



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR
Ciências da Saúde

Síntese, caracterização estrutural e avaliação citotóxica de novas *orto*-(alquiltio)acetanilidas

**Experiência Profissionalizante na vertente de Farmácia
Comunitária, Hospitalar e Investigação**

Sandra Cremilde Gregório Saraiva Almeida

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

Orientador: Prof^a. Doutora Susana Ramos
Coorientador: Prof. Doutor Samuel Silvestre
Dr.^a Ana Rita Leitão
Dr. Jorge Aperta

Covilhã, junho de 2014

Dedico este trabalho,

Aos meus pais, ao meu marido e à minha filha, que são as pessoas que sempre me apoiaram e me incentivaram na realização desta nova conquista.

*“O maior líder é aquele que reconhece sua pequenez,
extrai força da sua humildade e experiência da sua fragilidade”*

Augusto Cury

Agradecimentos

A todos aqueles que por um motivo ou por outro, puseram pedras no meu caminho, possibilitando a subida, degrau a degrau, até este fantástico e tão esperado momento.

Em primeiro lugar, começo por deixar um sincero agradecimento à minha orientadora Professora Doutora Susana Ramos, por ter aceitado orientar esta dissertação, por ter demonstrado sempre disponibilidade para esclarecer todas as minhas dúvidas, por de uma maneira simples, me ter mostrado que síntese orgânica não é assim tão difícil e sobretudo por toda a amizade, apoio, dedicação, experiência, motivação e confiança transmitidas ao longo deste caminho.

Agradeço igualmente ao meu coorientador, Professor Doutor Samuel Silvestre, pelo seu apoio, incentivo, interesse e ajuda incansável nos ensaios de citotoxicidade e pelos conhecimentos fundamentais para a realização deste trabalho.

Desejo agradecer à Dr.^a Cristina Almiro e a todos os elementos da Farmácia Taborda, no Fundão, em especial à Dr.^a Rita Leitão, que me orientou neste estágio, obrigada pela sua paciência, disponibilidade, companheirismo, amizade e profissionalismo, a qual tornou a minha experiência de estágio extremamente enriquecedora tanto a nível pessoal, quanto profissional.

Ao Prof. Jorge Aperta e restante equipa dos Serviços Farmacêuticos do Hospital Sousa Martins, pela simpatia e amabilidade com que me acolheram, bem como pelo tempo dispensado na organização e acompanhamento de toda a formação, e por todos os conhecimentos que me transmitiram ao longo do período de estágio, os quais me permitiram integrar mais facilmente no mundo da farmácia hospitalar.

Agradeço também a todos os meus amigos e colegas de curso por todo o apoio e amizade que demonstraram durante estes anos. Agradeço igualmente a todos os restantes que de uma forma ou de outra contribuíram para a realização deste projeto.

À minha irmã e cunhado e, a toda a minha família quero agradecer todo o apoio e o carinho que sempre me deram ao longo desta caminhada.

Aos meus pais...a minha enorme gratidão pelo incansável incentivo e presença carinhosa em toda a minha vida académica e profissional e, um eterno agradecimento pela pessoa que me ensinaram a ser.

Quero deixar um profundo, sincero e especial agradecimento ao meu marido Paulo por todo o amor intenso e sereno, carinho, incentivo, dedicação, compreensão e apoio nos momentos

mais difíceis, sem o qual atingir este objetivo não teria o mesmo sabor e teria sido ainda mais difícil. Obrigada por estares sempre ao meu lado!

At last, but not least, para a minha filha Eduarda... fonte e inspiração da minha vida, um agradecimento do fundo do meu coração por todo o amor que me deu ao longo destes anos, e por toda a compreensão que teve, porque quando queria brincar ou passear, a mãe não podia porque tinha que estudar/trabalhar...obrigada meu anjo por toda a luz que deste neste caminho que por vezes parecia tão escuro...sempre que eu precisava lá estavas tu, tão pequena mas sempre com um sorriso, cheia de vida e doçura que me permitiram continuar a caminhar...

A todos, um sincero Bem-haja!

Resumo

O trabalho apresentado neste relatório provém do conhecimento adquirido e experienciado ao longo da passagem pelas três vertentes durante o estágio curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas. O presente relatório encontra-se dividido em três capítulos, no qual cada capítulo diz respeito a cada uma das vertentes referidas anteriormente.

No primeiro capítulo, é abordada a experiência profissional adquirida durante o estágio de farmácia comunitária, realizado na Farmácia Taborda, situada na cidade do Fundão. Assim, procede-se à descrição de todos os competências e conhecimentos adquiridos durante o estágio, tendo em conta a informação descrita nas Boas Práticas em Farmácia Comunitária e a legislação regente da atividade.

No segundo capítulo, faz-se referência à experiência profissional adquirida durante o estágio da farmácia hospitalar desenvolvido no Hospital Sousa Martins da Unidade Local de Saúde da Guarda, encontrando-se descritas as atividades realizadas durante o estágio, relativamente ao papel desempenhado pelo farmacêutico hospitalar, conforme o descrito na legislação em vigor.

No terceiro capítulo encontra-se descrito o trabalho de investigação desenvolvido no Laboratório de “Síntese Orgânica” do Departamento de Química da Faculdade de Ciências e no Centro de Investigação em Ciências da Saúde (CICS) durante o último ano de frequência universitária. O alvo deste trabalho foi a síntese, caracterização estrutural e avaliação citotóxica de *orto*-(alquiltio)acetanilidas. Deste modo, foram sintetizadas, e totalmente caracterizadas por RMN de ^1H e ^{13}C , FTIR e HRMS (FAB), cinco novas *orto*-(alquiltio)acetanilidas. Adicionalmente, foi avaliada a citotoxicidade *in vitro* destas alquiltioacetanilidas e de um conjunto de outras *orto*-(alquilcalcogénio)acetanilidas relacionadas, num total de vinte acetanilidas representativas, nas linhas celulares de células epiteliais humanas do cancro da mama (MCF-7), células do adenocarcinoma da próstata (LNCaP) e fibroblastos normais da derme humana (NHDF). Dos resultados obtidos, realça-se a atividade antiproliferativa potente das benzil-, (2-metil)benzil- e hexil-acetanilidas nas linhas celulares cancerígenas, com destaque nas LNCaP.

Palavras-chave

Farmácia Comunitária, Farmácia Hospitalar, *orto*-(alquiltio)acetanilidas, *orto*-(alquilcalcogénio)acetanilidas, síntese e caracterização, análogos da Nimesulida, avaliação citotóxica, linhas celulares NHDF, MCF-7 e LNCaP.

Abstract

The work presented in this document comes from the knowledge acquired during the three parts developed at the final stage of the Integrated Master in Pharmaceutical Sciences. Hence, this internship report is divided into three chapters, each one resultant from one of the parts mentioned above.

The first chapter deals with the professional experience acquired during the internship conducted in the Tabora Pharmacy, located in Fundão city. It describes all knowledge and skills acquired, taking in consideration the Good Practices in Community Pharmacy and the Pharmaceutical activity regulator laws.

The second chapter describes all the experience acquired during the internship developed at Local Health Unit Sousa Martins Hospital in Guarda city. Therefore, the activities undertaken during this internship part are described within this report regarding the role played by hospital pharmacist, as described in the actual legislation.

In the third chapter, the research activities developed at “Organic Synthesis Laboratory” located on Chemical Department of Faculty of Sciences and at Health Sciences Research Centre are reported. The aim of this work was the synthesis, structural characterization and cytotoxic evaluation of *orto*-(alkylthio)acetanilides. Therefore, five new *orto*-(alkylthio)acetanilides were synthesized and fully characterized by ^1H e ^{13}C , FTIR e HRMS (FAB). Moreover, the *in vitro* cytotoxic evaluation of these thioacetanilides and a set of others related *orto*-(alkylchalcogens)acetanilides in a total of twenty compounds against human breast (MCF-7) and prostate (LNCaP) cancer cell lines as well as normal human dermal fibroblasts (NHDF) were also evaluated. Interestingly a selective antiproliferative activity was observed for cancerous cells with proeminence to LNCaP within the most potent O- and/or N-benzylic and -hexyl acetanilides.

Keywords

Community Pharmacy, Hospital Pharmacy, *orto*-(alkylthio)acetanilides, *ortho*-(alkylchalcogen)acetanilides, synthesis and characterization, Nimesulide analogs, cytotoxic evaluation, NHDF, MCF-7 and LNCaP cell lines.

Índice Geral

Agradecimentos	iv
Resumo.....	vi
Abstract.....	vii
Índice Geral.....	viii
Lista de figuras.....	xi
Lista de tabelas.....	xii
Lista de esquemas.....	xiii
Lista de gráficos.....	xiv
Lista de acrónimos.....	xv

Capítulo I - Farmácia Comunitária

Introdução	1
1. Farmácia Taborda	2
1.1 Enquadramento	2
1.2 Organização física e funcional	3
1.3 Recursos humanos: funções e responsabilidades	6
2. Informatização	7
3. Informação e documentação científica	8
4. Gestão e aquisição de medicamentos	9
4.1 Fornecedores.....	9
4.2 Encomendas.....	10
5. Receção e verificação de encomendas	10
5.1 Marcação de preços.....	12
5.2 Devoluções.....	12
6. Armazenamento	13
6.1 Controlo de prazos de validade.....	13
7. Interação Farmacêutico - utente e atendimento ao utente	14
8. Dispensa de medicamentos e outros produtos farmacêuticos	15
8.1 Medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM)	16
8.1.1 Receita médica	16
8.1.1.1 Receção da prescrição e confirmação da sua autenticidade.....	17
8.1.1.2 Interpretação da prescrição pelo Farmacêutico.....	19
8.1.1.3 Seleção do medicamento	19
8.1.1.4 Informação ao utente	20
8.1.1.5 Medicamentos psicotrópicos e estupefacientes.....	21
8.1.2 Medicamentos veterinários.....	22
8.2 Medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM)	22

8.3 Produtos cosméticos-----	23
8.4 Produtos dietéticos para alimentação especial-----	24
8.5 Produtos dietéticos infantis-----	25
8.6 Produtos de fitoterapia e nutracêuticos -----	25
8.7 Dispositivos médicos -----	25
8.8 Produtos destinados ao autocontrolo da Diabetes <i>Mellitus</i> -----	26
8.9 Produtos de ortopedia e material de penso-----	26
9. Preparação de medicamentos -----	27
9.1 Preparação de manipulados-----	27
9.2 Preparações extemporâneos-----	28
10. Serviços de Saúde-----	28
11. Contabilidade e gestão-----	29
11.1 Gestão e formação contínua de recursos humanos-----	29
11.2 Legislação laboral-----	30
11.3 Faturação-----	30
11.4 Documentos contabilísticos-----	31
11.5 Aspetos fiscais-----	32
12. ValorMed-----	33
13. Farmacovigilância-----	32
14. Considerações finais-----	33
Bibliografia-----	35
Capítulo II - Farmácia Hospitalar	
Introdução-----	37
1. Unidade Local de Saúde-----	37
1.1 Os serviços farmacêuticos hospitalares-----	38
2. Espaço físico, organização e horário de funcionamento-----	38
3. Circuito do medicamento-----	39
3.1 Aprovisionamento-----	40
3.2 Seleção e aquisição de medicamentos-----	41
3.3 Receção, conferência e armazenamento de medicamentos, produtos farmacêuticos e dispositivos médicos-----	42
4. Circuitos de Distribuição-----	44
4.1 Distribuição clássica/tradicional-----	45
4.2 Distribuição diária individual por dose unitária (DDIDU) -----	46
4.3 Distribuição por reposição de <i>stocks</i> nivelados -----	47
4.4 Distribuição a doentes em ambulatório-----	47
5. Medicamentos sujeitos a legislação restrita-----	49
5.1 Hemoderivados -----	49
5.2 Estupefacientes, psicotrópicos e benzodiazepinas-----	50

6. Farmacotecnia -----	50
6.1 Preparação de formas farmacêuticas não estéreis-----	51
6.2 Reembalagem e rotulagem de doses unitárias sólidas-----	51
7. Gases Medicinais -----	53
8. Outras atividades do Farmacêutico hospitalar -----	54
8.1 Farmacovigilância-----	54
8.2 Acompanhamento da visita médica - Farmácia Clínica-----	54
8.3 Atividades farmacêuticas nas enfermarias-----	55
8.4 Comissões com intervenção do Farmacêutico-----	55
8.5 Informação e documentação-----	55
9. Considerações finais -----	56
Bibliografia -----	57

Capítulo III - Investigação: Síntese, caracterização espectroscópica e avaliação citotóxica de novas *orto*-(alquiltio)acetanilidas

1. Introdução -----	59
2. Objetivos -----	69
3. Parte experimental -----	69
3.1 Considerações gerais-----	69
3.2 Síntese e caracterização estrutural-----	70
3.2.1 <i>N</i> -[2-(benziltio)fenil]- <i>N</i> -etilacetamida 3m -----	71
3.2.2 <i>N</i> -benzil- <i>N</i> -[2-(etiltio)fenil]acetamida 3s -----	71
3.2.3 <i>N</i> -benzil- <i>N</i> -[2-(benziltio)fenil]acetamida 3t -----	71
3.2.4 <i>N</i> -[(2-etiltio)fenil]- <i>N</i> -(2-metilbenzil)acetamida 3u -----	72
3.2.5 <i>N</i> -(2-metilfenil)- <i>N</i> -[2-(2-metilbenziltio)fenil]acetamida 3v -----	72
3.3 Avaliação biológica -----	72
3.3.1 Reagentes e equipamentos utilizados-----	72
3.3.2 Cultura de células -----	73
3.3.3 Tripsinização, contagem e sementeira das células -----	73
3.3.4 Avaliação da atividade proliferativa/antiproliferativa dos compostos em estudo - Ensaio MTT-----	75
3.3.5 Análise estatística-----	76
4. Discussão de resultados -----	76
4.1 Síntese e caracterização estrutural-----	76
4.2 Avaliação biológica-----	81
5. Conclusão -----	89
Bibliografia -----	91
Publicação e Comunicação apresentadas no âmbito deste relatório de estágio -----	93
Anexos -----	95

Lista de Figuras

Figura 1 - Fachada principal da Farmácia Taborda-----	3
Figura 2 - Acesso direto da farmácia aos restantes serviços hospitalares-----	39
Figura 3 - Máquina de reembalagem e rotulagem-----	52
Figura 4 - Medicamento reembalado-----	53
Figura 5 - Formas enantioméricas axiais S_a -endo e S_a -exo das acetanilidas-----	62
Figure 6 - Sinais em RMN de ^1H dos prótons metilénicos não equivalentes das formas diastereoisómeras <i>E</i> (Ha e Hb) e <i>Z</i> (Hc e Hd) da acetanilida 3j -----	63
Figura 7 - Principais modificações A-D encontradas no esqueleto da Nimesulida	67
Figura 8 - Análogos representativos da Nimesulida-----	67
Figura 9 - Câmara de Neubauer-----	74
Figura 10 - Novas acetanilidas <i>orto</i> -substituídas 3m , 3s-v preparadas no âmbito desta dissertação-----	76
Figura 11 - Espectro de RMN de ^1H da acetanilida 3m -----	78
Figura 12 - Espectro de RMN de ^{13}C da acetanilida 3m -----	79
Figura 13 - Espectro de IV da acetanilida 3m -----	80

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Quadro de recursos humanos da Farmácia Taborda-----	6
Tabela 2 - Lista de medicamentos de dispensa exclusiva em Farmácia Hospitalar--	48
Tabela 3 - Tempos de reação e rendimentos globais na preparação das <i>N</i> -alquil- (2-alquilcalcogénio)acetanilidas 3 -----	64
Tabela 4 - Viabilidade celular das linhas celulares, MCF-7, NHDF e LNCaP, incubadas com os compostos 3a-d,h-n,r-x e 4a,b a uma concentração de 30 μ M, determinadas pelo ensaio MTT após 48h de exposição-----	82
Tabela 5 - Valores para a IC ₅₀ (μ M) para os dois compostos 3r e 3v , nas células MCF-7 e LNCaP-----	89

Lista de Esquemas

Esquema 1 - Fluxograma do processo de reembalamento-----	52
Esquema 2 - Síntese de <i>orto</i> -(alquilcalcogénio)- <i>N</i> -etilacetanilidas 3 a partir de iodetos e/ou brometos de 2-metilbenzoazólio 1 -----	61
Esquema 3 - Formas enantioméricas e diastereoisoméricas de acetanilidas que resultam das rotações não livres <i>N</i> -arilo e <i>N</i> -CO, respetivamente-----	62
Esquema 4 - Síntese patenteada da Nimesulida-----	66
Esquema 5 - Síntese do intermediário 2-fenoxianilina-----	66
Esquema 6 - Hidrólise e abertura do anel de benzotiazólio 1 -----	77
Esquema 7 - Formação do tiolato e alquilação com formação das acetanilidas 3m , 3s-v -----	77

Lista de Gráficos

Gráfico 1 - Relação entre a % da viabilidade celular vs. lipofilicidade para a linha celular LNCaP-----	84
Gráfico 2 - Relação entre a % da viabilidade celular vs. lipofilicidade para a linha celular MCF-7-----	84
Gráfico 3 - Relação entre a % da viabilidade celular vs. lipofilicidade para a linha celular NHDF-----	85
Gráfico 4 - Gráfico representativo dos resultados obtidos na aplicação dos ensaios para o composto 3v na linha celular MCF-7-----	86
Gráfico 5 - Gráfico representativo dos resultados obtidos na aplicação dos ensaios para o composto 3r na linha celular MCF-7-----	87
Gráfico 6 - Gráfico representativo dos resultados obtidos na aplicação dos ensaios para o composto 3v na linha celular LNCaP-----	88
Gráfico 7 - Gráfico representativo dos resultados obtidos na aplicação dos ensaios para o composto 3r na linha celular LNCaP-----	88

Lista de Acrónimos

AIM	Autorização de introdução no mercado
AINE	Anti-inflamatório não esteroide
ANF	Associação Nacional de Farmacêuticos
AO	Assistente operacional
ATR	Refletância total atenuada (do inglês, <i>attenued total reflectance</i>)
AUE	Autorização de utilização especial
BPF	Boas práticas farmacêuticas
BZD's	Benzodiazepinas
CCI	Comissão de controlo de infeção
ccf	Cromatografia em camada fina
CCF	Centro de conferência de faturas
CEDIME	Centro de informação e documentação de medicamentos
CES	Comissão de ética para a saúde
CFT	Comissão de farmácia terapêutica
CIM	Centro de Informação de medicamentos
CNPEM	Código nacional para a prescrição eletrónica de medicamentos
COX-2	Ciclo-oxigenase-2
DCI	Denominação comum internacional
DDIDU	Distribuição diária individual por dose unitária
DGS	Direção Geral de Saúde
DMEM	Meio de Eagle modificado por Dulbecco (do inglês, <i>Dulbecco's modified Eagle medium</i>)
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO- <i>d</i> ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
E.P.E.	Entidade pública empresarial
EtOH	Etanol
FAB	Bombardeamento rápido de átomos (do inglês, <i>fast atom bombardment</i>)
FBS	Soro bovino fetal (do inglês, <i>fetal bovine serum</i>)
FEFO	<i>First Expired, First Out</i>
FHNM	Formulário hospitalar nacional do medicamento
FP	Farmacopeia portuguesa
FSA	Faça segundo a arte
FTIR	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (do inglês, <i>Fourier transform infrared spectroscopy</i>)
HRMS	Espectroscopia de massa de alta resolução (do inglês, <i>high resolution mass spectroscopy</i>)

HSM	Hospital Sousa Martins
IC ₅₀	Concentração inibitória para 50% da atividade celular
IMC	Índice de massa corporal
INFARMED	Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento
INR	Razão normalizada internacional
IRC	Imposto sobre rendimento de pessoas coletivas
IRS	Imposto sobre rendimento de pessoas singulares
IV	Infravermelho
IVA	Imposto de Valor Acrescentado
LCD	Mostradores de cristal líquidos (do inglês, <i>liquid crystal display</i>)
LNCaP	Células do adenocarcinoma da próstata (do inglês, <i>human prostate adenocarcinoma cell line</i>)
m	Múltiplo em ressonância magnética nuclear de próton
MCF-7	Células epiteliais humanas do cancro da mama
MeOH	Metanol
MNSRM	Medicamentos não sujeitos a receita médica
MSRM	Medicamentos sujeitos a receita médica
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolina
MUV	Medicamentos de uso veterinário
NHDF	Fibroblastos normais da derme humana (do inglês, <i>normal human dermal fibroblasts</i>)
OMS	Organização Mundial de Saúde
PBS	Tampão fosfato salino
PDT	Terapia fotodinâmica (do inglês, <i>photodynamic therapy</i>)
PE	Ponto de encomenda
PGE2	Prostaglandina-2
PNCI	Plano nacional e controlo de infeção
ppm	Partes por milhão
PT	Prontuário terapêutico
PUV	Produtos de uso terapêutico
PVA	Preço de venda autorizado
PVF	Preço de venda à farmácia
PVP	Preço de venda ao público
q	Quarteto em ressonância magnética nuclear de próton
RAM	Reações adversas aos medicamentos
RCM	Resumo das características do medicamento
RE	Receita especial
RM	Referenciação médica
RMN de ¹³ C	Ressonância magnética nuclear de carbono
RMN de ¹ H	Ressonância magnética nuclear de próton

RMPI	Meio Roswell Park Memorial Institute (do inglês, <i>Roswell Park Memorial Institute</i>)
r.p.m.	Rotações por minuto
s	Singlete em ressonância magnética nuclear de próton
SD	Desvio padrão (do inglês, <i>standard deviation</i>)
SF	Serviços farmacêuticos
SIGREM	Sistema Integrado de Gestão de Resíduos de Embalagens e Medicamentos fora de Uso
SNC	Sistema nervoso central
SNF	Sistema Nacional de Farmacovigilância
SNS	Sistema Nacional de Saúde
SPA	Setor Público Administrativo
SPMS	Serviços Partilhados do Ministério da Saúde
t	Tripleto em ressonância magnética nuclear de próton
TDT	Técnico de diagnóstico e terapêutica
TMS	Tetrametilsilano
ULS	Unidade Local de Saúde
UV	Ultravioleta
δ	Desvio químico

Capítulo I - Farmácia Comunitária

Introdução

Este relatório surge no âmbito do Plano Curricular do 5º ano/2º semestre do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, da Faculdade de Ciências da Saúde na Universidade da Beira Interior, tendo sido realizado de 3 de fevereiro a 25 de abril de 2014, com a duração de 480 horas.

Sendo esta uma unidade curricular de carácter obrigatório, este estágio é uma vertente de formação importante, e permitiu adquirir conhecimentos e competências no seio de uma equipa de saúde e em contacto direto com o utente.

O estágio na Farmácia Taborda foi um privilégio para mim, uma vez que me permitiu desenvolver a minha identidade profissional, apreender o meu próprio modo de aprendizagem e construir algumas bases necessárias para a construção dos conhecimentos profissionais.

Os objetivos deste estágio são desenvolver competências científicas e técnicas que permitam a realização de atividades subjacentes à profissão de Farmacêutico, no enquadramento da Farmácia Comunitária tais como:

- Caracterizar a estrutura da farmácia em termos de espaço, equipamento e Recursos Humanos;
- Descrever o circuito do medicamento, matérias-primas e outros produtos de saúde;
- Caracterizar a aplicação informática utilizada e relacionar com as áreas funcionais da farmácia;
- Interpretar as prescrições médicas;
- Identificar os motivos que justificam a devolução de medicamentos;
- Aplicar os conhecimentos teóricos e métodos de acordo com os recursos disponíveis;
- Aplicar os conhecimentos teóricos e teórico-práticos sobre situações de execução prática;
- Executar e avaliar as técnicas e métodos de acordo com os recursos disponíveis;
- Aplicar normas de higiene/limpeza e desinfeção.

Durante o estágio, foram ainda realizadas outras atividades, nomeadamente:

- Visita às diferentes áreas da farmácia;
- Receção e conferência de encomendas;
- Elaboração de encomendas e sua transmissão;
- Arrumação técnica dos medicamentos e outros produtos de saúde;

- Construção de fichas técnicas de matérias-primas;
- Participação nos vários processos de registo desde a entrada até à dispensa de medicamentos Psicotrópicos e Estupefacientes;
- Dispensa de medicamentos sujeitos a receita médica e informação ao utentes;
- Dispensa de medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM);
- Dispensa de medicamentos sujeitos a receita médica especial;
- Controlo dos prazos de validade;
- Participação em ações de formação;
- Recolha de medicamentos para devolução à ValorMed.

Deste modo, este relatório foi elaborado com o objetivo de descrever todas as atividades realizadas e observadas ao longo deste estágio e organizado segundo o circuito do medicamento para uma melhor compreensão.

1. Farmácia Taborda

A Farmácia Taborda situa-se na cidade do Fundão, na Rua Doutor Teodoro Mesquita 2, pertencente ao distrito de Castelo-Branco.

1.1 Enquadramento

A farmácia comunitária, dada a sua acessibilidade à população, é uma das portas de entrada no Sistema de Saúde. É um espaço que se caracteriza pela prestação de cuidados de saúde de elevada diferenciação técnico-científica que visa servir a comunidade sempre com a maior qualidade. Para que o Farmacêutico possa realizar as suas atividades, necessita que a farmácia possua a estrutura adequada para o cumprimento das suas funções.

A Farmácia Taborda é uma farmácia com mais de um século, tendo sido fundada em 20 de agosto de 1902, sendo a atual proprietária, e Diretora Técnica, a Dr.^a Cristina Almiro, a qual conta com a colaboração e competência de uma equipa constituída por duas farmacêuticas adjuntas substitutas, cinco técnicos de farmácia e uma funcionária de limpeza. Conta igualmente com colaboradores externos: uma empresa de consultoria, contabilidade e gestão; uma empresa de consultoria e formação; uma equipa de segurança e higiene no trabalho bem como a Associação Nacional das Farmácias (ANF), com todos os seus departamentos.

Além do funcionamento diurno normal, a Farmácia Taborda presta serviço noturno, efetuando serviços permanentes durante uma semana completa (tendo início à 5^a feira às 9h da manhã e término à 5^a feira da semana seguinte, à mesma hora), por acordo celebrado com as outras farmácias da localidade, o qual está estabelecido através de um mapa de serviços.

1.2 Organização física e funcional

A Farmácia Taborda encontra-se nas suas novas instalações desde dezembro de 2013 de modo a satisfazer as necessidades dos utentes e proceder a um melhor aproveitamento do espaço físico, tendo em consideração o Decreto-Lei nº 307/2007, de 31 de agosto.^[1]



Figura 1 - Fachada principal da Farmácia Taborda.

Tal como se pode observar na figura 1, a Farmácia Taborda está exteriormente identificada com o nome da farmácia, com duas cruzes verdes, que se encontram iluminadas durante a noite, e igualmente com identificação, na porta de entrada, da Direção Técnica (Dr.^a Ana Cristina Almiro).

A Farmácia Taborda encontra-se organizada em diferentes áreas destinadas ao desenvolvimento das diferentes valências da farmácia comunitária, de modo a proporcionar aos seus utentes uma imagem renovada, de confiança e de segurança.

Todo o espaço interior encontra-se devidamente iluminado e ventilado, sendo a sua temperatura e humidade relativa controladas diariamente pelos profissionais da farmácia.

Para que uma farmácia apresente um correto funcionamento é necessário uma boa organização do espaço interior, de modo a que cada tarefa prestada tenha um local específico, assegurando deste modo uma melhor prestação de cuidados de saúde ao utente.

Deste modo, a Farmácia Taborda está dividida da seguinte forma:

1) Área de atendimento ao público

Esta área é destinada para que o Farmacêutico possa servir e aconselhar o utente. Esta prestação deve ser efetuada calmamente, de forma correta e, principalmente, de forma segura para que o utente deposite confiança perante qualquer profissional.

Na Farmácia Taborda, esta área é bastante ampla, iluminada, com fácil acesso ao exterior, com mobiliário simples e funcional que permite uma boa comunicação entre o profissional e o utente. É constituída por cinco balcões, cada um com um computador que tem acesso à internet e ao *software Sifarma2000*[®] e o restante *hardware* necessário ao processo de venda.

Atrás dos balcões estão situados alguns dos medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) e alguns dos suplementos alimentares, para uma dispensa mais fácil e adequada.

Existe ainda uma balança eletrónica para medição da altura, peso e índice de massa corporal (IMC) e um dispositivo de medição da tensão arterial. Nesta área encontra-se uma zona própria coberta, na qual se faz o atendimento noturno quando a farmácia se encontra de serviço.

Toda a área de atendimento ao público e restantes áreas, estão devidamente equipadas com câmaras de gravação de imagem, devidamente identificadas, por forma a aumentar a segurança dos utentes e dos próprios profissionais que nela executam as suas funções.

2) Zona de exposição de produtos organizados por tipo e marca

A área de exposição na Farmácia Taborda complementa a área de atendimento ao público. Todos os produtos estão expostos em prateleiras por:

- Especificidade de ação e marca comercial;
- Linhas completas de dermofarmácia e cosmética, expostas por marca comercial;
- Produtos materno-infantis, organizados por marca comercial;
- Produtos de uso veterinário (PUV).

A exposição destes produtos deve cativar o utente, uma vez que é neste espaço que se encontra igualmente uma gôndola na qual se expõem as campanhas promocionais mais recentes.

3) Zona para receção e confirmação de encomendas

A área de receção e conferência de encomendas encontra-se numa zona reservada apenas à equipa da Farmácia. Encontra-se equipada com dois computadores com leitor ótico de barras para uma maior eficácia no processo de entrada dos produtos na farmácia, tem também dois telefones e um telemóvel, bem como duas impressoras e um *fax*.

Esta área é bem iluminada e tem algum espaço para que os fornecedores tenham facilidade em entrar com as diversas encomendas que dão entrada no decorrer do dia.

4) Armazém

O armazém da Farmácia Taborda encontra-se dividido em várias áreas consoante o tipo de medicamento armazenado. Os medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM) são armazenados em gavetas deslizantes, organizados por ordem alfabética da substância ativa e por dosagem.

Existe ainda um outro armário igualmente com gavetas deslizantes contendo os dispositivos médicos, o material afeto à medição dos níveis glicémicos, os suplementos alimentares e as ampolas, os quais se encontram organizados por ordem alfabética.

Na área de armazenamento, mesmo junto a área de receção de encomendas, encontra-se um outro módulo de gavetas deslizantes destinado ao armazenamento de xaropes e soluções orais, gotas, aerossóis/inaladores, colírios e pomadas oftálmicas, pomadas/cremes com uso terapêutico, supositórios, granulados e injetáveis. Toda esta última zona encontra-se devidamente identificada, estando os medicamentos organizados também por ordem alfabética da marca.

Numa outra área contígua à de armazenamento dos medicamentos e dispositivos de utilização humana encontra-se o armazém de medicamentos veterinários devidamente identificado e separado de todos os produtos de utilização humana.

Quanto ao frigorífico, este encontra-se na área de encomendas, de forma a conseguir-se um controlo e um registo contínuo da temperatura e humidade relativa.

5) Laboratório

Esta área destina-se à preparação de manipulados: fórmulas magistrais (segundo uma receita médica) e preparados officinais (segundo a farmacopeia portuguesa). Contém diversos móveis onde são armazenadas as matérias-primas, os materiais necessários à preparação de manipulados e os documentos respeitantes à preparação de manipulados, com as fichas de registo de manipulados e as respetivas fichas de preparação.

A área de trabalho respeita as condições de temperatura, humidade e iluminação e, é constituída por uma bancada lisa e polida, lavatório e exaustor, contendo ainda todo o equipamento mínimo obrigatório pela Deliberação nº 1500/2004 de 7 de dezembro. ^[2]

6) Sala de atendimento personalizado

Esta sala é reservada para um atendimento mais pessoal ao utente, encontrando-se separada fisicamente da área de atendimento ao público, de modo a ser possível uma comunicação mais confidencial com o Farmacêutico.

É um espaço que apresenta uma mesa com duas cadeiras, para que o utente se possa sentar enquanto são avaliados a pressão arterial e os diferentes parâmetros bioquímicos (glicémia, colesterol total, triglicéridos, ácido úrico). Deste modo, é possível que a consulta farmacêutica decorra com a singular característica de ser de acesso restrito para que haja uma maior privacidade e confidencialidade, o que também permite que a abordagem de assuntos mais pessoais por parte do utente.

É ainda nesta zona de atendimento que decorrem certos serviços farmacêuticos, como a administração de vacinas e injetáveis, bem como os serviços de nutrição.

7) Gabinete da Direção Técnica

8) Instalações Sanitárias

1.3 Recursos Humanos: funções e responsabilidades

De acordo com o manual da qualidade existente na Farmácia Taborda e com o Manual de Boas Práticas da Farmácia Comunitária,^[3] o facto de se organizar e atribuir responsabilidades a cada profissional, tem como objetivo tornar o trabalho mais produtivo, mais organizado e evitar falhas ou esquecimentos, sendo importante que haja um trabalho de equipa contínua para que se atinja o objetivo final de um atendimento de qualidade.

O quadro de recursos humanos da Farmácia Taborda é composto por nove profissionais (tabela 1), os quais têm funções e responsabilidades definidas e documentadas no manual da qualidade da Farmácia Taborda, encontrando-se os mesmos devidamente identificados através da utilização de um cartão onde consta o nome do profissional e a sua função dentro da farmácia.

Tabela 1 - Quadro de recursos humanos da Farmácia Taborda.

Função	Nome
Direção Técnica	Dra. Ana Cristina Castro
Farmacêutico Adjunto Substituto	Dra. Carina Santos
	Dra. Ana Rita Leitão
	Sr. Jorge Alberto s Pires
	Sr. Luís Miguel Almeida
Técnico de Farmácia	Sr. Márcio Gonçalves
	Dra. Ana Marisa Cruz
	Sr. Luís Nunes Silva
	Sra. Maria de Fátima Rodrigues

Segundo o Artigo 10º do Código Deontológico dos Farmacêuticos,^[4] “A primeira e principal responsabilidade do Farmacêutico é para com a saúde e o bem-estar do doente e do cidadão em geral, devendo pôr o bem dos indivíduos à frente dos seus interesses pessoais ou comerciais e promover o direito de acesso a um tratamento com qualidade, eficácia e segurança”.

O artigo 16º do código deontológico ^[4] refere ainda que “No exercício da sua atividade na farmácia de oficina ou hospitalar, o Farmacêutico deve colaborar com todos os profissionais de saúde, promovendo junto deles e do doente a utilização segura, eficaz e racional dos medicamentos”.

Na Farmácia Taborda o Diretor Técnico da farmácia, além das funções gerais dos Farmacêuticos, assume adicionalmente funções mais específicas associadas ao seu cargo, definidas no Decreto-lei nº 307/2007, de 31 de agosto podendo, na sua ausência, ser substituído exclusivamente por Farmacêuticos adjuntos substitutos.^[1]

Na Farmácia Taborda a Diretora Técnica tem, entre outras, a responsabilidade de:

- Coordenar e dirigir todo o trabalho - Direção Técnica e Científica;
- Atender pessoalmente determinadas entidades e inspetores;
- Registar não conformidades;
- Efetuar compras/encomendas;
- Conferir a receção de psicotrópicos;
- Registar os psicotrópicos;
- Enviar ao INFARMED de todos os documentos relativos aos psicotrópicos e às benzodiazepinas;
- Garantir a prestação de aconselhamento e esclarecimentos aos utentes;
- Verificar o cumprimento das regras deontológicas e da demais legislação reguladora da atividade farmacêutica

2. Informatização

Com os avanços tecnológicos foram desenvolvidos novos programas informáticos direcionados para a farmácia comunitária, sempre com o objetivo de os profissionais de saúde na farmácia disponibilizassem mais tempo aos seus utentes.

Na Farmácia Taborda, o sistema informático utilizado é o *Sifarma2000*[®], estando instalado em todos os computadores presentes na mesma, o qual tem como vantagens garantir um suporte de informação aos profissionais, permitir um atendimento mais personalizado (registar resultados de testes de glicemia, colesterol, histórico de medicação do utente), proceder a avisos de segurança que caracterizam os atendimentos e permitir o controlo da adesão à terapêutica prescrita.

O *Sifarma2000*[®] é uma ferramenta desenvolvida para a gestão diária de uma farmácia, no que diz respeito à entrada e à saída de produtos, e de todas as tarefas com ela relacionadas. Este programa faz então a gestão do produto, desde a sua entrada até à saída e, de acordo com os *stocks* mínimos e máximos definidos pela farmácia, e conforme as saídas, propõe encomendas para posterior aprovação. O *Sifarma2000*[®] emite ainda listas de controlo de prazos de validade, com os produtos cujo prazo de validade expire num prazo de três meses (estabelecido pela farmácia).

No *Sifarma2000*[®] realizam-se várias funcionalidades, entre outras tarefas necessárias para uma boa gestão da farmácia, tais como:

- Atendimento;
- Gestão e receção de encomendas;
- Gestão de produtos (*stocks*, denominação comum internacional (DCI), nome comercial do medicamento, informação científica);
- Consultar as compras e vendas dos diferentes produtos;
- Gestão de clientes;
- Inventários da farmácia;
- Faturação;
- Emissão de documentos;
- Impressão de etiquetas.

Cada profissional de saúde na farmácia possui um código próprio de identificação que lhe permite a entrada no programa, sendo registadas todas as operações por ele efetuadas.

No *Sifarma2000*[®] é possível aceder a informações como o fim de dia de cada profissional, consultar as suas vendas efetuadas, efetuar encomendas manuais, diárias, instantâneas e rececionar as mesmas. O sistema possibilita efetuar devoluções de produtos e gerir os seus *stocks* bem como regularizar as respetivas devoluções.

Quanto à faturação, permite corrigir o receituário, a impressão do resumo de lotes e verbetes, assim como gerir todo o receituário e sua regularização. Este *software* também permite pesquisar medicamentos por substância ativa, grupo terapêutico, nome comercial e, igualmente, gerir todas as existências na farmácia (inventários, consultar estatísticas de venda do produto, entre outros).

3. Informação e documentação científica

Se por um lado há uma evolução de fármacos e das patologias, por outro, os utentes têm também cada vez mais acesso à informação sobre a saúde. Na área da saúde, trabalhar implica sempre uma contínua formação e constante atualização de conhecimentos.

Sendo assim, é importante salientar e referir que, por mais atualizado que o Farmacêutico possa estar, não se deve sentir obrigado a saber a resposta a todas as questões colocadas no preciso momento. O que é importante é que tenha a capacidade de explicar ao utente que para melhor satisfazer a sua necessidade, por vezes necessita de estudar a questão em causa, recorrendo nomeadamente à pesquisa bibliográfica. Deste modo, a Farmácia Taborda tem ao dispor do Farmacêutico e restantes profissionais de saúde, as fontes de informação sobre medicamentos. No processo de cedência de medicamentos o Farmacêutico deve obrigatoriamente dispor de acesso físico ou eletrónico, fontes bibliográficas que contenham informação sobre indicações, contraindicações, interações, posologia e precauções com a utilização com medicamento.

Obedecendo ao Decreto-lei n.º 307/2007 de 31 de agosto,^[1] a Farmácia Taborda possui nas suas instalações uma Farmacopeia Portuguesa, em edição de papel, em formato eletrónico ou *online* (da Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde), bem como de outros documentos, tais como, o formulário galénico português, o simpósio farmacêutico, a legislação farmacêutica compilada, o prontuário terapêutico (PT) e o resumo das características dos medicamentos (RCM).

Em Portugal, os centros de informação e documentação dizem respeito ao Centro de informação do medicamento (CIM) da Ordem dos Farmacêuticos e o Centro de documentação e informação de medicamentos (CEDIME) da Associação Nacional das Farmácias, que divulga periodicamente publicações com conteúdo técnico-científico acessíveis quer a profissionais de saúde quer aos utentes.^[5]

4. Gestão e aquisição de medicamentos

4.1 Fornecedores

Na Farmácia Taborda a Diretora Técnica é a pessoa responsável pelas compras, e seleciona o(s) fornecedor(es) de acordo com diversos fatores, tais como, a variabilidade, os prazos de entrega, o número de entregas diárias, as condições dos produtos aquando da entrega da encomenda, a satisfação dos pedidos, os descontos promocionais, a bonificação dos produtos e as condições de pagamento.

A Farmácia Taborda trabalha principalmente com dois fornecedores: *Plural* e *Alliance Healthcare*, conseguindo deste modo assegurar diariamente o *stock* da farmácia. Não existe qualquer quantidade mínima do produto no ato da encomenda. Permitem ainda uma maior facilidade de contacto quando há falta de um produto podendo ser efetuados vários pedidos por dia (as entregas são diárias).

Os fornecedores mencionados anteriormente não são os únicos que dispensam os produtos necessários para um bom funcionamento da farmácia, existindo igualmente delegados de

informação médica que visitam regularmente a farmácia, representando individualmente o seu respetivo laboratório. Este tipo de fornecedores têm preços mais competitivos entre eles, podendo efetuar promoções à respetiva farmácia. Normalmente, neste tipo de encomendas é exigido uma quantidade mínima no momento da compra.

4.2 Encomendas

Qualquer farmácia, antes de efetuar alguma encomenda, deve definir o *stock* mínimo e máximo de cada produto, sendo este elaborado com base na área onde a Farmácia se insere e o número de unidades vendidas.

Outro aspeto de extrema relevância são as variações sazonais. Existem produtos com maior procura no Verão ou no Inverno, por isso o *stock* varia nas diferentes estações do ano.

Consoante o *stock* definido pela farmácia, é elaborada, pelo sistema informático uma encomenda (sempre que o *stock* mínimo é atingido) para a reposição do mesmo. As encomendas que se efetuam ao longo do dia têm um horário pré-estabelecido para serem realizadas, dependendo de cada fornecedor.

A encomenda no sistema informático *Sifarma2000*[®] é realizada da seguinte forma: “gestão de encomendas”, “diária”, “fornecedor” (deve-se indicar o fornecedor pretendido), “aprovar”, “ver/alterar”.

A aquisição de produtos pode ser igualmente realizada via telefone ou de forma instantânea. Este tipo de aquisição é efetuada quando algum produto está em falta ou porque não existe na Farmácia no momento em que o utente o solicita. Quando se efetua via telefone, o profissional de farmácia liga diretamente para o fornecedor para verificar se tem esse produto em armazém e saber qual o preço respetivo.

As encomendas instantâneas são efetuadas para a *Plural* e/ou *Alliance Healthcare* através do *Sifarma2000*[®], na “ficha do produto (CTRL+P)”, existindo um atalho para “encomenda instantânea”, no qual se verifica de imediato a disponibilidade, preço de venda ao público (PVP) do produto e a hora prevista de chegada do mesmo.

As encomendas que são efetuadas diretamente aos delegados de informação médica são introduzidas no *Sifarma2000*[®] de forma manual, após a sua receção e emissão da respetiva fatura.

5. Receção e verificação de encomendas

As encomendas dão entrada na Farmácia consoante os horários estabelecidos pelos diferentes fornecedores. Todas as encomendas diárias são entregues na Farmácia, acompanhadas da

respetiva fatura (original e duplicado), sendo que estes são utilizados quando se dá entrada da encomenda, devendo posteriormente ser organizados por datas e ficar arquivados na farmácia.

A fatura contém o respetivo número, a listagem dos produtos pedidos por ordem alfabética, o código e nome comercial dos produtos, o número de unidades pedidas e enviadas, o bônus, o preço unitário, o preço de venda à farmácia (PVF) e a taxa de Imposto de Valor Acrescentado (IVA) aplicada a cada produto.

Para os medicamentos que foram encomendados mas que não foram enviados, são apresentados os respetivos motivos, como por exemplo, “esgotado”, “em falta”, “descontinuado”.

Os estupeficientes e psicotrópicos, além de estarem mencionados na fatura, vêm acompanhados com uma guia de requisição. Estes documentos são carimbados e rubricados pela farmacêutica responsável, em seguida o documento original é arquivado na farmácia e, o duplicado é enviado para o fornecedor.

Na receção da encomenda, o técnico responsável pela sua receção deve ir, através do *Sifarma2000*[®], ir à “receção de encomendas” e escolher a encomenda em questão. Antes de se começar a dar entrada dos produtos, deve-se colocar o número da fatura para verificar se os produtos que foram encomendados coincidem com os produtos que foram enviados. Esses produtos são conferidos um a um mediante uma leitura ótica dos códigos de barras ou do nome.

Deve ter-se em conta o prazo de validade do produto, bem como as quantidades fornecidas, pois existem produtos com bonificações. Outro aspeto a ter em conta é a avaliação física das embalagens pelo que se deve verificar se estas se encontram nas condições apropriadas para uma futura venda, caso isso não aconteça, deve comunicar-se à Diretora Técnica e proceder-se à reclamação junto do fornecedor.

Os produtos termolábeis são os primeiros a serem rececionados e armazenados de imediato nas condições ideais de armazenamento.

No final, após a entrada de todos os produtos, a encomenda deve ser reeditada tendo em conta o preço de venda à farmácia e o preço de venda ao público de cada produto. Finalizadas todas as alterações, deve-se verificar se o valor contabilístico coincide com o valor presente na fatura.

Na receção de uma encomenda direta (dos laboratórios), os produtos são conferidos, bem como o prazo de validade e a quantidade de cada um deles, os quais se encontram na respetiva fatura. A encomenda é rececionada informaticamente, mas esta deve ser criada na função “gestão de encomendas - manual” no qual se deve colocar o fornecedor em questão,

os produtos encomendados e as respetivas quantidades. Depois esta encomenda é enviada por *modem* diretamente para o *Sifarma2000*[®], para de seguida se dar entrada desta, repetindo o processo explicado anteriormente. Este processo também ocorre nos casos de encomendas instantâneas (*Plural* ou *Alliance Healthcare*).

5.1 Marcação de preços

No processo de entrada das encomendas a marcação de preços e a sua atualização são muito importantes.

Nas faturas dos fornecedores aparecem três preços diferentes: o preço de venda à farmácia, o preço de venda ao público e o preço de venda autorizado (PVA), bem como o Imposto de Valor Acrescentado (IVA) aplicado.

Nos medicamentos não comparticipados e nos outros produtos de saúde, os chamados de “produtos ou medicamentos de venda livre”, cada farmácia estabelece a sua margem de lucro tendo em conta o IVA aplicável ao produto ou medicamento em causa, não existindo limite percentual legalmente definido. Neste caso, a Farmácia Taborda emite as suas próprias etiquetas para estes produtos ou medicamentos, devendo o preço estar sempre visível e perceptível para o utente. Nas etiquetas impressas consta, além do preço do produto, a sua designação, o seu código nacional, acompanhado pelo respetivo código de barras para leitura ótica, e a taxa de IVA aplicada ao produto.

5.2 Devoluções

Por vezes é necessária a devolução de produtos aos fornecedores ou aos laboratórios em que estes podem ser ou não aceites. Entre as situações que podem conduzir à necessidade de devolução, encontram-se as seguintes:

- Prazos de validade reduzidos ou expiração de prazo de validade;
- Deterioração dos produtos;
- Troca do produto por parte do fornecedor/farmácia no envio/pedido;
- Embalagem danificada ou incompleta;
- Alteração do preço;
- Não rotação dos produtos;
- Casos de recolha voluntária pelo INFARMED (instituto nacional da farmácia e do medicamento).

Ao verificar-se um destes casos deve registar-se a devolução no *Sifarma2000*[®]. De seguida é impressa a nota de devolução em duplicado, sendo que uma via fica arquivada na farmácia (esta é anexa à respetiva nota de entrega) e a outra é enviada com os produtos para o fornecedor, devidamente carimbada, datada e assinada pelo responsável da devolução.

Nos casos em que o fornecedor aceita uma nota de devolução, esta pode ser regularizada de duas formas: através da substituição do produto na farmácia ou através da emissão de uma nota de crédito à farmácia. Assim que a situação se encontrar regularizada, o Farmacêutico ou o técnico auxiliar de farmácia procede à regularização da nota de devolução no *Sifarma2000*[®] e faz o acerto de *stocks*.

Se o fornecedor não aceitar a devolução do produto, este é enviado de novo para a farmácia, e passa a ser denominado como “quebra”, o que consiste em colocar o produto num contentor apropriado para desperdício, emitindo uma nota de quebra que serve de comprovativo contabilístico da eliminação do produto, sendo contabilizado como um prejuízo para a farmácia. Ambos os tipos de devoluções devem ser regularizados no *Sifarma2000*[®], no primeiro caso através da opção “nota de crédito” e no segundo caso através da opção “quebras”.

6. Armazenamento

O armazenamento dos medicamentos e dos produtos farmacêuticos deve ser efetuado de modo a assegurar as condições ideais de luminosidade, temperatura, humidade relativa e segurança.

Existem condições de armazenamento que devem ser respeitadas, como se pode verificar na farmacopeia portuguesa (FP),^[6] as quais são:

- Temperaturas máximas de 25 °C;
- Humidade relativa inferior a 60%;
- Luminosidade (alguns produtos devem ser armazenados na ausência de luz);
- Medicamentos termolábeis devem ser conservados no frigorífico com temperaturas compreendidas entre 2 a 8 °C.

Os produtos encontram-se armazenados nas respetivas condições, estão organizados pela denominação comum internacional, nome comercial, dosagem e forma farmacêutica. Estes produtos farmacêuticos são armazenados segundo o método FEFO (*First Expired, First Out*).

6.1 Controlo de prazos de validade

Este é um passo fundamental para evitar a cedência de medicamentos cuja validade esteja expirada, não oferecendo condições de qualidade, de segurança e de eficácia. O prazo de validade consiste no período durante o qual um determinado medicamento pode ser considerado estável. A estabilidade de uma forma farmacêutica depende não só de fatores ambientais, mas igualmente de fatores relacionados com a própria formulação, dentro dos quais a degradação química constitui um dos principais mecanismos de indução de alterações

nos medicamentos, nomeadamente através de reações de hidrólise, oxidação e reações resultantes da absorção de luz.

Ao rececionar os produtos, deve ter-se em conta o prazo de validade do produto e compará-los com os registos dos produtos existentes em armazém, havendo alterações no *Sifarma2000*[®] apenas nas situações em que a validade do produto a rececionar é inferior à do produto já submetido no *Sifarma2000*[®], ou quando o *stock* do produto se encontra a zero. Deste modo, vai permitir que o programa emita alertas de fim de validade dos produtos.

O controlo dos prazos de validade não se restringe apenas ao momento da receção da encomenda. No final de cada mês é emitida uma listagem dos produtos cujo prazo de validade expira nos próximos meses. Na Farmácia Taborda esta listagem deve ser conferida pela pessoa responsável e atualizada e caso algum produto expire o prazo de validade nos três meses seguintes deve ser retirado do local de armazenamento para ser devolvido ao respetivo fornecedor. No caso do prazo de validade do produto não estar correto, deve ser alterado nessa listagem e atualizado posteriormente no *Sifarma2000*[®].

7. Interação Farmacêutico - utente e atendimento do utente

Durante o estágio foi possível constatar que o atendimento/comunicação com o utente é um conceito essencial e um dos momentos mais importantes da prática farmacêutica no “palco” da farmácia comunitária. Na Farmácia Taborda é de grande valor o atendimento com qualidade, em que se pretende conceder toda a informação adequada à utilização do medicamento para a promoção da saúde e qualidade de vida do utente.

Segundo o código deontológico^[4] é dever do Farmacêutico assegurar que “*na dispensa do medicamento, o doente recebe informação correta sobre a sua utilização*”.

Uma das metas é promover uma grande interação entre o profissional da farmácia e o utente, tornando o utente o foco da farmácia e de todos os profissionais.

Foi-me ensinado que é imprescindível adaptar a linguagem e a comunicação ao nível sociocultural do utente. Especialmente quando o utente não é habitual, é importante observar cuidadosamente o mesmo e tentar reunir toda a informação que ele nos transmite. Por exemplo, as informações prestadas e a forma como são compreendidas podem variar amplamente caso se trate de uma pessoa mais jovem ou mais idosa.

Para além disso, é também essencial demonstrar segurança nos esclarecimentos prestados, devendo consultar sempre fontes de informação a fim de esclarecer qualquer dúvida que possa surgir ao longo do atendimento. Durante a conversa inicial, é essencial formular perguntas que permitam obter os dados necessários à avaliação da situação. Uma vez avaliada

a situação, deve ter-se em atenção os casos em que é necessário um atendimento em privado, no gabinete do utente.

Para além da prestação de esclarecimentos verbais, é de extrema importância que se escreva parte da informação, particularmente no que se refere ao modo de administração e posologia, devendo ser simplificada e sumarizada para que o utente a entenda corretamente. Deve ser pedido ao utente que repita as informações prestadas, de modo a nos certificarmos que o diálogo foi produtivo e atingiu o objetivo esperado. Por vezes podem ser utilizados pictogramas para facilitar o entendimento.

A disponibilidade do utente também é um fator importante no processo de atendimento. Habitualmente os utentes têm muita urgência e exigem um atendimento rápido, mas o serviço prestado na farmácia não pode ser comparado ao serviço prestado num outro estabelecimento. Neste contexto, é necessário fazer-se um esforço para que o atendimento seja feito com qualidade e da forma mais correta possível, existindo mesmo um serviço de acompanhamento dos utentes, caso eles estejam interessados num seguimento farmacoterapêutico personalizado. Caso o utente se mostre interessado neste serviço, é necessário que formalize a sua adesão, através do preenchimento da declaração de consentimento informado (ANEXO 1) no qual está escrito de que pode desistir a qualquer momento e no mesmo explica de um modo sucinto no que se baseia este acompanhamento.

Na farmácia também se deve dar informação sobre o projeto ValorMed, o qual consiste em incentivar as pessoas a entregarem os medicamentos não utilizados ou fora do prazo de validade, para que eles possam ter o devido tratamento. A distribuição de sacos próprios para o efeito é uma das formas de promover o programa.

Existe ainda uma mais-valia na Farmácia Taborda para promover uma fidelização e maior satisfação do utente, a qual consiste na adesão ao Cartão Cliente Prestígio da Farmácia Taborda (ANEXO 2). Este é um cartão que permite aos utentes a acumulação e a utilização de descontos nas compras realizadas a pronto nos estabelecimentos pertencentes à empresa Cristina Almiro Castro Farmácia Unipessoal Lda. É importante informar que a Farmácia Taborda garante a total confidencialidade dos dados pessoais.

8. Dispensa de medicamentos e outros produtos farmacêuticos

A dispensa de medicamentos e outros produtos farmacêuticos é um ato do qual depende a melhoria da qualidade de vida de cada utente.

Existe uma panóplia de produtos disponíveis, que requer por parte do Farmacêutico conhecimentos suficientes e adequados para poder prestar o melhor aconselhamento ao utente.

Ao balcão da Farmácia são dispensados:

- Medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM);
- Produtos de dermocosmética e dermatoterapêuticos;
- Produtos de ortopedia;
- Leites e suplementos alimentares;
- Produtos de puericultura;
- Produtos destinados a higiene bucal;
- Medicamentos manipulados;
- Medicamentos de uso veterinário (sujeitos e não sujeitos a receita médica).

8.1 Medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM)

De acordo com a legislação portuguesa (Decreto-Lei nº 176/2006 de 30 de agosto),^[7] estão sujeitos a receita médica os medicamentos que preenchem uma das seguintes condições:

- Possam constituir um risco para a saúde do utente, direta ou indiretamente, mesmo quando utilizados para o fim a que se destinam, caso sejam utilizados sem vigilância médica;
- Possam constituir um risco, direto ou indireto, para a saúde, quando sejam utilizados com frequência em quantidades consideráveis para fins diferentes daquele a que se destinam;
- Conttenham substâncias ou preparações à base dessas substâncias, cuja atividade ou reações adversas seja indispensável aprofundar;
- Destinam-se a ser administrados por via parentérica (injetável).

Neste tipo de dispensa é facultado qualquer medicamento que esteja sujeito a uma receita médica. Estas prescrições carecem de uma atitude crítica por parte do profissional de farmácia, no sentido da sua correta interpretação e avaliação (quer nos aspetos legais, quer em aspetos profissionais) para que o utente obtenha o máximo de benefício da terapêutica que lhe foi indicada.

8.1.1 Receita médica

Numa receita médica está presente qualquer medicamento que deve ser dispensado segundo uma ordem médica, podendo também conter MNSRM ou outros produtos farmacêuticos. As receitas médicas podem ser classificadas como:

- **Receita médica renovável:** a mesma apresenta uma validade de 6 meses a partir da data de emissão. Esta é composta por um original (1ª via) mais duas vias autocopiáveis (2ª e 3ª vias). Este tipo de receitas destina-se a doenças ou tratamentos

prolongados, em que os medicamentos têm que ser adquiridos mais de uma vez. Neste tipo de receitas podem ser prescritos até quatro medicamentos diferentes, num máximo de duas embalagens por medicamento e quatro embalagens no total;

- **Receita médica não renovável:** tem uma validade de 30 dias a partir da data de emissão. Neste tipo de receitas podem ser prescritos até quatro medicamentos diferentes, num máximo de duas embalagens por medicamento e quatro embalagens no total;
- **Receita médica especial:** destina-se à prescrição de estupefacientes e psicotrópicos. As receitas médicas deste tipo de substâncias são semelhantes às restantes, com a exceção de que apresentam apenas uma via e validade de 30 dias.

8.1.1.1. Receção da prescrição e confirmação da sua autenticidade

Quando o Farmacêutico recebe uma receita médica deve verificar se todos os campos obrigatórios estão preenchidos corretamente, para posteriormente ser validada. Para ser considerada válida, a receita médica deve cumprir todos os seguintes campos:

- Número da receita médica e sua representação em código de barras;
- Local da prescrição, bem como a sua representação em código de barras;
- Identificação do médico prescriptor, o nome da sua especialidade (bem como o respetivo código de barras);
- Identificação do utente, nome e o seu número de beneficiário;
- Identificação da entidade responsável dos cuidados de saúde;
- Prazo de validade da receita médica válida;
- Assinatura do médico prescriptor;
- Cada receita médica não pode exceder as quatro embalagens;
- Uma receita manual deve ser acompanhada da portaria e da respetiva exceção.

O INFARMED delegou que, a partir de 1 de junho de 2012, segundo a Portaria nº 137-A/2012, de 11 de maio,^[8] o médico tem obrigatoriamente de prescrever por (denominação comum internacional) DCI e o utente tem o direito de opção entre os medicamentos que cumpram a prescrição, ou seja, medicamentos que pertencem ao mesmo grupo homogéneo. A prescrição pode apenas ser efetuada por denominação comercial (por marca ou nome do titular de autorização de introdução no mercado) nas seguintes exceções:

- Prescrição de medicamento com substância ativa para a qual não exista medicamento genérico participado ou para a qual só exista original de marca e licenças;
- Justificação técnica do prescriptor quanto à insusceptibilidade de substituição do medicamento prescrito, sendo apenas admissível nos seguintes casos:

- Margem terapêutica estreita, a receita tem que conter a menção “Exceção a) do n.º 3 do art. 6.º”. Esta justificação está limitada ao conjunto de medicamentos previamente identificado pelo INFARMED;
- Reação adversa prévia, a receita tem de conter a menção “Exceção b) do n.º 3 do art. 6.º”. Esta alínea apenas se aplica às situações em que tenha havido reação adversa reportada ao INFARMED, isto é, a um determinado medicamento (marca comercial) e a um utente em particular, pelo que esta exceção só pode ser evocada nestas condições. Adicionalmente, o médico deve registar esta opção no processo clínico do utente, para efeitos de monitorização e controlo;
- Continuidade de tratamento superior a 28 dias, a receita tem de conter a menção “Exceção c) do n.º 3 do art. 6.º - continuidade de tratamento superior a 28 dias”. O médico pode prescrever com indicação da marca ou nome do titular em tratamentos com duração estimada superior a 28 dias.

Nos casos previstos nas alíneas a) e b) o utente não tem o direito de opção e no caso previsto na alínea c), o direito de opção do utente está limitado a medicamentos com preço igual ou inferior ao do medicamento prescrito.

Quanto à prescrição, esta deve ser efetuada por meios eletrónicos, exceto nos casos de:

- a) Falência do sistema informático;
- b) Inadaptação fundamentada do prescriptor;
- c) Prescrição ao domicílio;
- d) Outras situações até um máximo de 40 receitas médicas por mês.

As farmácias devem ter em *stock*, no mínimo, três medicamentos de cada grupo homogéneo (mesma substância ativa, forma farmacêutica e dosagem) de entre os cinco medicamentos com preço mais baixo. Os utentes devem ser informados sobre o medicamento mais barato e têm direito de opção por qualquer medicamento que cumpra a prescrição médica.

Adicionalmente, o médico deve registar esta opção no processo clínico do utente, para efeitos de monitorização e controlo. Apesar da justificação, é permitido ao utente optar por medicamentos com a mesma DCI, forma farmacêutica, dosagem e tamanho de embalagem similares ao prescrito, desde que sejam de preço inferior.

Existem várias entidades responsáveis, nas quais se deve ter em conta o acordo estabelecido, pois cada uma tem exigências diferentes. A percentagem de comparticipação varia em função da entidade e do medicamento em causa. A comparticipação do estado no preço de alguns medicamentos é fixada considerando dois regimes:

- **Regime geral** - abrange todos os utentes do Serviço Nacional de Saúde (SNS) e os trabalhadores emigrantes (presente o número de beneficiário correspondente a uma seguradora e o respetivo código de barras);
- **Regime especial** - abrange todos os utentes que obtenham condições de utentes profissionais, doentes crónicos especiais e pensionistas.

8.1.1.2 Interpretação da prescrição pelo profissional de farmácia

O farmacêutico ao receber uma receita médica deve saber interpretá-la para que, deste modo, possa esclarecer todas as dúvidas ao utente.

Antes de se efetuar a seleção de cada medicamento, o Farmacêutico deve verificar a quem se destina(m) o(s) medicamento(s), a sintomatologia apresentada bem como os aspetos terapêuticos. No momento da interpretação, o Farmacêutico deve tentar verificar quais os efeitos adversos, contra-indicações, interações e as precauções especiais a tomar para cada medicamento prescrito.

A interpretação de uma receita médica manual requer uma leitura mais rigorosa, pois alguns prescritores efetuam erros ortográficos ou apresentam uma caligrafia difícil de decifrar podendo originar erros na interpretação, podendo os mesmos levar a erros no próprio instante da seleção do produto farmacêutico.

Se surgirem algumas dúvidas relacionadas com a indicação terapêutica, posologia, interações, entre outras, o profissional deve:

- Consultar o Sifarma2000® (Informação científica do produto);
- Consultar o Índice Nacional Terapêutico;
- Consultar o resumo das características do medicamento;
- Confirmar junto dos restantes profissionais da farmácia;
- Dialogar com o utente para tentar perceber se o utente sabe para que efeito é o medicamento;
- Contactar o médico.

8.1.1.3. Seleção do medicamento

Neste momento, o Farmacêutico deve selecionar os medicamentos que poderão ser opção de escolha do utente tendo em conta a dosagem, a forma farmacêutica, o número de unidades da embalagem, o preço, a DCI ou o nome comercial (escolha do utente ou exceções). Assim sendo, nas receitas passou a estar presente o código nacional para a prescrição eletrónica de medicamentos (CNPEM), que é atribuído pelo INFARMED, a todos os medicamentos com autorização de introdução no mercado (AIM) e que nos dá acesso a todas as escolhas possíveis dentro do grupo homogéneo de cada produto farmacêutico.

As farmácias têm de dispor em *stock*, no mínimo, três medicamentos de cada grupo homogêneo (mesma substância ativa, forma farmacêutica e dosagem), de entre aqueles que correspondem aos cinco preços mais baixos e, destes, dispensar ao utente o mais barato, caso assim seja solicitado.

No caso de não existirem genéricos para aquele produto, o profissional de farmácia tem que informar o utente sobre o medicamento comercializado mais barato, similar ao prescrito.

O utente deve ainda ser informado do seu direito de opção na escolha do medicamento que cumpra a prescrição médica e da possibilidade de lhe ser disponibilizado o medicamento mais barato existente no mercado no prazo de 12 horas e sem acréscimo de custo, caso este não exista em *stock* da farmácia.

8.1.1.4. Informação ao utente

É nesta etapa que surge uma relação mais estreita entre o profissional de farmácia e o utente, na qual o diálogo é um procedimento decisivo para que o atendimento seja efetuado com o devido aconselhamento, eficácia e competência. O aconselhamento é essencial em qualquer atendimento, mas é de maior relevância quando se trata de uma terapêutica inicial.

Informação Escrita:

- Utilizar linguagem/símbolos adequados e compreensíveis para cada utente;
- A informação escrita deve conter posologia; indicações consoante o medicamento e prescrição médica (horário, intervalo entre as tomas, efeitos secundários mais relevantes) bem como a duração do tratamento.

Informação Verbal:

- Complementar a informação escrita;
- Reforçar a adesão à terapêutica;
- Referir as condições de armazenamento (quando necessário);
- Solucionar todas as dúvidas colocadas pelo utente;
- Dialogar e questionar o utente para assegurar a compreensão da informação fornecida.

Este tipo de informação é muito importante uma vez que o público que se dirige à farmácia é muito diversificado e o Farmacêutico deve estar preparado para esclarecer qualquer dúvida que surja no momento do atendimento.

8.1.1.5. Medicamentos psicotrópicos e estupefacientes

Os medicamentos psicotrópicos e estupefacientes são substâncias extremamente importantes para a medicina e as suas propriedades, desde que utilizadas de forma correta, podem trazer benefícios terapêuticos a um número alargado de situações de doença.

Os Psicotrpicos são utilizados para melhorar a capacidade de raciocínio e rendimento, aliviar dor corporal e elevar o estado de ânimo. Por outro lado, os Estupefacientes provocam alterações físicas e psíquicas e podem originar um estado de apatia, entorpecimento, causando dependência.

As farmácias devem obedecer, de forma rigorosa, a todos os requisitos relacionados com este tipo de medicamentos no que diz respeito à aquisição, ao armazenamento e à dispensa.

As substâncias psicotrópicas e estupefacientes encontram-se listados no Decreto-Lei n.º 15/93, de 22 de janeiro,^[9] sendo este o documento que regulamenta estes medicamentos.

Aquando da receção, em anexo à fatura, vem uma guia de requisição própria (original e duplicado), onde constam apenas estes medicamentos, tal como já foi referido. As entradas e saídas deste tipo de medicamento ficam registadas com um código próprio.

Na receita deve constar o nome do medicamento, a dosagem, forma farmacêutica, posologia, quantidade, tamanho da embalagem, data e assinatura do médico e a vinheta do local da prescrição. Em alguns casos, estas receitas são acompanhadas de um despacho correspondente a cada situação. Para estes produtos, as receitas têm de obedecer a algumas regras nomeadamente, estes produtos têm de ser prescritos isoladamente, isto é, a receita não pode conter outros medicamentos e as receitas eletrónicas têm de mencionar receita especial (RE).

No momento da dispensa do medicamento, o sistema informático *Sifarma2000*[®], após a leitura ótica do código de barras do medicamento, fornece um formulário que tem que ser corretamente preenchido. Neste formulário deve-se preencher obrigatoriamente a identificação do médico, a identificação do utente e a identificação do adquirente (próprio utente ou outro adquirente, no qual se devem colocar os dados biográficos). No fim da dispensa são emitidos dois documentos que contêm a informação cedida no formulário, para anexar à cópia da receita.

Segundo a Portaria n.º137-A/2012 de 11 de maio,^[8] o Diretor Técnico, deve enviar para o INFARMED até ao dia 8 de cada mês, os duplicados das receitas manuscritas, para o controlo do receituário. Trimestralmente devem ser enviados os registos de saídas dos estupefacientes e psicotrópicos correspondentes a esses períodos. Anualmente (até dia 31 de janeiro de cada ano), também, é enviado o relatório anual com balanço de estupefacientes e psicotrópicos e o mapa de balanço de entrada e saída de benzodiazepinas do ano em questão. É de referir

que existe um arquivo de receitas onde se guardam, por um período de três anos, as receitas por ordem de aviamento.

8.1.2 Medicamentos veterinários

Segundo o Decreto-Lei nº 148/2008 de 29 de julho, alterado pelo Decreto-Lei nº 314/2009 de 28 de outubro, define-se medicamento veterinário *“toda a substância, ou associação de substâncias, apresentada como possuindo propriedades curativas ou preventivas de doenças em animais ou dos seus sintomas, ou que possa ser utilizada ou administrada no animal, com vista a estabelecer um diagnóstico médico-veterinário ou, exercendo uma ação farmacológica, imunológica ou metabólica, a restaurar, corrigir ou modificar funções fisiológicas”*. Exemplo: Zootetracil® indicado para peeia, feridas, dermatites, abscessos, pústulas e feridas de castração para bovinos, caprinos, suínos, equinos, ovinos, coelhos aves, cães e gatos. ^[10]

Na Farmácia Taborda a procura de produtos de uso veterinário (PUV) destina-se maioritariamente a animais domésticos (cão e gato), sendo os produtos mais vendidos os antiparasitários. De acordo com o Decreto-Lei n.º 232/99 de 24 de junho, os PUV são *“a substância ou mistura de substâncias destinadas quer aos animais, para tratamento ou prevenção das doenças e dos seus sintomas, manejo zootécnico, promoção do bem-estar e estado hígio-sanitário, correção ou modificação das funções orgânicas ou para diagnóstico médico, quer às instalações dos animais e ambiente que os rodeia ou a atividades relacionadas com estes ou com os produtos de origem animal”*.^[11]

8.2. Medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM)

De acordo com o Decreto-Lei n.º 209/94 de 6 de agosto - classificação de medicamentos quanto à dispensa ao público:

- 1) Os medicamentos não sujeitos a receita médica não são comparticipáveis, salvo em casos excecionais, devidamente justificados por razões de saúde pública;
- 2) Os medicamentos não sujeitos a receita médica quando comparticipados ficam sujeitos ao regime de preços estabelecido para os medicamentos sujeitos a receita médica.^[12]

A utilização de MNSRM, para alívio ou supressão de algumas queixas de saúde passageiras e sem gravidade, é hoje uma prática integrante do sistema de saúde e é neste momento que intervém a indicação farmacêutica, no sentido de que cabe ao Farmacêutico o papel de aconselhar sobre as opções disponíveis, informar sobre as condições de utilização, sobre as circunstâncias em que deve ser consultado o médico, bem como, proceder à dispensa do medicamento.

A utilização de MNSRM deverá ser limitada no tempo e de acordo com as informações veiculadas no folheto informativo. Não é recomendada em bebés, nem durante a gravidez e o aleitamento.

A automedicação faz parte da nossa sociedade e o seu aumento é inevitável, uma vez que a dispensa destes é facilitada pela sua distribuição em farmácias, para-farmácias e outros estabelecimentos como alguns supermercados. Deste modo, o fácil acesso a estes medicamentos promove a sua aquisição, conduzindo a uma situação de uso irracional. Contudo, há que ter alguma precaução com os medicamentos, pois estes não são isentos de riscos e complicações. Todos os medicamentos têm efeitos secundários.

Durante o meu estágio este cenário foi muito comum, sendo por isso é necessário estabelecer um diálogo correto entre o utente e o Farmacêutico para que a escolha do tratamento seja mais adequado para o primeiro.

As situações de venda de MNSRM que se revelaram mais frequentes na Farmácia Taborda e que verifiquei no decorrer do meu estágio foram as seguintes:

- Gripes: analgésicos e antipiréticos;
- Corrimento nasal/alergias: anti-histamínicos, descongestionantes;
- Tosse: antitússicos e expetorantes;
- Dores de garganta: pastilhas para a garganta com ação analgésica, anti-inflamatória e demulcente;
- Obstipação: laxantes;
- Fraqueza muscular/cerebral/falta de apetite e concentração infantil: suplementos alimentares.

É ainda de referir que, quanto à automedicação existem protocolos específicos que quando adotados na prática promovem uma maior adequação e homogeneidade de comportamentos de todos os que devem contribuir para a melhoria da saúde, nomeadamente os próprios doentes, os profissionais, as empresas e as autoridades.^[13]

No caso de os MNSRM serem insuficientes para o desaparecimento da patologia, o utente é direcionado para uma referência médica (RM). Em todas as circunstâncias, o profissional de saúde deve ter uma atitude de ética profissional e não deve incentivar a aquisição de medicamentos desnecessários.

8.3. Produtos cosméticos

De acordo com o Regulamento da União Europeia nº 1197/2013, um produto cosmético é *“qualquer substância ou mistura destinada a ser posta em contacto com as partes externas do corpo humano (epiderme, sistemas piloso e capilar, unhas, lábios e órgãos genitais*

externos) ou com os dentes e as mucosas bucais, tendo em vista, exclusiva ou principalmente, limpá-los, perfumá-los, modificar-lhes o aspeto, protegê-los, mantê-los em bom estado ou de corrigir os odores corporais”.^[14]

Na maioria das vezes o utente procura estes produtos sem aconselhamento médico, possuindo o profissional de farmácia um papel fundamental na orientação. Do mesmo modo, o profissional de farmácia deve saber diferenciar entre um problema meramente estético e uma condição mais grave que requeira referência médica, devendo possuir a capacidade de reconhecer e distinguir as principais patologias da pele, como a acne, a psoríase, a rosácea, o eczema e possíveis hiperpigmentações e descamações.

Nesta secção incluem-se vários produtos de várias marcas desde cremes hidratantes, antirrugas, protetores solares, loções de corpo, leite de limpeza, champôs, tintas para o cabelo, produtos de cosmética para bebés, entre outros. Assim, existe uma panóplia imensa deste género de produtos.

Tendo em conta uma grande panóplia de oferta que esta classe de produtos apresenta, na Farmácia Taborda foi necessário optar por diversas gamas em prol de outras, mediante critérios como a qualidade, público-alvo e variedade oferecida. Assim sendo, as gamas que podem ser encontradas neste estabelecimento são produtos da *Roche-Posay*[®], *Ducray*[®], *Lutsine*[®], *Aveeno*[®] *Avéne*[®] e *Uriage*[®], tendo estas marcas, gamas mais direcionadas para o tratamento de algumas patologias de pele, tais como rosáceas, eczemas pele atópica, psoríase e pele acneica.

Para uma vertente mais cosmética e estética a farmácia dispõe de outras gamas como a *Galenica*[®], *Lierac*[®], *Roc*[®], *Vichy*[®], *La Roche Posay*[®], *Pure altitude*[®], e *Avéne*[®]. Estes produtos apresentam linhas de rosto, corpo, podologia, protetores solares e tratamento capilar. Para o tratamento específico capilar e couro cabeludo a Farmácia Taborda dispõe das marcas *Phyto*[®] e *Rene Furterer*[®].

8.4 Produtos dietéticos para alimentação especial

Os produtos dietéticos para alimentação especial são utilizados em condições fisiológicas de necessidade muito específicas, sendo na maioria das vezes procurados após aconselhamento médico baseado nas necessidades nutricionais dos utentes.

Desta forma, embora não haja na Farmácia Taborda um *stock* vasto de produtos dietéticos para alimentação especial, esta encontra-se preparada para responder, em tempo útil, às necessidades dos seus utentes, garantindo deste modo o abastecimento célere dos utentes que habitualmente procuram estes produtos na farmácia. No entanto, não me foi possível ver nenhuma dispensa deste tipo de produtos, uma vez que durante o decorrer do estágio não houve nenhuma venda deste tipo de produtos.

8.5 Produtos dietéticos infantis

Nesta área, a importância do aconselhamento é muito grande pois há uma grande diversidade de produtos e nem sempre o utente os consegue diferenciar corretamente.

Na Farmácia Taborda os produtos infantis são os mais procurados, embora muitas vezes seja após o aconselhamento médico baseado nas necessidades nutricionais das crianças. Entre os mais solicitados encontram-se os leites preparados (anti-regurgitantes, anti-obstipantes, hipoalergénicos, de transição) e as farinhas com e sem glúten.

O decreto-lei n.º217/2008 de 11 de novembro, estabelece o regime jurídico para as fórmulas para lactentes e fórmulas de transição.^[15] É papel do Farmacêutico aconselhar e promover o aleitamento materno pelos benefícios demonstrados.

8.6. Produtos de fitoterapia e nutracêuticos

A área da fitoterapia e dos suplementos nutricionais está cada vez mais presente na vida dos Farmacêuticos comunitários, pelo que a formação nesta área é determinante. É de salientar a possibilidade de ocorrência de um grande tipo de interações aquando da utilização concomitante deste tipo de produtos com medicamentos, como por exemplo entre o hipericão e outros medicamentos.

O aconselhamento Farmacêutico torna-se um ponto fulcral nesta esfera, de forma a garantir a segurança e eficácia da utilização de medicamentos, maximizando deste modo o seu potencial terapêutico e minimizando as interações e reações adversas.

Na Farmácia Taborda, tive a oportunidade de dispensar alguns destes produtos, tais como chás (barbas de milho, hipericão, chá verde, etc.). Além destes existem suplementos nutricionais que são muito requisitados, tais como, *Centrum*[®], *Cerebrum*[®], *Antistax*[®], *Arkocápsulas*[®], entre muitos outros.

Importa salientar que por esta razão é muito importante adequar os diferentes suplementos às necessidades e características fisiopatológicas de cada utente, de modo a reduzir os riscos que podem estar associados à incorreta utilização dos mesmos.

8.7 Dispositivos Médicos

Para além dos medicamentos, por vezes é aconselhada a utilização de determinados dispositivos médicos. Do grupo de dispositivos médicos fazem parte uma diversidade de produtos, destinados a fins comuns aos dos medicamentos, como são prevenção, diagnóstico ou tratamento. A principal diferença entre este tipo de produtos e medicamentos é o mecanismo de ação, uma vez que os primeiros não possuem ações farmacológicas, metabólicas ou imunológicas.

Dispositivos médicos segundo o Decreto-Lei nº 273/95 de 23 de outubro, artigo 3 são “qualquer instrumento, aparelho, equipamento, material ou artigo utilizado isoladamente ou combinado, incluindo os suportes lógicos necessários para o bom funcionamento, cujo principal efeito pretendido no corpo humano não seja alcançado por meios farmacológicos, imunológicos ou metabólicos, embora a sua função possa ser apoiada por esses meios e seja destinado pelo fabricante a ser utilizado em seres humanos para fins de diagnóstico, prevenção, controlo, tratamento ou atenuação de uma doença, de uma lesão ou de uma deficiência, estudo, substituição ou alteração da anatomia ou de um processo fisiológico e controlo da concepção”.^[16]

Na Farmácia Taborda, foi-me possível dispensar alguns deles, tais como, saco coletor de urina, fraldas, pulsos elásticos, joelheiras, canadianas, óculos corretivos, termómetros, seringas, lancetas.

8.8 Produtos destinados ao autocontrolo da Diabetes mellitus

A vigilância da Diabetes *mellitus* é de extrema importância no contexto da farmácia comunitária. São dispensadas tiras-teste para a determinação da glicémia bem como agulhas, e lancetas destinadas ao controlo dos doentes com diabetes. De referir que as prescrições deste tipo de produtos não podem conter outros medicamentos/produtos, sendo as restantes regras de prescrição comuns aos medicamentos.

A prescrição destes produtos pode ser efetuada em receitas renováveis e segue as mesmas regras que os medicamentos, nomeadamente no que respeita ao número de embalagens por receita.

8.9 Produtos de ortopedia e material de penso

Os dispositivos médicos englobam um vasto conjunto de produtos com grande importância. Na Farmácia Taborda, existe uma grande variedade deste tipo de produtos:

- Dispositivos utilizados para suporte externo do paciente (canadianas, muletas, cadeira de rodas e andarilhos);
- Dispositivos ativos de medição (termómetro, medidores de tensão);
- Dispositivos não invasivos que contactam com pele lesada (ligaduras e pensos);
- Recipientes esterilizados para a colheita de amostras (colheita de urina e de fezes);
- Dispositivos ortopédicos (calçado ortopédico, meias, pulsos, joelheiras elásticas para fins médicos).

9. Preparação de medicamentos

9.1 Preparação de manipulados

Considera-se como manipulado qualquer fórmula magistral ou preparado oficial, preparado e dispensado sob a responsabilidade de um Farmacêutico.

Atualmente o número de prescrições para a preparação de medicamentos manipulados é muito baixo. Durante o estágio não me foi oportuno observar nem preparar nenhum manipulado, no entanto, interpretei algumas prescrições que já tinham sido preparadas.

Neste âmbito, a Farmácia Taborda está equipada com todo o material de laboratório necessário à sua preparação, tal como é exigido na Deliberação n.º 1500/2004 de 7 de dezembro.^[2] Quanto à prescrição e à preparação de medicamentos manipulados, encontram-se regulamentados pelo Decreto-Lei n.º 95/2004 de 22 de abril.^[17]

Uma das prescrições que interpretei foi da suspensão oral de Trimetropim 1%, que é um dos manipulados mais prescritos. Foi-me também explicado o preenchimento de uma ficha de preparação, onde deve ser registado o número de lote, as substâncias utilizadas e o respetivo lote, o modo de preparação, os dados do utente e do prescriptor, o controlo de qualidade, os prazos de utilização bem como as condições de conservação.

Junto com este documento vem uma página destinada ao cálculo do respetivo preço de venda ao público, tendo-me sido ensinado a efetuá-lo, tendo em conta o valor dos honorários da preparação, o valor das matérias-primas e o valor dos materiais de embalagem.

Os medicamentos manipulados podem ser também comparticipados em 30% do seu preço. Esta condição aplica-se aos preparados oficiais incluídos na farmacopeia portuguesa ou no formulário galénico nacional e igualmente às fórmulas magistrais que constam da lista de medicamentos manipulados, de acordo com o Decreto-Lei n.º 48-A/2010.^[18] O despacho n.º 18694/2010 de 18 de novembro define a lista de medicamentos comparticipados.^[19]

Esta comparticipação apenas é válida se na receita for prescrito isoladamente o medicamento manipulado. Além disso o medicamento manipulado comparticipado deve ser prescrito através de indicação da(s) substância(s) ativa(s), concentração da(s) mesma(s), excipiente(s) e forma farmacêutica. Quando na prescrição existe referência a marcas de medicamentos, produtos de saúde ou outros produtos, a receita não é comparticipada. Na receita tem que vir expresso faça segundo a arte (FSA).

Toda a preparação foi feita de acordo com as “Boas Práticas na Preparação de Medicamentos Manipulados”, estabelecidas pela Portaria n.º 594/2004 de 2 de junho. Nesta, estão contempladas algumas normas sobre a preparação e supervisão do processo, bem como sobre as instalações e equipamentos.^[20]

A dispensa do manipulado elaborado foi feita numa embalagem apropriada e devidamente rotulada. O rótulo inclui informações como:

- Identificação da farmácia;
- Identificação do Diretor Técnico;
- Nome do utente;
- Formulação do medicamento;
- Número do lote atribuído ao medicamento preparado;
- Prazo de validade;
- Condições de conservação do medicamento;
- Instruções especiais (por exemplo, uso externo);
- Via de administração;
- Posologia.

9.2 Preparações extemporâneas

As preparações extemporâneas mais preparadas na farmácia comunitária são as soluções orais de antibióticos para uso pediátrico.

As preparações extemporâneas são reconstituídas com base nas indicações especificadas pelo fabricante no rótulo das embalagens, devendo o Farmacêutico garantir o correto manuseamento das preparações e prestar as indicações necessárias ao utente para o bom uso e acondicionamento da preparação.

10. Serviços de Saúde

Cada vez mais a farmácia tem-se tornado num espaço de saúde, dispondo de diversos serviços que promovem o bem-estar e a saúde dos utentes. Uma dessas ferramentas é a determinação de parâmetros bioquímicos e fisiológicos.

Para além dos serviços normais de dispensa de medicamentos, a Farmácia Taborda, possui um grande leque de outros serviços, nomeadamente administração de vacinas e injetáveis, diagnóstico de pele e capilar, acompanhamento de utentes, serviços de nutrição, medição de glicémia, colesterol total, triglicéridos, ácido úrico, razão normalizada internacional (INR), teste de gravidez, medição de peso, tensão arterial e índice de massa corporal (IMC), essenciais para promover o bem-estar dos seus utentes. Têm ainda à sua disposição testes de rastreio com maior facilidade e em ambiente tranquilo e de confidencialidade.

Durante o estágio determinei o peso, altura e tensão arterial a alguns utentes. Além disso utilizei um equipamento disponível que permite a medição do colesterol total, triglicéridos, ácido úrico e glicémia, entre outros.

Previamente à determinação destes parâmetros, surgiu a necessidade de colocar algumas questões, que dependem do tipo de teste, tais como se está em jejum, se praticou algum tipo de exercício físico ou tomou café, se veio até à Farmácia a andar, entre outras. Esta avaliação é fundamental para uma correta interpretação de valores. Estas são ferramentas muitas vezes utilizadas pelos utentes para complementar o controlo de uma terapêutica instituída.

Os utentes da Farmácia Taborda, pode contar igualmente com um serviço de preparação individualizada da medicação. Este serviço consiste em preparar a medicação individualizada para doentes crónicos e para todas as pessoas que apresentem dificuldades na gestão da medicação, tais como, utentes polimedicados, utentes que têm um regime terapêutico complexo ou utente que têm apenas dificuldades de adesão à terapêutica. Deste modo, este serviço vai ajudar o utente a tomar o medicamento certo, no dia e à hora certa, o que resulta resultando numa melhor adesão à terapêutica, garantindo uma melhor efetividade e segurança dos seus medicamentos.

11. Contabilidade e gestão

O Farmacêutico tem um papel de extrema importância na gestão da farmácia pelo que deve estar familiarizado com diversos conceitos de documentos contabilísticos.

11.1 Gestão e formação contínua de recursos humanos

De acordo com o Decreto-Lei nº 307/2007 de 31 de agosto,^[1] todas as farmácias devem obrigatoriamente dispor de, pelo menos, um Diretor Técnico e de outro Farmacêutico, os quais podem ser coadjuvados por técnicos de farmácia ou por outro pessoal devidamente habilitado, no entanto, os Farmacêuticos devem constituir, tendencialmente, a maioria dos trabalhadores da farmácia, de modo a supervisionar, verificar e avaliar as tarefas delegadas no pessoal de apoio, intervindo sempre que necessário.

O Farmacêutico deve manter-se informado tanto a nível científico, ético como legal e assumir um nível de competência adequado à prestação de uma prática eficiente, pelo que a formação contínua é uma obrigação profissional. Esta deve incluir a frequência de cursos de formação científica e técnica, simpósios, congressos, encontros profissionais e científicos, sessões clínicas internas da farmácia, e ainda a leitura de publicações que contribuam para a sua atualização profissional e reforço das suas competências.

As atividades profissionais com relevância curricular devem ser registadas de modo a que o *curriculum vitae* do Farmacêutico esteja permanentemente atualizado. É importante salientar que o Farmacêutico deve garantir igualmente que o pessoal de apoio possua formação atualizada para as tarefas que desempenha.

Durante o decorrer do estágio tive a oportunidade de participar em algumas ações de formação:

- Curso “Formação Comercial Futuro”, com a duração de 60 minutos, na Farmácia Taborda, Fundão, no dia 21 de março de 2014;
- Curso - Empresa GLOBALVET - “Espaço animal: bovinos, ovinos e suínos”, com a duração de 120 minutos, na PLURAL, Tortosendo, no dia 24 de março de 2014;
- Curso - Empresa PREVENTIA- “Segurança, higiene e saúde no trabalho”, com a duração de 120 minutos, na Farmácia Taborda, Fundão, no dia 26 de março de 2014.

Foi-me também pedido que concebesse uma sessão de formação dirigida a toda a equipa da Farmácia Taborda, com um tema à minha escolha. Deste modo, nos dias 11 e 16 de abril foi-me permitido dar essa sessão de formação intitulada “Seguimento Farmacoterapêutico - Método de Dáder”, nas instalações da Farmácia Taborda, com a duração de aproximadamente 20 minutos.

11.2 Legislação laboral

Na Farmácia Comunitária o período normal de trabalho não deve exceder as 8 horas por dia e as 40 horas por semana. O trabalhador não pode prestar mais de 5 horas de trabalho consecutivo, sendo obrigatório um período de descanso não inferior a 1 hora nem superior a 2 horas.

Ao fim de um ano de trabalho adquire-se o direito a 22 dias úteis de férias. Este é um direito irrenunciável, o que significa que não é possível substituí-lo por uma compensação monetária. A assiduidade do trabalhador é recompensada através do aumento da duração do período de férias para 25 dias úteis, desde que não tenha mais do que três faltas justificadas (três dias ou 6 meios dias), no ano a que as férias se reportam.

Na Farmácia Taborda são mantidos registos relativamente aos quadros da farmácia, dos cargos de cada elemento, das horas de trabalho diárias e semanais, da remuneração, das folgas, das férias, formação contínua e da higiene e segurança no trabalho.

11.3 Faturação

Diariamente as receitas são conferidas pelas farmacêuticas. Posteriormente, estas são organizadas por organismos e lote de trinta receitas. O profissional, ao corrigir a receita, deve verificar:

- O organismo de comparticipação (deve coincidir com o que está no cabeçalho da receita);

- As vinhetas presentes;
- Número do utente indicado;
- Preço do medicamento;
- Nome e assinatura do médico;
- Data da prescrição;
- Medicamentos prescritos - cedidos corretamente, tendo em conta a forma farmacêutica, dosagem, quantidade e código de barras (se aplicável);
- Receita médica dentro do prazo de validade.

À medida que os lotes vão ficando completos, efetua-se a emissão do respetivo “Verbete de Identificação do Lote”, sendo anexado o lote depois de carimbada a folha. Em cada um deles está presente o organismo, o lote, o número das receitas e o respetivo valor (preço total, preço pago pelo utente e respetiva participação).

No final de cada mês procede-se ao fecho dos lotes para cada organismo, mesmo que o último lote não tenha 30 receitas, e emitem-se dois novos documentos:

- Relação Resumo dos Lotes: emitindo um resumo dos vários lotes emitidos para cada organismo;
- Fatura Mensal dos Medicamentos (anexada à Relação de Resumo de Lotes): elaborada para cada organismo. Além do número total de lotes e receitas, apresenta o valor a pagar pelo utente e o valor total a pagar pela entidade.

Após a emissão dos referidos documentos, estes são enviados por correio à ANF e para o Centro de Conferência de Faturas (CCF) até ao dia 10 do mês seguinte ao do fornecimento. Posteriormente, estas receitas são conferidas pelas entidades responsáveis para que as farmácias possam ser reembolsadas. Quando existem irregularidades não detetadas, assim as receitas são devolvidas à farmácia com o respetivo motivo da devolução e não ocorre o pagamento da participação.

Em alguns casos, a Farmácia pode tentar corrigir o(s) erro(s) da receita sendo depois reenviadas no mês seguinte, para que o valor de participação não seja dado como perdido. No decorrer do meu estágio tive oportunidade de lidar com todo este tipo de tratamento de receituário.

11.4 Documentos contabilísticos

Para a sua contabilidade, a Farmácia Taborda trabalha com uma empresa de contabilidade. Esta é uma prática cada vez mais frequente, uma vez que o Farmacêutico tem apenas noções mínimas de contabilidade, de modo a lhe permitir fazer a ligação com esses serviços e, saber interpretar a informação por eles fornecida.

Quando se fala de contabilidade e gestão, é incontornável falar de toda uma panóplia de documentos, e cuja organização é central para o seu bom funcionamento. Os documentos contabilísticos mais correntes são as guias de remessa, as faturas, os recibos, as notas de devolução, as notas de crédito, o inventário e o balancete.

11.5 Aspetos fiscais

No contexto da farmácia comunitária existem diversas formas de incidência fiscal, tais como o Imposto sobre o Rendimento das Pessoas Singulares (IRS), o Imposto sobre o Rendimento das Pessoas Coletivas (IRC) e o IVA. Na Farmácia Taborda a gestão destes impostos encontra-se a cargo da empresa de contabilidade, tal como referi anteriormente.

12. ValorMed

De forma a minimizar o impacto ambiental e da saúde pública, é necessário que os medicamentos fora de uso sejam descartados de forma correta, deste modo a gestão de resíduos torna-se essencial para as sociedades modernas. A ValorMed, sociedade gestora do Sistema Integrado de Gestão de Resíduos de Embalagens e Medicamentos (SIGREM) fora de uso é uma mais-valia para a proteção do meio ambiente.

Durante o atendimento cabe ao Farmacêutico informar e sensibilizar os utentes para a entrega dos medicamentos que já não usam ou que estão fora do prazo de validade, na farmácia. Os medicamentos entregues por estes na farmácia são colocados dentro de sacos próprios da ValorMed, que depois de fechados são colocados numa caixa de cartão destinada a esse efeito. Esta, quando se encontra cheia é pesada, selada e é feito um registo, em ficha própria, do peso, código da farmácia e responsável pela selagem. Depois de recolhidos nas farmácias são então enviados pelo fornecedor para serem tratados.

13. Farmacovigilância

Na década de 60, a Organização Mundial de Saúde (OMS), na sequência da necessidade de promover a rápida disseminação da informação relativa a reações adversas, desenvolveu um projeto-piloto de investigação de monitorização internacional, com o objetivo de desenvolver um sistema, aplicável em todo o mundo, de deteção de reações adversas a medicamentos previamente desconhecidas.

Segundo as Boas Práticas Farmacêuticas (BPF) *“A farmacovigilância é a atividade de saúde pública que tem por objetivo a identificação, quantificação, avaliação e prevenção dos riscos associados ao uso dos medicamentos em comercialização, permitindo o seguimento dos possíveis efeitos adversos dos medicamentos.”*^[3]

O Sistema nacional de farmacovigilância (SNF) encontra-se regulamentado pelo Decreto-Lei n.º 242/2002 de 5 de Novembro, com a colaboração dos diferentes parceiros, o INFARMED prossegue os seguintes objetivos no âmbito da farmacovigilância:

- Monitorizar a segurança dos medicamentos na prática clínica;
- Identificar precocemente possíveis reações adversas;
- Avaliar a relação benefício-risco dos medicamentos e as implicações para a saúde pública;
- Intervir para minimizar o risco e maximizar o benefício;
- Transmitir, aos profissionais de saúde e ao público em geral, informação sobre dados de segurança;
- Monitorizar o impacto das ações desenvolvidas.^[21]

Quando se deteta uma reação adversa a medicamentos (RAM), esta deverá ser registada através do preenchimento de um formulário (ANEXO 3) a enviar às autoridades de saúde, de acordo com os procedimentos nacionais de farmacovigilância. Na notificação espontânea de RAM o Farmacêutico deve obter informação sobre:

- Descrição da reação adversa, bem como a sua duração, gravidade e evolução;
- Relação dos sinais e sintomas com a toma dos medicamentos;
- Medicamento suspeito, bem como data de início e de suspensão do medicamento, o seu lote, via de administração e indicação terapêutica;
- Outros medicamentos que o utente esteja a tomar.

14. Considerações finais

A Farmácia comunitária deve assegurar qualquer terapêutica medicamentosa possível, excetuando medicação exclusiva hospitalar, bem como pode efetuar serviços que contribuam para o bem-estar dos utentes.

Durante o meu período de estágio na Farmácia Taborda foi-me proposto desenvolver diversas atividades, onde tive oportunidade de aplicar os conhecimentos por mim adquiridos ao longo do curso, foi-me igualmente transmitido todo o conhecimento fundamental acerca da organização e do funcionamento de uma farmácia comunitária, bem como acerca das diferentes funções desempenhadas pelo Farmacêutico.

Nos dias de hoje, essas funções traduzem-se numa afirmação crescente que ultrapassa o papel do Farmacêutico enquanto técnico do medicamento, passando este a centrar-se cada vez mais no doente/utente.

As farmácias abertas ao público garantem, através do desempenho profissional do Farmacêutico, a segurança, a eficácia e a qualidade da distribuição de medicamentos e de

outros produtos e estas estão cada vez mais empenhadas a ter um papel cada vez mais notório na adesão à terapêutica e na prevenção das reações adversas resultantes da polipragmasia.

Ao finalizar este estágio, na Farmácia Taborda, apercebi-me de ter vivido uma experiência extremamente enriquecedora e muito gratificante, tanto a nível pessoal como profissional, que ultrapassou todas as minhas expectativas. Durante estes 3 meses foi-me possível integrar muitas matérias aprendidas durante o Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, adquirindo ainda novas competências necessárias para a prática da profissão farmacêutica na área da farmácia comunitária. Sinto realmente que estes meses além, de terem passado extremamente rápidos, foram um período muito enriquecedor a nível de conhecimentos práticos, teóricos e de algumas amizades, sentindo-me assim ainda mais motivada, dado que com esta experiência da realidade vemos um pouco daquilo que nos espera daqui a uns tempos, e de como poderá ser o futuro laboral.

Bibliografia

- [1] Decreto-Lei n.º 307/2007 de 31 de agosto - Regime jurídico das farmácias de oficina. Legislação Farmacêutica Compilada. INFARMED - Gabinete Jurídico e Contencioso. 2007;
- [2] Deliberação n.º 1500/2004 de 7 de dezembro - Aprova a lista de equipamento mínimo de existência obrigatória para as operações de preparação, acondicionamento e controlo de medicamentos manipulados, que consta do anexo à presente deliberação e dela faz parte. INFARMED - Gabinete Jurídico e Contencioso. 2004;
- [3] Boa Práticas Farmacêuticas para a Farmácia Comunitária. 3ª ed. Conselho Nacional de Qualidade, Ordem dos Farmacêuticos. 2009;
- [4] Ordem dos Farmacêuticos - Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos;
- [5] ANF. FARMÁCIA PRÁTICA: “Suplementos Alimentares” - Prática de Informação na Farmácia [online julho/setembro 2013] (acedido: a 20 de Maio de 2014). Disponível em: http://www.anf.pt/images/stories/temp2011/noticias/F-PRATICA37_VF.pdf;
- [6] 8ª Farmacopeia Portuguesa; 1º Volume; 2005;
- [7] Decreto-Lei n.º 176/200, de 30 de agosto - Estatuto do Medicamento. INFARMED - Gabinete Jurídico e Contencioso. 2006;
- [8] Portaria n.º 137-A/2012 de 11 de maio. Ministério da Saúde. Diário da República, 1ª série, N.º 92. INFARMED - Gabinete Jurídico e Contencioso.2012;
- [9] Decreto-Lei n.º 15/93 de 22 de janeiro - Regime jurídico do tráfico e consumo de estupefacientes e psicotrópicos. INFARMED - Gabinete Jurídico e Contencioso.1993;
- [10] Decreto-Lei n.º 148/2008 de 29 de julho com a redação que lhe foi dada pelo Decreto-Lei n.º 314/2009 de 28 de outubro - Medicamentos ou medicamentos veterinários que resultem de uma utilização especial. INFARMED - Gabinete Jurídico e Contencioso. 2008;
- [11] Decreto-Lei n.º 232/99 de 24 de junho - Estabelece as normas relativas ao fabrico, autorização de introdução no mercado, armazenamento, transporte, comercialização e utilização de produtos de uso veterinário. INFARMED - Gabinete Jurídico e Contencioso. 1999;
- [12] Decreto-Lei n.º 209/94 de 6 de agosto -Classificação de medicamentos quanto à dispensa ao público. INFARMED - Gabinete Jurídico e Contencioso;
- [13] Ordem dos Farmacêuticos: “Indicação Farmacêutico no uso racional de MNSRM - Protocolo da Febre” (acedido: a 28 de abril de 2014), Edição 2006. Disponível em: http://ofporto.org/upload/documentos/100441-Protocolo_febre.pdf;

[14] Regulamento (UE) n.º 1197/2013 da Comissão, de 25 de novembro de 2013 - Produtos Cosméticos. Jornal Oficial da União Europeia. 2013;

[15] Decreto-Lei n.º 217/2008, de 11 de novembro - Estabelece o regime jurídico para fórmulas para lactentes e fórmulas de transição. INFARMED - Gabinete Jurídico e Contencioso. 2008;

[16] Decreto-Lei n.º 273/95 de 23 de outubro - Regras a que devem obedecer o fabrico, a comercialização e a entrada em serviço dos dispositivos médicos e respetivos acessórios. INFARMED - Gabinete Jurídico e Contencioso. 1995;

[17] Decreto-Lei n.º 95/2004 de 22 de abril - Regula a prescrição e a preparação de medicamentos manipulados. INFARMED - Gabinete Jurídico e Contencioso. 2004;

[18] Decreto-Lei n.º 48-A/2010 de 13 de maio - Aprova o regime geral das participações do Estado no preço dos medicamentos. INFARMED - Gabinete Jurídico e Contencioso. 2010;

[19] Despacho n.º 18694/2010 de 18 de novembro - Estabelece as condições de participação de medicamentos manipulados e aprova a respetiva lista. INFARMED - Gabinete Jurídico e Contencioso. 2010;

[20] Portaria n.º 594/2004 de 2 de junho - Aprova as Boas práticas a observar na preparação de medicamentos manipulados em farmácia de oficina e hospitalar. INFARMED - Gabinete Jurídico e Contencioso. 2004;

[21] Decreto-Lei n.º 242/2002 de 5 de novembro - Sistema Nacional de Farmacovigilância. INFARMED - Gabinete Jurídico e Contencioso. 2002.

Capítulo II - Farmácia Hospitalar

Introdução

A componente de estágio curricular no contexto da Farmácia Hospitalar, em ambiente hospitalar, foi realizada nos Serviços Farmacêuticos da Unidade Local de Saúde (ULS) da Guarda, no Hospital Sousa Martins (HSM), com duração total de 320 horas, realizadas entre o dia 5 de maio de 2014 e 20 de junho de 2014. A coordenação do estágio esteve a cargo do Dr. Jorge Aperta.

No presente relatório descrevem-se as atividades desenvolvidas no decorrer do estágio, bem como caracterizar os principais aspetos relacionados com a estrutura e funcionamento da farmácia hospitalar.

Os objetivos gerais do estágio consistiram em:

- Desenvolver competências científicas e técnicas que nos permita a realização de atividades subjacentes à profissão de Farmacêutico no enquadramento da farmácia hospitalar;
- Aplicar os princípios éticos e deontológicos subjacentes à profissão;
- Responder aos desafios profissionais com inovação, criatividade e flexibilidade.

Os objetivos específicos a serem atingidos foram:

- Caracterizar a estrutura física e organizacional dos serviços farmacêuticos;
- Descrever o circuito do medicamento desde a sua prescrição até à sua administração, identificando todos os intervenientes e procedimentos técnicos inerentes;
- Demonstrar capacidade de autonomia e rigor na execução técnica;
- Avaliar e analisar de forma crítica os resultados obtidos;
- Executar e avaliar as técnicas e métodos de acordo com os recursos disponíveis;
- Aplicar os conhecimentos teóricos e teórico-práticos sobre situações de execução prática.

1. Unidade Local de Saúde da Guarda

O objetivo principal das unidades locais de saúde (ULS) é a prestação de cuidados de saúde a uma determinada área geográfica, tendo por base a integração de cuidados de saúde primários e cuidados diferenciados numa entidade única, com natureza de entidade empresarial. De acordo com o Decreto-Lei n.º 133/2013, de 3 de outubro, do Ministério da Saúde, a Unidade Local de Saúde da Guarda, Entidade Empresarial (ULSG, E.P.E), é uma

pessoa coletiva de direito e património público, de natureza empresarial, financeira e patrimonial.^[1]

Fazem parte da ULS da Guarda 13 centros de saúde, concretamente os centros de Almeida, Celorico da Beira, Figueira de Castelo Rodrigo, Fornos de Algodres, Gouveia, Manteigas, Mêda, Pinhel, Ribeirinha (Guarda), Sabugal, Seia, Trancoso e recentemente Foz-Côa.

1.1 Serviços farmacêuticos hospitalares

Os Serviços Farmacêuticos Hospitalares podem ser definidos, segundo o Decreto-lei n.º 44 202, de 22 de fevereiro de 1962, como *“o conjunto das atividades farmacêuticas exercidas em organismos hospitalares, com vista à colaboração nas funções de assistência que pertencem a esses organismos e serviços, bem como à promoção de ações de investigação científica e de ensino que lhes couber”*.^[2]

Uma vez que estes serviços são a entidade responsável pelo controlo do circuito do medicamento, constituem uma estrutura importante dos cuidados de saúde prestados em meio hospitalar. As suas atividades estão centradas nas necessidades de todos os utentes do HSM, contribuindo, para uma utilização segura, eficaz, eficiente e tendo em conta a relação preço/qualidade dos medicamentos e de outros produtos farmacêuticos. Todas estas atividades são exercidas num departamento tecnicamente autónomo, que constitui os serviços farmacêuticos (SF). Deste modo, toda a organização dos SF bem como o respetivo funcionamento respeitam as Boas Práticas,^[3] bem como o Manual da Farmácia Hospitalar.^[4]

2. Espaço físico, organização e horário de funcionamento

Os serviços farmacêuticos localizam-se no Piso -1 das instalações do novo hospital, localizado na Avenida Rainha D. Amélia, com acesso direto para o exterior, de modo a facilitar a receção de medicamentos, produtos farmacêuticos e o atendimento de ambulatório.

Os serviços farmacêuticos têm acesso fácil aos restantes serviços hospitalares e com proximidade aos elevadores.

A farmácia dispõe de várias áreas como o gabinete do Diretor dos SF, o gabinete dos Farmacêuticos, o gabinete dos técnicos de diagnóstico e terapêutica (TDT), o gabinete dos serviços administrativos, a sala de reuniões, a área de ambulatório, os vestiários, o WC e copa, a área de receção e conferência de encomendas, a área da distribuição, o armazém geral, o armazém de inflamáveis, as áreas descentralizadas (armazenamento de colírios, material de penso e contrastes, produtos de alimentação especial, antissépticos e desinfetantes), o laboratório e a sala de reembalagem, estando organizadas de forma a facilitar o fluxo dos medicamentos e produtos farmacêuticos em todo o seu circuito (figura 2).



Figura 2 - Acesso direto da farmácia aos restantes serviços hospitalares.

O organograma dos SF, ao nível hierárquico, apresenta no topo o Diretor de serviço (Dr. Jorge Aperta), imediatamente a seguir posicionam-se os seis Farmacêuticos, os cinco TDT's e os técnicos administrativos, sendo que na base encontram-se os três assistentes operacionais (AO).

Como responsável dos SF, o Diretor do serviço é responsável por gerir e coordenar todas as atividades de gestão técnica, científica e administrativa. Os farmacêuticos e os TDT's são responsáveis por assegurar a terapêutica medicamentosa dos utentes, bem como, a qualidade e elaboração dos perfis farmacoterapêuticos dos utentes, igualmente como ações de farmacovigilância, dispensa de medicamentos em ambulatório, dispensa de estupefacientes/psicotrópicos e outros medicamentos sujeitos a legislação própria que são da responsabilidade dos Farmacêuticos.

O horário de funcionamento dos SF, nos dias úteis, é das 9h às 18h, não encerrando à hora de almoço, uma vez que os funcionários têm horários de almoço alternados por forma a assegurar todos os períodos de funcionamento. Existe um regime de prevenção assegurado por um Farmacêutico sendo que, fora do período normal de funcionamento, o Farmacêutico de serviço desloca-se às instalações sempre que seja necessário.

3. Circuito do medicamento

De forma a garantir o bom uso e a correta dispensa dos mesmos aos utentes do hospital, é necessária uma boa gestão dos medicamentos e dos produtos de saúde, por parte dos SF, tendo como ponto de partida a seleção, a aquisição e o armazenamento, passando pela distribuição e terminando, na administração ao utente.

O programa informático utilizado em todos os processos de gestão hospitalar do medicamento no HSM é o ALLERT®, um programa que atualiza automaticamente os stocks cada vez que há

movimentações. Este programa informático faz parte dos Sistemas Integrados de Informação e Gestão, permitindo aumentar a qualidade e a segurança dos serviços prestados, reduzir os custos, racionalizar a utilização de Recursos Humanos e facilitar a implementação de políticas de saúde. Possui ainda, uma base de dados própria desenvolvida pelos SF que está interligado com o programa de gestão de *stocks* - ALLERT®.

3.1 Aprovisionamento

Esta área consiste no processo de seleção, aquisição, receção, conservação e gestão de *stocks* de medicamentos. Para tal é fundamental uma boa coordenação entre fornecedores, administração da instituição e os diversos serviços hospitalares.

Sendo o Farmacêutico o profissional responsável por garantir o fornecimento de medicamentos e de produtos farmacêuticos em quantidade e qualidade adequadas, no momento em que é requisitado, de forma a não comprometer a qualidade e a eficácia exigida ao SNS (Sistema Nacional de Saúde), torna-se essencial uma gestão rigorosa dos medicamentos, através da análise de *stocks*.

A gestão de *stocks* dos produtos farmacêuticos, nomeadamente dos medicamentos deve ser efetuada informaticamente, com atualização automática de *stocks*. Uma gestão de *stocks* correta assegura uma assistência a todos os utentes do hospital, no que respeita a medicamentos, dispositivos médicos e outros produtos farmacêuticos sem quaisquer interrupções ou atrasos. Deste modo, o fornecimento dos produtos farmacêuticos por parte dos laboratórios deve ser adequado aos consumos do hospital.

A gestão de medicamentos está dividida em várias fases, desde a seleção do medicamento até a administração ao utente, passando pela aquisição, armazenamento e distribuição do medicamento.^[4] Na ULS da Guarda, a gestão de medicamentos é realizada com o auxílio do *software* ALLERT®, que diariamente gera uma lista de produtos abaixo do ponto de encomenda, sendo esta, depois analisada detalhadamente pelo Farmacêutico responsável pela área de aquisições, podendo ou não surgir alterações à lista automática.

A lista final de produtos a adquirir é gerada com base na análise ABC, dependendo do tipo de consumo (regular, muito regular ou pontual), do tipo de aquisição (concurso público centralizado, concurso público limitado a nível de instituição, negociação direta com laboratórios, consultas diretas e compras urgentes a farmácias locais), das condições dos fornecedores e das instruções do serviço de aprovisionamento e do Conselho de Administração.

Posteriormente, esta lista é entregue aos serviços administrativos que elaboram os pedidos e os reenviam para o Farmacêutico responsável pelas aquisições, para que o mesmo valide.

3.2 Seleção e aquisição de medicamentos

Os medicamentos e outros produtos farmacêuticos a adquirir são selecionados obrigatoriamente por um Farmacêutico (Dr.^a Cristina Dinis). A seleção de medicamentos é um processo contínuo, multidisciplinar e participativo, cujo objetivo principal é a aquisição dos medicamentos mais adequados às necessidades farmacoterapêuticas dos utentes do hospital (internamento e ambulatório), tendo sempre em conta a qualidade, segurança, eficácia e eficiência.

Quanto à aquisição de medicamentos é elaborado um pedido, de acordo com os medicamentos e produtos farmacêuticos em falta. Esta seleção deve ter por base o Formulário Hospitalar Nacional do Medicamento (FHNM) e as necessidades terapêuticas dos utentes do hospital.^[5]

No HSM existem várias formas de realizar as aquisições. Pode ser por concurso público limitado, por negociação direta com os próprios laboratórios fornecedores ou até mesmo com farmácias locais no caso de necessidades urgentes. No entanto, a forma mais comum é a aquisição efetuada através de um concurso público centralizado através do catálogo de aprovisionamento público da saúde dos Serviços Partilhados do Ministério da Saúde (SMPS). Este catálogo é um instrumento facilitador da aquisição de bens e serviços, através de contratos públicos de aprovisionamento.^[6]

O processo de aquisições no SF da ULS da Guarda, ocorre da seguinte forma:

- 1) Identificação das necessidades diárias, recorrendo ao sistema informático do hospital que assinala os medicamentos que atingiram o ponto de encomenda (PE);
- 2) Elaboração do “Pedido de Nota de Encomenda” (neste documento consta o código e a designação do produto/medicamento) por parte dos administrativos dos SF;
- 3) Articulação com os serviços financeiros para que estes atribuam um n.º de compromisso à nota de encomenda;
- 4) Envio da nota de encomenda por fax ao fornecedor;
- 5) Arquivo da guia de entrada após a receção da encomenda.

Sempre que sejam necessários medicamentos que não constem do FHNM, terão que passar por uma análise criteriosa da necessidade terapêutica dos utentes e da sua relação custo-efetividade por parte da Comissão de Farmácia e Terapêutica (CFT) e, posteriormente incluídos em adenda ao FHNM, a aprovar nos termos do despacho n.º 1083/2004, de 1 de dezembro de 2003.^[7]

No caso de surgir a necessidade da utilização de medicamentos que possuam AIM em país estrangeiro ou não possuam AIM, mas a sua eficácia e segurança estejam documentadas por ensaios clínicos, e após a Comissão de Farmácia e Terapêutica dar o parecer positivo é

efetuado um pedido de Autorização de Utilização Especial (AUE) (ANEXO 4), ao Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento regulamentado através da Deliberação nº 105/CA/2007 e pelo Decreto-Lei nº 176/2006 de 30 de agosto.^[8,9] Presentemente, cada instituição hospitalar do serviço nacional de saúde adquire estes medicamentos individualmente.

Segundo o Despacho nº 16206/2013, de 3 de dezembro, a aquisição de medicamentos constantes da lista divulgada pelo INFARMED, ao abrigo do Decreto-Lei nº 176/2006, 30 de agosto é obrigatoriamente realizada em termos centralizados pelos SPMS, uma vez que a aquisição centralizada dos medicamentos tem vindo a ser recorrentemente objeto de aquisição ao abrigo de AUE. Deste modo irá permitir a obtenção de poupanças, a criação de sinergias e o aumento de produtividade, bem como promover a eficácia e eficiência nas instituições do SNS, libertando-se dos procedimentos de aquisição. De salientar, que o HSM ainda não está a fazer aquisições de AUE pelos SPMS.

Relativamente à aquisição de psicotrópicos, estupefacientes e benzodiazepinas (BZD's) é necessário preencher devidamente o anexo VII da Portaria nº 981/98 de 8 de junho (ANEXO 5), que tem de acompanhar a nota de encomenda e de seguida são enviados por correio. Quando o laboratório nos fornece a encomenda, envia o original do anexo VII, devidamente assinado e carimbado pelo Diretor Técnico, ficando esse original arquivado nos SF.

3.3 Receção, conferência e armazenamento de medicamentos, produtos farmacêuticos e dispositivos médicos

Os SF devem garantir a qualidade dos produtos recebidos, uma vez que são a porta de entrada dos produtos farmacêuticos no Hospital Sousa Martins. Deste modo, a zona de receção de encomendas situa-se numa área central, com fácil acesso ao armazém de grandes e de pequenos volumes e acesso direto ao exterior, tendo uma zona de conferência com sistema informático adequado à gestão informática de *stocks*, estando sujeitos a um controlo apertado ao nível da verificação de conformidade.

As encomendas e os documentos são posteriormente entregues e os mesmos são rececionados por um TDT responsável pela receção, procedendo-se à conferência qualitativa dos medicamentos e produtos farmacêuticos (aspeto, rotulagem, acondicionamento, integridade da embalagem, características organoléticas e certificados de análise, DCI, dosagem, forma farmacêutica, lote e prazo de validade), sendo que os certificados de análise são analisados e arquivados pelo Farmacêutico responsável. Em seguida, o TDT introduz os códigos dos produtos no sistema informático por forma a normalizar o *stock* do ALLERT® e, posteriormente, são enviados para armazenamento, tendo em conta os critérios técnicos (condições especiais de armazenagem, segurança especial de medicamentos, validades) e o original da guia de remessa é enviado para o Serviço de Aprovisionamento.

Os prazos de validade dos medicamentos são devidamente verificados e controlados, de preferência por via informática, uma vez que o armazenamento é feito de acordo com a metodologia “*First Expires, First Out*”, ficando as embalagens com um prazo de validade menor à frente.

O armazenamento é feito de modo a garantir as condições ideais de espaço, luz, temperatura, humidade e segurança dos medicamentos, produtos farmacêuticos e dispositivos médicos. Os parâmetros de temperatura e humidade são monitorizados continuamente e registados, sendo que as condições ambientais adequadas correspondem a uma temperatura inferior a 25 °C, proteção da luz solar direta e humidade inferior a 60%.

Os serviços farmacêuticos do HSM dispõem de duas áreas de armazenamento e de sistemas de climatização, onde a temperatura e a humidade relativa variam entre os 15-25 °C e os 30-60%, respetivamente.

No armazém de maiores dimensões (farmácia central), pode-se encontrar medicamentos de “uso comum”, alimentação parentérica e entérica, medicamentos do foro psíquico, medicamentos de aplicação oftálmica, citotóxicos, contraceptivos, medicamentos de elevada rotatividade e dispositivos médicos. Este armazém engloba igualmente uma arca frigorífica para armazenar o plasma, um frigorífico para os citotóxicos, um frigorífico para hemoderivados, um frigorífico para imunomoduladores e alguns frigoríficos para vacinas, bem como os cofres onde estão guardados os psicotrópicos, os estupefacientes e as benzodiazepinas.

- **Medicamentos termolábeis** - são os primeiros a serem rececionados e guardados em câmaras frigoríficas, em local isento de condensação de humidade, com sistema de controlo e registo de temperatura e sistema de alarme automático. Exemplo: vacinas do Plano Nacional de Vacinação.
- **Hemoderivados** - nestes a conferência e o armazenamento são realizados pelos Farmacêuticos, os quais necessitam de conferir os boletins de análise e os certificados de aprovação emitidos pelo INFARMED (ANEXO 6), que ficam arquivados junto com as respetivas faturas, de forma a facilitar a sua consulta sempre que necessário.

Uma vez que estes medicamentos são provenientes de sangue humano, são sujeitos a legislação restrita (registos obrigatórios previstos no despacho conjunto n.º 1051/2000, de 14 de setembro).^[10] O plasma humano é armazenado em arcas congeladoras à temperatura de -18 °C, as quais se encontram fechadas à chave, com controlo permanente da temperatura. Exemplo de outro hemoderivado: Imunoglobulina humana.

- **Medicamentos citotóxicos** - são acondicionados num armário destinado para o efeito, devidamente identificado, equipado com um estojo de emergência e separado dos

restantes medicamentos. Exemplo: antineoplásico (docetaxel 80 mg/mL de solução injetável, frasco de 2 mL).

- **Psicotrópicos, estupefacientes e BZD's** - a sua receção é supervisionada por um Farmacêutico, o qual, no instante da receção, confirma a quantidade recebida de forma a assegurar que toda a encomenda foi entregue pelo distribuidor. De seguida, estes medicamentos são colocados em cofres com fechadura de segurança aos quais só têm acesso os Farmacêuticos, de modo a evitar roubos, e existir um controlo adequado da administração dos mesmos, conforme o Decreto-Lei n.º 15/93 de 22 de janeiro, que estabelece o “Regime jurídico do tráfico e consumo de estupefacientes e psicotrópicos”, e a Portaria n.º 981/98 de 8 de junho sobre “Execução das medidas de controlo de estupefacientes e psicotrópicos”.^[11,12] Exemplos: morfina 10 mg/mL de solução injetável; alprazolam 0,25 mg comprimidos (benzodiazepina).
- **Medicamentos de importação** - são medicamentos cuja aquisição é apenas de importação. Estes são guardados em armário devidamente identificado, situado no armazém central. Exemplo: digoxina 0,05 mg/mL de solução oral.
- **Medicamentos e produtos de saúde em geral** - são armazenados por ordem alfabética de DCI, dosagem e forma farmacêutica, existindo uma zona destinada a volumes de grande rotação, outra a suplementos nutricionais, nutrição entérica e parentérica e ainda secções de medicamentos utilizados em oftalmologia, antídotos, anticoncepcionais, incluindo contraceptivos orais, dispositivos intrauterinos e preservativos masculinos, e material de penso. Exemplo: enoxaparina sódica 40 mg/mL seringa.

No outro armazém, de menores dimensões e próximo da zona de descarga, encontram-se os medicamentos de grande volume como desinfetantes, soros e água destilada.

- **Soluções injetáveis de grande volume e desinfetantes** - as soluções injetáveis de grande volume e todos os desinfetantes são guardadas em armazéns destinados para o efeito. A prioridade no seu armazenamento deve-se ao facto de serem produtos farmacêuticos de grande volume, impedindo desta forma a obstrução da zona de receção. Exemplo: iodopovidona solução cutânea (antisséptico para aplicação tópica).

4. Circuitos de distribuição

A existência de diferentes circuitos de distribuição tem como principais objetivos assegurar o cumprimento da prescrição, racionalizar a distribuição, assegurar a administração correta, reduzir os erros de administração (administração de medicamentos não prescritos, troca da via de administração, erros de doses, entre outros), monitorizar a terapêutica, reduzir o tempo de manipulação dos medicamentos e racionalizar a nível económico.^[4]

Nos SF do Hospital Sousa Martins, os circuitos de distribuição são a distribuição clássica/tradicional, a distribuição individual por dose unitária, distribuição por reposição de *stocks* nivelados e a distribuição a utentes em ambulatório sendo esta última, exclusivamente da responsabilidade dos Farmacêuticos.

4.1 Distribuição tradicional/clássica

A distribuição tradicional/clássica justifica-se em serviços com características particulares, que não necessitam do sistema de distribuição individual por dose unitária. De acordo com este sistema de distribuição, cada enfermaria possui um determinado *stock* de medicamentos e de outros produtos, o qual é controlado pelo enfermeiro chefe. Quando este deteta falhas elabora uma requisição através do sistema informático (ALLERT®) aos SF, realçando que essa deve ter em conta os consumos semanais e deve chegar aos SF num dia específico da semana, uma vez que cada serviço possui um dia próprio para elaborar a requisição. Depois da requisição concluída, o Farmacêutico valida-a e, *à posteriori*, os TDT's preparam os medicamentos.

De seguida, os medicamentos requisitados são acondicionados em caixas apropriadas para o efeito, em sacos de plásticos e/ou envelopes individualizados, por DCI, dosagem e forma farmacêutica, de forma a garantir a entrega segura e efetiva no serviço.

Em relação aos antissépticos, aos desinfetantes e às soluções de grande volume, estas são distribuídas segundo este sistema, sendo os responsáveis por esta distribuição os assistentes operacionais.

No HSM os serviços que dispõem deste tipo de distribuição são:

- Urgência pediátrica;
- Centros de Saúde;
- Unidade de cirurgia de ambulatório (UCA) ;
- Bloco geral e bloco obstetrícia;
- Consulta externa;
- Psiquiatria;
- Cirurgia;
- Ortopedia,
- Medicina A e B;
- Cardiologia e Pneumologia;
- Quimioterapia;
- Unidades de cuidados intensivos (Pneumologia, Acidentes Vasculares Cerebrais) ;
- Viatura Médica de Emergência e Reanimação (VMER).

4.2 Distribuição diária individual por dose unitária (DDIDU)

A distribuição individual por dose unitária surgiu nos SF de forma a promover uma maior interação entre o Farmacêutico e o utente internado no hospital.

Nos dias de hoje é imprescindível este tipo de distribuição nos SF de um hospital, uma vez que aumenta a segurança no circuito do medicamento, proporciona ao Farmacêutico conhecer melhor o perfil farmacoterapêutico de cada utente, diminui o risco de interações medicamentosas, permite uma maior racionalização da utilização da terapêutica diminuindo consequentemente os custos bem como os desperdícios. É realizada tendo por base a prescrição médica, que no HSM é feita manualmente em folhas de prescrição, ficando o original na enfermaria e o duplicado é entregue ao Farmacêutico responsável por essa enfermaria.

Todas as prescrições médicas têm de ser revistas pelo Farmacêutico durante a elaboração do perfil farmacoterapêutico (interações, duplicação de terapêuticas, posologias inadequadas), para posterior validação.

Qualquer questão relacionada com a prescrição médica tem de ser resolvida de imediato com o prescritor, independentemente de lhe ser fornecida posteriormente nota escrita. Após validação da prescrição por parte do Farmacêutico, é função dos TDT's preparar e acondicionar os medicamentos, para as próximas 24 horas, em gavetas identificadas com os nomes dos utentes, dos serviços de internamento e o número das camas, de acordo com o perfil farmacoterapêutico.

Descrição detalhada do procedimento da distribuição por dose unitária:

- 1) Um enfermeiro desloca-se durante a manhã aos SF para entregar as respetivas prescrições médicas, elaboradas no dia anterior e durante a noite;
- 2) Após os Farmacêuticos terem acesso às prescrições, estes transcrevem-nas para a base de dados do hospital, criando o perfil farmacológico do utente;
- 3) O Farmacêutico desloca-se à enfermaria para confirmar o perfil farmacológico com as folhas de registo dos enfermeiros, e se for o caso, recolher alguma alteração farmacológica ou esclarecer alguma dúvida que tenha;
- 4) Depois de confirmado e avaliado pormenorizadamente o perfil farmacológico do utente, o Farmacêutico procede à sua validação, e entrega-o aos TDT's para estes prepararem a terapêutica;
- 5) Procede-se à conferência cruzada entre os Farmacêuticos e os TDT;
- 6) O assistente operacional leva os módulos individualizados com a terapêutica aos respetivos serviços de enfermagem.

No HSM os serviços que dispõem deste tipo de distribuição são:

- Ortopedia;
- Cardiologia;
- Cirurgia
- Unidades de cuidados intensivos (Cirurgia, Pneumologia, Acidentes Vasculares Cerebrais e Medicina);
- Medicina A e B;
- Pneumologia;
- Psiquiatria.

4.3 Distribuição por reposição de stocks nivelados

Esta distribuição consiste na criação de um *stock* nivelado, no qual há reposição dos mesmos, de acordo com o que foi pré-definido pelos Farmacêuticos e pelo serviço clínico, tendo em conta o consumo e as necessidades de cada serviço, *stock* esse que é armazenado em cassetes próprias.

Este sistema de distribuição existe nos serviços:

- Ginecologia;
- Obstetrícia;
- Oftalmologia;
- Pediatria;
- Urgência geral;
- Unidade de Cuidados Intensivos da Cardiologia (UCIC).

A reposição dos *stocks* faz-se de acordo com a periodicidade previamente definida. O pedido dos medicamentos para reposição dos *stocks* nivelados é feito pelo enfermeiro do serviço, sendo conferido e validado pelo Farmacêutico e de seguida é preparado pelos TDT's.

4.4 Distribuição a utentes em ambulatório

Este sistema de distribuição é cada vez mais posto em prática, uma vez que tem vantagens, tanto para o utente como para o hospital, tais como:

- Redução dos custos relacionados com o internamento hospitalar;
- Redução dos riscos inerentes a um internamento (infecções nosocomiais);
- Possibilitar o utente de continuar o tratamento no seu ambiente familiar.

Pela distribuição de ambulatório podem dispensar gratuitamente determinados medicamentos legislados^[13] (tabela 2) afetos aos serviços de consulta externa (anualmente é afixada em Diário da República a lista de medicamentos comparticipados) e, além destes, podem

igualmente ser dispensados medicamentos (destinados a utentes com patologias crónicas como a hepatite B) não abrangidos pela legislação, desde que haja uma autorização pelo Conselho de Administração.

Tabela 2- Lista de medicamentos de dispensa exclusiva em Farmácia Hospitalar. [Adaptado de 13]

Patologia Especial	Medicamentos	Comparticipação
Artrite Reumatoide, Espondilite Anquilosante, Artrite Psoriática, Artrite Idiopática Juvenil Poliarticular e Psoríase em Placas	Etanercept; Adalimumab; Infliximab; Golimumab	100%
Doentes Insuficientes Renais Crónicos	Medicamentos com ferro para administração intravenosa; Epoetina alfa, zeta; Darbepoetina alfa	100%
Esclerose Lateral Amiotrófica	Riluzol	100%
Doentes com Hepatite C	Boceprevir; Peginterferão alfa 2-a; Peginterferão alfa 2-b; Ribavirina	100%
Esclerose Múltipla	Acetato de Glatirâmero; Interferão beta-1a, 1b	100%
Doença de Crohn ativa grave ou com formação de fístulas	Infliximab; Adalimumab	100%

Existem ainda exceções como a venda de medicamentos que, num determinado momento e por qualquer motivo, não existam em farmácia comunitária. Nestas situações, a receita tem de apresentar prova de rotura através do carimbo de três farmácias comunitárias. Como o preço de venda de medicamentos em ambulatório não se encontra regulamentado, este deve ser pelo menos igual ao custo de aquisição da parte dos Serviços Farmacêuticos.^[13]

No decorrer do estágio foi-me permitido dispensar alguns medicamentos em regime de ambulatório, seguindo sempre os procedimentos anteriormente mencionados e, os medicamentos dispensados foram corretamente embalados e identificados, tendo sempre o cuidado de informar e aconselhar o utente, fomentando a sua correta utilização e a importância da adesão à terapêutica. É importante referir que foi sempre anotada a quantidade dispensada, o número do lote, a data da dispensa e a assinatura de quem dispensou. A legislação foi seguida, cedendo os medicamentos para um período máximo de um mês. Observou-se que a maioria das terapêuticas injetáveis necessitam de ser conservadas no frio de modo a garantir a estabilidade das preparações, sendo este facto transmitido igualmente aos utentes para se assegurar que as condições de transporte fossem as ideais.

Após a dispensa, juntamente com a farmacêutica responsável, tomou-se contacto com o sistema de controlo de registo do perfil farmacoterapêutico dos utentes e efetuou-se a saída dos medicamentos do *stock*. Deve realçar-se ainda que, no caso da terapêutica biológica, além do que foi referido anteriormente, é necessário a elaboração de um registo mínimo que permite controlar a efetividade e o acompanhamento da adesão à terapêutica dos utentes com artrite reumatoide, artrite psoriática, artrite idiopática juvenil poliarticular, psoríase com placas e espondilite anquilosante.^[13]

5. Medicamentos sujeitos a legislação restrita

No HSM, as farmacêuticas responsáveis por esta área é a Dr.^a Anabela Canotilho (psicotrópicos, estupefacientes e benzodiazepinas) e a Dr.^a Beatriz Juanes (hemoderivados), a qual durante o período em que estive sob a sua supervisão, me proporcionou a possibilidade de dispensar hemoderivados, benzodiazepinas, psicotrópicos e estupefacientes, tendo aplicado sempre em conta a lei em vigor. Tive a oportunidade de proceder ao preenchimento das fichas de requisição, da movimentação dos *stocks* a nível informático, bem como de arquivar a documentação relacionada com a dispensa em local apropriado.

5.1 Hemoderivados

Estes medicamentos são produzidos pelo fracionamento industrial do plasma humano, que por sua vez é obtido a partir de doações de sangue. Segundo o despacho conjunto nº 1051/2000, de 14 de setembro, “devem ser registados todos os atos de requisição clínica, distribuição aos serviços e administração aos utentes de todos os medicamentos derivados do plasma humano utilizados nos estabelecimentos de saúde públicos e privados”. A referida requisição é constituída por duas vias, “Viafarmácia” e “Viaserviço” (ANEXO 7). É da responsabilidade do Farmacêutico hospitalar preencher o Quadro C do modelo, no ato da dispensa do hemoderivado, registando aí a quantidade, lote, fornecedor/fabricante e o n.º do certificado de autorização de lote do INFARMED, após validação da prescrição médica.^[10] Após a cedência, o original (“Viafarmácia”) é guardado num *dossier* na farmácia e o duplicado (“Viaserviço”) segue para o serviço requerente onde posteriormente serão registadas as administrações. Em qualquer ocasião, é obrigatório que quem recebe o medicamento deve assinar a requisição. Após a administração do hemoderivado, o duplicado é arquivado no processo do utente. Deve referir-se, ainda, que a lei obriga a que os registos sejam arquivados durante, pelo menos, cinquenta anos.^[10]

Durante o período de estágio foi-me possível dispensar inúmeros hemoderivados, seguindo sempre todas as recomendações acima referidas.

5.2 Estupefacientes, psicotrópicos e benzodiazepinas

O Decreto-lei n.º 15/93 de 22 de janeiro^[12] estabelece o “Regime jurídico do tráfico e consumo de estupefacientes e psicotrópicos”.

Quanto à dispensa deste tipo de medicação para os diferentes serviços do hospital, ela é feita através do registo em documentos próprios. No caso dos estupefacientes e psicotrópicos esse registo é efetuado em documentos próprios internos, sendo que para o caso dos estupefacientes esse documento é cor-de-rosa (ANEXO 8) e o documento dos psicotrópicos é verde (ANEXO 9).

No caso das benzodiazepinas, encontram-se sujeitas a um registo próprio no livro de requisições, correspondente ao anexo X (ANEXO 10) da Portaria n.º 981/98, de 8 de junho.^[11] Quando num serviço surge a necessidade destes medicamentos, o enfermeiro chefe desse mesmo serviço faz o pedido à farmácia. O Farmacêutico preenche a requisição (ANEXO 9), na qual fica identificado o medicamento, a sua forma farmacêutica, dosagem e a quantidade, bem como os registos e as assinaturas do Farmacêutico e do enfermeiro que distribui e recebe, respetivamente. A ficha de requisição tem um duplicado que fica arquivado nos Serviços Farmacêuticos e o original é levado pelo enfermeiro chefe do serviço que requereu a medicação. A parte da requisição original é preenchida devidamente com os nomes dos utentes, à medida que o medicamento lhes é administrado. Após o preenchimento total da requisição, o enfermeiro devolve o original da requisição à farmácia e esta é arquivada, por ordem do número da ficha, juntamente com o duplicado por um período mínimo de cinco anos.

6. Farmacotecnia

É extremamente fundamental que os cuidados farmacêuticos sejam direcionados cada vez mais para o utente, levando à adaptação da terapêutica farmacológica, uma vez que nem sempre a indústria farmacêutica dá resposta, na totalidade, às necessidades terapêuticas de determinados utentes. Deste modo, é necessário que os SF integrem uma área de produção e controlo de preparações farmacêuticas, de modo a assegurar o controlo microbiológico e de contaminantes bem como o controlo de temperatura, humidade, iluminação e ventilação, de forma a se obterem preparações farmacêuticas seguras e eficazes.

Sendo assim, a existência deste setor assegura e garante uma melhor qualidade e maior segurança nas preparações administradas aos utentes dando resposta às necessidades específicas de cada utente, colmatando situações onde não há disponibilidade, por parte do fornecedor. Reduz igualmente, de um modo significativo, o desperdício relacionado com a preparação de medicamentos, resultando deste modo numa gestão mais racional de recursos.

No decorrer do estágio acompanhei durante uma semana a responsável pela Farmacotecnia, a Dr.^a Conceição Quinaz. No HSM, a farmacotecnia inclui as etapas de produção de preparações não estéreis, a fração, a reembalagem de doses unitárias sólidas, bem como a rotulagem dos medicamentos.

6.1 Preparação de formas farmacêuticas não estéreis

Ao longo da semana em que estive na área da farmacotecnia foram recebidos vários pedidos para a preparação de manipulados. Estes pedidos, depois de validados pela Farmacêutica responsável foram preparados por mim sempre sob a sua supervisão. O procedimento a seguir na preparação é registado em fichas de preparação idênticas às que constam no Formulário Galénico Português, onde é registado o nome do manipulado, o nome do utente, a identificação do serviço, as quantidades calculadas e pesadas de matérias-primas utilizadas e respetivos lotes, os laboratórios produtores, a data da preparação, os procedimentos, os ensaios de estabilidade, a avaliação do produto final e as rubricas do operador e do supervisor.

Por fim, o medicamento é rotulado, onde consta o nome do utente e do serviço, o nome da preparação, o prazo de validade, a posologia e outras informações que se considerem relevantes, tendo sempre em conta as boas práticas com base na Portaria n.º 594/2004, de 2 de junho.^[14]

Foi-me ainda permitido organizar os *dossiers* com as fichas de preparação de matérias-primas onde se encontra o registo de todas as matérias-primas utilizadas, os boletins de análise, as fichas de segurança dessas mesmas matérias-primas, bem como as monografias de cada manipulado. Foram então preparados vários manipulados, como a preparação de vários lotes de suspensão oral de Trimetoprim a 1%.

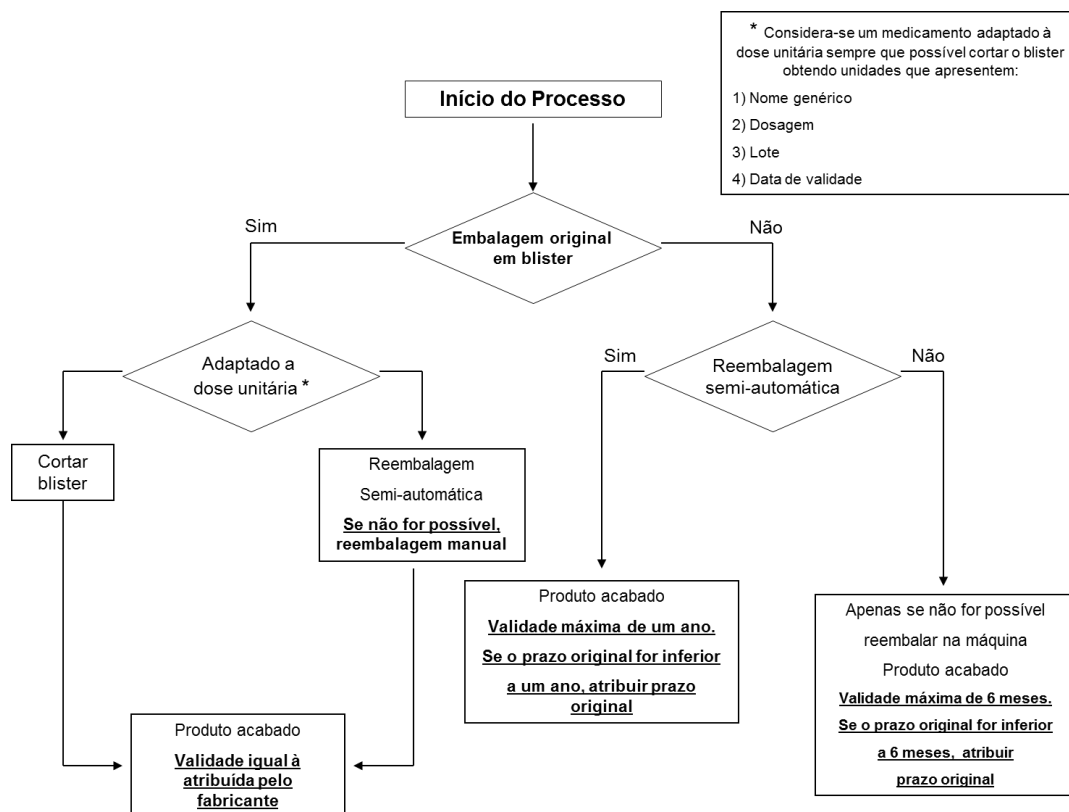
6.2 Reembalagem e rotulagem de doses unitárias sólidas

A reembalagem e a rotulagem de medicamentos sólidos em dose unitária devem ser efetuadas de forma a assegurar a segurança e a qualidade do medicamento.

A distribuição por dose individual conduz a que muitas vezes seja necessário reembalar os fármacos, ajustando assim a dose prescrita de forma individualizada permitindo, deste modo, reduzir as “manipulações” antes de ser administrado ao utente, diminuir os riscos de contaminação do medicamento, bem como reduzir os riscos da administração o que resulta numa melhor racionalização económica.^[4]

No HSM foi-me permitido efetuar a reembalagem, tendo em conta o procedimento descrito no esquema 1, e utilizando o equipamento apropriado (figura 3), sempre com luvas calçadas. As mãos são lavadas com antisséptico local antes de cada preparação e a máquina de

reembalagem é limpa antes e depois de utilizada com álcool a 70°, bem como a zona circulante, evitando-se possíveis contaminações.



Esquema 1 - Fluxograma do processo de reembalamento.



Figura 3 - Máquina de reembalagem e rotulagem.

Quanto à etapa de fração, esta é executada quando surge a necessidade de fracionar comprimidos, recorrendo à ajuda de um bisturi, previamente desinfetado. No final da reembalagem, verificam-se os dados do blister reembalado (figura 4), uma vez que devem coincidir com os da embalagem original. Se existirem medicamentos não conformes, estes são colocados em contentor próprio para posterior incineração.

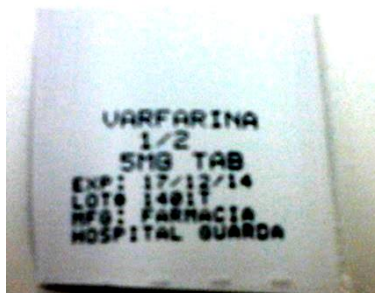


Figura 4 - Medicamento reembalado.

Tal como se pode verificar na figura 4, o rótulo contém obrigatoriamente o nome por DCI e a sua composição, quantidade da preparação, expressa em volume, peso ou contagem, a dosagem, o prazo de validade e o número de lote.

7. Gases medicinais

Medicamentos gases medicinais, são gases ou misturas de gases, liquefeitos ou não, destinados a entrar em contacto direto com o organismo humano e desenvolvendo uma atividade em conformidade com a de um medicamento, designadamente pelas suas utilizações em terapias de inalação, anestesia, diagnóstico *in vivo* ou para conservar ou transportar órgãos, tecidos ou células destinadas a transplantes, sempre que em contacto com estes.

Os gases medicinais são uma área recente de intervenção nos Serviços Hospitalares do HSM, sendo a Farmacêutica responsável por esta área a Dr.^a Cristina Dinis.

Atualmente, os gases medicinais são medicamentos disponibilizados sob a forma de gás, em cilindros ou muitas vezes conduzidos através de sistemas de canalização.

O novo Estatuto do Medicamento, aprovado pelo Decreto-Lei nº176/2006 de 30 de agosto, veio consagra, no artigo 14º, como gases medicinais, todos os gases que preenchem a noção de medicamento ou dispositivo médico. Assim, à semelhança dos restantes medicamentos, antes de serem colocados no mercado, os gases medicinais (medicamentos) estão sujeitos a um processo regulamentar de autorização - autorização de introdução no mercado.^[9]

Deste modo, de acordo com a lei em vigor, os gases e as misturas de gases para utilização em seres humanos (os gases medicinais) devem cumprir os requisitos específicos inerentes aos medicamentos.

A responsabilidade dos Farmacêuticos, nesta área de intervenção, envolve procedimentos de seleção, de aquisição, de qualidade e de segurança dos gases medicinais em todas as fases do

circuito hospitalar até ao utente final. Na ULS da Guarda é utilizado oxigénio líquido, oxigénio gasoso, protóxido de azoto em rampa, dióxido de carbono, mistura de gases e azoto líquido.

8. Outras atividades do Farmacêutico hospitalar

8.1 Farmacovigilância

O Sistema Nacional de Farmacovigilância (SNF) é atualmente regulamentado pelo Decreto-Lei n.º 242/2002 de 5 de novembro, sendo o INFARMED a entidade responsável pelo acompanhamento, coordenação e aplicação do Sistema Nacional de Farmacovigilância.^[15]

Como profissional de saúde que é, o Farmacêutico não se limita à dispensa do medicamento na dose e nas condições corretas, acompanhado de informação para uma adequada utilização, mas colabora para a deteção de quaisquer reações adversas aos medicamentos (RAM's) que possam surgir da sua utilização, desempenhando um papel ativo na notificação das mesmas e incentivando todos os outros profissionais de saúde, e até mesmo os utentes, contribuir para este programa.

Durante o estágio tive a oportunidade de constatar que os Farmacêuticos, seja a nível dos diversos serviços de internamento, seja a nível de ambulatório, questionam médicos, enfermeiros e utentes acerca da evolução da terapêutica e sobre a existência ou não de acontecimentos adversos a reportar. Deste modo, o Farmacêutico deve recolher e registar adequadamente na ficha de notificação (anexo VIII) (Anexo 3) o aparecimento de qualquer reação adversa grave ou não esperada a um medicamento e enviar as notificações rapidamente para o SNF.

8.2 Acompanhamento da visita médica - Farmácia Clínica

Para que o Farmacêutico possa exercer as suas atividades da melhor forma possível é necessário que faça parte de uma equipa clínica multidisciplinar, acompanhando diretamente o utente nos serviços de internamento. Para este efeito no HSM, o Farmacêutico faz parte da equipa que efetua a visita médica semanal, a cada enfermaria.

Durante o decorrer do estágio foi-me possível integrar essa equipa tendo estado presente nas visitas médicas às seguintes enfermarias: medicinas A e B, pneumologia e ortopedia. Foi-me permitido assistir à intervenção dos Farmacêuticos do HSM nomeadamente no que se refere a protocolos de utilização de antibioterapia e da utilização prolongada de fármacos administrados por via intravenosa, uma vez que nesta instituição estão protocolados e que cabe ao Farmacêutico assegurar o seu cumprimento.

8.3 Atividades Farmacêuticas nas enfermarias

O Farmacêutico, como especialista do medicamento, desempenha um papel preponderante nas enfermarias hospitalares, uma vez que a sua presença permite a vigilância da conservação de *stocks* de medicamentos, bem como a verificação do cumprimento de protocolos e linhas orientadoras de terapêutica.

No decorrer do estágio, pude acompanhar o Farmacêutico na sua deslocação diária às enfermarias dos diferentes serviços, visando obter informações cruciais acerca dos perfis farmacoterapêuticos atualizados dos doentes internados, das altas e de novos internamentos. Cabe ao Farmacêutico verificar e comparar o perfil farmacoterapêutico que chega à farmácia com o plano terapêutico que está na folha de registo da terapêutica, dos enfermeiros. Caso surjam algumas dúvidas quer por parte do médico prescriptor, quer pelos enfermeiros, é função do Farmacêutico esclarecê-las. O Farmacêutico tem como função controlar os *stocks* dos medicamentos, os prazos de validade, as condições de armazenamento e das linhas orientadoras da terapêutica, além dos protocolos de antibioterapia, referidos no ponto anterior.

8.4 Comissões com Intervenção do Farmacêutico

As comissões constituem órgãos de caráter consultivo e/ou executivo que funcionam em colaboração com o Conselho de Administração nas áreas da sua competência. Estas comissões também são regidas, por Regulamento Interno.

Além de todas as funções referidas anteriormente, é igualmente da responsabilidade do Farmacêutico Hospitalar participar nalgumas comissões técnicas, como a Comissão de Controlo da Infecção (CCI), Comissão de Farmácia e Terapêutica (CFT) e Comissão de Ética para a Saúde (CES).

No HSM as duas Farmacêuticas que fazem parte da CFT são a Dr^a Célia Bidarra e a Dra. Conceição Quinaz. Todavia, é importante salientar que todas as atividades destas comissões, bem como a sua composição, se encontram devidamente regulamentadas no Despacho n.º 1083/2004 de 1 de dezembro de 2003 (no que diz respeito à CFT), no decreto de lei n.º 97/95 de 10 de maio (relativamente à CES) e no Despacho n.º 2902/2013 (relativamente à CCI).^[16-18]

8.5 Informação e documentação

Como qualquer profissional de saúde, o Farmacêutico Hospitalar deve ter uma formação técnico-científica contínua para enriquecimento pessoal e para lhe permitir uma atualização constante dos conhecimentos. Neste âmbito, tive a possibilidade de assistir a duas sessões clínicas, uma relativa ao tema “Doente Hepático - Quando referenciar à consulta hospitalar”, que decorreu no Auditório da ULS, no dia 22 de maio de 2014, com a duração de 1 hora e

outra sessão intitulada “Referenciação para a unidade de tratamento da dor crónica” que decorreu igualmente no auditório da ULS, no dia 12 de junho de 2014, com a duração de 1 hora.

9. Considerações finais

Este estágio foi o segundo contacto com a realidade das funções desenvolvidas por um Farmacêutico, uma vez que iniciei o meu estágio na farmácia comunitária. Permitiu-me ter uma visão mais alargada das funções desenvolvidas pelos Farmacêuticos em meio hospitalar.

Uma vez que as sete semanas de estágio estavam, na minha opinião, bem organizadas e planificadas, foi possível passar por diversas áreas, como cuidados primários, farmacotecnia e controlo e aquisição de gases medicinais. Além disso, acompanhei e participei na construção de cassetes e carros e na elaboração dos perfis farmacoterapêuticos de diferentes serviços clínicos (Pneumologia, UCI, Cirurgia, Medicinas A e B, Ortopedia e Cardiologia). Também contactei com todo o circuito de distribuição dos hemoderivados, estupefacientes e psicotrópicos e com o regime de ambulatório em geral.

Deste modo, a oportunidade de participar diariamente nas atividades desenvolvidas por todos os Farmacêuticos permitiu-me conhecer o funcionamento e a organização de uma Farmácia Hospitalar, e acompanhar o percurso do medicamento.

Quero dar o meu agradecimento a todos os profissionais da farmácia que contribuíram para que este estágio se tornasse numa boa experiência devido à sua amizade, aos conhecimentos transmitidos e ao ambiente de trabalho que proporcionaram.

Em último, quero deixar uma opinião acerca do meu estágio. Julgo que poderia ter sido mais enriquecedor, uma vez que alguma parte da farmacotecnia (reconstituição de fármacos citotóxicos e preparação de nutrição parentérica), farmacocinética clínica e ensaios clínicos não se efetuam nos Serviços Farmacêuticos do HSM. Desta forma, não foi possível atuar neste campo de trabalho, o que teria sido uma mais-valia para mim, para os Farmacêuticos e principalmente para os utentes do HSM.

Um aspeto a valorizar refere-se ao facto de nos ter sido proposta a realização de um trabalho para apresentar nos serviços farmacêuticos. O trabalho foi concluído com sucesso, sendo que o tema escolhido foi “Seguimento Farmacoterapêutico - Método de Dáder”.

Bibliografia

- [¹] Decreto-lei n.º 133/2013 de 3 de Outubro - Regime Jurídico do Setor Público Empresarial. INFARMED - Gabinete Jurídico e Contencioso. 2013;
- [²] Decreto-lei n.º 44 204 de 2 de fevereiro - Regulamento Geral da Farmácia Hospitalar. INFARMED - Gabinete Jurídico e Contencioso. 1962;
- [³] Boas Práticas de Farmácia Hospitalar. Conselho do Colégio da Especialidade em Farmácia Hospitalar, Ordem dos Farmacêuticos. 1999;
- [⁴] Manual da Farmácia Hospitalar. Conselho Executivo da Farmácia Hospitalar, Ministério de Saúde de Portugal. 2005;
- [⁵] Comissão do Formulário Hospitalar Nacional de Medicamentos. Formulário Hospitalar Nacional de Medicamentos. 9ª ed. INFARMED - Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento. 2006;
- [⁶] Catálogo de Aprovisionamento Público da Saúde. Disponível em: <http://spms.min-saude.pt/> (consultado a 3 de junho de 2014);
- [⁷] Despacho n.º 1083/2004 de 1 de dezembro de 2003 - Regulamenta as comissões de farmácia e de terapêutica dos hospitais do setor público administrativo (SPA) integrados na rede de prestação de cuidados de saúde referidos na alínea a) do n.º 1 do artigo 2ª ed. INFARMED - Gabinete Jurídico e Contencioso. 2003;
- [⁸] Deliberação n.º 105/CA/2007. Lisboa: Conselho Diretivo do INFARMED. 2007;
- [⁹] Decreto-Lei n.º 176/2006 de 30 de agosto - Estatuto do Medicamento. INFARMED - Gabinete Jurídico e Contencioso. 2006;
- [¹⁰] Despacho conjunto n.º 05/2000 de 14 de setembro - Registo de medicamentos derivados de plasma. INFARMED - Gabinete Jurídico e Contencioso. 2000;
- [¹¹] Portaria n.º 981/98 de 8 de junho - Execução das medidas de controlo de estupefacientes e psicotrópicos. INFARMED - Gabinete Jurídico e Contencioso. 1998;
- [¹²] Decreto de Lei n.º 15/93 de 22 de janeiro - Regime jurídico do tráfico e consumo de estupefacientes e psicotrópicos. INFARMED - Gabinete Jurídico e Contencioso. 1993;

[13] Dispensa em Farmácia Hospitalar. Disponível em: http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/MEDICAMENTOS_USO_HUMANO/AVALIACAO_ECONOMICA_E_COMPARTICIPACAO/MEDICAMENTOS_USO_AMBULATORIO/MEDICAMENTOS_COMPARTICIPADOS/Dispensa_exclusiva_em_Farmacia_Hospitalar (consultado a 30 de maio de 2014);

[14] Portaria no 981/98 de 8 de junho - Execução das medidas de controlo de estupefacientes e psicotrópicos. INFARMED - Gabinete Jurídico e Contencioso. 1998;

[15] Despacho n.º 242/2002 de 5 de novembro - Sistema Nacional de Farmacovigilância. INFARMED - Gabinete Jurídico e Contencioso. 2002;

[16] Despacho n.º 1083/2004 de 1 de dezembro - Regulamenta as comissões de farmácia e de terapêutica dos hospitais do sector público administrativo (SPA) integrados na rede de prestação de cuidados de saúde. INFARMED - Gabinete Jurídico e Contencioso. 2003;

[17] Decreto- Lei n.º 97/95 de 10 de maio - Regulamenta as comissões de ética para a saúde. INFARMED - Gabinete Jurídico e Contencioso. 1995;

[18] Despacho n.º 2902/2013. No âmbito do Plano Nacional de Prevenção e Controlo da Infeção Associada aos Cuidados de Saúde (PNCI). INFARMED - Gabinete Jurídico e Contencioso. 2013.

Capítulo III - Investigação

“Síntese, caracterização espectroscópica e avaliação citotóxica de novas *orto*-(alquiltio)acetanilidas”

1. Introdução

Desde que, em 1856, a primeira cianina foi descoberta acidentalmente por Greville Williams, muitos estudos foram desenvolvidos sobre esta classe bem conhecida de corantes polimetínicos, principalmente no que diz respeito às suas sínteses e aplicações. As cianinas são conhecidas pela sua estabilidade relativamente elevada, coeficientes de extinção molar elevados e intensidade de fluorescência que embora fracas a médias em solução, são elevadas quando ligadas a compostos biológicos, especialmente proteínas, e ainda pelas suas bandas de absorção e emissão estreitas. Adicionalmente, os comprimentos de onda dos máximos de absorção destes corantes podem ser programados desde o ultravioleta (UV) próximo até ao infravermelho (IV) próximo, através de modificações estruturais relativamente fáceis de efetuar.^[1]

Estas propriedades fotofísicas e fotoquímicas tornaram os corantes cianínicos, úteis em diversas aplicações em muitas áreas, salientando-se o seu uso como sensibilizador fotográfico na fotografia a cores *tripack*, e ainda no infravermelho. Outras aplicações importantes das cianinas, especialmente como corante funcional, são entre outras, como fotocondutores orgânicos (fotossensibilizadores para eletrografia - xerografia e impressão a laser); mostradores de cristais líquidos (LCD - do inglês, *liquid crystal display*); como corantes de absorção no IV para gravação e leitura em *compact disks* e ainda na tecnologia laser. No âmbito das Ciências da Saúde, é de destacar ainda a sua utilização como fotossensibilizadores em Terapia Fotodinâmica (PDT do inglês, *Photodynamic Therapy*) no tratamento de tumores, em oftalmologia, no tratamento da aterosclerose (doença vascular periférica), entre outras, e ainda em métodos de análise para determinação de proteínas ultrasensíveis e como marcadores fluorescentes no IV.^[1] Atualmente, espera-se um futuro cada vez mais promissor para estes corantes, em resultado do esforço conjunto de cientistas como químicos na área da síntese, físicos e especialistas das diferentes áreas das Ciências da Saúde.^[2]

Os sais de *N*-alquil-2-metilbenzoazólio, ou genericamente designados como sais de amónio quaternários, são os precursores comuns e quase universais das cianinas, sendo a

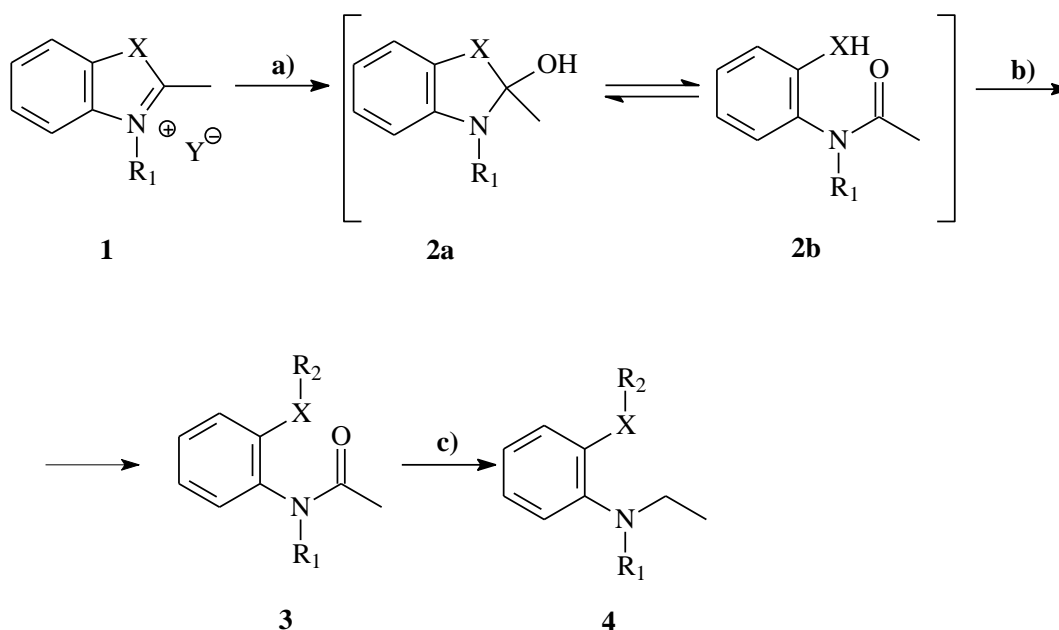
versatilidade estrutural encontrada quer na parte heteroaromática quer nos substituintes ligados ao átomo de azoto quaternário, a responsável pela diversidade estrutural tão rica encontrada nas cianinas.^[1,3]

Assim e no seguimento de estudos conducentes à preparação destes sais, foi observado que quando estes são sujeitos a condições básicas, como as condições geralmente utilizadas na síntese de cianinas, estes compostos reagem com água, sofrendo hidrólise. Neste âmbito, o conhecimento detalhado de reações secundárias de hidrólise tornou-se necessário, pois é importante no sentido de prevenir e impedir reações secundárias que possam ocorrer durante a síntese das cianinas.^[4]

A partir desta reação indesejável enquanto reação secundária na síntese de cianinas, foi descrita a síntese de *orto*-(alquilcalcogénio)-*N*-etilacetanilidas **3** com o objetivo de esclarecer a identidade dos produtos resultantes da hidroxilação de iodetos e/ou brometos de 2-metilbenzoazólio **1** (esquema 2).^[2] Desta forma, a hidrólise de halogenetos de 3-alkil-2-metilbenzazol-3-íolo **1**, facilmente obtidos por alquilação dos 2-metilbenzazoles,^[3] foi realizada por refluxo em etanol a 96% na presença de trietilamina. Os intermediários *N*-alquil-(2-hidrocalcogénio)acetanilidas **2b**, resultantes da clivagem do hidroxiazole presente nos intermediários **2a** inicialmente formados, foram alquilados *in situ* originando as (2-alkilcalcogénio)-*N*-alquilacetanilidas **3** correspondentes.

As acetanilidas **3**, foram obtidas na forma de atropisómeros com rendimentos moderados a bons (59-83%), após o passo de alquilação utilizado para armadilhar as espécies instáveis *N*-alquil-(2-tiol/selenolacetanilidas **2b** (X= S ou Se) bem como os análogos de oxigénio mais estáveis **2b** (X=O).^[2,5]

Algumas das tioacetanilidas **3** obtidas desta forma, foram convertidas nas correspondentes *N*-alquil-2-(alquiltio)-*N*-etilanilinas **4** por redução com hidreto de lítio e alumínio na presença de cloreto de alumínio (esquema 2).^[2]



$\text{X} = \text{O}, \text{S}, \text{Se}$; $\text{Y} = \text{I}, \text{Br}$; R_1 and/or $\text{R}_2 = \text{Me}, \text{Et}, \text{Pr}, \text{Hex}, \text{Bz}, 2\text{-MeBz}$

Reagentes e condições: a) NEt_3 , etanol a 96%, refluxo; b) etanol, NaOH , RI ou RBr , refluxo, c) $\text{LiAlH}_4/\text{AlCl}_3$ (1/1), Et_2O , $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{t.a.}$

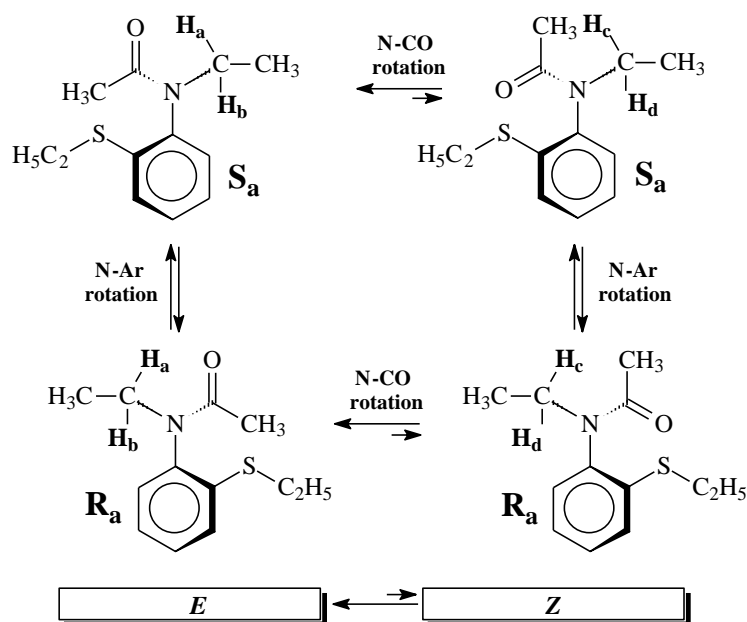
Esquema 2 - Síntese de *ortho*-(alquilalcogênio)-*N*-etilacetanilidas **3** a partir de iodetos e/ou brometos de 2-metilbenzazole **1**.^[2,5]

Adicionalmente, foi observado que as acetanilidas **3** se comportavam como atropisómeros à temperatura ambiente devido à rotação impedida à volta da ligação N-arilo responsável pelas suas propriedades aquirais. O fenómeno conhecido como atropisomerismo, denominação oriunda da palavra grega *atropos* (*i.e.* sem rotação), e encontrado nas acetanilidas **3**, é definido como um tipo de estereoisomerismo característico de sistemas onde a rotação livre em torno de uma ligação simples é impedida, havendo uma barreira energética suficientemente elevada, capaz de permitir o isolamento ou simplesmente a deteção da existência dos diferentes atropisómeros.^[6]

Este tipo de isomeria axial é caracterizado por uma atividade ótica promovida por um eixo de ligação, não necessitando que a substância apresente carbonos assimétricos como elemento de quiralidade. Christie e Kenner^[7] observaram este fenómeno pela primeira vez em sistemas onde o eixo de quiralidade é formado por ligações $\text{sp}^2\text{-sp}^2$, principalmente em sistemas biarílicos com substituintes diferentes em ambas as posições *ortho*.^[6]

Esta propriedade foi ainda observada em anilidas com dois grupos na posição *ortho*, com barreiras rotacionais elevadas, tipicamente numa gama que varia de cerca de 20 a 30 kcal/mol, e em anilinas com apenas um grupo volumoso (iodo ou *terc*-butilo), tendo barreiras

rotacionais inferiores a 20 kcal/mol. Desta forma, as *N*-alquil-(2-alquilcalcogénio)acetanilidas **3**, não possuindo rotações livres à volta da ligação N-arílica, bem como à volta da ligação amida N-CO, originam respetivamente as formas enantioméricas e a diastereoisoméricas (esquema 3). [2 e referências aí citadas]



Esquema 3 - Formas enantioméricas e diastereoisoméricas de acetanilidas que resultam das rotações não livres N-arilo e N-CO, respetivamente. [2]

Estas rotações não livres em torno da ligação amida N-CO originam os isómeros *endo* e *exo* (anel benzeno na posição *cis* e *trans* respetivamente, em relação ao oxigénio carbonílico) (Figura 5) os quais são facilmente diferenciados por RMN de ^1H . Em geral, as anilidas *N*-substituídas existem predominantemente sob a forma de isómero *exo*. [5]

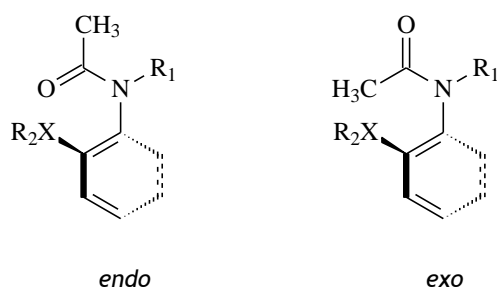


Figura 5 - Formas enantioméricas axiais S_a -*endo* e S_a -*exo* das acetanilidas. [5]

A rotação circunscrita das formas atropoisoméricas em torno da ligação amida N-arilo é facilmente reconhecida em solução pelos sinais dos dois prótons geminais N- CH_2

magneticamente não-equivalentes, o que é claramente visível no espectro de ^1H RMN (figura 6) ^[2,5]

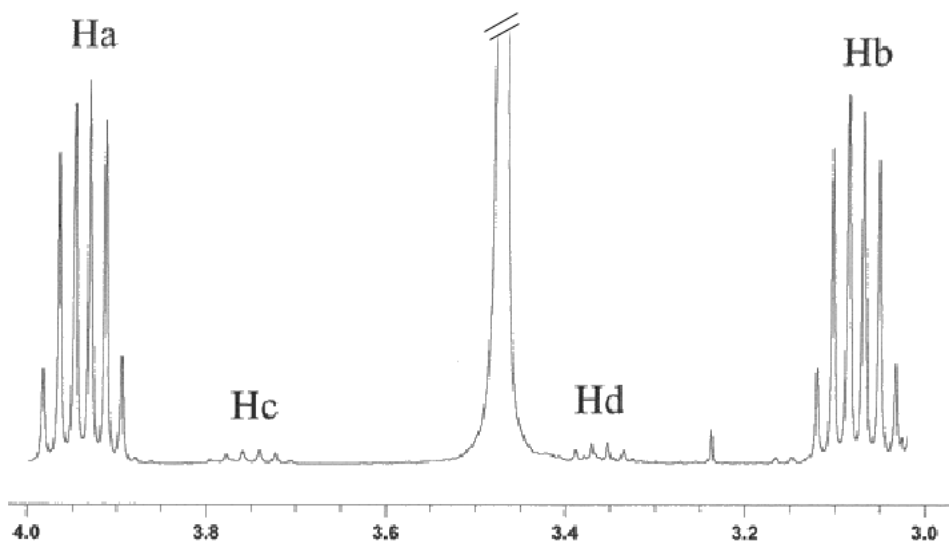


Figura 6 - Sinais em RMN de ^1H dos prótons metilénicos não equivalentes das formas diastereoisómeras *E* (Ha e Hb) e *Z* (Hc e Hd) da acetanilida **3j**.^[2]

O processo dinâmico de interconversão do diastereoisómero *E* das acetanilidas **3**, foi estudado por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de temperatura variável (VT-RMN) tendo sido determinados valores de energias livres de rotação de interconversão a 298 K (25 °C), entre atropisómeros axialmente quirais, desde 17,0 até 20,5 kcal/mol e temperaturas de coalescência entre 388-402 K (115°C - 129°C), determinadas apenas nos casos das (alquiloxi)acetanilidas **3**(X=O) em que se verificaram ser inferiores a 413 K (140 °C).^[5]

No âmbito de um trabalho publicado ^[2] e de um outro submetido para publicação,^[5] já acima referidos, foi descrito um conjunto de vinte e quatro acetanilidas *orto*-substituídas **3a-i** (X=O), **3j-v** (X=S) e **3w-x** (X=Se), cinco das quais (**3m**, **3s-v**) foram preparadas e estudadas no âmbito do presente trabalho. Nesta série, foi variada a natureza do átomo calcogénio (X), bem como a natureza de ambos os grupos alquílicos ligados ao grupo amida (R_1) e/ou ao átomo calcogénio (R_2) (esquema 1, tabela 3).

Tabela 3 - Estruturas, tempos de reação e rendimentos globais na preparação das *N*-alquil-(2-alquilcalcogénio)acetanilidas **3**.^[2,5]

Comp. 3	X	R ₁	R ₂	Tempos de Reação		Rendimento ^a (%)
				Passo a) (min)	Passo b) (h)	
a	O	Et	Et	60	3	79
b	O	Et	Pr	45	4	70
c	O	Et	Hex	60	6	68
d	O	Et	Bz	45	6	66
e	O	Pr	Et	45	3	71
f	O	Pr	Hex	45	6	65
g	O	Hex	Et	60	3	75
h	O	Hex	Pr	60	5	71
i	O	Bz	Et	60	3	64
j	S	Et	Et	30	3	87
k	S	Et	Pr	30	4	77
l	S	Et	Hex	30	6	75
m ^b	S	Et	Bz	30	6	78
n	S	Pr	Me	30	3	82
o	S	Pr	Et	30	3	81
p	S	Pr	Hex	30	6	69
q	S	Hex	Et	45	3	84
r	S	Hex	Pr	45	6	72
s ^b	S	Bz	Et	30	3	83
t ^b	S	Bz	Bz	45	5	65
u ^b	S	MeBz	Et	45	5	62
v ^b	S	MeBz	MeBz	60	6	59
w	Se	Et	Et	30	4	85
x	Se	Et	Hex	45	5	74

^a Rendimento dos produtos isolados; ^b acetanilidas **3m**, **3s-v** preparadas no âmbito desta dissertação.

Todas as acetanilidas descritas foram caracterizadas, do ponto de vista estrutural por RMN de ¹H e ¹³C, por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR - do inglês, *Fourier transform infrared spectroscopy*) e espectroscopia de massa de alta resolução (HRMS) com bombardeamento rápido de átomos (FAB - do inglês, *fast atom bombardment*).^[2,5]

Esta nova via sintética de preparação de *N*-alquil-(2-alquilcalcogénio)acetanilidas **3** apresenta-se como uma alternativa promissora para o desenvolvimento de novos compostos estruturalmente análogos à Nimesulida, especialmente nos casos em que o benzoazole de partida possui um grupo nitro, ou outro grupo electroatratador derivado deste, na posição 6 do

anel. Nesta abordagem, deverão ser considerados outros passos como a hidrólise da acetamida seguida de eventual mesilação.^[5]

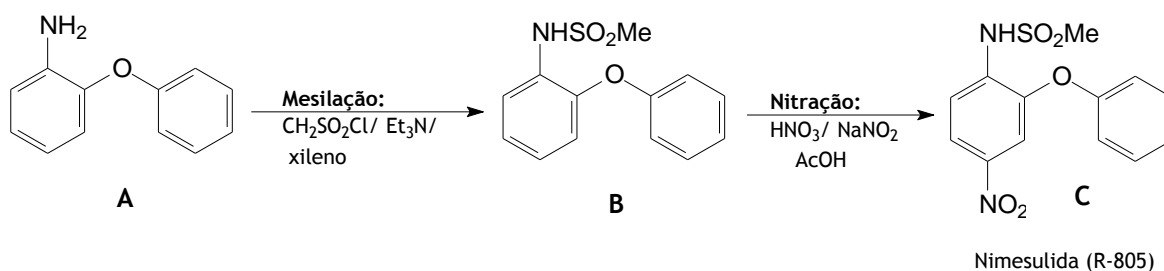
A Nimesulida é um fármaco anti-inflamatório não esteroide (AINE) com estrutura relativamente simples, tendo atividade anti-inflamatória e analgésica, bem como atividade antipirética. É administrada oralmente ou por via retal, até duas vezes ao dia, sendo útil no tratamento de uma gama variada de distúrbios orgânicos, incluindo uma larga e variada gama de estados inflamatórios e de dor, tais como artrose, problema musculares, cefaleias, problemas urológicos e ginecológicos, nos períodos pós-cirúrgicos, sofrimento provocado por estados cancerígenos e em doenças vasculares. A Nimesulida é geralmente bem tolerada por idosos, incluindo polimedicados, e ainda por crianças.^[8]

Quimicamente, a Nimesulida designa-se por *N*-(4-nitro-2-fenoxifenil)metanossulfonoanilina (R-805, também conhecida como 2-fenoxi-4-nitrometanossulfonoanilina ou ainda por 4-nitro-2-fenoximetanosulfonilida),^[8] pertence à classe das sulfonamidas, sendo que a sua importância farmacoterapêutica se deve à sua atividade inibitória preferencial da ciclooxigenase-2 (COX-2). Dentro dos fármacos seletivos da COX-2, considera-se que a Nimesulida pertence à subclasse estrutural dos inibidores éteres diarílicos ou aril-heteroarílicos. A Nimesulida apresenta-se como sendo um pó cristalino branco-amarelado com um ponto de fusão de 147-149 °C. É um ácido fraco com um pKa (6,4-6,8) relativamente elevado devido ao grupo metanossulfonamida que torna a molécula neutra, e deste modo tende a não causar lesões graves na mucosa gastrointestinal, ao contrário de outros AINE's. É fracamente solúvel em água mas é solúvel em vários solventes orgânicos como a acetona, clorofórmio e acetato de etilo. É muito solúvel em metanol e ligeiramente solúvel em etanol (EtOH).^[8]

A Nimesulida foi descoberta em 1971 nos EUA por George G. I. Moore, mesmo antes da descoberta das prostaglandinas, a que se seguiu a submissão de uma patente sobre 2-fenoxialcanossulfoanilidas em 1974 pelos Laboratórios Riker, também dos EUA.^[9] Nessa altura ainda não estando disponíveis muitos estudos de relação estrutura-atividade, estes compostos foram reivindicados como tendo atividade analgésica, antipirética, inibitória da inflamação e ainda herbicida.^[9]

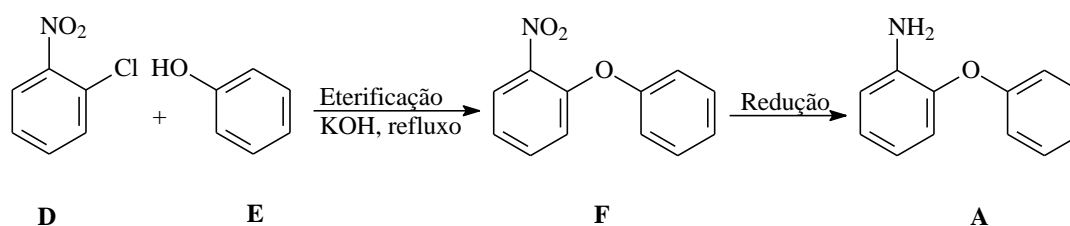
Desde a descoberta da Nimesulida, e não obstante terem sido descritas várias sínteses,^[8] a preparação inclui geralmente pelo menos um passo de formação da ponte éter arílica, nitração, redução e mesilação, não necessariamente por esta ordem (esquema 4 e 5).

A síntese descrita na primeira patente consiste na mesilação da 2-fenoxianilina (A), seguida de uma nitração de forma a originar a Nimesulida (C) (esquema 4).^[9]



Esquema 4 - Síntese patenteada da Nimesulida.^[9]

Nos anos subsequentes, foram descritas vários métodos de preparação da Nimesulida a partir do *orto*-cloronitrobenzeno (D) e do fenol (E) (esquema 5) originando-se a 2-fenoxianilina (F) que posteriormente é reduzida, mesilada e nitrada, da forma anteriormente referida.^[8 e referências aí citadas]



Esquema 5 - Síntese do intermediário 2-fenoxianilina (A).^[8 e referências aí citadas]

Em 2000, uma patente Portuguesa reivindicou uma síntese nova na qual a formação da ligação éter arílica foi realizada por irradiação por ultrassons da 4-nitro-2-clorometanosulfonamida utilizando um sal de prata como catalisador, e desta forma, alterando a ordem dos eventos da síntese clássica.^[10]

Em 2005, foi descrita uma síntese em larga escala para a Nimesulida, partindo igualmente do *orto*-cloronitrobenzeno (D), que ao reagir com um trifenilfosfato origina o 2-fenoxinitrobenzeno (F), seguida do passos tradicionais de redução, mesilação e nitração seletiva originando o fármaco com um rendimento global assinalável de 55%.^[11]

Mesmo antes da descoberta da isoforma da enzima responsável pela inflamação e dor, tinham já sido desenvolvidas estruturas “lead” de *N*-arilsulfonamidas como classe de agentes inibidores seletivos da COX-2 com atividade anti-inflamatória. Não obstante já terem sido utilizadas muitas abordagens no desenvolvimento de novos derivados da Nimesulida, procurando novas estratégias para encontrar inibidores do COX-2 cada vez mais potentes e seletivos e mais recentemente como agentes anticancerígenos^[12-23], as estratégias passam de uma maneira geral pela modificação de uma/mais das posições A-D assinaladas na figura 7.^[13,14,17]

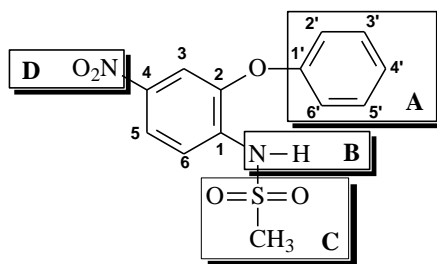


Figura 7 - Principais modificações A-D encontradas no esqueleto da Nimesulida. ^[13,14,17]

Analogamente ao encontrado nas sínteses clássicas da Nimesulida, a preparação dos seus derivados passa geralmente por metodologias similares, isto é, envolve igualmente os passos de formação da ligação éter arílica, nitração, redução e mesilação, também não necessariamente por esta ordem. ^[12-18,19,20] Outra abordagem consiste em alterar os grupos funcionais já presentes na Nimesulida. ^[21-24]

Alguns derivados da Nimesulida bem conhecidos e representativos de algumas modificações estruturais introduzidas no esqueleto da Nimesulida, mantendo as propriedades seletivas e inibitórias da COX-2 e procurando novos compostos com atividade anticancerígena, estão patentes na figura 8. ^[12,19,25,26]

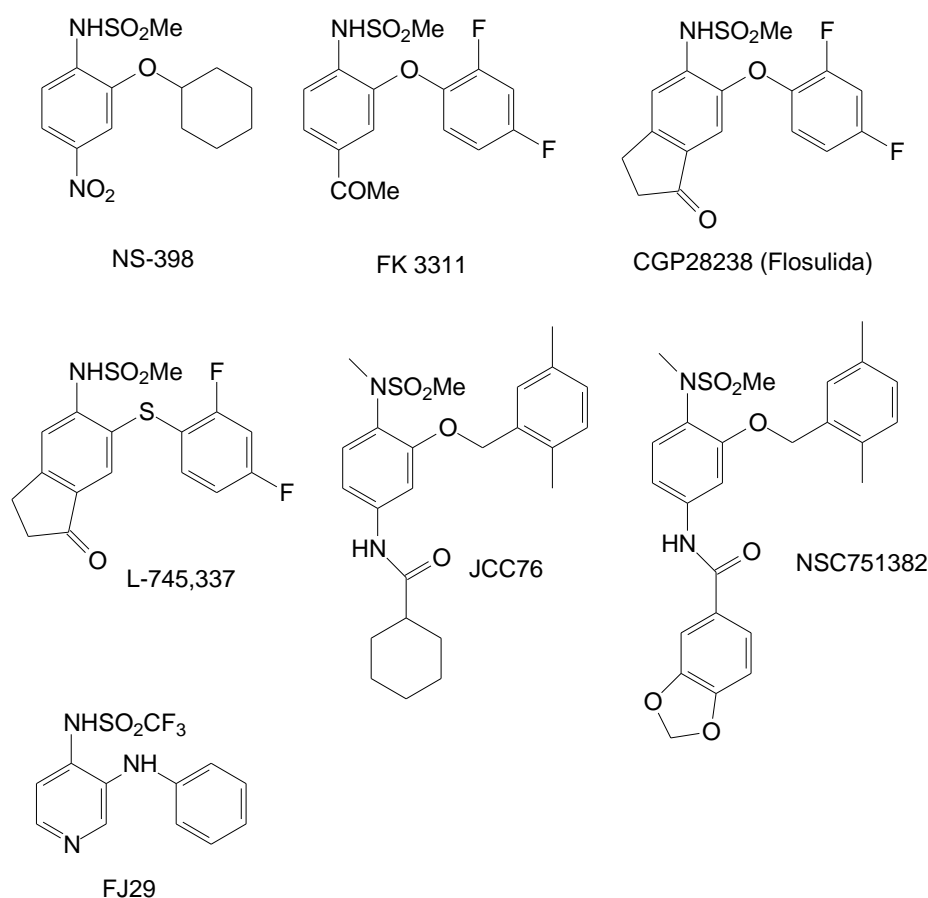


Figura 8 - Análogos representativos da Nimesulida.

Nos compostos descritos, entre outras alterações, destaca-se o composto NS-398 que apresenta um grupo éter ciclo-hexílico em vez do grupo éter fenílico.^[25] Além disso, a substituição do grupo nitro por outros grupos eletroatratores, tais como uma cetona metílica, conjuntamente com a introdução de dois grupos fluoro nas posições 2 e 4 do grupo éter fenílico originou o FK-3311.^[25] No composto Flusolida (CGP 28238), a cetona metílica em FK-3311 foi substituída por uma ciclopentanona conformacionalmente restrita.^[25] O composto L-746.337 é representativo dos congêneres tioéteres do Flusolida e similares.^[25] No análogo da Nimesulida, o JCC76, o grupo fenóxido encontra-se substituído por um grupo 2,5-dimetilbenzilo e o grupo nitro por uma amida ligada a um grupo ciclo-hexilo.^[12,19] Por sua vez, no caso do composto NSC751382, está um grupo 3,4-dimetoxifenilo em alternativa ao ciclo-hexilo.^[12,19] O composto FJ29, apresenta um anel piridinossulfonamida em alternativa ao anel nitrofenilssulfonamida desta.^[26]

É de salientar ainda que vários estudos demonstraram uma sobre-expressão da ciclo-oxigenase-2 (COX-2) em tumores sólidos malignos, havendo um aumento da produção da Prostaglandina-2 (PGE2) potenciando desta forma o desenvolvimento de células cancerígenas. Como os AINE's, como a Nimesulida e seus derivados, têm capacidade de inibir a COX-2, é esperado que estes compostos possam ser potencialmente benéficos na prevenção e no tratamento do cancro após desenvolvimento, por influenciarem as funções das células cancerígenas induzindo a inibição de crescimento, apoptose e necrose destas.^[12,20 e referencias ai citadas (em ambos)]

Na realidade, a própria Nimesulida é conhecida por apresentar propriedades anticancerígenas,^[9] embora não tão potente como a apresentada por muitos dos seus análogos.^[12-23] No entanto, outros fatores independentes da COX têm de ser tidos em conta, especialmente nos casos de derivados da Nimesulida não ativos na inibição desta isoenzima, tais como os derivados -N(SO₂Me)Me, nomeadamente em JCC76 e o NSC751382 (figura 8).^[12,20 e referencias ai citadas (em ambos)]

Deste modo, e no âmbito desta dissertação, são apresentadas e discutidas a preparação e caracterização estrutural das acetanilidas (**3m**, **3s-v**) e ainda a avaliação da citotoxicidade *in vitro* das acetanilidas **3a-d**, **h-n** e **r-x** e anilinas **4a,b** em células epiteliais humanas do cancro da mama (MCF-7) e células do adenocarcinoma da próstata (LNCaP - do inglês, *human prostate adenocarcinoma cell line*) e em fibroblastos normais da derme humana (NHDF - do inglês, *normal human dermal fibroblasts*).

2. Objetivos

O objetivo deste trabalho foi desenvolver novos potenciais agentes anticancerígenos para o cancro da mama e da próstata, utilizando uma nova via sintética, através de:

- Síntese e caracterização estrutural de *N*-alquil-(2-alquiltio)acetanilidas *N*- e *S*- (substituídas com grupos benzílicos);
- Avaliação da citotoxicidade *in vitro* das acetanilidas sintetizadas e de um conjunto de outras *N*-alquil-(2-alquilcalcogénio)acetanilidas representativas, num total de vinte, em células epiteliais humanas do cancro da mama (MCF-7) em células do adenocarcinoma da próstata (LNCaP) e em fibroblastos normais da derme humana (NHDF);
- Determinação da concentração necessária para reduzir o crescimento populacional de organismos, em 50 por cento, das acetanilidas *O*- e *N*-benzílicas e -hexílicas que revelaram uma atividade mais potente e seletiva, e portanto as mais promissoras em termos de potenciais fármacos anticancerígenos.

3. Parte experimental

3.1 Considerações gerais

Os reagentes e solventes foram adquiridos junto de firmas comerciais do ramo. Os sais de benzotiazólio foram preparados por métodos descritos na literatura,^[3] fora do âmbito desta dissertação.

As reações foram seguidas por cromatografia em camada fina (ccf) utilizando placas de alumínio de 0,2 mm revestidas com sílica-gel (Macherey-Nagel 60 F₂₅₄). Como eluente utilizou-se CH₂Cl₂ ou misturas de CH₂Cl₂/MeOH 5-10%.

Os espectros de infravermelho foram obtidos em modo de refletância total atenuada (ATR - do inglês, *Attenued Total Reflectance*) no equipamento Thermoscientific Nicolet iS10: smart iTR, equipado com cristal ATR de diamante. Na aquisição por ATR, colocou-se uma gota da amostra na forma de óleo sobre o cristal e registou-se o espectro. Nos cálculos de absorvância foi utilizado como referência o espectro do ar. Os espectros foram obtidos à temperatura ambiente na zona de 4000 a 400 cm⁻¹, a partir da média de 32 varrimentos, utilizando uma resolução espectral de 2 cm⁻¹. Na descrição dos espectros das acetanilidas os dados obtidos são indicados pela ordem seguinte a frequência máxima de uma banda de absorção ν_{\max} (em cm⁻¹) com intensidades média a alta e/ou representativas de um grupo funcional e, caso se justifique, a atribuição dessa banda a um grupo de átomos relevante na molécula.

Os espectros de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C foram adquiridos à temperatura ambiente num espectrómetro Brüker Avance 400 MHz (RMN de ^1H a 400 MHz e RMN de ^{13}C a 100 MHz) e foram processados com o *software* TOPSPIN 2.0 (Brüker, Fitchburg, WI, EUA). Para os efetuar, foi utilizado como solvente o dimetilsulfóxido deuterado ($\text{DMSO-}d_6$). Os desvios químicos (δ) são indicados em partes por milhão (ppm) em relação ao tetrametilsilano (TMS; $\delta = 0$ ppm) ou ao solvente deuterado ($\text{DMSO-}d_6$; $\delta = 2,50$ ppm em RMN de ^1H e 39,52 ppm em RMN de ^{13}C) como padrões internos. Na descrição dos espectros de RMN de ^1H (400 MHz) das acetanilidas os dados obtidos são indicados do seguinte modo: solvente; desvio químico - δ (em ppm); multiplicidade de sinal (s = singleto; d = duplete; t = tripleto; q = quarteto; ou a combinação dos anteriores; ou m = multiplete), área relativa - nH (como nº de prótons); constante de acoplamento - J em Hertz (Hz). Na descrição dos espectros de RMN de ^{13}C (100 MHz) realizados em desacoplamento, são apenas apresentados os desvios químicos - δ (em ppm).

A espectroscopia de massa de alta resolução (HMRS - do inglês, *High Resolution Mass Spectroscopy*) ESI-TOF foi executada num espectrómetro de massa (Brüker Daltonics, Bremen, Alemanha) microTOF (focus). Os iões foram gerados utilizando uma fonte Apollo II (ESI). A ionização foi obtida por eletropulverização utilizando uma voltagem de 4500 V aplicados na agulha, e uma gama de voltagem entre 100 e 150 V aplicados no capilar. As amostras foram preparadas por adição de uma solução de pulverização constituída por 70:30 (v/v) acetonitrilo/água com 0,1% de ácido fórmico a uma solução da amostra em CH_2Cl_2 numa razão v/v de 1 a 5%, de forma a dar a melhor razão sinal/ruído. A aquisição dos dados foi realizada utilizando o *software* microTOFControl version 2.1 e o processamento de dados foi efetuado utilizando o *software* DataAnalysis, versão 3.4, ambos da Brüker Daltonics. Os dados obtidos em cada espectro são indicados da seguinte forma: razão massa/carga $[\text{M}+\text{H}^+]$ e massa exata calculada correspondente à fórmula molecular indicada da acetanilida.

3.2 Síntese e caracterização estrutural

O iodeto de 3-etil-2-metilbenzotiazol-3-íon, e os brometos de 3-benzil-2-metilbenzotiazol-3-íon e de 3-[(2-metil)benzil]-2-metilbenzotiazol-3-íon, foram preparados a partir do 2-metilbenzotiazole por métodos descritos na literatura,^[3] fora do âmbito deste relatório de estágio.

As *orto*-(alquiltio)-*N*-alquilacetanilidas **3** foram preparadas a partir dos sais acima referidos pelo seguinte método geral descrito na literatura:^[2,5] Aqueceu-se a refluxo uma solução do iodeto de 3-alquil-2-metilbenzotiazol-3-íon **1** (1,0 mmol) e trietilamina (1,1 mmol) em EtOH a 96% (100 mL). Após a reação estar completa (30 a 60 minutos), o solvente foi removido sob pressão reduzida e o produto bruto resultante foi dissolvido em EtOH. Após a adição de hidróxido de sódio (1,2 mmol em relação ao sal **1**) e do iodeto/brometo de alquilo apropriado (RI e/ou RBr) (1,0 mmol em relação ao sal **1**), a mistura reacional foi novamente aquecida ao refluxo durante um período de 2 a 6 horas. Terminada a reação, o solvente foi removido sob

pressão reduzida, dissolvido em CH_2Cl_2 e filtrado (para remover o material insolúvel), o qual foi lavado sequencialmente com HCl aquoso a 10% e NaOH aquoso a 10%. A fase orgânica resultante foi então lavada com água, seca sobre Na_2SO_4 anidro e evaporada à secura sob pressão reduzida. O óleo rosado resultante foi purificado por cromatografia em coluna utilizando como eluente a mistura CH_2Cl_2 /metanol (MeOH) (de 10/0 a 9/1), originando as seguintes acetanilidas puras (> 95% por RMN de ^1H) de cor amarelo-acastanhadas:

3.2.1 *N*-[2-(benziltio)fenil]-*N*-etilacetamida 3m.

IR ($\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$): 2974, 2922, 2849, 1663 (C=O), 1579, 1494, 1466, 1455, 1379, 1289, 1265, 1063, 1028, 994, 919, 762, 735. RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 7,54-7,56 (m, 1H), 7,36-7,42 (m, 3H), 7,29-7,33 (m, 2H), 7,21-7,27 (m, 3H), 4,29 (s, 2H), 3,91 (dq, 1H, J = 13,4 Hz, 7,2 Hz), 3,04 (dq, 1H, J = 14,0 Hz, 7,2 Hz), 1,56 (s, 3H), 0,97 (t, 3H, J = 7,1 Hz) ppm. RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 169,2, 139,6, 137,3, 137,1, 130,2, 129,3, 129,3, 129,2, 128,9, 128,9, 127,7, 127,5, 126,4, 45,4, 35,2, 22,4, 13,4 ppm. HRMS (ESI-TOF) m/z 286,12683 (286,12656 calcd. para $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{NOS}$, $[\text{M}+\text{H}^+]$).

3.2.2 *N*-benzil-*N*-[2-(etiltio)fenil]acetamida 3s.

IR ($\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$): 2969, 2926, 2869, 1653 (C=O), 1582, 1467, 1434, 1388, 1280, 1249, 1209, 1064, 1030, 970, 774, 759, 700. RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 7,41 (dd, 1H, J = 8,0 Hz, 1,4 Hz), 7,34 (dt 1H, J = 7,6 Hz, 1,6 Hz), 7,22-7,30 (m, 3H), 7,17- 7,20 (m, 2H), 7,06 (dt, 1H, J = 7,5 Hz, 1,6 Hz), 6,80 (dd, 1H, J = 7,9 Hz, 1,4 Hz), 5,42 (d, 1H, J = 14,2 Hz), 3,97 (d, 1H, J = 14,2 Hz), 3,02 (dq, 2H, J = 7,3 Hz, 3,0 Hz), 1,72 (s, 3H), 1,28 (t, 3H, J = 7,2 Hz) ppm. RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 170,0, 139,4, 137,9, 137,0, 130,2, 129,4, 128,9, 128,9, 128,7, 128,7, 127,7, 126,7, 125,7, 50,3, 24,7, 22,4, 14,1 ppm. HRMS (ESI-TOF) m/z 286,12667 (286,12656 calcd. para $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{NOS}$, $[\text{M}+\text{H}^+]$).

3.2.3 *N*-benzil-*N*-[2-(benziltio)fenil]acetamida 3t.

IR ($\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$): 3028, 2926, 1655 (C=O), 1582, 1494, 1469, 1454, 1435, 1386, 1357, 1284, 1210, 1064, 1029, 971, 776, 755, 729, 698. RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 7,56 (dd, 1H, J = 8,1 Hz, 1,6 Hz), 7,40-7,43 (m, 2H), 7,29-7,35 (m, 3H), 7,20-7,28 (m, 4H), 7,10-7,13 (m, 2H), 7,06 (dt, 1H, J = 7,5 Hz, 1,2 Hz), 6,77 (dd, 1H, J = 7,7 Hz, 1,2 Hz), 5,37 (d, 1H, J = 14,7 Hz), 4,30 (s, 2H), 3,86 (d, 1H, J = 13,9 Hz), 1,64 (s, 3H) ppm. RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 170,0, 139,7, 137,8, 137,7, 136,7, 130,2, 129,4, 129,3, 129,0, 128,9, 128,7, 128,0, 127,7, 127,6, 126,2, 50,5, 35,4, 22,4 ppm. HRMS (ESI-TOF) m/z 348,14149 (348,14221 calcd. para $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{NOS}$, $[\text{M}+\text{H}^+]$).

3.2.4 *N*-[(2-etiltio)fenil]-*N*-(2-metilbenzil)acetamida 3u.

IR ($\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$): 2970, 2929, 2872, 1658 (C=O), 1584, 1471, 1440, 1386, 1379, 1359, 1301, 1271, 1248, 1049, 1040, 969, 764, 738. RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 7,40 (dd, 1H, J = 8,0 Hz, 1,3 Hz), 7,32 (dt, 1H, J = 7,6 Hz, 1,4 Hz), 7,09-7,14 (m, 2H), 7,04-7,08 (m, 2H), 7,02 (dd, 1H, J = 7,5 Hz, 1,4 Hz), 6,74 (dd, 1H, J = 7,8 Hz, 1,3 Hz), 5,34 (d, 1H, J = 14,7 Hz), 4,18 (d, 1H, J = 14,7 Hz), 3,02 (q, 2H, J = 7,3 Hz), 2,06 (s, 3H), 1,71 (s, 3H), 1,27 (t, 3H, J = 7,3 Hz) ppm. RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): δ = 169,7, 139,1, 137,0, 136,8, 135,5, 130,4, 130,2, 129,8, 129,4, 127,8, 126,7, 126,2, 125,7, 47,2, 24,8, 22,4, 19,0, 14,2 ppm. HRMS (ESI-TOF) m/z 300,14192 (300,14221 calcd. para $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{NOS}$, $[\text{M}+\text{H}^+]$).

3.2.5 *N*-(2-metilfenil)-*N*-[2-(2-metilbenziltio)fenil]acetamida 3v.

IR ($\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$): 3051, 3021, 2979, 2927, 1655 (C=O), 1584, 1493, 1471, 1391, 1265, 1050, 1037, 971, 730, 702. RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 7,59 (dd, 1H, J = 8,0 Hz, 1,0 Hz), 7,34 (dt, 1H, J = 7,7 Hz, 1,4 Hz), 7,28 (d, 1H, J = 7,5 Hz), 7,17-7,22 (m, 2H), 7,01-7,14 (m, 5H), 6,94 (d, 1H, J = 7,3 Hz), 6,73 (dd, 1H, J = 7,8 Hz, 1,2 Hz), 5,30 (d, 1H, J = 14,7 Hz), 4,24-4,30 (m, 2H), 4,05 (d, 1H, J = 14,7 Hz), 2,40 (s, 3H), 2,03 (s, 3H), 1,64 (s, 3H) ppm. RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): δ = 169,6, 139,5, 137,2, 136,7, 135,4, 134,7, 130,9, 130,4, 130,2, 130,1, 129,8, 129,3, 128,3, 128,1, 127,8, 126,4, 126,3, 126,1, 55,4, 49,1, 34,2, 22,3, 19,0 ppm. HRMS (ESI-TOF) m/z 376,17314 (376,17351 calcd. para $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{NOS}$, $[\text{M}+\text{H}^+]$).

3.3 Avaliação biológica

Após a purificação e secagem dos compostos obtidos, estes foram dissolvidos em dimetilsulfóxido (DMSO) numa concentração de 10 mM. Procedeu-se à sua avaliação biológica em três tipos de células: células do adenocarcinoma da próstata sensíveis a androgénios (LNCaP), células epiteliais humanas do cancro da mama sensíveis a estrogénios (MCF-7) e fibroblastos normais da derme humana (NHDF).

3.3.1 Reagentes e equipamentos utilizados

Os meios de cultura Roswell Park Memorial Institute (RPMI - do inglês, *Roswell Park Memorial Institute*) e Eagle modificado por Dulbecco (DMEM - do inglês, *Dulbecco's Modified Eagle Medium*), a *L*-Glutamina, o MTT, o HEPES, o DMSO e o ácido pirúvico foram adquiridos à Sigma-Aldrich. O azul de triptano foi comprado à Merck. O Soro Bovino Fetal (FBS) foi adquirido à Biochrom. Os restantes reagentes utilizados, foram preparados no Centro de Investigação em Ciências da Saúde (CICS). O antibiótico SP consiste numa mistura de estreptomicina e penicilina e o antibiótico/antimicótico AB consiste numa mistura de estreptomicina, penicilina e anfotericina B.

Para a realização dos ensaios foi também necessário recorrer à utilização de alguns instrumentos, como o leitor espectrofotométrico de microplacas Anthos 2020 na realização do ensaio do MTT, à incubadora Bioblock Scientific para incubação das células antes e durante os ensaios. Na manutenção das linhas celulares é importantíssimo trabalhar em condições de assepsia e, portanto, recorreu-se às salas de cultura celular para desenvolver os ensaios celulares onde se encontram, essencialmente: câmaras de fluxo laminar vertical (Nuair, classe II), uma estufa de CO₂ (NUAIRE DHD Autoflow) e um microscópio ótico (Olympus CK 40).

3.3.2 Cultura de células

As células foram mantidas em frascos de cultura de 75 ou 150 cm² a 37 °C na incubadora com uma atmosfera humidificada com 5% de CO₂, procedendo-se à substituição do meio de cultura a cada 2-3 dias. Nos ensaios foram utilizadas células na passagem 5^a-6^a (NHDF), 36^a-37^a (MCF-7) e 23^a-24^a (LNCaP).

As células **NHDF** são fibroblastos saudáveis derivados da derme humana. Estas foram colocadas em meio de cultura RPMI, suplementado com 10% de FBS, 0,02 M de L-glutamina, 0,01 M de HEPES, e 0,001 M de piruvato de sódio e 1% de antibiótico/antimicótico (AB) (10000 unidades/mL penicilina, 10 mg/mL estreptomicina e 25 µg/mL anfotericina B).

As células **LNCaP** (isoladas pela primeira vez em 1977), são provenientes de uma metástase num nódulo linfático supraclavicular extraída de um indivíduo caucasiano do sexo masculino, com cinquenta anos na altura da biópsia. Estas células, que são sensíveis a androgénios, foram mantidas em meio de cultura RPMI, suplementado com 10% de FBS e 1% de antibiótico/antimicótico (10000 unidades/mL penicilina e 10 mg/mL estreptomicina).

As células **MCF-7** são uma linha celular de células epiteliais do adenocarcinoma mamário isoladas a partir de uma efusão pleural de um indivíduo do sexo feminino com 69 anos com cancro da mama metastático. São células aderentes (tal como as LNCaP), que são sensíveis a estrogénios e que crescem em monocamada. Estas células foram mantidas no meio de cultura DMEM completo, com 10% de FBS e com 1% de antibiótico/antimicótico AB.

3.3.3 Tripsinização, contagem e sementeira das células

Antes da expansão das células para caixas multipoços é necessário dissociar as células da superfície onde estas se encontram, uma vez que se tratam de células aderentes. Para tal, é utilizada uma solução de tripsina (0,025% de tripsina em tampão fosfato salino (PBS)/EDTA), uma enzima proteolítica que permite dissociar as células das caixas onde foram cultivadas. Assim, após a confirmação da confluência adequada (através da observação ao microscópio Olympus CK 40), iniciou-se o procedimento de tripsinização efetuando-se a aspiração sob vácuo do meio de cultura existente no interior dos frascos de cultura, à qual se seguiu a

lavagem das células com tampão fosfato salino (PBS) aquecido (10 mL de tampão numa caixa de 75 mL).

Seguidamente, após aspirar o PBS colocou-se cerca de 10 mL da solução de tripsina (0,025% em tampão fosfato salino/EDTA; Sigma-Aldrich, Portugal) nos frascos de cultura, os quais foram novamente colocados na estufa de incubação (Bioblock Scientific, Sigma-Aldrich, Portugal) durante um máximo de 5 minutos. Após se verificar ao microscópio que as células já não se encontravam aderentes, neutralizou-se a tripsina com meio de cultura suplementado com FBS e centrifugou-se a suspensão resultante durante 8 minutos a 1000 r.p.m. O sobrenadante foi descartado e o *pellet* foi ressuspendido com meio de cultura completo. Nesta fase, efetua-se a contagem das células para calcular a sua concentração.

Para expandir as células, a suspensão celular foi semeada novamente em novos frascos de cultura. Para realizar o estudo da avaliação dos efeitos dos compostos na sua proliferação foi preparado o volume pretendido com a concentração adequada de células para semear em caixas multipoços.

Para se efetuar a contagem, o *pellet*, resultante da tripsinização e após se destacar o sobrenadante, foi ressuspendido em meio de cultura completo adequado a cada linha celular, do qual se retiraram 10 μ L para um tubo eppendorf ao qual se adicionou 10 μ L de solução de azul de triptano 0,4% (Merck, Alemanha). A suspensão resultante foi colocada sob uma lamela numa câmara de Neubauer (figura 9) para se contabilizar ao microscópio o número de células existente em cada quadrante.

Após a contagem das células, calculou-se a média de células dos quatro quadrantes e duplicou-se o valor obtido (devido à diluição provocada pela adição da solução de azul de triptano), obtendo-se através da fórmula de Neubauer a concentração de células na suspensão celular obtida. A partir deste valor preparou-se, por diluição, o volume pretendido com a concentração adequada de células para semear em caixas multipoços e fez-se a sementeira.

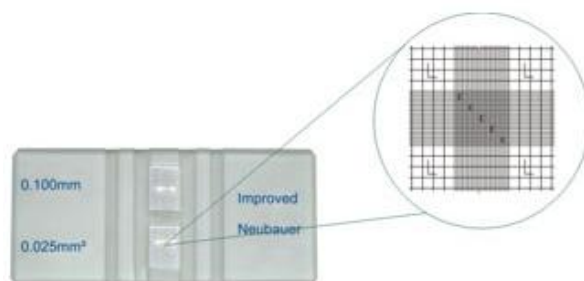


Figura 9 - Câmara de Neubauer. [29]

Uma vez determinada a concentração celular e tendo o objetivo de atingir uma concentração celular de 2×10^4 células por mL, calculou-se o volume de suspensão inicial a diluir no volume total de meio necessário para a realização dos ensaios e preparou-se a suspensão celular final. Esta foi então semeada, em caixas multipoços de 48 poços na qual apenas 35 dos poços da placa foram semeados, tendo sido colocado nos restantes 13 poços apenas meio, posicionados na primeira linha e na primeira coluna da placa, constituindo os zeros. Após a sementeira, as placas foram incubadas a 37 °C e numa atmosfera húmida com 5% de CO₂, durante 48h, antes da exposição aos compostos, para a adesão das células.

3.3.4 Avaliação da atividade proliferativa/antiproliferativa dos compostos em estudo - Ensaio MTT

O ensaio MTT é um ensaio colorimétrico que se baseia na capacidade que as células viáveis têm em reduzir o brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) (Sigma-Aldrich) a cristais de formazano através da enzima mitocondrial succinato-desidrogenase.^[30]

Dado que os cristais de formazano são insolúveis em meio aquoso, considera-se que a quantidade de formazano produzido é diretamente proporcional ao número de células viáveis existentes no poço. Assim, após 48 horas de incubação com os compostos a avaliar, procedeu-se à aspiração cuidadosa do meio em cada poço à lavagem com PBS previamente aquecido a 37 °C para que as células não sofram um choque térmico, seguida da adição da solução de MTT em todos os poços. Esta solução consiste numa mistura de 4:1 de meio de cultura incompleto com uma solução de MTT (5mg/mL) em PBS, preparada na ausência de luz, uma vez que o MTT é fotossensível. Após a adição desta solução de MTT às células, as caixas foram envolvidas em papel de alumínio e colocadas na estufa incubadora durante quatro horas, a 37 °C.

Após este tempo, observou-se a formação de cristais de formazano de cor violeta (as mitocôndrias das células viáveis originam a formação de formazano a partir do MTT). De seguida, o sobrenadante foi cuidadosamente aspirado e dissolveram-se os cristais de formazano por adição de DMSO em cada poço. A intensidade da cor formada (violeta) é diretamente proporcional ao número de cristais de formazano formado e, conseqüentemente, reflete o número de células viáveis no final do ensaio. Assim, o conteúdo dos poços foi posteriormente transferido para uma microplaca de 96 poços, procedendo-se por fim à leitura da absorvância a 570 nm no espectrómetro (leitor Anthus 2020 microplate), registando-se os valores obtidos. Considera-se um efeito inibidor do crescimento celular quando são obtidos valores significativamente abaixo dos valores de controlo e estimuladores do crescimento quando são obtidos valores significativamente acima dos do controlo. A extensão de células mortas é expressa como percentagem de células viáveis em comparação com as células de controlo.^[27,28]

3.3.5 Análise estatística

Os resultados gráficos de citotoxicidade foram expressos como valores médios \pm desvio padrão (SD). A comparação entre múltiplos grupos foi analisada pelo teste de *t*-Student para determinar a existência de diferenças significativas entre as médias. Para a determinação da IC₅₀, a diferença entre grupos foi considerada estatisticamente significativa quando $p < 0,05$. Estes cálculos, bem como a quantificação de uma potencial associação entre a lipofilicidade (logP) e os efeitos citotóxicos foram realizados usando o programa Microsoft Excel 2010.

Os valores de IC₅₀ indicados foram calculados a partir da curva dose-resposta por cálculos de ajustamento sigmoide, utilizando o programa Graph Pad Prisma4.

4. Discussão de resultados

Tendo em conta a nova via sintética de preparação de *orto*-(alquicalcogénio)acetanilidas **3**, descrita por Almeida e colaboradores,^[2] e a similaridade destas com a Nimesulida e seus derivados, é aqui apresentada e discutida a síntese de cinco novas *orto*-(alquiltio)acetanilidas **3** como potenciais agentes anticancerígenos. Adicionalmente, são ainda apresentados os resultados da avaliação citotóxica nas linhas celulares das acetanilidas preparadas no âmbito desta dissertação, bem como de um conjunto adicional de acetanilidas estruturalmente análogas, num total de vinte acetanilidas representativas, nas três linhas celulares já referidas (tabela 3).

4.1 Síntese e caracterização estrutural

No âmbito do manuscrito submetido para publicação ^[5] anteriormente referido, foram preparadas e caracterizadas no âmbito deste relatório, as cinco acetanilidas **3m**, **3s-v** (figura 10) com grupos substituintes R₁ e/ou R₂ benzílicos, as quais, de acordo com a pesquisa bibliográfica efetuada, deverão corresponder a novos compostos.

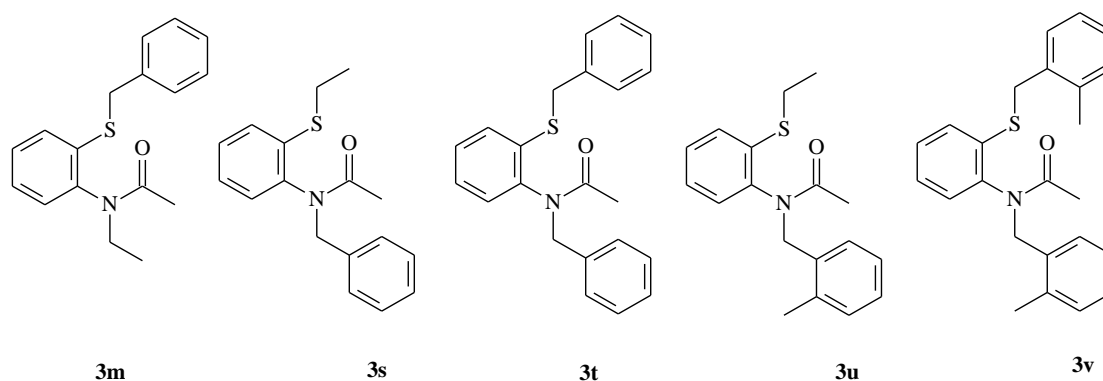
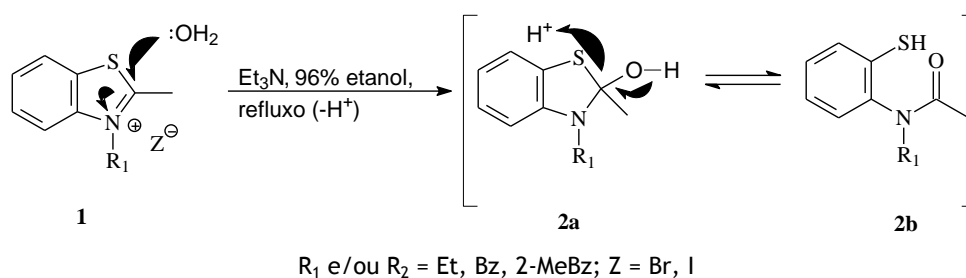


Figura 10 - Novas acetanilidas *orto*-substituídas **3m**, **3s-v** preparadas no âmbito deste relatório.

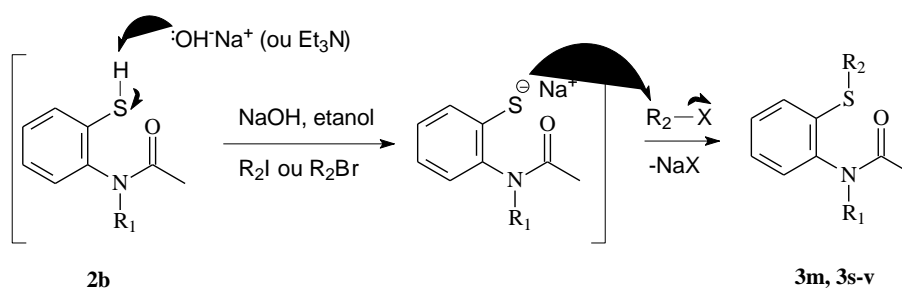
A preparação das referidas acetanilidas **3m**, **3s-v** foi realizada a partir dos respetivos sais de benzotiazólio (iodeto e/ou brometo) preparados por métodos descritos na literatura,^[3] e seguindo o método indicado no esquema 1^[2] e que foi igualmente utilizado para preparar as restantes acetanilidas aqui estudadas do ponto de vista citotóxico.^[5]

Assim, os sais de benzotiazólio foram submetidos a refluxo de etanol a 96%, na presença de trietilamina, originando as *N*-alquil-(2-tiol)acetanilida(s) **2b**, eventualmente na forma dos respetivos sais de tiolato, resultantes da abertura tiazole **2a** inicialmente formado (esquema 6).



Esquema 6 - Hidrólise e abertura do anel de benzotiazólio 1.

As *N*-alquil-(2-tiol)acetanilida(s) **2b**, eventualmente já na forma do respetivo sal de tiolato **2c**, foram alquiladas *in situ* de forma a evitar o passo reversível a **2a** (e eventualmente **1**), funcionando este passo como uma armadilha para estas espécies instáveis, originando a(s) (2-alkiltio)-*N*-alquilacetanilidas **3m**, **3s-v** correspondentes com rendimentos de 59-83% (esquema 7).



R_1 e/ou $R_2 = \text{Et, Bz, 2-MeBz}$

Esquema 7 - Formação do tiolato e alquilação com formação das acetanilidas **3m**, **3s-v**.

As acetanilidas **3m,s-v** foram depois caracterizadas do ponto de vista estrutural por RMN de ^1H e ^{13}C , FTIR e HRMS (FAB). Os espectros de alta resolução HRMS obtidos confirmaram a fórmula molecular das acetanilidas. Tantos nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C como de IV foram observados os sinais e bandas esperadas e de acordo com as estruturas propostas. A título representativo, apresentam-se para a acetanilida **3m** o espectro de RMN de ^1H (figura 11), espectro de RMN de ^{13}C (figura 12) e de IV (figura 13).

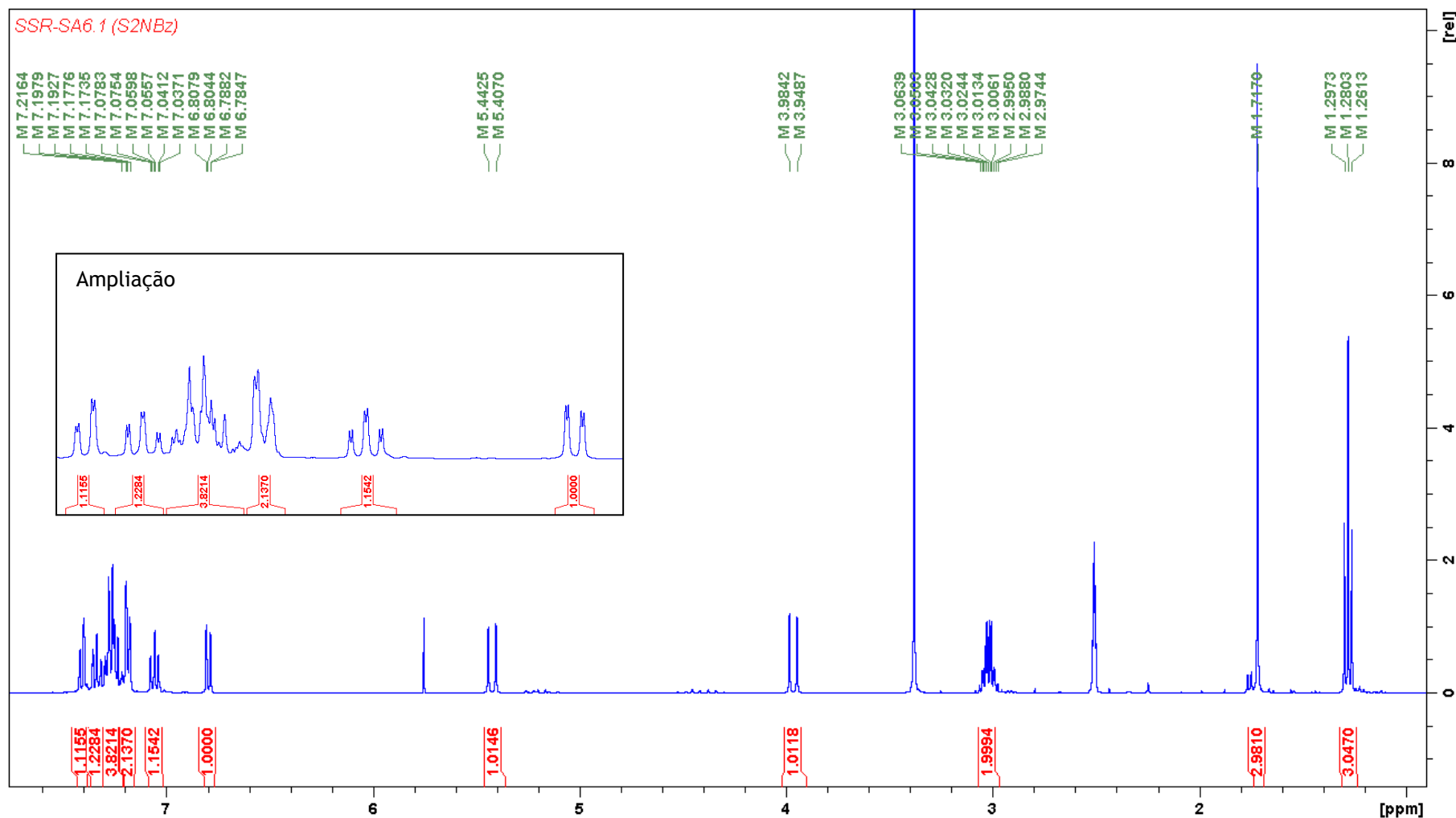


Figura 11 - Espectro de RMN de ¹H da acetanilida 3m.

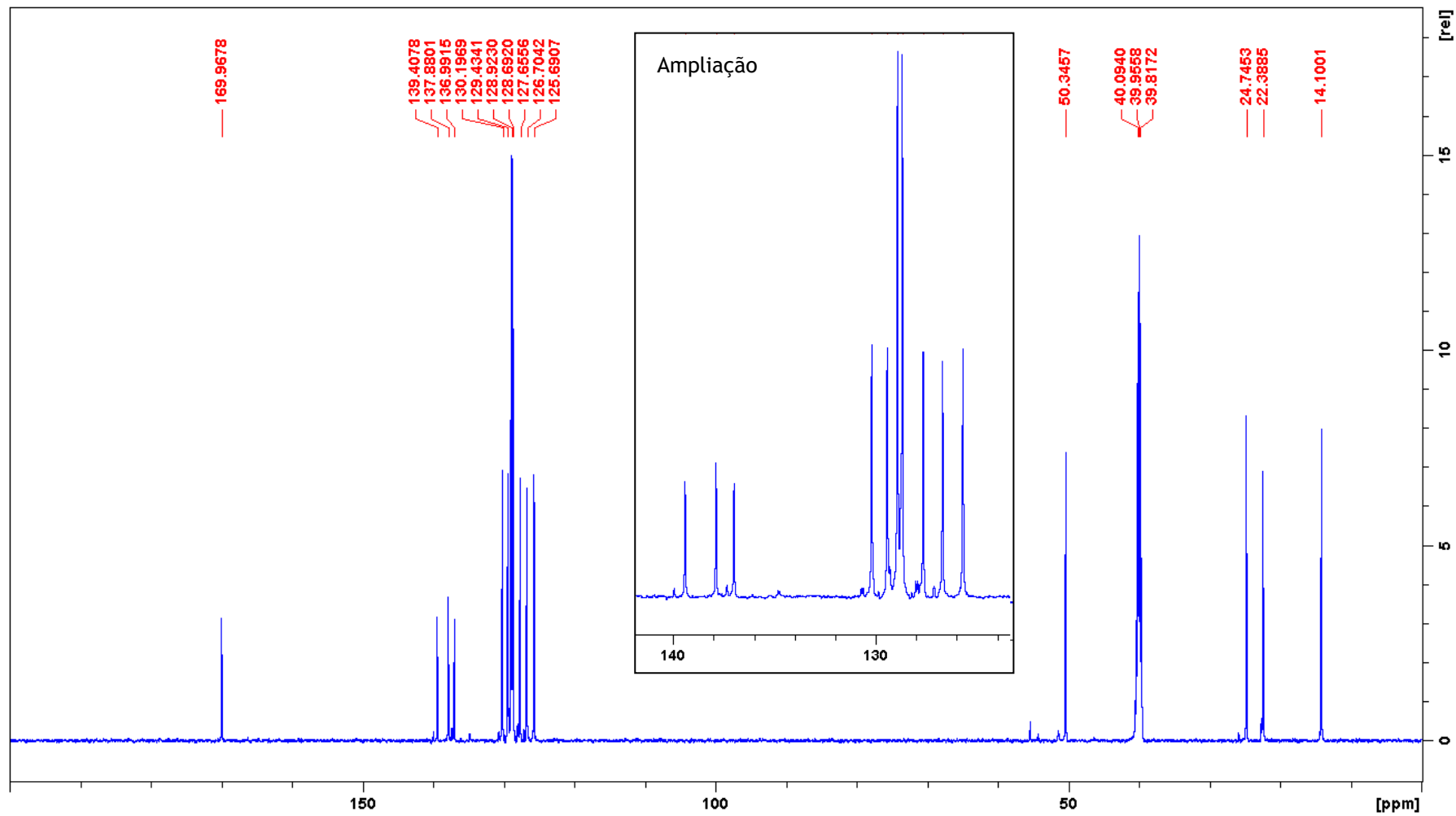


Figura 12 - Espectro de RMN de ^{13}C da acetanilida 3m.

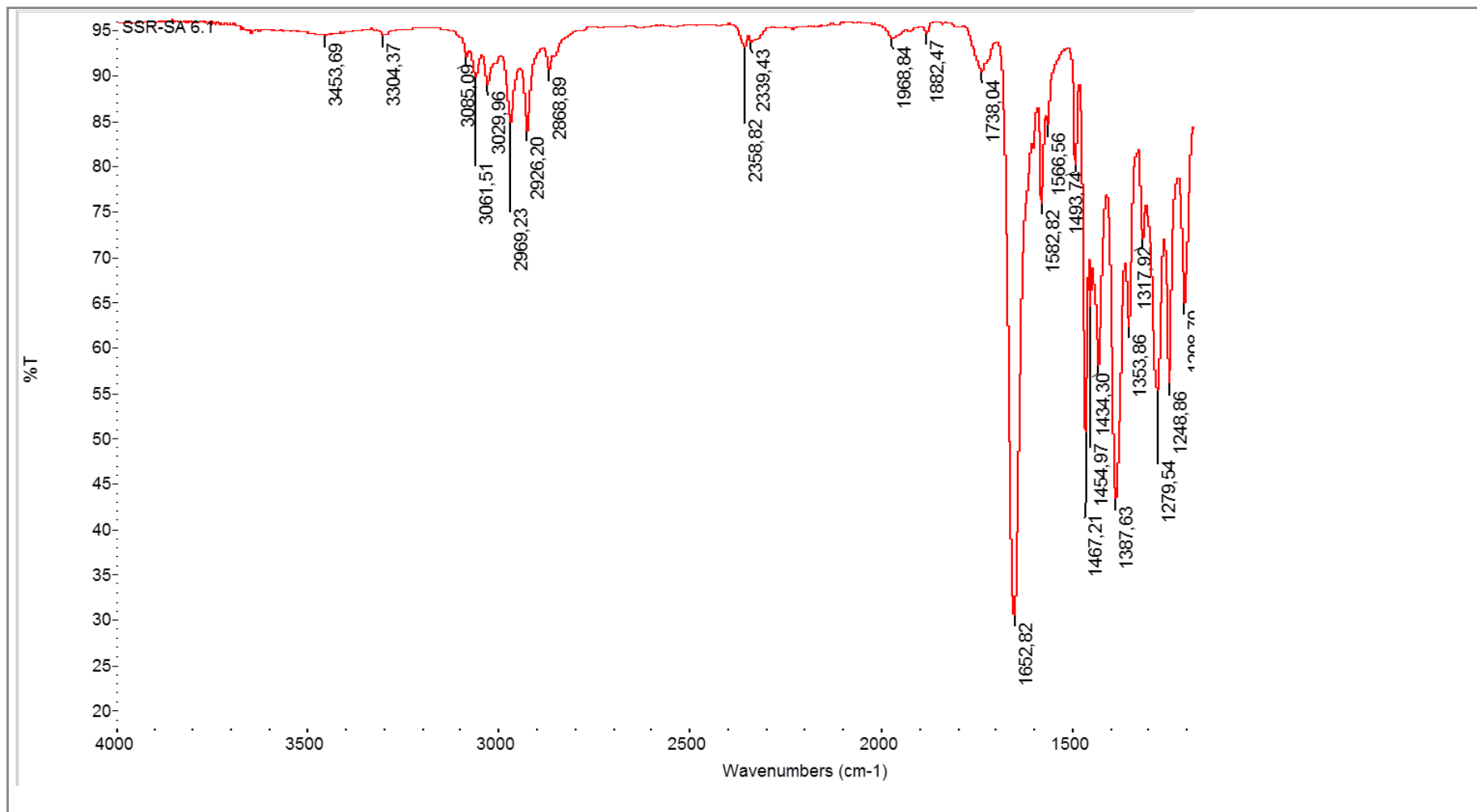


Figura 13 - Espectro de IV da acetanilida 3m.

4.2 Avaliação biológica

Os resultados obtidos nos ensaios de citotoxicidade foram expressos como média \pm desvio padrão, e para a análise dos mesmos foi utilizado o Microsoft Office Excel 2010[®]. A comparação entre múltiplos grupos foi analisada pelo teste de *t*-Student para determinar a existência de diferenças significativas entre as médias. A diferença entre grupos foi considerada estatisticamente significativa quando $p < 0,05$. Estes cálculos, bem como a quantificação de uma potencial associação entre a lipofilicidade ($\log P$) e os efeitos citotóxicos, foram realizados utilizando o programa Microsoft Excel 2010.

Quanto à determinação dos valores da IC_{50} , estes foram calculados a partir da curva dose-resposta por cálculos de ajustamento sigmoide, utilizando o programa Graph Pad Prisma 4.

A seletividade foi calculada através da razão da viabilidade celular entre as células normais (NHDF) e as células cancerígenas (MCF-7 e LNCaP) indicando, desta forma, uma ideia meramente qualitativa da mesma.

Tendo em consideração a similaridade estrutural entre as acetanilidas **3** descritas neste trabalho e vários derivados da Nimesulida, conhecidos por possuírem atividade anticancerígena,^[12-23] foi avaliado, para o conjunto das *orto*-(alquiloxi)acetanilidas **3a-d,h,i**, *orto*-(alquiltio)acetanilidas **3j-n,r-v** e *orto*-(alquilseleno)acetanilidas **3w-x**, o efeito antiproliferativa *in vitro* nas linhas celulares NHDF, MCF-7 e LNCaP.

De modo a avaliar ainda o papel do grupo carbonilo na citotoxicidade destes compostos, foram preparadas duas *orto*-(alquiltio)-*N,N*-dialquilanilinas **4a,b** representativas, como descrito por Almeida e colaboradores,^[2] tendo sido igualmente avaliada a sua atividade antiproliferativa *in vitro*. Estes resultados foram comparados com os obtidos para as suas congêneres, *orto*-(alquiltio)acetanilidas **3j,n**.

A avaliação da viabilidade celular das células MCF-7, NHDF e LNCaP, após exposição durante 48h aos compostos **3a-d,h-n,r-x** e **4a,b** a uma concentração de 30 μM , foi determinada pelo ensaio MTT, seguindo-se o procedimento previamente descrito.^[27,28] De um modo resumido, as células foram semeadas em caixas multipoços com 48 poços e tratadas com os diferentes compostos a uma concentração de 30 μM , durante cerca de 48h, sendo que as células não tratadas serviram como controlo negativo e utilizou-se H_2O_2 (1 mM) como controlo positivo. Ao fim do tempo de incubação, foi efetuado o ensaio MTT, encontrando-se os resultados deste ensaio resultados apresentados na tabela 4.

Nesta tabela 4 apresentam-se os valores da média \pm SD (% do controlo negativo) obtidos a partir de cinco determinações experimentais, estando os dados expressos como viabilidade celular (%) em comparação com o respetivo controlo negativo.

Tabela 4 - Viabilidade celular das linhas celulares MCF-7, NHDF e LNCaP incubadas com os compostos **3a-d,h-n,r-x** e **4a,b** a uma concentração de 30 μM , determinadas pelo ensaio MTT após 48h de exposição.

	Composto (30 μM)	R ₁	R ₂	MCF-7	Seletividade NHDF/MCF-7	LNCaP	Seletividade NHDF/LNCaP	Entrada	LogP ^a
1	3a	Et	Et	93,45 \pm 3,38	0,9	68,32 \pm 10,63	1,25	85,59 \pm 10,74	1,73
2	3b	Et	Pr	92,54 \pm 3,64	0,9	74,29 \pm 10,14	1,13	83,97 \pm 6,84	2,21
3	3c	Et	Hex	55,53 \pm 4,85	1,4	38,46 \pm 2,62	2,04	78,34 \pm 7,75	3,47
4	3d	Et	Bz	88,84 \pm 2,70	0,9	52,97 \pm 4,41	1,43	75,77 \pm 2,96	3,12
5	3h	Hex	Pr	51,52 \pm 9,41	1,6	45,86 \pm 2,01	1,84	84,34 \pm 5,20	3,95
6	3i	Bz	Et	87,59 \pm 3,58	1,0	65,75 \pm 10,13	1,39	91,07 \pm 12,63	3,12
7	3j	Et	Et	99,50 \pm 5,98	0,8	75,99 \pm 9,89	1,09	82,65 \pm 3,13	2,29
8	3k	Et	Pr	89,14 \pm 7,94	0,9	59,74 \pm 4,03	1,28	76,19 \pm 6,36	2,78
9	3l	Et	Hex	67,65 \pm 5,63	1,2	53,19 \pm 6,17	1,57	83,48 \pm 8,95	4,03
10	3m ^b	Et	Bz	95,33 \pm 7,97	0,8	51,71 \pm 5,02	1,53	79,17 \pm 7,78	3,69
11	3n	Pr	Me	95,34 \pm 6,77	0,9	65,78 \pm 2,66	1,24	81,49 \pm 4,77	1,96
12	3r	Hex	Pr	47,58 \pm 6,46	1,7	59,65 \pm 9,99	1,39	82,99 \pm 8,86	4,52
13	3s ^b	Bz	Et	89,37 \pm 5,62	0,9	62,44 \pm 3,19	1,28	80,05 \pm 6,03	3,69
14	3t ^b	Bz	Bz	79,81 \pm 5,21	1,2	52,63 \pm 6,08	1,84	96,68 \pm 12,68	5,08
15	3u ^b	MeBz	Et	77,00 \pm 7,68	1,0	41,85 \pm 1,75	1,80	75,21 \pm 6,90	4,18
16	3v ^b	MeBz	MeBz	13,71 \pm 4,71	5,8	39,03 \pm 2,59	2,02	79,02 \pm 10,39	6,06

Tabela 4 - Viabilidade celular das linhas celulares, MCF-7, NHDF e LNCaP, incubadas com os compostos **3a-d,h-n,r-x** e **4a,b** a uma concentração de 30 μM , determinadas pelo ensaio MTT após 48h de exposição (continuação).

Entrada	Composto (30 μM)	R ₁	R ₂	MCF-7	Seletividade NHDF/MCF-7	LNCaP	Seletividade NHDF/LNCaP	NHDF	LogP ^a
17	3w	Et	Et	98,23 \pm 5,71	1,0	86,20 \pm 8,98	1,11	95,45 \pm 8,18	1,88
18	3x	Et	Hex	82,63 \pm 6,97	1,2	59,35 \pm 1,60	1,67	98,90 \pm 7,91	3,47
19	4a			99,72 \pm 3,40	0,9	83,65 \pm 6,86	1,11	93,00 \pm 6,44	3,77
20	4b			97,19 \pm 2,32	0,9	76,91 \pm 16,91	1,15	88,27 \pm 7,15	3,43
21	H ₂ O ₂ (1 mM)			0,17 \pm 0,32	8,9	11,22 \pm 1,67	0,13	1,51 \pm 2,56	--

^a Lipofilicidade calculada utilizando o *software* ChemDraw 9.0TM (CambridgeSoft)

^b Acetanilidas **3m**, **3s-v** preparadas no âmbito desta dissertação

- Seletividade > 1,5

- Média \pm DP:



Os dados presentes na tabela 4 parecem indicar que os compostos têm uma baixa a moderada atividade antiproliferativa. Nomeadamente, para as células LNCaP, as acetanilidas benzílicas **3d,m,t,v** e hexílicas **3h,l,u,x** (tabela 4, entradas 4,10,13,14,16 e; 5,9,18 respetivamente) revelam ser mais tóxicas e mais seletivas (seletividade > 1,5) do que as acetanilidas congéneres metílicas, etílicas e propílicas. Da análise da tabela 4, é possível ainda verificar que, de um modo geral, estas acetanilidas **3** têm também alguma atividade antiproliferativa para as células MCF-7, e quase nenhuma para as células normais NHDF.

Adicionalmente, a acetanilida **3v** revela-se bastante citotóxica para ambas as linhas celulares cancerígenas (MCF-7 e LNCaP), com especial destaque para as MCF-7 (viabilidade celular média de 13,71 \pm 4,71). É de realçar ainda que a acetanilida **3v** mostra ser bastante seletiva para as células MCF-7 relativamente às células normais NHDF, tal como se pode observar pelo índice de seletividade (5,8). Estes resultados levantaram a suspeita de que a lipofilicidade dos compostos analisados pudesse estar relacionada com a sua atividade antiproliferativa. Deste modo, utilizando o *software* ChemDraw 9.0TM, foi calculado o logP de todos os compostos (tabela 4) e foi avaliada a relação entre as duas variáveis. Desta análise, foi encontrada apenas uma modesta associação entre a citotoxicidade e a lipofilicidade para as células LNCaP ($r^2=0,5379$) (gráfico 1), MCF-7 ($r^2=0,3933$) (gráfico 2) e para as células NHDF não foi evidenciada associação ($r^2=0,0032$) (gráfico 3).

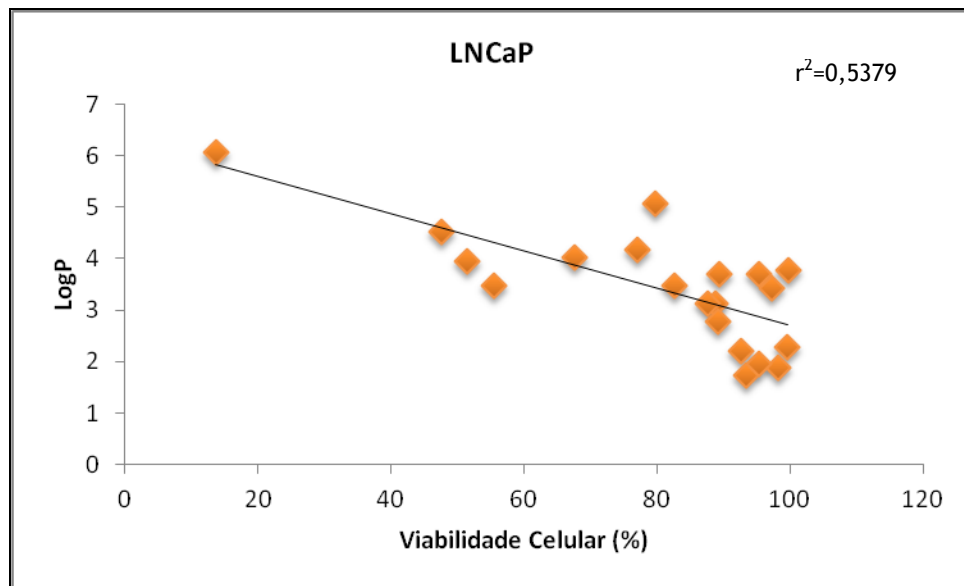


Gráfico 1 - Relação entre a % da viabilidade celular vs. lipofilicidade para a linha celular LNCaP.

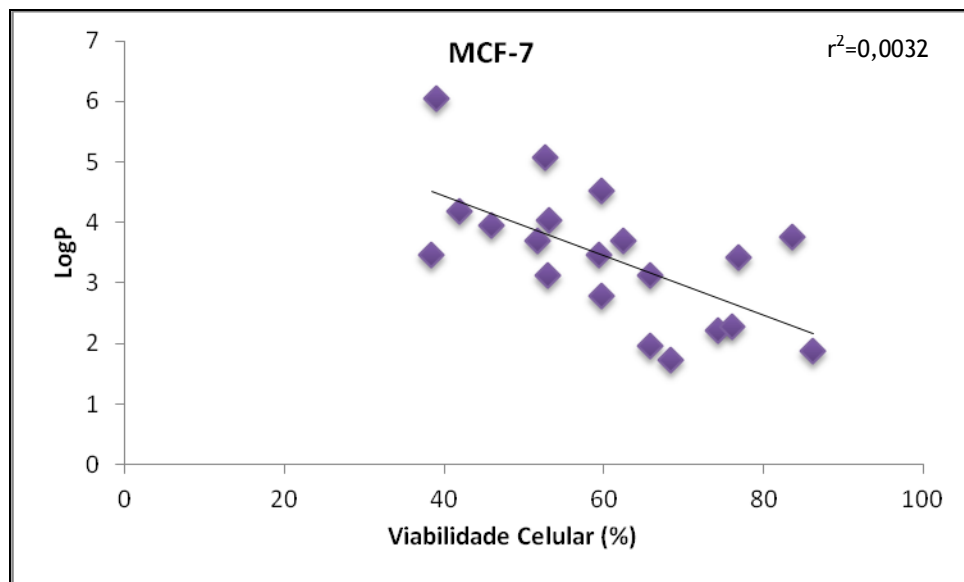


Gráfico 2 - Relação entre a % da viabilidade celular vs. lipofilicidade para a linha celular MCF-7.

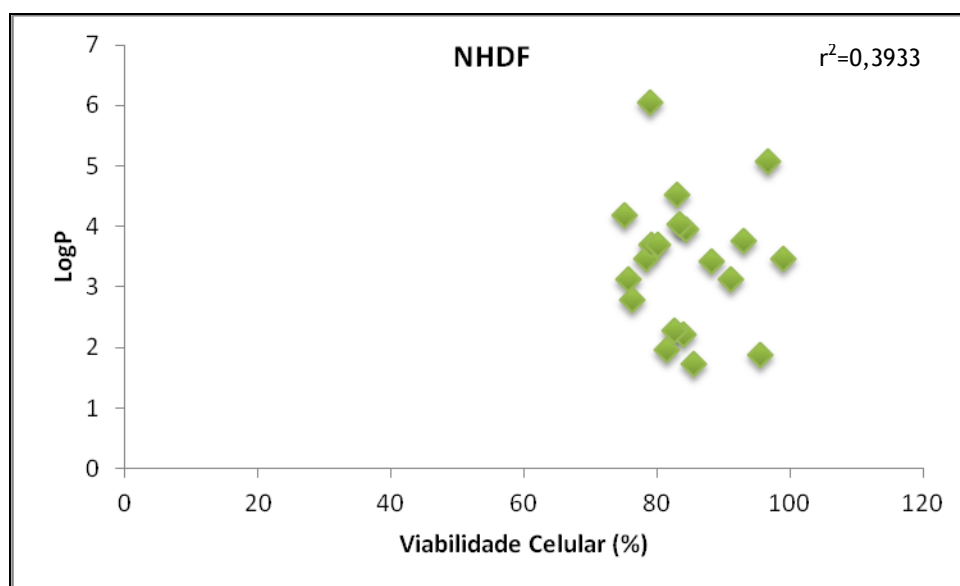


Gráfico 3 - Relação entre a % da viabilidade celular vs. lipofilicidade para a linha celular NHDF.

Adicionalmente, foi efetuada uma análise cuidada dos resultados dos compostos nas séries X2N2 e X6N2 [tabela 4, entradas 1,3,5,7,9,12,17 e 18; Xn e Nn significam o número de carbonos (2=etilo; 3=propilo e 6=hexilo) ligados ao calcogénio (X=O, S ou Se) ou ao azoto, respetivamente] que revelou, de um modo geral, uma citotoxicidade superior para as *orto*-(alquiloxi)acetanilidas (X=O) e inferior para as *orto*-(alquilseleno)acetanilidas (X=Se). As *orto*-(alquitio)anilinas **4a,b** (tabela 3, entradas 19 e 20) revelaram ter ação antiproliferativa e seletividade inferior às observadas com as suas congéneres *orto*-(alquiltio)acetanilidas **3j,n** (tabela 3, entradas 7 e 11), indiciando a importância do grupo carbonilo da amida para a atividade antiproliferativa nesta série de compostos.

A elevada atividade antiproliferativa e maior seletividade observada para a acetanilida **3v** em ambas as células cancerígenas, nomeadamente cerca de 6 vezes e 2 vezes mais para as células MCF-7 e LNCaP, respetivamente, quando comparado com as células NHDF (tabela 4, entrada 16) são aspetos que devem ser aqui enfatizados. Deste modo, este composto revelou ter uma elevada seletividade para as células do cancro da mama (13,71% proliferação vs controlo) em comparação tanto com as células do cancro da próstata (39,03%) como com os fibroblastos humanos (79,02%). Este resultado está atualmente a ser explorado de modo a avaliar o interesse potencial deste composto como futuro agente anticancerígeno. Adicionalmente e da comparação entre as acetanilidas **3v** e **3t** (tabela 4, entradas 16 e 14), é evidenciado de uma forma muito significativa, que a introdução de um grupo *orto*-metilo no grupo benzilo aumenta tanto a potência antiproliferativa, como a seletividade, em especial, para as células MCF-7.

Para os compostos **3u** e **3s**, pode-se observar um efeito semelhante verificando-se que o composto **3u**, com o anel benzílico substituído na posição *orto* com um grupo metilo, revela

um efeito antiproliferativo superior ao seu análogo **3s** com o anel benzílico não substituído, (tabela 14, entradas 15 e 13).

Em conclusão, e não obstante alguns resultados aqui apresentados parecerem prometedores, são necessários mais estudos para explorar o potencial interesse desta família de compostos como potenciais agentes antiproliferativos, em particular as acetanilidas com grupo(s) hexílico(s) e/ou benzílico(s) substituído(s).

Tendo-se verificado que os compostos **3r** e **3v** mostraram elevada ação antiproliferativa nas células MCF-7 e LNCaP, foi ainda determinada a concentração inibitória a 50% em condições experimentais similares às anteriores. Desta forma foi avaliada a ação antiproliferativa destes compostos nestas células em soluções com concentrações 0,01 μM , 0,1 μM , 1 μM , 10 μM , 50 μM e 100 μM , após um período de 48h (gráficos 4, 5, 6 e 7). Na tabela 5 encontram-se os valores de IC_{50} determinados a partir dos dados assim obtidos para as acetanilidas **3r** e **3v**.

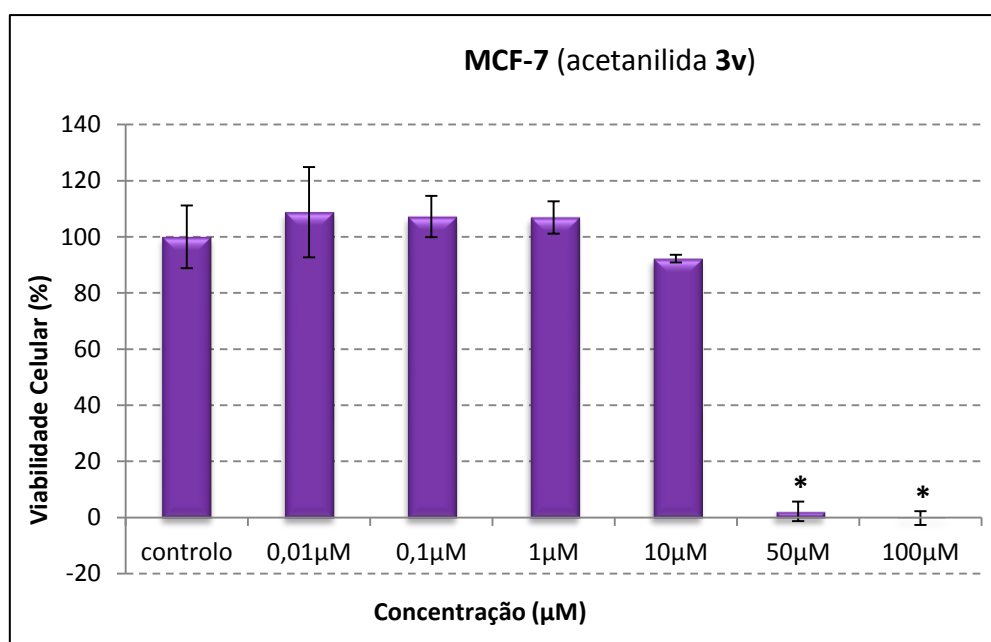


Gráfico 4 - Gráfico representativo dos resultados obtidos na aplicação dos ensaios para o composto **3v** na linha celular MCF-7; os valores assinalados com * apresentam diferenças significativas relativamente aos resultados obtidos no ensaio de controlo ($p < 0,05$).

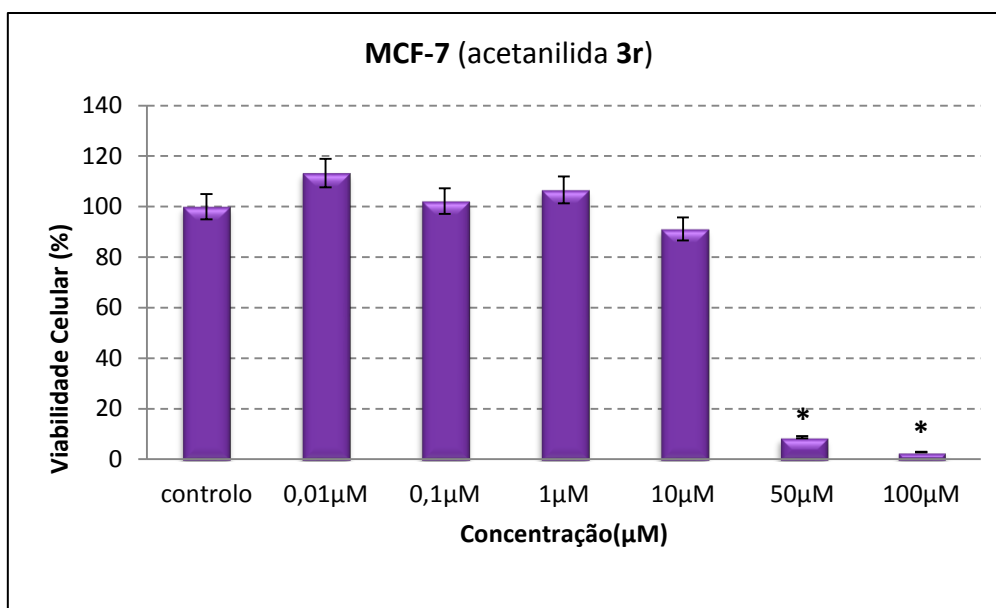


Gráfico 5 - Gráfico representativo dos resultados obtidos na aplicação dos ensaios para o composto **3r** na linha celular MCF-7; os valores assinalados com * apresentam diferenças significativas relativamente aos resultados obtidos no ensaio de controlo ($p < 0,05$).

Da análise dos gráficos 4 e 5, constata-se que nas células MCF-7, ambos os compostos **3r** e **3v** induzem uma redução significativa da proliferação celular nas concentrações de 50 e 100 µM, e esta redução traduz-se nos valores de IC_{50} de 41,84 µM ($R^2=0,9707$) e 40,93 µM ($R^2=0,9422$) determinados para as acetanilidas **3r** e **3v** respetivamente. Em ambos os compostos estudados, não existem diferenças significativas ($p < 0,05$) nas concentrações de 0,01 a 10 µM, em relação ao controlo negativo, apontando para uma ausência de toxicidade nesta gama de concentrações.

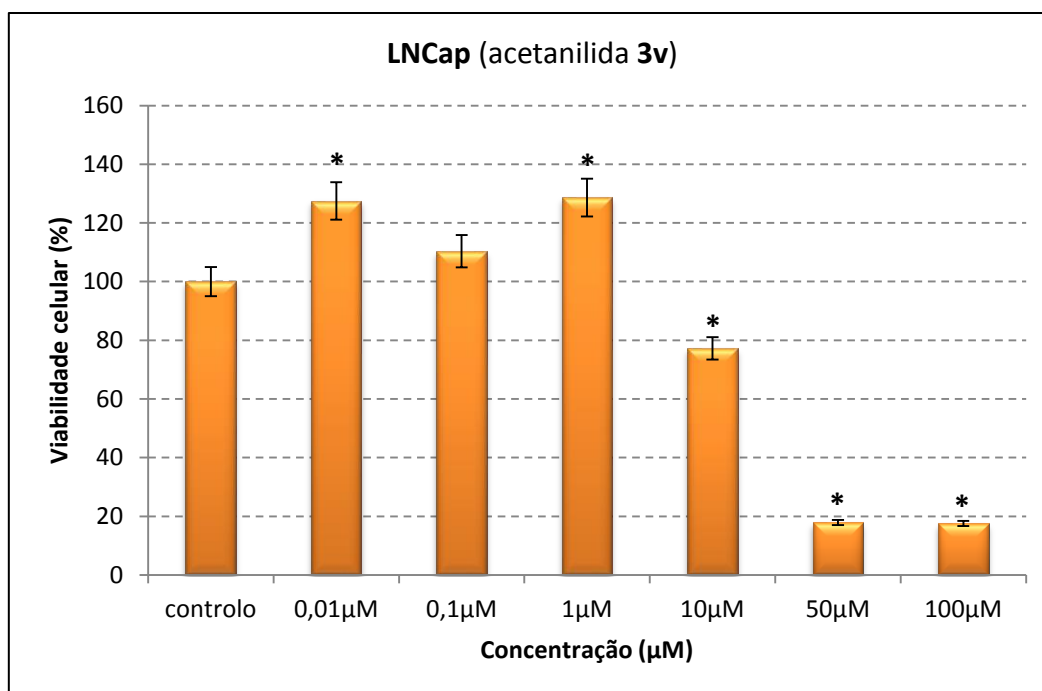


Gráfico 6 - Gráfico representativo dos resultados obtidos na aplicação dos ensaios para o composto 3v na linha celular LNCaP; os valores assinalados com * apresentam diferenças significativas relativamente aos resultados obtidos no ensaio de controlo ($p < 0,05$).

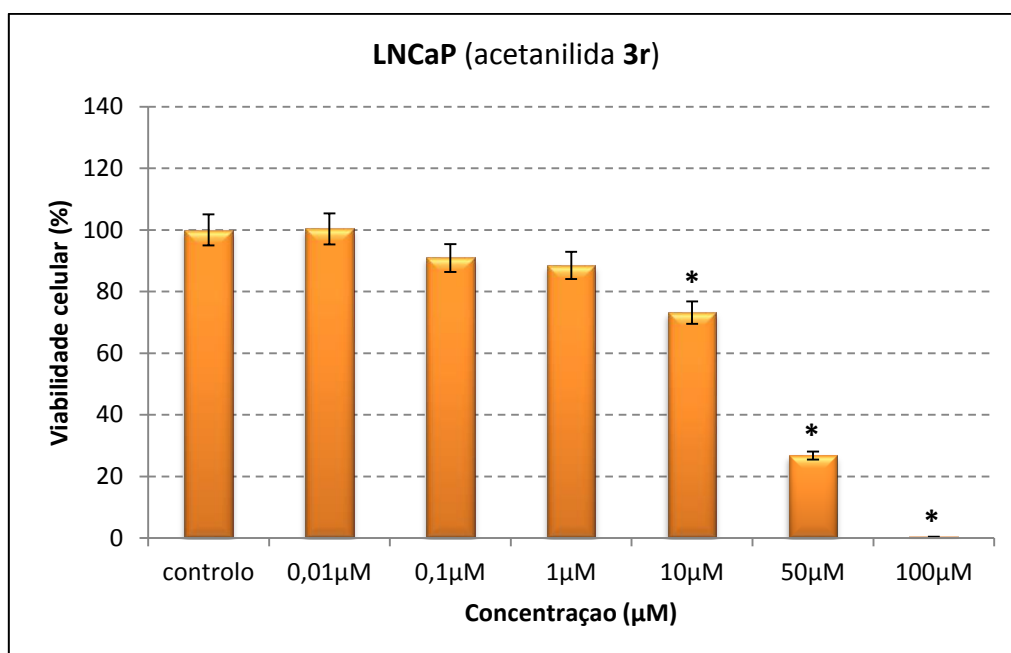


Gráfico 7 - Gráfico representativo dos resultados obtidos na aplicação dos ensaios para o composto 3r na linha celular LNCaP; os valores assinalados com * apresentam diferenças significativas relativamente aos resultados obtidos no ensaio de controlo ($p < 0,05$).

Tabela 5 - Valores para a IC_{50} (μM) para os dois compostos **3r** e **3v**, nas células MCF-7 e LNCaP, obtido com um intervalo de confiança de 95%.

Linhas celulares	Compostos	IC_{50} (μM)	R^2
LNCaP	3r	61,64	0,8723
	3v	17,24	0,8632
MCF-7	3r	41,84	0,9407
	3v	40,93	0,9422

Da análise do gráfico 6 revela de uma forma evidente que o composto **3v**, nas concentrações 0,01 e 1 μM , demonstrou aumentar a viabilidade celular nas células LNCaP, uma vez que após 48h induziu um aumento estatisticamente significativo, em relação ao controlo.

Na análise dos gráficos 6 e 7 constata-se que para as células LNCaP, ambos os compostos **3r** e **3v**, induzem uma redução significativa da viabilidade celular, após um período de 48h nas concentrações mais elevadas de 10, 50 e 100 μM . Efetivamente, é a partir de valores de concentração superiores a 10 μM que se observa um declínio acentuado na proliferação celular, o que se traduz nos valores de IC_{50} de 61,64 μM ($R^2=0,9707$) para o composto **3r** e de 17,24 μM ($R^2=0,9422$) para o **3v** (tabela 5).

Desta forma, pode-se concluir que o composto **3v** revelou ser o mais promissor como inibidor do crescimento celular, especialmente, na linha celular LNCaP, reduzindo a taxa de sobrevivência, para mais de metade ao fim de 48h, na concentração de 17,24 μM .

5. Conclusão

No presente trabalho foram preparadas e caracterizadas uma série de novas *orto*-(alquicalcogénio)-*N*-alquilacetanilidas **3** a partir de sais de amónio quaternário **1**, com rendimentos globais de 59-83%. Esta nova via sintética apresenta-se como um novo método simples, efetivo e regioespecífico para a obtenção de análogos da Nimesulida com potencial atividade anticancerígena.

A avaliação *in vitro* dos efeitos antiproliferativos para um grupo representativo de acetanilidas **3** nas linhas celulares NHDF, MCF-7 e LNCaP, foi igualmente realizada. Os resultados deste estudo revelaram não apenas uma citotoxicidade seletiva geral contra as células cancerígenas *versus* as células normais, especialmente pronunciada para as células do cancro da próstata, mas ainda que as acetanilidas **3** substituídas com grupos benzílicos (benzilo e 2-metilbenzilo) e hexilo revelavam ser os compostos mais potentes. O resultado

mais relevante foi observado para a acetanilida dissubstituída **3v** com grupos 2-metilbenzilos que está a ser atualmente estudada como futuro agente protótipo anticancerígeno. De modo a aprofundar a relação estrutura-atividade, é ainda desejável o desenvolvimento de novas acetanilidas hexílicas e/ou benzílicas.

Por fim, é minha convicção que a procura de novas acetanilidas relacionadas com as aqui estudadas, conduzirá à introdução de grupos volumosos na segunda posição *ortho* disponível, aumentando significativamente o valor da rotação N-arílica, e desta forma permitindo a separação e o isolamento de ambas as formas atropisoméricas estereoquimicamente estáveis daí resultantes. Deste modo, poderá abrir-se uma nova oportunidade para se estudar a atividade biológica, tal como a citotoxicidade contra diferentes linhas celulares cancerígenas, de cada uma destas formas quirais isoladas ou em mistura racémica.

Bibliografia

- [1] P. Almeida, "Cianinas, a cor não visível da fotografia", *Química - Boletim da Sociedade Portuguesa de Química* **1999**, 73, 9;
- [2] S. S. Ramos, L. V. Reis, R. E. F. Boto, P. F. Santos, P. Almeida, "Synthesis and dynamic study of new *ortho*-(alkylchalcogen)acetanilide atropisomers. A second look at the hydrolysis of quaternary 2-methylbenzazol-3-ium salts", *Tetrahedron Letters* **2013**, 54, 5441;
- [3] A. C. Pardal, S. S. Ramos, P. F. Santos, L. V. Reis, P. Almeida, "Synthesis and spectroscopic characterization of *N*-alkyl quaternary ammonium salts typical precursors of cyanines", *Molecules* **2002**, 7, 320;
- [4] I. R. Pais, M. J. Nunes, L. V. Reis, P. F. Santos, P. Almeida, "The synthesis of chloroheptamethinecyanine dyes in the absence of water" *Dyes Pigments* **2008**, 77, 48;
- [5] S. S. Ramos, S. S. Almeida, P. M. Leite, S. Silvestre, R. E. F. Boto, P. Almeida, "Synthesis, structural characterization, VT-NMR and cytotoxic evaluation of *ortho*-(alkylchalcogen)acetanilide atropisomers", *Tetrahedron* **2014** (submetido para publicação);
- [6] A. R. Santos, A. C. Pinheiro, A. R. Sodero, A. S. Cunha, M. C. Padilha, P. M. Sousa, S. P. Fontes, "Atropisomerism: the effect of the axial chirality in bioactive compounds", *Química Nova* **2007**, 30125;
- [7] G. H. Christie, J. H. Kenner, "The molecular configurations of polynuclear aromatic compounds. Part I. The resolution of 6:6'-dinitro- and 4:6:4':6'-tetranitro- diphenic acids in optically active compounds", *Journal of Chemistry Society* **1922**, 121, 614;
- [8] Rainsford K. D., The discovery, development and novel actions of nimesulide. In Nimesulide - Actions and uses, *Birkhäuser Verlag Basel: Basel* **2005**, pp. 1-659;
- [9] G. G. I. Moore, H. J. Harrington, "Substituted 3-phenoxy alkane sulphonanilides". Patente US nº 3,840,597, **1974**;
- [10] A. C. S. Fernandes, R., J. E. Borges, M. F. B. M. S. Pereira, C. J. C. Romão, (to Herbex Produtos químicos Lda, Port). "Method for the preparation of aryl ethers using a silver salt as catalyst under ultrasound irradiation", Patente PT nº102315, **2000**;
- [11] A. Prasad, M. L. Sharma, S. Kanwal, R. Rathee, S. D. Sharma, "A practical large scale synthesis of nimesulide - A step ahead", *Journal of Scientific & Industrial Research* **2005**, 64, 756;

- [12] B. Zhong, X. H. Cai, S. Chennamaneni, X. Yi, L. L. Liu, J. J. Pink, A. Dowlati, Y. Xu, A. M. Zhou, B. Su, "From COX-2 inhibitor nimesulide to potent anti-cancer agent: Synthesis, *in vitro*, *in vivo* and pharmacokinetic evaluation", *European Journal of Medicinal Chemistry* **2012**, 47, 432;
- [13] B. Su, S. A. Chen, "Lead optimization of COX-2 inhibitor nimesulide analogs to overcome aromatase inhibitor resistance in breast cancer cells", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2009**, 19, 6733;
- [14] B. Su, M. V. Darby, R. W. Brueggerneier, "Synthesis and biological evaluation of novel sulfonanilide compounds as antiproliferative agents for breast cancer", *Journal of Combinatorial Chemistry* **2008**, 10, 475;
- [15] B. Su, E. S. Diaz-Cruz, S. Landini, R. W. Brueggemeier, "Novel sulfonanilide analogues suppress aromatase expression and activity in breast cancer cells independent of COX-2 inhibition", *Journal of Medicinal Chemistry* **2006**, 49, 1413;
- [16] B. Su, S. Landini, D. D. Davis, R. W. Brueggemeier, "Synthesis and biological evaluation of selective aromatase expression regulators in breast cancer cells", *Journal of Medicinal Chemistry* **2007**, 50, 1635;
- [17] B. Su, R. Tian, M. V. Darby, R. W. Brueggemeier, "Novel sulfonanilide analogs decrease aromatase activity in breast cancer cells: Synthesis, biological evaluation, and ligand-based pharmacophore identification", *Journal of Medicinal Chemistry* **2008**, 51, 1126;
- [18] B. Su, X. H. Cai, Y. Y. Hong, S. A. Chen, "COX-2 inhibitor nimesulide analogs are aromatase suppressors in breast cancer cells", *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* **2010**, 122, 232;
- [19] X. Yi, B. Zhong, K. M. Smith, W. J. Geldenhuys, Y. Feng, J. J. Pink, A. Dowlati, Y. Xu, A. M. Zhou, B. Su, "Identification of a class of novel tubulin inhibitors" *Journal of Medicinal Chemistry* **2012**, 55, 3425;
- [20] B. Zhong, R. Lama, K. M. Smith, Y. X, B. Su, "Design and synthesis of a biotinylated probe of COX-2 inhibitor nimesulide analog JCC76", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2011**, 21, 5324;
- [21] K. Kankanala, V. R. Reddy, Y. P. Devi, L. N. Mangamoori, K. Mukkanti, S. Pal, "Nimesulide based novel glycolamide esters: their design, synthesis, and pharmacological evaluation", *Journal of Chemistry* **2013**, 1;
- [22] J. Mareddy, S. B. Nallapati, Anireddy, J. Anireddy, Y. P. Devi, L. N. Mangamoori,; R. Kapavarapu, S. Pal, "Synthesis and biological evaluation of nimesulide based new class of

triazole derivatives as potential PDE4B inhibitors against cancer cells”, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2013**, *23*, 6721;

[23] L. V. Reddy, M. Kethavath, M. Nakka, S. Beevi; L. N. Mangamoori, K. Mukkanti, , S. Pal, “Design and synthesis of novel cytotoxic agents based on combined framework of quinoline and nimesulide”, *Journal of Heterocyclic Chemistry* **2012**, *49*, 80;

[24] L. V. Reddy, M. Nakka, A. Suman, S. Ghosh, M. Helliwell, K. Mukkanti, A. K. Mukherjee, S. Pal, “Synthesis of novel quinoline analogues of nimesulide: an unusual observation”, *Journal of Heterocyclic Chemistry* **2011**, *48*, 555;

[25] D.J. Abraham, Autocoids, diagnostics, and drugs from new biology. In Burger's medicinal chemistry and drug discovery, 6^a edição, Wiley; **2003**;

[26] J. F. Renard, D. Arslan, N. P. Garbacki, X. de Leval, “Pyridine analogues of Nimesulide: design, synthesis, and *in vitro* and *in vivo* pharmacological evaluation as promising cyclooxygenase 1 and 2 inhibitors”, *Journal of Medicinal Chemistry* **2009**, *52*, 5864;

[27] C. Cruz, E. Cairrão, S. Silvestre, L. Breitenfeld, P. Almeida, J. A. Queiroz, “Targeting of mitochondria-endoplasmic reticulum by fluorescent macrocyclic compounds” *PLoS ONE* **2011**, *6*, e27078;

[28] R. I. Freshney, In Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique, Ed. John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, New Jersey; **2005**;

[29] Câmara de Neubauer. Disponível em: <http://cmclaboratorio.com.br/produtos/camara-de-neubauer/> (consultado a 3 de junho de 2014);

[30] T. Mosmann, “Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival”, *Journal Immunology Methods* **1983**, *65*, 55.

Publicação e Comunicação apresentadas no âmbito deste relatório de estágio

- S. S. Almeida, S. S. Ramos, P. M. Leite, R. E. F. Boto, S. Silvestre, P. Almeida, “Synthesis and cytotoxic evaluation of new *ortho*-(alkylchalcogen)acetanilides“, IX Annual CICS Symposium 2014, Covilhã, Portugal, 30 junho e 1 julho 2014 (anexo 11);

- Susana S. Ramos, Sandra S. Almeida, Paula M. Leite, Samuel Silvestre, Renato E. F. Boto, Paulo Almeida, “Synthesis, structural characterization, VT-NMR and cytotoxic evaluation of *ortho*-(alkylchalcogen)acetanilides” *Tetrahedron* 2014 (submetido para publicação) (anexo 12).

ANEXO 1 - Consentimento Informado

Nome do Doente: _____

Declaração de Consentimento Informado

O Sifarma 2000 é o novo projecto das farmácias portuguesas de apoio à acção de Intervenção Farmacêutica, que tem como objectivo principal contribuir para a melhoria ou manutenção do seu estado de saúde.

Gostariamos que aceitasse aderir a este projecto, autorizando a constituição de um registo sobre o "histórico de medicamentos", o "perfil farmacoterapêutico" e os "resultados de testes analíticos", que será utilizado exclusivamente para efeitos de acompanhamento do seu estado de saúde nesta ou noutras Farmácias, consoante o seu consentimento.

A sua participação é inteiramente voluntária, podendo em qualquer momento desistir, sem que isso afecte o seu atendimento.

Caso aceite participar, saiba que os dados pessoais fornecidos são tratados automaticamente, de forma confidencial, pela ANF e pelas Farmácias aderentes, com a finalidade de gestão de utentes da Farmácia, de dispensa de medicamentos e respectivo histórico, registo e controlo dos testes analíticos do utente. Os dados são centralizados na ANF de forma não nominativa para permitir a partilha da informação sobre "histórico de medicamentos" e o "perfil farmacoterapêutico" pelas Farmácias aderentes ao sistema quando tenha sido dado o consentimento pelo utente. O titular dos dados tem direito de acesso, correcção e eliminação desde que o solicite, pessoalmente, junto da Farmácia aderente ao Sifarma que tinha sido por ele autorizada a aceder aos seus dados pessoais.

A adesão é formalizada através do preenchimento da presente declaração e da sua apresentação ao seu Farmacêutico, que de seguida lhe entregará um código barras pessoal e intransmissível. Este código de barras será apresentado ao seu Farmacêutico sempre que pretenda que o sistema o identifique e registe dados a seu respeito.

Nestes termos, declaro que:

- * Tomei conhecimento das condições de participação no Sifarma 2000, as quais aceito.
- * Autorizo esta Farmácia a utilizar os meus dados pessoais. _____ (Sim / Não)
- * Autorizo qualquer Farmácia aderente ao Sifarma 2000 a utilizar o meu "histórico de consumos" e o meu "perfil farmacoterapêutico", desde que apresente o meu código de barras. _____ (Sim / Não)

____ / ____ / ____

(Assinatura do Doente)

(Assinatura do Farmacêutico)

ANEXO 2 - Cartão Prestígio da Farmácia Taborda



ANEXO 3 - Sistema Nacional de Farmacovigilância - Notificação de Reações Adversas a Medicamentos (frente e verso)

SISTEMA NACIONAL DE FARMACOVIGILÂNCIA		Notificação de Reações Adversas a Medicamentos		infarmed			
Notifique sempre que suspeitar de uma reação adversa				Confidencial			
A. Reação adversa a medicamento (RAM)							
Descrição		Data início ²	Data fim	Duração RAM se < 1 dia			
		././	././	h	min		
		././	././	h	min		
		././	././	h	min		
		././	././	h	min		
Considera a reação adversa (ou o caso, se mais do que uma reação) ² grave? Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Se sim, porque considero grave?							
<input type="checkbox"/> Resultou em morte		<input type="checkbox"/> Resultou em incapacidade significativa (especifique em F.)					
<input type="checkbox"/> Colocou a vida em risco		<input type="checkbox"/> Causou anomalias congénitas					
<input type="checkbox"/> Motivo ou prolongou internamento		<input type="checkbox"/> Outra ² (especifique em F.)					
Tratamento da reação adversa:							
B. Medicamento(s) suspeito(s)							
	nome de marca	Lote	Dose diária	Via adm.	Indicação terapêutica	Data início	Data fim
#1							
#2							
O medicamento foi suspenso devido à reação <input type="checkbox"/> A reação melhorou após suspensão <input type="checkbox"/> Ou manteve-se <input type="checkbox"/> Houve redução da posologia (especifique em F.) <input type="checkbox"/> Suspeita de interação ⁴ entre medicamentos (especif. em F.) <input type="checkbox"/> O mesmo fármaco foi reintroduzido <input type="checkbox"/> Ocorreu reação adversa idêntica quando da reintrodução <input type="checkbox"/> São conhecidas reações anteriores ao mesmo fármaco <input type="checkbox"/> São conhecidas reações anteriores a outros fármacos <input type="checkbox"/> Considera a relação causal: <input type="checkbox"/> Definitiva (certa) <input type="checkbox"/> Provável <input type="checkbox"/> Possível <input type="checkbox"/> Improvável							
C. Medicamentos concomitantes, incluindo auto-medicação (e outro tipo de produtos)							
	Nome de marca	Dose diária	Via adm.	Indicação terapêutica	Data início	Data fim	
#3							
#4							
#5							
#6							
#7							
D. Doente							
Iniciais do nome		<input type="checkbox"/> Feminino <input type="checkbox"/> Masculino	Peso	Kg	Altura	cm	
Data de nascimento		Du idade à data da ocorrência da(s) RAM(s)					
Como evoluiu o doente em relação à(s) RAM(s)?							
<input type="checkbox"/> Cura <input type="checkbox"/> Em recuperação		<input type="checkbox"/> Persiste sem recuperação		<input type="checkbox"/> Morte sem relação com a reação			
<input type="checkbox"/> Cura com sequelas		<input type="checkbox"/> Desconhecida		<input type="checkbox"/> Morte com possível relação com a reação			
E. Profissional de saúde							
Nome							
Profissão			Especialidade				
Local de trabalho							
Contactos ⁵ : <input type="checkbox"/> Telefone/Telemóvel				<input type="checkbox"/> e-mail			

ANEXO 4 - Formulário de pedido de AUE

AUTORIZAÇÃO DE UTILIZAÇÃO EXCEPCIONAL* MEDICAMENTOS DE USO HUMANO* <i>IMPRESSO DE USO OBRIGATORIO PELOS REQUERENTES</i>		☒
Exm.º Senhor Presidente do Conselho de Administração do INFARMED		
Pretende esta entidade licenciada para a aquisição directa de medicamentos, ao abrigo do disposto na alínea a) do artigo 92.º do Decreto-Lei nº 176/2006, de 30 de Agosto, na sua actual redacção, solicitar AUTORIZAÇÃO DE UTILIZAÇÃO EXCEPCIONAL para o medicamento abaixo indicado, ao abrigo do despacho:		
Deliberação n.º 105/CA/2007		
a) – Medicamentos de benefício clínico bem		b) – Medicamentos com provas preliminares de benefício clínico
<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
Por se tratar de um medicamento que não possui AUTORIZAÇÃO DE INTRODUÇÃO NO MERCADO (AIM) em Portugal e se destinar a doentes em tratamento neste estabelecimento de saúde, com vista a satisfazer as necessidades para o próximo ano de solicito a V. Ex.º que digno autorizar a sua utilização especial, nos seguintes termos:		
Requerente: _____		
Morada: _____		
Código postal: _____	Tel. S.F.: _____	Fax S.F.: _____
V/ N.º de Pedido: _____	V/data: _____	
Nome do medicamento: _____		
Substância(s) Activa(s): _____		
Forma farmacêutica: _____		
Dosagem: _____		Pertence ao F.H.N.M.: SIM <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>
Quantidade: _____		Apresentação: _____
Preço por unidade (c/IVA): _____		Estimativa/Despesa (c/IVA): _____
Titular da A.I.M.: _____		País da A.I.M.: _____
Fabricante: _____		País/fabrico: _____
Libertador de lote: _____		País/lib. de lote: _____
Distribuidor do país de procedência: _____		País/Procedência: _____
Distribuidor em Portugal: _____		Alfândega: _____
..... Derivado do Plasma <input type="checkbox"/> Alergeno <input type="checkbox"/> Vacina <input type="checkbox"/> Radiofármaco <input type="checkbox"/>		
<input type="checkbox"/> INSTRUÇÃO AO ABRIGO DO ARTIGO 10.º DA DELIBERAÇÃO N.º 105/CA/2007. Documentação enviada ao INFARMED pelo requerente ou por outra entidade juntamente com a AUE n.º autorizada para o ano*		
<input type="checkbox"/> PEDIDO DE ALTERAÇÃO DA QUANTIDADE inicialmente requerida na AUE n.º autorizada em: ____/____/____ Justificação		
Assinatura do Director Clínico (deverá ser identificada sob a forma de carimbo e/ou vinheta): _____		
* Se aplicável		

Anexo 5 - Anexo VII para a requisição de substâncias psicotrópicas, estupefacientes e benzodiazepinas

Legislação Farmacêutica Compilada

Portaria n.º 981/98, de 8 de Junho

ANEXO VII

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

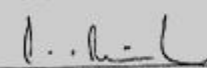

N.º _____ / ____
 Nota de encomenda N.º _____ / ____

(Nos termos do art.º 18.º do Decreto Regulamentar n.º 61/94, de 12 de outubro)

Requisita-se a _____

SUBSTANCIAS ACTIVAS E SUAS PREPARAÇÕES				QUANTIDADE	
N.º de Código	Designação	Forma Farmac.	Dosagem	Pedida	Fornecida
Carimbo da entidade requisitante			D.T. ou Farmac. Responsável _____		
			N.º de insc na O. F. ____/____/____		
			Data ____/____/____		
			Ass. legível _____		
Carimbo da entidade fornecedora			Director Técnico _____		
			N.º de insc na O. F. ____/____/____		
			Data ____/____/____		
			Ass. legível _____		


Anexo 6 - Certificado de autorização do lote do hemoderivado, do Infarmed

MEDICAMENTOS DERIVADOS DO SANGUE OU DO PLASMA HUMANO	
CERTIFICADO DE AUTORIZAÇÃO DE UTILIZAÇÃO DE LOTE	
CERTIFICADO N.º: 60313-CAUL	
N.º do Lote	4346100019
Nome Comercial	Rhophylac 300
Dosagem - Quantidade	1500 U.I./2 ml - 1 unidade de 2 ml
Substância(s) ativa(s)	Imunoglobulina Humana Anti-Rho
N.º de Unidades do lote	18869
Embalagem(*)	Seringa pré-cheia
Número de A.I.M. (**)	5026786
Identificação e endereço do Titular de A.I.M. ou seu representante legal	CSL Behring, Lda. Avenida 5 de Outubro, n.º 198 - 3º Esq. 1050 - 064 Lisboa
(*) "5th Edition List of Standard Terms 2004". EDQM	
(**) Autorização de Introdução no Mercado	
Prazo de Validade do Lote	31-07-2016
Data do Certificado Europeu de Libertação de Lote	05-12-2013
Data da receção da totalidade da documentação no INFARMED, I.P.	17-12-2013
<p>Analisada a documentação bastante para satisfazer os requisitos técnicos de avaliação consignados no Guia Técnico de Libertação de Lotes de Vacinas e Hemoderivados ("Official Control Authority Batch Release of Biological Medicinal Products for Human Use - OCABR"), o Laboratório de Biologia e Microbiologia da Direção de Comprovação da Qualidade nada tem a objetar à aprovação para utilização do presente lote.</p> <p>Nota: Apenas é verificado quanto ao conteúdo e não quanto à forma o constante do Art.º 105 do Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de Agosto.</p>	
 Diretor do Laboratório de Biologia e Microbiologia	
<p>Por subdelegação de competência nos termos do Despacho 11967/2006 (2ª série), de 9 de Maio publicado em Diário da República n.º 108 série II de 5 de Junho de 2006 e tendo em consideração o resultado da avaliação supra.</p>	
APROVA-SE PARA UTILIZAÇÃO TERAPÊUTICA	
o lote do medicamento acima identificado.	
Data de Aprovação:	19-12-2013
 Diretora da Direção de Comprovação de Qualidade	

Anexo 7 - Impresso para a requisição/distribuição/administração de medicamentos hemoderivados (via farmácia e via serviço)

Legislação Farmacêutica Compilada		Despacho conjunto n.º 1051/2000, de 14 de Setembro				
Número de série _____		VIAFARMÁCIA				
MEDICAMENTOS HEMODERIVADOS REQUISIÇÃO/DISTRIBUIÇÃO/ADMINISTRAÇÃO <i>(Arquivar pelos Serviços Farmacêuticos (*)</i>						
HOSPITAL _____		SERVIÇO _____				
Médico <i>(Nome legível)</i> _____ N.º Mec. _____ ou Vinheta _____ Assinatura _____ Data __/__/__	Identificação do doente <i>(nome, B.I., n.º do processo, n.º de utente do SNS)</i> _____ <i>Apor etiqueta autocolante cínografo ou outro. Enviar tantos autocolantes, com a identificação do doente, quantas as unidades requisitadas</i>	Quadro A				
REQUISIÇÃO/JUSTIFICAÇÃO CLÍNICA <i>(A preencher pelo médico)</i>						
Hemoderivado _____ <i>(Nome, forma farmacêutica, via de administração)</i> Dose/Frequência _____ Duração do tratamento _____ Diagnóstico/Justificação Clínica _____ _____ _____			Quadro B			
REGISTO DE DISTRIBUIÇÃO N.º ____/____/____ <i>(*) (A preencher pelos Serviços Farmacêuticos)</i>						
						Quadro C
Hemoderivado/dose	Quantidade	Lote	Lab. Origem/Fornecedor	N.º Cert. INFARMED		
Enviado ____/____/____ Farmacêutico _____				N.º Mec. _____		
<i>(*) Excepcionalmente o Plasma Fresco Congelado Inativado poderá ser distribuído e ter registo e arquivo no serviço de Imunohemoterapia</i>						
Recebido ____/____/____ Serviço requisitante _____			N.º Mec. _____			
<i>(Assinatura)</i>						
I. Instruções relativas à documentação: A requisição, constituída por 2 vias (VIAFARMÁCIA E VIASERVIÇO), é enviada aos Serviços Farmacêuticos após preenchimento dos Quadros A e B pelo serviço requisitante. O quadro C é preenchido pelos Serviços Farmacêuticos. VIASERVIÇO – A preencher pelo serviço requisitante e arquivar no processo clínico do doente. VIAFARMÁCIA – Permanece em arquivo nos Serviços Farmacêuticos. <u>Excepcionalmente, a distribuição e registo do plasma fresco congelado inativado, bem como o arquivo da viafarmácia, poderá ser feito pelos serviços de imunohemoterapia.</u>						
II. Instruções relativas ao produto medicamentoso: a) Cada unidade medicamentosa fornecida será etiquetada pelos Serviços Farmacêuticos com as respectivas condições de conservação e identificação do doente e do serviço requisitante. b) Os produtos não administrados no prazo de 24 horas e atendendo às condições de conservação do rótulo, serão obrigatoriamente devolvidos aos Serviços Farmacêuticos. No quadro D será lavrada a devolução, datada e assinada (n.º mecanográfico).						

Anexo 8 - Requisição para dispensa de Estupefacientes



Ministério de Saúde
U.L.S.
Guarda, E.P.E.

SERVIÇOS FARMACÊUTICOS

FICHA DE CONTROLO DE
ESTUPEFACIENTES

Nº

SERVIÇO _____

MEDICAMENTO

CÓDIGO	DESIGNAÇÃO	FÓRMULA FARMACÊUTICA	QUANTIDADE

ENTREGA
FARMACÊUTICA(O)

RECBIMENTO
ENFERMEIRA(O)

DEVOLUÇÃO
ENFERMEIRA(O)

ENTREGA
FARMACÊUTICA(O)

OBS. _____

USO EXCLUSIVO NOS SERVIÇOS FARMACÊUTICOS

FICHA DE CONTROLO DE
ESTUPEFACIENTES
U.L.S. GUARDA, E.P.E.

Nº

MEDICAMENTO _____

FORM. FARM. _____ QUANT. _____

RECEBI. _____

NOME _____

SERVIÇO _____ H _____


Nº	DATA	PR' C. CLIN / C.A.M.A	DOENTE	AUT. MÉDICA	DOSE	HORA	RUBRICA ENFERMEIRA	Bº
1								9
2								8
3								7
4								6
5								5
6								4
7								3
8								2
9								1
10								0

NO CASO DE INUTILIZAÇÃO DA DOSE, EScreva DETALHADAMENTE O FACTO, UTILIZANDO O VERSO DESTA FICHA

U.L.S.G.E.P.E. - Mod. - 275

OBS. _____

Anexo 9 - Requisição para dispensa de Psicotrópicos



SERVIÇOS FARMACÉUTICOS

FICHA DE CONTROLO DE
PSICOTRÓPICOS

Nº

MEDICAMENTO

CÓDIGO

DESIGNAÇÃO

FÓRMULA FARMACÉUTICA

QUANTIDADE

ENTREGA

FARMACÉUTICA(O)

RECEBIMENTO

ENFERMEIRA(O)

DEVOLUÇÃO

ENFERMEIRA(O)

ENTREGA

FARMACÉUTICA(O)

USO EXCLUSIVO NOS SERVIÇOS FARMACÉUTICOS

OBS.

FICHA DE CONTROLO DE
PSICOTRÓPICOS

HOSPITAL SOUSA MARTINS

Nº

MEDICAMENTO:

FORM. FARM. QUANT.

RECEBI
NOME

SERVIÇO H.

Nº	DATA	PROC. CLÍN. / CAMA	DOENTE	AUT.ª MÉDICA	DOSE	HORA	RUBRICA ENFERMEIRA	B.º
1								9
2								8
3								7
4								6
5								5
6								4
7								3
8								2
9								1
10								0

NO CASO DE INUTILIZAÇÃO DA DOSE, ESCREVA DETALHADAMENTE O FACTO, UTILIZANDO O VERSO DESTA FICHA

Mod. 276 SF - H.S.M.

OBS.

Anexo 11 -Resumo e Póster da comunicação apresentados no *IX Annual CICS Symposium 2014 (30 de junho e 1 de julho)*

IX CICS Symposium ABSTRACTS BOOK

P20. SYNTHESIS AND CYTOTOXIC EVALUATION OF NEW ORTHO-(ALKYLCHALCOGEN)ACETANILIDES

Almeida S.S. (1), Ramos S.S. (2), Leite P.M. (1), Boto R.E.F. (1), Silvestre S. (1), Almeida P. (1)

(1) CICS-UBI – Health Sciences Research Centre, University of Beira Interior, Covilhã, Portugal; (2) UMTP-UBI, Unit of Textile and Paper Materials, University of Beira Interior, Covilhã, Portugal

Following our previous work [1], several novel atropisomeric N-alkyl-N-[(2-alkylchalcogen)phenyl]acetamides have been synthesized and fully characterized by ¹H and ¹³C NMR, FTIR and HRMS (FAB). The two atropisomeric forms in a racemic mixture are easily recognized in solution by the signals of the two magnetically nonequivalent geminal N-CH₂ protons clearly displayed in the ¹H NMR spectra, as a result of the restricted rotation about the N-aryl bond. These barriers of rotation have been measured by accurate lineshape simulation of variable temperature NMR (VT-NMR) spectra obtained in DMSO-d₆ solution. The free energy of rotation to interconversion between axially chiral molecules measured ranged from 17.0 to 20.5 kcal/mol. The relationship between the structure of the different acetanilide moieties and both coalescence temperature and energy of rotation are herein discussed. The in vitro cytotoxicity of twenty representative acetanilides against human breast (MCF-7) and prostate (LNCaP) cancer cell lines as well as normal human dermal fibroblasts (NHDF) was also evaluated. Interestingly a selective antiproliferative activity was observed for cancerous cells with proeminence to LNCaP within the most potent O- and/or N- benzylic and -hexyl acetanilides.

Keywords: Ortho-(alkylchalcogen)acetanilides, Cytotoxic evaluation, NHDF, MCF-7, LNCaP cell lines

References: [1] S. S. Ramos, L. V. Reis, R. E. F. Boto, P. F. Santos, P. Almeida, "Synthesis and Dynamic Study of New ortho-(alkylchalcogen)acetanilide Atropisomers. A Second Look at the Hydrolysis of Quaternary 2-Methylbenzazol-3-ium Salts", *Tetrahedron Letters*, 2013, 54(40), 5441–5444.

Acknowledgments: This work was financed by FCT (Project PTDC/QUI-QUI/100896/2008) and COMPETE (Project Pest-C/SAU/UI0709/2011).

Synthesis and cytotoxic evaluation of new *ortho*-(alkylchalcogen)acetanilides

Almeida S. S.¹, Ramos S. S.², Leite P. M.¹, Boto R. E. F.¹, Silvestre S.¹, Almeida P.¹

¹ OCS-UBI - Health Sciences Research Centre, University of Beira Interior, Av. Infante D. Henrique, 6200-501 Covilhã, Portugal

² UM7P-UBI - Unit of Textile and Paper Materials, University of Beira Interior, Rua Marquês d'Ávila e Bolama, 6201-001 Covilhã, Portugal

Introduction

Recently, as part of our efforts to definitely clarify the identity of the products resulting from the hydroxylation of 2-methylbenzoxazolium iodides, we described the synthesis of some representative *ortho*-(alkylchalcogen)-*N*-alkylacetanilides **3** (X=O, S or Se, scheme 1).¹ The acetanilides **3** were obtained as atropisomers, in moderate to good yields, after an alkylation step used to trap the unstable sulfur and selenium open (as well as the more stable oxygen analogue) *N*-ethyl-(2-thio/seleno/hydroxy)acetanilides **2b**, resulting from the cleavage of the 2-hydroxybenzoxazole moiety of the initially formed intermediate **2a**.

Following our preliminary results,¹ herein we describe a full set of twenty four *ortho*-substituted acetanilides **3a-d** (X=O), **3j-v** (X=S), and **3e-x** (X=Se), nineteen of them are, to the best of our knowledge, novel (**3b**, **d-f**, **k**, **m-w**, **x**). In this series, the nature of the chalcogen atom (X) and the nature of the alkyl group linked to both amide group (R₁) or chalcogen atom (R₂) were varied (scheme 1, table 1).

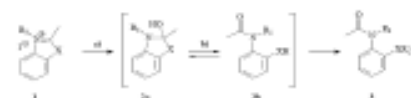
The relationship between the structure of the different moieties acetanilides and both coalescence temperature and energy of rotation (ΔG^\ddagger) for all acetanilides is herein discussed. The cytotoxicity against normal human dermal fibroblasts (NHDF) and human breast (MCF-7) and prostate (LNCaP) cancer cell lines of several representative acetanilides **3a-d**, **h-n** and **r-x** and anilines **4a,b** were also evaluated (table 1).

Experimental



Results

Synthesis



X = O, S, Se; R₁ and R₂ as in Table 1; n = Me, Et, Pr, Bu, Ac, 1,2,3,4,5

Scheme 1—Reagents and conditions: a) NH₃, MeN ethylacet, reflux; b) alkylated, NaOH, Et or Me, reflux.

References

¹ Ramos, S. S.; Fale, L. V.; Boto, R. E. F.; Santos, P. P.; Almeida, P. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 5411.

This work was financed by FCT (Project PTDC/QUI-QUI/102084/2008) and COMPETE (Project POCI/QUI/102084/2011).

Table 1 – The evaluation of the relative cell viability of MCF-7, NHDF and LNCaP cells of several representative acetanilides **3a-d**, **h-n** and **r-x** and anilines **4a,b** was performed through the MTT assay and cells were treated with a 50 μ M concentration of the different compounds during approximately 48h.

Compound	Structure	IC ₅₀ (MCF-7)	IC ₅₀ (NHDF)	IC ₅₀ (LNCaP)	IC ₅₀ (MCF-7)	IC ₅₀ (NHDF)	IC ₅₀ (LNCaP)
1	Me	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5
2	Et	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5
3	Me	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5
4	Et	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5
5	Me	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5
6	Et	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5
7	Me	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5
8	Et	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5
9	Me	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5
10	Et	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5
11	Me	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5
12	Et	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5
13	Me	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5
14	Et	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5
15	Me	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5
16	Et	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5
17	Me	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5
18	Et	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5
19	Me	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5
20	Et	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5
21	Me	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5
22	Et	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5
23	Me	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5
24	Et	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5
25	Me	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5
26	Et	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5
27	Me	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5
28	Et	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5
29	Me	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5
30	Et	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5
31	Me	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5
32	Et	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5

* General synthesis using the scheme described in 1.0 (intercalary)
 † Acetanilide **1a**, **1b** prepared in this work
 ‡ IC₅₀ (MCF-7)
 § IC₅₀ (NHDF)
 ¶ IC₅₀ (LNCaP)

Conclusions

In summary, we prepared a series of atropisomeric *ortho*-(alkylchalcogen)-*N*-alkylacetanilides **3** from quaternary ammonium salt **1** in overall yields of 50–87%.

Interestingly, this study revealed not only a general selective cytotoxicity against tumour cells versus normal cells, especially pronounced for prostate cancer cells, but also that benzyl and heptyl acetanilides were the most relevant compounds. The best result was observed for the methylheptyl disubstituted acetanilide (**3h**) which is now being studied as a potential future lead compound as anti-breast cancer agent.

In order to enlarge structure-activity relationship data in this context, the development of new benzyl and/or heptyl related acetanilides is also now object of our interest.

