



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR
Ciências da Saúde

**Métodos cromatográficos para a quantificação de
sondas da glicoproteína-P**
**Experiência Profissionalizante na vertente de Farmácia
Comunitária, Hospitalar e Investigação**

Patrícia Sofia Draque Marvanejo

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

Orientador: Prof. Doutor Gilberto Alves
Coorientador: Prof. Doutor Márcio Rodrigues

Covilhã, outubro de 2015

“Para ser grande, sê inteiro (...).

Põe quanto és

No mínimo que fazes”

- Fernando Pessoa

Agradecimentos

Ao meu orientador, Professor Doutor Gilberto Alves, por todo o empenho, disponibilidade e apoio demonstrados no desenvolvimento deste trabalho, fornecendo-me orientações-chave para a evolução deste.

Ao meu coorientador, Professor Doutor Márcio Rodrigues, pela ajuda e disponibilidade demonstrada para coorientar a minha dissertação de mestrado.

À Dra. Olímpia Fonseca e aos restantes profissionais que representam os Serviços Farmacêuticos do Centro Hospitalar Cova da Beira, em especial, àqueles que me orientaram durante o estágio, agradeço a disponibilidade, amabilidade e todos os conhecimentos partilhados.

Ao Dr. Nuno Augusto e restante equipa da Farmácia Sena, pela simpatia e generosidade com que se disponibilizaram a acolher-me na farmácia, oferecendo-me a possibilidade de integrar uma equipa pautada pela profissionalismo e humanidade e, assim, evoluir como farmacêutica.

Aos meus pais e irmão, que sempre me apoiaram e a quem demonstro a minha sincera gratidão por todo o esforço que fizeram para garantir que nunca me faltasse nada. Agradeço profundamente todos os valores que me transmitiram ao longo da minha vida e a sua motivação constante.

Aos meus amigos, não só os do costume, mas também àqueles que a Covilhã me permitiu conhecer, pelas gargalhadas e palavras de incentivo. Acima de tudo, obrigada por todos os momentos partilhados e pela vossa amizade.

Resumo

O presente relatório de estágio encontra-se dividido em três capítulos, cada um referente à experiência profissionalizante nas vertentes de investigação, farmácia hospitalar e farmácia comunitária, respetivamente.

O primeiro capítulo, enquadrado na vertente de investigação, descreve os métodos cromatográficos aplicados na quantificação de algumas das principais sondas da glicoproteína-P: digoxina, fexofenadina, loperamida, rodamina 123 e talinolol. Desde a sua descoberta, a glicoproteína-P tem sido o transportador de efluxo mais estudado. Nas últimas décadas, o seu papel na permeabilidade e biodisponibilidade de muitos fármacos tem-se tornado particularmente evidente. Assim, é expectável um interesse crescente no uso de substratos seletivos (sondas) da glicoproteína-P de forma a determinar a contribuição desta bomba de efluxo na biodisposição de fármacos, bem como o seu impacto em interações fármaco-fármaco. Ao longo dos últimos anos têm sido diversos os estudos realizados no sentido de identificar compostos sonda (substratos seletivos) da glicoproteína-P. Consequentemente, diferentes métodos cromatográficos têm sido desenvolvidos e validados para as sondas mais promissoras da glicoproteína-P, particularmente, com o intuito de quantificar estes compostos em amostras biológicas humanas e de animais de laboratório.

O segundo capítulo relata as atividades desenvolvidas no decorrer do estágio em Farmácia Hospitalar realizado nos Serviços Farmacêuticos do Centro Hospitalar Cova da Beira (Covilhã), no período de 26 de janeiro a 21 de março de 2015 (oito semanas).

O terceiro capítulo, relativo à experiência profissionalizante em farmácia comunitária, descreve os conhecimentos adquiridos, bem como as atividades desenvolvidas durante o período de estágio na Farmácia Sena (Seia), entre 23 de março e 12 de junho de 2015 (doze semanas).

Palavras-chave

Métodos cromatográficos, Glicoproteína-P, Sondas, Farmácia Hospitalar, Farmácia Comunitária.

Abstract

The present report is divided in three chapters, each one related to the professional experience in the areas of research, hospital and community pharmacy, respectively.

The first chapter, related to the research area, describes the chromatographic methods applied in the quantification of some of the main P-glycoprotein probe drugs: digoxin, fexofenadine, loperamide, rhodamine 123 and talinolol. Since its discovery, P-glycoprotein has been the most extensively studied efflux transporter. In the last decades, its role in the permeability and overall bioavailability of drugs became increasingly evident. Thus, it is expected an increase in the use of selective P-glycoprotein substrates (probe drugs) in order to determine the extent of the contribution of this efflux transporter in drug disposition as well as in drug-drug interactions. Over the past few years, there has been several studies developed in order to identify P-glycoprotein probe drugs (selective substrates). Thus, different liquid chromatography methods have been developed and validated for the most promising P-glycoprotein probe drugs, particularly, in order to quantify these compounds in plasma samples obtained from human and laboratory animals.

The second chapter reports the activities developed during the internship in the Hospital Pharmacy of Centro Hospitalar Cova da Beira (Covilhã), between January 26th and March 21st (8 weeks).

The third chapter addresses the professional experience in community pharmacy, describing the acquired knowledge, as well as the activities developed during the internship in Sena Pharmacy (Seia), between March 23th and June 12th (12 weeks).

Keywords

Chromatographic methods, P-glycoprotein, Probe drugs, Community pharmacy, Hospital pharmacy.

Índice

Capítulo I - Métodos cromatográficos para a quantificação de sondas da glicoproteína-P

1. Introdução	1
1.1. Glicoproteína-P	2
1.2. Sondas da glicoproteína-P	3
1.3. Desenvolvimento de novos fármacos e interações fármaco-fármaco	5
1.4. Desenvolvimento de métodos analíticos quantitativos	6
2. Objetivos	7
3. Material e Métodos	8
4. Resultados e discussão	9
4.1. Propriedades farmacocinéticas das sondas da gp-P	9
4.2. Propriedades físico-químicas e estabilidade das sondas da gp-P	10
4.3. Métodos cromatográficos para a determinação de sondas da gp-P	14
4.3.1. Preparação das amostras	14
4.3.2. Condições cromatográficas	23
4.3.3. Modo de deteção	25
4.3.4. Seleção do padrão interno	28
5. Conclusão	40
6. Bibliografia	41

Capítulo II - Farmácia Hospitalar

1. Introdução	51
2. Organização e gestão dos SFH	51
2.1. Seleção de medicamentos	51
2.2. Sistema de aquisição de medicamentos	52
2.3. Receção dos produtos farmacêuticos	53
2.4. Armazenamento	53
3. Distribuição	55
3.1. Distribuição clássica ou tradicional	55
3.2. Distribuição por reposição de <i>stocks</i> nivelados	55
3.2.1. Sistema de reposição por carregamento ou troca de carros	55
3.2.2. Distribuição semiautomática através do sistema <i>Pyxis</i> TM	56
3.3. Distribuição individual diária em dose unitária	56
3.4. Distribuição em regime de ambulatório	58
3.5. Distribuição de medicamentos sujeitos a controlo especial	60
3.5.1. Distribuição de hemoderivados	60
3.2.2. Distribuição de estupefacientes e psicotrópicos	61

4. Farmacotecnia	62
4.1. Preparação de citotóxicos e medicamentos biológicos	62
4.2. Preparação de bolsas de nutrição parentérica e de outras preparações estéreis	64
4.3. Preparação de manipulados não-estéreis	66
4.4. Reembalagem	66
5. Farmácia clínica	67
5.1. Acompanhamento da visita médica	67
5.2. Informação, intervenções farmacêuticas e reconciliação terapêutica	68
5.3. Farmacocinética clínica	69
5.4. Farmacovigilância	70
5.5. O papel do farmacêutico nos ensaios clínicos	70
6. Conclusão	72
7. Bibliografia	73

Capítulo III - Farmácia Comunitária

1. Introdução	75
2. Organização da Farmácia Sena	75
2.1. Espaço físico: instalações e equipamento	75
2.2. Recursos Humanos	77
3. Informação e documentação científica	77
4. Medicamentos e outros produtos de saúde	78
5. Aprovisionamento e armazenamento	78
5.1. Encomendas e critérios de seleção de um fornecedor	78
5.2. Receção e verificação das encomendas	79
5.3. Reclamações e devoluções	81
5.4. Armazenamento	81
5.5. Controlo do <i>stock</i> e gestão dos prazos de validade	82
6. Atendimento	83
6.1. Interação farmacêutico-utente-medicamento	83
6.2. Farmacovigilância	84
6.3. Valormed	84
6.4. Dispensa de medicamentos	85
6.4.1. Dispensa de medicamentos com receita médica	85
6.4.2. Medicamentos sujeitos a legislação especial	87
6.4.3. Dispensa de medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM) em venda suspensa	88
6.5. Automedicação e indicação farmacêutica	89
6.6. Aconselhamento e dispensa de outros produtos de saúde	90

6.6.1. Produtos de dermofarmácia, cosmética e higiene	90
6.6.2. Produtos para alimentação especial e dietética	91
6.6.3. Produtos fitoterapêuticos e suplementos nutricionais (nutracêuticos)	92
6.6.4. Medicamentos de uso veterinário	92
6.6.5. Dispositivos médicos	93
7. Outros cuidados de saúde prestados na FC	93
7.1. Glicemia	93
7.2. Pressão arterial	94
7.3. Colesterol total e triglicéridos	95
7.4. Parâmetros antropométricos	95
7.5. Administração de vacinas e injetáveis	95
8. Preparação de medicamentos	95
9. Contabilidade e gestão	96
10. Conclusão	97
11. Bibliografia	98

Lista de Figuras

- Figura 1.1 - Localização da glicoproteína-P (gp-P) em órgãos de maior importância do ponto de vista farmacocinético (rim, intestino, cérebro e fígado). 2
- Figura 1.2 - Estruturas químicas de sondas da glicoproteína-P. Os carbonos quirais da fexofenadina e talinolol estão identificados pelo símbolo *. 4

Lista de Tabelas

Tabela 1.1 - Propriedades físico-químicas das sondas da glicoproteína-P (gp-P).	11
Tabela 1.2 - Estabilidade das sondas da glicoproteína-P (gp-P) em solventes orgânicos e matrizes biológicas de origem humana ou animal.	12-14
Tabela 1.3 - Técnicas de preparação de amostras e recuperação (%) das sondas da glicoproteína-P (gp-P) em matrizes biológicas.	17-22
Tabela 1.4 - Técnicas cromatográficas e condições analíticas para a quantificação de sondas da glicoproteína-P (gp-P) a partir de matrizes biológicas.	30-39
Tabela 2.1 - Critérios de aceitação para o sistema modular de preparação de citotóxicos.	63
Tabela 2.2 - Critérios de aceitação para o sistema modular de preparação de nutrição parentérica.	65
Tabela 3.1 - Valores de referência para a glicémia (em mg/dl).	94
Tabela 3.2 - Valores de referência para a pressão arterial (em mmHg).	94

Lista de Acrónimos

ABC	ATP- <i>binding cassette</i>
ABCB1	Membro 1 da subfamília B da ATP- <i>binding cassette</i>
ABCB4	Membro 4 da subfamília B da ATP- <i>binding cassette</i>
ACSS	Administração central do sistema de saúde
AIM	Autorização de introdução no mercado
ANF	Associação nacional das farmácias
AO	Assistente Operacional
AT	Assistente técnica
ATP	Adenosina trifosfato
AUC _{0-t}	Área sob a curva concentração-tempo desde o tempo zero até ao último tempo de colheita de amostra
AUC _{0-∞}	Área sob a curva concentração-tempo extrapolada para o infinito
AUE	Autorização de utilização especial
BHE	Barreira hematoencefálica
BPF	Boas práticas farmacêuticas
CFALV	Câmara de fluxo de ar laminar vertical
CFALH	Câmara de fluxo de ar laminar horizontal
CFT	Comissão de Farmácia e Terapêutica
CHCB	Centro Hospitalar Cova da Beira
CNPEM	Código nacional para a prescrição eletrónica de medicamentos
CYP450	Citocromo P450
C _{máx}	Concentração máxima
DAD	Detetor de díodos (<i>diode array detector</i>)
DCI	Denominação comum internacional
DIDDU	Distribuição individual diária em dose unitária
DT	Diretor técnico
EC	Ensaio clínico
EMA	Agência Europeia de Medicamentos (<i>European Medicines Agency</i>)
EME	Extração eletromembranar (<i>electromembrane extraction</i>)
ESI	Ionização por <i>electrospray</i>
FC	Farmácia Comunitária
FD	Detetor de fluorescência
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FDS	<i>Fast Dispensing System</i>
FEFO	<i>First expire - first out</i>
FHNM	Formulário Hospitalar Nacional de Medicamentos

FI	Folheto informativo
GFT	Guia Farmacoterapêutico
gp-P	Glicoproteína-P
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência (<i>high performance liquid chromatography</i>)
IVA	Imposto sobre o valor acrescentado
LASA	<i>Look alike, sound alike</i>
LC	Cromatografia líquida (<i>liquid chromatography</i>)
LLE	Extração líquido-líquido (<i>liquid-liquid extraction</i>)
LLME	Microextração líquido-líquido (<i>liquid-liquid microextraction</i>)
LLOQ	Limite mais baixo de quantificação (<i>lower limit of quantification</i>)
m/z	Razão massa/carga
MDR1	Resistência a múltiplos fármacos 1 (<i>multidrug resistance</i>)
MDR3	Resistência a múltiplos fármacos 3
MEP	Medicamentos estupefacientes e psicotrópicos
MEPS	Microextração em seringa empacotada (<i>microextraction by packed sorbent</i>)
MIM	Método de injeção múltipla (<i>multiple injection method</i>)
MNSRM	Medicamentos não sujeitos a receita médica
MRM	Monitorização de reação múltipla
MS	Espectrometria de massa (<i>mass spectrometry</i>)
MSAR	Máquina semiautomática de reembalagem
MSRM	Medicamentos sujeitos a receita médica
MS/MS	Espectrometria de massa em <i>tandem</i> (<i>tandem mass spectrometry</i>)
PE	Ponto de encomenda
PI	Padrão interno
PIC	Preço impresso na cartonagem
PP	Precipitação de proteínas
PVP	Preço de venda ao público
RAM	Reações adversas medicamentosas
RRL	Relação resumo dos lotes
SC	Serviços clínicos
SFH	Serviços Farmacêuticos Hospitalares
SGICM	Sistema de gestão integrada do circuito do medicamento
SLH	Setor de logística hospitalar
SNC	Sistema nervoso central
SNF	Sistema Nacional de Farmacovigilância
SNS	Serviço Nacional de Saúde
SPE	Extração em fase sólida (<i>solid phase extraction</i>)
SPME	Microextração em fase sólida (<i>solid phase microextraction</i>)

SRM	Monitorização de reação selecionada (<i>selected reaction monitoring</i>)
TDT	Técnico de diagnóstico e terapêutica
$t_{\text{máx}}$	Tempo para se alcançar concentração máxima
UPLC	Cromatografia líquida de ultra eficiência (<i>ultra-performance liquid chromatography</i>)
UAVC	Unidade de acidentes vasculares cerebrais
UCAD	Unidade de cuidados agudos diferenciados
UCI	Unidade de cuidados intensivos
UV	Ultravioleta

Capítulo I - Métodos cromatográficos para a quantificação de sondas da glicoproteína-P

1. Introdução

A glicoproteína-P (gp-P) é um transportador membranar de efluxo e constitui um mecanismo importante na resistência a múltiplos fármacos, incluindo na resistência de tumores a fármacos anticancerígenos, colocando em causa o sucesso da quimioterapia (1-3).

Em 1976, Juliano e Ling identificaram a sobreexpressão de uma glicoproteína em células de ovário farmacoresistentes (4). Desde aí que a gp-P se tornou uma das bombas de efluxo melhor estudadas e caracterizadas. Atualmente sabe-se que a gp-P pertence à superfamília ABC [ATP (adenosina trifosfato)-*binding cassette*], a qual é codificada em humanos pelos genes de resistência a múltiplos fármacos 1 e 3 (*MDR1* e *MDR3*), também designados de membros 1 e 4 da subfamília B da *ATP-binding cassette* (*ABCB1* e *ABCB4*) (5-8); e é também consensual que a gp-P se encontra expressa predominantemente na membrana apical de células constituintes de tecidos com funções secretoras ou de barreira, podendo considerar-se a gp-P como uma barreira fisiológica que condiciona a exposição sistémica a múltiplos xenobióticos (incluindo fármacos) (9).

Neste sentido, nos últimos anos, tem vindo a aumentar o interesse em estudos envolvendo a gp-P, em particular devido à sua influência na biodisposição de muitos compostos, em resultado das funções fisiológicas de efluxo que desempenha e pela sua expressão em órgãos de elevada relevância em termos farmacocinéticos (10,11). Inclusivamente, algumas agências reguladoras como a *Food and Drug Administration* (FDA) e a *European Medicines Agency* (EMA) publicaram *guidelines* referentes a estudos de interação fármaco-fármaco *in vitro* e *in vivo* que realçam a importância de se investigar a inibição e/ou indução da gp-P. Para tal, justificam o uso de sondas seletivas da gp-P, com o propósito de determinar a extensão da sua contribuição para a farmacocinética de diversos fármacos (1,12,13). Assim sendo, são necessários métodos analíticos apropriados para a quantificação desses compostos sonda, de forma a suportar tais estudos.

Previamente à discussão de aspetos farmacocinéticos e bioanalíticos referentes às sondas da gp-P, é dada uma perspetiva geral da importância da gp-P, bem como das aplicações das suas sondas, sem esquecer o seu papel nos processos de desenvolvimento de novos fármacos e em estudos de interações farmacológicas.

1.1. Glicoproteína-P

A gp-P é um polipéptido de 170 kDa, composto por 1280 aminoácidos, glicosilado num único local na parte extracelular. É constituída por dois domínios transmembranares hidrofóbicos que contêm 6 subunidades cada, os quais desempenham um papel fundamental no efluxo de xenobióticos e na seletividade de substratos; para além destes, contém mais dois domínios na parte intracelular, os domínios de ligação a nucleótidos, que possuem os sítios de ligação do ATP, possibilitando a hidrólise necessária ao funcionamento desta bomba de efluxo (1,14).

Relativamente à sua distribuição, a gp-P encontra-se expressa não apenas em células tumorais, como também num largo espectro de tecidos em condições fisiológicas: intestino, fígado, placenta, rins, glândulas adrenais, pâncreas e barreira hematoencefálica (BHE) (1,15,16). De forma mais específica, e atendendo à sua localização anatómica, a gp-P parece funcionar por três mecanismos principais (Figura 1.1) (15):

- Limita a absorção de fármacos após a sua administração oral, como resultado da sua expressão na membrana apical dos enterócitos, no intestino;
- Quando o fármaco já se encontra na circulação sanguínea, promove a sua eliminação para a bÍlis e urina, como resultado da sua expressão na membrana dos canalículos dos hepatócitos, bem como na membrana apical das células do túbulo proximal dos rins, respetivamente;
- Por último, quando um xenobiótico atinge a circulação sanguínea sistémica, limita a sua penetração, por exemplo, para o sistema nervoso central (SNC) e circulação fetal.

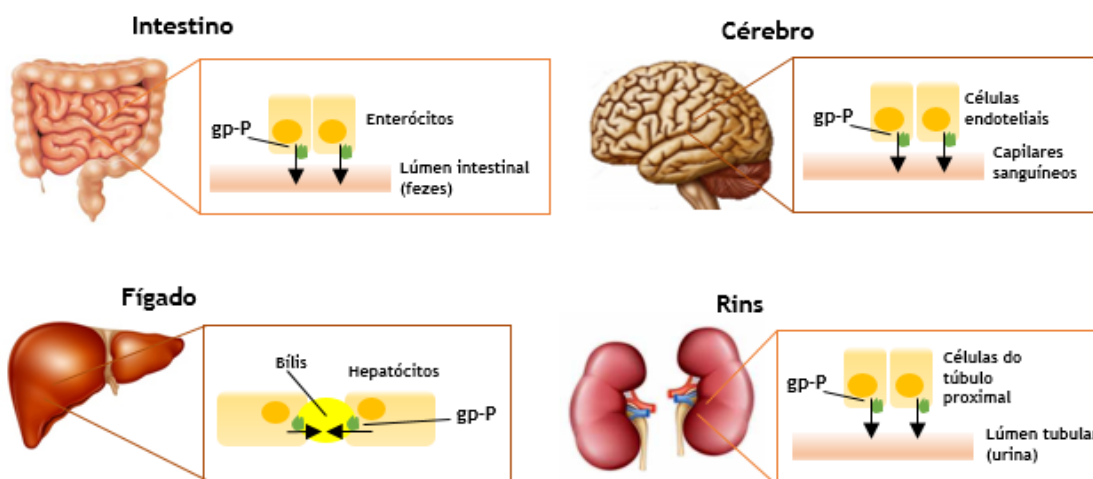


Figura 1.1 - Localização da glicoproteína-P (gp-P) em órgãos de maior importância do ponto de vista farmacocinético (rim, intestino, cérebro e fígado).

Neste sentido, a gp-P desempenha um papel fundamental como mecanismo de defesa do organismo, sendo responsável pelo efluxo de uma elevada quantidade de compostos que não se relacionam estrutural e funcionalmente. Como tal, a gp-P constitui um transportador relevante do ponto de vista farmacocinético, farmacológico e toxicológico (1,17,18).

1.2. Sondas da glicoproteína-P

De modo a avaliar o potencial de interação que um novo candidato a fármaco pode ter com a gp-P, uma ou mais sondas (substratos seletivos) da gp-P devem ser usadas em ensaios *in vitro* e *in vivo* (12,13). Uma sonda é um fármaco que é exclusiva ou quase exclusivamente metabolizado por uma enzima específica ou eliminado por um transportador específico *in vivo*. No caso de uma segunda enzima ou transportador estarem envolvidos no metabolismo e/ou eliminação dessa sonda, a sua contribuição deve ser reduzida (13,19).

Deste modo, a FDA sugere que um substrato *in vitro* da gp-P deve: (i) ser seletivo para este transportador, com a contribuição deste para a sua eliminação bem caracterizada; (ii) apresentar permeabilidade por transporte passivo baixa a moderada, através de uma monocamada de células; (iii) apresentar reduzido metabolismo; (iv) estar comercialmente disponível; (v) ter farmacocinética linear; e (vi) também ser adequado para uso em estudos *in vivo*. Neste contexto, a FDA apenas sugere o uso de loperamida, quinidina, vinblastina, digoxina e talinolol como sondas da gp-P em condições *in vitro* como controlos positivos, de forma a assegurar a expressão e funcionalidade da gp-P nas linhas celulares usadas (1,6,13,19). Em relação a estudos *in vivo*, critérios adicionais aos expostos anteriormente devem ser considerados, especialmente, se o objetivo for a sua administração em humanos. Assim, uma sonda para estudos *in vivo* também deve: (i) ser segura e bem tolerada por indivíduos saudáveis; (ii) existir forma farmacêutica aprovada para administração em humanos; (iii) ser rapidamente absorvida e ter curto tempo de semivida, para que os estudos clínicos não se tornem morosos; (iv) ter fraca ligação às proteínas; e (v) dispor de métodos analíticos validados para a sua quantificação em amostras biológicas (plasma, urina, entre outras) (1,19).

Atualmente conhecem-se inúmeros substratos da gp-P com propriedades estruturais e funcionais variadas. No entanto, nenhum reúne todos os critérios referidos anteriormente. Neste trabalho de revisão consideraram-se cinco das principais sondas da gp-P: digoxina, fexofenadina, loperamida, rodamina 123 e talinolol.

A digoxina (Figura 1.2) é um glicosídeo cardíaco que, em Portugal, se encontra comercializada para administração oral como Lanoxin®, sendo um fármaco muito usado no tratamento da insuficiência cardíaca crónica e em casos de arritmias supraventriculares. Apresenta uma margem terapêutica estreita, pelo que a monitorização contínua dos seus níveis plasmáticos é necessária, de forma a minimizar potenciais efeitos tóxicos (19,20). Para além disso, a digoxina tem sido relatada como substrato da gp-P *in vitro* (12,21) e *in vivo* (22-24), sendo geralmente usada como fármaco sonda com três propósitos:

- Clarificar a contribuição quantitativa do efluxo mediado pela gp-P relativamente a fármacos absorvidos ao nível do intestino (25);
- Avaliar a variabilidade da expressão da gp-P (2);

- E, por último, definir a cinética do efluxo de fármacos da gp-P em tecidos intestinais de roedores e humanos *in vitro* (26).

A fexofenadina (Figura 1.2) é um antagonista dos recetores de histamina H₁, que não apresenta propriedades sedativas devido à sua natureza anfotérica. É geralmente usada no alívio sintomático de rinite alérgica sazonal e, em Portugal, encontra-se comercializada para uso oral como Telfast® (27,28). Também foi identificada como sonda da gp-P, com base em diversos estudos *in vitro* e *in vivo* (29-31). Porém, a sua principal limitação resulta do facto de também ser substrato de outros transportadores (24).

A loperamida (Figura 1.2) é um agonista opióide dos recetores μ usado frequentemente no tratamento sintomático das diarreias agudas e crónicas; em Portugal, encontra-se comercializada para uso oral como Imodium® (5,32). Adicionalmente, estudos em animais mostraram que se trata de um substrato da gp-P. Neste contexto, a FDA propôs o seu uso na avaliação *in vitro* de substratos e inibidores da gp-P em estudos de avaliação de interações farmacológicas (12,33,34). Para além disso, as suas características como substrato da gp-P impede que apresente os efeitos centrais dos restantes agonistas opióides. Deste modo, tem sido usada para avaliar a penetração no SNC por inibição da gp-P por outros fármacos (1).

A rodamina 123 (Figura 1.2) é um corante catiónico que tem sido extensamente usado como marcador da atividade da gp-P em estudos *in vitro* e *in vivo* (35,36). Porém, não existe numa forma farmacêutica para administração em humanos e a sua carga positiva não permite a sua absorção (37). De uma forma geral, a sua atividade como sonda é particularmente útil em estudos de identificação de novos substratos da gp-P ou como controlo positivo da expressão desta em linhas celulares (6).

Por último, o talinolol (Figura 1.2) é um antagonista dos recetores adrenérgicos B₁ que tem sido usado no tratamento da hipertensão; no entanto, não se encontra comercializado em Portugal (38,39). Apesar da sua principal limitação resultar do facto de também ser substrato de outros transportadores, tem a seu favor o seu reduzido metabolismo (24). Assim, tem sido descrito como um substrato da gp-P, sendo um dos melhores candidatos para a caracterização desta glicoproteína (40-42).

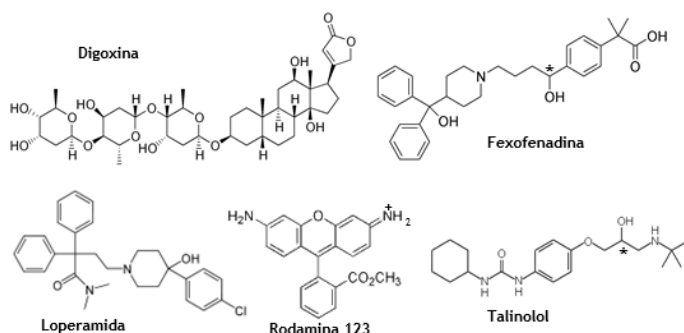


Figura 1.2 - Estruturas químicas de sondas da glicoproteína-P. Os carbonos quirais da fexofenadina e talinolol estão identificados pelo símbolo *.

1.3. Desenvolvimento de novos fármacos e interações fármaco-fármaco

O processo de desenvolvimento de um fármaco envolve várias etapas, desde a identificação de uma nova entidade química e consequente otimização até múltiplos estudos pré-clínicos e clínicos. No entanto, as características farmacocinéticas (absorção, distribuição, metabolismo e excreção) inadequadas constituem a principal razão para a rejeição destes novos compostos (6,19,24). Neste sentido, a absorção e o metabolismo de fármacos administrados por via oral é alvo de atenção contínua por parte da indústria farmacêutica, pois problemas relacionados com uma biodisponibilidade oral baixa e variável constituem motivos para que um candidato a fármaco seja abandonado nas fases iniciais do processo de descoberta e desenvolvimento de novos fármacos (29,43,44).

Desta forma, o processo de descoberta e desenvolvimento de fármacos deve incluir numa fase inicial a avaliação do potencial que um candidato a fármaco tem para afetar o metabolismo e/ou transporte de outros fármacos bem estabelecidos na clínica, bem como a possibilidade de ser afetado por estes. Neste sentido, o recurso a estudos *in vitro* para avaliação do potencial de um fármaco ser substrato, indutor ou inibidor de enzimas metabolizadoras e transportadores, seguido de estudos de interações farmacológicas *in vivo*, têm-se tornado parte integrante do processo de desenvolvimento de novos fármacos (6,19,24). De forma a ajudar os investigadores da indústria farmacêutica a caracterizar e compreender o potencial de interferência de novos candidatos a fármacos com a gp-P, as agências reguladoras como a FDA e a EMA têm desenvolvido *guidelines* com recomendações específicas para estudos *in vitro* e *in vivo* (12,13,45).

Relativamente às interações fármaco-fármaco mediadas pela gp-P, há dois mecanismos principais de interação: indução e inibição. A indução pode diminuir o tempo de semivida de um fármaco na circulação sistémica, reduzindo assim a sua eficácia. Já a inibição pode aumentar significativamente o tempo de semivida, possibilitando fenómenos de toxicidade (46). Portanto, um conhecimento mais profundo sobre o envolvimento de transportadores de efluxo como a gp-P na biodisposição de candidatos a fármacos permitirá um melhor entendimento sobre o seu potencial para participar em interações farmacológicas, eventualmente com impacto clínico (29,43,44).

Neste contexto, para avaliar as alterações funcionais que um candidato a fármaco causa na gp-P, é necessária a utilização de uma sonda adequada que reflita estas alterações de transporte no seu perfil farmacocinético. Assim, devido à relevância da gp-P na biodisponibilidade oral, os candidatos a fármacos que se apresentem como substratos, indutores ou inibidores devem ser identificados precocemente e, quando possível, colocados de parte, devido à elevada probabilidade de apresentarem perfis farmacocinéticos desfavoráveis e elevado potencial para interações (6,19,46).

De uma forma geral, para obter conclusões fidedignas acerca destes estudos, o desenvolvimento de métodos bioanalíticos rápidos e sensíveis para a quantificação das sondas usadas é alvo de grande interesse (19,45).

1.4. Desenvolvimento de métodos analíticos quantitativos

A quantificação das concentrações de fármaco é fundamental no contexto de estudos farmacocinéticos, toxicocinéticos ou para avaliação da bioequivalência. Deste modo, é necessário que os métodos bioanalíticos aplicados estejam bem caracterizados e devidamente validados de acordo com critérios de aceitação reconhecidos internacionalmente, de forma a fornecerem resultados credíveis, sendo estes critérios recomendados por entidades reguladoras como a FDA e a EMA (47,48).

Os métodos bioanalíticos incluem os métodos que são usados na monitorização de fármacos em matrizes biológicas com diversos objetivos: (i) avaliar o metabolismo e o perfil farmacocinético nos programas de desenvolvimento de novos fármacos; (ii) comparar os perfis farmacocinéticos de novas formulações farmacêuticas; (iii) monitorizar a existência de variabilidade interindividual; e (iv) quantificar fármacos e os seus metabolitos (47,48).

Estes métodos geralmente são acompanhados da necessidade de uma análise quantitativa rápida de um número significativo de amostras em matrizes biológicas; bem como da quantificação de valores de concentração baixos pois, por vezes, a biodisponibilidade de alguns fármacos é baixa. Por conseguinte, são necessários métodos bioanalíticos com capacidade de diferenciação entre o analito e possíveis interferentes, bem como de fazer uma quantificação próxima da concentração real de fármacos e dos seus metabolitos na amostra. Estes métodos devem preencher os requisitos das *guidelines* de validação, que incluem os parâmetros de seletividade, limite mais baixo de quantificação, linearidade, exatidão, precisão, recuperação e estabilidade (47-49).

Posto isto, e considerando a importância da quantificação de sondas da gp-P no contexto de estudos de interações farmacológicas, bem como na avaliação da biodisponibilidade de novos fármacos e na contribuição deste transportador para o seu perfil farmacocinético, é de grande interesse a disponibilidade de métodos bioanalíticos validados que permitam a determinação correta destes compostos.

2. Objetivos

Relativamente aos métodos analíticos de quantificação das principais sondas da gp-P, não existe na literatura uma análise global e recente centrada nos métodos desenvolvidos para a determinação de digoxina, fexofenadina, loperamida, rodamina 123 e talinolol. Deste modo, pretendeu-se com este trabalho rever e compilar informação referente aos métodos de quantificação estabelecidos para estes compostos, mais especificamente, os métodos cromatográficos presentes na literatura, dando especial ênfase aos passos críticos do processo de desenvolvimento do método analítico: preparação de amostras, seleção do padrão interno (PI), bem como as condições cromatográficas e de deteção.

De forma mais concreta pode referir-se que os objetivos específicos deste trabalho foram os seguintes:

- Identificar as propriedades farmacocinéticas mais relevantes das sondas da gp-P estudadas (digoxina, fexofenadina, loperamida, rodamina 123 e talinolol), realçando a importância do metabolismo destes compostos no contexto da bioanálise.
- Resumir as propriedades físico-químicas das sondas da gp-P estudadas, analisando a sua estabilidade em soluções *stock*, soluções de fortificação e matrizes biológicas.
- Apresentar as técnicas de preparação de amostras mais frequentemente usadas na bioanálise de sondas da gp-P em diversas matrizes biológicas.
- Sistematizar as condições cromatográficas aplicadas em métodos já desenvolvidos para a quantificação de digoxina, fexofenadina, loperamida, rodamina 123 e talinolol, realçando as fases móveis e colunas cromatográficas utilizadas.
- Destacar os diferentes tipos de sistemas de deteção que têm sido usados para a determinação de sondas da gp-P em matrizes biológicas e formulações farmacêuticas, comparando as suas vantagens e limitações.
- Indicar a escolha de PI mais frequente em métodos de quantificação da digoxina, fexofenadina, loperamida, rodamina 123 e talinolol.

3. Material e Métodos

Este trabalho de revisão foi efetuado com base na pesquisa de artigos disponíveis na base de dados bibliográfica *Pubmed*, utilizando como palavras-chave o cruzamento dos nome das sondas da gp-P abordadas nesta revisão (“digoxin”, “fexofenadine”, “loperamide”, “rhodamine 123” e “talinolol”) com “HPLC” e “quantification”, como por exemplo: “HPLC and digoxin” ou “quantification and talinolol”. Os dados foram resumidos em tabelas e analisados. Por último, recorreu-se aos *sites* da FDA e EMA no sentido de completar alguma da informação encontrada, nomeadamente no que concerne a publicações referentes à validação de métodos analíticos e a estudos de bioequivalência.

4. Resultados e discussão

4.1. Propriedades farmacocinéticas das sondas da gp-P

As sondas da gp-P consideradas neste trabalho apresentam diferentes perfis farmacocinéticos. Neste sentido, e relativamente à etapa de absorção, é de realçar o facto da rodamina 123 ser um corante fluorescente catiónico, o que impede a sua administração em humanos. Assim, a sua fração absorvida em humanos não é conhecida [R12]. Por outro lado, as restantes quatro sondas são rapidamente absorvidas a partir do trato gastrointestinal, após administração oral em humanos, com as concentrações máximas ($C_{m\acute{a}x}$) no plasma a serem obtidas aproximadamente entre 1-6 h após a administração (19,50-53). De forma mais específica, a $C_{m\acute{a}x}$ plasmática é geralmente alcançada entre 1-3 h para a fexofenadina (50,54), 4-5 h para a loperamida (51), 1-2 e 4-6 h para o talinolol (53,55,56), e até 3 h no caso da digoxina (19). Em contraste, estes compostos são caracterizados por uma cinética de eliminação lenta, com tempos de semivida que oscilam entre 7-19 h para a loperamida (51), 10-17 h para o talinolol (6), 20-50 h para a digoxina (57), e 12 h no caso da fexofenadina (58).

Deste modo, tendo em conta as características cinéticas de absorção, era expectável que as sondas acima referidas apresentassem valores elevados de biodisponibilidade. No entanto, apesar de cerca de 70% da loperamida administrada ser absorvida no trato gastrointestinal, a sua biodisponibilidade sistémica é reduzida, devido a um extenso metabolismo de primeira passagem, existindo casos onde apenas 0,3% da dose administrada se encontra presente no plasma (51,52,59). Em relação à fexofenadina, esta também apresenta uma biodisponibilidade oral absoluta reduzida (35%), estando isto possivelmente relacionado com a sua natureza zwitteriónica e com o facto de este composto ser um substrato de diversos sistemas de transporte presentes no intestino (50,58). Quanto ao talinolol, este pode ser absorvido de forma inconstante a partir do trato gastrointestinal, o que se traduz num valor de biodisponibilidade relativamente baixo (55-70%) (19,60,61). Um aspeto particular do seu perfil farmacocinético consiste na existência de um duplo pico de concentração plasmática, após administração oral, que parece ser causado pela ligação da porção de talinolol não absorvida ou secretada pela gp-P a ácidos biliares, formando micelas que limitam a absorção deste composto, de forma semelhante com o que acontece com o atenolol (38,53). Por último, a digoxina revelou ter o valor mais alto de biodisponibilidade oral (60-86%) entre estes compostos (19).

Considerando o objetivo desta revisão, o metabolismo destes compostos é um aspeto de grande relevância no contexto da bioanálise, uma vez que alguns dos métodos referidos na literatura permitem a quantificação das sondas e dos seus metabolitos.

Neste sentido, a loperamida (Figura 1.2) é extensamente metabolizada, sendo consideradas várias vias metabólicas: a *N*-desalquilação que dá origem ao principal metabolito *N*-desmetiloperamida; e outras vias secundárias que incluem a *N*- e *C*-hidroxilação, que formam

os metabolitos *N*-óxido e carbinolamida, respetivamente (3,62). Kalgutkar et al. (62) também reportaram uma homologia considerável entre o metabolismo da loperamida em espécies humanas e de roedores.

Quanto à digoxina (Figura 1.2), apesar de apresentar várias vias metabólicas, é pouco metabolizada no humano, sendo a maioria da dose administrada excretada na urina sob a forma inalterada (63,64). O seu principal metabolito, a digoxigenina, forma-se através da remoção gradual de resíduos açúcar, dando posteriormente origem a metabolitos inativos. Estes podem ser excretados na forma livre ou de conjugados com grupos glucuronido ou sulfato (19,63). Adicionalmente, também ocorre redução a dihidrodigoxina (63).

No que se refere ao talinolol (Figura 1.2), o seu metabolismo foi investigado em humanos e ratos, com uma pequena quantidade (inferior a 1% da dose) de 4-*trans*, 3-*trans*, 4-*cis* e 3-*cis*-hidroxitalinolol a serem produzidos por intermédio das enzimas do citocromo P450 (CYP450), por hidroxilação do anel ciclohexilo em ambas as espécies (19,40,65). Zschiesche et al. (40) demonstraram que a formação de 4-*trans*-hidroxitalinolol corresponde ao metabolito principal.

A fexofenadina (Figura 1.2) sofre um reduzido metabolismo; aproximadamente 95% de uma dose oral é excretada na urina sob a forma inalterada (58,66). O principal metabolito identificado corresponde ao azaciclonol, que é formado pela clivagem do grupo hidroxibutilo do anel de piperidina (58,67).

Para finalizar, a rodamina 123 (Figura 1.2) sofre um processo metabólico significativo, dando origem a rodamina 110 por remoção de um grupo metiléster (metabolito principal); e a dois outros metabolitos que são extensamente excretados na urina e na bÍlis (37,68).

Posto isto, é possível verificar a maior importância das vias metabólicas no perfil farmacocinético da loperamida. Contudo, torna-se evidente que mesmo os metabolitos provenientes de vias metabólicas secundárias devem ser considerados aquando do processo de desenvolvimento de fármacos, tornando-se a disponibilidade de métodos analíticos sensíveis essencial neste contexto.

4.2. Propriedades físico-químicas e estabilidade das sondas da gp-P

No desenvolvimento de um novo método analítico é fundamental considerar as propriedades físico-químicas dos analitos em questão. Assim sendo, encontra-se na Tabela 1.1 uma breve revisão destas propriedades, relativamente à digoxina, fexofenadina, loperamida, rodamina 123 e talinolol.

A loperamida ($C_{29}H_{33}ClN_2O_2$) é um composto significativamente mais lipofílico que as restantes sondas da gp-P, a pH fisiológico (69); de facto, a diferença entre os valores de coeficiente de partição octanol/água ($\log P$) é considerável (Tabela 1.1).

Por outro lado, a fexofenadina ($C_{32}H_{39}NO_4$) e o talinolol ($C_{20}H_{33}N_3O_3$) têm duas características em comum: o facto de ambos existirem na forma de misturas racémicas constituídas pelos enantiómeros (R) e (S) com os seus carbonos quirais evidenciados na Figura 1.2 (29,40,42); por outro lado, apresentam ambos uma elevada polaridade, associada a uma solubilidade aquosa elevada a pH fisiológico (810 $\mu\text{g/mL}$ e 1240 $\mu\text{g/mL}$, respetivamente) (6,58). Neste sentido, a solubilidade aquosa da fexofenadina pode ser explicada pela sua natureza zwitteriônica, através da presença de um grupo ácido carboxílico e de um grupo amina terciária que permitem que se mantenha na forma ionizada em todo o intervalo de pH (29,30). De forma semelhante, o talinolol é uma base fraca (pK_a de 9,4) que se encontra ionizada em mais de 99% a pH fisiológico (42).

Por último, a digoxina ($C_{41}H_{64}O_{14}$) apresenta a solubilidade aquosa mais baixa a pH fisiológico (65 $\mu\text{g/mL}$) (19). E quanto à rodamina 123 ($C_{21}H_{17}ClN_2O_3$), pouca informação tem sido publicada relativamente às suas propriedades físico-químicas.

As propriedades mencionadas permitem perceber o motivo pelo qual a maioria dos estudos publicados terem usado solventes de média polaridade, nomeadamente: metanol (22,29,30,70) e acetonitrilo (52), na preparação de soluções *stock*. Outros autores também usaram *N,N*-dimetilacetamida (23) ou dimetilsulfóxido (71) na preparação de soluções *stock* de digoxina e fexofenadina, respetivamente. Apesar da sua reduzida solubilidade aquosa (Tabela 1.1), alguns autores usaram água (2) e uma mistura de água com metanol (72) para preparar soluções *stock* de digoxina.

Tabela 1.1 - Propriedades físico-químicas das sondas da glicoproteína-P (gp-P).

Compostos	Peso molecular (g/mol)	Constantes de dissociação pK_{a1} ; pK_{a2}	Coeficiente de partição octanol/água ($\log P$)	Solubilidade aquosa a pH 7,4 ($\mu\text{g/mL}$)
Digoxina	780,9	7,2 ^d	1,3 ^d	65 ^f
Fexofenadina	501,7	4,25 ^a ; 9,53 ^a	0,49 ^h	810 ^h
Loperamida	477,0	8,66 ^c	4,3 ^b	ND
Rodamina 123	344,4	ND	1,13 ^g	ND
Talinolol	363,5	9,4 ^e	1,08 ^f	1240 ^g

^a Pathak et al. (29); ^b Musteata et al. (69); ^c Weuts et al. (73); ^d Carlier et al. (74); ^e Deferme et al. (42); ^f Oswald et al. (19); ^g Fortuna et al. (6); ^h Lappin et al. (58).

ND, não disponível.

Diretamente relacionada com estas propriedades físico-químicas surge a estabilidade destes compostos em soluções *stock*, soluções de fortificação e matrizes biológicas. Este é um aspeto de particular importância no contexto da bioanálise, pois é essencial compreender a estabilidade dos analitos em todas as condições de armazenamento e manipulação das amostras, de forma a garantir a obtenção de resultados fidedignos. Todavia, os critérios de aceitação a considerar na avaliação da estabilidade em soluções *stock* e matrizes biológicas não estão claramente definidos, o que permitiu verificar a aplicação de diferentes critérios na literatura.

Atualmente existem documentos de referência que contemplam recomendações úteis para estudos de estabilidade, nomeadamente a “*Guidance for Industry - bioanalytical method validation*” da FDA (47), e a recente *guideline* da EMA sobre o mesmo tema (48) que, ao contrário do que acontece nas normas da FDA, define critérios de aceitação para a estabilidade de analitos em matrizes biológicas; determinando que o desvio do valor da concentração nominal deve ser $\pm 15\%$. Neste contexto, é de realçar que em ambos os casos não há qualquer referência a critérios de aceitação relativamente a soluções *stock*.

Apesar dos diferentes critérios de estabilidade aplicados nos diferentes estudos, na Tabela 1.2 apresenta-se um resumo dos dados de estabilidade obtidos para a digoxina, fexofenadina, loperamida, rodamina 123 e talinolol. Neste contexto, alguns dos estudos publicados não especificaram os critérios de aceitação aplicados (22,23,30,52,75,76); e alguns autores estabeleceram que o critério de estabilidade para amostras de plasma deveria ser a recuperação relativa de, pelo menos, 90% da concentração inicial de fármaco (29,41).

Tabela 1.2 - Estabilidade das sondas da glicoproteína-P (gp-P) em solventes orgânicos e matrizes biológicas de origem humana ou animal.

Solução / Matriz	Analito	Tempo de armazenamento	Temperatura de armazenamento	Referência
Plasma (rato)	Digoxina	4 h	TA	(22)
Plasma (rato)	Digoxina	4 semanas	- 20 °C	(22)
Plasma humano Urina humana	Digoxina	4 h	TA	(77)
Plasma humano	Digoxina	77 h	5 °C	(77)
Urina humana	Digoxina	80 h	5 °C	(77)
Plasma humano	Digoxina	41 dias	- 25 °C	(77)
Urina humana	Digoxina	36 dias	- 25 °C	(77)
Plasma humano	Digoxina	24 h	TA	(78)
Plasma humano	Digoxina	3 meses	- 20 °C	(78)
Plasma humano	Digoxina	48 h	4 °C	(78)

Sangue total humano	Digoxina	1 semana	- 20 °C	(75)
Sangue total humano	Digoxina	5 dias	10 °C	(75)
Metanol	Digoxina	2,5 anos	- 20 °C	(75)
Plasma humano Plasma (rato) Cérebro (rato)	Digoxina	4 h	TA	(23)
Plasma humano Plasma (rato) Cérebro (rato)	Digoxina	24 h	4 °C	(23)
Plasma humano Plasma (rato) Cérebro (rato)	Digoxina	2 meses	- 80 °C	(23)
Plasma (rato)	Digoxina	4 h	TA	(79)
Plasma (rato)	Digoxina	1 mês	- 80 °C	(79)
Plasma humano	(R)-Fexofenadina (S)-Fexofenadina	6 meses	- 80 °C	(30)
Plasma humano	Fexofenadina	21 dias	- 50 °C	(27)
Metanol	Fexofenadina	21 h	TA	(27)
Metanol	Fexofenadina	21 dias	4 °C	(27)
Plasma humano	Fexofenadina	30 dias	- 20 °C	(80)
Plasma humano	Fexofenadina	30 dias	- 70 °C	(80)
Plasma humano	Fexofenadina	4 h	TA	(80)
Plasma (rato)	Fexofenadina	24 h	TA	(29)
Plasma (rato)	Fexofenadina	30 dias	- 20 °C	(29)
Metanol	Fexofenadina	15 dias	4 °C	(29)
Metanol	Fexofenadina	12 h	TA	(29)
Plasma humano	Fexofenadina	6 h	TA	(81)
Plasma humano	Fexofenadina	30 dias	- 65 °C	(81)
Plasma humano	Fexofenadina	20 dias	- 20 °C	(76)
Metanol	Fexofenadina	6 h	TA	(82)
Plasma humano	Fexofenadina	93 dias	-78 ± 8 °C	(82)
Plasma humano	Loperamida	6 h	TA	(52)
Plasma humano	Loperamida	2 semanas	- 20 °C	(52)
Acetonitrilo	Loperamida	6 h	TA	(52)
Plasma humano	Loperamida	48 h	4 °C	(83)
Saliva humana	Loperamida	48 h	4 °C	(83)
Metanol	Loperamida	6 meses	- 20 °C	(83)
Metanol	Loperamida	20 h	TA	(83)
Plasma (rato)	Rodamina 123	24 h	TA	(8)

Plasma humano com EDTA	Talinolol	24 h	25 °C	(84)
Plasma humano com EDTA	Talinolol	11 meses	- 20 °C	(84)
Plasma (rato)	Talinolol	14 dias	- 30 °C	(85)
Plasma (rato)	Talinolol	12 h	4 °C	(85)
Plasma (rato)	Talinolol	3 h	20 °C	(85)
Metanol	Talinolol	12 h	TA	(41)
Metanol	Talinolol	15 dias	4 °C	(41)
Metanol	Talinolol	30 dias	- 20 °C	(41)
Metanol/Água	Talinolol	2 meses	TA	(86)
Plasma humano	Talinolol	12 h	TA	(87)
Metanol	Talinolol	12 h	TA	(87)
Plasma humano	Talinolol	30 dias	25 °C	(87)

TA, temperatura ambiente.

4.3. Métodos cromatográficos para a determinação de sondas da gp-P

Nas últimas décadas, inúmeros métodos bioanalíticos têm sido desenvolvidos de modo a quantificar sondas da gp-P e alguns dos seus metabolitos, com destaque para os métodos cromatográficos, particularmente aplicados a matrizes biológicas. Assim sendo, esta revisão foca-se nos métodos cromatográficos já estabelecidos, destacando os passos críticos do seu desenvolvimento: preparação de amostras, seleção do PI, bem como as condições cromatográficas e de deteção.

4.3.1. Preparação das amostras

A preparação de amostras é um fator determinante para o sucesso da análise quantitativa e qualitativa de matrizes complexas, tais como as matrizes biológicas; apresentando elevado impacto em quase todas as etapas posteriores do desenvolvimento de um método analítico. Geralmente, inclui o isolamento e/ou pré-concentração dos compostos de interesse a partir de diferentes matrizes, tornando os analitos mais adequados para deteção e separação; e está associada a 80% do tempo total de análise (49).

De uma forma geral, as amostras biológicas não são diretamente compatíveis com a análise cromatográfica, principalmente, devido à sua elevada complexidade e ao seu conteúdo proteico, que pode causar adsorção irreversível de proteínas à fase estacionária, potenciando uma perda substancial da eficiência da coluna, bem como um grande efeito de matriz (88). Assim, torna-se essencial a existência de um procedimento mais ou menos simples de

preparação de amostra que preceda a injeção cromatográfica, desde uma simples diluição a processos mais complexos de pré-tratamento. Tradicionalmente, a preparação de amostras efetua-se de forma mais frequente segundo três técnicas: extração líquido-líquido (LLE), extração em fase sólida (SPE) e precipitação de proteínas (PP). No entanto, métodos mais modernos também têm sido aplicados, tais como: extração eletromembranar (EME) (89), microextração em fase sólida (SPME) (69), microextração líquido-líquido (LLME) (89), microextração em seringa empacotada (MEPS), entre outros que têm sido usados no desenvolvimento de métodos analíticos (49).

Relativamente às técnicas de preparação, a PP é considerada a técnica mais rápida e simples, sendo aplicável a compostos hidrofílicos e hidrofóbicos, com custos mínimos (49). Por outro lado, apesar da SPE e LLE serem normalmente mais complexas, demoradas e dispendiosas, o extrato obtido após a sua aplicação apresenta menos interferentes que aquele que tem origem da PP (49,90). Neste contexto, considerando a informação apresentada na Tabela 1.3, torna-se evidente que as técnicas de preparação tradicionais (PP, LLE, SPE) foram frequentemente utilizadas para desenvolver métodos de quantificação de sondas da gp-P em matrizes biológicas. Adicionalmente, é possível verificar que algumas amostras de urina e bÍlis usadas na determinação de rodamina 123 apenas foram diluídas com metanol (37), na medida em que, sob condições de fisiológicas, estas matrizes biológicas não apresentam uma quantidade significativa de proteínas que interfiram com a análise cromatográfica. Após a diluição, como as amostras não foram submetidas a processos de extração complexos, a quantidade de analito mantém-se, pelo que a sua recuperação muitas vezes não foi determinada. Porém, apesar de simples, este procedimento pode ser problemático quando aplicado em compostos com baixa biodisponibilidade e, por conseguinte, que originam níveis baixos de analito (88).

Considerando as sondas da gp-P referidas, a técnica de PP foi a mais usada nos casos da fexofenadina e rodamina 123; e, tal como esperado, o acetonitrilo e o metanol foram os agentes precipitantes mais aplicados (Tabela 1.3) (49). Neste sentido, Guo et al. (81) compararam a eficiência de precipitação com ambos os agentes e concluíram que o valor de recuperação absoluta da fexofenadina a partir de plasma humano foi superior com o uso de metanol.

Na última década, alguns autores que investigaram a biodisposição de sondas da gp-P em ratos usaram a PP em amostras de cérebro e fígado (7,91,92). Para além disso, Arafat et al. (83) desenvolveu um método analítico com uma única etapa de extração por PP para determinar loperamida em saliva humana.

Relativamente aos procedimentos de LLE descritos (Tabela 1.3), na maioria dos casos, foi adicionado um tampão a pH básico antes da adição do solvente de extração, de forma a aumentar o pH das amostras de talinolol, digoxina e loperamida (22,23,38,40-

42,52,55,65,72,79,93-96). Este acréscimo do valor de pH torna-se importante, uma vez que, atendendo à natureza química destes compostos (valores de pK_a de 9,40, 7,20 e 8,66, respetivamente), são alcançadas recuperações superiores em ambiente alcalino. Nestas condições, o talinolol, a digoxina e a loperamida estão maioritariamente na forma não-ionizada, o que potencia que sejam extensamente extraídos pelo solvente orgânico. Com este propósito, diferentes soluções alcalinas têm sido usadas, nomeadamente: solução de hidróxido de sódio (38,41,42,95,96), de carbonato de sódio (55,65,93) e de cloreto de amónio (22,23). Em contraste surge o caso da fexofenadina, onde Pathak et al. (29) avaliaram a sua partição entre soluções alcalinas ou ácidas e um solvente orgânico, estabelecendo que esta poderia ser quantitativamente extraída a partir de plasma quando acidificado.

Tendo em conta a estrutura das sondas da gp-P, estas apresentam alguns grupos polares. Consequentemente, os solventes de extração devem apresentar um certo grau de polaridade, de forma a se alcançarem recuperações adequadas. Desta forma, vários solventes orgânicos, bem como misturas entre eles em diferentes combinações têm sido usados, tais como: *n*-hexano, acetato de etilo, éter etílico, diclorometano, éter metil-*terc*-butílico e clorofórmio (41,79,97,98). As melhores recuperações e menores co-extrações de interferentes foram obtidas através da utilização das condições sumariadas na Tabela 1.3. Após a extração, a fase orgânica foi recolhida e evaporada, com os resíduos resultantes a serem redissolvidos em solventes apropriados para a injeção da amostra no sistema cromatográfico.

Muitos autores descreveram o uso de SPE para a extração de sondas da gp-P (27,30,37,64,70,80,87,99,100). Esta técnica foi frequentemente aplicada na preparação de amostras de digoxina e fexofenadina, ao contrário do que aconteceu com as restantes sondas da gp-P. Em contraste com a LLE, não se procedeu à alcalinização das amostras. Tal como é indicado na Tabela 1.3, diferentes tipos de cartuchos de SPE, bem como de solventes de eluição têm sido usados. Guan et al. (98) compararam LLE com clorofórmio/2-propanol (95:5, v/v) ou acetato de etilo com SPE através de cartuchos C_{18} ou Oasis HLB para a extração de glicosídeos cardíacos (digoxina, digitoxina, deslanósido, digoxigenina e digitoxigenina) a partir de amostras humanas de sangue total e urina. Apesar da coluna Oasis HLB ter sido escolhida, as recuperações obtidas foram baixas para as amostras de sangue total (30-45.2%). Hashimoto et al. (78) usaram o formato de SPE em 96 poços, o que permite um tratamento de amostra fácil e eficiente, viabilizando a extração de múltiplas amostras em simultâneo.

Nos últimos anos têm surgido técnicas de extração que resultam de desenvolvimentos recentes. Eibak et al. (89) investigaram a possibilidade de extrair substâncias alcalinas com recuperações superiores a 95%, com recurso à EME, otimizando, para tal, o aparelho de extração. Para além disso, como a EME foi desenvolvida como alternativa à LLME, procederam à comparação entre a eficiência de recuperação de ambas as técnicas.

Tabela 1.3 - Técnicas de preparação de amostras e recuperação (%) das sondas da glicoproteína-P (gp-P) em matrizes biológicas.

Analito	Matriz (Volume/Peso)	Preparação das amostras	Recuperação (%)	Ano	Referência
Digoxina e metabolitos	Soro humano (1 mL)	SPE [Coluna de B-ciclodextrina; isopropanol]	62-86	1995	(101)
Digoxina Digitoxina Lanatóside C Acetildigitoxina Ouabaína	Plasma humano (4 mL)	LLE [clorofórmio/2-propanol (95:5, v/v)]	57,4-76	1997	(72)
Digoxina Digitoxina Deslanósido Digoxigenina Digitoxigenina	Sangue humano (1 mL) Urina humana (2 mL)	SPE [Oasis HLB; clorofórmio/2-propanol (95:5, v/v)]	30-45,2 63,9-80,1	1999	(98)
Digoxina	Plasma (rato) (0,1 mL)	LLE [acetoneitrilo + vórtex + diclorometano + vórtex]	78,8-86,6	2003	(22)
Digoxina e metabolitos	Meio de dissolução (10 mL)	SPE [Sep-PaK C ₁₈ ; metanol]	99,5-101,4	2003	(102)
Digoxina Furosemida Vermelho de fenol Propranolol	Intestino (rato) (NR)	NR	95,2-103,2	2004	(2)
Digoxina	Plasma humano (0,5 mL) Urina humana (0,5 mL)	SPE [Oasis HLB; metanol]	80,3 74,3	2006	(77)
Digoxina	Soro humano (0,25 mL)	SPE [Oasis HLB; metanol]	91,5-96,3	2007	(103)
Digoxina Digitoxina	Sangue humano (0,5 g) Plasma humano (0,5 g) Urina humana (0,5 g) Conteúdo gástrico humano (0,5 g)	SPE [NR; acetona]	82-89	2008	(104)
Digoxina	Plasma humano (1 mL) Urina humana (1 mL)	LLE [éter metil- <i>terc</i> -butílico]	46-82	2008	(105)
Digoxina	Plasma (rato) (0,1 mL)	LLE [clorofórmio/isopropanol (95:5, v/v)]	NR	2008	(95)
Digoxina	Plasma humano (NR)	SPE [Oasis HLB 96-well; Metanol]	82,1-87,4	2008	(78)

Digoxina Digitoxina	Sangue humano (0,5 mL)	LLE [acetato de etilo/ <i>n</i> -heptano/diclorometano (3:1:1, v/v/v)]	NR	2009	(75)
Digoxina	Plasma humano (0,025 mL) Plasma (rato) (0,025 mL) Cérebro (rato) (0,025 mL)	LLE [acetonitrilo]	101,5-114,1	2011	(23)
Digoxina Metildigoxina Deslanósido Digitoxina	Sangue humano (1 mL) Urina humana (1 mL)	SPE [Oasis HLB; Metanol]	54,4-78,5 77,1-96,8	2011	(70)
Digoxina Midazolam 1'-hidroximidazolam	Plasma (rato) (0,1 mL)	LLE [éter metil- <i>t</i> -butílico/diclorometano (75:25, v/v)]	81,7-85,1	2011	(79)
Digoxina	Soro humano (0,5 mL)	SPE [NR; metanol]	82,9-99,8	2012	(64)
Digoxina Metildigoxina	Sangue humano (1 mL)	SPE [Oasis HLB; clorofórmio/2-propanol (95:5, v/v)]	81-103	2012	(63)
Digoxina e outras toxinas com origem vegetal	Sangue humano (1 mL)	SPE [Oasis HLB; metanol]	62-107	2014	(74)
Fexofenadina	Soro humano (2 mL) Urina humana (0,5 mL)	SPE [C ₁₈ ; trietilamina (0,05 mol L ⁻¹)/metanol]	NR	2001	(31)
Fexofenadina	Plasma humano (1 mL) Urina humana (0,05 mL)	SPE [C ₁₈ ; trietilamina (50 mM) em metanol]	85,8-92,4	2002	(106)
Fexofenadina	Plasma humano (1 mL)	SPE [Bond Elut C ₁₈ ; trietilamina (50 mM)/metanol]	72,8-76,7	2004	(107)
Fexofenadina	Plasma humano (1 mL) Urina humana (1 mL)	SPE [Bond Elut C ₁₈ ; metanol]	NR	2006	(54)
Fexofenadina Pseudoefedrina	Plasma humano (0,5 mL)	SPE [Oasis HLB; ácido fórmico (0,1%)/Metanol]	56,7-59,7	2006	(108)
Fexofenadina	Fígado (rato) (NR) Bílis (rato) (NR)	NR	NR	2006	(91)
(R)-Fexofenadina (S)-Fexofenadina	Plasma humano (0,4 mL)	SPE [Oasis HLB; Metanol]	67,4-71,8 67,2-71,6	2007	(30)

Fexofenadina	Plasma humano (0,5 mL)	SPE [Oasis HLB; ácido fórmico (0,1%)/Metanol (0,5 mL)]	56,7-59,7	2007	(27)
Fexofenadina	Plasma humano - Microdose (0,2 mL) Plasma humano (0,02 mL)	SPE [Oasis HLB; acetonitrilo/água (7:3, v/v)]	86-99 77,3-92,3	2007	(80)
Fexofenadina	Plasma (rato) (0,1 mL)	PP [ácido tricloroacético/acetonitrilo (25:75, v/v)]	81,79-85,23	2008	(29)
Fexofenadina	Plasma (rato) (0,09 mL)	PP [acetonitrilo]	NR	2009	(109)
Fexofenadina	Plasma humano (0,1 mL)	PP [metanol]	82,2-96,2	2009	(81)
Fexofenadina	Plasma humano (0,1 mL)	PP [acetonitrilo]	85,3-105,3	2010	(110)
Fexofenadina, buspirona, omeprazole e metabolitos	Plasma humano (0,5 mL)	PP [acetonitrilo]	99-109	2011	(111)
Fexofenadina	Lisado de células HEK293 (NR)	PP [acetonitrilo]	86-123,5	2011	(112)
Fexofenadina	Plasma (rato) (0,04 mL)	PP [acetonitrilo]	86,3-100,4	2012	(71)
Fexofenadina	Plasma humano (0,2 mL)	PP [acetonitrilo]	NR	2013	(76)
Fexofenadina Montelukaste	Plasma humano (0,2 mL)	LLE [tampão ^a /acetato de etilo]	70,3	2014	(82)
Loperamida	Plasma (rato) (0,15 mL) Soluções de BSA (0,15 mL)	PP [ácido <i>m</i> -fosfórico]	95,5 101,4	2000	(113)
Loperamida <i>N</i> -desmetiloperamida	Plasma humano (0,5 mL)	LLE [éter metil- <i>terc</i> -butílico]	70,7-73,7	2000	(93)
Loperamida e metabolitos desmetilados	Plasma humano (0,5 mL) Urina humana (0,5 mL)	LLE [acetato de etilo]	79-99	2001	(97)
Loperamida <i>N</i> -desmetiloperamida	Sangue humano (central e periférico) (0,2 mL) Urina humana (0,2 mL) Bílis humana (0,2 mL) Conteúdo gástrico (0,2 mL) Rim humano (0,2 mL) Fígado humano (0,2 mL)	LLE [1-clorobutano]	NR	2005	(51)

Loperamida	Plasma humano (0,5 mL)	LLE [éter metil- <i>terc</i> -butílico]	87,19-89,61	2004	(52)
Loperamida <i>N</i> -desmetiloperamida	Sangue humano (0,5 g) Músculo humano (0,5 g) Fígado humano (0,5 g)	LLE [acetato de butilo]	75	2004	(94)
Loperamida Diazepam Verapamil Varfarina Nordiazepam	Plasma humano (1,5 mL)	SPME [acetoneitrilo/água/ácido acético (50:49:1, v/v/v)]	NR	2007	(69)
Loperamida, amprenavir, citalopram, Digoxina, elacridar, imatinib, Ko143, prazosina, quinidina, sulfasalazina e verapamil	Mistura de plasma e cérebro de murganho (1:1, v/v) (0,025 mL cada)	PP [acetoneitrilo]	NR	2012	(114)
Loperamida Citalopram Paroxetina Petidina Sertralina	Plasma humano (1 mL; 0,05 mL)	EME [NR]	56-102	2012	(89)
Loperamida	HEPES-solução de <i>Ringer</i> tamponada (0,1 mL)	PP [acetoneitrilo]	NR	2012	(115)
Loperamida Elacridar Tariquidar	Plasma (rato) (0,1 mL) Cérebro homogeneizado (rato) (0,1 mL)	PP [acetoneitrilo/éter metil- <i>terc</i> -butílico (1:1, v/v)]	>90	2014	(7)
Loperamida	Plasma humano (0,05 mL) Saliva humana (0,05 mL)	PP [acetoneitrilo]	91-101	2014	(83)
Rodamina 123	Plasma (rato) (NR) Urina (rato) (NR) Bílis (rato) (NR)	SPE [Sep-Pak C ₁₈ ; metanol acidificado (0,1% HCl)] Diluição [metanol] Diluição [metanol]	NR	1990	(37)

Rodamina 123	Plasma (rato) (NR)	PP [metanol]	NR	1995	(116)
Rodamina 123	Plasma (rato) (0,05 mL) Urina (rato) (NR) Bilis (rato) (NR) Dialisado (NR)	PP [acetoneitrilo + centrifugação + acetoneitrilo/água (2:1, v/v)]	NR	2001	(117)
Rodamina 123 e metabolitos	Placenta (rato) (NR)	SPE [Supelclean LC ₁₈ ; metanol acidificado (0,1% HCl)]	NR	2003	(99)
Rodamina 123	Lisado celular (0,1 mL)	-----	NR	2005	(35)
Rodamina 123	Plasma (coelho) (0,075 mL) Humor aquoso (coelho) (NR) Humor vítreo (coelho) (NR)	PP [metanol]	NR	2008	(36)
Rodamina 123	Plasma (rato) (0,1 mL) Cérebro homogeneizado (rato) (0,1 mL)	PP [metanol]	>85	2007	(118)
Rodamina 123 Rodamina 110 Rodamina glucuronido	Fígado homogeneizado (rato) (0,1 mL) Perfusato de fígado (rato) (0,1 mL) Bilis (rato) (0,1 mL)	PP [metanol/ácido tricloroacético]	NR	2008	(92)
Rodamina 123	Plasma (rato) (0,1 mL)	LLE [acetato de etilo/diclorometano (4:1, v/v)]	87,7-92,2	2011	(8)
Talinolol	Soro humano (1 mL) Urina humana (1 mL)	LLE [éter etílico] LLE [clorofórmio]	NR	1994	(65)
Talinolol	Soro humano (0,5 mL) Urina humana (0,5 mL)	PP [acetoneitrilo]	NR	1998	(119)
Talinolol	Soro humano (0,5 mL)	LLE [éter etílico]	82,3-90	2000	(55)
(S)-Talinolol (R)-Talinolol	Sangue (rato) (0,2-0,3 mL)	LLE [diclorometano/isopropanol (95:5, v/v)]	NR	2001	(96)
Talinolol	Sangue (rato) (0,25 mL)	LLE [diclorometano/isopropanol (9:1, v/v)]	NR	2002	(42)
(S)-Talinolol (R)-Talinolol	Soro humano (0,5 mL)	LLE [éter etílico]	NR	2002	(40)

Talinolol	Plasma humano (1 mL)	LLE [éter metil- <i>terc</i> -butílico]	82,92-86,06	2007	(38)
Talinolol	Plasma (rato) (0,75 mL)	SPE [metanol/água (90:10)]	83,7-92,2	2008	(100)
Talinolol	Plasma humano (0,25 mL)	PP [ácido perclórico (0,5 M)] + EFS [C ₈ ; acetato de amônio (5 mM) em água + ácido acético 1%/acetato de amônio (5 mM) em metanol + ácido acético 1% (70:30, v/v)]	66	2005	(84)
Talinolol	Plasma (rato) (0,04 mL)	PP [Acetonitrilo]	>78	2010	(85)
Talinolol	Plasma (rato) (0,2 mL)	LLE [éter metil- <i>terc</i> -butílico]	>86,6	2010	(41)
Talinolol	Plasma humano (0,3 mL)	PP [ácido perclórico (0,5 M)] + EFS [Isolut C ₁₈ HD; metanol/água (50:50, v/v)]	NR	2015	(87)
	Plasma humano (0,05 mL)	SPE [Oasis HLB; metanol/água (50:50, v/v)]			
Talinolol	Plasma humano (1 mL) Urina humana (0,2 mL)	LLE [diclorometano/2-propanol (95:5 v/v)]	NR	2015	(120)

EME, extração eletromembranar; LLE, extração líquido-líquido; PP, precipitação de proteínas; SPE, extração em fase sólida; SPME, microextração em fase sólida;

NR, não reportado; HEPES, ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinaetanosulfônico; BSA, albumina do soro bovino.

^a constituído por formato de amônio em água (20 mM, pH 6,4).

4.3.2. Condições cromatográficas

A análise cromatográfica de sondas da gp-P e alguns dos seus metabolitos em matrizes biológicas realiza-se geralmente com recurso à cromatografia líquida (LC), tradicionalmente conhecida como cromatografia líquida de elevada eficiência (HPLC) (Tabela 1.4).

A LC consiste numa técnica não-destrutiva que permite boa sensibilidade e seletividade. Para além disso, é a metodologia predominante no contexto analítico, especialmente, ao nível da indústria farmacêutica. Contudo, o desenvolvimento das técnicas de LC permitiram o aparecimento de uma nova categoria de separação analítica - a cromatografia líquida de ultra eficiência (UPLC). A UPLC retém a viabilidade e os princípios da HPLC, melhorando, em simultâneo, atributos como a velocidade, sensibilidade e resolução. Para além do facto de todos os detetores normalmente usados com o HPLC poderem ser associados a sistemas de UPLC, estes últimos permitem o uso de colunas cromatográficas com suportes de tamanho de partícula mais pequena ($< 2 \mu\text{m}$), fluxos e temperaturas de coluna superiores, o que possibilita uma análise mais rápida. Deste modo, a UPLC surge como uma alternativa viável no contexto da LC (121-124). Neste sentido, alguns dos métodos referidos nesta revisão usam a moderna tecnologia de UPLC na quantificação de sondas da gp-P (Tabela 1.4). Mohsin et al. (125) desenvolveram um método de quantificação de talinolol em formulações lipídicas. Adicionalmente, dois métodos de quantificação baseados em UPLC foram descritos para quantificar glicosídeos cardíacos em amostras de sangue [D8, D20]. Por último, Tanaka et al. (71) referiram o uso de um sistema de UPLC no desenvolvimento de um método para a quantificação de fexofenadina em plasma de rato por um método de injeção múltipla (MIM) num estudo baseado em microdoses; contudo, este não deve ser considerado um verdadeiro método de UPLC, na medida em que a coluna cromatográfica usada tem um suporte de tamanho de partícula de $3 \mu\text{m}$, o que não permite alcançar um desempenho semelhante ao obtido com suportes de tamanho de partícula inferior ($< 2 \mu\text{m}$).

No desenvolvimento de métodos de LC, deve ser considerada como etapa crítica a otimização da composição da fase móvel, de modo a alcançar o melhor compromisso entre tempo de corrida e resolução cromatográfica. Assim, a informação sumariada na Tabela 1.4, pode ser útil para o futuro desenvolvimento de novos métodos analíticos de quantificação de sondas da gp-P, bem como para a melhoria de métodos já estabelecidos. Um bom exemplo do compromisso referido acima foi apresentado por Salvador et al. (77) que, de modo a evitar um efeito de matriz desfavorável, preferiram que o composto eluísse após 2,5 minutos, com um tempo total de corrida de 5 minutos.

Tal como é evidenciado na Tabela 1.4, a separação cromatográfica das sondas da gp-P referidas nesta revisão tem sido alcançada essencialmente com recurso a colunas cromatográficas C_{18} de fase reversa com fases estacionárias apolares, associadas a um modo de eluição isocrático. No entanto, outros tipos de colunas foram reportados na literatura. Kanno et al. (70) relataram o primeiro método de LC associado a deteção por espectrometria

de massa em *tandem* (MS/MS) na quantificação de fármacos, mais especificamente, glicosídeos cardíacos, com recurso a um novo tipo de coluna, constituída por um polímero termossensível de *N*-isopropilacrilamida. Esta coluna mostrou-se útil no controlo da separação e dos tempos de retenção através do ajuste da sua temperatura, na medida em que a 50 °C a superfície da coluna apresenta propriedades hidrofóbicas, e com a diminuição da temperatura para 10 °C, esta passa a contar com propriedades hidrofílicas. Outro exemplo é o de Miura et al. (30) que, para quantificar os enantiómeros de fexofenadina em plasma humano, usaram uma coluna Chiral CD-Ph que usa fenilcarbamato de β -ciclodextrina como seletor quiral. Apesar do tempo total de corrida ter sido longo (60 minutos), a separação dos enantiómeros não apresentou interferentes. Tal como sugerido em estudos anteriores, as concentrações plasmáticas de (R)-fexofenadina foram superiores às de (S)-fexofenadina, indicando uma seletividade quiral por parte da gp-P.

Adicionalmente à seleção da coluna, a manipulação do pH da fase móvel tem um elevado impacto no desenvolvimento de métodos analíticos. Esta técnica tem particular interesse em relação a compostos ionizáveis, pois as suas características estão dependentes do pH da fase móvel (29). Neste contexto, a natureza anfotérica da fexofenadina torna a sua retenção difícil em colunas de fase reversa, pois esta encontra-se na forma ionizada em todo o intervalo de pH. Deste modo, em cromatografia de fase reversa, há dois tipos de interações presentes: interações hidrofóbicas e iónicas; sendo que as interações entre os grupos amina protonados da fexofenadina com os resíduos silanol da fase estacionária em meio ácido, geralmente, causam problemas na determinação cromatográfica, que se manifestam na forma de picos pouco definidos, baixa eficiência de separação e resolução insuficiente (29). Assim, de forma a obter uma separação eficiente, uma quantidade elevada de tampão deve estar presente na fase móvel (29-31,76,81,91,106,107,111,112,126), dado que o tampão tem um papel duplo; por um lado, controla o pH do meio de separação e, por outro, fornece iões que competem para as interações iónicas. De forma a compreender o efeito de vários fatores cromatográficos na separação e na resolução cromatográfica, Pathak et al. (29) usaram um programa informático para encontrarem a constituição de fase móvel ideal para a quantificação de fexofenadina em plasma de rato (Tabela 1.4). Com algumas alterações, este tampão foi usado noutros métodos para a determinação de fexofenadina, quando acoplada a deteção de fluorescência (FD) (31,76).

Estudos adicionais relataram outros fatores de otimização das condições cromatográficas. Li et al. (85) testaram três fases móveis (A) diferentes (cada uma com ácido fórmico 0,1%, ácido acético 0,1%, e acetato de amónio 10 mM em água Milli-Q, respetivamente) para a quantificação de talinolol; e concluíram que a fase móvel com ácido fórmico produziu uma melhor relação sinal-ruído e um pico mais definido para o analito e para o PI. Relativamente a métodos de quantificação da digoxina, Hashimoto et al. (78) consideraram que a fase móvel constituída por bicarbonato de amónio exibiu uma intensidade iónica superior àquela com formato de amónio (pH 3,4) que foi usada na quantificação de digoxina em plasma de rato nos

estudos de Yao et al. (22) (Tabela 1.4). Porém, muitos estudos usaram formato de amônio na fase móvel de métodos de quantificação de digoxina com recurso a HPLC-MS e HPLC-MS/MS, com eluição por gradiente (63,72,74,75,95,98) e isocrática (22).

O desenvolvimento de métodos cromatográficos é geralmente complexo. Neste contexto, os métodos de quantificação de analitos em formulações farmacêuticas podem desempenhar um papel importante como ponto de partida para o desenvolvimento de novas metodologias analíticas. Considerando as fases iniciais do processo de desenvolvimento de um método, em primeiro lugar, existe uma otimização da fase móvel e fase estacionária mais adequada para a separação dos analitos, bem como uma otimização de condições de deteção. Alguma desta informação pode ser fornecida por métodos cromatográficos já desenvolvidos para a quantificação de analitos em formulações farmacêuticas. Assim sendo, na Tabela 1.4 constam alguns dos métodos cromatográficos usados na quantificação de sondas da gp-P em formulações farmacêuticas. Por exemplo, existe um método que recorreu a HPLC para a determinação quantitativa de loperamida em dispersões sólidas (73); um estudo para avaliar a dissolução de comprimidos de digoxina em meio ácido (102); um método quantitativo para a determinação de talinolol em comprimidos e caracterização dos seus produtos de degradação (86), bem como um outro para a quantificação de talinolol em formulações lipídicas (125). Todos os métodos referidos anteriormente envolvem condições cromatográficas de fase reversa associadas a eluição isocrática e usaram colunas cromatográficas com fases estacionárias de cadeias de carbono octadecil (C_{18}) ligadas a sílica revestida. Relativamente às fases móveis usadas: Jedlicka et al. (102) usaram uma mistura de água e acetonitrilo na proporção de 72:28 (v/v); Weuts et al. (73) usaram 1 mM de hidrogenossulfato de tetrabutylamónio em água e acetonitrilo (70:30, v/v); Mohsin et al. (125) usaram tampão fosfato (pH 4,5) e acetonitrilo (70:30, v/v); e, para finalizar, Sinha et al. (86) usaram tampão dihidrogenofosfato de potássio (pH 4,4) e acetonitrilo (27:73, v/v). Como nas formulações farmacêuticas não é expectável encontrar muitos interferentes como os que são frequentemente encontrados nas matrizes biológicas, as condições cromatográficas aplicadas são geralmente mais simples e rápidas. Esta ideia é suportada pela complexidade dos métodos descritos para a determinação de digoxina, loperamida e talinolol em formulações farmacêuticas, quando comparada com aquela associada a matrizes biológicas (Tabela 1.4).

4.3.3. Modo de deteção

Diferentes tipos de sistemas de deteção têm sido usados para a determinação de sondas da gp-P em matrizes biológicas e formulações farmacêuticas (Tabela 1.4). Os detetores ultravioleta (UV) consistem em sistemas de deteção económicos e apropriados para analitos que apresentem elevada absorção no UV. Porém, a sua baixa seletividade implica o uso de técnicas de extração adequadas para a eliminação eficaz de potenciais interferentes. Para além disso, este tipo de detetor está associado a sensibilidade moderada, quando comparado com outros. Apesar destas limitações intrínsecas a qualquer sistema de deteção UV, este tem

sido usado na determinação de digoxina, loperamida e talinolol em formulações farmacêuticas (73,86,102,125). Nestas preparações, devem ser considerados dois factos que permitem o uso de deteção UV com seletividade e sensibilidade suficientes: a presença de fármaco em concentrações superiores em relação àquelas que se observam em matrizes biológicas, e a existência de poucos interferentes associados à matriz (apenas os excipientes). Relativamente à quantificação em matrizes biológicas, apesar da deteção por UV ser reportada em todas as sondas referidas neste trabalho, é possível verificar a sua maior relevância no desenvolvimento de métodos analíticos para a quantificação de talinolol por HPLC-UV. Assim, o talinolol foi detetado entre 240-245 nm (41,65,86,96,100,119,120,125); a rodamina 123 foi detetada a 500 nm (35,99); e a digoxina foi detetada entre 218-220 nm (2,70,102). Por último, a fexofenadina e a loperamida apresentaram intervalos de deteção com comprimentos de onda semelhantes: 195-225 nm (30,91,109) e 195-220 nm (73,113,127), respetivamente. Para além disso, a radiação UV também foi utilizada na deteção da fexofenadina a 215 nm, através de um detetador de díodos (DAD) (126).

Considerando a FD, este tipo de detetador está associado a uma sensibilidade superior àquela conseguida com os detetadores UV; porém, o número de compostos naturalmente fluorescentes é inferior àqueles que absorvem luz UV. Esta maior sensibilidade é comprovável através da análise da Tabela 1.4, por observação dos valores de limite mais baixo de quantificação (LLOQ) estabelecidos com ambos os tipos de deteção, sendo possível verificar que com FD são inferiores. Neste contexto, tal como esperado pela observação das propriedades das sondas abordadas nesta revisão, a FD foi mais frequentemente utilizada no desenvolvimento de métodos para a determinação da rodamina 123, uma vez que esta é um corante fluorescente. Por outro lado, este tipo de deteção não foi descrito em métodos de quantificação da loperamida. Mais especificamente, a rodamina 123 foi detetada num amplo espectro de comprimentos de onda de emissão e excitação, sendo estes 524-580 nm e 470-501 nm, respetivamente. No entanto, a maioria dos métodos usaram comprimentos de onda de emissão entre 540-565 nm e de excitação entre 480-485 nm (36,37,116,118,128,129). Relativamente às restantes sondas, o talinolol foi detetado em comprimentos de onda de emissão de 252 nm e de excitação de 332 nm (40,42,55); a fexofenadina foi detetada em comprimentos de onda de emissão de 220 ou 230 nm, e de excitação de 280 ou 290 nm (29,31,54,107); e a digoxina foi detetada em comprimentos de onda de emissão de 217 nm e de excitação de 340 nm (101).

Recentemente, a deteção por MS tornou-se num dos sistemas de deteção mais frequentemente acoplados a HPLC. Oferece elevada sensibilidade e, por conseguinte, está associada a valores baixos de LLOQ aquando do uso de volumes de amostra pequenos. Para além disso, também oferece tempos de corrida curtos e um nível de seletividade dificilmente observado com outros tipos de deteção, sendo também capaz de diferenciar o analito em questão do seu isótopo estável (130). Apesar de ser uma metodologia dispendiosa, atualmente, é usada na quantificação de sondas da gp-P e dos seus metabolitos em matrizes

biológicas; de tal forma que foi o método de detecção mais usado nos casos da digoxina e loperamida (Tabela 1.4). Também se verificou que os métodos analíticos da literatura usaram, de forma mais frequente, espectrómetros de massa com triplo quadrupolo e fonte de ionização por *electrospray* (ESI). Adicionalmente, a maioria dos métodos referidos nesta revisão usou detecção do ião positivo, que deteta moléculas protonadas. Em contraste, Hirabayashi et al. (23) relataram o único estudo que usou detecção de ião negativo, que deteta moléculas desprotonadas, na quantificação de digoxina. Como a digoxina tem elevada propensão para formar aductos com iões amónio e iões de metais alcalinos no modo positivo de LC-MS/MS, Hirabayashi et al. tentaram maximizar a eficiência de ionização do ião alvo, reduzindo a formação de aductos competitivos. A digoxina foi detetada como ião molecular com uma única carga negativa $[M-H]^-$ e o pico correspondente ao ião mais abundante ocorreu na razão massa/carga (m/z) de 649,4. Assim, a detecção de ião negativo foi usada, pois os glicosídeos cardíacos quando sob o modo de ionização positivo, parecem ter elevada afinidade para formar aductos com iões amónio e sódio, tornando-se difícil evitar a contaminação com iões de metais alcalinos (23). De modo a quantificar a loperamida e o seu principal metabolito em sangue total e noutras matrizes, Johansen et al. (94) usaram LC-MS/MS com monitorização de reação múltipla (MRM). As duas transições monitorizadas de composto de origem \rightarrow produto iónico foram m/z 477 \rightarrow 266, m/z 477 \rightarrow 210 para a loperamida; e m/z 463 \rightarrow 252, m/z 463 \rightarrow 196 para a *N*-desmetiloperamida. Num outro estudo, Mitamura et al. (77) determinaram digoxina no soro humano, usando a monitorização de reação selecionada (SRM), para monitorizar a formação de $[M-NH_4]^+$. As reações monitorizadas foram m/z 798,3 \rightarrow 651,3 para a digoxina. Para além disso, Sun et al. (8) reportaram o único método que quantificou rodamina 123 através de detecção MS/MS. Neste estudo, usou-se MRM na transição de m/z 345,2 \rightarrow 285,2 para a rodamina 123.

Os avanços da tecnologia na área bioanalítica, em particular o desenvolvimento de novos sistemas de detecção, tais como a MS/MS, têm fornecido uma nova perspetiva aos programas de desenvolvimento de novos fármacos e de estudos farmacocinéticos. Adicionalmente, permitem a alteração dos protocolos usados neste tipo de programas, bem como os critérios de aceitação que as autoridades reguladoras aprovam no contexto da bioanálise. Neste sentido, os valores de LLOQ obtidos por LC-MS/MS são geralmente suficientemente baixos para permitirem a estimativa de parâmetros farmacocinéticos de candidatos a fármacos (131). Por outro lado, para além da disponibilidade de métodos analíticos sensíveis, ao longo do processo de validação de um método também é importante estabelecer o intervalo de concentrações no qual o método pode ser aplicado. Deste modo, a *guideline* da EMA relativa à avaliação da bioequivalência menciona que o plano de colheita de amostras deve descrever adequadamente o perfil farmacocinético do fármaco (132). Para tal, é necessária uma colheita mais frequente perto do tempo no qual se observa a concentração máxima de fármaco ($t_{m\acute{a}x}$), de modo a permitir uma determinação fidedigna da exposição no $C_{m\acute{a}x}$. Para além disso, também é indispensável a caracterização adequada da fase de eliminação da

curva concentração-tempo, para fornecer uma estimativa consistente da extensão da exposição ao fármaco, que é alcançada se a área sob a curva concentração-tempo desde o tempo 0 até ao último tempo de colheita de amostra (AUC_{0-t}) se sobrepuser em, pelo menos, 80% à área sob a curva concentração-tempo extrapolada para o infinito ($AUC_{0-\infty}$). Através da análise de estudos farmacocinéticos com as sondas da gp-P referidas nesta revisão e, considerando os parâmetros farmacocinéticos obtidos e a *performance* dos métodos analíticos utilizados, é possível concluir que os valores de LLOQ, bem como os intervalos de calibração estabelecidos foram adequados para suportar estudos farmacocinéticos em amostras de plasma de rato (79) e plasma humano (120). Por exemplo, para o talinolol e a digoxina, a AUC_{0-t} representou aproximadamente 84% (120) e 94% (79) da $AUC_{0-\infty}$, respetivamente. Desta forma, considerando os valores de LLOQ estabelecidos nos métodos sumariados na Tabela 1.4, torna-se evidente que muitos destes podem ser aplicados a estudos deste género. De facto, os valores de LLOQ tornam claro que métodos com deteção por MS e MS/MS são mais adequados para a caracterização dos perfis farmacocinéticos de sondas da gp-P.

4.3.4. Seleção do padrão interno

A seleção de um PI adequado é uma etapa relevante para alcançar condições cromatográficas favoráveis, principalmente, no caso de LC-MS/MS, pois o efeito da matriz pode potenciar resultados analíticos indesejáveis. Assim, têm de ser considerados diversos fatores aquando desta etapa de seleção, nomeadamente: acessibilidade do composto; similaridade de propriedades físico-químicas com o analito; e aplicabilidade para a deteção por MS, no caso de o isótopo do analito em questão estar indisponível (133,134).

Relativamente aos métodos cromatográficos que usam deteção por MS ou MS/MS, idealmente, deveria ser usado um PI isotopicamente marcado, dado que estes proporcionam elevada precisão e exatidão numa determinação quantitativa; contudo, são dispendiosos (27). Tal como disposto na Tabela 1.4, diferentes compostos foram usados como PI para cada uma das sondas da gp-P. Assim, verificou-se que talinolol, digoxina e fexofenadina usaram frequentemente compostos marcados com deutério (23,63,64,74,75,77,82,83,94,103,104,110,114), permitindo estes um desenvolvimento do método analítico simples e rápido (97,115).

Relativamente à digoxina, o uso de compostos marcados ao invés de um homólogo estrutural tal como a oleandrina ou metildigoxina (98) possibilitou a obtenção de uma rápida separação com eluição isocrática, sem a necessidade de muito tempo de equilíbrio da coluna entre injeções consecutivas (77). A oleandrina foi usada ocasionalmente como PI pois está associada a uma resolução cromatográfica adequada e a uma boa eficiência de ionização em deteção por MS (22,72). Para além disso, Frommherz et al. (104) reportaram um novo método para a preparação rápida de digoxina marcada com deutério em cerca de 20 minutos.

Considerando a fexofenadina e loperamida, ambas usaram um amplo espectro de substâncias como PI. A terfenadina é o pró-fármaco da fexofenadina e foi usada como PI (80); no entanto, Flynn et al. (112) reportaram que a perda do grupo ácido carboxílico presente na estrutura da fexofenadina resultou num comportamento cromatográfico substancialmente diferente, bem como num *carryover* significativo. Então, considerando estas limitações, a cetirizina foi escolhida como PI e, conseqüentemente, não foram descritos quaisquer problemas de *carryover* ou interferências. Por outro lado, Yu et al. (52) relataram as vantagens do uso de cetoconazol como PI da loperamida: hidrofobicidade e solubilidade em pH alcalino e em fase orgânica similares, valor de m/z adequado, e eficiência de recuperação comparável à da loperamida.

Por último, através da observação da Tabela 1.4, concluiu-se que o propanolol foi o PI mais usado no caso do talinolol. Para além disso, apesar das suas diferenças estruturais, Pathak et al. (41) selecionaram o escitalopram como PI do talinolol, observando uma elevada recuperação e tempo de retenção apropriado. Em contraste com as restantes sondas da gp-P, não existe muita informação publicada sobre este tema relativa à rodamina 123 (Tabela 1.4); ainda assim, o uso de violeta de cristal, rodamina 6G e fucsina de diamante como PI foi reportado.

Tabela 1.4 - Técnicas cromatográficas e condições analíticas para a quantificação de sondas da glicoproteína-P (gp-P) a partir de matrizes biológicas.

Analito	Matriz	Técnica	Deteção	Padrão Interno	Eluição	Coluna	Fase móvel	Fluxo (mL/min)	Tempo de corrida (min)	LLOQ (ng/mL)	Ref.
Digoxina e metabolitos	Soro humano	HPLC	FD Ex: 217 nm Em: 340 nm	Digitoxina	Isocrática	Spherisorb (150 mm x 4,6 mm, 3 µm)	<i>n</i> -Hexano / Diclorometano / Acetonitrilo / Metanol (36:6.3:5.4:0.2, v/v/v/v)	1,6	NR	NR	(101)
Digoxina Digitoxina Lanatóside C Acetildigitoxina Ouabaína	Plasma humano	HPLC	MS	Oleandrina	Gradiente	NovaPak C ₁₈ (150 mm x 2 mm, 4 µm)	Acetonitrilo / NH ₄ COOH (2 mM, pH 3)	0,2	10	NR	(72)
Digoxina e outros glicosídeos cardíacos	Sangue humano Urina humana	HPLC	MS/MS	Metildigoxina	Gradiente	Mightysil RP-18 (150 mm x 2 mm, 5 µm)	A: Acetonitrilo / 2 mM NH ₄ COOH em água (20:80, v/v) B: Acetonitrilo / 2 mM NH ₄ COOH em água (80:20, v/v)	0,2	20	NR	(98)
Digoxina	Plasma (rato)	HPLC	MS/MS	Oleandrina	Isocrática	YMC ODS AQ (50 mm x 2,0 mm, 3 µm)	Acetonitrilo / Formato de amónio (5 mM, pH 3,4) (50:50, v/v)	0,2	4	0,1	(22)
Digoxina e metabolitos	Meio de dissolução	HPLC	UV (218 nm)	NR	Isocrática	LiChrospher RP-18e (125 mm x 4 mm, 5 µm)	Água / Acetonitrilo (72:28, v/v)	1,1	8	NR	(102)
Digoxina Furosemida Vermelho de fenol Propranolol	Intestino (rato)	HPLC	UV (220 nm)	NR	Isocrática	Symmetry C ₁₈ WAT054275 (NR)	Tampão acetato (pH 3,0) / Acetonitrilo / Metanol (50:25:25, v/v/v)	0,5	18	25 25 10 10	(2)
Digoxina	Plasma humano Urina humana	HPLC	MS/MS	Digoxina-d ₃	Isocrática	Luna C ₁₈ (150 mm x 2 mm, 5 µm)	Acetato de amónio (5 mM) / Acetonitrilo (60:40, v/v)	0,25	5	0,2 1	(77)

Digoxina	Soro humano	HPLC	MS/MS	Digoxina-d ₃	Isocrática	Develosil ODS-HG-5 (150 mm x 2 mm, 5 µm)	Metanol (5 mM) / NH ₄ HCO ₂ (3:2, v/v)	0,2	NR	NR	(103)
Digoxina Digitoxina	Sangue humano Plasma humano Urina humana Conteúdo gástrico humano	HPLC	MS	Digoxina-d ₃	Isocrática	Waters X-Terra MS-C ₈ (150 mm x 2,1 mm, 3,5 µm)	Metanol / Água (55:45, v/v) ^a	0,2	30	0,2 ng/g sangue	(104)
Digoxina	Plasma humano Urina humana	HPLC	MS	Digitoxina	Gradiente	Zorbax XDB-C ₈ (50 mm x 2,1 mm, 5 µm)	Acetato de amónio (0,25 mM) em água / Acetato de amónio em metanol (0,25 mM)	0,25	14	0,05	(105)
Digoxina	Plasma (rato)	HPLC	MS/MS	Oleandrina	Gradiente	Zorbax Eclipse XDB-C ₁₈ (50 mm x 4,6 mm, 1,8 µm)	A: formato de amónio (5 mM) / ácido fórmico 0,1% B: Acetonitrilo	0,4	NR	0,005	(95)
Digoxina	Plasma humano	HPLC	MS/MS	Digitoxina	Gradiente	Capcellpak C ₁₈ MG (20 mm x 2,0 mm, 5 µm)	A: NH ₄ HCO ₃ (10 mmol/L) / Metanol (9:1, v/v) B: NH ₄ HCO ₃ (10 mmol/L) / Metanol (1:9, v/v)	0,6-1,5	17	0,04	(78)
Digoxina Digitoxina	Sangue humano	HPLC	MS/MS	Digoxina-d ₃	Gradiente	Atlantis dC ₁₈ (50 mm x 2,1 mm, 3 µm)	A: formato de amónio (10 mmol/L, pH 3,1) B: Acetonitrilo	0,3	11	0,08	(75)
Digoxina	Plasma humano Plasma (rato) Cérebro (rato)	HPLC	MS/MS	Digoxina-d ₃	Gradiente	ODS C ₁₈ (50 mm x 2,1 mm, 5 µm)	A: Carbonato de amónio, pH 9,0 (0,05, w/v) B: Metanol	0,7	4,5	0,1	(23)
Digoxina Metildigoxina Deslanósido Digitoxina	Sangue humano Urina humana	HPLC	UV (220 nm) MS/MS	Digitoxigenina	Isocrática	PIPAAm (150 mm x 2,1 mm)	Formato de amónio (2,5 mM, pH 3,4) / Metanol (85:15, v/v)	0,3	15	NR	(70)
Digoxina Midazolam 1'-hidroximidazolam	Plasma (rato)	HPLC	MS/MS	Digitoxina	Isocrática	XTerra MS C ₁₈ (50 mm x 2,1 mm, 3,5 µm)	Metanol / Água (80:20, v/v) ^b	0,2	2	0,5	(79)

Digoxina e outros glicosídeos cardíacos	Soro humano	HPLC	MS/MS	Digoxina-d ₃	Gradiente	Luna Phenyl-hexyl (50 mm x 4,6 mm, 5 µm)	A: Água / Metanol (95:5, v/v) B: Acetonitrilo / Metanol (50:50, v/v)	0,5	11	0,12	(64)
Digoxina Metildigoxina	Sangue humano	UPLC	MS/MS	Digoxina-d ₃	Isocrática	Acquity UPLC HSS T3 (100 mm x 2,1 mm, 1,8 µm)	Acetonitrilo / Formato de amónio (5 mM) (70:30, v/v) ^c	0,3	1,5	0,28	(63)
Digoxina e outras toxinas de origem vegetal	Sangue humano	UPLC	MS/MS	Digoxina-d ₃	Gradiente	Acquity UPLC HSS C ₁₈ (150 mm x 2,1 mm, 1,8 µm)	A: Acetonitrilo ^a B: Formato de amónio (2 mM, pH 3)	0,4	15	NR	(74)
Fexofenadina	Soro humano Urina humana	HPLC	FD Ex: 230 nm Em: 280 nm	Difenidramina	Isocrática	NR (100 mm x 4,6 mm, 5 µm)	Acetato de amónio (20 mmol/L, pH 7) / Acetonitrilo (55:45, v/v)	1,0	NR	NR	(31)
Fexofenadina	Plasma humano Urina humana	HPLC	MS	MDL 026042	Gradiente	Luna CN (100 mm x 2,0 mm, 3 µm)	A: Acetato de amónio (12 mM) B: Acetonitrilo	0,25	NR	0,5 2	(106)
Fexofenadina	Plasma humano	HPLC	FD Ex: 220 nm Em: 290 nm	Difenidramina	Gradiente	Inertsil ODS-80A (150 mm x 4,6 mm, 5 µm)	A: Tampão KH ₂ PO ₄ (0,05 M) / Acetonitrilo / Metanol (60:35:10, v/v/v) B: Tampão KH ₂ PO ₄ (0,05 M) / Acetonitrilo (40:60, v/v)	1,0	17	1	(107)
Fexofenadina	Plasma humano Urina humana	HPLC	FD Ex: 220 nm Em: 290 nm	Difenidramina	NR	Inertsil ODS-80A (150 mm x 4,6 mm, 5 µm)	NR	1,0	NR	1	(54)
Fexofenadina Pseudoefedrina	Plasma humano	HPLC	MS/MS	Mosaprida	Isocrática	Symmetry C ₁₈ (150 mm x 4,6 mm, 5 µm)	Ácido fórmico (0,03%) / Acetonitrilo (40:60, v/v)	1,0	2	1	(108)
Fexofenadina	Perfusato de fígado (rato)	HPLC	UV (225 nm)	NR	Isocrática	EPS C ₁₈ (250 mm x 4,6	KH ₂ PO ₄ ^d (0,024 mol/L) / Acetonitrilo (58:42, v/v)	NR	NR	NR	(91)

(R)- Fexofenadina (S)- Fexofenadina	Fígado (rato) Bilis (rato)					mm)						
	Plasma humano	HPLC	UV (220 nm)	Difenidramina	NR	Chiral CD-Ph (250 mm x 4,6 mm)	KH ₂ PO ₄ (0,5%, pH 3,5) / Acetonitrilo (65:35, v/v)	0,5	60	25	(30)	
Fexofenadina	Plasma humano	HPLC	MS/MS	Mosaprida	Isocrática	Symmetry C ₁₈ (150 mm x 4,6 mm, 5 µm)	Ácido fórmico (0,03%) / Acetonitrilo (40:60, v/v)	1,0	2	1	(27)	
Fexofenadina	Plasma humano - Microdose Plasma humano	HPLC	MS/MS	Terfenadina	Isocrática	XBridge C ₁₈ (100 mm x 2,1 mm, 3,5 µm)	Acetonitrilo / Acetato de amônio (2 mM) (91:9, v/v)	0,6	2,4	1 0,01	(80)	
Fexofenadina	Plasma (rato)	HPLC	FD Ex: 220 nm Em: 280 nm	Difenidramina	Isocrática	SupeHPLCo C ₁₈ -DB (250 mm x 4,6 mm, 5 µm)	Acetato de amônio (pH 5,6) / Acetonitrilo (63:37, v/v)	1,0	13	1	(29)	
Fexofenadina	Plasma (rato)	HPLC	UV (195 nm)	Piroxicam	Isocrática	Gemini C ₁₈ (150 mm x 4,6 mm, 5 µm)	Trietilamina (0,1 M) / Acetonitrilo / Metanol (61:19,5:19,5, v/v/v)	1,0	NR	NR	(109)	
Fexofenadina	Plasma humano	HPLC	MS/MS	Glipizida	Isocrática	Zorbax SB-C ₁₈ (100 mm x 2,1 mm, 5 µm)	Tampão ^e / Metanol (70:30, v/v)	0,2	3	1	(81)	
Fexofenadina	Plasma humano	HPLC	MS/MS	Fexofenadina-d ₆	Isocrática	Gemini C ₁₈ (50 mm x 2 mm, 5 µm)	Água / Metanol (35:65, v/v)	0,2	2	NR	(110)	
Fexofenadina, Buspirona, Omeprazole e metabólitos	Plasma humano	HPLC	MS/MS	Lansoprazol	Gradiente	Luna C ₁₈ (50 mm x 2,0 mm, 5 µm)	Acetonitrilo / Bicarbonato de amônio (7,5 mM, pH 8)	0,5	12	1	(111)	
Fexofenadina	Lisado celular de HEK293	HPLC	MS/MS	Cetirizina	Gradiente	Luna C ₁₈ (50 mm x 2,0 mm, 5 µm)	A: Formato de amônio (7,5 mM, pH 5) B: Acetonitrilo / Metanol (50:50, v/v)	0,5	5	1	(112)	

Fexofenadina	NR	HPLC	DAD (215 nm)	Lisinopril	Isocrática	Hypersil BDS C ₁₈ (250 mm x 4,6 mm, 5 µm)	Tampão fosfato (pH 2,7) / Metanol (60:40, v/v)	1,5	NR	NR	(126)
Fexofenadina	Plasma (rato)	UPLC	MS/MS	-----	Gradiente	Cadenza CD- C ₁₈ HT (50 mm x 2,0 mm, 3 µm)	A: Ácido fórmico (0,1%) B: Ácido fórmico (0,1%) em acetoneitrilo	0,75	2	NR	(71)
Fexofenadina	Plasma humano	HPLC	FD Ex: 230 nm Em: 290 nm	Difenidramina	Isocrática	Symmetry C ₁₈ (250 mm x 4,6 mm, 5 µm)	Acetato de amónio (0,1 mol/L) / Acetoneitrilo (63:37, v/v)	1,0	NR	NR	(76)
Fexofenadina Montelucaste	Plasma humano	HPLC	MS/MS	Fexofenadina-d ₁₀	Isocrática	Chromolith RP _{18e} (100 mm x 4,6 mm, 5 µm)	Formato de amónio (20 mM) / Acetoneitrilo (20:80, v/v)	1,2	4	2	(82)
Loperamida	Plasma (rato) Soluções de BSA	HPLC	UV (195 nm)	Clomipramina	Isocrática	Luna C ₁₈ (250 mm x 4,6 mm, 5 µm)	Acetoneitrilo / Tampão fosfato (20 mM, pH 2,3) / Dietilamina (40:60:0,08, v/v/v)	1,0	22	NR	(113)
Loperamida N- desmetiloperamida	Plasma humano	HPLC	MS	O-Acetil- Loperamida	Gradiente	Zorbax XDB- C ₁₈ (150 mm x 2,1 mm, 5 µm)	A: acetato de amónio (20 mM, pH 6,6) em água B: Acetoneitrilo	0,3	12	0,1	(93)
Loperamida e metabolitos desmetilados	Plasma humano Urina humana	HPLC	MS/MS	Metadona	Isocrática	Zorbax Eclipse XDB-C ₈ (150 µm x 2,1 mm, 5 µm)	Acetato de amónio (4 mM, pH 4,6) / Metanol-Acetoneitrilo (1:1, v/v) (35:65, v/v)	0,25	NR	P: 0,08	(97)
Loperamida N- desmetiloperamida	Sangue (central e periférico), urina, conteúdo gástrico, biliar, rim e fígado	HPLC	MS	Difenoxilato	Isocrática	Zorbax StableBond-C ₁₈ (30 mm x 2,1 mm, 1,8 µm)	Água ^a / Acetoneitrilo (60:40, v/v)	0,5	NR	NR	(51)
Loperamida	Plasma humano	HPLC	MS	Cetoconazole	Isocrática	Zorbax RX C ₁₈	Acetoneitrilo / Água / Ácido	0,5	2	0,05	(52)

Loperamida N-desmetiloperamida	Sangue humano Músculo humano homogeneizado Fígado humano homogeneizado	HPLC	MS/MS	Metadona- d ₃	Isocrática	l (150 mm x 2,1 mm, 5 µm)	fórmico (0,1%) (50:50, v/v) Acetonitrilo / Água (70:30, v/v)	0,2	NR	0,1 µg/Kg	(94)
Loperamida, amprenavir, citalopram, Digoxina, elacridar, imatinib, Ko143, prazosina, quinidina, sulfassalazina e verapamil	Homogeneizado de plasma e cérebro de murganho (1:1, v/v)	HPLC	MS/MS	Amprenavir -d ₄	NR	Halo C ₁₈ (NR)	NR	NR	NR	0,122 -7,8	(114)
Loperamida Diazepam Verapamil Varfarina Nordiazepam	Plasma humano	HPLC	MS	Lorazepam	Gradiente	Discovery C ₁₈ (50 mm x 2,1 mm, 5 µm)	Acetonitrilo / Acetato de amónio (20 mM, pH 7)	0,25	9	NR	(69)
Loperamida Citalopram Paroxetina Petidina Sertralina	Plasma humano	HPLC	MS	Metadona	Gradiente	Biobasic-C ₈ (50 mm x 1,0 mm, 5 µm)	A: ácido fórmico (20 mM) / Metanol (95:5, v/v) B: ácido fórmico (20 mM) / Metanol (5:95, v/v)	0,05	24,1	1,5	(89)
Loperamida	HEPES tamponado com solução de <i>Ringer</i>	HPLC	MS/MS	Metadona- d ₃	Gradiente	Atlantis dC ₁₈ (20 mm x 2,1 mm, 3 µm)	A: Metanol / Água (97:3, v/v) + acetato de amónio (10 mM) + ácido acético (0,1%) B: Metanol / Água (10:90, v/v) + acetato de amónio (10 mM) + ácido fórmico (0,1%)	0,7	3	0,2	(115)
Loperamida Elacridar Tariquidar	Plasma (rato) Cérebro (rato)	HPLC	MS	Cetoconazo l	Isocrática	Zorbax Eclipse XDB-C ₁₈ (150 mm x 2,1 mm, 5 µm)	Acetato de amónio (10 mM, pH 5,5) / Metanol / Acetonitrilo (37,5:40:22,5 v/v/v)	0,4	NR	5	(7)

Loperamida	Dispersões sólidas	HPLC	UV (220 nm)	NR	Isocrática	Hypersil BDS-C ₁₈ (100 mm x 4,0 mm, 3 µm)	C ₁₆ H ₃₇ NO ₄ S (1 mM) / Acetonitrilo (70:30, v/v)	1,0	NR	NR	(73)
Loperamida	Lisados celulares	HPLC	UV (214 nm)	Difenoxilato	Isocrática	Zorbax RX C ₁₈ (150 mm x 4,6 mm, 5 µm)	KH ₂ PO ₄ (25 mM, pH 2,8) / Acetonitrilo (55:45, v/v)	1,5	NR	NR	(127)
Loperamida	Plasma humano Saliva humana	HPLC	MS/MS	Loperamida-d ₆	Isocrática	ACE C ₁₈ (50 mm x 2,1 mm, 5 µm)	Água / Metanol (30:70, v/v) ^a	0,75	NR	0,02	(83)
Rodamina 123	Plasma (rato)	HPLC	FD Em: 550 nm Ex: 485 nm	Violeta de cristal	Gradiente	Radial-Pak (100 mm x 8,0 mm)	Acetonitrilo / Formato de amônio (0,05 M, pH 4,0)	3,0	21	NR	(37) (128)
Rodamina 123	Plasma (rato)	HPLC	FD Em: 540 nm Ex: 480 nm	NR	Isocrática	Hewlett-Packard RP C ₁₈ (200 mm x 2,1 mm, 5 µm)	Acetonitrilo / Tampão ^f (315:685, v/v)	0,24	NR	NR	(116)
Rodamina 123	Sangue (rato) Urina (rato) Bilis (rato)	HPLC	FD Em: 546 nm Ex: 485 nm	NR	Isocrática	TSKgel ODS-80TM (NR)	Acetonitrilo / Ácido acético 1% (40:60, v/v)	1,0	NR	NR	(129)
Rodamina 123	Meio celular	HPLC	FD Em: 525 nm Ex: 498 nm	NR	Isocrática	Platinum C ₁₈ (250 mm x 4,6 mm, 5 µm)	NaH ₂ PO ₄ (50 mM, pH 2.5) / Acetonitrilo (50:50, v/v)	1,0	NR	NR	(135)
Rodamina 123	Plasma (rato) Urina (rato) Bilis (rato) Dialisado	HPLC	FD Em: 524 nm Ex: 501 nm	NR	Isocrática	Cosmocil 5C ₁₈ (150 mm x 4,6 mm)	NH ₄ H ₂ PO ₄ (10 mM)/ácido cítrico (pH 4) / Acetonitrilo (2:1, v/v)	1,0	NR	NR	(117)
Rodamina 123 e metabolitos	Perfusato de placenta (rato)	HPLC	UV (500 nm)	Fucsina de diamante	Isocrática	LiChroCART (125 mm x 4,0 mm, 5 µm)	Acetonitrilo / Tampão fosfato (0,01 M, pH 3) (3:7, v/v)	1,0	14	NR	(99)

Rodamina 123	Lisados celulares	HPLC	UV (500 nm)	Rodamina 6G	Isocrática	Nova Pak C ₁₈ (150 mm x 3,9 mm)	Acetonitrilo / C ₁₆ H ₃₆ BrN (1,5 mM) / Tampão acetato (20 mM, pH 4) (50:20:30, v/v/v)	1,0	6	NR	(35)
Rodamina 123	Plasma (rato) Cérebro (rato)	HPLC	FD Em: 565 nm Ex: 485 nm	NR	Isocrática	Shim-Pack ODS (150 mm x 4,6 mm, 4,6 µm)	Ácido acético (1%) / Acetonitrilo (3:2, v/v)	1,0	NR	3,12 0,32 ng/g cérebro	(118)
Rodamina 123	Plasma (coelho)	HPLC	FD Em: 546 nm Ex: 485 nm	NR	Isocrática	Chromolith RP-18 (100 mm x 4,6 mm, 3 µm)	KH ₂ PO ₄ (20 mM) ^g / Acetonitrilo (7:3, v/v)	1,0	NR	1,94	(36)
Rodamina 123 Rodamina 110 Rodamina glucuronido	Homogeneizado de fígado (rato) Perfusato de fígado (rato) Bilis (rato)	HPLC	FD Em: 580 nm Ex: 470 nm	NR	Isocrática	Microsorb-MV 100-5 C ₁₈ (250 mm x 4,6 mm, 5 µm)	KH ₂ PO ₄ (20 mM, pH 3) / Acetonitrilo (50:50, v/v)	1,0	NR	NR	(92)
Rodamina 123	Plasma (rato)	HPLC	MS/MS	Rodamina 6G		Eclipse Plus C ₁₈ (150 mm x 4,6 mm, 3,5 µm)	Tampão ^h / Metanol (5:95, v/v)	0,5	4	1	(8)
Talinolol e metabolitos	Soro humano Urina humana	HPLC	UV (242 nm)	Metoclopramida	Isocrática	NR (100 mm x 2,1 mm x 5 µm)	Diclorometano-Metanol (87:13, v/v) / Amônio (0,5%)	1,0	NR	NR	(65)
Talinolol Celiprolol Metoprolol Oxprenolol Tiracizina	Soro humano Urina humana	HPLC	UV (242 nm)	NR	Isocrática	LiChrospher RP ₁₈ ADS (125 mm x 4,0 mm, 5 µm)	Acetonitrilo / Fosfato de potássio (0,05 mol/L, pH 4) (27:73, v/v)	1,0	NR	NR	(119)
Talinolol	Soro humano	HPLC	FD Em: 332 nm Ex: 252 nm	Propranolol	Isocrática	LiChrospher 60 RP-select B (NR)	Fosfato de trietilamônio (0,025 mol/L, pH 3,0) / Acetonitrilo (77:23, v/v)	0,8	NR	NR	(55)

(S)-Talinolol (R)-Talinolol	Sangue (rato)	HPLC	UV (245 nm)	Pindolol	Isocrática	LiChroCart (250 mm x 4,0 mm x 5 µm)	Acetonitrilo-trietilamina / Etanol (0,5:1000, v/v)	0,45	NR	2	(96)
Talinolol	Sangue (rato)	HPLC	FD Em: 332 nm Ex: 252 nm	Propranolol	Isocrática	Platinum C ₈ (150 mm x 4,6 mm, 4 µm)	KH ₂ PO ₄ (10 mM, pH 3,5) / Acetonitrilo (75:25, v/v)	1,0	NR	NR	(42)
(S)-Talinolol (R)-Talinolol	Soro humano	HPLC	FD Em: 332 nm Ex: 252 nm	(S)- Propranolol	Isocrática	LiChroCART 2504 (NR)	Etanol com trietilamina (0,05%) / Acetonitrilo (60:40, v/v)	1,0	20	NR	(40)
Talinolol	Plasma humano	HPLC	MS	Propranolol	Isocrática	Phenomenex C ₁₈ (250 mm x 4,6 mm x 5 µm)	Tampão (ácido fórmico 1% + NH ₄ Ac 10 mmol/L) / Acetonitrilo (60:40, v/v)	0,85	5,5	NR	(38)
Talinolol	Plasma (rato)	HPLC	UV (241 nm)	Propranolol	Isocrática	Lichrospher 6ORP-Select B (250 mm x 4,6 mm x 5 µm)	Fosfato de trietilamônio (0,025 mol/L, pH 3,0) / Acetonitrilo (77:23, v/v)	1,0	NR	NR	(100)
Talinolol	Plasma humano	HPLC	MS/MS	Propranolol	Gradiente	XTerra C ₁₈ (50 mm x 4,6 mm x 3,5 µm)	A: Acetato de amônio (5 mM) em água + ácido acético 1% B: Acetato de amônio (5 mM) em metanol + ácido acético 1%	0,8	4	2,5	(84)
Talinolol	Plasma (rato)	HPLC	MS/MS	Propranolol	Gradiente	Capcell Pack C ₁₈ (100 mm x 4,6 mm x 5 µm)	A: ácido fórmico (0.1%) em água B: Acetonitrilo	0,6	4	1	(85)
Talinolol	Plasma (rato)	HPLC	UV (245 nm)	Escitalopram	Isocrática	Vydac C ₁₈ (250 mm x 4,6 mm x 5 µm)	Acetonitrilo / Tampão KH ₂ PO ₄ (34:66, v/v)	1,0	13,5	10	(41)

Talinolol e its degradation products	Comprimidos	HPLC	UV (242 nm)	NR	Isocrática	Inertsil ODS-3 C ₁₈ (250 mm x 4,6 mm, 5 µm)	Tampão KH ₂ PO ₄ (pH 4,4) / Acetonitrilo (27:73, v/v)	1,0	NR	0,378	(86)
Talinolol	Formulação lipídica	UPLC	UV (245 nm)	NR	Isocrática	HSS C ₁₈ (50 mm x 2,1 mm x 1,8 µm)	Tampão fosfato (pH 4,5) / Acetonitrilo (70:30, v/v)	0,4	1,8	500	(125)
Talinolol	Plasma humano	HPLC	MS/MS	Propranolol	Gradiente	Polaris C ₁₈ (50 mm x 2,0 mm x 3 µm)	A: ácido fórmico 1% em água B: ácido fórmico 1% em metanol	0,25	3	NR	(87)
Talinolol	Plasma humano Urina humana	HPLC	UV (240 nm)	Carvedilol	Isocrática	Prontosil NC-04 C ₁₈ (250 mm x 4,0 mm, 5 µm)	Formato de sódio/ácido fórmico (15 mM/25 mM, pH 2,75) / Acetonitrilo (55:45, v/v)	1,0	NR	7 50	(120)

^a constituído por ácido fórmico 0,1 %.

^b constituído por formato de amónio (5 mM) e ácido fórmico 0,1%.

^c constituído por formato de amónio (10 mM) e ácido fórmico 0,1%.

^d pH ajustado a 3,6 com recurso a H₃PO₄ (0,1 mol/L).

^e constituído por acetato de amónio (10 mmol/L) e ácido fórmico 0,1%.

^f constituído por fosfato de amónio (10 mM), citrato de sódio (10 mM); pH ajustado a 4,0 com recurso a HCl (1 N).

^g pH ajustado a 3,0 com recurso a H₃PO₄.

^h constituído por acetato de amónio (5 mM) e ácido fórmico 0,1%.

LLOQ, limite mais baixo de quantificação; NR, não reportado; HPLC, cromatografia líquida de alta eficiência; UPLC, cromatografia líquida de ultra eficiência; UV, deteção ultravioleta; MS, espectrometria de massa; MS/MS, espectrometria de massa em tandem; FD, deteção de fluorescência; HEPES, ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinaetanosulfónico; BSA, albumina do soro bovino; Em, comprimento de onda de emissão; Ex, comprimento de onda de excitação.

5. Conclusão

A gp-P desempenha um papel fundamental na permeabilidade, bem como na biodisponibilidade de fármacos. Deste modo, é expectável um uso crescente de sondas da gp-P de forma a determinar a extensão da contribuição deste transportador na cinética de fármacos, bem como em interações farmacológicas.

Neste trabalho de revisão, sumariaram-se os métodos cromatográficos publicados que foram desenvolvidos e validados tendo como objetivo não só a determinação de algumas das mais importantes sondas da gp-P (digoxina, fexofenadina, loperamida, rodamina 123 e talinolol), como também dos seus metabolitos em matrizes biológicas e formulações farmacêuticas. Neste sentido, verificou-se que as técnicas de preparação de amostras predominantemente usadas foram as tradicionais LLE, SPE e PP. Os métodos cromatográficos desenvolvidos usaram essencialmente técnicas de HPLC-MS/MS e HPLC-MS em fase reversa, permitindo estes a quantificação apropriada com tempos de corrida curtos. A exceção ao exposto foi a rodamina 123 que, aproveitando as suas propriedades de fluorescência, foi maioritariamente quantificada com recurso a técnicas de HPLC-FD. No entanto, mais recentemente, novas técnicas de UPLC-MS/MS têm vindo a ser desenvolvidas, na medida em que permitem maior sensibilidade e seletividade na quantificação.

Em conclusão, encontra-se desenvolvida uma quantidade considerável de métodos cromatográficos suficientemente sensíveis e seletivos para a quantificação de digoxina, fexofenadina, loperamida, rodamina 123 e talinolol, que podem tornar-se úteis, por exemplo, no estudo da farmacocinética destes fármacos em humanos e espécies animais. Desta forma, esta revisão fornece uma boa perspetiva para o futuro desenvolvimento de novos métodos analíticos para a determinação destas sondas da gp-P.

6. Bibliografia

1. Ma JD, Tsunoda SM, Bertino JS, Trivedi M. Evaluation of in vivo P-glycoprotein phenotyping probes. *Clin Pharmacokinet*. 2010;49(4):223-37.
2. Varma MVS, Kapoor N, Sarkar M, Panchagnula R. Simultaneous determination of digoxin and permeability markers in rat in situ intestinal perfusion samples by RP-HPLC. *J Chromatogr B*. 2004;813(1-2):347-52.
3. Tayrouz Y, Ganssmann B, Ding R, Klingmann A, Aderjan R, Burhenne J, et al. Ritonavir increases loperamide plasma concentrations without evidence for P-glycoprotein involvement. *Clin Pharmacol Ther*. 2001;70(5):405-14.
4. Juliano RL, Ling V. A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochim Biophys Acta*. 1976;455(1):152-62.
5. Vandebossche J, Huisman M, Xu Y. Loperamide and P-glycoprotein inhibition: assessment of the clinical relevance. *J Pharm Pharmacol*. 2010;62(4):401-12.
6. Fortuna A, Alves G, Falcão A. In vitro and In vivo Relevance of the P-glycoprotein Probe Substrates in Drug Discovery and Development: Focus on Rhodamine 123, Digoxin and Talinolol. *J Bioequiv Availab*. 2011;01(02):1-24.
7. Montesinos RN, Moulari B, Gromand J, Beduneau A, Lamprecht A, Pellequer Y. Coadministration of p-glycoprotein modulators on loperamide pharmacokinetics and brain distribution. *Drug Metab Dispos*. 2014;42(4):700-6.
8. Sun Y Bin, Wen YG, Yan Y, Li GF. Determination of Rhodamine 123 in rat plasma utilizing liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci*. Elsevier B.V.; 2011;879(32):3943-8.
9. Varma MVS, Ashokraj Y, Dey CS. P-glycoprotein inhibitors and their screening: a perspective from bioavailability enhancement. *Pharmacol Res*. 2003;48(4):347-59.
10. Kivistö KT, Niemi M, Fromm MF. Functional interaction of intestinal CYP3A4 and P-glycoprotein. *Fundam Clin Pharmacol*. 2004;18(6):621-6.
11. Watkins PB. The barrier function of CYP3A4 and P-glycoprotein in the small bowel. *Adv Drug Deliv Rev*. 1997;27(2-3):161-70.
12. Food and Drug Administration. Guidance for industry - Drug interaction studies. 2012 [Consultado em 30/07/2015]. Disponível em: <http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm292362.pdf>
13. European Medicines Agency. Guideline on the investigation of drug interactions. 2012 [Consultado em 30/07/2015]. Disponível em: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2012/07/WC500129606.pdf

14. Callaghan R. Structure of the Multidrug Resistance P-glycoprotein to 2.5nm Resolution Determined by Electron Microscopy and Image Analysis. *J Biol Chem.* 1997;272(16):10685-94.
15. Fromm MF. Importance of P-glycoprotein at blood-tissue barriers. *Trends Pharmacol Sci.* 2004;25(8):423-9.
16. Drescher S, Schaeffeler E, Hitzl M, Hofmann U, Schwab M, Brinkmann U, et al. MDR1 gene polymorphisms and disposition of the P-glycoprotein substrate fexofenadine. *Br J Clin Pharmacol.* 2002;53(5):526-34.
17. Schinkel AH, Jonker JW. Mammalian drug efflux transporters of the ATP binding cassette (ABC) family: An overview. *Adv Drug Deliv Rev.* 2012;64(SUPPL.):138-53.
18. Tsuji a, Tamai I, Sakata a, Tenda Y, Terasaki T. Restricted transport of cyclosporin A across the blood-brain barrier by a multidrug transporter, P-glycoprotein. *Biochem Pharmacol.* 1993;46(6):1096-9.
19. Oswald S, Terhaag B, Siegmund W. In Vivo Probes of Drug Transport Commonly Used Probe Drugs to Assess Function of Intestinal P-glycoprotein. *Drug Transporters, Handbook of Experimental Pharmacology.* 2011. 403-447 p.
20. Infarmed. Resumo das características do medicamento - Lanoxin. 2011. [Consultado em 05/08/2015]. Disponível em: http://www.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=4892&tipo_doc=rcm
21. De Lannoy I a M, Silverman M. The MDR1 gene product, P-glycoprotein, mediates the transport of the cardiac glycoside, digoxin. *Biochem Biophys Res Commun.* 1992;189(1):551-7.
22. Yao M, Zhang H, Chong S, Zhu M, Morrison R a. A rapid and sensitive LC/MS/MS assay for quantitative determination of digoxin in rat plasma. *J Pharm Biomed Anal.* 2003;32(6):1189-97.
23. Hirabayashi H, Sugimoto H, Matsumoto S, Amano N, Moriwaki T. Development of a quantification method for digoxin, a typical P-glycoprotein probe in clinical and non-clinical studies, using high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry: The usefulness of negative ionization mode to avoid competitive adduct-ion formation. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci. Elsevier B.V.;* 2011;879(32):3837-44.
24. Nader AM, Foster DR. Suitability of digoxin as a p-glycoprotein probe: Implications of other transporters on sensitivity and specificity. *J Clin Pharmacol.* 2014;54(1):3-13.
25. Adachi Y, Suzuki H, Sugiyama Y. Comparative Studies on in Vitro Methods for Evaluating in Vivo Function of MDR1 P-Glycoprotein. *Pharm Res.* 2001;18(12):1660-8.
26. Stephens RH, O'Neill C a, Warhurst a, Carlson GL, Rowland M, Warhurst G. Kinetic profiling of P-glycoprotein-mediated drug efflux in rat and human intestinal epithelia. *J Pharmacol Exp Ther.* 2001;296(2):584-91.

27. Nirogi R, Kandikere V, Shukla M, Mudigonga K. Quantification of fexofenadine in human plasma by liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry using mosapride as internal standard. *Biomed Chromatogr.* 2007;21:209-16.
28. Infarmed. Resumo das características do medicamento - Telfast. 2011 [Consultado em 02/08/2015]. Disponível em: http://www.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=36737&tipo_doc=rcm
29. Pathak SM, Kumar AR, Musmade P, Udupa N. A simple and rapid high performance liquid chromatographic method with fluorescence detection for the estimation of fexofenadine in rat plasma - Application to preclinical pharmacokinetics. *Talanta.* 2008;76(2):338-46.
30. Miura M, Uno T, Tateishi T, Suzuki T. Determination of fexofenadine enantiomers in human plasma with high-performance liquid chromatography. *J Pharm Biomed Anal.* 2007;43(2):741-5.
31. Hamman M a., Bruce M a., Haehner-Daniels BD, Hall SD. The effect of rifampin administration on the disposition of fexofenadine. *Clin Pharmacol Ther.* 2001;69(3):114-21.
32. Infarmed. Resumo das características do medicamento - Imodium. 2013. [Consultado em 05/08/2015]. Disponível em: http://www.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=4442&tipo_doc=rcm
33. Schinkel AH, Wagenaar E, Mol C a a M, Van Deemter L. P-glycoprotein in the blood-brain barrier of mice influences the brain penetration and pharmacological activity of many drugs. *J Clin Invest.* 1996;97(11):2517-24.
34. Zoghbi SS, Liow J-S, Yasuno F, Hong J, Tuan E, Lazarova N, et al. 11C-loperamide and its N-desmethyl radiometabolite are avid substrates for brain permeability-glycoprotein efflux. *J Nucl Med.* 2008;49(4):649-56.
35. Song JP. Determination of rhodamine 123 in cell lysate by high-performance liquid chromatography with visible wavelength detection. *J Cent South Univ (Medical Sci.)* 2006;31(4):610-2.
36. Senthilkumari S, Velpandian T, Biswas NR, Sonali N, Ghose S. Evaluation of the impact of P-glycoprotein (P-gp) drug efflux transporter blockade on the systemic and ocular disposition of P-gp substrate. *J Ocul Pharmacol Ther.* 2008;24(3):290-300.
37. Sweatman TW, Seshadri R, Israel M. Metabolism and elimination of rhodamine 123 in the rat. *Cancer Chemother Pharmacol.* 1990;27(3):205-10.
38. He J, Terhaag B, Yang L-Y, Zhang B-K. Determination of talinolol in human plasma by high performance liquid chromatography - electrospray ionization mass spectrometry: Application to pharmacokinetic study. *J Chromatogr B.* 2007;853:275-80.
39. Kovarik P, Grivet C, Bourgogne E, Hopfgartner G. Method development aspects for the quantitation of pharmaceutical compounds in human plasma with a matrix-assisted laser desorption/ionization source in the multiple reaction monitoring mode. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2007;21:911-9.

40. Zschiesche M, Lemma GL, Klebingat KJ, Franke G, Terhaag B, Hoffmann A, et al. Stereoselective disposition of talinolol in man. *J Pharm Sci.* 2002;91(2):303-11.
41. Pathak SM, Musmade PB, Bhat KM, Udupa N. Validated HPLC method for quantitative determination of talinolol in rat plasma and application to a preclinical pharmacokinetic study. *Bioanalysis.* 2010;2(1):95-104.
42. Deferme S, Mols R, Van Driessche W, Augustijns P. Apricot extract inhibits the P-gp-mediated efflux of talinolol. *J Pharm Sci.* 2002;91(12):2539-48.
43. Suzuki H, Sugiyama Y. Role of metabolic enzymes and efflux transporters in the absorption of drugs from the small intestine. *Eur J Pharm Sci.* 2000;12(1):3-12.
44. Kunta JR, Sinko PJ. Intestinal drug transporters: in vivo function and clinical importance. *Curr Drug Metab.* 2004;5(1):109-24.
45. Prueksaritanont T, Chu X, Gibson C, Cui D, Yee KL, Ballard J, et al. Drug-drug interaction studies: regulatory guidance and an industry perspective. *AAPS J.* 2013;15(3):629-45.
46. Fromm MF. Transporter-mediated drug - drug interactions R eview. *Blood.* 2011;1017-37.
47. Food and Drug Administration. Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation. 2001 [Consultado em 23/07/2015]. Disponível em: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/.../Guidances/ucm070107.pdf>
48. European Medicines Agency. Guideline on bioanalytical method validation. 2011 [Consultado em 23/07/2015]. Disponível em: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2011/08/WC500109686.pdf
49. Nováková L, Vlčková H. A review of current trends and advances in modern bio-analytical methods: Chromatography and sample preparation. *Anal Chim Acta.* 2009;656(1-2):8-35.
50. Smith SM, Gums JG. Fexofenadine: biochemical, pharmacokinetic and pharmacodynamic properties and its unique role in allergic disorders. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2009;5(7):813-22.
51. Sklerov J, Levine B, Moore K a, Allan C, Fowler D. Tissue distribution of loperamide and N-desmethyloperamide following a fatal overdose. *J Anal Toxicol.* 2005;29(7):750-4.
52. Yu JH, Kim HJ, Lee S, Hwang SJ, Kim W, Moon CJ. LC-MS determination and bioavailability study of loperamide hydrochloride after oral administration of loperamide capsule in human volunteers. *J Pharm Biomed Anal.* 2004;36(2):421-7.
53. Weitschies W, Bernsdorf A, Giessmann T, Zschiesche M, Modess C, Hartmann V, et al. The talinolol double-peak phenomenon is likely caused by presystemic processing after uptake from gut lumen. *Pharm Res.* 2005;22(5):728-35.
54. Shimizu M, Uno T, Sugawara K, Tateishi T. Effects of itraconazole and diltiazem on the pharmacokinetics of fexofenadine, a substrate of P-glycoprotein. *Br J Clin Pharmacol.* 2006;61(5):538-44.
55. Westphal K, Weinbrenner A, Giessmann T, Stuhr M, Franke G, Zschiesche M, et al. Oral bioavailability of digoxin is enhanced by talinolol: Evidence for involvement of intestinal P-glycoprotein. *Clin Pharmacol Ther.* 2000;68(1):6-12.

56. Westphal K, Weinbrenner A, Zschiesche M, Franke G, Knoke M, Oertel R, et al. Induction of P-glycoprotein by rifampin increases intestinal secretion of talinolol in human beings: A new type of drug/drug interaction. *Clin Pharmacol Ther.* 2000;68(4):345-55.
57. Boucher B a, Lalonde RL. Digoxin-specific antibody fragments for the treatment of digoxin intoxication. *Clin Pharm.* 1986;5(10):826-7.
58. Lappin G, Shishikura Y, Jochemsen R, Weaver RJ, Gesson C, Houston B, et al. Pharmacokinetics of fexofenadine: Evaluation of a microdose and assessment of absolute oral bioavailability. *Eur J Pharm Sci. Elsevier B.V.;* 2010;40(2):125-31.
59. Sandhu BK, Tripp JH, Candy DC, Harries JT. Loperamide: studies on its mechanism of action. *Gut.* 1981;22(8):658-62.
60. Siegmund W, Ludwig K, Engel G, Zschiesche M, Franke G, Hoffmann A, et al. Variability of intestinal expression of P-glycoprotein in healthy volunteers as described by absorption of talinolol from four bioequivalent tablets. *J Pharm Sci.* 2003;92(3):604-10.
61. Gramatté T, Oertel R, Terhaag B, Kirch W. Direct demonstration of small intestinal secretion and site-dependent absorption of the β -blocker talinolol in humans. *Clin Pharmacol Ther.* 1996;59(5):541-9.
62. Kalgutkar AS, Nguyen HT. Identification of an N-methyl-4-phenylpyridinium-like metabolite of the antidiarrheal agent loperamide in human liver microsomes: Underlying reason(s) for the lack of neurotoxicity despite the bioactivation event. *Drug Metab Dispos.* 2004;32(9):943-52.
63. Melo P, Machado R, Teixeira HM. Analysis of digoxin and metildigoxin in whole blood using solid-phase extraction and liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Int J Anal Chem.* 2012;2012:975824.
64. Kohls S, Scholz-Böttcher B, Rullkötter J, Teske J. Method validation of a survey of thevetia cardiac glycosides in serum samples. *Forensic Sci Int.* 2012;215(1-3):146-51.
65. Oertel R, Richter K, Trausch B, Berndt a, Gramatté T, Kirch W. Elucidation of the structure of talinolol metabolites in man. Determination of talinolol and hydroxylated talinolol metabolites in urine and analysis of talinolol in serum. *J Chromatogr B Biomed Appl.* 1994;660(2):353-63.
66. Molimard M, Diquet B, Benedetti MS. Comparison of pharmacokinetics and metabolism of desloratadine, fexofenadine, levocetirizine and mizolastine in humans. *Fundam Clin Pharmacol.* 2004;18(4):399-411.
67. Chen C. Some pharmacokinetic aspects of the lipophilic terfenadine and zwitterionic fexofenadine in humans. *Drugs R D.* 2007;8(5):301-14.
68. Forster S, Thumser AE, Hood SR, Plant N. Characterization of rhodamine-123 as a tracer dye for use in in vitro drug transport assays. *PLoS One.* 2012;7(3).
69. Musteata ML, Musteata FM, Pawliszyn J. Biocompatible solid-phase microextraction coatings based on polyacrylonitrile and solid-phase extraction phases. *Anal Chem.* 2007;79(18):6903-11.

70. Kanno S, Watanabe K, Yamagishi I, Hirano S, Minakata K, Gonmori K, et al. Simultaneous analysis of cardiac glycosides in blood and urine by thermoresponsive LC-MS-MS. *Anal Bioanal Chem.* 2011;399(3):1141-9.
71. Tanaka Y, Yoshikawa Y, Yasui H. Development of a Highly Sensitive Methodology for Quantitative Determination of Fexofenadine in a Microdose Study by Multiple Injection Method Using Ultra-High Performance Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry. *Biol Pharm Bull.* 2012;35(5):698-704.
72. Tracqui a., Kintz P, Ludes B, Mangin P. High-performance liquid chromatography-ionspray mass spectrometry for the specific determination of digoxin and some related cardiac glycosides in human plasma. *J Chromatogr B Biomed Appl.* 1997;692(1):101-9.
73. Weuts I, Kempen D, Decorte A, Verreck G, Peeters J, Brewster M, et al. Phase behaviour analysis of solid dispersions of loperamide and two structurally related compounds with the polymers PVP-K30 and PVP-VA64. *Eur J Pharm Sci.* 2004;22(5):375-85.
74. Carlier J, Guitton J, Romeuf L, Bévalot F, Boyer B, Fanton L, et al. Screening approach by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the blood quantification of thirty-four toxic principles of plant origin. Application to forensic toxicology. *J Chromatogr B. Elsevier B.V.;* 2015;975:65-76.
75. Oiestad EL, Johansen U, Stokke Opdal M, Bergan S, Christophersen AS. Determination of digoxin and digitoxin in whole blood. *J Anal Toxicol.* 2009;33(7):372-8.
76. Zhou Q, Ye Z, Ruan Z. Investigation on modulation of human P-gp by multiple doses of Radix Astragali extract granules using fexofenadine as a phenotyping probe. *J Ethnopharmacol.* 2013;146:744-9.
77. Salvador A, Sagan C, Denouel J. Rapid Quantitation of Digoxin in Human Plasma and Urine Using Isotope Dilution Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *J Liq Chromatogr Relat Technol.* 2006;29(13):1917-32.
78. Hashimoto Y, Shibakawa K, Nakade S, Miyata Y. Validation and application of a 96-well format solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the quantitation of digoxin in human plasma. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci.* 2008;869(1-2):126-32.
79. Xue X, Huang M, Xiao H, Qin X, Huang L, Zhong G, et al. Rapid and simultaneous measurement of midazolam, 1'-hydroxymidazolam and digoxin by liquid chromatography/tandem mass spectrometry: Application to an in vivo study to simultaneously measure P-glycoprotein and Cytochrome P450 3A activity. *J Pharm Biomed Anal. Elsevier B.V.;* 2011;55(1):187-93.
80. Yamane N, Tozuka Z, Sugiyama Y, Tanimoto T, Yamazaki A, Kumagai Y. Microdose clinical trial: Quantitative determination of fexofenadine in human plasma using liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci.* 2007;858(1-2):118-28.
81. Guo D, Zou J, Zhu Y, Lou S, Fan H, Qin Q. Measurement of fexofenadine concentration in micro-sample human plasma by a rapid and sensitive LC-MS/MS employing protein

- precipitation: Application to a clinical pharmacokinetic study. *Biomed Chromatogr.* 2010;24(3):335-41.
82. Muppavarapu R, Guttikar S, Rajappan M, Kamarajan K, Mullangi R. Sensitive LC-MS/MS-ESI method for simultaneous determination of montelukast and fexofenadine in human plasma: application to a bioequivalence study. *Biomed Chromatogr.* 2014;28(8):1048-56.
 83. Arafat T, Arafat B, Awad R, Awwad AA. Determination of loperamide in human plasma and saliva by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B. Elsevier B.V.;* 2014;972:81-8.
 84. Bourgogne E, Grivet C, Hopfgartner G. Determination of talinolol in human plasma using automated on-line solid phase extraction combined with atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci.* 2005;820(1):103-10.
 85. Li Y, Shirasaka Y, Langguth P, Tamai I. Quantitation of talinolol in rat plasma by LC-MS-MS. *J Chromatogr Sci.* 2010;48(5):367-70.
 86. Sinha VR, Ghai D. RP-HPLC Stability-Indicating Assay Method for Talinolol and Characterization of its Degradation Products. 2011;49(December):786-95.
 87. Bourgogne E, Grivet C, Varesio E, Hopfgartner G. Generic on-line solid phase extraction sample preparation strategies for the analysis of drugs in biological matrices by LC-MS/MS. *J Pharm Biomed Anal. Elsevier B.V.;* 2015;102:290-8.
 88. Mullett WM. Determination of drugs in biological fluids by direct injection of samples for liquid-chromatographic analysis. *J Biochem Biophys Methods.* 2007;70(2):263-73.
 89. Eibak LEE, Gjelstad A, Rasmussen KE, Pedersen-Bjergaard S. Exhaustive electromembrane extraction of some basic drugs from human plasma followed by liquid chromatography-mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal. Elsevier B.V.;* 2012;57(1):33-8.
 90. Ashri NY, Abdel-Rehim M. Sample treatment based on extraction techniques in biological matrices. *Bioanalysis.* 2011;3(17):2003-18.
 91. Tong Y, Zhang R, Ngo SNT, Davey AK. Alteration of fexofenadine disposition in the rat isolated perfused liver following injection of bacterial lipopolysaccharide. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2006;33(8):685-9.
 92. Parasrampur R, Mehvar R. Hepatobiliary disposition of rhodamine 123 in isolated perfused rat livers. *Xenobiotica.* 2008;38(10):1263-73.
 93. He H, Sadeque A, Erve JCL, Wood AJJ, Hachey DL. L00 : 2 : 406 . Quantitation of loperamide and N-demethylloperamide in human plasma using electrospray ionization with selected reaction monitoring liquid chromatography-mass spectrometry. 2000;744:2006.
 94. Johansen SS, Jensen JL. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination of loperamide and its main metabolite desmethylloperamide in biological specimens and application to forensic cases. *J Chromatogr B.* 2004;811:31-6.

95. Ni J, Ouyang H, Aiello M, Seto C, Borbridge L, Sakuma T, et al. Microdosing assessment to evaluate pharmacokinetics and drug metabolism in rats using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Pharm Res.* 2008;25(7):1572-82.
96. Spahn-Langguth H, Langguth P. Grapefruit juice enhances intestinal absorption of the P-glycoprotein substrate talinolol. *Eur J Pharm Sci.* 2001;12(4):361-7.
97. GanBmann B, Klingmann A, Burhenne J, Tyrouz Y. Simultaneous determination of loperamide and its desmethylated metabolites in plasma and urine by high-performance liquid chromatography Atmospheric-pressure ionization mass spectrometry. *Chromatographia.* 2001;53:656-60.
98. Guan F, Ishii a, Seno H, Watanabe-Suzuki K, Kumazawa T, Suzuki O. Identification and quantification of cardiac glycosides in blood and urine samples by HPLC/MS/MS. *Anal Chem.* 1999;71(18):4034-43.
99. Pavek P, Staud F, Fendrich Z, Sklenarova H, Libra A, Novotna M, et al. Examination of the functional activity of P-glycoprotein in the rat placental barrier using rhodamine 123. *J Pharmacol Exp Ther.* 2003;305(3):1239-50.
100. De Castro WV, Mertens-Talcott S, Derendorf H, Butterweck V. Effect of grapefruit juice, naringin, naringenin, and bergamottin on the intestinal carrier-mediated transport of talinolol in rats. *J Agric Food Chem.* 2008;56(12):4840-5.
101. Analysis B. Specific and sensitive determination of digoxin and metabolites in human serum by high performance liquid chromatography with cyclodextrin solid-phase extraction and precolumn fluorescence derivatization. 1995;13.
102. Jedlička a., Grafnetterová T, Miller V. HPLC method with UV detection for evaluation of digoxin tablet dissolution in acidic medium after solid-phase extraction. *J Pharm Biomed Anal.* 2003;33(1):109-15.
103. Mitamura K, Horikawa A, Yamane Y, Ikeda Y, Fujii Y, Shimada K. Determination of digoxin in human serum using stable isotope dilution liquid chromatography/electrospray ionization-tandem mass spectrometry. *Biol Pharm Bull.* 2007;30(9):1653-6.
104. Frommherz L, Köhler H, Brinkmann B, Lehr M, Beike J. LC-MS assay for quantitative determination of cardio glycoside in human blood samples. *Int J Legal Med.* 2008;122(2):109-14.
105. Kirby BJ, Kalthorn T, Hebert M, Easterling T. Sensitive and specific LC-MS assay for quantification of digoxin in human plasma and urine. *Biomed Chromatogr.* 2008;22:712-8.
106. Hofmann U, Seiler M, Drescher S, Fromm MF. Determination of fexofenadine in human plasma and urine by liquid chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci.* 2002;766(2):227-33.
107. Uno T, Yasui-Furukori N, Takahata T, Sugawara K, Tateishi T. Liquid chromatographic determination of fexofenadine in human plasma with fluorescence detection. *J Pharm Biomed Anal.* 2004;35(4):937-42.
108. Nirogi R, Vishwottam K, Shukla M, Mudigonga K. Simultaneous quantification of fexofenadine and pseudoephedrine in human plasma by liquid chromatography/tandem

- mass spectrometry with electrospray ionization: method development, validation and application to a clinical study. *Rapid Commun mass Spectrom.* 2006;20(24):3030-8.
109. Qiang F, Lee BJ, Lee W, Han HK. Pharmacokinetic drug interaction between fexofenadine and fluvastatin mediated by organic anion-transporting polypeptides in rats. *Eur J Pharm Sci.* 2009;37(3-4):413-7.
 110. Stanton ML, Joy MS, Frye RF. Validation and application of a liquid chromatography-tandem mass spectrometric method for quantification of the drug transport probe fexofenadine in human plasma using 96-well filter plates. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci.* 2010;878(3-4):497-501.
 111. Gor P, Alnouti Y, Reed G a. Bupirone, fexofenadine, and omeprazole: Quantification of probe drugs and their metabolites in human plasma. *J Pharm Biomed Anal. Elsevier B.V.;* 2011;55(5):1127-35.
 112. Flynn C a, Alnouti Y, Reed G a. Quantification of the transporter substrate fexofenadine in cell lysates by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2011;25(16):2361-6.
 113. Chen H, Gaul F, Gou D, Maycock a. Determination of loperamide in rat plasma and bovine serum albumin by LC. *J Pharm Biomed Anal.* 2000;22(3):555-61.
 114. Liu X, Ding X, Deshmukh G, Liederer BM, Hop CEC a. Use of the cassette-dosing approach to assess brain penetration in drug discovery. *Drug Metab Dispos.* 2012;40(5):963-9.
 115. Rubelt MS, Amasheh S, Grobosch T, Stein C. Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry for Analysis of Intestinal Permeability of Loperamide in Physiological Buffer. *PLoS One.* 2012;7(11):1-8.
 116. Wang Q, Yang H, Miller DW. Effect of the P-glycoprotein inhibitor, cyclosporin A, on the distribution of rhodamine-123 to the brain: an in vivo microdialysis study in freely moving rats. *Biochemical and biophysical research communications.* 1995. p. 719-26.
 117. Ando H, Nishio Y, Ito K, Nakao a., Wang L, Ying Lan Zhao, et al. Effect of endotoxin on P-glycoprotein-mediated biliary and renal excretion of rhodamine-123 in rats. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001;45(12):3462-7.
 118. Liu X, Yang Z, Yang J, Yang H. Increased P-glycoprotein expression and decreased phenobarbital distribution in the brain of pentylenetetrazole-kindled rats. *Neuropharmacology.* 2007;53(5):657-63.
 119. Oertel R, Richter K, Gramatté T, Kirch W. Determination of drugs in biological fluids by high-performance liquid chromatography with on-line sample processing. *J Chromatogr A.* 1998;797(1-2):203-9.
 120. Nguyen MA, Staubach P, Tamai I. High-dose short-term administration of naringin did not alter talinlolol pharmacokinetics in humans. *Eur J Pharm Sci.* 2014;
 121. Solakyildirim K, Zhang Z, Linhardt RJ. Ultraperformance liquid chromatography with electrospray ionization ion trap mass spectrometry for chondroitin disaccharide analysis. *Anal Biochem. Elsevier Inc.;* 2010;397(1):24-8.

122. Wu Y, Engen JR, Hobbins WB. Ultra performance liquid chromatography (UPLC) further improves hydrogen/deuterium exchange mass spectrometry. *J Am Soc Mass Spectrom.* 2006;17(2):163-7.
123. Wang X, Sun H, Zhang A, Wang P, Han Y. Ultra-performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry as a sensitive and powerful technology for metabolomic studies. *J Sep Sci.* 2011;34(24):3451-9.
124. Ma C, Hu L, Tao G. An UPLC-MS-based metabolomics investigation on the anti-fatigue effect of salidroside in mice. *J Pharm Biomed Anal.* 2015;105:84-90.
125. Mohsin K, Al-qahtani S, Alanazi FK. Rapid and sensitive bioanalytical stability-indicating method for quantification of talinolol in lipid based formulations using ultrafast UHPLC systems. *Acta Pol Pharm Res.* 2014;71(5):737-45.
126. Vaghela B, Rao SS, Reddy AM, Venkatesh P, Kumar N. Identification and characterization of an oxidative degradation product of fexofenadine, development and validation of a stability-indicating RP-UPLC method for the estimation of process related impurities and degradation products of fexofenadine in pharmaceutical formulations. *Sci Pharm.* 2012;80(2):295-309.
127. Crowe A, Wong P. pH dependent uptake of loperamide across the gastrointestinal tract: an in vitro study. *Drug Dev Ind Pharm.* 2004;30(5):449-59.
128. Sweatman TW, Larussa RI, Seshadri R. An Analytical System for the Detection and Quantitation of Rhodamine-123 in Biological Samples. *J Liq Chromatogr.* 1987;10(7):1417-29.
129. Yumoto R, Murakami T, Nakamoto Y, Hasegawa R, Nagai J, Takano M. Transport of rhodamine 123, a P-glycoprotein substrate, across rat intestine and Caco-2 cell monolayers in the presence of cytochrome P-450 3A-related compounds. *J Pharmacol Exp Ther.* 1999;289(1):149-55.
130. Heikkinen H, Saraheimo M, Antila S, Ottoila P, Pentikäinen PJ. Pharmacokinetics of entacapone, a peripherally acting catechol-O-methyltransferase inhibitor, in man -A study using a stable isotope technique. *Eur J Clin Pharmacol.* 2001;56(11):821-6.
131. Maeda K, Sugiyama Y. Novel strategies for microdose studies using non-radiolabeled compounds. *Adv Drug Deliv Rev.* Elsevier B.V.; 2011;63(7):532-8.
132. European Medicines Agency. Guideline on the investigation of bioequivalence. 2010 [Consultado em 23/07/2015].
133. Srinivas N. Changing need for bioanalysis during drug development. *Biomed Chromatogr.* 2008;22:235-43.
134. Srinivas NR, Ramesh M. Digoxin - a therapeutic agent and mechanistic probe: review of liquid chromatographic mass spectrometric methods and recent nuances in the clinical pharmacology attributes of digoxin. *Bioanalysis.* 2009;1(1):97-113.
135. Van Der Sandt ICJ, Blom-Rosemalen MCM, De Boer AG, Breimer DD. Specificity of doxorubicin versus rhodamine-123 in assessing P-glycoprotein functionality in the LLC-PK1, LLC-PK1:MDR1 and Caco-2 cell lines. *Eur J Pharm Sci.* 2000;11(3):207-14.

Capítulo II - Farmácia Hospitalar

1. Introdução

A Farmácia Hospitalar consiste no conjunto de atividades farmacêuticas exercidas em organismos hospitalares ou serviços a eles associado, sendo estas realizadas no sentido de colaborar nas funções de assistência destes organismos e serviços, promovendo também a investigação científica e o ensino (1).

Assim, os Serviços Farmacêuticos Hospitalares (SFH) constituem uma estrutura importante dos cuidados de saúde dispensados em meio hospitalar e assumem um papel fundamental na promoção do uso racional do medicamento, assegurando uma terapêutica segura e eficaz aos doentes. Para tal, os SFH do CHCB aplicam diversos procedimentos de garantia da qualidade, bem como de minimização de erros associados à distribuição, preparação e administração de medicamentos e outros produtos farmacêuticos.

O presente relatório procura resumir os conhecimentos adquiridos ao longo do estágio que decorreu nos Serviços Farmacêuticos do Centro Hospitalar Cova da Beira, EPE (CHCB), entre 26 de janeiro e 21 de março de 2015.

2. Organização e gestão dos SFH

A gestão de medicamentos baseia-se no conjunto de procedimentos realizados pelos SFH de forma a garantir a distribuição de medicamentos em perfeitas condições (1).

2.1. Seleção de medicamentos

No CHCB, este processo de seleção tem por base o Formulário Hospitalar Nacional de Medicamentos (FHNM) e o Guia Farmacoterapêutico (GFT), sendo esta tarefa da responsabilidade da Comissão de Farmácia e Terapêutica (CFT) (2). O FHNM apresenta como objetivo uniformizar e melhorar a prescrição, fornecendo informação clara e isenta sobre o medicamento. No entanto, o GFT torna-se especialmente importante, pois torna disponíveis determinados medicamentos que são necessários por parte dos prescritores.

Neste sentido, quando um medicamento que não está incluído no GFT do CHCB é necessário, o médico deve elaborar um pedido à CFT para a sua introdução no GFT, preenchendo para tal um impresso próprio, onde deve explicitar as razões terapêuticas que sustentem esta necessidade. Após análise do pedido, a CFT aprova ou rejeita a introdução desse medicamento no GFT.

Assim, o farmacêutico afeto ao setor de logística hospitalar (SLH) é membro da CFT, o que o coloca numa situação privilegiada para facultar informação sobre produtos com melhor perfil farmacoeconómico.

2.2. Sistema de aquisição de medicamentos

Após a seleção, inicia-se o processo de aquisição de medicamentos, sendo este da responsabilidade dos SFH em articulação com o SLH (2). Neste contexto, todos os medicamentos existentes nos SFH têm predefinido um ponto de encomenda (PE) baseado no consumo médio dos últimos 21 dias. Quando um determinado artigo se encontra abaixo do seu PE, o farmacêutico afeto a esta área analisa a real necessidade do pedido de compra. Para tal, deve ser considerada a classificação ABC: produtos de maior importância, valor ou quantidade (A); produtos de importância, quantidade ou valor intermédio (B); e produtos de menor importância, valor ou quantidade (C). Adicionalmente, deve ser considerado o tipo de consumo (regular, irregular ou pontual), bem como a urgência do pedido, que dita o tempo de espera pela encomenda.

A aquisição dos medicamentos e produtos farmacêuticos pode ser realizada através de: (i) concurso público centralizado, com recurso ao catálogo dos Serviços Partilhados do Ministério da Saúde; (ii) concurso público organizado pela própria instituição; (iii) negociação direta com laboratórios ou fornecedores; (iv) consulta direta, por contacto com a empresa titular da Autorização de introdução no mercado (AIM); e (v) compras urgentes a fornecedores locais, como farmácias.

Excecionalmente, os medicamentos com benefício clínico reconhecido sem AIM em Portugal, podem ser adquiridos ao abrigo de uma Autorização de utilização especial (AUE), que se encontra devidamente regulamentada pela Deliberação n.º 105/CA/2007, de 1 de março e pelo Despacho n.º 9114/2002, de 15 de março (3,4). Desta forma, é feito um requerimento à Autoridade do Medicamento e Produtos de Saúde I.P. (INFARMED), onde o diretor do serviço requerente explicita a justificação clínica do pedido. Após aprovação, o INFARMED emite uma AUE que é válida pelo período de um ano.

No caso dos medicamentos estupefacientes e psicotrópicos (MEP), é ainda necessário preencher o Anexo VII para realizar o pedido de aquisição. Este é um impresso da Imprensa Nacional da Casa da Moeda estipulado para o efeito (5). Para finalizar o circuito de aquisição, os pedidos são enviados para o SLH, que emitem a nota de encomenda.

Durante o meu estágio, não tive oportunidade de contactar com os processos de seleção e aquisição. Neste sentido, estes circuitos foram apenas explicados do ponto de vista teórico.

2.3. Receção dos produtos farmacêuticos

No CHCB, a receção dos medicamentos por parte dos SFH realiza-se em local específico e apropriado para o efeito. Numa primeira fase, apenas pelo SLH e, de seguida, conjuntamente com técnico de diagnóstico e terapêutica (TDT), realiza-se a conferência qualitativa e quantitativa dos produtos rececionados, com verificação da informação contida nas guias de receção que acompanham as encomendas (lotes e prazos de validades), enviadas em duplicado pelo fornecedor (2,6,7). Para além disso, são verificadas as condições em que os artigos chegaram aos SF (7). No final da verificação, a guia de receção é assinada pelo TDT, o original é enviado para o SLH e a cópia é arquivada no armazém 10 (armazém central).

Por último, os produtos rececionados são enviados para o armazém 10, onde são armazenados tendo em conta critérios técnicos, como condições especiais de armazenamento e segurança; e é da responsabilidade do SLH introduzir no sistema informático as encomendas rececionadas, havendo uma posterior validação pela assistente técnica (AT) dos SF (7).

No entanto, existem casos particulares na receção, nomeadamente o dos derivados do plasma, interferons e matérias-primas, que devem vir acompanhados dos respetivos boletins de análise para que se possa proceder à sua receção (7). Neste contexto, os citotóxicos apresentam procedimento próprio, pois devem ser rececionados em separado e as suas caixas devidamente analisadas, de modo a averiguar a possibilidade de derrame. Caso este ocorra, recorre-se ao kit de emergência que se encontra presente na área de receção (7).

Durante o meu período de estágio, acompanhei a receção das encomendas, tendo a oportunidade de auxiliar na verificação das quantidades, lotes e prazos de validade em conjunto com o TDT e o representante da SLH.

2.4. Armazenamento

Nos SFH do CHCB existem diversos armazéns, de tamanho e localização variável. Neste contexto, o armazém 10 articula-se com os restantes, sendo estes: o da dose unitária (armazém 12), da farmacotecnia (armazém 13), do ambulatório (armazém 20), de quarentena (armazém 18), o armazém do Hospital do Fundão (armazém 11) e os sistemas de distribuição semiautomática do medicamento *Pyxis*TM. O armazenamento dos medicamentos é feito pelo assistente operacional (AO) sob orientação do TDT, com exceção para os MEP que são da responsabilidade do TDT (8).

O armazenamento de medicamentos, produtos farmacêuticos e dispositivos médicos deve ser feito, de forma a garantir condições apropriadas de espaço, luz, temperatura, humidade e segurança. Para tal, o armazém 10 está dividido em várias secções: geral, antissépticos e desinfetantes, inflamáveis, duas salas para injetáveis de grande volume e duas câmaras frigoríficas. Deste modo, todos estes produtos são posteriormente organizados por ordem

alfabética de denominação comum internacional (DCI), de acordo com o seu prazo de validade segundo o princípio *first expire - first out* (FEFO) (2,7). Na secção geral do armazém é possível encontrar em estantes deslizantes: uso geral, colírios, anestésicos, material de penso, antibióticos, tuberculostáticos, ambulatório, estomatologia, hemoderivados, leites e contraceptivos. Adicionalmente, também se encontram nesta área armários para a alimentação entérica e parentérica, citotóxicos (em prateleiras invertidas, minimizando o risco de queda e possível extravasão), MEP (em cofre de dupla fechadura), medicamentos usados em ensaios clínicos (em armário fechado com temperatura controlada) e estantes com reservas.

Adicionalmente, e sempre que se justifique, os medicamentos que não contenham toda a informação necessária à distribuição individual diária em dose unitária (DIDDU) devem ser previamente rotulados, constando o DCI, dosagem, prazo de validade e lote.

No sentido de garantir as adequadas condições de conservação e segurança exigidas, aplicam-se permanentemente algumas medidas, nomeadamente: a existência de um *kit* de emergência para uso em caso de derrame de citotóxicos; para os produtos que requerem condições de refrigeração, a temperatura nas câmaras frigoríficas é continuamente monitorizada e registada, sendo acionado um alarme quando a temperatura supera os 8 °C. Para além disso, as condições gerais de conservação são monitorizadas através de termohigrómetros que controlam permanentemente a temperatura (< 25 °C) e humidade (< 60%). Por último, os inflamáveis estão armazenados em local isolado do restante armazém, com sinalética apropriada; chão impermeável e inclinado; paredes interiores reforçadas e resistentes ao fogo, assim como uma porta corta-fogo de fecho automático, a abrir para fora; e um sistema de ventilação e deteção de fumos e instalação elétrica do tipo antideflagrante (2,6).

Por último, em todo o armazém foram adotadas várias estratégias de minimização de erro no circuito do medicamento, mais especificamente, na forma de sinalética que alerta para a existência de dosagens idênticas de um medicamento com a mesma DCI (verde para a dosagem inferior, amarelo para a intermédia e vermelho para a superior), embalagens idênticas, eletrólitos ou medicamentos potencialmente perigosos e, por último, nos fármacos *look-alike*, *sound-alike* (LASA) cujo nome apresenta grafia e fonética semelhantes, a porção do nome que difere é enfatizada em letras maiúsculas.

No CHCB, de forma a controlar os prazos de validade, mensalmente, faz-se o levantamento dos medicamentos cuja validade expire num prazo máximo de 4 meses. Assim, quando existem produtos que cumprem este critério é avaliada a melhor alternativa de escoamento dos mesmos. Em último caso, os produtos são encaminhados para o armazém 18, para que sejam posteriormente destruídos. Mensalmente também se verificam as validades do *stock* de apoio do armazém 12, sendo registados os medicamentos com validade inferior a 6 meses (8).

Para além disso, realiza-se diariamente a conferência dos produtos existentes em *stock* nos armazéns 10 e 12, confrontando-se a informação obtida com aquela que consta no sistema informático. Esta verificação permite analisar não-conformidades e, por conseguinte, proceder à sua correção. Para os medicamentos existentes nos serviços clínicos (SC) o controlo do *stock* deve ser feito de 3 em 3 meses (8).

Durante o estágio, colaborei no processo de rotulagem, colocando e registando os rótulos, bem como no armazenamento das encomendas rececionadas. Para além disso, fiz a contagem dos *stocks*, verifiquei prazos de validade e atualizei a sinalização de minimização do risco referente a medicamentos perigosos e a dosagens e embalagens idênticas.

3. Distribuição

A distribuição de medicamentos é a atividade dos SFH com maior visibilidade no circuito hospitalar do medicamento e através da qual se contacta com os SC do hospital. Os SFH do CHCB possuem diversos tipos de distribuição de medicamentos e outros produtos farmacêuticos que, com metodologia e circuitos próprios, tornam disponível o medicamento correto, para cumprimento da prescrição médica proposta (6).

3.1. Distribuição clássica ou tradicional

Há medicamentos e produtos farmacêuticos cuja dispensa é efetuada, para a maioria dos SC, pelo sistema de distribuição tradicional, com base num *stock* predefinido. Este sistema de distribuição começa com o estabelecimento de perfis de consumo para cada serviço, sendo definida a composição quantitativa e qualitativa do *stock* que existirá no mesmo entre o farmacêutico, o diretor do serviço e o enfermeiro chefe (2,6).

No CHCB, perante a necessidade de reposição de *stock*, o enfermeiro chefe realiza um pedido de reposição (eletronicamente). Após reunião dos vários pedidos, estes são conferidos pelo TDT e entregues por um AO nos SC. No CHCB, cada serviço clínico tem um dia específico para proceder à requisição dos produtos em falta, sendo este satisfeito no próprio dia desde que realizado até às 14 horas.

Durante o estágio, presenciei e colaborei diariamente na preparação dos pedidos requisitados pelos vários serviços.

3.2. Distribuição por reposição de *stocks* nivelados

3.2.1. Sistema de reposição por carregamento ou troca de carros

Este sistema de distribuição envolve a utilização de carros compartimentados para o armazenamento dos medicamentos, em que cada gaveta tem uma composição fixa que é repostada com uma periodicidade pré-estabelecida. Para auxiliar o processo de reposição

recorrem-se a leitores óticos, no qual são introduzidos os produtos repostos e as respectivas quantidades. No CHCB, este sistema é utilizado nos seguintes SC: unidade de acidentes vasculares cerebrais (UAVC), unidade de cuidados intensivos (UCI), urgência obstétrica, neonatologia, unidade de cirurgia de ambulatório e viatura médica de emergência e reanimação. Ainda neste contexto, existem SC que possuem mais do que um carro, nomeadamente a UAVC e a UCI. Assim sendo, existe sempre um carro na unidade, enquanto o outro está a ser reabastecido nos SFH.

Por último, para além da reposição, mensalmente também são verificadas as validades, de modo a que os medicamentos que expirem nesse mês sejam retirados dos carros.

3.2.2. Distribuição semiautomática através do sistema *Pyxis*TM

O sistema *Pyxis*TM consiste num sistema de dispensa de medicamentos controlado eletronicamente, constituído por múltiplas divisões. Neste encontra-se previamente definido um *stock* mínimo e máximo, atendendo ao perfil de consumo do medicamento. Assim, sempre que é retirado um medicamento é gerado um consumo e, quando se atinge o seu *stock* mínimo, este irá constar na listagem de reposição (9).

Relativamente à reposição de *stock*, o TDT introduz o seu número mecanográfico e impressão digital e, de seguida, seleciona os medicamentos a repor. Posteriormente, o sistema abre gaveta a gaveta e, em cada uma delas, tem de ser verificado o *stock* existente, bem como o prazo de validade mais curto, sendo indicada a quantidade a repor (9). No caso dos MEP, a reposição apenas é feita semanalmente pelos farmacêuticos afetos ao setor de ambulatório.

Durante o meu período de estágio, participei ativamente na reposição e verificação mensal de prazos de validade de alguns dos carros. E também tive oportunidade de proceder à reposição de medicamentos no *Pyxis*TM do bloco operatório, onde estão estipuladas normas específicas de acesso, unidade de cuidados agudos diferenciados e urgência geral.

3.3. Distribuição individual diária em dose unitária

O sistema de DDDU caracteriza-se pela distribuição de medicamentos para um período de 24h; e está associado a uma maior segurança no circuito do medicamento, maior conhecimento do perfil farmacoterapêutico de cada doente, diminuindo o risco de interações; e maior racionalização da terapêutica, reduzindo os desperdícios (2,6,10). Neste sentido, a DDDU destina-se a doentes internados e inicia-se com as prescrições médicas. A sua interpretação, validação e conseqüente elaboração do perfil farmacoterapêutico é função dos SFH e, mais especificamente, do farmacêutico, que resolve quaisquer dúvidas com o prescritor (10).

No CHCB, a prescrição pode ser informatizada ou manual, através de uma folha de prescrição normalizada (excecionalmente). Contudo, a primeira prevalece, através do Sistema de Apoio

ao Médico que comunica com o sistema de gestão integrada do circuito do medicamento (SGICM), e traz inúmeras vantagens, sendo de destacar a minimização de erros de interpretação e transcrição e os alertas disponíveis para quem valida/prescreve, como por exemplo: alertas de tempos de antibioterapia; de interações, doses máximas e registo informático de reações alérgicas. Exceção ao indicado anteriormente são a UCI e UAVC, cujo sistema alternativo de prescrição médica eletrónica é incompatível com o SGICM e, portanto, implica a transcrição da prescrição (10). Durante a validação das prescrições, o farmacêutico analisa a existência de problemas relacionados com duplicações terapêuticas; vias de administração, doses ou frequências incorretas; interações e alergias; cumprimento do GFT do CHCB; preenchimento da justificação obrigatória na prescrição de antibióticos de uso restrito; e se existem medicamentos a distribuir por outros circuitos (por exemplo, material de penso, MEP, entre outros). Nesta fase, o farmacêutico pode necessitar de consultar o médico (10,11).

Após a validação, o farmacêutico procede à emissão e impressão do perfil farmacoterapêutico do doente, a partir do qual se prepara a medicação para um período de 24 horas. A informação destes mapas é também enviada para os sistemas *KARDEX* e *Fast Dispensing System* (FDS), que permitem melhorar a qualidade e a rapidez do trabalho, minimizando erros (2,6,10). No CHCB, a preparação da cassete de cada SC consiste na distribuição dos medicamentos em gavetas com 4 compartimentos (manhã, tarde, noite, SOS) que é realizada na sala da dose unitária, pelos TDT; sendo as gavetas devidamente identificadas com nome, processo, data de nascimento, cama e serviço onde o doente se encontra, e data. Sempre que necessário o TDT recorre ao *stock* de apoio da sala (armazém 12). É de realçar que os medicamentos de maiores dimensões são enviados para o serviço em caixas próprias e identificados de modo semelhante às gavetas. Por sua vez, a medicação que necessita ser refrigerada ou em caso de rutura de *stock*, é colocada uma etiqueta no interior da gaveta para fazer essa sinalização. As gavetas/caixas devem ser, por fim, conferidas pelo farmacêutico, qualitativa e quantitativamente, de forma a garantir a inexistência de quaisquer erros, devendo ser registadas as conformidades e não conformidades para o controlo da qualidade, sendo adicionada sinalética de minimização de erro no caso de existirem nomes idênticos no mesmo serviço, administração de uma dose inferior à contida no recipiente (dose parcial) e necessidade de conservação no frigorífico (10).

De forma a terminar o circuito, cada SC tem estabelecido com os SFH uma hora para a entrega dos medicamentos pelo sistema de DIDDU por um AO. Ao longo do dia, os médicos realizam alterações nas prescrições: alterações em doentes já internados, altas, bem como o internamento de novos doentes. Desta forma, o farmacêutico vai atualizando a medicação nas cassetes e nas caixas até que estas seguem para os SC. Caso a medicação já tenha sido enviada, a distribuição é feita de forma personalizada, ou seja, individualmente para o doente. A este nível, o pedido é caracterizado como urgente e recolhido por um AO afeto ao

serviço ou entregue por um AO dos SFH nos horários estabelecidos para distribuição de pedidos urgentes (10).

No dia seguinte, procede-se às revertências dos medicamentos não administrados, que se encontram nos módulos devolvidos aos SFH. Neste contexto, o TDT contabiliza e reverte informaticamente os medicamentos no perfil de cada doente, tornando mais fácil quantificar os custos da sua terapêutica. Quando não existe indicação do doente, a medicação é revertida ao serviço (10).

Durante a passagem por este setor, tive a oportunidade de acompanhar a validação das prescrições, bem como conferir as cassetes dos diversos SC, sob supervisão farmacêutica, registando as conformidades e não conformidades. Adicionalmente, efetuei cálculos para determinar e confirmar o número de ampolas/unidades necessárias a enviar para 24 horas, de forma a cumprir a prescrição médica. Para além disso, também satisfiz pedidos urgentes e procedi a alterações na medicação, conforme as prescrições alteradas, sob supervisão farmacêutica. Por último também acompanhei uma intervenção farmacêutica realizada no âmbito da DIDDU.

3.4. Distribuição em regime de ambulatório

A dispensa de medicamentos a doentes em regime de ambulatório, por parte dos SFH, surge da necessidade de salvaguardar situações de emergência em que o fornecimento dos mesmos não possa ser assegurado pelas farmácias comunitárias; da necessidade de vigilância apertada de determinadas terapêuticas e patologias crónicas e para assegurar a adesão dos doentes à terapêutica (2,6).

No CHCB, os SFH dispensam medicamentos, de forma gratuita, aos doentes procedentes das consultas externas, do internamento no momento da alta, do hospital de dia e, excecionalmente, a doentes provenientes do serviço de urgência do hospital. Para além disso, considerando a legislação em vigor, as patologias legisladas para a cedência de medicamentos pelos SFH são as seguintes: doenças do foro oncológico, hepatite C, insuficiência renal crónica, VIH/SIDA, esclerose lateral amiotrófica, planeamento familiar, esclerose múltipla, artrite reumatóide, espondilite anquilosante, artrite psoriática, artrite idiopática juvenil poliarticular, doença de *Cronh*, psoríase em placas, erro congénito do metabolismo, coagulopatias congénitas (tratamento domiciliário). Para além destas, cede-se medicação para algumas patologias não legisladas, aprovadas pelo conselho de administração do CHCB: hipertensão pulmonar; VIH/SIDA (outros anti-infecciosos); hepatite B; e outros (xaropes, AUE, colírios fortificados, órfãos) (12).

Para que este circuito de distribuição se processe em condições apropriadas, é fundamental que estejam disponíveis instalações que não só garantam a privacidade do utente, mas também estejam facilmente acessíveis. No CHCB, a dispensa de medicamentos em regime de

ambulatório é suportada por um sistema informático que está associado a um sistema robotizado de dispensa integrado (*Consis*). No entanto, também existem medicamentos armazenados num cofre metálico de duas fechaduras (exclusivo para os MEP), em armários e em câmaras frigoríficas, para garantirem as condições adequadas de armazenamento (12).

Quanto ao sistema de distribuição propriamente dito, este inicia-se com a prescrição médica eletrónica devidamente preenchida, emitida por um médico do CHCB. No entanto, existem exceções a esta regra, como é o caso de medicamentos biológicos que, de acordo com o Despacho n.º 18419/2010, de 2 de dezembro, podem ser prescritos em consultas especializadas, noutros hospitais ou em consultórios particulares (12,13). A prescrição médica, para além de conter informação do doente e da terapêutica, deve conter a indicação da duração do tratamento ou a data da próxima consulta, de forma a auxiliar o farmacêutico a calcular a quantidade exata de medicamento a dispensar. Se existirem dúvidas que não permitam a validação da prescrição, o médico é prontamente contactado. Por outro lado, deve ser verificado o suporte legal da prescrição, de acordo com a legislação em vigor; ou a autorização fornecida pela CFT para a dispensa de alguns fármacos, se aplicável (12).

Relativamente ao primeiro ato da dispensa, o utente deve dirigir-se aos SFH com o seu cartão de cidadão. Posteriormente, os medicamentos podem ser dispensados ao próprio ou a um cuidador/familiar, mediante apresentação da sua identificação e da do utente que representa. Quanto à dispensa propriamente dita, para cada fármaco, deve ser verificado o prazo de validade e registado o respetivo lote, bem como a identificação da pessoa que faz o levantamento. Por último, é fornecida informação escrita sob a forma de folhetos informativos (FI), panfletos ou pictogramas, de modo a complementar a informação verbal e o aconselhamento prestado. Neste contexto, procura-se sensibilizar o utente para a importância da adesão à terapêutica, esclarecendo-o também sobre a notificação de eventuais efeitos adversos e consequências do não cumprimento. Por fim, o doente assina um termo de responsabilidade. Após a dispensa, a medicação é registada informaticamente no processo do doente, sendo que todas as dispensas são conferidas pelo farmacêutico no dia seguinte, verificando o medicamento e quantidade cedida, centro de custo ao qual se imputou a medicação, lote e número de imputação. No caso das receitas em formato de papel, estas são arquivadas nos *dossiers* correspondentes à especialidade em questão (12).

Relativamente à quantidade cedida, geralmente, é apenas dispensada medicação referente a um mês, com a exceção dos contraceptivos utilizados no âmbito de consultas de planeamento familiar, que são dispensados para três meses. Porém, existe outra exceção, quando o doente reside a mais de 25 km do Hospital. Nestes casos, no dia da consulta efetua-se a dispensa para dois meses e, posteriormente, enviam-se os medicamentos por correio para o mesmo período, por autorização da CFT. Fora do âmbito de aplicação deste procedimento estão os medicamentos de elevado valor económico, medicamentos que necessitam de refrigeração e os contraceptivos (12).

Paralelamente às atividades enunciadas anteriormente, os farmacêuticos afetos a este setor realizam o seguimento farmacoterapêutico de doentes com determinadas patologias, como a esclerose múltipla, hipertensão pulmonar, entre outras. Este é fundamental por diversos motivos: proporciona maior controlo de patologias crónicas e de fármacos com elevado valor económico ou cuja toxicidade o exija; e permite avaliar a adesão à terapêutica. Neste contexto, sempre que se verifica o incumprimento da terapêutica instituída é elaborada uma notificação de não adesão, que é posteriormente enviada ao médico prescriptor. Adicionalmente, os farmacêuticos realizam pedidos de reposição ao armazém central e contagem de *stocks* semanalmente (12).

Durante o meu estágio, tive oportunidade de acompanhar e auxiliar na dispensa de medicamentos e no aconselhamento prestado pelo farmacêutico. Para além disso, participei na conferência diária das receitas, na receção e armazenamento de produtos farmacêuticos (nos armários, câmaras frigoríficas e *Consis*) e na preparação e envio da medicação pelo correio aos doentes. Para além disso, acompanhei o seguimento farmacoterapêutico a doentes com diversas patologias crónicas. Neste contexto, sugeri a criação de uma base de dados informatizada para otimizar este seguimento, sendo esta ideia aprovada pela direção dos SFH. Para terminar, sugeri um novo modelo de apresentação dos FI e elaborei três novos FI para serem fornecidos aquando do início da terapêutica; e auxiliei no preenchimento de duas notificações de não adesão.

3.5. Distribuição de medicamentos sujeitos a controlo especial

No CHCB, os MEP e os hemoderivados são alvo de um controlo especial, sendo o seu circuito da responsabilidade do farmacêutico afeto ao setor de ambulatório.

3.5.1. Distribuição de hemoderivados

Os hemoderivados são medicamentos obtidos por fracionamento e purificação do plasma humano, sendo os principais a albumina, as imunoglobulinas e os fatores de coagulação (14). Relativamente àqueles que podem ser dispensados aos doentes em regime de ambulatório, os procedimentos de registo da requisição, distribuição e administração são devidamente legislados pelo Despacho n.º 1051/2000, de 30 de outubro, garantindo um maior controlo, dado o risco possível de transmissão de doenças infetocontagiosas. Posto isto, é função dos SFH do CHCB efetuar a sua distribuição, com a exceção do plasma humano, que é dispensado na unidade de imunohemoterapia (15,16).

A dispensa de hemoderivados é precedida pela prescrição médica, efetuada em impresso próprio, sendo este composto por duas vias (“Via Farmácia” e “Via Serviço”) com a informação inicial do impresso a ser preenchida pelo serviço requisitante (identificação do médico prescriptor e do doente; requisição/justificação clínica - quadros A e B, respetivamente). Após validação do preenchimento do impresso e, se necessário, do cálculo

da quantidade necessária em função do peso corporal do doente, o farmacêutico deve preencher o quadro C (registo de distribuição), registando o nome do hemoderivado e dose a dispensar, lote, laboratório de origem e nº de certificado de aprovação de lote emitido pelo INFARMED. É fundamental que todas as embalagens sejam devidamente etiquetadas com o nome do doente e o serviço requisitante a que se destinam. Finalizado o preenchimento, o funcionário que procede ao levantamento do hemoderivado e o farmacêutico assinam o impresso e, este último conclui a dispensa, com a imputação informática do hemoderivado fornecido, anotando na “Via Farmácia” o registo dessa imputação. De seguida, esta é arquivada nos SFH e a “Via Serviço” é encaminhada para os SC, onde o enfermeiro preenche o quadro D (registo de administração). No caso de os hemoderivados não serem administrados num período de 24h, têm de ser devolvidos aos SFH, sendo lavrada a devolução pelo enfermeiro no Quadro D. Se os hemoderivados tiverem como destino um doente em regime ambulatorio, este é que é responsável pela assinatura na “Via Farmácia”, a qual juntamente com a “Via Serviço” ficam arquivadas nos SF. Por último, a “Via Serviço” é arquivada no processo do doente e consultada nas enfermarias pelo farmacêutico, garantindo a conformidade na administração do hemoderivado ao doente. Se o farmacêutico verificar que uma dose não foi administrada ao doente nem devolvida à farmácia, consta como uma não conformidade (16).

Durante o estágio, tomei conhecimento do enquadramento legal da dispensa, registo e dispensa de hemoderivados. Neste sentido, procedi à sua correta dispensa, preenchendo o quadro C e imputando o seu consumo por doente; e acompanhei o farmacêutico aos SC para verificar o correto preenchimento dos impressos. Adicionalmente, fiz uma tabela para avaliar o consumo de hemoderivados e as justificações clínicas apresentadas em janeiro e fevereiro de 2015.

3.5.2. Distribuição de estupefacientes e psicotrópicos

Relativamente aos MEP, devido à capacidade que apresentam de causar tolerância e dependência, estão sujeitos a controlo estreito e são devidamente regulamentados pelo Decreto-Lei nº 15/93 de 22 de janeiro, que realça o papel fundamental do farmacêutico na sua distribuição (2,6,17,18).

Nos SFH, os MEP encontram-se no ambulatorio e no armazém central, devidamente armazenados em cofre de dupla fechadura. Nos SC, existem MEP armazenados de forma semelhante e nas gavetas do *Pyxis*TM, existindo um *stock* definido, acordado entre os SFH e os SC, que considera as necessidades específicas destes. Neste contexto, todos os movimentos de MEP devem ser efetuados num livro de requisições próprio para o efeito, tendo por base o designado “Anexo X”, devidamente preenchido pelo enfermeiro (identificação do doente, nº do processo clínico, dosagem do medicamento e assinatura de quem o administrou), sendo

que cada requisição apenas pode comportar uma substância ativa; e assinado pelo diretor do serviço ou substituto legal para o qual o medicamento se destina (18).

Assim, os registos efetuados no Anexo X devem ser validados pelo farmacêutico e os lotes devem ser registados, com o original a ficar nos SFH e o duplicado a seguir para o serviço com os medicamentos. Posteriormente, realiza-se a imputação informática da prescrição ao serviço requisitante. De igual forma, quando acontece uma quebra accidental ou parte do conteúdo é rejeitado, a situação deve ser registada no Anexo X, que terá de ser assinado por 2 enfermeiros. Contudo, existem exceções ao exposto anteriormente, nomeadamente o bloco operatório, a urgência geral e a urgência têm um *stock* fixo de MEP armazenados no sistema *Pyxis*TM. Neste caso, a reposição é realizada através das listagens de consumo do *Pyxis*TM, que substituem o Anexo X por autorização do INFARMED (5,18).

No dia seguinte à dispensa, conferem-se as requisições, as quais são posteriormente entregues à AT, para que esta possa enviar, trimestralmente, ao INFARMED uma relação, doente a doente, dos estupefacientes utilizados em tratamento médico, bem como de todos os movimentos de MEP. Devido ao controlo estreito de que são alvo, no CHCB, existem contagens semanais dos *stocks* do ambulatório e armazém central feitas pelo farmacêutico e AT. Por outro lado, nos SC, mensalmente, os farmacêuticos realizam a contagem dos MEP, verificando validades e gerindo os MEP com validade mais curta para os SC onde o consumo destes é superior (18).

Durante o período de estágio, acompanhei todo o circuito de distribuição de MEP e colaborei com a AT nas contagens semanais do *stock* dos MEP. Para além disso, participei na reposição de *stocks* nos *Pyxis*TM do bloco operatório e na imputação informática das requisições.

4. Farmacotecnia

De acordo com a perspetiva atual de individualização terapêutica, o setor de farmacotecnia assume particular importância, colmatando as limitações da Indústria Farmacêutica em relação a doentes com necessidades terapêuticas específicas. Adicionalmente, este setor assegura elevada qualidade e segurança na preparação de medicamentos (2,6).

4.1. Preparação de citotóxicos e medicamentos biológicos

A preparação de citotóxicos injetáveis e medicamentos biológicos inicia-se quando o farmacêutico recebe a confirmação da prescrição pelos enfermeiros do hospital de dia, anotando o nome do doente e a hora da confirmação. De seguida, ocorre a validação da prescrição médica, que se baseia em protocolos pré-estabelecidos e aprovados para um determinado diagnóstico, sendo que estes incluem os fármacos citotóxicos, o número do dia e do ciclo de tratamento, a pré-medicação prescrita no sentido de contornar os efeitos adversos associados à quimioterapia, bem como os elementos identificativos do doente

(nome, altura, peso, área de superfície corporal e *clearance* de creatinina) (2,19). A validação da prescrição procura confirmar se as doses estão corretas, tendo em conta a área de superfície corporal do doente; e se a terapêutica é adequada à patologia diagnosticada. Após a validação, é impresso um mapa do protocolo em duplicado. Assim, uma das cópias é arquivada com o perfil farmacoterapêutico do doente, onde consta o seu histórico de prescrição de citotóxicos; e outra das cópias segue juntamente com o citotóxico para o serviço (19). Por fim, os rótulos para cada citotóxico são preparados, sendo que estes contêm pelo menos dois elementos identificativos do doente (nome e número do processo) e a palavra citotóxico sublinhada a amarelo.

Considerando o perigo associado à manipulação deste tipo de fármacos, os SFH do CHCB dispõem de uma unidade centralizada para a preparação de citotóxicos. Esta consiste num sistema modular de salas limpas *Misterium™*, que contêm um sistema de manutenção da qualidade do ar interior, através de filtros HEPA, o que garante um nível de pureza adequado e as condições de assepsia necessárias para a atividade exercida. Este sistema modular é constituído por uma pré-sala e uma sala de preparação. A primeira é destinada para o manipulador se equipar com o vestuário adequado (bata, touca, máscara, protetores de sapatos e luvas) e efetuar a lavagem e desinfeção das mãos, antes de prosseguir para a sala de preparação. Nesta última encontra-se a câmara de fluxo de ar laminar vertical (CFALV, classe II B), onde se procede à reconstituição e/ou diluição de citotóxicos injetáveis, sendo que esta confere proteção ao operador, ao produto manipulado e ao ambiente que o rodeia. Para além disso, existem determinadas condições de pressão e temperatura a que o sistema modular deve obedecer, tal como indicado na Tabela 2.2, sendo estes controlados diariamente. Os valores destes parâmetros são registados diariamente em impresso próprio afixado na parte de fora do sistema modular (19).

Tabela 2.1 - Critérios de aceitação para o sistema modular de preparação de citotóxicos.

	Pré-sala	Sala de Preparação
Pressão	> 1 mmH ₂ O	≤ 0 mmH ₂ O
Temperatura	< 25 °C	

Antes de se iniciar a preparação, a CFALV deve ser ligada pelo menos 30 minutos antes de se iniciar a manipulação e as suas superfícies têm de ser desinfetadas com álcool a 70%. O material para manipulação é enviado para o interior/exterior da sala limpa, através de um *transfer*. Adicionalmente, todos os produtos devem ser manipulados com técnica asséptica, sendo pulverizados com álcool a 70% antes da sua colocação na câmara. Com o intuito de minimizar os riscos associados a este tipo de medicamentos, são usados dispositivos como as conexões *luer-lock* nas seringas e equipamentos de perfusão e sistemas de transferência em circuito fechado (*spikes*). Para além disso, as seringas são escolhidas em função do volume a manipular, pois não se deve ocupar mais de $\frac{3}{4}$ da sua capacidade. Para terminar a preparação, os citotóxicos são envolvidos em papel de alumínio e rotulados, sendo o material

devidamente descartado. Material cortante, seringas e frascos de citotóxicos (vazios ou com alguma quantidade remanescente) devem ser colocados no contentor de plástico rígido (*biobox*). As luvas, bem como o restante equipamento e material não cortante deverão ser colocados em sacos de lixo de cor vermelha, que são enviados para incinerar a temperaturas superiores a 1000 °C. No fim da manipulação, as superfícies são limpas com álcool a 70%, a câmara deve continuar ligada 15-20 minutos depois de concluído o trabalho; e os citotóxicos são levados para os serviços por um AO numa mala hermética devidamente identificada (2,19). Neste contexto, torna-se importante realçar que, no CHCB, aplica-se uma sinalética identificativa do tipo de citotóxico que vai ser administrado: citotóxico, irritante ou vesicante.

No CHCB, existem normas escritas sobre medidas a tomar em caso de acidente ou derrame de citotóxicos, bem como um *kit* a usar nestas situações. Este contém: máscara de proteção respiratória P3, touca, óculos de segurança, luvas, protetores de sapatos, bata, contentor rígido, compressas absorventes, material de demarcação, pá e pinça para recolha dos vidros, resguardos descartáveis, saco do lixo de cor vermelha, solução de irrigação de cloreto de sódio (NaCl a uma concentração de 0,9%) e detergente alcalino para remoção dos resíduos e o formulário de ocorrência (20).

Durante o meu estágio, rececionei, por telefone, as confirmações dos protocolos prescritos, anotando o nome do doente e a hora da confirmação; preparei a pré-medicação incluída em cada protocolo e rotulei os citotóxicos injetáveis com os pictogramas indicados (citotóxico, irritante ou vesicante). Para além disso, observei a validação e preparação de diversos protocolos e, diariamente, atualizei ou criei os perfis farmacoterapêuticos dos doentes. Por último, calculei o tempo médio de espera entre a confirmação do citotóxico e a preparação do mesmo, que consiste num indicador de qualidade para este setor, registei os parâmetros de pressão e temperatura a que o sistema modular deve obedecer, fiz a contagens de *stocks* relativos a este setor, e conferi e arrumei as encomendas do material clínico pedido por este serviço.

4.2. Preparação de bolsas de nutrição parentérica e de outras preparações estéreis

No CHCB, os SFH têm disponível uma unidade de preparação de soluções estéreis (soluções injetáveis, bolsas de nutrição parentérica e colírios), sendo as bolsas de nutrição parentérica as preparações mais comuns.

A manutenção de um estado de nutrição adequado nos doentes nos quais não é possível recorrer-se a meios fisiológicos convencionais, permite que a nutrição artificial se assuma como uma opção terapêutica relevante. Neste contexto, no CHCB estão disponíveis para prescrição bolsas de nutrição parentérica tricompartimentadas (lípidos, hidratos de carbono e

aminoácidos), cujos compartimentos permanecem completamente individualizados até à reconstituição da bolsa. Tendo em consideração a sua osmolaridade e composição consideram-se dois tipos de bolsas: centrais e periféricas; com volumes diferentes e que garantem diferente aporte calórico ao doente. Após reconstituição e da adição de oligoelementos, vitaminas e alanina-glutamina, consoante as necessidades do doente, em geral, o prazo máximo de utilização é de 7 dias em refrigeração (2-8 °C) mais dois dias à temperatura ambiente (21).

Deste modo, o processo de preparação destas bolsas inicia-se com a prescrição médica, onde consta a identificação do doente e a composição da preparação. De seguida, ocorre a validação da prescrição pelo farmacêutico, que se desloca aos SC ou contacta o enfermeiro no sentido de verificar a necessidade da preparação. Caso alguma bolsa não tenha sido utilizada, esta é revertida e aproveitada para outro doente, ficando esta revertência devidamente registada e com novo rótulo com as informações atualizadas. Após verificar a necessidade da preparação, o farmacêutico valida a prescrição, considerando a compatibilidade dos aditivos (21). Posteriormente, seleciona a bolsa e os aditivos prescritos e introduz no sistema informático o lote e a data de validade dos mesmos. Por último, é emitido o rótulo onde consta o nome do doente, composição do produto e via de administração (periférica ou central).

No CHCB, os SFH têm disponível uma unidade de preparação de soluções estéreis, que consiste num sistema modular de salas limpas. Fundamentalmente, dentro desta área existe uma câmara de fluxo laminar horizontal (CFALH Classe I), contentores para lixo comum e material cortante (*biobox*) e um *transfer*, para se proceder à entrada/saída de material. Existe ainda uma antecâmara de passagem obrigatória onde se procede ao equipamento com o vestuário adequado (luvas, touca, máscara, proteção para sapatos e bata limpa). A área limpa deve ser mantida num estado de limpeza convencionado para a mesma e alimentada com ar condicionado adequadamente filtrado por filtros HEPA. Dentro de toda a sala deve existir uma pressão positiva que assegura a proteção do produto e, de forma a garantir a sua estabilidade física, química e microbiológica, o registo de pressões e temperatura realiza-se diariamente por um farmacêutico (Tabela 2.1) (21).

Tabela 2.2 - Critérios de aceitação para o sistema modular de preparação de nutrição parentérica.

	Pré-sala	Sala de Preparação
Pressão	1-2 mmH ₂ O	3-4 mmH ₂ O
Temperatura	21 ± 2,5 °C	

Aquando da preparação, a câmara de fluxo de ar laminar deve ser ligada 30 minutos antes do início da mesma e tanto o material, quanto a própria câmara, devem ser desinfetados com álcool a 70%. Para além disso, deve ter-se especial atenção à integridade física das embalagens, confirmando também a inexistência de partículas em suspensão, precipitação e

separação de fases. Adicionalmente, a ordem de aditivação e de reconstituição dos compartimentos requer particular importância, pois difere mediante o tipo de bolsa. Terminada a preparação, as bolsas são validadas pelo farmacêutico e devidamente rotuladas e acondicionadas, para que o AO se desloque aos SC para fazer a respetiva entrega. Por fim, a CFALH é limpa com álcool a 70% e mantida em funcionamento durante mais 15-20 minutos, para que sejam arrastadas quaisquer partículas que se encontrem em circulação (2,21).

Durante o estágio, inicialmente observei a preparação de uma bolsa de nutrição parentérica e, posteriormente, com a devida autonomia, preparei a maioria das bolsas (periféricas e centrais), sob supervisão farmacêutica. Para além disso, verifiquei diariamente a existência de bolsas nos SC, fiz a contagens das bolsas e dos vários aditivos que se encontram no armazém 10 e realizei o controlo microbiológico, que consistiu na introdução de 2,5 mL de glucose a 30% e de 2,5 mL de água para preparações injetáveis, em duplicado, para duas seringas.

4.3. Preparação de manipulados não-estéreis

A prescrição e preparação de medicamentos manipulados é regulada pelo Decreto-Lei n.º 95/2004, de 22 de abril e as boas práticas a observar na sua preparação são reguladas pela Portaria n.º 594/2004, de 2 de junho (22). Neste sentido, o processo de preparação de manipulados é iniciado por uma prescrição médica ou requisição dos SC ou de outro setor dos SFH (DIDDU ou ambulatório) e prossegue com a respetiva validação. De seguida, é impressa o rótulo e a ficha de preparação. Esta funciona como guia para todo o processo, sendo assinada pelo operador ao longo da manipulação e pelo farmacêutico que faz a validação (23).

Em relação à preparação propriamente dita, esta pode ser realizada por um farmacêutico ou delegada a um TDT. No início da preparação, o operador está devidamente equipado com máscara, touca, bata e luvas; e verifica se estão asseguradas todas as condições de limpeza e segurança e reunido todo o material para a manipulação. No laboratório das preparações não-estéreis, o material encontra-se dividido em dois grupos: material destinado à manipulação de preparações para uso interno e uso externo. Também a água utilizada difere se estas se destinam a uso interno (água para injetáveis) ou externo (água purificada) (23).

Após a preparação, é obrigatório determinar o pH para todas as preparações de uso humano, sendo que quando não existe valor de referência descrito, deve ser consultado o histórico de valores de pH obtidos para aquela formulação. Adicionalmente, procede-se à adequada rotulagem do manipulado, com especial atenção para as preparações de uso externo onde são colocadas etiquetas de fundo vermelho com “USO EXTERNO”. Por fim, cabe ao farmacêutico validar as matérias-primas e excipientes utilizados, e respetivas quantidades; cálculos e ensaios de verificação. Por último, os manipulados são devidamente rotulados e identificados com pictogramas respeitantes ao nível de toxicidade associado (verde para reduzida, amarelo

para intermédia e vermelho para elevada). No entanto, estes pictogramas não se aplicam quando a requisição é proveniente do setor de ambulatório (23).

Durante o estágio, tive oportunidade de preparar os seguintes manipulados: suspensão de nistatina usada na estomatite aftosa e pomada de nitroglicerina e cinchocaína usada nas fissuras anais. Para além disso, colaborei também na validação das matérias-primas e excipientes utilizados, analisando os respetivos lotes e validades; e também na atualização das fichas de segurança das matérias-primas do laboratório e inflamáveis.

4.4. Reembalagem

A reembalagem de medicamentos tem como principais objetivos permitir aos SFH disporem de um medicamento, de forma individualizada, devidamente identificado, assegurando a sua utilização com segurança, rapidez e comodidade (2,24).

Os SFH efetuam a reembalagem de medicamentos orais sólidos (comprimidos e cápsulas), destinados à DDDU e aos doentes em regime de ambulatório. Neste contexto, são usados dois equipamentos: um automático (FDS) e a máquina semiautomática de reembalagem (MSAR).

Relativamente à FDS, este tem de ser previamente carregado com os comprimidos inteiros e cápsulas não fotossensíveis a reembalar, em condições de segurança e higiene adequadas. Para tal, o farmacêutico ou TDT usa touca, máscara e luvas, limpando a cassete com álcool a 70% e, de seguida, coloca-a numa posição específica do carrossel da FDS, operação que é confirmada por leitura ótica. No *software* introduzem-se os dados do medicamento, sendo atribuída automaticamente a validade de 6 meses, exceto se a validade original for inferior. De forma a comparar as informações do medicamento reembalado com o relatório diário de enchimento impresso, as cartonagens originais do medicamento são conservadas e anexadas ao mesmo (24).

Em relação à MSAR, esta destina-se à reembalagem de comprimidos fotossensíveis (fracionados - meios, terços e quartos - e inteiros). Tal como na FDS, inicialmente é necessário desblisterar a forma farmacêutica e, quando aplicável, fracioná-la com um bisturi. Finalizado o processo, é necessária a validação por parte do farmacêutico, que verifica a integridade da manga e o rótulo (substância ativa, lote/validade do medicamento de origem e do reembalado, laboratório, dosagem e nº de unidade reembaladas). Por último, importa realçar que os SFH adotaram uma sinalética de alerta que contempla etiquetas diferentes para cada fração (24).

Relativamente à reembalagem, tive oportunidade de acompanhar todo o processo, colaborando na rotulagem dos medicamentos fracionados e desblisteramento de medicamentos. Adicionalmente, procedi à validação diária deste processo, através da colagem das cartonagens dos medicamentos reembalados e comparação com os relatórios.

5. Farmácia clínica

A Farmácia Clínica é a disciplina na qual os farmacêuticos providenciam orientações nos cuidados de saúde, tendo por base os seus conhecimentos farmacoterapêuticos. Com o objetivo de promover a saúde e prevenir a doença, melhorando a qualidade de vida dos doentes. Nos SFH do CHCB, as atividades de Farmácia Clínica desenvolvidas pelo farmacêutico incluem: (i) fomentar a utilização do GFT; (ii) controlar o uso de antibióticos; (iii) monitorizar a utilização de medicamentos; (iv) acompanhar a nutrição artificial; (v) integrar visitas clínicas; (vi) monitorizar níveis séricos de fármacos; (vii) colaborar na elaboração de *guidelines* e protocolos; e (viii) fornecer informação de medicamentos a profissionais de saúde e a doentes (2,6,25).

5.1. Acompanhamento da visita médica

No CHCB, de forma a proporcionar cuidados de saúde adequados, o farmacêutico é parte integrante da equipa multidisciplinar que acompanha diretamente os doentes internados nos SC, sendo esta constituída por enfermeiros, médicos, psicólogos, assistentes sociais, nutricionistas e terapeutas da fala. Nestas visitas o médico expõe para toda a equipa a história e evolução clínicas de cada doente, existindo uma avaliação conjunta de possíveis decisões a tomar. Assim, cabe ao farmacêutico incentivar o uso racional do medicamento, na medida em que conhece a lista de tempos de curso da antibioterapia e de antibióticos utilizados que são de uso restrito, alertando os médicos para este facto.

Durante o meu estágio, tive oportunidade de participar nas visitas clínicas semanais aos serviços de gastroenterologia e cirurgia 1 e 2, e nas reuniões da UAVC, onde constatei a troca de conhecimentos entre os diversos profissionais presentes nas mesmas. Mais especificamente, observei a intervenção do farmacêutico em relação ao tempo excessivo de antibioterapia.

5.2. Informação, intervenções farmacêuticas e reconciliação terapêutica

Tendo em conta a quantidade de alternativas terapêuticas existentes atualmente e a complexidade dos esquemas terapêuticos, é frequente surgirem questões por parte de outros profissionais de saúde. Assim sendo, cabe ao farmacêutico, considerado uma fonte de informação primária legítima sobre o medicamento, salvaguardar o uso seguro, eficaz e racional do medicamento (2,6).

Neste sentido, a informação do medicamento pode ser transmitida de duas formas: ativa ou passiva. A informação ativa é aquela que é realizada por iniciativa própria dos SFH, quando são detetadas necessidades específicas de informação sobre os medicamentos (livro sobre injetáveis, *newsletter* dos SFH, FI, entre outros). Relativamente à informação passiva, esta

consiste nas respostas às questões colocadas sobre o uso de medicamentos por outros profissionais de saúde ou doentes. Neste contexto, os SFH do CHCB possuem uma base de dados interna, onde são registadas todas as informações que são fornecidas pelos farmacêuticos, sendo indicada a questão colocada, a respetiva resposta e as fontes bibliográficas consultadas. Desta forma, quando é colocada alguma questão, o farmacêutico deve pesquisar de forma a perceber se a questão já surgiu anteriormente. Caso contrário, é necessário consultar fontes fidedignas que garantam uma resposta adequada e válida. Após o esclarecimento da dúvida, esta deve ser registada, de forma a facilitar a sua recuperação (26).

Outro método de quantificar e classificar o trabalho desenvolvido pelos SFH consiste numa base de dados que permite o registo de intervenções efetuadas por todos os farmacêuticos e realça o impacto de qualidade e/ou económico que as mesmas traduzem.

Os SFH do CHCB aplicam várias estratégias de gestão de risco, nomeadamente na forma de pictogramas. Neste sentido, também surge o cartão de medicação, que tem como objetivo facilitar o entendimento da terapêutica medicamentosa dos doentes após a alta hospitalar, compilando não só a medicação que o doente iniciou aquando da sua passagem pelo hospital, mas também aquela que já fazia antes. Para além disso, este cartão sistematiza as principais observações de cada medicamento e realça a sua posologia, com o intuito de prevenir duplicações terapêuticas e incentivar o cumprimento correto da terapia (26).

Durante o meu estágio, pude contactar com a base de dados que compila informações pertinentes relativas aos fármacos, tive oportunidade de auxiliar na partilha de informação sobre fármacos sujeitos a administração oral ou por sonda nasogástrica, bem como na disponibilização de FI no setor de ambulatório. A fim de incentivar a atualização e partilha de conhecimentos entre os profissionais de saúde, foram implementadas, no CHCB, sessões clínicas que se realizam periodicamente. Neste contexto, assisti a sessões subordinadas aos seguintes temas: “Psicologia: Dicas e Sugestões”, “Reumatologia-úlceras dos membros inferiores como manifestação de conectivite”, “Para quê um Serviço de Nutrição e Atividade Física num Hospital?” e “Síndrome da Apneia Obstrutiva do Sono e Risco Cardiovascular”.

Relativamente a intervenções farmacêuticas, assisti a duas: a reutilização de uma bolsa de nutrição parentérica, ao nível da farmacotecnia; e a aquisição de um medicamento de custo inferior, permitindo uma poupança económica ao CHCB.

Ao longo do estágio, assisti ao esclarecimento de algumas dúvidas, constatando que os profissionais de saúde contactam com frequência com os SFH, com o intuito de obter algum tipo de esclarecimento, como por exemplo: compatibilidade com outros fármacos e/ou com soluções de reconstituição, administração e interações medicamentosas. A solicitação deste apoio informativo atesta o valor do farmacêutico enquanto especialista do medicamento.

5.3. Farmacocinética clínica

A farmacocinética clínica permite estudar a evolução das concentrações do fármaco no organismo em função do tempo, possibilitando a individualização e otimização do tratamento. Desta forma, a monitorização das concentrações do fármaco permite à equipa clínica administrar a dose necessária, sem perigo de causar sobredosagem ou subdosagem, aspeto que se torna especialmente importante em fármacos de margem terapêutica estreita (2,6,27).

No CHCB, a monitorização sérica de fármacos pode ser proposta pelo farmacêutico ou pedida pelo médico, através do preenchimento de um impresso próprio. Neste âmbito, o doseamento dos fármacos é realizado pelo laboratório de patologia clínica e, após emissão dos resultados, os SFH determinam os parâmetros individuais do doente, através do programa informático *Abbottbase PK System*. De seguida, é proposto um regime posológico adequado à situação clínica do doente e preenche-se o impresso de monitorização com os parâmetros calculados e a proposta posológica. Este é remetido ao médico, ficando uma cópia nos SFH (27).

Durante o estágio, acompanhei várias monitorizações séricas de vancomicina relativas a doentes internados no CHCB, e pude acompanhar a evolução da terapêutica e o estabelecimento de novos regimes posológicos, por sugestão dos SFH. Assim sendo, é necessário combinar um horário de colheita de acordo com o valor pretendido (em pico, vale ou intermédio). Após a obtenção deste valor, processa-se a determinação do melhor regime posológico para o doente. Para tal, recorre-se ao *software* indicado acima onde se introduzem os seguintes dados: dados demográficos do doente (idade, altura, peso e sexo); história farmacoterapêutica (data de início e duração, via de administração, dose e frequência); informação clínica, se necessário; concentrações séricas (concentração/tempo); informação laboratorial (ex.: creatinina sérica). De seguida, são estimados os valores de concentrações plasmáticas, segundo o método *bayesiano*, sendo estes comparados com a concentração real. Após a obtenção de diferentes esquemas, estes devem ser avaliados de forma integrada com a evolução clínica de cada doente. Para além disso, como a condição clínica do doente pode ter implicações nos valores-alvo para o novo esquema posológico, devem consultar-se as *guidelines* mais recentes sobre o fármaco a monitorizar.

5.4. Farmacovigilância

De acordo com o INFARMED, a farmacovigilância envolve a “deteção, avaliação, compreensão e prevenção de reações adversas ou de quaisquer outros problemas relacionados com medicamentos”, promovendo o uso seguro e eficaz de medicamentos, bem como a proteção da saúde pública. Em Portugal, o INFARMED é a entidade responsável pelo acompanhamento, coordenação e aplicação do Sistema Nacional de Farmacovigilância (SNF). Neste sentido, todos os profissionais de saúde têm a obrigação de enviar informação sobre reações adversas associadas ao uso de medicamentos (RAM). O procedimento de notificação de RAM requer o

preenchimento do impresso de notificação de RAM do INFARMED, sendo enviada uma fotocópia para a CFT, sendo esta responsável pela análise das RAM notificadas no CHCB (27).

No CHCB, os SFH implementaram um sistema de farmacovigilância ativa, definindo uma lista de medicamentos que implicam especial atenção (medicamentos novos e/ou de elevado risco). Para além das RAM, também devem ser notificadas aos SFH todas as suspeitas de erros de medicação, documentadas por impresso próprio (27).

Durante o período de estágio, auxiliei no preenchimento de um impresso de notificação de reação adversa à cefoxitina por parte de um doente, que depois viu este antibiótico ser substituído por ciprofloxacina. O impacto desta notificação foi imediato, sendo adicionada esta informação à ficha do doente.

5.5. O papel do farmacêutico nos ensaios clínicos

Um ensaio clínico (EC) consiste em qualquer investigação conduzida no ser humano, com o intuito de descobrir ou verificar os efeitos clínicos e farmacológicos, de um ou mais medicamentos experimentais, de modo a apurar a sua segurança e eficácia (28).

A investigação clínica num Hospital exige a presença de equipas multidisciplinares que possibilitem o desenvolvimento eficaz do EC, sendo os SFH um dos elementos básicos que permitem otimizar a gestão dos medicamentos em investigação. A realização de EC de medicamentos para uso humano é regulada pelo Decreto-lei n.º 46/2004, de 19 de agosto (29).

Deste modo, em Portugal, o INFARMED tem sempre de avaliar e autorizar a proposta do promotor (responsável pela conceção, realização, gestão ou financiamento) que pretenda iniciar um EC, através dos pareceres emitidos pela Comissão de Ética para a Investigação Clínica. Após a aprovação do protocolo, o farmacêutico participa nas reuniões iniciais de EC com o promotor e outras que envolvam as equipas de investigação do CHCB. Para além disso, organiza a documentação necessária e exigida por lei para cada ensaio, colabora com os restantes profissionais no sentido de definir procedimentos internos, pelo controlo do circuito do medicamento experimental (receção, armazenamento, preparação, dispensa) e pela sua gestão (manutenção de registo de dispensa, prazos de validade, devolução ou inutilização com datas, quantidades, número de lotes, inventário). O processo inerente a cada ensaio nos SFH deve ser realizado com base em toda a documentação fornecida pelo promotor do mesmo.

Assim, considerando o circuito do medicamento experimental, os SFH do CHCB dispõem de um setor para apoio aos EC, onde importa realçar a existência de armários fechados com acesso restrito para o armazenamento da medicação e de toda a documentação, bem como uma câmara frigorífica.

A receção de medicamentos é realizada exclusivamente por farmacêuticos, cumprindo-se os procedimentos definidos no protocolo e devidamente registada. Estes devem confirmar a receção ao promotor assim que possível. De seguida, os medicamentos experimentais são armazenados em condições constantemente monitorizadas segundo as indicações do promotor, por sondas de temperatura e, caso aconteçam desvios, este deve ser prontamente notificado. Após a receção e armazenamento, procede-se à dispensa de medicação, tendo em consideração a prescrição para cada doente. Durante a dispensa, os farmacêuticos devem efetuar o registo da mesma em formulários existentes para o efeito, bem como todo o aconselhamento necessário, nomeadamente: indicações para o uso correto do medicamento e para promover a adesão à terapêutica; e ainda a informação de que os medicamentos não utilizados e os frascos/blisters dos medicamentos utilizados devem ser devolvidos aos SFH. A quantidade de medicamentos devolvidos permite ao farmacêutico avaliar a adesão sendo estes posteriormente recolhidos pelo promotor. Neste setor, os SFH criaram ficheiros informáticos para auxiliar no registo e controlo dos EC, tais como: resumo do EC, com todas as informações relevantes sobre o mesmo; e o diário do EC, onde são registadas todas as ocorrências deste. Por fim, quando o EC termina toda a documentação deve ser arquivada durante um período de 15 anos.

Durante o estágio, contactei com os locais de armazenamento dos fármacos destinados a EC, bem como com os locais de arquivo de toda a documentação associada. Adicionalmente, realizei as contagens de *stocks* associadas aos medicamentos experimentais.

6. Conclusão

O farmacêutico hospitalar apresenta-se como um profissional de saúde tecnicamente qualificado, que integrando uma equipa multidisciplinar, está apto para desempenhar funções cruciais no contexto do uso correto do medicamento.

O estágio realizado na farmácia hospitalar permitiu-me constatar mais de perto, o papel fundamental que nós, farmacêuticos, desempenhamos na promoção da melhoria da saúde e na garantia da otimização da terapêutica. Neste período, tive a possibilidade de participar ativamente nas várias tarefas em que o farmacêutico hospitalar está envolvido.

De um modo geral, considero que este período de estágio contribuiu para o meu crescimento enquanto futura farmacêutica, pois conheci uma realidade até então desconhecida e valorizei o papel crucial que o farmacêutico desempenha nos serviços de saúde hospitalares.

7. Bibliografia

1. INFARMED. Decreto-Lei n.º 44 204, de 2 de fevereiro de 1962. Legislação Farmacêutica Compilada. 1962.
2. Conselho Executivo da Farmácia Hospitalar. Manual da Farmácia Hospitalar. Ministério da Saúde. 2005.
3. INFARMED. Deliberação n.º 105/CA/2007, de 1 de março. Legislação Farmacêutica Compilada. 2007.
4. INFARMED. Despacho n.º 9114/2002, de 15 de março. Legislação Farmacêutica Compilada. 2002.
5. INFARMED. Portaria n.º 981/98, de 8 de junho. Legislação Farmacêutica Compilada. 1998.
6. Conselho do Colégio de Especialidade em Farmácia Hospitalar. Boas Práticas em Farmácia Hospitalar. Ordem dos Farmacêuticos. 1999.
7. Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento interno CHCB.PI.FARM.10 - Conferência de medicamentos/outros produtos farmacêuticos entrados nos Serviços Farmacêuticos. 2ª Edição. 2014.
8. Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento interno CHCB.PI.FARM.11 - Controlo de *stocks* e validades dos armazéns dos Serviços Farmacêuticos. 2ª Edição. 2014.
9. Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento interno CHCB.PI.FARM.28 - Distribuição semiautomática (*Pyxis*TM). 2ª Edição. 2014.
10. Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento interno CHCB.PI.FARM.08 - Distribuição individual em dose unitária de medicamentos. 4ª Edição. 2014.
11. Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento Operativo CHCB.PO.FARM.23 - Registo de Intervenções Farmacêuticas. 1ª Edição. 2013.
12. Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento interno CHCB.PI.FARM.04 - Dispensa de medicamentos em ambulatório. 4ª Edição. 2013.
13. INFARMED. Despacho n.º 18419/2010, de 2 de Dezembro. Legislação Compilada. 2010.
14. Ordem dos Farmacêuticos. Medicamentos derivados do plasma, ROF Abril/Maio de 2013.
15. Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento interno CHCB.PI.FARM.05 - Circuito de medicamentos hemoderivados. 1ª Edição. 2013.
16. INFARMED. Despacho n.º 1051/2000, de 30 de outubro. Legislação Compilada. 2000.
17. INFARMED. Decreto-Lei n.º 15/93 de 22 de janeiro. Legislação Compilada. 1993.
18. Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento interno CHCB.PI.FARM.26 - Circuito de estupefacientes e psicotrópicos. 3ª Edição. 2014.
19. Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento operativo CHCB.PO.FARM.02 - Normas para a preparação de medicamentos citotóxicos nos

- Serviços Farmacêuticos. 7ª Edição. 2014.
20. Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento operativo CHCB.PO.FARM.03 - Normas em caso de acidente envolvido citotóxicos. 4ª Edição. 2014.
 21. Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento operativo CHCB.PO.FARM.05 - Normas para a preparação e controlo de qualidade de fórmulas farmacêuticas estéreis e NP nos Serviços Farmacêuticos. 6ª Edição. 2012.
 22. INFARMED. Portaria n.º 594/2004, de 2 de junho. Legislação Compilada. 2004.
 23. Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento operativo CHCB.PO.FARM.12 - Normas para a preparação e controlo de qualidade de fórmulas farmacêuticas não estéreis. 5ª Edição. 2012.
 24. Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento operativo CHCB.PO.FARM.01 - Normas para a embalagem de medicamentos orais sólidos. 5ª Edição. 2012.
 25. Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento interno CHCB.PI.FARM.31 - Farmacovigilância e Farmácia Clínica. 2ª Edição. 2013.
 26. Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento interno CHCB.PI.FARM.06 - Processo de informação de medicamentos. 1ª Edição. 2013.
 27. Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento interno CHCB.PI.FARM.30 - Farmacocinética Clínica. 1ª Edição. 2013.
 28. Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHCB. Procedimento interno CHCB.PI.FARM.33 - Processo de Ensaios Clínicos. 2ª Edição. 2013.
 29. INFARMED. Despacho n.º 46/2004, de 19 de agosto. Legislação Compilada. 2004.

Capítulo III - Farmácia Comunitária

1. Introdução

A Farmácia Comunitária (FC), dada a sua acessibilidade à população, funciona como uma das portas de entrada no sistema de saúde e caracteriza-se pela prestação de cuidados de saúde de elevada diferenciação técnico-científica (1).

O seu principal objetivo é a cedência de medicamentos em condições que permitam a minimização dos riscos associados ao seu uso, reduzindo-se situações de morbi-mortalidade. Neste contexto, o farmacêutico, como fonte de informação primária legítima sobre o medicamento, assume um papel fundamental como promotor do bem-estar e do uso seguro, eficaz e racional do medicamento, bem como na prevenção da doença.

O presente relatório pretende resumir os conhecimentos adquiridos no decorrer do meu estágio em FC, que teve lugar na Farmácia Sena em Seia, com a duração total de 480 horas (de 26 de março a 13 de junho de 2015), sob supervisão do Dr. Nuno Gardon Augusto.

2. Organização da Farmácia Sena

2.1. Espaço físico: instalações e equipamento

Relativamente ao espaço físico, a Farmácia Sena cumpre os requisitos estabelecidos pela Deliberação n.º 1502/2014, de 3 de julho e está de acordo com as normas das Boas Práticas Farmacêuticas (BPF) para a Farmácia Comunitária (1,2).

A Farmácia Sena detém instalações de aparência moderna e atrativa, com espaços bem diferenciados e de grande acessibilidade. No seu exterior, está claramente identificada através de uma cruz verde luminosa e de uma placa com a identificação da farmácia. Na entrada encontram-se afixados o horário de funcionamento, a lista de farmácias de serviço no concelho de Seia e a identificação da Direção Técnica.

Relativamente ao interior, é possível distinguir duas áreas: uma de acesso restrito e outra de acesso ao público; sendo que ambas cumprem os requisitos de instalação previstos no Decreto-Lei n.º 307/2007 de 31 de agosto de 2007 e na Deliberação n.º 1502/2014, de 3 de julho (2,3). Enquadrada nas condições impostas pela legislação, a Farmácia Sena conta com as seguintes áreas funcionais:

- Zona de atendimento ao público: constituída por quatro balcões de atendimento, atrás dos quais estão expostos medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM), produtos homeopáticos, fitoterapêuticos, entre outros que necessitem um aconselhamento mais

alargado; estantes com produtos totalmente acessíveis ao público (por exemplo produtos de higiene íntima e puericultura, dermocosmética, entre outros); e uma balança eletrónica disponível para medição de peso, altura e índice de massa corporal (IMC);

- Gabinetes de atendimento personalizado: onde se prestam serviços farmacêuticos, nomeadamente a determinação de parâmetros bioquímicos (pressão arterial, colesterol total, triglicéridos, glicémia), consultas de nutrição, administração de vacinas e injetáveis. Pela maior privacidade que fornecem, são também utilizados quando o utente necessita de um diálogo privado ou de se expor, de modo a obter um melhor aconselhamento.

- Arrecadação: onde se encontram os excedentes, repostos sempre que necessário;

- Laboratório: devidamente equipado com o material exigido nas BPF, sendo utilizado na preparação de manipulados e reconstituição de antibióticos com água destilada. Coexiste neste local um frigorífico destinado aos produtos que necessitam de refrigeração;

- Gabinete do DT: onde é efetuada toda a contabilidade, gestão e atividade administrativa da farmácia;

- Zona de receção e armazenamento de encomendas: dispõe de um computador, uma impressora convencional e de código de barras e um telefone, coexistindo no mesmo espaço um armário principal com gavetas deslizantes para o armazenamento de medicamentos. Este está organizado por ordem alfabética do nome comercial e, no caso dos medicamentos genéricos, por DCI. Adicionalmente, existem produtos segregados da ordem geral indicada anteriormente devido ao tipo de forma farmacêutica (suspensões/xaropes, saquetas, injetáveis, supositórios, soluções orais, ampolas e pomadas/cremes/geles) ou por se tratarem de medicamentos com carácter de rotatividade superior ou que exijam maior controlo (psicotrópicos/benzodiazepinas, contraceptivos, produtos oftálmicos, ginecológicos, otorrino, pulmonares e protocolo - lancetas e tiras de glicémia). Para além disso, existe um armário destinado aos medicamentos de uso veterinário, bem como prateleiras destinadas a produtos que devido à sua dimensão ou facilidade de acesso não requerem armazenamento nas gavetas (ex.: desinfetantes e antissépticos, soro fisiológico, material de penso);

- Zona de escritório: onde se inclui um armário destinado ao receituário pendente, toda a bibliografia necessária ao bom desempenho das atividades farmacêuticas e o registo de psicotrópicos. Este é o local onde se procede à conferência do receituário.

- Instalações sanitárias com duche e vestiários.

No que concerne ao equipamento disponível, para além do supracitado, importa referir que a Farmácia Sena está equipada com o sistema informático Sifarma 2000, um sistema de controlo da temperatura e humidade, sistema de gravação de imagens e de faturação, equipamento para a realização de testes bioquímicos, sistemas de leitura ótica e caixas registadoras.

Desde modo iniciei o meu estágio com a apresentação de cada uma das áreas anteriormente referidas, os equipamentos disponíveis nas mesmas, bem como a sua forma de funcionamento, de forma a desenvolver um melhor trabalho durante o estágio.

2.2. Recursos Humanos

Considerando o Decreto-Lei n.º 307/2007, de 31 de agosto, que define o Regime Jurídico das Farmácias de Oficina, as farmácias devem dispor na sua equipa, pelo menos, de um Diretor Técnico (DT) e de outro farmacêutico. Adicionalmente, deve procurar-se que os farmacêuticos constituam a maioria da equipa, embora, possam ser coadjuvados por Técnicos de Farmácia e/ou por outro pessoal devidamente habilitado (3).

Relativamente aos recursos humanos, a Farmácia Sena conta com uma equipa que se caracteriza pela sua simpatia e preocupação para com o utente, destacando-se a atitude profissional e responsável de procurar o reforço das suas competências, imprimindo a máxima qualidade aos serviços prestados. Assim, a equipa é composta por um farmacêutico Diretor Técnico, um farmacêutico, três técnicos de farmácia, um contabilista e uma equipa de limpeza. Para além disso, a Farmácia Sena conta com o apoio de uma nutricionista que dá consultas semanais.

A Direção Técnica é assegurada pelo farmacêutico Diretor Técnico, Dr. Nuno Gardon Augusto, ao qual compete, no exercício da sua atividade, assumir a responsabilidade pelos atos farmacêuticos praticados, cumprindo e fazendo cumprir as regras associadas ao exercício da atividade farmacêutica (3).

3. Informação e documentação científica

A profissão farmacêutica exige uma constante atualização de conhecimentos científicos, sendo por isso importante a existência de uma biblioteca, que permita a consulta rápida de informação útil no quotidiano do exercício farmacêutico. Para isso, é necessário que a farmácia detenha de forma obrigatória, segundo o Decreto-Lei n.º 307/2007 de 31 de agosto, a Farmacopeia Portuguesa (em formato eletrónico ou papel) e o Prontuário Terapêutico (3).

Deste modo, e percebendo a diferença que um profissional com conhecimento técnico-científico atualizado pode fazer, para além das publicações citadas acima, a Farmácia Sena conta inúmeras publicações sobre aconselhamento farmacêutico, doenças crónicas, entre outros temas úteis à prática farmacêutica. Para além disso, é comum a consulta de informação nas várias funcionalidades do *Sifarma 2000*, bem como, quando necessário, ao nível dos centros de documentação e informação. Estes são estruturas de apoio, que prestam suporte técnico e científico à atividade das farmácias nas áreas do medicamento e da saúde, como por exemplo o Centro de Informação de Medicamentos e o Centro de Divulgação do

Medicamento. Este último da Associação Nacional das Farmácias (ANF) que em tempo útil procura responder às questões colocadas pelos farmacêuticos.

Também importa realçar que, na Farmácia Sena, sempre que existe alguma informação recente, nomeadamente circulares do INFARMED, estas são expostas e partilhadas por todos os elementos da equipa, para que estejam todos a par das mais recentes informações científicas.

Durante o estágio, apresentaram-me a biblioteca existente na farmácia e aconselharam-me a ler algumas das publicações. Adicionalmente, houve necessidade de consolidar conhecimentos através da consulta de documentos e livros sobre as indicações terapêuticas, contraindicações e posologia dos medicamentos. Para além disso, procurei estender o meu conhecimento sobre formas de aconselhamento nas diferentes situações que podem ser tratadas através do recurso a automedicação, o que me permitiu, através da aplicação prática deste tipo de informação, uma prestação de serviços com maior qualidade e segurança para o utente. Também tive a necessidade de usar o *Sifarma* 2000, bem como o *site* do INFARMED e o prontuário para ganhar informação adicional sobre alguns medicamentos, contudo não contactei com nenhum centro de documentação.

4. Medicamentos e outros produtos de saúde

Considerando a atividade global de uma farmácia, torna-se importante a distinção entre medicamento e outros produtos de saúde (MEP, dispositivos médicos, entre outros). Assim, um medicamento é “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”. Igualmente importante em FC é o conceito de medicamento genérico, sendo este um “medicamento com a mesma composição qualitativa e quantitativa em substâncias ativas, sob a mesma forma farmacêutica e para o qual, sempre que necessário, foi demonstrada bioequivalência com o medicamento de referência, com base em estudos de biodisponibilidade apropriados” (4,5).

5. Aprovisionamento e armazenamento

5.1. Encomendas e critérios de seleção de um fornecedor

A seleção dos fornecedores deve ser feita com base em critérios que permitam à FC receber atempadamente os produtos necessários com as melhores condições comerciais possíveis. Assim sendo, na Farmácia Sena, a escolha dos fornecedores fica a cargo do DT, e são escolhidos de acordo com o número de entregas diárias, disponibilidade dos produtos requeridos, condições de negociação (bonificações, descontos, existência de grupos de

compras) e ainda de acordo com as facilidades de pagamento e hora de entrega das encomendas. A Farmácia Sena trabalha essencialmente com três fornecedores: *Alliance Healthcare*, *Cooprofar* e *Plural*. Pelas razões acima referidas, existe preferência pela *Alliance Healthcare*, com os restantes a serem solicitados quando não é possível obter os produtos junto do principal fornecedor.

De uma forma geral, existem três tipos de encomendas: diárias, instantâneas (por via *online* ou por telefone) e diretas aos delegados responsáveis por um laboratório. Neste contexto, aquando da introdução de um produto no sistema, estabelece-se um *stock* máximo e mínimo, de acordo com o consumo médio, sazonalidade do produto e histórico de compras. Quando este atinge o *stock* mínimo, o *Sifarma 2000* gera um PE automaticamente, com o número de produtos correspondente ao *stock* máximo. Assim, o conjunto de produtos abaixo do *stock* mínimo consiste numa proposta da encomenda diária, que após validação por parte do DT, que pode inserir ou retirar produtos da lista, é enviada ao fornecedor escolhido. Por outro lado, as encomendas instantâneas resultam da necessidade de determinado produto para um utente cuja chegada não está prevista na próxima encomenda. Por norma, este tipo de encomendas são realizadas pelo farmacêutico ou TF ao balcão, por intermédio do programa *Sifarma 2000* ou por contacto telefónico com o fornecedor. Por último, nas encomendas diretas estão incluídos produtos de venda sazonal, dermocosmética, entre outros que, devido à compra de maiores quantidades, permitem à farmácia beneficiar de melhores condições de aquisição.

Para além dos três tipos indicados anteriormente, também é possível efetuar uma encomenda manual. Esta tem de ser criada informaticamente, inserindo o produto e a quantidade a encomendar e, posteriormente, é enviada ao fornecedor selecionado através do *Sifarma 2000*.

Deste modo, diariamente são realizadas encomendas de forma a normalizar os *stocks* e a garantir fluidez na dispensa, permitindo um investimento moderado e diminuindo a possibilidade de expiração de prazos de validade. Existem diversos fatores que influenciam a escolha de produtos a comprar, nomeadamente: o carácter de rotatividade do produto na dispensa, a sazonalidade (doenças e/ou situações mais predominantes) e, também, as características da população e o contexto geográfico da farmácia que podem condicionar os hábitos de prescrição. O objetivo é garantir a presença de todos os produtos essenciais ao bom funcionamento da farmácia. Em caso de rutura de *stock*, e em caso de o produto não se encontrar disponível no armazenista, por vezes, é necessário contactar uma farmácia próxima.

Assim, durante o estágio pude observar a realização de várias encomendas diárias, com base na proposta do *Sifarma 2000*. Quando comecei o atendimento ao público, sempre que necessário realizava encomendas instantâneas e, de forma a garantir uma melhor gestão das

encomendas, comunicava à restante equipa o que constava da minha encomenda. Por último, na fase final do estágio realizei várias encomendas manuais, sob supervisão do DT.

5.2. Receção e verificação das encomendas

A receção e verificação das encomendas é uma das etapas mais importantes, pois influencia diretamente a correta gestão dos *stocks*. Desta forma, quando a encomenda é rececionada, verifica-se se esta vem acompanhada da respetiva fatura (original e duplicado), sendo que o original é enviado para a contabilidade e o duplicado é guardado para auxiliar na verificação da encomenda.

De seguida, caso se trate de uma encomenda realizada *online*, efetua-se a receção da mesma no módulo “receção de encomendas” do programa *Sifarma 2000*, através da introdução do número da fatura e do valor total da encomenda. Ao mesmo tempo que se verifica quantitativa e qualitativamente os produtos enviados, efetua-se a leitura ótica dos mesmos, certificando sempre o seu estado de conservação, prazo de validade (registando-se informaticamente se o prazo de validade for mais curto), preço de faturação e preço de venda ao público (PVP). Por outro lado, se a encomenda for realizada por telefone, primeiro é preciso criá-la manualmente no módulo “gestão de encomendas”, inserindo o nome e quantidade do produto, seguindo-se a sua receção da forma descrita anteriormente. Torna-se importante realçar que, no decorrer deste processo, sempre que o PVP não corresponde ao registado na aplicação informática, torna-se imperativa a sua atualização, salvaguardando os casos em que existe *stock* do produto. Nesta situação, na Farmácia Sena, este produto é envolvido com um papel contendo o PVP alterado, de forma a minimizar erros na sua dispensa.

Por último, e considerando a constante alteração dos preços de medicamentos, é necessário confirmar o preço impresso na cartonagem (PIC). O INFARMED é a entidade responsável pela regulamentação e autorização dos preços dos medicamentos comparticipados pelo Serviço Nacional de Saúde (SNS). No entanto, é necessário estabelecer a margem de lucro dos MNSRM, nos quais o PIC não vem descrito. Para estes é necessário calcular o PVP, que depende do Imposto de Valor Acrescentado (IVA) a que está sujeito (6% ou 23%) e da margem de lucro estabelecida pela farmácia, para posterior etiquetagem. Perante toda esta verificação, o valor monetário total da encomenda exibido no sistema informático deverá ser concordante com o debitado na fatura.

Finalizada a receção, os produtos em falta na encomenda são transferidos para outro fornecedor previamente estabelecido e é realizada uma comunicação ao INFARMED destes mesmos produtos que se encontram em falta.

Neste processo, há a considerar o caso particular dos MEP e benzodiazepinas, que vêm acompanhados pela requisição da encomenda em duplicado. Esta tem de ser assinada e

carimbada pelo DT, com o original a ficar arquivado na farmácia por um período mínimo de três anos.

Assim, toda a verificação inerente à receção de encomendas visa garantir que os dados relativos a preços e prazos de validade estão atualizados, o que possibilita a cedência segura do medicamento por parte do farmacêutico, otimizando o processo de dispensa.

Durante o período de estágio, esta foi uma das tarefas em que participei mais ativamente. Diariamente, chegavam à farmácia encomendas provenientes essencialmente da *Alliance Healthcare*. Apesar de nos primeiros dias apenas assistir à receção, rapidamente comecei a auxiliar na verificação de *stocks* dos produtos acabados de chegar até ganhar total autonomia para realizar a receção de encomendas de forma independente, tornando-me responsável pelas mesmas. Para além disso, esta tarefa permitiu-me analisar várias fichas dos produtos, melhorar as minhas competências no *Sifarma 2000*, bem como a reconhecer os medicamentos e outros produtos mais facilmente, o que ajudou sobremaneira quando comecei a atender ao público.

5.3. Reclamações e devoluções

Após a receção das encomendas, existem várias situações que podem tornar necessária uma devolução ao fornecedor, sendo estas: produtos com prazos de validade curtos; produtos com embalagens danificadas; circulares do INFARMED para retirada de produto e/ou lote do mercado; envio de produtos não faturados ou até a incorreta faturação de produtos pedidos.

Nestes casos, na Farmácia Sena, estes produtos são imediatamente segregados dos restantes e devolvidos no próprio dia. Nestas situações, o *Sifarma 2000* gera uma nota de devolução ao fornecedor, onde se explicita o produto que está a ser devolvido, bem como o motivo da devolução e o número da fatura onde consta o produto. Esta é impressa em triplicado, carimbada e assinada pelo operador que procede à devolução e acompanha o transporte do produto pelo fornecedor. Após análise, se a devolução for aceite pode ser criada uma nota de crédito correspondente ao valor do produto, ou o fornecedor pode proceder à substituição do mesmo. Caso contrário, se a devolução for rejeitada, o produto constitui uma quebra para o *stock* da farmácia ou entra novamente em *stock*, de forma a poder ser vendido.

No decorrer do estágio, tive oportunidade de realizar algumas devoluções, nomeadamente de produtos faturados e não enviados, bem como de produtos faturados e não pedidos, contribuindo de forma ativa para uma gestão eficaz dos *stocks*.

5.4. Armazenamento

No armazenamento, as condições de temperatura e humidade necessitam de ser estritamente monitorizadas, de modo a garantir a estabilidade de todos os produtos armazenados. Assim, a

Farmácia Sena possui termohigrômetros que permitem visualizar informaticamente as variações de temperatura e humidade, de forma a garantir que os seguintes parâmetros são respeitados:

- Nas zonas de armazenamento, a humidade deve ser 30-60% e a temperatura inferior a 25°C;
- No frigorífico, a humidade deve ser 80-100% e a temperatura entre 2-8°C.

Após a segregação de produtos a ser devolvidos aos fornecedores, os medicamentos e produtos farmacêuticos são armazenados nos locais anteriormente descritos no ponto 2.1. Atendendo às diferentes necessidades de conservação, os produtos de frio são os primeiros a ser armazenados.

Desta forma, na Farmácia Sena, são aplicados vários critérios de armazenamento, sendo o primeiro o tipo de produto (ex.: medicamento de uso veterinário, suplemento alimentar), o segundo a forma farmacêutica, o terceiro a ordem alfabética de nome comercial ou DCI e o quarto a dosagem e/ou a quantidade presente em cada embalagem (ex.: número de comprimidos, saquetas). Após esta ordenação, todos os produtos armazenados são organizados segundo o princípio FEFO, isto é, os medicamentos são dispostos para que os de maior acessibilidade no momento da dispensa sejam aqueles com prazo de validade mais curto, diminuindo assim o tempo de permanência de cada produto na farmácia.

Assim, para além do armário de gavetas onde se encontra a maioria dos produtos, também existe uma zona reservada para matérias-primas (no laboratório), medicamentos de uso veterinário, material de penso, desinfetantes e antissépticos.

Para além disso, existe ainda prateleiras de reforço de *stock*, que contêm os excedentes dos produtos colocados nas gavetas, bem como produtos de maiores dimensões. Adicionalmente, estas também incluem uma zona para os medicamentos que não se encontram disponíveis na farmácia aquando do atendimento, mas que são pedidos para utentes em específico, sendo esta segregação importante para minimizar desperdícios de tempo durante o atendimento destes utentes quando regressam à farmácia. Durante a receção, quando o produto encomendado se encontra reservado e pago por utente em específico, este é devidamente identificado com o nome do utente, sendo armazenado neste local. Por outro lado, existe uma outra área destinada a produtos reservados mas que ainda não foram pagos.

No decorrer do estágio, o armazenamento foi uma tarefa que realizei desde o início, de forma a perceber qual o local onde os produtos estavam armazenados e a familiarizar-me com todos os produtos (ex.: nome, apresentação). Neste sentido, todos os dias repus e organizei *stocks*, segreguei produtos reservados, estando consciente da responsabilidade do ato praticado, pois uma troca no medicamento pode originar um grave risco para a saúde do utente. De forma a otimizar ainda mais o tempo de procura dos medicamentos reservados sugeri que estes fossem separados por ordem alfabética do nome da pessoa, o que se revelou uma mais-valia

para a Farmácia Sena, uma vez que um armazenamento perspicaz é fundamental para a boa gestão de uma farmácia.

5.5. Controlo do *stock* e gestão dos prazos de validade

A etapa de aprovisionamento é possivelmente uma das mais importantes, e intrínseco a esta etapa encontra-se o controlo de *stocks* e prazos de validade. Este contribui principalmente para uma maior segurança dos utentes e um menor desperdício económico.

Na Farmácia Sena, este controlo realiza-se trimestralmente, com o *Sifarma 2000* a emitir uma listagem contendo os produtos cuja data de validade expira nos três meses seguintes. De seguida, realiza-se uma contagem física dos produtos em *stock* e verifica-se o seu prazo de validade. Se a data se confirmar, os produtos são retirados do local de armazenamento para serem devolvidos ao fornecedor, neste caso, à *Alliance Healthcare* na forma de uma nota de devolução. Por fim, procede-se à atualização da data de validade, colocando a data mais curta dos produtos existentes no local de armazenamento.

Adicionalmente, há produtos cuja devolução não é aceite e, como tal, são devolvidos à farmácia. Na Farmácia Sena, estes seguem um procedimento próprio com dois destinos possíveis: são colocados numa zona de maior visibilidade, fora dos armários, para alertar toda a equipa da necessidade da sua saída; ou são considerados quebras de *stock* se já não reunirem as condições necessárias à sua venda.

Deste modo, durante o estágio participei numa contagem física de *stocks*, relativamente a produtos a expirar em 3 meses. Para além disso, reuni os produtos cuja validade expira até final de 2015, no sentido de se avaliar o carácter de rotatividade do produto e, conseqüentemente, a necessidade de devolução. Por último, listei os prazos de validade das matérias-primas presentes no laboratório, uma vez que devido à baixa regularidade com que se preparam manipulados na Farmácia Sena, estas não têm uma rotatividade tão grande quanto os restantes produtos da farmácia.

6. Atendimento

6.1. Interação farmacêutico-utente-medicamento

O farmacêutico, enquanto profissional de saúde e de acordo com o seu código deontológico, tem como objetivo primordial da sua atividade “a pessoa do doente” e deve ter total consciência do conceito de ato farmacêutico, bem como das suas implicações (6).

Neste sentido, deve também colocar a saúde e o bem-estar do utente em primeiro plano, promovendo “o direito das pessoas a terem acesso a um tratamento com qualidade, eficácia e segurança” e observando “a mais rigorosa correção, cumprindo escrupulosamente o seu dever

profissional e tendo sempre presente que se encontra ao serviço da saúde pública e dos doentes” (6).

Apesar do contexto financeiro e social atuais exercerem uma pressão cada vez maior no sentido de maiores ganhos económicos e comerciais, torna-se essencial que o farmacêutico desempenhe a sua profissão centrado no utente, mantendo uma postura e linguagem concordantes com o seu nível sociocultural, de modo a que este perceba de forma simples e clara a informação transmitida. Este comportamento considera-se particularmente relevante, dado o facto do farmacêutico se tratar do elo de ligação entre o prescriptor e o utente. Deste modo, é fulcral a criação de um vínculo com o utente, que lhe permita estabelecer uma relação de confiança, com o sigilo profissional subjacente que impera, que contribua para que a informação transmitida seja mais facilmente aceite e cumprida.

Relativamente a este ponto, na Farmácia Sena, é possível observar elevada heterogeneidade da população que a frequenta e, assim, tive necessidade de adequar o discurso a cada utente. Deste modo, foram também muito importantes os atendimentos a que assisti de forma passiva por parte da restante equipa, que me permitiram tornar mais flexível na abordagem aos utentes, onde procurei sempre demonstrar uma facilidade de comunicação, simpatia e disponibilidade para que o utente se sentisse confortável e confiasse no que lhe transmitia.

6.2. Farmacovigilância

A farmacovigilância é uma atividade de saúde pública que tem por objetivo a identificação, quantificação, avaliação e prevenção dos riscos associados ao uso de medicamentos. Considerando a possibilidade de ocorrência de eventos adversos, enquanto profissionais de saúde, os farmacêuticos devem estar vigilantes, especialmente devido à acessibilidade que a farmácia tem para toda a população. Assim, têm o dever de comunicar com brevidade as suas suspeitas de reações adversas, promovendo a notificação das mesmas ao SNF que garante a correta recolha, processamento e avaliação das notificações espontâneas (1,7).

Para além dos profissionais, qualquer pessoa pode notificar um evento adverso, através do preenchimento do formulário *online* presente no portal RAM ou, caso este não se encontre disponível, pode notificar com recurso ao formulário em papel ou via telefone.

Durante o estágio, não tomei conhecimento, nem tive oportunidade de reportar qualquer reação adversa a medicamentos.

6.3. Valormed

A correta gestão dos medicamentos fora de validade e que já não estão em condições de ser usados, bem como as respetivas embalagens vazias é responsabilidade da Valormed, sociedade sem fins lucrativos cujo principal propósito passa pela consciencialização dos

utentes e profissionais de saúde relativamente à necessidade de implementar um sistema capaz de realizar um tratamento correto e seguro dos resíduos dos medicamentos (8).

Neste âmbito, o farmacêutico detém a responsabilidade de incentivar os utentes quanto à importância desta prática e colocar ao seu dispor o contentor para o efeito. Na Farmácia Sena, perto da área de atendimento, existe um contentor da Valormed, que quando atinge o limite é trocado por outro e recolhido pelos armazenistas, sendo preenchida uma ficha em que o duplicado fica arquivado na farmácia. Durante o estágio, pude realizar esta tarefa diversas vezes, constatando a adesão por parte da população a esta medida de gestão de resíduos.

6.4. Dispensa de medicamentos

A dispensa de medicamentos é definida, segundo as BPF, como o ato profissional em que o farmacêutico cede medicamentos aos utentes, em regime de automedicação ou através da apresentação de receita médica, fornecendo toda a informação indispensável para o uso correto destes (1).

O ato da dispensa é composto por várias etapas, sendo proposto pelo manual das BPF, a aplicação do seguinte procedimento (1): (i) receção da prescrição e confirmação da sua validade; (ii) avaliação farmacoterapêutica da prescrição, indicação/automedicação pelo farmacêutico; (iii) intervenção para resolver problema identificado; (iv) entrega do medicamento/produto prescrito, indicado ou em automedicação; (v) informações clínicas para garantir que o utente retire o máximo benefício do tratamento; (vi) revisão do processo de uso da medicação; (vii) oferta de outros serviços farmacêuticos; e (viii) documentação da atividade profissional.

6.4.1. Dispensa de medicamentos com receita médica

De acordo com o Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto, estão sujeitos a dispensa mediante apresentação da receita médica, os medicamentos que (4):

- a) Constituam um risco para a saúde do doente, até mesmo quando devidamente usados, caso sejam utilizados sem vigilância médica;
- b) Constituam um risco para a saúde, quando utilizados com elevada frequência em quantidades consideráveis para fins diferentes daqueles a que se destinam;
- c) Contenham substâncias, ou preparações à base de substâncias, cujas reações adversas e atividade é indispensável aprofundar;
- d) Tenham como via de administração a via parentérica.

Assim, a dispensa pode realizar-se mediante uma prescrição informatizada ou manual, sendo que esta última só deverá realizar-se quando se verificar um dos seguintes casos: inadaptação

do prescritor, falência informática ou prescrição ao domicílio ou outras situações até um máximo de 40 receitas/mês (9).

Considerando a validade das prescrições, estas podem apresentar uma validade de 30 dias ou 6 meses, sendo esta última característica das receitas renováveis. Estas são compostas por três vias e adequam-se a situações crónicas onde o tratamento continuado é totalmente justificado. Neste contexto, a prescrição de um medicamento deve ser, sempre que possível, efetuada por via eletrónica (de forma a minimizar erros) e por DCI da substância ativa, excetuando os seguintes casos contemplados na lei (1,9,10):

- Medicamento de marca sem similar ou que não disponha de medicamento genérico similar participado;
- Justificação técnica do prescritor:
 - Alínea a) - Medicamentos com margem/índice terapêutico estreito. Esta exceção é válida para os medicamentos incluídos na lista predefinida pelo INFARMED e, nestes casos, o farmacêutico apenas pode dispensar o medicamento que consta na receita. No entanto, se o medicamento não fizer parte da lista, a dispensa deve ser feita de acordo com a DCI.
 - Alínea b) - Reação adversa prévia. Perante esta exceção, apenas pode ser dispensado o medicamento mencionado na receita.
 - Alínea c) - Continuidade de tratamento superior a 28 dias (constando na receita a “Exceção c) do n.º 3 do art. 6.º - continuidade de tratamento superior a 28 dias”). Perante esta prescrição, o farmacêutico apenas pode dispensar outro medicamento similar ao prescrito desde que seja de preço inferior.

Aquando da receção da prescrição, o farmacêutico deve verificar, a existência dos seguintes elementos necessários para a validação desta (9,10):

- Data da prescrição (a receita deve ser válida, atendendo ao tipo de prescrição - 30 dias ou 6 meses);
- Assinatura do médico prescritor.
- Dados do utente, nomeadamente: nome e número de utente do SNS e regime de participação;
- Identificação do despacho que estabelece o regime especial de participação de medicamentos, se aplicável;
- Identificação do medicamento: DCI, dosagem, forma farmacêutica, número de unidades e código nacional para a prescrição eletrónica de medicamentos (CNPEM), sendo que apenas podem ser prescritos quatro medicamentos distintos, num total de quatro embalagens por receita e, por cada medicamento, até ao máximo de duas embalagens, salvaguardando o caso de medicamentos prescritos sob a forma unitária (podem ser prescritas quatro embalagens iguais). No caso de alguma das exceções anteriores ser aplicável, a prescrição pode ser feita por nome comercial.

Por outro lado, relativamente à prescrição manual, o processo de validação é semelhante, com algumas diferenças:

- Na identificação do médico prescriptor, torna-se imprescindível a respetiva vinheta, bem como do local de prescrição (exceção apenas a prescrições provenientes de consultórios);
- Caso a prescrição se destine a um utente pensionista abrangido pelo regime especial, deverá ser colocada a vinheta verde no local de prescrição;
- Deve ser mencionada a exceção que motivou a prescrição manual;
- O prazo de validade máximo é de 30 dias e a receita não pode estar rasurada ou com caligrafias diferentes.

Relativamente à dispensa propriamente dita, o utente pode tomar o seu direito de opção. Assim sendo, este deve ser informado da existência de medicamentos genéricos participados similares ao prescrito e o farmacêutico deve referir o mais barato que a farmácia possui, pois as farmácias são obrigadas a ter em *stock*, no mínimo, três medicamentos de cada grupo homogêneo de entre os cinco com PVP mais baixo. No caso de não existirem genéricos, deve também informar o utente sobre o medicamento comercializado mais barato, similar ao prescrito (10).

Paralelamente, o farmacêutico deve realizar a análise farmacoterapêutica da prescrição, que consiste em avaliar o problema de saúde através da terapêutica prescrita e da comunicação com o utente, confirmando a sintomatologia apresentada por este e verificando se a terapêutica está a ser eficaz. Uma vez realizada esta análise e a recolha das embalagens dos medicamentos na área de armazenamento, o farmacêutico deve fornecer ao utente todas as informações relevantes para o uso correto dos seus medicamentos, nomeadamente indicações quanto à posologia, duração do tratamento, precauções e modo de conservação. Se durante este período de avaliação surgir alguma dúvida, pode consultar-se o médico prescriptor através do contacto disponibilizado na receita médica. De seguida, faz-se o processamento informático da receita, que é feito com recurso ao *Sifarma 2000*. Este inicia-se com a leitura ótica dos códigos de barras dos medicamentos, verificando-se se alguma das exceções se aplica, e atribuindo o regime de participação indicado na receita. De seguida, imprime-se a receita no verso, que é dado ao utente para assinar, concordando com o descrito: e é feita a impressão da fatura com o nome e contribuinte do utente e, nesse momento, o farmacêutico deve certificar-se das condições de estabilidade do medicamento e garantir que o utente não tem dúvidas (1,10). Por fim, o farmacêutico deve verificar se os medicamentos prescritos correspondem aos efetivamente cedidos, carimbar e assinar a receita médica, arrumando-a em local adequado segundo as normas internas da farmácia.

6.4.2. Medicamentos sujeitos a legislação especial

De acordo com o Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto, estão sujeitos a receita médica especial todos os medicamentos que preencham uma dos seguintes critérios (4):

- a) Contendam, em dose sujeita a receita médica, uma substância classificada como estupefaciente ou psicotrópico, nos termos da legislação aplicável;
- b) Possam, em caso de utilização anormal, dar origem a riscos importantes de abuso medicamentoso, criar toxicod dependência ou ser utilizados para fins ilegais;
- c) Contendam uma substância que, pela sua novidade ou propriedades, se considere, por precaução, dever ser incluída nas situações previstas na alínea anterior.

Relativamente aos MEP, estão incluídos neste grupo as substâncias compreendidas nas tabelas I a II anexas ao Decreto-Lei n.º 15/93, de 22 de janeiro, ou qualquer das substâncias referidas no n.º 1 do artigo 86.º do Decreto-Regulamentar n.º 61/94, de 12 de outubro (5,11). E por serem medicamentos de caráter especial, estes têm de ser prescritos isoladamente, na forma de uma receita médica especial. Esta vai introduzir duas pequenas alterações ao procedimento de dispensa descrito anteriormente. Por um lado, o *Sifarma 2000* solicita o preenchimento obrigatório dos seguintes campos adicionais (10,11):

- Médico Prescritor;
- Nome do utente a quem se destina o medicamento e a respetiva morada;
- Nome do adquirente do medicamento, morada, número de bilhete de identidade/cartão de cidadão, data de validade deste último e idade.

Quando o atendimento é finalizado, são emitidos dois talões referentes à venda dos psicotrópicos, que têm de ser anexados à fotocópia da receita original. Quando se trata de prescrições manuais, são necessárias duas fotocópias da receita. Estes documentos ficam arquivados na farmácia durante um período mínimo de três anos, enquanto as receitas originais são enviadas para as entidades responsáveis pela comparticipação. Mediante a peculiaridade destes medicamentos e para fazer um controlo da sua dispensa, a farmácia tem de enviar ao INFARMED, até ao dia 8 de cada mês subsequente à dispensa, a listagem de todas as receitas dispensadas na qual constem os dados do adquirente e, no caso das receitas manuais, a cópia das mesmas, também nesse período limite. Em simultâneo, a farmácia também imprime a lista de saídas deste tipo de medicamentos para serem adicionados às cópias das receitas com os respetivos documentos de psicotrópicos anexados (10,11).

6.4.3. Dispensa de medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM) em venda suspensa

Na Farmácia Sena, é possível dispensar-se MSRM na forma de uma venda suspensa, nas seguintes situações: o utente necessita do medicamento, mas naquele momento em concreto não tem acesso à receita médica; o utente não tem interesse na dispensa de todos os medicamentos constantes na receita, mas também não quer fechar a receita, por não saber se ainda vai precisar deles, portanto, a receita fica em aberto na farmácia e no ato do pagamento é realizada a comparticipação do mesmo. De forma a controlar as vendas

suspensas, na Farmácia Sena, recorria-se periodicamente ao *Sifarma 2000* para listar este tipo de vendas.

Relativamente à dispensa de medicamentos, esta correspondeu aos dois últimos meses de estágio, pelo que realizei inúmeras dispensas, incluindo vários MEP. Neste contexto, utilizei com pouca frequência a receita manual e constatei a utilidade da receita eletrónica. Ainda na análise dos dados da prescrição, realizei atendimentos a pessoas de diversos regimes de comparticipação (lanifícios, pensionistas, entre outros) e constatei que o facto de conferir receitas antes de ter iniciado o atendimento, tornou mais fácil a interpretação destes dados.

Para além disso, verifiquei que a maioria dos utentes apenas reconhece o medicamento pela caixa pelo que, na Farmácia Sena, procurámos sempre que possível não alterar o medicamento ou o laboratório de genéricos que o utente habitualmente toma (por exemplo, consultando o histórico). Apercebi-me também, que existe um excesso de utentes a tomar benzodiazepinas, bem como utentes que se automedicam com antibióticos para os mais diversos problemas de saúde. Em ambos os casos, muitas vezes recorrem à farmácia sem receita.

Após estas semanas, penso que esta é claramente a tarefa mais exigente numa FC, pois implica uma grande capacidade de resposta por parte de quem atende ao público. Neste sentido, fui confrontada com dúvidas dos mais diversos tipos, com utentes a perguntarem-me o que é um genérico ou o porquê de determinados prazos de validade serem curtos após abertura. De forma mais específica, na dispensa de comprimidos sublinguais de fentanilo, fui abordada por uma utente relativamente ao porquê de ter de apresentar o cartão de cidadão quando não tem de o fazer normalmente com outros medicamentos. Pelo que tentei explicar que se trata de um medicamento que exige um controlo mais apertado e, como tal, tem de se garantir que é cedido à pessoa certa e tomado por indicação médica. Verifiquei também que todo o tempo despendido no armazenamento e receção de encomendas foi proveitoso para que eu fosse mais rápida a localizar os medicamentos.

6.5. Automedicação e indicação farmacêutica

A automedicação consiste no início de um tratamento medicamentoso por iniciativa do doente e, tendo em conta a facilidade de acesso aos MNSRM e a elevada publicidade nos meios de comunicação social, o farmacêutico assume um papel essencial na orientação do tratamento adequado para cada utente, contribuindo para o uso racional do medicamento (1).

Deste modo, quando se depara com uma situação deste género, o farmacêutico deve recolher a informação necessária junto do utente, questionando acerca dos sintomas, duração dos mesmos, qual a medicação feita anteriormente (se aplicável), patologias concomitantes e respetiva medicação e enquadrá-lo no respetivo grupo populacional (idosos, grávidas, doentes

crónicos), de forma a construir uma imagem global do problema e fornecer o aconselhamento correto. Por outro lado, torna-se importante que, em caso de problemas graves, seja capaz de referenciar o utente para o médico. Neste sentido, o anexo do Despacho nº 17690/2007, de 23 de julho apresenta situações passíveis de automedicação (1,12).

Relativamente à dispensa de medicamentos por indicação farmacêutica, o farmacêutico é responsável pela seleção de um MNSRM ou pelo aconselhamento de um tratamento não farmacológico, no sentido de aliviar ou resolver um problema de saúde, de carácter não grave, autolimitante, de curta duração e que não apresente relação com manifestações clínicas de outros problemas de saúde do doente (1).

Durante o período de estágio, sem dúvida que a prática da automedicação foi a mais desafiante, considerando a responsabilidade do ato praticado. Contudo, pude contar com todos os elementos da equipa da Farmácia Sena, recorrendo ao seu conhecimento e às suas opiniões relativamente ao modo de agir perante algumas situações. Neste sentido, fui confrontada com várias situações, com as mais comuns a serem relacionadas com sintomas gripais, dor de garganta, tosse, rouquidão, sintomas de rinite alérgica, picadas de insetos, dores musculares e erupções cutâneas. Para além do aconselhamento farmacológico procurei, sempre que possível, consciencializar as pessoas para a utilidade das medidas não farmacológicas.

6.6. Aconselhamento e dispensa de outros produtos de saúde

6.6.1. Produtos de dermofarmácia, cosmética e higiene

Considerando o Decreto-Lei nº 189/2008, de 24 de setembro, que regula este tipo de produtos, um produto cosmético é “qualquer substância ou preparação destinada a ser posta em contacto com as diversas partes superficiais do corpo humano, designadamente epiderme, sistemas piloso e capilar, unhas, lábios e órgãos genitais externos, ou com os dentes e as mucosas bucais”, com o propósito de “os limpar, perfumar, modificar o seu aspeto, proteger, manter em bom estado ou de corrigir os odores corporais” (13).

Na Farmácia Sena, estes produtos ocupam a maior parte da zona de atendimento, sendo dispostos nas seguintes categorias: higiene íntima, capilar, puericultura e dermocosmética. Destas categorias, a dermocosmética ocupa a área maior, pois existe uma grande heterogeneidade de produtos, de diversas marcas, nomeadamente: Caudalie®, La-Roche Posay®; Serum 7®; Klorane®; Mustella® e Uriage®. Deste modo, a diversidade de produtos e, conseqüentemente, de indicações de uso, aliada às necessidades bem definidas dos utentes e ao facto deste tipo de produtos serem facilmente acessíveis fora da farmácia, torna essencial que o farmacêutico procure ter um conhecimento mais especializado e se sinta totalmente confortável para prestar um bom aconselhamento.

Com o decorrer do estágio, apercebi-me do nível de exigência desta área, não só pela grande variedade de produtos, mas também pelo tipo de aconselhamento que exige um conhecimento profundo do tipo de pessoa que os vais usar (por exemplo, bebé ou utente com pele atópica) pelo que não me senti tão confortável no seu aconselhamento. Porém, através da observação e da constante formação sobre este tipo de produtos com a restante equipa, sinto que melhorei na abordagem para com este tipo de utentes e ganhei muito conhecimento. Relativamente ao aconselhamento nesta área, os principais produtos que dispensei foram protetores solares, produtos de higiene íntima e champôs para irritação do couro cabeludo.

6.6.2. Produtos para alimentação especial e dietética

De acordo com o Decreto-Lei n.º 74/2010, de 21 de junho, podemos definir os géneros alimentícios destinados a uma alimentação especial como aqueles que “devido à sua composição especial ou a processos especiais de fabrico, se distinguem claramente dos alimentos de consumo corrente, são adequados ao objetivo nutricional pretendido” (14). Por outro lado, segundo o Decreto-Lei nº 216/2008 de 11 de novembro, os alimentos dietéticos são “sujeitos a processamento ou formulação especial, com vista a satisfazer as necessidades nutricionais de pacientes e para consumo sob supervisão médica”, sendo destinados a dois tipos de pacientes, nomeadamente: “pacientes com capacidade limitada, diminuída ou alterada para ingerir, digerir, absorver, metabolizar ou excretar géneros alimentícios correntes ou alguns dos nutrientes neles contidos ou seus metabólicos” e aqueles “cujo estado de saúde determina necessidades nutricionais particulares que não géneros alimentícios destinados a uma alimentação especial ou por uma combinação de ambos” (15).

Assim, estes produtos de alimentação especial estão indicados de forma a suplementar as necessidades nutricionais de pessoas cujo processo de absorção ou metabolismo se encontrem perturbados; lactentes ou crianças de 1 a 3 anos de idade em bom estado de saúde e para determinadas situações especiais, que requerem um complemento nutritivo (por exemplo, alimentos adaptados a esforços musculares intensos ou destinados ao controlo de peso). De modo particular, nesta categoria podemos incluir os leites infantis, que exibem alguma variabilidade de acordo com as necessidades dos bebés:

- Leites para lactentes, que satisfazem as necessidades nutricionais nos primeiros meses de vida do bebé;
- Leites de transição, que constituem um complemento lácteo da alimentação do bebé (após os 6 meses);
- Fórmulas especiais, de forma a dar resposta a necessidades específicas, como alergias e intolerâncias.

Adicionalmente, também existem gamas de determinados produtos destinados a corrigir certas funções, como anti-regurgitantes, anti-obstipantes, antidiarreicos, anticólicas e

hipoalérgicos. Na fase de transição para a alimentação sólida, as farinhas (lácteas e não lácteas) e os boiões de fruta também podem ser uma opção.

Neste sentido, é importante que o farmacêutico conheça os princípios da alimentação habitual da criança dos 0 aos 3 anos, bem como da alimentação adequada a determinados estados fisiológicos, mantendo sempre presente a possibilidade de reações adversas.

6.6.3. Produtos fitoterapêuticos e suplementos nutricionais (nutracêuticos)

Os produtos fitoterapêuticos consistem em qualquer preparação à base de plantas que é utilizada atendendo aos seus efeitos terapêuticos, de acordo com o Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto (4). De uma forma geral, destinam-se ao tratamento de perturbações gastrointestinais, problemas urinários e emagrecimento, controlo de estados de ansiedade e auxílio na memória e concentração. Neste sentido, durante o estágio tive oportunidade de dispensar alguns destes produtos, nomeadamente, Bekunis® e Fitos®.

Por outro lado, os suplementos alimentares, segundo o Decreto-Lei n.º 136/2003 de 28 de junho, constituem “fontes concentradas de determinadas substâncias nutrientes ou outras com efeito nutricional ou fisiológico, estemes ou combinadas, comercializadas em forma doseada” e destinam-se “a complementar e/ou suplementar o regime alimentar normal” (16).

Na Farmácia Sena, são vários os suplementos existentes, essencialmente utilizados na melhoria da memória e do cansaço físico e intelectual e emagrecimento. Neste âmbito, pude aconselhar produtos das gamas Absorvit® e Advancis®, bem como Manasul®.

Apesar da aparente segurança dos nutracêuticos e produtos fitoterapêuticos, é importante que o farmacêutico se certifique se existem patologias concomitantes e esclareça os cuidados a ter.

6.6.4. Medicamentos de uso veterinário

O Decreto-Lei n.º 148/2008 de 29 de julho, define os medicamentos de uso veterinário como “toda a substância, ou associação de substâncias, apresentada como possuindo propriedades curativas ou preventivas de doenças em animais ou dos seus sintomas, ou que possa ser utilizada ou administrada no animal”, com o intuito de “estabelecer um diagnóstico médico-veterinário ou, exercer uma ação farmacológica, imunológica ou metabólica, restaurar, corrigir ou modificar funções fisiológicas” (17).

Durante o meu estágio, os medicamentos de uso veterinário mais regularmente dispensados foram, sem dúvida, os desparasitantes externos para aplicar em animais de companhia, como por exemplo Frontline®. Assim, na sua dispensa tive em consideração o animal em causa e o respetivo peso, transmitindo o modo de utilização aos utentes. Contudo, também existiu procura de desparasitantes internos e de pílulas anticoncepcionais.

6.6.5. Dispositivos médicos

Considerando o Decreto-Lei n.º 145/2009, de 17 de junho, os dispositivos médicos são produtos cujo principal efeito não é alcançado “por meios farmacológicos, imunológicos ou metabólicos, embora a sua função possa ser apoiada por esses meios”. Para além disso, destinam-se a ser utilizados em seres humanos com o propósito de: “diagnóstico, prevenção, controlo, tratamento ou atenuação de uma doença; diagnóstico, controlo, tratamento, atenuação ou compensação de uma lesão ou de uma deficiência; estudo, substituição ou alteração da anatomia ou de um processo fisiológico; controlo da concepção” (18).

Os dispositivos médicos são divididos em quatro classes, tendo em conta a duração do contacto com o corpo humano, invasibilidade, anatomia afetada pela sua utilização e os potenciais riscos inerentes à sua concepção e fabrico. A Farmácia Sena detém alguns produtos deste tipo, nomeadamente: material de penso e de desinfeção de feridas, dispositivos destinados à higiene oral, termómetros, testes de gravidez e meias de compressão. Neste contexto, dispensei testes de gravidez, frisando as recomendações básicas para a sua correta utilização, termómetros e produtos Aboca®, realçando as ações mecânicas destes últimos.

7. Outros cuidados de saúde prestados na FC

Atualmente, as farmácias apresentam-se como locais que para além da dispensa de medicamentos, desenvolvem atividades que visam essencialmente a promoção da saúde e o bem-estar da população. Nesse sentido, a Farmácia Sena coloca ao dispor dos seus utentes serviços como a medição de parâmetros bioquímicos e antropométricos (peso, altura e IMC, pressão arterial, glicemia, triglicéridos, colesterol total) e administração de injetáveis e vacinas, que permitem monitorizar o estado de saúde do doente e a efetividade da sua terapêutica medicamentosa. Por norma estes serviços são realizados no Gabinete de Apoio Personalizado destinado para o efeito, à exceção da medição dos parâmetros antropométricos que são realizados de forma autónoma pelo utente, na zona de atendimento.

Durante o estágio, acompanhei a prestação destes cuidados de saúde, tendo tido a oportunidade de fazer a medição da glicémia e pressão arterial, colocando as perguntas necessárias aos utentes consoante o tipo de determinação. Neste sentido, durante o atendimento, questionava utentes hipertensos e diabéticos sobre o controlo das respetivas doenças, sendo que estes, por vezes, aceitavam a minha sugestão de realizar o teste.

7.1. Glicémia

A medição da glicémia capilar é o método de eleição para controlar o estado de saúde de um utente diabético, bem como para identificação precoce de utentes pré-diabéticos, retardando o desenvolvimento da doença e, conseqüentemente, das suas possíveis complicações.

Para o efeito, o utente deve dirigir-se à farmácia em jejum (ou indicar há quanto tempo foi a sua última refeição). Após ser encaminhado para o gabinete de apoio personalizado, é recolhida a amostra de sangue capilar a partir da picada lateral de um dos dedos. De seguida, o aparelho destinado ao efeito fornece os resultados, sendo devidamente analisados pelo farmacêutico, considerando os valores de referência apresentados na Tabela 3.1. Após avaliação, o farmacêutico pode aconselhar mudanças no estilo de vida ou acompanhamento médico, nos casos mais graves.

Tabela 3.1 - Valores de referência para a glicémia (em mg/dl) (19).

Classificação de acordo com o valor de glicémia capilar em jejum	Glicémia capilar em jejum (mg/dl)	Classificação de acordo com o valor de glicémia capilar pós-prandial	Glicémia capilar pós-prandial (mg/dl)
Hipoglicémia	< 70	Hipoglicémia	< 70
Normal	70-99	Normal	70-139
Pré-diabetes	100-125	Pré-diabetes	140-199
Diabetes	≥ 126	Diabetes	≥ 200
Hipoglicémia	< 70	Hipoglicémia	< 70

7.2. Pressão arterial

A medição da pressão arterial deve ser uma prática regular, pois a hipertensão é uma patologia silenciosa e um dos principais fatores de risco cardiovascular. Assim, os farmacêuticos devem incentivar o seu devido controlo. Desta forma, a Farmácia Sena disponibiliza o serviço de medição da pressão arterial, com recurso ao tensiómetro digital. Neste contexto, torna-se necessário colocar várias questões e considerar algumas recomendações para que os resultados sejam fidedignos:

- Antes da medição da pressão arterial, o utente deve repousar cerca de 5 a 10 minutos;
- Deve evitar a ingestão de cafeína, exercício físico ou tabaco nos 30 minutos antecedentes;
- A primeira medição deve ser realizada nos dois braços, de forma a seleccionar o braço de referência, ou seja, aquele em que a pressão arterial é mais elevada;
- Durante a medição, o utente deve manter-se em silêncio e tranquilo.

Após a medição e de acordo com os valores de referência (Tabela 3.2), o farmacêutico deve aconselhar ao utente as medidas a tomar.

Tabela 3.2 - Valores de referência para a pressão arterial (em mmHg) (20).

Classificação da pressão arterial	Pressão arterial sistólica (mmHg)	Pressão arterial diastólica (mmHg)
Normal	120-129	e 80-84
Normal alto	130-139	ou 85-89
Estágio 1 de hipertensão	140-159	ou 90-99
Estágio 2 de hipertensão	≥ 160	ou ≥ 100

7.3. Colesterol total e triglicéridos

Valores de colesterol e de triglicéridos elevados representam um elevado fator de risco cardiovascular, pelo que se recomenda a sua determinação com regularidade. Na Farmácia Sena estes dois parâmetros são determinados da mesma forma, a partir de uma amostra de sangue capilar, que é colocado numa tira específica para cada um dos parâmetros. Aquando da sua prática, deve-se referir a importância do teste ser realizado em jejum, sendo os valores desejáveis para o colesterol inferiores a 200 mg/dl.

7.4. Parâmetros antropométricos

A avaliação destes parâmetros (IMC, peso e altura) torna-se importante, pois estão relacionados com o risco de desenvolvimento de desordens metabólicas e de outras doenças, como por exemplo a obesidade. A sua determinação é feita a partir de um aparelho digital automático de medição que se situa na zona de atendimento ao público da Farmácia Sena.

7.5. Administração de vacinas e injetáveis

A Farmácia Sena conta também com o serviço de administração de vacinas e injetáveis, garantido pelo Dr. Nuno Augusto, que é a única pessoa habilitada para o fazer. Na sua ausência e/ou em casos mais particulares, a farmácia colabora com uma equipa de enfermeiros.

8. Preparação de medicamentos

Nos últimos anos, a preparação de medicamentos manipulados nas FC tornou-se menos relevante. Contudo, estas ainda detêm esta responsabilidade, pelo que este tipo de preparação continua a fazer parte das competências de um farmacêutico.

De acordo com a Portaria n.º 594/2004, de 2 de junho e o Decreto-Lei n.º 95/2004, de 22 de abril, um medicamento manipulado é qualquer fórmula magistral ou preparado oficial preparado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico (21,22). Para a sua preparação, é necessário que a FC possua o material de laboratório necessário e o suporte bibliográfico fundamental (Farmacopeia Portuguesa e Formulário Galénico Português), respeitando as boas práticas de preparação (1,23).

Deste modo, o circuito inicia-se pela prescrição médica, na qual o médico prescreve o manipulado juntamente com a técnica de preparação ou a expressão “faça segunda a arte”, ficando esta última à inteira responsabilidade do farmacêutico. De seguida, após ter reunido o material adequado, inicia-se a preparação propriamente dita com o preenchimento da “Ficha de Preparação”. Por fim, o manipulado deve ser alvo de uma verificação final da massa ou volume do medicamento a dispensar, o qual deve corresponder à quantidade/volume prescrito. Posteriormente, preenche-se o rótulo, que faz referência ao

prazo de validade; condições de conservação do medicamento, via de administração, posologia, nome da farmácia, entre outras informações. O circuito termina com o cálculo do PVP do medicamento manipulado, considerando o descrito na Portaria n.º 769/2004, de 1 de julho (24).

Na Farmácia Sena, a prática de preparação de medicamentos manipulados é feita com pouca regularidade, pelo que não teve oportunidade de preparar qualquer manipulado. Para além destas preparações, sempre que necessário, procedi à reconstituição de antibióticos para uso pediátrico, comunicando ao utente as condições de conservação adequadas.

9. Contabilidade e gestão

A maioria dos medicamentos dispensados na FC tratam-se de MSRM, em que o utente apenas paga uma percentagem do PVP do medicamento, sendo a restante paga pelo organismo responsável pela comparticipação. Neste contexto, a farmácia envia mensalmente aos respetivos organismos as receitas devidamente conferidas, para que sejam faturadas e, por conseguinte, seja realizado o reembolso à farmácia. Esta conferência baseia-se na comparação entre a informação que consta na receita e aquela constante no verso da mesma, que é automaticamente impressa pelo *Sifarma 2000* no ato da dispensa.

Na Farmácia Sena, diariamente é efetuada uma conferência do receituário, com o operador responsável a carimbar e datar as receitas. Após esta verificação, as receitas são separadas de acordo com o organismo de comparticipação e por ordem numérica do lote atribuído. Quando o lote está completo (com trinta receitas), é conferido por um segundo operador que verifica que os medicamentos dispensados correspondem aos prescritos, a assinatura do médico; a validade da receita, a assinatura do utente; a data e o carimbo da farmácia. Por último, o DT encarrega-se de realizar uma terceira e última conferência, emitindo o verbete de identificação do lote, que é carimbado e anexado ao respetivo lote. O verbete contém: nome e código da farmácia; mês e ano da faturação; tipo e número sequencial do lote; PVP total do lote; quantidade de receitas e produtos; valor pago pelos utentes e valor participado.

Quando se realiza a faturação do receituário no final do mês, são emitidos dois documentos, sendo estes anexados a cada lote com o respetivo verbete. O primeiro é a relação resumo dos lotes (RRL), onde consta o valor total de cada lote, o valor da comparticipação e o valor pago pelo utente. O segundo é a fatura mensal, onde consta o valor total a receber por cada organismo de comparticipação. Assim sendo, e relativamente às receitas cujo organismo responsável pela comparticipação é o Serviço Nacional de Saúde, até ao décimo dia do mês seguinte, as receitas, os verbetes, a RRL (em duplicado) e a fatura (em duplicado) são enviados por correio para a Administração Central do Sistema de Saúde (ACSS), para que esta reembolse a farmácia. Na farmácia fica uma cópia da fatura, uma é enviada para a ANF e

outra fica para o responsável financeiro. No mês seguinte, o Centro de Conferência de Receituário envia à farmácia o comprovativo da receção dos documentos relativos ao mês anterior e o valor das comparticipações é reembolsado à farmácia por intermédio da ANF. Relativamente às receitas com comparticipação pelas restantes entidades, o processo é efetuado de forma semelhante ao anterior, contudo, as receitas, os verbetes, a RRL (triplicado) e fatura (triplicado) são enviadas diretamente à ANF, a qual reembolsa a farmácia de imediato e, posteriormente, é reembolsada pelos organismos.

No caso de terem sido comunicados erros e diferenças no mês anterior consideram-se três ações possíveis: corrige-se o valor a pagar à farmácia; as receitas são devolvidas à farmácia para que esta possa efetuar a correção ou diferença do erro em causa; a receita não é devolvida e portanto, esta perde o reembolso na totalidade. Desta forma, após a correção dos erros relacionados com a conferência de receitas do mês anterior, a farmácia envia juntamente com o supracitado uma nota de crédito/débito, de forma a retificar a fatura.

Durante o estágio, comecei por organizar o receituário, familiarizando-me com o procedimento, passando depois a auxiliar na sua conferência, nomeadamente na primeira e segunda verificação. Para além disso, participei no fecho do mês de abril e maio, o que me permitiu observar todo o processo. Estas conferências de receituário ajudaram-me, posteriormente, ao nível do atendimento e interpretação de receitas médicas.

10. Conclusão

A FC é sem dúvida desafiante, pois implica que o farmacêutico tenha uma pronta capacidade de reposta e de integração de conhecimentos, sempre no sentido de contribuir para a melhoria da qualidade de vida da população.

O meu estágio em FC decorreu na Farmácia Sena, uma farmácia de referência que conta com uma equipa pautada pela responsabilidade profissional e humanidade; e, enquanto futura farmacêutica, identifiquei-me com o espírito de trabalho desta equipa. Durante o estágio tive oportunidade de observar e realizar ativamente as mais variadas tarefas e, assim, fui capaz de crescer profissionalmente.

De uma forma geral, constatei o papel fundamental que o farmacêutico e a FC desempenham como parte integrante de qualquer sistema de saúde que se quer eficiente e focado no utente.

11. Bibliografia

1. Conselho Nacional da Qualidade. Boas Práticas Farmacêuticas para a farmácia comunitária. 3ª Edição. 2009.
2. INFARMED. Deliberação n.º 1502/2014, de 3 de julho. Legislação Farmacêutica Compilada. 2014.
3. INFARMED. Decreto-Lei n.º 307/2007, de 31 de agosto. Legislação Farmacêutica Compilada. 2007.
4. INFARMED. Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto. Legislação Farmacêutica Compilada. 2006.
5. INFARMED. Decreto-Lei n.º 15/93, de 22 de janeiro. Legislação Farmacêutica Compilada. 1993.
6. Ordem dos farmacêuticos. Código Deontológico da Ordem dos farmacêuticos.
7. INFARMED. Farmacovigilância. [Consultado a 03-06-2015]. Disponível em: http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/PERGUNTAS_FREQUENTES/MEDICAMENTOS_USO_HUMANO/MUH_FARMACOVIGILANCIA.
8. VALORMED. [Consultado a 23-05-2015]. Disponível em: <http://www.valormed.pt/pt/conteudos/conteudo/id/5>.
9. Portaria n.º 137-A/2012 de 11 de maio. Diário da República, 1.ª série, N.º 92.
10. INFARMED. Normas relativas à dispensa de medicamentos e produtos de saúde. 2014.
11. INFARMED. Decreto Regulamentar n.º 61/94, de 12 de outubro. Legislação Farmacêutica Compilada. 1994.
12. INFARMED. Despacho n.º 17690/2007, de 23 de julho. Legislação Farmacêutica Compilada. 2007.
13. INFARMED. Decreto-Lei n.º 189/2008, de 24 de setembro. Legislação Farmacêutica Compilada. 2008.
14. Decreto-Lei n.º 74/2010 de 21 de junho. Diário da República, 1.ª série – N.º 118 – 21 de junho de 2010.
15. Decreto-Lei n.º 216/2008 de 11 de novembro. Diário da República, 1.ª série – N.º 219 – 11 de novembro de 2008.
16. Decreto-Lei n.º 136/2003 de 28 de junho. Diário da República, 1.ª série – N.º 147 – 28 de Junho de 2003.
17. Decreto-Lei n.º 148/2008 de 29 de julho. Diário da República, 1.ª série – N.º 145 – 29 de julho de 2008.
18. INFARMED. Decreto-Lei n.º 145/2009, de 17 de junho. Legislação Farmacêutica Compilada. 2009.
19. Associação Portuguesa dos Diabéticos de Portugal: A pessoa com diabetes, valores de referência. [Consultado a 25-05-2015]. Disponível em: <http://www.apdp.pt/index.php/diabetes/a-pessoa-com-diabetes/valores-de-referencia>.

20. Direcção-Geral da Saúde. Circular Normativa n.º 2/DGCG de 31/03/04: Diagnóstico, Tratamento e Controlo da Hipertensão Arterial. [Consultado a 25-05-2015] Disponível em: <http://www.dgs.pt/upload/membro.id/ficheiros/i006254.pdf>.
21. INFARMED. Decreto-Lei n.º 95/2004, de 22 de abril. Legislação Farmacêutica Compilada. 2004.
22. INFARMED. Portaria n.º 594/2004, de 2 de junho. Legislação Farmacêutica Compilada. 2004.
23. INFARMED. Deliberação n.º 1500/2004, 7 de dezembro. Legislação Farmacêutica Compilada. 2004.
24. INFARMED. Portaria n.º 769/2004, de 1 de julho. Legislação Farmacêutica Compilada. 2004.