



**Síntese de derivados oxidados da diosgenina  
e estudo das suas propriedades anti-tumorais**  
Experiência Profissionalizante na vertente de Farmácia  
Comunitária e Investigação

**Sérgio Barros Ferreira**

Relatório para obtenção do Grau de Mestre em  
**Ciências Farmacêuticas**  
(mestrado integrado)

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

**outubro de 2021**



# Agradecimentos

Em primeiro lugar quero agradecer ao meu orientador, o Professor Doutor Samuel Silvestre, por me ter dado esta oportunidade de trabalhar numa área que tanto me agrada, pelo seu profissionalismo, pela confiança que depositou em mim e pela sua tranquilidade e perseverança perante todas as situações. Quero também agradecer todas sugestões e pela revisão crítica deste projeto.

Quero deixar também um agradecimento a toda a equipa da Farmácia Mousaco Torrão, à Paula, Cristina, Tininha, Joana e em especial à Dr.<sup>a</sup> Isabel Curto pela disponibilidade, amizade e por todos os conselhos e ensinamentos transmitidos ao longo do período de estágio. Serão pessoas que levarei em consideração durante a minha vida profissional.

A todos os meus colegas de laboratório, ao Octávio, ao Pedro, ao Marco, que se mostraram sempre dispostos a ajudar quando era necessário, e em especial à Vanessa, a minha coorientadora, por todo o trabalho, disponibilidade, paciência e conhecimentos passados. Agradeço igualmente à Micaela, que me acompanhou nesta aventura, por toda a ajuda, apoio, companhia e força que me deu para prosseguir com este projeto, sem ela teria sido muito mais difícil.

A minha profunda gratidão a todos os meus amigos, particularmente aos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, que me acompanharam desde o início desta longa caminhada e me proporcionaram momentos inesquecíveis, pelas inúmeras alegrias e situações passadas em conjunto, pelas noitadas a estudar e por todos os momentos de descontração, foi graças a eles que posso dizer que estes foram os melhores anos da minha vida.

À minha namorada, que foi a pessoa que ouviu os meus desabaços, que me levantou a moral quando nada corria como esperado, que esteve sempre lá para me apoiar e incentivar a continuar em frente, com palavras motivadoras e positivas. Quero agradecer-lhe por acreditar nas minhas capacidades e por ter contribuído tanto para chegar ao fim deste percurso.

Por último, e mais importante, a toda a minha família, em especial aos meus pais, irmã e avós, que me apoiaram em todas as decisões e tornaram isto possível, graças aos seus inúmeros esforços e sacrifícios, por toda a confiança depositada em mim, por todo o carinho e por constituírem um pilar fundamental na minha vida.

A todos vocês, o meu sincero e profundo obrigado!



## Resumo

O cancro é um dos principais problemas de saúde pública em todo o mundo, correspondendo à segunda principal causa de morte em Portugal. Ao longo dos últimos anos, os dados publicados permitem verificar um aumento na sua incidência. No entanto, a mortalidade tem diminuído, o que se pode justificar, nomeadamente, pela presença de programas de rastreio que permitem o diagnóstico precoce e pela existência de cada vez mais tratamentos com maior eficácia. Contudo, muitos destes tratamentos estão associados a efeitos adversos graves e limitantes, que levam os doentes a não cumprir com o tratamento estipulado. Posto isto, é necessário prosseguir com a pesquisa e desenvolvimento de novas soluções terapêuticas mais seletivas, de forma a minimizar estas adversidades.

Os esteroides apresentam diversas aplicações e potencialidades, entre as quais a ação antitumoral. Este estudo focou-se na diosgenina, uma sapogenina esteroide conhecida pela sua eficácia contra uma variedade de patologias, nomeadamente o cancro, doenças inflamatórias e distúrbios metabólicos. Porém, esta apresenta algumas desvantagens do ponto de vista farmacocinético e farmacodinâmico, sendo tomada como ponto de partida para a síntese de novos compostos, com o intuito de superar estes inconvenientes.

Assim, o objetivo deste estudo passou pela síntese, purificação e caracterização de derivados oxidados da diosgenina e pela avaliação do seu potencial antitumoral, recorrendo a três linhas celulares cancerígenas humanas: as células epiteliais do adenocarcinoma mamário metastático (MCF-7) e células do adenocarcinoma da próstata sensíveis (LNCaP) e não sensíveis a androgénios (PC-3), através do ensaio de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT).

A abordagem sintética seguida permitiu a preparação de dois compostos oxidados, espirostano-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol (C2) e 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -dihidroxiestero-6-ona (C3), os quais seguiram para os estudos de citotoxicidade. Os resultados mais promissores foram observados nas células PC-3, sendo que tanto o C2 (IC<sub>50</sub>=15,15 $\mu$ M) como o C3 (IC<sub>50</sub>=14,52 $\mu$ M) mostraram resultados relevantes. Também se avaliou a inibição da enzima 5 $\alpha$ -redutase através da quantificação de testosterona por intermédio de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detetor de rede de díodos (HPLC-DAD) onde se verificou que os compostos não parecem apresentar atividade inibitória marcada para essa enzima.

O Capítulo II é o resultado do estágio realizado em Farmácia Comunitária, que decorreu na Farmácia Mousaco Torrão, na vila do Ferro, concelho da Covilhã, no período de 1 de março a 2 de julho de 2021, sob a orientação da Dr.<sup>a</sup> Isabel Curto. Neste capítulo

encontra-se descrita toda a minha experiência profissional, desde o funcionamento da farmácia à apresentação das tarefas e atividades desempenhadas ao longo deste período.

## **Palavras-chave**

Diosgenina; Esteroides; Cancro; Oxidação; Atividade Antiproliferativa;  $5\alpha$ -redutase;  
Farmácia Comunitária

# Abstract

Cancer is one of the main public health problems worldwide, corresponding to the second leading cause of death in Portugal. Over the last few years, published data allow verifying an increase in its incidence. However, mortality has decreased, which can be justified, particularly, by the presence of screening programs that lead to early diagnosis and the existence of more treatments with higher efficacy. Nonetheless, most of these treatments are associated with severe and limiting adverse effects, which lead patients to not comply with the prescribed treatment. Therefore, it is necessary to proceed with the research and development of new therapeutic solutions that are more selective, to minimize these adversities. Steroids have several applications and potential, including antitumor activity. This study is focused on diosgenin, a steroidal sapogenin known for its effectiveness against a variety of pathologies, including cancer, inflammatory diseases and metabolic disorders. However, it has some disadvantages from a pharmacokinetic and pharmacodynamic point of view, being taken as a starting point for the synthesis of new compounds, to overcome these inconveniences.

Therefore, the aim of this study was the synthesis, purification, and characterization of oxidized derivatives of diosgenin and the evaluation of their antitumor potential, using three human cancer cell lines: metastatic breast adenocarcinoma epithelial cells (MCF-7) and prostate adenocarcinoma cells sensitive (LNCaP) and non-sensitive to androgen (PC-3), using the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay.

The synthetic approach followed allowed the preparation of two oxidized compounds, spirostan-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol (C2) and 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -dihydroxySpirostan-6-one (C3), which were followed for cytotoxicity studies. The most promising results were obtained for PC-3 cells, in which both C2 (IC<sub>50</sub>=15.15 $\mu$ M) and C3 (IC<sub>50</sub>=14.52 $\mu$ M) showed relevant results. The inhibition of the 5 $\alpha$ -reductase enzyme was also evaluated through the quantification of testosterone through high-performance liquid chromatography with diode-array (HPLC-DAD), where it was found that the compounds do not seem to present marked inhibitory activity for this enzyme.

Chapter II is the result of the internship carried out in Community Pharmacy, which took place at Farmácia Mousaco Torrão, located in the town of Ferro, in the municipality of Covilhã, from March 1<sup>st</sup> to July 2<sup>nd</sup>, 2021, under the guidance of Dr. Isabel Curto. In this chapter is described all my professional experience, from the operation of the pharmacy to the presentation of the tasks and activities performed during this period.

## **Keywords**

Diosgenin; Steroids; Cancer; Oxidation; Anti-Proliferative Activity; 5 $\alpha$ -reductase;  
Community Pharmacy

# Índice

Resumo .....	v
Abstract.....	vii
Lista de Figuras.....	xv
Lista de Tabelas .....	xvii
Lista de Gráficos .....	xix
Lista de Acrónimos .....	xxi
<b>Capítulo I – Síntese de derivados oxidados da diosgenina e estudo das suas propriedades anti-tumorais .....</b>	<b>1</b>
<b>1. Introdução .....</b>	<b>1</b>
1.1 O cancro .....	1
1.1.1. Epidemiologia do cancro.....	1
1.1.2. Biologia Celular do Cancro.....	3
1.1.3. Cancros hormono-dependentes .....	4
1.1.3.1. Cancro da próstata .....	4
1.1.3.2. Cancro da mama .....	7
1.1.4. Tratamento e <i>Follow-up</i> .....	9
1.2 Descoberta e desenvolvimento de fármacos antitumorais e a importância de saponinas e sapogeninas neste âmbito .....	11
1.3 Os esteroides .....	13
1.3.1. Propriedades estruturais e físico-químicas dos esteroides.....	14
1.3.2. Utilização de esteroides na terapia do cancro.....	15
1.4 A diosgenina.....	16
1.4.1. Características estruturais e físico-químicas da diosgenina .....	16
1.4.2. Atividades farmacológicas da diosgenina .....	17
1.4.3. Atividade anticancerígena da diosgenina .....	18
1.4.4. Atividade antitumoral dos derivados semissintéticos da diosgenina e novas formulações de diosgenina com interesse no tratamento do cancro.....	21
<b>2. Justificação do tema e objetivos.....</b>	<b>23</b>
<b>3. Parte Experimental.....</b>	<b>24</b>
3.1 Síntese Química.....	24

3.1.1.	Materiais e Equipamentos .....	24
3.1.2.	Reagentes e Solventes .....	24
3.1.3.	Procedimentos de cromatografia .....	25
3.1.4.	Procedimentos experimentais da síntese química.....	25
3.1.4.1	Síntese da 5,6-epoxidiosgenina (C1) – Reação de epoxidação [129] ....	
	.....	25
3.1.4.2	Síntese do espirostan-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol (C2) – Reação de abertura do epóxido [19].....	26
3.1.4.3	Síntese da 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -dihidroxiestero-6-ona (C3) – Reação de oxidação do 6 $\beta$ -OH [130] .....	27
3.1.4.4	Tentativa de síntese da 3 $\beta$ -hidroxiestero-4-en-6-ona (C4) – Reação de eliminação do álcool terciário em C-5 com formação de um ciclohexeno [131] .....	28
3.1.4.5	Tentativa de síntese da 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -dihidroxiestero-6-oxima (C5) – Formação de uma oxima em C-6 [132] .....	29
3.2	Avaliação Biológica .....	29
3.2.1.	Materiais e Reagentes .....	29
3.2.2.	Equipamentos .....	30
3.2.3.	Linhas celulares.....	30
3.2.3.1.	MCF-7.....	31
3.2.3.2.	PC-3.....	31
3.2.3.3.	LNCaP .....	31
3.2.4.	Técnicas de Cultura Celular .....	31
3.2.4.1.	Tripsinização .....	31
3.2.4.2.	Contagem e sementeira celular .....	32
3.2.5.	Ensaio de viabilidade celular .....	33
3.2.5.1.	Preparação e incubação dos compostos.....	33
3.2.5.2.	Ensaio MTT .....	34
3.2.6.	Ensaio enzimático: Quantificação de testosterona por HPLC-DAD para averiguar a percentagem de inibição da 5-AR .....	35
3.2.6.1.	Preparação das soluções.....	35

3.2.6.2. Procedimento experimental.....	36
3.2.6.3. Parâmetros do ensaio no HPLC-DAD.....	36
3.2.7. Análise estatística.....	37
<b>4. Resultados e Discussão .....</b>	<b>37</b>
4.1 Síntese química .....	37
4.2 Avaliação biológica.....	40
4.2.1. Resultados dos ensaios de viabilidade celular .....	40
4.2.1.1. MCF-7.....	40
4.2.1.2. PC-3.....	42
4.2.1.3. LNCaP .....	43
4.2.2. Determinação da IC <sub>50</sub> dos compostos testados para as diferentes linhas celulares.....	44
4.2.3. Inibição da 5-AR .....	47
<b>5. Conclusão e Perspetivas Futuras.....</b>	<b>48</b>
<b>Capítulo II - Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária.....</b>	<b>51</b>
<b>1. Introdução .....</b>	<b>51</b>
<b>2. Organização e caracterização da farmácia .....</b>	<b>52</b>
2.1. Localização .....	52
2.2. Horário de funcionamento.....	52
2.3. Espaço físico da farmácia .....	52
2.3.1. Espaço exterior.....	52
2.3.2. Espaço interior .....	53
2.4. Recursos Humanos .....	56
2.5. Sistema Informático.....	57
<b>3. Informação e documentação científica .....</b>	<b>58</b>
<b>4. Medicamentos e outros produtos de saúde .....</b>	<b>59</b>
4.1. Medicamentos .....	59
4.2. Outros produtos de saúde .....	60
4.3. Classificação dos medicamentos.....	60
<b>5. Aprovisionamento e armazenamento .....</b>	<b>61</b>

5.1.	Gestão de encomendas .....	61
5.2.	Tipos de encomendas .....	62
5.3.	Fornecedores .....	63
5.4.	Receção de encomendas.....	64
5.5.	Margens de comercialização .....	65
5.6.	Marcação dos preços .....	66
5.7.	Armazenamento .....	66
5.7.1.	Condições de armazenamento .....	66
5.7.2.	Organização do armazém.....	67
5.8.	Prazos de validade.....	68
5.9.	Devoluções .....	69
<b>6.</b>	<b>Interação Farmacêutico-Utente-Medicamento.....</b>	<b>69</b>
6.1.	Aspetos éticos e deontológicos e informação ao utente .....	69
6.2.	Farmacovigilância .....	71
6.3.	Reencaminhamento dos medicamentos fora de uso e gestão de resíduos ... .....	71
6.3.1.	Valormed.....	71
<b>7.</b>	<b>Dispensa de Medicamentos.....</b>	<b>72</b>
7.1.	Classificação de medicamentos quanto à dispensa.....	73
7.2.	Medicamentos Sujeitos a Receita Médica.....	74
7.2.1.	Prescrição médica .....	74
7.2.1.1.	Tipos de prescrição médica.....	74
7.2.1.2.	Validação da prescrição.....	76
7.2.2.	Processo da dispensa de MSRM.....	77
7.2.3.	Dispensa de Psicotrópicos e Estupefacientes.....	79
7.2.4.	Regimes de Participação.....	80
<b>8.</b>	<b>Automedicação e Dispensa de MNSRM .....</b>	<b>81</b>
<b>9.</b>	<b>Aconselhamento e dispensa de outros produtos de saúde.....</b>	<b>82</b>
9.1.	Produtos de dermofarmácia, cosmética e higiene .....	83
9.2.	Produtos dietéticos para alimentação especial .....	84

9.3.	Produtos dietéticos infantis .....	85
9.4.	Produtos de fitoterapia e suplementos nutricionais (nutracêuticos) .....	86
9.5.	Medicamentos de uso veterinário .....	87
9.6.	Dispositivos médicos.....	88
<b>10.</b>	<b>Outros cuidados de saúde prestados na Farmácia Mousaco Torrão .</b> .....	<b>89</b>
10.1.	Medição da pressão arterial .....	90
10.2.	Medição dos parâmetros bioquímicos .....	91
10.2.1.	Glicemia .....	91
10.2.2.	Colesterol e triglicéridos .....	92
10.3.	Administração de injetáveis e vacinas não incluídas no PNV.....	93
10.4.	Consultas .....	94
10.4.1.	Psicologia .....	94
10.4.2.	Nutrição.....	94
10.4.3.	Podologia.....	94
<b>11.</b>	<b>Preparação de Medicamentos .....</b>	<b>95</b>
11.1.	Definições.....	95
11.2.	Boas práticas de preparação de medicamentos manipulados .....	95
11.3.	Atribuição de prazos de utilização .....	96
11.4.	Rotulagem .....	97
11.5.	Cálculo do preço dos manipulados .....	97
11.6.	Preparação de medicamentos manipulados .....	98
11.6.1.	<i>Diprosone</i> <sup>®</sup> pomada 0.05% + ácido láctico.....	99
11.6.2.	Vaselina salicilada a 2% .....	99
11.7.	Preparações extemporâneas.....	99
<b>12.</b>	<b>Contabilidade e Gestão.....</b>	<b>100</b>
12.1.	Fecho de caixa .....	100
12.2.	Processamento de receituário e faturação .....	100
12.2.1.	Organização do receituário .....	100
12.2.2.	Faturação e emissão de documentos .....	101

12.3. Devolução de receituário.....	102
12.4. Documentos contabilísticos .....	102
12.5. Conceitos Fiscais .....	103
<b>13. Formação Contínua .....</b>	<b>104</b>
<b>14. Pandemia COVID-19 .....</b>	<b>105</b>
14.1. Medidas adotadas na prática da atividade farmacêutica.....	106
14.2. Entrega de medicamentos hospitalares na farmácia comunitária .....	106
14.3. Margens de comercialização .....	107
14.4. Dispensa de autotestes na Farmácia Comunitária.....	107
14.5. Programa de testagem CVP - Ensino Superior - Universidade da Beira Interior .....	107
14.5.1. Fases do processo e sua descrição.....	108
14.5.2. Panbio™ COVID-19 Ag Rapid Test Device (Nasopharyngeal) .....	109
<b>15. Conclusão .....</b>	<b>110</b>
<b>16. Referências bibliográficas.....</b>	<b>111</b>

# Lista de Figuras

<b>Figura 1</b> - Papel do recetor de androgénios (AR) estromal na progressão do cancro da próstata. (Adaptado de [32]) FGF, fibroblast growth factor; HGF, hepatocyte growth factor; IGF, insulin-like growth factor; MIP, macrophage inflammatory protein; SDF, stromal derived factor; TGF, transforming growth factor; IL-10, interleukin-10; NF-κB, Nuclear Factor-κB. ....	6
<b>Figura 2</b> - Esqueleto base das moléculas esteroides e respetiva numeração dos carbonos. Imagem obtida no software ChemDraw Professional 17.1. ....	15
<b>Figura 3</b> - Estrutura química da diosgenina. Imagem obtida no software ChemDraw Professional 17.1. ....	17
<b>Figura 4</b> - Estrutura química do o-nitrofenil (esquerda) e do o-cianofenil (direita). Imagem obtida no software ChemDraw Professional 17.1. ....	21
<b>Figura 5</b> - Estrutura química dos compostos: acetato de 5β,6β-epoxidiosgenina (esquerda), acetato de 4β-hidroxiespirost-5-en-3β-ilo (centro) e acetato de 5α,6α-epoxidiosgenina (direita). Imagem obtida no software ChemDraw Professional 17.1. ....	22
<b>Figura 6</b> - Síntese de 5,6-epoxidiosgenina a partir da diosgenina. Imagem obtida no software ChemDraw Professional 17.1. ....	25
<b>Figura 7</b> - Síntese de espirostano-3β,5α,6β-triol a partir da 5,6-epoxidiosgenina. Imagem obtida no software ChemDraw Professional 17.1. ....	26
<b>Figura 8</b> - Síntese de 3β,5α-dihidroxiespirostan-6-ona a partir de espirostan-3β,5α,6β-triol. Imagem obtida no software ChemDraw Professional 17.1. ....	27
<b>Figura 9</b> - Síntese de 3β-hidroxiespirost-4-en-6-ona a partir de 3β,5α-dihidroxiespirostan-6-ona. Imagem obtida no software ChemDraw Professional 17.1. ....	28
<b>Figura 10</b> - Síntese de 3β,5α-dihidroxiespirostan-6-oxima a partir de 3β,5α-dihidroxiespirostan-6-ona. Imagem obtida no software ChemDraw Professional 17.1. ....	29
<b>Figura 11</b> - Esquema representativo das placas de 96 poços para o ensaio de curva dose-resposta, com uma gama de diferentes concentrações (μM). Foram realizados ensaios com n= 4, para todas as concentrações; C = controlo negativo. ....	33
<b>Figura 12</b> - Esquema geral da síntese química realizada. Imagem obtida no software ChemDraw Professional 17.1. ....	39



# Lista de Tabelas

<b>Tabela 1</b> - Valores de IC <sub>50</sub> para os compostos C2 e C3 nas linhas celulares em estudo. .....	45
<b>Tabela 2</b> - Valores de IC <sub>50</sub> obtidos para os controles positivos, diosgenina e 5-fluorouracilo, nas diferentes linhas celulares. Adaptado de [19]......	46
<b>Tabela 3</b> - Classificação ATC da amoxicilina [156]......	61
<b>Tabela 4</b> - Classificação Farmacoterapêutica da amoxicilina [158]......	61
<b>Tabela 5</b> - Classificação da pressão arterial.....	90



## Lista de Gráficos

<b>Gráfico 1</b> - Dados relativos à incidência do cancro no sexo masculino (esquerda) e no sexo feminino (direita) no ano de 2018 na Europa (Adaptado de [5]) .....	3
<b>Gráfico 2</b> - Dados relativos à mortalidade do cancro no sexo masculino (esquerda) e no sexo feminino (direita) no ano de 2018 na Europa (Adaptado de [5]) .....	3
<b>Gráfico 3</b> - Viabilidade celular relativa na linha celular MCF-7 incubada com composto C2 a 0,01 $\mu\text{M}$ , 0,1 $\mu\text{M}$ , 1,0 $\mu\text{M}$ , 10 $\mu\text{M}$ , 50 $\mu\text{M}$ e 100 $\mu\text{M}$ por 48 h. Os dados das percentagens da viabilidade celular são expressos em relação ao controlo e apresentados como média $\pm$ desvio padrão. *p <0,05 versus respetivo controlo (teste t-Student), n= 4. ....	41
<b>Gráfico 4</b> - Viabilidade celular relativa na linha celular MCF-7 incubada com composto C3 a 0,01 $\mu\text{M}$ , 0,1 $\mu\text{M}$ , 1,0 $\mu\text{M}$ , 10 $\mu\text{M}$ , 50 $\mu\text{M}$ e 100 $\mu\text{M}$ por 48 h. Os dados das percentagens da viabilidade celular são expressos em relação ao controlo e apresentados como média $\pm$ desvio padrão. *p <0,05 versus respetivo controlo (teste t-Student), n= 4. ....	41
<b>Gráfico 5</b> - Viabilidade celular relativa na linha celular PC-3 incubada com composto C2 a 0,01 $\mu\text{M}$ , 0,1 $\mu\text{M}$ , 1,0 $\mu\text{M}$ , 10 $\mu\text{M}$ , 50 $\mu\text{M}$ e 100 $\mu\text{M}$ por 48 h. Os dados das percentagens da viabilidade celular são expressos em relação ao controlo e apresentados como média $\pm$ desvio padrão. *p <0,05 versus respetivo controlo (teste t-Student), n= 4. ....	42
<b>Gráfico 6</b> - Viabilidade celular relativa na linha celular PC-3 incubada com composto C3 a 0,01 $\mu\text{M}$ , 0,1 $\mu\text{M}$ , 1,0 $\mu\text{M}$ , 10 $\mu\text{M}$ , 50 $\mu\text{M}$ e 100 $\mu\text{M}$ por 48 h. Os dados das percentagens da viabilidade celular são expressos em relação ao controlo e apresentados como média $\pm$ desvio padrão. *p <0,05 versus respetivo controlo (teste t-Student), n= 4. ....	43
<b>Gráfico 7</b> - Viabilidade celular relativa na linha celular LNCaP incubada com composto C2 a 0,01 $\mu\text{M}$ , 0,1 $\mu\text{M}$ , 1,0 $\mu\text{M}$ , 10 $\mu\text{M}$ , 50 $\mu\text{M}$ e 100 $\mu\text{M}$ por 48 horas. Os dados das percentagens da viabilidade celular são expressos em relação ao controlo e apresentados como média $\pm$ desvio padrão. *p <0,05 versus respetivo controlo (teste t-Student), n=4. ....	43
<b>Gráfico 8</b> - Viabilidade celular relativa na linha celular LNCaP incubada com composto C3 a 0,01 $\mu\text{M}$ , 0,1 $\mu\text{M}$ , 1,0 $\mu\text{M}$ , 10 $\mu\text{M}$ , 50 $\mu\text{M}$ e 100 $\mu\text{M}$ por 48 h. Os dados das percentagens da viabilidade celular são expressos em relação ao controlo e apresentados como média $\pm$ desvio padrão. *p <0,05 versus respetivo controlo (teste t-Student), n= 4. ....	44

<b>Gráfico 9</b> - Resumo dos resultados obtidos referentes aos valores de IC <sub>50</sub> nas três linhas celulares em estudo, para os compostos C2 e C3. ....	45
<b>Gráfico 10</b> - Inibição relativa da atividade da 5 $\alpha$ -redutase por parte dos compostos C2 e C3 a 10 $\mu$ M. Os resultados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. A finasterida 10 $\mu$ M foi utilizada como controlo positivo e o controlo negativo foi composto por soluções de testosterona cuja concentração foi determinada no início do ensaio (t <sub>0</sub> ) e após a incubação com os compostos (t <sub>30</sub> ). ....	48

# Lista de Acrónimos

5-AR	5 $\alpha$ -Redutase
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
ANF	Associação Nacional das Farmácias
AR	Recetor de Androgénios
ATC	Do Inglês <i>Anatomical Therapeutic Chemical</i>
BPF	Boas Práticas Farmacêuticas para a Farmácia Comunitária
CCF	Cromatografia em Camada Fina
CEFAR	Centro de Estudos e Avaliação em Saúde
CNP	Código Nacional do Produto
CTT	Correios de Portugal
CVP	Cruz Vermelha Portuguesa
<i>d</i>	duplete
DCI	Denominação Comum Internacional
<i>dd</i>	duplo duplete
DGAV	Direção-Geral da Alimentação e Veterinária
DISC	Do Inglês <i>Death-inducing Signaling Complex</i>
DIU	Dispositivo Intrauterino
DMEM	Do Inglês <i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>
EDTA	Do Inglês <i>Ethylenediamine Tetraacetic Acid</i>
EMT	Do Inglês <i>Epithelial-Mesenchymal Transition</i>
ER	Recetor de Estrogénios
ERK	Do Inglês <i>Extracellular Signal-Regulated Kinases</i>
FADD	Do Inglês <i>Fas-Associated Protein with Death Domain</i>
FEFO	Do Inglês <i>First Expired First Out</i>
FGF2	Do Inglês <i>Basic Fibroblast Growth Factor</i>
FMT	Farmácia Mousaco Torrão
HDL	Do Inglês <i>High-Density Lipoprotein</i>
HEPES	Do Inglês <i>4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid</i>
HGF	Do Inglês <i>Hepatocyte Growth Factor</i>
HPLC-DAD	Do Inglês <i>High Performance Liquid Chromatography with Diode-Array Detection</i>
H-RMN	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogénio
hTERT	Do Inglês <i>Human Telomerase Reverse Transcriptase</i>
IC <sub>50</sub>	Concentração de composto que inibe a proliferação celular em 50% do efeito máximo
INFARMED	Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde
IRC	Imposto sobre o Rendimento de Pessoas Coletivas
IRS	Imposto sobre o Rendimento de Pessoas Singulares
IVA	Imposto sobre o Valor Acrescentado
JNK	Do Inglês <i>c-Jun N-terminal Kinase</i>
LDL	Do Inglês <i>Low-Density Lipoprotein</i>
LHRH	Do Inglês <i>Luteinising Hormone-releasing Hormone</i>
Log P	Coefficiente de Partição
<i>m</i>	multipleto
MAPK	Do Inglês <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MDM2	DO Inglês <i>Mouse Double Minute 2 Homolog</i>
MM	Medicamentos Manipulados
MMPP	Monoperoxifalato de Magnésio Hexahidratado
MNSRM	Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica
MNSRM-EF	Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica de dispensa Exclusiva em Farmácia
MSRM	Medicamentos Sujeitos a Receita Médica

mTOR	Do Inglês <i>Mammalian Target of Rapamycin</i>
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio
MUV	Medicamentos de Uso Veterinário
NADPH	Do Inglês <i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate</i>
NBS	<i>N</i> -Bromossuccinimida
NF- $\kappa$ B	Do Inglês <i>Nuclear Factor-<math>\kappa</math>B</i>
NHDF	Do Inglês <i>Normal Human Dermal Fibroblasts</i>
NIF	Número de Identificação Fiscal
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PAS	Pressão Arterial Sistólica
PBS	Do Inglês <i>Phosphate-Buffered Saline</i>
PCR	Do Inglês <i>Polymerase Chain Reaction</i>
PIC	Preço Impresso na Cartonagem
PNV	Programa Nacional de Vacinação
PSA	Do Inglês <i>Prostate-Specific Antigen</i>
PVF	Preço de Venda à Farmácia
PVP	Preço de Venda ao Público
<i>q</i>	Quarteto
RAM	Reações Adversas a Medicamentos
Rf	Fator de Retenção
RPMI	Do Inglês <i>Roswell Park Memorial Institute</i>
RSP	Receita Sem Papel
RCM	Resumo das Características do Medicamento
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RNA	Ácido Ribonucleico
RPM	Rotações por Minuto
<i>s</i>	Singlete
SERM	Modulador Seletivo do Recetor de Estrogénios
SFB	Soro Fetal Bovino
SILiAmb	Sistema Integrado de Licenciamento do Ambiente
SNS	Serviço Nacional de Saúde
<i>t</i>	tripleto
TNF	Do Inglês <i>Tumor Necrosis Factor</i>
TRAIL	Do Inglês <i>TNF-related Apoptosis-inducing Ligand</i>
VEGF	Do Inglês <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
VRN	Valores de Referência de Nutrientes

# **Capítulo I – Síntese de derivados oxidados da diosgenina e estudo das suas propriedades anti-tumorais**

## **1. Introdução**

### **1.1 O cancro**

O cancro é um termo que compreende um conjunto de doenças em que células anormais se dividem e multiplicam descontroladamente, e há a capacidade de invadir tecidos próximos. Estas células possuem igualmente a capacidade de se espalharem para outras partes do corpo através do sistema sanguíneo e linfático [1].

O cancro é um problema bastante relevante de saúde pública em todo o mundo e é a segunda principal causa de morte em Portugal, apenas atrás das doenças do sistema circulatório [2].

A maioria dos cancros apresenta uma etiologia complexa que envolve fatores genéticos e ambientais, bem como fatores associados ao estilo de vida [3]. Sendo assim, tornou-se crucial ter conhecimento sobre os comportamentos mais associados ao desenvolvimento tumoral e cancerígeno, de modo a promover mudanças no estilo de vida e a adoção de comportamentos preventivos para assim diminuir a prevalência de cancro.

De forma a combater o crescimento da incidência do cancro é fundamental conhecer e compreender os mecanismos de carcinogénese implícitos no seu desenvolvimento. Através deste conhecimento é possível elucidar as vias mecanísticas relacionadas com o cancro, identificar marcadores moleculares que indicam o risco de progressão da patologia e estratificar os casos de cancro pelo seu mecanismo molecular, tendo em conta o tipo de exposição a que cada indivíduo esteve sujeito [4].

#### **1.1.1. Epidemiologia do cancro**

Os dados de incidência e mortalidade do cancro na Europa são um ponto chave, tanto no planeamento, quanto na avaliação do impacto dos programas de controlo de desenvolvimento do cancro, quer a nível nacional, quer regional [5].

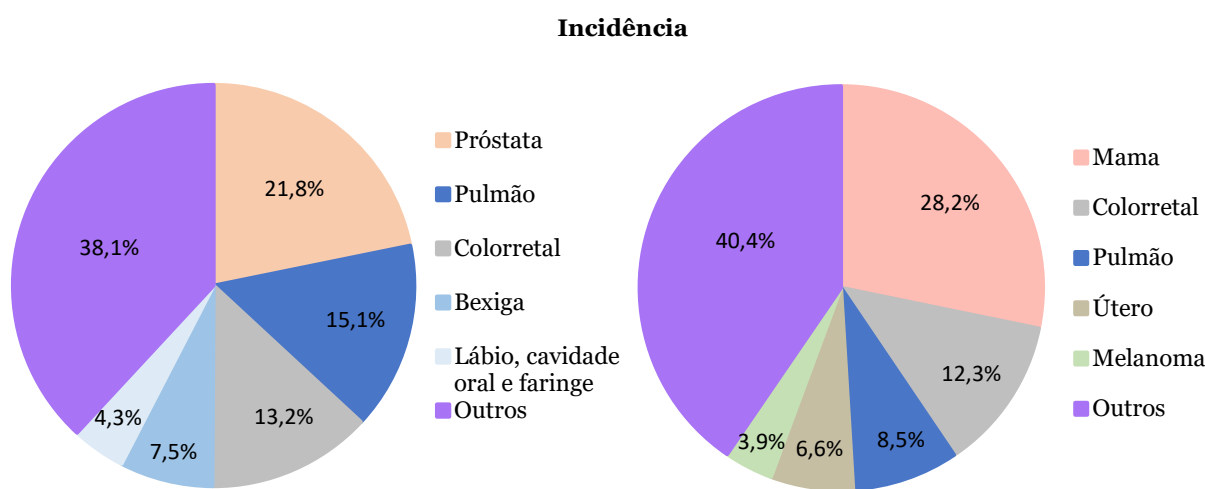
Tanto a incidência como a mortalidade dos vários tipos de cancro variam entre os diversos países, e mesmo até dentro de cada país, dependendo de uma variedade de fatores, nomeadamente o grau de desenvolvimento económico, fatores sociais e de estilo de vida [6].

Geralmente, os países desenvolvidos estão associados a maiores taxas de incidência. No entanto, as taxas de mortalidade são inferiores quando comparado com os países em

desenvolvimento [7]. Estes dados devem-se à maior preocupação e à existência de programas de rastreio de cancro nos países desenvolvidos, o que, por sua vez, leva ao diagnóstico numa fase mais precoce, o que facilita o seu tratamento. Já nos países em desenvolvimento, o acesso e a qualidade de tratamentos são mais limitados, o que explica as taxas de mortalidade superiores [8–10]. No entanto, estima-se que nos países em desenvolvimento ocorra um aumento da incidência, devido ao aumento da esperança média de vida, como consequência dos avanços na área da saúde pública, incluindo o controlo de doenças infecciosas e a redução da taxa de mortalidade materna, infantil e neonatal [4, 9].

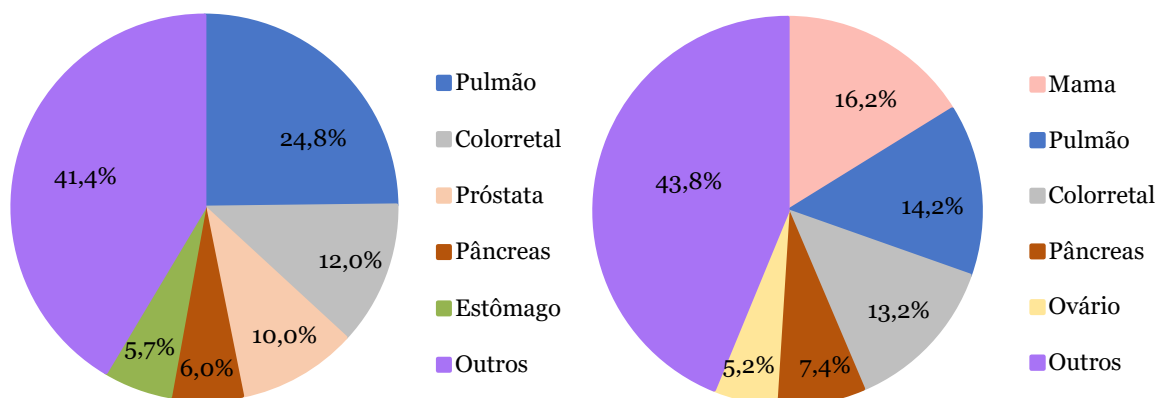
Num estudo relativo aos padrões de incidência e mortalidade nos países europeus em 2018 [5], concluiu-se que o cancro mais comum no sexo masculino é o cancro da próstata, seguido do cancro do pulmão e colorretal, enquanto que no sexo feminino é o cancro da mama, seguido do cancro colorretal e do pulmão (Gráfico 1). Já no que concerne à taxa de mortalidade (Gráfico 2), no sexo masculino destacou-se o cancro do pulmão, seguido do colorretal e da próstata, e no sexo feminino realçou-se o cancro da mama e depois o do pulmão e colorretal [5].

De acordo com o Instituto Nacional de Estatística, no ano de 2018, em Portugal, os cancros mais mortais foram aqueles que estão associados com o sistema respiratório, como os da laringe e traqueia, brônquios e pulmão (16,6%), seguido do cancro do cólon (9,8%) e do estômago (8,4%) [11], sendo que este último tipo de cancro difere do panorama geral dos países europeus. Num estudo realizado em 2017 [12] estimou-se o diagnóstico de 8635 novos casos de cancro da próstata e 1686 mortes causadas por esta patologia em Portugal durante o ano de 2020.



**Gráfico 1** - Dados relativos à incidência do cancro no sexo masculino (esquerda) e no sexo feminino (direita) no ano de 2018 na Europa (Adaptado de [5])

## Mortalidade



**Gráfico 2** - Dados relativos à mortalidade do cancro no sexo masculino (esquerda) e no sexo feminino (direita) no ano de 2018 na Europa (Adaptado de [5])

### 1.1.2. Biologia Celular do Cancro

A carcinogénese é um processo caracterizado por múltiplas etapas, envolvendo modificações e mutações genéticas que regulam a função celular normal, incluindo os processos de controlo do crescimento celular [13]. Essas mutações podem resultar na interrupção da homeostase das células, aumentando a taxa da sua proliferação, diminuindo a taxa da sua mortalidade e criando um ambiente cada vez mais propício para a progressão do crescimento anormal de uma massa celular [14]. As principais características que permitem distinguir as células tumorais são: a resistência à apoptose, indução de angiogénese, capacidade de invadir tecidos e metastização, atividade proliferativa ilimitada e imortalidade replicativa [15]. Sendo assim, tornou-se fundamental ter o máximo conhecimento acerca destes processos, de forma a encontrar novas alternativas para impedir o desenvolvimento tumoral.

O perfil lipídico representa um importante fator de risco para uma variedade de tumores. O nível dos lípidos no organismo é regulado através de diversos genes, hormonas e enzimas. Sendo assim, qualquer anormalidade ao nível destes reguladores pode levar ao desenvolvimento de distúrbios no metabolismo lipídico, resultando no conhecido desenvolvimento de distúrbios cardiovasculares e doenças metabólicas, bem como ao desenvolvimento de cancro [16].

Os oxisteróis são derivados oxidados do colesterol que surgem através de processos oxidativos, enzimáticos ou não enzimáticos, ou como produtos provenientes dos processos biossintéticos do colesterol [17]. Desde a descoberta do 27-hidroxicolesterol (27-OHC) como sendo o primeiro modulador seletivo do recetor de estrogénios

endógeno (SERM), foram desenvolvidos vários estudos que demonstraram que este oxisterol aumenta a ativação dos recetores de estrogénios (ER) nas células do cancro da mama, intensificando os mecanismos de proliferação celular [18].

As alterações epigenéticas também podem desempenhar um papel importante na origem do processo carcinogénico. Este tipo de mutações, nomeadamente a metilação do ADN, modificações ao nível da cromatina, da pós-tradução de histonas e do RNA, pode promover a inativação de funções genómicas distintas [19, 20]. Falhas na manutenção das marcas epigenéticas hereditárias podem resultar na ativação inadequada ou inibição de diversas vias de sinalização, levando ao desenvolvimento de algumas doenças, entre as quais o cancro [20]. No entanto, ao contrário das mutações genéticas, estas alterações epigenéticas podem ser potencialmente reversíveis, uma vez que o epigenoma pode ser reprogramado [21].

### **1.1.3. Cancros hormono-dependentes**

Os cancros hormono-dependentes, como o cancro de mama e da próstata, contribuem fortemente para a maioria das incidências de cancro em todo o mundo [22].

Tanto o cancro da próstata como o cancro da mama sensíveis a estímulo hormonal partilham a característica de dependerem das respetivas hormonas masculinas e femininas para estimular o seu crescimento. Sendo assim, o estímulo dos recetores de estrogénios e androgénios, respetivamente, vai promover o crescimento destes dois tipos de cancro [22]. Quando existe uma desregulação hormonal a homeostasia celular é afetada, podendo levar a alterações e até ao desenvolvimento de um processo tumoral [19]. Nestes casos, o mecanismo molecular de desenvolvimento tumoral baseia-se na presença de hormonas, tanto endógenas como exógenas, que, ao promover a proliferação celular, vão aumentar o número de divisões celulares e a possibilidade de ocorrerem múltiplas mutações genéticas [23].

O aperfeiçoamento da compreensão destas patologias ao nível molecular contribuiu para um melhor controlo das mesmas ao longo das últimas décadas [22]. Neste âmbito, as terapias anti-hormonais têm sido muito exploradas e têm-se mostrado frequentemente eficazes em impedir a progressão tumoral e, conseqüentemente, em aumentar o tempo de recorrência e reduzir a morte [23].

#### **1.1.3.1. Cancro da próstata**

O cancro da próstata é caracterizado pela divisão anormal das células da glândula prostática, resultando no seu crescimento anormal. A taxa de mortalidade associada a este tumor é, no geral, considerada baixa e ocorre principalmente devido à formação de metástases, nomeadamente nos gânglios linfáticos pélvicos e retroperitoneais, medula espinhal, bexiga, reto, ossos e cérebro [24].

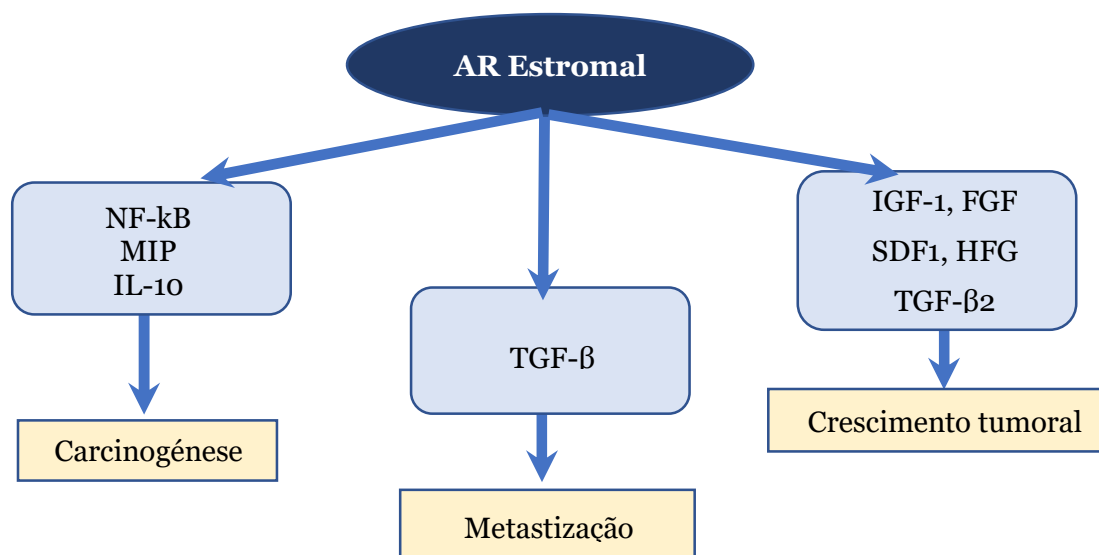
Os marcadores tumorais são substâncias produzidas pelas células neoplásicas e, desse modo, encontram-se em concentrações mais elevadas que o normal, podendo ser detetados em diversas amostras biológicas, tais como sangue, urina, líquido cefalorraquidiano ou outros tecidos corporais, e já são utilizados em oncologia, há várias décadas, para o diagnóstico, estadiamento e monitorização desta patologia [25]. No caso do cancro da próstata, o biomarcador mais utilizado é o antígeno específico da próstata (PSA), no entanto, este biomarcador também se encontra elevado noutras condições patológicas, como a hiperplasia benigna da próstata [26], sendo essencial que se faça a distinção dos casos, recorrendo a outros métodos, tais como o toque retal e a biópsia [27]. Também é muito importante identificar o estadiamento do tumor [25], não só para entender a sua extensão e evolução, como também para perceber qual a melhor alternativa terapêutica.

A incidência do cancro da próstata tem sido fortemente influenciada pelo diagnóstico de cancro latente, quer pela avaliação analítica de PSA em indivíduos assintomáticos, quer pela deteção em tecido removido durante a prostatectomia ou na autópsia [6]. A diminuição moderada da taxa de mortalidade em certos países europeus nas últimas décadas fornece também evidências acerca do efeito favorável do tratamento curativo do cancro da próstata, quando detetado numa fase precoce [5].

Embora as causas do cancro de próstata ainda não sejam totalmente compreendidas, as possíveis razões para o seu desenvolvimento incluem o aumento da prevalência de fatores de risco associados ao desenvolvimento económico, tais como o consumo de gorduras animais, tabagismo, obesidade, sedentarismo e falta de atividade física [9, 28]. Para além disso, a idade desempenha também um papel importante, sendo que o risco aumenta significativamente após os 50 anos [29]. Outros fatores relacionados com o desenvolvimento de cancro da próstata são a história familiar e a etnia, pois homens de raça negra têm, claramente, maior probabilidade de serem diagnosticados com cancro da próstata e apresentarem a forma mais agressiva da doença, quando comparados com homens caucasianos [29].

Sabe-se também que as hormonas sexuais desempenham um papel crucial na progressão deste tipo de tumor. Desta forma, o estudo da proporção de testosterona e de estradiol é um ponto chave para a compreensão da sua carcinogénese [30, 31]. Os efeitos androgénicos são mediados pelos recetores de androgénios (AR) expressos tanto no epitélio como no estroma da próstata [31]. Vários estudos demonstraram que o desenvolvimento e o crescimento da próstata são mediados através de sinalização por meio de AR estromal (Figura 1), mas não AR epitelial [32]. As células musculares lisas, que constituem um dos principais componentes do estroma, expressam estes recetores, e, dessa forma, respondem aos androgénios, mantendo o epitélio secretor altamente

diferenciado através de interações entre as células do estroma e do epitélio. Os fibroblastos, também presentes na próstata, podem ser ativados pelas células tumorais epiteliais circundantes e podem potencialmente promover o crescimento e a invasão do tumor [32, 33].



**Figura 1** – Papel do recetor de androgénios (AR) estromal na progressão do cancro da próstata. (Adaptado de [32]) FGF, fibroblast growth factor; HGF, hepatocyte growth factor; IGF, insulin-like growth factor; MIP, macrophage inflammatory protein; SDF, stromal derived factor; TGF, transforming growth factor; IL-10, interleukin-10; NF-kB, Nuclear Factor-κB.

O estradiol desempenha também um papel importante no cancro da próstata. O tecido prostático possui também recetores de estrogénios (ER $\alpha$  e ER $\beta$ ) que vão sofrendo alterações ao longo do desenvolvimento e progressão do tumor [34, 35]. Neste tecido, o ER $\alpha$  funciona como um oncogene funcional que se encontra sobreexpresso nesta neoplasia. Por outro lado, o ER $\beta$  atua como um supressor de crescimento tumoral que se encontra subexpresso durante o desenvolvimento do tumor no epitélio prostático [35]. Assim, o uso de antagonistas ER $\alpha$  e/ou agonistas ER $\beta$  pode ser equacionado de forma a prevenir o cancro da próstata e retardar a sua progressão, especialmente se estes recetores estiverem presentes no tecido tumoral do paciente [34].

Os oxisteróis também desempenham um papel importante no desenvolvimento do cancro da próstata. Neste âmbito, estudos demonstraram que o 27-OHC aumenta a proliferação celular de células epiteliais da próstata pela indução do AR e expressão genética nestas células [36].

A via PI3K/AKT tem sido estudada por estar envolvida na carcinogénese do cancro da próstata resistente à castração, por apresentar um papel significativo no desenvolvimento do tumor, incluindo na apoptose, proliferação celular e metastização,

através da regulação de várias vias associadas a esses processos, por meio de mecanismos inflamatórios [37].

A adoção de uma dieta saudável, juntamente com a prática regular de exercício físico, são duas das principais medidas propostas de forma a reduzir o risco de desenvolver esta neoplasia; no entanto muitos dos estudos efetuados neste contexto ainda não são conclusivos, pois os resultados mostraram diferenças relevantes de indivíduo para indivíduo [24].

### **1.1.3.2. Cancro da mama**

O cancro da mama é a principal neoplasia entre as mulheres em todos os países europeus (Gráfico 1) e é também a principal causa geral de morte devido ao cancro em mulheres na Europa [5].

Esta neoplasia ocorre quando há um crescimento desregulado e descontrolado das células em qualquer um dos componentes da mama, embora seja mais comum que ocorra nos lóbulos [38].

Assim como no cancro da próstata, a taxa de mortalidade tem vindo a diminuir ao longo das últimas décadas. Esta diminuição deve-se a uma combinação de diversos fatores, tais como a deteção precoce, quer devido à disseminação de programas de rastreio, quer ao aumento da conscientização acerca do cancro da mama, e uma série de melhorias e inovações ao nível do seu tratamento [5, 39].

Como já referido, a deteção precoce do cancro da mama tem permitido diminuir significativamente a morbilidade e mortalidade associadas a esta neoplasia. Neste contexto, o autoexame da mama é uma prática mensal aconselhada pelos profissionais de saúde a mulheres a partir dos 30 anos, embora o exame clínico da mama executado por um profissional de saúde a cada 3 anos seja recomendado [25]. Neste exame procura-se por diferenças no tamanho e forma da mama, ou pela presença de vermelhidão, depressões cutâneas ou outros sinais anormais [40]. Durante este exame também se devem verificar os gânglios linfáticos próximos da mama e na axila.

A mamografia é o método imagiológico mais utilizado, desempenhando um papel crucial no diagnóstico do cancro da mama, sendo que é recomendado que mulheres entre os 50 e 70 anos de idade realizem uma mamografia a cada 2 anos [25]. Posto isto, a melhor maneira para estabelecer um diagnóstico deve ter em conta a história clínica e familiar detalhada e o exame físico da mama e gânglios linfáticos regionais, combinando essa informação com os exames complementares imagiológicos. Contudo, para se estabelecer um diagnóstico definitivo, é necessário recorrer à biópsia de tecido mamário, no qual se conclui acerca do tipo e da malignidade do tumor.

Ao nível dos biomarcadores tumorais, existe evidência de que níveis elevados dos antígenos de superfície celular CA-15.3 e CA-27.29 podem identificar a recorrência e

metástases do cancro de mama, ainda antes da ocorrência dos primeiros sintomas [25]. Este dado torna-se ainda mais significativo sabendo que o cancro da mama é dos que possui maior risco de recorrência.

As causas do cancro da mama não são totalmente compreendidas; contudo, são conhecidos alguns fatores de risco que podem afetar a probabilidade de desenvolver cancro da mama. O mais relevante é o sexo, uma vez que a incidência de cancro da mama nos homens é inferior a 1 % [41]. A idade é também um dos fatores mais importantes, pois cerca de 80 % das mulheres diagnosticadas anualmente com cancro da mama têm idade superior a 45 anos [42]. A história familiar é igualmente um fator a ter em conta. Segundo um estudo realizado em 113,000 mulheres do Reino Unido, o risco de uma mulher desenvolver cancro da mama é 2,5 vezes superior se tiver 2 ou mais familiares próximos com cancro da mama [43]. Mutações nos genes BRCA1 e BRCA2 são fatores muito conhecidos, sendo que mulheres que apresentam estas mutações estão mais propensas a desenvolver cancro, em comparação com a população em geral [38]. Determinados fatores hormonais estão positivamente relacionados com o risco de desenvolver a doença, uma vez que estão associados à exposição a estrogénios, nomeadamente menarca precoce, idade tardia da primeira gravidez com termo, menopausa tardia, nuliparidade, uso de alguns anticoncecionais e terapia hormonal de substituição por tempo prolongado [44].

Os fatores de risco modificáveis estão normalmente associados ao estilo de vida de cada indivíduo. Assim, o consumo excessivo de álcool e tabaco, demasiada ingestão de gorduras, excesso de peso e a inatividade física são comportamentos que podem ser alterados para reduzir o risco de desenvolver cancro da mama [8, 38, 44, 45].

O papel dos lípidos no desenvolvimento tumoral tem sido muito estudado ao longo das últimas décadas. Com base num estudo clínico em cancro da mama, verificou-se que os níveis plasmáticos de colesterol total, triglicéridos, lipoproteínas de alta densidade (HDL) e baixa densidade (LDL) de pacientes com cancro da mama eram significativamente superiores quando comparados com os resultados do grupo de controlo negativo [46]. Também se sabe que as partículas LDL promovem a proliferação, migração e a perda de adesão celular. Através de modelos *in vivo*, também foi demonstrado que estes tumores são consistentemente maiores e mais proliferativos em ratos hipercolesterolémicos, evidenciando também o desenvolvimento de metástases pulmonares. Nesses casos foi revelada uma superexpressão das vias de sobrevivência tumoral AKT e ERK, assim como uma diminuição das moléculas de adesão em células de cancro da mama quando expostas ao LDL [47].

Por outro lado, existem também alguns fatores que parecem desempenhar um papel protetor, reduzindo o risco de desenvolver esta patologia. Neste contexto, a adoção de

uma dieta saudável, que inclua frutas e vegetais, produtos à base de soja e isoflavonas, a prática regular de exercício físico e, particularmente, a amamentação reduzem ligeiramente o risco de desenvolver cancro da mama [8, 45, 48].

Portanto, é fundamental concentrar esforços para combater os fatores de risco associados ao cancro da mama, nomeadamente a oposição contra a tendência crescente da obesidade, a divulgação e o acesso a programas de rastreio e deteção precoce e também preparar o sistema de saúde para responder de acordo com as exigências impostas [49].

#### **1.1.4. Tratamento e *Follow-up***

Apesar da deteção precoce do cancro estar relacionada com o declínio nas tendências gerais de mortalidade, as melhorias estabelecidas ao nível do tratamento também podem explicar uma parte desse parâmetro [6, 10, 12, 50].

Nos últimos anos, o número de opções terapêuticas mais seletivas, eficazes e menos tóxicas para o tratamento do cancro aumentou substancialmente. Estas novas opções de tratamento, embora tenham melhorado a taxa de sobrevivência global, também contribuíram para o desenvolvimento de variantes mais resistentes e agressivas da doença [22].

O tratamento do cancro da próstata localizado tem como finalidade ser curativo; no entanto, o risco de morte quando detetado numa fase inicial é baixo [51]. Várias possibilidades de tratamento estão disponíveis para controlar o cancro da próstata, sendo que a sua escolha depende do estadiamento e da progressão do tumor [24]. Numa fase inicial, e quando os riscos e possíveis efeitos secundários dos tratamentos não compensam, deve-se optar por manter o doente sob observação. A vigilância passiva consiste em tratar os sintomas com intenção paliativa, enquanto que a vigilância ativa envolve a realização de uma série de monitorizações de níveis de PSA, exames físicos e biópsias, de forma a monitorizar a progressão do tumor e assim perceber qual o momento ideal para iniciar o tratamento [27]. A prostatectomia radical acompanhada de linfadenectomia pode ser realizada através de uma abordagem minimamente invasiva [52], na qual é removida a próstata juntamente com gânglios linfáticos locais. A radioterapia pode ser uma alternativa à cirurgia ou pode ser utilizada no seu seguimento, de modo a destruir as células cancerígenas que podem permanecer nos tecidos [53]. Nos estágios iniciais do cancro da próstata avançado, a terapia de privação de androgénios é uma abordagem bem-sucedida. Esta terapia hormonal inclui a utilização de agonistas da hormona de libertação da hormona luteinizante (LHRH) em associação com um anti-androgénio; no entanto, a ocorrência de resistência a essa estratégia é uma possibilidade e, nesses casos, são necessários outros tratamentos, como quimioterapia baseada em

taxanos, como docetaxel e o cabazitaxel [24]. Em alternativa a esta classe terapêutica, o tratamento com enzalutamida levou a um aumento da taxa de sobrevivência global em pacientes com cancro da próstata metastático [53].

Os efeitos adversos associados às diversas alternativas terapêuticas do cancro da próstata incluem incontinência, disfunção erétil, infertilidade e sintomas gastrointestinais, nomeadamente náuseas, vômitos, diarreia e sangue nas fezes [27, 52].

Relativamente ao follow-up, os homens a fazer terapia de privação de androgénios por um longo período devem ser monitorizados em relação ao desenvolvimento de osteoporose e síndrome metabólico. Já os pacientes que apresentem cancro da próstata metastizado, devem efetuar exames imagiológicos regularmente, para monitorizar a resposta aos tratamentos e a progressão do tumor [53].

No que concerne ao cancro da mama, as opções terapêuticas existentes incluem cirurgia, quimioterapia, radioterapia, terapia hormonal e biológica, pelo que a escolha do tratamento mais indicado para cada doente depende não só do estadiamento do tumor, bem como dos subtipos histológicos e moleculares [38].

A terapia local para o cancro da mama não metastático consiste na ressecção cirúrgica e amostragem ou remoção de nódulos linfáticos axilares, tendo-se em consideração a possibilidade de um regime de radioterapia após a cirurgia [54], com o objetivo de eliminar as células cancerígenas remanescentes. Existem dois tipos principais de cirurgia, nomeadamente a cirurgia conservadora da mama, no qual apenas o tumor e uma pequena parte da mama são removidos, e a mastectomia, onde geralmente se remove todo o tecido mamário.

A quimioterapia pode ser utilizada como terapia adjuvante após a cirurgia ou como terapia neoadjuvante, com a finalidade de diminuir a dimensão do tumor antes de ser realizada a sua remoção. A escolha dos citotóxicos depende da classificação do cancro, mas os regimes usados com mais frequência contêm antraciclina e/ou taxanos. Em certos casos, é selecionado um regime combinado com ciclofosfamida, metotrexato e 5-fluorouracilo [40]. No caso de o cancro ser hormono-dependente, a terapia hormonal é priorizada em relação à anterior, tendo o intuito de diminuir os níveis de estrogénios e/ou progesterona e interromper os seus efeitos ao nível dos recetores no tecido mamário. O tamoxifeno é um modulador seletivo dos recetores de estrogénios que tem a capacidade de inibir competitivamente a ligação dessas hormonas ao seu recetor, sendo eficaz em mulheres pré- e pós-menopáusicas. Já os inibidores da aromatase, como o anastrozol, exemestano e letrozol, diminuem os níveis de estrogénios através da inibição da conversão de androgénios em estrogénios. Estes últimos são eficazes apenas em mulheres pós-menopáusicas [40, 54, 55].

Para além dos tratamentos locais e sistémicos, existem evidências epidemiológicas que sugerem que alguns fatores de estilo de vida afetam o prognóstico de pacientes com cancro da mama, nomeadamente a prática regular de exercício físico fornece benefícios, tanto funcionais como psicológicos, e pode reduzir o risco de recorrência [40, 56].

Muitos sobreviventes do cancro da mama vivenciam efeitos físicos duradouros à custa da cirurgia e do tratamento com radiação, incluindo linfedema do braço e dor na região torácica [57]. Os efeitos a longo prazo do tratamento desta neoplasia incluem o aumento do risco de osteoporose, défice cognitivo, fadiga crónica e fraqueza muscular, afrontamentos e secura vaginal [58].

Sabendo que a taxa de recorrência do cancro da mama é das mais elevadas, é fundamental realizar o acompanhamento do doente, de forma a conseguir detetar possíveis recorrências, avaliar e tratar complicações relacionadas com a terapia e fornecer suporte psicológico e as informações necessárias de modo a possibilitar o regresso à vida normal após o tratamento [40]. Assim, o programa de follow-up recomenda avaliações regulares a cada 3-4 meses nos primeiros 2 anos após o tratamento, a cada 6 meses a partir do 3º ao 5º ano, e após esse período a avaliação deve ser realizada anualmente [40].

## **1.2 Descoberta e desenvolvimento de fármacos antitumorais e a importância de saponinas e sapogeninas neste âmbito**

O desenvolvimento de novos fármacos pode ser dividido em três passos principais. O primeiro passo consiste na descoberta de uma nova estrutura ativa, através de síntese química ou isolamento a partir de produtos naturais, iniciando-se, de seguida, os estudos de atividade com ensaios *in vitro* e/ou *in vivo*. O segundo passo inicia-se quando a sua atividade aparenta ser promissora nos ensaios anteriormente referidos. Esse composto é então designado de *lead* (composto líder, ou protótipo), sendo considerado um modelo para obter séries de estruturas relacionadas. Para identificar os melhores compostos, podem ser realizados estudos de relação estrutura-atividade. O último passo consiste no desenvolvimento pré-clínico e clínico, que é a fase mais longa e dispendiosa [59]. O desenvolvimento de fármacos requer estudos de eficácia e segurança, e também o conhecimento dos seus perfis farmacocinéticos e farmacodinâmicos usando ensaios em células e baseados em animais [60].

Existem diversas estratégias para desenvolver novos fármacos antitumorais, nomeadamente a partir de compostos naturais, *screening* sistemático, serendipismo e o *design* racional [59].

Relativamente aos compostos naturais, existem duas fontes principais: fontes terrestres e fontes marinhas [61]. Em relação às fontes terrestres, as plantas têm sido

vastamente utilizadas para o tratamento do cancro ao longo dos anos, bem como os microorganismos, que também constituem uma fonte importante para a obtenção de agentes antitumorais, sendo a origem dos antibióticos antitumorais, os quais são dos mais importantes agentes quimioterapêuticos [61].

De facto, mais de 60 % dos agentes antitumorais usados atualmente são derivados de fontes naturais, sobretudo de plantas, organismos marinhos e microrganismos [62, 63]. Exemplos de compostos naturais provenientes de fontes naturais utilizados no tratamento do cancro são os alcaloides da vinca, que foram isolados da planta *Catharanthus roseus* no final da década de 1950 [64], e as campotecinas, isoladas a partir do tronco da *Camptotheca acuminata* durante o mesmo período [65].

O *screening* sistemático consiste na análise de novas moléculas, quer sintéticas, quer de origem natural, num modelo biológico sem ter em conta hipóteses sobre o seu potencial terapêutico ou farmacológico [66].

O serendipismo também mostrou ter um papel importante na descoberta de agentes antitumorais. Este termo diz respeito a uma descoberta acidental, isto é, “uma observação ao acaso de uma forma benéfica enquanto se procura outra coisa” [60]. Desta forma, foi descoberto o potencial anticancerígeno de vários fármacos, como a talidomida, devido à sua atividade antiangiogénica [59], a mevilonina (também designada de lovastatina), um inibidor da HMG-CoA redutase, que mostrou ter capacidade de suprimir o crescimento de células do neuroblastoma em roedores [67], e a metformina [60], um antidiabético oral amplamente utilizado no tratamento da diabetes *mellitus* tipo II.

O *design* racional de novos fármacos é uma abordagem cada vez mais popular e tem vindo a substituir a ideia clássica na qual novas moléculas são desenvolvidas com base na intuição [68]. Para isso, o conhecimento dos processos metabólicos, enzimáticos e fisiológicos das células tumorais é um ponto de partida fundamental para o desenvolvimento racional de novos fármacos, o qual tem quase sempre apoio de estratégias informáticas [59]. Os principais métodos computadorizados de *design* de fármacos são baseados na estrutura do alvo molecular ou baseados em ligandos conhecidos [69]. Assim, têm sido efetuados muitos estudos com base nestes métodos, como por exemplo alguns que têm como alvo terapêutico o recetor de folatos [70], uma vez que este recetor desempenha um papel crucial no desenvolvimento, progressão e metastização do cancro.

Relativamente às saponinas e sapogeninas, existem diversos estudos que utilizaram modelos *in vitro* e *in vivo* para avaliar a atividade antitumoral de diversos compostos destes grupos, por exemplo, vários triterpenos, saponinas esteroides e a diosgenina. Além disso, vários tipos de cancro têm sido tratados com extratos de plantas que contém

elevadas quantidades de saponinas esteroides isoladas de produtos naturais ou sintéticas [71].

Várias sapogeninas esteroides demonstraram propriedades farmacológicas ubíquas e a maioria delas apresenta atividade antitumoral *in vitro* e em ensaios pré-clínicos com modelos animais [72]. Um exemplo deste tipo de compostos é a diosgenina, a qual foi descoberta e isolada por Fujii e Matsukawa em 1935, a partir da *Dioscorea tokoro Makino* [73]. Estudos realizados nas últimas décadas evidenciaram que a diosgenina possui, não apenas efeitos preventivos/terapêuticos contra vários tipos de cancro, mas também contra outras doenças, tais como distúrbios cardiovasculares, diabetes *mellitus* tipo II, doenças neurodegenerativas, doenças alérgicas, sintomas da menopausa e envelhecimento da pele [74, 75]. Apesar de possuir inúmeras atividades farmacológicas contra uma grande variedade de doenças, a sua potência é, geralmente baixa e apresenta também baixa solubilidade aquosa, perfil farmacocinético inadequado e instabilidade sob condições fisiológicas, o que dificulta muito a sua aplicação clínica [76]. Assim, têm sido desenvolvidas estratégias com o objetivo de ultrapassar estas barreiras, sendo que a principal é o desenvolvimento de derivados semissintéticos da diosgenina. A maior parte destas abordagens permitiu melhorar as propriedades físico-químicas e farmacológicas da diosgenina, principalmente aumentando a sua atividade [76].

Para além da diosgenina, também se verifica atividade antitumoral em outras sapogeninas esteroides, nomeadamente a iamogenina, que é um diasterioisómero da diosgenina, o qual também apresenta atividade anti-hiperlipidémica [77], e a sarsapogenina, que, para além da ação antitumoral contra o carcinoma hepatocelular [78] e cancro da mama [79], também demonstrou eficácia ao nível da doença de Alzheimer [80] e depressão [81].

### **1.3 Os esteroides**

Vários produtos de origem natural representam estruturas privilegiadas que têm vindo a ser otimizadas, de modo a potencializar os seus efeitos, as quais, por sua vez, podem representar suportes úteis para a descoberta e desenvolvimento de novas moléculas com maior potencial. As plantas e os microrganismos constituem fontes de metabolitos bioativos estruturalmente diversificados, sendo que vários deles têm propriedades antitumorais que estão presentes em vários medicamentos antitumorais disponíveis para uso clínico e são úteis no desenvolvimento de novos fármacos [82], sendo que esta área representa um dos maiores setores da indústria farmacêutica.

Os esteroides são compostos pertencentes à classe dos lípidos e constituem importantes reguladores biológicos, estando envolvidos em numerosos processos fisiológicos que decorrem nos seres vivos [83]. A sua síntese ocorre essencialmente na

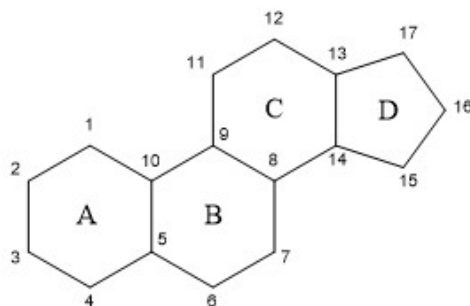
glândula adrenal e, através da corrente sanguínea, são entregues aos tecidos-alvo para estimular ou inibir algum processo no organismo [84].

O esteroide mais abundante nos mamíferos é o colesterol, que é vastamente metabolizado, servindo como precursor para a síntese de novas moléculas esteroides com diferentes funções biológicas, incluindo oxisteróis, ácidos biliares, vitamina D, corticosteroides, hormonas reprodutoras e secosteroides [19, 85].

Diferentes tipos de esteroides têm diversas aplicações e potencialidades para além da sua ação antitumoral, sendo utilizados como agentes anabólicos, anti-androgénicos, anti-inflamatórios, anticoncepcionais, cardiovasculares e diuréticos [86].

### **1.3.1. Propriedades estruturais e físico-químicas dos esteroides**

Os esteroides possuem um esqueleto base comum carbonado, que consiste em quatro anéis fundidos (A, B, C e D), sendo que três são ciclohexanos e um é ciclopentano. A esta estrutura saturada dá-se o nome de ciclopentanoperhidrofenantreno [87]. Os vários esteroides diferenciam-se através do grau de metilação no C-10 e no C-13, pela presença de insaturações nos anéis, pela cadeia carbonada ligada ao C-17 e a pela existência de diferentes grupos funcionais, tais como álcoois, cetonas, ácidos carboxílicos, epóxidos, esterificações etc [19]. A numeração dos carbonos do esqueleto esteroide é feita de acordo com a figura 2. Os substituintes na estrutura esteroide apresentam estereoquímica  $\alpha$  ou  $\beta$ , de acordo com os planos em que se apresentam, sendo  $\beta$  quando estão acima do plano de anéis (isto é, estão no mesmo plano que os metilos angulares em C10 e C13) e  $\alpha$  quando estão abaixo desse plano [87]. Outro aspeto que pode estar presente no esqueleto esteroide é a substituição de um ou mais átomos de carbono por heteroátomos, normalmente, oxigénio ou azoto [88]. Também pode ocorrer a formação/presença de novos anéis heterocíclicos ligados ao anel D. Esta situação é característica de diversas famílias de esteroides, como é o caso dos cardenolidos, bufadienolidos, furostanos, determinados alcaloides e espirostanos [88], família à qual pertence a diosgenina. Uma vez que a estrutura da molécula está intrinsecamente relacionada com a sua atividade biológica, estas diferenças entre os vários compostos esteroides vão explicar a alteração da sua atividade farmacológica, assim como das suas propriedades físico-químicas.



**Figura 2** - Esqueleto base das moléculas esteroides e respetiva numeração dos carbonos. Imagem obtida no software ChemDraw Professional 17.1.

Visto que se tratam de compostos bastante lipofílicos, dado o esqueleto hidrocarbonado, os esteroides não possuem elevada solubilidade aquosa, e são geralmente solúveis em solventes orgânicos apolares. Este seu carácter apolar permite-lhes atravessar facilmente as membranas celulares, possibilitando que deixem as células nas quais são sintetizados e atinjam as suas células-alvo, para se ligarem a recetores específicos para desempenhar a sua ação biológica [83, 84]. Contudo, a presença de grupos funcionais polares nas moléculas esteroides, tais como álcoois e cetonas, vai aumentar a sua solubilidade aquosa [84] e, desta forma, alterar algumas características, nomeadamente a sua permeabilidade membranar.

### **1.3.2. Utilização de esteroides na terapia do cancro**

A utilização de moléculas esteroides é uma das várias estratégias praticadas atualmente para o tratamento de diversos tipos de cancro. Assim, o desenvolvimento de novas moléculas esteroides, através de modificações estruturais de compostos com potencial terapêutico conhecido, tem sido um foco de investigação importante, tendo o intuito de melhorar características físico-químicas, farmacocinéticas e farmacodinâmicas e, desse modo, aprimorar a sua potencial aplicação na terapia antitumoral.

A atividade antitumoral que os esteroides possuem deve-se, principalmente, a mecanismos de inibição de determinadas enzimas ou à modulação de recetores específicos [82]. Como exemplos, existem os inibidores da aromatase (exemestano) e da sulfatase, e os antagonistas de recetores de estrogénios (fulvestrant), utilizados na terapia hormonal do cancro da mama [89]. Outro exemplo são os inibidores da 5 $\alpha$ -redutase (5-AR), finasterida e dutasterida, tradicionalmente usados no tratamento da hiperplasia benigna da próstata, que também foram estudados como antitumorais [82, 90].

De forma geral, a maioria dos esteroides são obtidos por semissíntese a partir de moléculas naturais com núcleo esteroide, as quais são frequentemente isoladas a partir de plantas, como é o caso da diosgenina, obtida principalmente a partir de plantas do género *Dioscorea* [19]. Neste processo, a dioscina é isolada a partir desta planta e, através de uma reação de hidrólise, dá origem à sapogenina esteroide designada de diosgenina [91], um composto muito promissor designadamente devido ao seu potencial antiproliferativo e também um importante precursor para a síntese de vários esteroides [19].

## **1.4 A diosgenina**

A diosgenina (Figura 3) é uma sapogenina esteroide de origem natural que existe principalmente na forma de saponinas em espécies vegetais de diversos géneros, tais como *Dioscorea*, *Costus*, *Trigonella* e *Smilax* [92], tendo sido descoberta por Fujii e Matsukawa em 1935 [73].

Esta sapogenina, mediante degradação controlada dos seus anéis D e F e outras reações, tem sido utilizada como precursor natural para a síntese da maior parte dos fármacos esteroides mais utilizados do ponto de vista terapêutico, tais como as hormonas sexuais, incluindo estrogénios, progesterona e testosterona, e também corticosteroides [93].

Ao longo das últimas décadas têm sido publicados vários estudos que demonstram a eficácia e os benefícios deste composto numa variedade de patologias, tais como o cancro, doenças inflamatórias e distúrbios metabólicos, nomeadamente obesidade, dislipidemias e diabetes [91]. Para além disso, apresenta outras propriedades que lhe permitem a sua aplicação farmacêutica na produção de alimentos funcionais e na indústria de produtos cosméticos [72].

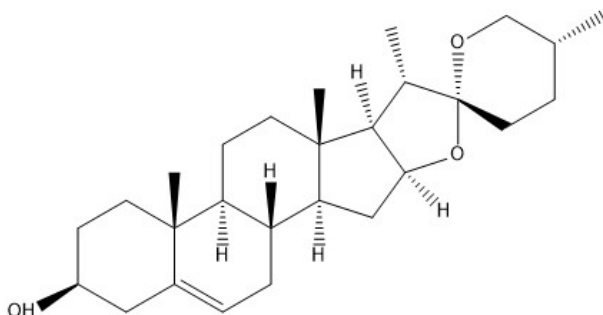
Apesar da sua ampla atividade relacionada com o cancro, a utilização da diosgenina na terapêutica anticancerígena é dificultada principalmente devido à sua potência moderada e baixa solubilidade aquosa [92]. Por este motivo, a diosgenina é tida como ponto de partida para o desenvolvimento de novos derivados, de modo a superar estas desvantagens e limitações.

### **1.4.1. Características estruturais e físico-químicas da diosgenina**

A diosgenina apresenta a estrutura base de um esteroide, isto é, o núcleo ciclopentanoperhidrofenantreno, do qual fazem parte os 4 anéis principais (A, B, C e D).

No anel A apresenta um grupo hidroxilo na posição C-3. Já o anel B contém uma dupla ligação nas posições C-5=C-6. Também apresenta um grupo metilo nos C-10 e C-13. Para além dos anéis característicos do esqueleto esteroide possui também outros dois

anéis, E e F, designados de tetrahydrofurano e tetrahidropirano, respectivamente. Estes anéis encontram-se ligados na posição C-22, dando origem a uma estrutura espiro [94].



**Figura 3** - Estrutura química da diosgenina. Imagem obtida no software ChemDraw Professional 17.1.

A diosgenina, também conhecida pela designação (3 $\beta$ ,25R)-espirost-5-en-3-ol, apresenta um peso molecular de 414,6 g.mol<sup>-1</sup> [95].

Trata-se de um sólido cristalino de cor branca com elevada estabilidade térmica e química [76]. É um composto bastante hidrofóbico, apresentando um Log P = 5,7, motivo pelo qual é bastante insolúvel em água. Por outro lado, é altamente solúvel em solventes orgânicos, como clorofórmio e acetato de etilo, e parcialmente solúvel em acetona e metanol [76].

#### **1.4.2. Atividades farmacológicas da diosgenina**

As sapogeninas esteroides são conhecidas pelo potencial que apresentam em relação a uma diversidade de patologias e condições médicas [19]. A diosgenina é uma das principais moléculas pertencentes a esta grande família e existem cada vez mais estudos que se focam na descoberta de novas propriedades e potencialidades deste composto.

A principal propriedade, e a que irá ser mais abordada neste trabalho, é a sua atividade anticancerígena [72, 91, 92]. Para além desta, apresenta igualmente atividade de proteção contra doenças cardiovasculares e envelhecimento da pele [75], atividade imunossupressora e anti-inflamatória [91], ação anticoagulante e antitrombótica, e desempenha um papel importante contra distúrbios metabólicos, incluindo diabetes, dislipidemias e obesidade [72, 75, 96–98]. Também apresenta efeito antidepressivo, eficácia contra a dor neuropática e efeito neuroprotetor contra doenças degenerativas [76], é capaz de atenuar sintomas menopáusicos [75, 98], e é um potente antioxidante natural [72, 97–99].

### **1.4.3. Atividade anticancerígena da diosgenina**

Esteroides com propriedades citotóxicas e citostáticas são muito relevantes como ponto de partida para o desenvolvimento de novos compostos e para a descoberta de fármacos antitumorais, assim como também para esclarecer e elucidar os mecanismos moleculares que estão associados ao cancro [82].

A sapogenina diosgenina atua em vários mecanismos moleculares em células cancerígenas, podendo interferir no crescimento, proliferação, diferenciação e migração celular, metastização, transição epitelial-mesenquimal, angiogénese e promoção da apoptose [72, 91, 98]. É também importante destacar que a bioatividade da diosgenina depende não só do tipo células, como também da sua concentração e tempo de exposição das células a este composto [19].

Muitos estudos têm sido desenvolvidos acerca da atividade da diosgenina nesta patologia, tendo-se demonstrado que desempenha efeitos em diversos tipos de células tumorais, nomeadamente em células do cancro da mama (MCF-7 e MDA-MB-231) [100], cancro da próstata (PC-3, LNCaP e DU145) [101, 102], cancro do pulmão (A549) [97], cancro hepatocelular (HepG2 e SMMC-7721) [103], do tubo digestivo, como o cancro gástrico (AGS e SGC-7901) [104] e cancro colorretal (SW480) [105], osteossarcoma (MG63 e U2OS) [106], melanoma (B16F10) [107], glioblastoma (T98G) [96], carcinoma escamoso (SCC A431, Hep2 e RPMI 2650) [108], eritroleucemia (HEL) [109] e na leucemia mieloide crónica humana (K562 e BaF3-WT) [110].

A proliferação celular e a apoptose desempenham um papel fundamental na manutenção da homeostase celular [75], estando geralmente desregulados no desenvolvimento do processo tumoral. Num estudo realizado em células do cancro de mama Her-2 positivas, a diosgenina inibiu a expressão de AKT, mTOR, JNK (mecanismos associados à sobrevivência celular), induzindo apoptose nessas células [99]. Num outro estudo desenvolvido mais recentemente, envolvendo as linhas de células do cancro da mama MCF-7 e Hs578T, a diosgenina demonstrou atividade antiproliferativa, envolvendo o bloqueio do ciclo celular na fase G<sub>2</sub>/M pela modulação da via Cdc25C-Cdc2-ciclina B e levou à apoptose mediada por mitocôndrias, dependendo da concentração e do tempo de exposição em ambas as linhas celulares [111]. Também levou à indução da proteína pró-apoptótica p53 e a um aumento dos níveis de caspase-3 [112]. Adicionalmente, já foi demonstrado que este esteroide inibe a proliferação e induz a apoptose em células HepG2 através da inibição da via de sinalização STAT3 [113].

Em células do cancro da próstata, observou-se que a diosgenina inibe significativamente a proliferação de células DU145 de uma forma dose-dependente, sugerindo-se que está envolvida na indução da morte das mesmas [102]. Ao nível do osteossarcoma, já foi documentado que a diosgenina é eficaz a impedir o

desenvolvimento celular e em promover a apoptose em linhas celulares U2OS e MG63, mediante a inibição da Cdc20 [114], uma oncoproteína ligada ao desenvolvimento e progressão em vários tipos de cancro. Este esteroide atua igualmente em linhas celulares do cancro colorretal (HT-29), pelo meio da indução de TRAIL [115], que são citocinas da família do TNF com a capacidade de indução de apoptose primária em células tumorais [116]. Este processo é iniciado pela sua ligação aos recetores de morte (TRAIL-R1 ou DR4 e TRAIL-R2 ou DR5), seguido pela formação do complexo de sinalização indutor de morte (DISC) após o recrutamento de proteínas citoplasmáticas específicas, nomeadamente o FADD e as caspases-8 ou -10 [117].

Um estudo demonstrou os efeitos da diosgenina em relação a células do cancro do pulmão, mais concretamente a linha celular A549, chegando-se à conclusão que promove a diminuição da expressão do gene da transcriptase reversa da telomerase humana (hTERT), e, conseqüentemente, a inibição do crescimento destas células [97]. Este gene é responsável pela expressão e ativação da telomerase, que é uma ribonucleoproteína responsável por adicionar uma sequência nucleotídica às extremidades dos telómeros nos cromossomas das células eucariotas [118].

A transição epitelial-mesenquimal (EMT) é também um mecanismo molecular intrinsecamente envolvido na progressão metastática do tumor e na geração de novas células tumorais com propriedades de células estaminais, que desempenham um papel importante na resistência ao tratamento antitumoral [119]. Como o próprio nome indica, é um processo pelo qual as células cancerígenas com morfologia semelhante a células epiteliais sofrem alterações morfológicas e moleculares para se tornarem mais semelhantes ao mesênquima, ampliando dessa forma o seu potencial invasivo e migratório [120]. Neste contexto, num estudo publicado recentemente foi demonstrado que a diosgenina mostrou eficácia em reduzir a expressão dos genes EZH2, RhoA e ROCK, que estão envolvidos na progressão deste processo, em linhas celulares do cancro gástrico, como AGS e SGC-7901 [104]. Para além deste, já foram desenvolvidos outros estudos, nomeadamente envolvendo linhas celulares do cancro da próstata (DU145), em que se demonstrou a eficácia da diosgenina na inibição do aumento dos níveis de vimentina e MDM2 induzidos pelo fator de crescimento do hepatócito (HGF), sem afetar a redução dos níveis de E-caderina [121]. Também já existem evidências de que a diosgenina é capaz de interferir na via de sinalização MAPK, uma das mais importantes para dar início à EMT. De facto, num estudo com duas linhas celulares do osteossarcoma (MG63 e U2OS) foi constatado que ocorreu diminuição dos níveis da proteína fosforilada pP38 e, desse modo, a via MAPK foi inibida, mostrando assim utilidade clínica deste esteroide para a redução da metastização do osteossarcoma [106].

Dos vários fatores que contribuem para o crescimento sustentado e para a proliferação e desenvolvimento de tumores sólidos, um dos mais importantes é a neovascularização abundante e a formação de novos vasos sanguíneos no local do tumor, ou dentro do próprio tumor, sendo este processo designado de angiogênese [72]. A diosgenina também atua ao nível da angiogênese, uma vez que já foi observado na linha celular T98G (glioblastoma) que suprime a expressão do fator nuclear NF-KB, o que, por sua vez, reduz a expressão do fator de crescimento fibroblástico FGF2 e do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), que são os principais promotores da angiogênese, a qual fica, deste modo, reduzida após o tratamento com altas doses de diosgenina [96].

A metastização é um fator crucial na progressão do cancro. A diosgenina também apresenta propriedades anti-metastáticas, como foi demonstrado num estudo que envolveu células PC-3 (cancro da próstata), no qual se verificou a inibição da expressão de mRNA de MMP-2, MMP9, MMP-7 e EMMPRIN, que são metaloproteinasas que estão envolvidas na degradação e proteólise da matriz extracelular, e, desse modo, é possível reduzir a progressão do processo tumoral [122].

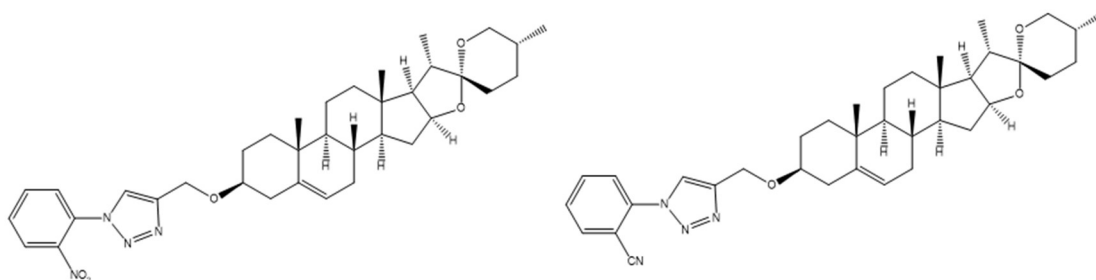
Também é importante referir que muitos estudos que têm sido realizados se focam na combinação de diosgenina com um outro agente terapêutico, com o intuito de verificar a ocorrência de ação sinérgica, a qual ocorre quando o efeito de dois agentes combinados é superior ao efeito provocado pelos agentes utilizados de forma individual. Como exemplo, verificou-se que a combinação de diosgenina e GSK126 (um inibidor do gene EZH2) levou a uma redução significativamente superior dos genes envolvidos no desenvolvimento da EMT, quando comparado com o que se sucedeu quando esses compostos foram utilizados em monoterapia [104]. Num outro estudo que envolveu linhas celulares do carcinoma escamoso (SCC A431, Hep2 e RPMI 2650), a utilização simultânea de diosgenina e timoquinona demonstrou que a atividade antitumoral e citotoxicidade de cada um foi sinergicamente potencializada, tanto *in vitro* como *in vivo* [108].

É fundamental que se dê continuidade a estes estudos, quer seja com o objetivo de aprofundar o conhecimento sobre um mecanismo já conhecido, quer pela descoberta de novas vias sobre o qual esta sapogenina exerça a sua ação antitumoral. É igualmente importante focar mais estudos numa maior variedade de tumores e linhas celulares, de modo a expandir as potencialidades anticancerígenas da diosgenina.

#### 1.4.4. Atividade antitumoral dos derivados semissintéticos da diosgenina e novas formulações de diosgenina com interesse no tratamento do cancro

Uma vez que a diosgenina apresenta algumas desvantagens do ponto de vista farmacocinético e farmacodinâmico, nomeadamente a baixa solubilidade aquosa e a sua potência moderada, tem sido utilizada como ponto de partida para a síntese de novos compostos, com o objetivo de superar estes inconvenientes e melhorar as suas potencialidades terapêuticas. De facto, determinadas alterações podem modificar drasticamente a biodisponibilidade do composto, assim como a sua bioatividade, entre outros aspetos.

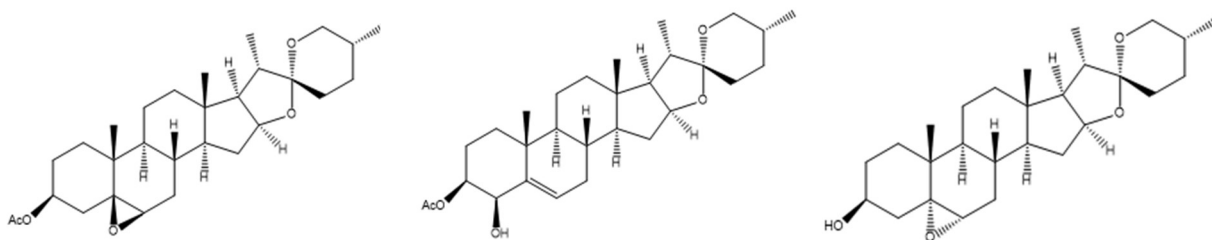
Assim, muitos estudos neste contexto têm sido desenvolvidos ao longo dos últimos anos. Como exemplo, num estudo realizado em quatro linhas celulares: HBL-100 (cancro da mama), A549 (cancro do pulmão), HT-29 e HCT-116 (cancro colorretal), foi reportado a atividade antiproliferativa e citotóxica da diosgenina e de vários derivados semissintéticos que foram preparados por modificação no C3, envolvendo a introdução de um triazole substituído. Entre os compostos estudados, o análogo que apresentava um fenil não substituído ligado ao triazole foi identificado como sendo o mais potente contra as células do cancro do pulmão A549, apresentando  $IC_{50} = 5,54 \mu M$ . Outros análogos muito promissores continham *o*-nitrofenil e *o*-cianofenil (Figura 4) ligados ao triazole, observando-se um aumento muito significativo da atividade antiproliferativa contra todas as linhas de celulares testadas [123].



**Figura 4** - Estrutura química do *o*-nitrofenil (esquerda) e do *o*-cianofenil (direita). Imagem obtida no software ChemDraw Professional 17.1.

Noutro estudo, que envolveu a síntese de derivados oxidados da diosgenina e posterior avaliação biológica dos mesmos em linhas celulares do cancro da mama (MCF-7) e da próstata (PC-3 e LNCaP), observou-se que o acetato de 5 $\beta$ ,6 $\beta$ -epoxidiosgenina e o acetato de 4 $\beta$ -hidroxiespirost-5-en-3 $\beta$ -ilo (Figura 5) foram os que mostraram ser mais eficazes nas células MCF-7, a 5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -epoxidiosgenina foi promissora nas células LNCaP e os já referidos acetato de 4 $\beta$ -hidroxiespirost-5-en-3 $\beta$ -ilo e de 5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -epoxidiosgenina

mostraram ser igualmente eficientes nas células PC-3, tendo em conta os estudos MTT efetuados e os valores de IC<sub>50</sub> determinados [19].



**Figura 5** - Estrutura química dos compostos: acetato de 5β,6β-epidiosgenina (esquerda), acetato de 4β-hidroxiestirost-5-en-3β-ilo (centro) e acetato de 5α,6α-epidiosgenina (direita). Imagem obtida no software ChemDraw Professional 17.1.

Assim, é fundamental continuar a efetuar mais estudos e chegar a novas conclusões acerca da utilização de derivados semissintéticos da diosgenina, quer avaliando derivados já conhecidos em linhas celulares nas quais ainda não tenham sido testados, quer na síntese de novos análogos, de modo a obter resultados mais promissores que possam progredir para avaliação *in vivo* e, eventualmente, serem aplicados na prática clínica.

Para além da síntese de análogos com propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas aprimoradas em relação à diosgenina, existem também outras técnicas que têm sido aplicadas recentemente com o objetivo de aperfeiçoar a entrega de fármaco ao seu local ativo e melhorar a sua solubilidade, com o intuito de aumentar a biodisponibilidade farmacológica da diosgenina. Outra possível vantagem é a maior eficácia terapêutica em doses mais baixas, o que pode reduzir a frequência de efeitos adversos [124]. Exemplos dessas aplicações são a sua integração em nanopartículas e em ciclodextrinas.

As nanopartículas de óxido de ferro são das mais conhecidas e estudadas. Num estudo realizado em células MCF-7 (cancro da mama) concluiu-se que estas nanopartículas contendo diosgenina apresentam propriedades antiproliferativas, pela inibição da motilidade celular e indução de apoptose, e foi demonstrado que esta combinação é significativamente mais eficaz em comparação com as nanopartículas de óxido de ferro ou com a sapogenina quando administradas de forma isolada [124]. Noutro estudo mais recente foram desenvolvidas com sucesso nanopartículas de poli-glicerol malato co-dodecanodiato (PGMD), apresentando uma elevada taxa de encapsulação (77-83 %). Nos ensaios *in vitro* realizados em células A549 observou-se a ocorrência de apoptose, concluindo-se que estas nanopartículas têm um potencial antiproliferativo significativamente superior quando comparado com o da diosgenina isolada nesta linha celular [125].

As ciclodextrinas são utilizadas principalmente para aumentar a solubilidade de determinados compostos, através da sua capacidade de formar complexos de inclusão solúveis em água. A sua estrutura cíclica consiste, normalmente, em seis, sete ou oito monómeros de glucose interligados [126]. Assim, têm sido realizados alguns estudos que têm como finalidade avaliar a biodisponibilidade oral de diosgenina inserida em complexos de inclusão com ciclodextrinas em células Caco-2 em monocamada, revelando valores 4 a 11 vezes superiores quando comparado com os da diosgenina em suspensão [127]. Posteriormente, o mesmo grupo de investigadores avaliou também a biodisponibilidade oral de cristais líquidos de diosgenina em combinação com ciclodextrinas, que também demonstraram resultados promissores [128].

## **2. Justificação do tema e objetivos**

O cancro é uma patologia de etiologia complexa que representa um grande problema de saúde pública em todo o mundo. Os dados mais recentes mostram que, de modo geral, a incidência do cancro tem vindo a aumentar ao longo dos anos. Assim, têm sido explorados vários compostos com potencialidade para serem utilizados na terapia antitumoral.

Uma vez que uma das várias estratégias mais praticadas e eficazes atualmente para o tratamento de diversos tipos de cancro é a utilização de moléculas esteroides, a síntese destas moléculas tornou-se um dos principais focos por parte dos investigadores de forma a combater as tendências crescentes desta patologia.

A diosgenina é uma molécula esteroide amplamente estudada, com um perfil terapêutico muito alargado, tendo interesse em diversas patologias, pelas suas propriedades imunossupressoras, anti-inflamatórias, anticoagulantes, antioxidantes e antiproliferativas. No entanto, é necessário melhorar as suas propriedades físico-químicas, que permitam ultrapassar as barreiras fisiológicas e aumentar a sua eficácia/segurança, e assim potencializar a sua aplicação na terapia antitumoral.

Assim, o principal objetivo deste trabalho passou por desenvolver novas alternativas farmacológicas para o tratamento do cancro, através da síntese, purificação e caracterização de derivados oxidados da diosgenina e pela avaliação *in vitro* do seu potencial antitumoral, utilizando três linhas celulares cancerígenas humanas, concretamente, células epiteliais do adenocarcinoma mamário metastático (MCF-7) e células do adenocarcinoma da próstata sensíveis (LNCaP) e não sensíveis a androgénios (PC-3), com recurso ao ensaio MTT. Também se pretendeu avaliar a percentagem de

inibição da enzima 5-AR por parte destes compostos através da quantificação de testosterona por intermédio de um método de HPLC-DAD.

### **3. Parte Experimental**

#### **3.1 Síntese Química**

##### **3.1.1. Materiais e Equipamentos**

A medição da massa dos reagentes e dos compostos foi realizada em balanças analíticas da *Radwag*. As reações foram realizadas em balões de fundo redondo com o auxílio de placas de aquecimento e de agitação *Heidolph*. A evolução das reações foi seguida por meio de cromatografia em camada fina (CCF), utilizando placas de alumínio revestidas com sílica-gel (*Macherey-Nagel 60 G/UV254*). A evaporação dos solventes foi realizada em evaporadores rotativos da *Büchi* e os compostos obtidos foram secos em atmosfera de vácuo numa estufa *Raypa drying oven digit*. O sonicador da *Branson* foi utilizado para homogeneizar os compostos e ajudar na dissolução, tanto para a análise em RMN, como para os procedimentos cromatográficos.

Para a análise dos produtos foi utilizado um espectrómetro *Bruker Avance III 400* para obter os espectros de RMN. Esses espectros foram registados a 400 MHz para  $^1\text{H}$ -RMN, utilizando clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) como solvente, que foi igualmente utilizado como padrão interno para efeitos de calibração. O processamento e a análise dos espectros foram executados no *software Topspin 4.1.1*.

##### **3.1.2. Reagentes e Solventes**

Todos os reagentes e solventes utilizados nos diversos passos reacionais no decorrer deste trabalho experimental foram adquiridos comercialmente e usados conforme recebidos, sem qualquer passo adicional de purificação.

Para a execução dos procedimentos de síntese química foram utilizados os seguintes reagentes: a diosgenina, o monoperóxido de magnésio hexahidratado (MMPP) e o cloreto de tionilo ( $\text{SOCl}_2$ ), adquiridos à *Sigma-Aldrich*; o ácido perclórico ( $\text{HClO}_4$ ), o sulfato de sódio anidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) e o ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), adquiridos à *Panreac*; e o bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ) e o cloreto de sódio ( $\text{NaCl}$ ), adquiridos à *Fisher Scientific*. A *N*-bromossuccinimida (NBS) e o cloridrato de hidroxilamina ( $\text{HONH}_2\cdot\text{HCl}$ ) foram adquiridos à *Alfa Aesar* e à *Fluka*, respetivamente. Também foi utilizado o sulfito de sódio ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) (*José M. Vaz Pereira, S.A.*), a celite (*VWR-Prolabo*) e o hidróxido de sódio ( $\text{NaOH}$ ) (*Vencilab*).

Os solventes utilizados nas reações e procedimentos de purificação foram o diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), a piridina, o metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ), o acetato de etilo ( $\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ), o éter de petróleo 40-60 °C, a acetona ( $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ ) e o ácido clorídrico ( $\text{HCl}$ ), adquiridos à *Fischer Scientific*. Já o dioxano e o  $\text{CDCl}_3$  foram, por sua vez, adquiridos à *Sigma-Aldrich*, enquanto que o etanol 70 % foi adquirido à *José Manuel Gomes dos Santos*.

### 3.1.3. Procedimentos de cromatografia

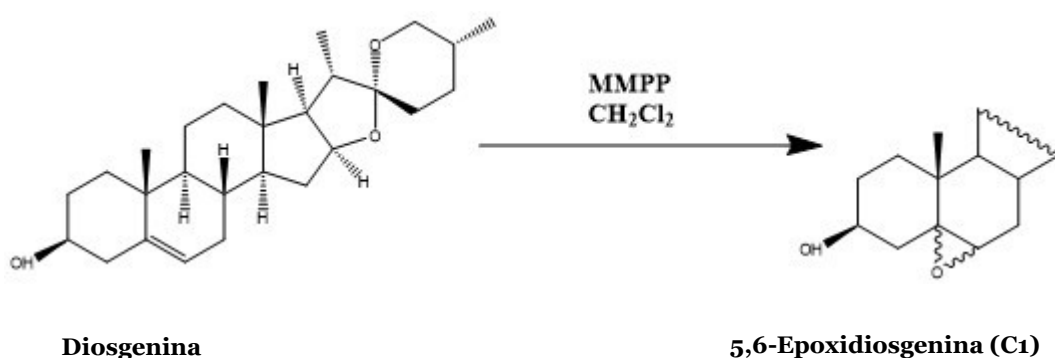
Todas as reações realizadas foram monitorizadas por CCF, utilizando-se placas comerciais de alumínio revestidas com sílica-gel *Macherey-Nagel 60 G/UV254*, como já referido. Os eluentes usados para acompanhar a evolução e monitorização das reações são apresentados em cada reação descrita, assim como as respectivas proporções (v:v).

Após eluição e secagem, as placas cromatográficas foram posteriormente imersas numa solução de revelação constituída por uma mistura de etanol absoluto e ácido sulfúrico concentrado (95:5). De seguida, novamente após secagem, as placas foram submetidas a aquecimento (120 °C) numa placa de aquecimento, de forma a tornar visíveis as manchas correspondentes aos reagentes e aos potenciais produtos no meio reacional.

Em certos casos, foi necessário proceder a purificação através da cromatografia em coluna, por se ter obtido mais do que um produto reacional ou no caso da reação se mostrar incompleta. Para a execução deste processo utilizou-se sílica gel (0,063-0,200 nm) da *Merck*, como fase estacionária. A proporção dos eluentes utilizados é indicada no procedimento experimental.

### 3.1.4. Procedimentos experimentais da síntese química

#### 3.1.4.1 Síntese da 5,6-epoxidiosgenina (C1) – Reação de epoxidação [129]



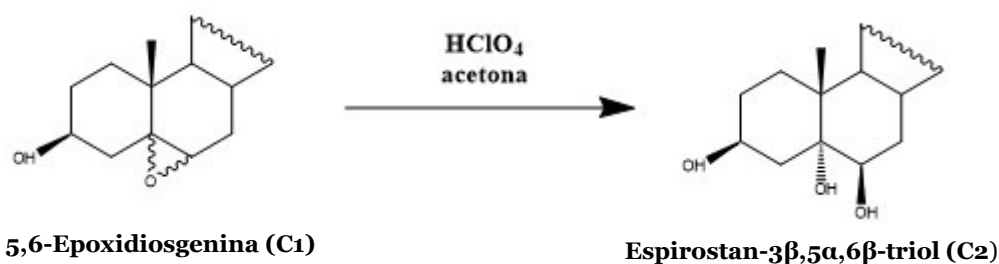
**Figura 6** - Síntese de 5,6-epoxidiosgenina a partir da diosgenina. Imagem obtida no software ChemDraw Professional 17.1.

Utilizando um balão de fundo redondo, dissolveu-se a diosgenina (0,5 mmol, 219 mg) em 9,5 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Após o substrato se encontrar totalmente dissolvido, adicionou-se 200 µL de água e 273 mg de MMPP e deixou-se em agitação magnética durante 24 h à temperatura ambiente. Para verificar se a reação estava completa procedeu-se à CCF (eluente: acetato de etilo/éter de petróleo 40-60 °C; 1:2). A placa cromatográfica mostrou uma mancha principal, correspondente ao produto pretendido, com R<sub>f</sub> de 0,43. De seguida, adicionou-se 100 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> ao balão onde se encontrava a reação e lavou-se a fase orgânica com 40 mL de solução aquosa de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> a 10 %, 40 mL de uma solução de NaHCO<sub>3</sub> à saturação e 40 mL de água. Após se proceder à separação das duas fases, secou-se a fase orgânica com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e filtrou-se com auxílio de vácuo. Por fim, a fase orgânica foi evaporada num evaporador rotativo e o produto final obtido (190mg), η = 89 % sólido branco, foi deixado a secar numa estufa de vácuo, para ser utilizado como substrato do passo reacional seguinte.

Esta reação foi posteriormente repetida, quando necessário, com o objetivo de obter massa suficiente de produto para realizar os seguintes passos reacionais.

<sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) ppm: 4,31 (1H, q, *J* = 8,06 Hz, CH-16), 3,84 (1H, m, CH-3), 3,39 (1H, m, CH-26), 3,29 (1H, t, *J* = 10,92 Hz, CH-26), 3,00 e 2,83 (1H, 2d, *J* = 2,07 e *J* = 4,71, CH-6; proporção: 16:84), 1,01 (3H, s, CH<sub>3</sub>-19), 0,88 (3H, d, *J* = 7,12 Hz, CH<sub>3</sub>-21), 0,71 (3H, d, *J* = 6,28 Hz, CH<sub>3</sub>-27), 0,66 (3H, s, CH<sub>3</sub>-18).

### 3.1.4.2 Síntese do espirostan-3β,5α,6β-triol (C2) – Reação de abertura do epóxido [19]

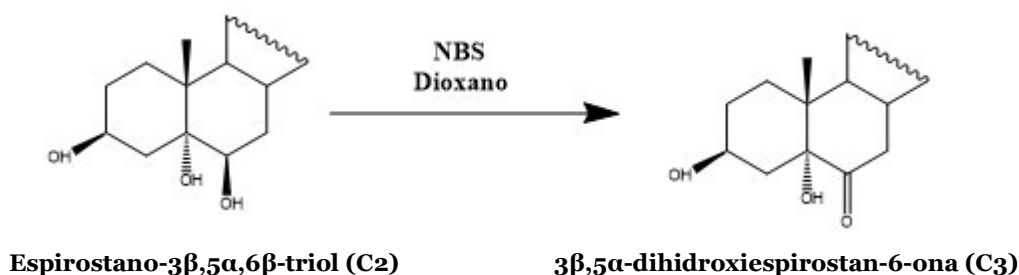


ao produto ( $R_f = 0,13$ ) e uma leve mancha que ainda correspondia ao substrato utilizado. De seguida, procedeu-se ao *work-up*, sendo que se adicionou 60 mL de  $\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ , e a fase orgânica foi lavada com  $3 \times 5$  mL de  $\text{NaHCO}_3$  e com  $3 \times 5$  mL de solução saturada de  $\text{NaCl}$  (*Brine*). A fase orgânica obtida foi posteriormente seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, filtrada com auxílio de vácuo e evaporada num evaporador rotativo. Para realizar uma purificação adicional, no final do *work-up* foi feita uma cromatografia em coluna de sílica, usando como eluente acetato de etilo/éter de petróleo 40-60 °C; 2:1, obtendo-se cerca de 330 mg do produto pretendido, com aspeto de um sólido branco e  $\eta = 51\%$ , sendo deixado a secar na estufa de vácuo.

Posteriormente, o produto foi analisado por espectroscopia de RMN.

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) ppm: 4,33 (1H, q,  $J = 7,71$  Hz, CH-16), 4,03 (1H, m, CH-3), 3,47 (1H, s, CH-6), 3,40 (1H, m, CH-26), 3,30 (1H, t,  $J = 11,01$  Hz, CH-26), 1,13 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -19), 0,89 (3H, d,  $J = 6,92$  Hz,  $\text{CH}_3$ -21), 0,72 (6H, m,  $\text{CH}_3$ -18 e  $\text{CH}_3$ -27).

### 3.1.4.3 Síntese da $3\beta,5\alpha$ -dihidroxiesteroan-6-ona (C3) – Reação de oxidação do $6\beta$ -OH [130]



**Figura 8** - Síntese de  $3\beta,5\alpha$ -dihidroxiesteroan-6-ona a partir de espirostan- $3\beta,5\alpha,6\beta$ -triol. Imagem obtida no software ChemDraw Professional 17.1.

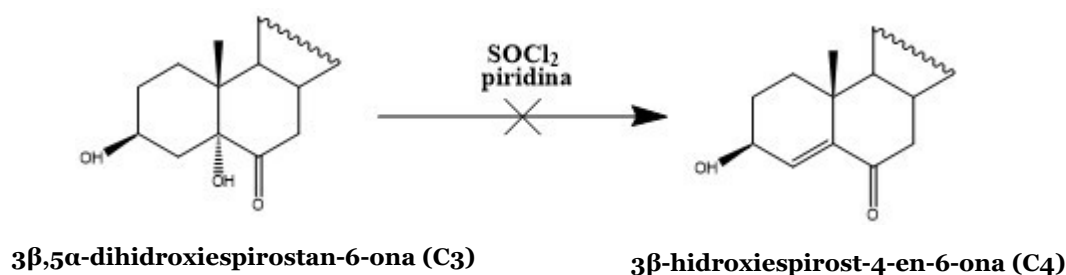
Dissolveu-se, num balão de fundo redondo, o espirostan- $3\beta,5\alpha,6\beta$ -triol (0,50 mmol, 224,8 mg) em 21 mL de dioxano e, de seguida, adicionou-se 2,3 mL de água. Após ser colocado em agitação, adicionaram-se 193 mg de NBS ao balão. Após 15 min verificou-se alteração da cor da reação para amarelo e posteriormente para laranja. A agitação magnética à temperatura ambiente decorreu por 2 h, sendo que a conclusão da reação foi confirmada por observação de CCF (eluente: acetato de etilo/éter de petróleo 40-60 °C, 1:2), que mostrou a presença de uma mancha correspondente ao produto pretendido, com  $R_f = 0,28$ . De seguida adicionou-se 25 mL de uma solução de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  (10 %), 25 mL de água e procedeu-se à extração utilizando  $\text{CHCl}_3$  ( $3 \times 50$  mL). Após a extração, secou-se a fase orgânica com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro e filtrou-se com auxílio de vácuo. Por fim, a fase

orgânica foi evaporada num evaporador rotativo e o produto final obtido (186 mg),  $\eta = 83$  % sólido branco, foi deixado a secar numa estufa de vácuo.

Posteriormente, o produto final foi analisado por espectroscopia de RMN.

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) ppm: 4,34 (1H, q,  $J = 7,40$  Hz, CH-16), 3,91 (1H, m, CH-3), 3,40 (1H, m, CH-26), 3,29 (1H, t,  $J = 11,23$  Hz, CH-26), 0,89 (3H, d,  $J = 6,89$  Hz,  $\text{CH}_3$ -21), 0,72 (6H, m,  $\text{CH}_3$ -18 e  $\text{CH}_3$ -27).

### 3.1.4.4 Tentativa de síntese da $3\beta$ -hidroxiespirost-4-en-6-ona (C4) – Reação de eliminação do álcool terciário em C-5 com formação de um ciclohexeno [131]

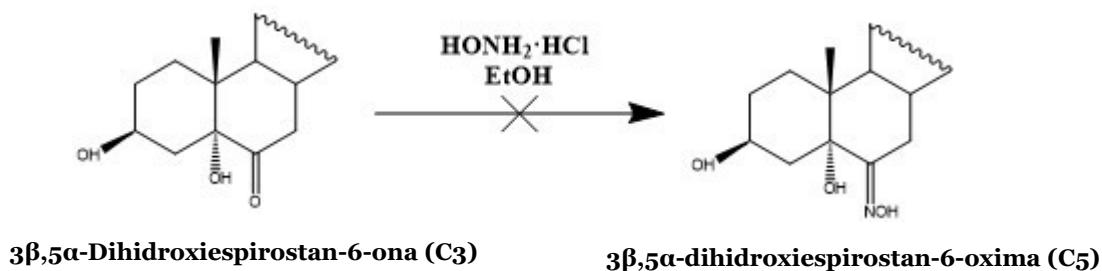


**Figura 9** - Síntese de  $3\beta$ -hidroxiespirost-4-en-6-ona a partir de  $3\beta,5\alpha$ -dihydroxiespirost-6-ona. Imagem obtida no software ChemDraw Professional 17.1.

Dissolveu-se, num balão de fundo redondo e a uma temperatura de  $0^\circ\text{C}$ , o  $3\beta,5\alpha$ -dihydroxiespirost-6-ona (0,25 mmol, 112 mg) em 1,8 mL de piridina seca. De seguida, adicionou-se 182  $\mu\text{L}$  de  $\text{SOCl}_2$  à solução anterior e colocou-se em agitação por 15 min. A evolução da reação foi confirmada por análise de CCF (eluente: acetato de etilo/éter de petróleo  $40\text{-}60^\circ\text{C}$ , 1:2), observando-se uma mancha principal com  $R_f = 0,82$ . Após este período, o conteúdo reacional foi derramado em 23 mL de água gelada e procedeu-se à extração com  $\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3$  (2x23 ml). Posteriormente, lavou-se a fase orgânica de forma sequencial, com 15 mL das soluções: HCl 10 %,  $\text{NaHCO}_3$  5 % e água. A fase orgânica extraída foi seca utilizando  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro. Por fim, procedeu-se à filtração e à evaporação no evaporador rotativo. Após a secagem verificou-se que o produto final tinha um aspeto oleoso, de cor amarelada, tendo-se observado por CCF a presença de múltiplas manchas, confirmando-se por RMN que não se terá formado o produto pretendido.

Devido ao insucesso deste passo reacional, foi decidido alterar o plano da síntese química, substituindo este último passo pela formação de uma oxima em C-6 (reação seguinte).

### 3.1.4.5 Tentativa de síntese da 3β,5α-dihidroxiesteroan-6-oxima (C5) – Formação de uma oxima em C-6 [132]



**Figura 10** - Síntese de 3β,5α-dihidroxiesteroan-6-oxima a partir de 3β,5α-dihidroxiesteroan-6-ona. Imagem obtida no software ChemDraw Professional 17.1.

Num balão de fundo redondo dissolveu-se o 3β,5α-dihidroxiesteroan-6-ona (0,16 mmol, 71 mg) em 7 mL de etanol e adicionaram-se 32 mg de HONH<sub>2</sub>·HCl, 12,6 mg de NaOH e 50 μL de água. A mistura foi colocada sob agitação magnética e à temperatura de refluxo (78 °C) durante 3 horas. Para verificar se a reação estava completa procedeu-se a CCF (eluente: acetato de etilo/éter de petróleo 40-60 °C; 1:2). Após este período, a mistura reacional foi derramada para uma solução aquosa de 1 N HCl (8,4 mL) e formou-se um precipitado. Este foi lavado com água gelada e deixou-se a secar ao ar. A fim de purificar o produto final foi realizada uma recristalização utilizando CH<sub>3</sub>OH. Contudo, após realização de CCF ainda se verificava a presença de impurezas, bem como de substrato. O produto final obtido (42 mg), η= 56 % sólido branco, foi deixado a secar numa estufa de vácuo.

Contudo a análise de RMN mostrou-se inconclusiva, uma vez que o produto não se encontrava puro, pelo que não foi possível caracterizar o espetro. Sendo assim, não foi possível prosseguir com este composto para os ensaios de avaliação biológica.

## 3.2 Avaliação Biológica

Após terminar a síntese, purificação e análise parcial dos compostos, procedeu-se à preparação das soluções stock dos compostos em DMSO a uma concentração de 10 mM, para depois se avaliar a sua atividade antiproliferativa nas linhas celulares do cancro da mama (MCF-7), e cancro da próstata sensíveis (LNCaP) e não sensíveis (PC-3) a androgénios.

### 3.2.1. Materiais e Reagentes

Para a realização dos ensaios nas linhas celulares, foi utilizado o meio de cultura DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*) e o meio de cultura RPMI 1640 (*Roswell Park Memorial Institute*), adquiridos à *Sigma Aldrich*. Os 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 de penicilina e 10 mg/mL de estreptomicina), a tripsina (1 g de tripsina para 666 mL de tampão fostato salino e ácido etilenodiamino tetra-acético (PBS/EDTA), o DMSO, o brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT), a *L*-glutamina, o piruvato de sódio e o ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinaetanosulfónico (HEPES), foram igualmente adquiridos à Sigma Aldrich.

À *Biochrom AG* foi adquirido o Soro Fetal Bovino (SFB), enquanto que o NaHCO<sub>3</sub> e o corante azul de triptano (0,4 %) foram adquiridos à *Panreac* e à *Merck*, respetivamente. As células foram semeadas em *T-flasks* e em placas de 96 poços da *Thermo Fisher Scientific*.

### **3.2.2. Equipamentos**

Uma vez que eram necessárias condições de assepsia para realizar os ensaios biológicos, a maior parte do trabalho foi realizado na câmara de fluxo laminar vertical de Classe II da *NuAire*.

Outros equipamentos usados ao longo dos ensaios foram: a incubadora *NuAire DHD* Autoflow CO<sub>2</sub> Air-Jacketed, que permitiu manter as células a temperatura adequada (37 °C) numa atmosfera humidificada, contendo 5 % de CO<sub>2</sub>; o microscópio ótico *Olympus CKX 40/41* para observação das células; a centrífuga *Bioblock Scientific (Sigma-3K18C)*, para proceder à separação das células do meio; o banho de aquecimento *Fisher Scientific* para aquecimento dos meios de cultura e outras soluções e o leitor espectrofotométrico de placas *Bio-rad Xmark Spectrophotometer* para leitura e determinação da absorvância originada pelos cristais de formazano formados no ensaio de MTT.

### **3.2.3. Linhas celulares**

Para a realização deste estudo de avaliação biológica foram utilizadas três linhas celulares distintas, concretamente, células epiteliais de adenocarcinoma mamário metastático sensíveis a estrogénios (MCF-7), células de adenocarcinoma da próstata não sensíveis a androgénios (PC-3) e células de adenocarcinoma da próstata sensíveis a androgénios (LNCaP).

As células foram cultivadas em *T-flasks* de 75 cm<sup>2</sup> e incubadas a 37 °C numa atmosfera humidificada com 5 % de CO<sub>2</sub>. Os meios de cultura eram geralmente substituídos a cada 2 ou 3 dias e quando se aproximavam da confluência as células eram tripsinizadas e transferidas para novos frascos de cultura para continuar o seu crescimento.

### **3.2.3.1. MCF-7**

As células MCF-7 são células epiteliais de um adenocarcinoma mamário metastático de uma mulher caucasiana de 69 anos, obtidas a partir de efusão pleural. Estas células caracterizam-se por serem sensíveis a estrogénios e o seu crescimento é em monocamada [133]. Para o crescimento destas células foi utilizado meio de cultura DMEM suplementado com 10 % de SFB e 1 % de antibiótico Ab.

### **3.2.3.2. PC-3**

As células PC-3 são células epiteliais de um adenocarcinoma prostático de grau IV de um homem caucasiano de 62 anos, isoladas a partir de uma metástase óssea [134]. São células aderentes, que não respondem a androgénios, e apresentam um crescimento em *clusters*. Para o crescimento destas células foi utilizado meio de cultura RPMI-1640 suplementado com 10 % de SFB e 1 % de antibiótico SP.

### **3.2.3.3. LNCaP**

As células LNCaP foram isoladas a partir de uma metástase num nódulo linfático supraclavicular esquerdo, de um homem caucasiano de 50 anos. São células epiteliais do adenocarcinoma da próstata, caracterizados por serem sensíveis a androgénios. O crescimento destas células pode ser de forma isolada ou sob a forma de agregados [133]. Tal como para as PC-3, estas células também foram incubadas utilizando meio de cultura RPMI-1640 suplementado com 10 % de SFB e 1 % de antibiótico SP.

## **3.2.4. Técnicas de Cultura Celular**

### **3.2.4.1. Tripsinização**

A tripsinização é um processo que consiste na utilização da tripsina, uma enzima proteolítica, para promover a desagregação das células, tanto do recipiente onde se encontram aderidas, como das outras células, com o intuito de formar uma suspensão celular.

A tripsinização era realizada quando as células atingiam a sua fase exponencial de crescimento, que corresponde a cerca de 70 a 90 % de confluência. A avaliação da confluência das células foi efetuada através da observação no microscópio.

Para realizar este processo, inicialmente, aspirou-se o meio de cultura do *T-flask*, e lavou-se o mesmo com 10 ml de tampão fosfato salino (PBS) (90 % água miliQ e 10 % PBS 10 x). De seguida, aspirou-se o PBS e adicionou-se 3 ml da solução de tripsina. É importante destacar que estas soluções devem ser igualmente aquecidas a 37 °C, no banho, de modo a não comprometer as condições ideais de crescimento das células.

Após um período de incubação com a tripsina (3-5 min) as células foram observadas no microscópio para saber se já estavam suficientemente soltas. Também se pode

recorrer a movimentos mecânicos para auxiliar nesse processo. Depois foi necessário neutralizar a ação da tripsina através da adição de meio de cultura completo, visto que este contém SFB, o responsável por esta inativação.

O conteúdo do *T-flask* foi transferido para um *falcon* para ser centrifugado a 1000 rpm durante 8 minutos. O sobrenadante resultante foi descartado e procedeu-se à ressuspensão do *pellet* com meio de cultura completo. De seguida, realizou-se a contagem do número de células para conhecer o volume da suspensão que é necessário transferir para novos *T-flasks* para dar continuidade ao crescimento dessa linha celular, ou para os ensaios de viabilidade celular, mais concretamente, o ensaio MTT.

#### **3.2.4.2. Contagem e sementeira celular**

Após a tripsinização, obteve-se uma suspensão celular, que pode ser utilizada para semear as células, para serem realizados os ensaios. Para que as células possam ser semeadas com a densidade apropriada é necessário proceder-se à contagem do número de células. Para tal, colocaram-se 10µl da suspensão celular num *ependorf* ao qual se adicionou 10 µl de solução de azul de triptano (0,4 %). De seguida, o conteúdo foi aplicado abaixo da lamela da câmara de *Neubauer*, onde se contabiliza o número de células em cada quadrante. Através da fórmula de *Neubauer* foi possível calcular o volume de suspensão a retirar:

$$Vi = \frac{Vf \times Cf}{\bar{X} \times 2 \times 10^4}$$

Nesta fórmula o  $V_i$  diz respeito ao volume a ser retirado da suspensão inicial,  $V_f$  corresponde ao volume final desejado,  $C_f$  é a concentração final que se pretende obter e  $\bar{X}$  representa a média das células existentes em cada quadrante da câmara.

Para a realização dos ensaios deste estudo, foram preparadas placas *multiwells* de 96 poços e preparou-se uma suspensão celular com  $2 \times 10^4$  células/mL. A suspensão foi colocada nos 60 poços centrais da placa, cada um contendo 100 µL, enquanto que nos poços circundantes foi adicionado apenas água esterilizada, de modo a tentar manter um ambiente com humidade adequada ao crescimento das células.

As placas foram incubadas por 48 h, com o objetivo de promover a aderência e o crescimento celular antes de proceder à aplicação dos compostos.

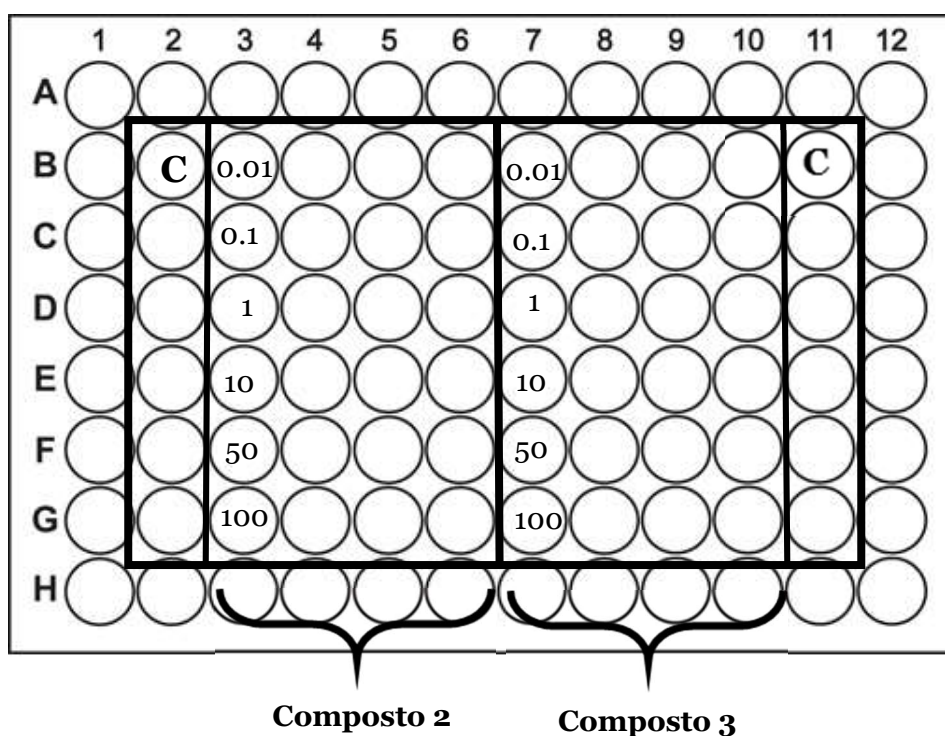
### 3.2.5. Ensaio de viabilidade celular

#### 3.2.5.1. Preparação e incubação dos compostos

Para realizar os estudos de viabilidade celular, foram preparadas soluções stock (10 mM) dos compostos C2 e C3, que foram dissolvidos em DMSO e armazenadas a 4 °C. Antes de cada ensaio, as soluções stock eram previamente aquecidas no banho de água quente para solubilizar os compostos e preparar seis soluções diluídas no meio de cultura adequado à linha celular em estudo, com as concentrações de 100 µM, 50 µM, 10 µM, 1 µM, 0,1 µM e 0,01 µM.

Após a observação das células ao microscópio, foi removido o meio de cultura e adicionadas as soluções preparadas com os compostos aos poços, bem como o controlo negativo (apenas meio de cultura completo), em duas colunas da placa (Figura 11). De seguida, a placa foi novamente incubada durante 48 h, para posteriormente se realizar o ensaio MTT para avaliar a viabilidade das células expostas a estas seis concentrações dos diferentes compostos.

A constituição das placas era a seguinte: os poços circundantes das placas continham apenas água; as colunas 2 e 11 eram os controlos negativos (C), incubado apenas com meio de cultura; e os compostos aplicados conforme as concentrações assinaladas, como exemplificado na Figura 11. Uma vez que só estavam a ser avaliados dois compostos, uma placa era o suficiente para um ensaio, sendo a mesma dividida em duas partes para os dois compostos diferentes.



**Figura 11** - Esquema representativo das placas de 96 poços para o ensaio de curva dose-resposta, com uma gama de diferentes concentrações (µM). Foram realizados ensaios com n= 4, para todas as concentrações; C = controlo negativo.

### 3.2.5.2. Ensaio MTT

Este é um ensaio colorimétrico baseado na capacidade que as células viáveis têm de reduzir o MTT, também designado de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio, de cor amarela, a cristais insolúveis de formazano, caracterizados por apresentarem uma cor roxa, através da enzima succinato-desidrogenase, existente no interior das mitocôndrias das células viáveis [135]. Os cristais de formazano, ao serem dissolvidos, vão absorver na região do visível, o que permite a sua quantificação através de espectrofotometria a 570 nm.

Como controlo negativo foram utilizadas células sem exposição aos compostos, sendo apenas incubadas com o meio de cultura completo adequado, enquanto que o branco corresponde aos valores de absorvância do DMSO.

Este método é também dependente do número de células presentes, uma vez que se considera que a quantidade de formazano produzida nestas células é diretamente proporcional ao número de células viáveis presentes em cada poço. Este ensaio apresenta diversas vantagens, uma vez que é um teste sensível, preciso, rápido e económico. Contudo, é necessário proceder com especial cuidado, uma vez que o MTT uma substância fotossensível e carcinogénica [136].

A solução foi preparada na ausência de luz, dissolvendo-se 20 mg de MTT em 4 mL de PBS, de forma a atingir a concentração de 5 mg/mL. Esta solução foi posteriormente filtrada para um *falcon* contendo meio incompleto (16 mL) com auxílio de uma seringa, com o objetivo de remover possíveis agregados que não se tenham dissolvido, obtendo-se assim uma solução final com 1 mg/mL de MTT.

Após o período de incubação das células com os compostos e verificação das células no microscópio, aspirou-se o meio de cultura de cada poço, com cuidado para não perturbar as células aderentes no fundo dos poços. De seguida, procedeu-se à lavagem com PBS e, por fim, adicionaram-se 100 µL da solução de MTT a cada poço. As placas foram envolvidas em papel de alumínio para proteger da luz e foram novamente incubadas numa atmosfera humidificada, a 37 °C e sob 5 % de CO<sub>2</sub>, durante um período de 4 h. Após esse período, aspirou-se cuidadosamente o sobrenadante dos poços das placas e adicionaram-se 100 µL de DMSO, a fim de solubilizar os cristais de formazano, para tornar possível a sua quantificação. Quando os cristais se dissolvem originam uma solução de cor arroxeadada.

Para finalizar o ensaio, quantificou-se a absorvância a 570nm num leitor espectrofotométrico e fez-se o registo dos valores obtidos. A absorvância está diretamente relacionada com o número de células viáveis no final do ensaio, e a intensidade da cor é diretamente proporcional à quantidade de cristais de formazano formados.

Os resultados foram expressos em percentagem relativa de viabilidade celular (%), assumindo como 100% a média das absorvâncias obtidas no controlo negativo, através da seguinte expressão:

$$\text{Viabilidade celular (\%)} = \frac{A \text{ composto} - A \text{ média do branco}}{A \text{ média do controlo negativo} - A \text{ média do bran}} \times 100$$

### **3.2.6. Ensaio enzimático: Quantificação de testosterona por HPLC-DAD para averiguar a percentagem de inibição da 5-AR**

A técnica mais utilizada para a análise de testosterona e dos seus metabolitos é a cromatografia líquida de alta eficiência acoplado a detetor de rede de díodos (HPLC-DAD) [137].

A enzima 5-AR é a responsável pela metabolização de testosterona em 5 $\alpha$ -dihidrotestosterona, que se trata de um androgénio com maior potência, devido à maior afinidade pelo AR e à inferior taxa de dissociação do mesmo, exercendo a sua atividade em vários tecidos responsivos a androgénios [138]. Em excesso, esta atividade androgénica tem sido associada com o desenvolvimento de uma série de problemas de saúde, nomeadamente acne, hirsutismo, hiperplasia benigna da próstata e cancro da próstata [139].

A finasterida é um potente inibidor dessa enzima e é muito utilizada no tratamento da hiperplasia benigna da próstata. Contudo, a este fármaco estão associados diversos efeitos adversos, tais como ginecomastia, comprometimento do desenvolvimento muscular e miopatias. Sendo assim, a descoberta e o desenvolvimento de compostos anti-androgénicos mais seletivos é fundamental de forma a minimizar estas adversidades [139].

Este ensaio tem como objetivo verificar o grau de inibição da enzima 5-AR por parte dos compostos C2 e C3, através da quantificação de testosterona por HPLC-DAD, utilizando como controlo positivo uma solução a 10  $\mu$ M de finasterida e um controlo negativo composto por soluções de testosterona cuja concentração foi determinada no início do ensaio (t0) e após a incubação com os compostos (t30).

Os resultados foram expressos em percentagem relativa de inibição da 5-AR (%), através da seguinte expressão [140]:

$$\% \text{ inibição 5-AR} = \frac{C \text{ amostra} - C \text{ controlo negativo t30}}{C \text{ controlo negativo t0} - C \text{ controlo negativo t30}} \times 100$$

#### **3.2.6.1. Preparação das soluções**

Para a execução deste ensaio, foi necessário preparar uma solução de sobrenadante de homogeneizado de fígado de murganho, que é a fonte da enzima. Para tal, foi

necessário pesar uma quantidade de fígado, ao qual se adicionaram 4 partes de tampão Tris-HCl gelado. A mistura foi triturada e homogeneizada na dispersora *Ultra-turrax* e transferida para *ependorfs* para ser centrifugada (2400 RPM, 4 °C, 20 min). O sobrenadante obtido foi transferido para outro *ependorf* e foi guardado a -80 °C até à sua utilização.

As soluções dos compostos a ser testados a 10 µM em DMSO foram preparadas a partir das soluções-mãe a 10 mM referidas anteriormente.

A solução de testosterona a 0,35 mg/mL foi também preparada a partir da solução stock (5 mg/mL), ao qual se adicionaram metanol e tampão Tris-HCl, para um volume final de 2 mL.

Por fim foi também preparada a solução de padrão interno, tendo sido usado o perampanel, a 0,1 mg/mL, para o efeito.

### **3.2.6.2. Procedimento experimental**

Num *falcon* de 15mL, foram adicionados 250 µL de tampão Tris-HCl, 50 µL da solução de composto em DMSO, 100 µL da solução de testosterona (0,35 mg/mL), 350 µL de sobrenadante de fígado, 100 µL de solução de padrão interno e 150 µL da solução de NADPH. De seguida a mistura foi incubada durante 30 min a 37 °C. Após esse período retirou-se o *falcon* da estufa e adicionaram-se 5 mL de diclorometano, de forma a interromper a atividade enzimática [137].

As amostras foram agitadas no *vortex* durante 1 minuto e seguiram-se dois ciclos de centrifugação, o primeiro durante 10 min a 500 RPM e a 4 °C, e o segundo durante 25 min 4500 RPM, também a 4 °C. Depois recolheu-se o diclorometano para tubos de ensaio que foram deixados a secar e reconstituiu-se o resíduo com 1 mL da fase móvel, sendo que se transferiram 200 µL para os *vials*. Por fim, foram injetados 10 µL da amostra no HPLC.

### **3.2.6.3. Parâmetros do ensaio no HPLC-DAD**

Este ensaio foi realizado no equipamento *Shimadzu LC-2010A HT Liquid Chromatography* através do detetor *DAD Shimadzu SPD-M20A* ao comprimento de onda de 245 nm, à temperatura de 40 °C.

A fase estacionária consistiu numa coluna de fase reversa *LiChroCART Purospher Star* (C18, 55 mm × 4 mm; 3 µm) protegida por pré-coluna *LiChroCART Purospher Star* (C18, 4 mm × 4mm; 5 µm) e a fase móvel foi constituída por acetonitrilo/água MilliQ (40:60, v/v). Como já referido, o padrão interno utilizado foi perampanel.

Os tempos de retenção da testosterona e do padrão interno foram de 3,01 min e 4,05 min, respetivamente.

### 3.2.7. Análise estatística

Para comparar os resultados obtidos, recorreu-se a uma análise estatística. Os resultados gráficos provenientes do ensaio de MTT e do ensaio de inibição da enzima 5-AR foram tratados utilizando o *Microsoft Excel* e o *GraphPad Prism 9.0.0*, expressos em função dos valores médios  $\pm$  desvio padrão.

Os ensaios foram realizados em quadruplicado e repetidos de forma independente pelo menos duas vezes. O teste *t-Student* permitiu analisar a comparação entre os múltiplos grupos e determinar a existência de diferenças significativas entre as médias, que foi considerada estatisticamente significativa quando  $p < 0,05$ .

Os valores de  $IC_{50}$  indicados foram calculados a partir da curva dose-resposta de regressão não linear, por cálculos de ajustamento sigmóide.

## 4. Resultados e Discussão

### 4.1 Síntese química

Este trabalho laboratorial tinha como principal objetivo a síntese de derivados oxidados da diosgenina, sendo que se tentou sintetizar vários compostos (Figura 12) para avaliação biológica. Para tal, foram realizados vários passos reacionais que envolveram a epoxidação e a sua respetiva abertura, a oxidação de um álcool secundário a cetona e a formação de uma oxima. Contudo, nem todas as reações correram como esperado.

Esta síntese química funciona de forma linear, uma vez que o produto de um passo reacional é utilizado como substrato para a reação que se segue.

Inicialmente, procedeu-se à epoxidação da diosgenina utilizando MMPP, que se se considera um reagente muito vantajoso quando comparado com a clássica utilização do ácido *m*-cloroperoxibenzóico para o mesmo efeito, devido à sua estabilidade e solubilidade aquosa, o que também facilitou o processo do *work-up*. A utilização deste reagente também permite a epoxidação mais estereosseletiva de  $\Delta^5$ -esteroides [19]. Esta reação decorreu de acordo com o esperado, sendo que após 23 h, se observou uma única mancha de produto na análise da CCF, com  $R_f = 0,43$ . O rendimento desta reação também foi bastante positivo, rondando os 90 %.

O passo seguinte consistiu na abertura do anel epóxido, através da ação do  $HClO_4$ . Após a reação decorrer e o *work-up* ter sido feito, realizou-se uma CCF e observou-se que o composto não estava puro, verificando-se a presença da mancha correspondente ao substrato. Deste modo, realizou-se uma cromatografia em coluna de sílica, para purificar o produto pretendido. Os compostos são eluídos de acordo com a sua afinidade pela fase estacionária, neste caso a sílica. Geralmente, quanto mais apolares forem os compostos, mais rapidamente serão eluídos, uma vez que os compostos polares terão

maior afinidade com a sílica, aumentando o seu tempo de retenção na coluna. O eluente a ser utilizado pode ser alterado durante o procedimento, de modo a acelerar a eluição do composto pretendido. Neste caso em concreto, inicialmente foi utilizada uma mistura de acetato de etilo e éter de petróleo 40-60 °C (2:1) até que todas as impurezas foram eluídas e depois utilizou-se metanol para obter o espirostan-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol, uma vez que já se encontrava isolado dos restantes produtos. Apesar de possibilitar esta recuperação, a cromatografia em coluna também está associada a uma perda significativa de produto, pelo que o rendimento final da reação após este processo foi de 51 %.

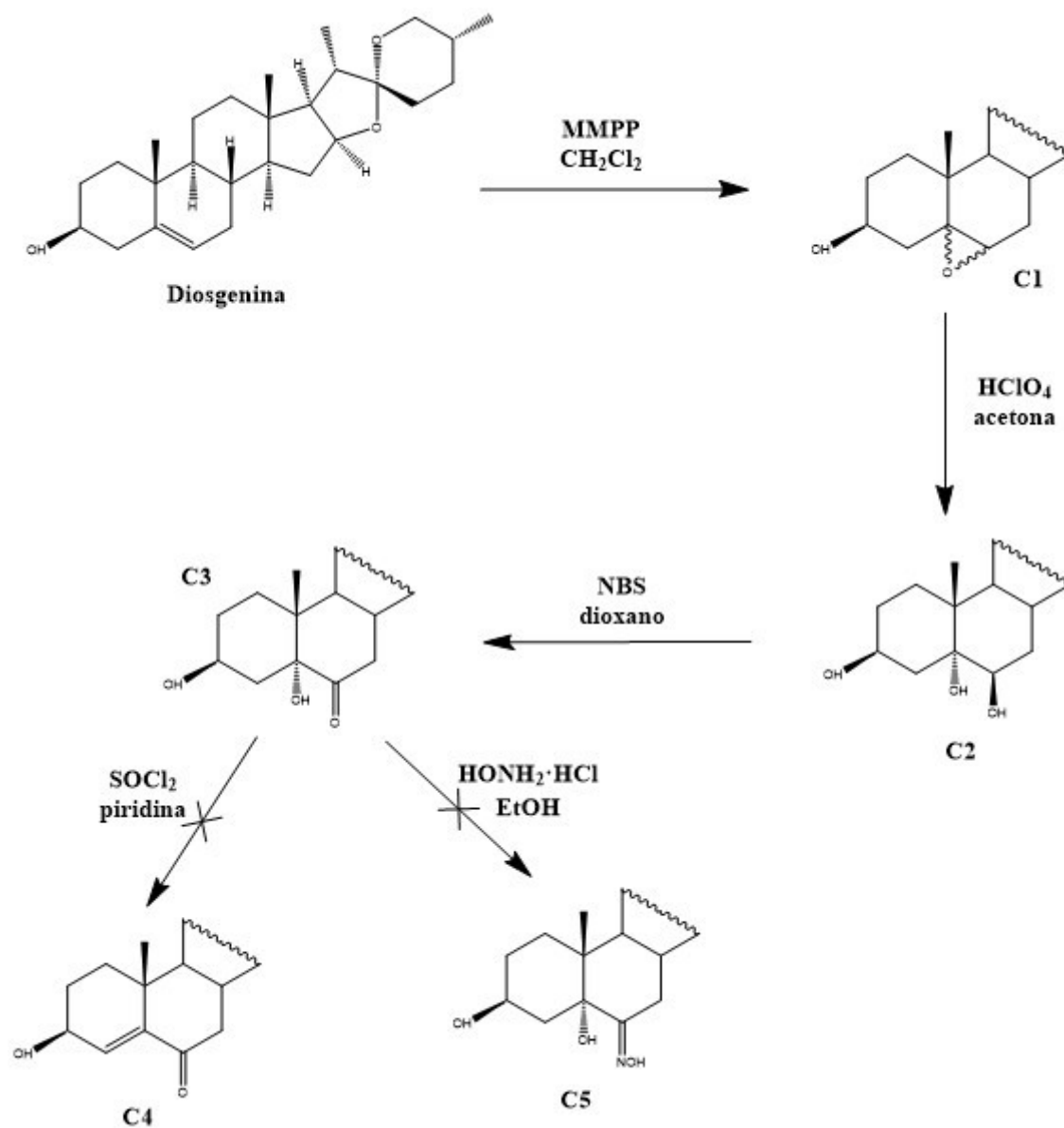
A terceira reação consistiu na oxidação do álcool secundário ligado ao C-6 para formar uma cetona, utilizando NBS, um reagente conhecido pela sua seletividade para a oxidação de 6 $\beta$ -hidroxiesteroides [130]. Esta reação decorreu sem problemas, obtendo-se o produto pretendido com um rendimento de 83 %.

Inicialmente, estava previsto que o produto final deste esquema sintético seria o composto C4, que consistia na desidratação do 5 $\alpha$ -hidroxiesteroide utilizando SOCl<sub>2</sub> em piridina, uma reação bem caracterizada para diversos esteroides e que origina uma dupla ligação em C4=C5 [131]. No entanto, esta reação não ocorreu conforme o pretendido, verificando-se múltiplas manchas em CCF. Após o *work-up*, o produto final apresentava cor amarela de aspeto oleoso, tendo-se confirmado em RMN que a reação não ocorreu de acordo com o esperado. A reação foi novamente repetida, na esperança de que o resultado anterior fosse explicado por algum erro durante a execução da reação, porém, o resultado foi similar.

Tendo em conta o insucesso da reação anterior e a baixa quantidade de substrato (C3) existente, decidi alterar-se o esquema sintético, optando-se pela formação de uma oxima em C-6, visto que é uma reação que é de fácil execução e que geralmente dá bons resultados, e porque têm sido desenvolvidos cada vez mais estudos em esteroides com este tipo funcionalidade e que têm demonstrado elevado potencial citotóxico [132, 141]. Posto isto, fez-se reagir o composto C3 com hidroxilamina em etanol, à temperatura de ebulição. Optou-se por esta estratégia por ser um método mais seletivo e ecológico comparativamente a outras abordagens que utilizam reagentes mais tóxicos, como é o caso da piridina, e que consomem mais tempo e estão associados a rendimentos de reação inferiores [132, 142]. A CCF permitiu verificar a existência de duas outras manchas, uma referente ao substrato e outra correspondente a um produto obtido de forma indesejada, pelo que foi necessário proceder a uma recristalização, no qual o produto obtido foi dissolvido em metanol, com auxílio de uma manta de aquecimento, e de seguida foi deixado a arrefecer. Contudo, este processo não permitiu eliminar as impurezas, pelo que a sua presença foi provada por RMN. Algumas soluções para resolver este contratempo seriam realizar a purificação do produto final por

cromatografia em coluna ou até mesmo a repetição da reação; no entanto, alguns fatores não permitiram a continuidade deste procedimento, tais como a quantidade limitada de substrato, bem como a escassez de tempo para terminar este projeto.

A identidade dos compostos sintetizados foi confirmada através dos espectros  $^1\text{H}$ -



**Figura 12** - Esquema geral da síntese química realizada. Imagem obtida no software ChemDraw Professional 17.1.

RMN. Como são compostos já descritos anteriormente e dada a escassez de tempo, não foram realizadas outras abordagens analíticas de caracterização estrutural.

Através da análise do espectro de  $^1\text{H}$ -RMN do C1, é possível verificar que não existe o sinal do 6H dos  $\Delta^5$ -esteroides (geralmente entre 5 e 5,5 ppm) e a presença de uma mistura de isômeros do epóxido formado, através dos sinais existentes a 3,00 e 2,84 ppm característico do próton 6 $\beta$ -H, pelo que se pode verificar que o 5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -epóxido é o isômero

maioritário (84 %). Outros sinais que merecem destaque são o quarteto referente ao CH-16 a 4,31 ppm, o multiplete a 3,84 ppm correspondente ao CH-3 e o multiplete compatível com o CH-26 a 3,39 ppm, sinais estes que se vão voltar e apurar nos espectros dos compostos subsequentes.

Relativamente ao espectro de  $^1\text{H}$ -RMN do C2 é de realçar os sinais referentes aos prótons ligados aos carbonos hidroxilados C-3 e C-6, sendo eles o multiplete a 4,03 ppm e o singlete a 3,47 ppm, respetivamente, ao mesmo tempo que se verifica a ausência dos sinais característicos dos isómeros do epóxido formado, evidenciados anteriormente.

No espectro de  $^1\text{H}$ -RMN do C3, a alteração mais significativa foi a ausência do sinal associado ao próton do C-6 (3,47 ppm) quando comparado com o espectro do composto anterior, uma vez que este foi eliminado para formar a cetona. No que diz respeito ao restante do espectro podem-se verificar várias semelhanças entre os sinais do espectro dos espectros precedentes.

Como já foi referido anteriormente, não foi possível caracterizar os espectros referentes aos compostos C4 e C5, uma vez que as reações não tiveram o sucesso pretendido.

## **4.2 Avaliação biológica**

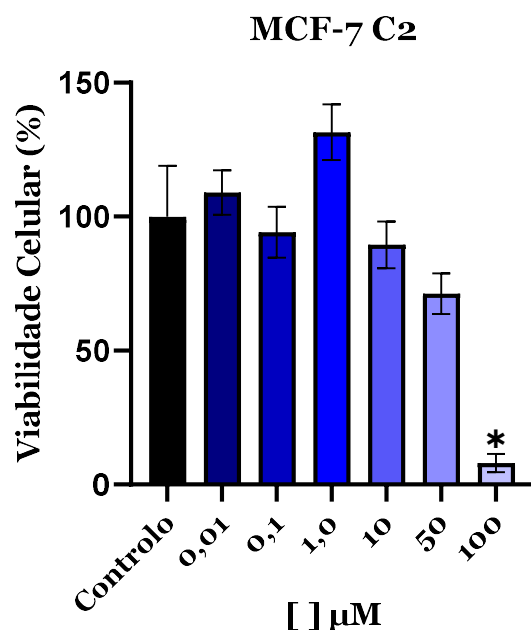
A avaliação *in vitro* da citotoxicidade foi realizada através do ensaio MTT, no qual foram testados os compostos C2 e C3 em três linhas celulares distintas: MCF-7, PC-3 e LNCaP, de forma a obter as curvas concentração-resposta e, por conseguinte, determinar os  $\text{IC}_{50}$  dos compostos a serem avaliados. O tempo de exposição aos compostos nestes ensaios foi de 48 h. Foi decidido este tempo de incubação e as 3 linhas celulares já indicadas, uma vez que o presente estudo é uma continuação de um estudo para dissertação de mestrado anteriormente realizado no grupo de investigação [19].

### **4.2.1. Resultados dos ensaios de viabilidade celular**

Nesta secção estão apresentados os resultados obtidos relativos aos ensaios MTT para avaliar os efeitos dos compostos C2 e C3 na viabilidade celular em cada uma das linhas celulares estudadas: MCF-7, PC-3 e LNCaP.

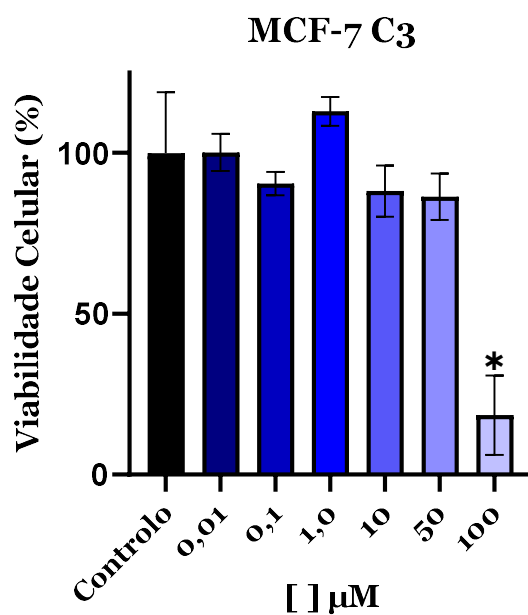
#### **4.2.1.1. MCF-7**

Através da análise do Gráfico 3, pode verificar-se que apenas existe um decréscimo marcado da proliferação celular quando a concentração de C2 é 100  $\mu\text{M}$ , sendo que em concentrações inferiores, a percentagem de viabilidade celular não difere muito da do controlo.



**Gráfico 4** - Viabilidade celular relativa na linha celular MCF-7 incubada com composto C2 a 0,01 μM, 0,1 μM, 1,0 μM, 10 μM, 50 μM e 100 μM por 48 h. Os dados das percentagens da viabilidade celular são expressos em relação ao controlo e apresentados como média ± desvio padrão. \*p < 0,05 versus respetivo controlo (teste *t*-Student), n= 4.

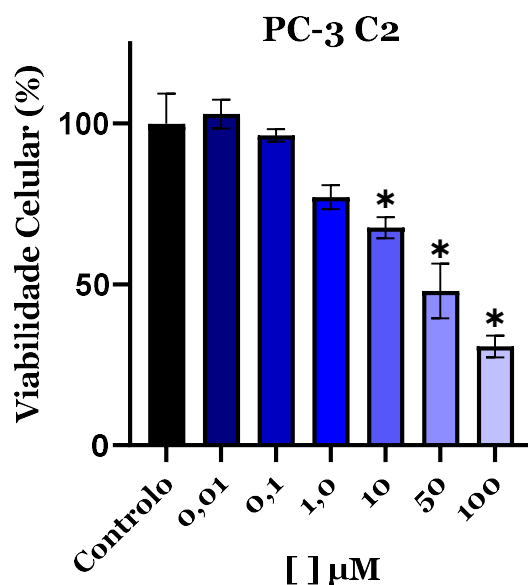
No que respeita aos dados obtidos para o C3 na mesma linha celular, os resultados foram semelhantes aos do composto anterior, verificando-se apenas uma diminuição acentuada à concentração de 100 μM, como se pode observar no Gráfico 4.



**Gráfico 5** - Viabilidade celular relativa na linha celular MCF-7 incubada com composto C3 a 0,01 μM, 0,1 μM, 1,0 μM, 10 μM, 50 μM e 100 μM por 48 h. Os dados das percentagens da viabilidade celular são expressos em relação ao controlo e apresentados como média ± desvio padrão. \*p < 0,05 versus respetivo controlo (teste *t*-Student), n= 4.

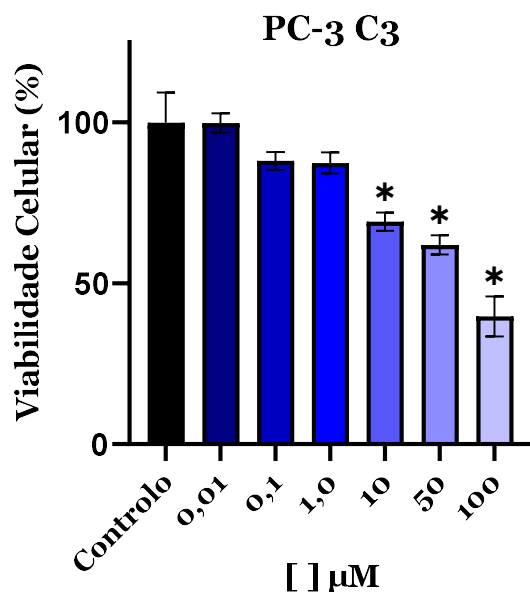
#### 4.2.1.2. PC-3

Nesta linha celular foram observados os resultados mais promissores. Pela observação do Gráfico 5, relativo ao composto C2, podemos verificar que ocorre uma descida gradual da proliferação celular, sendo esta mais acentuada nas concentrações de 50 e 100  $\mu\text{M}$ .



**Gráfico 6** - Viabilidade celular relativa na linha celular PC-3 incubada com composto C2 a 0,01  $\mu\text{M}$ , 0,1  $\mu\text{M}$ , 1,0  $\mu\text{M}$ , 10  $\mu\text{M}$ , 50  $\mu\text{M}$  e 100  $\mu\text{M}$  por 48 h. Os dados das percentagens da viabilidade celular são expressos em relação ao controlo e apresentados como média  $\pm$  desvio padrão. \* $p < 0,05$  versus respetivo controlo (teste *t*-Student),  $n = 4$ .

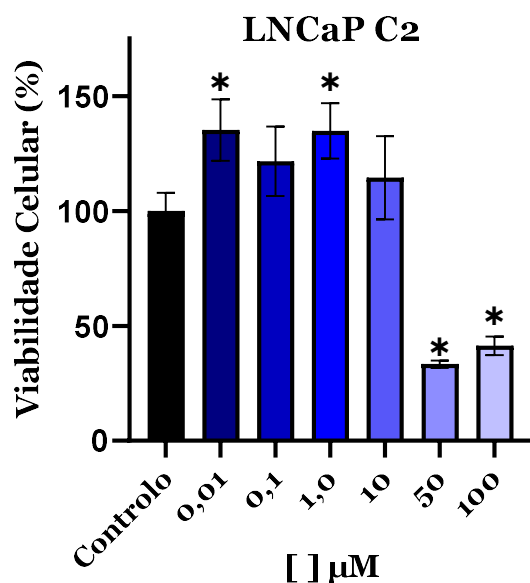
Também para esta linha celular os resultados foram relativamente semelhantes para os dois compostos a serem testados, observando-se que também ocorre um decréscimo gradual de células viáveis a partir da concentração de 1,0  $\mu\text{M}$  de C3, verificando-se um decréscimo mais marcante à concentração de 100  $\mu\text{M}$ , como é possível perceber pela observação do Gráfico 6.



**Gráfico 7** - Viabilidade celular relativa na linha celular PC-3 incubada com composto C3 a 0,01 μM, 0,1 μM, 1,0 μM, 10 μM, 50 μM e 100 μM por 48 h. Os dados das percentagens da viabilidade celular são expressos em relação ao controlo e apresentados como média ± desvio padrão. \*p <0,05 versus respetivo controlo (teste *t*-Student), n= 4.

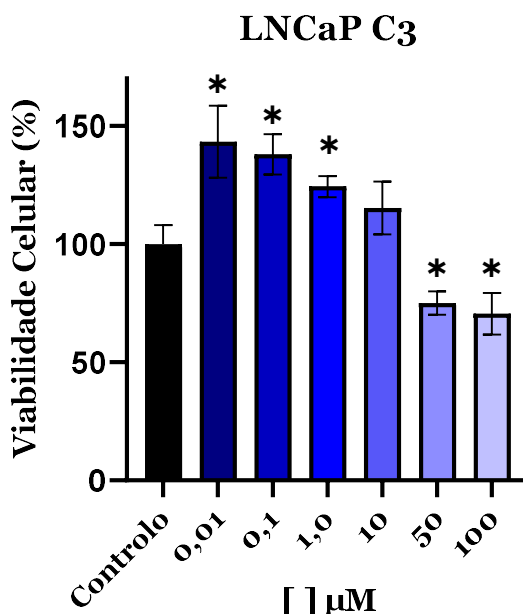
#### 4.2.1.3. LNCaP

Analisando o gráfico 7, pode verificar-se que para concentrações inferiores não parece existir comprometimento da viabilidade celular, observando-se um decréscimo marcante da proliferação celular relativa a partir da concentração de 50 μM do composto C2.



**Gráfico 8** - Viabilidade celular relativa na linha celular LNCaP incubada com composto C2 a 0,01 μM, 0,1 μM, 1,0 μM, 10 μM, 50 μM e 100 μM por 48 horas. Os dados das percentagens da viabilidade celular são expressos em relação ao controlo e apresentados como média ± desvio padrão. \*p <0,05 versus respetivo controlo (teste *t*-Student), n=4.

No gráfico 8 estão exibidos os resultados alcançados no estudo da proliferação celular relativa das células LNCaP quando incubadas com o composto C3. Novamente, nas concentrações de 50 e 100  $\mu\text{M}$  ocorreu um decréscimo mais pronunciado da proliferação celular relativa, assim como se verificou para o composto anterior, pelo que para concentrações inferiores as células não parecem ter sido afetadas.



**Gráfico 9** - Viabilidade celular relativa na linha celular LNCaP incubada com composto C3 a 0,01  $\mu\text{M}$ , 0,1  $\mu\text{M}$ , 1,0  $\mu\text{M}$ , 10  $\mu\text{M}$ , 50  $\mu\text{M}$  e 100  $\mu\text{M}$  por 48 h. Os dados das percentagens da viabilidade celular são expressos em relação ao controlo e apresentados como média  $\pm$  desvio padrão. \*p <0,05 versus respetivo controlo (teste *t*-Student), n= 4.

#### 4.2.2. Determinação da $\text{IC}_{50}$ dos compostos testados para as diferentes linhas celulares

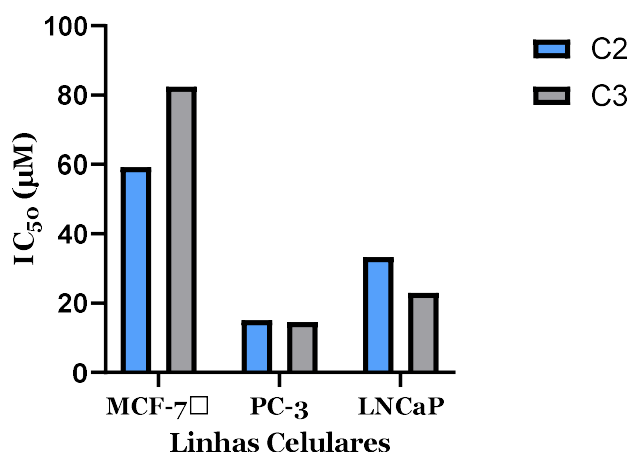
A  $\text{IC}_{50}$  pode ser compreendida como a concentração de composto necessária para inibir um processo biológico para metade do efeito máximo, constituindo um dos principais parâmetros a ser estudado também durante o desenvolvimento de novos compostos antitumorais [143]. Para calcular estes valores, foram consideradas as curvas de concentração-resposta, adquiridas através dos resultados dos ensaios MTT. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1** - Valores de IC<sub>50</sub> para os compostos C2 e C3 nas linhas celulares em estudo.

	IC <sub>50</sub> (μM)	
	C2	C3
MCF-7	59,25	82,45
PC-3	15,15	14,52
LNCaP	33,28	22,96

Estes dados encontram-se resumidos no Gráfico 9, de modo a facilitar a comparação e compreensão dos resultados.

### Valores de IC<sub>50</sub> dos compostos sintetizados nas diferentes linhas celulares



**Gráfico 10** - Resumo dos resultados obtidos referentes aos valores de IC<sub>50</sub> nas três linhas celulares em estudo, para os compostos C2 e C3.

Através da observação do gráfico 9, é possível entender que o IC<sub>50</sub> dos compostos é dependente da linha celular, uma vez que se obtiveram valores completamente distintos de em função do tipo de célula. Além disso, de uma forma geral, pode-se verificar que não houve resultados muito díspares entre os dois compostos, contudo os resultados obtidos para o C3 parecem ter sido ligeiramente superiores nas linhas do cancro da próstata.

Outra constatação que pode ser facilmente feita é que os melhores resultados foram obtidos para as células PC-3 para ambos os compostos, o que é de salientar uma vez que estas células são, geralmente, mais resistentes aos tratamentos. Já as células MCF-7 parecem ter sido as que foram menos afetadas pelos compostos. Sendo assim, parece que existe maior seletividade para as linhas celulares do cancro da próstata em relação às do cancro da mama, e que as células prostáticas não sensíveis a androgénios foram mais vulneráveis a estes compostos.

Num estudo semelhante a este, realizado anteriormente com outros derivados oxidados da diosgenina foram realizados ensaios que incluíram dois controlos positivos: a própria diosgenina e o 5-fluorouracilo [19], um conhecido antitumoral eficaz em diversos tipos de cancro. Os dados obtidos nesse estudo encontram-se resumidos na seguinte tabela.

**Tabela 2** - Valores de IC<sub>50</sub> obtidos para os controlos positivos, diosgenina e 5-fluorouracilo, nas diferentes linhas celulares. Adaptado de [19].

	IC <sub>50</sub> (µM)	
	Diosgenina	5-Fluorouracilo
MCF-7	33,71	15,75
PC-3	68,50	11,70
LNCaP	42,38	72,08

Tendo em conta estes resultados dos controlos positivos é possível tirar novas ilações em relação aos compostos.

Comparando o resultado da diosgenina com os dos compostos sintetizados, pode-se verificar que para as duas linhas celulares do cancro da próstata os valores de IC<sub>50</sub> dos dois compostos foram inferiores ao valor obtido para a diosgenina, sendo que esta diferença foi mais notória no caso das PC-3. Para a linha celular MCF-7 nenhum dos compostos apresentou maior atividade antiproliferativa do que a diosgenina.

Relativamente ao 5-fluorouracilo, podem ser retiradas conclusões relativamente distintas às descritas para a diosgenina, pelo que a única semelhança reside nas células MCF-7, uma vez que também não parece existir melhoria dos resultados obtidos nos dois compostos estudados. Neste caso pode-se verificar um notório aumento da atividade antiproliferativa dos compostos nas linhas celulares LNCaP relativamente a este controlo, enquanto que para as células PC-3 parecem ter sido obtidos resultados semelhantes com os que foram obtidos para este fármaco antitumoral.

Posto isto, podemos confirmar que as alterações estruturais executadas mostraram aumentar a atividade antiproliferativa da diosgenina, principalmente quando está presente a cetona, formada pela oxidação do 6β-OH (C3), que mostrou os resultados mais promissores, sendo também importante destacar os resultados igualmente positivos do triol, obtido pela abertura do anel epóxido (C2). No entanto, este fator é dependente da linha celular, uma vez que os melhores resultados foram obtidos nas células PC-3.

Contudo, é necessário desenvolver mais estudos, de forma a comprovar estas conclusões e complementá-las, para assim levar a uma melhor compreensão destes

resultados, nomeadamente a verificação da seletividade dos compostos sintetizados utilizando linhas celulares saudáveis, tais como fibroblastos normais da derme humana (NHDF). Além disso, uma vez que se observaram melhores resultados nas células do cancro da próstata, também poderiam ser efetuados estudos de *docking molecular* nestas linhas celulares, nomeadamente de modo a perceber as interações entre os compostos esteroides e os seus alvos moleculares mais habitualmente envolvidos nos seus efeitos antitumorais, e entender como é possível melhorar essas interações. Estes estudos estavam inicialmente planeados para serem executados, porém isso não foi possível devido à escassez de tempo.

#### **4.2.3. Inibição da 5-AR**

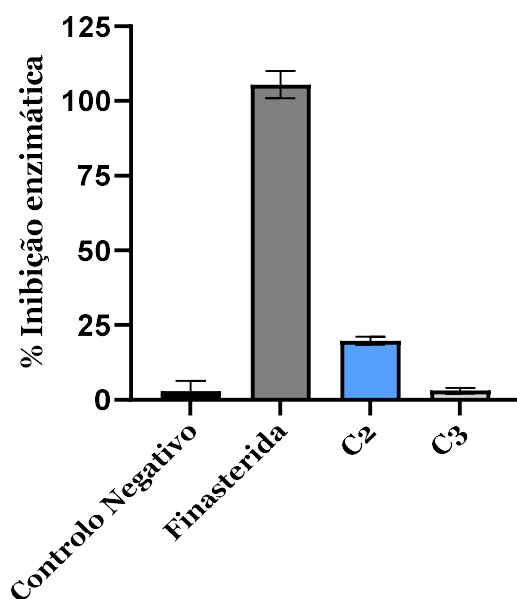
Uma vez que as células prostáticas foram as mais afetadas por estes compostos, os quais são esteroides, poderemos suspeitar que vias de biossíntese e/ou ação esteroideogénicas possam estar envolvidas neste efeito. Assim, neste contexto e uma vez que no momento de realização dos trabalhos experimentais houve a possibilidade de avaliar a capacidade de inibição da enzima 5-AR, foi efetuado este estudo adicional.

Há vários esteroides conhecidos pelo seu potencial inibitório relativamente à enzima 5-AR, como é o caso da finasterida e da dutasterida, vastamente utilizadas no tratamento da hiperplasia benigna da próstata [90].

Por estes motivos decidiu-se fazer um screening da ação inibitória dos compostos C2 e C3 desta enzima, sendo que o ensaio foi realizado à concentração de 10  $\mu\text{M}$  e através de HPLC-DAD, pela quantificação de testosterona remanescente após um período de incubação com a enzima. No ensaio foi utilizada finasterida a 10  $\mu\text{M}$  como controlo positivo. Toda a metodologia analítica foi desenvolvida pela Mestre Vanessa Brito, coordenadora desta dissertação, no âmbito da sua tese de doutoramento, encontrando-se apenas parcialmente descrita na presente dissertação. Os resultados foram expressos em percentagem da inibição da enzima em relação aos valores obtidos no controlo negativo.

No Gráfico 10 encontram-se apresentados os resultados obtidos, após o período de incubação de 30 minutos.

### Inibição da 5 $\alpha$ -redutase (10 $\mu$ M)



**Gráfico 11** - Inibição relativa da atividade da 5 $\alpha$ -redutase por parte dos compostos C2 e C3 a 10  $\mu$ M. Os resultados são apresentados como média  $\pm$  desvio padrão. A finasterida 10  $\mu$ M foi utilizada como controle positivo e o controle negativo foi composto por soluções de testosterona cuja concentração foi determinada no início do ensaio (t<sub>0</sub>) e após a incubação com os compostos (t<sub>30</sub>).

Através da observação do gráfico 10, é possível concluir que os compostos não parecem apresentar atividade inibitória relevante da enzima 5-AR, tendo em conta os valores obtidos, que contrastam acentuadamente com os determinados para a finasterida. Apesar de pouco relevante, o resultado mais destacado foi observado para o C2, com uma percentagem de inibição enzimática a rondar os 20 %.

## 5. Conclusão e Perspetivas Futuras

Os principais objetivos deste trabalho passaram pela síntese, purificação e caracterização de derivados oxidados da diosgenina e pela avaliação do seu potencial antitumoral, através da utilização de três linhas celulares cancerígenas humanas, MCF-7, PC-3 e LNCaP, com recurso ao ensaio MTT. Também foi avaliada a percentagem de inibição da enzima 5-AR através da quantificação de testosterona por intermédio de HPLC.

A maior parte das reações decorreu sem qualquer problema, originando produtos puros e bem caracterizados, com a exceção da reação de eliminação do álcool terciário em C-5 para formar a 3 $\beta$ -hidroxiespirost-4-en-6-ona (C4), não tendo sido possível obter o produto final pretendido. Assim, optou-se por alterar o esquema sintético no sentido de obtenção de uma oxima, a 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -dihidroxiespirostan-6-ona oxima (C5). Porém o espetro <sup>1</sup>H-RMN revelou que o produto continha impurezas, que impediu a sua inclusão nos ensaios celulares. Assim, os compostos selecionados para se realizarem os ensaios foram o espirostan-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol (C2) e a 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -dihidroxiespirostan-6-ona (C3).

Os estudos de avaliação biológica mostraram resultados mais interessantes nas células PC-3, onde se obtiveram os valores mais inferiores de  $IC_{50}$ , tanto para o C2 ( $IC_{50}=15,15\mu M$ ) como para o C3 ( $IC_{50}=14,52\mu M$ ). Contudo, o valor de  $IC_{50}$  dos compostos dependeu da linha celular, sendo que a linha celular de cancro da mama foi claramente menos afetada por estes compostos. Através da comparação global dos resultados, verificou-se que, de forma geral, o composto C3 apresenta resultados ligeiramente mais promissores relativamente ao C2. Quando os resultados obtidos foram comparados com os previamente descritos para a diosgenina e o 5-fluorouracilo, confirmou-se que as alterações estruturais produzidas mostraram aumentar a atividade antiproliferativa em relação à diosgenina nas células do cancro da próstata. No que diz respeito ao ensaio enzimático, os resultados demonstraram que os compostos não parecem apresentar atividade inibitória relevante da enzima 5-AR.

Em relação às perspetivas futuras neste âmbito é dada especial relevância à continuação do desenvolvimento e síntese de novos derivados oxidados da diosgenina, com particular enfoque na formação de oximas, as quais têm sido alvo de vários estudos devido à potencialidade deste grupo funcional no desenvolvimento de novos agentes antitumorais [132]. Estudos focados na seletividade dos compostos, envolvendo linhas celulares não-tumorais, como por exemplo células NHDF, são igualmente fundamentais, assim como estudos de *docking molecular*, de modo a entender melhor as potenciais interações que ocorrem entre os compostos e os recetores no quais poderão atuar, pelo que estes estudos permitem realizar um *design* racional de novas alternativas terapêuticas.



# Capítulo II - Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

## 1. Introdução

Ao longo do tempo, a profissão farmacêutica foi sofrendo alterações resultantes do desenvolvimento científico e dos avanços tecnológicos. No início da sua profissão, o farmacêutico, tradicionalmente designado de boticário, era o responsável pela preparação do medicamento. No entanto, o desenvolvimento da indústria farmacêutica veio limitar o seu papel, portanto foi necessário intervir de forma a enfatizar a atividade desempenhada por estes profissionais de saúde, nomeadamente ao nível das suas funções, competências e a diversidade da profissão.

Os farmacêuticos são profissionais de saúde que assumem a responsabilidade de assegurar a dispensa responsável da terapêutica farmacológica, de modo que a população seja capaz de usufruir do melhor benefício terapêutico e aprimorar a sua qualidade de vida, conceder um correto aconselhamento sobre o uso racional e responsável dos medicamentos e o acompanhamento farmacoterapêutico dos doentes. A principal responsabilidade do farmacêutico passa por assegurar a saúde e o bem-estar dos doentes, garantindo o acesso a um tratamento com qualidade, efetividade e segurança.

Através da sua formação avançada ao nível do conhecimento e manipulação de medicamentos, os farmacêuticos constituem uma parte essencial para o correto funcionamento de sistemas de saúde e, juntamente com outros profissionais de saúde, desempenham um importante papel na melhoria do acesso aos cuidados de saúde.

Portugal apresenta uma ampla cobertura geográfica pelas farmácias, distribuídas por todo o território nacional, pelo que as mesmas são estruturas essenciais para a garantia dos objetivos estabelecidos pelo Serviço Nacional da Saúde (SNS): a acessibilidade ao medicamento e a equidade na prestação de cuidados de saúde de qualidade a todos os cidadãos [144].

Muitas vezes, a farmácia é o único local no qual se prestam serviços de saúde disponível numa região, evitando assim deslocações desnecessárias a outros serviços de saúde, no caso da presença de problemas de saúde menores. Por conseguinte, o farmacêutico comunitário é um pilar pela sua contribuição numa diversidade de áreas, incluindo a gestão terapêutica, administração de medicamentos, determinação de parâmetros, identificação de fatores de risco, deteção precoce de diversas doenças e na promoção de estilos de vida mais saudáveis [144].

O meu estágio em farmácia comunitária foi orientado pela Dr.<sup>a</sup> Isabel Curto, diretora técnica da Farmácia Mousaco Torrão (FMT), que decorreu durante o período de 1 de março a 2 de julho de 2021.

## **2. Organização e caracterização da farmácia**

### **2.1. Localização**

A FMT encontra-se localizada na Estrada Municipal 11, na vila do Ferro, uma pequena localidade situada nos arredores da Covilhã. Esta vila é habitada por utentes de todas as faixas etárias, no entanto a maioria desses utentes são idosos, muito característico de populações do interior de Portugal. Nesta vila existe também um centro de saúde e um lar de idosos, que representam espaços muito importantes para o decorrer das atividades realizadas na farmácia. De forma que estas atividades decorram adequadamente, é essencial que exista uma relação de grande proximidade entre a farmácia, o médico destacado ao Centro de Saúde da vila e as enfermeiras e auxiliares dos lares de idosos e centros de dia, que trabalham em equipa de modo a garantir o uso correto e racional do medicamento por parte de todos os utentes.

### **2.2. Horário de funcionamento**

O horário de funcionamento da FMT é das 9 às 14 h e das 15 às 20 h nos dias úteis, encontrando-se encerrada entre as 14 e as 15 h, sendo que aos sábados encontra-se em funcionamento das 9 às 13 h, cumprindo com as 44 h mínimas de funcionamento semanal exigidas pela Portaria n.º 277/2012, de 12 de setembro [145].

Quando iniciei o meu estágio, a equipa da FMT estava dividida em 2 turnos, devido à pandemia de COVID-19, de modo a minimizar os contactos e reduzir o possível risco de contágio. Desta forma, um turno fazia o horário da manhã e o outro fazia o da tarde, trocando todas as semanas. A partir de meados de maio, com os casos de COVID-19 a diminuir e com a implementação das medidas de desconfinamento, a equipa da FMT voltou aos horários tradicionais.

### **2.3. Espaço físico da farmácia**

#### **2.3.1. Espaço exterior**

A FMT está situada num edifício de pedra histórico e em bom estado. De acordo com as Boas Práticas Farmacêuticas para a Farmácia Comunitária (BPF) da Ordem dos Farmacêuticos [146] e o artigo 28.º do Decreto-Lei n.º 307/2007 de 31 de agosto [147], todas as farmácias deverão estar devidamente identificadas através um letreiro com a designação “FARMÁCIA” e o símbolo da cruz verde, que devem ser iluminados durante a noite quando a farmácia estiver de serviço, sendo que a FMT cumpre com estas exigências. Para além disso também se encontra afixada uma placa, indicando o nome da farmácia e da diretora técnica, assim como o horário de funcionamento da farmácia e

a identificação das farmácias que se encontram em regime permanente de serviço no concelho da Covilhã.

Ao longo da montra estão apresentadas diversas campanhas referentes a alguns produtos comercializados e outras informações importantes para os utentes, como os serviços farmacêuticos prestados e a informação da existência de um livro de reclamações, como descrito no artigo 28.º do Decreto-Lei n.º 307/2007 de 31 de agosto [147].

De modo a permitir a acessibilidade à farmácia a todos os utentes, a FMT possui uma rampa em frente à porta de entrada, facilitando a deslocação a utentes idosos, portadores de deficiência motora, cadeiras de rodas ou qualquer outro cidadão com dificuldades de locomoção, como está descrito nas BPF [146].

Devido à corrente pandemia, na entrada da farmácia estão descritas as normas em vigor, como a obrigatoriedade do uso de máscara, limite de utentes na farmácia, desinfeção das mãos e o distanciamento de segurança.

### **2.3.2. Espaço interior**

As farmácias devem possuir instalações capazes de garantir a segurança e a correta conservação e preparação dos medicamentos, assim como a capacidade de assegurar a acessibilidade, comodidade, conforto e privacidade dos utentes [147].

Segundo o artigo 29.º do Decreto-Lei n.º 307/2007, de 31 de agosto [147] e o artigo 2.º da Deliberação n.º 1502/2014 de 3 de julho [148], a farmácia deve dispor das seguintes divisões obrigatórias:

- Sala de atendimento ao público (mínimo de 50m<sup>2</sup>);
- Armazém (pelo menos 25m<sup>2</sup>);
- Laboratório (mínimo de 8m<sup>2</sup>);
- Instalações sanitárias (pelo menos 5m<sup>2</sup>);
- Gabinete de atendimento personalizado para a prestação de serviços (mínimo de 7m<sup>2</sup>).

#### **➤ Sala de atendimento ao público**

Este é um espaço amplo, limpo, organizado e bem iluminado, que dispõe de dois balcões de atendimento, adequadamente separados, de modo a garantir as devidas condições de privacidade e a facilitar a comunicação entre o farmacêutico e o utente.

Neste espaço existe uma pequena área de espera, equipada com um banco, para os utentes aguardarem a sua vez, especialmente os idosos e outros utentes com dificuldades de locomoção, bem como um espaço dedicado às crianças.

Neste espaço está afixada uma placa com a identificação da diretora técnica e uma folha onde estão apresentados todos os serviços que a farmácia presta, bem como os respectivos preços. Existe também um sinal relativo à proibição de fumar dentro do estabelecimento e a informação da existência do livro de reclamações [146].

Nesta sala encontram-se vários expositores, onde são exibidos vários produtos, organizados por categorias, desde produtos relacionados com a ortopedia (calçado, bandas, faixas e suportes), suplementos alimentares, produtos dietéticos, cosméticos e um expositor direcionado para a prevenção contra a COVID-19. Durante o mês de junho foi também instalado um novo expositor com protetores solares.

Em cada balcão de atendimento existe um computador, equipado com o *software Sifarma 2000*<sup>®</sup>, uma impressora de etiquetas e talões, um leitor de código de barras, leitor de cartões de cidadão, um terminal multibanco e uma caixa-registadora. Para minimizar o risco de contágio e tornar o atendimento o mais seguro possível, cada balcão encontra-se equipado com acrílicos.

Atrás de cada balcão existem alguns armários, onde estão exibidos diversos MNSRM e outros produtos de saúde, organizados de forma temática, nomeadamente suplementos alimentares, multivitamínicos, higiene oral, podologia, puericultura e medicamentos sazonais, como antitússicos e anti-histamínicos, assim como um espaço exclusivo para produtos relacionados à dermocosmética.

### ➤ **Armazém**

Na FMT existe uma área designada para a realização e receção das encomendas, sendo esta equipada com um computador e uma impressora. Esta área encontra-se anexada ao armazém, o local onde são armazenados os medicamentos sujeitos a receita médica e alguns MNSRM.

Os medicamentos encontram-se organizados em armários com diversas prateleiras de acordo com a forma farmacêutica, sendo que os comprimidos e as cápsulas de medicamentos de referência estão separados dos respetivos genéricos, encontrando-se dispostos por ordem alfabética.

Existe também uma área específica para os medicamentos de uso veterinário (MUV) e um frigorífico, utilizado para o armazenamento de produtos termolábeis, como insulinas, vacinas e alguns colírios.

### ➤ **Laboratório**

O laboratório é o local onde são preparados medicamentos manipulados e preparações extemporâneas, dispondo de todos os equipamentos mínimos que constam no anexo da Deliberação n.º 1500/2004, de 7 de dezembro [149], nomeadamente:

- alcoómetro;
- almofarizes de vidro e de porcelana;
- uma balança;
- banho de água;
- cápsulas de porcelana;
- copos de várias capacidades;
- espátulas;
- funis de vidro;
- matrizes;
- papel de filtro;
- papel indicador pH universal;
- pedra para a preparação de cremes e pomadas;
- pipetas e provetas graduadas;
- tamises;
- termómetro;
- vidros de relógio.

Para além de todo este material, existe também uma bancada e um lavatório, onde se processa a realização dos procedimentos e a lavagem do material utilizado, respetivamente.

Neste espaço encontram-se também armazenadas as matérias-primas e reagentes utilizados na preparação dos manipulados e ainda algumas substâncias para venda ao público, como por exemplo vaselina e sulfito de sódio. Existe ainda uma prateleira onde se encontra a bibliografia necessária à produção de medicamentos, tal como a Farmacopeia Portuguesa, o Formulário Galénico Português e o Prontuário Terapêutico.

### ➤ **Instalações Sanitárias**

Na FMT existe uma casa de banho que está ao serviço dos colaboradores e dos utentes.

### ➤ **Gabinete de atendimento personalizado para a prestação de serviços**

A FMT dispõe de um gabinete de atendimento personalizado, onde são prestados os serviços farmacêuticos, nomeadamente, medição da pressão arterial, determinação dos

parâmetros bioquímicos (glicemia, colesterol e triglicéridos) e administração de injetáveis e vacinas.

Este espaço é destinado a um atendimento mais personalizado, uma vez que proporciona melhores condições de conforto e privacidade ao utente. É neste local que decorrem as consultas de nutrição, podologia e psicologia, fornecidas por profissionais de saúde desses âmbitos.

Estas consultas mostraram ser uma mais-valia, tanto para a farmácia como para a população, porque o acesso a estas áreas específicas fica facilitado, evitando que os utentes tenham que se deslocar para outras localizações para poderem usufruir destes serviços.

Este gabinete também funciona como escritório, onde estão armazenados a documentação obrigatória da farmácia e onde são desempenhadas algumas funções relativas à direção técnica da mesma, como a contabilidade da farmácia e conferência do receituário.

#### **2.4. Recursos Humanos**

A equipa da FMT é constituída pela farmacêutica diretora técnica, uma farmacêutica substituta, uma farmacêutica estagiária e três técnicas auxiliares de farmácia. Todos os profissionais encontram-se devidamente identificados com um cartão que possui o seu nome e a sua categoria profissional [146].

A maior parte das funções realizadas na farmácia são desempenhadas por todos os elementos da equipa, nomeadamente, a dispensa de medicamentos e produtos de saúde e respetivo aconselhamento, prestação dos serviços de saúde oferecidos pela farmácia, assim como a medição dos parâmetros bioquímicos, realização e receção de encomendas e devoluções, verificação dos prazos de validade, gestão de stocks e processamento do receituário. O correto funcionamento da farmácia só é possível graças ao ambiente de grande confiança e ao espírito de entreaajuda que existe entre todos os elementos da equipa.

Segundo o artigo 21.º do Decreto-Lei n.º 307/2007, de 31 de agosto [147], alterado pelo Decreto-Lei n.º 171/2012 de 1 de agosto [150], a diretora técnica tem o dever de:

- a) assumir a responsabilidade pelos atos farmacêuticos praticados na farmácia;
- b) garantir a prestação de esclarecimentos aos utentes sobre o modo de utilização dos medicamentos;
- c) promover o uso racional do medicamento;
- d) assegurar que os medicamentos sujeitos a receita médica só são dispensados aos utentes que a não apresentem em casos de força maior, devidamente justificados;

- e) manter os medicamentos e demais produtos fornecidos em bom estado de conservação;
- f) garantir que a farmácia se encontra em condições de adequada higiene e segurança;
- g) assegurar que a farmácia dispõe de um provisionamento suficiente de medicamentos;
- h) zelar para que o pessoal que trabalha na farmácia mantenha, em permanência, o asseio e a higiene;
- i) verificar o cumprimento das regras deontológicas da atividade farmacêutica;
- j) assegurar o cumprimento dos princípios e deveres referidos anteriormente.

Para além destas funções, também cabe à diretora técnica a responsabilidade da preparação de medicamentos manipulados, o contacto com delegados de propaganda médica e o envio mensal dos registos de psicotrópicos.

Devido à vasta experiência profissional de toda a equipa foi possível adquirir novos conhecimentos e perceber diferentes pontos de vista, tornando-se uma mais-valia para o enriquecimento do meu estágio curricular.

## **2.5. Sistema Informático**

O sistema informático utilizado na FMT é o *Sifarma 2000*<sup>®</sup>, desenvolvido pela empresa tecnológica *Glintt*<sup>®</sup> - *Global Intelligent Technologies*, que é também responsável pela sua manutenção, mostrando-se sempre dispostos em auxiliar na resolução de eventuais problemas com o *software* durante o desenrolar das atividades diárias da farmácia.

Cada utilizador tem acesso ao sistema informático através de um código pessoal que permite identificar todas as tarefas realizadas pelos mesmos, facilitando qualquer esclarecimento relativo a alguma operação, atividade, e até às próprias vendas, uma vez que é possível saber quem a realizou, assim como o momento a que foi efetuada.

No menu principal do *Sifarma 2000*<sup>®</sup> estão apresentadas diversas funcionalidades, nomeadamente o atendimento, gestão de encomendas, receção de encomendas, gestão de lotes por faturar, gestão de utentes e gestão de produtos, sendo que o operador deve seleccionar a opção de acordo com a função que pretende realizar.

Este *software* permite realizar uma variedade de tarefas, entre as quais: o controlo dos prazos de validade, gestão de stocks, realização e receção de encomendas, análise das compras e vendas dos medicamentos, transferência de produtos para outras instalações, registo de psicotrópicos e benzodiazepinas, gestão de lotes por faturar e faturados, regularização de faturas e conferência de receituário.

É também muito útil, na medida em que concede assistência durante o atendimento através de alertas relacionados a possíveis interações entre medicamentos e outras contraindicações, tais como na gravidez, amamentação, doença renal e hepática, e apresenta informação científica sobre cada medicamento, desde a sua composição à posologia recomendada.

Permite também a criação de fichas para os utentes, que é fundamental para o acompanhamento farmacoterapêutico. De forma a garantir maior segurança e evitar a perda de informação em caso de avaria informática ou acidente são efetuados back-ups diários, após o encerramento da farmácia, através do programa “Impressora Fiscal”. Ocasionalmente, o *Sifarma 2000*<sup>®</sup> é sujeito a atualizações, que visam corrigir alguns erros e melhorar o seu desempenho.

Apesar de já se encontrar disponível o Módulo Atendimento da versão atualizada do *Sifarma*, na FMT ainda só é utilizado o módulo antigo.

A implementação de um sistema informático como este na prática farmacêutica veio mostrar-se como uma mais-valia, pois permite auxiliar o trabalho dos profissionais da farmácia comunitária, tanto na dispensa de medicamentos, como na gestão interna da farmácia, fornecendo informações importantes relacionadas aos medicamentos e outros produtos.

### **3. Informação e documentação científica**

Cabe ao farmacêutico saber localizar, selecionar e recolher a informação científica de qualidade através das fontes de informação confiáveis. As farmácias devem dispor de uma biblioteca, organizada e constantemente atualizada, de modo a permitir a pesquisa de informação e aprimorar as suas competências e conhecimentos [146]. De acordo com o artigo 37.º do Decreto-Lei n.º 307/2007 de 31 de agosto [147], os documentos obrigatórios são:

- Farmacopeia Portuguesa;
- Outros documentos designados pelo INFARMED, tais como:
  - Prontuário Farmacêutico;
  - Formulário Galénico Português;
  - Legislação Farmacêutica.

Uma vez que as tecnologias se encontram em constante evolução, existem cada vez mais acessos eletrónicos a estas fontes fidedignas de informação, como é o caso das páginas do INFARMED, Ordem dos Farmacêuticos, plataforma Infomed, página da ANF e muitas outras. Estas fontes são uma enorme vantagem devido ao seu acesso fácil, rápido e gratuito.

A FMT também possui diversos guias de aconselhamento e de tratamento para situações específicas, fornecidas por algumas marcas durante formações, e ainda manuais de orientação em relação algumas gamas de produtos, especialmente produtos de dermocosmética, como é o caso da *Bioderma*®.

Durante o meu estágio, na presença de alguma dúvida relativamente à correta utilização de medicamentos, recorri várias vezes ao Resumo das Características do Medicamento (RCM) através da plataforma Infomed, para aceder a informação sobre as indicações terapêuticas, modo de administração, contraindicações, efeitos adversos, interações, posologia e precauções na utilização de medicamentos.

## **4. Medicamentos e outros produtos de saúde**

Na FMT existe uma grande variedade de medicamentos e produtos de saúde, de forma a corresponder com todas as necessidades dos seus utentes. Portanto para além de MSRM e MNSRM, nas mais diversas classes terapêuticas, formas farmacêuticas e apresentações, também dispõe de medicamentos homeopáticos, fitoterapêuticos, à base de plantas e medicamentos de uso veterinário, assim como uma diversidade de dispositivos médicos. Dentro da categoria dos produtos de saúde, existem diversos suplementos alimentares e produtos dietéticos, cosméticos e produtos ortopédicos.

Sendo assim, foi-me possível contactar com os mais diversos produtos e assim adquirir mais conhecimentos, que se tornaram úteis para prestar aconselhamento aos utentes, e enriquecer ainda mais a minha experiência.

### **4.1. Medicamentos**

O Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto, vulgarmente designado de Estatuto do Medicamento é o documento que “estabelece o regime jurídico a que obedece a autorização de introdução no mercado e suas alterações, o fabrico, a importação, a exportação, a comercialização, a rotulagem e informação, a publicidade, a farmacovigilância e a utilização dos medicamentos para uso humano e respetiva inspeção” [151].

Compreende-se por 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” [151]. É importante destacar que dentro da categoria “medicamentos de uso humano” também estão incluídos os medicamentos homeopáticos, radiofarmacêuticos e os medicamentos à base de plantas.

Os medicamentos genéricos são entendidos como medicamentos com a mesma forma farmacêutica e a mesma composição qualitativa e quantitativa em substâncias ativas relativamente ao medicamento de referência. Também tem de ser demonstrada bioequivalência entre os medicamentos através de estudos de biodisponibilidade [151].

Os medicamentos homeopáticos são obtidos a partir de substâncias denominadas *stocks* ou matérias-primas homeopáticas, em conformidade com o processo de fabrico descrito na farmacopeia europeia, ou de um Estado membro, regido por diversos princípios [152].

As substâncias psicotrópicas ou estupefacientes são um grupo de substâncias químicas que atuam sobre o sistema nervoso central, com a capacidade de afetar os processos mentais, provocar analgesia, sono ou inconsciência e de alterar a percepção, as emoções e comportamentos de quem os consome [153]. Devido ao elevado grau de dependência que podem provocar, estes produtos são normalmente associados a atos ilícitos, sendo alvo de muita atenção por parte das autoridades competentes, contudo, sempre que são utilizados com intuito medicinal e terapêutico, e no cumprimento estritamente de todas as recomendações clínicas, estas substâncias mostram-se muito úteis para o tratamento de diversas doenças [154].

Durante o meu estágio tive a oportunidade de contactar com os mais diversos tipos de medicamentos, desde os medicamentos de referência aos genéricos, medicamentos de uso veterinário, dispositivos médicos, cosméticos, psicotrópicos e estupefacientes, entre outros, o que permitiu ter uma experiência mais completa e um conhecimento aprimorado em relação a esta temática.

## **4.2. Outros produtos de saúde**

Na secção “9. Aconselhamento e dispensa de outros produtos de saúde” do presente relatório serão discutidos e abordados os restantes produtos de saúde disponíveis para venda ao público na FMT.

## **4.3. Classificação dos medicamentos**

Os medicamentos podem ser classificados de acordo com vários sistemas. Os sistemas de classificação mais utilizados são a Classificação ATC (*Anatomical Therapeutic Chemical*) e a Classificação Farmacoterapêutica Nacional.

A classificação ATC foi implementada pela Organização Mundial de Saúde (OMS), no qual as substâncias ativas são categorizadas numa hierarquia composta por 5 níveis. Esses níveis correspondem ao grupo anatómico onde atua, o grupo terapêutico ao qual pertence, o grupo farmacológico e o grupo químico, sendo o último nível equivalente à

substância ativa [155]. De seguida encontra-se um exemplo desta classificação relativamente à amoxicilina (Tabela 3).

**Tabela 3.** Classificação ATC da amoxicilina [156].

<b>J</b>	Anti-infecciosos de uso sistémico 1º nível – Grupo Anatómico
<b>Jo1</b>	Antibacterianos de uso sistémico 2º nível – Grupo Terapêutico
<b>Jo1C</b>	$\beta$ -Lactâmicos, Penicilinas 3º nível – Grupo Farmacológico
<b>Jo1CA</b>	Penicilinas de largo espectro 4º nível – Grupo Químico
<b>Jo1CAo4</b>	Amoxicilina 5º nível – Substância Ativa

A Classificação Farmacoterapêutica estabelece a correspondência com a classificação ATC, de modo a facilitar os profissionais de saúde e é adotada em instrumentos oficiais de apoio à prescrição, como por exemplo no Prontuário Terapêutico e do Formulário Hospitalar Nacional de Medicamentos, assim como nos processos de autorização de introdução no mercado de medicamentos e nos instrumentos normativos em matéria de comparticipação do Estado no preço dos medicamentos [157].

Dando continuidade ao exemplo anterior, nesta classificação a amoxicilina pode ser categorizada da seguinte forma:

**Tabela 4.** Classificação Farmacoterapêutica da amoxicilina [158].

<b>1</b>	Medicamentos anti-infecciosos
<b>1.1</b>	Antibacterianos
<b>1.1.1</b>	Penicilinas
<b>1.1.1.2</b>	Aminopenicilinas

Os medicamentos podem ainda ser classificados segundo a sua forma farmacêutica, categorizando-os do seguinte modo:

- Formas farmacêuticas sólidas: pós, granulados, comprimidos, cápsulas;
- Formas farmacêuticas semissólidas: cremes, pomadas; pastas; géis;
- Formas farmacêuticas líquidas: soluções, suspensões, xaropes.

## 5. Aprovisionamento e armazenamento

### 5.1. Gestão de encomendas

Uma das funções mais importantes e essenciais para a correta prestação de cuidados de saúde por parte do farmacêutico é a aquisição de medicamentos. Esta aquisição tem em conta diversos fatores e pode ser realizada de várias formas distintas.

Durante as minhas primeiras semanas de estágio este foi o meu foco, no qual tive a oportunidade de adquirir novos conhecimentos relativos à seleção de medicamentos e outros produtos de saúde, realizar e rececionar encomendas, atribuir preços a produtos de venda livre e respetiva etiquetagem, armazenamento de todos os produtos que foram rececionados entre outras diversas tarefas.

Na minha opinião, este tempo que passei a realizar as atividades de *backoffice* foram fundamentais para criar maior proximidade com o medicamento, porque dessa forma permitiu-me conhecer melhor todo o tipo de produtos existentes na farmácia, bem como a sua localização, o que se mostrou muito útil futuramente quando iniciei o atendimento ao público.

## **5.2. Tipos de encomendas**

Na FMT podem ser realizados vários tipos de encomendas, sendo que as principais formas são a aquisição de medicamentos a distribuidores grossistas ou diretamente a laboratórios certificados, ou através da “Via Verde do Medicamento”.

Encomenda diária - neste tipo de encomenda, que é a mais comum da farmácia, enquadram-se todos os medicamentos e produtos que detêm stock mínimo e máximo no sistema informático. Assim, sempre que algum desses produtos é dispensado, tanto na FMT, quer no posto de atendimento, este passa a estar inserido automaticamente na lista de encomenda, que é futuramente emitida ao devido fornecedor. A estes produtos também se juntam os produtos não recebidos provenientes de encomendas realizadas anteriormente. Também se podem introduzir outros produtos manualmente e escolher livremente as quantidades de cada produto.

Encomenda instantânea - esta encomenda é realizada durante o atendimento. Quando o produto desejado pelo utente não faz parte do stock da farmácia ou quando já se tinham dispensado todas as unidades existentes até aquele momento, podemos fazer o pedido diretamente ao fornecedor através do *Sifarma*<sup>®</sup>, na ficha do produto. Este tipo de encomenda apresenta várias vantagens, entre as quais a possibilidade de verificar se o produto está disponível nos fornecedores e dessa forma podemos informar diretamente o utente com garantia de quando estará disponível o seu produto.

Encomenda por telefone - esta encomenda é muito semelhante à anterior, sendo que neste caso em vez de utilizarmos o sistema informático utilizamos o telefone para falar em tempo real com um representante dos fornecedores acerca da disponibilidade de determinado produto, sendo que nos permite saber de outras informações relativas a esse produto, tais como o PVF e a margem que oferece à farmácia. Estas encomendas, por norma, são mais utilizadas em casos de urgência para adquirir determinado produto.

“Via verde do medicamento” – este projeto iniciou-se em 2015 e tem por objetivo combater a constante indisponibilidade de certos produtos nas farmácias. Assim foi elaborada uma lista de medicamentos que são distribuídos de forma racionada às farmácias que os requisitam, de maneira que os fornecedores consigam garantir a sua distribuição à sua totalidade [159]. Dessa lista fazem parte antidiabéticos orais, insulinas, anticoagulantes, entre outras classes farmacológicas. Esta encomenda caracteriza-se por ser realizada no momento da dispensa de um dos produtos presentes na lista, pois é necessário o número da prescrição, uma vez não se pode encomendar uma quantidade superior à dispensada e para além disso, as farmácias estão limitadas relativamente à quantidade que se pede de cada medicamento, sendo este processo todo controlado pelo INFARMED, que deve ser informado no que diz respeito às quantidades encomendadas e recebidas. Durante o estágio tive a oportunidade de efetuar este pedido para o *Lovenox*<sup>®</sup>, *Jardiance*<sup>®</sup> e *Eliquis*<sup>®</sup>.

Encomenda realizada diretamente ao laboratório - este tipo de encomenda não é tão comum as anteriores, sendo executado quando nenhum dos fornecedores contem o produto pretendido. A situação que mais vivenciei durante o meu estágio foi com o *FreeStyle Libre*<sup>®</sup> do laboratório *Abbott*<sup>®</sup>. Para realizar o pedido de encomenda era necessário preencher um formulário fornecido pelo laboratório, onde se introduziam os dados da farmácia e as quantidades de *FreeStyle Libre*<sup>®</sup> que se pretendiam obter.

### **5.3. Fornecedores**

Na FMT existem dois armazenistas de distribuição grossista principais, que realizam entregas diariamente, sendo esses a Plural+Udifar<sup>®</sup> e a OCP Portugal<sup>®</sup>.

Relativamente à Plural+Udifar<sup>®</sup>, são realizadas duas entregas por dia, às 9:30 h e às 17 h. Por vezes, em casos de urgência, realizam outra entrega às 13 h, devido à proximidade do armazém localizado no Tortosendo.

Já a OCP<sup>®</sup>, que é sediada em Viseu, normalmente, faz apenas uma entrega diária, ainda antes da abertura da farmácia, mas quando é necessário também é executada uma nova entrega às 16 h. Ocasionalmente também são realizadas encomendas por parte da *Alliance Healthcare*<sup>®</sup>, que faz as suas entregas ao início da tarde.

#### **5.3.1. Critérios de seleção entre fornecedores**

A escolha sobre qual o melhor fornecedor para se encomendar determinado produto depende de uma variedade de fatores:

- Disponibilidade do produto desejado;
- Rapidez da entrega;
- Proximidade do armazém;
- Descontos nos preços dos produtos ou bónus;

- Existência de campanhas e promoções;
- Preços praticados pelos fornecedores;
- Política de devoluções.

Trabalhar com mais do que um fornecedor é muito importante, pois em caso de indisponibilidade de determinado produto num fornecedor temos sempre a opção de realizar a encomenda através de outro, garantindo a continuidade do stock da farmácia.

A FMT faz parte do grupo Premium da Plural+Udifar®, que lhe confere condições especiais e descontos na aquisição de alguns produtos. Por este motivo, este é o armazenista privilegiado para a maior parte dos produtos adquiridos pela farmácia.

#### **5.4. Receção de encomendas**

Quando as encomendas são entregues na farmácia pelos fornecedores, estas encontram-se acondicionadas dentro de contentores selados ou em caixas de cartão, juntamente com as respetivas faturas. Nestes documentos estão presentes os dados do fornecedor e da farmácia, a designação dos produtos existentes na encomenda e o respetivo código nacional do produto (CNP), unidades de cada produto faturadas e em bonificação, preço de venda ao público (PVP) no caso do produto possuir preço impresso na cartonagem (PIC), desconto feito à farmácia, preço de venda à farmácia (PVF), imposto sobre o valor acrescentado (IVA), preço total líquido por linha, número total de unidades da encomenda e o preço total.

No caso de produtos termolábeis, que necessitam de condições especiais de conservação, tais como insulinas, vacinas e alguns colírios, estes são provisionados em contentores especiais, revestidos por esferovite (devido às suas propriedades termoisoladoras) e acompanhados por acumuladores de gelo, de forma a manter as baixas temperaturas por um período de tempo superior, para não comprometer a estabilidade e a eficácia dos mesmos. Assim, logo após a entrega da encomenda, estes produtos são imediatamente retirados e colocados no frigorífico, num local separado dos produtos já rececionados.

Para rececionar uma encomenda, é necessário selecionar a referência da respetiva fatura no menu “Receção de encomendas” e introduzir o número da guia da fatura, bem como o valor do total líquido faturado. De seguida, tem de se passar todos os produtos pelo leitor ótico, verificando-se ao mesmo tempo a validade dos produtos rececionados. Caso o stock de determinado produto seja nulo, ou caso apresente validade inferior à registada no sistema informático, a mesma deve ser prontamente atualizada. Por vezes eram recebidos produtos com um prazo de validade demasiado curto, sendo estes identificados e colocados separadamente para que fosse realizada a sua devolução.

Após a leitura dos produtos, também é necessário atualizar o PVF e o PVP dos medicamentos e produtos de venda livre, de acordo com as margens de comercialização estabelecidas na farmácia e averiguar as condições de preservação dos produtos e a integridade das embalagens.

Para confirmar a receção da encomenda é necessário verificar que a quantidade total de produtos e o valor da encomenda estão de acordo com o que vem faturado.

Relativamente aos medicamentos psicotrópicos, estupefacientes e benzodiazepinas, anteriormente, no final de cada mês era enviado um documento, em duplicado, contendo a informação de todos estes medicamentos adquiridos naquele mês. O documento duplicado tinha de ser assinado pelo diretor técnico, carimbado e enviado para o respetivo fornecedor, ao passo que o documento original deveria ser arquivado na farmácia. Atualmente, já não é necessário preencher requisições, visto que o procedimento já está informatizado, por exemplo, no caso da Plural+Udifar® e da OCP® este procedimento pode ser realizado através das suas páginas online.

Para os produtos que se encontram esgotados, indisponíveis ou não foram enviados, o *Sifarma*® dá-nos a opção de retirar os produtos da encomenda, ou de transferir esses produtos para integrarem a encomenda de outro armazenista. Depois também existe a possibilidade de comunicar ao INFARMED e ao CEFAR que os medicamentos se encontram em falta, sendo que esta operação é realizada de forma obrigatória pela FMT.

Caso algum produto se encontre em falta ou em excesso, deve ser realizada a reclamação para o respetivo fornecedor.

Só após se verificarem todas estas condições é que se pode aprovar a receção da encomenda. Os produtos que se encontram esgotados ou que não foram fornecidos por esse fornecedor eram transferidos para o fornecedor alternativo. As faturas devem ser assinadas pelo operador que realizou a receção da encomenda e arquivadas num local apropriado.

Por vezes, a encomenda não se encontrava registada no sistema informático. Nesses casos é necessário criar uma encomenda manual no menu “Gestão de encomendas” para posteriormente ser rececionada, segundo os mesmos critérios mencionados anteriormente.

## **5.5. Margens de comercialização**

Todos os medicamentos e dispositivos médicos sujeitos a receita médica apresentam na sua cartonagem a impressão do PVP, denominado de PIC. Por este motivo, o PVF não pode ser alterado.

Já no caso dos MNSRM e outros produtos de venda livre, o preço é estabelecido tendo em conta as margens de comercialização em vigor na farmácia, que depende

principalmente do tipo de produto e do valor do IVA, que pode ser de 6% ou 23%. Assim, sempre que é recebido um novo produto ou quando o PVF de um produto de venda livre é alterado, é necessário calcular ou atualizar o PVP através do fator da margem de lucro estipulado.

Quando o PVP de determinado produto é atualizado, é necessário verificar se existem mais desses produtos em stock para que estes sejam novamente etiquetados com o PVP atualizado, uma vez que não faz sentido vender o mesmo produto a preços distintos.

É de destacar que cada farmácia estabelece as suas próprias margens de comercialização, dentro dos limites impostos por lei. Por exemplo, na FMT os produtos de IVA 23 % apresentam margens de comercialização superiores quando comparados a produtos de IVA 6 %, bem como medicamentos de uso humano que também apresentam margem superior a medicamentos de uso veterinários.

Com o objetivo de limitar e regularizar as margens de lucro estabelecidas nas farmácias, são emitidos decretos-lei, despachos e portarias. Recentemente foi emitido o Despacho n.º 4699/2020 de 18 de abril, que veio limitar a percentagem de lucro de gel desinfetante cutâneo de base alcoólica, álcool etílico e equipamento de proteção individual para um máximo de 15 % [160].

## **5.6. Marcação dos preços**

Após a aprovação da receção da encomenda existe a opção de imprimir as etiquetas referentes aos preços dos produtos de venda livre. Para que esta possibilidade é necessário abrir a ficha do produto no *Sifarma*® e selecionar a opção “Etiqueta na Entrada” e gravar esta alteração para que no futuro não seja necessário repetir este procedimento.

As etiquetas contêm o CNP do produto, o PVP e o valor de IVA e devem ser coladas no produto correspondente de maneira que não oculte nenhuma informação importante, tal como o lote ou o prazo de utilização do produto.

## **5.7. Armazenamento**

### **5.7.1. Condições de armazenamento**

Para que a qualidade, eficácia e segurança dos medicamentos seja assegurada, é necessário garantir as corretas condições de armazenamento, nomeadamente de temperatura e humidade.

Estes parâmetros são controlados através de termohigrómetros, que no caso da FMT, estão colocados no armazém e na câmara frigorífica. O controlo da temperatura e

humidade deve ser realizado, de preferência quinzenalmente, e no máximo mensalmente.

Os sensores têm a capacidade de serem ligados ao computador para transmitir a informação que recolheram ao longo do tempo. Primeiro, é necessário terminar a atividade do sensor para termos a possibilidade de aceder aos dados. Depois é possível produzir um gráfico e uma tabela de acordo com os valores de temperatura registados ao longo do período em que o aparelho esteve ativado e verificar as variações de temperatura ocorridas. De seguida, é necessário imprimir os registos, que devem ser assinados e arquivados na farmácia. Por fim, o termohigrómetro tem de ser novamente ativado para iniciar a recolha dos novos dados e colocado no seu devido lugar. Este processo deve ser realizado nos dois termohigrómetros. Estes aparelhos devem ser calibrados anualmente, garantindo que as informações recolhidas são as mais corretas, e os certificados de calibração devem ser arquivados.

Os fármacos termolábeis, ou seja, sensíveis à temperatura, devem estar armazenados na câmara frigorífica, a temperaturas compreendidas entre 2 e 8 °C, enquanto que para os restantes produtos a temperatura ambiente deverá manter-se sempre acima dos 15 °C e abaixo dos 25 °C. Já no que consta à humidade, estes valores devem rondar os 60 % [161].

### **5.7.2. Organização do armazém**

O armazém é o local onde são colocados todos os medicamentos sujeitos a receita médica, bem como alguns MNSRM e dispositivos médicos. A maior parte dos MNSRM, cosméticos e outros produtos de venda livre são colocados em exposição, perto dos balcões de atendimento e nos seus devidos expositores.

Após a receção da encomenda, os medicamentos são transportados para o armazém e divididos em dois grandes grupos: medicamentos de referência e medicamentos genéricos, sendo este o principal critério de organização e divisão do armazém. Após a divisão, estes são dispostos nas prateleiras por ordem alfabética e de acordo com o seu prazo de validade, uma vez que os medicamentos que apresentarem um prazo de validade mais curto devem ficar à frente, para que sejam dispensados primeiramente, em conformidade com o princípio *FEFO* - "*First Expired, First Out*".

Os medicamentos genéricos são dispostos por ordem alfabética de substância ativa, e de seguida organizados por ordem alfabética de laboratórios. Quando determinado medicamento continha várias dosagens, normalmente a organização é feita por ordem crescente de dosagem. Os excedentes são organizados por marca ou laboratório e dispostos em locais distintos. Quando o stock na prateleira começava a diminuir, os excedentes são transportados para serem repostos no seu lugar.

Para além desta divisão, os medicamentos também eram organizados por forma farmacêutica e por via de administração. Assim os colírios e pomadas oftálmicas, medicamentos de uso veterinário, medicamentos administrados por via vaginal, supositórios, injetáveis, ampolas, material de penso, dispositivos do protocolo da diabetes, anticonceivos, gotas nasais e auriculares, inaladores, soluções e suspensões cutâneas, xaropes e suspensões orais, pós e granulados são armazenados em locais próprios, separados dos restantes medicamentos.

A organização dos medicamentos termolábeis no frigorífico é realizada de forma semelhante. Inicialmente separam-se os medicamentos por classe terapêutica, tais como insulinas e antidiabéticos, vacinas, colírios e injetáveis e de seguida colocados em diferentes prateleiras, igualmente por ordem alfabética.

Alguns medicamentos que eram rececionados faziam parte de reservas efetuadas para os utentes. Nesses casos, procedia-se à sua identificação, com o nome do respetivo utente a quem se destina, e colocado numa mesa própria para esses medicamentos. Por vezes os utentes não vinham levantar a sua reserva. Nesses casos o produto é devolvido ao respetivo fornecedor após algum tempo.

Uma disposição organizada e estruturada dos medicamentos é o ponto de partida para facilitar e tornar mais eficiente o processo do atendimento.

## **5.8. Prazos de validade**

O prazo de validade é o momento a partir do qual a segurança, efetividade e estabilidade de determinado produto ficam comprometidas. Sendo assim, o controlo dos prazos de validade é mais uma tarefa essencial para o bom funcionamento da farmácia. O correto controlo dos prazos de validade é fundamental para diminuir os desperdícios de medicamentos e os gastos da farmácia.

Na FMT, o controlo dos prazos de validade é realizado mensalmente, normalmente durante a primeira semana de cada mês. Através do *Sifarma*<sup>®</sup> temos a possibilidade de criar uma lista de medicamentos e produtos que terminem a sua validade durante o período de tempo que quisermos estabelecer.

A título de exemplo, no início do mês de abril foi emitida uma listagem dos produtos que terminavam a validade nesse mesmo mês e nos 2 meses seguintes, ou seja, compreendendo o período entre abril e junho. De seguida procedia-se à contagem física do *stock* total e os que estavam prestes a ultrapassar o prazo de validade eram retirados do *stock* e colocados num local próprio para que fossem posteriormente devolvidos e as validades eram atualizadas no sistema informática, tendo em conta o produto com a validade mais curta dentro dos produtos que permaneceram em *stock*.

No caso de certos produtos era realizado um estudo de rotatividade, de forma a avaliar se ainda têm a possibilidade de ser dispensados em breve.

Ocasionalmente era realizado um controlo mais completo, que consistia na verificação de todos os medicamentos e outros produtos presentes na farmácia, visto que podem ter ocorrido alguns erros, quer na fase da receção da encomenda, quer nos controlos realizados anteriormente.

Alguns produtos cuja validade ainda não se inseria no período estabelecido eram sinalizados com um autocolante, de modo a serem os próximos a serem entregues aos utentes e para serem mais facilmente identificados nos controlos que se realizarem posteriormente.

Cabe a cada fornecedor definir o período até quando aceita receber um produto que se esteja a aproximar do fim do prazo de utilização.

## **5.9. Devoluções**

Existem diversas razões que motivam a devolução de determinados produtos, tais como o prazo de validade (já mencionado anteriormente), embalagem danificada, quando determinado produto não é o pretendido pela farmácia ou devido a pedidos de recolha por parte do INFARMED ou dos laboratórios, por retirada de determinado lote do mercado.

Através do *Sifarma*<sup>®</sup> é possível criar uma nota de devolução, no qual deve constar o nome do medicamento, a identificação da fatura e o motivo da devolução. A nota de devolução deve ser impressa em triplicado, assinada e carimbada, sendo que duas devem ser entregues ao fornecedor para acompanhar a devolução e o triplicado deve ser arquivado na farmácia.

Cabe ao fornecedor a decisão de aceitar ou recusar a devolução. Quando a devolução é aceite, existem duas alternativas: ou é emitida uma nota de crédito no valor do produto devolvido, ou é realizada uma troca do produto. Neste último caso é necessário atualizar as informações do sistema com o prazo de validade e PVP. Importante frisar que após a emissão da nota de crédito deve-se procurar a nota de devolução respetiva guardada pela farmácia, selecionar os produtos que se pretendem regularizar e indicar que foi emitida uma nota de crédito. A devolução também pode ser recusada, e assim o produto sai do stock e vai para as “quebras”, trazendo prejuízo para a farmácia.

## **6. Interação Farmacêutico-Utente-Medicamento**

### **6.1. Aspetos éticos e deontológicos e informação ao utente**

De acordo com o artigo 10.º do Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos, “a primeira e principal responsabilidade do farmacêutico é para com a saúde e o bem-

estar do doente e do cidadão em geral, devendo pôr o bem dos indivíduos à frente dos seus interesses pessoais ou comerciais e promover o direito de acesso a um tratamento com qualidade, eficácia e segurança” [162].

A relação farmacêutico-utente é altamente determinante para o sucesso da prestação de cuidados de saúde e sucesso no alívio da sintomatologia. O farmacêutico é o profissional de saúde que está em contacto mais próximo com os utentes. Devido a esta proximidade, é essencial que a transmissão da informação necessária seja feita da melhor forma possível.

A comunicação é a chave para o correto entendimento entre o farmacêutico e o utente, portanto é crucial que o farmacêutico seja capaz de adaptar o seu discurso a cada utente, tendo em conta o seu nível sociocultural, para que todas as informações passadas pelo farmacêutico sejam completamente compreendidas, de forma a promover o uso correto e racional do medicamento.

Uma vez que a FMT se localiza numa pequena vila, a maioria dos seus utentes são habitantes locais que já se deslocavam à farmácia há muitos anos. Por este motivo, a confiança que o utente tem com o farmacêutico assume um papel determinante para o sucesso da terapêutica.

Ainda acerca do Código Deontológico, é importante salientar que o farmacêutico possui o dever de sigilo profissional relativo a todas as circunstâncias com que se tenha deparado ao longo da execução da sua atividade profissional [162]. A confidencialidade que o farmacêutico cria com o utente é uma pedra fundamental na construção da confiança e o ponto de partida para o desenvolvimento de uma boa relação com o utente.

Quando comecei a realizar atendimentos de forma autónoma percebia a desconfiança com que os utentes me olhavam por não estarem a ser atendidos pelas pessoas com quem eles já estavam habituados. Nesses momentos, a equipa da FMT mostrou o seu excelente profissionalismo, explicando aos utentes que assim como eles, eu também era um profissional de saúde dotado e capacitado para ajudar e aconselhar em todas as situações que me fossem apresentadas. À medida que o tempo foi passando e fui ganhando mais experiência, senti que os utentes já se sentiam seguros e tinham confiança no meu atendimento.

Durante o meu estágio pude reparar que toda a equipa da FMT conhecia os seus utentes pelo nome, bem como a medicação que fazia. Este conhecimento demonstra ainda mais que o farmacêutico não é um mero dispensador de medicamentos, mas sim um profissional de saúde que está atento ao que o rodeia, assumindo uma grande responsabilidade, de zelar pelo bem-estar dos seus utentes com grande compreensão, disponibilidade e amabilidade.

## **6.2. Farmacovigilância**

A Farmacovigilância é a ciência e as atividades que se relacionam com a deteção, avaliação, compreensão e prevenção de reações adversas a medicamentos (RAM) ou qualquer outro problema de segurança que se relacione com medicamentos [163]. Dessa forma o farmacêutico assume um papel fundamental na monitorização da segurança dos medicamentos, avaliando a relação benefício-risco através da transmissão de informação sobre os dados de segurança dos medicamentos.

Em Portugal foi desenvolvido o Sistema Nacional de Farmacovigilância, que é constituído por 10 Unidades Regionais, distribuídas ao longo de todo o território nacional. A FMT encontra-se abrangida pela Unidade Regional da Beira Interior, que trata do processamento e análise de RAM dos distritos de Viseu, Guarda e Castelo Branco.

É importante destacar que qualquer pessoa pode notificar uma suspeita de RAM, mas cabe ao farmacêutico a função de informar, sensibilizar e ajudar durante este processo. Assim, devem notificar-se todas as RAM's graves e não graves, quer sejam inesperadas ou que já estejam descritas no RCM do medicamento, bem como todas as suspeitas de aumento da frequência das RAM's [163].

A notificação pode ser realizada de 3 formas distintas:

- Diretamente para a Unidade Regional, por telefone ou email;
- Através do preenchimento de uma ficha de notificação, que deve ser posteriormente enviada para a Unidade Regional;
- Mais recentemente, através do Portal RAM, disponível para todos os cidadãos na página do INFARMED.

## **6.3. Reencaminhamento dos medicamentos fora de uso e gestão de resíduos**

### **6.3.1. Valormed**

A Valormed é uma instituição sem fins lucrativos criada em 1999, como resultado da colaboração entre a Indústria Farmacêutica, Distribuidores e Farmácias Comunitárias, com o objetivo de implementar um sistema autónomo para realizar a recolha e o tratamento apropriado dos resíduos resultantes de medicamentos fora de prazo ou que já não são utilizados [164].

Para além de medicamentos fora do prazo ou que já não são utilizados, também podem ser depositados nos contentores os respetivos materiais de embalagem, blisters, ampolas, bisnagas, frascos, folhetos informativos e colheres de medida.

Por outro lado, as agulhas, seringas, materiais de cirurgia, radiografias, produtos químicos, termómetros e outros aparelhos eletrónicos, bem como as suas pilhas, não

podem ser depositados nestes contentores, pelo que a gestão deste tipo de resíduos está a cargo de outras entidades, como por exemplo as agulhas e outros materiais cortantes, que são da responsabilidade do Sistema Integrado de Licenciamento do Ambiente (*SILiAmb*).

As farmácias comunitárias representam um papel fulcral para o funcionamento da Valormed, devido ao contacto próximo com os utentes, e, portanto, é nestes locais que estão presentes os contentores de cartão propícios para a recolha dos resíduos. Quando esses contentores se encontram cheios, estes devem ser pesados e é efetuado o registo da recolha dos contentores, que é da responsabilidade dos armazenistas aderentes ao sistema, aquando da entrega das encomendas diárias da farmácia. Posteriormente, os contentores recolhidos pelos armazenistas são enviados para um Centro de Triagem, onde os resíduos são separados e classificados, e de seguida entregues a gestores de resíduos autorizados, que são responsáveis pelo tratamento final, onde os materiais de acondicionamento e embalagem, como o papel, cartão, vidro e plástico são enviados para reciclagem, e o restante, nomeadamente os restos de medicamentos, são incinerados com valorização energética [165].

O farmacêutico desempenha também um papel de elevada importância, uma vez que deve informar e sensibilizar os cidadãos para que adiram à entrega dos resíduos de medicamentos, de forma a diminuir o impacto ambiental, económico e social causado pela sua deposição no lixo comum ou por vazamentos através dos esgotos.

Durante a realização do meu estágio curricular tive a oportunidade de realizar uma formação relativa a este tópico, onde fui capaz de adquirir novos conhecimentos e aprendizagens no que diz respeito ao processamento dos resíduos e ao impacto ambiental que a sua incorreta deposição pode provocar.

## **7. Dispensa de Medicamentos**

A dispensa de medicamentos representa uma das principais atividades executadas pelos farmacêuticos comunitários, no qual o farmacêutico procede à cedência de medicamentos ou outras substâncias medicamentosas através da apresentação de uma receita médica ou em regime de automedicação, disponibilizando todas as informações indispensáveis ao uso correto do medicamento cedido [146].

Portanto, o farmacêutico deve assumir um papel ativo, de modo a garantir que o utente recebe e percebe toda a informação que lhe é transmitida, nomeadamente a posologia, modo de administração, possíveis interações, precauções de utilização, condições de conservação, contraindicações e efeitos indesejáveis, duração do tratamento, bem como outras informações relevantes.

Para além da informação oral no momento da dispensa, os utentes devem ser sempre acompanhados de informação escrita, através de etiquetas, permitindo o utente relembrar a qualquer momento a informação transmitida pelo farmacêutico.

Com o desenrolar do meu estágio pude verificar que durante o ato da dispensa de medicamentos o farmacêutico deve assumir uma postura de responsabilidade, uma vez que a saúde e o bem-estar do utente estão nas suas mãos.

Durante os primeiros meses de estágio tive a oportunidade de assistir a diversos atendimentos realizados por outros elementos da FMT. Assim fui percebendo os procedimentos que são necessários executar com o *Sifarma*<sup>®</sup> durante a dispensa, bem como a melhor maneira de comunicar e abordar os utentes. Depois fui começando a realizar alguns atendimentos sob supervisão de alguém responsável, que me ia corrigindo e dando alguns conselhos para melhorar as minhas capacidades. Assim que fui ganhando mais prática e mais confiança, pude começar a realizar os meus primeiros atendimentos por conta própria, sendo este um passo extremamente importante, uma vez que me permitiu sentir mais segurança no meu trabalho e no meu conhecimento, e pude desenvolver a minha autonomia e a capacidade de avaliar e resolver os problemas.

### **7.1. Classificação de medicamentos quanto à dispensa**

No contexto da farmácia comunitária, os medicamentos de uso humano também podem ser classificados de acordo com a dispensa. Dito isto, podemos agrupá-los em dois grandes grupos: os medicamentos sujeitos a receita médica e os medicamentos não sujeitos a receita médica.

Para um medicamento ser considerado MSRM este deve cumprir com um dos seguintes critérios [151]:

- constitui, direta ou indiretamente, um risco, mesmo sendo utilizados corretamente, sem vigilância médica;
- constitui risco quando utilizado em quantidade considerável para fins diferentes daquele a que se destina;
- caso contenha substâncias, ou preparações à base dessas substâncias, cuja atividade e ou efeitos secundários seja indispensável aprofundar, ou seja, quando necessitam de informação adicional;
- seja prescrito pelo médico para administração parentérica.

Os medicamentos de dispensa exclusiva em farmácia (MNSRM-EF) são uma subcategoria dos MNSRM, aplicável a medicamentos que cumpram determinadas condições estabelecidas em protocolos de dispensa. Apesar de ser dispensados sem prescrição médica, a respetiva dispensa é condicionada a intervenção do farmacêutico e

aplicação de protocolos de dispensa, pelo que não podem ser dispensados noutros locais de saúde, como por exemplo as parafarmácias [166]. O INFARMED disponibilizou uma lista no qual constam todos os medicamentos enquadrados nesta categoria, sendo o ibuprofeno 400 mg e o ácido fusídico (20 mg/g) para uso externo exemplos destes medicamentos [166].

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

### **7.2.1. Prescrição médica**

Embora existam diversos tipos de prescrição médica, é comum a todos os tipos de prescrição a obrigação de indicar a substância ativa através da Denominação Comum Internacional (DCI), a forma farmacêutica, a dosagem, a posologia, a apresentação e a quantidade [167].

#### **7.2.1.1. Tipos de prescrição médica**

Face à existência de vários modelos diferentes de prescrições médicas, é essencial que o farmacêutico saiba como interpretar cada um deles.

Atualmente, existem dois tipos de receitas médicas, as receitas manuais e eletrónicas, pelo que estas podem ainda ser diferenciadas em materializadas e desmaterializadas.

As receitas médicas manuais são efetuadas num documento pré-impreso e só podem ser aceites caso estejam devidamente justificadas, no canto superior direito da receita, com um dos seguintes motivos: falência informática, inadaptação do prescriptor, prescrição no domicílio ou até 40 receitas/mês [167]. Neste tipo de receitas é necessário que esteja presente a vinheta com a identificação do médico prescriptor. Por vezes, a apresentação da embalagem não é indicada pelo médico prescriptor, pelo que neste cenário deve-se considerar sempre a menor embalagem existente.

A este tipo de prescrição estão associadas algumas desvantagens, sendo a principal a ocorrência de erros que têm origem na incorreta interpretação da caligrafia do médico, pelo que o farmacêutico pode dispensar um medicamento diferente ao que foi dispensado, uma vez que não existe nenhuma etapa de verificação da receita.

Durante o meu estágio tive a oportunidade de contactar com alguma receitas manuais e deparei-me com este problema. Quando assim é, o farmacêutico deve contactar o médico de forma a esclarecer todas dúvidas associadas à prescrição.

A receita eletrónica desmaterializada, também designada de Receita sem Papel (RSP), é um tipo de prescrição que é acessível e interpretável através de equipamentos eletrónicos. Desta forma, no momento em que é realizada a prescrição, os *softwares* conseguem validar e registar a receita no sistema central de prescrições, pelo que é

possível realizar a verificação dos medicamentos dispensados no final do atendimento [167]. Outra vantagem presente é a possibilidade de o utente ter a oportunidade de levantar a medicação conforme vá necessitando, até ao prazo de validade da receita.

A receita eletrónica materializada é um tipo de prescrição em que é realizada a impressão da prescrição eletrónica. Nestas receitas estão presentes o número da receita, o código de acesso e o código de direito de opção, localizadas na guia de tratamento dispensada ao utente, pelo que também poder ser enviadas através de mensagem para o telemóvel do utente ou acedidas pela aplicação ou página pessoal do utente do SNS.

As receitas eletrónicas, quer as materializadas, quer as desmaterializadas, apresentam várias vantagens relativamente às receitas manuais, pelo simples facto de toda a informação presente na receita estar informatizada, o que permite uma rápida identificação da receita e a minimização dos erros de interpretação durante a dispensa.

As receitas médicas também podem ser classificadas em: receita médica renovável, receita médica especial e receita médica restrita [151]:

- Receita médica renovável: destinada ao tratamento prolongado de doenças crónicas e contem medicamentos que podem ser adquiridos mais do que uma vez sem a necessidade de nova prescrição, como é o caso dos antihipertensivos e dos antidiabéticos orais;
- Receita médica especial: para substâncias recentes onde é necessária monitorização adicional, ou para substâncias que possuam potencial de abusos tais como os estupefacientes e psicotrópicos;
- Receita médica restrita: para medicamentos cuja utilização se encontra reservada apenas a meios especializados, como tratamento hospitalar ou em regime de ambulatório.

Na maioria das vezes, os medicamentos são prescritos através da DCI, de modo a dar liberdade de escolha do utente e promover a utilização de medicamentos genéricos, no entanto, em casos específicos, o médico pode optar por prescrever por nome comercial, contudo só é possível na eventualidade de não existirem medicamentos genéricos dessa substância ativa ou no caso de se aplicar uma das seguintes exceções [168]:

- a) Prescrição de medicamento com índice terapêutico estreito;
- b) Utente apresenta intolerância ou teve uma reação adversa previamente;
- c) O tratamento tem uma duração estimada superior a 28 dias.

Nas receitas eletrónicas materializadas e nas receitas manuais, podem estar prescritos até quatro medicamentos distintos, num total de 4 embalagens por receita e 2 embalagens por medicamento [167].

Já nas receitas eletrónicas desmaterializadas é permitido prescrever até 6 embalagens de medicamentos que se destinem a tratamentos de longa duração ou até 12 embalagens no caso de se tratar de doses unitárias para tratamentos de longa duração [167].

O utente só pode adquirir, mensalmente, um máximo de 2 embalagens de medicamentos similares ou 4 embalagens no caso de se tratar de dose unitária. Contudo o farmacêutico pode dispensar em quantidade superior caso se justifique uma das seguintes situações [169]:

- 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.

#### **7.2.1.2. Validação da prescrição**

Quando o utente entrega a sua receita ao farmacêutico, este deve fazer uma análise crítica da receita com o objetivo de a validar, avaliar e interpretar, de forma a compreender o enquadramento da receita.

Os parâmetros que devem estar presentes nos diferentes tipos de prescrição são [167]:

##### **1. Receita eletrónicas:**

- Número da receita;
- Local de prescrição;
- Identificação do médico prescriptor;
- Identificação do utente (nome e número do SNS);
- Entidade financeira responsável;
- Identificação do medicamento;
- Posologia e duração do tratamento;
- Participações especiais (quando necessário);
- Data da prescrição;

##### **1.1. Receita eletrónica materializada:**

- Tipo de receita (RN- prescrição de medicamentos; MM- medicamentos manipulados);
- Via da receita;
- Validade da prescrição e número de embalagens;
- Assinatura do médico prescriptor.

##### **1.2. Receita eletrónica desmaterializada:**

- Tipos de linhas de prescrição;
  - Validade da prescrição e número das embalagens;
  - Hora da prescrição;
  - Assinatura do médico prescriptor.
2. Receitas manuais: Para além dos parâmetros referidos no ponto 1.) ainda é necessário:
- Identificação da justificação;
  - Local da prescrição;
  - Validade da prescrição e número de embalagens;
  - Identificação (respetiva vinheta) e assinatura do médico prescriptor;
  - Outras especificidades, como a inexistência de rasuras e caligrafias diferentes.

A presença de erros na prescrição podem comprometer a eficácia do tratamento ou impedir a comparticipação. Portanto, cabe ao farmacêutico estar atento durante a validação da prescrição e caso seja detetada alguma inconformidade deve-se contactar imediatamente o médico prescriptor, de modo a resolver o problema. A cooperação entre os profissionais de saúde demonstra trazer benefícios ao nível da minimização de erros e de proporcionar o melhor tratamento para cada utente.

### **7.2.2. Processo da dispensa de MSRM**

O farmacêutico, enquanto último profissional de saúde com o qual o utente contacta antes de iniciar o tratamento farmacológico, desempenha um papel indispensável, de modo a identificar interações medicamentosas, potenciais duplicações terapêuticas, ou até mesmo regimes posológicos ou dosagens inadequadas para o utente em causa.

Após a validação da receita, o farmacêutico deve identificar o utente e avaliar os motivos e a sintomatologia que levaram à elaboração da prescrição, bem como proceder à análise dos medicamentos prescritos, quanto à forma farmacêutica, posologia, via de administração e duração do tratamento. Após esta examinação, recorre-se ao sistema informático para processar a prescrição.

Após seleccionar o menu “Com Comparticipação” do *Sifarma 2000*<sup>®</sup> é necessário introduzir os dados da receita, nomeadamente o número da receita e o código de acesso. De seguida tem-se acesso a toda a informação presente na receita, pelo que o farmacêutico tem de seleccionar as linhas que pretende dispensar de acordo com o pedido do utente, surgindo a opção de escolher qual o medicamento, dentro do grupo homogéneo, tendo em conta o *stock* presente na farmácia.

O farmacêutico tem a obrigação de informar o utente acerca da existência de medicamentos genéricos, bem como qual é o que apresenta o preço mais baixo. Sendo assim, as farmácias devem ter disponível para dispensa, no mínimo, três dos cinco medicamentos com preço mais baixo pertencentes a cada grupo homogêneo [151], que se trata do conjunto de medicamentos que possuem a mesma composição qualitativa e quantitativa em substâncias ativas, forma farmacêutica, dosagem e via de administração e que inclui, no mínimo, um genérico existente no mercado [170].

É fundamental que o farmacêutico forneça todas as informações, nomeadamente a posologia, duração do tratamento e modo de conservação e garanta que o utente recebe e compreende a informação de forma a retirar o máximo benefício do tratamento. Para tal, é necessário que o farmacêutico tenha a capacidade de adaptar a complexidade do discurso tendo em conta cada utente em particular.

Contudo, é importante selecionar as informações que são mais importantes e indispensável, uma vez que os utentes podem fazer confusão e ter dificuldade em recordar toda a informação que lhe é transmitida, especialmente no caso de utentes polimedicados, onde há maior risco de baralhar toda a medicação. Daí ser importante o fornecimento de informação escrita, sob a forma de etiquetas ou papéis, para facilitar a compreensão do utente.

Após serem selecionadas todas as linhas, procede-se ao término do atendimento, onde é necessário fazer a leitura ótica dos *DataMatrix*<sup>®</sup> de todos os medicamentos, de forma a confirmar de que estamos a dispensar os medicamentos corretos e verificar a autenticidade e a identificação da embalagem individual desses medicamentos [171].

No final da dispensa somos encaminhados para o menu do pagamento, que permite selecionar de entre duas opções: “Imprimir” ou “Crédito”. Quando o utente tenciona pagar imediatamente, seleciona-se a opção “Imprimir”, sendo emitida uma fatura que serve para efeitos de IRS. Esta fatura deve ser carimbada e assinada pelo colaborador que realizou a dispensa. Contudo, o utente pode desejar pagar noutra ocasião, nesse caso é selecionada a opção “Crédito”, onde é emitida uma fatura simplificada que é conservada na farmácia até ao utente realizar o pagamento e ser emitida a fatura final.

A opção “Crédito” deve ser excepcional para os utentes frequentes da farmácia, que tenham ficha criada e onde esta opção tenha sido aprovada, sendo imposto um limite ao valor do crédito. Na FMT esta opção é bastante utilizada, uma vez que vários utentes preferem realizar os pagamentos no final de cada mês, como é o caso dos utentes dos lares.

Uma vez que o processamento informático é realizado de forma manual, no caso das receitas manuais e nas eletrónicas materializadas, no final do processo da dispensa é impresso no verso da receita um conjunto de informações, no qual está presente o nome

da farmácia, o número da venda, a entidade responsável pela comparticipação, identificação dos medicamentos comparticipados, nomeadamente a dosagem, a apresentação, a quantidade dispensada e o PVP, bem como valor da comparticipação. O impresso tem de ser assinado pelo utente e pelo farmacêutico, que também escreve a data em que foi dispensada e no final é carimbada e guardado num local específico para ser conferida no final do mês, aquando do processamento do receituário.

Outra alternativa que existe são as vendas suspensas. Estas podem ser realizadas sempre que o utente não pretenda aviar logo todos os medicamentos da receita eletrónica materializada ou na eventualidade da farmácia não possuir em stock o medicamento naquele momento, ficando o medicamento na sua ficha. Caso o utente deseje realizar o pagamento podemos inserir o plano de comparticipação de forma manual. Assim o utente fica com a responsabilidade de trazer novamente a receita para realizar a regularização do que ficou na sua ficha.

Durante o estágio tive a oportunidade de contactar com todos os tipos de prescrições, sendo que as mais comuns são as receitas eletrónicas desmaterializadas, uma vez que apresentam diversas vantagens, como referi anteriormente. As receitas manuais estão a cair em desuso, no entanto é importante que permaneçam como uma opção de *back-up* para o caso de surgir algum problema informático por parte do médico prescriptor que não lhe permita realizar a prescrição eletrónica.

### **7.2.3. Dispensa de Psicotrópicos e Estupefacientes**

Sendo estas substâncias com elevado poder aditivo e de potencial de abuso, os estupefacientes e psicotrópicos estão sujeitos a um controlo rigoroso e apertado, tanto ao nível da prescrição, distribuição e dispensa, sendo o INFARMED a entidade responsável por todo o controlo deste tipo de medicamentos em Portugal [154].

Quando utilizadas numa visão terapêutica e enquanto se cumprir escrupulosamente com todas as recomendações clínicas, estes medicamentos mostram ter bastante utilidade perante várias patologias, sem serem consideradas drogas de abuso [154].

O processamento da dispensa destes medicamentos difere dos restantes, uma vez que é obrigatório realizar o preenchimento de um conjunto de dados no final do atendimento, do qual consta o nome, data de nascimento, número e data de validade do cartão de cidadão, tanto do doente como do adquirente do medicamento, na eventualidade de não ser a mesma pessoa a que se destina a prescrição do medicamento [167].

No final da dispensa, é emitida uma reprodução da prescrição em duplicado, servindo como um comprovativo da dispensa, que deve ser arquivado na farmácia por um período mínimo de 3 anos [167].

Em virtude do controlo restrito a que esta classe de medicamentos está sujeita, é obrigatório o envio ao INFARMED via *e-mail* do registo mensal de saídas dos medicamentos psicotrópicos e estupefacientes até ao dia 8 do mês seguinte, juntamente com a cópia das receitas manuais. Anualmente, até dia 31 de janeiro, é preciso enviar também ao INFARMED o mapa do balanço dos psicotrópicos, pelo que é necessário manter o arquivo de todos os documentos durante 3 anos [172].

Ao longo do meu estágio, tive a oportunidade de assistir e experienciar a dispensa de medicamentos psicotrópicos e estupefacientes, tais como o Palexia®, Ritalina® e Concerta®. Desta forma pude enriquecer a minha experiência profissional, onde consegui perceber as regras e condições rigorosas a que estas substâncias estão sujeitas.

#### **7.2.4. Regimes de Participação**

Na maioria dos casos, a entidade financeira responsável pela participação é o SNS, contudo também existem outras entidades participadora.

Neste momento, legislação pressupõe a possibilidade de participação de medicamentos através de um regime geral e de um regime especial, que se aplicam a situações específicas que abrangem determinadas patologias ou grupos de doentes [167].

Relativamente ao regime geral de participação, o Estado paga uma percentagem do PVP dos medicamentos conforme os quatro escalões existentes, que dependem da classificação farmacoterapêutica de cada medicamento. De acordo com a Portaria n.º 195-D/2015, de 30 de junho [173], a participação do Estado é de 90 % no escalão A, 69 % no escalão B, 37 % no escalão C e 15 % no escalão D.

O regime especial de participação pode ser realizado em função dos beneficiários, ou seja, a participação do Estado no preço de medicamentos integrados no escalão A é acrescida de 5 % (95 %) e é acrescida de 15 % nos escalões B (84 %), C (52 %) e D (30 %) para o caso dos pensionistas [167].

Também pode ser realizado de acordo com determinadas patologias ou grupos especiais de utentes, como é o caso dos medicamentos destinados ao tratamento de doentes com artrite reumatoide, espondilite anquilosante, artrite psoriática, artrite idiopática juvenil poliarticular, psoríase em placas, lúpus, doença de Alzheimer e paramiloidose [174]. Para que este regime de participação seja aplicável é necessário que seja prescrito por um médico especialista na respetiva área.

Existem ainda protocolos especiais de participação, pelo que é necessário referir na receita a portaria no qual está legislada a respetiva participação. No caso da diabetes, as tiras-teste são participadas em 85 % do PVP e as agulhas, seringas e lancetas são participadas na sua totalidade. Para as câmaras expansoras, a participação é de 80% do PVP, desde que não exceda os 28 €, sendo também

limitada a uma câmara expansora anualmente. Os dispositivos médicos de apoio a doentes ostomizados, com incontinência ou retenção urinária também são compartilhados a 100 % [167].

Alguns medicamentos são abrangidos por protocolos específicos dos laboratórios de cada medicamento. Exemplo deste tipo de participação é o medicamento *Betmiga*<sup>®</sup>, utilizado para o tratamento da bexiga hiperativa, compartilhado pela *Astellas Farma*<sup>®</sup> e o *Entresto*<sup>®</sup>, utilizado na insuficiência cardíaca, compartilhado pela *NOVARTIS Farma*<sup>®</sup>.

## **8. Automedicação e Dispensa de MNSRM**

Segundo o Despacho n.º 17690/2007 de 10 de agosto, o termo automedicação pode ser definido pela “utilização de MNSRM de forma responsável, sempre que se destine ao alívio e tratamento de queixas de saúde passageiras e sem gravidade, com a assistência ou aconselhamento opcional de um profissional de saúde” [175]. Ainda neste mesmo documento estão enumeradas as situações passíveis de automedicação, organizadas por sistemas, onde o farmacêutico pode atuar aconselhando a melhor alternativa para cada caso [175].

Hoje em dia, a automedicação é uma prática cada vez mais habitual, sendo o resultado de um maior acesso dos utentes à informação relativa ao medicamento e da possibilidade de adquirir estes medicamentos noutros locais de venda de MNSRM, tais como as parafarmácias.

Quando a prática da automedicação não é feita de forma responsável podem surgir diversos problemas que podem piorar ainda mais a situação. Os principais riscos associados à automedicação são [176]:

- Diagnóstico incorreto;
- Possibilidade de aparecimento de efeitos adversos;
- Interações medicamentosas;
- Agravamento do problema;
- Escolha incorreta do tratamento;
- Abuso e dependência.

Os principais grupos de risco são as grávidas, bebés e crianças e os idosos, uma vez que representam populações especiais e é necessário um cuidado redobrado sempre que é prestado aconselhamento a estes grupos, por causa das alterações fisiológicas, farmacocinéticas e farmacodinâmicas que lhes estão associadas [176].

Cabe ao farmacêutico avaliar todas as situações individualmente e assumir um papel ativo em situações de aconselhamento, percebendo quando uma situação é passível de

ser resolvida com o aconselhamento de determinado MNSRM, educando os utentes acerca da sua utilização, ou quando se tratam de situações mais complicadas, no qual se deve referenciar o utente para o médico. A título de exemplo, devemos referenciar para o médico utentes que apresentem os seguintes sintomas: febre com mais de 3 dias, presença de sangue nas fezes, diarreia com sinais de desidratação, tosse associada a perda de peso e fadiga, entre outros.

Durante o meu estágio fui abordado por vários utentes que pediam o meu aconselhamento para as mais diversas situações, sendo as mais comuns para o alívio da tosse, congestão nasal, alergias e distúrbios gastrointestinais, tais como a obstipação e diarreia. Quando questionava o motivo do utente querer determinado medicamento, as respostas mais comuns eram porque já tinham feito esse tratamento anteriormente ou porque algum familiar ou amigo também fazia e aconselhou-o a fazer o mesmo.

Sabendo da minha responsabilidade enquanto farmacêutico interrogava sempre os utentes de modo a obter o máximo de informações relevantes para avaliar as situações da forma mais completa e chegar à conclusão de qual seria o medicamento mais indicado para cada circunstância. Tinha também a preocupação de assegurar que os utentes recebiam a informação necessária para utilizarem corretamente o medicamento, tais como a posologia, duração do tratamento, via de administração e as principais precauções de utilização.

Devido à pandemia Covid-19 verificou-se um aumento da procura de MNSRM por parte dos utentes da FMT, uma vez que o acesso às consultas médicas estava dificultado.

Por vezes surgiam algumas dúvidas, sendo necessário realizar uma pesquisa bibliográfica ou pedir ajuda à restante equipa da FMT, em especial à diretora técnica que sempre se mostrou disponível para prestar qualquer auxílio.

## **9. Aconselhamento e dispensa de outros produtos de saúde**

Para além dos medicamentos de uso humano, a FMT pode dispensar e aconselhar uma variedade de outros produtos, nomeadamente:

- Produtos de dermofarmácia, cosmética e higiene;
- Produtos dietéticos para alimentação especial e infantis;
- Produtos de fitoterapia e suplementos nutricionais (nutracêuticos);
- Medicamentos de uso veterinário;
- Dispositivos médicos.

Estes produtos podem ser utilizados como uma alternativa aos tratamentos tradicionais ou como uma abordagem complementar.

## 9.1. Produtos de dermofarmácia, cosmética e higiene

Por produto cosmético entendem-se todas as substâncias ou mistura das mesmas, destinada a ser colocado em contacto com as partes externas do corpo humano, nomeadamente na epiderme, sistemas piloso e capilar, unhas, lábios e órgãos genitais externos, ou com os dentes e mucosas bucais, com o objetivo de os limpar, perfumar, modificar-lhes o seu aspeto, proteger, manutenção do bom estado ou correção dos odores corporais [177].

Ainda à luz do mesmo regulamento, os produtos cosméticos só podem ser disponibilizados no mercado se o seu recipiente e a sua embalagem apresentarem caracteres indeléveis, facilmente legíveis e visíveis, apresentando o nome ou a firma e o endereço da pessoa responsável, assim como o país de origem dos produtos cosméticos, o conteúdo nominal no momento de acondicionamento, indicado em peso ou em volume, a data até à qual o produto, armazenado em condições adequadas, continua a desempenhar a sua função inicial ou a data de durabilidade mínima após abertura, não sendo esta obrigatória se a durabilidade mínima exceder 30 meses, as precauções especiais de utilização, o número de lote de fabrico ou a referência que permita identificar o produto cosmético, a função do produto e a lista de ingredientes [177].

A dermofarmácia é um ramo que está em constante evolução e crescimento, com a produção e desenvolvimento de formulações inovadoras para os mais diversas aplicações e finalidades, sendo variadas as gamas de produtos disponíveis na FMT, desde produtos utilizados para o cuidado da pele, higiene oral, cuidados capilares, perfumes e desodorizantes e produtos de beleza. Por este motivo é importante que o farmacêutico se esforce por adquirir novos conhecimentos neste ramo da saúde, para que possa realizar o aconselhamento da melhor forma ao utente que procure obter este tipo de produtos.

Estes produtos encontram-se expostos em lineares e prateleiras específicas e organizados por classificação, marcas e linhas, para facilitar a identificação dos produtos pretendidos por parte do utente.

A FMT possui ao dispor dos utentes uma elevada diversidade de produtos de diversas marcas, sendo as principais: *Avène*<sup>®</sup>, *Bioderma*<sup>®</sup>, *La Roche Posay*<sup>®</sup>, *Interapothek*<sup>®</sup> e *Uriage*<sup>®</sup>. Destaco a marca *Bioderma*<sup>®</sup> que apresenta diversas linhas para as diversas finalidades e tipos de pele, nomeadamente para a pele seca, pele sensível do bebé, pele atópica, pele lesada, cuidados capilares, cuidados fotoprotetores, pele oleosa com tendência acneica, cuidados antienvhecimento e pele hiperpigmentada. Cada linha está identificada com cores distintas, o que permite identificar com mais facilidade o produto.

Os produtos de higiene oral também são bastante procurados na FMT, tais como pastas dentífricas, colutórios e elixires. As marcas mais comercializadas são a *Elugel*<sup>®</sup>,

*Corega*<sup>®</sup>, *Eludril*<sup>®</sup> e *Tantum*<sup>®</sup>. Devido à presença de uma clínica dentária na proximidade da farmácia, muitos utentes dirigiam-se à FMT para obterem os produtos aconselhados pela médica dentista.

Com a chegada do Verão e da época balnear verificou-se um aumento na procura de produtos de proteção solares, nomeadamente protetores solares nas mais diversas apresentações e bronzeadores.

O farmacêutico apresenta um papel ativo no ramo da dermofarmácia e analisar o motivo que leva o utente à farmácia, sendo a sua intervenção fundamental para distinguir um problema cutâneo mais simples de um problema de maior importância, que necessite referência a um dermatologista.

O correto aconselhamento de produtos cosméticos por parte do farmacêutico deve passar por uma simples avaliação do tipo de pele do utente, selecionando o produto mais apropriado e esclarecer os cuidados que o utente deve ter com a utilização dos produtos e como devem ser aplicados.

## **9.2. Produtos dietéticos para alimentação especial**

Os produtos dietéticos correspondem a uma categoria de géneros alimentícios destinados a uma alimentação especial, sujeitos a processamento ou formulação especial, com vista a satisfazer as necessidades nutricionais de pacientes [178].

Podem ser utilizados como forma de complementar a alimentação normal ou como um substituto da mesma, sendo recomendados para indivíduos com dificuldade em ingerir, metabolizar ou excretar a dita “alimentação habitual”, ou que necessitem de um controlo mais rigorosa na ingestão de determinado tipo de nutrientes. Como parte deste grupo estão incluídas as crianças, indivíduos subnutridos, doentes oncológicos, diabéticos e idosos.

No Despacho n.º 4326/2008 de 19 de fevereiro refere que estes produtos dietéticos podem ser comparticipados na sua totalidade desde que sejam prescritos em determinados Centros Hospitalares [179].

A FMT dispõe de produtos da gama *Resource*<sup>®</sup>, *Fortimel*<sup>®</sup> e *Meritene*<sup>®</sup>, que apresentam linhas com diferentes fórmulas e sabores, ajustados às necessidades especiais de vários grupos de indivíduos. Por exemplo, a *Resource*<sup>®</sup> apresenta gamas hiperproteicas e hipercalóricas, de elevado teor energético, com texturas apropriadas, especializadas para doentes diabéticos, bem como formulações espessantes para serem misturadas noutros alimentos.

### 9.3. Produtos dietéticos infantis

O leite materno é a melhor maneira de alimentar os bebés até aos 6 meses de idade de forma exclusiva, e continuamente até aos 2 anos [180], sendo constituído por vitaminas e minerais essenciais para o desenvolvimento do bebé, trazendo diversas vantagens para o bebé, como o reforço do sistema imunitário, e também para a mãe, pelo que a probabilidade de desenvolvimento de cancro da mama é menor [181]. Infelizmente, nem sempre é possível para a mãe, devido a problemas relacionados com a saúde, e para esses casos é recomendado o uso de substitutos do leite materno.

Sendo assim, podemos categorizar os leites em pó da seguinte forma:

- Leites para lactentes (até aos 6 meses): deve ser o mais semelhante possível ao leite materno;
- Leites de transição (6 aos 12 meses): é importante destacar que nenhum destes leites pode ser indicado como substituto do leite materno nos primeiros meses de vida;
- Leites de crescimento (12 aos 48 meses): deve ser adequado às necessidades nutricionais desta faixa etária;
- Leites especiais: são desenvolvidos para crianças com necessidades nutricionais específicas nomeadamente, intolerâncias ou alergias alimentares (sem lactose) ou problemas gastrointestinais [182].

As farinhas podem ser geralmente iniciadas a partir dos 4 meses de idade. Estas opções encontram-se organizadas em farinhas lácteas e não lácteas, pelo que no primeiro caso o leite já faz parte da sua composição e, portanto, é só adicionar água, enquanto que nas papas não lácteas o leite ainda tem de ser adicionado. Normalmente, encontram-se disponíveis diversos sabores e existem também opções sem glúten.

A FMT dispõe de uma área específica para expor os produtos de puericultura, incluindo alimentação infantil. À medida que o bebé vai crescendo e desenvolvendo, o tipo de alimentação passa por várias etapas, começando no leite em pó e evoluindo para as papas e boiões, até aos alimentos mais convencionais. O principal fator a ter em conta para a escolha destes alimentos é a idade do bebé, pelo que procurava sempre saber a sua idade, para indicar o tipo de leite mais apropriado para a fase de desenvolvimento do bebé. Na FMT as marcas mais comercializadas são a NAN® e a Nutribén®, com várias linhas de leites com objetivos distintos e papas de diferentes sabores.

No momento da dispensa é importante recordar a mãe em relação às precauções a ter durante a preparação e administração do leite, referindo a esterilização do biberão e a temperatura do leite no momento da administração para não queimar a boca do bebé.

#### 9.4. Produtos de fitoterapia e suplementos nutricionais (nutracêuticos)

Segundo o Decreto-Lei n.º 136/2003 de 28 de junho, os suplementos alimentares são considerados géneros alimentícios que têm como finalidade complementar/suplementar o regime alimentar regular e que constituem fontes concentradas de determinados nutrientes ou outras substâncias com efeito nutricional ou fisiológico [183].

Estes produtos podem ser comercializados sob diversas formas farmacêuticas, nomeadamente cápsulas, pastilhas, comprimidos ou pilulas, saquetas, ampolas, frascos com conta-gotas e outras formas similares. Nas suas embalagens devem conter o nome e quantidades das substâncias que o suplemento contém, valores de referência do nutriente (VRN), bem como a indicação de que o suplemento não deve ser utilizado como substituto de regime alimentar.

Os suplementos alimentares podem ser categorizados da seguinte forma [184]:

- Vitaminas e minerais;
- Plantas e extratos botânicos;
- Outras substâncias, tais como fibras e probióticos, ácidos gordos essenciais e aminoácidos e enzimas.

É também importante destacar que contrariamente à generalidade dos medicamentos, a sua regulamentação e a sua colocação no mercado está sob a responsabilidade da Direção-Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV).

Os suplementos alimentares mais procurados pelos utentes são os indicados para aumentar o bem-estar físico e psicológico, alívio do *stress*, ansiedade ligeira, dificuldade em adormecer e melhoria da *performance* física, cerebral e sexual, tratamento da insuficiência venosa crónica e de problemas osteoarticulares. Marcas como por exemplo, *Centrum*®, *Cerebrum*®, *Viterra*®, *Absorvit*® e suplementos à base de magnésio como *Magnésio OK*® e *Maxnesio*® são exemplos de gamas de suplementos alimentares que estão disponíveis na FMT. Devido à pandemia verificou-se um aumento na procura por suplementos à base de vitamina C, como o *Vitacé*® e *Cecrisina*®.

Os produtos fitoterapêuticos, ou medicamentos à base de plantas, são definidos 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” [151].

Ao longo do meu estágio fui-me apercebendo que os produtos fitoterápicos mais solicitados eram os destinados para tratamento de insónia ou ansiedade, nomeadamente

o *Valdispert*<sup>®</sup> e *Stilnoite*<sup>®</sup>, e as infusões (*Fitos*<sup>®</sup>) para as mais diversas finalidades desde obstipação à prevenção de infecções urinárias, como a infusão de barbas de milho.

Também a marca *Arkopharma*<sup>®</sup> apresenta várias linhas produzidas à base de plantas distintas, tais como spirulina, cúrcuma, alcachofra, gengibre e *ginseng*, indicadas para melhorar a memória, circulação, perda de peso, entre outras.

Alguns utentes da FMT mostravam ter preferência por produtos naturais e fitoterápicos, por pensarem que se tratam de produtos mais seguros, benéficos e que não possuem efeitos adversos. Contudo estas alegações não estão corretas, pelo que os produtos fitoterápicos podem estar associados a diversas interações com a medicação que o utente possa estar a fazer. Por este motivo é importante que o farmacêutico esteja atento nestas situações, conferindo a medicação e pesquisando acerca das possíveis interações que possam ocorrer.

## **9.5. Medicamentos de uso veterinário**

Uma vez que a FMT se localiza num meio rural, no qual uma parte representativa da população possui, não só animais de estimação, como também animais de exploração, é essencial que a farmácia disponha no seu stock soluções para resolver os principais problemas que possam surgir nestes animais.

De acordo com o Decreto-Lei n.º 148/2008 de 29 de julho, os medicamentos de uso veterinário são “todas as substâncias, ou associação de substâncias, apresentadas 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 médico-veterinário ou, exercendo uma ação farmacológica, imunológica ou metabólica, a restaurar, corrigir ou modificar funções fisiológicas” [185]. É obrigatório que os MUV se encontrem identificados pela menção “USO VETERINÁRIO” impressa num fundo verde [186].

Outra distinção relativamente aos medicamentos para uso humano é a autoridade competente por toda a regulamentação dos medicamentos veterinários, que tal como no caso dos suplementos alimentares, cabe à DGAV, pelo que o INFARMED é a entidade responsável pelos medicamentos de uso humano.

Embora alguns MUV necessitem de prescrição médico-veterinária, tal como no caso dos antibióticos, atualmente nenhum é compartilhado.

Na FMT destacam-se vários MUV, tais como desparasitantes internos (*Poxantel*<sup>®</sup>, *TenilVet*<sup>®</sup> e *Strongid*<sup>®</sup>) e externos sob a forma de pipetas (*Frontline*<sup>®</sup>, *Advantix*<sup>®</sup>, *Advantage*<sup>®</sup> e *Piretron*<sup>®</sup>), coleiras (*Taberdog*<sup>®</sup> e *Tabercat*<sup>®</sup>) ou comprimidos (*NexGard*<sup>®</sup>, *Simparica*<sup>®</sup> e *Bravecto*<sup>®</sup>), contraceptivos orais para gatas e cadelas (*Magecat*<sup>®</sup> e *Pilusoft*<sup>®</sup>), alguns antibióticos (*Terramicina*<sup>®</sup> e *Tenaline*<sup>®</sup>), vacinas para

coelhos, nomeadamente contra a mixomatose (*Mixohipra*<sup>®</sup>) e contra a doença hemorrágica vírica (*Cylap HVP*<sup>®</sup>).

Para seleccionar o produto mais indicado para cada situação é importante perguntar ao utente acerca da do tipo de animal, a sua idade e/ou peso, fornecendo todas as informações necessárias para o utente utilizar o medicamento de forma correta, nomeadamente sobre o modo de administração e sobre outros cuidados que mereçam uma chamada de atenção.

Na FMT os produtos mais dispensados eram os desparasitantes externos sob a forma de pipetas (*spot-on*), verificando-se um aumento na sua procura no início da Primavera. Durante a dispensa destes produtos, tinha a prudência de recordar o utente que não deve dar banho ao animal antes da aplicação e até durante a semana que se segue, uma vez que a presença de água vai diminuir a absorção do produto pela pele do animal, comprometendo a eficácia do tratamento.

Uma das mais-valias do meu estágio foi ter a oportunidade de conhecer vários MUV, visto que não tive esse proveito durante o meu percurso académico, enriquecendo ainda mais a minha experiência profissional.

## **9.6. Dispositivos médicos**

De acordo com o Decreto-Lei n.º 145/2009 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, embora a sua função possa ser apoiada por esses meios” [187], diferenciando-se assim de um medicamento.

Têm como principais finalidades o diagnóstico, prevenção, controlo, tratamento ou atenuação de uma doença, lesão ou deficiência, assim como também podem ser utilizados para o estudo, substituição ou alteração da anatomia ou de um processo fisiológico, e para o controlo da concepção [187].

Os dispositivos médicos são categorizados em 4 classes, em função do grau de risco, do tempo de utilização do dispositivo da sua invasibilidade e do local onde se pretende ser aplicado [187]:

- Classe I (baixo risco) - sacos coletores de urina, sacos para ostomia, meias de compressão, materiais de penso para hemorragias nasais, algodão hidrófilo, seringas;

- Classe IIa (médio risco) – gaze hidrófila, cateteres urinários, lancetas, agulhas das seringas;
- Classe IIb (médio risco) – canetas de insulina, preservativos, diafragmas;
- Classe III (alto risco) – pensos com medicamento, dispositivo intrauterino (DIU), válvulas cardíacas.

Na FMT tive a oportunidade de contactar e dispensar vários dispositivos médicos, tais como algodão hidrófilo, sacos e boiões coletores de urina, fraldas e pensos para incontinência, sacos de ostomia meias de compressão e ponteiras de borracha para canadianas e outros produtos ortopédicos da *Futuro*<sup>®</sup> (Classe I). Já no que toca aos dispositivos médicos de médio risco dispensei gases hidrófilas, lancetas, agulhas para seringas, termómetros, canetas de insulina e material de penso.

Durante o meu estágio tive acesso a uma formação sobre terapia compressiva e meias de descanso e de compressão por parte da *Interorto*<sup>®</sup>. Assim consegui aprender mais sobre o seu objetivo e finalidade, bem como das diferenças entre os vários tipos de meias. A doença venosa crónica é uma patologia que se caracteriza pela dificuldade do retorno do sangue venoso a partir das extremidades dos membros inferiores [188]. Estes dispositivos médicos atuam reduzindo o diâmetro das veias localizadas nas pernas e permitem que as válvulas venosas funcionem de forma mais eficaz, evitando que o sangue se acumule naquela região [189].

Estas variam entre si de acordo com o grau de compressão que exercem e para se saber qual o mais indicado para cada utente é necessário tirar as medidas do perímetro do tornozelo, da canela e da anca e a altura da perna. As meias também podem variar na cor, na altura e podem ser ou não fechadas na ponta do pé, tudo isto é decidido pela preferência de cada utente. Estas encomendas eram realizadas por telefone à *Gameiros*<sup>®</sup>, no qual eram transmitidas todas estas informações que referi.

## **10. Outros cuidados de saúde prestados na Farmácia**

### **Mousaco Torrão**

Para além da dispensa e aconselhamento de medicamentos e produtos de saúde, as farmácias também são locais onde são prestados diversos serviços farmacêuticos e cuidados de saúde. Na FMT a prestação destes cuidados tem ainda mais destaque, tendo em conta a localização da farmácia e das dificuldades de deslocação dos seus utentes.

Na Portaria n.º 1429/2007, de 2 de novembro [190] estão contemplados os serviços farmacêuticos que podem ser prestados nas farmácias comunitárias, sendo posteriormente complementada pela Portaria n.º 97/2018, de 9 de abril [191].

Na FMT é possível realizar a medição da pressão arterial e dos parâmetros bioquímicos (glicemia, colesterol total e triglicéridos), fazer rastreios, administrar injetáveis e vacinas não incluídas no PNV e ainda se realizam consultas nos mais diversos âmbitos, tais como psicologia, nutrição e podologia.

### 10.1. Medição da pressão arterial

A pressão arterial resulta da força que o sangue exerce contra a superfície interna das paredes vasculares, dependendo do débito cardíaco e da resistência vascular periférica. A hipertensão é pode ser definida como a elevação persistente da pressão arterial sistólica (PAS) para valores iguais ou superiores a 140 mmHg e/ou da pressão arterial diastólica (PAD) para valores iguais ou superiores a 90 mmHg [192].

É a doença cardiovascular mais comum a nível global, pelo que a sua incidência tende a aumentar, graças ao envelhecimento da população e ao excesso de peso da população.

Os principais fatores de risco desta patologia englobam características individuais, como a idade e a história familiar, estilo de vida e condições de saúde. Dentro dos fatores de risco modificáveis encontram-se o tabagismo, excesso de peso, dieta inadequada e os comportamentos sedentários.

Para a realização do diagnóstico de hipertensão, devem ser realizadas duas medições, em duas consultas diferentes e levar em conta a média das medições realizadas. Nem sempre os valores da PAS e da PAD se enquadram na mesma categoria, nestes casos deve assumir-se a categoria que corresponde ao valor mais elevado.

Na tabela que se segue está representada a classificação da pressão arterial, válida para adultos não medicados com terapia antihipertensiva e sem patologias concomitantes [192]:

**Tabela 5.** Classificação da pressão arterial

<b>Classificação</b>	<b>PAS (mm/Hg)</b>		<b>PAD (mm/Hg)</b>
Ótima	<120	e	<80
Normal	120-129	e/ou	80-84
Normal-alta	130-139	e/ou	85-89
Hipertensão Grau I	140-159	e/ou	90-99
Hipertensão Grau II	160-179	e/ou	100-109
Hipertensão Grau III	≥180	e/ou	≥110
Hipertensão Sistólica Isolada	≥140	e	<90

Antes de realizar a medição da pressão arterial é necessário fazer um pequeno questionário ao utente, interrogando-o se se sente calmo e se consumiu café, álcool ou

tabaco durante os últimos 30 minutos, pois são substâncias que aumentam os valores da pressão arterial. De seguida deve ser feito um compasso de espera, de cerca de 5 minutos, para o utente estabilizar e garantir que os valores que serão medidos sejam fidedignos. Durante a medição é importante que o utente mantenha as pernas descruzadas, com o braço à altura do coração e sem falar ou realizar grandes movimentos. Caso seja a primeira vez que esse utente venha medir a pressão arterial, esta deve ser realizada em ambos os braços, espaçando as duas medições por 1 a 2 minutos.

Caso seja detetada alguma anomalia referente aos valores obtidos, deteção de efeitos adversos ao medicamento ou caso este seja insuficiente, o farmacêutico deve referenciar o utente para o médico para rever o seu tratamento.

A adoção de estilos de vida saudáveis é imprescindível para intensificar os resultados da terapêutica instituída, pelo que o farmacêutico deve sensibilizar os seus utentes para promoverem alterações do seu quotidiano, como a cessação tabágica, prática regular de exercício físico e dieta equilibrada, com especial atenção para a restrição da ingestão de sódio.

A realização campanhas de sensibilização e de rastreios regulares pode contribuir para a deteção de identificação de indivíduos que devem ser posteriormente avaliados.

No decorrer do meu estágio tive a oportunidade de realizar a medição da pressão arterial em vários utentes, chegando à conclusão de que este é o serviço mais utilizado pelos utentes da FMT. Na maior parte das vezes os utentes já se encontravam a fazer tratamento antihipertensivo, e deslocavam-se à farmácia para fazer o controlo dos níveis, visto que a grande maioria dos utentes não possuía um tensiómetro na sua casa.

## **10.2. Medição dos parâmetros bioquímicos**

### **10.2.1. Glicemia**

A diabetes *mellitus* constitui um grupo de distúrbios metabólicos que resultam em níveis elevados de glicose no sangue, sendo uma das doenças mais comuns no mundo com uma incidência crescente ao longo dos últimos anos [193].

Existem três tipos de diabetes: diabetes *mellitus* tipo I, diabetes *mellitus* tipo II e diabetes gestacional. A diabetes *mellitus* tipo I é caracterizada pela destruição das células  $\beta$  do pâncreas, responsáveis pela produção de insulina, sendo que estes utentes necessitam de insulino-terapia, uma vez que não têm como a produzir endogenamente. Este caso é mais comum de se desenvolver durante a infância e adolescência. Já na diabetes *mellitus* tipo II, a mais comum e prevalente, está mais relacionada com o estilo de vida e comportamentos, a secreção de insulina é inadequada e ocorre aumento da resistência à mesma. A diabetes gestacional é uma condição transitória que aparece durante a gravidez, afetando cerca de 7 % das gestantes [194]. Mulheres que apresentam

este estado durante a gravidez têm maior probabilidade de desenvolverem diabetes *mellitus* tipo II.

Os principais sintomas associados a esta patologia são polidipsia, poliúria, polifagia, infecções urinárias frequentes e sensação de formiguelo nas extremidades.

Para a efetuar a medição dos níveis de glicemia, o utente não precisa de estar em jejum, pelo que este fator deve ser tido em conta para analisar o valor obtido. De forma geral, em caso de jejum, a concentração de glicose deve ser inferior a 126 mg/dL, caso contrário o valor de referência é de 200 mg/dL.

No caso dos doentes diabéticos é crucial que o farmacêutico esteja atento às complicações associadas à diabetes, como a nefropatia, retinopatia e neuropatias, principalmente relacionadas ao pé diabético. Caso seja detetada alguma irregularidade, quer ao nível dos valores de glicemia, quer ao nível das suas complicações, o utente deve ser imediatamente referenciado para o médico.

Os utentes devem ser sempre educados a adotar um estilo de vida mais saudável, pois a adoção de medidas não farmacológicas juntamente com o tratamento antihiperlipidémico estão mais associados ao sucesso da terapia. As principais medidas impostas devem ser a promoção da atividade física, dieta equilibrada, com especial atenção para os hidratos, controlo de peso e cessação tabágica.

### **10.2.2. Colesterol e triglicéridos**

As dislipidemias caracterizam-se por alterações do perfil lipídico, sendo a principal causa para o desenvolvimento de aterosclerose. Os lípidos são fundamentais para o correto funcionamento do organismo exercendo diversas funções, tais como: fazem parte da constituição das membranas celulares, atuam como reservas energéticas e servem como precursores para a síntese de outras substâncias.

Os principais lípidos presentes no sangue são o colesterol e os triglicéridos. As dislipidemias exercem um forte impacto na qualidade de vida das pessoas, contribuindo para o espessamento e rigidez das artérias, principalmente se não for devidamente acompanhada e tratada [195].

Para realizar a medição do colesterol e triglicéridos era utilizado o aparelho *Accutrend Plus*<sup>®</sup>, recorrendo a tiras teste diferentes consoante o parâmetro que pretendemos determinar e os utentes eram previamente avisados para se dirigirem à farmácia em jejum, uma vez que os resultados são diretamente influenciados pela alimentação. Também é importante referir que a amostra de sangue é superior à que é necessária para a medição da glicemia, sendo esta uma das desvantagens, pois por vezes era um pouco difícil recolher a quantidade de sangue suficiente.

Tendo em conta os valores de referência, o colesterol total deve encontrar-se numa concentração inferior a 190 mg/dL e os triglicéridos inferiores a 150 mg/dL. Quando o farmacêutico deteta algum valor alarmante deve encaminhar o utente para o médico e mostrar um papel ativo, promovendo intervenções ao nível do seu estilo de vida e zelar pelo seu bem-estar, aconselhando-o da seguinte forma:

- Adotar uma dieta nutricionalmente equilibrada e variada, reduzindo a ingestão de gorduras saturadas;
- Prática regular de exercício físico;
- Cessação tabágica;
- Controlo do peso;
- Restrição do consumo excessivo de álcool.

Para além destas medidas é igualmente importante que os utentes sejam acompanhados, de forma a promover a adesão e o uso racional do medicamento, e realizem medições regulares dos parâmetros lipídicos, para saber se a medicação é suficiente ou se é necessário realizar alguma alteração.

### **10.3. Administração de injetáveis e vacinas não incluídas no PNV**

De acordo com a Deliberação n.º 139/CD/2010, de 21 de outubro [196], a administração de injetáveis nas farmácias de oficina deve ser executada por farmacêuticos habilitados com formação complementar reconhecida pela Ordem dos Farmacêuticos, num espaço apropriado para esse efeito, como por exemplo o gabinete de atendimento personalizado.

Na FMT a responsável pela administração de injetáveis é a Dr.<sup>a</sup> Isabel Curto, a diretora técnica. Também é necessário que a farmácia disponha de todo o material e equipamento necessário para esta prática e dos meios necessários ao tratamento urgente de uma reação anafilática [196].

Após a administração o farmacêutico deve registar os dados correspondentes a cada administração de vacina, nomeadamente o nome e data de nascimento do utente, nome, lote e via de administração da vacina, bem como a sua própria identificação.

Durante o meu estágio curricular tive a oportunidade de observar algumas administrações de medicamentos injetáveis, nomeadamente injeções subcutâneas de *Lovenox*<sup>®</sup>, uma heparina de baixo peso molecular. Neste caso os passos para uma correta administração são os seguintes:

- i. Desinfetar a zona onde vai ser administrada a injeção com álcool 96 % e algodão;
- ii. Retirar as bolhas de ar presentes no injetável;

- iii. Fazer uma pequena prega na região abdominal e introduzir a agulha num ângulo de 45°;
- iv. Pressionar o êmbolo lentamente para minimizar a dor;
- v. Retirar a agulha e limpar suavemente a zona.

A observação destes procedimentos contribuiu bastante para a minha aprendizagem e enriquecimento neste domínio.

## **10.4. Consultas**

### **10.4.1. Psicologia**

As consultas de psicologia são realizadas todas as semanas, durante a tarde de sexta-feira. Estas consultas são bastante frequentadas pelos utentes da FMT, uma vez que ajudam a compreender e a lidar com os problemas do foro psicológico, através da colaboração com profissionais de saúde especializados.

Visto que Portugal é um dos países europeus com maior prevalência de doenças psiquiátricas, este acompanhamento mostra-se ser necessário e fundamental, de modo a contribuir para o bem-estar da população.

### **10.4.2. Nutrição**

Este é o serviço mais popular entre os utentes da FMT, sendo prestados dois serviços de nutrição, um deles mais generalizado e outro direcionado para a Dieta *Easyslim*<sup>®</sup>. As consultas são realizadas semanalmente, durante as tardes de segunda e terça-feira. Estas consultas são destinadas a todos os utentes da farmácia, especialmente para aqueles que pretendam adotar um estilo de vida mais saudável e que pretendam perder peso.

A Dieta *Easyslim*<sup>®</sup> consiste na realização de um rastreio, onde são detetados os principais objetivos da dieta e é projetado um plano nutricional individualizado, tendo em conta as escolhas alimentares e a utilização dos seus suplementos dietéticos que potenciam a perda de peso e suprem as necessidades nutricionais. De seguida os utentes são acompanhados semanalmente para se registarem os resultados até que os objetivos sejam atingidos.

### **10.4.3. Podologia**

A podologia é área da saúde especializada na investigação, prevenção, diagnóstico e tratamento das alterações que afetam o pé [197]. Estas consultas são realizadas mensalmente, sob marcação, por um podologista que se desloca à FMT.

Este profissional de saúde é responsável por realizar o diagnóstico e o tratamento de patologias do pé, incluindo micoses e onicomicoses, unhas encravadas, calosidades e

joanetes, bem como alterações associadas a diabetes *mellitus* (Pé Diabético), oferecendo ainda o melhor aconselhamento relativo dos cuidados a ter, de forma a prevenir problemas futuros.

## **11. Preparação de Medicamentos**

Devido ao desenvolvimento da indústria farmacêutica, que fabrica os medicamentos em grande escala e de forma mais económica, a preparação de medicamentos manipulados nas farmácias comunitárias tem sido substancialmente menor, quando comparado com o que se sucedia anteriormente.

As principais vantagens da utilização de medicamentos manipulados centram-se na individualização da terapêutica para cada utente e na possibilidade de produzir determinadas associações entre diferentes substâncias que se mostram proveitosas e que não comercializadas pelas indústrias farmacêuticas.

Na FMT são preparados alguns medicamentos manipulados, principalmente de aplicação tópica, no entanto, quando a farmácia não dispõe de recursos para a preparação de um determinado medicamento manipulado, os mesmos são preparados na Farmácia Couto de Vila Nova de Gaia e posteriormente enviados para a FMT, onde são posteriormente dispensados ao utente.

### **11.1. Definições**

As farmácias também são locais onde se podem preparar medicamentos. A estes medicamentos que são preparados sob a responsabilidade de um farmacêutico numa farmácia de oficina ou em serviços farmacêuticos hospitalares dá-se o nome de medicamentos manipulados [198].

Os medicamentos manipulados podem dividir-se em duas categorias: caso o medicamento seja preparado segundo as indicações compendiais de uma farmacopeia ou de um formulário oficial, estamos a referir-nos aos preparados oficinais, caso seja preparado segundo uma receita médica e destinado a um determinado doente, estamos perante uma fórmula magistral [151].

### **11.2. Boas práticas de preparação de medicamentos manipulados**

A Portaria n.º 594/2004 de 2 de junho inclui normas relativas a oito vertentes que se devem observar durante a preparação de medicamentos manipulados. Essas vertentes são [198]:

- Pessoal;
- Instalações e equipamentos;
- Documentação;

- Matérias-primas;
- Materiais de embalagem;
- Controlo de Qualidade;
- Rotulagem.

De acordo com as Boas Práticas, cabe ao farmacêutico diretor-técnico a função de preparar ou supervisionar a preparação de medicamentos manipulados, selecionando o pessoal apropriado e competente para essa função, investindo na sua formação e garantir que são cumpridas todas as condições de segurança e higiene [199].

Para que seja possível preparar medicamentos manipulados na farmácia de oficina é necessário que exista um espaço apropriado, isto é, o laboratório, com todo o material necessário para a sua preparação. A lista de equipamento mínimo obrigatório, que consta no anexo da Deliberação n.º 1500/2004, de 7 de dezembro já foi mencionada anteriormente [149].

Relativamente à documentação, a farmácia deve dispor dos procedimentos de preparação, normas de higiene, registos de limpeza e calibração dos equipamentos e da Ficha de Preparação Modelo, que deve ser preenchida ao longo da preparação do medicamento manipulado e assinada pelo operador e supervisor. Todos estes documentos devem ser arquivados na farmácia.

Quanto ao controlo de qualidade, todas as preparações devem cumprir no mínimo com a verificação final dos caracteres organoléuticos, como por exemplo, cor, textura e odor. Outros ensaios de verificação que devem ser cumpridos são a conformidade com a definição da forma farmacêutica pela Farmacopeia Portuguesa e a verificação final da massa ou volume do produto, que deve corresponder à indicada no rótulo  $\pm 5\%$ .

### **11.3. Atribuição de prazos de utilização**

De forma a atribuir um correto prazo de utilização de um medicamento manipulado é necessário realizar uma pesquisa bibliográfica referente à sua estabilidade.

Quando não existe nenhuma informação relativa a esse assunto, existem prazos que são recomendados, tendo em conta alguns fatores [200]:

- Preparações sólidas ou preparações líquidas não aquosas:
  - No caso de a substância ativa ter origem num produto industrializado, o prazo de utilização deve corresponder a 25 % do tempo que resta para expirar o prazo do produto industrializado, nunca ultrapassando o período máximo de 6 meses;

- Caso a substância ativa consista numa matéria-prima individualizada, o prazo de utilização corresponde ao que lhe foi atribuído, no entanto não deve ultrapassar o período máximo de 6 meses;
- Preparações líquidas aquosas:
  - O medicamento manipulado deve ser preservado no frigorífico e o prazo de utilização não deve ultrapassar os 14 dias;
- Restantes preparações:
  - O prazo de utilização deve corresponder à duração do tratamento, nunca ultrapassando o período máximo de 30 dias.

#### **11.4. Rotulagem**

Após a preparação do medicamento manipulado deve ser elaborado um rótulo que contenha toda a informação necessária relativa ao doente e ao medicamento. Posto isto, o rótulo deve conter as seguintes informações [200]:

- a) Nome do doente;
- b) Formulação do medicamento;
- c) Composição qualitativa e quantitativa em substâncias ativas;
- d) Composição relativa a excipientes e adjuvantes (lactose);
- e) Forma farmacêutica;
- f) Conteúdo em massa ou volume;
- g) Lote;
- h) Recomendações relativas ao armazenamento e conservação;
- i) Prazo de utilização;
- j) Instruções especiais de utilização;
- k) Precauções;
- l) “Manter fora do alcance das crianças”;
- m) “uso externo” em fundo vermelho;
- n) “medicamento de uso veterinário” em fundo verde;
- o) Via de administração;
- p) Posologia;
- q) Identificação da farmácia;
- r) Identificação do diretor-técnico.

#### **11.5. Cálculo do preço dos manipulados**

De acordo com a Portaria n.º 769/2004 de 1 de julho, o cálculo do preço dos manipulados tem em conta 3 fatores: o valor dos honorários da preparação, o valor das matérias-primas e o valor dos materiais de embalagem [201].

- O valor dos honorários é atualizado anualmente e varia consoante as formas farmacêuticas do produto finalizado e das quantidades preparadas;
- O valor das matérias-primas depende principalmente das quantidades que são preparados. De forma geral, quanto maior for a quantidade preparada, menor é o fator de multiplicação e vice-versa;
- O valor dos materiais de embalagem corresponde ao preço de aquisição desses materiais multiplicado pelo fator 1,2.

Para finalizar, o preço de venda ao público dos medicamentos manipulados resulta da aplicação da seguinte fórmula, tendo em conta o valor do IVA em vigor [201]:

$$\text{Valor dos honorários} + \text{Valor das matérias-primas} + \text{Valor dos materiais de embalagem}) \times 1,3 \times \text{IVA}$$

No Despacho n.º 18694/2010 de 16 de dezembro, estão presentes todas os manipulados que estão sujeitos a comparticipação, sendo que o seu valor é de 30% face ao valor total [202]. No ato da dispensa, para atribuir o plano de comparticipação deve-se inserir o plano designado de “47”.

Para que sejam sujeitos a comparticipação, os manipulados têm de cumprir com uma das seguintes condições [202]:

- “Inexistência no mercado de especialidade farmacêutica com igual substância ativa na forma farmacêutica pretendida;
- Existência de lacuna terapêutica a nível dos medicamentos preparados industrialmente;
- Necessidade de adaptação de dosagens ou formas farmacêuticas às carências terapêuticas de populações específicas, como é o caso da pediatria ou da geriatria”.

## **11.6. Preparação de medicamentos manipulados**

Durante o meu estágio tive a possibilidade de preparar dois manipulados, nomeadamente uma pomada a partir de *Diprosone*<sup>®</sup> e ácido láctico, e vaselina salicilada a 2 %.

O passo inicial de cada procedimento passa por garantir que todo o material está em boas condições e higienizar tanto o material como o espaço onde vai ser preparado o manipulado. Nestes casos em concreto tem de se efetuar a limpeza da pedra de mármore e das espátulas com álcool a 70 %, uma vez que são matérias que vão estar em contacto direto com a formulação.

### **11.6.1. *Diprosone*<sup>®</sup> pomada 0.05% + ácido láctico**

Após a pesagem de todas as substâncias, incorporou-se o ácido láctico na vaselina, e de seguida incorporou-se, aos poucos, por espatulação, a pomada *Diprosone*<sup>®</sup> na mistura obtida anteriormente, até ficar com aspeto homogéneo. Por fim distribuiu-se o produto final pelos recipientes (boiões de plástico) e procedeu-se à limpeza e desinfeção do material utilizado.

A pomada *Diprosone*<sup>®</sup> contém na sua constituição a substância ativa dipropionato de betametasona, que é um corticoide indicado para o alívio de manifestações inflamatórias e pruriginosas associadas a dermatoses [203].

Neste caso em específico foi indicado para o tratamento de uma micose localizada no pé, habitualmente conhecida como pé de atleta (*Tinea pedis*), que é uma infeção fúngica caracterizada por prurido, descamação, mau odor e, em casos mais graves, aparecimento de fissuras [204]. O ácido láctico é adicionado a esta formulação devido à sua ação esfoliativa, acelerando os processos de renovação da pele [205].

### **11.6.2. Vaselina salicilada a 2%**

Este procedimento é muito semelhante ao anterior, que consistiu na pesagem, e posterior incorporação do ácido salicílico na vaselina por espatulação. No final acondicionou-se num boião de plástico e realizou-se a limpeza do material.

Este manipulado foi indicado para o tratamento da crosta láctea de um bebé (dermatite seborreica), que é uma condição típica que ocorre nos primeiros meses de vida, que se caracteriza pelo aparecimento de placas amareladas e oleosas e crostas na zona do couro cabeludo [206]. O ácido salicílico a 2 % apresenta atividade queratoplástica, estimulando a atividade celular e intensificando a queratinização da pele, de forma a acelerar os processos de regeneração da camada córnea.

## **11.7. Preparações extemporâneas**

Algumas formas farmacêuticas apresentam curtos períodos de estabilidade. Nesses casos, é necessário realizar a sua preparação durante o ato da dispensa, de forma a manter a estabilidade do pó durante o período em que está armazenado na farmácia.

Durante o meu estágio tive a oportunidade de realizar a reconstituição de pós para suspensão oral de antibióticos para uso pediátrico, mais concretamente do *Clamoxyl*<sup>®</sup>. Trata-se de um procedimento muito simples, onde é necessário adicionar água destilada ao pó que se encontra no frasco, como indicado na bula do medicamento, e agitar vigorosamente para homogeneizar a suspensão obtida. Por fim é só perfazer o volume da suspensão com água destilada, que normalmente vem indicada no frasco através de um traço, para obter a concentração correta.

Após a reconstituição do medicamento é importante informar o utente acerca da posologia e das condições de armazenamento, sendo necessário armazená-lo no frigorífico e ao abrigo da luz. Antes de tomar o medicamento, este deve ser agitado, para homogeneizar a suspensão. Uma vez que são preparações aquosas, o seu prazo de utilização não deve ser superior a 14 dias.

## **12. Contabilidade e Gestão**

### **12.1. Fecho de caixa**

Cada colaborador da FMT era responsável por realizar o fecho de caixa ao final do dia. Para tal, era impresso o relatório com o valor total de todas as vendas realizadas com recurso ao *Sifarma*® e conferia-se o valor monetário presente na caixa, bem como o valor do multibanco. A soma dos dois valores deve ser igual ao valor presente no relatório.

Por fim, o dinheiro e os talões do multibanco eram guardados num envelope, que por sua vez era colocado num local específico para ser posteriormente conferido pela responsável.

### **12.2. Processamento de receituário e faturação**

No último dia de cada mês realiza-se a faturação do receituário, que é uma atividade indispensável, no qual são emitidos os documentos associados à comparticipação dos medicamentos, onde se encontram resumidas as receitas e os valores associados a cada entidade responsável pela comparticipação. Só assim é possível à farmácia receber o reembolso do valor da comparticipação por parte dessas entidades.

Através do perfil dos utentes da FMT, pude observar que as entidades que mais surgem são o código 01 (SNS) e o código 48 (pensionistas). Também é comum verificarem-se receitas de trabalhadores migrantes que, não podendo ser tratadas eletronicamente por defeito do sistema, são fechadas no código 46. Uma vez que esta região é reconhecida pela indústria dos lanifícios, existem vários utentes que são reformados dos lanifícios, correspondente ao código LA.

A conferência do receituário é realizada diariamente no momento da dispensa, após a impressão do verso da receita, mas de forma a evitar possíveis erros este processo é repetido no final do mês.

#### **12.2.1. Organização do receituário**

Antes de iniciar o processamento em si, é necessário organizar o receituário. Através do *Sifarma*®, no menu “Gestão de Lotes por Faturar”, é possível emitir uma lista com a totalidade das receitas que foram fechadas durante esse mês, organizadas de acordo com as entidades e regimes de comparticipação.

De seguida, as receitas são separadas e organizadas por organismos responsáveis, em lotes e pelo número de série impresso no verso e confere-se todas as receitas estão presentes. Cada lote é composto por até 30 receitas, sendo definido pelo *Sifarma*®.

Após estar tudo organizado, faz-se a conferência e a verificação dos parâmetros que validam as receitas. Estes parâmetros variam de acordo com o tipo de receita e com a entidade participante.

No caso das receitas manuais, na parte frontal da receita, deve constar o nome e o número de utente do SNS, a justificação legal, a identificação do médico prescriptor (através da vinheta), o prazo de validade, bem como a assinatura do médico prescriptor. Para além disso, também é necessário confirmar se o medicamento prescrito correspondia ao dispensado e para finalizar, no verso da receita, deve estar presente a assinatura do doente, o carimbo da farmácia, a data e a rubrica do profissional responsável pela dispensa. Nestas receitas, a cor da vinheta do médico permite distinguir entre o organismo 01 e 48: caso seja azul é 01, caso seja verde é 48.

A conferência das receitas eletrónicas materializadas é menos complexa, pelo que era necessário confirmar a assinatura do médico na parte frontal e a assinatura do doente, o carimbo, a data e a rubrica do profissional responsável pela dispensa no verso da mesma.

As receitas eletrónicas desmaterializadas não necessitam de ser verificadas, uma vez que para estas o seu tratamento é feito de forma automática, no momento em que se realiza a dispensa. Já as receitas manuais e as receitas eletrónicas materializadas necessitam de ser submetidas de forma manual.

Na eventualidade de existirem receitas participadas em regime de complementaridade, e caso o lote não seja eletrónico, terá de ser emitido um talão associado. Desta forma, a receita irá para uma entidade e o talão, identificado com a assinatura do utente, será enviado para a outra.

### **12.2.2. Faturação e emissão de documentos**

No final do último dia do mês procede-se ao fecho dos lotes e à emissão dos documentos de faturação através do sistema informático.

Para cada lote é emitido um verbete, que tem de ser carimbado e anexado ao respetivo lote de receitas. Estes contêm o nome da farmácia, o organismo de participação, identificação do lote, data da faturação, quantidade de receitas e produtos, PVP e custo total do lote, custo total para utentes, valor participado por organismo, bem como o número de embalagens dispensadas em cada receita e no total das receitas do lote.

Outro documento que tem de ser emitido é a relação resumo de lotes que representa um resumo do conjunto dos lotes e dos respetivos verbetes emitidos para uma determinada entidade responsável pela comparticipação.

Toda a faturação e receituário é então enviada através dos CTT, até dia 5 do mês seguinte. Para tal é necessário emitir a guia de transporte para os CTT. Na caixa devem então estar presentes todas as receitas separadas por entidades e lotes, bem como a fatura original e duplicado, o resumo de lotes, os verbetes e uma nota de crédito caso seja necessário. O triplicado da fatura é enviado por fax ou *e-mail* para a ANF, enquanto que o quadruplicado fica arquivado na farmácia.

Uma vez que a FMT faz parte da ANF, quando existem receitas comparticipadas em regime de complementaridade, é a ANF que é a responsável por reencaminhar a documentação de faturação para essas entidades participadora.

Durante o meu estágio tive a oportunidade de assistir e auxiliar em todo o processo, desde a organização das receitas à sua conferência tendo por base os parâmetros referidos anteriormente. Depois a ANF envia à farmácia o valor referente às comparticipações.

### **12.3. Devolução de receituário**

Apesar dos parâmetros serem verificados várias vezes durante a faturação, por vezes algumas inconformidades não são detetadas e acabam por chegar à entidade participadora que os confere.

Quando isto acontece o organismo responsável efetua a devolução da respetiva receita, bem como o documento onde se encontra identificado o valor total das receitas devolvidas e motivo que levou à devolução.

Posto isto, cabe à diretora técnica fazer a análise e, nos casos em que a inconformidade pode ser corrigida, a receita retificada pode ser reenviada, fazendo parte da faturação do mês seguinte. Porém, nos casos em que a não é possível corrigir o erro detetado, o valor referente à comparticipação não pode ser reembolsado à farmácia.

### **12.4. Documentos contabilísticos**

Para realizar uma gestão responsável de uma farmácia, é necessário ter conhecimento acerca das noções básicas, entre as quais, a compreensão a respeito dos documentos contabilísticos:

- Fatura: é documento comercial emitido que representa uma venda ou uma compra, indicando os produtos ou serviços, o preço unitário e o IVA associado.
- Guia de remessa: é o documento que deve acompanhar os produtos de dispensa na farmácia enquanto são transportados desde o armazém do fornecedor até ser

recebido na farmácia. No caso da FMT, como dispõe de um posto de atendimento na localidade de Peraboa, quando são realizadas transferência de medicamentos é obrigatório que estes sejam acompanhados pela guia de remessa. Este documento deve conter a designação dos produtos, quantidades, preços e a data do envio

- Recibo: é o documento que comprova a realização do pagamento de um produto ou serviço. Neste documento estão presentes informações relativas à farmácia, aos produtos e ao utente, como por exemplo o NIF.
- Inventário: é uma lista que contém todos os produtos existentes na farmácia num certo período de tempo. A FMT envia anualmente o seu inventário para a Autoridade Tributária. Também podem ser realizados inventários periodicamente como um auxílio para a gestão contabilística.
- Nota de crédito: é o documento que permite regularizar os valores em dívida à farmácia e que justificam o retorno de um valor monetário. A título de exemplo, é emitida uma nota de crédito quando o fornecedor aceita a devolução de determinado produto.
- Nota de débito: Este é o caso oposto, pelo que possibilita regularizar os valores em dívida por parte da farmácia.
- Nota de devolução: é o documento que é emitido e enviado juntamente com os produtos devolvidos aos fornecedores que inclui a informação sobre o valor e a quantidade do produto, bem como a sua fatura de origem, e a justificação que motivou a realização da devolução.
- Balanço: permite tirar conclusões em relação à situação financeira da farmácia, normalmente realizado no final do ano. Assim, é possível avaliar que decisões financeiras devem ser tomadas e gerir os recursos financeiros da melhor forma possível.

### **12.5. Conceitos Fiscais**

- IRC: o imposto sobre o rendimento de pessoas coletivas corresponde à taxa que é cobrada aos titulares da farmácia como resultado da compra de qualquer produto ou serviço para a empresa.
- IRS: o imposto sobre o rendimento de pessoas singulares corresponde ao imposto que incide sobre os rendimentos que são atribuídos diretamente aos cidadãos, pelo que a sua taxa vai estar dependente de diversos fatores, tais como [207]:
  - Estado civil;
  - Número de dependentes;
  - Património;

- Existência de uma incapacitação/grau de deficiência;
- Rendimento coletável desse contribuinte.
- **IVA:** o imposto sobre o valor acrescentado é um acréscimo aplicado aos preços dos produtos e serviços que são comercializados. Aplicando à realidade da farmácia, os medicamentos e dispositivos médicos têm IVA a 6 %, sendo imediatamente deduzidos no IRS, uma vez que representam despesas a nível da saúde. Os produtos ao qual o IVA corresponde a 23 % representam despesas gerais e familiares, pelo que é necessária receita médica para se considerarem despesas de saúde.

### **13. Formação Contínua**

No decorrer do meu estágio curricular tive a oportunidade de participar em diversas formações, quer através da farmácia, quer por iniciativa própria. Desta forma consegui adquirir novos conhecimentos e aprofundar outras capacidades que são de extrema importância para a prática da atividade farmacêutica. A atualização dos conhecimentos é uma poderosa ferramenta para o profissional de saúde de forma a promover a sua constante evolução e prestar sempre os melhores serviços e aconselhamentos.

A formação contínua de um farmacêutico pode ser assegurada de diversas formas, através da participação em congressos, simpósios, sessões clínicas internas da farmácia e cursos de formação técnica e/ou científica [146].

A maior parte das formações que assisti eram focadas em determinadas patologias e condições, onde era feito um enquadramento teórico e atualizado sobre as mesmas e posteriormente eram apresentadas algumas soluções, desde medicamentos a outros produtos de saúde, promovidas por diversas marcas.

Por vezes, delegados representativos de determinados laboratórios deslocavam-se à farmácia de modo a transmitirem informações detalhadas e prestarem esclarecimentos acerca dos seus produtos. Durante a minha experiência fui capaz de assistir a uma formação por parte da *Brillpharma*<sup>®</sup>, uma empresa farmacêutica especializada no desenvolvimento de produtos inovadores para a saúde ocular [208].

De seguida encontram-se algumas formações e *webinars* que tive a oportunidade de participar e assistir durante a realização do meu estágio:

- **Escola de Pós-Graduação em Saúde e Gestão:**
  - “Intervenção Farmacêutica na Utilização de Dispositivos Inalatórios Reutilizáveis”
  - “Osteoporose e Fraturas de Fragilidade”
  - “Webinar - Soluções para os problemas gastrointestinais do bebé”
  - “Webinar - SOS pele em risco: feridas, queimaduras e pele do idoso”

- “Webinar - Saúde Oral é Saúde Geral”
- “Webinar - Abordagens na Desnutrição do Idoso e Doente Oncológico”
- “Webinar - Vacinação contra a COVID-19: mais factos, menos mitos”
- “Webinar - Testes rápidos COVID-19: Da evidência científica ao papel da farmácia”
- “Webinar - COVID-19: Terapêuticas atuais e perspectivas futuras”
- “Contraceção de Emergência: Mitos e Factos”
- “Webinar - Síndrome Pós-COVID-19: Quando as sequelas são um desafio a longo prazo”
- “Webinar - Diabetes tipo 2 - Novas soluções terapêuticas: uma pandemia para controlar”
- “Webinar - Obstipação e Diarreia: como desbloquear e controlar de forma natural?”
- “Doença Venosa Crónica e Trombose Venosa Superficial: a intervenção da Farmácia”
- “Webinar - Enquadramento da Canábis no mercado da Farmácia”
- “Webinar - Imunidade, crescimento e conforto: nova geração de fórmulas infantis”
- “Webinar - Infecções fúngicas da pele e dos pés: conhecer e aconselhar na Farmácia”
- **LisbonPH:**
  - “Valormed: O Modelo da Gestão dos Resíduos da Fileira do Medicamento”
- **Pharmacy Academy:**
  - “Hipertensão Arterial e Risco Cardiovascular”
- **Ordem dos Farmacêuticos:**
  - “Curso de Intervenção do Farmacêutico na Pessoa com Enxaqueca e Cefaleias”
  - “Curso de Intervenção do Farmacêutico na Pessoa com Asma e Rinite Alérgica”
- **Pfizer:**
  - “Afeções Dermatológicas comuns: Identificar e reconhecer sinais de alarme”
- **Interorto – Produtos Ortopédicos:**
  - “Meias de descanso e de compressão”

## 14. Pandemia COVID-19

A doença do Coronavírus (COVID-19) é uma doença infecciosa causada pelo coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2 (SARS-CoV-2).

Esta pandemia, declarada pela OMS no dia 11 de março de 2020, obrigou a alterações drásticas no quotidiano das pessoas, pelo que tiveram de ser impostas novas medidas de prevenção e segurança, o que levou a uma readaptação de comportamentos e atitudes.

O meu estágio decorreu durante a “3.<sup>a</sup> vaga” da pandemia em Portugal, pelo que o funcionamento da FMT estava ainda condicionado pela pandemia. No entanto sinto que foi uma experiência ainda mais enriquecedora, visto que possibilitou uma aprendizagem para além de aquilo com que estava a contar.

#### **14.1. Medidas adotadas na prática da atividade farmacêutica**

O funcionamento e a logística das farmácias portuguesas teve sofreram uma reformulação com a instauração da pandemia, pelo que foram impostas medidas de contenção de modo a não colocar em risco os utentes ou os profissionais de saúde.

De seguida estão enumeradas as medidas de prevenção adotadas pela FMT:

- Limitação máxima de 2 utentes no interior da farmácia;
- Utilização de máscara/viseira obrigatória no espaço interior da farmácia;
- Instalação de acrílicos junto aos balcões de atendimento;
- Desinfecção dos balcões e dos terminais multibanco após cada atendimento;
- Lavagem das superfícies e equipamentos partilhados várias vezes ao longo dia;
- Funcionamento por turnos, de modo a limitar o contacto entre os elementos da FMT;
- Higienização frequente das mãos;
- Instalação de dispensadores de álcool em gel à entrada da farmácia.

#### **14.2. Entrega de medicamentos hospitalares na farmácia comunitária**

De modo a limitar a necessidade dos utentes se deslocarem ao hospital e reduzir o risco de exposição à doença, durante a permanência do estado de emergência, os medicamentos dispensados por farmácia hospitalar em regime de ambulatório podem ser excecionalmente dispensados nas farmácias comunitárias, caso o utente assim o deseje. Cabe aos distribuidores grossistas de medicamentos de uso humano a responsabilidade de realizarem a entrega desses medicamentos nas farmácias comunitárias [209].

Esta medida traz imensas vantagens para os utentes, uma vez que facilita em termos de deslocação e minimiza o risco de contágio, visto que os hospitais são locais em que os utentes podem estar mais expostos.

Durante o meu estágio na FMT, foram recebidos vários medicamentos hospitalares provenientes do Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira, na Covilhã, e do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra.

### **14.3. Margens de comercialização**

Devido à evolução da pandemia, verificou-se um grande crescimento na procura de produtos de higiene e proteção individual, tais como as máscaras, álcool em gel e luvas, pelo que se observou um aumento acentuado nos preços destes produtos. Desta forma, a população teve um acesso dificultado a esses produtos, comprometendo a sua segurança individual pelo aumento do risco de contágio.

Posto isto, era necessário proceder à determinação de medidas excecionais, relativamente à percentagem de lucro na comercialização por grosso e a retalho de dispositivos médicos e equipamentos de proteção individual, bem como de álcool etílico e gel desinfetante cutâneo de base alcoólica, de forma a garantir o acesso destes bens para os consumidores a preços justos e não especulativos, sendo a margem de lucro limitada ao máximo de 15 % [210].

Com a implementação destas medidas os laboratórios e fornecedores foram impedidos de praticarem preços acima do limite legislado.

### **14.4. Dispensa de autotestes na Farmácia Comunitária**

Segundo a Portaria n.º 56/2021, de 12 de março foi estabelecido um regime excecional e temporário para a realização e introdução no mercado nacional de autotestes de testes rápidos de antigénio do SARS-CoV-2, destinados a amostras da área nasal anterior interna [211]. Para tal é necessária aprovação por parte do INFARMED, que elaborou uma lista dos autotestes aprovados.

Durante o estágio os autotestes dispensados eram da Roche® e da Genrui®, sendo que no caso dos primeiros ainda era necessário montar os *kits* individuais, que consistiam na tira de teste, a embalagem e o exsicante, o tubo de extração com tampão e a respetiva tampa doseadora, a zaragatoa estéril e o folheto informativo.

É fundamental transmitir ao utente a maneira correta de realizar o teste, bem como interpretar corretamente o resultado do teste e as medidas deve tomar no caso de resultado positivo.

### **14.5. Programa de testagem CVP - Ensino Superior - Universidade da Beira Interior**

Durante os dias 19 de abril e 14 de maio de 2021 decorreu na Universidade da Beira Interior uma atividade em articulação com a Cruz Vermelha Portuguesa que tinha como

objetivo testar os alunos, docentes, investigadores e funcionários da universidade após o reinício das atividades presenciais.

Esta atividade, de caráter voluntário, foi proposta aos alunos finalistas do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, o qual cativou o meu interesse, pois achei que seria uma atividade interessante e, acima de tudo, gostaria de prestar auxílio nesta etapa tão crítica que era o regresso das atividades presenciais na universidade.

Para este programa foram determinados 5 postos de rastreio, que iam variando diariamente, de forma a atingir toda a população universitária. Os 5 postos escolhidos foram: Faculdade de Ciências Sociais e Humanas, Pavilhão Desportivo, Fábrica do Moço, Faculdade de Engenharia e Faculdade de Ciências da Saúde.

Os alunos que se inscreveram tinham a oportunidade de selecionar o horário que pretendiam, de entre dois turnos: Turnos: das 10 h às 13 h (Turno 1) e das 13 h às 16 h (Turno 2). Cada turno era organizado por um supervisor, apoio técnico, do qual faziam parte os alunos finalistas do Mestrado Integrado em Medicina e Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, apoio administrativo e o apoio técnico e logístico.

#### **14.5.1. Fases do processo e sua descrição**

Aos alunos de Ciências Farmacêuticas foi cedida a oportunidade de participar nas seguintes etapas:

- **Área I - Registo e Validação**

Nesta etapa inicial, os alunos tinham a responsabilidade de receber as pessoas que pretendiam realizar o rastreio e prestar todas as informações necessárias, bem como verificar se os dados dos voluntários estavam inseridos corretamente, nomeadamente a data de nascimento, o número do documento identificativo, número de identificação fiscal e número de utente do SNS.

O formulário podia ser preenchido manualmente no local de testagem ou poderia ser preenchido online com a possibilidade de agendamento. De seguida eram coladas etiquetas numéricas na folha do registo, de modo a identificar o teste de cada pessoa, que eram encaminhadas para a etapa seguinte.

- **Área II – Preparação, Recolha e Processamento**

Inicialmente, procedia-se à preparação do material do teste e colocação da etiqueta no tubo de recolha da amostra e depois era realizada a recolha através de swab nasofaríngeo para o tubo coletor. Esta fase era realizada exclusivamente pelos alunos de Medicina.

De seguida passávamos à fase do processamento, onde era realizada a preparação da cassette de leitura do teste, juntamente com a etiqueta da respetiva pessoa. Depois de

estar tudo identificado eram colocadas 5 gotas da amostra contida no tubo de recolha na cassette de leitura, com registo da hora do fim da contagem de tempo (15 minutos).

- **Área III – Leitura do resultado e envio da comunicação**

Após a passagem dos 15 minutos era possível realizar a leitura do teste.

- Resultado negativo: no caso da presença apenas da linha de controlo e nenhuma na linha de teste;
- Resultado positivo: presença da linha de teste e da linha de controlo;
- Resultado inválido: caso a linha de controlo não estiver visível.

Caso o resultado fosse positivo, a pessoa era imediatamente contactada para realizar novamente o teste rápido ou ser encaminhada para realizar um teste PCR de modo a confirmar o resultado. No caso dos testes negativos, esses eram contactados ao final do dia, via email.

Para finalizar, era necessário introduzir os dados pessoais dos formulários e os resultados obtidos num documento *Excel*<sup>®</sup>, de forma a informatizar toda a informação e facilitar o processo da divulgação dos resultados.

#### **14.5.2. Panbio<sup>™</sup> COVID-19 Ag Rapid Test Device (Nasopharyngeal)**

Para a realização do rastreio na universidade foi utilizado este teste rápido de diagnóstico *in vitro* para deteção qualitativa do antigénio SARS-CoV-2 da marca *Abbott*<sup>®</sup>.

Este teste contém uma tira de membrana, que é pré-revestida com anticorpo antiSARS-CoV-2 imobilizado na linha de teste e IgY monoclonal de camundongo antigalinha na linha de controlo. Dois tipos de conjugados, a IgG humana específica para conjugado de ouro SARS-CoV-2 Ag e conjugado de ouro IgY de galinha, movem-se na membrana cromatograficamente e reagem com o anticorpo antiSARS-CoV-2 e IgY monoclonal de camundongo antigalinha pré-revestido respetivamente. Para um resultado positivo, a IgG humana específica para o conjugado de ouro SARS-CoV-2 Ag e o anticorpo antiSARS-CoV-2 formam uma linha de teste na janela de resultados. Este teste apresenta sensibilidade de 91,4 % e especificidade de 99,8 % [212].

## **15. Conclusão**

Este estágio proporcionou-me o meu primeiro contacto com a realidade da profissão e com o exercício da atividade farmacêutica, permitindo-me colocar em prática os conhecimentos técnicos e científicos adquiridos ao longo do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

A maior conclusão que posso retirar do meu estágio é que o farmacêutico tem um papel crucial na população, garantindo saúde e bem-estar, por meio da prestação de cuidados de saúde, tendo por base o uso racional do medicamento.

No decorrer do estágio pude desenvolver novas aptidões, adquirir outras competências técnicas, científicas e sociais e melhorar algumas lacunas, principalmente ao nível da comunicação interpessoal, não só com utentes, como também com a equipa da farmácia, dessa forma sinto que estou mais preparado para enfrentar os desafios que se avizinham.

Só me resta agradecer a toda a equipa da Farmácia Mousaco Torrão que me fizeram sentir integrado desde o princípio e por toda a atenção, disponibilidade e amabilidade ao longo de todo este período de aprendizagem.

## 16. Referências bibliográficas

1. What is Cancer? - National Cancer Institute. <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/cancer>. Consultado a 21 de fevereiro de 2021
2. Óbitos de residentes em Portugal por algumas causas de morte - PORDATA. <https://www.pordata.pt/Portugal/Óbitos+de+residentes+em+Portugal+por+algumas+causas+de+morte-156>. Consultado a 20 de fevereiro de 2021
3. Cogliano VJ, Baan R, Straif K, et al (2010) Preventable exposures associated with human cancers. *J Natl Cancer Inst*. <https://doi.org/10.1093/jnci/djr483>
4. Franceschi S, Wild CP (2013) Meeting the global demands of epidemiologic transition - The indispensable role of cancer prevention. *Mol Oncol*. <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2012.10.010>
5. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Dyba T, Randi G, Bettio M, Gavin A, Visser O, Bray F (2018) Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries and 25 major cancers in 2018. *Eur J Cancer*. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2018.07.005>
6. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A (2018) Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
7. Hulvat MC (2020) Cancer Incidence and Trends. *Surg Clin North Am*. <https://doi.org/10.1016/j.suc.2020.01.002>
8. Torre LA, Islami F, Siegel RL, Ward EM, Jemal A (2017) Global cancer in women: Burden and trends. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-16-0858>
9. Torre LA, Siegel RL, Ward EM, Jemal A (2016) Global Cancer Incidence and Mortality Rates and Trends-An Update. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-15-0578>
10. Siegel RL, Miller KD, Jemal A (2019) Cancer statistics, 2019. *CA Cancer J Clin*. <https://doi.org/10.3322/caac.21551>
11. Estatísticas da Saúde - 2018 - Instituto Nacional de Estatística. [https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine\\_publicacoes&PUBLICACOESpub\\_boui=257793024&PUBLICACOESStema=55538&PUBLICACOESmodo=2](https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_publicacoes&PUBLICACOESpub_boui=257793024&PUBLICACOESStema=55538&PUBLICACOESmodo=2). Consultado a 21 de fevereiro de 2021
12. Pina F, Castro C, Ferro A, Bento MJ, Lunet N (2017) Prostate cancer incidence and mortality in Portugal: Trends, projections and regional differences. *Eur J Cancer Prev*. <https://doi.org/10.1097/CEJ.000000000000285>

13. Klaunig JE (2020) Carcinogenesis. In: An Introd. to Interdiscip. Toxicol. Elsevier, pp 97–110
14. Ashkenazi R, Gentry SN, Jackson TL (2008) Pathways to tumorigenesis - Modeling mutation acquisition in stem cells and their progeny. *Neoplasia*. <https://doi.org/10.1593/neo.08572>
15. Hanahan D, Weinberg RA (2011) Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
16. Long J, Zhang C-J, Zhu N, Du K, Yin Y-F, Tan X, Liao D-F, Qin L (2018) Lipid metabolism and carcinogenesis, cancer development. *Am J Cancer Res* 8:778–791
17. Olkkonen VM (2004) Oxysterol binding protein and its homologues: New regulatory factors involved in lipid metabolism. *Curr Opin Lipidol*. <https://doi.org/10.1097/00041433-200406000-00013>
18. Nelson ER, Chang C yi, McDonnell DP (2014) Cholesterol and breast cancer pathophysiology. *Trends Endocrinol Metab*. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2014.10.001>
19. Martins APJ (2016) Síntese e avaliação biológica de derivados oxidados da diosgenina como agentes anti tumorais. Universidade da Beira Interior
20. Miranda Furtado CL, Dos Santos Luciano MC, Silva Santos R Da, Furtado GP, Moraes MO, Pessoa C (2019) Epidrugs: targeting epigenetic marks in cancer treatment. *Epigenetics*. <https://doi.org/10.1080/15592294.2019.1640546>
21. Sharma S, Kelly TK, Jones PA (2010) Epigenetics in cancer. *Carcinogenesis*. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgp220>
22. Ulm M, Ramesh A V, McNamara KM, Ponnusamy S, Sasano H, Narayanan R (2019) Therapeutic advances in hormone-dependent cancers: Focus on prostate, breast and ovarian cancers. *Endocr Connect*. <https://doi.org/10.1530/EC-18-0425>
23. Henderson BE, Feigelson HS (2000) Hormonal carcinogenesis. *Carcinogenesis*. <https://doi.org/10.1093/carcin/21.3.427>
24. Schatten H (2018) Brief overview of prostate cancer statistics, grading, diagnosis and treatment strategies. In: *Adv. Exp. Med. Biol.* Springer New York LLC, pp 1–14
25. Schiffman JD, Fisher PG, Gibbs P (2015) Early Detection of Cancer: Past, Present, and Future. *Am Soc Clin Oncol Educ B*. [https://doi.org/10.14694/edbook\\_am.2015.35.57](https://doi.org/10.14694/edbook_am.2015.35.57)
26. Taitt HE (2018) Global Trends and Prostate Cancer: A Review of Incidence, Detection, and Mortality as Influenced by Race, Ethnicity, and Geographic Location. *Am J Mens Health*. <https://doi.org/10.1177/1557988318798279>

27. Litwin MS, Tan HJ (2017) The diagnosis and treatment of prostate cancer: A review. *JAMA - J Am Med Assoc.* <https://doi.org/10.1001/jama.2017.7248>
28. Center MM, Jemal A, Lortet-Tieulent J, Ward E, Ferlay J, Brawley O, Bray F (2012) International variation in prostate cancer incidence and mortality rates. *Eur Urol.* <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2012.02.054>
29. Perdana NR, Mochtar CA, Umbas R, Hamid ARA (2016) The Risk Factors of Prostate Cancer and Its Prevention: A Literature Review. *Acta Med Indones* 48:228–238
30. McLean DT, Strand DW, Ricke WA (2017) Prostate cancer xenografts and hormone induced prostate carcinogenesis. *Differentiation.* <https://doi.org/10.1016/j.diff.2017.08.005>
31. Ricke EA, Williams K, Lee YF, Couto S, Wang Y, Hayward SW, Cunha GR, Ricke WA (2012) Androgen hormone action in prostatic carcinogenesis: Stromal androgen receptors mediate prostate cancer progression, malignant transformation and metastasis. *Carcinogenesis.* <https://doi.org/10.1093/carcin/bgs153>
32. Wen S, Chang HC, Tian J, Shang Z, Niu Y, Chang C (2015) Stromal androgen receptor roles in the development of normal prostate, benign prostate hyperplasia, and prostate cancer. *Am J Pathol.* <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2014.10.012>
33. Giannoni E, Bianchini F, Masieri L, Serni S, Torre E, Calorini L, Chiarugi P (2010) Reciprocal activation of prostate cancer cells and cancer-associated fibroblasts stimulates epithelial-mesenchymal transition and cancer stemness. *Cancer Res.* <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-0785>
34. Bonkhoff H (2018) Estrogen receptor signaling in prostate cancer: Implications for carcinogenesis and tumor progression. *Prostate.* <https://doi.org/10.1002/pros.23446>
35. Fixemer T, Remberger K, Bonkhoff H (2003) Differential expression of the estrogen receptor beta (ER $\beta$ ) in human prostate tissue, premalignant changes, and in primary, metastatic, and recurrent prostatic adenocarcinoma. *Prostate.* <https://doi.org/10.1002/pros.10171>
36. Marwarha G, Raza S, Hammer K, Ghribi O (2017) 27-hydroxycholesterol: A novel player in molecular carcinogenesis of breast and prostate cancer. *Chem Phys Lipids.* <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2017.05.012>
37. Chen H, Zhou L, Wu X, Li R, Wen J, Sha J, Wen X (2016) The PI3K/AKT pathway in the pathogenesis of prostate cancer. *Front Biosci - Landmark.* <https://doi.org/10.2741/4443>
38. Winters S, Martin C, Murphy D, Shokar NK (2017) Breast Cancer Epidemiology,

- Prevention, and Screening. In: Prog. Mol. Biol. Transl. Sci. Elsevier B.V., pp 1–32
39. Arnold M, Karim-Kos HE, Coebergh JW, Byrnes G, Antilla A, Ferlay J, Renehan AG, Forman D, Soerjomataram I (2015) Recent trends in incidence of five common cancers in 26 European countries since 1988: Analysis of the European Cancer Observatory. *Eur J Cancer*. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2013.09.002>
  40. Cardoso F, Kyriakides S, Ohno S, Penault-Llorca F, Poortmans P, Rubio IT, Zackrisson S, Senkus E (2019) Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz173>
  41. Abdelwahab Yousef AJ (2017) Male Breast Cancer: Epidemiology and Risk Factors. *Semin Oncol*. <https://doi.org/10.1053/j.seminoncol.2017.11.002>
  42. Risk Factors for Breast Cancer - WebMD | Cancer Center. <https://www.webmd.com/breast-cancer/overview-risks-breast-cancer>. Consultado a 25 de março de 2021
  43. Brewer HR, Jones ME, Schoemaker MJ, Ashworth A, Swerdlow AJ (2017) Family history and risk of breast cancer: an analysis accounting for family structure. *Breast Cancer Res Treat*. <https://doi.org/10.1007/s10549-017-4325-2>
  44. Sun YS, Zhao Z, Yang ZN, Xu F, Lu HJ, Zhu ZY, Shi W, Jiang J, Yao PP, Zhu HP (2017) Risk factors and preventions of breast cancer. *Int J Biol Sci*. <https://doi.org/10.7150/ijbs.21635>
  45. Mctiernan A, Friedenreich CM, Katzmarzyk PT, et al (2019) Physical Activity in Cancer Prevention and Survival: A Systematic Review. *Med Sci Sports Exerc*. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000001937>
  46. Wei LJ, Zhang C, Zhang H, Wei X, Li SX, Liu JT, Ren XB (2016) A case-control study on the association between serum lipid level and the risk of breast cancer. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi*. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2016.12.013>
  47. Rodrigues Dos Santos C, Domingues G, Matias I, Matos J, Fonseca I, De Almeida JM, Dias S (2014) LDL-cholesterol signaling induces breast cancer proliferation and invasion. *Lipids Health Dis*. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-13-16>
  48. De Cicco P, Catani MV, Gasperi V, Sibilano M, Quaglietta M, Savini I (2019) Nutrition and breast cancer: A literature review on prevention, treatment and recurrence. *Nutrients*. <https://doi.org/10.3390/nu11071514>
  49. Forjaz de Lacerda G, Kelly SP, Bastos J, Castro C, Mayer A, Mariotto AB, Anderson WF (2018) Breast cancer in Portugal: Temporal trends and age-specific incidence by geographic regions. *Cancer Epidemiol*. <https://doi.org/10.1016/j.canep.2018.03.003>

50. Liang Y, Zhang H, Song X, Yang Q (2020) Metastatic heterogeneity of breast cancer: Molecular mechanism and potential therapeutic targets. *Semin Cancer Biol.* <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2019.08.012>
51. Cooperberg MR, Broering JM, Kantoff PW, Carroll PR (2007) Contemporary Trends in Low Risk Prostate Cancer: Risk Assessment and Treatment. *J Urol.* <https://doi.org/10.1016/j.juro.2007.03.135>
52. Brawley S, Mohan R, Nein CD (2018) Localized Prostate Cancer: Treatment Options. *Am Fam Physician* 97:798–805
53. Parker C, Gillessen S, Heidenreich A, Horwich A (2015) Cancer of the prostate: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* <https://doi.org/10.1093/annonc/mdv222>
54. Waks AG, Winer EP (2019) Breast Cancer Treatment: A Review. *JAMA - J Am Med Assoc.* <https://doi.org/10.1001/jama.2018.19323>
55. Joshi H, Press MF (2018) Molecular oncology of breast cancer. In: *Breast Compr. Manag. Benign Malig. Dis.* Elsevier Inc., pp 282-307.e5
56. Mustian KM, Alfano CM, Heckler C, et al (2017) Comparison of pharmaceutical, psychological, and exercise treatments for cancer-related fatigue: A meta-analysis. *JAMA Oncol.* <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2016.6914>
57. Ganz PA, Yip CH, Gralow JR, et al (2013) Supportive care after curative treatment for breast cancer (survivorship care): Resource allocations in low- and middle-income countries. A Breast Health Global Initiative 2013 consensus statement. *Breast.* <https://doi.org/10.1016/j.breast.2013.07.049>
58. Pinto AC, De Azambuja E (2011) Improving quality of life after breast cancer: Dealing with symptoms. *Maturitas.* <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2011.09.008>
59. Braña MF, Sánchez-Migallón A (2006) Anticancer drug discovery and pharmaceutical chemistry: A history. *Clin Transl Oncol.* <https://doi.org/10.1007/s12094-006-0118-5>
60. Prasad S, Gupta SC, Aggarwal BB (2016) Serendipity in Cancer Drug Discovery: Rational or Coincidence? *Trends Pharmacol Sci.* <https://doi.org/10.1016/j.tips.2016.03.004>
61. Schwartzmann G, Ratain MJ, Cragg GM, et al (2002) Anticancer Drug Discovery and Development Throughout the World. *J Clin Oncol.* <https://doi.org/10.1200/JCO.2002.07.122>
62. Cragg GM, Newman DJ (2005) Plants as a source of anti-cancer agents. *J Ethnopharmacol.* <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.05.011>
63. Kaur R, Kapoor K, Kaur H (2011) Plants as a source of anti-cancer agents. *Sch Res*

Libr. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.05.011>

64. Cragg GM, Newman DJ, Kingston DGI (2010) Terrestrial plants as a source of novel pharmaceutical agents. In: *Compr. Nat. Prod. II Chem. Biol.* Elsevier Ltd, pp 5–39
65. Li F, Jiang T, Li Q, Ling X (2017) Camptothecin analogues and their molecular targets. *Am J Cancer Res* 7:2350–2394
66. Wermuth CG, Villoutreix B, Grisoni S, Olivier A, Rocher JP (2015) Strategies in the Search for New Lead Compounds or Original Working Hypotheses. In: *Pract. Med. Chem. Fourth Ed.* Elsevier Inc., pp 73–99
67. Maltese WA, Defendini R, Green RA, Sheridan KM, Donley DK (1985) Suppression of murine neuroblastoma growth in vivo by mevinolin, a competitive inhibitor of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase. *J Clin Invest.* <https://doi.org/10.1172/JCI112165>
68. Mavromoustakos T, Durdagi S, Koukoulitsa C, Simcic M, G. Papadopoulos M, Hodosek M, Golic Grdadolnik S (2011) Strategies in the Rational Drug Design. *Curr Med Chem.* <https://doi.org/10.2174/092986711795933731>
69. Surabhi S, Singh B (2018) Computer Aided Drug Design: an overview. *J Drug Deliv Ther.* <https://doi.org/10.22270/jddt.v8i5.1894>
70. Assaraf YG, Leamon CP, Reddy JA (2014) The folate receptor as a rational therapeutic target for personalized cancer treatment. *Drug Resist Updat.* <https://doi.org/10.1016/j.drup.2014.10.002>
71. Escobar-Sánchez ML, Sánchez-Sánchez L, Sandoval-Ramírez J (2015) Steroidal Saponins and Cell Death in Cancer. *Cell Death - Autophagy, Apoptosis Necrosis.* <https://doi.org/10.5772/61438>
72. Sethi G, Shanmugam MK, Warriar S, Merarchi M, Arfuso F, Kumar AP, Bishayee A (2018) Pro-apoptotic and anti-cancer properties of diosgenin: A comprehensive and critical review. *Nutrients.* <https://doi.org/10.3390/nu10050645>
73. Kim JK, Park SU (2018) An update on the biological and pharmacological activities of Diosgenin. *EXCLI J.* <https://doi.org/10.17179/excli2017-894>
74. Raju J, Mehta R (2009) Cancer chemopreventive and therapeutic effects of diosgenin, a food saponin. *Nutr Cancer.* <https://doi.org/10.1080/01635580802357352>
75. Chen Y, Tang YM, Yu SL, Han YW, Kou JP, Liu BL, Yu BY (2015) Advances in the pharmacological activities and mechanisms of diosgenin. *Chin J Nat Med.* [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(15\)30053-4](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(15)30053-4)
76. Cai B, Zhang Y, Wang Z, et al (2020) Therapeutic Potential of Diosgenin and Its Major Derivatives against Neurological Diseases: Recent Advances. *Oxid Med Cell*

- Longev. <https://doi.org/10.1155/2020/3153082>
77. Moriwaki S, Murakami H, Takahashi N, Uemura T, Taketani K, Hoshino S, Tsuge N, Narukami T, Goto T, Kawada T (2014) Yamogenin in fenugreek inhibits lipid accumulation through the suppression of gene expression in fatty acid synthesis in hepatocytes. *Biosci Biotechnol Biochem.* <https://doi.org/10.1080/09168451.2014.915736>
  78. Bao W, Pan H, Lu M, Ni Y, Zhang R, Gong X (2007) The apoptotic effect of sarsasapogenin from *Anemarrhena asphodeloides* on HepG2 human hepatoma cells. *Cell Biol Int.* <https://doi.org/10.1016/j.cellbi.2007.02.001>
  79. Wang W, Zhang Y, Yao G, Wang W, Shang X, Zhang Y, Wang X, Wang S, Song S (2018) Synthesis of new sarsasapogenin derivatives with antiproliferative and apoptotic effects in MCF-7 cells. *Steroids.* <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2018.01.001>
  80. Kashyap P, Muthusamy K, Niranjana M, Tripathi S, Kumar S (2020) Sarsasapogenin: A steroidal saponin from *Asparagus racemosus* as multi target directed ligand in Alzheimer's disease. *Steroids.* <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2019.108529>
  81. Feng B, Zhao XY, Song YZ, Liang WN, Liu JL (2017) Sarsasapogenin reverses depressive-like behaviors and nicotinic acetylcholine receptors induced by olfactory bulbectomy. *Neurosci Lett.* <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2016.12.025>
  82. Salvador JAR, Carvalho JFS, Neves MAC, Silvestre SM, Leitão AJ, Silva MMC, Sá E Melo ML (2013) Anticancer steroids: Linking natural and semi-synthetic compounds. *Nat Prod Rep.* <https://doi.org/10.1039/c2np20082a>
  83. Ferraz ML (2020)  $\Delta$  5-esteroides Oxidados em C4 como Fonte de Compostos Potencialmente Bioativos. Universidade da Beira Interior
  84. Sarker SD, Nahar L (2013) Natural product chem. In: *Chem. Pharm. Students Gen. Org. Nat. Prod. Chem.* pp 283–359
  85. McDonald JG, Smith DD, Stiles AR, Russell DW (2012) A comprehensive method for extraction and quantitative analysis of sterols and secosteroids from human plasma. *J Lipid Res.* <https://doi.org/10.1194/jlr.D022285>
  86. El-Kady DS, Abd Rabou AA, Tantawy MA, Abdel-Rahman AAH, Abdel-Megeed AAS, Abdelhalim MM, Elmegeed GA (2019) Synthesis and Evaluation of Novel Cholestanoheterocyclic Steroids as Anticancer Agents. *Appl Biochem Biotechnol.* <https://doi.org/10.1007/s12010-018-02943-6>
  87. Lemke TL, Zito SW, Roche VF, Williams DA (2017) Steroids: Adrenocorticoids, Androgens, Estrogens and Related Nonsteroidal Compounds. In: *Essentials*

- Foye's Princ. Med. Chem., 7th ed. Wolters Kluwer, pp 313–356
88. Moss G (1989) The nomenclature of steroids: Recommendations 1989. In: *Eur. J. Biochem.* pp 429–458
  89. Francis PA, Pagani O, Fleming GF, et al (2018) Tailoring Adjuvant Endocrine Therapy for Premenopausal Breast Cancer. *N Engl J Med.* <https://doi.org/10.1056/nejmoa1803164>
  90. Kim EH, Brockman JA, Andriole GL (2018) The use of 5-alpha reductase inhibitors in the treatment of benign prostatic hyperplasia. *Asian J Urol.* <https://doi.org/10.1016/j.ajur.2017.11.005>
  91. Jesus M, Martins APJ, Gallardo E, Silvestre S (2016) Diosgenin: Recent Highlights on Pharmacology and Analytical Methodology. *J Anal Methods Chemistry.* <https://doi.org/10.1155/2016/4156293>
  92. Yin H, Zhang M-J, An R-F, Zhou J, Liu W, Morris-Natschke SL, Cheng Y-Y, Lee K-H, Huang X-F (2020) Diosgenin Derivatives as Potential Antitumor Agents: Synthesis, Cytotoxicity, and Mechanism of Action. *J Nat Prod.* <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.0c00698>
  93. Gong N, Yu H, Wang Y, Xing C, Hu K, Du G, Lu Y (2020) Crystal Structures, Stability, and Solubility Evaluation of a 2:1 Diosgenin–Piperazine Cocrystal. *Nat Products Bioprospect.* <https://doi.org/10.1007/s13659-020-00256-y>
  94. Quan HJ, Koyanagi J, Komada F, Saito S (2005) Preparations of vitamin D analogs, spirostanols and furostanols from diosgenin and their cytotoxic activities. *Eur J Med Chem.* <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2005.02.003>
  95. Diosgenin - PubChem | National Library of Medicine. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Diosgenin>. Consultado a 1 de fevereiro de 2021
  96. Khathayer F, Ray SK (2020) Diosgenin as a Novel Alternative Therapy for Inhibition of Growth, Invasion, and Angiogenesis Abilities of Different Glioblastoma Cell Lines. *Neurochem Res.* <https://doi.org/10.1007/s11064-020-03093-0>
  97. Rahmati-Yamchi M, Ghareghomi S, Haddadchi G, Milani M, Aghazadeh M, Daroushnejad H (2014) Fenugreek extract diosgenin and pure diosgenin inhibit the hTERT gene expression in A549 lung cancer cell line. *Mol Biol Rep.* <https://doi.org/10.1007/s11033-014-3505-y>
  98. Wani SA, Kumar P (2018) Fenugreek: A review on its nutraceutical properties and utilization in various food products. *J Saudi Soc Agric Sci.* <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2016.01.007>
  99. Chiang C Te, Way T Der, Tsai SJ, Lin JK (2007) Diosgenin, a naturally occurring

- steroid, suppresses fatty acid synthase expression in HER2-overexpressing breast cancer cells through modulating Akt, mTOR and JNK phosphorylation. *FEBS Lett.* <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.11.021>
100. Liu Y, Zhou Z, Yan J, Wu X, Xu G (2020) Diosgenin Exerts Antitumor Activity via Downregulation of Skp2 in Breast Cancer Cells. *Biomed Res Int.* <https://doi.org/10.1155/2020/8072639>
  101. Zhang J, Xie JJ, Zhou SJ, Chen J, Hu Q, Pu JX, Lu JL (2019) Diosgenin inhibits the expression of nedd4 in prostate cancer cells. *Am J Transl Res* 11:3461–3471
  102. Nie C, Zhou J, Qin X, Shi X, Zeng Q, Liu J, Yan S, Zhang L (2016) Diosgenin induced autophagy and apoptosis in a human prostate cancer cell line. *Mol Med Rep.* <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.5750>
  103. Yu H, Liu Y, Niu C, Cheng Y (2018) Diosgenin increased DDX3 expression in hepatocellular carcinoma. *Am J Transl Res* 10:3590–3599
  104. Liu S, Rong G, Li X, Geng L, Zeng Z, Jiang D, Yang J, Wei Y (2020) Diosgenin and GSK126 produce synergistic effects on epithelial–mesenchymal transition in gastric cancer cells by mediating EZH2 via the Rho/ROCK signaling pathway. *Onco Targets Ther.* <https://doi.org/10.2147/OTT.S237474>
  105. Mohammad-Sadeghipour M, Mahmoodi M, Karimabad MN, Mirzaei MR (2021) Diosgenin and 4-hydroxyisoleucine from fenugreek are regulators of genes involved in lipid metabolism in the human colorectal cancer cell line SW480. *Cell J.* <https://doi.org/10.22074/cellj.2021.6751>
  106. Huang H, Nie C, Qin X, Zhou J, Zhang L (2019) Diosgenin inhibits the epithelial–mesenchymal transition initiation in osteosarcoma cells via the p38MAPK signaling pathway. *Oncol Lett.* <https://doi.org/10.3892/ol.2019.10780>
  107. Dong M, Meng Z, Kuerban K, Qi F, Liu J, Wei Y, Wang Q, Jiang S, Feng M, Ye L (2018) Diosgenin promotes antitumor immunity and PD-1 antibody efficacy against melanoma by regulating intestinal microbiota. *Cell Death Dis.* <https://doi.org/10.1038/s41419-018-1099-3>
  108. Das S, Dey KK, Dey G, Pal I, Majumder A, MaitiChoudhury S, Kundu SC, Mandal M (2012) Antineoplastic and Apoptotic Potential of Traditional Medicines Thymoquinone and Diosgenin in Squamous Cell Carcinoma. *PLoS One.* <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046641>
  109. Cailleteau C, Liagre B, Battu S, Jayat-Vignoles C, Beneytout JL (2008) Increased cyclooxygenase-2 and thromboxane synthase expression is implicated in diosgenin-induced megakaryocytic differentiation in human erythroleukemia cells. *Anal Biochem.* <https://doi.org/10.1016/j.ab.2008.05.026>
  110. Jiang S, Fan J, Wang Q, Ju D, Feng M, Li J, Guan Z bin, An D, Wang X, Ye L (2016)

- Diosgenin induces ROS-dependent autophagy and cytotoxicity via mTOR signaling pathway in chronic myeloid leukemia cells. *Phytomedicine*. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2016.01.010>
111. Liao WL, Lin JY, Shieh JC, Yeh HF, Hsieh YH, Cheng YC, Lee HJ, Shen CY, Cheng CW (2020) Induction of G2/M phase arrest by diosgenin via activation of Chk1 kinase and Cdc25C regulatory pathways to promote apoptosis in human breast cancer cells. *Int J Mol Sci*. <https://doi.org/10.3390/ijms21010172>
  112. Selim S, Al Jaouni S (2015) Anticancer and apoptotic effects on cell proliferation of diosgenin isolated from *Costus speciosus* (Koen.) Sm. *BMC Complement Altern Med*. <https://doi.org/10.1186/s12906-015-0836-8>
  113. Li F, Fernandez PP, Rajendran P, Hui KM, Sethi G (2010) Diosgenin, a steroidal saponin, inhibits STAT3 signaling pathway leading to suppression of proliferation and chemosensitization of human hepatocellular carcinoma cells. *Cancer Lett*. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2009.12.003>
  114. Long C, Chen J, Zhou H, Jiang T, Fang X, Hou D, Liu P, Duan H (2019) Diosgenin exerts its tumor suppressive function via inhibition of Cdc20 in osteosarcoma cells. *Cell Cycle*. <https://doi.org/10.1080/15384101.2019.1568748>
  115. Lepage C, Léger DY, Bertrand J, Martin F, Beneytout JL, Liagre B (2011) Diosgenin induces death receptor-5 through activation of p38 pathway and promotes TRAIL-induced apoptosis in colon cancer cells. *Cancer Lett*. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2010.12.003>
  116. Wiley SR, Schooley K, Smolak PJ, et al (1995) Identification and characterization of a new member of the TNF family that induces apoptosis. *Immunity*. [https://doi.org/10.1016/1074-7613\(95\)90057-8](https://doi.org/10.1016/1074-7613(95)90057-8)
  117. LeBlanc HN, Ashkenazi A (2003) Apo2L/TRAIL and its death and decoy receptors. *Cell Death Differ*. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4401187>
  118. Sato M, Shin-Ya K, Lee JI, Ishihara M, Nagai T, Kaneshiro N, Mitani G, Tahara H, Mochida J (2012) Human telomerase reverse transcriptase and glucose-regulated protein 78 increase the life span of articular chondrocytes and their repair potential. *BMC Musculoskelet Disord*. <https://doi.org/10.1186/1471-2474-13-51>
  119. Roche J (2018) The epithelial-to-mesenchymal transition in cancer. *Cancers (Basel)*. <https://doi.org/10.3390/cancers10020052>
  120. Goossens S, Vandamme N, Van Vlierberghe P, Berx G (2017) EMT transcription factors in cancer development re-evaluated: Beyond EMT and MET. *Biochim Biophys Acta - Rev Cancer*. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2017.06.006>
  121. Chang HY, Kao MC, Way T Der, Ho CT, Fu E (2011) Diosgenin suppresses hepatocyte growth factor (HGF)-induced epithelial-mesenchymal transition by

- down-regulation of Mdm2 and vimentin. *J Agric Food Chem.* <https://doi.org/10.1021/jf200598w>
122. Chen PS, Shih YW, Huang HC, Cheng HW (2011) Diosgenin, a steroidal saponin, inhibits migration and invasion of human prostate cancer pc-3 cells by reducing matrix metalloproteinases expression. *PLoS One.* <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020164>
123. Masood-ur-Rahman, Mohammad Y, Fazili KM, Bhat KA, Ara T (2017) Synthesis and biological evaluation of novel 3-O-tethered triazoles of diosgenin as potent antiproliferative agents. *Steroids.* <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2016.11.003>
124. Ghosh S, More P, Derle A, et al (2015) Diosgenin functionalized iron oxide nanoparticles as novel nanomaterial against breast cancer. *J Nanosci Nanotechnol.* <https://doi.org/10.1166/jnn.2015.11704>
125. Sharma N, Singhal M, Mankamna Kumari R, Gupta N, Manchanda R, Syed A, Bahkali AH, Nimesh S (2020) Diosgenin loaded polymeric nanoparticles with potential anticancer efficacy. *Biomolecules.* <https://doi.org/10.3390/biom10121679>
126. Schönbeck C, Gaardahl K, Houston B (2019) Drug Solubilization by Mixtures of Cyclodextrins: Additive and Synergistic Effects. *Mol Pharm.* <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.8b00953>
127. Okawara M, Tokudome Y, Todo H, Sugibayashi K, Hashimoto F (2014) Effect of  $\beta$ -Cyclodextrin derivatives on the diosgenin absorption in caco-2 cell monolayer and rats. *Biol Pharm Bull.* <https://doi.org/10.1248/bpb.b13-00560>
128. Okawara M, Hashimoto F, Todo H, Sugibayashi K, Tokudome Y (2014) Effect of liquid crystals with cyclodextrin on the bioavailability of a poorly water-soluble compound, diosgenin, after its oral administration to rats. *Int J Pharm.* <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.06.032>
129. Bernardo-Otero Y, Alonso-Becerra E, Guerra-Martínez F, Martínez-Massanet G, Pérez-Martínez C, Coll-Manchado F (2007) Synthesis and biological activity of epoxy analogues of 3-dehydrotestosterone. *J Chem Res.* <https://doi.org/10.3184/030823407x210884>
130. Dawidar AM, Saleh AA, Abdel-Malek MM (1980) Hydroxylation of  $\Delta^5$ -Steroids with N-Bromosuccinimide to  $5\alpha$ ,  $6\beta$ -Diols. *Zeitschrift fur Naturforsch - Sect B J Chem Sci.* <https://doi.org/10.1515/znb-1980-0124>
131. Nagaoka M, Watari Y, Yajima H, Tsukioka K, Muroi Y, Yamada K, Numazawa M (2003) Structure-activity relationships of 3-deoxy androgens as aromatase inhibitors. synthesis and biochemical studies of 4-substituted 4-ene and 5-ene steroids. *Steroids.* [https://doi.org/10.1016/S0039-128X\(03\)00085-0](https://doi.org/10.1016/S0039-128X(03)00085-0)

132. Canário C, Matias M, Brito V, Santos AO, Falcão A, Silvestre S, Alves G (2021) New estrone oxime derivatives: Synthesis, cytotoxic evaluation and docking studies. *Molecules*. <https://doi.org/10.3390/molecules26092687>
133. Lee A V., Oesterreich S, Davidson NE (2015) MCF-7 Cells - Changing the Course of Breast Cancer Research and Care for 45 Years. *J Natl Cancer Inst*. <https://doi.org/10.1093/jnci/djv073>
134. Sheng X, Li Z, Wang DL, Li W Bin, Luo Z, Chen KH, Cao JJ, Yu C, Liu WJ (2013) Isolation and enrichment of PC-3 prostate cancer stem-like cells using MACS and serum-free medium. *Oncol Lett*. <https://doi.org/10.3892/ol.2012.1090>
135. Präbst K, Engelhardt H, Ringgeler S, Hübner H (2017) Basic colorimetric proliferation assays: MTT, WST, and resazurin. In: *Methods Mol. Biol. Humana Press Inc.*, pp 1–17
136. Van Tonder A, Joubert AM, Cromarty AD (2015) Limitations of the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT) assay when compared to three commonly used cell enumeration assays. *BMC Res Notes*. <https://doi.org/10.1186/s13104-015-1000-8>
137. Li XF, Ma M, Cheng A, Zheng J, Tam YK (2002) Determination of testosterone and its metabolites using liquid chromatography with elevated column temperature and flow-rate gradient. *Anal Chim Acta*. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(02\)00051-X](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(02)00051-X)
138. Russell DW, Wilson JD (1994) Steroid 5 $\alpha$ -Reductase: Two Genes/Two Enzymes.
139. Suphrom N, Pumthong G, Khorana N, Waranuch N, Limpeanchob N, Ingkaninan K (2012) Anti-androgenic effect of sesquiterpenes isolated from the rhizomes of *Curcuma aeruginosa* Roxb. *Fitoterapia*. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2012.03.017>
140. Kumar T, Chaiyasut C, Rungseewijitprapa W, Suttajit M (2011) Screening of steroid 5 $\alpha$ -reductase inhibitory activity and total phenolic content of Thai plants. *J Med Plants Res*. <https://doi.org/10.5897/JMPR.9001115>
141. Carvalho JFS, Silva MMC, Moreira JN, Simões S, Sá E Melo ML (2011) Selective cytotoxicity of oxysterols through structural modulation on rings A and B. Synthesis, in vitro evaluation, and SAR. *J Med Chem*. <https://doi.org/10.1021/jm200803d>
142. Rzheznikov VM, Golubovskaya LE, Minailova ON, Osetrova IP, Smirnova ZS (2003) Steroidal Nitrates: Synthesis and Antitumor Activity of 9 $\alpha$ ,11 $\beta$ -Dihydroxyestra-1,3,5(10)-triene 11-nitrates. *Pharm Chem J* 37:12–14
143. Aykul S, Martinez-Hackert E (2016) Determination of half-maximal inhibitory concentration using biosensor-based protein interaction analysis. *Anal Biochem*.

- <https://doi.org/10.1016/j.ab.2016.06.025>
144. A Farmácia Comunitária - Ordem dos Farmacêuticos. <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/a-farmacia-comunitaria/>. Consultado a 14 de abril de 2021
  145. Portaria n.º 277/2012 de 12 de setembro. Diário da República, 1.ª Série — N.º 177. In: Ministério da Saúde. <https://dre.pt/application/conteudo/175991>. Consultado a 15 de abril de 2021
  146. Santos HJ, Cunha IN, Coelho PV, Cruz P, Botelho R, Faria G, Marques C, Gomes A (2009) Boas Práticas Farmacêuticas para a farmácia comunitária. 3.ª edição
  147. Decreto-Lei n.º 307/2007 de 31 de agosto. Diário da República, 1.ª Série — N.º 168. In: Ministério da Saúde. <https://dre.pt/pesquisa/-/search/641148/details/maximized>. Consultado a 15 de abril de 2021
  148. Deliberação n.º 1502/2014 de 3 de julho. In: Diário da República, 2.ª Série - N.º 145. [https://www.infarmed.pt/documents/15786/1067254/023-C5\\_Delib\\_1502\\_2014\\_VF.pdf](https://www.infarmed.pt/documents/15786/1067254/023-C5_Delib_1502_2014_VF.pdf). Consultado a 16 de abril de 2021
  149. Deliberação n.º 1500/2004 de 29 de dezembro. Diário da República, 2.ª Série - N.º 303. <https://dre.pt/application/conteudo/3185393>. Consultado a 16 de abril de 2021
  150. Decreto-Lei n.º 171/2012 de 1 de agosto. Diário da República, 1.ª Série — N.º 148. In: Ministério da Saúde. <https://dre.pt/application/conteudo/179072>. Consultado a 19 de abril de 2021
  151. Decreto-Lei n.º 176/2006 de 30 de agosto. Diário da República, 1.ª Série — N.º 167. In: Ministério da Saúde. <https://dre.pt/application/conteudo/540387>. Consultado a 21 de abril de 2021
  152. Medicamentos Homeopáticos. In: INFARMED. <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/autorizacao-de-introducao-no-mercado/medicamentos-homeopaticos>. Consultado a 22 de abril de 2021
  153. O que são medicamentos Psicotrópicos? - Farmácias Portuguesas. <https://www.farmaciasportuguesas.pt/menu-principal/bem-estar/o-que-sao-medicamentos-psicotropicos.html>. Consultado a 3 de maio de 2021
  154. Psicotrópicos e Estupefacientes. In: INFARMED. [https://www.infarmed.pt/documents/15786/1228470/22\\_Psicotropicos\\_Estup-eficientes.pdf](https://www.infarmed.pt/documents/15786/1228470/22_Psicotropicos_Estup-eficientes.pdf). Consultado a 28 de maio de 2021
  155. ATC - Structure and principles. In: World Heal. Organ. Collab. Cent. [https://www.whocc.no/atc/structure\\_and\\_principles/](https://www.whocc.no/atc/structure_and_principles/). Consultado a 22 de abril de 2021

156. ATC/DDD Index. In: World Heal. Organ. Collab. Cent. [https://www.whooc.no/atc\\_ddd\\_index/?code=J01CA04](https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=J01CA04). Consultado a 22 de abril de 2021
157. Classificação Farmacoterapêutica | Mapa Terapêutico. <https://mapaterapeutico.pt/content/classificacao-farmacoterapeutica>. Consultado a 23 de abril de 2021
158. Despacho n.º 4742/2014 de 2 de abril. Diário da República, 2.ª Série — N.º 65. In: Ministério da Saúde. <https://dre.pt/application/conteudo/25681511>. Consultado a 23 de abril de 2021
159. Circular Informativa N.º 019 - Projeto Via Verde do Medicamento Para: Farmácias, Distribuidores por Grosso e Titulares de AIM - INFARMED.
160. Despacho n.º 4699/2020 de 18 de abril. Diário da República, 2.ª Série - N.º 76-A. In: Econ. e Transição Digit. e Saúde. <https://dre.pt/application/conteudo/131908535>. Consultado a 2 de maio de 2021
161. Conservação Medicamentos Calor - INFARMED, I.P. [https://www.infarmed.pt/web/infarmed/profissionais-de-saude/prescricao-e-dispensa/medicamentos\\_e\\_calor/conservacao\\_medicamentos\\_calor](https://www.infarmed.pt/web/infarmed/profissionais-de-saude/prescricao-e-dispensa/medicamentos_e_calor/conservacao_medicamentos_calor). Consultado a 4 de maio de 2021
162. Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos. In: Ordem dos Farm. <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/a-ordem-dos-farmaceuticos/regulamentos/>. Consultado a 5 de maio de 2021
163. Farmacovigilância - INFARMED, I.P. <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/farmacovigilancia>. Consultado a 5 de maio de 2021
164. VALORMED – LisbonPH. <https://lisbonph.pt/valormed/>. Consultado a 7 de maio de 2021
165. PROCESSO - Valormed. <http://www.valormed.pt/paginas/8/processo>. Consultado a 8 de maio de 2021
166. Lista de DCI - MNSRM-EF. In: INFARMED, I.P. [https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/autorizacao-de-introducao-no-mercado/alteracoes\\_transferencia\\_titular\\_aim/lista\\_dci](https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/autorizacao-de-introducao-no-mercado/alteracoes_transferencia_titular_aim/lista_dci). Consultado a 11 de maio de 2021
167. Normas relativas à dispensa de medicamentos e produtos de saúde. In: INFARMED, I.P. [https://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/Normas\\_Dispensa/4c1aea02-a266-4176-b3ee-a2983bdfef790](https://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/Normas_Dispensa/4c1aea02-a266-4176-b3ee-a2983bdfef790). Consultado a 15 de maio de 2021

168. Portaria n.º 137-A/2012 de 11 de maio. Diário da República, 1.ª Série — N.º 92. In: Ministério da Saúde. <https://dre.pt/application/conteudo/668307>. Consultado a 22 de maio de 2021
169. Portaria n.º 284-A/2016 de 4 de novembro. Diário da República, 1.ª Série — N.º 212. In: Ministério da Saúde. <https://dre.pt/application/conteudo/75660778>. Consultado a 25 de maio de 2021
170. Portaria n.º 195-B/2015 de 30 de junho. Diário da República, 1.ª Série — N.º 125. <https://dre.pt/application/conteudo/67644325>. Consultado a 24 de maio de 2021
171. Dispositivos de Segurança. In: INFARMED. <https://www.infarmed.pt/documents/15786/1672954/FAQs%2BDispositivos%2Bde%2BSeguran%FF%FFa/a7bef98b-852e-4868-bf5d-d1d4fda2a6d9>. Consultado a 27 de maio de 2021
172. Portaria n.º 224/2015 de 27 de julho. Diário da República, 1.ª Série — N.º 144. <https://dre.pt/application/conteudo/69879391>. Consultado de 29 de maio de 2021
173. Portaria n.º 195-D/2015 de 30 de junho. Diário da República, 1.ª Série — N.º 125. <https://dre.pt/application/conteudo/67644327>. Consultado a 30 de maio de 2021
174. Medicamentos. In: Serviço Nac. Saúde. <https://www.sns.gov.pt/sns-saude-mais/medicamentos-2/>. Consultado a 30 de maio de 2021
175. Despacho n.º 17690/2007 de 10 de agosto. Diário da República, 2.ª Série — N.º 154. <https://dre.pt/application/conteudo/3189825>. Consultado a 3 de junho de 2021
176. Ruiz M (2010) Risks of Self-Medication Practices. *Curr Drug Saf*. <https://doi.org/10.2174/157488610792245966>
177. Regulamento (CE) N.º 1223/2009 de 30 de Novembro relativo aos produtos cosméticos. In: Parlam. Eur. e Cons. da União Eur. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/HTML/?uri=CELEX:32009R1223&from=PT>. Consultado a 17 de julho de 2021
178. Decreto-Lei n.º 216/2008 de 11 de novembro. Diário da República, 1.ª Série — N.º 219. In: Ministério da Agric. do Desenvol. Rural e das Pescas. <https://dre.pt/application/conteudo/439403>. Consultado a 5 de junho de 2021
179. Despacho n.º 4326/2008 de 19 de fevereiro. Diário da República, 2.ª Série — N.º 35. In: Adm. Reg. Saúde do Norte. <https://dre.pt/application/conteudo/3484130>. Consultado a 8 de junho de 2021
180. Breastfeeding. In: World Heal. Organ. [https://www.who.int/health-topics/breastfeeding#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/breastfeeding#tab=tab_1). Consultado a 10 de junho de 2021

181. Levy L, Bértolo H (2012) MANUAL DE ALEITAMENTO MATERNO. Comissão Nac Iniciat Hosp Amigos dos Bebés 6–34
182. Nutribén - Produtos - Leites. <https://nutriben.pt/produtos-leites/#formulas-especiais>. Consultado a 17 de julho de 2021
183. Decreto-Lei n.º 136/2003 de 28 de junho. Diário da República, 1.ª Série-A - N.º147. In: Ministério da Agric. Desenvolv. Rural e Pescas. <https://dre.pt/application/conteudo/693251>. Consultado a 15 de junho de 2021
184. Boletim de Farmacovigilância, Volume 21, N.º3, março de 2017. In: INFARMED. [https://www.infarmed.pt/web/infarmed/institucional/documentacao\\_e\\_informacao/campanhas?p\\_p\\_id=101&p\\_p\\_lifecycle=0&p\\_p\\_state=maximized&p\\_p\\_\\_mode=view&\\_101\\_struts\\_action=%2Fasset\\_publisher%2Fview\\_content&\\_101\\_returnToFullPageURL=https%3A%2F%2Fwww.infarmed.pt](https://www.infarmed.pt/web/infarmed/institucional/documentacao_e_informacao/campanhas?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p__mode=view&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_returnToFullPageURL=https%3A%2F%2Fwww.infarmed.pt). Consultado a 16 de junho de 2021
185. Decreto-Lei n.º 148/2008 de 29 de julho. Diário da República, 1.ª Série — N.º 145. In: Ministério da Agric. Desenvolv. Rural e Pescas. <https://dre.pt/application/conteudo/454810>. Consultado a 19 de junho de 2021
186. Decreto-Lei n.º 237/2009 de 15 de setembro. Diário da República, 1.ª Série — N.º 179. <https://dre.pt/application/conteudo/489712>. Consultado a 20 de junho de 2021
187. Decreto-Lei n.º 145/2009 de 17 de junho. Diário da República, 1.ª Série — N.º 115. In: Ministério da Saúde. <https://dre.pt/application/conteudo/494558>. Consultado a 22 de junho de 2021
188. Matos AA, Mansilha A, Brandão ES, Cássio I, Barbosa J, França J Recomendações no diagnóstico e tratamento da doença venosa crónica. <http://www.irv.pt/press/20110623RecomendacoesSPACV.pdf>. Consultado a 19 de julho de 2021
189. Doença Venosa Crónica | CUF. <https://www.cuf.pt/saude-a-z/doenca-venosa-cronica>. Consultado a 25 de junho de 2021
190. Portaria n.º 1429/2007 de 2 de novembro. Diário da República, 1.ª Série — N.º 211. <https://dre.pt/application/conteudo/629418>. Consultado a 22 de junho de 2021
191. Portaria n.º 97/2018 de 9 de abril. Diário da República, 1.ª Série — N.º 69. In: Assem. da República. <https://dre.pt/application/conteudo/115006162>. Consultado a 22 de junho de 2021
192. Hipertensão Arterial: definição e classificação – Normas de Orientação Clínica. In: Direção Geral da Saúde. <https://nocs.pt/definicao-classificacao-hipertensao-arterial/>. Consultado a 27 de junho de 2021
193. DIABETES MELLITUS – O QUE É, CAUSAS E TIPOS. In: MD Saúde.

- <https://www.mdsaude.com/endocrinologia/diabetes/>. Consultado a 29 de junho de 2021
194. Relatório Anual do Observatório Nacional da Diabetes - Factos e Números - O Ano de 2015. [www.spd.pt](http://www.spd.pt). Consultado a 1 de julho de 2021
  195. Dislipidemia | CUF. <https://www.cuf.pt/saude-a-z/dislipidemia>. Consultado a 2 de julho de 2021
  196. Deliberação n.º 139/CD/2010. In: INFARMED. [https://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/139\\_CD\\_2010.pdf/4d614fa9-63e0-4220-ad81-d8689829be6a](https://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/139_CD_2010.pdf/4d614fa9-63e0-4220-ad81-d8689829be6a). Consultado a 15 de junho de 2021
  197. Podologia: o que é | Hospital da Luz. <https://www.hospitaldaluz.pt/pt/guia-de-saude/dicionario-de-saude/P/314/podologia-o-que-e>. Consultado a 5 de julho de 2021
  198. Portaria n.º 594/2004 de 2 de junho. Diário da República, 1.ª Série-B - N.º 129. In: Ministério da Saúde. <https://dre.pt/application/conteudo/261875>. Consultado a 6 de julho de 2021
  199. Boas práticas de farmácia comunitária - Norma específica sobre manipulação de medicamentos. Ordem dos Farm 2018 1–13
  200. Medicamentos Manipulados. In: INFARMED. <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/inspecao-medicamentos/medicamentos-manipulados>. Consultado a 12 de julho de 2021
  201. Portaria n.º 769/2004 de 1 de julho. Diário da República, 1.ª Série-B - N.º153. In: Ministérios da Econ. e da Saúde. <https://dre.pt/application/conteudo/517633>. Consultado a 13 de julho de 2021
  202. Despacho n.º 18694/2010 de 16 de dezembro. Diário da República, 2.ª Série — N.º 242. In: Ministério da Saúde. <https://dre.pt/application/conteudo/2283127>. Consultado a 13 de julho de 2021
  203. Resumo das Características do Medicamento - Diprosone 0,5 mg/g. In: INFOMED. <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml;jsessionid=9tUj9n4rnzz4IwX7sBIFe9Cp3aucOxTWfMyoJOc9.fo2>. Consultado a 14 de julho de 2021
  204. Pé de atleta: o que é e como prevenir? In: MÉDIS. <https://www.medis.pt/mais-medis/saude-e-medicina/pe-de-atleta-o-que-e-e-como-prevenir/>. Consultado a 14 de julho de 2021
  205. Qual a função dos alfa-hidroxiácidos em produtos cosméticos? - Portal Info Cosméticos. <https://portalinfocosmeticos.pt/ingredientes/qual-a-funcao-dos-alfahidroxiacidos-em-produtos-cosmeticos/>. Consultado a 14 de julho de 2021

206. Crosta láctea: o que é e o que fazer | Chicco.pt.  
<https://www.chicco.pt/observatorio-chicco/artigos/bem-estar-e-protecao/Crosta-lactea.html>. Consultado a 14 de julho de 2021
207. IVA IRS e IRC | Tratamento e processamento.  
<https://www.gabcontabilidade.com/iva-irs-irc>. Consultado a 15 de julho de 2021
208. Brill Pharma Portugal – Laboratório farmacêutico especializado em produtos inovadores para a saúde dos olhos. <https://brillpharma.pt/>. Consultado a 16 de julho de 2021
209. Despacho n.º 4270-C/2020 de 7 de abril. Diário da República, 2.ª Série - N.º 69.  
<https://dre.pt/application/conteudo/131246680>. Consultado a 15 de julho de 2021
210. Despacho n.º 4699/2020 de 18 de abril. Diário da República, 2.ª Série - N.º 76-A.  
In: Econ. e Transição Digit. e Saúde.  
<https://dre.pt/application/conteudo/131908535>. Consultado a 16 de julho de 2021
211. Portaria n.º 56/2021 de 12 de março. Diário da República, 1.ª Série - N.º 50.  
<https://dre.pt/home/-/dre/159304338/details/maximized>. Consultado a 3 de julho de 2021
212. Panbio COVID-19 Ag Rapid Test Device | Ponto de atendimento – Abbott.  
<https://www.globalpointofcare.abbott/pt/product-details/panbio-covid-19-ag-antigen-test.html>. Consultado a 17 de julho de 2021

# Anexos

## Capítulo II – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

**Anexo 1** – Ficha de preparação referente ao medicamento manipulado: *Diprosone® pomada 0,05% + ácido láctico* para o tratamento de uma micose.

Ficha de Preparação

(Carimbo da Farmácia)

**Medicamento:** Diprosone pomada 0,05% + ácido láctico

Teor em substância(s) activa(s): 100 g (ml ou unidades) contém \_\_\_\_\_ g (ml) de \_\_\_\_\_

Forma farmacêutica: Pomada propriamente dita Data de preparação: 08/03/2021

Número do lote: \_\_\_\_\_ Quantidade a preparar: \_\_\_\_\_

Matérias-primas	Lote nº	Origem	Farmacopeia	Quantidade para 100 g (ou ml, ou unidades)	Quantidade calculada	Quantidade pesada	Rubrica do Operador e data	Rubrica do Supervisor e data
Diprosone pomada 0,05%	T016642	MSD			6 tubos	—	08/03/21 [assinatura]	
Ácido láctico	20011265	Farmácia Cavite			6g (10%)	6,27g	08/03/21 [assinatura]	
Vaselina	11-015719	Lacthem			114g	115g	08/03/21 [assinatura]	

Preparação	Rubrica do Operador
1. Limpar a placa de espátulacao e a espátula com álcool 70%	[assinatura]
2. Pesar o ácido láctico e a vaselina, tendo em conta o erro	[assinatura]
3. Incorporar o ácido láctico com a vaselina	[assinatura]
4. Incorporar a pomada diprosone por espátulacao	[assinatura]
5. Espátular até obter um aspeto homogéneo	[assinatura]
6. Distribuir a pomada obtida pelas recipientes	[assinatura]

Rubrica do Director Técnico	Data
-----------------------------	------

FGP 2001 – 1ª Adenda (2004)

7.	Elaborar a rotulagem	
8.	Proceder à limpeza do material	
9.		
10.		
11.		
12.		
13.		
14.		
15.		
16.		

Aparelhagem usada:

- Fecho de mármore
- Espátula
- Cate de vidro
- Balança analítica

*Embalagem*

Tipo de embalagem: Baixa de plástico

Capacidade do recipiente:

Material de embalagem	Nº do lote	Origem
<u>Baixa de plástico</u>	<u>TBOLT</u>	

Operador: \_\_\_\_\_

Rubrica do Director Técnico	Data
-----------------------------	------

*Prazo de utilização e Condições de conservação*

Condições de conservação:  
 Conservar em ambiente fresco e seco  
 Manter fora do alcance das crianças

Operador: B

---

Prazo de utilização:  
 6 meses → 08/09/2021

Operador: B

*Rotulagem*

1. Proceder à elaboração do rótulo de acordo com o modelo descrito em seguida.
2. Anexar a esta ficha de preparação uma cópia, rubricada e datada, do rótulo da embalagem dispensada.

**Modelo de rótulo**

Identificação da Farmácia	Identificação do Médico prescriptor
Identificação do Director-Técnico	Identificação do Doente
Endereço e telefone da Farmácia	

**DENOMINAÇÃO DO MEDICAMENTO**

Teor em substância(s) activa(s)	Data da preparação
Quantidade dispensada	Prazo de utilização
Referência a matérias-primas cujo conhecimento seja eventualmente necessário para a utilização conveniente do medicamento	Condições de conservação
Posologia	Nº do lote
Via de administração	Manter fora do alcance das crianças
	Advertências (precauções de manuseamento, etc.)
	Uso externo (caso se aplique) (em fundo vermelho)

Operador: B

*Verificação*

ENSAIO	ESPECIFICAÇÃO	RESULTADO	Rubrica do Operador
Comada branca de aspeto homogéneo		Conforme	<u>B</u>

Rubrica do Director Técnico	Data
-----------------------------	------

ENSAIO	ESPECIFICAÇÃO	RESULTADO	Rubrica do Operador

Aprovado  Rejeitado

Supervisor: \_\_\_\_\_ \_/ \_/ \_

*Nome e morada do doente*

--

*Nome do prescriptor*

--

*Anotações*

--

Rubrica do Director Técnico	Data
-----------------------------	------

Anexo 2- Cálculo do preço do medicamento manipulado: Diprosone® pomada 0,05 % + ácido láctico.

Cálculo do preço de venda

**MATÉRIAS-PRIMAS:**

matérias-primas	embalagem existente em armazém		preço de aquisição de uma dada quantidade unitária (s/IVA)		quantidade a usar	factor multiplicativo	valor da matéria-prima utilizada na preparação
	quantidade adquirida	preço de aquisição (s/IVA)	quantidade unitária	preço			
Diprosone 0,05%	6 tubos	3,01€	3,01	3,01	x 6	x /	= 18,06
vazolina	900 g	4,18€	1g	0,0046	x 114	x 19	= 0,99636
Acido láctico	100 g	6,36€	1g	0,0636	x 6	x 2,2	= 0,83952
					x	x	=
					x	x	=
subtotal A							19,89588

**HONORÁRIOS DE MANIPULAÇÃO:**

	forma farmacêutica	quantidade	F (€)	factor multiplicativo	valor
valor referente à quantidade base	Pomada	300 g	4,57	x 3	= 13,71
valor adicional	propriamente dito	200	x 4,57	x 0,01	= 9,14
subtotal B					22,85€

**MATERIAL DE EMBALAGEM:**

materiais de embalagem	preço de aquisição (s/IVA)	quantidade	factor multiplicativo	valor
		x	x 1,2	=
		x	x 1,2	=
		x	x 1,2	=
		x	x 1,2	=
subtotal C				

**PREÇO DE VENDA AO PÚBLICO DO MEDICAMENTO MANIPULADO:**

(A + B + C) x 1,3 = 19,89588 + 22,85 = 42,74588  
 + IVA = 55,56964  
**D = 58,90**

**DISPOSITIVOS AUXILIARES DE ADMINISTRAÇÃO:**

dispositivo	preço unitário	quantidade	valor

E

PREÇO FINAL: D + E

Operador: B Supervisor: \_\_\_\_\_

Rubrica do Director Técnico	Data
-----------------------------	------

**Anexo 3** – Panfleto informativo relativo à realização do teste rápido de diagnóstico in vitro para detecção qualitativa do antígeno SARS-CoV-2 da marca Abbott® fornecido no Programa de testagem CVP – Ensino Superior – Universidade da Beira Interior.

Panbio®  
**COVID-19 Ag RAPID TEST DEVICE**  
(NASOPHARYNGEAL)

QUICK REFERENCE GUIDE  
**REF 41FK10**

---

**DE**  
Kurzanleitung  
(NASOPHARYNGEAL)  
Technischer Support:  
Abbott.com/POCT

**ES**  
Guía de referencia rápida  
(NASOFARÍNGEA)  
Asistencia técnica:  
Abbott.com/POCT

**FR**  
Guide de référence rapide  
(Prélèvement Nasopharyngé)  
Support Technique:  
Abbott.com/POCT

**IT**  
Guida Rapida di Riferimento  
(NASOFARINGEO)  
Supporto Tecnico:  
Abbott.com/POCT

**PT**  
Guia de referência rápida  
(NASOFARÍNGEA)  
Suporte Técnico:  
Abbott.com/POCT

**RU**  
Краткое руководство  
(назофарингеальный тампон)  
Техническая поддержка:  
Abbott.com/POCT

**TECHNICAL SUPPORT: ABBOTT.COM/POCT**

© 2020 Abbott. All rights reserved. All trademarks referenced are trademarks of either the Abbott group of companies or their respective owners.

41FK10-07-QRG-A0