

**Síntese e avaliação *in vitro* de derivados de
fenantrolina
Experiência profissionalizante na vertente de
Investigação e Farmácia Comunitária**

Carlos Manuel Almeida Gomes

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

Orientadora: Prof.^a Doutora Carla Patrícia Alves Freire Madeira da Cruz
Co-orientadora: Mestre Joana Figueiredo

janeiro de 2024

Declaração de Integridade

Eu, Carlos Manuel Almeida Gomes, que abaixo assino, estudante com o número de inscrição 39246 do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Ciências da Saúde, declaro ter desenvolvido o presente trabalho e elaborado o presente texto em total consonância com o **Código de Integridades da Universidade da Beira Interior**.

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

Universidade da Beira Interior, Covilhã 04/01/2024



Agradecimentos

Em primeiro lugar, agradeço à Professora Doutora Carla Cruz, por ter aceitado o pedido de me orientar nesta dissertação, bem como à minha co-orientadora Mestre Joana Figueiredo, por toda a dedicação, disponibilidade e apoio prestados para o desenvolvimento deste trabalho. Sem o vosso contributo este não seria possível, muito obrigado.

A toda a equipa da Farmácia Ferrer, particularmente à minha orientadora de estágio Doutora Sílvia Rodrigues, pela oportunidade de crescimento profissional que me foi proporcionada. Cada desafio enfrentado transformou-se numa valiosa lição e levo comigo exemplos de qualidade e profissionalismo que iram moldar a minha prática profissional no futuro.

Às minhas colegas Inês Santos, Sara, Inês Marreiros, Lara, Pombo, Bruna e Pais por todos os resumos, sessões de estudo, jantares e saídas, pela amizade e todos os bons momentos passados ao longo destes anos.

Aos colegas com os quais partilhei uma casa, dentro e fora do papel, Tinoco, Miguel, Zekada, Ricardo e David. Agradeço pela amizade, por todas as vezes que me obrigaram tanto a estudar como a sair de casa, pela camaradagem, por todos os momentos de descontração e euforia que já passaram e estão para vir. Mais do que colegas tornaram-se uma parte essencial desta jornada e sem vocês a minha passagem pela Covilhã seria bem menos marcante.

Em especial aos meus pais, irmão, tios e avós pelos sacrifícios realizados, pelo apoio e carinho incondicional, pela paciência e sobretudo pela confiança depositada em mim. A estes dedico esta conquista pois sem eles não teria sido possível.

À restante família, amigos e a todos aqueles que de alguma forma participaram neste caminho, um obrigado.

Resumo

A presente dissertação encontra-se dividida em dois capítulos. O primeiro capítulo é referente ao trabalho na componente de investigação em Ciências Farmacêuticas, desenvolvido no CICS-UBI – Centro de Investigação em Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior e envolve a síntese de derivados de fenantrolina e avaliação da citotoxicidade em células cancerígenas.

Apesar dos novos métodos de diagnóstico e terapias implementadas em oncologia, a incidência de mortalidade do cancro oral mantém-se elevada à escala mundial. A etiologia da carcinogénese representa um campo de estudo complexo sendo vários os fatores que desencadeiam e promovem o desenvolvimento tumoral. O vírus do papiloma humano (HPV) tem sido associado ao carcinoma oral de células escamosas, uma forma de cancro que afeta a mucosa oral, incluindo a boca e a garganta. A persistência deste agente infeccioso na mucosa oral pode causar alterações celulares através da sua capacidade de interferir com os mecanismos de controlo celular. Embora o tabagismo e o consumo excessivo de álcool sejam considerados como os fatores de risco tradicionais para o carcinoma oral de células escamosas, a infeção por certos tipos de HPV de alto risco tem emergido como um fator cada vez mais reconhecido na etiologia desta doença.

O tratamento de quimioterapia para o carcinoma oral de células escamosas geralmente envolve uma combinação de vários fármacos com estruturas químicas e mecanismos de ação variados, para aumentar a eficácia e reduzir a resistência ao tratamento. No entanto estes agentes frequentemente causam efeitos adversos significativos, como mielossupressão e toxicidade grave, além de levarem ao desenvolvimento de resistência ao medicamento, o que limita a sua aplicação clínica. A investigação de potenciais agentes anticancerígenos desempenha um papel fundamental na procura de tratamentos mais eficazes e menos invasivos para o cancro.

Tendo em conta todos estes aspetos, o principal objetivo deste trabalho foi a síntese de derivados de fenantrolina e avaliação da citotoxicidade na linha celular SCC154 de carcinoma de células escamosas da língua. Estudos têm demonstrado que a fenantrolina e seus derivados exibem uma atividade antitumoral promissora sendo necessária a realização de estudos para determinar o seu potencial terapêutico contra o cancro.

Deste modo, o composto 2,9-dimetil-1,10-fenantrolina (neocuproína) foi utilizado como reagente de partida das reações de síntese. Os compostos sintetizados foram caracterizados por técnicas analíticas de espectroscopia de ressonância magnética

nuclear (RMN), que confirmaram a estrutura química dos diferentes compostos e pureza requerida para prosseguir com os ensaios. Posteriormente, o efeito dos compostos sintetizados na viabilidade celular foi avaliada através do ensaio de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT). De um modo geral, todos os compostos revelaram efeito citotóxico para as células SCC154, com especial destaque para os compostos 2,9-dimetil-1,10-fenantrolina-5,6-diona e 2,9-dicarbaldeído-1,10-fenantrolina.

O segundo capítulo relata a experiência no estágio em farmácia comunitária efetuada na Farmácia Ferrer entre 2 de março a 15 de julho de 2022, sob orientação da Dr^a Sílvia Rodrigues. O presente relatório pretende descrever o funcionamento da farmácia, as áreas de intervenção de um farmacêutico neste âmbito, bem os conhecimentos e experiência profissional aqui obtida.

Palavras-chave

Derivados de fenantrolina; carcinoma oral de células escamosas; vírus do papiloma humano; viabilidade celular; farmácia comunitária

Abstract

This report is divided into two chapters. The first chapter relates to work in the field of research in Pharmaceutical Sciences, conducted at CICS-UBI – Health Sciences Research Centre of the University of Beira Interior. The work plan involves the synthesis of phenanthroline derivatives and the cytotoxic evaluation on cancer cell line.

Despite the new diagnostic methods and therapies implemented in oncology, the incidence of oral cancer mortality remains high worldwide. The etiology of carcinogenesis represents a complex field of study, with several factors triggering and promoting tumor development. The human papillomavirus (HPV) has been associated with oral squamous cell carcinoma, a form of cancer that affects the oral mucosa, including the mouth and throat. Persistent HPV infection in the oral mucosa can cause cellular changes by interfering with cellular control mechanisms. While smoking and excessive alcohol consumption are considered traditional risk factors for oral squamous cell carcinoma, infection with certain high-risk HPV types has emerged as recognized factor in the etiology of this disease.

Chemotherapy treatment for oral squamous cell carcinoma typically involves a combination of various drugs with different chemical structures and mechanisms of action to increase effectiveness and reduce treatment resistance. However, these agents often cause significant adverse effects, such as myelosuppression and severe toxicity, and can lead to drug resistance, limiting their clinical application. Research into potential anticancer agents play a crucial role in the search for more effective and less invasive cancer treatments.

Taking all these aspects into account, the main objective of this work was the synthesis of phenanthroline derivatives and the evaluation of their *in vitro* effects on the SSC154 tongue squamous cell carcinoma cell line. Studies have shown that phenanthroline and its derivatives exhibit promising antitumor activity, being further research needed to determine their therapeutic potential against cancer.

Therefore, the compound 2,9-dimethyl-1,10-phenanthroline (neocuproine) was used as the starting reagent for the synthesis reactions. The synthesized compounds were characterized using analytical techniques such as nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy, which confirmed the chemical structure of the different compounds and the required purity for further testing. Subsequently, the effect of the synthesized compounds on cell viability was assessed through the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-

diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay. In general, all the compounds exhibited cytotoxic effects on SCC54 cells, with particular emphasis on the compounds 2,9-dimethyl-1,10-phenanthroline-5,6-dione and 2,9-dicarbaldehyde-1,10-phenanthroline.

The second chapter describes the experience during the internship in community pharmacy carried out at Farmácia Ferrer between March 2nd and July 15th, 2022, under the guidance of Dr. Sílvia Rodrigues. This report aims to describe the functioning of the pharmacy, the areas of intervention of a pharmacist in this context, as well as the knowledge and professional experience obtained here.

Keywords

Phenanthroline derivatives; oral squamous cell carcinoma; human papillomavirus; cell viability; community pharmacy

Índice

Capítulo 1 – Síntese e avaliação <i>in vitro</i> de derivados de fenantrolina	1
1. Introdução	1
1.1. Cancro	1
1.1.1. Carcinogénese	1
1.1.2. O vírus do papiloma humano	2
1.1.3. Carcinoma da cavidade oral tipo escamoso	4
1.1.4. Prevenção	5
1.1.5. Tratamento	6
1.2. Fármacos anticancerígenos utilizados no tratamento do cancro oral	7
1.2.1. Derivados da fenantrolina	9
2. Objetivos	10
3. Materiais e métodos	11
3.1. Síntese Química	11
3.1.1. Reagentes e solventes	11
3.1.2. Equipamentos	11
3.1.3. Cromatografia	11
3.1.4. Procedimentos experimentais	12
3.1.4.1. Síntese de 2,9-dicarbaldeído-1,10-fenantrolina (derivado A)	12
3.1.4.2. Síntese de ácido 1,10-fenantrolina-2,9-dicarboxílico (derivado B)	12
3.1.4.3. Síntese de 2,9-dicarbometoxi-1,10-fenantrolina (derivado C)	13
3.1.4.4. Síntese de 2,9-dimetil-1,10-fenantrolina-5,6-diona (derivado D)	14
3.1.4.5. Síntese de 7,10-dimetilpirazino[2,3-f][1,10]fenantrolina (derivado E)	15
3.1.4.6. Tentativa de síntese de 7,10-dimetilpirazino[2,3-f][1,10]fenantrolina-3,6-dicarboxaldeído (Derivado F)	15
3.2. Avaliação Biológica	16
3.2.1. Materiais e Reagentes	16
3.2.2. Equipamentos	17
3.2.3. Linha celular	17
3.2.4. Técnicas de cultura celular	17
3.2.4.1. Tripsinização	17
3.2.4.2. Contagem celular	18
3.2.5. Estudo de efeito dos compostos na viabilidade celular	19
3.2.5.1. Ensaio de viabilidade celular (ensaio MTT)	19
3.2.6. Análise Estatística	20
4. Resultados e discussão	21
4.1. Síntese Química	21

4.2.	Ensaio de viabilidade celular	24
5.	Conclusões e perspectivas futuras	25
6.	Referências	26
Capítulo 2 – Estágio em Farmácia Comunitária		32
1.	Introdução	32
2.	Organização da farmácia	32
2.1.	Localização, horário de funcionamento e caracterização dos utentes da farmácia	32
2.2.	Espaço físico exterior	33
2.3.	Espaço físico interior	33
2.4.	Recursos humanos	36
2.4.1.	Direção técnica – responsabilidade e funções	36
2.5.	Recursos tecnológicos e informáticos	37
3.	Fontes de informação e documentação científica	38
4.	Medicamentos e outros produtos de saúde	39
5.	Aprovisionamento e armazenamento	40
5.1.	Seleção de fornecedores	41
5.2.	Receção de encomendas e controlo de medicamentos e produtos em <i>stock</i>	42
5.2.1.	Marcação de preços	43
5.2.2.	Controlo e gestão de benzodiazepinas e outras substâncias psicotrópicas	43
5.2.3.	Gestão de devoluções	44
5.2.4.	Armazenamento, controlo e gestão de parâmetros	44
6.	Interação Farmacêutico-Utente-Medicamento	46
6.1.	Farmacovigilância	47
7.	Dispensa de Medicamentos	48
7.1.	Dispensa de medicamentos sujeitos a receita médica	48
7.1.1.	Dispensa de medicamentos a partir de receita manual	49
7.1.2.	Dispensa de medicamentos a partir de receita eletrónica desmaterializada	50
7.1.3.	Dispensa de medicamentos a partir de receita eletrónica materializada	50
7.1.4.	Dispensa de medicamentos que contêm substâncias estupefacientes e psicotrópicos	51
7.1.5.	Dispensa de medicamentos genéricos	52
7.1.6.	Dispensa de medicamentos não sujeitos a receita médica	53
8.	Aconselhamento e dispensa de outros produtos de saúde	54
8.1.	Medicamentos e produtos de uso veterinário	54
8.2.	Produtos naturais, fitoterapia e suplementos alimentares	55
8.3.	Produtos dietéticos e de alimentação especial	55
8.4.	Produtos dietéticos para população infantil	56

8.5.	Dispositivos médicos	56
8.6.	Produtos de dermofarmácia, cosmética e higiene	57
9.	Cuidados de saúde prestados na farmácia	57
9.1.	Determinação de parâmetros bioquímicos	58
9.2.	Medição do valor de pressão arterial	59
9.3.	Testes de deteção de infeções da orofaringe e do trato urinário	60
9.4.	Testes rápidos à SARS-CoV-2	60
9.5.	Administração de injetáveis	61
9.6.	Entrega ao domicílio	61
9.7.	Programa de troca de seringas	62
9.8.	Preparação individualizada da medicação	62
10.	Preparação de medicamentos manipulados	63
10.1.	Cálculo do preço de medicamentos manipulados e participações associadas	64
11.	Contabilidade e gestão	65
12.	VALORMED	66
13.	Secção de Geriatria, Ortopedia e lesões desportivas	66
14.	Farmácia comunitária em tempos de pandemia Covid-19	67
15.	Conclusões e Notas Finais	68
16.	Referências	69
	Anexos	75

Lista de Figuras

Figura 1 - Organização do genoma HPV 16. São indicados genes precoces (azul), genes tardios (verde) e os genes da região controlo viral. Modificado e Adaptado de (7).	2
Figura 2 - Estrutura química de 2,9-dimetil-1,10-fenantrolina (neocuproína). Adaptado de (33).	9
Figura 3 - Síntese de 2,9-dicarbaldéido-1,10-fenantrolina. Adaptado de (33).	12
Figura 4 - Síntese de ácido 1,10-fenantrolina-2,9-dicarboxílico. Adaptado de (33).	13
Figura 5 - Síntese de 2,9-dicarbometoxi-1,10-fenantrolina. Adaptado de (33).	14
Figura 6 - Síntese de 2,9-dimetil-1,10-fenantrolina-5,6-diona. Adaptado de (34).	14
Figura 7 - Síntese de 7,10-dimetilpirazino[2,3-f][1,10]fenantrolina. Adaptado de (35).	15
Figura 8 - Síntese de 7,10-dimetilpirazino[2,3-f][1,10]fenantrolina-3,6-dicarboxaldéido. Adaptado de (35).	16
Figura 9 – Esquema geral da síntese química realizada.	23
Figura 10 – Citotoxicidade dos compostos sintetizados nas células SCC154 incubadas durante 48 horas com neocuproína, derivado A, derivado C, derivado D e derivado E, na concentração de 30 μ M. Os dados de percentagem de proliferação celular relativa estão expressos em relação ao controlo (teste <i>t-Student</i>) n=4.	24

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Funções das diferentes regiões genómicas do HPV. Adaptado de (7).	3
Tabela 2 - Classificação do HPV segundo o seu tropismo celular. Modificado e adaptado de (7).	4
Tabela 3 – Rendimentos obtidos dos compostos sintetizados.	23

Lista de Anexos

Anexo 1 - Espetro de ^1H RMN do derivado A.	75
Anexo 2 - Espetro de ^{13}C RMN do derivado A.	75
Anexo 3 - Espetro de ^1H RMN do derivado B.	76
Anexo 4 - Espetro de ^{13}C RMN do derivado B.	76
Anexo 5 - Espetro de ^1H RMN do derivado C.	77
Anexo 6 - Espetro de ^{13}C RMN do derivado C.	77
Anexo 7 - Espetro de ^1H RMN do derivado D.	78
Anexo 8 - Espetro de ^{13}C RMN do derivado D.	78
Anexo 9 - Espetro de ^1H RMN do derivado E.	79
Anexo 10 - Espetro de ^{13}C RMN do derivado E.	79

Lista de Acrónimos

ANF	Associação Nacional de Farmácias
CCF	Cromatografia de Camada Fina
CDCl_3	Clorofórmio deuterado
CEDIME	Centro de Documentação e Informação do Medicamento
CH_2Cl_2	Diclorometano
CHCl_3	Clorofórmio
CNP	Código Nacional do Produto
CICS-UBI	Centro de Investigação em Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior
^{13}C RMN	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
DCI	Denominação Comum Internacional
DGAV	Direção-Geral de Alimentação e Veterinária
DMEM	Do inglês Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	Dimetilsulfóxido
$\text{DMSO-}d_6$	Dimetilsulfóxido Hexadeuterado
DNA	Ácido Desoxirribonucleico (do inglês <i>Deoxyribonucleic Acid</i>)
ERS	Entidade Reguladora da Saúde
Et_2O	Éter Dietílico
EtOH	Etanol
FF	Farmácia Ferrer
FIFO	Do inglês First In First Out
HPV	Vírus do Papiloma Humano (do inglês Human papillomavirus)
^1H RMN	Ressonância Magnética Nuclear de Protão
H_2SO_4	Ácido Sulfúrico
HNO_3	Ácido Nítrico
IMC	Índice de Massa Corporal
INE	Instituto Nacional de Estatística
INFARMED	Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P.
IVA	Imposto sobre o Valor Acrescentado
KBrO_3	Bromato de Potássio
LCR	Região controlo (do inglês long control region)
LEF	Laboratório de Estudos Farmacêuticos
MeOH	Metanol
MNSRM	Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica
MNSRM-EF	Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica de dispensa Exclusiva em Farmácia
MSRM	Medicamentos Sujeitos a Receita Médica
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio
NaOH	Hidróxido de Metano
PBS	Solução Salina Tamponada com Fosfato
PIM	Preparação Individualizada da Medicação
pRb	Proteína retinoblastoma
PVF	Preço de Venda à Farmácia
PVP	Preço de Venda ao Público
RAM	Reações Adversas a Medicamentos
RMN	Ressonância Magnética Nuclear

RNA	Ácido Ribonucleico (do inglês ribonucleic acid)
SeO ₂	Dióxido de Selênio
SINAVE	Sistema Nacional de Segurança Epidemiológica
SNF	Sistema Nacional de Farmacovigilância
SNS	Serviço Nacional de Saúde
TRAg	Testes Rápidos de Antígeno
UV	Ultravioleta

Capítulo 1 – Síntese e avaliação *in vitro* de derivados de fenantrolina

1. Introdução

1.1. Cancro

1.1.1. Carcinogénese

As células do corpo humano estão em constante renovação, à medida que envelhecem ou ficam danificadas, morrem e são substituídas por novas células. Este ciclo é um mecanismo altamente verificado, mas mesmo assim ocorrem alterações/mutações que afetam o crescimento, divisão e morte. Algumas células crescem e dividem-se descontroladamente enquanto outras, que deviam ser destruídas, não são. De uma forma simplista podemos dizer que cancro é um conjunto de doenças em que as células apresentam alterações morfológicas e um crescimento e proliferação aumentado e/ou apoptose diminuída. Podendo ou não invadir tecidos vizinhos através da corrente sanguínea e sistema linfático. Este processo em que uma célula normal se torna uma célula cancerígena denomina-se de carcinogénese (1,2).

Sabe-se hoje, que a etiologia da carcinogénese é bastante complexa e envolve vários fatores. O contacto com compostos químicos, alimentação e fatores genéticos podem levar a mutações em proto oncogenes, genes supressores tumorais ou genes responsáveis pela regulação (3,4).

Os proto-oncogenes são genes promotores do crescimento e são ativos ou inativos consoante a necessidade de divisão. Ao sofrerem mutações, permanecem sempre ativos e levam ao crescimento descontrolado. Pelo contrário, os genes supressores de tumores, inibem o crescimento, se sofrerem mutações deixam de desempenhar funções normais e a célula permanece em constante divisão. Os genes responsáveis pela regulação, como o nome indica, identificam e corrigem danos que ocorrem no DNA, e se perdem atividade estas células continuam o ciclo de vida como se fossem normais (5).

A elevada proliferação celular aumenta as necessidades de nutrientes e oxigénio que podem escassear para outras células. A constante divisão aumenta também a probabilidade de novas mutações e a tendência é de aumento da agressividade e capacidade para invadir outros tecidos e criar metástases (2).

Em Portugal, segundo a *International Agency for Research on Cancer* em 2020 foram diagnosticados 60467 novos casos de cancro. Os mais frequentes são: colon-rectal, mama, próstata e pulmão e 30168 pessoas acabaram por morrer devido a estas patologias neste ano (6).

1.1.2. O vírus do papiloma humano

O vírus do papiloma humano (HPV) pertence género *Papillomavirus* e à família *Papillomaviridae* que se divide em 5 géneros com diferentes sequências do DNA: Alfa, Beta, Gama, Mu e Nu. O Alfa é o grupo maior e pode afetar qualquer tipo de tecido e mucosas, enquanto os restantes só afetam a pele. As infeções por HPV são maioritariamente assintomáticas e regridem espontaneamente por resposta do sistema imunitário do hospedeiro, mas em algumas situações podem evoluir para carcinomas (7,8).

O HPV é um vírus pequeno, com genoma de DNA circular de fita dupla com cerca de 8000 pb, sem envelope, e com uma estrutura icosaédrica. O seu genoma está dividido em três regiões importantes: A região precoce (E) da qual fazem parte os genes responsáveis pela replicação e regulação (E1 a E8); A região tardia (L) que codifica proteínas da cápside (L1 e L2) e uma região não codificante, chamada de região controlo (*long control region - LCR*) porque contem muitos elementos reguladores da replicação do DNA (9).

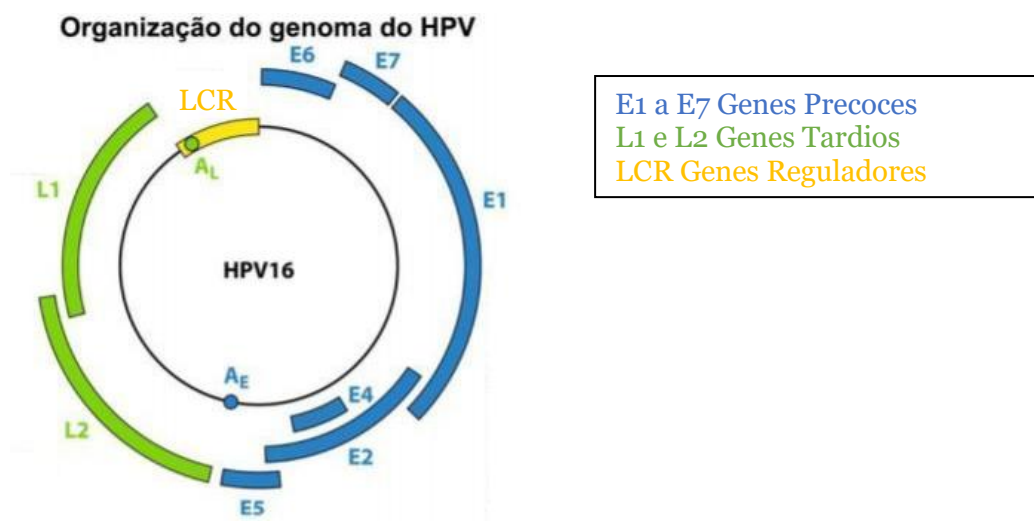


Figura 1 - Organização do genoma HPV 16. São indicados genes precoces (azul), genes tardios (verde) e os genes da região controlo viral. Modificado e Adaptado de (7).

Tabela 1 - Funções das diferentes regiões genómicas do HPV. Adaptado de (7).

Região	Função
E1	Responsável pela iniciação da replicação; Função de helicase;
E2	Regula a transcrição e replicação viral; Importante na integração do vírus no genoma do hospedeiro;
E3	Função pouco conhecidas;
E4	Forma filamentos citoplasmáticos;
E5	Liga-se à membrana celular através de receptores; Estimula a interacção com factores oncogénicos de crescimento celular;
E6	Oncoproteína com função de degradar p53; Favorece a proliferação celular; Inibe a ação do sistema imunitário
E7	Inativa a função da proteína retinoblastoma (pRb); Favorece a proliferação celular;
E8	Função pouco conhecidas;
L1	Denominada de <i>major</i> porque representa 83% das proteínas do vírus; Tem função de aderência e pensa-se ser responsável por induzir a resposta imunológica quer celular quer humoral;
L2	Proteína <i>minor</i> com função de encapsidação do DNA viral;
LCR	Região reguladora da transcrição

O HPV é transmitido por contacto próximo como por exemplo relações sexuais. A probabilidade de desenvolver uma infeção depende do tipo de vírus, da própria pessoa (imunidade, idade, estado de saúde), tropismo celular e da existência de lesões na pele ou mucosa que facilite a penetração do vírus. Poderá originar condilomas, verrugas vulgares ou carcinoma. O HPV está muito associado ao cancro do colon do útero especialmente em países pouco desenvolvidos ou em que o plano vacinal não inclui este vírus (7).

Estão descritos muitos tipos de HPV diferentes, aproximadamente 280 em vertebrados e destes, cerca de 200 com capacidade de infectar o Homem. Podem ser classificados de acordo com o tropismo, ou seja, de acordo com as células para a qual têm afinidade (Tabela 2) e também de acordo com o tipo de lesões que provocam. Alguns estão associados a neoplasias malignas e são classificados como de alto risco (HPV-16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 e 59). Os HPVs-16, 18, 33 e 45 (alto risco) juntamente com HPVs-6 e 11 (de baixo risco - benignos) são responsáveis por 75% dos carcinomas das células escamosas associadas ao HPV e por 94% de todos os adenocarcinomas (7,9).

Tabela 2 - Classificação do HPV segundo o seu tropismo celular. Modificado e adaptado de (7).

Tropismo Celular	Tipos de HPV
Cutâneo	1,4,5,8,9,12,14,15,17,19,20,21,22,23,24,25,36,37,38,41,47,48,49,50,60,63,65,75,76,77,78,80,88,92,93,94,95,96
Mucocutâneo	2,3,7,10,26,27,28,29,30,34,40,43,51,53,54,56,57,61,62,64,66,67,73
Mucoso	6,11,13,16,18,31,32,33,35,39,42,44,45,52,55,58,59,61,62,68,69,70,71,72,73,74,81,82,83,85,86,87,89,90,91

1.1.3. Carcinoma da cavidade oral tipo escamoso

O número de carcinomas espinocelulares da cabeça e pescoço, nomeadamente na orofaríngeos, amígdalas, lábios e na base da língua têm vindo a aumentar em jovens nos últimos anos, associado a HPVs de alto risco principalmente o HPV-16 e 18 (10,11). O uso excessivo de tabaco e álcool, más práticas de higiene e fatores genéticos influencia também a prevalência deste tipo de tumores, mas normalmente em indivíduos mais velhos e não associado há presença de HPV (12,13). Observa-se também uma grande variabilidade geográfica (12,13).

A camada epitelial superficial é afetada pelo vírus o que leva ao aparecimento de células alteradas, malignas com comportamento invasivo em direção aos tecidos envolventes. Estas células são ovais, fusiformes com núcleos hipercromáticos, sem nucléolos proeminentes e com bordos irregulares, sofrem muitas mitoses e a necrose é frequente. Estas características são típicas de carcinomas com causa viral (12,14). Muitas vezes são visíveis pequenas lesões e úlceras com dificuldade em cicatrizar (11). No cancro da cavidade oral do tipo escamoso a malignidade destas células (queratinócitos orais) estará relacionada com o aumento dos telómeros, pela ação defeituosa da telomerase que potencia a instabilidade genómica originando divisões anormais. A presença de DNA viral HPV 16 associado as oncoproteínas E6 e E7 podem imortalizar as células epiteliais

e manter linhagens celulares com divisão rápida e número crescente. E6 e E7 são proteínas nucleares com papel fundamental na carcinogénese. E6 inibe a resposta do sistema imunitário e degrada a proteína supressora de tumor p53. Esta proteína tem como função bloquear o ciclo celular de células alteradas, com mutações, se estiver em pouca quantidade estas células vão continuar a sua divisão. E6 tem também a capacidade de induzir a telomerase e assim não ocorre o encurtamento dos telómeros e há proliferação descontrolada. A E7 degrada a proteína retinoblastoma (pRb) que também origina proliferação exagerada. A pRb regula a transcrição das células nas fases G1 e S. Em conjunto estes dois genes impedem a morte celular por apoptose e promovem a progressão do ciclo celular e replicação de DNA viral, a sua presença é por isso fator de mau prognóstico (7–9).

Esta doença apresenta uma elevada letalidade principalmente quando o diagnóstico é tardio e ainda não há muita informação sobre a sua carcinogénese (15), pelo que o estudo destes carcinomas e as estratégias de tratamento são muito importantes.

1.1.4. Prevenção

O excesso de peso, alimentação desequilibrada e sedentarismo são alguns dos problemas associados a risco aumentado para desenvolver cancro além de outras doenças como insuficiência cardíaca e diabetes. O índice de massa corporal (IMC – cálculo de Kg/m²) elevado é um fator de risco de morte precoce em vários tipos de cancro com por exemplo, mama, endométrio, rim, fígado, mieloma múltiplo, esófago, colon e reto entre outros. Os adipócitos estão envolvidos em processos inflamatórios, proliferação celular, inibição de apoptose e metastização (16).

O excesso de gordura corporal ocorre pelo desequilíbrio energético, resultado do excesso de ingestão de alimentos ou baixa utilização energética. Embora alguns fatores hereditários também podem contribuir para este desequilíbrio (16).

O exercício físico contribui para o gasto calórico e o fortalecimento muscular é recomendado para o bem-estar geral, mas também há evidências que a atividade física reduz o risco de desenvolver patologias oncológicas. Os efeitos do exercício físico no metabolismo da glicose, no sistema imunológico e nas hormonas sexuais, assim como o contributo para controlar o peso são fatores protetores contra a doença (16–18).

O tabaco é também fator de risco principalmente no cancro do pulmão. É normalmente composto por folhas secas, mas também por vários químicos adicionados. Aproximadamente 70 compostos adicionados ao tabaco ou resultantes da combustão

podem ser cancerígenos: a nicotina, cianeto de hidrogénio, formaldeído, arsénio, amónia, benzeno, monóxido de carbono e até alguns compostos radioativos como o polónio 210 (com origem principalmente nos fertilizantes). Alguns destes compostos também aumentam o risco de doenças cardiovasculares por comprometer o funcionamento do pulmão e coração (17).

1.1.5. Tratamento

O tratamento varia entre doentes e depende de vários fatores: como idade, comorbidades, localização do carcinoma, tipo de carcinoma, etc. Alguns doentes respondem bem a um único tratamento, mas a maioria associa vários tratamentos com o objetivo de aumentar a eficácia e diminuir a toxicidade (3).

A cirúrgica é muito utilizada em cancros sólidos e limitados a uma determinada região para remover os tecidos afetados. Não pode ser utilizada em cancros metastizados ou líquidos e muitas vezes é condicionada pela proximidade a órgãos vitais ou pela dificuldade de acesso. Pode ser utilizada para reduzir a dimensão do cancro e potenciar a ação de outros tratamentos como radioterapia e quimioterapia (19).

A radioterapia consiste na utilização de radiação ionizante para eliminar ou reduzir o crescimento das células cancerígenas. A radiação danifica de forma irreversível o DNA levando à morte das células ou inibindo a sua capacidade de divisão. Outra estratégia muito utilizada, é o uso de fármacos para destruir ou reduzir a capacidade de divisão celular - quimioterapia. A quimioterapia pode ser utilizada para reduzir a probabilidade de o cancro regressar em doentes em remissão (por exemplo pós cirurgia) e para reduzir o tamanho em lesões dolorosas ou facilitar a sua remoção. Pode ser composta por um único fármaco ou ser uma associação de vários, pode também juntar outro tipo de tratamentos como por exemplo imunoterapia ou terapia hormonal. Por ser uma terapia não seletiva afeta também células saudáveis e provoca efeito secundários que podem variar entre vómitos, náuseas e alopecia(19).

A Imunoterapia é um tratamento que utiliza o sistema imunitário para combater o cancro. Em cancros localizados nas glândulas ou que são estimulados por hormonas como a mama e a próstata a terapia hormonal pode apresentar bons resultados (19).

Em cancros líquidos, por exemplo na corrente sanguínea, utiliza-se o transplante de células estaminais como tratamento. As células estaminais são células precursoras de células sanguíneas saudáveis que vão substituir as alteradas. São oriundas da medula óssea, corrente sanguínea, ou cordão umbilical do próprio ou de um familiar ou dador

compatível. Este tratamento não atua nas células alteradas, mas ajuda a repor células saudáveis após outros tratamentos como quimioterapia (20).

Atualmente a tendência, é a utilização de terapia mais dirigida ou personalizada. Ou seja, a utilização de moléculas específicas para cada tipo de cancro que reconhecem locais modificados nas células cancerígenas e que lhes conferem agressividade, por exemplo mutações que as fazem proliferar em excesso. Este tratamento será menos agressivo para o doente porque será seletivo para células alteradas. Também podem ser utilizados anticorpos monoclonais, produzidos especificamente para aquele cancro. Pode ainda funcionar como sinal para o sistema imunitário ou como bloqueio para a proliferação ou impedindo a formação de novos vasos sanguíneos indispensáveis na irrigação do cancro privando as células de nutrientes, oxigénio e/ou hormonas de crescimento. A terapêutica personalizada utiliza o genoma do doente para selecionar o tratamento mais eficaz. Em vez do tratamento convencional para determinada situação clínica, será utilizado um tratamento adequado às alterações genéticas das células cancerígenas e também mais adaptado ao próprio doente (1,17,20,21).

1.2. Fármacos anticancerígenos utilizados no tratamento do cancro oral

O plano de tratamento do cancro em geral depende, essencialmente, do estadió da doença e do tipo de tratamento. A quimioterapia em particular pode ser considerada em selecionados pacientes como forma de tratamento, com base na eficácia prevista, no estado de saúde do paciente e suas comorbidades, bem como no perfil de efeitos colaterais dos agentes relevantes, no entanto a sua eficácia em cancros orais permanece mal definida, pelo que apesar de não ser considerada como a opção de tratamento predileta, tem vindo a relevar resultados promissores (22,23).

Os regimes de tratamento de quimioterapia para o carcinoma oral de células escamosas geralmente envolvem vários fármacos em combinação. Os agentes anticancerígenos podem variar amplamente em termos de estrutura química e mecanismos de ação, e as suas propriedades anticancerígenas irão variar de acordo com o agente em questão. Por norma, quando usados em combinação, são selecionados fármacos com diferentes mecanismos de ação de modo a aumentar a eficácia e minimizar a resistência ao tratamento. Substâncias como a cisplatina e seus derivados (carboplatina e oxaplatina), 5-fluorouracilo, irinotecano e taxanos (paclitaxel e docetaxel), têm vindo a ser amplamente utilizadas na quimioterapia de carcinoma oral de células escamosas e

apresentam um efeito benéfico estatisticamente significativo para o tratamento desta doença, especialmente em estádios avançados (23–25).

A cisplatina e seus derivados pertencem ao grupo de fármacos antineoplásicos denominados de agentes alquilantes. Estes atuam sobretudo através da formação de adutos entre a platina e o DNA. Os íons de platina reagem com as bases de purina formando ligações covalentes. O que resulta na formação de ligações cruzadas entre bases de purina adjacentes, levando à inibição da replicação, danos no DNA, e posteriormente à morte das células cancerígenas (26).

O 5-fluorouracilo é um antimetabolito amplamente utilizado em quimioterapia devido à sua capacidade de interferir com a síntese de nucleótidos. Este é convertido em metabolitos ativos no interior das células. Esses metabolitos inibem a enzima timidilato sintase, que é fundamental na síntese de timidina, um dos nucleotídeos que compõem o DNA. Uma vez que a timidina é essencial para a formação das bases de pirimidina do DNA, a síntese do mesmo será diretamente afetada. Sendo ainda um análogo estrutural do uracilo, uma das bases azotadas encontradas no DNA, outra via de ação para o 5-fluorouracilo é a sua incorporação nos ácidos nucleicos durante o processo de replicação de DNA e transcrição de RNA originando erros genéticos. A acumulação de erros no DNA poderá assim ativar respostas celulares incluindo a indução de apoptose (27).

O irinotecano é um pró-fármaco que após administrado é convertido no seu metabolito ativo, o SN-38, um potente inibidor da topoisomerase I. Esta enzima desempenha um papel essencial na redução das tensões topológicas que surgem durante a replicação e transcrição do DNA, através de cortes, relaxamento e religação da estrutura de DNA de cadeia dupla. O SN-38 atua formando complexos estáveis entre a enzima, o DNA e o metabolito, inibindo assim a subsequente religação da cadeia de DNA cortada, que é a etapa essencial para que a replicação de DNA continue (28).

Os taxanos têm como mecanismo de ação central a estabilização de microtúbulos, estruturas citoesqueléticas essenciais para a divisão celular. Durante a mitose, os microtúbulos sofrem alterações de modo a ocorrer desmontagem e formação de novas estruturas. Isto envolve uma série de processos rigorosamente regulados, que conduzem à correta ligação e segregação dos cromossomas durante a divisão celular. Os taxanos ligam-se aos microtúbulos, resultando na estabilização dos mesmos e tornando-os menos dinâmicos. Isto impede o avanço da divisão celular e, por conseguinte, o crescimento do tumor (29).

No entanto, estes agentes farmacológicos apresentam reações adversas significativas, incluindo mielossupressão, toxicidade grave para sistemas orgânicos como os rins, o fígado e os pulmões, e o desenvolvimento de resistência adquirida ao medicamento, as quais têm restringido a sua aplicação clínica (23–29). Assim, esforços para explorar alternativas com eficácia anticancerígena comparável e menor toxicidade são urgentemente necessários.

1.2.1. Derivados da fenantrolina

A 1,10-fenantrolina é um composto heterocíclico que tem vindo a ser amplamente explorado devido à sua notável versatilidade química. Este composto e os seus derivados têm vindo a demonstrar resultados promissores em diversas áreas devido às suas propriedades eletrônicas, fotofísicas, atividade biológica e à sua utilidade na criação de estruturas químicas complexas em campos como a química supramolecular e macromolecular. Além disto, estas moléculas têm se destacado como ligandos em complexos metálicos dentro da química de coordenação (30).

Embora não sejam utilizados como agentes anticancerígenos convencionais estes compostos têm demonstrado atividade biológica interessante para futuras investigações. A unidade extensa e planar da fenantrolina promove a formação de interações com o DNA através de empilhamento π - π , o que por sua vez irá originar a formação de erros genéticos nas células cancerígenas, resultando na ativação das respostas celulares que levam à morte de ditas células. Estudos realizados revelam que a introdução de grupos funcionais com funções oxigenadas e extensão das cadeias aromáticas em compostos derivados de fenantrolina podem originar poderão potenciar a seletividade destes compostos para o DNA das células cancerígenas (31,32).

Tirando partido da versatilidade destes compostos, neste trabalho realizou-se a síntese de derivados de fenantrolina utilizando 2,9-dimetil-1,10-fenantrolina (neocuproína) como base das reações de síntese. Introduziu-se grupos funcionais, em particular nas posições 2 e 9 do anel aromático de fenantrolina, e aumentou-se a aromaticidade da molécula, de forma a promover as interações destas moléculas com o DNA.

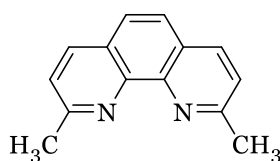


Figura 2 - Estrutura química de 2,9-dimetil-1,10-fenantrolina (neocuproína). Adaptado de (33).

2. Objetivos

Tendo em consideração a prevalência do cancro enquanto doença na nossa sociedade e as propriedades apresentadas de derivados de fenantrolina, o presente trabalho teve por objetivo geral a síntese de derivados de fenantrolina e posterior avaliação do efeito citotóxico dos mesmos numa linha celular de cancro da língua causado pelo HPV.

De modo a cumprir o objetivo geral deste trabalho, definiram-se como objetivos específicos:

- Síntese e caracterização estrutural de diferentes derivados de fenantrolina.
- Avaliação do efeito na viabilidade celular dos compostos sintetizados, numa linha celular de células de carcinoma escamoso (SCC154), através do ensaio de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT);

3. Materiais e métodos

3.1. Síntese Química

3.1.1. Reagentes e solventes

Os reagentes e solventes foram adquiridos comercialmente e utilizados sem qualquer passo de purificação adicional.

Para os procedimentos de síntese os reagentes utilizados, neocuproína e dióxido de selênio (SeO_2), foram adquiridos à *Sigma Aldrich*. O bromato de potássio (KBrO_3) foi adquirido à *Honeywell*.

Relativamente aos solventes utilizados nas reações e procedimentos de purificação, o etanol (EtOH) e metanol (MeOH), foram adquiridos à *Panreac*. O éter dietílico (Et_2O), dioxano, clorofórmio (CHCl_3), diclorometano (CH_2Cl_2) e hidróxido de sódio (NaOH), foram adquiridos à *Fisher Chemical*. E a etilenodiamina, ácido sulfúrico (H_2SO_4) e ácido nítrico (HNO_3), adquiridos à *Sigma Aldrich*.

Para a obtenção dos espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) de próton (^1H RMN) e de carbono 13 (^{13}C RMN) foram utilizados como solventes dimetilsulfóxido hexadeuterado ($\text{DMSO-}d_6$) e clorofórmio deuterado (CDCl_3), adquiridos à *Carlo Erba*.

3.1.2. Equipamentos

As reações de síntese química foram realizadas em placas de aquecimento e agitação magnética da marca *Fisher Scientific* e a evaporação de solventes foi efetuada com auxílio de um evaporador rotativo da marca *Büchi*. A cromatografia em camada fina (CCF) foi visualizada utilizando luz ultravioleta (UV) no leitor CN-15.LC e os compostos obtidos foram secos na estufa *Raypa drying oven digit*.

Os espectros de RMN foram adquiridos no espectrómetro *Bruker Avance III 400 MegaHertz (MHz)* e processados utilizando o software *MestreNova*.

3.1.3. Cromatografia

As reações foram monitorizadas por CCF, utilizando placas de sílica de 20×20 cm da marca *Macherey-Nagel*. As placas de CCF foram eluídas numa mistura contendo CH_2Cl_2 e MeOH (v/v ; 95:5) e foram visualizadas utilizando luz UV, ao comprimento de onda de 254 e /ou 365 nm.

Para a purificação e isolamento dos produtos reacionais recorreu-se à cromatografia em coluna, utilizando sílica gel (0.060-0.200 nm), da *Acros Organics*, como fase estacionária. O eluente utilizado encontra-se indicado, segundo a proporção v/v, ao longo da descrição do procedimento experimental.

3.1.4. Procedimentos experimentais

3.1.4.1. Síntese de 2,9-dicarbaldeído-1,10-fenantrolina (derivado A)

A síntese deste derivado foi realizada seguindo o protocolo de Selva e colaboradores (33). Num balão de fundo redondo dissolveu-se 2.14 g de SeO_2 em 50 mL de dioxano a 60°C . A esta solução adicionou-se de forma gradual 2.0 g de 2,9-dimetil-1,10-fenantrolina (neocuproína), dissolvida em 20 mL de dioxano, durante um período de 2 h. Esta mistura foi submetida a refluxo por 12 h a 100°C . Após completo o período de refluxo, a mistura foi filtrada a quente sob pressão reduzida, através de celite, de forma a tentar remover os resíduos de selênio existentes. O filtrado foi purificado por cromatografia em coluna usando a mistura de $\text{MeOH}:\text{CHCl}_3$ (v/v; 95:5). Após as frações recolhidas de interesse serem colocadas em balões de fundo redondo, o solvente foi evaporado no evaporador rotativo originando um composto sólido amarelo-claro. O produto final foi seco sob atmosfera de vácuo obtendo-se 0.408 g sendo o rendimento da reação de 18%.

Os espectros de ^1H RMN e de ^{13}C RMN revelaram a presença do composto pretendido. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 10.57 (s, 2H), 8.52 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 8.39 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 8.06 (s, 2H). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3) δ 193.36, 152.69, 145.95, 137.95, 131.64, 129.05, 120.49 (Anexos 1 e 2).

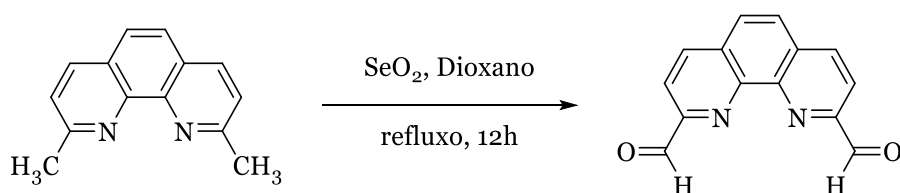


Figura 3 - Síntese de 2,9-dicarbaldeído-1,10-fenantrolina. Adaptado de (33).

3.1.4.2. Síntese de ácido 1,10-fenantrolina-2,9-dicarboxílico (derivado B)

A síntese deste derivado foi realizada seguindo o protocolo de Selva e colaboradores (33). Pesou-se 0.214 g de derivado A num balão de fundo redondo, e dissolveu-se em 1 mL de

HNO₃ (65% em peso). A solução foi colocada em refluxo por 6 h e, em seguida, foi colocada em gelo moído e deixada a arrefecer até formar um precipitado sólido. O precipitado resultante foi filtrado, fazendo lavagens sucessivas com éter, e o solvente evaporado obtendo-se um sólido amarelo. O produto final foi seco sob atmosfera de vácuo e obtiveram-se 0.196 g, sendo o rendimento da reação de 81%.

Os espectros de ¹H RMN e de ¹³C RMN provaram a presença do composto pretendido. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.74 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 8.42 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 8.22 (s, 2H); ¹³C RMN (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 166.68, 148.70, 145.11, 138.73, 130.99, 128.90, 123.96 (Anexos 3 e 4).

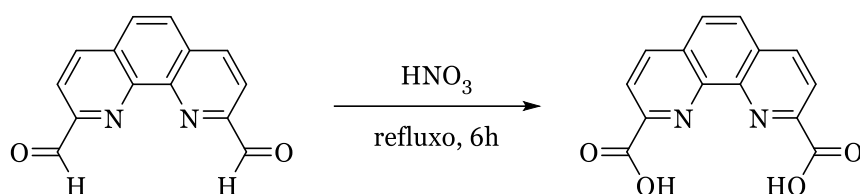


Figura 4 - Síntese de ácido 1,10-fenantrolina-2,9-dicarboxílico. Adaptado de (33).

3.1.4.3. Síntese de 2,9-dicarbometoxi-1,10-fenantrolina (derivado C)

A síntese deste derivado foi realizada seguindo o protocolo de Selva e colaboradores (33). Adicionaram-se 0.189 g de derivado B em 50 mL de MeOH. Posteriormente, adicionou-se 15 mL de H₂SO₄ e esta mistura foi submetida a refluxo, a 65 °C, durante a noite. Após este período, a solução foi colocada em gelo moído e deixada a arrefecer até formar um precipitado sólido. O precipitado resultante foi filtrado obtendo-se um composto sólido amarelo acastanhado. O produto final foi seco sob atmosfera de vácuo e obtiveram-se 0.121 g, sendo o rendimento da reação de 58%.

Os espectros de ¹H RMN e de ¹³C RMN revelaram a presença do composto pretendido. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.75 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 8.43 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 8.23 (s, 2H), 4.04 (s, 6H). ¹³C RMN (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 165.98, 148.13, 145.50, 138.59, 131.07, 129.04, 124.20, 53.23 (Anexos 5 e 6).

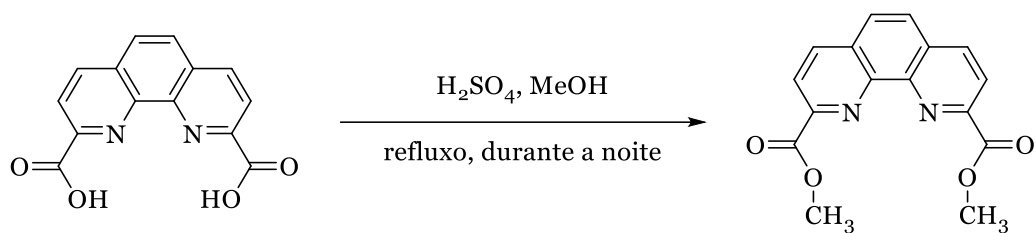


Figura 5 - Síntese de 2,9-dicarbometoxi-1,10-fenantrolina. Adaptado de (33).

3.1.4.4. Síntese de 2,9-dimetil-1,10-fenantrolina-5,6-diona (derivado D)

A síntese deste derivado foi realizada seguindo o protocolo de Zheng e colaboradores (34). Pesou-se 1.012 g de neocuproína num balão de fundo redondo, ao qual se adicionou aproximadamente 11.5 mL de H_2SO_4 a 60%. A solução colocou-se numa placa de agitação até dissolver na totalidade. Posteriormente, adicionou-se gradualmente, ao longo de 1 h, 0.88 g de KBrO_3 . Ao longo de cada adição observou-se uma mudança gradual da cor da solução de amarelo pálido para laranja escuro. Terminada a adição, a solução ficou em agitação à temperatura ambiente durante 20 h. Após este período de tempo, a solução foi adicionada a 200 mL de água destilada e neutralizou-se com uma solução de 8 M de hidróxido de sódio até o pH ser aproximadamente 7. Após a neutralização, a solução verteu-se para um copo, e adicionou-se CH_2Cl_2 , permanecendo em agitação durante cerca de 1 h à temperatura ambiente. Seguidamente, efetuou-se uma filtração a vácuo, fazendo lavagens sucessivas com CH_2Cl_2 . O filtrado resultante foi sujeito a 3 extrações líquido-líquido com CH_2Cl_2 e água destilada. Evaporaram-se as fases orgânicas da extração e recristalizou-se este produto usando metanol aquecido, originando um precipitado amarelo vivo. O produto final foi seco sob atmosfera de vácuo obtendo-se 0.217 g com um rendimento de 19 %.

Os espetros de ^1H RMN e de ^{13}C RMN revelaram a presença do composto pretendido. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 8.39 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.43 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 2.86 (s, 3H). ^{13}C RMN (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 178.44, 164.72, 152.33, 136.63, 127.21, 125.21, 25.39 (Anexos 7 e 8).

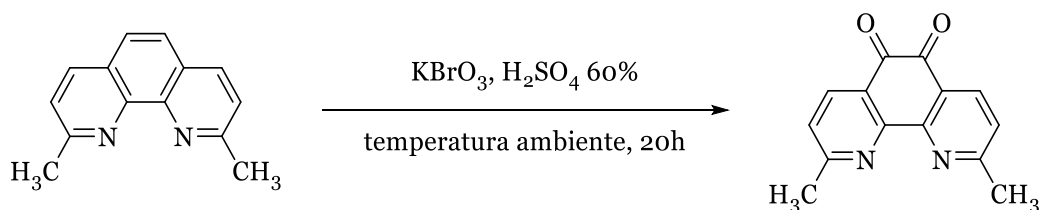


Figura 6 - Síntese de 2,9-dimetil-1,10-fenantrolina-5,6-diona. Adaptado de (34).

3.1.4.5. Síntese de 7,10-dimetilpirazino[2,3-f][1,10]fenantrolina (derivado E)

A síntese deste derivado foi realizada seguindo o protocolo de Garas e Vagg (35). Pesou-se 0.217 g de derivado D num balão de fundo redondo, e dissolveu-se em 50 mL de EtOH a 99.9%. A esta solução adicionaram-se lentamente 69 μ L de etilenodiamina, e deixou-se em refluxo durante 48h. Após este período, a solução foi retirada do refluxo tendo adquirido uma coloração alaranjada. Posteriormente, com auxílio do evaporador rotativo, foi evaporada cerca de metade do volume do solvente presente, até se observar a formação de um precipitado. O precipitado formado foi filtrado a vácuo efetuando lavagens sucessivas com EtOH, originando um composto sólido castanho-claro. O produto final foi seco sob atmosfera de vácuo obtendo-se 0.188 g com um rendimento de 79%.

Os espectros de ^1H RMN e de ^{13}C RMN revelaram a presença do composto pretendido. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.30 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 9.10 (s, 2H), 7.80 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 2.85 (s, 6H). ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO- d_6) δ 161.37, 146.56, 145.36, 139.74, 133.17, 124.79, 124.72, 25.47 (Anexos 9 e 10).

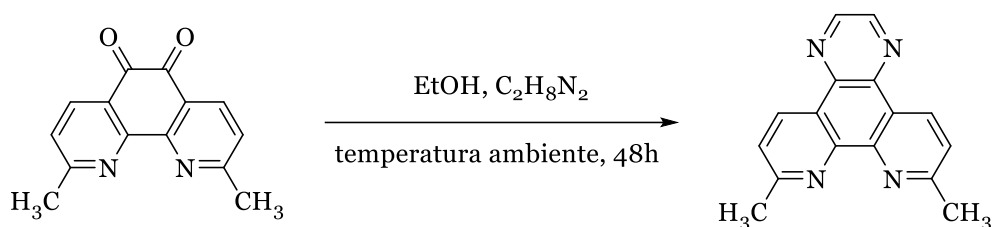


Figura 7 - Síntese de 7,10-dimetilpirazino[2,3-f][1,10]fenantrolina. Adaptado de (35).

3.1.4.6. Tentativa de síntese de 7,10-dimetilpirazino[2,3-f][1,10]fenantrolina-3,6-dicarboxaldeído (Derivado F)

A síntese deste derivado foi realizada seguindo o protocolo de Garas e Vagg (35). Pesou-se 0.188 g de derivado E num copo de vidro, e dissolveu-se com 6 mL de dioxano. Do mesmo modo, pesaram-se 0.16 g de SeO₂ num balão de fundo redondo e dissolveu-se em 5 mL de dioxano. A este balão adicionou-se gradualmente, ao longo de aproximadamente 1 h, a solução de derivado E previamente preparada e deixou-se em refluxo durante 12 h a 100 °C. Após o período de refluxo, efetuou-se uma filtração a vácuo quente, com celite. Posteriormente, evaporou-se o dioxano, com auxílio do evaporador rotativo, e efetuou-

se uma recristalização com CHCl_3 originando um composto sólido avermelhado. O produto final foi seco sob atmosfera de vácuo.

Adquiriu-se os espectros de ^1H RMN e de ^{13}C RMN revelando que o composto não se encontrava num grau de pureza satisfatório.

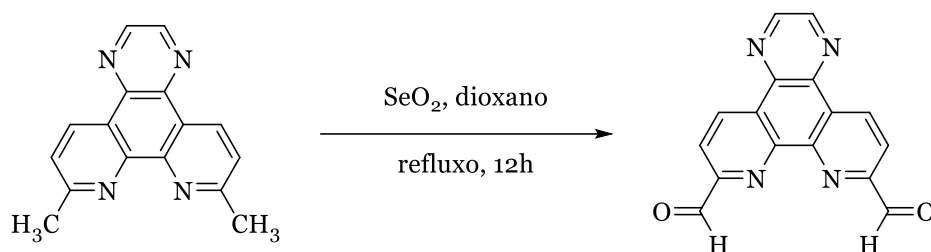


Figura 8 - Síntese de 7,10-dimetilpirazino[2,3-f][1,10]fenantrolina-3,6-dicarboxaldeído. Adaptado de (35).

3.2. Avaliação Biológica

3.2.1. Materiais e Reagentes

Para realização dos ensaios de cultura celular, o meio de cultura utilizado foi o Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), adquirido à *Sigma Aldrich*. Na substituição dos meios nos frascos de cultura, na técnica de tripsinização e na adição de compostos utilizou-se meio de cultura completo, enquanto que na avaliação da viabilidade celular utilizou-se meio de cultura incompleto. O meio de cultura completo difere do incompleto devido à presença de soro fetal bovino na sua constituição.

A tripsina e o brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) foram adquiridos à *Sigma Aldrich*. Já o corante azul de tripano (0.4%) foi adquirido à *Merck*.

Os meios de cultura, as soluções preparadas com os compostos sintetizados e os reagentes utilizados na manipulação das linhas celulares, foram armazenados em frigorífico a uma temperatura de $4\text{ }^\circ\text{C}$.

As soluções dos compostos sintetizadas foram realizadas utilizando dimetilsulfóxido (DMSO), adquirido à *Carlo Erba*.

As células foram semeadas em placas de cultura celular de 96 poços adquiridas à *Thermo Fisher Scientific*.

3.2.2. Equipamentos

As linhas celulares foram mantidas a 37 °C numa atmosfera humificada contendo 5% de CO₂, dentro de uma incubadora NuAire DHD Autoflow CO₂ Air-Jacketed.

De modo a garantir a manutenção de condições de assepsia, a manipulação das linhas celulares foi realizada na câmara de fluxo laminar NuAire, de classe II.

Previamente à manipulação das linhas celulares os meios de cultura, as soluções preparadas com os compostos sintetizados e os reagentes utilizados foram pré-aquecidos a 37 °C num banho de aquecimento da marca *Fisher Scientific*. Aquando necessário efetuar a separação das células do meio em que se encontram foi utilizada uma centrífuga Sigma 2-16KL. E, para observação das células durante todo o processo, foi utilizado um microscópio ótico Olympus CKX 40/41.

A quantificação da absorvência dos cristais de formazano, no ensaio de viabilidade celular, foi realizada com recurso a um leitor de placas Bio-rad *xmark spectrophotometer*.

3.2.3. Linha celular

Para a realização dos estudos de avaliação biológica foi utilizada uma linha celular do cancro oral (SCC154). As células SCC154 são uma linha celular de células escamosas extraídas da língua de um indivíduo adulto com carcinoma. Estas células são positivas para o HPV, fator de interesse de diversos estudos, pois o HPV é o principal fator etiológico do carcinoma de células escamosas da orofaringe. São células aderentes e o seu crescimento caracteriza-se pela formação de *clusters*. Estas células foram cultivadas em frascos de cultura de 75 cm² e incubadas a 37 °C num ambiente com 5% de CO₂. Efetuou-se a substituição do meio de cultura a cada 2 a 3 dias e as células foram tripsinizadas quando atingiam cerca de 90% de confluência. De forma a acompanhar o seu crescimento as células foram regularmente observadas ao microscópio ótico.

3.2.4. Técnicas de cultura celular

3.2.4.1. Tripsinização

O número de células aderidas a determinado frasco de cultura *in vitro* aumenta até que as mesmas cubram toda a superfície disponível, ou até que os nutrientes do meio em que se encontram presentes se esgotem. Antes que isto aconteça, as células precisam de ser divididas e expandidas para novos frascos de cultura (36). A tripsinização é um processo

experimental frequentemente utilizado para dissociar as células de uma cultura celular. Este envolve o uso de tripsina, uma enzima proteolítica que catalisa a quebra das ligações peptídicas entre as proteínas da matriz extracelular e células aderentes, permitindo a separação das células (37).

Antes de dar início à realização desta técnica, as células foram observadas ao microscópio ótico, de modo a avaliar se estas atingiram o grau de confluência necessário. Garantidas as condições necessárias, já dentro da câmara de fluxo laminar, o meio de cultura do frasco é aspirado sob vácuo, e é feita uma lavagem com 10 mL de solução salina tamponada com fosfato (PBS) para remover resíduos do meio de cultura. De seguida, aspirou-se o PBS, adicionou-se 3 mL de tripsina e o frasco foi colocado na incubadora, por um período de 2 a 10 min, até a enzima atuar. As células foram observadas ao microscópio de forma a garantir que se encontravam em suspensão. Adicionou-se então um volume meio de cultura completo, equivalente ao volume de tripsina previamente adicionado (3 mL), de modo a neutralizar a mesma. Depois disto, as células foram transferidas para um tubo *falcon* e centrifugadas durante 5 min a 1500 rpm. Após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado e o *pellet* obtido foi ressuspensão em 5 mL de meio de cultura completo. Por último, a suspensão celular foi transferida para novos frascos de cultura, continuando assim o processo de expansão celular, ou utilizada para contagem e cultura/sementeira celular para a realização de um ensaio.

3.2.4.2. Contagem celular

Para avaliar o efeito dos compostos em estudo na viabilidade celular realizou-se sementeira celular em placas *multiwells* de 96 poços a uma densidade de 5×10^4 células/mL. Deste modo, procedeu-se à contagem do número de células para que estas possam ser semeadas na densidade pretendida. Após ressuspender em meio completo o *pellet* obtido na etapa de tripsinização, procedeu-se à contagem das células. Para isto, fez-se uma diluição 1:1 retirando 20 μ L de suspensão celular e adicionando 20 μ L de solução azul tripano 0.4% num tubo *eppendorf*. Seguidamente, 20 μ L desta suspensão foram colocados na câmara de Neubauer, e observados ao microscópio de forma a contar o número de células presentes nos quatro quadrantes da mesma. Para determinar o volume de suspensão celular a ser diluído em 10 mL de meio de cultura completo aplicou-se a fórmula de Neubauer, sendo necessário calcular a média de células existentes, tendo em conta a diluição das células no passo de contagem consequente à adição da solução de azul de tripano 0.4%.

Em cada placa de cultura celular utilizada, 100 μ L de PBS foram colocados nos poços que estabelecem a periferia da placa, sendo que a periferia esquerda constitui os zeros do ensaio de viabilidade celular, e em cada um dos restantes 60 poços foram colocados 100 μ L da suspensão celular final. Terminado este processo, as células foram incubadas durante 24 h a 37 °C numa atmosfera humidificada com 5% de CO₂, de modo a promover o crescimento e aderência celular.

3.2.5. Estudo de efeito dos compostos na viabilidade celular

Para a realização do estudo de viabilidade celular os compostos a serem estudados foram previamente dissolvidos em DMSO, de modo a obter soluções de neocuproína e dos derivados C e D de 10 mM, do derivado E de 5 mM e do derivado A de 3 mM. Não se testou o derivado B, pois o stock disponível foi utilizado na síntese do derivado C, nem o derivado F, já que não se encontrava num grau de pureza aceitável.

Antes de expor as células aos compostos, as soluções foram previamente diluídas com meio de cultura completo de forma a obter concentrações de 30 μ M, e garantido que a concentração final de DMSO nos ensaios não ultrapasse 1%. Após confirmar o crescimento celular em placas de cultura, através de uma observação ao microscópio, foi removido o meio de cultura e adicionados 100 μ L de solução dos diferentes compostos, sendo feitos quatro replicados para cada solução. Cada placa continha ainda uma coluna referente ao “zero”, apenas com meio completo sem células nem compostos, e uma outra coluna referente ao controlo negativo, apenas com células em meio completo sem serem expostas aos compostos. As células foram incubadas com os compostos por 48 h a 37 °C numa atmosfera humidificada com 5% de CO₂. Posteriormente, o efeito dos derivados na viabilidade celular foi analisado através do ensaio de MTT. A extensão da morte celular foi expressa como percentagem de viabilidade celular relativamente às células utilizadas como controlo negativo.

3.2.5.1. Ensaio de viabilidade celular (ensaio MTT)

Para avaliação da citotoxicidade dos compostos nas células foi utilizado o ensaio de MTT. Este é um ensaio colorimétrico feito com base na capacidade que as células viáveis têm de reduzir o sal brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT), de cor amarela e solúvel em água, a cristais de formazano, insolúveis e de cor roxa, através da ação das desidrogenases e agentes redutores derivados da atividade metabólica das mesmas. Assim, a quantidade de formazano produzido será diretamente proporcional ao número de células viáveis presentes na amostra. De notar que o MTT é um reagente

químico que apresenta sensibilidade à luz, pelo que todo o processo experimental que envolve este reagente foi efetuado sobre a menor exposição de luz possível (38).

Assim sendo, foi preparada, num tubo de *falcon*, uma solução de MTT, dissolvendo 6 mg de MTT em 1.2 mL de PBS. Posteriormente esta solução foi diluída, adicionando-se 4.8 mL de meio de cultura incompleto. Dentro da câmara de fluxo laminar, a solução preparada foi filtrada para um outro tubo de *falcon*, de modo a garantir as condições de assepsia.

Terminado o tempo de exposição das células aos compostos em estudo, procedeu-se à aspiração do sobrenadante de cada poço a ser utilizado, conseqüente lavagem com PBS, e adicionou-se 100 µL da solução de MTT. As placas foram cobertas com papel de alumínio e incubadas, a 37 °C numa atmosfera humidificada com 5% de CO₂, durante 4 horas. Terminado este período de incubação, o sobrenadante dos poços foi removido cuidadosamente, de forma a preservar os cristais de formazano formados, e adicionou-se 100 µL de DMSO, tornando os cristais solúveis, e obtendo uma solução de cor roxa. Por fim, a absorvência foi quantificada a 570 nm. Concluído cada ensaio, as placas são descartadas nos contentores dos resíduos. Cada ensaio foi realizado de forma independente 3 vezes.

3.2.6. Análise Estatística

Após a leitura dos valores das absorvências, os resultados foram tratados com recurso ao software Microsoft Excel. O resultado do ensaio de MTT foi expresso como valores médios ± desvio padrão. Para avaliar e verificar a presença de diferenças estatisticamente significativas entre as condições experimentais foi aplicado o teste *t-student*, sendo que os valores foram classificados como significativos quando $p < 0.05$.

4. Resultados e discussão

4.1. Síntese Química

A síntese química apresentada neste trabalho teve como principal objetivo a obtenção de vários derivados de fenantrolina. O esquema da figura 10 representa toda a síntese química realizada de modo a obter os derivados A, B, C, D, E e F, tendo como precursor a neocuproína, comercialmente obtida.

Numa primeira via de síntese, o derivado A foi obtido através da oxidação de neocuproína a aldeído, utilizando SeO_2 como agente oxidante. Realizou-se também uma cromatografia em coluna de sílica com o intuito de purificar o produto pretendido. Neste procedimento, os compostos são eluídos de acordo com a sua afinidade pela fase estacionária. Apesar de possibilitar esta recuperação, a cromatografia em coluna também está associada a uma perda significativa de produto, pelo que o rendimento final da reação após este processo foi de 18%. As reações deste passo foram realizadas segundo o procedimento descrito na bibliografia onde, o rendimento obtido foi de 85% (33).

Seguidamente foi realizada a oxidação do derivado A a ácido carboxílico, utilizando HNO_3 como agente oxidante, dando origem ao derivado B, com um rendimento de 81%. As reações deste passo foram realizadas segundo o procedimento descrito na bibliografia, onde o rendimento obtido foi de 83.15% (33).

Posteriormente, o derivado C foi sintetizado por esterificação de Fischer, a partir da reação entre o derivado B e MeOH , sob aquecimento e na presença de H_2SO_4 como catalisador da reação, tendo sido obtido um rendimento de 58%. As reações deste passo foram realizadas segundo o procedimento descrito na bibliografia, onde o rendimento obtido foi de 86% (33).

Já numa segunda via de síntese, o derivado D foi obtido através da oxidação de neocuproína utilizando KBrO_3 e H_2SO_4 como agente oxidante. Esta mistura reacional foi neutralizada com NaOH e foram realizadas extrações líquido-líquido com CH_2Cl_2 numa ampola de decantação. Após a extração, a fase orgânica foi evaporada e foi feita uma recristalização usando MeOH aquecido, tendo-se obtido um rendimento de 19%. As reações deste passo foram realizadas segundo o procedimento descrito na bibliografia, onde foram obtidos rendimentos entre 85 e 90% (34).

Seguidamente, o derivado E foi obtido através da condensação do derivado D com etilenodiamina, aumentando a superfície aromática, com um rendimento de 79%. As

reações deste passo foram realizadas segundo o procedimento descrito na bibliografia, onde o rendimento obtido foi de 50% (35).

Por fim, tentou-se sintetizar o derivado F com SeO_2 em dioxano. Inicialmente estava previsto que este seria o produto final deste esquema sintético, no entanto não foi obtido um grau de pureza aceitável devido à dificuldade de eliminar o selênio, como foi possível verificar visualmente através da cor vermelha do composto obtido e tendo-se confirmado o caso em RMN. A reação foi novamente repetida, na esperança de que o resultado anterior fosse explicado por algum erro durante a execução, porém o resultado foi equivalente.

A necessidade de realização de diversos passos de purificação bem como o facto de os produtos terem sido sintetizados em baixas quantidades pode ter contribuído para os baixos rendimentos observados. Apesar disto, os rendimentos obtidos são relativamente satisfatórios tendo em conta a facilidade e poucos recursos que foram necessários para realizar as reações.

A caracterização estrutural dos compostos sintetizados foi realizada através dos espetros de ^1H RMN e de ^{13}C RMN, tendo-se obtido espetros concordantes com os produtos pretendidos e já anteriormente descritos (33–35). Não foi possível caracterizar os espetros referentes ao derivado F uma vez que as reações de síntese não tiveram o sucesso pretendido.

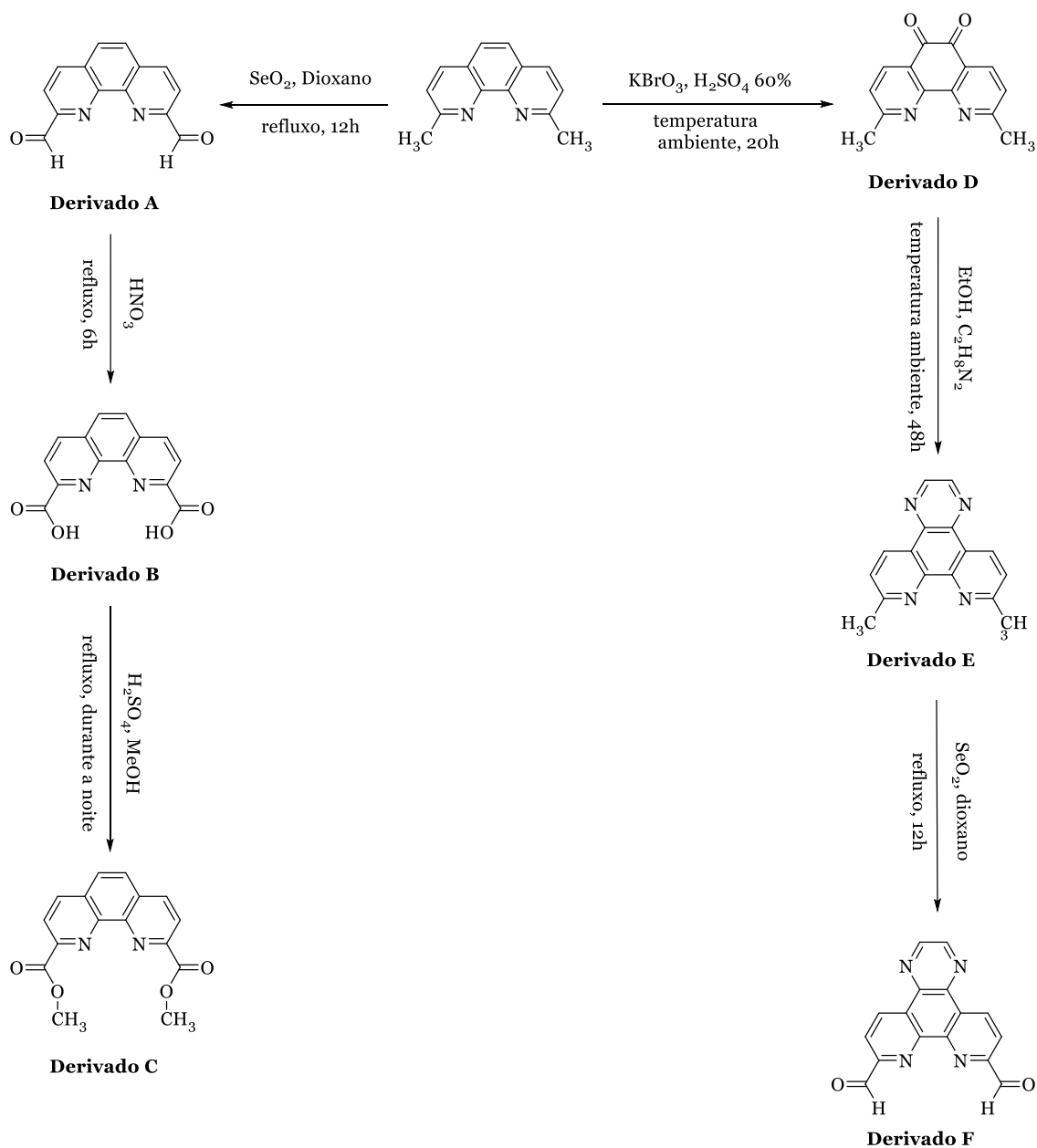


Figura 9 – Esquema geral da síntese química realizada.

Tabela 3 – Rendimentos obtidos dos compostos sintetizados.

Composto	Rendimento (%)
Derivado A	18
Derivado B	81
Derivado C	58
Derivado D	19
Derivado E	79

4.2. Ensaio de viabilidade celular

Após a síntese dos diferentes derivados de fenantrolina, foi avaliado o seu efeito na viabilidade celular pelo método de MTT, após 48h de exposição aos mesmos. Não se testou o derivado B, pois não havia stock suficiente do mesmo, e o derivado F não foi testado devido a estar impuro, pelo que foi decidido testar também a atividade citotóxica do precursor utilizado, a neocuproína. O efeito citotóxico dos compostos sintetizados foi determinado na linha celular cancerígena SCC154. O resultado do ensaio de MTT está representado na Figura 10.

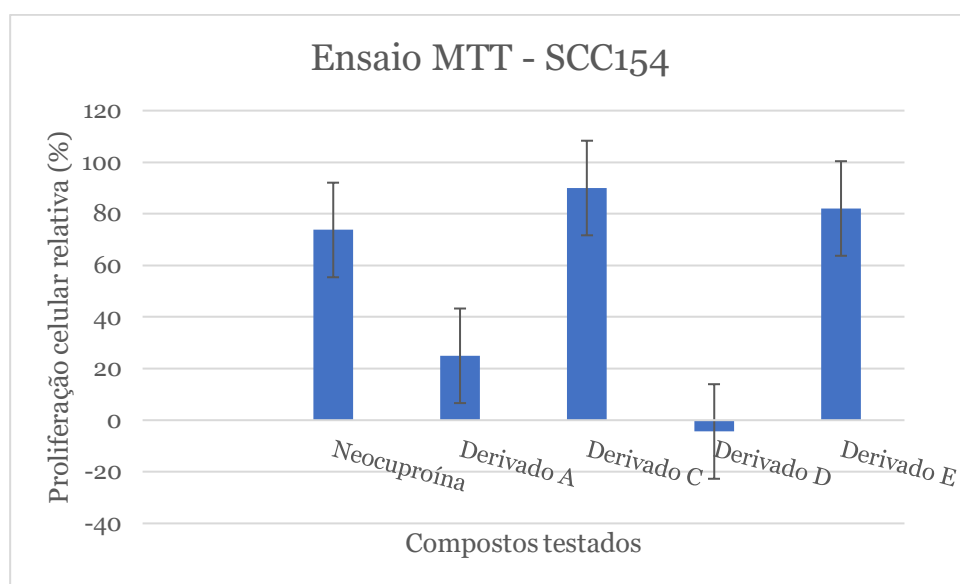


Figura 10 – Citotoxicidade dos compostos sintetizados nas células SCC154 incubadas durante 48 horas com neocuproína, derivado A, derivado C, derivado D e derivado E, na concentração de 30 μ M. Os dados de percentagem de proliferação celular relativa estão expressos em relação ao controlo (teste *t-Student*) $n=4$.

Apenas pelo ensaio de MTT não é possível esclarecer o mecanismo de ação dos derivados de fenantrolina testados, mas é possível observar que induzem toxicidade celular. Analisando a figura 10, podemos verificar que os derivados A e D induziram uma diminuição da viabilidade celular relativamente aos restantes, pelo que estes seriam compostos promissores neste trabalho.

Para confirmar, complementar esta informação, e permitir uma melhor compreensão destes resultados, mais estudos necessitam de ser efetuados. O estudo do efeito destes compostos em linhas celulares normais (ex: fibroblastos dérmicos humanos normais), de modo a comprovar a existência de toxicidade seletiva destes compostos, bem como outros estudos que estabeleçam uma relação de dose-resposta terão de ser efetuados futuramente.

5. Conclusões e perspectivas futuras

Atualmente, o cancro é uma patologia prevalente na sociedade e, como tal, é cada vez mais importante o desenvolvimento de novas e melhores terapias. Deste modo, pretendeu-se com este trabalho a síntese de derivados de fenantrolina e posterior avaliação do seu efeito na proliferação celular em células SCC154, uma linha celular de células de carcinoma oral de células escamosas. Estas células são positivas para o HPV, o principal fator etiológico do carcinoma de células escamosas da orofaringe.

Os compostos sintetizados foram obtidos através de reações adaptadas da literatura, e a sua caracterização estrutural foi realizada por RMN. O ensaio de MTT demonstrou em geral resultados positivos, tendo-se observado uma diminuição da viabilidade celular quando aplicados os compostos sintetizados em relação ao controlo, e em particular dos derivados A e D em relação à neocuproína, demonstrando o potencial dos derivados de fenantrolina enquanto agentes anticancerígenos.

Para a continuação deste trabalho seria interessante desenvolver estratégias para melhorar a recuperação e pureza destes produtos, de modo a aumentar o rendimento, facilitar a sua caracterização e continuar para a síntese de novos ligandos. Para além disto, realizar estudos com diferentes concentrações dos compostos de modo a averiguar a existência da relação dose-resposta de forma a determinar a eficácia e segurança dos mesmos, facilitando o início de um possível processo de otimização de terapias. Outro aspeto importante seria alargar o estudo a outras linhas celulares cancerígenas, bem como a linhas celulares saudáveis, de modo a conferir a existência de toxicidade seletiva.

6. Referências

1. Susana M, Lopes S, Reforço F. Imunoterapia e Cancro. 2019. <http://hdl.handle.net/10451/43323>
2. Sonnenschein C, Soto AM. Carcinogenesis explained within the context of a theory of organisms. Vol. 122, Progress in Biophysics and Molecular Biology. Elsevier Ltd; 2016. p. 70–6. doi: 10.1016/j.pbiomolbio.2016.07.004
3. Peters JM, Gonzalez FJ. The Evolution of Carcinogenesis. Vol. 165, Toxicological Sciences. Oxford University Press; 2018. p. 272–6. doi: 10.1093/toxsci/kfy184
4. Lichtenstein A v. Carcinogenesis: Evolution of concepts. Biochemistry (Moscow). 2009;74(4):353–61. doi: 10.1134/S0006297909040014
5. Luzzatto L, Pandolfi PP. Causality and Chance in the Development of Cancer. 2015. doi: 10.1056/nejmsb1502456
6. Portugal Source: Globocan Incidence, Mortality and Prevalence by cancer site. <https://gco.iarc.fr/> [acedido a 24 de fevereiro de 2023]
7. Barroso HMSA; TN. Microbiologia Médica. Lidel. Lidel, editor. Vol. 2. 2014.
8. Carvalho P. Vírus do Papiloma Humano (HPV) A história clínica e sua epidemiologia. Universidade Algarve; 2022. <http://hdl.handle.net/10400.1/19293>
9. Araldi RP, Sant’Ana TA, Módolo DG, de Melo TC, Spadacci-Morena DD, de Cassia Stocco R, et al. The human papillomavirus (HPV)-related cancer biology: An overview. Vol. 106, Biomedicine and Pharmacotherapy. Elsevier Masson SAS; 2018. p. 1537–56. doi: 10.1016/j.biopha.2018.06.149
10. Mestre VF, Medeiros-Fonseca B, Estêvão D, Casaca F, Silva S, Félix A, et al. HPV16 is sufficient to induce squamous cell carcinoma specifically in

the tongue base in transgenic mice. *Journal of Pathology*. 2020 May 1;251(1):4–11. doi: 10.1002/path.5387

11. Venturi B, PA ,Cardoso, A. Squamous cell carcinoma of the oral cavity in young patients and its increasing incidence: literature review. *Rev Bras Otorrinolaringol* [Internet]. 2004; Available from: <http://www.bjorl.org.br/> [acedido a 17 de março de 2023]
12. Chernock RD, El-Mofty SK, Thorstad WL, Parvin CA, Lewis JS. HPV-related nonkeratinizing squamous cell carcinoma of the oropharynx: Utility of microscopic features in predicting patient outcome. *Head Neck Pathol*. 2009;3(3):186–94. doi: 10.1007/s12105-009-0126-1
13. Gan LL, Zhang H, Guo JH, Fan MW. Prevalence of human papillomavirus infection in oral squamous cell carcinoma: A case-control study in Wuhan, China. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2014;15(14):5861–5. doi: 10.7314/apjcp.2014.15.14.5861
14. Lerner LK, Sale JE. Replication of G quadruplex DNA. *Genes (Basel)*. 2019 Feb 1;10(2). doi: 10.3390/genes10020095
15. Ye D, Zhou X, Pan H, Jiang Q, Zhong L, Chen W, et al. Establishment and characterization of an HPV16 E6/E7-expressing oral squamous cell carcinoma cell line with enhanced tumorigenicity. *Medical Oncology*. 2011 Dec;28(4):1331–7. doi: 10.1007/s12032-010-9558-4
16. Lauby-Secretan B, Scoccianti C, Loomis D, Grosse Y, Bianchini F, Straif K. Body Fatness and Cancer-Viewpoint of the IARC Working Group. 2016. doi: 10.1056/NEJMSr1606602
17. American Cancer Society. American Cancer Society, Atlanta GA, USA [Internet]. 2023. Available from: <https://www.cancer.org/> [acedido a 8 de fevereiro de 2023]
18. Rock CL, Thomson C, Gansler T, Gapstur SM, McCullough ML, Patel A v., et al. American Cancer Society guideline for diet and physical activity for cancer prevention. *CA Cancer J Clin*. 2020;70(4). doi: 10.3322/caac.21591

19. Laha D, Nilubol N, Boufraquech M. New Therapies for Advanced Thyroid Cancer. Vol. 11, *Frontiers in Endocrinology*. Frontiers Media S.A.; 2020. doi: 10.3389/fendo.2020.00082
20. Pérez-Herrero E, Fernández-Medarde A. Advanced targeted therapies in cancer: Drug nanocarriers, the future of chemotherapy. Vol. 93, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. Elsevier B.V.; 2015. p. 52–79. doi: 10.1016/j.ejpb.2015.03.018
21. Malone ER, Oliva M, Sabatini PJB, Stockley TL, Siu LL. Molecular profiling for precision cancer therapies. Vol. 12, *Genome Medicine*. BioMed Central; 2020. doi: 10.1186/s13073-0703-1
22. Enzinger PC, Mayer RJ. Esophageal Cancer [Internet]. Vol. 23, *n engl j med*. 2003. Available from: www.nejm.org [acedido a 22 de Maio]
23. Hartner L. Chemotherapy for Oral Cancer. Vol. 62, *Dental Clinics of North America*. W.B. Saunders; 2018. p. 87–97. doi: 10.1016/j.cden.2017.08.006
24. Ohashi S, Miyamoto S, Kikuchi O, Goto T, Amanuma Y, Muto M. Recent Advances from Basic and Clinical Studies of Esophageal Squamous Cell Carcinoma. Vol. 149, *Gastroenterology*. W.B. Saunders; 2015. p. 1700–15. doi: 10.1053/j.gastro.2015.08.054
25. Pennathur A, Gibson MK, Jobe BA, Luketich JD. Oesophageal carcinoma. In: *The Lancet*. Elsevier B.V.; 2013. p. 400–12. doi: 10.1016/S0140-6736(12)60643-6
26. Ghosh S. Cisplatin: The first metal based anticancer drug. Vol. 88, *Bioorganic Chemistry*. Academic Press Inc.; 2019. doi: 10.1016/j.bioorg.2019.102925
27. Diasio RB, Harris BE. Drug Disposition Clinical Pharmacology of 5-Fluorouracil. doi: 10.2165/00003088-198916040-00002
28. Kciuk M, Marciniak B, Kontek R. Irinotecan—still an important player in cancer chemotherapy: A comprehensive overview. Vol. 21, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG; 2020. p. 1–21. doi: 10.3390/ijms21144919

29. Mosca L, Ilari A, Fazi F, Assaraf YG, Colotti G. Taxanes in cancer treatment: Activity, chemoresistance and its overcoming. *Drug Resistance Updates*. 2021 Jan 1;54. doi: 10.1016/j.drug.2020.100742
30. Deegan C, McCann M, Devereux M, Coyle B, Egan DA. In vitro cancer chemotherapeutic activity of 1,10-phenanthroline (phen), [Ag₂(phen)₃(mal)] · 2H₂O, [Cu(phen)₂(mal)] · 2H₂O and [Mn(phen)₂(mal)] · 2H₂O (malH₂ = malonic acid) using human cancer cells. *Cancer Lett*. 2007 Mar 18;247(2):224–33. doi: 10.1016/j.canlet.2006.04.006
31. Hu S, Ma W, Wang J, Ma Y, Zhou Z, Zhang R, et al. Synthesis and anticancer evaluations of novel 1H-imidazole [4,5-f][1,10] phenanthroline derivative for the treatment of colorectal cancer. *Eur J Pharmacol*. 2022 Aug 5;928:175120. doi: 10.1016/j.ejphar.2022.175120
32. Gratal P, Arias-Pérez MS, Gude L. 1H-imidazo[4,5-f][1,10]phenanthroline carbohydrate conjugates: Synthesis, DNA interactions and cytotoxic activity. *Bioorg Chem*. 2022 Aug 1;125:105851. doi: 10.1016/j.bioorg.2022.105851
33. Selva Kumar R, Kumar SKA, Vijayakrishna K, Sivaramakrishna A, Brahmmananda Rao CVS, Sivaraman N, et al. Development of the Smartphone-Assisted Colorimetric Detection of Thorium by Using New Schiff's Base and Its Applications to Real Time Samples. *Inorg Chem*. 2018 Dec 17;57(24):15270–9. doi: 10.1021/acs.inorgchem.8b02564
34. Zheng RH, Guo HC, Jiang HJ, Xu KH, Liu BB, Sun WL, et al. A new and convenient synthesis of phendiones oxidated by KBrO₃/H₂SO₄ at room temperature. *Chinese Chemical Letters*. 2010 Nov;21(11):1270–2. doi: 10.1016/j.cclet.2010.05.030
35. Garas AMS, Vagg R. Garas_et_al-2000-Journal_of_Heterocyclic_Chemistry. *J Heterocyclic Chemistry*. 2000;37(151). doi: 10.1002/jhet.5570370125
36. Ricardo R, Phelan K. Trypsinizing and subculturing mammalian cells. *Journal of Visualized Experiments*. 2008;(16). doi: 10.3791/755

37. Serdiuk T, Alekseev S, Lysenko V, Skryshevsky V, G elo en A.
Trypsinization-dependent cell labeling with fluorescent nanoparticles.
Nanoscale Res Lett. 2014;9(1). doi: 10.1186/1556-276X-9-568

38. McCauley J, Zivanovic A, Skropeta D. Bioassays for anticancer activities.
Methods in Molecular Biology. 2013;1055:191–205. doi: 10.1007/978-1-
62703-577-4_14

Capítulo 2 – Estágio em Farmácia

Comunitária

1. Introdução

A farmácia comunitária constitui um dos primeiros locais ao qual a população recorre perante a necessidade de cuidados de saúde. Quando comparadas com os restantes serviços de saúde esta destaca-se pela sua rede de cobertura e distribuição geográfica mais homogénea e alargada, sendo seu dever e dos membros que a constituem assegurar o uso racional e responsável do medicamento, devido aconselhamento e prestação de todo um leque de serviços que levam à promoção do bem-estar, aumento de qualidade de vida e literacia em saúde dos seus utentes. É graças à capacidade de adaptação e resposta às necessidades da comunidade que as farmácias assumem um estatuto de relevo e prestígio na sociedade.

O presente relatório foi elaborado no âmbito do estágio curricular em farmácia comunitária decorrido durante o período de 2 de março a 15 de julho de 2022, na farmácia Ferrer (FF), em Castelo Branco, sob a orientação da Dra. Sílvia Rodrigues.

Na transição para o mercado de trabalho, além das competências técnico-profissionais inerentes ao ato farmacêutico, é importante desenvolver competências pessoais e sociais, tais como a capacidade de comunicação, trabalho em equipa, organização e gestão do tempo pessoal e profissional, competências estas essenciais em contextos altamente exigentes como é o caso das farmácias. Assim, como parte integrante do plano de estudos para finalização do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, o período de estágio curricular mostra-se essencial para que o estudante estabeleça um paralelo entre os conhecimentos, teóricos e práticos, que têm vindo a ser adquiridos ao longo do seu percurso académico e a realidade da profissão farmacêutica.

2. Organização da farmácia

2.1. Localização, horário de funcionamento e caracterização dos utentes da farmácia

A FF situa-se na Praça Rei D. José, em Castelo Branco. Trata-se de uma zona histórica da cidade, próxima de diversos espaços de carácter lúdico e cultural onde se verifica uma predominância da população idosa. Diariamente, utentes de todas as faixas etárias

dirigem-se à farmácia, mas, como seria de se esperar, a afluência da população com idade mais avançada mostra-se superior relativamente a todas as outras. Grande parte dos utentes são fiéis e regulares, pelo que têm vindo a manter ao longo dos anos uma relação de proximidade e confiança com a equipa da farmácia.

No que diz respeito ao horário de funcionamento, a farmácia encontra-se aberta ao público das 9 às 19 horas de segunda a sexta-feira e das 9 às 13 horas aos sábados, estando encerrada aos domingos e feriados, à exceção dos dias de serviço de atendimento permanente, com uma periodicidade de 11 em 11 dias, em que a farmácia se encontra em funcionamento durante 24 horas.

2.2. Espaço físico exterior

O aspeto exterior da farmácia é característico e facilmente identificável, graças ao símbolo típico da cruz verde e ao letreiro com a designação “FERRER FARMÁCIA”, presentes na parte superior da entrada principal. A entrada para o interior da farmácia é acessível a qualquer utente, portador, ou não de deficiência, e de equipamentos como cadeiras de rodas e carrinhos de transporte de bebés, uma vez que a porta se encontra ao nível do chão. Junto à entrada principal existem ainda informações relevantes para os utentes relativamente à direção técnica da farmácia, o horário de funcionamento e informação acerca das farmácias de serviço do município de Castelo Branco (7).

Há ainda uma outra entrada adjacente à farmácia que permite o acesso direto à secção de ortopedia devidamente identificada com o letreiro “ORTOPEDIA”.

2.3. Espaço físico interior

As farmácias devem dispor de instalações que garantam tanto a segurança, conservação e preparação dos medicamentos, como a acessibilidade, comodidade e privacidade dos seus utentes e respetivo pessoal. A farmácia deve dispor designadamente de uma sala de atendimento ao público, armazém e instalações sanitárias (8).

O espaço interior da FF encontra-se dividido essencialmente em três secções: duas que permitem acesso ao público e uma de exclusiva utilização da equipa da farmácia.

As zonas que permitem o acesso ao público resumem-se à sala de atendimento geral e à secção de ortopedia. Na entrada para a sala de atendimento geral encontra-se um dispensador de senhas, que ajuda os utentes a serem dirigidos a um dos cinco balcões de atendimento disponíveis de forma ordenada. Ainda junto à entrada existem duas cadeiras onde os utentes podem aguardar pela sua vez. A sala de atendimento é um

espaço de circulação livre para os utentes, onde podemos encontrar, nas paredes laterais, em dois expositores centrais e nas prateleiras e gavetas por detrás dos balcões, uma vasta gama de produtos de higiene e saúde oral, dermocosmética, puericultura, higiene íntima, contraceptivos, veterinários, fitoterapia, suplementos alimentares e ainda uma seleção de medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM). Todos os grupos de produtos anteriormente referidos sofrem de um período de rotação consoante a época sazonal, promoções em vigor ou consoante o bem entender do profissional encarregado para cada secção.

Na secção de ortopedia, existe um outro balcão de atendimento e diversos produtos mais específicos para cuidados de saúde, conforto e estética podológica, bem como outras situações de natureza ortopédica e geriátrica. É ainda nesta divisão que existe uma área mais reservada do atendimento geral, destinada à medição de parâmetros analíticos como glicémia, colesterol, triglicéridos e da pressão arterial.

Na transição entre os dois espaços de atendimento encontra-se uma casa de banho para uso dos utentes, adequada a pessoas com mobilidade reduzida, o bastidor onde está concentrada a parte tecnológica de suporte ao funcionamento da farmácia e dois gabinetes de atendimento personalizado. Durante o período do estágio, um dos gabinetes esteve habitualmente reservado para a realização dos testes COVID-19 enquanto o outro era utilizado para as consultas de podologia, nutrição e fisioterapia bem como outros serviços prestados pela farmácia de carácter mais privativo.

Já na passagem da sala de atendimento geral para a área de acesso exclusivo por parte da equipa técnica da farmácia, encontram-se imediatamente dois armários, de gavetas deslizantes, destinados ao armazenamento das formas farmacêuticas orais sólidas. Estas encontram-se divididas entre medicamentos de marca e genéricos, bem como saquetas e ampolas. Posteriormente aos armários referidos, encontra-se uma série de prateleiras deslizantes destinadas ao armazenamento das restantes formas farmacêuticas, tais como xaropes, inaladores, sprays e gotas nasais, soluções orais, colírios e pomadas oftálmicas, injetáveis, supositórios, dispositivos de medicação da glicémia capilar (agulhas, lancetas, tiras), uso auricular, uso vaginal, gel de banho e outros produtos de uso externo tais como pomadas, cremes, loções, emplastros, champôs e vernizes medicamentosos. Todo o armazenamento referido é organizado por ordem alfabética. Na última destas prateleiras encontram-se ainda leites em pó, sacos coletores de urina, suplementos alimentares pediátricos e outros produtos que não possuem o seu espaço diferenciado. Junto a estes armários existe ainda um frigorífico para o armazenamento de produtos que necessitem de acondicionamento a frio.

Contíguo a este espaço de armazenamento existe uma zona especificamente destinada à realização e receção de encomendas equipada com dois computadores, uma impressora, um leitor de código de barras, uma impressora de etiquetas, e uma secretária reservada a questões de contabilidade. Nesta zona existem diversas prateleiras, as quais contêm desde documentos de informação científica a *dossiers* onde é arquivada informação importante, tais como notas de encomenda, notas de devolução e notas de crédito. Dois telefones e um telemóvel encontram-se aqui ao dispor da equipa para o contacto dos fornecedores, outros profissionais de saúde ou dos utentes.

Ainda nesta divisão existem prateleiras de vidro destinadas ao armazenamento de produtos que possuem um prazo de validade prestes a expirar, e produtos reservados pelos utentes, estando devidamente identificados com o nome do destinatário, a data da requisição e identificação do operador que recebeu o pedido de reserva. Abaixo destas prateleiras encontra-se um contentor da VALORMED.

No corredor de passagem para a zona mais interna da farmácia existem duas estantes metálicas onde se encontram produtos com um *stock* elevado ou de relativa especificidade ou sazonalidade, nomeadamente produtos de dermocosmética, produtos de higiene oral, testes de gravidez, dispositivos para incontinência, máscaras e testes rápidos de antigénio para COVID-19. Ao lado destas existe ainda uma outra estante para armazenamento exclusivo de suplementos alimentares. Anexos a este corredor estão as entradas para o laboratório da farmácia, devidamente equipado com os materiais e matérias-primas necessários para a preparação de medicamentos manipulados, e o gabinete reservado à direção técnica da farmácia.

Para finalizar, na zona da farmácia mais distante da área de atendimento podemos encontrar uma pequena copa, instalações sanitárias para uso exclusivo da equipa da farmácia e um outro armazém, onde se encontram os cacifos da equipa e uma série de armários e prateleiras reservados para o armazenamento de medicamentos genéricos, produzidos por três laboratórios com os quais a FF estabeleceu parcerias, medicamentos e outros produtos adquiridos em grandes quantidades e um conjunto de materiais como luvas e pensos. É nesta última secção que se encontra a área de devoluções, bem como o acesso traseiro à farmácia, por onde são realizadas as entregas dos fornecedores habituais.

2.4. Recursos humanos

Os recursos humanos são a alma e pilar da farmácia que constituem. O serviço de excelência e trabalho destes elementos mostra-se crucial para o bom funcionamento da farmácia.

A FF orgulha-se de ter uma equipa unida, dinâmica e repleta de profissionalismo. A presença de um ambiente no qual se preza o bem-estar, confiança e constante interajuda entre os membros da equipa, de forma a que nenhuma informação seja omissa, revelou-se um fator determinante para a garantia do desempenho e qualidade dos serviços prestados.

O quadro do pessoal da FF é constituído por nove profissionais de excelência, os quais tomo agora a liberdade de apresentar:

- Dr^a. Sílvia Rodrigues - proprietária e diretora técnica
- João Rodrigues - proprietário e responsável pelos processos de gestão administrativa
- Dr^a. Catherine Falch – farmacêutica substituta
- Dr^a. Marta Sousa - farmacêutica
- Dr^a. Patrícia Ramalho - farmacêutica
- Dr^a. Inês Pires - farmacêutica
- Peres Carvalho - técnico de farmácia
- César Bento- técnico auxiliar de farmácia
- Estelina Silva – contabilista e técnica auxiliar de farmácia
- Florinda Nunes - técnica de limpeza

Os valores de empatia, respeito e responsabilidade inerentes a cada membro desta equipa serão máximas pelas quais me irei guiar no meu futuro profissional, e pelas quais fico plenamente agradecido.

O pessoal que desempenha funções de atendimento ao público está ainda devidamente identificado mediante o uso de um cartão com o seu nome e título profissional (8).

2.4.1. Direção técnica – responsabilidade e funções

A direção técnica, como foi mencionado, encontra-se ao encargo da Dr^a Sílvia Rodrigues.

Compete, em especial, ao diretor técnico assumir a responsabilidade pelos atos farmacêuticos praticados na farmácia, assegurar o acesso e devida dispensa de

medicamentos e demais produtos apropriados aos utentes, garantir a prestação de esclarecimentos adequados ao modo de utilização dos medicamentos, promover o uso racional do medicamento, bem como garantir que a farmácia, e o pessoal que trabalha nesta, cumpre todas normas de higiene e segurança estabelecidas. Assim, a constante cooperação dos outros farmacêuticos, técnicos de farmácia e todo o pessoal devidamente habilitado, sob a gerência e orientação da direção técnica, é essencial para o funcionamento adequado da farmácia (8).

Ao longo do estágio, a Dr^a Sílvia revelou-se como um exemplo de profissionalismo e excelência. O seu empenho e dedicação para com o setor da farmácia comunitária foram fundamentais para a resolução deste estágio e para o meu desenvolvimento enquanto futuro profissional.

2.5. Recursos tecnológicos e informáticos

Nos dias que correm a gestão dos recursos tecnológicos e informáticos mostra-se tão importante quanto a dos recursos humanos. Estes são imprescindíveis para a eficiência e produtividade da farmácia proporcionando uma otimização de tarefas e gestão eficaz do tempo.

A FF dispõe de um total de oito computadores, todos eles com acesso à internet e equipados com os sistemas informáticos *Sifarma 2000*® e *Sifarma – novo modelo de atendimento*, desenvolvidos pela empresa *Glintt*® - *Global Intelligent Technologies*. O novo modelo de atendimento apresenta-se como o modelo mais recente e sucessor do *Sifarma 2000*®, este é utilizado pela farmácia principalmente na zona de atendimento, devido ao seu carácter mais intuitivo e a outras vantagens que este proporciona neste processo, como a possibilidade de dispensa em simultâneo de mais que uma receita num só atendimento, e a separação de faturas quer por imposto sobre valor acrescentado (IVA) quer por utente. Contudo muitas das funcionalidades do *Sifarma 2000*® ainda não se encontram operacionais no novo modelo, pelo que muitas das operações, como exemplo a receção de encomendas, consulta de vendas e gestão de quebras e devoluções, são diretamente encaminhadas para o *Sifarma 2000*®.

Os dois programas permitem a organização dos vários processos de gestão e aprovisionamento dos medicamentos de forma adjunta. Permitem ainda o fácil acesso a informação científica de diversos medicamentos como por exemplo a sua indicação, posologia, reações adversas, contraindicações e interações medicamentosas. Estas informações são uma mais-valia no processo de atendimento e dispensa de medicamentos.

Cada membro da equipa técnica possui códigos pessoais de acesso a ambos os programas, de modo a que as suas tarefas realizadas dentro destes sejam identificadas. Este sistema facilita a monitorização e identificação de possíveis erros, tornando a sua resolução mais rápida e simples. Durante o período de estágio também me foram atribuídos códigos de acesso de forma a registar as minhas operações. Estes programas permitiram-me consolidar e aprofundar conhecimentos de forma diária, demonstrando serem uma ferramenta de auxílio notável para uma maior segurança no atendimento e cuidado prestado na dispensa do medicamento.

3. Fontes de informação e documentação científica

A área dos medicamentos e produtos de saúde é um mundo em constante mudança e evolução, perante isto o aparecimento de dúvidas no dia a dia da farmácia é natural, pelo que o fácil acesso a fontes de informação credíveis e atualizadas é indispensável.

De acordo com o Manual de Boas Práticas Farmacêuticas as farmácias devem possuir nas suas instalações determinados documentos para suporte e consulta a qualquer momento, nomeadamente a Farmacopeia Portuguesa (em edição de papel, eletrónica ou online) e outros documentos reconhecidos e indicados pelo INFARMED – Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I. P., tal como o Prontuário Terapêutico, o Formulário Galénico Português e o Infomed (8).

Quando estas fontes não são suficientes a FF, enquanto farmácia associada à Associação Nacional de Farmácias (ANF), tem à sua disposição recursos como o LEF – Laboratório de Estudos Farmacêuticos, disponível para prestar esclarecimentos relativamente a medicamentos manipulados, tal como a forma de preparação mais indicada, a sua estabilidade e prazos de validade. Graças a este estatuto é possível também recorrer ao CEDIME – Centro de Documentação e Informação do Medicamento, este responde a dúvidas e questões relativas a medicamentos, produtos de saúde e suplementos alimentares. Durante o meu estágio contactei o CEDIME com o objetivo de encontrar um suplemento alimentar que possuísse vitamina C (ácido ascórbico) e gorduras polinsaturadas (ómeegas 3 e 6) de origem vegetal na sua constituição. Após realização desta pesquisa o CEDIME voltou a contactar a farmácia reduzindo o número de opções disponíveis a 3 opções, das quais, o utente que solicitou o produto com as características em questão, elegeu a opção mais em conta para as suas necessidades.

Além das fontes de informação previamente mencionadas, consultei por várias vezes os dois volumes do livro “Medicamentos não Prescritos, Aconselhamento Farmacêutico” de

Maria Augusta Soares, o “Atlas de Dermatologia Clínica” de Anthony du Vivier e outros fluxogramas de intervenção farmacêutica disponíveis na farmácia. Estes foram utilizados para trabalhar temas recorrentes de forma diária em farmácia comunitária, tais como a tosse, rinite e sinusite, diarreia e obstipação, pressão arterial, colesterolemia, diabetes mellitus, dermatite atópica, entre tantos outros. Estes documentos revelaram-se de grande utilidade para a minha aprendizagem pois além da informação científica presente, estes possuíam muitas vezes questões pertinentes a serem colocadas ao utente no ato do atendimento, auxiliando na tomada de decisão de dispensa e aconselhamento mais indicado a cada situação.

É ainda de realçar a informação científica presente na ficha de cada produto no *Sifarma*, que em contexto de atendimento se mostrava muitas vezes suficiente, agilizando de forma considerável este procedimento.

4. Medicamentos e outros produtos de saúde

A FF dispõe das mais diversas categorias de produtos de saúde, das quais os medicamentos fazem parte. Através da receção de encomendas, armazenamento de produtos e numa fase posterior no próprio atendimento, foi-me possível contactar com uma grande variedade de produtos, desde medicamentos e produtos veterinários, dispositivos médicos, suplementos alimentares, produtos de alimentação especial e dietéticos, produtos fitoterapêuticos até produtos cosméticos e de higiene pessoal. Isto mostrou-se extremamente benéfico para a aprendizagem realizada durante o estágio, pois foi-me possível adquirir conhecimentos relativamente a determinadas categorias, como os medicamentos e produtos de uso veterinário, suplementos alimentares e produtos de dermocosmética, sobre as quais possuía um entendimento muito limitado, chegando inclusive a prestar aconselhamento sobre alguns destes produtos.

Relativamente aos medicamentos será conveniente fazer uma distinção entre medicamentos de marca e medicamentos genéricos. Atualmente a maioria das prescrições são feitas por denominação comum internacional (DCI), concedendo ao utente opção de escolha quanto ao laboratório que pretende adquirir. O medicamento de marca é um medicamento que foi autorizado com base em documentação completa, incluindo resultados de ensaios farmacêuticos, pré-clínicos e clínicos enquanto o medicamento genérico é um medicamento com a mesma composição quantitativa e qualitativa em substâncias ativas, a mesma forma farmacêutica e cuja bioequivalência com o medicamento de marca tenha sido demonstrada por estudos de biodisponibilidade

apropriados (9). Esta foi uma distinção que tive de esclarecer por diversas vezes aos utentes ao longo do meu estágio pois, perante a opção de escolha, uma percentagem considerável dos utentes criam uma relação errada entre o preço e eficácia do medicamento.

Será ainda importante fazer uma outra distinção entre medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM) e MNSRM. Os MSRM são todos medicamentos que possam constituir um risco, direto ou indireto, para a saúde do doente, quer sejam ou não utilizados para o fim a que se destinam. Pelo que, só devem ser adquiridos através da apresentação de receita médica, e não se encontram expostos ao público, a fim de restringir o seu acesso. Já os MNSRM podem estar visíveis ao público, o que não significa que não mereçam o devido aconselhamento e controlo por parte dos profissionais. Apesar de serem constituídos por substâncias relativamente seguras, quando administrados de forma errada estes podem igualmente originar efeitos colaterais indesejáveis. Dentro dos MNSRM existe uma subcategoria de MNSRM de dispensa exclusiva em farmácia (MNSRM-EF), definidos pelo INFARMED, I.P., garantindo que a dispensa destes produtos é condicionada pela intervenção do farmacêutico(10).

5. Aprovisionamento e armazenamento

Uma gestão racional e organizada das encomendas para a farmácia é crucial tanto em termos económicos como para a viabilidade dos seus serviços. Até chegar ao utente, a agilidade no processo de aprovisionamento e armazenamento dos medicamentos e produtos de saúde é fundamental para o desempenho da farmácia.

As minhas primeiras semanas de estágio foram focadas no auxílio e realização de tarefas essenciais para uma gestão eficiente e adequada dos medicamentos, como a criação e receção de encomendas, a marcação de preços, o controlo dos prazos de validade, a verificação dos produtos em *stock* e a realização e regularização de notas de devolução. Este período inicial onde estive mais presente no *backoffice* foi uma mais-valia para a minha formação enquanto futuro profissional de saúde, visto que foi aqui onde comecei a familiarizar-me como os nomes comerciais dos produtos e suas especificidades, tornando mais tarde a associação entre marcas e princípios ativos um processo menos árduo, o que me veio posteriormente permitir fazer atendimentos ao público de forma mais eficiente.

5.1. Seleção de fornecedores

A FF efetua numa base diária encomendas a dois fornecedores: *Alliance Healthcare* e *Plural- Cooperativa Farmacêutica*. Nos dias de semana são realizadas duas encomendas diárias, uma no período da manhã e outra no período da tarde. O contacto direto com a realização de encomendas permitiu-me compreender a importância de vários fornecedores para uma maior flexibilidade no acesso aos medicamentos e diversidade de oferta para as farmácias.

As encomendas diárias são efetuadas através do *Sifarma 2000®*, onde foram estabelecidos *stocks* máximos e mínimos na ficha de cada produto. Com base nestes dados, o próprio programa cria um pedido com os produtos em falta. O pedido automaticamente gerado é por sua vez revisto pelo administrativo responsável pelas encomendas, que retira ou adiciona produtos consoante a sua pertinência e histórico de vendas, transmitindo posteriormente o pedido ao fornecedor. É de salientar que, caso um fornecedor apresente condições mais aliciantes para um determinado produto este pode ser removido da encomenda em que constava e ser transferido para o pedido de outro fornecedor. No decorrer do estágio tive a oportunidade de acompanhar o administrativo responsável pelas encomendas diárias na realização das mesmas por diversas vezes.

Apesar de tudo, é recorrente que utentes se desloquem à farmácia procurando os mais diversos produtos que nem sempre se encontram em *stock*. Nestes casos, além dos pedidos diários, a farmácia tem a possibilidade de realizar encomendas instantâneas. Estas encomendas podem ser normalmente criadas durante o atendimento, em ambas as versões do *Sifarma*, sendo selecionado o fornecedor ao qual pretendemos fazer o pedido consoante a disponibilidade do produto, o tempo de entrega e o preço de venda à farmácia (PVF). Há ainda a possibilidade de realizar estes pedidos através de contacto telefónico com os fornecedores. Esse contacto acontecia mais frequentemente quando havia erros informáticos ou quando não era possível saber o código nacional do produto (CNP). Durante o estágio tive a liberdade de efetuar inúmeras encomendas instantâneas bem como contactar os fornecedores sempre que encontrasse a necessidade de tal. Conforme a urgência do utente existe ainda a possibilidade de um dos elementos da equipa se deslocar ao armazém da *Alliance Healthcare*, presente em Castelo Branco, para dispensar o produto mais rapidamente.

Além dos distribuidores mencionados, algumas encomendas são realizadas diretamente a alguns laboratórios ou empresas, sobretudo nas categorias de dermocosmética, ortopedia e certos medicamentos com elevada rotatividade de *stock*. De notar que a FF

pertence a um grupo de compras, denominado UNICA, que permite alcançar melhores condições de aquisição.

Algo recorrente no meu período de estágio foi o aparecimento de medicamentos sujeitos a rateio, ou mesmo esgotados, devido à escassez de matérias-primas. Os próprios laboratórios notificam os fornecedores e as farmácias perante estas situações. Diante disso, certos medicamentos podem ser pedidos através da Via Verde do Medicamento, que consiste numa via excepcional de aquisição de determinados medicamentos quando a farmácia não tem *stock* destes. Os laboratórios sabendo quais os medicamentos abrangidos por este projeto, enviam um *stock* para os armazenistas que apenas os podem movimentar após validação de uma receita médica (11).

5.2. Receção de encomendas e controlo de medicamentos e produtos em *stock*

Os produtos farmacêuticos chegam à farmácia em caixas seladas e identificadas. Os produtos que necessitam de estar refrigerados vêm em contentores individuais, que por sua vez contêm caixas de esferovite ou similares, com termoacumuladores, de forma a preservar as suas condições de conservação.

O primeiro passo é verificar se a encomenda vem acompanhada de fatura, esta contém toda a informação necessária para avançar com o processo de receção. A receção em si é feita na secção de entrada de receções do *Sifarma 2000*®, aqui estarão presentes o número das encomendas por rececionar na farmácia, após verificação do número das encomendas presentes em cada fatura é possível agrupá-las em uma só receção por fatura. Após o número da fatura e todos os produtos enviados estarem assentes, conjuntamente com a conferência do IVA, PVF, preço de venda ao público (PVP) e prazo de validade de cada produto, será possível avançar para fase final de receção da encomenda. Caso o número de unidades rececionadas e preço total se encontrem conforme os valores da fatura a receção da encomenda poderá ser dada como terminada. Ainda nesta fase final, na eventualidade de existirem produtos em falta estes são transferidos para outro armazenista de forma a otimizar o processo de realização de encomendas.

Através da receção de encomendas é possível atualizar o *stock* existente de cada produto na farmácia, bem como os seus preços e prazos de validade, se necessário.

5.2.1. Marcação de preços

O preço dos MSRM que sofram de comparticipação encontra-se fixado por decreto-lei. Compete ao INFARMED, I.P. regular e autorizar o preço máximo ao qual os medicamentos comparticipados pelo Serviço Nacional de Saúde (SNS) devem ser comercializados, pelo que a farmácia não pode proceder à sua alteração (12).

Para medicamentos e produtos de saúde que não estejam sujeitos a comparticipação por parte do SNS, cabe à farmácia estabelecer o seu PVP. Assim sendo, no ato da receção, este preço é calculado conforme o PVF, o IVA aplicado e a margem de lucro estabelecida para a farmácia.

Ainda de realçar que a indicação do PVP na rotulagem dos medicamentos é de carácter obrigatório (13). No caso dos produtos comparticipados, como o seu preço está estipulado, quando chegam à farmácia esta informação já se encontra no acondicionamento secundário, e caso não exista, no acondicionamento primário do medicamento. Já no caso dos produtos não comparticipados, após o cálculo do seu PVP no ato da receção, é necessário a impressão de etiquetas para os respetivos produtos, onde se encontra a sua designação, CNP, código de barras, PVP e o IVA aplicado.

5.2.2. Controlo e gestão de benzodiazepinas e outras substâncias psicotrópicas

Devido à possibilidade de criarem dependência, tolerância e alteração comportamental, todos os medicamentos que contenham substâncias pertencentes ao grupo das benzodiazepinas ou outras substâncias psicotrópicas na sua constituição estão sujeitos a um controlo estrito por parte do INFARMED, I.P.

Na etapa final do processo de receção de encomendas, caso esta contenha os produtos em questão, um código de entrada é gerado para cada um dos diferentes produtos. Tendo isto em conta, existe um *dossier* destinado ao arquivo das fotocópias das faturas de ditas encomendas, onde os produtos desta natureza estão destacados em conjunto com os respetivos códigos de entrada. No caso das benzodiazepinas é gerado apenas um código de entrada na sequência da receção de encomendas, já no caso das outras substâncias psicotrópicas é gerado não só um código de entrada na receção de encomendas como também um código de saída no ato de dispensa do medicamento. Estes registos são por sua vez enviados para o INFARMED, I.P., de formal anual para as benzodiazepinas e de forma mensal no que diz respeito às outras substâncias psicotrópicas.

Para além destes registos, é feita uma contagem física entre o primeiro e último dia de cada mês. Neste sentido, uma listagem obtida através do *software* utilizado pela farmácia, é utilizada a fim de garantir que o *stock* informático coincide com o *stock* real. Em uma destas contagens, em que tive a possibilidade de participar, foi descoberta uma discrepância entre o *stock* informático e o *stock* físico real de uma das benzodiazepinas. Esta irregularidade veio mais tarde revelar-se como um erro no processo de entradas através da comparação da cópia da fatura da encomenda do produto em questão com o registo de informático de entradas deste produto, demonstrando a importância do arquivo e monitorização dos diversos documentos inerentes ao processo de gestão de *stocks* da farmácia de forma a evitar possíveis inadvertências.

5.2.3. Gestão de devoluções

Perante a deteção de alguma inconformidade com os produtos de uma encomenda tais como embalagens danificadas, prazo de validade reduzido, PVF superior ao estipulado, ou mesmo quando o produto foi encomendado por engano, a farmácia tem o direito de devolver estes produtos aos fornecedores.

Para este propósito, uma nota de devolução é gerada através do *Sifarma 2000*®. Neste documento irá constar o motivo da devolução, os produtos a devolver, o número da fatura da encomenda e o fornecedor a que é dirigida. A nota de devolução é impressa em triplicado, carimbada e assinada pelo profissional responsável pela devolução em curso, sendo que o original e uma cópia são enviados em conjunto com o produto a devolver, de forma a garantir que a nota de devolução chega ao fornecedor, enquanto uma das cópias irá permanecer na farmácia até que o processo de devolução seja concluído.

Após receber a nota de devolução, o fornecedor poderá aceitá-la, enviando outro produto para repor o anterior, ou emitindo uma nota de crédito para compensação da farmácia. Por outro lado, o fornecedor poderá também recusar a nota de devolução, neste caso, o produto retorna para a farmácia e é enviado seguidamente para destruição via VALORMED.

5.2.4. Armazenamento, controlo e gestão de parâmetros

Durante a receção das encomendas os produtos são colocados em cestos próprios, para mais tarde serem arrumados no seu devido lugar. A arrumação dos produtos rececionados é realizada por todos os elementos da FF, tendo participado diariamente nesta tarefa ao longo do estágio. Cada produto possui o seu lugar específico dentro da farmácia, pelo que o seu armazenamento correto e consciente contribui de forma

significativa para o bom funcionamento da farmácia e garantia da qualidade dos serviços da mesma.

A temperatura e a humidade do ambiente onde os produtos da farmácia são armazenados são fatores determinantes para o seu estado de conservação. Os locais comuns de armazenamento devem estar sempre a uma temperatura inferior a 25°C e a uma humidade inferior a 60%. De forma a controlar estes parâmetros, a FF dispõe de 4 termohigrómetros espalhados de forma estratégica pelos locais de armazenamento de medicamentos e produtos de saúde. Um destes termohigrómetros encontra-se no frigorífico, destinado ao armazenamento dos produtos que necessitem de refrigeração, estes produtos deverão encontrar-se a uma temperatura em os 2°C e os 8°C. O próprio frigorífico possui um termómetro ligado a um alarme que alerta os profissionais em caso de desvios de temperatura, assim a presença do termohigrómetro dentro do frigorífico serve ainda como precaução à possibilidade de falha deste sistema. Os dados registados pelos aparelhos em questão são posteriormente analisados de forma mensal através de gráficos, impressos e arquivados obrigatoriamente.

Como já foi referido anteriormente, os produtos existentes na FF estão organizados por forma farmacêutica. Além disto, estão arrumados por ordem alfabética e tendo em conta a prazo de validade dos produtos em *stock*. Ou seja, segundo a metodologia FIFO – first in first out, as primeiras caixas a sair de determinado produto deverão ser aquelas com validade menor, sendo dispostas de forma mais acessível na gaveta ou prateleira em comparação às outras caixas do mesmo produto.

O controlo dos prazos de validade é fulcral para a diminuição de desperdícios e possíveis prejuízos. Tendo isto em conta, uma listagem dos produtos que irão passar de validade nos três meses seguintes é impressa através do *Sifarma 2000*®. Os produtos presentes na listagem são dispostos em prateleiras de vidro junto à área de receções, com o intuito de serem os primeiros a ser dispensados, desde que a duração do tratamento assim o permita. A FF aplica ainda promoções a certos produtos de venda livre que estejam prestes a expirar. Estes são colocados em destaque junto aos balcões de atendimento, e sempre que um utente mostre interesse em adquirir ditos produtos é informado quanto à proximidade da data de validade dos mesmos. Os produtos que não sejam vendidos previamente ao seu prazo de validade deverão ser devolvidos aos respetivos fornecedores.

6. Interação Farmacêutico-Utente-Medicamento

O contacto direto com o público é uma das funções do farmacêutico comunitário que, em primeira instância, lhe confere um papel importante e interativo enquanto profissional de saúde. Neste sentido, além da aprendizagem constante durante o estágio, através do contacto direto com o público na hora do atendimento, sob a supervisão da diretora técnica e restantes membros da equipa, consegui adquirir conhecimentos não só relativos aos medicamentos, como à interação que o farmacêutico deve desempenhar com a população e a resposta adequada às suas necessidades.

O exercício da profissão farmacêutica tem por principal objetivo a promoção da saúde e bem-estar da população, colocando acima de qualquer interesse, pessoal ou comercial, a qualidade e segurança dos serviços prestados. O farmacêutico deve possuir autonomia técnico-científica e deontológica, instigando uma atualização permanente dos seus conhecimentos. O estabelecimento de uma relação de honestidade e confiança mútua com o utente é também uma ferramenta poderosa no acompanhamento e monitorização da terapêutica. Assim, a boa prática e comprometimento do sigilo profissional são fundamentais para manutenção da integridade da profissão farmacêutica (14).

Uma das maiores dificuldades com que me deparei, ao iniciar o atendimento de forma mais autónoma, foi a falta de confiança que alguns utentes transmitiam ao se depararem com uma cara nova, o que é compreensível numa farmácia em que grande parte dos utentes estão familiarizados com a equipa que a constitui. Não obstante, penso que os esforços que fui aplicando na realização de um atendimento atento e personalizado, focado nas necessidades particulares de cada utente, foram essenciais para ultrapassar esta dificuldade. O atendimento ao público constituiu uma etapa fundamental do meu estágio, que permitiu colocar à prova as minhas capacidades técnicas e sociais. Ainda assim, enquanto futuro farmacêutico, penso que é igualmente importante saber reconhecer os limites das nossas qualificações e competências, procurando apoio interprofissional e multidisciplinar quando necessário. Por diversas vezes tive de consultar a diretora técnica e resto da equipa perante dúvidas na hora do atendimento. Estas situações foram usadas não só de forma a resguardar a segurança e saúde dos seus utentes, bem como oportunidades para evoluir o meu próprio método atendimento.

Um aspeto importante no atendimento, é a certeza de que o utente não abandona a farmácia sem estar totalmente esclarecido. A transmissão de informação oral relativa à posologia, modo de administração e possíveis efeitos secundários, deve ser transmitida de forma clara, concisa e complementada por via escrita, quando necessário. Na FF

existem ainda impressoras de etiquetas autocolantes personalizáveis, onde consta de forma sucinta informação relevante para o correto uso do medicamento.

6.1. Farmacovigilância

A Farmacovigilância é definida como a ciência e conjunto de atividades relacionadas com a deteção, avaliação, compreensão e prevenção de efeitos indesejáveis, reações adversas ou qualquer outro problema de segurança relacionado a medicamentos, visando a melhoria da segurança e eficácia dos medicamentos, em defesa do utente e da saúde pública (15).

A vigilância contínua, não só por parte dos diversos profissionais de saúde, mas também da população em geral, quanto à avaliação do aparecimento de interações medicamentosas ou de efeitos adversos adicionais, constitui a última fase de ensaios clínicos dos medicamentos inseridos no mercado. Neste âmbito, os farmacêuticos possuem um papel de destaque relativamente aos outros profissionais de saúde. O estabelecimento de laços de confiança e o acompanhamento constante são de extrema importância para que os utentes se sintam à vontade em transmitir as suas dúvidas e preocupações relativamente a algum acontecimento anormal referente aos seus medicamentos, de modo a que o farmacêutico possa avaliar de forma correta a situação.

Em Portugal, o Sistema Nacional de Farmacovigilância (SNF), coordenado pelo INFARMED, I.P., é responsável pela monitorização da segurança dos medicamentos com autorização de introdução no mercado. Esta monitorização é garantida através da recolha e análise de notificações de reações adversas a medicamentos (RAM), e posterior comunicação, aos profissionais de saúde e cidadãos em geral, dos riscos associados à utilização de medicamentos. Atualmente é possível a qualquer indivíduo, seja profissional de saúde ou utente, reportar estas ocorrências através do preenchimento de uma ficha de notificação de reação adversa disponível no site do INFARMED, I.P., ou através do Portal RAM (16).

Durante o meu estágio, não presenciei nenhuma situação em que fosse necessário notificar uma RAM, porém considero que esta prática seja de extrema importância para caracterizar com maior precisão a segurança dos medicamentos.

7. Dispensa de Medicamentos

A dispensa de medicamentos é possivelmente o ato de maior responsabilidade por parte do farmacêutico comunitário. Esta resume-se à cedência de medicamentos aos doentes, mediante a apresentação de uma prescrição médica, em regime de automedicação ou indicação farmacêutica. Cabe ao farmacêutico realizar uma avaliação crítica da medicação a ser dispensada, garantir que o medicamento correto é administrado ao doente correto, na dose e vias corretas e à hora certa, que os efeitos que se verifiquem sejam os previstos, e que toda a informação necessária sobre o medicamento e tratamento a efetuar é apreendida de forma correta pelo utente (8).

7.1. Dispensa de medicamentos sujeitos a receita médica

Como já foi referido a dispensa deste tipo de medicamentos só deve ser feita através da apresentação de uma prescrição médica. Nos dias que correm, existem três tipos de receitas: as manuais; as eletrónicas materializadas; e as eletrónicas desmaterializadas.

Para que uma prescrição médica seja considerada válida esta deve possuir os seguintes elementos: número da receita; local de prescrição ou respetivo código; identificação do médico prescriptor, incluindo o número de cédula profissional e, se for o caso, a especialidade; nome e número de utente; entidade financeira responsável e número de beneficiário, acordo internacional e sigla do país, quando aplicável; referência ao regime especial de comparticipação de medicamentos, se aplicável. Além dos pressupostos, a validade das receitas materializadas depende dos seguintes elementos: a DCI da substância ativa; dosagem, forma farmacêutica, dimensão da embalagem e número de embalagens; denominação comercial do medicamento, se aplicável; código nacional de prescrição eletrónica de medicamentos ou outro código oficial identificador do produto, se aplicável; data de prescrição; assinatura autógrafa do prescriptor. Antes de efetuar a dispensa de qualquer tipo de prescrição, o profissional responsável deve conferir se todos os pontos mencionados se encontram em ordem.

No decorrer do estágio, tive a oportunidade de contactar com os três tipos de receitas, verificando um maior número de receitas eletrónicas relativamente a manuais. Algo que considero uma mais valia para a saúde pública, pois este tipo de receitas permite uma maior automatização do processo de dispensa e diminuição dos erros de interpretação por parte dos profissionais de saúde.

7.1.1. Dispensa de medicamentos a partir de receita manual

Atualmente, encontram-se reunidas as condições operacionais necessárias à eliminação dos procedimentos que exigem suporte de papel no circuito de prescrição e dispensa de medicamentos.

Assim, a prescrição de medicamentos por via manual só é justificada nas seguintes situações:

- Falência do sistema informático;
- Inadaptação do prescritor;
- Prescrição no domicílio;
- Outras situações, até um máximo de 40 receitas por mês (17).

No ato de dispensa, através de uma receita manual, o profissional responsável pelo atendimento deve certificar-se que os elementos necessários para que a receita seja considerada válida foram devidamente preenchidos pelo médico prescritor. Deste modo, o número da receita, o nome e número do utente, o local de prescrição, a identificação do médico prescritor, a entidade financeira responsável e o número de beneficiário, e, caso se aplique, referência ao regime especial de comparticipação de medicamentos, deverão de estar corretamente preenchidos nos campos respetivos. A prescrição de medicamentos através de receitas manuais deve ainda possuir a DCI da substância, a dosagem, forma farmacêutica, dimensão da embalagem, número de embalagens e a posologia. A validade deste tipo de receita é de 30 dias contínuos a partir do dia em que foi prescrita, não podendo ser renovada.

Relativamente ao número de embalagens, em cada receita podem ser prescritos um máximo de 4 medicamentos ou produtos de saúde distintos, não ultrapassando o total de 4 embalagens por receita. Cada alínea de prescrição só pode conter um máximo de 2 embalagens por produto. Com exceção, medicamentos que se apresentem sob a forma de embalagem unitária, dos quais podem ser prescritas até quatro embalagens numa receita. Nestas receitas não podem estar misturados medicamentos com outros produtos, como tiras da diabetes ou sacos de colostomia, pois os planos de comparticipação inseridos pelo profissional para a comparticipação são diferentes.

Ainda a salientar que caso estejam presentes na receita manual tintas de canetas diferentes ou lápis, emendas, rasuras ou caligrafias diferentes na receita, estas deverão de estar justificadas através da rubrica do médico prescritor junto ao erro em questão, para que a receita possa ser devidamente dispensada (18).

Na etapa final do atendimento, a própria receita é introduzida na impressora em cujo verso imprime o comprovativo dos medicamentos dispensados, o valor pago pelo utente e o valor a pagar pela entidade de participação. Este comprovativo é assinado pelo utente, ou pelo seu representante, bem como datado, assinado e carimbado pelo profissional responsável pelo atendimento. Posteriormente, os medicamentos e a fatura são entregues ao utente enquanto a receita dispensada permanece na farmácia.

7.1.2. Dispensa de medicamentos a partir de receita eletrónica desmaterializada

A dispensa de medicamentos a partir de uma receita eletrónica desmaterializada pode ser efetuada através da guia de tratamento em formato físico ou através de uma mensagem enviada para o contacto telefónico do utente. Em qualquer uns destes meios encontram-se indicados três códigos: o número da prescrição; o código de acesso; e o código de direito de opção.

Este tipo de receita apresenta diversas vantagens, nomeadamente em relação às receitas manuais. Estas permitem ao utente adquirir apenas os medicamentos ou produtos prescritos que pretende, em diferentes linhas de prescrição da mesma receita, em farmácias diferentes, ou em momentos diferentes na mesma farmácia. Além disto, a validade e o número de embalagens em cada linha de prescrição são adaptáveis à duração do tratamento, e na mesma receita podem figurar tanto medicamentos como dispositivos médicos (18,19).

Não obstante, ao longo do meu estágio pude constatar que muitos dos utentes tinham preferência em deter as suas receitas em formato físico ao invés de mensagem telefónica. De forma a atenuar esta situação, é possível imprimir uma versão simplificada da receita em forma de talão, onde se apresentam a quantidade de embalagens dos produtos por dispensar na receita, e validade de dispensa dos mesmos. Neste talão deveram ser registados à mão o código de acesso e o código de direito de opção, desta forma, numa ida futura à farmácia, o utente poderá utilizar este meio para adquirir os seus produtos sem recorrer à mensagem telefónica.

7.1.3. Dispensa de medicamentos a partir de receita eletrónica materializada

As receitas eletrónicas materializadas, embora semelhantes às receitas desmaterializadas, pela leitura ser feita via informatizada, distinguem-se destas por serem impressas, e tal como as receitas manuais, devem ser datadas, assinadas e

carimbadas pelo farmacêutico, ou quem o coadjuve, no ato de dispensa. Para além disto estão sujeitas às condições descritas a seguir.

No cabeçalho destas receitas deve ser mencionado o tipo de receita consoante a situação a que é destinada. Existem os seguintes tipos:

- RN – prescrição de medicamentos;
- RE – prescrição de psicotrópicos e estupefacientes sujeitos a controlo;
- MM – prescrição de medicamentos manipulados;
- MA – prescrição de medicamentos alergénios destinados a um doente específico;
- UE – prescrição de medicamentos para aquisição noutro Estado-membro;
- MDT – prescrição de produtos dietéticos;
- MDB – prescrição de produtos para autocontrolo da diabetes mellitus;
- CE - prescrição de câmaras expansoras;
- OST – prescrição de produtos de ostomia/incontinência/retenção urinária;
- PA – prescrição de produtos de apoio;
- OUT – prescrição de outros produtos (ex. produtos cosméticos, suplementos alimentares, etc.) (18).

Uma característica deste tipo de receita é que podem ser renováveis quando contêm medicamentos de tratamento de longa duração. Assim, podem ter até 3 vias, sendo que cada via devem ser possuir um número de receita único. A validade da prescrição é de 30 dias contínuos a partir da data da sua emissão, ou até 6 meses se for renovável.

Em cada receita podem ser prescritos até 4 medicamentos distintos, num total de 4 embalagens por receita. No máximo podem ser prescritas 2 embalagens por medicamento. Se os medicamentos prescritos são sob forma de embalagem unitária podem ser prescritos até 4 embalagens do mesmo medicamento, ou até 12 no caso de medicamentos destinados a tratamentos de longa duração (18).

7.1.4. Dispensa de medicamentos que contêm substâncias estupefacientes e psicotrópicos

A dispensa de medicamentos que contêm substâncias estupefacientes e psicotrópicos requer uma atenção particular em comparação com os outros MSRM, estando sujeita a fiscalização e monitorização por parte do INFARMED, I.P., estas substâncias constam nas tabelas I a IV do Decreto-Lei nº15/93, de 22 de janeiro, alterado pela Lei n.º 45/96,

de 3 de setembro (20). Esta lista é suscetível a alterações, sendo a atual a vigésima quarta alteração que consta da Lei n.º 15/2020, de 29 de maio (21).

No caso de prescrição materializada ou manual, estes medicamentos têm de ser prescritos isoladamente. O adquirente deste tipo de produtos tem de ser maior de idade, e aquando da sua dispensa, para que se possa proceder com o atendimento, é necessário um registo de dados relativos ao doente e/ou ao utente que vem adquirir o medicamento (utente aviado/utente dispensado), tais como nome, idade, morada, número do cartão de cidadão/bilhete de identidade e sua data de caducidade que o programa informático da farmácia solicita automaticamente (17).

Após a dispensa, é gerado um talão de registo de saída que é posteriormente arquivado, como já foi mencionado. No caso de ser uma receita manual, o utente deve assinar no verso da receita e uma fotocópia da receita manual deve ser arquivada juntamente como o talão de registo de saída gerado.

7.1.5. Dispensa de medicamentos genéricos

A prescrição médica é preferencialmente realizada através da DCI. Contudo, a prescrição pode utilizar a denominação comercial do medicamento, por marca ou indicação do nome do titular da autorização no mercado, nas seguintes situações: prescrição de medicamento com substância ativa para a qual não existam medicamentos genéricos participados; medicamentos que, por razões de propriedade industrial, apenas podem ser prescritos para determinadas indicações terapêuticas; justificação do prescriptor quanto à insusceptibilidade de substituição do medicamento prescrito.

Fora estes casos excecionais, no ato de dispensa, os profissionais de saúde devem informar o utente quanto à existência de medicamentos genéricos tendo em conta o seu direito de opção. Estes medicamentos são identificados pela DCI, dosagem e forma farmacêutica e distinguem-se pelo laboratório titular de Autorização de Introdução no Mercado. As farmácias devem ter disponível para venda, no mínimo, três medicamentos de entre os cinco mais baratos de cada grupo homogêneo, informando o doente sobre o medicamento comercializado que, cumprindo a prescrição, apresente o preço mais baixo (18).

No fim de contas, a decisão final do produto que pretende adquirir pertence ao utente. Ao longo do estágio esforcei-me para que os utentes estivessem cientes do direito de opção e que este era praticado da forma correta.

7.1.6. Dispensa de medicamentos não sujeitos a receita médica

Os MNSRM, tal como o próprio nome indica, não necessitam de apresentação de uma receita médica para serem dispensados. Estes são normalmente utilizados perante problemas de saúde passageiros ou de menor gravidade, casos onde a automedicação aliada ao aconselhamento farmacêutico é muitas vezes a forma mais rápida e comoda de resolver ditos problemas.

A automedicação resume-se à instauração, por iniciativa própria do doente ou do farmacêutico, de um tratamento medicamentoso. Esta é uma prática extremamente benéfica para o sistema de saúde, quando executada de forma correta. É frequente que um doente diante queixas de saúde ligeiras recorra ao conselho de pessoas próximas dentro do seu grupo social. No entanto, estas indicações podem não ser o mais adequado na situação em causa por diversos fatores como contraindicações ou possíveis interações com outros medicamentos que o doente já esteja a tomar. O farmacêutico, enquanto profissional de saúde, possui os conhecimentos técnico-científicos para reconhecer sintomas e saber tratá-los, e é capaz de detetar se a situação necessita de intervenção médica ou se é passível a automedicação (22). É de extrema importância que o farmacêutico se certifique que o utente clarifica as suas circunstâncias diante a solicitação de um medicamento, e que toda a informação relativa ao modo de administração, posologia e possíveis efeitos adversos é devidamente compreendida.

Durante o meu estágio, tive a oportunidade de realizar diversos aconselhamentos farmacêuticos. Nos atendimentos que realizei, procurei ao máximo identificar os sintomas relatados e a sua duração, tentar perceber se o utente já teria iniciado alguma medicação devido ao problema em causa, bem como outra medicação que costume fazer, e patologias associadas. Após a análise do caso do utente, em conjunto com a equipa técnica da farmácia se necessário, uma solução seria atribuída, quer esta fosse a dispensa de um MNSRM ou reencaminhamento para o médico. No período em que o estágio decorreu, pude verificar uma procura considerável de produtos para controlo dos sintomas da rinite alérgica, tosse, constipação e outras reações a nível cutâneo.

Ainda a destacar a subcategoria dos MNSRM-EF, estes são medicamentos que embora possam ser dispensados sem prescrição médica, a respetiva dispensa deve ser condicionada pela intervenção do farmacêutico (10). Este é um grupo de medicamentos ao qual atribuo especial atenção pois considero serem um elemento propício à afirmação do papel das farmácias para com a comunidade.

8. Aconselhamento e dispensa de outros produtos de saúde

Enquanto espaços de saúde, as farmácias dispõem de uma enorme variedade de produtos, além dos medicamentos, para dar resposta às necessidades dos seus utentes. Este facto, demonstra que, nos dias que correm, o farmacêutico não está limitado enquanto profissional do medicamento. O farmacêutico deve estar em constante atualização de forma a definir qual o melhor produto para cada caso terapêutico.

Os produtos que podem ser fornecidos às farmácias são: medicamentos; substâncias medicamentosas; medicamentos e produtos veterinários; medicamentos e produtos homeopáticos; produtos naturais; dispositivos médicos; suplementos alimentares e produtos de alimentação especial; produtos fitofarmacêuticos; produtos cosméticos e de higiene corporal; artigos de puericultura; produtos de conforto (8).

8.1. Medicamentos e produtos de uso veterinário

Numa sociedade em que a presença de animais domésticos dentro do seio familiar é cada vez mais frequente, é recorrente que utentes se dirijam à farmácia em busca de produtos para uso veterinário.

Os medicamentos veterinários são toda a substância, ou associações de substâncias, que apresente propriedades curativas ou preventivas de doenças em animais ou dos seus sintomas, ou que possa ser utilizada ou administrada no animal com vista a estabelecer um diagnóstico médico-veterinário ou, exercendo uma ação farmacológica, imunológica ou metabólica, a restaurar, corrigir ou modificar funções fisiológicas. Relativamente à dispensa, os medicamentos de uso veterinário podem ser classificados em medicamentos não sujeitos a receita médico-veterinária, medicamentos sujeitos a receita médico-veterinária e medicamentos de uso exclusivo por médicos veterinários (23).

Os produtos desta natureza com que mais contactei ao longo do estágio foram os desparasitantes externos e internos, em forma de coleira, pipetas e comprimidos. Estes produtos existem em diferentes dosagens, que devem ser ajustadas consoante o peso dos animais.

A FF tem ainda a possibilidade de contactar por via telefónica com uma linha de médicos veterinários perante algum problema de origem animal apresentado por um utente na farmácia. Esta linha permite expor a situação em tempo real de forma a garantir que o utente recebe o aconselhamento mais adequado. A área dos medicamentos e produtos veterinários foi uma matéria que não abordei com grande profundidade ao longo dos anos de faculdade, mas com auxílio da equipa da farmácia e da linha de médicos

veterinários supramencionada penso que consegui superar as minhas dificuldades e prestar uma dispensa mais informada destes produtos.

8.2. Produtos naturais, fitoterapia e suplementos alimentares

Quando o regime alimentar normal de um indivíduo se demonstra insuficiente para que o organismo atinga as suas necessidades nutricionais ou fisiológicas existem produtos alimentícios concentrados em determinadas substâncias nutrientes, ou outras substâncias com efeitos nutricionais ou fisiológicos, que se destinam a complementar ou suplementar o regime alimentar normal (23).

Verifica-se uma grande variedade deste tipo de produtos, sobre as mais diversas formas, preparados tanto à base de plantas como complexos multivitamínicos e minerais. Estes são produtos vistos muitas vezes como inofensivos por parte dos utentes, no entanto o farmacêutico deve estar atento ao risco de interações ou reações adversas que estes possam originar alertando para a existência da toma diária recomendada.

Estes produtos estão sob a alçada da Direção-Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV), sendo esta a autoridade competente pela introdução no mercado bem como registo e análise de reações adversas que estes produtos possam causar.

Relativamente à dispensa, tive a oportunidade de dispensar e aconselhar produtos destinados ao aumento da performance física e mental, ao combate de dores musculares e das articulações e indutores do sono.

A utilização destes géneros alimentícios tem se vindo a revelar uma abordagem capaz de prevenir ou mesmo tratar diversos problemas de saúde quotidianos. No entanto, é importante alertar que estes produtos só devem ser utilizados para complementar uma carência nutricional ou fisiologia, nunca como substituição de medicamentos, refeições ou a prática de um estilo de vida saudável.

8.3. Produtos dietéticos e de alimentação especial

Esta categoria de géneros alimentícios, destinados a fins medicinais, é frequentemente utilizada para satisfazer as necessidades nutricionais do dia a dia quando uma alimentação dita normal não pode ser realizada. Situações em que isto acontece variam desde utentes com problemas de disfagia, que apresentem perda de peso e de massa muscular involuntários, que possuem feridas crónicas, que necessitem de realizar exames com uma redução dos alimentos sólidos ingeridos ou um período de jejum obrigatório, entre outras doenças (24).

Durante o estágio dispensei com frequência este tipo de produtos a acompanhantes de pessoas idosas ou pacientes com capacidade limitada de realizar uma alimentação normal ou com perda de apetite.

8.4. Produtos dietéticos para população infantil

Apesar dos produtos dietéticos para população infantil não serem muito procurados dentro do ambiente de farmácia comunitária, possivelmente por estarem disponíveis em qualquer superfície comercial, é essencial que estes continuem a estar presentes nas mesmas para que sejam prestamos os devidos cuidados a esta faixa etária da população.

Existe uma variada gama destes produtos destinados a satisfazer as necessidades dos lactentes durante os primeiros meses de vida, até à introdução de uma alimentação complementar adequada, como é o caso dos leites em pó e papas. Além disto, estes produtos podem ser especificamente formulados tendo em conta diversas condições como o excesso de regurgitação, a intolerância ou alergia à lactose, a existência de obstipação e redução do risco de desenvolvimento de alergias (25).

8.5. Dispositivos médicos

Entende-se por dispositivo médico qualquer instrumento, aparelho, equipamento, *software*, material ou artigo utilizado isoladamente ou em combinação, cujo principal efeito pretendido no corpo humano não seja alcançado por meios farmacológicos, imunológicos ou metabólicos (26).

Os dispositivos médicos dividem-se em 4 classes distintas conforme os riscos decorrentes do seu uso para com o corpo humano: classe I, de baixo risco; classes IIa e IIb, de médio risco; classe III de elevado risco.

Existe ainda um outro grupo de dispositivos médicos, que não se enquadra na classificação anterior, destinados a diagnósticos *In Vitro*. A salientar que a farmácia é dos poucos locais onde este último grupo de dispositivos médicos pode ser disponibilizado ao público, já que requerem um devido aconselhamento quanto à forma de utilização e interpretação de possíveis resultados, como é o caso dos testes de gravidez, do equipamento para medição de glicémia, dos frascos para colheita de amostras e, perante a situação epidemiológica presente na data, dos testes rápidos de antigénio (TRAg) para SARS-CoV-2 (26,27).

Durante o período de estágio, tive oportunidade de contactar com diversos dispositivos médicos, bem como dispensá-los sempre que necessário. A FF, como já foi mencionado,

possuí uma zona de ortopedia anexada à farmácia, onde consegui aprofundar em particular os meus conhecimentos quanto à variedade deste tipo de produtos.

8.6. Produtos de dermofarmácia, cosmética e higiene

Os produtos cosméticos estão definidos como qualquer substância ou mistura 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 mucosas bucais, com a finalidade de limpar, perfumar, modificar o seu aspeto, proteger, manter em bom estado ou corrigir odores corporais (28).

Os cosméticos são produtos aos quais os utentes muitas vezes procuram a opinião e aconselhamento do farmacêutico relativamente às diferentes marcas e suas gamas de produtos. Esta é uma área em constante atualização, sendo necessário haver uma formação constante dos profissionais de saúde, de forma a indicar o produto mais indicado a cada situação.

Nos últimos anos as farmácias têm demonstrado certa dificuldade em competir com outras superfícies comerciais dentro do sector da indústria cosmética. Assim, é importante voltar a acentuar a necessidade de uma atualização ativa do farmacêutico neste sector tendo por objetivo atender as necessidades básicas do utente através de um atendimento individualizado.

No período inicial de estágio senti algumas dificuldades no aconselhamento deste tipo de produtos devido à grande variedade de marcas, gamas disponíveis e suas diversas finalidades, no entanto com a ajuda de toda a equipa técnica, ações de formação proporcionadas por determinadas marcas e com alguma pesquisa foi-me possível adquirir conhecimentos e prestar um melhor aconselhamento para este tipo de produtos.

9. Cuidados de saúde prestados na farmácia

Para além de ser um local de dispensa de medicamentos, as farmácias podem prestar outros serviços de promoção da saúde e bem-estar aos seus utentes (8). A qualidade e segurança destes serviços são um forte aliado do SNS no controlo e prevenção de diversas patologias, realçando o valor das farmácias enquanto espaços de saúde.

Cada farmácia é livre de decidir quais os serviços que pretende prestar, dentro dos estipulados por lei, sendo que na FF os serviços prestados são:

- Determinação de parâmetros bioquímicos – glicémia capilar, colesterol total, triglicéridos;
- Medição do valor de pressão arterial;
- Testes de deteção de infeções – da orofaringe, do trato urinário e vírus SARS-CoV-2;
- Administração de injetáveis;
- Entregas ao domicílio
- Programa de Troca de Seringas
- Preparação individualizada da medicação (PIM)
- Consultas de nutrição
- Baropodometria
- Podologia
- Audiologia

Enquanto estagiário, no que toca aos serviços disponibilizados pela FF, tive a oportunidade de acompanhar os utentes e realizar em particular medições de pressão arterial e de parâmetros bioquímicos. Numa etapa inicial, foi-me solicitada uma revisão de todos os fundamentos teóricos inerentes à realização destes testes, valores de referência e aconselhamento a ser prestado perante os valores obtidos. A equipa da farmácia disponibilizou-se ainda para eu treinar a medição destes parâmetros e posteriormente passei a realizar estas medições nos utentes sempre que solicitado.

9.1.Determinação de parâmetros bioquímicos

Na FF, pode ser efetuada a determinação dos valores de glicémia, triglicéridos e colesterol. Esta determinação é realizada através de dispositivos médicos e suas tiras-teste, correspondentes a cada um dos parâmetros. De modo a garantir a viabilidade dos dispositivos médicos usados nestes testes, um profissional da farmácia é responsável pela calibração dos mesmos de forma mensal.

Antes de realizar o teste em si é necessário questionar o utente se este se encontra em jejum. Para a determinação correta dos triglicéridos o utente deve estar em jejum, no mínimo de 8 a 12 horas, ao passo que a determinação da glicémia pode ser efetuada 2 horas após as refeições ou em jejum. No caso da medição do colesterol, apesar de ser recomendo que se esteja em jejum, não é algo de carácter mandatário para este parâmetro. O período de jejum é essencial para a interpretação dos resultados obtidos e posterior aconselhamento ao utente.

Relativo ao procedimento, será necessário escolher um dedo com boa irrigação, desinfetar este mesmo dedo, realizar uma pequena punção após evaporação completa do álcool e recolher a amostra até preencher a totalidade da zona de teste.

Após a análise e interpretação dos valores obtidos o utente deverá receber o devido aconselhamento, quer seja através do alerta relativamente aos valores limite considerados normais, promoção de medidas não farmacológicas, como a prática diária de exercício físico e uma alimentação equilibrada, questionar quanto à forma como alguma terapêutica existente é realizada e caso necessário recomendar que consulte o seu médico.

9.2. Medição do valor de pressão arterial

A medição da pressão arterial foi um dos serviços mais frequentemente solicitados durante o meu estágio. A grande maioria dos utentes que solicitam este serviço demonstram certa preocupação relativamente a este parâmetro e fazem-no regularmente com o intuito de monitorizar algum problema de origem cardíaca que possam, sentindo-se mais seguros com o aconselhamento de um profissional de saúde.

Na FF, este teste pode ser feito com recurso a um esfigmomanómetro e um estetoscópio. Antes da determinação, será importante averiguar se o utente realizou algum esforço físico, fumou ou bebeu café nos últimos 30 minutos, estas são variáveis comuns que poderão comprometer os resultados. Para iniciar a medição, o utente deverá descansar por um determinado período de tempo, de modo a acalmar e garantir resultados corretos. O utente deve estar sentado com ambos os pés bem assentes no chão e colocar o braço sobre a mesa, de forma a que fique à altura do coração, a braçadeira é então colocada em volta do braço do utente perto da artéria braquial junto com o diafragma do estetoscópio. De seguida, começa-se a inflar a braçadeira e são registados o valor da pressão arterial sistólica, quando se ouve o primeiro batimento cardíaco, e da pressão arterial diastólica quando o batimento cardíaco se deixa de ouvir.

Terminado o procedimento e conforme os valores obtidos, o farmacêutico deverá fornecer todo o aconselhamento necessário através do reforço da adesão à terapêutica, adoção de um estilo de vida saudável e encaminhamento para o médico caso necessário.

9.3. Testes de deteção de infeções da orofaringe e do trato urinário

A FF disponibiliza o teste *NADAL® Strep A* e as tiras *COMBUR 5 Test® HC* para a determinação da presença, respetivamente, de infeções na orofaringe e urinárias.

O teste de deteção de infeção da orofaringe *NADAL® Strep A* constitui um método imunocromatográfico que permite detetar de forma rápida e qualitativa a presença do antígeno do *Streptococcus* do grupo A numa amostra de esfregaço da orofaringe, recolhida com recurso a uma zaragatoa (29).

Por sua vez, o teste de deteção de infeção urinária *COMBUR 5 Test® HC*, permite a determinação de forma qualitativa de cinco parâmetros: glucose, leucócitos, nitritos, proteínas e sangue, numa amostra de urina (30).

De forma a garantir uma maior privacidade, estes testes realizam-se num gabinete. Conforme a realização de um destes testes é feito um registo onde consta os dados do utente, o profissional responsável pela realização do teste, os resultados obtidos e aconselhamento derivado destes. No caso de o resultado ser positivo, é fornecido um cartão ao utente com o resultado do teste e é feito encaminhamento para o médico. No fim de 48h/72h o utente é monitorizado, sendo contactado para que se tome conhecimento do seu estado de saúde e quais as indicações recebidas pelo médico.

9.4. Testes rápidos à SARS-CoV-2

Perante a pandemia de COVID-19 foi implementado um serviço de TRAg de uso profissional para o diagnóstico do SARS-CoV-2 através das farmácias. Este foi um serviço em constante evolução durante o período de estágio ao qual a FF e seus profissionais se adaptou de forma igualmente continuada. Para poder realizar este tipo de testes, a farmácia tem de estar registada na Entidade Reguladora da Saúde (ERS). Ainda a referir que, o *software* utilizado na marcação e registo de resultados dos testes estava ligado ao Sistema Nacional de Segurança Epidemiológica (SINAVE), sendo os resultados comunicados automaticamente para que entrassem no registo nacional, ou seja, registados a nível do SNS e associados ao histórico de cada utente. A nível local, a FF fazia ainda a comunicação dos resultados positivos para o delegado de saúde de Castelo Branco. A minha contribuição para este serviço passava pelo agendamento dos testes, aconselhamento e incentivo à realização dos mesmos perante indivíduos que reportassem sintomas, não tendo participado de forma direta na realização dos testes por motivos de segurança.

Como referido anteriormente, um dos gabinetes da farmácia está reservado para a realização exclusiva destes testes. Para realizar a colheita de amostra o farmacêutico deve usar o devido equipamento de proteção individual: bata; dupla colocação de luvas descartáveis; touca; óculos de proteção; capas protetoras para os sapatos; e máscara KN95. Após a desinfeção e garantia das condições de higiene e segurança é sugerido que o utente encoste a cabeça a uma superfície de forma a facilitar a colheita da amostra. Posteriormente a amostra é colocada no tubo com o tampão de extração e aproximadamente 3 gotas desta solução são colocadas na cavidade da tira de teste. Após cerca de 15 minutos o resultado é avaliado. Terminada a realização do teste, este e todos materiais utilizados para a realização do mesmo são descartados. Ao fim de cada teste, dois relatórios são impressos conforme o resultado, um a ser arquivado pela farmácia e outro a ser entregue ao utente.

A transição deste serviço para as farmácias comunitárias revelou a enorme potencialidade que estas possuem, para o sistema de saúde e seus constituintes, facilitando o acesso à testagem e diagnóstico de infeção por SARS-CoV-2 a toda a população em geral, com todos os requisitos legais, de segurança, qualidade e confidencialidade.

9.5. Administração de injetáveis

A administração de injetáveis é um serviço que pode ser prestado em regime de farmácia comunitária por farmacêuticos com formação adequada, reconhecida pela Ordem dos Farmacêuticos, ou por enfermeiros contratados para este efeito. Este serviço engloba não só a administração de preparações injetáveis subcutâneas, mas também de vacinas não pertencentes ao Plano Nacional de Vacinação, como são exemplos a vacina da gripe e da pneumonia (31,32).

Apesar de ser um serviço requisitado com pouco frequência, a FF possui todas as condições adequadas para a prestação do mesmo, administrando de forma exclusiva vacinas fora do plano nacional de vacinação. De forma a antever a possibilidade de manifestação de uma reação anafilática, após a administração do injetável, a farmácia possui o equipamento necessário ao tratamento destas reações dentro do próprio gabinete onde este serviço é realizado.

9.6. Entrega ao domicílio

Através do serviço de entrega ao domicílio, as farmácias podem garantir o acesso à medição e produtos de saúde, com maior segurança e comodidade, aos utentes que

apresentem dificuldade em dirigir-se diretamente à farmácia. O utente que pretende requisitar este serviço deve fazê-lo através de qualquer um dos contactos da farmácia, indicando de forma clara os produtos que pretende adquirir, morada do destinatário e outros dados pessoais inerentes à compra. A entrega ao domicílio de MSRM obriga a apresentação de uma receita médica (33).

Na FF estes pedidos surgem habitualmente por via telefónica. Após interpretação do pedido o utente recebe toda a informação relativa ao preço do serviço a ser prestado, formas de pagamento disponíveis e tempo provável até à entrega. De facto, este é um serviço que ajuda a assegurar a qualidade e segurança da dispensa de medicamentos e outros produtos de saúde fora das farmácias, no entanto, acho importante salientar que para que este serviço seja prestado um dos profissionais da farmácia terá de abandonar o local, podendo comprometer o funcionamento da mesma. Previamente à prestação deste serviço será que importante garantir que a qualidade dos serviços dentro da farmácia é assegurada.

9.7. Programa de troca de seringas

O Programa de Troca de Seringas, no qual as farmácias participam, foi implementado com o intuito de reduzir os riscos de transmissão endovenosa e sexual de infeções entre utilizadores de drogas injetáveis (34).

Em troca de duas seringas usadas por ditos utilizadores é entregue um kit composto por duas seringas, dois toalhetes desinfetantes, um preservativo, duas ampolas de água bidestilada, dois filtros, dois recipientes para preparação da substância, duas carteiras de ácido cítrico e um folheto informativo. No caso de o utilizador não ter seringas para trocar não deve ser negada a cedência do kit, no entanto deve ser alertado deve ser alertado para a necessidade de trazer seringas, de forma a cumprir o princípio que rege o programa.

O pagamento pela participação no Programa de Troca de Seringas está sobre a responsabilidade do Serviço de Intervenção nos Comportamentos Aditivos e nas Dependências, pelo que a aquisição de kits, quer pelas farmácias aos distribuidores, quer pelos utilizadores às farmácias, não está sujeito a qualquer pagamento (34,35).

9.8. Preparação individualizada da medicação

A Preparação individualizada da medicação (PIM) consiste num sistema de reacondicionamento onde o farmacêutico organiza a medicação que determinado utente, conforme o dia e o tempo a que deve ser administrada, e de acordo com a posologia

prescrita. Este serviço é frequentemente sugerido pelos próprios farmacêuticos a utentes, ou a cuidadores de utentes, que demonstrem dificuldades em gerir a administração correta da sua medicação, com o propósito de melhorar a adesão à terapêutica e reduzir o risco de erros (36).

Durante o estágio, tive a oportunidade de participar por diversas vezes na elaboração da PIM. Previamente à preparação da medicação, são preenchidos todos os documentos inerentes ao utente e dispositivo onde a medicação é colocada de forma individualizada, de modo que por cada preparação realizada, cada dispositivo possui um número de lote, identificação do utente e de todos os medicamentos que integram a preparação.

No final da preparação da medicação, todos os dispositivos são verificados por um segundo farmacêutico, de forma a garantir que toda a medicação está colocada nos locais corretos de acordo com o esquema terapêutico do utente.

A PIM apresenta, no entanto, uma certa limitação, visto que apenas podem acondicionadas formas orais sólidas cuja estabilidade não é comprometida quando retiradas do seu acondicionamento anterior (36).

10. Preparação de medicamentos manipulados

Um medicamento manipulado é qualquer fórmula magistral ou preparado oficial preparado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico (37). Ambos os casos só podem ser dispensados sob prescrição médica, fazendo-se acompanhar da respetiva receita. Enquanto as fórmulas magistrais são preparadas segundo uma receita médica que especifica o doente a quem o medicamento se destina, os preparados oficiais são preparados segundo indicações compendiais, de uma Farmacopeia ou Formulário. A manipulação de medicamentos permite um ajuste terapêutico ao perfil patológico individual dos doentes, daí a sua importância na prática farmacêutica (38).

A FF recebe pedidos de preparação de medicamentos manipulados com relativa frequência pelo que tive a oportunidade de observar e auxiliar a preparação dos mesmos por diversas vezes. O laboratório da farmácia é utilizado como zona reservada à preparação, embalagem e controlo dos medicamentos manipulados, sendo aqui que se encontram armazenados todos os materiais e matérias-primas necessárias a estes processos. Além disto, a farmácia dispõe nas suas instalações da Farmacopeia Portuguesa IX, do Formulário Galénico Português, bem como outra documentação auxiliar à preparação dos medicamentos manipulados, onde se encontram

nomeadamente informações e pedidos de esclarecimento solicitados ao LEF, e fichas de preparações anteriores, onde consta o procedimento realizado, quantidade de matérias-primas utilizadas, e informações relativas à estabilidade e prazos de validade.

O procedimento para a preparação de medicamentos manipulados envolve uma série de etapas, tendo início com a receção da receita médica onde consta o medicamento manipulado a preparar. Posteriormente, no laboratório, após a análise e estudo da formulação e do procedimento, o material e matérias-primas necessários são reunidos e é feita a desinfecção da bancada e material a utilizar para se dar início à manipulação. Estando preparado o medicamento manipulado é subseqüentemente realizado o acondicionamento e rotulagem do mesmo. Após a limpeza e desinfecção do local de trabalho é preenchida a ficha de preparação que inclui as características organoléticas do produto final, a quantidade de matérias-primas utilizadas e o cálculo do preço do manipulado. Por fim, é feita quebra dos materiais e matérias-primas utilizadas e dada entrada do medicamento manipulado no *stock* da farmácia.

Todas as preparações realizadas são registadas no copiador de receituário. Neste livro são registadas informações como o nome, lote atribuído, composição, data de preparação e preço dos medicamentos manipulados, nome e contacto do utente e nome do médico prescriptor.

Os medicamentos manipulados nos quais tive a oportunidade de participar ativamente na sua preparação foram os seguintes:

- Papéis medicamentosos de fosfato de sódio anidro;
- Pomada de enxofre a 8%;
- Solução alcoólica de ácido bórico à saturação;
- Solução oral de propanolol a 5% (m/V);
- Suspensão oral de trimetopim a 1% (m/V)
- Suspensão oral de nitrofurantoina a 10mg/mL.

10.1. Cálculo do preço de medicamentos manipulados e participações associadas

O PVP dos medicamentos manipulados preparados em farmácia comunitária é calculado com base no valor dos honorários da preparação, no valor das matérias-primas e no valor dos materiais de embalagem (39).

Para a elaboração do cálculo do preço dos manipulados pode ter-se em conta a seguinte equação:

$$(A + B + C) * 1,3 + IVA \text{ (a taxa em vigor)}$$

Sendo:

A – Valor dos honorários, com base no Fator F (5,11€ no ano de 2022);

B – Valor das matérias-primas;

C – Valor do material de embalagem.

Para além do Fator F, definido de forma anual pelo Instituto Nacional de Estatística (INE), o valor dos honorários varia conforme a quantidade de medicamento preparada (39).

Os medicamentos manipulados comparticipáveis estão presentes numa lista a aprovada anualmente por despacho do Ministro da Saúde, mediante proposta e conselho de administração do INFARMED, I.P., sendo que esta comparticipação é equivalente a 30% do respetivo preço (40).

11. Contabilidade e gestão

Aquando da dispensa de um MSRM são atribuídos um número, um lote e uma série à receita conforme o plano de comparticipação presente. Todos os meses, toda a faturação correspondente ao SNS deve ser enviada para o Centro de Conferências de Faturação (CCF), fazendo-se acompanhar do respetivo receituário e verbetes associados. Caso o receituário não faça parte do SNS, este deve ser enviado para a ANF, a qual irá encaminhar cada receita para o organismo correspondente.

Para se proceder à sua faturação, as receitas são agrupadas em lotes, sendo que cada lote possui um máximo de 30 receitas. De forma a evitar erros, e consequente devolução, as receitas eletrónicas materializadas e as receitas manuais são conferidas e analisadas de forma periódica. Processo que não é necessário para as receitas eletrónicas desmaterializadas, visto que são enviadas automaticamente no final de cada mês. Posteriormente, com recurso ao *Sifarma2000*®, procede-se ao fecho dos lotes. Por cada lote fechado é emitido um Verbetes de Identificação do lote, ao qual é anexado. Neste documento deve constar a identificação da farmácia, a identificação do organismo ao

qual o lote corresponde, assim como os valores de PVP, o valor pago pelos utentes e o valor relativo à comparticipação a ser paga pelo organismo.

Durante o meu estágio, participei na conferência e organização de receitas, para o seu envio para as entidades responsáveis. Através da realização destas tarefas, consegui adquirir uma nova consciência relativamente à realidade económicas das farmácias e os processos legais e burocráticos relativos às mesmas.

12. VALORMED

Os resíduos resultantes de medicamentos fora de uso, ou de validade, devem de ser tratados de forma especial devido às consequências nefastas que estes podem provocar na saúde ambiental.

Assim, a VALORMED é uma sociedade sem fins lucrativos que se responsabiliza pela gestão dos resíduos de embalagens vazias e medicamentos fora de uso ou com validade expirada, através de um circuito de recolha e tratamento mais seguro e independente dos resíduos urbanos (41).

A FF dispõe de um contentor próximo da zona de atendimento, encontrando-se fora do alcance do público em geral. Quando se encontra cheio, este contentor é devidamente fechado e selado, sendo posteriormente recolhido pelo distribuidor de medicamentos encarregue de o encaminhar para o local de tratamento adequado, que assina um documento em triplicado, deixando um comprovativo na farmácia.

O farmacêutico comunitário apresenta um papel essencial na sensibilização dos utentes para a correta gestão dos medicamentos fora de uso. Ao longo do meu estágio, verifiquei a forma como a equipa se esforça para incentivar os utentes a devolver produtos farmacêuticos inutilizados, implementando esta prática também nos meus atendimentos.

13. Secção de Geriatria, Ortopedia e lesões desportivas

Tal como já foi referido, a FF possui nas suas instalações uma área própria à dispensa e aconselhamento de produtos destinados à população geriátrica, e produtos focados na prevenção, tratamento e recuperação de lesões desportivas ou outro tipo de problemas ortopédicos.

Este espaço apresenta uma variada gama de produtos, como exemplo cadeiras de rodas, muletas, andarilhos, colares cervicais, almofadas anatomicamente adaptáveis, meias de compressão, palmilhas, produtos de tratamento de onicomicoses, entre muitos outros. A salientar a ampla gama de calçado ortopédico, sendo disponibilizado um serviço de baropodometria que permite fazer uma análise da marcha podendo resultar, ou não, na necessidade de realização de uma palmilha, sendo feito um molde individualizado e posterior envio ao laboratório de Ortotese, em Castelo Branco, para realização da mesma.

De forma a assegurar um aconselhamento de confiança, um dos membros da equipa da farmácia possui formação específica dentro destas áreas. Sendo responsável, em conjunto com a direção técnica, pela gestão e atendimento dentro da zona em questão.

Perante a crescente complexidade dos problemas de saúde na população idosa, a existência deste espaço adjacente à farmácia revelasse extremamente benéfica, permitindo o acesso à população a diversos serviços de uma forma mais prática e cómoda, e reforçando mais uma vez a flexibilidade de atuação da atividade farmacêutica nas mais diversas áreas.

14. Farmácia comunitária em tempos de pandemia Covid-19

A situação pandémica do Covid-19 foi uma presença constante durante todo o período em que o estágio decorreu. Diante isto, inicialmente encontrei algumas dificuldades no que diz respeito ao contacto e comunicação com o utente, no entanto, com o decorrer do tempo e apoio dos profissionais da farmácia, estas dificuldades foram ultrapassadas adequando a minha conduta às circunstâncias em questão.

Conforme as medidas de condicionamento estipuladas, o uso de máscara é de carácter obrigatório dentro da farmácia, e existem dispensadores de álcool desinfetante em cada uma das entradas. Um dos cinco balcões na sala geral de atendimento encontrava-se desativado no início do estágio, de modo a cumprir as distâncias de segurança, e numa etapa final, à medida que as medidas de restrição foram sendo aliviadas, voltou a ser ativado. De forma a evitar o contacto direto entre os utentes e os profissionais da farmácia, cada balcão possui um acrílico transparente como barreira de proteção. A higienização e desinfecção das mãos, bem como do balcão, teclado, canetas e terminal multibanco quando utilizados, passou a fazer parte da norma de qualquer atendimento.

Foram várias as medidas adotadas para conter a progressão desta pandemia. Neste contexto particularmente atípico e desafiante, as farmácias comunitárias desempenharam um papel significativo no que toca ao acesso dos cidadãos aos cuidados de saúde primários, assumindo novas responsabilidades e garantindo a realização de serviços excecionais. Destaco a possibilidade de medicamentos outrora dispensados em farmácia hospitalar, através do regime de ambulatório, serem excecional e temporariamente dispensados na farmácia comunitária de eleição do utente. Devido à Covid-19 e todas as restrições impostas, as pessoas com medicação de uso hospitalar não tinham como adquirir os seus medicamentos pois não podiam deslocar-se, neste contexto em particular, ao hospital de Castelo Branco e de Coimbra. Como tal, as farmácias comunitárias passaram a ser mais uma vez o veículo para que dita medicação chegasse aos utentes. Perante a decisão autónoma do utente, este escolhe a farmácia comunitária em que pretende receber a sua medicação, e através de protocolo previamente definido a farmácia recebe a medicação para posterior dispensa. Esta dispensa ocorre segundo registo obrigatório da medicação e dados pessoais do utente (42).

15. Conclusões e Notas Finais

O estágio curricular em farmácia comunitária permitiu-me constatar a importância e potencialidade da profissão farmacêutica dentro do sistema de saúde. Em primeira instância, este é o momento em que são consolidadas e colocados à prova todas as noções teóricas adquiridas durante os anos de faculdade, sendo este o complemento ideal à formação académica do mestrado integrado em ciências farmacêuticas. Não obstante, aspetos extrínsecos ao conhecimento teórico dos medicamentos, como a interação com o utente, transmissão correta de informação e familiarização com os sistemas informáticos revelam-se ferramentas essenciais ao dia a dia na farmácia. A forma progressiva com que fui passando a realizar diferentes tarefas, e ganhando autonomia de trabalho, foi muito motivador, o que contribuiu para que quisesse fazer cada vez mais e melhor. Neste sentido, este foi um período extremamente enriquecedor não só em termos de conhecimento técnico e científico, como a nível social e pessoal.

Finalmente, só me resta agradecer à equipa da FF pela sua dedicação e por todos os ensinamentos pacientemente transmitidos, acabo esta etapa com sentimento de dever cumprido e gratidão a todos aqueles que dela fizeram parte.

16. Referências

1. Ordem dos Farmacêuticos. Boas práticas de farmácia comunitária: Norma geral sobre as infraestruturas e equipamentos. 2015. [acedido a 15 de janeiro de 2023]; disponível em:
https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/norma_geral_sobre_as_infraestruturas_e_equipamentos_20240917255ab147e12498f.pdf
2. INFARMED I.P. Decreto de Lei n.º 307/2007, de 31 de agosto - Regime jurídico das farmácias de oficina. Legislação Farmacêutica Compilada, 2007. [acedido a 15 de janeiro de 2023]; disponível em:
https://www.infarmed.pt/documents/15786/1067254/022-A_DL_307_2007_6ALT.pdf
3. INFARMED I.P. Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de Agosto. [acedido a 15 de janeiro de 2023]; disponível em:
https://www.infarmed.pt/documents/15786/1068535/035-E_DL_176_2006_9ALT.pdf/d2ae048e-547e-4c5c-873e-b41004b9027f
4. INFARMED I.P. - Lista de DCI - MNSRM-EF [acedido a 15 de janeiro de 2023]; disponível em: https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/autorizacao-de-introducao-no-mercado/alteracoes_transferencia_titular_aim/lista_dci
5. INFARMED I.P. Circular Informativa N.º 019/CD/100.20.200 – Projeto Via Verde do Medicamento. 2015. [acedido a 15 de janeiro de 2023]; disponível em:
<https://www.infarmed.pt/documents/15786/1147844/Projeto+Via+Verde+do+Medicamento/78e5f43c-c724-41a2-aa08-62486796150a>

14. INFARMED, I.P. Decreto-Lei n.º 15/93, de 22 de Janeiro. [acedido a 21 de fevereiro de 2023]; disponível em:
https://www.infarmed.pt/documents/15786/1070504/068-DL_15_93_VF.pdf
15. Diário da República. Lei n.º 15/2020, de 29 de Maio. [acedido a 21 de fevereiro de 2023]; disponível em: <https://files.dre.pt/1s/2020/05/10500/0000200008.pdf>
16. INFARMED, I.P. Despacho n.º 17690/2007, de 23 de Julho. [acedido a 6 de março de 2023]; disponível em:
https://www.infarmed.pt/documents/15786/1065790/011-D1_Desp_17690_2007.pdf
17. Diário da República. Decreto-Lei n.º 148/2008, de 29 de julho. [acedido a 6 de março de 2023]; disponível em:
<https://files.dre.pt/1s/2008/07/14500/0504805095.pdf>
18. Diário da República. Decreto-Lei n.º 216/2008, de 11 de novembro. [acedido a 6 de março de 2023]; disponível em:
<https://files.dre.pt/1s/2008/11/21900/0787407879.pdf>
19. Diário da República. Decreto-Lei n.º 62/2017, de 9 de junho. [acedido a 6 de março de 2023]; disponível em:
<https://files.dre.pt/1s/2017/06/11200/0292402944.pdf>
20. Diário da República. Decreto-Lei n.º 145/2009, de 17 de junho. [acedido a 6 de março de 2023]; disponível em:
<https://files.dre.pt/1s/2009/06/11500/0370703765.pdf>
21. INFARMED, I.P. Dispositivos médicos na farmácia. [acedido a 6 de março de 2023]; disponível em:
http://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/dispositivosmedicos/aquisicao-e-utilizacao/dispositivos_medicos_farmacia.
22. INFARMED I.P. Decreto-Lei n.º 189/2008, de 24 de setembro. Legislação Farmacêutica Compilada. [acedido a 12 de março de 2023]; disponível em:
https://www.infarmed.pt/documents/15786/1076326/115-A_DL_189_2008_5Alt-A.pdf
23. Nal-von minden. NADAL® Strep A teste 20 testes cassete. [Internet]. [acedido a 12 de março de 2023]; disponível em: <https://www.nal-vonminden.com/pt/nadalr-strep-a-teste-1x20-testescassete.html>

24. Roche. Tiras Combur 5 Test® HC. [Internet]. [acedido a 12 de março de 2023]; disponível em:
<https://www.roche.pt/corporate/index.cfm/diagnosticos/poc/autocontrolo/combur-5-testhc/>
25. INFARMED. Deliberação n.º 139/CD/2010, de 21 de outubro. [acedido a 12 de março de 2023]; disponível em:
https://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/139_CD_2010.pdf/4d614fa9-63e0-4220-ad81-d8689829be6a
26. INFARMED. Deliberação n.º 145/CD/2010, de 4 de novembro. [acedido a 12 de março de 2023]; disponível em:
http://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/Delibera%C3%A7%C3%A3o_145_CD_2010.pdf/ead66219-e91f-49db-a12a-5f60e2399a56
27. Diário da República. Portaria n.º 1427/2007, de 2 de novembro. [acedido a 12 de março de 2023]; disponível em:
<https://files.dre.pt/1s/2007/11/21100/0799107992.pdf>
28. Diário da República. Portaria n.º 301-A/2016, de 30 de novembro. [acedido a 12 de março de 2023]; disponível em:
<https://files.dre.pt/1s/2016/11/23001/0000200002.pdf>
29. ANF. Programa de troca de seringas nas farmácias (PTS): Fluxograma de intervenção na farmácia. 2017 [acedido a 12 de março de 2023]; disponível em:
https://spms.min-saude.pt/wp-content/uploads/2017/12/2017.07.19_PTS_Fluxograma2017.pdf
30. Ordem dos Farmacêuticos. Norma Geral para Preparação Individualizada de Medicação. 2018 [acedido a 26 de março de 2023]; disponível em:
https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/norma_pim_vfinal_30_nge_00_010_02_1834827175bf58d479434f.pdf
31. Diário da República. Portaria n.º 594/2004, de 2 de junho. [acedido a 26 de março de 2023]; disponível em:
<https://files.dre.pt/1s/2004/06/129b00/34413445.pdf>
32. Ordem dos Farmacêuticos. Boas práticas de farmácia comunitária : Norma específica sobre manipulação de medicamentos. 2018;1/13. [acedido a 26 de março de 2023]; disponível em:

https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/of.c_no06_oo_norma_especifica_sobre_manipulacyayo_de_medicamentos_20991760195afd9cafc3f20.pdf

33. Diário da República. Portaria n.º 769/2004, de 1 de julho. 2004. [acedido a 26 de março de 2023]; disponível em:

<https://files.dre.pt/1s/2004/07/153b00/40164017.pdf>

34. Diário da República. Despacho n.º 18694/2010, de 18 de novembro. [acedido a 26 de março de 2023]; disponível em:

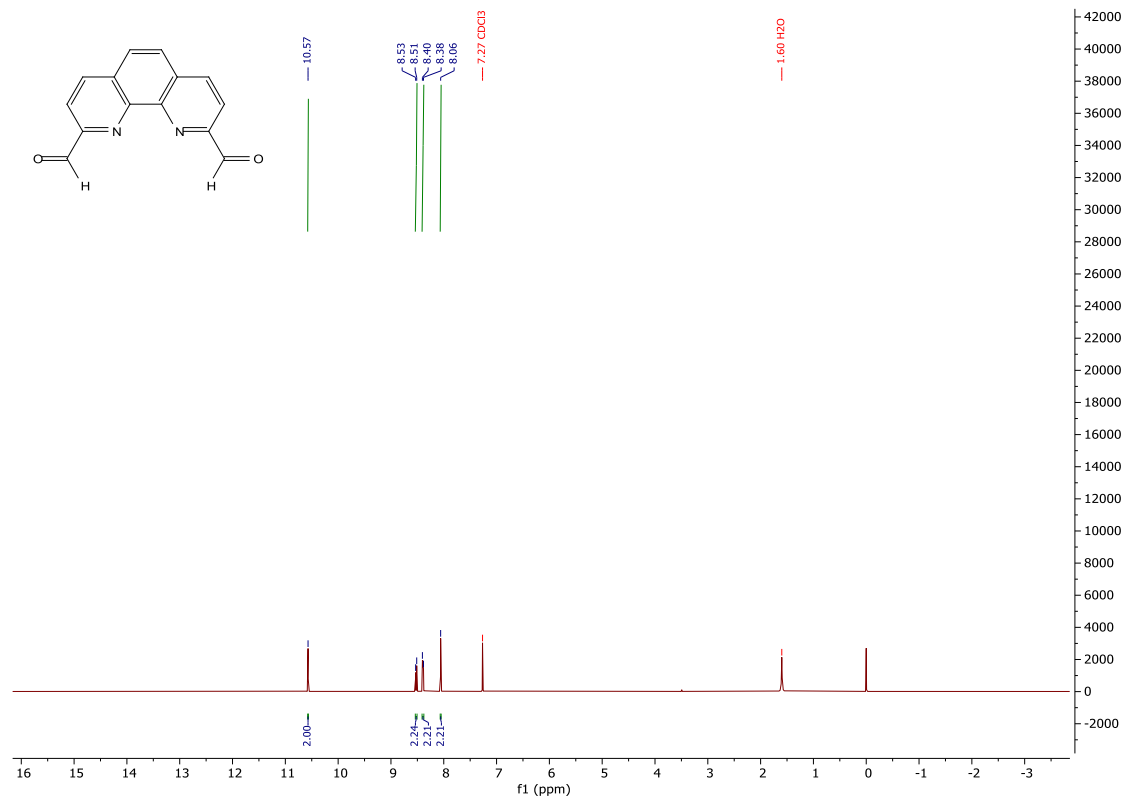
<https://files.dre.pt/2s/2010/12/242000000/6102861029.pdf>

35. VALORMED. Quem somos. [Internet]. [acedido a 26 de março de 2023]; disponível em: <http://www.valormed.pt/paginas/2/quem-somos/>

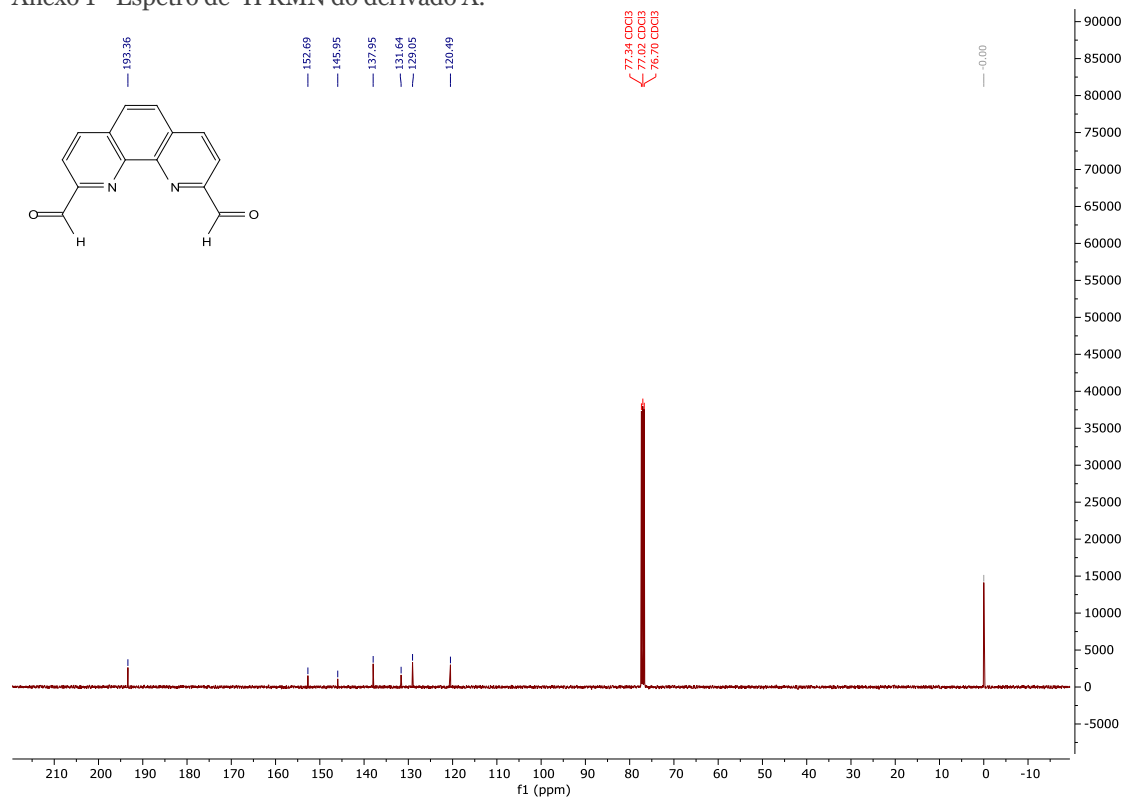
36. Diário da República. Despacho n.º 4270-C/2020, de 7 de abril. [acedido a 26 de março de 2023]; disponível em:

<https://files.dre.pt/2s/2020/04/069000003/0000200003.pdf>

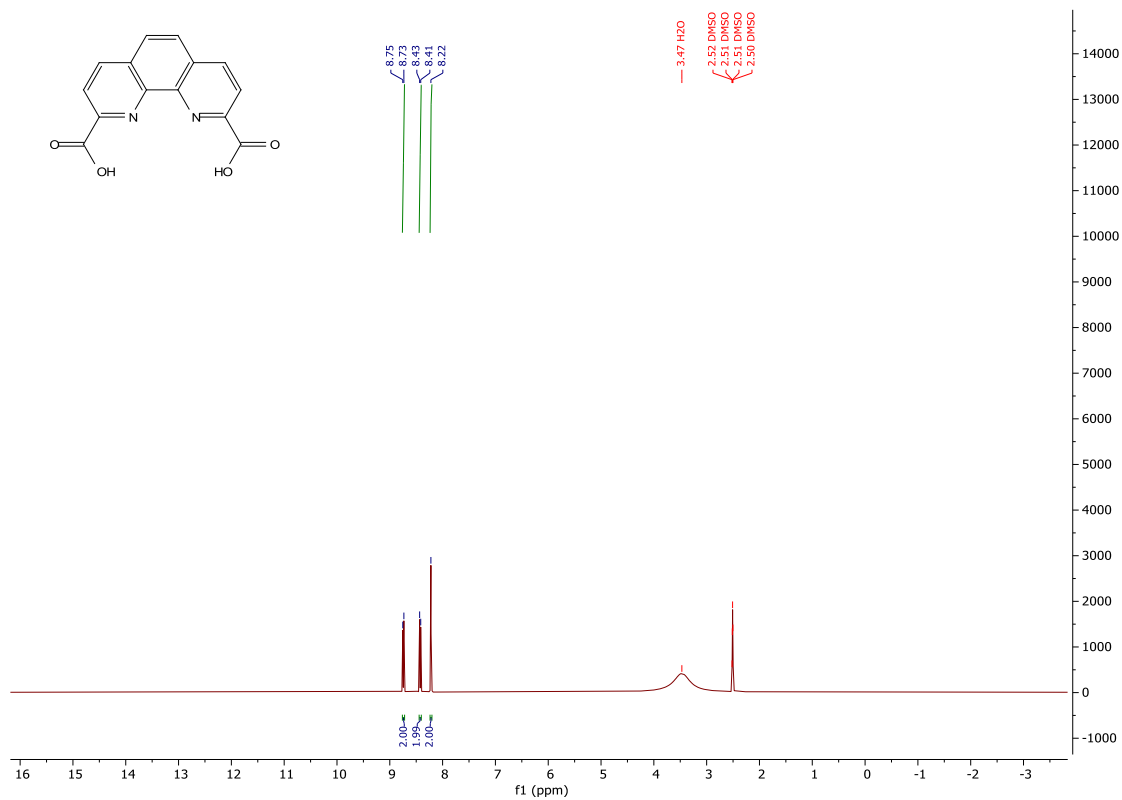
Anexos



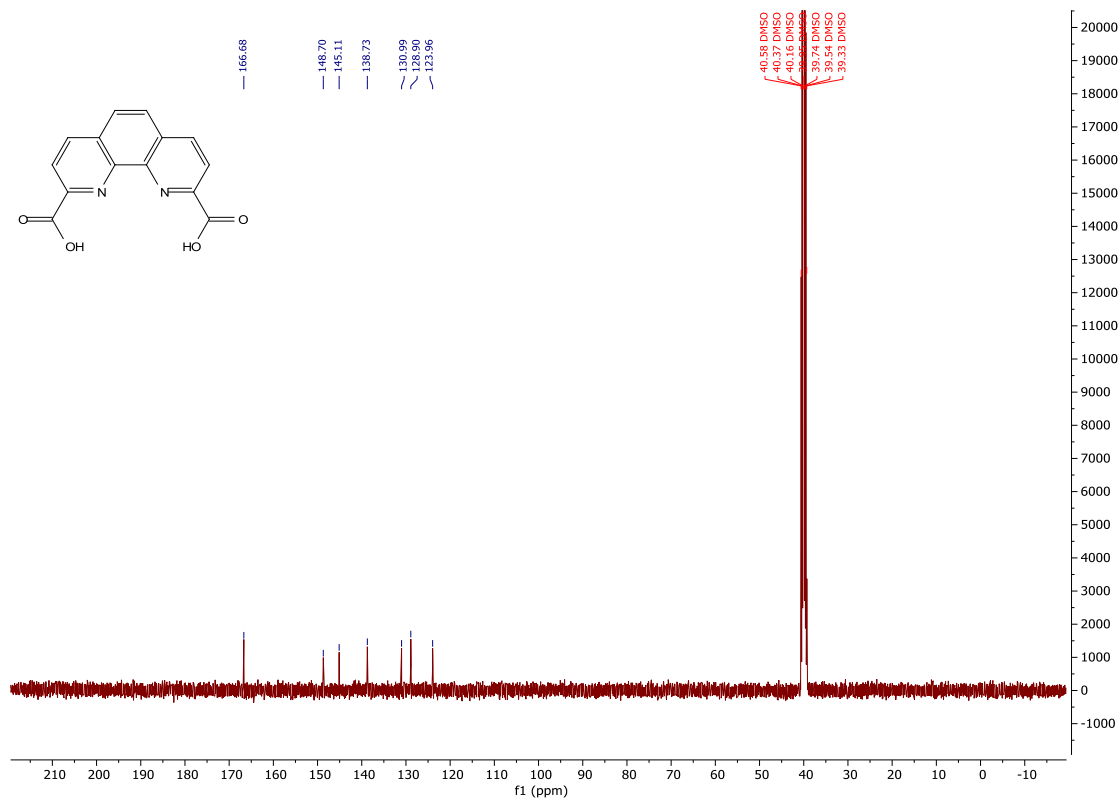
Anexo 1 - Espectro de ¹H RMN do derivado A.



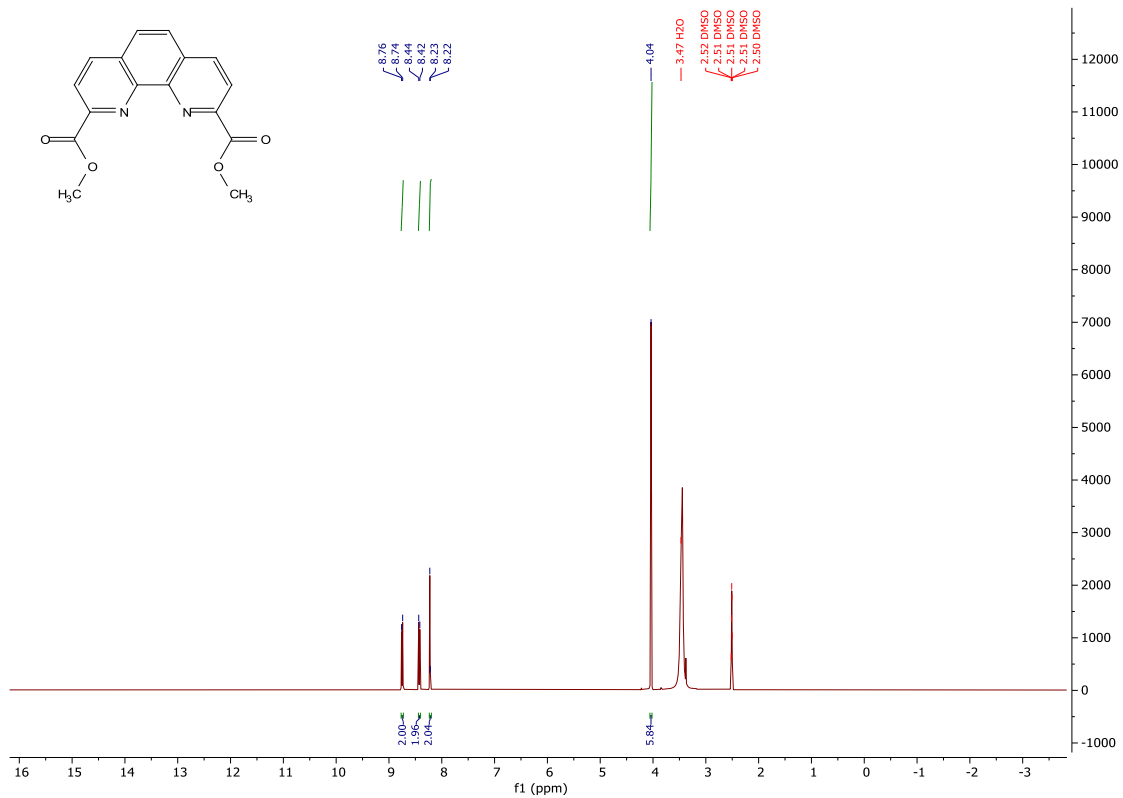
Anexo 2 - Espectro de ¹³C RMN do derivado A.



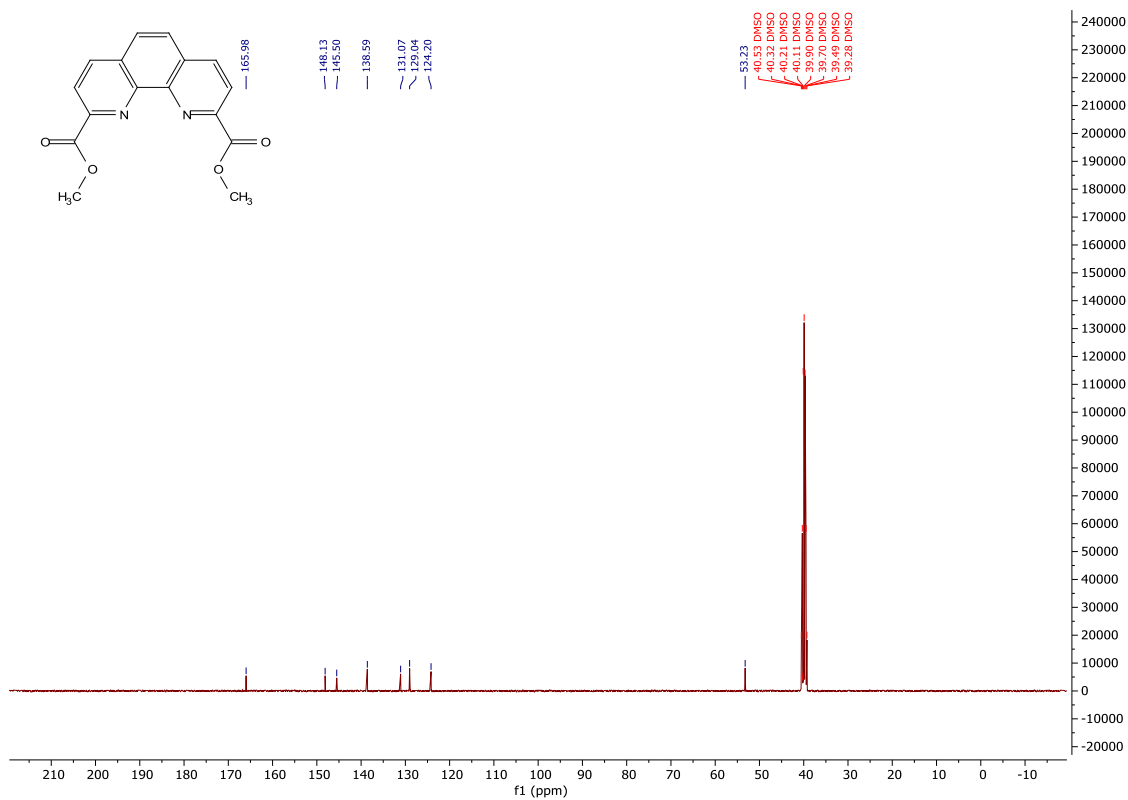
Anexo 3 - Espectro de ¹H RMN do derivado B.



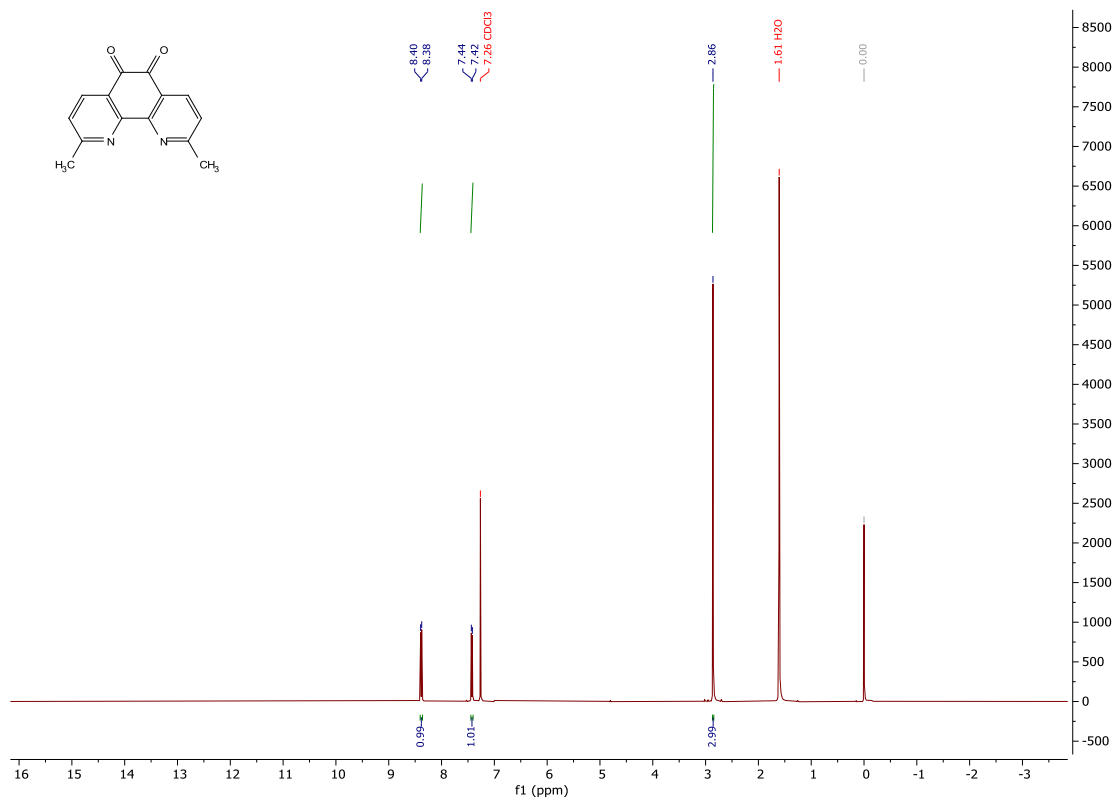
Anexo 4 - Espectro de ¹³C RMN do derivado B.



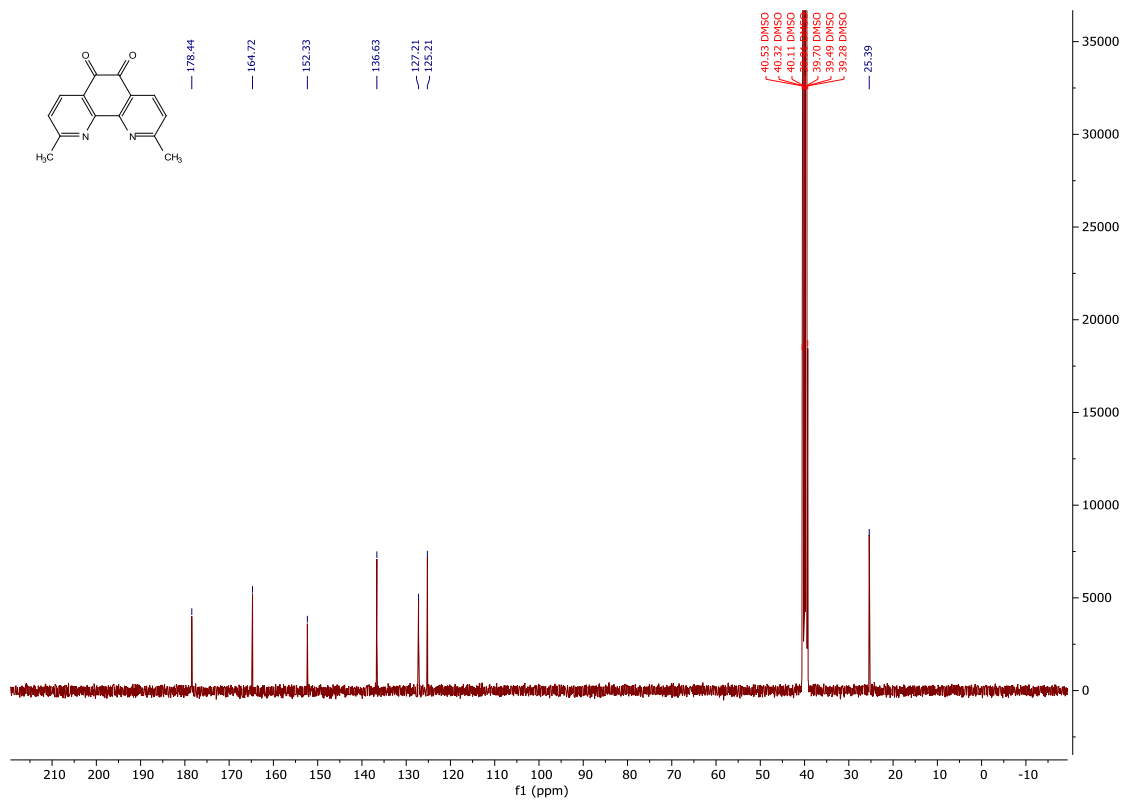
Anexo 5 - Espetro de ¹H RMN do derivado C.



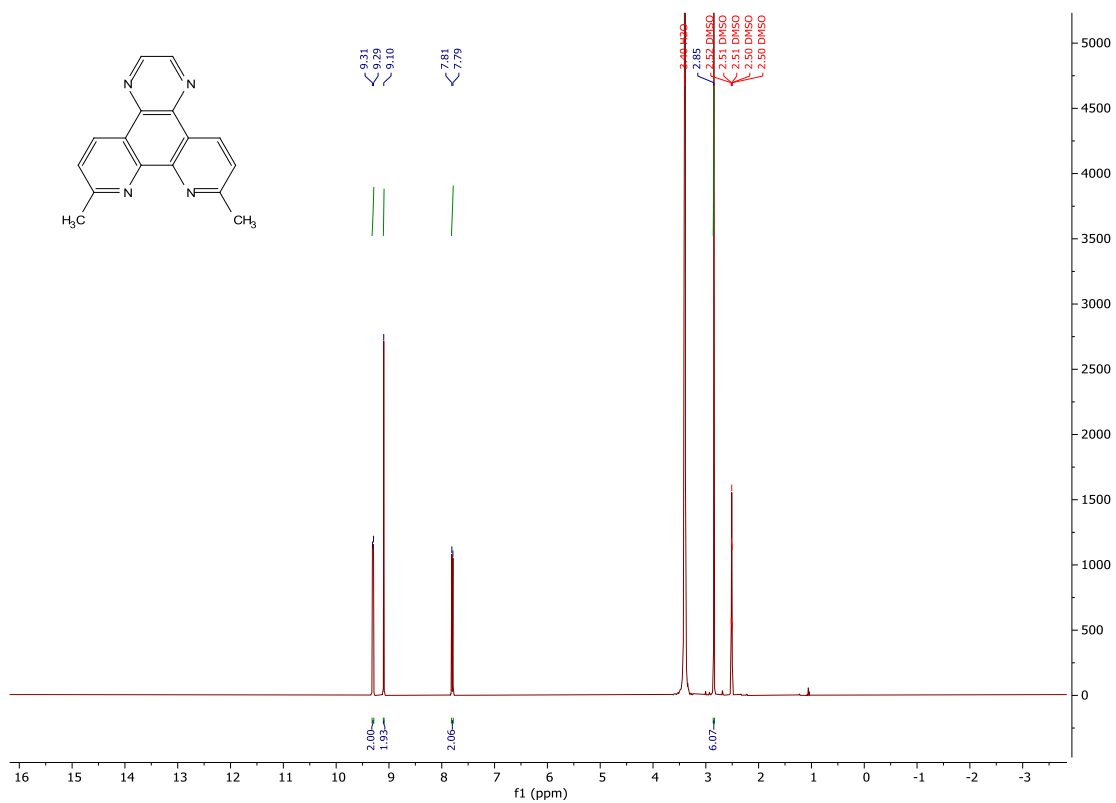
Anexo 6 - Espetro de ¹³C RMN do derivado C.



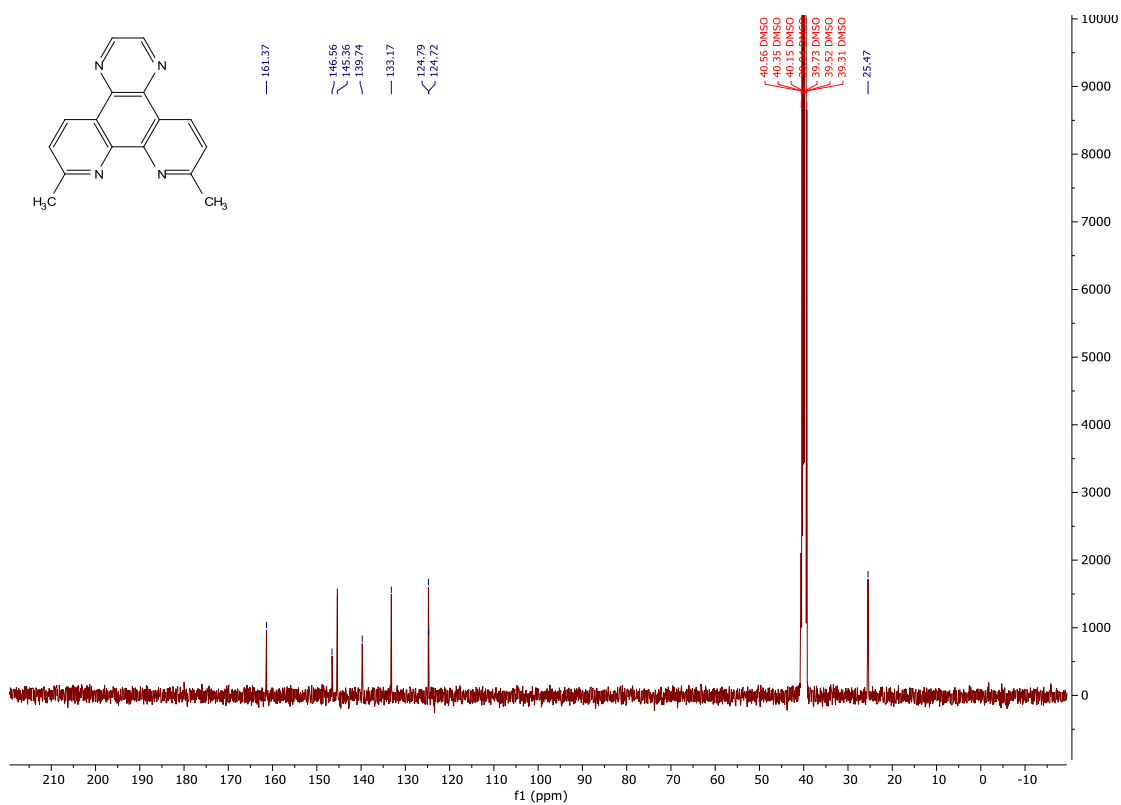
Anexo 7 - Espetro de ¹H RMN do derivado D.



Anexo 8 - Espetro de ¹³C RMN do derivado D.



Anexo 9 - Espectro de ¹H RMN do derivado E.



Anexo 10 - Espectro de ¹³C RMN do derivado E.