações apresentadas, o composto C2 foi utilizado numa outra reação, em que se utilizou o reagente PCC e o solvente CH_2Cl_2 [37]. O rendimento reacional foi relativamente baixo (38 %), o que não está de acordo com a literatura [56]. Pensamos que a perda significativa do produto possa ter ocorrido principalmente na filtração da mistura resultante da reação, sob vácuo, através de uma camada de celite, ficando parte do mesmo retido nesta. Deste modo, compostos C2 e C5 foram selecionados para os estudos de avaliação biológica.

Na tabela 1 estão apresentados os rendimentos finais das reações que decorreram corretamente, permitindo a síntese dos compostos C1, C2 e C5.

Tabela 1 - Rendimentos finais dos compostos sintetizados.

Compostos	Rendimentos Finais (%)
C1	98
C2	73
C5	38

A análise dos espectros de ^1H RMN dos compostos sintetizados permitiu a caracterização estrutural dos compostos C1, C2 e C5, os quais já foram anteriormente descritos na literatura. No que concerne ao epóxido resultante da primeira reação (anexo 1), entre os principais sinais detetados destacaram-se dois dupletos, um a 3,00 ppm e outro a 2,84 ppm, os quais correspondem aos prótons $6\beta\text{-H}$ e $6\alpha\text{-H}$, respetivamente, revelando a existência de uma mistura dos dois isómeros do epóxido, com predominância da forma α (83 %, existindo 17 % de isómero β), tal como descrito na literatura [34]. Para além dos sinais característicos de uma molécula esteroide, situados mais à direita do espectro de ^1H RMN, os sinais dos prótons ligados aos carbonos C-16 (4,31 ppm), C-3 (3,83 ppm) e C-26 (3,40 ppm e 3,29 ppm) foram também perfeitamente identificados.

Em relação ao composto C2 (anexo 2), um triol obtido pela hidrólise do epóxido C1, os seus sinais característicos foram igualmente identificados, nomeadamente os hidrogénios ligados aos carbonos hidroxilados, C-3 (4,03 ppm) e C-6 (3,48 ppm), os quais coincidem com os sinais descritos para esteroides similares na literatura [35]. No mesmo espectro de ^1H RMN desapareceram os sinais a 2,84 ppm e 3,00 ppm. Assim, conclui-se que a abertura do anel epóxido sucedeu corretamente, originando o triol pretendido.

Por último, o composto C5, sintetizado através da oxidação do composto C2 com o PCC, apresentou no seu espectro de ^1H RMN (anexo 3), dois sinais, um a 2,84 ppm e outro a 2,70 ppm, correspondentes aos dois prótons do carbono C-4 [57]. Como os carbonos hidroxilados C-3 e C-6 foram convertidos em cetonas, estes deixaram de estar ligados a hidrogénios, tendo desaparecido os sinais correspondentes no espectro de ^1H RMN.

4.2 Avaliação biológica

Os ensaios de avaliação biológica foram somente efetuados com os compostos C2 e C5, pois o composto C1 é uma mistura de isômeros e já há estudos com os isômeros isolados [58] e os restantes produtos não foram obtidos com sucesso.

A realização destes ensaios teve como principal objetivo avaliar a potencial atividade anticancerígena destes derivados da diosgenina.

4.2.1 Avaliação da viabilidade celular

No sentido de analisar os efeitos dos compostos C2 e C5 na proliferação celular das células LNCaP, PC-3 e MCF-7 realizaram-se ensaios MTT. As diferentes linhas celulares foram incubadas com os compostos a concentrações de 0,01 μM ; 0,1 μM ; 1 μM ; 10 μM ; 50 μM e 100 μM , durante 48 horas. Após esse período e incubação com MTT por 4 horas, os cristais de formazano formados foram quantificados através da leitura da absorvância a 570 nm, para posterior determinação da viabilidade celular.

Os resultados destes estudos estão apresentados nos gráficos seguintes (gráficos 1 a 6), em função do composto e da sua concentração, bem como do tipo de células. Estes resultados foram expressos em percentagem de viabilidade celular relativamente ao controlo negativo.

4.2.1.1 LNCaP

No gráfico 1, é possível constatar que o composto C2 a baixas concentrações não inibe significativamente a proliferação de células LNCaP. Por outro lado, um decréscimo mais acentuado da viabilidade celular é perceptível a partir da concentração de 50 μM de C2, não se verificando, porém, uma grande diferença entre as percentagens obtidas para as concentrações de 50 μM e 100 μM .

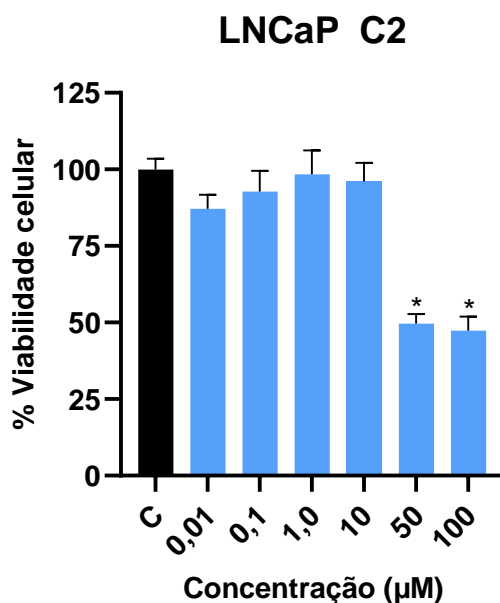


Gráfico 1 - Viabilidade celular relativa nas células LNCaP incubadas com o composto C2, numa gama de concentrações entre 0,01 µM e 100 µM por 48 horas. Os resultados são apresentados como média ± desvio padrão. C – Controlo. *p < 0,05 em relação ao controlo (teste *t-Student*). Gráfico criado no *software GraphPad Prism v.9*.

O comportamento do composto C5 na linha celular LNCaP (gráfico 2) é relativamente semelhante ao observado para o composto C2. No entanto, verifica-se um abaixamento mais relevante da viabilidade celular a 100 µM.

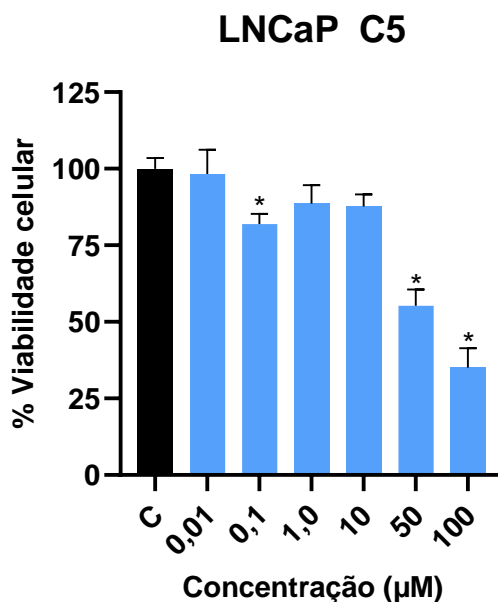


Gráfico 2 - Viabilidade celular relativa nas células LNCaP incubadas com o composto C5, numa gama de concentrações entre 0,01 µM e 100 µM por 48 horas. Os resultados são apresentados como média ± desvio padrão. C – Controlo. *p < 0,05 em relação ao controlo (teste *t-Student*). Gráfico criado no *software GraphPad Prism v.9*.

4.2.1.2 PC-3

Pela análise do gráfico 3, verifica-se uma diminuição gradual da viabilidade celular com o aumento progressivo da concentração de C2, sendo esta mais acentuada nas concentrações de 10 μM , 50 μM e 100 μM deste composto.

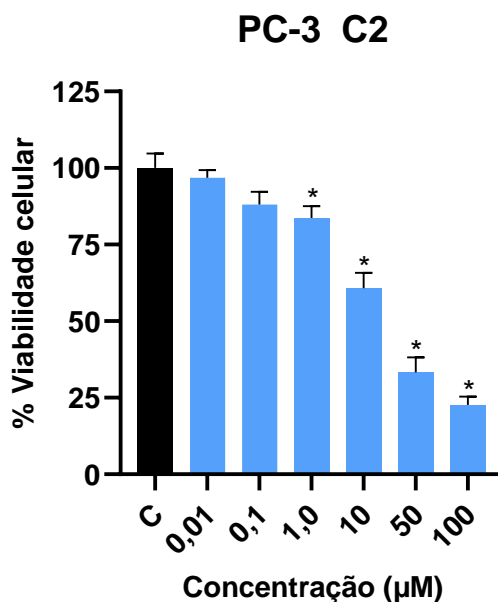


Gráfico 3 - Viabilidade celular relativa nas células PC-3 incubadas com o composto C2, numa gama de concentrações entre 0,01 μM e 100 μM por 48 horas. Os resultados são apresentados como média \pm desvio padrão. C – Controlo. * $p < 0,05$ em relação ao controlo (teste *t-Student*). Gráfico criado no *software GraphPad Prism v.9*.

Analisando o gráfico 4 constata-se igualmente uma inibição gradual da proliferação de células PC-3 logo a partir da concentração de 0,1 μM de C5. Contudo, o decréscimo da viabilidade celular não é tão acentuado comparativamente ao composto C2 nesta linha celular.

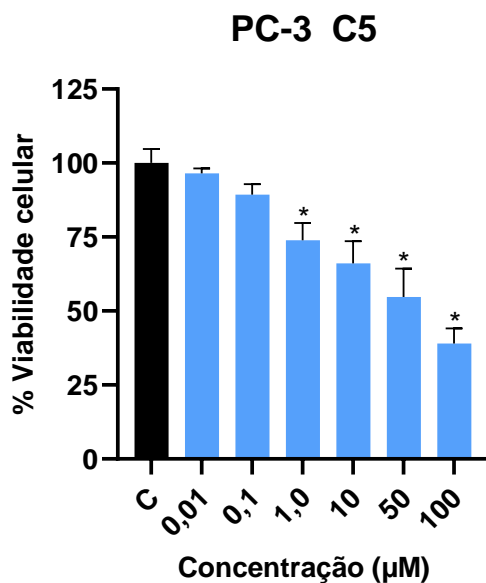


Gráfico 4 - Viabilidade celular relativa nas células PC-3 incubadas com o composto C5, numa gama de concentrações entre 0,01 µM e 100 µM por 48 horas. Os resultados são apresentados como média ± desvio padrão. C – Controlo. *p < 0,05 em relação ao controlo (teste *t-Student*). Gráfico criado no *software GraphPad Prism v.9*.

4.2.1.3 MCF-7

No gráfico 5 não se observa uma diminuição progressiva da viabilidade celular, ocorrendo um decréscimo mais acentuado desta percentagem na concentração de 100 µM de C2.

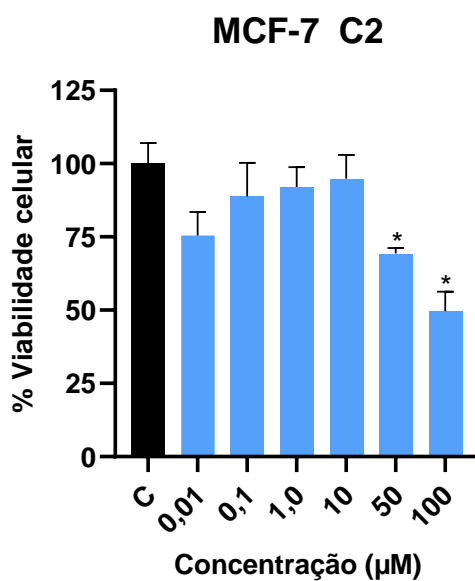


Gráfico 5 - Viabilidade celular relativa nas células MCF-7 incubadas com o composto C2, numa gama de concentrações entre 0,01 µM e 100 µM por 48 horas. Os resultados são apresentados como média ± desvio padrão. C – Controlo. *p < 0,05 em relação ao controlo (teste *t-Student*). Gráfico criado no *software GraphPad Prism v.9*.

No gráfico 6, as percentagens de viabilidade celular também não diminuem de forma gradual, verificando-se proliferação celular superior à do controlo negativo nas concentrações mais baixas e inibição significativa da proliferação de células pelo composto C5 a concentrações de 50 μM e 100 μM .

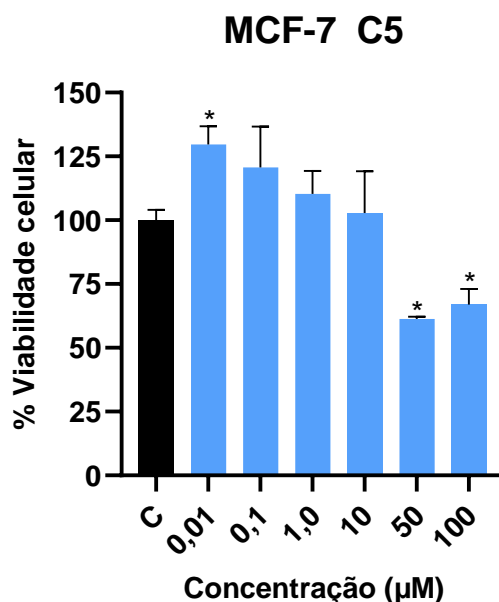


Gráfico 6 - Viabilidade celular relativa nas células MCF-7 incubadas com o composto C5, numa gama de concentrações entre 0,01 μM e 100 μM por 48 horas. Os resultados são apresentados como média \pm desvio padrão. C – Controlo. * $p < 0,05$ em relação ao controlo (teste *t-Student*). Gráfico criado no *software GraphPad Prism v.9*.

4.2.2 Determinação dos IC_{50} dos compostos sintetizados e comparação da sua ação nas diferentes linhas celulares

Os valores de IC_{50} dos compostos foram calculados com base nas curvas de concentração-resposta obtidas através dos ensaios MTT efetuados. Estes dados encontram-se representados na tabela 2 para cada linha celular.

Tabela 2 - Valores de IC_{50} para os compostos sintetizados nas diferentes linhas celulares.

Composto	Linha celular	IC_{50} (μM)
C2	LNCaP	23,24
	PC-3	15,22
	MCF-7	84,06
C5	LNCaP	73,04
	PC-3	58,91
	MCF-7	17,83

Nas células LNCaP, o composto C2 ($IC_{50} = 23,24 \mu M$) revelou ser mais potente que o composto C5 ($IC_{50} = 73,04 \mu M$). O mesmo é observado na linha celular PC-3, sendo que os compostos C2 e C5 apresentam IC_{50} de $15,22 \mu M$ e de $58,91 \mu M$, respetivamente. Tendo em consideração estes valores, as células PC-3 parecem ser mais afetadas que a linha celular LNCaP por estes esteroides.

Contrariamente, nas células MCF-7, o IC_{50} calculado para o composto C5 ($IC_{50} = 17,83 \mu M$) foi bastante inferior ao IC_{50} do composto C2 ($IC_{50} = 84,06 \mu M$), pelo que o análogo da diosgenina com apenas um OH livre afeta a proliferação destas células a concentrações mais baixas do que o triol.

O efeito anticancerígeno da diosgenina já foi bastante estudado nas linhas celulares PC-3 e MCF-7. Esta sapogenina não afeta significativamente a viabilidade das células PC-3 a concentrações inferiores a $20 \mu M$, após uma incubação de 48 horas. Segundo a literatura, o IC_{50} da diosgenina nas células MCF-7 é $11,03 \mu M$. Este esteroide já foi também estudada nas células LNCaP, apresentando um IC_{50} de $42,38 \mu M$. Estes dados da literatura foram obtidos através da realização de ensaios MTT [58-60].

Comparativamente à diosgenina, o composto C2 parece inibir mais eficazmente a proliferação das células PC-3, uma vez que se observa um decréscimo mais acentuado da viabilidade celular a partir da concentração de $10 \mu M$ de C2. O mesmo composto afeta mais a proliferação das células LNCaP que o seu precursor. Nas células MCF-7, pelo contrário, a diosgenina exibe uma ação antitumoral superior à dos compostos sintetizados.

Em suma, o comportamento de um mesmo composto nas diferentes linhas celulares não é idêntico, apresentando valores de IC_{50} distintos. O C2 é o único composto com atividade antiproliferativa relativamente significativa, a qual se verifica nas linhas celulares LNCaP e, principalmente, PC-3 (IC_{50} mais baixo).

4.2.3 Ensaio enzimático

A quantificação de testosterona por HPLC-DAD permitiu avaliar a atividade inibitória da enzima 5AR por parte dos compostos sintetizados, sendo que um *screening* dos mesmos a uma concentração de $10 \mu M$ foi efetuado para determinar este potencial.

No presente ensaio, uma solução de finasterida, a $10 \mu M$, foi utilizada como controlo positivo, uma vez que é um fármaco bem conhecido, de primeira linha, no tratamento de distúrbios hormonais causados pela produção excessiva de DHT [47]. Este esteroide, ao ligar-se à enzima 5AR, impede a transformação da testosterona em DHT.

Como controlo negativo usou-se uma solução de testosterona, sem adição de qualquer composto inibitório da enzima, a fim de representar a conversão total do substrato em DHT. Após a incubação (t_{30}), a concentração de testosterona desta solução diminuiu em relação ao observado anteriormente (t_0). Assim sendo, o tempo de incubação é também um fator determinante na ação enzimática da 5AR, além do NADPH [61].

Tendo em conta que a diosgenina e os seus derivados são também esteroides, tal como a finasterida, que as células prostáticas foram significativamente afetadas por estes compostos e que houve facilidade em realizar o presente estudo, os compostos preparados foram submetidos a este ensaio enzimático, cujos resultados se encontram expressos no gráfico 7.

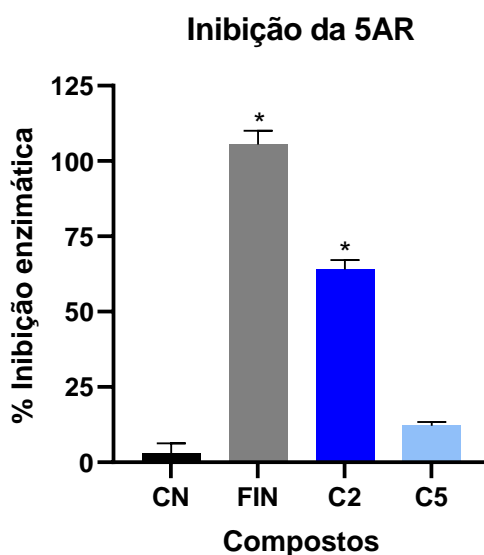


Gráfico 7 - Inibição da atividade da 5AR por parte dos compostos a uma concentração de 10 μ M. Os resultados são apresentados como média \pm desvio padrão. CN – Controlo Negativo; FIN – Finasterida. * $p < 0,05$ em relação ao controlo negativo (teste *t-Student*). Gráfico criado no *software GraphPad Prism v.9*.

Ambos os compostos revelaram possuir alguma atividade inibitória da 5AR, comparativamente ao controlo negativo. O composto C2 exibiu uma percentagem de inibição da enzima (64 %) mais elevada que o composto C5 (12 %), porém claramente inferior relativamente à finasterida. Deste modo, a capacidade de inibição da enzima pelo C2 diminuiu consideravelmente com a oxidação dos seus grupos hidroxilos em C3 e em C6 (C5).

5. Conclusão e Perspetivas Futuras

A realização deste estudo permitiu conhecer a atividade antitumoral *in vitro* de dois derivados oxidados da diosgenina, previamente sintetizados, bem como a sua capacidade inibitória da enzima 5AR.

No que diz respeito à síntese química dos compostos oxidados, foram obtidos com sucesso dois compostos, os quais foram avaliados *in vitro*. Estes compostos foram conseguidos por epoxidação da diosgenina seguida de abertura do epóxido, obtendo-se o composto C2 com bom rendimento. Seguidamente, o triol obtido na reação anterior foi oxidado à 3,6-dicetona correspondente (composto C5), porém o rendimento nesta transformação foi inferior ao da reação de abertura do epóxido. Um objetivo futuro poderá ser a otimização das condições reacionais para aumento do rendimento desta última reação. Tendo em conta que os compostos C3 e C4 não foram corretamente sintetizados, uma perspetiva futura adicional passará por idealizar uma nova estratégia de síntese química com outras condições reacionais que permitam a sua obtenção.

Relativamente aos estudos de avaliação biológica com os compostos C2 e C5, para avaliar os efeitos dos mesmos na proliferação celular, realizaram-se ensaios MTT em três linhas celulares cancerígenas, concretamente: LNCaP, MCF-7 e PC-3. Estas células foram expostas a diferentes concentrações dos compostos (0,01 μM ; 0,1 μM ; 1 μM ; 10 μM ; 50 μM ; 100 μM) e, posteriormente, os respetivos valores de IC_{50} foram calculados com base nestes estudos de concentração-resposta. O C2 acabou por ser o composto mais promissor nas células LNCaP ($\text{IC}_{50} = 23,24 \mu\text{M}$) e PC-3 ($\text{IC}_{50} = 15,22 \mu\text{M}$), o que parece indicar uma certa seletividade para linhas celulares prostáticas. Assim, o efeito deste composto em outras células cancerígenas, bem como em linhas celulares não tumorais deverá ser testado futuramente. Contrariamente ao verificado nas linhas celulares prostáticas, a oxidação dos grupos hidroxilos livres do produto C2 (C5) levou a um aumento significativo da sua atividade antiproliferativa nas células MCF-7, mas o seu IC_{50} permaneceu inferior ao da diosgenina.

No ensaio enzimático, apesar dos compostos evidenciarem alguma atividade inibitória da 5AR, esta ação foi claramente inferior à observada para a finasterida, o composto de referência. Contudo, foi efetuado apenas um *screening* a uma concentração nesta investigação, pelo que, futuramente, será importante avaliar a relação concentração-resposta para obtenção de dados mais concretos. Além disso, a síntese de novos compostos poderá constituir um trabalho futuro, a fim de compreender quais as alterações estruturais que favorecem a inibição da 5AR e também a ação antiproliferativa.

6. Referências Bibliográficas

- [1] H. Wang, Y. Yin, P. Wang, C. Xiong, L. Huang, S. Li, *et al.*, "Current situation and future usage of anticancer drug databases", *Apoptosis*, vol. 21, pp. 778-94, 2016.
- [2] M. Morange, "History of Cancer Research," *eLS.: Encyclopedia of Life Sciences*, pp. 1-7, 2002.
- [3] *Cancer*. [cited 2021 March 23]; Available from: https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1.
- [4] P. Boyle, "The globalisation of cancer", *The Lancet*, vol. 368, pp. 629-630, 2006.
- [5] L. A. Torre, R. L. Siegel, E. M. Ward, and A. Jemal, "Global Cancer Incidence and Mortality Rates and Trends--An Update", *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, vol. 25, pp. 16-27, 2015.
- [6] H. Sung, J. Ferlay, R. L. Siegel, M. Laversanne, I. Soerjomataram, A. Jemal, *et al.*, "Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries," *A Cancer Journal for Clinicians*, vol. 71, pp. 209-249, 2021.
- [7] M. R. Alison and I. College, "Introductory article : Cancer," *eLS.: Encyclopedia of Life Sciences*, pp. 1-8, 2001.
- [8] J. D. Martinez, M. T. Parker, K. E. Fultz, N. A. Ignatenko, and E. W. Gerner, "Molecular Biology of Cancer," *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery*, Sixth ed., pp. 1-50, 2003.
- [9] M. Z. Kamran, P. Patil, and R. P. Gude, "Role of STAT3 in cancer metastasis and translational advances," *BioMed Research International*, vol. 2013, 2013.
- [10] L. G. Magalhaes, L. L. G. Ferreira, and A. D. Andricopulo, "Recent Advances and Perspectives in Cancer Drug Design," *Anais da Academia Brasileira Ciências*, vol. 90, pp. 1233-1250, 2018.
- [11] L. Falzone, S. Salomone, and M. Libra, "Evolution of Cancer Pharmacological Treatments at the Turn of the Third Millennium," *Frontiers in Pharmacology*, vol. 9, 2018.
- [12] R. Ali *et al.*, "New anticancer agents: Recent developments in tumor therapy," *Anticancer Research*, vol. 32, pp. 2999-3005, 2012.
- [13] B. Kumar, S. Singh, I. Skvortsova, and V. Kumar, "Promising Targets in Anti-cancer Drug Development: Recent Updates," *Current Medicinal Chemistry*, vol. 24, pp. 4729-4752, 2017.
- [14] W. Link, "Anti-cancer Drugs: Discovery, Development and Therapy," *International Manual of Oncology Practice*, First ed., pp. 81-94, 2015.

- [15] Y. Chen, Y.-M. Tang, S.-L. Yu, Y.-W. Han, J.-P. Kou, B.-L. Liu, *et al.*, "Advances in the pharmacological activities and mechanisms of diosgenin," *Chinese Journal of Natural Medicines*, vol. 13, pp. 578-587, 2015.
- [16] J. Salvador, S. Silvestre, and V. Moreira, "Catalytic Oxidative Processes in Steroid Chemistry: Allylic Oxidation, Beta-Selective Epoxidation, Alcohol Oxidation and Remote Functionalization Reactions," *Current Organic Chemistry*, vol. 10, pp. 2227-2257, 2006.
- [17] S. Sarker and L. Nahar, *Chemistry for Pharmacy Students: General, Organic and Natural Product Chemistry*, First ed.: Wiley, 2007.
- [18] G. P. Moss, "Nomenclature of steroids (Recommendations 1989)," *Pure and Applied Chemistry*, vol. 61, pp. 1783-1822, 1989.
- [19] A. Goswami, R. Kotoky, R. C. Rastogi, and A. C. Ghosh, "A One-Pot Efficient Process for 16-Dehydropregnenolone Acetate," *Organic Process Research & Development*, vol. 7, pp. 306-308, 2003.
- [20] M. Jesus, A. P. Martins, E. Gallardo, and S. Silvestre, "Diosgenin: Recent Highlights on Pharmacology and Analytical Methodology," *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, vol. 2016, 2016.
- [21] J. Raju and C. V., "Diosgenin, a Steroid Saponin Constituent of Yams and Fenugreek: Emerging Evidence for Applications in Medicine," *Bioactive Compounds in Phytomedicine*, First ed., pp. 126-142, 2012.
- [22] A. H. El-Far, F. A. Badria, and H. M. Shaheen, "Possible Anticancer Mechanisms of Some *Costus speciosus* Active Ingredients Concerning Drug Discovery," *Current Drug Discovery Technologies*, vol. 13, pp. 123-143, 2016.
- [23] D. Parama, M. Boruah, K. Yachna, V. Rana, K. Banik, C. Harsha, *et al.*, "Diosgenin, a steroidal saponin, and its analogs: Effective therapies against different chronic diseases," *Life Sciences*, vol. 260, 2020.
- [24] H.-J. Quan, J. Koyanagi, K. Ohmori, S. Uesato, T. Tsuchido, and S. Saito, "Preparations of heterospirostanols and their pharmacological activities," *European Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 37, pp. 659-669, 2002.
- [25] A. A. Hamid, T. Kaushal, R. Ashraf, A. Singh, A. Chand Gupta, O. Prakash, *et al.*, "(22 β ,25 R)-3 β -Hydroxy-spirost-5-en-7-iminoxy-heptanoic acid exhibits anti-prostate cancer activity through caspase pathway," *Steroids*, vol. 119, pp. 43-52, 2017.
- [26] R. Masood Ur, Y. Mohammad, K. M. Fazili, K. A. Bhat, and T. Ara, "Synthesis and biological evaluation of novel 3-*O*-tethered triazoles of diosgenin as potent antiproliferative agents," *Steroids*, vol. 118, pp. 1-8, 2017.

- [27] C. Liu, F. Xie, G. D. Zhao, D. F. Wang, H. X. Lou, and Z. P. Liu, "Synthetic studies towards 1α -hydroxysolasodine from diosgenin and the unexpected tetrahydrofuran ring opening in the Birch reduction process," *Steroids*, vol. 104, pp. 214-219, 2015.
- [28] A. A. Hamid, M. Hasanain, A. Singh, B. Bhukya, Omprakash, P. G. Vasudev, *et al.*, "Synthesis of novel anticancer agents through opening of spiroacetal ring of diosgenin," *Steroids*, vol. 87, pp. 108-118, 2014.
- [29] L. Sanchez-Sanchez, M. G. Hernandez-Linares, M. L. Escobar, H. Lopez-Munoz, E. Zenteno, M. A. Fernandez-Herrera, *et al.*, "Antiproliferative, Cytotoxic, and Apoptotic Activity of Steroidal Oximes in Cervicouterine Cell Lines," *Molecules*, vol. 21, 2016.
- [30] L. Xu, D. Xu, Z. Li, Y. Gao, and H. Chen, "Synthesis and potent cytotoxic activity of a novel diosgenin derivative and its phytosomes against lung cancer cells," *Beilstein Journal of Nanotechnology*, vol. 10, pp. 1933-1942, 2019.
- [31] A. A. Martinez-Gallegos, G. Guerrero-Luna, A. Ortiz-Gonzalez, M. Cardenas-Garcia, S. Bernes, and M. G. Hernandez-Linares, "Azasteroids from diosgenin: Synthesis and evaluation of their antiproliferative activity," *Steroids*, vol. 166, 2021.
- [32] J. C. Touchstone, *Practice of thin layer chromatography*: John Wiley & Sons, 3rd ed., 1992.
- [33] H. J. M. Kramer and G. M. van Rosmalen, "Crystallization," *Encyclopedia of Separation Science*, vol. 1, pp. 64-84, 2000.
- [34] J. F. S. Carvalho, M. M. C. Silva, and M. L. Sá e Melo, "Highly efficient epoxidation of unsaturated steroids using magnesium bis(monoperoxyphthalate) hexahydrate," *Tetrahedron*, vol. 65, pp. 2773-2781, 2009.
- [35] Y. Bernardo-Otero, E. Alonso-Becerra, F. Guerra-Martínez, G. Martínez-Massanet, C. Pérez-Martínez, and F. Coll-Manchado, "Synthesis and biological activity of epoxy analogues of 3-dehydroteasterone," *Journal of Chemical Research*, pp. 268-271, 2007.
- [36] M. Nagaoka, Y. Watari, H. Yajima, K. Tsukioka, Y. Muroi, K. Yamada, *et al.*, "Structure–activity relationships of 3-deoxy androgens as aromatase inhibitors. synthesis and biochemical studies of 4-substituted 4-ene and 5-ene steroids," *Steroids*, vol. 68, pp. 533-542, 2003.
- [37] M. Denance, M. Guyot, and M. Samadi, "Short synthesis of 16β -hydroxy- 5α -cholestane-3,6-dione a novel cytotoxic marine oxysterol," *Steroids*, vol. 71, pp. 599-602, 2006.

- [38] A. M. Dawidar, A. A. Saleh, and M. M. Abdel-Malek, "Hydroxylation of Δ^5 -Steroids with N-Bromosuccinimide to $5\alpha,6\beta$ -Diols," *Zeitschrift für Naturforschung B*, vol. 35, pp. 102-106, 1980.
- [39] J. Horoszewicz, S. Leong, E. Kawinski, J. Karr, H. Rosenthal, T. M. Chu, *et al.*, "LNCaP Model of Human Prostatic Carcinoma," *Cancer Research*, vol. 43, pp. 1809-1818, 1983.
- [40] A. S. Levenson and V. Jordan, "MCF-7: The First Hormone-responsive Breast Cancer Cell Line," *Cancer Research*, vol. 57, pp. 3071-3078, 1997.
- [41] M. E. Kaighn, K. S. Narayan, Y. Ohnuki, J. F. Lechner, and L. W. Jones, "Establishment and characterization of a human prostatic carcinoma cell line (PC-3)," *Investigative Urology*, vol. 17, pp. 16-23, 1979.
- [42] S. Tai, Y. Sun, J. M. Squires, H. Zhang, W. K. Oh, C. Z. Liang, *et al.*, "PC3 is a Cell Line Characteristic of Prostatic Small Cell Carcinoma," *The Prostate*, vol. 71, pp. 1668-1679, 2011.
- [43] H. Wan, R. Williams, P. Doherty, and D. F. Williams, "A study of the reproducibility of the MTT test," *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, vol. 5, pp. 154-159, 1994.
- [44] D. Gerlier and N. Thomasset, "Use of MTT colorimetric assay to measure cell activation," *Journal of Immunological Methods*, vol. 94, pp. 57-63, 1986.
- [45] T. Mosmann, "Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays," *Journal of Immunological Methods*, vol. 65, pp. 55-63, 1983.
- [46] G. Fotakis and J. A. Timbrell, "In vitro cytotoxicity assays: Comparison of LDH, neutral red, MTT and protein assay in hepatoma cell lines following exposure to cadmium chloride," *Toxicology Letters*, vol. 160, pp. 171-177, 2006.
- [47] T. H. Kumar, C. Chaiyasut, W. Rungsevijitprapa, and M. Suttajit, "Screening of steroid 5α -reductase inhibitory activity and total phenolic content of Thai plants," *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 5, pp. 1265-1271, 2011.
- [48] H. Matsuda, N. Sato, M. Yamazaki, S. Naruto, and M. Kubo, "Testosterone 5α -Reductase Inhibitory Active Constituents from *Anemarrhenae Rhizoma*," *Biological Pharmaceutical Bulletin*, vol. 24, pp. 586-587, 2001.
- [49] N. Suphrom, G. Pumthong, N. Khorana, N. Waranuch, N. Limpeanchob, and K. Ingkaninan, "Anti-androgenic effect of sesquiterpenes isolated from the rhizomes of *Curcuma aeruginosa* Roxb," *Fitoterapia*, vol. 83, pp. 864-871, 2012.

- [50] X.-F. Li, M. Ma, A. Cheng, J. Zheng, and Y. K. Tam, "Determination of testosterone and its metabolites using liquid chromatography with elevated column temperature and flow-rate gradient," *Analytica Chimica Acta*, vol. 457, pp. 165-171, 2002.
- [51] J. P. Human and J. A. Mills, "Action of thionyl chloride on carboxylic acids in presence of pyridine," *Nature*, vol. 158, p. 877, 1946.
- [52] A. K. Banerjee and W. Vera, "Thionyl-chloride-pyridine-mediated rearrangement of tertiary alcohols," *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas*, vol. 114, pp. 87-90, 1995.
- [53] F. Higashi, T. Mashimo, and I. Takahashi, "Preparation of Aromatic Polyesters by Direct Polycondensation with Thionyl Chloride in Pyridine," *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry*, vol. 24, pp. 97-102, 1986.
- [54] A. Al-Hamdany and T. Jihad, "Oxidation of Some Primary and Secondary Alcohols Using Pyridinium Chlorochromate," *Tikrit Journal of Pure Science*, vol. 17, pp. 72-76, 2012.
- [55] G. Piancatelli, A. Scettri, and M. D'Auria, "Pyridinium Chlorochromate: A Versatile Oxidant in Organic Synthesis," *Synthesis*, vol. 1982, pp. 245-258, 1982.
- [56] K. K. Banerji, "Kinetics and Mechanism of the Oxidation of Alcohols by Pyridinium Chlorochromate," *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, vol. 51, pp. 2732-2734, 1978.
- [57] L. Garcia-Pupo, A. Zaldo-Castro, V. Exarchou, J. E. Tacoronte-Morales, L. Pieters, W. Vanden Berghe, *et al.*, "In Vitro Neuroprotective and Anti-Inflammatory Activities of Natural and Semi-Synthetic Spirosteroid Analogues," *Molecules*, vol. 21, 2016.
- [58] A. P. J. Martins, "Síntese e avaliação biológica de derivados oxidados da diosgenina como agentes anti tumorais," Dissertação de Mestrado, Universidade da Beira Interior, 2016.
- [59] P. S. Chen, Y. W. Shih, H. C. Huang, and H. W. Cheng, "Diosgenin, a Steroidal Saponin, Inhibits Migration and Invasion of Human Prostate Cancer PC-3 Cells by Reducing Matrix Metalloproteinases Expression," *PLoS One*, vol. 6, 2011.
- [60] S. Selim and S. Al Jaouni, "Anticancer and apoptotic effects on cell proliferation of diosgenin isolated from *Costus speciosus* (Koen.) Sm," *BMC Complementary Alternative Medicine*, vol. 15, 2015.
- [61] J. Srivilai, K. Rabgay, N. Khorana, N. Waranuch, N. Nuengchamnong, and K. Ingkaninan, "A new label-free screen for steroid 5 α -reductase inhibitors using LC-MS," *Steroids*, vol. 116, pp. 67-75, 2016.

Capítulo II: Estágio em Farmácia Comunitária

1. Introdução

A Farmácia Comunitária (FC) é, com frequência, o primeiro local a que o utente recorre em questões de saúde. É por isso um setor com relevância estratégica no sistema de saúde, com integração e articulação na rede de cuidados de saúde primários [1].

O farmacêutico comunitário tem, por isso, um papel privilegiado, contribuindo em áreas como a gestão da terapêutica, administração de medicamentos, determinação de parâmetros bioquímicos, identificação de pessoas em risco, deteção precoce de diversas doenças e promoção de estilos de vida mais saudáveis. Por sua vez, o utente reconhece-lhe proximidade, disponibilidade, confiança e, acima de tudo, dedicação e competência profissional [1].

O presente relatório descreve as principais atividades desenvolvidas ao longo do meu estágio curricular em FC (tabela 3), bem como as competências adquiridas. O estágio realizou-se na Farmácia Modelar, no Teixoso, entre 1 de março e 21 de maio de 2021, sob orientação da Dr.^a Tânia Sofia Silva Correia e com a supervisão do Dr. João Paiva, diretor técnico.

Tabela 3 - Resumo das atividades executadas entre 1 de março e 21 de maio.

Semana	Atividade	
1 de março a 5 de março	Observação do dia-a-dia na Farmácia.	Armazenamento/reposição de medicamentos e produtos de saúde; receção de encomendas; registos de temperatura e humidade; controlo mensal de prazos de validade; verificação de stocks.
8 de março a 12 de março		
15 de março a 19 de março	Formação sobre dermocosmética e suplementação.	
22 de março a 26 de março	Simulações de atendimento; devoluções.	
29 de março a 2 de abril	Atendimento ao público; dispensa de medicamentos hospitalares; envio dos registos de psicotrópicos e estupefacientes; medição de parâmetros bioquímicos, antropométricos e pressão arterial; conferência do receituário.	
5 de abril a 9 de abril		
12 de abril a 16 de abril		
19 de abril a 23 de abril		
26 de abril a 30 de abril		
3 de maio a 7 de maio		
10 de maio a 14 de maio		
17 de maio a 21 de maio		

2. Organização da Farmácia Modelar

2.1 Recursos Humanos

2.1.1 Composição do quadro de pessoal da Farmácia

A equipa da Farmácia Modelar é constituída pelos seguintes 5 elementos:

- Dr. João Paiva – Diretor Técnico
- Dr.^a Diana Lopes – Farmacêutica substituta
- Dr.^a Tânia Correia – Farmacêutica
- José Paiva – Sócio-Gerente, Técnico de Farmácia
- Cristina Paiva – Técnica de Farmácia

Cada elemento do quadro de pessoal possui um cartão de identificação, que contém o nome e o título profissional.

2.1.2 Funções de cada um dos seus elementos

De acordo com o artigo 21.º do Decreto-Lei n.º 307/2007, de 31 de agosto, alterado pelo Decreto-Lei n.º 171/2012, de 1 de agosto, o diretor técnico responsabiliza-se por qualquer ato farmacêutico praticado na FC, certifica-se de que são prestados os devidos esclarecimentos ao utente, garante o fornecimento apropriado dos medicamentos e outros produtos de saúde, confirmando previamente o seu aprovisionamento, e as condições adequadas de higiene e segurança. Também é responsabilidade do diretor técnico assegurar o cumprimento das regras deontológicas e demais legislações reguladoras da atividade farmacêutica [2].

Relativamente aos farmacêuticos que auxiliam o diretor técnico, estes asseguram a saúde e o bem-estar dos utentes, proporcionando serviços de elevada qualidade, eficácia e segurança. A cedência do medicamento, a promoção do seu uso racional, o seguimento farmacoterapêutico, o contacto com outros profissionais de saúde e centros de informação dos medicamentos, o controlo de psicotrópicos e estupefacientes, bem como a gestão das reclamações e formação dos colaboradores são responsabilidades inerentes ao farmacêutico comunitário. No exercer da sua atividade, o farmacêutico deve respeitar o seu código deontológico [3].

Os técnicos de farmácia partilham funções com os farmacêuticos, nomeadamente atendimento ao público sob supervisão de um farmacêutico, receção de encomendas, armazenamento/reposição de medicamentos e outros produtos de saúde, controlo de *stocks* e prazos de validade, assim como medição de parâmetros bioquímicos.

2.2 Instalações e equipamentos

2.2.1 Espaço físico da Farmácia e divisões funcionais

Segundo a Deliberação n.º 1502/2014 de 3 de julho, as farmácias devem dispor de uma área útil total mínima de 95 m² e apresentar, separadamente, as divisões obrigatórias (sala de atendimento ao público, armazém, laboratório, instalações sanitárias e gabinete de atendimento personalizado). Pela análise da figura 12, verifica-se que a Farmácia Modelar cumpre os requisitos supracitados e possui ainda uma divisão facultativa, o gabinete da direção técnica [4].

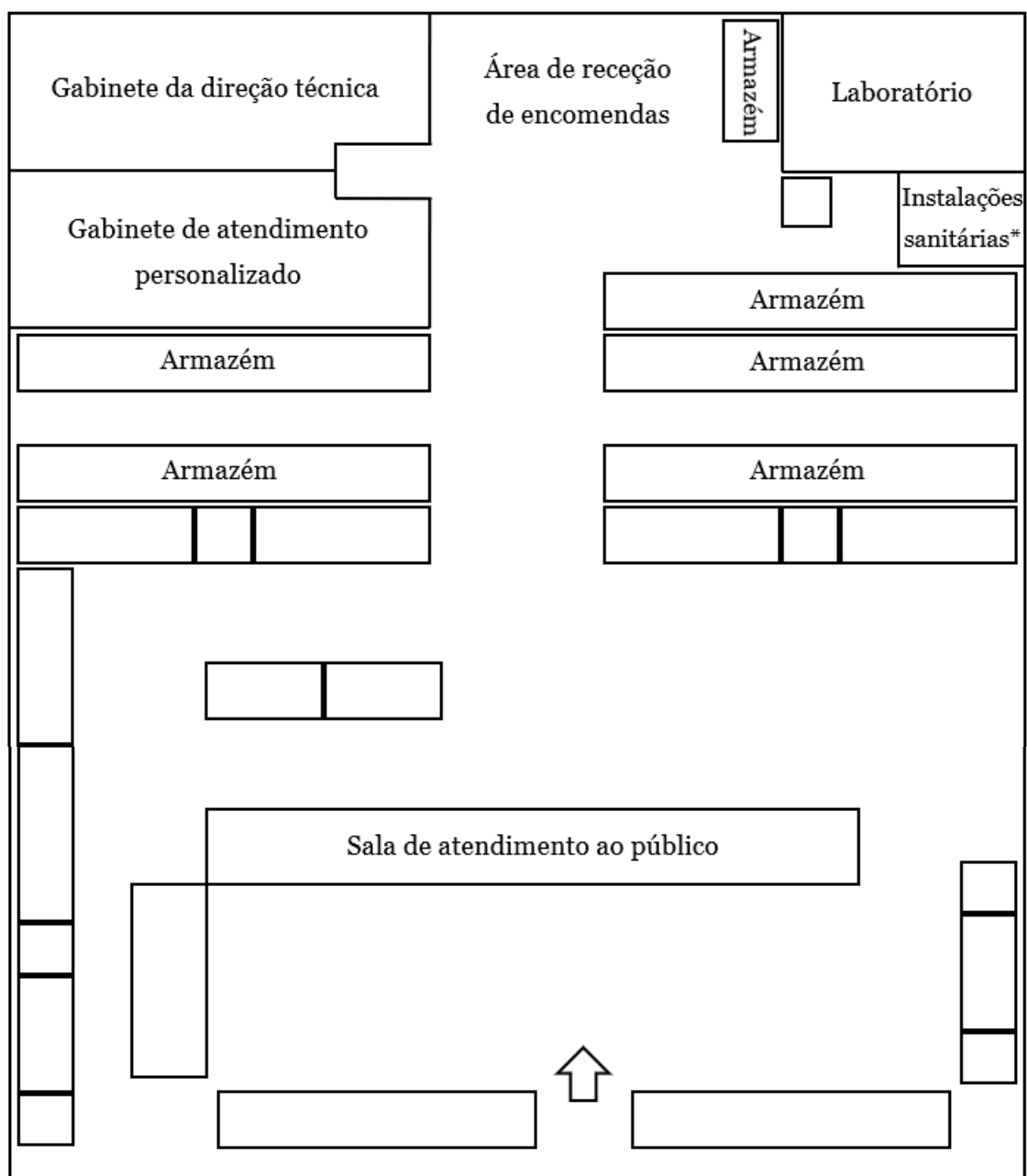


Figura 12 - Mapa da Farmácia Modelar. * Exclusivo para colaboradores. Figura criada no *software Microsoft Word*.

2.2.2 Elementos interiores e exteriores da Farmácia

A Farmácia Modelar, localizada na rua João de Deus da Vila do Teixoso, no concelho da Covilhã, é, em grande maioria, frequentada por idosos e antigos operários de fábricas de lanifícios. Encontra-se ao nível da rua, sem qualquer obstáculo, o que facilita o acesso à mesma, incluindo aos utentes com mobilidade reduzida. A identificação desta é conseguida através de um letreiro com a inscrição do nome da farmácia e uma cruz verde, a qual se encontra iluminada. Além disso, existe ainda uma placa exterior onde consta o nome da farmácia e do diretor técnico, o número de registo de inscrição na Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P. (INFARMED) e o número de alvará. Outras informações relevantes são visíveis no exterior do estabelecimento, nomeadamente o horário de funcionamento da farmácia (dias úteis: 9.00h – 13.00h, 14.30h – 19.30h; sábados: 9.00h – 13.00h; domingos e feriados: 10.00h – 13.00h; após a hora de encerramento normal – regime de disponibilidade) e a indicação das farmácias de serviço do concelho da Covilhã. Tendo em conta a situação pandémica atual, ainda é possível observar uma sinalética com indicação do número máximo de utentes que podem permanecer no interior da farmácia (máximo de 3 utentes no interior das instalações, um por cada posto de atendimento). A fachada da farmácia, limpa e bem conservada, é constituída por duas montras de vidro [3,5].

No que diz respeito ao interior da Farmácia Modelar, observa-se um ambiente calmo e profissional, devidamente iluminado e ventilado, proporcionando uma boa comunicação com os utentes. Todas as superfícies das instalações são lisas e laváveis. A presença de uma placa com o nome do diretor técnico é visível no interior do estabelecimento, assim como a sinalética de proibição de fumar, sinalética de disponibilidade do serviço de atendimento prioritário e a informação sobre a existência de livro de reclamações. Também se verifica a divulgação dos serviços farmacêuticos prestados, com indicação dos respetivos preços. Para proteção dos utentes, farmacêuticos, colaboradores e medicamentos, existem sistemas de segurança, como câmaras de videovigilância e dois extintores de incêndio em locais acessíveis, especificamente um de pó químico e o outro de neve carbónica [3].

Atualmente, há também sinalética que remete para a obrigatoriedade do uso de máscara no interior da farmácia, bem como a disponibilização de solução antisséptica de base alcoólica em vários pontos das instalações, para desinfeção das mãos, quer dos utentes, quer dos colaboradores da farmácia.

2.2.3 Equipamentos gerais e específicos

A Farmácia Modelar dispõe de equipamento operacional, realizando periodicamente manutenção e calibração do mesmo, para averiguar o cumprimento dos critérios de aceitação estabelecidos [3].

No que concerne a equipamentos gerais, a farmácia possui quatro balcões de atendimento, armários, bancos, cadeiras e material informático e de comunicação.

Relativamente a equipamentos específicos, destaca-se o material de laboratório (balanças, material de vidro, espátulas, entre outros), um frigorífico para armazenamento de medicamentos termolábeis, dispositivos para controlo da temperatura e humidade (termohigrómetros) e aparelhos de medição de parâmetros bioquímicos, antropométricos e pressão arterial. A farmácia dispõe ainda de farmacopeias, formulários e documentação oficial atualizada com as normas e legislação em vigor [3].

2.2.4 Recursos informáticos

A equipa da Farmácia Modelar tem à sua disposição cinco computadores, dos quais um se encontra na área de receção de encomendas e os restantes localizam-se na sala de atendimento ao público. Todos os computadores estão conectados a um sistema de leitura ótica e impressoras.

O *software* utilizado nas instalações da farmácia é o Sifarma[®], sendo que este constitui uma ferramenta fundamental ao bom funcionamento da mesma. A *Glintt*[®] (*Global Intelligent Technologies*), empresa multinacional criadora do mesmo, encontra-se disponível para esclarecimento de dúvidas ou resolução de problemas técnicos [6]. Atualmente, o Sifarma[®] tem duas versões: Sifarma.MA (mais atual) e Sifarma 2000. Tendo em conta que o Sifarma.MA não está ainda funcional em todos os módulos, este é usado em articulação com o Sifarma 2000. O Sifarma.MA veio otimizar, principalmente, o atendimento, uma vez que proporciona um *layout* mais intuitivo e uma melhor gestão do tempo com o utente.

Para aceder ao respetivo *software*, cada um dos integrantes da equipa da Farmácia Modelar detém um nome de utilizador e respetiva senha. O meu código pessoal de acesso foi-me cedido na segunda semana de estágio, pelo diretor técnico. Por forma a familiarizar-me com o programa, sempre sob supervisão de um farmacêutico, comecei por rececionar as encomendas diárias e realizei também simulações de atendimento.

3. Informação e documentação científica

Em adição dos conhecimentos técnico-científicos adquiridos ao longo dos cinco anos de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, um dos deveres do farmacêutico é procurar manter-se informado a nível ético, legal e científico, visto que todas estas áreas estão em constante atualização [3].

Além disso, no ato da cedência de medicamentos, o farmacêutico deve ter acesso a fontes de informação sobre indicações, contraindicações, interações, posologia e precauções com o uso de medicamentos [3]. O Manual de Boas Práticas em Farmácia Comunitária considera de presença obrigatória na farmácia o Prontuário Terapêutico (PT) e o Resumo das Características do Medicamento (RCM). Para além do PT, o INFARMED obriga à existência na biblioteca da farmácia a Farmacopeia Portuguesa [3,5].

A Farmácia Modelar, em adição às fontes de informação de carácter obrigatório, dispõe na sua biblioteca o Formulário Galénico Português (FGP), o *Simposium* Terapêutico, o Manual de Boas Práticas para a Farmácia Comunitária, o Índice Nacional Terapêutico e o Direito Farmacêutico.

Tal como referido anteriormente, o Sifarma® consiste também numa fonte de informação, que pode esclarecer o farmacêutico em qualquer momento. Há ainda a possibilidade de contacto com centros de documentação e informação, sempre que houver necessidade.

Periodicamente, a Farmácia Modelar recebe folhetos informativos, panfletos e revistas, dirigidas quer ao profissional de saúde, quer ao utente. Normalmente, a informação destinada ao público é redigida numa linguagem simples, facilitando a compreensão da mesma por parte da população em geral.

Durante o meu estágio, com o intuito de esclarecer dúvidas e aprender novos conceitos, consultei as diversas fontes de informação disponíveis na farmácia.

4. Medicamentos e outros produtos de saúde

4.1 Principais sistemas de classificação usados em FC

- Classificação ATC (*Anatomical Therapeutic Chemical Code*): Divisão dos fármacos em grupos e subgrupos, tendo por base o órgão ou sistema alvo e as suas propriedades químicas, farmacológicas e terapêuticas. Esta classificação é uma recomendação da Organização Mundial de Saúde (OMS) [7].

- Classificação Farmacoterapêutica: Classificação dos fármacos consoante as suas indicações terapêuticas estabelecidas. Esta classificação está em concordância com a classificação ATC da OMS [8].
- Classificação por Forma Farmacêutica: Classificação dos fármacos tendo em conta o estado final das substâncias ativas ou excipientes, após o término das operações farmacêuticas, realizadas com o objetivo de favorecer a administração e atingir o máximo efeito terapêutico. Na Farmácia Modelar, os medicamentos estão organizados tendo em consideração esta classificação [2].

4.2 Conceitos

- Medicamento: “toda a substância ou associação de substâncias apresentada como possuindo propriedades curativas ou preventivas de doenças em seres humanos ou dos seus sintomas ou que possa ser utilizada ou administrada no ser humano com vista a estabelecer um diagnóstico médico ou, exercendo uma ação farmacológica, imunológica ou metabólica, a restaurar, corrigir ou modificar funções fisiológicas” [2].
- Medicamento genérico: “medicamento com a mesma composição qualitativa e quantitativa em substâncias ativas, a mesma forma farmacêutica e cuja bioequivalência com o medicamento de referência haja sido demonstrada por estudos de biodisponibilidade apropriados” [2].
- Estupefaciente: “Substância tóxica, natural ou sintética, que atua nos centros nervosos e cujo uso mais ou menos prolongado provoca perturbações graves da personalidade, uma deterioração física e psíquica progressiva, com habituação e toxicomania” [9].
- Psicotrópico: “Que atua sobre as funções e o comportamento psíquicos, qualquer que seja o tipo de efeito exercido (depressor, estimulante ou desviante)” [10].
- Fórmula magistral: “qualquer medicamento preparado numa farmácia de oficina ou serviço farmacêutico hospitalar, segundo uma receita médica e destinado a um doente determinado” [2].
- Preparado oficial: “qualquer medicamento preparado segundo as indicações compendiais de uma farmacopeia ou de um formulário oficial, numa farmácia de oficina ou em serviços farmacêuticos hospitalares, destinado a ser dispensado diretamente aos doentes assistidos por essa farmácia ou serviço” [2].

4.3 Produtos disponíveis na Farmácia

Com o passar do tempo, a FC deixou de ser conhecida como o espaço que dispensa unicamente medicamentos [1]. Assim, na Farmácia Modelar, além dos medicamentos em geral, também estão disponíveis outros produtos de saúde, nomeadamente produtos fitoterapêuticos, dietéticos, dermocosméticos e de higiene, dispositivos médicos e produtos de uso veterinário (PUV).

Ao longo do estágio, adquiri conhecimentos sobre os diversos produtos existentes, através das indicações da Dr.^a Tânia e restantes elementos da equipa, bem como pela consulta de rótulos e outras fontes de informação.

4.4 Verificação da existência de qualquer medicamento ou produto de saúde e sua localização nas instalações da Farmácia

O *software* Sifarma[®] auxilia o profissional de saúde na localização de qualquer medicamento ou produto de saúde, visto que cada artigo dispõe de uma ficha própria com toda a sua informação. Nessa ficha, é comum constar a prateleira onde o produto se encontra fisicamente.

No primeiro dia de estágio, a Dr.^a Tânia explicou-me a organização da farmácia, apresentando as prateleiras e os armários definidos para as diferentes categorias de medicamentos e produtos de saúde. Seguidamente, o armazenamento/reposição dos artigos rececionados possibilitou-me conhecer a localização exata dos mesmos. Com o Dr. João, tive ainda a oportunidade de realizar a verificação de *stocks* e de prazos de validade, facilitando-me a identificação de todos os produtos existentes na Farmácia Modelar.

5. Aprovisionamento e armazenamento

Em FC é fundamental o correto aprovisionamento e armazenamento dos medicamentos e outros produtos de saúde. Tal é possível através de um conjunto de tarefas, como a criação e receção de encomendas, gestão de *stocks*, controlo de prazos de validade, entre outras. O Sifarma[®] é uma ferramenta crucial para a realização destas atividades.

Neste sentido, o farmacêutico precisa adquirir habilidades na área de gestão por forma a garantir a sustentabilidade da farmácia. Na Farmácia Modelar faz-se um controlo rigoroso do aprovisionamento e do *stock*, a fim de facilitar a rotação de produtos e a libertação de capital.

5.1 Critérios para a seleção de um fornecedor/armazenista

Na Farmácia Modelar, o diretor técnico tem em consideração uma série de fatores para a seleção de fornecedores/armazenistas, nomeadamente localização dos mesmos, credibilidade, condições comerciais e facilidades de pagamento, condições de entrega (tempo e frequência) e disponibilidade de produtos.

O principal fornecedor da Farmácia Modelar é a Plural, no entanto, também recorre frequentemente à OCP e à Alliance Healthcare para a aquisição de determinados produtos que se encontram esgotados no armazenista principal ou que oferecem melhores condições comerciais à farmácia. A farmácia compra também alguns produtos diretamente a laboratórios, através de delegados comerciais ou de vendas diretas por telefone. Isto permite que produtos com grande rotatividade sejam adquiridos a preços mais competitivos.

5.2 Critérios de aquisição dos diferentes medicamentos e produtos de saúde

Aquando da aquisição de medicamentos e outros produtos de saúde, um fator a considerar é o *stock* máximo e mínimo estabelecidos pela farmácia para cada produto, através do *software* Sifarma®. Há também que ter em conta a rotatividade, sendo esta dependente da localização da farmácia e do tipo de população que frequenta a mesma. A Farmácia Modelar, inserida num meio mais rural e servindo uma população já mais envelhecida, aposta em produtos que vão de encontro às necessidades dos seus utentes. A sazonalidade constitui também um critério importante. Em certas alturas do ano, a procura por determinados produtos acentua-se. Por exemplo, na primavera e no verão verifica-se um aumento do número de vendas de anti-histamínicos e protetores solares, respetivamente. Assim, a Farmácia Modelar reforça, antecipadamente, os *stocks* dos mesmos.

Por fim, a necessidade individual do utente condiciona igualmente a aquisição. Quando um utente se dirige à farmácia com o intuito de adquirir um dado produto e este não está disponível, o farmacêutico pode efetuar de imediato uma encomenda no ato de atendimento (encomenda instantânea).

5.3 Armazenamento

O armazenamento dos medicamentos e outros produtos de saúde numa FC tem por base o cumprimento de todas as condições que proporcionam uma correta conservação dos mesmos [3]. Neste sentido, na Farmácia Modelar, as temperaturas da área de atendimento, do armazém e do laboratório deverão estar compreendidas entre os 16 e 25

°C e a humidade relativa destes espaços deverá permanecer inferior a 60 %. No frigorífico, a temperatura deverá manter-se entre os 2 e 8 °C para garantir a conservação adequada dos medicamentos termolábeis. Durante o estágio fiquei responsável por realizar semanalmente o controlo da temperatura e humidade.

Os diferentes artigos de saúde existentes na Farmácia Modelar estão armazenados de acordo com a forma farmacêutica, tal como referido anteriormente, o tipo de produto e o prazo de validade, ou seja, o princípio FEFO (*First-Expire, First-Out*). Para economizar ainda mais o tempo despendido em cada atendimento, estes estão também organizados por ordem alfabética de denominação comum internacional (DCI) ou nome comercial.

5.4 Encomendas e devoluções

5.4.1 Criação de uma encomenda

No *software* Sifarma® existe um módulo designado unicamente para as encomendas, onde se pode proceder também à sua criação. Tendo em conta os *stocks* máximo e mínimo predefinidos para cada produto, o programa informático gera automaticamente uma proposta de encomenda quando o *stock* mínimo é atingido. Deste modo, consegue impedir-se a rutura de *stocks*. O responsável pelas encomendas analisa a proposta criada, podendo cancelar, alterar ou aprovar a mesma. Posteriormente, a encomenda é requisitada ao fornecedor/armazenista pretendido. Diariamente, na Farmácia Modelar, este procedimento é realizado no final da manhã e da tarde.

Para além das encomendas diárias, podem realizar-se encomendas instantâneas e diretas, como já foi mencionado. Existe ainda a “Via Verde do Medicamento” que é acionada quando algum medicamento, que conste em lista predefinida pelo INFARMED, está indisponível na farmácia e possui *stock* reduzido no mercado. Só é possível a ativação desta via mediante apresentação de receita médica válida [11]. As encomendas efetuadas fora do Sifarma®, especialmente por via telefónica e por página *web*, devem ser registadas no programa informático.

5.4.2 Receção de uma encomenda

Na Farmácia Modelar, a receção de encomendas é feita durante a manhã (encomendas efetuadas no final da tarde do dia anterior) e durante a tarde (encomendas efetuadas no final da manhã do próprio dia).

Cada fornecedor envia as encomendas em caixas devidamente identificadas e acompanhadas da respetiva fatura ou guia de remessa (se a encomenda ainda não tiver sido debitada à farmácia). Aquando da receção de uma encomenda, procura-se esse documento, averigua-se a integridade dos artigos e armazena-se de imediato os produtos termolábeis, não esquecendo depois de rececionar informaticamente os mesmos. De seguida, na secção “gestão de encomendas” do Sifarma®, seleciona-se o(s) número(s) da(s) encomenda(s) associado(s) à fatura em causa, insere-se o número da fatura, o valor monetário da mesma e o número total de unidades. Posteriormente, à medida que se faz a leitura ótica de cada artigo, verifica-se o Preço de Venda à Farmácia (PVF), Preço de Venda ao Público (PVP) e o prazo de validade. Assim que a encomenda esteja conferida, o número total de unidades e o valor da fatura têm que coincidir com o que está registado no Sifarma®. Após validação da fatura, procede-se à marcação de preços dos artigos que não têm PVP previsto na embalagem. Quando existem produtos não enviados, os que se encontram esgotados são transferidos para uma proposta de encomenda e os que estão pendentes espera-se a sua receção numa encomenda posterior. Finalmente, assinalam-se os produtos reservados e arquiva-se o original da fatura.

Na minha primeira semana de estágio, pude desde logo observar a receção de uma encomenda. Na semana seguinte, realizei todo o procedimento com supervisão do Dr. João. Mais tarde, autonomamente, efetuei a receção de várias encomendas.

5.4.3 Devoluções

Diversos são os motivos que podem levar a farmácia a devolver um determinado produto ao fornecedor, designadamente aproximação do fim do prazo de validade, produtos expirados, embalagens danificadas, retirada do mercado e fornecimento de artigos não solicitados.

No programa Sifarma® cria-se uma nota de devolução que deve conter as seguintes informações: fornecedor/armazenista do produto em questão; número de fatura de origem; código do produto; nome comercial; motivo de devolução. Esta nota deverá ser impressa em triplicado, sendo que o original e o duplicado são enviados juntamente com o produto e o triplicado é arquivado na farmácia. Subsequentemente, o fornecedor pode emitir uma nota de crédito, recusar a devolução ou substituir o produto.

No decorrer do estágio curricular, tive a oportunidade de fazer devoluções de artigos com prazo de validade curto. Durante esta atividade, analisou-se simultaneamente o histórico de vendas dos produtos, alterando-se, quando pertinente, os *stocks* máximo e mínimo.

5.5 Margens legais de comercialização de preços

A regulação e a autorização de preços dos medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM) e dos medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) compartilhados é da competência do INFARMED, ao abrigo de um decreto-lei [12,13]. O PVP de cada um destes produtos está identificado na própria embalagem.

Relativamente aos restantes MNSRM e produtos de venda livre que não têm PVP estipulado, cabe à farmácia definir os seus preços, considerando as margens de lucro estabelecidas pela mesma. Estas margens têm em conta o IVA (Imposto sobre o Valor Acrescentado) associado aos artigos.

5.6 Controlo de prazos de validade

O prazo de validade que consta em cada ficha de medicamento ou produto de saúde corresponde ao prazo mais curto disponível.

Na Farmácia Modelar, o controlo de prazos de validade é efetuado em vários momentos. Um desses momentos é o processo de receção de uma encomenda e o armazenamento. Mensalmente, emite-se também uma listagem dos produtos cujos prazos de validade expiram dentro de quatro meses. Sempre que exista uma discrepância entre a validade indicada nessa listagem e a observada na embalagem, regista-se o prazo real e depois atualiza-se no Sifarma®. Os produtos que apresentem um prazo de validade igual ou inferior a três meses são armazenados numa prateleira destinada para esse fim.

Durante a minha permanência na Farmácia Modelar, o controlo mensal dos prazos de validade foi uma das tarefas que me foi atribuída.

6. Interação Farmacêutico-Utente-Medicamento

6.1 Aspetos éticos, deontológicos e técnicos

No exercício da sua atividade, o farmacêutico deve focar-se no doente, atentando primeiramente na saúde e bem-estar da pessoa humana em geral, não priorizando os seus interesses pessoais ou comerciais. O farmacêutico, ao ser o profissional de saúde especializado na área do medicamento, deve ainda promover o direito de acesso a um tratamento com qualidade, eficácia e segurança. Assim sendo, é importante manter-se atualizado a nível técnico e científico, por forma a reforçar as suas competências [3,14].

Na FC, a comunicação é um fator condicionante do uso racional do medicamento, pelo que o farmacêutico necessita adaptar a sua postura e linguagem conforme a idade, nível

socioeconómico e cultural de cada utente. Para além da linguagem que deve ser clara, precisa e concisa, o tom de voz também deve ser adequado, de modo a não comprometer a privacidade do utente. Neste seguimento, o sigilo profissional constitui uma outra obrigação do farmacêutico, com exceção nas situações passíveis de quebra do mesmo, particularmente quando a vida e saúde das pessoas que coabitem ou privem com o doente estão em risco [14].

Na dispensa do medicamento, o farmacêutico deve transmitir informação relevante sobre a medicação ao utente, nomeadamente a posologia, modo de administração, interações medicamentosas, precauções de utilização, contraindicações, e possíveis efeitos adversos [3]. Além disso, o profissional de saúde tem de alertar para o prazo de validade após abertura de alguns medicamentos, bem como para as condições especiais de conservação, quando necessárias. No final, este deve assegurar-se de que o utente recebeu e compreendeu toda a informação.

Ao longo do meu período de estágio, tentei transmitir informação pertinente sobre os medicamentos dispensados, procurando sempre adaptar o meu discurso a cada utente. Aquando da existência de dúvidas, esclareci as mesmas e cedi informação escrita para prevenir potenciais erros de medicação.

6.2 Farmacovigilância

A Farmacovigilância tem por objetivo identificar, quantificar, avaliar e prevenir riscos associados ao uso dos medicamentos em comercialização. Tal é conseguido através da recolha e análise das notificações de reações adversas a medicamentos (RAM). Esta atividade permite a monitorização da segurança dos mesmos e, conseqüentemente, a implementação de medidas de minimização dos riscos [3,15].

O farmacêutico deve comunicar as suspeitas de RAM de que tenha conhecimento ao Sistema Nacional de Farmacovigilância (SNF). Esta entidade, criada em 1992, é constituída por nove Unidades Regionais de Farmacovigilância (URF) [15]. A notificação pode ser realizada não só por profissionais de saúde como também por utentes, através do preenchimento de um formulário disponível no Portal RAM ou contacto telefónico à respetiva UFR [16].

Para a elaboração de uma notificação válida, é necessário obter as seguintes informações: descrição, duração, gravidade e evolução da reação adversa; relação dos sinais e sintomas com a toma de medicamentos; identificação do medicamento suspeito (lote, via de administração e indicação terapêutica); data de início e de suspensão da terapêutica; toma concomitante de outros medicamentos (MSRM e MNSRM) [3].

6.3 Reencaminhamento de medicamentos fora de uso [17]

A VALORMED, sociedade sem fins lucrativos, é responsável pela gestão dos resíduos de embalagens vazias e medicamentos fora de uso ou prazo de validade. Esta sociedade, constituída em 1999, surgiu da colaboração entre a indústria farmacêutica, distribuidores e farmácias, face à consciencialização para a problemática do medicamento enquanto resíduo. A instalação de contentores próprios nas farmácias por parte desta sociedade permite a recolha seletiva e controlada deste tipo de resíduos não urbanos.

Na Farmácia Modelar, quando um contentor de recolha está cheio, este é devidamente fechado. De seguida, no programa Sifarma®, o farmacêutico emite um talão com a identificação da farmácia, o número de série do contentor e um espaço para assinatura do farmacêutico e do armazenista responsável pela sua recolha (Plural). Mais tarde, os contentores são transportados para um Centro de Triagem, onde se procede à separação e classificação dos mesmos com base no seu tratamento final (reciclagem ou incineração).

7. Dispensa de medicamentos

A dispensa consiste na cedência de medicamentos ou substâncias medicamentosas aos utentes mediante prescrição médica, em regime de automedicação ou por indicação farmacêutica. Este ato deve compreender toda a informação acerca do uso adequado dos medicamentos, evitando a ocorrência de eventuais resultados negativos associados à medicação [3].

Antes de iniciar o atendimento ao público, procurei observar vários atendimentos realizados pelos farmacêuticos da Farmácia Modelar e executar simulações no Sifarma®. Passadas quatro semanas de estágio, comecei a realizar alguns atendimentos sob supervisão de um farmacêutico. Ao longo do estágio, fui adquirindo cada vez mais autonomia nesta atividade.

7.1 Prescrições médicas

7.1.1 Receção, leitura e confirmação da sua validade

Atualmente, as prescrições médicas são apresentadas em formato de receita eletrónica ou manual. A prescrição manual está a cair em desuso, sendo que esta apenas pode ser efetuada, excecionalmente, nos casos previstos na legislação: falência informática; inadaptação do prescritor; prescrição ao domicílio, exceto lares de idosos; outras

situações até um máximo de 40 receitas médicas por mês. Relativamente à prescrição por meios eletrônicos, a receita médica pode ser desmaterializada (receita sem papel) ou materializada (receita impressa). Independentemente do tipo de prescrição eletrônica, os *softwares* têm de validar e registar a receita na Base de Dados Nacional de Prescrições (BDNP) [18,19].

Previamente à dispensa, existe uma série de elementos que o farmacêutico deve averiguar se constam na receita: número da receita; local de prescrição ou respetivo código; identificação do médico prescriptor; nome e número de utente; entidade financeira responsável e número de beneficiário; regime excecional de comparticipação, se aplicável [19]. No caso da receita desmaterializada, todo este processo é facilitado com a introdução do código da receita e código de acesso no Sifarma®, uma vez que os elementos supracitados são automaticamente validados pelo *software*.

No que concerne à receita materializada, para além dos elementos já mencionados, é necessário incluir: DCI da substância ativa; dosagem, forma farmacêutica, dimensão da embalagem, número de embalagens e posologia, quando não é referente a um tratamento prolongado; nome comercial do medicamento, se aplicável; Código Nacional de Prescrição Eletrónica de Medicamentos (CNPEM) ou outro código oficial identificador do produto, se aplicável; vinheta do médico prescriptor; data de prescrição; assinatura do prescriptor [19].

Relativamente à receita manual, o farmacêutico deve analisá-la atentamente aquando da sua validação. Esta diferencia-se dos restantes modelos pela presença de vinheta identificativa do médico prescriptor, identificação da exceção legal e colocação de vinheta identificativa do local de prescrição, se aplicável. Quando a última vinheta referida é de cor verde, a prescrição é destinada a um pensionista abrangido pelo regime excecional de comparticipação [19]. Além disso, a validade destas receitas é de apenas 30 dias a contar da data de emissão (preenchimento obrigatório). A receita manual pode conter até 4 medicamentos distintos, num total de 4 embalagens, sendo que podem ser prescritas no máximo 2 embalagens por medicamento. Contudo, os medicamentos em dose unitária podem ser prescritos até 4 embalagens. De salientar que o retorno da comparticipação destas receitas à farmácia pode ser recusado devido à existência de rasuras, caligrafias diferentes ou prescrição com canetas diferentes ou a lápis [18].

Atualmente, considerando o contexto de pandemia em que vivemos, a farmácia só pode dispensar, por cada 30 dias, no máximo 2 embalagens do mesmo medicamento ou até 4 embalagens por medicamento, em dose unitária. No entanto, mediante justificação, é possível dispensar uma quantidade superior, nomeadamente nos seguintes casos: a

quantidade de embalagens necessária para cumprir a posologia é superior a 2 embalagens por mês; extravio, perda ou roubo de medicamentos; dificuldade de deslocação à farmácia; ausência prolongada do país [18,19].

7.1.2 Avaliação/Interpretação

Finalizada a validação, o farmacêutico deve interpretar a prescrição, ou seja, avaliar farmacoterapeuticamente a mesma. Neste sentido, deve analisar se a prescrição é realmente necessária e adequada ao utente, tendo em consideração possíveis interações medicamentosas e alimentares, contraindicações e alergias. Também é importante que verifique se a posologia e a frequência de administração são adequadas. Caso detete problemas relacionados com medicamentos (PRM), deve contactar o médico prescritor a fim de obter a respetiva resolução. O farmacêutico pode ainda questionar o utente para uma melhor interpretação [3].

Após avaliação e interpretação da receita médica, o farmacêutico dispensa a medicação, não esquecendo de transmitir ao utente toda a informação necessária (modo de administração, posologia e possíveis efeitos adversos), com a finalidade de promover o uso racional do medicamento.

Durante o meu período na Farmácia Modelar, avalei diferentes prescrições médicas, nas quais, principalmente em receitas manuais, iam surgindo regularmente símbolos usados pelos médicos, como, por exemplo, “SOS” (administrar só em casos de dor intensa).

7.1.3 Verificação farmacêutica (após a dispensa)

Após a dispensa dos medicamentos, é fundamental conferir todo o receituário. Este é enviado mensalmente para o Centro de Conferência de Faturas (CCF) para que a farmácia possa reaver o valor de participação.

Na Farmácia Modelar, o responsável pela verificação do receituário confirma, em cada receita manual ou eletrónica materializada, os medicamentos dispensados, atentando os prescritos, o preço total dos mesmos, o valor total da receita, o encargo do utente relativamente a cada medicamento e na totalidade, o lote atribuído, a data da prescrição e da dispensa, a existência da assinatura do médico e do utente, a presença de vinheta identificativa do médico prescritor, o código dos medicamentos em caracteres e em código de barras, bem como a referência do direito de opção do utente (quando aplicável). De seguida, carimba, assina e data cada receita no verso. Posteriormente, organiza todo o receituário consoante os diferentes organismos de participação e por lotes, sendo que cada lote é constituído por 30 receitas.

Relativamente às receitas eletrónicas materializadas, a conferência das mesmas é bastante simples, logo a margem para erro é reduzida. No caso das receitas sem papel ou desmaterializadas, uma vez que são automaticamente validadas pelo *software*, não é necessário fazer a sua verificação.

No estágio, tive a oportunidade de verificar o receituário e proceder à organização do mesmo, sob supervisão de um farmacêutico.

7.2 Utilização da aplicação informática na dispensa de medicamentos

O programa Sifarma® dispõe de um módulo dedicado unicamente ao atendimento. Neste módulo é possível fazer 2 tipos de atendimento:

- “sem participação” – dispensa de MNSRM ou produtos de saúde;
- “com participação” – dispensa de MSRM participados ou não participados, mediante apresentação de receita médica válida.

Durante o atendimento, o farmacêutico pode aceder no Sifarma® à secção “científico” de cada medicamento para esclarecer qualquer dúvida que surja acerca de interações, efeitos secundários, posologia e outros.

Atualmente, a maioria das embalagens de medicamentos já possuem um código *Data Matrix*. Sempre que possível, o farmacêutico deve dispensar as embalagens através da leitura ótica deste código.

De notar que trabalhar com as diferentes funcionalidades do módulo de atendimento requer muito treino, pelo que a minha aprendizagem foi gradual.

7.3 Regimes de participação

A maioria dos medicamentos dispensados em FC estão sujeitos a algum regime de participação. A atual legislação estabelece a existência de um regime geral e de um regime excecional. Este último abrange determinadas patologias ou grupos de utentes [18].

No que diz respeito ao regime geral de participação, a percentagem do PVP dos medicamentos paga pelo Estado é diferente entre os vários escalões (Escalão A – 90 %, Escalão B – 69 %, Escalão C – 37 %, Escalão D – 15 %). Os escalões de participação são fixados tendo por base as indicações terapêuticas do medicamento, a sua utilização, as entidades responsáveis pela prescrição e o seu consumo [18,20].

Relativamente ao regime excecional, a comparticipação é feita em função dos beneficiários e das patologias ou grupos especiais de utentes. No primeiro caso, o Estado comparticipa 95 %, 84 %, 52 % e 30 % do PVP de medicamentos incluídos no escalão A, B, C e D, respetivamente. Para além disso, medicamentos cujos PVPs sejam iguais ou inferiores ao 5º preço mais baixo do grupo homogéneo em que se inserem são comparticipados em 95 % para o conjunto de escalões. No segundo caso, para que um determinado medicamento listado seja comparticipado pelo Estado, o médico prescriptor deve mencionar na receita o diploma legal correspondente [18].

Certos produtos também são sujeitos a planos de comparticipação regulados por legislação própria. No que toca a medicamentos manipulados, estes são comparticipados em 30 % do seu PVP, desde que constem em lista predefinida por despacho [18].

Para além da comparticipação pelo Serviço Nacional de Saúde (SNS), existem diversos subsistemas de saúde que beneficiam de comparticipação complementar, são exemplos a Assistência na Doença aos Militares do Exército (ADME), Serviço de Assistência Médico-Social do Sindicato dos Bancários (SAMS), Instituto de Ação Social das Forças Armadas (IASFA), entre outros. Existem ainda outros sistemas de comparticipação que não fazem parte do SNS, como por exemplo seguros de acidentes de trabalho, estes comparticipam até 100 % medicamentos e outros produtos de saúde.

7.4 Dispensa de psicotrópicos/estupefacientes

Medicamentos que apresentem na sua composição substâncias ativas classificadas como estupefacientes ou psicotrópicos estão sujeitos a um armazenamento restritivo, bem como a um controlo mais rigoroso durante a dispensa. Estes medicamentos devem ser prescritos isoladamente em receitas médicas [18].

No ato da dispensa, que apenas pode ser efetuada por um farmacêutico e mediante apresentação de receita médica válida, é necessário preencher os elementos requeridos pelo programa informático: identificação do doente (nome completo e morada), identificação do adquirente (nome completo, morada, idade, número e data de validade do bilhete de identidade ou do cartão de cidadão ou da carta de condução) e identificação do médico prescriptor [18,19]. No final da dispensa, o farmacêutico imprime o comprovativo de dispensa emitido e arquiva em dossier designado para esse efeito. Na presença de uma receita manual, uma cópia da mesma deve ser anexada ao comprovativo.

De acordo com a legislação, a farmácia tem de manter arquivados todos os documentos referentes à dispensa de psicotrópicos e estupefacientes durante um período mínimo de 3 anos. Para assegurar o controlo dos movimentos destes medicamentos, o INFARMED obriga as farmácias a enviarem até ao dia 8 do mês seguinte à dispensa, uma listagem de todas as receitas aviadas, na qual constem os dados do adquirente, assim como uma cópia das receitas manuais [18,19].

Para além de ficar responsável pelo envio dos documentos supracitados ao INFARMED, sob orientação da Dr.^a Tânia, no início de cada mês, para controlo interno da Farmácia Modelar, foi-me incumbida a tarefa de verificar o *stock* deste tipo de medicamentos, tendo em consideração os registos de saídas dos mesmos.

7.5 Produtos ao abrigo de um protocolo [18]

Os produtos passíveis a ser dispensados ao abrigo de um protocolo são os que se destinam ao autocontrolo da diabetes mellitus: tiras de medição, seringas, agulhas e lancetas.

Para que os utentes possam usufruir da comparticipação do Estado, estes produtos têm que ser prescritos isoladamente, tal como acontece nos psicotrópicos e estupefacientes. As tiras-teste têm uma comparticipação de 85 % sobre o seu PVP, enquanto as agulhas, seringas e lancetas são comparticipadas na totalidade pelo Estado.

7.6 Dispensa de genéricos [18]

A prescrição de um medicamento deve ser feita por DCI da substância ativa, permitindo ao utente optar por um medicamento pertencente ao grupo homogêneo do fármaco em questão. Assim sendo, a farmácia deve ter disponível, no mínimo, três medicamentos similares, de entre os cinco medicamentos mais baratos de cada grupo homogêneo.

Porém, um medicamento pode ser prescrito por nome comercial ou do titular, nas seguintes situações:

- Medicamento de marca sem similar ou que não disponha de medicamento genérico similar comparticipado;
- Exceção a) – Medicamentos com margem ou índice terapêutico estreito;
- Exceção b) – Reação adversa prévia;
- Exceção c) – Continuidade de tratamento superior a 28 dias.

No primeiro caso, o farmacêutico apenas pode dispensar o medicamento prescrito. Na presença da exceção c), o utente pode optar por outro medicamento similar ao prescrito, desde que seja de PVP inferior. Por outro lado, sempre que haja menção da exceção a) ou b), o farmacêutico tem de dispensar obrigatoriamente o medicamento que consta na receita.

Ao longo do meu estágio, participei frequentemente na dispensa de medicamentos genéricos, procurando sempre beneficiar o utente. É importante salientar que, antes da dispensa, o utente deve ser informado sobre o seu direito de opção, quando tal seja possível.

7.7 Dispensa de medicamentos hospitalares [21,22]

Na sequência do atual cenário de pandemia foram implementadas medidas que visam minimizar o risco de contágio e propagação da doença. Assim, procurando evitar deslocamentos e contactos desnecessários por parte dos utentes, os Serviços Farmacêuticos Hospitalares (SFH) promoveram a cedência de medicamentos dispensados em regime ambulatório de farmácia hospitalar por circuitos alternativos, nomeadamente, através das FCs. Esta medida contribui para a proteção dos utentes e facilita o acesso dos mesmos aos medicamentos de que necessitam, assegurando a continuidade da terapêutica.

Para a disponibilização deste serviço de proximidade, os SFH, para além de passarem a articular-se diretamente com as FCs, passaram também a fazê-lo com outras entidades do circuito do medicamento, como distribuidores por grosso de medicamentos de uso humano.

Para garantir uma dispensa segura em âmbito de FC, os SFH são responsáveis por cederem os dados do utente, o contacto do mesmo ou do cuidador, se aplicável, e outras informações relevantes. Na FC, este tipo de dispensa só pode ser efetuado por um farmacêutico, o qual tem obrigatoriamente de registar o seu número de carteira profissional durante o processo. Este deve ainda identificar corretamente o utente ou o seu cuidador, o responsável pela prescrição hospitalar, registar se o utente experienciou novos sinais ou sintomas e verificar o estado do medicamento enviado pelos SFH. Seguidamente, todas estas informações são comunicadas aos SFH que dispensaram primeiramente o medicamento.

No decorrer do meu estágio curricular, realizei diversas vezes a dispensa de medicamentos hospitalares, sempre sob supervisão de um farmacêutico. Trata-se de um processo demorado que exige muita concentração aquando da sua execução.

8. Automedicação

A automedicação consiste na utilização de MNSRM por iniciativa própria do doente. A cedência de medicamentos em regime de automedicação é uma tarefa que requer muita atenção por parte do farmacêutico. Este deve orientar e avaliar a necessidade ou não do medicamento solicitado pelo doente [3].

No âmbito do meu estágio na Farmácia Modelar, antes de iniciar o atendimento ao público, a Dr.^a Tânia falou-me de várias situações passíveis de automedicação e de como deveria ser feito o correto aconselhamento farmacêutico. Além disso, alertou-me para o facto de que devo sempre tentar saber a idade do utente a quem se destina o medicamento, duração do problema em causa, medicação atual e problemas de saúde já diagnosticados. Mais tarde, todos estes conselhos foram muito úteis em diversas situações que me surgiram ao balcão.

8.1 Distinção entre MSRM e MNSRM

Um medicamento é classificado como MSRM, quando cumpre pelo menos um dos seguintes requisitos:

- Constitui um risco, direto ou indireto, para a saúde do doente, mesmo quando utilizado para o fim a que se destina, caso seja usado sem vigilância médica;
- Representa um risco, direto ou indireto, para a saúde, quando usado com regularidade e em quantidade considerável para uma finalidade diferente daquela a que se destina;
- Contém substâncias, ou preparação à base dessas substâncias, com atividade ou reações adversas pouco conhecidas;
- Necessita ser administrado por via parentérica [2].

Em contrapartida, um MNSRM não preenche nenhuma das condições acima referidas [2] e pode também ser designado por medicamento de venda livre ou *Over the Counter* (OTC). Importa também salientar que a sua utilização para a prática de automedicação é limitada a situações clínicas bem definidas por despacho [23].

Atualmente, existe ainda uma “Terceira Lista” de medicamentos que surgiu devido ao perfil de segurança ou às indicações terapêuticas de alguns MNSRM. Desta fazem parte os MNSRM de dispensa exclusiva em farmácia (MNSRM-EF), cuja aquisição é condicionada pela aplicação de protocolos de dispensa e intervenção do farmacêutico [24].

8.2 Quadros sintomáticos que exigem cuidados médicos

Quando o farmacêutico, após avaliação do quadro clínico, conclui que os sintomas descritos requerem cuidados para os quais não dispõe das medidas suficientes para atuar da melhor forma, o utente deve ser encaminhado para o médico [3].

São diversas as situações que requerem aconselhamento médico, nomeadamente febre alta e persistente, valores de pressão arterial, colesterol e glicémia muito distantes dos valores de referência, podendo estar associados ou não a sintomatologia, tosse persistente há mais de duas semanas, necessidade de prescrição de um antibiótico, alteração de uma forma farmacêutica, dosagem ou medicamento, febre em crianças com idade igual ou inferior a 2 anos, obstipação há mais de uma semana, entre outras.

8.3 Riscos de automedicação

A automedicação visa aliviar ou resolver um problema de saúde menor, recorrendo a um MNSRM ou a medidas não farmacológicas. Para a sua prática responsável, é fundamental a assistência ou aconselhamento de um profissional de saúde [23]. A utilização de medicação sem a devida vigilância pode acarretar riscos para a saúde do utente, dos quais se destacam as reações adversas, interações medicamentosas, toxicidade por sobredosagem, erros no modo de administração e ocultação de patologias mais graves.

8.4 Quadros que podem ser abordados com medidas não farmacológicas

Sempre que haja possibilidade, o farmacêutico deve aconselhar medidas não farmacológicas, visto que muitas vezes a implementação das mesmas aliadas ou não a farmacoterapia podem ajudar no tratamento de problemas de saúde não graves [3].

Durante a minha permanência na Farmácia Modelar, aconselhei frequentemente medidas não farmacológicas nas mais distintas situações. Quando surgiram situações em que foram referidos sintomas gripais recomendei repouso, aumento da ingestão de líquidos e elevação da cabeceira para dormir. Nas queixas de doença hemorroidária, além do tratamento farmacológico, sugeri uma dieta rica em fibras e ausência de condimentos picantes, prática de exercício físico (caminhadas, natação ou ciclismo) e ingestão de elevadas quantidades de líquidos. No caso de valores de pressão arterial acima dos valores de referência, aconselhei a diminuição da ingestão de sal, caféina e carnes vermelhas, o aumento do consumo de verduras e de água.

8.5 Indicação farmacêutica de um MNSRM

O farmacêutico assume uma grande responsabilidade quando seleciona e cede um MNSRM para tratar um problema de saúde sem gravidade, autolimitado, de curta duração e sem indícios de outros problemas. A seleção do princípio ativo, dose, frequência de administração, duração do tratamento e forma farmacêutica são dependentes da situação fisiológica do doente, patologias, medicação atual e alergias medicamentosas [3].

Para uma correta eleição de um MNSRM, o farmacêutico deve investir na sua formação contínua e seguir as Normas de Orientação Farmacêuticas (NOF), protocolos de indicação, guias clínicas e guias farmacoterapêuticos [3].

Ao longo do meu período de estágio, indiquei um MNSRM, por exemplo, em situações de tosse seca ou produtiva, dor e irritação na garganta, enjoo associado ao movimento, dores musculares e articulares, alergias, obstipação, pernas edemaciadas e cansadas, entre outras, transmitindo toda a informação importante para o seu uso racional.

9. Aconselhamento e dispensa de outros produtos de saúde

Durante o meu estágio em FC, rapidamente compreendi que o farmacêutico deve ser conhecedor das propriedades e características dos vários produtos de saúde. Só assim pode garantir um ótimo aconselhamento personalizado, bem como esclarecer qualquer dúvida ao utente sobre os mesmos.

9.1 Produtos dermocosméticos e de higiene

Um produto cosmético é definido como “qualquer substância ou mistura destinada a ser posta em contacto com as partes externas do corpo humano (epiderme, sistemas piloso e capilar, unhas, lábios e órgãos genitais externos) ou com os dentes e as mucosas bucais, tendo em vista, exclusiva ou principalmente, limpá-los, perfumá-los, modificar-lhes o aspeto, protegê-los, mantê-los em bom estado ou corrigir os odores corporais” [25].

Na Farmácia Modelar existem vários produtos dermocosméticos e de higiene, que se inserem em diversas categorias, como por exemplo, proteção solar, higiene oral, cuidado capilar, maquilhagem, entre outras. A Farmácia Modelar dispõe de algumas marcas, das quais destaco a *Avène*[®], *Vichy*[®], *Klorane*[®], *Uriage*[®], *D’Aveia*[®], *A-Derma*[®], *Bioderma*[®], *Mustela*[®], *Ducray*[®], *Corega*[®], *Paradontax*[®], *Elgydium*[®] e *Bexident*[®].

Para clarificação de alguns conceitos, a Dr.^a Tânia elaborou uma apresentação intitulada “Noções em Dermocosmética”, onde destacou aspetos como a ordem correta de aplicação dos produtos cosméticos e o papel do farmacêutico no aconselhamento personalizado. Ainda no âmbito desta área, a Farmácia Modelar deu-me a oportunidade de assistir a uma formação *online*, onde se analisaram diversos casos práticos e se elaboraram guiões de atendimento.

9.2 Produtos dietéticos para alimentação

Tendo por base a sua composição ou os seus processos de fabrico, os géneros alimentícios destinados a uma alimentação especial diferem dos alimentos de consumo corrente. A composição dos mesmos tem de ser apropriada ao objetivo nutricional pretendido e cumprir os critérios aplicáveis aos produtos de consumo corrente, havendo a possibilidade de adicionar vitaminas, sais minerais, aminoácidos e outras substâncias. Estes produtos alimentares são indicados em “pessoas cujo processo de assimilação ou cujo metabolismo se encontrem perturbados”, “pessoas que se encontram em condições fisiológicas especiais” e “lactentes ou crianças de pouca idade em bom estado de saúde” [26]. A participação de produtos dietéticos com carácter terapêutico é de 100% quando a prescrição é efetuada em locais definidos na legislação [27].

O *stock* deste tipo de produtos na Farmácia Modelar é relativamente reduzido, uma vez que são artigos pouco solicitados. As gamas mais dispensadas neste estabelecimento são *Fortimel*[®], indicada em oncologia, na perda de peso e massa muscular e em geriatria, *Resource*[®], aconselhada em diabéticos, seniores frágeis e oncologia, e *Cubitan*[®], indicada para suplementar pacientes com feridas crónicas.

9.3 Produtos dietéticos infantis

Os produtos dietéticos infantis são recomendados a lactentes e a crianças de pouca idade. No mercado existe uma grande variedade de produtos, tais como fórmulas/leites para lactentes, fórmulas de transição, farinhas/papas (lácteas e não lácteas), chás e sobremesas [28].

Sempre que seja pertinente, o farmacêutico deve informar os utentes sobre os benefícios da amamentação para o bebé, bem como para a mãe. No que diz respeito ao bebé, o leite materno é importante na prevenção de infeções gastrointestinais, respiratórias e urinárias, da diabetes e de linfomas, como também confere proteção contra as alergias, especificamente às proteínas do leite de vaca. Além de ser uma experiência única para a mãe, a amamentação promove uma involução uterina rapidamente e minimiza a

probabilidade de desenvolvimento de cancro da mama. No entanto, o aleitamento materno nem sempre é praticável devido a vários motivos [29].

Dentro dos produtos deste tipo existentes na Farmácia Modelar, destaca-se a gama NAN® com fórmulas hipoalergénicas, anti-regurgitantes e outras, adaptadas para as diferentes faixas etárias. Outra gama disponível é a *Novalac*® com fórmulas anti-obstipantes e também anti-regurgitantes, completas com nutrientes essenciais. A infusão *Nutribén Alivit*® *Confort* à base de camomila e lúcia-lima, que pode ser indicada desde o nascimento, é ocasionalmente solicitada pelos utentes para suplementar as necessidades líquidas, no intervalo das refeições, e para combater as cólicas e os gases.

9.4 Fitoterapia e suplementos nutricionais

Cada vez mais os utentes procuram produtos naturais para tratar e curar doenças, acreditando que acarretam menos contraindicações, interações medicamentosas e efeitos adversos. Porém, está estabelecido que tal não é verdade. Deste modo, é preciso alertar os utentes para o facto de um produto natural não ser inócuo. Por outro lado, existe ainda uma grande quantidade de plantas e de princípios ativos cuja ação é desconhecida [30].

Segundo o Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto, um medicamento à base de plantas é definido como “qualquer medicamento que tenha exclusivamente como substâncias ativas uma ou mais substâncias derivadas de plantas, uma ou mais preparações à base de plantas ou uma ou mais substâncias derivadas de plantas em associação com uma ou mais preparações à base de plantas” [2].

Durante o meu estágio, pude consultar um livro da *Arkocápsulas*®, gama existente na Farmácia Modelar e que é constituída exclusivamente por produtos naturais. Neste livro constam, ao detalhe, benefícios, contraindicações e posologias de todos os produtos da referida gama. Na Farmácia Modelar existem ainda vários chás com propriedades terapêuticas, tais como o hipericão (propriedades antidepressivas e anti-hipertensivas), malva (propriedades antissépticas e anti-inflamatórias), barbas de milho (propriedades diuréticas e anti-inflamatórias que auxiliam no tratamento de infeções urinárias), *Manasul*®, *Herbis*® e *Bekunis*® (misturas de plantas com propriedades laxantes, usados também para a perda de peso).

Por sua vez, os suplementos nutricionais são “géneros alimentícios que se destinam a complementar e ou suplementar o regime alimentar normal e que constituem fontes concentradas de determinadas substâncias nutritivas” [31].

Na Farmácia Modelar estão disponíveis muitos suplementos com diferentes fins terapêuticos. Cito como exemplos o *Centrum*[®] (destinado a colmatar deficiências a nível vitamínico), o *Neuralex*[®] (indicado na manutenção de uma normal função cerebral), o *Ceregumil*[®] (suplemento alimentar de elevado valor nutricional e energético, aconselhado em situações que requerem um aporte energético adicional), o *Fibro Tecnilor*[®] (indicado para melhorar o trânsito intestinal e facilitar a digestão), o *Bioactivo*[®] crómio (adequado para regular os níveis de glicose no sangue), entre outros. Para consolidar conhecimentos nesta área, a Farmácia Modelar deu-me a oportunidade de assistir a uma formação *online*, onde se analisaram diversos casos práticos.

9.5 Medicamentos e produtos de uso veterinário

Um medicamento de uso veterinário (MUV) é definido como “toda a substância, ou associação de substâncias, apresentada como possuindo propriedades curativas ou preventivas de doenças em animais ou dos seus sintomas, ou que possa ser utilizada ou administrada no animal com vista a estabelecer um diagnóstico veterinário ou, exercendo uma ação farmacológica, imunológica ou metabólica, a restaurar, corrigir ou modificar funções fisiológicas” [32]. Por outro lado, um PUV consiste numa “substância ou mistura de substâncias, sem indicações terapêuticas ou profiláticas” [33].

Ao longo do estágio, pude reparar que tanto os MUV como os PUV são muito procurados pelos utentes, sendo que tal pode dever-se ao facto da Farmácia Modelar se localizar numa zona rural. No que diz respeito aos MUV, que apenas podem ser dispensados mediante apresentação de receita médica, a farmácia dispõe de pílulas (*Megecat*[®] para gatas e *Pilusoft*[®] para gatas e cadelas), vacinas para os cães (*Vanguard*[®]), vacinas para os coelhos (*Mixohipra*[®] contra a mixomatose e *Cylap HVP*[®] contra a doença hemorrágica vírica), entre outros. No âmbito dos PUV estão disponíveis desparasitantes intestinais (*Drontal Puppy*[®], *Strongid*[®], *Tenil Vet*[®]), desparasitantes externos (*Frontline Combo*[®], *Frontline Tri-Act*[®] que tem a vantagem de proteger contra o vetor da Leishmaniose, *Advantix*[®], *Advantage*[®]), um suplemento alimentar (*Anima Strath*[®]), uma suspensão tópica para o tratamento de otites em cães (*Conofite*[®]) e outros.

De modo a tomar conhecimento dos produtos veterinários disponíveis na Farmácia Modelar, assisti a uma apresentação realizada pela Dr.^a Tânia. Nesta apresentação salientou-se a importância do aconselhamento farmacêutico correto, principalmente em relação ao modo de administração.

9.6 Dispositivos médicos

De acordo com o Decreto-Lei n.º145/2009, de 17 de junho, um dispositivo médico é “qualquer instrumento, aparelho, equipamento, *software*, material ou artigo utilizado isoladamente ou em combinação, incluindo o *software* destinado pelo seu fabricante a ser utilizado especificamente para fins de diagnóstico ou terapêuticos e que seja necessário para o bom funcionamento do dispositivo médico, cujo principal efeito pretendido no corpo humano não seja alcançado por meios farmacológicos, imunológicos ou metabólicos” [34].

Os dispositivos médicos são classificados tendo em conta a vulnerabilidade, o tempo de contacto com o corpo humano (temporário, curto prazo ou longo prazo), a invasibilidade, a anatomia afetada pelo uso e os possíveis riscos decorrentes da conceção técnica e do fabrico. Assim sendo, encontram-se divididos em quatro classes de risco: classe I (baixo risco); classe IIa (médio risco); classe IIb (médio risco); classe III (alto risco). Todos os dispositivos, exceto aqueles feitos por medida ou destinados a investigações clínicas, que cumpram as exigências decretadas devem exibir a marcação “CE” (Comunidade Europeia) [34,35]. No decorrer do meu estágio, os dispositivos médicos mais requisitados pelos utentes foram meias de compressão, seringas, compressas, pulsos e joelhos elásticos, tiras de medição, lancetas, material de penso e sacos coletores de urina.

10. Outros cuidados de saúde prestados na Farmácia

10.1 Serviços farmacêuticos

Numa FC, para além da dispensa de medicamentos e produtos de saúde, é possível a prestação de serviços farmacêuticos e outros serviços de promoção de saúde e bem-estar dos utentes. Neste sentido, as farmácias podem proceder à determinação de parâmetros bioquímicos e fisiológicos, à administração de medicamentos injetáveis ou vacinas não incluídas no Plano Nacional de Vacinação, entre outros serviços. Todas estas atividades apenas podem ser executadas por farmacêuticos habilitados [3,36].

Na Farmácia Modelar estão disponíveis uma série de serviços, nomeadamente medição dos parâmetros antropométricos, pressão arterial, colesterol total, triglicéridos, glicémia e ácido úrico, sendo que observei e participei várias vezes nas determinações dos mesmos aquando da sua solicitação por parte de utentes.

Relativamente à avaliação dos parâmetros antropométricos, na área de atendimento ao público existe um aparelho digital automático que pode ser utilizado autonomamente pelos utentes. Este equipamento, através da medição dos parâmetros peso e altura, calcula automaticamente o Índice de Massa Corporal (IMC) do utente, classificando o valor obtido com base nos valores de referência. Para a determinação correta destes parâmetros, o utente deve colocar-se numa posição ereta, com as costas direitas e a olhar em frente [37].

Para medição da pressão arterial, a Farmácia Modelar dispõe também de um aparelho digital automático que regista a pressão arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) e a frequência cardíaca. Inicialmente, o farmacêutico deve convidar o utente a descansar e questioná-lo acerca da sua medicação e se bebeu álcool ou café, fumou ou praticou exercício nos 30 minutos precedentes. Posteriormente, efetua-se a medição durante a qual o utente deve permanecer em silêncio. A pressão arterial num adulto classifica-se como ótima quando a PAS ≤ 120 mmHg e PAD ≤ 80 mmHg [38].

No que concerne à determinação dos parâmetros bioquímicos (colesterol total, triglicéridos, glicémia e ácido úrico), o farmacêutico deve primeiramente perguntar se o utente se encontra em jejum. Seguidamente, deve proceder à higienização das suas mãos, colocar as luvas, escolher o aparelho correto que permite determinar o parâmetro em questão e desinfetar o bordo lateral da polpa de um dos dedos do utente com álcool a 70%. Posto isto, o farmacêutico pode executar a punção digital. No gabinete de atendimento personalizado da Farmácia Modelar, os procedimentos a adotar na determinação dos diferentes parâmetros bioquímicos estão afixados, bem como os valores de referência:

- Colesterol total: ≤ 190 mg/dL [39];
- Triglicéridos: ≤ 150 mg/dL [39];
- Glicémia em jejum: 60-100 mg/dL (não diabético) ou 70-130 mg/dL (diabético) [40];
- Glicémia pós-prandial: < 140 mg/dL (não diabético) ou < 180 mg/dL (diabético) [40];
- Ácido úrico: < 6 mg/dL (sexo feminino) ou < 7 mg/dL (sexo masculino) [40].

Em todos os serviços disponibilizados, dependendo dos valores obtidos, o farmacêutico deve avaliar o risco cardiovascular, incentivar a adoção de um estilo de vida saudável e encaminhar ao médico, caso seja necessário.

10.2 Outros serviços disponibilizados

Os utentes têm ainda à disposição, mensalmente, consultas de avaliação e revisão auditiva, onde o especialista se disponibiliza também para fazer manutenção dos aparelhos auditivos.

No seguimento do contexto de pandemia em que vivemos, a Farmácia Modelar realiza entregas ao domicílio, que podem ser solicitadas por via telefónica, correio eletrónico ou via formulário. Este serviço tem de ser supervisionado por um farmacêutico.

Mais recentemente, os utentes podem usufruir de consultas de nutrição e dietética, mediante marcação. Todas as segundas-feiras, uma nutricionista faz o acompanhamento dos utentes, promovendo hábitos saudáveis e aconselhando produtos de emagrecimento disponíveis na farmácia.

11. Preparação de Medicamentos

Um medicamento manipulado é definido como “qualquer fórmula magistral ou preparado oficial preparado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico” [41].

Para a preparação, acondicionamento, rotulagem e controlo de medicamentos manipulados, a FC deve dispor de um laboratório devidamente equipado, iluminado e ventilado, com as condições de temperatura e humidade adequadas [3]. No laboratório é obrigatório existir um alcoómetro, almofarizes de vidro e de porcelana, uma balança de precisão sensível ao miligrama, um banho de água termostaticado, cápsulas de porcelana, copos de várias capacidades, espátulas metálicas e não metálicas, funis de vidro, matrizes de várias capacidades, papel de filtro, papel indicador pH universal, uma pedra para a preparação de pomadas, pipetas graduadas de várias capacidades, tamises com abertura de malha 180 μm e 355 μm (com fundo e tampa), um termómetro (escala mínima até 100 °C) e vidros de relógio [42].

No que diz respeito às matérias-primas disponíveis na FC para a preparação de medicamentos manipulados, estas só podem ser adquiridas a fornecedores autorizados pelo INFARMED e o registo dos movimentos das mesmas deve ser efetuado. As matérias-primas utilizadas nesta atividade devem satisfazer as exigências da respetiva monografia inscrita na Farmacopeia Portuguesa ou nas Farmacopeias de outros estados membros da CE, sendo que o cumprimento destes requisitos está descrito no respetivo boletim de análise. No rótulo de cada matéria-prima deve constar a identificação da

mesma e do fornecedor, condições de conservação, precauções de manuseamento e prazo de validade [41, 43].

Todo o processo de manipulação deve ser devidamente registado em documentação de suporte existente na farmácia, designadamente o número de lote, substâncias usadas e respetivo lote, modo de preparação, dados do utente e do prescriptor, controlo de qualidade (avaliação das características organoléticas, realização de ensaios não destrutivos e verificação da quantidade dispensada), prazos de utilização, condições de conservação e cálculo do PVP [3,41].

Ao longo do meu estágio curricular, reparei que a preparação de medicamentos manipulados é uma atividade cada vez menos executada. O Dr. João explicou-me todo o processo subjacente a esta prática, mostrando-me prescrições médicas de manipulados e as respetivas fichas de preparação arquivadas na farmácia.

11.1 Cálculo do preço dos medicamentos manipulados

O PVP dos medicamentos manipulados corresponde ao somatório do valor dos honorários da preparação, do valor das matérias-primas e do valor dos materiais de embalagem multiplicado por 1,3, acrescido do valor do IVA à taxa em vigor (6 %) [44].

Quanto ao cálculo do valor dos honorários, matérias-primas e materiais de embalagem, estes são determinados com base no que está descrito na legislação [44].

Para que os medicamentos manipulados sejam comparticipados em 30% pelo Estado, os mesmos têm de ser prescritos isoladamente e constar em lista predefinida por despacho [18].

11.2 Rotulagem e enquadramento legal [41]

O rótulo de qualquer medicamento manipulado dispensado na FC deve apresentar as seguintes informações:

- Nome do doente (caso se trate de uma fórmula magistral);
- Fórmula do medicamento manipulado prescrita pelo médico;
- Número do lote concedido ao medicamento preparado;
- Prazo de utilização;
- Condições de conservação;
- Instruções especiais, as quais podem ser indispensáveis à utilização do medicamento, como por exemplo, “agitar antes de usar”, “uso externo” (em fundo vermelho), entre outras;

- Via de administração;
- Posologia;
- Identificação da Farmácia;
- Identificação do Diretor Técnico.

11.3 Atribuição da validade ao produto acabado

As normas gerais para a atribuição de prazos de utilização aos medicamentos manipulados encontram-se descritas no FGP. Quando não existem dados sobre a estabilidade de um determinado medicamento, o prazo de validade é dependente do tipo de preparação:

- Preparações líquidas não aquosas e preparações sólidas – se a substância ativa é um produto industrializado, o prazo de utilização é igual a 25% do tempo que falta para expirar o prazo de validade desse produto, nunca excedendo os 6 meses; quando se trata de uma matéria-prima individualizada, o prazo de utilização também não pode ser superior a 6 meses;
- Preparações líquidas que contêm água – o prazo de utilização é no máximo de 14 dias, quando conservadas no frigorífico;
- Restantes preparações – o prazo de utilização é igual à duração do tratamento, nunca excedendo os 30 dias [3].

11.4 Especificações da água purificada para a preparação de manipulados

A água purificada destina-se à preparação de diferentes formas farmacêuticas, exceto nos casos que é obrigatório esterilidade e ausência de pirogênios, salvo se justificado e autorizado [45]. Qualquer embalagem de água purificada deve ter a indicação da data de abertura da mesma.

No decorrer do meu estágio, tive a oportunidade de reconstituir suspensões orais de antibióticos com água purificada.

11.5 Bibliografia adequada e necessária para a preparação de manipulados

Para a adequada preparação de medicamentos manipulados, o farmacêutico deve fundamentar-se na prescrição médica, formulários galénicos, farmacopeias e respetivas monografias ou outra fonte bibliográfica apropriada. Assim sendo, a FC deve possuir procedimentos documentados de manipulação [3].

12. Contabilidade e gestão

Durante o meu período de estágio na Farmácia Modelar, pude observar de perto a grande capacidade de gestão do Dr. João Paiva, sendo, por vezes, auxiliado pelo Sr. José Paiva, Sócio-Gerente, na tomada de algumas decisões. Ao nível da contabilidade, o Sr. Álvaro Mingote, contabilista certificado, é responsável por verificar e recolher toda a documentação para o seu posterior processamento.

Como já foi referido no ponto 7.1.3, todo o receituário é organizado mensalmente por lotes, sendo que a cada um é atribuído um verbete de identificação de lote. Para além disso, é emitida uma relação-resumo de lotes em duplicado para o SNS e em quadruplicado para os outros subsistemas, bem como uma fatura eletrónica mensal em quadruplicado com o valor de participação de cada uma das entidades. O original e o duplicado desta fatura são anexados ao receituário, o triplicado é dirigido à Associação Nacional das Farmácias (ANF) e o quadruplicado é arquivado na farmácia. Todos estes documentos são enviados até ao dia 5 do mês seguinte para o CCF, no caso do receituário respeitante ao SNS. Relativamente ao receituário dos outros subsistemas de participação, este é enviado até ao dia 8 de cada mês para a ANF.

Por outro lado, as receitas sem papel não são submetidas a todo este processo, uma vez que o Sifarma® envia automaticamente a informação das mesmas para o CCF.

Quando existem desconformidades nas receitas médicas ou linhas de prescrição, erros ou diferenças nos documentos enviados pela farmácia, o CCF procede à sua devolução para que, no prazo máximo de 60 dias, a farmácia tenha a possibilidade de corrigir os erros e enviar a fatura mensal retificada.

12.1 Caracterização, nos seus aspetos funcionais e legais, de documentos contabilísticos

- Guia de remessa ou guia de transporte – documento que acompanha uma encomenda desde o seu fornecedor até à farmácia, o qual não representa qualquer valor contabilístico.
- Fatura – documento que caracteriza a encomenda quanto à quantidade, preços e taxas de IVA, sendo conferido após a receção da encomenda.
- Recibo – documento que comprova o pagamento ou a liquidação de faturas.
- Nota de devolução – documento que acompanha e justifica a devolução de qualquer produto, sendo enviado pela farmácia ao fornecedor.

- Nota de crédito – documento emitido pelo fornecedor, quando uma nota de devolução é aceite, reembolsando deste modo a farmácia.
- Inventário – listagem de todos os produtos existentes em *stock*.
- Balancete – avalia a contabilidade da empresa em dado período, através da lista de todos os débitos e créditos realizados.

12.2 Definição de conceitos

- IVA – Imposto sobre o Valor Acrescentado, o qual é pago mensalmente ou trimestralmente. Este valor é calculado com base nas compras e vendas mensais efetuadas pela farmácia.
- IRS – Imposto sobre o Rendimento das pessoas Singulares, que incide sobre os rendimentos anuais dos colaboradores da farmácia.
- IRC – Imposto sobre o Rendimento das pessoas Coletivas, que incide sobre o rendimento anual gerado pela farmácia.

13. Outras atividades desenvolvidas

Adicionalmente às formações mencionadas anteriormente, assisti com alguma frequência a formações *online* sobre as mais recentes funcionalidades do *software* Sifarma®, as quais transmiti posteriormente à equipa da Farmácia Modelar e apliquei também aquando do atendimento ao público.

Para complementar a minha aprendizagem, participei em vários *webinar's*, dos quais enfatizo um intitulado “SOS pele em risco: Feridas, queimaduras e pele do idoso”, dado que abordou temas pertinentes em FC.

Com vista a publicitar o novo serviço disponibilizado na Farmácia Modelar, uma apresentação sobre a “Dieta *EasySlim*” foi também proporcionada a toda a equipa.

14. Impacto da pandemia COVID-19 na sociedade [46,47]

O termo COVID-19 é o nome atribuído à doença provocada pelo vírus SARS-CoV-2 (síndrome respiratória aguda grave-coronavírus 2), que pode causar uma infeção respiratória grave como a pneumonia. Os principais sintomas descritos da COVID-19 são tosse, dificuldades respiratórias e febre, os quais, dependendo da gravidade, podem requerer ou não cuidados hospitalares. Contudo, estes sintomas nem sempre se manifestam, existem casos em que pessoas infetadas pelo vírus se encontram assintomáticas ou manifestam outro tipo de sintomas. O SARS-CoV-2 transmite-se

diretamente através de gotículas respiratórias de pessoas infetadas ou indiretamente através do contacto com objetos ou superfícies contaminadas.

Desde 2019 até ao momento atual, a pandemia COVID-19 levou e continua a levar à implementação de uma série de cuidados para evitar a propagação do vírus. Neste sentido, a FC teve de adotar várias medidas para minimizar o risco de contaminação, procurando assim garantir a segurança de utentes e colaboradores. Na Farmácia Modelar, além de todas as medidas que foram sendo mencionadas ao longo do presente relatório, a colocação de acrílicos na zona de atendimento, a desinfecção frequente das bancadas e do terminal multibanco depois de cada atendimento, bem como o contacto reduzido com objetos dos utentes são outras medidas atualmente praticadas neste estabelecimento.

O farmacêutico assume um papel determinante na transmissão de informação clara e fidedigna aos utentes. Dado que a disseminação de informação falsa (desinformação) tem vindo a aumentar drasticamente com a pandemia, o farmacêutico deve ser capaz de informar e esclarecer as dúvidas relativas ao vírus, colocadas pelos utentes. Para além disso, o mesmo deve ainda apelar a uma higienização recorrente das mãos, ao cumprimento do distanciamento social e das regras de etiqueta respiratória (tapar com o antebraço ou com um lenço descartável a boca e o nariz ao espirrar ou tossir), ao uso correto da máscara e à autovigilância de sintomas. Toda esta informação pode ser complementada através da distribuição de folhetos informativos aos utentes.

O cumprimento das várias medidas supracitadas pela comunidade é de extrema importância, para proteção de todos, especialmente das pessoas pertencentes aos grupos de risco, como os idosos e portadores de doenças crónicas, que têm maior probabilidade de desenvolver quadros graves da doença, aquando da infeção pelo vírus. Importa ainda referir que, em contexto pandémico, a relação de proximidade do farmacêutico com os utentes tornou-se ainda mais necessária, assegurando a continuidade das terapêuticas e o seguimento farmacoterapêutico adequado. Neste sentido, a dispensa de medicamentos hospitalares na FC veio não só diminuir as idas aos hospitais como também colmatar falhas na *compliance*.

No final do meu estágio, passaram a estar disponíveis autotestes de antígeno SARS-CoV-2 para dispensa em FC, inclusive na Farmácia Modelar. Sempre que se dispense um destes testes, o farmacêutico deve explicar o seu funcionamento ao utente e alertar para o facto de que, no caso do resultado ser positivo, este deve informar o SNS24.

15. Conclusão

O estágio na Farmácia Modelar foi de facto uma experiência bastante enriquecedora, pois permitiu-me vivenciar a realidade do dia-a-dia em FC e os desafios que esta enfrenta. Durante este período, pude pôr em prática os conhecimentos assimilados ao longo do curso e adquirir novas competências, as quais fundamentais para responder aos desafios futuros da profissão.

Verifiquei que o farmacêutico comunitário é o primeiro e também o último profissional de saúde que contacta com o utente. Neste sentido, há uma grande relação de proximidade entre ambos, devendo o farmacêutico promover ativamente o uso racional do medicamento. Assim, para além de ter que se manter atualizado nas diversas áreas científicas, este profissional de saúde deve ainda ser um bom comunicador.

Ao longo dos três meses que estive na Farmácia Modelar, senti várias dificuldades, inseguranças e dúvidas, que foram sendo superadas gradualmente com a ajuda de toda a equipa da Farmácia Modelar. Interessa salientar que os elementos desta equipa me transmitiram não só conhecimentos teóricos relevantes como também valores e técnicas de comunicação essenciais para abordar corretamente os diferentes utentes.

Finalmente, destaco que o sucesso deste estágio se deve em grande parte à orientação da minha tutora, a Dr.^a Tânia Correia, uma farmacêutica competente, exigente e dedicada, a quem eu deixo o meu agradecimento pela paciência, rigor e disponibilidade em me ensinar e auxiliar.

16. Referências bibliográficas

- [1] Ordem dos Farmacêuticos. Farmácia Comunitária. [acedido a 6 de março de 2021]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/>
- [2] Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto. *Estatuto do Medicamento. Legislação Farmacêutica Compilada*. INFARMED.
- [3] Santos, H; Cunha, I; Coelho, P; *et al.* Boas Práticas Farmacêuticas para a Farmácia Comunitária. Conselho Nacional da Qualidade. 3ª edição. 2009.
- [4] Deliberação nº 1500/2004, de 7 de dezembro. *Aprova a lista de equipamento mínimo de existência obrigatória para as operações de preparação, acondicionamento e controlo de medicamentos manipulados. Legislação Farmacêutica Compilada*. INFARMED.
- [5] Decreto-Lei n.º 307/2007 de 31 de agosto. *Regime jurídico das farmácias de oficina. Legislação Farmacêutica Compilada*. INFARMED.
- [6] Glintt – “O que fazemos”. [acedido a 13 de março de 2021]. Disponível em: <https://www.glintt.com/pt/o-que-fazemos/ofertas/SoftwareSolutions/Paginas/Sifarma.aspx>
- [7] Guidelines for ATC classification and DDD assignment. 14ª edição. WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology. 2011.
- [8] Despacho n.º 4742/2014, de 21 de março. *Aprova a classificação farmacoterapêutica de medicamentos. Legislação Farmacêutica Compilada*. INFARMED.
- [9] Manuila L, et al. Estupefaciente. Dicionário Médico. Climepsi Editores; 2004:252
- [10] Manuila L, et al. Psicotrópico. Dicionário Médico. Climepsi Editores; 2004:498
- [11] INFARMED I.P. Projeto Via Verde do Medicamento. Circular Informativa N.º019/CD/100.20.200 de fevereiro de 2015.
- [12] Decreto-Lei n.º 97/2015, de 1 de junho. *Procede à criação do Sistema Nacional de Avaliação de Tecnologias de Saúde. Legislação Farmacêutica Compilada*. INFARMED.
- [13] Portaria n.º 195-C/2015, de 30 de junho. *Estabelece as regras e procedimentos de formação, alteração e revisão dos preços dos medicamentos sujeitos a receita médica e medicamentos não sujeitos a receita médica comparticipados, bem como as respetivas margens de comercialização. Legislação Farmacêutica Compilada*. INFARMED.
- [14] Comissão de ética para a Investigação Clínica (CEIC). Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos. 1998.

- [15] INFARMED. Farmacovigilância. [acedido a 24 de abril de 2021]. Disponível em: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/farmacovigilancia>
- [16] INFARMED. Portal RAM. [acedido a 24 de abril de 2021]. Disponível em: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/submissaoram>
- [17] VALORMED. [acedido a 30 de abril de 2021]. Disponível em: <http://www.valormed.pt/intro/home>
- [18] INFARMED. Normas relativas à dispensa de medicamentos e produtos de saúde. [acedido a 17 de abril de 2021]. Disponível em: https://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/Normas_Dispena/4c1aea02-a266-4176-b3ee-a2983bdf790?version=1.3
- [19] Portaria n.º 224/2015, de 27 de julho. *Estabelece o regime jurídico a que obedecem as regras de prescrição e dispensa de medicamentos e produtos de saúde e define as obrigações de informação a prestar aos utentes. Legislação Farmacêutica Compilada.* INFARMED.
- [20] SNS. Comparticipação de medicamentos. [acedido a 18 de abril de 2021]. Disponível em: <https://www.sns.gov.pt/sns-saude-mais/medicamentos-2/>
- [21] Despacho n.º 4270-C/2020, de 7 de abril. *Determina as medidas de carácter excepcional e temporário de fornecimento de medicamentos dispensados por farmácia hospitalar em regime de ambulatório, a pedido do utente, através da dispensa em farmácia comunitária ou da entrega dos medicamentos no domicílio.* INFARMED.
- [22] Circular Normativa N.º 005/CD/550.20.001, de 7 de abril. *Orientações sobre acesso de proximidade a medicamentos dispensados em regime ambulatório de farmácia hospitalar no atual contexto de pandemia por COVID-19.* INFARMED.
- [23] Despacho n.º 17690/2007, de 23 de julho. *Legislação Farmacêutica Compilada.* INFARMED.
- [24] INFARMED. Questões Frequentes sobre Medicamentos de dispensa exclusiva em farmácia. [acedido a 8 de maio de 2021]. Disponível em: https://www.infarmed.pt/documents/15786/2013278/Quest%C3%B5es+frequentes+MNSRM_EF.pdf/a3bc886b-3e13-40e6-97ee-8c7ac6689d28
- [25] Parlamento Europeu e Conselho. Regulamento (CE) N.º 1223/2009, de 30 de novembro de 2009 relativo aos produtos cosméticos (versão consolidada).
- [26] Decreto-Lei n.º 74/2010, de 21 de junho. Diário da República, 1ª Série. N.º 118 de 21 de junho de 2010. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas.

- [27] Despacho n.º 4326/2008, de 19 de fevereiro. Diário da República, 2ª Série. N.º 35 de 19 de fevereiro de 2008. Ministério da Saúde.
- [28] Decreto-Lei n.º 62/2017, de 9 de junho. Diário da República, 1ª Série. N.º 112 de 9 de junho de 2017. Agricultura, Florestas e Desenvolvimento Rural.
- [29] Comité Português para a UNICEF. Manual de Aleitamento Materno. [acedido a 3 de abril de 2021]. Disponível em: <https://unicef.pt/media/1581/6-manual-do-aleitamento-materno.pdf>
- [30] João Cristóvão Martins. Medicamentos à base de plantas: Contributo para o aproveitamento dos recursos naturais nacionais. [acedido a 4 de abril de 2021]. Disponível em: <http://revista.farmacoterapia.pt/index.php/rpf/article/view/58/46>
- [31] Decreto-Lei n.º 136/2003, de 28 de junho. Diário da República, 1ª-A Série. N.º 147 de 28 de junho de 2003. Ministério da Agricultura, Desenvolvimento Rural e Pescas.
- [32] Decreto-Lei n.º 314/2009, de 28 de outubro. Diário da República, 1ª Série. N.º 209 de 28 de outubro de 2009. Ministério da Agricultura, Desenvolvimento Rural e Pescas.
- [33] Decreto-Lei n.º 237/2009, de 15 de setembro. Diário da República, 1ª Série. N.º 179 de 15 de setembro de 2009. Ministério da Agricultura, Desenvolvimento Rural e Pescas.
- [34] Decreto-Lei n.º 145/2009, de 17 de junho. Diário da República, 1ª Série. N.º 115 de 17 de junho de 2009. Ministério da Saúde.
- [35] INFARMED. Classificação de dispositivos médicos. [acedido a 10 de abril de 2021]. Disponível em: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/dispositivos-medicos/classificacao-e-fronteiras>
- [36] Portaria n.º 97/2018, de 9 de abril. Diário da República, 1ª Série. N.º 69 de 9 de abril de 2018. Ministério da Saúde.
- [37] Norma n.º 017/2013, de 5 de dezembro. Avaliação Antropométrica no Adulto. Direção-Geral da Saúde.
- [38] Norma n.º 020/2011, de 28 de setembro atualizada a 19 de março de 2013. Hipertensão Arterial: definição e classificação. Direção-Geral da Saúde.
- [39] Norma n.º 019/2011, de 28 de setembro atualizada a 11 de maio de 2017. Abordagem Terapêutica das Dislipidemias no Adulto. Direção-Geral da Saúde.
- [40] Administração Central do Sistema de Saúde, IP. Valores laboratoriais de referência. [acedido a 19 de abril de 2021]. Disponível em: <http://www.acss.min-saude.pt/wp-content/uploads/2018/09/tabela.pdf>

- [41] Portaria n.º 594/2004, de 2 de junho. *Aprova as boas práticas a observar na preparação de medicamentos manipulados em farmácia de oficina e hospitalar. Legislação Farmacêutica Compilada.* INFARMED.
- [42] Deliberação n.º 1500/2004, de 7 de dezembro. *Aprova a lista de equipamento mínimo de existência obrigatória para as operações de preparação, acondicionamento e controlo de medicamentos manipulados, que consta do anexo à presente deliberação e dela faz parte integrante. Legislação Farmacêutica Compilada.* INFARMED.
- [43] Decreto-Lei n.º 95/2004, de 22 de abril. *Regula a prescrição e a preparação de medicamentos manipulados. Legislação Farmacêutica Compilada.* INFARMED.
- [44] Portaria n.º 769/2004, de 1 de julho. *Estabelece que o cálculo do preço de venda ao público dos medicamentos manipulados por parte das farmácias é efetuado com base no valor dos honorários da preparação, no valor das matérias-primas e no valor dos materiais de embalagem. Legislação Farmacêutica Compilada.* INFARMED.
- [45] Farmacopeia Portuguesa. 9ª edição. 1º Volume. 2008.
- [46] Norma n.º 003/2020, de 16 de março. *Infeção por SARS-CoV-2 (COVID-19) - Farmácias Comunitárias.* Direção-Geral da Saúde.
- [47] Direção-Geral da Saúde [acedido a 20 de maio de 2021]. Disponível em: <https://covid19.min-saude.pt/category/perguntas-frequentes/?t=como-se-transmite-2#como-se-transmite-2>

Capítulo III: Estágio em Farmácia Hospitalar

1. Introdução

Os Serviços Farmacêuticos (SF) são um serviço essencial em qualquer hospital, dado que asseguram a terapêutica medicamentosa aos doentes, bem como a qualidade, eficácia e segurança dos medicamentos. A equipa destes serviços é constituída por vários elementos, nomeadamente Farmacêuticos Hospitalares, Técnicos Superiores de Diagnóstico e Terapêutica (TSDTs) e Assistentes Operacionais (AOs) [1].

O farmacêutico hospitalar desempenha diversas funções em áreas distintas (preparação e distribuição de medicamentos, farmacovigilância, farmacocinética, farmácia clínica, ensaios clínicos, monitorização de fármacos, aconselhamento e criação de informação clínica, científica e financeira), encontrando-se simultaneamente integrado numa equipa multidisciplinar que procura fazer uma melhor gestão de recursos, no que se refere aos medicamentos [1,2].

O presente relatório descreve as atividades desenvolvidas e as competências adquiridas ao longo do meu estágio curricular, nos diferentes setores (figura 13) da Farmácia Hospitalar (FH). O estágio decorreu de 24 de maio a 9 de julho de 2021, no Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira (CHUCB), sob orientação da diretora de serviço, Dr.^a Maria Olímpia Cardoso Ferreira da Fonseca.

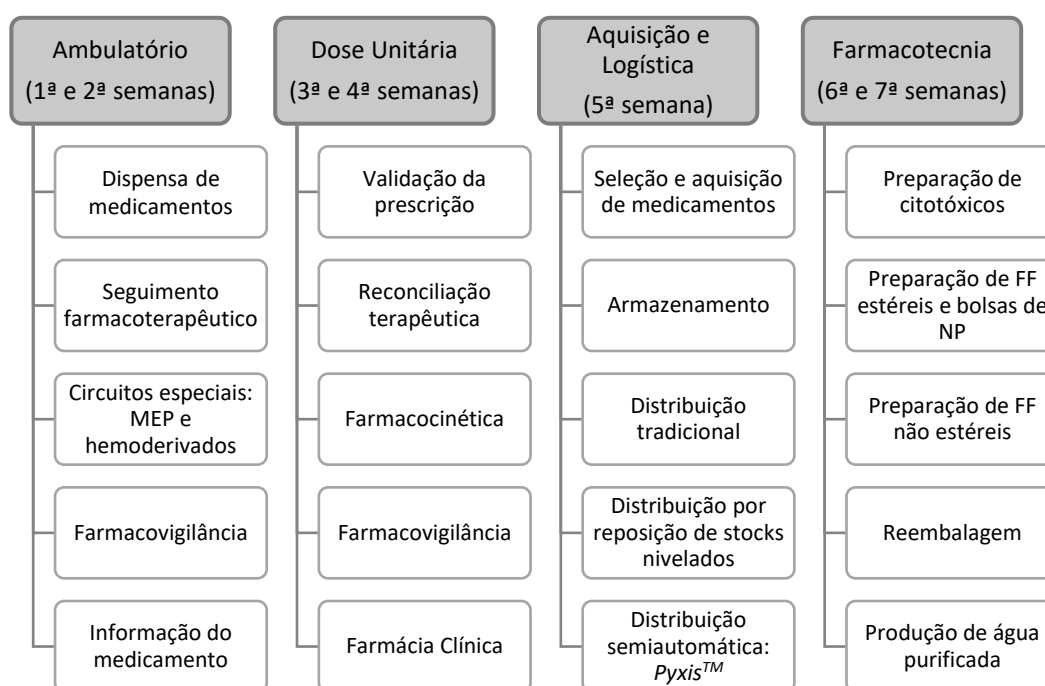


Figura 13 - Resumo das principais atividades afetas a cada setor dos SF do CHUCB. MEP - Medicamentos Estupefacientes e Psicotrópicos; FF - Fórmulas Farmacêuticas; NP – Nutrição Parentérica.

2. Caracterização da Farmácia Hospitalar do Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira

A Farmácia do CHUCB está localizada no piso 0 do Hospital Pêro da Covilhã, possuindo também uma unidade avançada de Ambulatório Hospitalar no piso 0 do Hospital do Fundão.

Os SF funcionam em regime de presença física diariamente entre as 09 e as 22 horas, sendo que após esse horário, um farmacêutico em regime de prevenção assegura cobertura a necessidades urgentes entre as 22 e as 09 horas do dia seguinte. Relativamente à Unidade de Ambulatório presente no Hospital do Fundão, o seu horário de funcionamento é entre as 10 e as 13 horas e entre as 14 e as 16 horas, às segundas e quintas-feiras.

3. Recursos Humanos

Os recursos humanos que fazem parte dos SF do CHUCB são os seguintes: 10 Farmacêuticos, 8 TSDTs, 7 AOs e 1 Assistente Técnico. Estes 26 colaboradores encontram-se distribuídos pelos diferentes setores e cada um possui uma ficha de colaborador com as respetivas funções e responsabilidades.

Anualmente, um plano de formação é elaborado consoante os objetivos do serviço. Na FH está afixado o organograma funcional da mesma.

4. Organização e Gestão dos Serviços Farmacêuticos [1,3]

A gestão de medicamentos e outros produtos de saúde consiste num conjunto de atividades realizadas pelos SFH, a fim de assegurar o uso correto e a dispensa adequada dos medicamentos e outros produtos de saúde a todos os doentes. Esta gestão compreende várias fases, iniciando-se pela seleção seguida pela aquisição, armazenamento, distribuição e terminando na administração do medicamento ao doente. Todos estes procedimentos são executados com vista a reduzir os custos de aquisição, manutenção de *stocks*, desperdícios, ruturas de *stocks* e a aumentar a eficiência na distribuição. Neste sentido, o principal objetivo da gestão é satisfazer as necessidades do doente através da melhor relação custo-benefício.

Atualmente, o farmacêutico hospitalar desempenha as suas tarefas de gestão no sistema informático do CHUCB: Sistema de Gestão Integrada do Circuito do Medicamento (SGICM). Nesta aplicação é possível consultar informações sobre cada artigo disponível no armazém dos SF (*stock*, grupo farmacoterapêutico, RCM, dosagem, via de

administração, entre outras), transferir produtos farmacêuticos entre os diferentes armazéns e satisfazer pedidos dos vários Serviços Clínicos (SCs) através dos diversos circuitos do medicamento.

4.1 Aprovisionamento

No CHUCB, a seleção dos medicamentos é efetuada pela Comissão de Farmácia e Terapêutica (CFT), com base no Formulário Hospitalar Nacional de Medicamentos (FHNM). Esta seleção tem em consideração diversos fatores, nomeadamente as necessidades terapêuticas dos doentes e a sua qualidade de vida, bem como critérios fármaco-económicos [1].

O farmacêutico hospitalar afeto ao setor de aquisição e logística, como membro da CFT, assume um papel importante na decisão de introdução ou exclusão de medicamentos no Guia Farmacoterapêutico do CHUCB, visando garantir aos doentes os medicamentos, produtos farmacêuticos e dispositivos médicos de melhor qualidade, com os custos mais baixos [1]. Este guia contém os medicamentos e outros produtos de saúde disponíveis para prescrição e utilização dentro do CHUCB, sendo atualizado anualmente na Intranet. O pedido de inclusão ou exclusão de medicamentos no Guia Farmacoterapêutico é feito pelo médico, em impresso próprio. Após a avaliação do pedido pela CFT, esta emite uma deliberação, onde é indicada a aprovação ou recusa do pedido. Quando há uma aprovação pela CFT, a deliberação é divulgada com a descrição dos critérios de uso (com restrições ou uso geral) e o respetivo medicamento fica disponível para prescrição na aplicação informática. Excecionalmente, medicamentos não incluídos no Guia Farmacoterapêutico do CHUCB podem ser utilizados mediante autorização prévia da CFT. Assim, cabe ao farmacêutico garantir que são adquiridos apenas medicamentos autorizados previamente pela CFT.

No SGICM, todos os medicamentos e outros produtos de saúde existentes nos SF possuem um ponto de encomenda definido, cuja determinação e atualização é da responsabilidade do farmacêutico afeto ao setor de aquisição e logística. Sempre que o *stock* de um dado artigo atinge ou se encontra abaixo do seu ponto de encomenda, o sistema informático gera um alerta e, conseqüentemente, o farmacêutico elabora o pedido de compra, tendo em conta a previsão de consumo, baseada no *stock* atual e no consumo do respetivo produto nos últimos meses. O consumo dos medicamentos condiciona muito a quantidade a adquirir, sendo que existem medicamentos de uso comum e consumo regular, medicamentos de uso comum e consumo irregular, medicamentos para patologias raras e medicamentos de introdução recente [3]. Para evitar eventuais ruturas de *stock*, qualquer profissional dos SF que detete um nível crítico

de *stock* de um determinado medicamento deve registar num documento partilhado esse alerta, para que o farmacêutico responsável pelas aquisições tenha isso em consideração no pedido de compra.

O Serviço de Aprovisionamento e Logística (SAL) do CHUCB recebe por via eletrónica todos os pedidos de compra efetuados pelos SF. As encomendas são entregues num prazo de 7 dias úteis (pedidos normais) ou num período máximo de 48 horas (pedidos urgentes), dependendo do tipo de pedido realizado. Durante a minha permanência no setor de aquisição e logística pude assistir à submissão de alguns pedidos de compra.

4.2 Sistemas e Critérios de Aquisição

A aquisição dos medicamentos, dispositivos médicos e outros produtos de saúde selecionados é da responsabilidade do farmacêutico hospitalar afeto ao setor de aquisição e logística em articulação com o SAL do hospital [1].

De entre os procedimentos de aquisição praticados no CHUCB, o mais usual e vantajoso é a aquisição através de contratos públicos de aprovisionamento dos Serviços Partilhados do Ministério da Saúde (SPMS), disponíveis para consulta online no Catálogo de Aprovisionamento Público da Saúde (CAPS). Estes concursos centralizados dos SPMS possibilitam uma melhor gestão dos recursos, fornecendo os produtos e os serviços necessários às diversas instituições do SNS. Contudo, nem todos os medicamentos a adquirir constam no CAPS, sendo alguns obtidos por concursos limitados. Anualmente, o CHUCB organiza este tipo de concursos com base nas previsões de consumo elaboradas e em critérios de seleção (Autorização de Introdução no Mercado (AIM), licença de fabrico, embalagem adequada ao uso, condições de armazenamento, qualidade do fornecedor e preço) [3].

Antes da aquisição de um medicamento sem AIM em Portugal ou não comercializado com AIM, é necessário a apresentação de um pedido de Autorização de Utilização Excepcional (AUE) ao INFARMED, sob justificação clínica do diretor do serviço requisitante e parecer da CFT. Assim que o INFARMED aprova este pedido, os SF enviam esta aprovação à firma representante do medicamento, para o seu fornecimento [4,5].

Ainda é possível adquirir medicamentos e outros produtos de saúde por negociação direta a fornecedores ou, no caso de pedidos urgentes, a fornecedores ou farmácias locais. No CHUCB, as requisições urgentes são satisfeitas pela Plural até às 12h, sendo que após esse horário recorre-se às farmácias comunitárias locais.

Aquando da aquisição de estupefacientes, psicotrópicos e benzodiazepinas, o farmacêutico hospitalar encarregue pelos pedidos de compra deve proceder ao

preenchimento do anexo VII da Portaria n.º 981/98, de 8 de junho, sendo este depois enviado juntamente com a nota de encomenda para o fornecedor [6].

No que diz respeito aos gases medicinais, o farmacêutico hospitalar efetua o pedido de compra ao SAL, às quartas-feiras, após requisição pelo Serviço de Instalações e Equipamento (SIE) e seleção do fornecedor. A aquisição destes produtos de saúde através do catálogo SPMS é o método preferencial [7].

Na eventualidade de rutura de *stock* de um determinado medicamento por atraso da sua entrega ou por consumo anormal do mesmo, o farmacêutico hospitalar responsável pela aquisição pode realizar um pedido de empréstimo a outra unidade hospitalar, de modo a satisfazer as necessidades do centro. Um indicador de qualidade do setor de aquisição e logística é precisamente a monitorização do número de ruturas de *stocks* de medicamentos, que deve ser reduzido.

4.3 Receção e Conferência dos Produtos Adquiridos

Nos SF do CHUCB existe uma zona, nas proximidades do armazém central (armazém 10), destinada à receção dos produtos adquiridos, com acesso direto ao exterior. Este espaço físico é constituído por um balcão metálico, um frigorífico para armazenar de imediato os medicamentos termolábeis que aguardam conferência e uma estante sinalizada com fita vermelha e branca para colocar os medicamentos citotóxicos, onde existe também um *kit* de derrame e uma caixa de transporte adequada a este tipo de medicamentos.

Sempre que é entregue uma nova encomenda, um técnico do SAL confronta inicialmente a guia de remessa com a nota de encomenda, a fim de verificar se não falta nenhum produto ou se não há erros. Posteriormente, uma guia de receção é elaborada pelo técnico, com a descrição qualitativa e quantitativa, os lotes e prazos de validade dos produtos adquiridos. De seguida, um TSDT do armazém central dos SF juntamente com um técnico do SAL rececionam a encomenda e conferem todos os produtos (DCI, quantidade, lote e prazo de validade). Neste processo é também importante inspecionar o acondicionamento dos medicamentos e outros produtos de saúde, bem como as condições de conservação a que foram sujeitos durante o transporte. Caso existam embalagens danificadas ou esteja comprovado incumprimento das condições de conservação, essas embalagens devem ser recusadas pelos SF. A monitorização de não conformidades detetadas na receção de medicamentos e outros produtos de saúde constitui um indicador de qualidade deste setor [1,3,8].

Quando um produto rececionado apresenta uma validade igual ou inferior a seis meses, o TSDT coloca nas respetivas embalagens um autocolante com a designação “Validade Reduzida”. O laboratório fornecedor é contactado para assegurar que o mesmo se responsabiliza pela troca de artigos ou por realizar um crédito aos SF, caso o produto não seja consumido na totalidade antes do prazo de validade caducar.

No que concerne a medicamentos hemoderivados, estes devem vir acompanhados pelo respetivo boletim de análise e certificado de aprovação do lote emitido pelo INFARMED. Além do boletim de análise, as matérias-primas também devem ser enviadas com a correspondente ficha de segurança. Relativamente aos estupefacientes, psicotrópicos e benzodiazepinas é necessário a apresentação do duplicado do anexo VII, assinado pelo fornecedor, aquando da sua receção. Toda esta documentação deve ser verificada e ficar posteriormente arquivada nos SF [1,8].

Finalmente, o TSDT assina a guia de remessa em duplicado, confirmando a receção e conferência da encomenda. O original da guia de remessa é entregue ao técnico do SAL e o duplicado é arquivado nos SF [8]. Ao longo do período de estágio tive a possibilidade de observar a receção e conferência de algumas encomendas pelo TSDT em conjunto com o técnico do SAL.

Atualmente, alguns medicamentos já possuem um QR (*Quick Response*) code e um número de série único associados, procurando impedir a falsificação de produtos. A leitura ótica do QR code facilita o processo de receção, dado que o sistema informático regista automaticamente o prazo de validade, lote e número de série correspondentes ao produto lido, minimizando conseqüentemente os erros durante esta fase.

4.4 Armazenamento

4.4.1 Condições gerais de armazenamento

Os medicamentos e outros produtos de saúde recebidos são armazenados em espaços próprios, tendo em conta as suas necessidades de conservação (espaço, luz, temperatura, humidade e segurança). Idealmente, a temperatura do armazém de medicamentos deve ser inferior a 25 °C e a humidade não deve ultrapassar os 60 % [1].

Nos SF do CHUCB, a grande maioria dos produtos farmacêuticos estão guardados no armazém central, sendo a partir deste que se procede à distribuição da medicação pelos restantes armazéns, exceto os citotóxicos que são armazenados logo no armazém 13 (armazém do setor de farmacotecnia), após a sua receção. Assim, os armazéns existentes, além do armazém 10, são o armazém 11 (armazém do hospital do Fundão), armazém 12

(armazém do setor de dose unitária), armazém 13, armazéns 14, 15, 16 e 17 (sistemas *Pyxis*TM), armazém 18 (armazém de quarentena), armazém 20 (armazém do setor de ambulatório), armazém 120 (armazém de injetáveis de grande volume e desinfetantes) e armazém 181 (armazém de abate). Em qualquer armazém dos SF, os produtos farmacêuticos estão organizados segundo o princípio FEFO e por ordem alfabética de DCI. No armazém 10, alguns medicamentos e outros produtos de saúde estão dispostos pelas seguintes categorias: colírios, anestésicos, material de penso, antibióticos, tuberculostáticos, antineoplásicos orais, contraceptivos, leites para pediatria, produtos para estomatologia, hemoderivados e medicação para ambulatório. Além das prateleiras designadas para os artigos gerais, no armazém central existem ainda prateleiras para reservas (excessos) e para alimentação entérica e parentérica. Os injetáveis de grande volume e desinfetantes estão arrumados em local próprio (armazém 120), devido às suas dimensões [9].

Os AOs são responsáveis pelo armazenamento dos produtos recepcionados, sob orientação dos TSDTs. Antes do armazenamento, alguns medicamentos têm de ser rotulados, uma vez que não estão devidamente identificados ao nível da unidade. Neste sentido, um TSDT cria e imprime rótulos com informações pertinentes sobre os medicamentos a rotular (DCI, dose, forma farmacêutica, lote e prazo de validade), sendo estes depois validados por outro TSDT. De seguida, os AOs efetuam a rotulagem. Contudo, medicamentos destinados a serem dispensados em grande quantidade (embalagem completa) para o setor de ambulatório ou introduzidos na embaladora FDS (*Fast Dispensing System*) não há necessidade de rotulá-los à unidade [9]. No decorrer do estágio tive oportunidade de auxiliar no armazenamento dos diferentes produtos farmacêuticos.

Nos vários locais de armazenamento existem sinaléticas que contribuem para a gestão do risco do medicamento, tais como:

- Símbolo “STOP” para sinalizar medicamentos com embalagens idênticas;
- “Sinal de Perigo” (triângulo amarelo com um ponto de exclamação preto ao centro) para identificar medicamentos potencialmente perigosos;
- Esquema de cores (semáforo) para indicar a existência de dosagens diferentes do mesmo fármaco;
- Alterações de grafismo (letras maiúsculas e sublinhado) na denominação dos medicamentos *LASA* (*look-alike, sound-alike*), cuja escrita ou fonética são idênticas [10].

4.4.2 Condições especiais de armazenamento

Os medicamentos termolábeis depois de conferidos são armazenados em câmaras frigoríficas, cujas temperaturas devem estar compreendidas entre os 2 e os 8 °C. Estas possuem um alarme automático que é acionado quando a temperatura não se encontra dentro dos limites referidos [1]. No interior da câmara frigorífica existe uma prateleira própria para colocar os medicamentos já solicitados e preparados, ficando segregados dos restantes medicamentos.

Relativamente aos medicamentos fotossensíveis, os mesmos não são retirados do seu acondicionamento para não comprometer a sua estabilidade, a menos que seja necessário (dose unitária). Neste último caso são protegidos da luz através de revestimento individual (folhas de alumínio) com rótulos de cor ou revestimento do local de armazenamento [10].

Como os estupefacientes, psicotrópicos e benzodiazepinas estão sujeitos a um controlo rigoroso, estes são guardados em cofres com fechadura dupla, segregando-os deste modo da restante medicação [1,3].

No que diz respeito aos medicamentos inflamáveis, o seu armazenamento tem de ser numa área isolada. Este espaço é constituído por uma porta corta-fogo de fecho automático, a abrir para fora, paredes interiores reforçadas e resistentes ao fogo, chão impermeável, inclinado, rebaixado e drenado para bacia coletora, não ligado ao esgoto, instalação elétrica do tipo antideflagrante e detetor de fumos. No lado de fora desta sala existe um chuveiro de emergência e um extintor [1,3,11].

Os medicamentos citotóxicos também se encontram separados da restante medicação, estando armazenados em prateleiras sinalizadas com fita vermelha e branca, tal como se verifica na área de receção. Apesar das estantes serem contruídas de modo a minimizar o risco de queda dos medicamentos, perto destas há ainda um *kit* de derrame de produtos citotóxicos [12].

No que concerne às matérias-primas, as mesmas estão organizadas no sector de farmacotecnia por grau de perigo/tamanho/validade, tendo em consideração as suas incompatibilidades. As matérias-primas em estado líquido estão arrumadas nas prateleiras inferiores. Junto de cada matéria-prima consta o respetivo boletim de análise e a sua ficha de matéria-prima (denominação farmacopeica, localização, identificação do fornecedor, data de receção, lote, quantidade recebida, validade, nº do boletim de análise e sinalética de perigosidade), bem como a ficha de dados de segurança, quando na presença de matérias perigosas [13].

Os gases medicinais não são guardados nos SF, uma vez que as suas instalações não possuem as condições de conservação adequadas para o armazenamento destes produtos de saúde. Após a receção dos gases medicinais pelo SAL, o farmacêutico é responsável pela validação da sua prescrição, arquivando também os respetivos certificados de análise. A imputação dos consumos destes produtos varia conforme o circuito. No circuito de gases medicinais acondicionados em garrafa, a imputação é feita por lote na aplicação informática, enquanto no circuito de gases medicinais acondicionados em cisterna, os consumos são imputados mensalmente aos SCs com base em taxas definidas [7].

4.4.3 Controlo de *Stocks* [14]

Regularmente, no CHUCB são realizadas auditorias internas ao *stock* físico dos medicamentos e outros produtos de saúde. Os dados obtidos por contagens físicas dos produtos são confrontados com os dados fornecidos pelo sistema informático. No caso de divergências de *stock*, o primeiro passo é investigar o motivo que levou ao seu aparecimento e, posteriormente, corrigir essas diferenças de *stock*. Um indicador de qualidade subjacente a esta prática consiste na monitorização do número de regularizações efetuadas no armazém 10.

Tendo por base a classificação ABC, as auditorias no armazém central são realizadas semanalmente de forma contínua, à terça e quarta-feira. Os soros, inflamáveis, desinfetantes, material de penso, colírios, anestésicos e pomadas são contabilizados à sexta-feira. De acordo com a disponibilidade do pessoal, as contagens de medicamentos termolábeis e dietas são verificadas uma vez por semana. Durante o meu período de estágio, os medicamentos da classe C (baixo valor económico) estavam a ser contabilizados. Numa sexta-feira tive oportunidade de colaborar na contagem dos anestésicos existentes no armazém 10.

4.4.4 Controlo de Validades [14]

Mensalmente, uma listagem de todos os produtos com prazo de validade a expirar dentro de 4 meses é impressa através da aplicação SGICM, averiguando a sua existência ou não nos armazéns dos SF do CHUCB. Caso ainda permaneçam nos SF, primeiramente, os produtos têm de ser devidamente sinalizados com um autocolante de “Validade Reduzida” e o farmacêutico responsável pelo setor deve estudar a possibilidade de escoar os produtos antes de caducarem. Quando isso não é exequível, os laboratórios ou fornecedores devem ser contactados, a fim de avaliar se a devolução é uma hipótese viável. O farmacêutico também pode contactar outros hospitais para uma possível troca.

No final de cada mês, os produtos cuja validade termina nesse mês são transferidos para o armazém quarentena, aguardando instruções sobre o seu destino. Relativamente aos artigos não aceites para troca ou crédito, estes sofrem abate na aplicação informática (transferência para o armazém 181), sendo enviado um relatório ao Conselho de Administração (CA), sob justificação do farmacêutico responsável. Um dos objetivos de qualidade dos SF é precisamente a diminuição da taxa de abate de medicamentos. Além disso, a monitorização do número de artigos, cuja validade expira dentro de 4 meses, constitui um indicador de qualidade do setor de armazenamento.

4.4.5 Recolha de lotes [15]

Sempre que o INFARMED, um produtor ou distribuidor emite um pedido de recolha de lote, o farmacêutico encarregue pelo setor de logística deve verificar de imediato no sistema informático a entrada ou não do lote em causa nos SF. Caso o lote não tenha entrado no hospital, o documento com o pedido de recolha é datado e assinado, sendo depois arquivado. Por outro lado, se o lote estiver disponível nas instalações hospitalares, os responsáveis pelos diferentes armazéns devem ser informados da sua recolha, a fim de localizar o respetivo lote no *stock* de qualquer serviço do CHUCB. As quantidades detetadas devem ser transferidas física e informaticamente para o armazém central dos SF. Finalmente, o SAL deve contactar o laboratório distribuidor para proceder à devolução e acordar a forma de compensação do hospital (emissão de nota de crédito ou substituição por novo lote).

5. Distribuição

No CHUCB, a distribuição de medicamentos, dispositivos médicos e outros produtos de saúde pelos SF é realizada por diversos sistemas de distribuição, tais como: distribuição tradicional; distribuição por reposição de *stocks* nivelados; distribuição semiautomática através do sistema *PyxisTM*; distribuição individual diária em dose unitária; distribuição em ambulatório.

5.1 Distribuição Clássica/Tradicional [9]

O sistema de distribuição clássica/tradicional tem como objetivo distribuir alguns medicamentos e produtos de saúde aos vários SCs, com base num *stock* predefinido entre o Farmacêutico responsável, Enfermeiro Chefe e Diretor do respetivo Serviço. Para determinação deste *stock* (composição qualitativa e quantitativa), o perfil de consumo de cada um dos serviços é avaliado minuciosamente.

A requisição eletrônica de reposição de *stock* deve ser realizada pelo Enfermeiro Chefe de cada SC. Após a receção da requisição, esta é impressa e preparada pelo TSDT afeto ao armazém central ou AO, sob supervisão do primeiro. No final da preparação de cada um dos pedidos, o TSDT é responsável pela conferência e imputação dos consumos aos serviços requisitantes. O transporte dos produtos farmacêuticos solicitados aos respetivos SCs é assegurado pelo AO. Nos serviços, o pessoal de enfermagem deve conferir os produtos recebidos, verificando se não há falhas, e assina o impresso conforme a medicação foi rececionada.

No CHUCB, cada SC dispõe de dias da semana estipulados para efetuar a requisição de reposição de *stock* aos SF, porém se houver necessidade, os SCs podem realizar o pedido noutro dia da semana. As requisições podem ser enviadas até às 14 horas, sendo que após essa hora, a satisfação dos pedidos acontece apenas no dia seguinte ou um AO afeto ao serviço requisitante desloca-se aos SF para receber o pedido.

Ao longo do meu período de estágio pude auxiliar na preparação da medicação solicitada pelos diferentes serviços, bem como observar a conferência e imputação dos consumos pela TSDT.

5.2 Distribuição por reposição por *stocks* nivelados [9]

Na distribuição por reposição por *stocks* nivelados, o *stock* quantitativo e qualitativo de cada medicamento ou produto de saúde é também previamente estabelecido entre os SF, o Enfermeiro Chefe e o Diretor Clínico do Serviço, tendo em consideração as necessidades e o número de doentes do serviço. Este tipo de distribuição permite garantir o acesso imediato a medicação imprescindível, além dos medicamentos assegurados pelo sistema de distribuição em dose unitária. No CHUCB são praticadas a distribuição por carregamento e troca de carros, distribuição por verificação do *stock* de medicamentos nos SCs e distribuição semiautomática através do sistema *Pyxis*TM.

Relativamente à gestão de qualidade, a monitorização das visitas dos TSDTs aos SCs é considerada um objetivo da distribuição por níveis. Além disso, este setor tem como indicadores de qualidade, a monitorização do número de reclamações na distribuição por níveis e do número de intervenções com objetivo de controlar os *stocks* na distribuição assegurada pelos SF.

5.2.1 Distribuição por carregamento e troca de carros [9]

Os serviços do CHUCB que dispõem de distribuição por carregamento e troca de carros são a Unidade de Cuidados Intensivos (UCI), Unidade de Acidentes Vasculares Cerebrais (UAVC), Neonatologia, Unidade de Cirurgia Ambulatório, Urgência Obstétrica e Viatura Médica de Emergência e Reanimação (VMER).

Cada um dos carros possui múltiplas gavetas compartimentadas, sendo que cada compartimento está devidamente identificado com a etiqueta correspondente do medicamento armazenado (DCI, dosagem e forma farmacêutica). A reposição do carro é da responsabilidade do TSDT ou AO, sob supervisão do primeiro, através de um leitor ótico denominado PDA (*Personal Digital Assistant*). Primeiramente são analisadas as quantidades existentes em cada uma das gavetas e, de seguida, são colocadas as unidades necessárias para atingir o *stock* máximo. A imputação dos produtos repostos no carro é feita diretamente ao respetivo serviço pela leitura ótica dos códigos de barras correspondentes com o PDA, ficando logo registado na aplicação informática. Por fim, o AO dirige-se ao SC para entregar o carro reabastecido.

A maioria dos serviços tem apenas um carro que é deixado nos SF, reposto e entregue no mesmo dia, exceto a UAVC e a UCI que possuem dois carros para garantir sempre a existência de medicação nestes SCs. No CHUCB, a reposição do carro de cada serviço é efetuada em determinados dias da semana. No final de cada mês, os prazos de validade dos produtos existentes nos carros são verificados. No decorrer do estágio tive oportunidade de acompanhar o processo de reposição dos carros de vários serviços.

5.2.2 Distribuição por verificação do *stock* de medicamento nos Serviços Clínicos [9]

A reposição dos *stocks* físicos de medicamentos armazenados nos SCs, com composição fixa, é realizada de acordo com a periodicidade estabelecida entre os SF e o respetivo serviço.

O TSDT e/ou AO procedem à contagem de todos os medicamentos com auxílio do PDA, gerando automaticamente um pedido informático com base na diferença do *stock* predefinido e a contagem efetuada. Posteriormente, a preparação e reposição da medicação são da responsabilidade do TSDT ou AO, sob supervisão do anterior.

5.2.3 Distribuição semiautomática através do sistema *Pyxis*TM [16]

No CHUCB, os sistemas *Pyxis*TM, dispositivos de distribuição semiautomática de medicamentos, podem ser encontrados na Unidade de Cuidados Agudos Diferenciados (UCAD), Urgência Geral, Urgência Pediátrica e Bloco Operatório. O *stock* em cada *Pyxis*TM é previamente definido entre o Farmacêutico responsável pela logística, Enfermeiro Chefe e Diretor de Serviço de cada unidade. O *stock* máximo, mínimo e a periodicidade de reposição são estabelecidos tendo em conta o perfil de consumo de cada serviço.

Sempre que o enfermeiro retira algum medicamento do *Pyxis*TM, indicando o nome do doente, é gerado consumo. Quando determinado medicamento atinge o *stock* mínimo predefinido, este passa a figurar na listagem de mínimos. No CHUCB existem dias estipulados para reposição de cada um dos sistemas semiautomáticos, sendo que na listagem emitida para esse efeito estão descritas as seguintes informações: nome do medicamento, a quantidade máxima, mínima e atual da gaveta do *Pyxis*TM e a quantidade a repor. O TSDT responsável pela reposição dirige-se aos diferentes serviços e em cada estação identifica-se através do seu número mecanográfico e da sua impressão digital. Posteriormente, carrega na opção “Recarga” e seleciona os medicamentos a repor. De seguida, o sistema abre automaticamente as gavetas compartimentadas uma a uma, onde estes se encontram, sendo necessário indicar em cada uma a quantidade de medicamento existente em *stock*, o número de unidades a repor e o prazo de validade mais curto entre as unidades.

No final de cada mês é emitida uma listagem de artigos existentes na estação cujo prazo de validade esteja a caducar. Caso existam artigos que possam ser escoados noutra serviço, trocas são então realizadas para evitar desperdícios. Por outro lado, todos os medicamentos fora de validade são recolhidos, devendo ser efetuada transferência informática para o armazém central (armazém 10).

Relativamente aos medicamentos estupefacientes e psicotrópicos, bem como benzodiazepinas, os farmacêuticos encarregues pelo setor de ambulatório são responsáveis pela sua reposição, mediante listagem obtida a partir da consola central, em substituição do “Anexo X”. Ao longo do meu estágio auxiliiei a farmacêutica na reposição deste tipo de medicamentos nos diversos *Pyxis*TM do CHUCB.

5.3 Distribuição Individual Diária em Dose Unitária [10,17]

A Distribuição Individual Diária em Dose Unitária (DIDDU) tem como principal objetivo assegurar o acesso aos medicamentos e produtos de saúde a doentes em regime de internamento, para um período de 24 horas. Este sistema de distribuição visa também aumentar a segurança no circuito do medicamento, conhecer melhor o perfil farmacoterapêutico dos doentes, reduzir o risco de interações, racionalizar melhor a terapêutica, diminuir o tempo e trabalho despendidos pelos enfermeiros na preparação de medicação, permitindo assim que estes dediquem mais tempo aos cuidados dos doentes, e atribuir mais corretamente os custos.

Atualmente, os serviços do CHUCB com DIDDU são a Cirurgia 1, Cirurgia 2, Especialidades Cirúrgicas, Especialidades Médicas, UCI, UAVC, Medicina 1, Medicina 2, Pneumologia, Pediatria Médica, Psiquiatria e abuso de substâncias agudas, UCAD, Gastrenterologia, Ortopedia, Obstetrícia, Ginecologia, Medicina Interna, Medicina Paliativa, Unidade de Infeciologia e a Unidade COVID.

O setor de Dose Unitária é constituído por dois espaços físicos, uma sala de validação e uma sala de preparação de medicamentos em dose unitária. Na sala de validação, tal como o nome indica, os farmacêuticos hospitalares procedem à validação das prescrições médicas, recorrendo frequentemente aos manuais e a outras fontes bibliográficas disponíveis para auxiliar nesta atividade. Na outra sala, a preparação da medicação é realizada por TSDTs, com o auxílio de AOs. Neste espaço existem várias gavetas, onde estão armazenados os diferentes medicamentos individualizados em dose unitária. De modo a facilitar a procura de cada um deles, as gavetas estão organizadas segundo a forma farmacêutica dos medicamentos (sólidas ou líquidas) e por ordem alfabética. Além disso, para evitar trocas, os medicamentos LASA estão devidamente distinguidos. A identificação de dosagens diferentes do mesmo fármaco através de um código de cores (vermelho, amarelo e verde) é também outra medida de gestão de risco aplicada no setor. Os eletrólitos estão devidamente identificados com a sinalética de “diluição obrigatória” e separados dos restantes medicamentos. Relativamente à medicação com maior rotatividade, esta é colocada em espaços específicos, tal como acontece com os antivíricos e os medicamentos multidoso e de grandes dimensões. Ainda nesta sala é possível encontrar o *KARDEX*[®]. Toda a medicação existente na sala de distribuição de dose unitária, no *KARDEX*[®] e na FDS constitui o armazém 12.

Este circuito inicia-se com uma prescrição médica informatizada ou, excecionalmente, em formato de papel apenas nas situações previstas na lei. Esta última tem caído em desuso, uma vez que pode suscitar mais erros aquando da interpretação e transcrição de

receitas, comprometendo consequentemente a dispensa correta dos medicamentos. Assim, é importante haver um registo individualizado e informatizado da medicação do doente, no SGICM, para que o farmacêutico hospitalar possa ter acesso a todos os registos de medicação efetuados por um médico do CHUCB, bem como a informações pertinentes sobre o doente, nomeadamente alergias, patologias crónicas, diagnósticos e análises laboratoriais realizadas.

Antes de se proceder à dispensa, o farmacêutico tem de validar a prescrição, sendo que nesta devem constar os seguintes elementos: identificação do doente, identificação do médico, identificação do serviço e da cama onde o doente está internado, a respetiva prescrição (designação do fármaco por DCI, forma farmacêutica, dose, via de administração, frequência e horário), dieta e data da prescrição. Para agilizar o processo de validação, no CHUCB, os farmacêuticos afetos ao setor de DDDU validam as prescrições dos SCs que lhes foram atribuídos. Nem todos os medicamentos que aparecem nestas prescrições são entregues por este circuito, pois o farmacêutico pode encaminhar o pedido para a distribuição tradicional. O principal objetivo da validação consiste na deteção de possíveis duplicações, interações ou alergias, doses, vias ou frequências incorretas, verificação do cumprimento do Guia Farmacoterapêutico do CHUCB e avaliação da justificação de prescrição de antibióticos de uso restrito. Caso exista alguma dúvida ou não conformidade, o farmacêutico deve contactar o médico prescritor. Todas as intervenções efetuadas pelos farmacêuticos junto dos médicos são registadas numa base de dados interna dos SF. A monitorização do número de registos de intervenções realizadas é considerada um objetivo de qualidade dos SF. Ao longo do período de estágio tive oportunidade de acompanhar a validação de várias prescrições médicas, auxiliando na pesquisa de informações relevantes, nos respetivos RCMs dos fármacos prescritos, e na verificação da posologia de antibióticos, tendo por base a clearance de creatinina, e registar diversas intervenções na aplicação informática, sobretudo reconciliações na admissão de novos doentes e solicitações ao médico para confirmação da duração da antibioterapia.

Após a validação, o farmacêutico deve emitir e imprimir o mapa de distribuição de medicamentos para cada serviço de internamento, sendo que o mesmo é também enviado para os sistemas semiautomáticos *KARDEX*[®] e FDS. No decorrer do estágio pude conferir dois mapas de distribuição, a fim de detetar eventuais erros de medicação. Todos os serviços do CHUCB com DDDU possuem módulos compostos por várias gavetas compartimentadas, nas quais são guardados os medicamentos dos diferentes doentes, tendo em consideração o horário de administração (manhã, tarde, noite, SOS). Primeiramente, o TSDT procede à identificação individual das gavetas de medicação com

os dados dos respetivos doentes (nome, número de processo clínico, serviço, número da cama e data). Quando se verifica a existência de dois ou mais nomes iguais, nomes invulgares ou qualquer outra situação com potencial risco de troca, uma etiqueta com a indicação “Nomes idênticos” deve ser colocada nas gavetas correspondentes. Posteriormente, para a distribuição dos medicamentos pelas diversas gavetas são então utilizados os sistemas semiautomáticos *KARDEX*[®] e FDS. No que diz respeito ao *KARDEX*[®], este faz a dispensa por princípio ativo, ou seja, o sistema informático identifica o medicamento que é necessário colocar nas diferentes gavetas de doentes, sinaliza o local (gaveta) onde este se encontra no equipamento, indica a quantidade a retirar e o doente correspondente. Por outro lado, a FDS prepara a medicação por doente, gerando mangas devidamente identificadas com os dados dos respetivos doentes. Este sistema dispõe apenas de formas farmacêuticas sólidas (cápsulas e comprimidos), não termolábeis, não citotóxicos e não fotossensíveis. O uso destes equipamentos semiautomáticos permite reduzir o tempo despendido na preparação de medicação e minimizar os erros associados à dispensa de medicamentos. Aquando da distribuição de medicamentos termolábeis, estes são identificados com um autocolante que indica a necessidade de refrigeração (“Guardar no frio”), bem como um autocolante identificativo do doente, serviço e número da cama. A gaveta correspondente ao doente é também sinalizada conforme possui medicamentos deste tipo. Os medicamentos em recipientes multidose ou com grandes dimensões são igualmente marcados com uma etiqueta identificativa do doente e são guardados numa caixa, que é enviada juntamente com o módulo para o respetivo SC. Caso se verifique rutura de *stock* de algum medicamento é colocada uma etiqueta no interior da gaveta do doente para notificar o serviço. A medicação preparada é válida para 24 horas, exceto às sextas-feiras, em que os SF enviam três módulos para cada serviço, com a medicação referente à sexta-feira, ao sábado e domingo. Cada módulo de gavetas é identificado com um autocolante consoante seja medicação de sexta para sábado, de sábado para domingo ou de domingo para segunda-feira.

Terminada a preparação da medicação, a conferência qualitativa e quantitativa do conteúdo de cada uma das gavetas dos vários módulos é da responsabilidade do TSĐT. Todos os erros detetados são corrigidos e registados diariamente em tabela própria. Um objetivo de qualidade inerente a este setor é precisamente a diminuição do número de erros de medicação distribuída em dose unitária. Na conferência, os medicamentos injetáveis que não vão ser administrados na totalidade são identificados através de uma etiqueta amarela com a designação “Dose Parcial”, alertando assim o enfermeiro responsável pela administração. Quaisquer movimentos (transferências, imputações ou revertências) associados a medicamentos sinalizados com o símbolo azul de “Lote

obrigatório” (medicamentos antineoplásicos, imunomoduladores, fatores estimulantes da hematopoiese, antirretrovirais, anticorpos monoclonais e outros) requerem registo de lote, garantindo desta forma a sua rastreabilidade.

A entrega dos módulos com a medicação preparada aos diversos SCs é realizada pelo AO dos SF, nos horários definidos para os diferentes serviços de internamento. Os medicamentos termolábeis são retirados do frio imediatamente antes da entrega, sendo transportados com um termoacumulador para garantir a manutenção da cadeia de frio. Sempre que o AO dos SF se dirige aos SCs para entregar a medicação, este recolhe os módulos de gavetas do dia anterior. Os medicamentos termolábeis e termoacumuladores que já não são necessários nos SCs são também recolhidos pelo mesmo, duas vezes por semana. Aquando da chegada de medicação ao serviço, esta deve ser conferida pelo pessoal de enfermagem. A comunicação de qualquer falha detetada aos SF deve ser feita até 2 horas após a entrega da medicação.

Todas as alterações de medicação efetuadas nas prescrições são validadas e preparadas pelo farmacêutico, incluindo altas de doentes ou entradas de novos doentes, sendo que nesta última situação é ainda feita a reconciliação terapêutica do doente. Durante a minha permanência neste setor pude assistir a alterações de medicação, bem como fazer a reconciliação terapêutica de novos doentes. Caso os módulos ainda não tenham sido enviados para os SCs e ainda não se tenha realizado a imputação dos consumos, a alteração é feita na gaveta do doente. Por outro lado, se os módulos já não estiverem nos SF, a medicação alterada é enviada ao serviço pelo AO, num saco identificado com o nome do doente, serviço e cama. Após a entrega dos módulos, um farmacêutico assegura a validação e a preparação da medicação alterada até às 22 horas. Depois deste período e até às 9 horas do dia seguinte, os SCs devem requisitar informaticamente a medicação que precisem até ao envio da próxima dose unitária. No entanto, se for uma situação urgente, o enfermeiro deve procurar a medicação necessária nos outros serviços de internamento ou contactar o farmacêutico que se encontra de prevenção.

Frequentemente, os SF recebem pedidos de medicação urgentes, cuja dispensa pode ser feita por um farmacêutico ou por um TSDT, sendo que devem assegurar a terapêutica até ao próximo envio de medicação. A entrega destes medicamentos é da responsabilidade do AO dos SF apenas nos horários definidos (9h30/ 12h30/ 16h/ 17h30). Nos restantes períodos, o AO do SC que efetuou o pedido urgente deve deslocar-se aos SF para receber e transportar a medicação requisitada. No decorrer do estágio pude satisfazer pedidos urgentes, sob supervisão de um farmacêutico.

Caso existam medicamentos que não sejam administrados aos doentes, os mesmos devem ser devolvidos aos SF nas gavetas correspondentes. Estes medicamentos são contabilizados e revertidos informaticamente no perfil do doente por um TSDT. Porém, se a medicação não vier devidamente identificada, esta deve ser revertida ao respetivo serviço. Após a emissão de uma lista de revertências, um AO é responsável pela conferência das devoluções e pela arrumação dos medicamentos no *stock* da sala de dose unitária.

5.4 Distribuição a doentes em ambulatório

De modo a garantir um maior controlo de determinadas patologias crónicas e assegurar a adesão às respetivas terapêuticas, os SF do CHUCB são responsáveis pela distribuição de medicamentos a doentes em regime de ambulatório [3]. Neste sentido, os farmacêuticos afetos ao setor de ambulatório dispensam gratuitamente medicamentos a doentes provenientes das consultas externas, do hospital de dia, do internamento no momento da alta e, excecionalmente, do serviço de urgência [18]. Este tipo de distribuição proporciona várias vantagens aos doentes, nomeadamente o acesso a tratamentos de elevado valor económico, indisponíveis em farmácia comunitária ou comparticipados na totalidade aquando da sua dispensa pelos SFH. Além disso, a dispensa de medicamentos em regime de ambulatório permite a redução de custos e riscos inerentes ao internamento hospitalar, bem como a continuação do tratamento em ambiente familiar [1,3].

Atualmente, o horário de funcionamento do setor de ambulatório é de segunda a sexta-feira das 9 horas às 17 horas no CHUCB e às segundas e quintas-feiras das 10 horas às 13 horas e das 14 horas às 16 horas no hospital do Fundão. O setor de ambulatório encontra-se separado da restante área dos SF do CHUCB, com acesso ao exterior. Este é constituído por dois postos de atendimento individualizados, o que assegura a confidencialidade do utente, dois frigoríficos, onde são armazenados os medicamentos termolábeis, um armário com dupla fechadura, no qual são mantidos os estupefacientes, psicotrópicos, benzodiazepinas, hemoderivados e o tafamidis (protocolo de entrega em proximidade com o Hospital de Santo António do Porto), e outro armário para guardar medicamentos à temperatura ambiente. Nestes locais, os medicamentos estão dispostos por ordem alfabética de DCI e por ordem crescente de dosagem. Na sala do setor de ambulatório existe ainda um equipamento denominado *Consis*[®], que consiste num dispensador semiautomático de medicamentos. Apesar de minimizar os erros e o tempo despendido pelo farmacêutico na dispensa de medicação, o *Consis*[®] tem algumas desvantagens, como não permitir a recolocação de caixas abertas, impossibilitar a

configuração de embalagens de grandes dimensões e não considerar o princípio FEFO. Durante o meu período de estágio tive a oportunidade de auxiliar no armazenamento de medicamentos nos vários locais do armazém 20, incluindo na reposição do *Consis*[®].

Semanalmente, um farmacêutico/AO realiza às quartas-feiras a contagem de *stocks* de medicamentos do armazém 20, exceto estupefacientes, psicotrópicos e benzodiazepinas, uma vez que estes pertencem a um circuito de distribuição especial, cuja contagem de *stock* é efetuada às sextas-feiras pelo assistente técnico juntamente com um farmacêutico. Neste setor, um dos principais objetivos de qualidade mensal passa pela monitorização do número de regularizações efetuadas, que deve ser inferior a 3%. Ainda às quartas-feiras é feito o pedido de reposição de *stocks* ao armazém 10. Por fim, a verificação de faltas e qualquer pedido de reforço é processado às quintas-feiras. Durante a minha permanência neste setor, colaborei em algumas das rotinas referidas, particularmente na contagem de *stocks* semanal, realização de pedidos de reposição de *stocks* ao armazém 10 e conferência das faltas.

O farmacêutico hospitalar é o único profissional de saúde que pode exercer a dispensa de medicamentos a doentes em regime de ambulatório, sendo que para tal conta com o apoio do programa informático SGICM, que fornece informações sobre o doente, consultas realizadas, episódios de consulta e respetivas datas, médico prescriptor, farmacêutico responsável pela dispensa, medicamentos cedidos e datas de cedência, legislação ou autorização do CA, ao abrigo da qual é efetuada a dispensa, histórico farmacoterapêutico e adesão à terapêutica [18].

De acordo com a legislação em vigor, o farmacêutico afeto ao setor de ambulatório pode ceder medicamentos destinados ao tratamento de patologias legisladas, tais como doenças do foro oncológico, foro psiquiátrico, insuficiência renal crónica, medicina de transplantação (renal e cardíaca), seropositivos (VIH/SIDA), esclerose múltipla, esclerose lateral amiotrófica, hepatite C, fibrose quística, síndrome de Lennox-Gastaut, doença de Machado Joseph, acromegália, hemofilia, paramiloidose, planeamento familiar, hormona do crescimento, artrite reumatoide, síndrome de Allagille e Fallot. O mesmo é também possível para algumas patologias não legisladas, como, por exemplo, hipertensão pulmonar, hepatite B, osteoporose grave, entre outras, sendo que nestes casos é preciso uma autorização prévia por parte do CA [18]. Outras situações também são sujeitas a esta autorização, nomeadamente aquando de uma receita médica restrita; medicamento sem AIM em Portugal, com necessidade de uma AUE; medicamentos de uso exclusivo hospitalar que contêm orientações da Comissão Nacional de Farmácia e Terapêutica (CNFT), Normas de Orientação Clínica (NOC) da Direção Geral de Saúde (DGS) ou orientações europeias para o tratamento de determinadas patologias para as

quais não existe enquadramento legal; uso *off label* de medicamentos de uso exclusivo hospitalar; tratamento adjuvante em quimioterapia que não está incluído na classificação de citotóxico ou imunomodulador (embora disponível em farmácia comunitária); medicamentos de uso exclusivo hospitalar cuja utilização em ambulatório demonstra ser mais vantajosa comparativamente à continuidade do internamento do doente. Quando devidamente justificado, o doente com insuficiência económica pode levantar medicação que seja dispensada numa farmácia comunitária nos SF do CHUCB. Para comprovar a situação de insuficiência económica, o doente tem que apresentar documentação dos Serviços Sociais e, por conseguinte, a mesma deve ser aprovada pelo CA. O CA concede dois tipos de autorizações: autorizações genéricas ou por patologia, nas quais a dispensa é autorizada de forma genérica, por patologia para um fármaco ou grupo de fármacos; autorizações individuais após avaliação de uma situação clínica individual (e após ter sido efetuado um pedido) [19].

No setor de ambulatório do CHUCB verifica-se ainda a cedência de medicamentos biológicos a doentes provenientes de outras instituições públicas ou privadas, ao abrigo da Portaria n.º 48/2016, de 22 de março. Os medicamentos destinados ao tratamento de doentes com artrite reumatoide, espondilite anquilosante, artrite psoriática, artrite idiopática juvenil poliarticular e psoríase em placas beneficiam de um regime excecional de comparticipação, nos termos estabelecidos da mesma Portaria. Assim, estes medicamentos apenas podem ser prescritos em consultas especializadas no diagnóstico e tratamento das doenças supracitadas, certificadas pela DGS, devendo o médico prescriptor mencionar expressamente o regime excecional em causa [18,20].

A dispensa de medicamentos a doentes em regime de ambulatório processa-se apenas mediante apresentação de uma prescrição médica eletrónica desmaterializada, emitida por um médico do CHUCB, exceto nas situações descritas na Portaria n.º 48/2016, de 22 de março, em que as prescrições têm de ser materializadas caso o doente seja externo à instituição. A validação das prescrições fica a cargo do farmacêutico e em caso de dúvida ou não conformidade deve contactar o médico prescriptor. Na prescrição médica têm de estar presentes os seguintes elementos: identificação do doente, número de beneficiário e de processo; identificação do médico prescriptor, data da prescrição, data da próxima consulta, designação do(s) medicamento(s) pela DCI ou nome comercial, dose, posologia, forma farmacêutica, via de administração e número de unidades a dispensar ou duração prevista da terapêutica. Normalmente, o farmacêutico cede medicação ao doente até à data da próxima consulta, se o período de tratamento for inferior a 1 mês. Quando a duração da terapêutica é superior a 1 mês, os SF concedem dispensas parcelares, sendo que cada dispensa corresponde a 1 mês de tratamento. Por outro lado,

de acordo com o Despacho n.º 13447-B/2015, a cedência da terapêutica antirretrovírica para infeção por VIH/SIDA pode ser efetuada para períodos superiores a 1 mês, segundo critério médico [18]. Excepcionalmente, os medicamentos prescritos nas consultas de planeamento familiar (contracetivos orais e anéis vaginais) podem ser cedidos para um período de três meses. Na sequência do atual contexto de pandemia são realizadas dispensas de medicamentos para períodos até 3 meses, com o intuito de minimizar as deslocações ao hospital.

No primeiro ato de dispensa é conveniente ser o doente a dirigir-se aos SF, no entanto nas cedências seguintes pode ser o próprio ou o cuidador a deslocar-se ao ambulatório. Contudo, nem sempre isto é possível, principalmente nos dias que correm, sendo realizadas teleconsultas, quando há impedimento de deslocação aos SF. Sempre que a dispensa é feita ao doente, este deve identificar-se devidamente através de, pelo menos, dois dados (nome completo, número de processo hospitalar, número de utente ou data de nascimento). Quando se trata do cuidador, o mesmo deve ser portador da sua identificação e do doente. Na cedência a doentes externos é necessário ainda registar no sistema informático o número da receita médica, a identificação do prescriptor e do local de prescrição. Atualmente, a identificação do doente ou cuidador é conseguida verbalmente, de modo a reduzir a troca de objetos. É de salientar que no caso de um tratamento com um custo superior a duzentos euros, o farmacêutico entrega ao doente um documento com essa informação, num primeiro contacto, de forma a sensibilizá-lo para a necessidade de adesão à terapêutica. De seguida, independentemente do custo associado ao tratamento em questão, o doente assina um termo de responsabilidade, que comprova a compreensão da informação transmitida, bem como o compromisso pelo uso correto dos medicamentos [18].

Sempre que o doente possua várias prescrições em formato de papel, este deve ser questionado se requer que as receitas fiquem arquivadas nos SF, sendo que tal fica registado no campo das observações. O doente é também informado de que as receitas, cuja validade tenha expirado, são destruídas.

Aquando da cedência de medicação, a informação verbal deve ser acompanhada por pictogramas e informação escrita disponível em folhetos informativos elaborados pelos farmacêuticos do setor do ambulatório. Numa linguagem simples e acessível ao público em geral, nestes folhetos estão descritos o nome do medicamento, dosagem, forma farmacêutica, via e forma de administração, condições de armazenamento, advertências e precauções, efeitos indesejáveis mais frequentes e o contato telefónico dos SF do CHUCB, sendo que é feita uma revisão de 3 em 3 anos de todas estas informações [18]. A atualização dos folhetos informativos constitui um indicador de qualidade associado

ao setor. No decorrer do estágio tive a oportunidade de elaborar e fazer a revisão de folhetos informativos. Adicionalmente, os pictogramas elucidam sobre o modo de administração (com ou sem alimentos ou em jejum), cuidados de conservação, entre outros. Existe também um autocolante com a indicação da necessidade de refrigeração (“guardar no frigorífico”), que deve ser colocado nos medicamentos termolábeis. Neste sentido, o farmacêutico deve promover o uso racional dos medicamentos e fomentar a adesão à terapêutica. Caso o doente por algum motivo devolva medicamentos, estes não podem ser reaproveitados pelos SF, pois não são conhecidas as condições de conservação no domicílio.

Em qualquer dispensa, o farmacêutico tem de registar informaticamente no processo clínico do doente a medicação cedida (designação do(s) medicamento(s) dispensado(s), dosagem, forma farmacêutica, número de unidades cedidas e respetivos lotes) e identificação da pessoa que fez o levantamento da mesma. Esta última e o respetivo número do elemento identificativo devem constar no campo das observações, bem como a data da cedência e a identificação do farmacêutico responsável pela dispensa, independentemente do registo automático de ambos por parte do sistema informático. No final, este atribui um número de imputação correspondente a cada cedência. Caso a receita seja em formato de papel, para além dos elementos mencionados anteriormente, nela deve estar a assinatura do doente ou cuidador e do farmacêutico que procedeu à dispensa [18].

No dia seguinte à cedência, todas as dispensas a doentes em regime de ambulatório são conferidas pelo farmacêutico, atentando na medicação dispensada, número de unidades fornecidas, centro de custo (indicador de qualidade), grupo ao qual se imputou a medicação, lote e número de imputação. Após a conferência e correção de não conformidades, as receitas em formato de papel são arquivadas por especialidade e/ou medicamento, enquanto as prescrições eletrónicas ficam disponíveis em suporte informático. Todo o receituário faturável é também enviado pelo farmacêutico para a faturação [18]. No CHUCB, ficheiros em formato *excel* são preenchidos regularmente, com o objetivo de monitorizar de forma mais restrita a adesão à terapêutica de certas doenças crónicas (esclerose múltipla, VIH, hepatite C, hepatite B, hipertensão pulmonar, esclerose lateral amiotrófica, entre outras), que requerem uma maior vigilância e controlo, uma vez que são utilizados fármacos com elevado valor económico, como, por exemplo, medicamentos biológicos. Este seguimento farmacoterapêutico permite também controlar os *stocks*, a fim de assegurar a continuidade do tratamento. Sempre que seja detetado um doente não aderente, o farmacêutico reporta o sucedido ao médico

prescritor. Durante a minha permanência neste setor, procedi ao registo do seguimento farmacoterapêutico, em ficheiros *excel*, dos doentes a usar determinados medicamentos.

5.5 Distribuição de medicamentos sujeitos a controlo especial

5.5.1 Medicamentos Estupefacientes, Psicotrópicos e Benzodiazepinas [6,21]

Os Medicamentos Estupefacientes e Psicotrópicos (MEP) estão sujeitos a um circuito de distribuição especial, devido aos riscos associados à sua utilização, nomeadamente capacidade de induzir habituação e de causar dependência. Um medicamento é considerado estupefaciente ou psicotrópico desde que contenha uma substância ativa compreendida nas tabelas I-A, II-C e IV (à exceção das benzodiazepinas) do Decreto-Lei n.º 15/93, de 22 de janeiro. No CHUCB, o setor de ambulatório é responsável por este controlo rigoroso dos MEP, bem como das benzodiazepinas.

Cada SC dispõe de um *stock* predefinido de MEP, os quais estão guardados num cofre com dupla fechadura ou em gavetas individualizadas do *Pyxis™*. Os movimentos de MEP entre os SF e os SCs são registados num livro de requisições denominado “Anexo X” (anexo 4), de venda exclusiva pela Imprensa Nacional, Casa da Moeda S.A., aprovado pelo INFARMED, composto por folhas A5, autocopiativas, com original e duplicado. Por outro lado, os SCs que possuem um *Pyxis™*, o “Anexo X” é substituído por listagens impressas pelo sistema semiautomático. A reposição de MEP nos *Pyxis™* dos diferentes SCs constitui uma prática do farmacêutico afeto ao setor de ambulatório.

A dispensa de MEP é efetuada exclusivamente por farmacêuticos, mediante a apresentação do “Anexo X”, devidamente preenchido pelo enfermeiro responsável pela administração e assinado pelo diretor do serviço ou substituto legal. Uma requisição é considerada válida se nela constarem os seguintes elementos: identificação do serviço requisitante, DCI do estupefaciente, psicotrópico ou benzodiazepina (cada requisição apenas pode conter uma substância ativa), forma farmacêutica, dosagem, nome do doente e respetivo número do processo clínico, dose administrada, data de administração e assinatura de quem administrou. Aquando da constituição de *stock* temporário num SC, o registo é feito também neste anexo, no entanto a identificação do doente é substituída pelo respetivo registo de constituição. O mesmo pode ser observado em situações de devolução. No caso de desperdício ou quebra acidental, a ocorrência deve ser registada e confirmada por dois enfermeiros (assinaturas).

Após a validação do registo efetuado no “Anexo X”, o farmacêutico deve proceder ao registo da quantidade dispensada e dos respetivos lotes, assinar a requisição em local próprio e solicitar a assinatura de quem recebe os medicamentos. O original fica

arquivado nos SF, enquanto o duplicado permanece no livro de requisições do respetivo SC. De seguida, o farmacêutico imputa informaticamente a medicação (DCI, quantidade e lote) ao SC requisitante, garantindo assim a sua rastreabilidade. No final, o número de imputação gerado pelo sistema informático é anotado no “Anexo X” correspondente.

No dia seguinte à imputação, todas as requisições são conferidas informaticamente pelo farmacêutico, separando os anexos relativos aos MEP das requisições das benzodiazepinas. Posteriormente, estes registos são entregues à assistente técnica dos SF, que é responsável pelo envio ao INFARMED, trimestralmente, de todos os movimentos de MEP usados em tratamento médico.

Nos SF do CHUCB, os MEP estão guardados em dois armazéns (10 e 20). Para além destes *stocks*, o Hospital do Fundão também possui alguns MEP (armazém 11). Semanalmente, um farmacêutico em conjunto com a assistente técnica dos SF realizam a conferência dos *stocks* dos MEP existentes nos diferentes armazéns. O farmacêutico procede à contagem dos MEP e a assistente técnica confere com as existências em suporte informático. Caso seja detetada uma não conformidade, é efetuada uma nova contagem e, se eventualmente a não conformidade se mantiver, é feita uma análise detalhada de todos os consumos, devoluções e transferências realizados e respetivos registos, tendo em vista a deteção da causa e posterior correção. A monitorização do número de não conformidades nas contagens de MEP constitui um indicador de qualidade associado a este circuito especial de distribuição. Por fim, o farmacêutico e a assistente técnica assinam o mapa de existências, sendo este depois arquivado.

Periodicamente, os farmacêuticos encarregues pelo setor de ambulatório dirigem-se aos diversos SCs para fazerem as contagens e a verificação dos prazos de validade dos MEP e das benzodiazepinas. Sempre que existam medicamentos com validade curta, estes são substituídos por outros com validade mais alargada, sendo os medicamentos com validade reduzida encaminhados para os SCs com consumos superiores.

No decorrer do meu estágio, este circuito em alguns SCs já se encontrava numa fase de desmaterialização. Diariamente, tive a oportunidade de assistir e auxiliar na dispensa de MEP e benzodiazepinas, tendo colaborado na imputação das requisições do “Anexo X” e na sua conferência. Participei também no armazenamento e na contagem semanal de *stocks*, bem como cooperei na verificação de *stocks* e prazos de validade de MEP e benzodiazepinas existentes nos vários sistemas *Pyxis™* dos SCs.

5.5.2 Hemoderivados [22,23]

Um medicamento derivado do plasma é designado como um medicamento hemoderivado. No CHUCB, a distribuição de medicamentos hemoderivados (exceto de plasma fresco congelado) aos SCs e aos doentes em regime de ambulatório é da responsabilidade dos SF, mais propriamente dos farmacêuticos afetos ao setor de ambulatório. A requisição, distribuição e administração de medicamentos hemoderivados está devidamente regulamentada pelo Despacho n.º 1051/2000, de 14 de setembro, visando permitir a investigação de eventual relação de causalidade entre a sua administração e a deteção de doença infecciosa transmissível pelo sangue.

Para garantir a rastreabilidade dos medicamentos hemoderivados, todos os seus movimentos são registados em impresso próprio, em formato A4 (Modelo n.º 1804, exclusivo da Imprensa Nacional - Casa da Moeda S.A.), composto por duas vias, “Via Farmácia” (autocopiativa) e “Via Serviço” (anexo 5).

Antes de proceder à dispensa destes medicamentos, o farmacêutico tem de verificar se os Quadros A (identificação do doente e do médico prescriptor) e B (descrição do medicamento hemoderivado, duração do tratamento e justificação clínica) do impresso estão corretamente preenchidos pelo médico. Caso não exista nenhuma não conformidade na prescrição, o farmacêutico valida-a e cede a medicação requisitada, preenchendo o quadro C com as seguintes informações: DCI do medicamento hemoderivado, quantidade dispensada, lote, laboratório de origem e o número de certificado de aprovação do lote emitido pelo INFARMED. Uma etiqueta identificativa do doente e do SC requisitante é colocada em cada unidade medicamentosa cedida. Seguidamente, o profissional que recebe o hemoderivado tem de assinar, datar e registar o seu número mecanográfico na requisição. A “Via Farmácia” fica arquivada nos SF e a “Via Serviço” é enviada juntamente com o medicamento para o SC requisitante. Finalmente, o farmacêutico imputa informaticamente o(s) hemoderivado(s) dispensado(s) e o número de imputação gerado pelo sistema informático é anotado na “Via Farmácia”. No dia seguinte à cedência, todas as requisições imputadas são conferidas pelo farmacêutico.

Aquando da administração de um medicamento hemoderivado, o enfermeiro responsável por esse ato preenche o Quadro D da “Via Serviço”, sendo esta depois arquivada no processo clínico do doente. Todos os medicamentos não administrados devem ser devolvidos aos SF num prazo de 24 horas. Na “Via Serviço”, o enfermeiro deve registar a devolução no Quadro D, datar e assinar o impresso. Posteriormente, o

farmacêutico procede ao registo informático da devolução, anota na “Via Farmácia” o número de unidades devolvidas, bem como o número de registo da respetiva devolução.

No caso da dispensa de hemoderivados a doentes em regime de ambulatório, estes têm que assinar e escrever a data de cedência na “Via Farmácia”, sendo que nesta situação tanto a “Via Farmácia” como a “Via Serviço” ficam arquivadas nos SF.

Durante a minha permanência no setor de ambulatório pude assistir à dispensa de medicamentos hemoderivados e colaborar frequentemente na imputação informática dos seus consumos, conferindo, no dia a seguinte à cedência, as requisições imputadas.

5.5.3 Reposição dos *stocks* de complexo Protrombínico e Fibrinogénio Humano no Serviço de Imunohemoterapia [24]

O Serviço de Imunohemoterapia (SI) dispõe de um pequeno *stock* de Complexo Protrombínico (4 ampolas) e de Fibrinogénio Humano (4 ampolas) para situações de urgência como um Acidente Vascular Cerebral (AVC) hemorrágico e uma hiperfibrinólise aguda, respetivamente, encurtando assim o prazo de entrega destes medicamentos no período de encerramento dos SF. A partir das 22 horas, como o farmacêutico já não está fisicamente no hospital, a dispensa de qualquer um destes tratamentos é realizada pelo técnico do SI ou, pontualmente, na sua ausência, pelo técnico do laboratório.

O SI é responsável pela receção e validação deste tipo de prescrições, condições de conservação e identificação de cada unidade com uma etiqueta identificativa do doente, guardando uma etiqueta, para os SF poderem rastrear mais tarde o impresso do hemoderivado. Após dispensa, o técnico do SI ou do laboratório desloca-se aos SF, no prazo máximo de 11 horas, para reposição das unidades de hemoderivados gastas.

Nos SF, o farmacêutico valida a dispensa, confirma o lote e o seu certificado de aprovação emitido pelo INFARMED, assina o original da requisição, atribui o número de distribuição e efetua a imputação informática das ampolas gastas em nome do doente e respetivo episódio da prescrição. Para reposição de medicamentos hemoderivados, uma transferência informática destes, com lote associado, é processada para o armazém 94.

Quando faltam 6 meses para o término do prazo de validade dos hemoderivados existentes no SI, o técnico do SI dirige-se aos SF para trocar estes medicamentos por outros com validade mais alargada.

6. Produção e Controle

Apesar do número reduzido de preparações farmacêuticas produzidas nos SF do CHUCB, a FH dispõe de instalações adequadas para a produção de medicamentos seguros e eficazes, seguindo um sistema de procedimentos rigoroso [1].

No setor de farmacotecnia dos SFH são variadas as atividades realizadas, incluindo a preparação de formulações estéreis, preparação de formas farmacêuticas não estéreis e reembalagem de medicamentos. Neste sentido existem espaços físicos destinados à prática de cada uma destas atividades, nomeadamente uma sala com acesso restrito, composta por dois sistemas modulares de salas limpas *Grifols Misterium*®, prateleiras para o armazenamento de medicamentos citotóxicos e gavetas para guardar pré-medicação utilizada frequentemente nos regimes de quimioterapia, um laboratório para a preparação de manipulados não estéreis e uma sala de reembalagem. Para além do *stock* existente nas prateleiras, o armazém 13 (armazém do setor de farmacotecnia) possui ainda um *stock* de medicamentos citotóxicos devidamente sinalizado com fita vermelha e branca, numa câmara frigorífica. O processo de contagem de *stocks* dos medicamentos usados na farmacotecnia é realizado semanalmente, constituindo um indicador de qualidade.

6.1 Preparação de formulações estéreis [1,25]

A produção de formas farmacêuticas estéreis é da responsabilidade do farmacêutico, sendo efetuada obrigatoriamente em áreas limpas, a fim de assegurar o cumprimento dos requisitos de esterilidade definidos. Deste modo, a preparação de bolsas para nutrição parentérica e outras preparações estéreis ocorre num dos sistemas modulares de salas limpas *Grifols Misterium*®, mais propriamente no que contém uma câmara de fluxo de ar laminar horizontal (CFALH), e a reconstituição de fármacos citotóxicos sucede-se na câmara de fluxo de ar laminar vertical (CFALV) que se encontra na sala limpa destinada a esse efeito. Qualquer câmara deve ser ligada 30 minutos antes de se iniciar um trabalho, para estabilizar o fluxo de ar e remover todas as partículas em suspensão. No final de todas as manipulações, a câmara deve permanecer ligada 20 minutos, para arrastar quaisquer partículas em circulação. Cada sistema modular tem um controlo rigoroso da temperatura e pressão, registando-se diariamente em impresso próprio os valores observados. Para minimizar as deslocações de ar, as portas devem manter-se fechadas, contribuindo também para a manutenção da assepsia, e a abertura das grelhas presentes nestas deve ser ajustada. Durante a minha permanência no setor

de farmacotecnia teve oportunidade de realizar este registo com posterior validação do farmacêutico.

Dentro destes espaços apenas deve existir o mobiliário indispensável, o qual deve ser em inox e de fácil limpeza. No que diz respeito aos materiais necessários para a prática farmacêutica no interior da sala limpa, estes devem ser previamente borrifados com álcool 70% esterilizado e colocados no *transfer*, que consiste num dispositivo com dupla porta. Ambas as portas não podem estar simultaneamente abertas, pois a abertura nos dois sentidos (lado de fora e de dentro da sala) pode destabilizar a pressão no interior da sala de preparação.

Antes de entrar em qualquer sala limpa, o operador deve primeiramente vestir uma farda hospitalar, remover toda a bijuteria e colocar posteriormente o equipamento de proteção individual (EPI) na pré-sala (antecâmara) pela seguinte ordem: cobre-pés, touca (de modo a cobrir o cabelo e as orelhas), máscara (cirúrgica ou bico de pato com filtro P2), bata esterilizada (após a lavagem das mãos) e luvas estéreis por cima dos punhos da bata (depois da desinfeção das mãos). Quando o manipulador já se encontra na sala limpa, a comunicação com este deve realizar-se através da membrana de comunicação.

Na sala de preparação, a limpeza da câmara com compressas humedecidas com álcool isopropílico 70% estéril deve fazer-se antes e depois do trabalho, começando da zona mais limpa para a mais suja. Sempre que seja possível, o farmacêutico deve desinfetar várias vezes as luvas durante a manipulação. As operações de limpeza tanto da sala limpa como da pré-sala são bastante rigorosas, pelo que há limpezas diárias e semanais executadas pelos AOs.

6.1.1 Preparação de nutrição parentérica [25,26]

A nutrição parentérica é prescrita em meio hospitalar quando a alimentação por via oral ou por via entérica não é possível, substituindo ou complementado a dieta do doente. Este tipo de alimentação pode ser administrado por veia central ou periférica, sendo que é necessário garantir as condições de esterilidade e osmolaridade apropriadas, consoante o local de administração.

No CHUCB existem três bolsas de nutrição parentérica diferentes disponíveis para prescrição (anexo 6), estando duas delas destinadas à administração por veia central (*Smofkabiven® Central*) e outra por veia periférica ou central (*Nutriflex® Lipid Peri*). Estas bolsas são então adquiridas à indústria farmacêutica e caracterizam-se por possuírem três compartimentos selados de macronutrientes (glúcidos, aminoácidos e lípidos) e eletrólitos, podendo aditivar-se as mesmas com vitaminas, oligoelementos,

alanina-glutamina, entre outros, conforme as necessidades do doente. A reconstituição das bolsas é feita de acordo com as instruções do fornecedor, particularmente a ordem de mistura, o tipo de aditivos e as aditivações máximas permitidas.

Relativamente às bolsas de nutrição parentérica para administração por veia periférica, estas apresentam uma osmolaridade compreendida entre os 600 e 900 mOsm/L, podendo ser administradas também por via central. Por outro lado, as bolsas destinadas à administração por veia central possuem uma osmolaridade muito superior aos valores anteriormente referidos, pelo que este tipo de bolsa não pode ser administrado por via periférica, uma vez que pode provocar graves problemas ao doente. Assim, a via de administração deve estar destacada no rótulo da bolsa para evitar eventuais trocas.

A preparação de misturas para nutrição parentérica é realizada na CFALH classe I localizada num dos sistemas modulares de salas limpas *Grifols Misterium*[®], cuja pressão de ambas as salas é positiva (entre 1-2 mmH₂O na pré-sala e 3-4 mmH₂O na sala de preparação), e a temperatura deve ser inferior ou igual a 25 °C. Esta câmara tem um filtro *High-Efficiency Particulate Air* (HEPA) com capacidade de remover 99,97 % de todas as partículas de ar com dimensão superior ou igual a 0,3 µm, na região de preparação, assegurando a proteção microbiológica do produto.

Inicialmente, o farmacêutico afeto ao setor de farmacotecnia recebe uma prescrição médica e procede à sua validação, verificando a identificação do doente, a composição da preparação e a posologia, bem como à transcrição no sistema informático. De seguida, o farmacêutico deve contactar o enfermeiro para confirmar a existência ou não de alguma bolsa para o doente, no frigorífico do respetivo serviço. Caso seja necessário então preparar bolsas de nutrição parentérica, o pedido da quantidade de bolsas e aditivos prescritos é efetuado ao armazém central, sendo depois entregue no setor de farmacotecnia por um AO. Posteriormente, os lotes das bolsas, aditivos e respetivas soluções de reconstituição (quando aplicável) são registados no processo clínico do doente, garantindo assim a sua rastreabilidade. Seguidamente, o farmacêutico emite a ficha de preparação e o rótulo em duplicado com as seguintes informações: identificação dos SF; identificação do doente (nome e número do processo clínico) e SC; identificação do médico prescritor; data de administração; data e hora da preparação; lote atribuído; composição qualitativa e quantitativa dos componentes da bolsa; ritmo de perfusão (calculado normalmente pelo farmacêutico); volume total da preparação; via de administração (central ou periférica, destacada com cor); prazo de utilização; condições de conservação; assinatura do farmacêutico. Um dos rótulos é colocado no saco fotoprotetor da bolsa e o outro é arquivado juntamente com a ficha de preparação.

Posto isto, o processo de reconstituição e aditivação da bolsa para nutrição parentérica é iniciado. Todo o material necessário à laboração é pulverizado com álcool 70 % esterilizado e colocado no *transfer*. Após o manipulador equipar-se na pré-sala e desinfetar a câmara na sala principal, o material existente no *transfer* é colocado na área de preparação, de modo a não perturbar o fluxo de ar através da câmara. Dentro da câmara, a laboração deve fazer-se segundo um sentido, isto é, o material e medicamentos a utilizar devem ser posicionados num lado da câmara, transitando para o outro lado à medida que são usados e preparados, respetivamente. Ao longo de todo o processo, a técnica asséptica deve prevalecer, desinfetando as superfícies das ampolas/frascos e os locais de inserção de agulhas com compressas humedecidas com álcool.

Relativamente às bolsas *Nutriflex*[®], primeiramente misturam-se os compartimentos dos glúcidos e aminoácidos (homogeneização), sendo depois aditivados os oligoelementos. O compartimento dos lípidos é em seguida rompido, podendo fazer-se posteriormente a aditivação de multivitaminas (lipossolúveis e hidrossolúveis) reconstituídas com água para preparações injetáveis (ppi). No final, a homogeneização da bolsa é um processo fundamental. No caso das bolsas *SmofoKabiven*[®], o compartimento com a solução de glucose é misturado com a solução de aminoácidos, rompendo-se depois o compartimento dos lípidos. Após a homogeneização, podem ser também adicionados oligoelementos e multivitaminas pela mesma ordem de aditivação.

Finalizado todo o procedimento, a bolsa preparada é colocada no *transfer* e a câmara é higienizada adequadamente. Na pré-sala, o manipulador desequipa-se pela ordem inversa de colocação e todo o equipamento é descartado em sacos de cor preta (lixo doméstico). Já no exterior do sistema modular, a bolsa é retirada do *transfer* e efetua-se o controlo de qualidade da mesma, confirmando a integridade da embalagem, ausência de partículas em suspensão, inexistência de precipitação e separação de fases. Após todas as verificações, a preparação é considerada conforme ou não conforme, registando os resultados na ficha de preparação, que é depois arquivada nos SF, segundo o número de preparação atribuído. Por fim, a bolsa deve ser envolta num saco de alumínio fotoprotetor, previamente rotulado, e armazenada na câmara frigorífica até à sua entrega ao serviço correspondente por um AO. Dependendo da bolsa, a validade no frio (2-8 °C) é de 6 ou 7 dias e à temperatura ambiente (<25 °C) é de 24 ou 48 horas.

Todas as bolsas de nutrição parentérica, cuja administração seja ao fim-de semana, são preparadas à sexta-feira e dispostas sequencialmente na câmara frigorífica, colocando na primeira, segunda e última prateleira as bolsas destinadas a administrar na sexta-feira, sábado e domingo, respetivamente.

Quando uma bolsa preparada não é utilizada por suspensão do tratamento do doente, esta pode ser reaproveitada para outro doente, caso a bolsa prescrita apresente uma composição igual e a bolsa armazenada na câmara frigorífica ainda se encontre dentro do prazo de utilização. Sempre que se pretenda reaproveitar uma bolsa é necessário fazer nova rotulagem, imputação da mesma em nome do doente final e alteração da respetiva ficha de preparação. Esta intervenção evita a perda monetária associada à bolsa e aos aditivos, sendo registada na base de dados dos SF.

Durante o meu estágio pude acompanhar e realizar a preparação de bolsas *Smofkabiven*[®] e *Nutriflex*[®], seguindo os procedimentos atrás mencionados, sob supervisão farmacêutica. Anteriormente, tive a possibilidade de assistir à elaboração das respetivas fichas de preparação e rótulos, bem como auxiliar na determinação do ritmo de perfusão.

6.1.2 Reconstituição de fármacos citotóxicos [12,27,28,29]

A preparação de medicamentos citotóxicos na Unidade Centralizada para a Preparação de Citotóxicos (UCPC) é da responsabilidade do farmacêutico, sendo realizada na CFALV, classe II, tipo B, existente num dos sistemas modulares de salas limpas *Misterium*[®]. Contudo, a manipulação de citotóxicos é interdita a grávidas e lactantes, mulheres que tenham tido abortos espontâneos ou filhos com malformações congénitas, pessoas com história clínica de dermatoses, alergias, cancro, imunodepressão e anemia, pessoas em tratamento por radiações ionizantes ou citotóxicos e pessoas com diminuição acentuada de acuidade visual. A câmara possui dois filtros HEPA (filtração do ar que entra na zona de trabalho e filtração do ar expulso para o exterior) e um vidro frontal de proteção. Assim, este equipamento permite a proteção do produto, operador e do ambiente, o que é de extrema importância devido à perigosidade associada a estes fármacos. Na pré-sala do sistema modular, a pressão deve ser positiva (>1mmH₂O), enquanto na sala principal, a pressão deve ser negativa. Deste modo, o ar que se encontra na sala de preparação de citotóxicos não sai para o exterior, minimizando a exposição a partículas potencialmente perigosas. Nesta câmara, a temperatura deve ser também inferior ou igual a 25 °C.

A preparação de um medicamento citotóxico inicia-se com uma prescrição médica eletrónica (baseada em protocolos previamente estabelecidos e aprovados). O protocolo descrito na prescrição médica indica o período de tratamento, ordem sequencial de administração da medicação, a via de administração e o tempo de perfusão de cada fármaco (quando aplicável). Alguns fármacos é necessário autorização prévia pela CFT para a sua utilização num determinado doente. Frequentemente, também é prescrita

uma medicação para o doente tomar antes da terapêutica oncológica (pré-medicação), com o intuito de reduzir os efeitos adversos da quimioterapia. Durante a minha permanência no setor de farmacotecnia tive oportunidade de contactar com vários protocolos, assistindo à sua preparação. Além disso, preparei a pré-medicação para cada doente, quando necessário.

Semanalmente, os SF recebem uma listagem com os nomes dos utentes que têm quimioterapia prescrita para a semana seguinte. Contudo, a preparação da respetiva medicação inicia-se apenas depois da confirmação da prescrição pelo enfermeiro do Hospital de Dia (HDI), por via telefónica, anotando-se o nome do doente e a hora da confirmação em impresso próprio. Sempre que um doente se dirige ao HDI para realizar um tratamento quimioterápico, o mesmo começa por fazer análises a uma série de parâmetros. Caso o médico considere que o doente pode fazer a terapêutica, o profissional ativa o protocolo correspondente e o enfermeiro do HDI contacta os SF para confirmação do protocolo prescrito. No entanto, se o doente não estiver apto, este não é submetido ao tratamento no dia previsto. No decurso do estágio auxiliei na receção de chamadas de confirmação de prescrição.

Após a confirmação da prescrição, o farmacêutico começa por validar a mesma, verificando os seguintes elementos: identificação do doente (nome completo, idade, número do processo clínico), diagnóstico, peso, altura, área de superfície corporal, creatinina, clearance de creatinina e outros parâmetros que possam ser relevantes para o cálculo das doses, esquema terapêutico (protocolo) e fase de tratamento (número do ciclo, dia do ciclo e linha terapêutica). O papel do farmacêutico passa então por averiguar se as doses, o número e o dia do ciclo estão corretos, bem como se a terapêutica é apropriada à patologia. Para confirmar as doses de alguns fármacos calcula-se primeiramente a área de superfície corporal do doente, com base no respetivo peso e altura, comparando o valor obtido com o valor determinado pelo médico prescritor. Seguidamente, as doses dos medicamentos constantes no protocolo são calculadas a partir da superfície corporal do doente. Por outro lado, esta determinação pode basear-se no peso, AUC (fórmula de *Calvert*) ou dose fixa. O farmacêutico afeto ao setor de farmacotecnia regista num documento estes cálculos referentes a um doente selecionado aleatoriamente, uma vez por semana, de forma a validar os cálculos efetuados pelo sistema informático. Ao longo do estágio pude colaborar no cálculo confirmatório da superfície corporal e das doses dos fármacos citotóxicos de diversos doentes.

Posteriormente, o mapa terapêutico do doente é impresso em duplicado, indicando, além dos elementos supracitados, a pré-medicação (quando aplicável), medicamentos a serem preparados, solventes para diluição (se for o caso) e respetiva quantidade, tempo de

administração, ordem de administração e identificação do médico prescritor. Para cada medicamento é impresso um rótulo com informação identificativa do serviço, do doente e do citotóxico, a via de administração, o tempo de perfusão, a data e hora de preparação, a estabilidade após preparação e condições de conservação, sendo rubricado pelo farmacêutico e destacado o termo “Citotóxico” com um marcador fluorescente. De seguida, o farmacêutico recolhe os fármacos, podendo aproveitar alíquotas sobranes de tratamentos preparados (registo informático para controlo de qualidade), soluções de reconstituição e/ou de diluição e dispositivos necessários ao acondicionamento ou administração do citotóxico, introduzindo os respetivos lotes e prazos de validade no sistema informático (rastreadabilidade). Todo o material necessário para a preparação da medicação é colocado num tabuleiro metálico, pulverizado com álcool a 70% e colocado no *transfer*. Para não haver trocas no processo de preparação, em cada tabuleiro é colocada a medicação de apenas um doente. Durante o estágio forneci os fármacos e restante material ao manipulador através do *transfer*.

Antes de iniciar a operação, o farmacêutico deve equipar-se devidamente na pré-sala (perneiras, touca, máscara de bico de pato com filtro P2, bata esterilizada e luvas esterilizadas mais grossas e com capacidade antiaderente) e higienizar as mãos corretamente. Na sala principal, a câmara deve ser desinfetada para colocação posterior do material presente no *transfer*.

A manipulação de citotóxicos é um processo que requer máxima esterilidade e segurança, pelo que o campo de trabalho deve ser estéril, absorvente e impermeável. Tendo em conta que são substâncias com elevado grau de toxicidade, para a sua preparação utilizam-se dispositivos específicos como os fechos *luer-lock* nas seringas e equipamentos de perfusão, minimizando assim eventuais desconexões durante a manipulação, e *spikes*, que facilitam a aspiração do fármaco. Para cada citotóxico deve utilizar-se seringas, *spikes* e agulhas diferentes. Todo este material evita a libertação de aerossóis, gotejamento de citotóxicos e picadas acidentais. É importante também manter a assepsia durante todo o processo.

No final da manipulação, o medicamento é envolto em papel de alumínio e rotulado. O produto deve ser avaliado, confirmando se este corresponde ao prescrito e constante no rótulo e se cumpre todos os requisitos de qualidade (integridade física da embalagem, prazo de validade, ausência de partículas em suspensão e inexistência de precipitação, separação de fases). De acordo com estas verificações, a preparação é considerada “conforme” ou “não conforme”. Após o citotóxico ser retirado do *transfer*, é colocada sinalética adequada, consoante a agressividade do medicamento (vesicante, irritante e citotóxico). Todos os citotóxicos são acondicionados num saco de plástico transparente,

colocado num saco térmico autoadesivo, sendo transportados em maletas herméticas estanques para o HDI. Juntamente com os citotóxicos é enviado um impresso intitulado “Tempo de preparação e entrega de quimioterapia no Hospital Pêro da Covilhã” e o protocolo em duplicado (um é depois arquivado no processo do doente e o outro nos SF), para o enfermeiro assinar conforme a medicação foi recebida. No CHUCB, a quimioterapia injetável deve ser prescrita pelo médico, nos dias úteis, até às 15 horas, na aplicação informática. Após a confirmação da prescrição pelo enfermeiro, os SF têm duas horas para preparar e entregar a respetiva medicação. No final do dia, todos os tempos são contabilizados e faz-se uma média do tempo de preparação e entrega de quimioterapia, o que constitui um objetivo de qualidade do setor de farmacotecnia. Ao longo da minha permanência neste setor fiquei encarregue de colocar a sinalética apropriada nos citotóxicos preparados. Diariamente contabilizei os tempos de espera e calculei a respetiva média, arquivando o impresso em local próprio, bem como efetuei o registo do seguimento farmacoterapêutico dos vários doentes, na base de dados dos SF (ficheiros em formato *excel*), e arqueei os respetivos mapas terapêuticos.

Relativamente aos resíduos resultantes da manipulação de citotóxicos, o material cortante ou perfurante (ampolas, agulhas, *spikes*, seringas e frascos de citotóxicos) deve ser depositado em contentores de plástico rígidos (*biobox*), sendo depois colocados num saco de lixo de cor vermelha. O restante material não cortante (EPI, frascos de soro e compressas) é descartado diretamente num saco de lixo de cor vermelha, devidamente identificado com o aviso “Lixo Citotóxico”, para posterior incineração. Todo o material de papel é colocado num saco de lixo de cor preta (lixo doméstico).

Nos locais em que se manuseiam citotóxicos, nomeadamente na sala limpa de preparação de citotóxicos, na divisão onde esta se encontra, no armazém central e na zona de receção de medicamentos, existe um *kit* apropriado para situações de derrame ou acidente. Cada *kit* é constituído por uma máscara de proteção respiratória (P3), dois pares de luvas adequadas para o manuseamento de citotóxicos, óculos de segurança, touca, bata impermeável, protetores de sapatos, um contentor rígido estanque para cortantes, compressas absorventes, resguardos absorventes descartáveis, material de demarcação (fita adesiva grossa), um saco do lixo espesso de cor vermelha, pá, pinça, solução de irrigação de NaCl 0,9 %, detergente alcalino e formulário de ocorrência. Perto destes locais existe ainda irrigadores de olhos de emergência. Em primeiro lugar, é fundamental vestir o EPI, aquando da ocorrência de um derrame. Seguidamente, a demarcação e isolamento da área do derrame com fita adesiva grossa é importante para não colocar ninguém em risco. Se houver vidros, estes devem ser retirados com a pinça/pá. As compressas absorventes para os líquidos devem ser imediatamente

utilizadas para impedir o aumento da área contaminada, na qual se faz duas lavagens com água e detergente alcalino. Todos os resíduos são descartados num saco de lixo de cor vermelha para serem corretamente eliminados.

6.1.3 Outras preparações estéreis

Nos SF do CHUCB são ainda preparadas outras formulações estéreis, nomeadamente cefuroxima num saco de soro fisiológico (profilaxia da operação às cataratas) e bevacizumab em seringas (edema da retina). Estas preparações proporcionam benefício monetário, uma vez que as preparações comerciais de ambos os fármacos para uso oftálmico são bem mais caras. As formulações são entregues na cirurgia de ambulatório por um AO. O farmacêutico faz a imputação ao serviço e regista as respetivas intervenções, na base de dados dos SF.

No setor de farmacotecnia também se efetua a preparação de metotrexato subcutâneo (artrite reumatoide) e de alglucosidase alfa (Doença de Pompe). Esta última é administrada de 15 em 15 dias, em pessoas que apresentam uma deficiência na enzima alglucosidase alfa, acumulando conseqüentemente glicogénio no músculo, que pode causar problemas cardíacos, respiratórios e esqueléticos. Para a preparação desta formulação é necessário ter alguns cuidados, como retirar do frigorífico 30 minutos antes da sua manipulação, reconstituir cada frasco de alglucosidase com água ppi, adicionando lentamente através das paredes do frasco sem inverter ou agitar, diluir num saco de perfusão sem agitar vigorosamente e utilizar um filtro para filtração da proteína [30]. Atualmente, a reconstituição de vacinas contra o vírus SARS-CoV-2 é realizada na CFALH pelo farmacêutico.

No decurso do estágio tive oportunidade de visualizar a manipulação de cefuroxima, bem como a preparação de alglucosidase alfa e a reconstituição de vacinas contra o vírus SARS-CoV-2 pelo farmacêutico.

6.2 Controlo microbiológico [27]

No setor de farmacotecnia é feito regularmente controlo microbiológico aos seguintes parâmetros: monitorização do ar passivo das salas limpas, CFALH e CFALV; monitorização microbiológica das superfícies das salas limpas e das duas câmaras; monitorização microbiológica de produto estéril em ambas as câmaras; monitorização microbiológica de dedadas de luvas. Todas estas monitorizações são consideradas indicadores de qualidade do setor de farmacotecnia. Neste sentido, na preparação de bolsas de nutrição parentérica e citotóxicos efetua-se o controlo da técnica assética do operador (amostras de produto), recolhem-se amostras de superfície com zaragatoa e

utilizam-se placas de sedimentação para as dedadas de luvas e amostras de ar passivo. A periodicidade para a recolha das diferentes amostras é acordada com o laboratório de microbiologia (tabela 4). Semestralmente, uma entidade externa contratada é responsável pela realização do controlo microbiológico do ar ativo.

Tabela 4 - Periodicidade das monitorizações microbiológicas.

Método	Ambiente de trabalho	Sala limpa
Amostras de superfície (zaragatoa)	Quinzenal	Mensal
“Dedadas” da luva	Quinzenal	Não aplicável
Amostras de ar passivo (placas de sedimentação)	Quinzenal	Quinzenal
Amostras de produto	Semanal	Não aplicável

No que diz respeito ao controlo do produto, duas amostras de 5 mL são retiradas de uma bolsa de nutrição parentérica reconstituída e duas amostras de 2,5 mL de NaCl 0,9 % + 2,5 mL de água ppi são preparadas na CFALV, uma vez que não é feito o envio de citotóxicos para o laboratório, por motivos de segurança.

Para recolha das amostras de superfície em cada câmara são utilizadas duas zaragatoas em tubo estéril, sendo uma aplicada no centro da superfície de trabalho e a outra em local rotativo nas restantes superfícies. Uma terceira zaragatoa permanece fechada e é usada como controlo.

Após a desinfeção das mãos com luvas, o manipulador, dentro de cada câmara, coloca as pontas dos dedos da mão direita numa placa de gelose sangue e faz o mesmo para a mão esquerda.

Relativamente ao controlo de ar passivo consiste na colocação de duas placas de gelose sangue em cada câmara e sala limpa, sendo que uma é mantida aberta (amostra) e a outra permanece fechada (controlo). Aquando da realização deste controlo microbiológico, cada câmara de fluxo laminar e sistema modular de salas limpas devem estar ligados durante todo o período de exposição. Ao fim de 4 horas, todas as placas são retiradas cuidadosamente para o exterior.

Todas as amostras são devidamente identificadas e enviadas para o laboratório de patologia clínica juntamente com o respetivo impresso. Os resultados são conhecidos dentro de dias, sendo enviados informaticamente pelo laboratório. Durante o meu estágio pude observar o farmacêutico a recolher as várias amostras e, mais tarde, conhecer os resultados correspondentes.

6.3 Preparação de Formas Farmacêuticas não estéreis [13,31,32]

Nos SF do CHUCB, as formas farmacêuticas não estéreis (manipulados) são preparadas pelo TSDT num laboratório segregado da área destinada à preparação de formulações estéreis. Neste laboratório existe uma bancada metálica inox para efetuar as manipulações, onde se encontra uma torneira para a lavagem do material usado e sinalética para que este não seja trocado, bem como duas balanças analíticas e uma balança de precisão. A calibração das balanças deve ser feita anualmente por uma entidade externa acreditada pelo Instituto Português de Qualidade (IPAQ), emitindo um certificado de calibração. No que concerne à aferição das balanças é realizada mensalmente pelos SF, utilizando massas padrão com diferentes pesos. O laboratório dispõe ainda de dois armários distintos para a arrumação do material destinado à preparação de manipulados de uso interno (etiqueta verde) e externo (etiqueta vermelha), dois armários para a colocação das matérias-primas, uma estufa, uma *hotte*, um aparelho purificador de água, entre outros equipamentos.

Aquando da receção das matérias-primas pelo farmacêutico, este deve verificar a integridade, condições de higiene, acondicionamento, respetivo boletim de análise, que deve ir de encontro com a Farmacopeia Portuguesa ou Farmacopeia Europeia, e os resultados dos ensaios, que devem estar em conformidade com as especificações. Além disso, é importante averiguar se as condições de conservação foram cumpridas durante o seu transporte. Após a validação da matéria-prima, a ficha da mesma é preenchida e arquivada juntamente com o boletim de análise, no laboratório de farmacotecnia, sendo também efetuado o registo informático. Como já foi referido anteriormente, o armazenamento das matérias-primas é realizado de acordo com as suas exigências de conservação, as boas práticas de segurança, as incompatibilidades entre as mesmas e o princípio FEFO. No rótulo de cada matéria-prima deve constar as seguintes informações: denominação farmacopeica da matéria-prima; identificação do fornecedor; lote; condições de conservação; precauções de manuseamento (frases de segurança); frases de risco e sinalética de perigosidade (quando aplicável); prazo de validade; quantidade.

No que se refere ao material de embalagem para acondicionamento de manipulados não estéreis, o farmacêutico responsável pela sua receção deve igualmente verificar a integridade, condições de higiene e boletim de análise, onde é referido o número de lote e fornecedor. Este último é também arquivado nos SF e a referência do certificado de cada material é introduzida no sistema informático. Tudo o que seja material de vidro é enviado para o serviço de esterilização antes do seu uso.

A preparação de um manipulado não estéril é precedida de uma prescrição médica, requisição por parte de um SC ou requisição por um setor dos SF, sendo o farmacêutico responsável pela sua validação. Posteriormente, o TSDT gera uma guia de produção do manipulado, confirmando a quantidade a preparar, selecionando o armazém de saída das matérias-primas e introduzindo os respetivos lotes e origens das matérias-primas e do material de acondicionamento. Subsequentemente é emitida a ficha de preparação do manipulado e o respetivo rótulo em duplicado. Na ficha de preparação deve constar a data de preparação, designação atribuída à preparação com indicação da concentração (quando aplicável), quantidade a preparar, identificação do lote, fórmula (descrição das matérias-primas e respetivas quantidades), material e equipamento, técnica de preparação, ensaios de verificação (cor, odor, aspeto, quantidade e pH), material de embalagem com indicação do número de lote e origem, prazo de validade, condições de conservação e bibliografia.

Antes de proceder à manipulação, o TSDT deve equipar-se adequadamente (touca, máscara, bata e luvas), efetuar a desinfeção da bancada com álcool etílico a 70%, delimitar a área de trabalho com um papel relativamente absorvente e verificar o estado de limpeza do material de laboratório. Seguidamente é fundamental que o manipulador averigue a disponibilidade das matérias-primas e outro material necessários à preparação. Quando o manipulado apresenta matérias-primas inflamáveis ou substâncias voláteis, na sua fórmula, a sua preparação é realizada na *hotte*. Ao longo da produção de um manipulado, o TSDT deve seguir as etapas descritas na ficha de preparação, rubricando sempre em local próprio. Após todo o processo, o manipulado é submetido aos ensaios de verificação, sendo aprovado ou rejeitado, conforme os resultados obtidos.

Finalmente, o manipulado é embalado e rotulado, contendo, no rótulo, a identificação da instituição, SF e Diretor Técnico do serviço, forma farmacêutica, nome genérico, dosagem, composição, quantidade, via de administração (quando aplicável, destacada a cor), posologia (quando aplicável, destacada a cor), data de preparação, prazo de validade atribuído (destacado a cor), condições de conservação, número de lote, precauções e cuidados, identificação do doente (quando aplicável, destacada a cor), serviço requisitante, etiqueta com a indicação “USO EXTERNO” em fundo vermelho (quando aplicável) e etiqueta “Guardar no Frigorífico” (quando aplicável). Nas embalagens dos manipulados, além do rótulo, são ainda colocados pictogramas relativos ao grau de toxicidade da preparação, sendo o autocolante de cor verde para formulações de toxicidade reduzida, cor amarela para toxicidade intermédia e cor vermelha para toxicidade elevada. No entanto, quando o manipulado é para dispensa em ambulatório,

a embalagem não deve conter estes pictogramas. Algumas preparações são também identificadas com a respetiva sinalética de perigosidade, devido à necessidade de cuidado no seu manuseamento.

A validação de todo o processo é da responsabilidade do farmacêutico, nomeadamente identificação das matérias-primas e excipientes utilizados e respetivas quantidades (quando possível), todos os cálculos efetuados, ensaios de verificação e preparação final, sendo esta última aprovada ou rejeitada. A monitorização do controlo de qualidade/microbiológico dos manipulados e das não conformidades detetadas constituem indicadores de qualidade.

Ao longo do meu estágio tive oportunidade de assistir à preparação de três manipulados diferentes (solução aquosa de ácido acético a 3 %, solução aquosa de ácido tricloroacético a 50 % e solução aquosa de ácido tricloroacético a 85 %) pelo TSDT e de acompanhar a validação de várias preparações não estéreis pelo farmacêutico.

6.4 Produção de água purificada [33]

No laboratório de farmacotecnia existe um equipamento que permite a obtenção de água purificada, isto é, água isenta de contaminantes, sendo esta apropriada para a preparação de manipulados e distribuição pelos SCs.

Aquando da produção de água purificada é importante seguir as normas de funcionamento do equipamento, que estão afixadas em local bem visível. Diariamente, a água purificada é produzida na quantidade necessária, não devendo ser armazenada por mais de 24 horas. O registo de preparação/distribuição de água fica a cargo dos SF.

Anualmente, a água purificada é submetida a controlo microbiológico por um laboratório externo. Caso sejam detetados microrganismos na mesma (resultado positivo), os SF devem tomar medidas no sentido de melhorar a qualidade da água, realizando posteriormente um novo controlo microbiológico. Após a obtenção de resultado negativo, a água purificada pode ser novamente fornecida.

6.5 Reembalagem [1,34]

Nos SF do CHUCB pratica-se a reembalagem de formas farmacêuticas orais sólidas (comprimidos e cápsulas) para dispensa pelo sistema DIDDU e ambulatório. A reembalagem é efetuada essencialmente nos medicamentos acondicionados em multidoses ou com necessidade de serem fracionados (alguns medicamentos apresentam ranhuras, o que facilita o processo de fracionamento). Nos SF há uma sala destinada à reembalagem, na qual existe uma área de fracionamento e desblisteramento, área de

reembalados não conferidos e área de reembalados conferidos. Esta atividade é realizada com recurso a dois equipamentos, FDS e MSAR (Máquina Semiautomática de Reembalagem), sendo que nenhuma das máquinas reembala medicamentos termolábeis.

Antes de proceder à reembalagem, o manipulador deve equipar-se devidamente (luvas, touca e máscara cirúrgica) e desinfetar o local de trabalho com álcool a 70%, garantindo assim a segurança e qualidade do medicamento. De seguida, inicia-se o desblisteramento dos medicamentos, seguindo-se o fracionamento (quando necessário), que pode ser feito com as mãos ou com um bisturi (lâmina diferente para cada substância ativa).

No que diz respeito ao equipamento automático, FDS permite a reembalagem de comprimidos inteiros e cápsulas com princípios ativos não citotóxicos e não fotossensíveis. Esta máquina possui várias cassetes que devem ser previamente limpas com uma compressa embebida em álcool a 70 %, antes de qualquer carregamento. Sempre que uma cassete se encontra vazia, o equipamento gera um sinal, alertando para a necessidade de carregamento. Tendo em conta que cada cassete está calibrada para um dado medicamento, dosagem e laboratório, a utilização da leitura ótica aquando de um carregamento contribui para a colocação do medicamento na cassete correta. Após esta operação, o TSDT introduz, no *software* da FDS, os dados do medicamento, nomeadamente lote, validade e quantidade. A máquina atribui automaticamente ao medicamento reembalado uma validade de 6 meses (a partir da data de enchimento), exceto nos medicamentos com validade após abertura ou validade original inferior a 6 meses. No rótulo gerado para cada um destes medicamentos deve constar os seguintes elementos: CHUCB – Serviços Farmacêuticos, designação do princípio ativo, dosagem, forma farmacêutica, lote, data de reembalagem, validade, laboratório produtor e código de barras. Por fim, o farmacêutico é responsável pela validação de todo este processo, verificando o relatório diário de enchimento emitido pela FDS. Neste sentido, o farmacêutico valida o medicamento introduzido, quantidade de unidades carregadas na cassete, validade atribuída, TSDT responsável pela operação e a manga produzida pela FDS. No relatório são ainda anexadas as cartonagens dos medicamentos reembalados, comprovando deste modo os carregamentos efetuados. Todas as não conformidades detetadas são registadas informaticamente, constituindo um indicador de qualidade.

Relativamente à MSAR, esta máquina possibilita a reembalagem de comprimidos fotossensíveis e/ou citotóxicos (inteiros, metades, terços e quartos de comprimidos divisíveis), devendo ser limpa antes e depois de cada reembalagem. Neste equipamento, só é possível reembalar um medicamento de cada vez, evitando assim erros e contaminações cruzadas. No rótulo deve estar presente a identificação da substância

ativa, forma farmacêutica, laboratório, dosagem, lote e validade do medicamento original, dosagem, lote e validade (no máximo 6 meses, exceto se a validade original for inferior) do medicamento reembalado e número de unidades reembaladas. Contrariamente à FDS, as saquetas usadas neste tipo de embalagem possuem uma película fotoprotetora. Para libertação de um lote de medicamento reembalado, este tem que ser previamente validado pelo farmacêutico afeto ao setor de farmacotecnia, o qual verifica integralmente a manga produzida e todos os elementos do rótulo. Todo o processo de embalagem é registado, sendo também arquivadas as cartonagens dos medicamentos reembalados. Quaisquer não conformidades identificadas são igualmente registadas na base de dados dos SF.

Caso um medicamento seja fracionado deve colocar-se no respetivo rótulo um pictograma identificativo do tipo de fração (meio, terço ou quarto), associado às cores do semáforo (vermelho para dosagens mais elevadas, amarelo para dosagens intermédias e verde para dosagens mais baixas), minimizando desta forma possíveis erros.

Em suma, a embalagem permite a obtenção do medicamento individualizado na dose prescrita, reduzindo o tempo despendido pelo pessoal de enfermagem na preparação de medicação, os riscos de contaminação do medicamento, os erros de administração e proporcionando uma gestão melhorada dos recursos. No decorrer do estágio colaborei na validação do carregamento de medicamentos na FDS, colocando as respetivas cartonagens no relatório diário de enchimento emitido pelo equipamento.

7. Atividades de Farmácia Clínica [35]

A farmácia clínica é caracterizada pela intervenção farmacêutica centrada no doente, posicionando o farmacêutico em equipas multidisciplinares, com o objetivo de melhorar a eficiência terapêutica.

O farmacêutico hospitalar pratica uma série de atividades de farmácia clínica, tais como fomentar a utilização do guia farmacoterapêutico do CHUCB, controlar tempo de antibioterapia e o uso de antibióticos de uso restrito, monitorizar a utilização de medicamentos, acompanhar a nutrição artificial, integrar visitas clínicas, monitorizar níveis séricos de fármacos, farmacovigilância, monitorizar a adesão à terapêutica, colaborar na elaboração de *guidelines* e protocolos, fornecer informação de medicamentos e elaborar quadrimestralmente a *Newsletter* dos SF.

7.1 Visita aos Serviços Clínicos [35]

Periodicamente, o farmacêutico participa em visitas clínicas, nas quais integra uma equipa multidisciplinar constituída por vários profissionais de saúde, nomeadamente médicos, enfermeiros, assistentes sociais, psicólogos, nutricionistas, fisioterapeutas e terapeutas da fala (estes dois últimos principalmente na visita à UAVC). No CHUCB, estas visitas são realizadas semanalmente em alguns dos SCs (gastroenterologia, UAVC, Medicina 1, Medicina 2, Cirurgia 1, Cirurgia 2 e UCI). Um indicador de qualidade associado a esta área traduz-se na monitorização do número de visitas efetuadas aos serviços. Atualmente, considerando o contexto de pandemia em que vivemos, o número de visitas aos SCs é reduzido.

No decurso da visita, o médico refere o diagnóstico, histórico clínico, evolução clínica, tempo de internamento e terapêutica farmacológica instituída para cada doente. O papel do farmacêutico nestas visitas consiste na otimização da terapêutica do doente, detetando e corrigindo erros de medicação (via de administração, dose, duração do tratamento), bem como sugerindo alternativas terapêuticas.

Durante a minha permanência no setor de DIDDU tive oportunidade de assistir a uma visita clínica à UAVC, onde pude constatar a importância da presença do farmacêutico para esclarecer quaisquer dúvidas e resolver eventuais problemas relacionados com o perfil farmacoterapêutico do doente.

7.2 Farmacovigilância

O principal objetivo da farmacovigilância é detetar, registar e avaliar RAM para, subsequentemente, determinar a incidência, gravidade e relação de causalidade com os medicamentos.

O farmacêutico deve notificar as RAM que deteta ao SNF, através do preenchimento de um impresso próprio disponível no INFARMED ou link da Intranet do CHUCB destinado a esse fim. Frequentemente, o farmacêutico também notifica RAM a pedido do doente ou de outro profissional de saúde. As RAM graves, inesperadas ou outras informações pertinentes são alvo de notificação para o SNF. Todos os eventos adversos relacionados com um certo medicamento devem ser notificados à Equipa de Gestão de Risco [35,36].

No CHUCB existe um sistema interno de farmacovigilância ativa, que permite uma intervenção pró-ativa e próxima do doente. O farmacêutico questiona este sobre eventuais efeitos adversos que experienciou, com vista a detetar e notificar possíveis

reações adversas. Para além do doente, o farmacêutico pode também contactar o médico ou enfermeiro, procurando obter mais informações sobre a resposta do doente ao medicamento. Posteriormente, os SF procedem à análise dos eventos adversos relacionados com o medicamento enviados pelo Serviço de Gestão da Qualidade, avaliando o perfil de segurança. Esta farmacovigilância é aplicada a medicamentos sujeitos a monitorização adicional (nova substância ativa autorizada na União Europeia (UE) após 1 de janeiro de 2011; medicamento biológico, como uma vacina ou um medicamento derivado do plasma, autorizado na UE após 1 de janeiro de 2011; medicamento ao qual foi concedida uma autorização de utilização condicionada ou autorizado em circunstâncias excecionais; medicamento cuja empresa que o comercializou se encontra obrigada a realizar estudos de segurança pós-autorização [37]) e fármacos que são introduzidos de novo no guia farmacoterapêutico do CHUCB [35]. Todos os registos relacionados com a farmacovigilância ativa são efetuados num impresso intitulado “Sistema Farmacovigilância Ativa”.

Cada setor dos SF está incumbido de monitorizar vários fármacos que cumprem alguns dos requisitos supracitados. Atualmente, os farmacêuticos fazem farmacovigilância ativa dos seguintes fármacos: ceftazidima + avibactam, pertuzumab, nandrolona, remdesivir, isavuconazol, tinzaparina sódica, tocilizumab e infliximab. As vacinas contra o vírus SARS-CoV-2 são outro exemplo de formulação sujeita a farmacovigilância. No decorrer do estágio fiquei encarregue de criar um impresso de farmacovigilância ativa para um novo fármaco designado patirómero, completando os campos relativos ao nome do fármaco, nome comercial e à descrição dos efeitos indesejáveis presentes no seu RCM, por frequência. Tive ainda a oportunidade de preencher dois impressos de farmacovigilância ativa, pois durante o período em que estive no setor de DIDDU, uma e outro doentes foram submetidos a tratamento com tinzaparina sódica e remdesivir, respetivamente.

7.3 Farmacocinética Clínica: monitorização de fármacos na prática clínica [1,38]

A farmacocinética clínica consiste numa atividade praticada pelos farmacêuticos afetos ao setor de DIDDU, que permite monitorizar a evolução temporal das concentrações séricas de um certo fármaco no organismo humano e, posteriormente, determinar a dose de fármaco necessária para atingir uma concentração adequada no local de ação. A pesquisa pela dose certa de um dado fármaco a administrar pode diminuir o risco de sobredosagem ou subdosagem, principalmente em medicamentos com índice terapêutico estreito ou com variabilidade de comportamento cinético. Neste sentido, o principal objetivo da farmacocinética clínica passa pela individualização

posológica/otimização dos tratamentos farmacológicos, a fim de maximizar a eficácia terapêutica e minimizar a incidência de efeitos adversos.

Nos SF do CHUCB são realizados estudos de farmacocinética dos três seguintes antibióticos: vancomicina (glucopéptido), gentamicina e ampicilina (aminoglicosídeos). A monitorização sérica de um fármaco pode ser proposta pelo médico ou farmacêutico, preenchendo um impresso próprio para o efeito. O farmacêutico é responsável pela recolha dos dados necessários à monitorização junto do médico e do enfermeiro. Seguidamente, o médico deve requisitar o doseamento sérico do fármaco em estudo ao laboratório de Patologia Clínica. A colheita das amostras para análise pode ser efetuada em distintos momentos, de modo a obter as concentrações em vale (antes da administração do fármaco), em pico (após a administração) ou intermédia. A bibliografia descreve os valores ditos normais destas concentrações para os diferentes fármacos, sendo que no caso da vancomicina, por exemplo, a concentração em vale deve estar compreendida entre 10 e 15 µg/mL (infecção não grave) ou entre 15 e 20 µg/mL (infecção grave), dependendo do diagnóstico do doente, e a concentração sérica em pico deve variar entre 20 e 40 µg/mL.

Aquando da receção dos resultados analíticos, o farmacêutico hospitalar é responsável pela interpretação destes, recorrendo ao programa informático *Abbottbase pharmacokinetic system* (PKS). Após a introdução dos dados demográficos do doente (idade, peso, altura e sexo), a sua história farmacoterapêutica (data de início e duração da terapêutica, via de administração, dose e frequência), informação clínica, concentrações séricas do fármaco e informações laboratoriais (como a creatinina sérica), bem como a seleção do método farmacocinético, esta ferramenta determina os parâmetros farmacocinéticos individuais do doente (clearance do fármaco, volume de distribuição e tempo de semivida), permitindo propor um novo regime posológico adequado. Toda esta informação fica registada em impresso próprio, sendo este depois arquivado nos SF. Na área da farmacocinética, a monitorização da percentagem de propostas aceites pelo médico é considerada um objetivo de qualidade.

Durante a minha permanência nos SF tive oportunidade de acompanhar monitorizações farmacocinéticas de vancomicina, gentamicina e ampicilina em doentes distintos, ficando encarregue pelo preenchimento do impresso com os parâmetros estimados pelo PKS e pelo registo do número de propostas aceites.

7.4 Informação do Medicamento [1,39]

A crescente complexidade e número de novos medicamentos impossibilita a retenção de tanta informação por parte dos profissionais de saúde. Para minimizar este problema, os SFH compilam e tratam a informação científica sobre medicamentos, transmitindo-a aos outros profissionais de saúde e aos doentes. O serviço de informação contribui assim para a promoção do uso seguro, eficaz e económico dos medicamentos, dispositivos médicos e outros produtos farmacêuticos.

A informação pode ser cedida de forma passiva, em que o farmacêutico, com base em fontes bibliográficas fidedignas, dá resposta a questões colocadas por doentes ou outros profissionais de saúde. Idealmente, a resposta deve ser transmitida por escrito, porém, pode também ser comunicada verbalmente. O registo da informação de medicamentos prestada pelo farmacêutico é efetuado numa base de dados desenvolvida pelos SF do CHUCB (“Registo de Informação”), onde ficam guardados alguns dados, como a questão colocada, a respetiva resposta, as fontes bibliográficas usadas, o tempo de resposta, a identificação do consultante e do farmacêutico responsável pela cedência de informação. Em qualquer momento, todas as informações registadas podem ser consultadas, minimizando o tempo de resposta a questões anteriormente colocadas. Aquando do surgimento de novas questões, o farmacêutico pode pesquisar informações em livros, arquivos, entre outros.

Por outro lado, os SF elaboram informação escrita sobre medicamentos, comunicados e recomendações da CFT, alertas sobre novos efeitos adversos, política de medicamentos no hospital e revisões sobre novos fármacos, que disponibilizam na intranet do CHUCB, bem como desenvolvem folhetos ou pequenas monografias sobre temas específicos. Periodicamente, os farmacêuticos produzem também artigos sobre medicamentos para publicação em revistas profissionais e comunicações para apresentação em congressos. Quadrimestralmente, a *Newsletter* dos SF em formato de papel e digital (acessível na intranet) constitui a publicação destinada a divulgar notícias e informações de segurança relevantes para os profissionais de saúde. Todo este tipo de informação é designada por informação ativa, permitindo atualizar tanto os profissionais de saúde como os doentes sobre um dado medicamento.

A monitorização do número de registos de informação e a contabilização do tempo de resposta às questões colocadas são um objetivo e um indicador de qualidade subjacentes à prática farmacêutica hospitalar, respetivamente.

Ao longo do meu período de estágio, para além da elaboração de folhetos informativos sobre diversos medicamentos (dupilumab, bevacizumab, rituximab, vincristina e vimblastina), colaborei na atualização de tabelas com informação referente a pós/granulados para administração oral/retal e à administração de antirretrovirais disponíveis no CHUCB com ou sem alimentos. Registei também várias cedências de informação de medicamentos na aplicação informática, após a pesquisa em diferentes fontes bibliográficas, para dar resposta às questões colocadas, nomeadamente sobre ajustes de dose em populações especiais (compromisso renal e hepático), advertências e precauções em caso de gravidez ou aleitamento e interações medicamentosas dos fármacos valaciclovir, ganciclovir, dupilumab e guselcumab. No setor de DDDU averigui ainda a possibilidade de administração de formas farmacêuticas orais sólidas através de sonda nasogástrica, pesquisando informação sobre a respetiva técnica de manipulação adequada.

8. Participação do farmacêutico nos ensaios clínicos

[40,41]

Para além de todas as atividades desempenhadas pelo farmacêutico, a sua presença é obrigatória durante a realização de ensaios clínicos. Os farmacêuticos afetos ao setor dos ensaios clínicos têm uma série de responsabilidades, nomeadamente participação nas reuniões de início de ensaios clínicos com os promotores, gestão de toda a documentação, registo de toda a medicação recebida e dispensada (lotes e prazos de validade), gestão de *stocks* dos medicamentos experimentais, armazenamento dos mesmos, verificação das temperaturas de transporte e de armazenamento e dispensa da medicação em estudo.

Na sala de ensaios clínicos que existe nos SF do CHUCB são armazenados unicamente os medicamentos experimentais em locais próprios, de acordo com as suas necessidades de conservação, uma vez que é obrigatório estes estarem segregados dos restantes medicamentos e num local de acesso restrito. Assim, medicamentos termolábeis são guardados no frigorífico (2-8°C) e os outros que não necessitam de refrigeração, medicamentos estáveis à temperatura ambiente, são arrumados num armário. Em ambos existe controlo de temperatura e humidade e estão organizados por ensaio clínico com identificação do promotor, investigador principal e medicamento em estudo. Tendo em conta que o SGICM não dispõe de nenhum módulo destinado ao registo das atividades relacionadas com os ensaios clínicos, os SF desenvolveram documentação apropriada, particularmente um impresso para resumo do ensaio, e uma base de dados (ficheiro *excel*) para registo da data de receção e dispensa, lotes e prazos de validade,

facilitando deste modo o controlo de *stocks* dos medicamentos experimentais. A documentação relativa aos ensaios que se encontram a decorrer é arquivada na sala de ensaios clínicos. Por outro lado, no gabinete da diretora do serviço é mantida a documentação de ensaios já encerrados, por um período mínimo de 15 anos.

Para a realização de um ensaio clínico é necessário obter, primeiramente, uma autorização do INFARMED e pareceres da Comissão de Ética para a Investigação Clínica e Comissão Nacional de Proteção de Dados. Após a aprovação, o promotor entra em contacto com os respetivos centros. Caso estes aceitem participar no ensaio, o promotor informa os farmacêuticos responsáveis sobre todos os procedimentos, fornecendo toda a documentação. Cada centro participante tem de possuir as condições necessárias à realização do ensaio.

O farmacêutico é responsável pela dispensa de medicamentos experimentais, mediante apresentação de prescrição médica em formulário próprio. A medicação pode ser cedida ao participante, enfermeiro ou investigador, dependendo do desenho do protocolo. O farmacêutico deve ainda fornecer informação verbal e/ou escrita ao participante, acerca do ensaio clínico e uso do medicamento, garantindo a sua segurança e promovendo a adesão à terapêutica. Todos os medicamentos não administrados e as embalagens vazias dos medicamentos utilizados devem ser devolvidos pelos participantes aos SF, permitindo posteriormente determinar a *compliance*. Estas devoluções são armazenadas em armário próprio, organizado também por ensaio clínico, sendo mais tarde recolhidas pelo promotor ou pela entidade definida por este, que procede depois à contabilização e incineração. Quando se trata de fármacos citotóxicos, estes são eliminados apropriadamente no próprio centro.

9. Comissões Técnicas

Tendo em conta que são órgãos de apoio técnico e de carácter consultivo, as comissões técnicas hospitalares têm como missão auxiliar o CA na tomada de decisões ou em outras matérias da sua competência, a fim de prestar serviços de qualidade aos doentes.

As comissões técnicas obrigatórias numa instituição hospitalar são a Comissão de Controlo de Infecção, Comissão de Ética para a Saúde, CFT e a Comissão de Qualidade e Segurança do Doente. A presença do farmacêutico é obrigatória em todas estas comissões, exceto na Comissão de Qualidade e Segurança do Doente.

No que diz respeito à CFT, esta comissão é constituída por três médicos e três farmacêuticos, sendo que um dos membros da CFT estabelece a ligação com o Programa de Prevenção e Controlo de Infecções e de Resistência aos Antimicrobianos (PPCIRA). A

principal missão da CFT é propor, no âmbito das respetivas unidades de saúde, as orientações terapêuticas e o uso mais eficiente dos medicamentos, monitorizando a prescrição dos medicamentos, a sua utilização e garantindo a todos os utentes a equidade no acesso à terapêutica. A CFT reúne semanalmente, sendo que as deliberações são depois divulgadas no CHUCB através de circulares informativas [42].

Em relação à Comissão de Ética, a mesma deve ser composta por cinco a onze membros provenientes de áreas diferentes (medicina, direito, filosofia/ética, teologia, enfermagem, farmácia, entre outras), dos quais pelo menos dois devem ser externos à instituição. O principal objetivo desta comissão é garantir a dignidade e integridade humana aquando da prestação de cuidados de saúde ou investigação clínica no hospital, emitindo pareceres exclusivos para cada caso ou promovendo ações de formação em bioética para os profissionais de saúde da instituição [43].

Outras comissões que existem no CHUCB são a Comissão Técnica de Certificação da Interrupção Voluntária da Gravidez, a Comissão de Técnicos de Diagnóstico e Terapêutica, a Comissão Mista do CHUCB e Universidade da Beira Interior (UBI) e a Comissão de Enfermagem.

10. Considerações Finais

Durante o meu estágio curricular nos SF do CHUCB, tive oportunidade de conhecer o papel do farmacêutico hospitalar, participando em várias das atividades desempenhadas pelo mesmo. Neste período, pude constatar que este profissional de saúde acompanha todo o circuito do medicamento, desde a sua aquisição, até à sua chegada ao doente. Além disso, a comunicação do farmacêutico hospitalar com os restantes profissionais de saúde (médicos, enfermeiros, entre outros) revela ser fundamental para o correto funcionamento do hospital e sucesso terapêutico do doente.

Nos diferentes setores dos SF, pude contactar com diversos medicamentos de uso exclusivo hospitalar, bem como especialidades médicas pouco comuns na FC. Assim, esta experiência permitiu-me desenvolver novas competências, bem como adquirir novos conhecimentos, que considero muito úteis para o meu desenvolvimento enquanto futura farmacêutica.

Por fim, agradeço a toda a equipa dos SFH do CHUCB pela disponibilidade em me integrar, ensinar e ajudar.

11. Referências Bibliográficas

- [1] Conselho Executivo da Farmácia Hospitalar. Manual da Farmácia Hospitalar. Ministério da Saúde. 2005.
- [2] Ordem dos farmacêuticos. Farmácia Hospitalar. [acedido a 6 de junho de 2021]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-hospitalar/>
- [3] Conselho do Colégio da Especialidade em Farmácia Hospitalar. Manual de Boas Práticas de Farmácia Hospitalar. Ordem dos Farmacêuticos. 1999.
- [4] Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento Operativo CHCB.PO.FARM.15 - Autorização de Utilização Excecional de Medicamentos, 2^a edição. 2019.
- [5] Deliberação n.º 1546/2015, de 6 de agosto. Diário da República, 2^a série. N.º 152 de 6 de agosto de 2015. Ministério da Saúde.
- [6] Portaria n.º 981/98, de 8 de junho. *Execução das medidas de controlo de estupefacientes e psicotrópicos. Legislação Farmacêutica Compilada*. INFARMED.
- [7] Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento Interno CHCB.PI.FARM.15 - Gestão de gases medicinais. 1^a edição. 2020.
- [8] Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento Interno CHCB.PI.FARM.10 - Conferência de medicamentos/outros produtos de saúde entrados nos Serviços Farmacêuticos. 3^a edição. 2020
- [9] Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento Operativo CHCB.PO.FARM.08 - Armazenamento e Distribuição – atividades desenvolvidas. 5^a edição. 2020.
- [10] Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento interno CHCB.PI.FARM.36 - Normas e sinalética de segurança para medicamentos. 1^a edição. 2019.
- [11] Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento operativo CHCB.PO.FARM.19 – Normas para a receção e armazenamento de substâncias inflamáveis. 4^a edição. 2019.
- [12] Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento operativo CHCB.PO.FARM.03 - Normas em caso de acidente envolvendo citotóxicos. 4^a edição. 2020.
- [13] Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento operativo CHCB.PO.FARM.04 – Normas para a receção e armazenamento de matérias-primas e material de embalagem. 5^a edição. 2019.

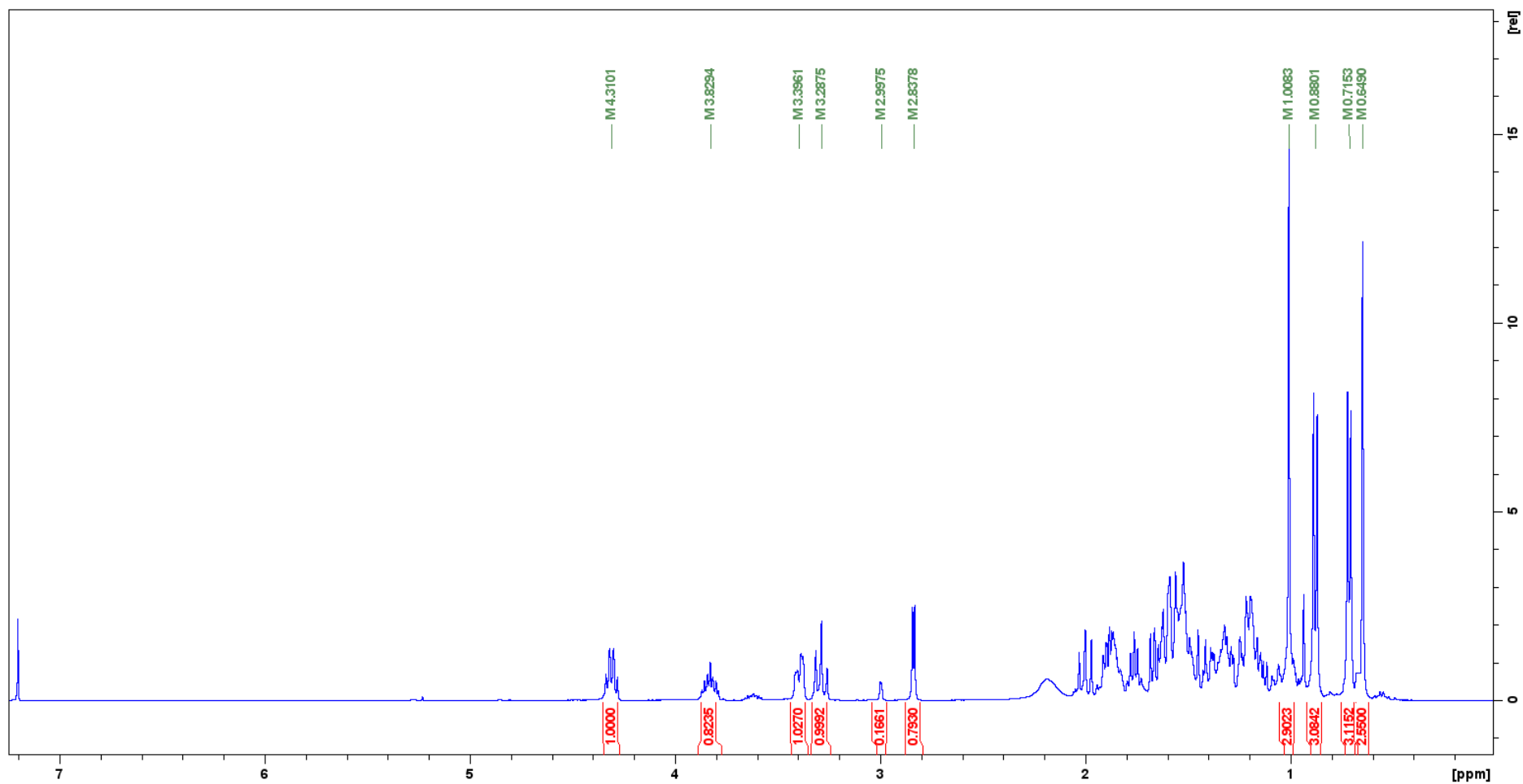
- [14] Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento Interno CHCB.PI.FARM.11 - Controlo de *stocks* e validades dos armazéns dos Serviços Farmacêuticos. 2^a Edição. 2020.
- [15] Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento Interno CHCB.PI.FARM.12- Recolha de Lotes de Medicamentos ordenada pelo Infarmed, ou Produtores/Distribuidores. 1^a edição. 2019.
- [16] Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento Interno CHCB.PI.FARM.28- Distribuição semiautomática (*Pyxis™*). 2^a edição. 2020.
- [17] Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento Interno CHCB.PI.FARM.08 - Distribuição individual diária em dose unitária de medicamentos. 5^a edição. 2019.
- [18] Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento Interno CHCB.PI.FARM.04 - Dispensa de medicamentos em ambulatório. 6^a edição. 2019.
- [19] Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento Interno CHCB.PI.COMFT.21 – Dispensa gratuita de medicamentos sem suporte legal, em ambulatório hospitalar. 1^a edição. 2017
- [20] Portaria n.º 48/2016, de 22 de março. Diário da República, 1^a Série. N.º 57 de 22 de março de 2016. Ministério da Saúde.
- [21] Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento Interno CHCB.PI.FARM.26 - Circuito de Estupefacientes e Psicotrópicos. 4^a edição. 2019.
- [22] Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento Interno CHCB.PI.FARM.05-Circuito de medicamentos hemoderivados. 1^a edição. 2019.
- [23] Despacho n.º 1051/2000, de 14 de setembro. *Registo de medicamentos derivados de plasma. Legislação farmacêutica compilada*. INFARMED.
- [24] Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento Interno CHCB.PI.FARM.32- Reposição dos *stocks* de complexo Protrombínico e Fibrinogénio Humano no Serviço de Imunohemoterapia. 2^a edição. 2020.
- [25] Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento Operativo CHCB.PO.FARM.05 - Normas para a preparação e controlo de qualidade de fórmulas farmacêuticas estéreis e nutrição parentérica nos serviços farmacêuticos, 9^a edição. 2019.
- [26] Conselho do Colégio de Especialidade de Farmácia Hospitalar. Manual de Nutrição Artificial. Ordem dos Farmacêuticos. 2004.

- [27] Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento Operativo CHCB.PO.FARM.02 - Normas para a preparação de medicamentos citotóxicos nos serviços farmacêuticos, 11^a edição. 2020.
- [28] Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento Interno CHCB.PI.CHCB.221 - Articulação entre serviços envolvidos no circuito da quimioterapia injetável, 1^a edição. 2019.
- [29] Conselho do Colégio de Especialidade de Farmácia Hospitalar. Manual de Citotóxicos. Ordem dos Farmacêuticos. 2013.
- [30] Resumo das características do medicamento (RCM) Myozyme - Alglucosidase alfa, Human Medicines Database of European Medicines Agency (EMA). [acedido 14 de julho de 2021]. Disponível em: https://www.ema.europa.eu/documents/product-information/myozyme-epar-product-information_pt.pdf
- [31] Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento Operativo CHCB.PO.FARM.12 - Normas para a preparação e controlo de qualidade de fórmulas farmacêuticas não estéreis, 7^a edição. 2020.
- [32] Portaria n.º 594/2004, de 2 de junho. Diário da República, 1^a série. N.º 129 de 2 de junho de 2004. Ministério da Saúde.
- [33] Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento Operativo CHCB.PO.FARM.13 - Preparação de Água Purificada nos Serviços Farmacêuticos, 5^a edição. 2020.
- [34] Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento Operativo CHCB.PO.FARM.01 - Normas para a Reembalagem de medicamentos orais sólidos, 7^a edição. 2020.
- [35] Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento Interno CHCB.PI.FARM.31 - Farmacovigilância e Farmácia Clínica. 2^a Edição. 2019.
- [36] INFARMED. Portal RAM. [acedido a 20 de junho de 2021]. Disponível em: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/submissaoram>
- [37] INFARMED. Medicamentos sujeitos a monitorização adicional. [acedido 20 de junho de 2021]. Disponível em: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/farmacovigilancia/medicamentos-sujeitos-a-monitorizacao-adicional>
- [38] Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento Interno CHCB.PI.FARM.30 - Processo de Farmacocinética. 1^a Edição. 2019.
- [39] Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento Interno CHCB.PI.FARM.06 - Processo de informação de medicamentos. 1^a edição. 2019.

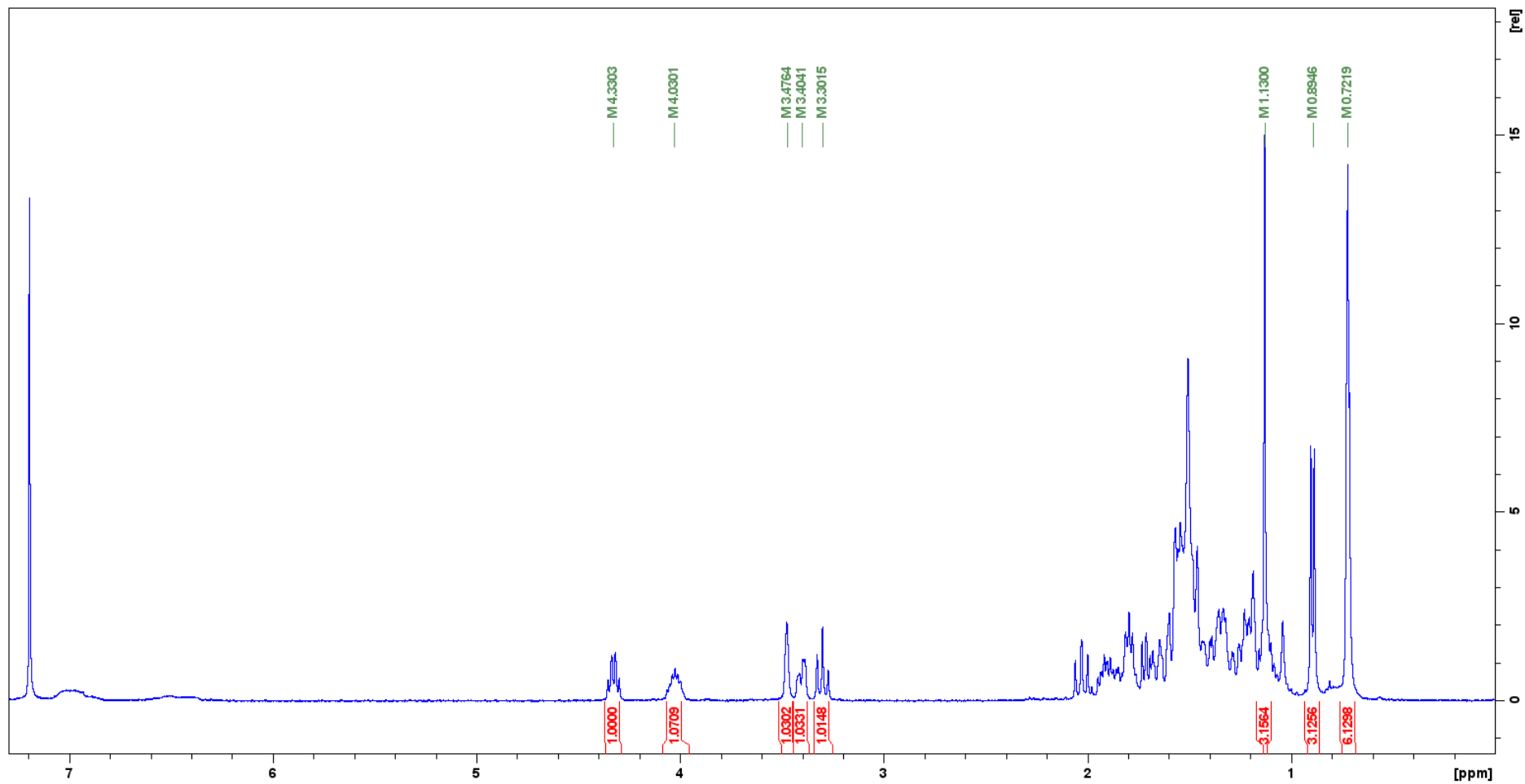
- [40] Lei n.º 21/2014, de 16 de abril. Diário da República, 1ª série. N.º 75 de 16 de abril de 2014. Assembleia da República.
- [41] Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento Interno CHCB.PI. FARM.33 - Processo de ensaios clínicos, 4ª edição. 2018.
- [42] Despacho n.º 2325/2017, de 17 de março. Diário da República, 2ª série. N.º 55 de 17 de março de 2017. Ministério da saúde.
- [43] Decreto-Lei n.º 80/2018, de 15 de outubro. Diário da República, 1ª série. N.º 198 de 15 de outubro de 2018. Ministério da saúde.

Anexos

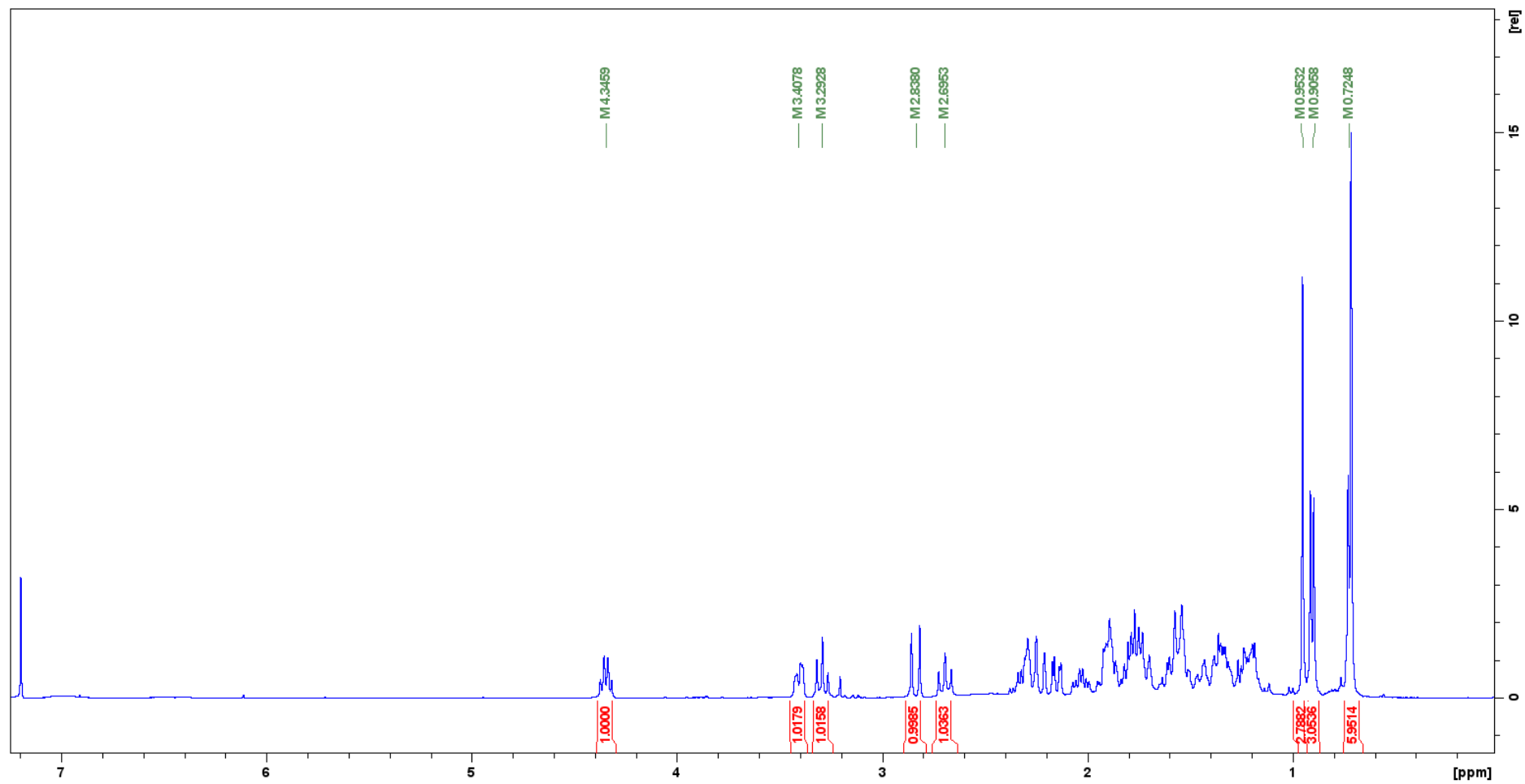
Anexo 1 - Espetro de ^1H RMN do composto C1 (5,6-epoxidiosgenina).



Anexo 2 - Espectro de ^1H RMN do composto C2 (espirostano- $3\beta,5\alpha,6\beta$ -triol).



Anexo 3 - Espectro de ^1H RMN do composto C5 (5 α -hidroxiespiroetano-3,6-diona).



Anexo 4 - Modelo de requisição de medicamentos estupefacientes e psicotrópicos
(Anexo X) - Portaria n.º 981/98, de 8 de junho.

REQUISIÇÃO DE SUBSTÂNCIAS SUAS PREPARAÇÕES COMPREENDIDAS NAS TABELAS I, II, III E IV, COM EXCEÇÃO DA II-A,
ANEXAS AO DECRETO-LEI N.º 15/93, DE 22 DE JANEIRO, COM RECTIFICAÇÃO DE 20 DE FEVEREIRO N.º

Serviços Farmacêuticos
do

Código
SERVIÇO
SALA

Medicamento (D.C.I.)	Forma Farmacêutica	Dosagem	Código

Nome do Doente	Cama/ Processo	Quantidade Pedida Ou Prescrita	Enfermeiro que administra o Medicamento		Quantidade Fornecida	Observações
			Rubrica	Data		
Total					Total	

Assinatura legível do director de serviço ou legal substituto Data __/__/__ N.º Mec. _____	Assinatura legível do director do serviço farmacêutico ou legal substituto. Data __/__/__ N.º Mec. _____	Entregue por (ass. Legível) _____ N.º Mec. _____ Data __/__/__ Recebido por (ass. Legível) _____ N.º Mec. _____ Data __/__/__
--	--	--

Anexo 5 - Modelo de requisição, distribuição e administração de medicamentos hemoderivados (Despacho n.º 1051/2000).

5.1 - “Via Farmácia”

Número de série _____

VIAFARMÁCIA

**MEDICAMENTOS HEMODERIVADOS
REQUISIÇÃO/DISTRIBUIÇÃO/ADMINISTRAÇÃO**
(Arquivar pelos Serviços Farmacêuticos ()*)

HOSPITAL _____ SERVIÇO _____

Médico <i>(Nome legível)</i>	Identificação do doente <i>(nome, B.I., n.º do processo, n.º de utente do SNS)</i>	Quadro A
N.º Mec. ou Vinheta		
Assinatura _____		
Data __/__/__		
<i>Apor etiqueta autocolante cisógrafa ou outro. Enviar tantos autocolantes, com a identificação do doente, quantas as unidades requisitadas</i>		
REQUISIÇÃO/JUSTIFICAÇÃO CLÍNICA <i>(A preencher pelo médico)</i>		
Hemoderivado _____ <i>(Nome, forma farmacêutica, via de administração)</i>	Duração do tratamento _____	Quadro B
Dose/Frequência _____		
Diagnóstico/Justificação Clínica _____		

REGISTO de DISTRIBUIÇÃO N.º ____/____ <i>(*) (A preencher pelos Serviços Farmacêuticos)</i>				Quadro C
Hemoderivado/dose	Quantidade	Lote	Lab. Origem/Fornecedor	N.º Cert. INFARMED
Enviado __/__/__ Farmacêutico _____	N.º Mec. _____			

() Excepcionalmente o Plasma Fresco Congelado Inativado poderá ser distribuído e ter registo e arquivo no serviço de Imunohemoterapia*

Recebido __/__/__ Serviço requisitante _____ N.º Mec. _____
(Assinatura)

<p>I. Instruções relativas à documentação: A requisição, constituída por 2 vias (VIAFARMÁCIA E VIASERVIÇO), é enviada aos Serviços Farmacêuticos após preenchimento dos Quadros A e B pelo serviço requisitante. O quadro C é preenchido pelos Serviços Farmacêuticos. VIASERVIÇO – A preencher pelo serviço requisitante e arquivar no processo clínico do doente. VIAFARMÁCIA – Permanece em arquivo nos Serviços Farmacêuticos. <u>Excepcionalmente, a distribuição e registo do plasma fresco congelado inativado, bem como o arquivo da viafarmácia, poderá ser feito pelos serviços de imunohemoterapia.</u></p> <p>II. Instruções relativas ao produto medicamentoso: a) Cada unidade medicamentosa fornecida será etiquetada pelos Serviços Farmacêuticos com as respectivas condições de conservação e identificação do doente e do serviço requisitante. b) Os produtos não administrados no prazo de 24 horas e atendendo às condições de conservação do rótulo, serão obrigatoriamente devolvidos aos Serviços Farmacêuticos. No quadro D será lavrada a devolução, datada e assinada (n.º mecanográfico).</p>

Anexo 6 - Bolsas de nutrição parentérica disponíveis para prescrição no CHUCB.

Nome comercial	Designação	Volume	Veia de administração	Aporte calórico
<i>Nutriflex® Lipid peri</i>	A. A. 4,6 g/L N + Glucose 64g/L + Lip 40 g/L + Elect Emul Inj Sac triplo 1250mL	1250mL	Periférica ou Central	955 Kcal
<i>Smofkabiven® Central</i>	A. A. 8 g/L N + Glucose 127g/L + Lip 38 g/L + Elect Emul Inj Sac triplo 1477mL	1477mL	Central	1600 Kcal
<i>Smofkabiven® Central</i>	A. A. 8 g/L N + Glucose 127g/L + Lip 38 g/L + Elect Emul Inj Sac triplo 1970mL	1970mL	Central	2200 Kcal