



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR
Ciências da Saúde

**“Esteróides antitumorais: a funcionalização
seletiva do anel D de esteróides da série
pregnano no desenvolvimento de potenciais
agentes anticancerígenos”**
Experiência Profissionalizante na Vertente de Farmácia
Comunitária, Hospitalar e Investigação

João Pedro Ferreira Inácio

Relatório de Estágio para obtenção do Grau de Mestre em
Ciências Farmacêuticas
(2º ciclo de estudos)

Orientador: Prof. Doutor Samuel Silvestre
Co-orientadores: Prof. Doutora Luiza Granadeiro
Dr. Jorge Aperta
Dra. Isabel Curto

Covilhã, Outubro de 2012

*“O Dicionário é o único local
onde o Sucesso aparece antes do Trabalho”*

Albert Einstein

Agradecimentos

Em primeiro lugar, começo por deixar um sincero agradecimento ao meu orientador Professor Doutor Samuel Silvestre, não só por ter aceitado orientar esta dissertação e por se ter demonstrado sempre disponível para esclarecer todas as minhas dúvidas e indicar sempre o melhor caminho na resolução dos problemas com que nos deparámos, mas também por toda a amizade, apoio, dedicação, motivação e confiança transmitidas ao longo de todo o Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Deixo também um profundo agradecimento à minha co-orientadora Professora Doutora Luiza Granadeiro, pelo seu apoio, motivação, disponibilidade e críticas construtivas que em muito contribuíram para o resultado final deste projeto.

Desejo deixar também um agradecimento especial ao meu co-orientador de estágio em Farmácia Hospitalar, Doutor Jorge Aperta, e restante equipa dos Serviços Farmacêuticos do Hospital Sousa Martins pela amizade e amabilidade que me permitiram integrar muito mais facilmente no mundo hospitalar e por todos os conhecimentos e experiências partilhados durante o período de estágio. Do mesmo modo, quero também deixar um agradecimento à minha orientadora do estágio em Farmácia Comunitária, Doutora Isabel Curto, e restante equipa da Farmácia Mousaco-Torrão por toda a amizade criada durante o período de estágio, pela experiência e ensinamentos partilhados, bem como pela confiança depositada em mim que em muito contribuíram para o melhoramento da minha forma de atendimento ao público.

Quero também deixar um agradecimento especial a toda a equipa do Centro de Investigação em Ciências da Saúde com quem tive o prazer de trabalhar, que prestaram um auxílio fundamental na realização da parte prática do projeto de investigação. Um especial agradecimento à colega Sara Silva pela amizade e ajuda incansável nos ensaios de citotoxicidade e pelos conhecimentos e experiências partilhadas, especialmente durante a fase final do trabalho laboratorial. 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.

Um agradecimento profundo à minha família, em especial aos meus pais que sempre me apoiaram ao longo da vida e sempre me proporcionaram incondicionalmente todas as requisitos necessárias para chegar até aqui.

Por fim mas não menos importante, deixo um profundo e sincero agradecimento à minha namorada Diana por todo o amor, carinho, amizade, dedicação, compreensão e apoio nos momentos mais difíceis, sem a qual atingir este objetivo não teria o mesmo sabor.

Resumo

O trabalho apresentado neste documento provém do conhecimento reunido durante as três vertentes abordadas durante o Estágio final do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas. O relatório encontra-se dividido em três capítulos, correspondendo cada capítulo a uma das vertentes referidas anteriormente.

No primeiro capítulo encontra-se descrito o trabalho de investigação desenvolvido no Centro de Investigação em Ciências da Saúde durante o último ano de frequência universitária, envolvendo a síntese e a avaliação biológica de esteróides da série pregnano com potencial atividade anticancerígena. Neste âmbito, foi explorada a reatividade no anel D do núcleo pregnano com o objetivo de sintetizar moléculas que possam contribuir para os estudos de relação entre as estruturas e o seu potencial interesse no combate ao cancro. Neste trabalho foram preparados e caracterizados parcialmente cinco compostos, que foram posteriormente avaliados em linhas celulares de cancro da próstata (LNCaP), cancro de mama (MCF-7) e fibroblastos saudáveis da derme humana (NHDF).

O segundo capítulo faz referência à experiência profissional adquirida durante o estágio curricular 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 é abordada a experiência profissional adquirida durante o estágio curricular realizado na Farmácia Mousaco Torrão, situada na localidade do Ferro, concelho da Covilhã. De um modo semelhante, procede-se à descrição de todos os conhecimentos e competências adquiridas durante o estágio, comparando os mesmos com a informação descrita nas Boas Práticas em Farmácia Comunitária e legislação regente da atividade.

Palavras-chave

Farmácia Hospitalar; Farmácia Comunitária; Esteróides; Funcionalização do Anel D; Ação antitumoral; Pregnanos.

Abstract

The work presented in this document comes from the knowledge acquired during the three strands addressed during the final stage of the MSc in Pharmaceutical Sciences. The work is divided into three chapters, each chapter corresponding to one of the aspects mentioned above.

In the first chapter it is described the research work developed at Centro de Investigação em Ciências da Saúde accomplished during the last year of university frequency, involving the synthesis and biological evaluation of pregnane steroids with potential anticancer activity. In this context, the reactivity of its D ring was explored in order to synthesize molecules that can contribute to structure activity relationship studies that allow understanding the role of these compounds in the fight against cancer. This work resulted in five compounds which were evaluated in human cell lines from prostate cancer (LNCaP), breast cancer (MCF-7) and healthy dermal fibroblasts (NHDF).

The second chapter refers to the experience gained during the internship developed at Sousa Martins Hospital in Unidade Local de Saúde at Guarda. The activities undertaken during the stage are described within this report, while watching the role of the hospital pharmacist as described in the legislation.

The third chapter deals with the professional experience gained during the internship conducted in the Pharmacy Mousaco Torrão, located in the town of Ferro, in Covilhã. Similarly to what was done in Guarda, it is described all knowledge and skills acquired during this internship, comparing them with the information detailed in “Boas Práticas em Farmácia Comunitária” and the law conducting this activity.

Keywords

Hospital Pharmacy; Community Pharmacy; Steroids D-ring functionalization; Antitumor activity; Pregnanes.

Índice

1.	Introdução.....	1
1.1.	Esteróides.....	1
1.1.2	Importância Fisiológica, fisiopatológica e farmacológica	2
1.1.2.1	Fisiologia.....	2
1.1.2.2	Tumores Hormono-dependentes.....	3
1.1.2.3	Esteróides com Utilidade Terapêutica	4
1.1.3	Obtenção dos esteróides	6
1.2.	Pregnanos bioativos	7
1.2.1	Funcionalização do Anel D	7
2.	Objetivos	11
3.	Secção Experimental	12
3.1.	Estratégia de Síntese	12
3.2.	Equipamentos e Reagentes Utilizados	13
3.3.	Procedimentos Experimentais Realizados.....	14
3.3.1	Síntese de 16-desidropregnenolona (2) e de 16 α -metoxipregnenolona (3) ..	14
3.3.2	Síntese de Acetato de 16 α -morfolinopregnenolona (5).....	15
3.3.3	Síntese de 16 α -morfolinopregnenolona (7)	17
3.3.4	Tentativas de Síntese de Acetato de 16-morfolinopregnenolona (5)	17
3.3.5	Tentativa de Síntese de 16 α -pirrolepregnenolona	18
3.3.6	Tentativa de Síntese de 16 α -imidazolepregnenolona.....	19
3.3.7	Síntese de 16 α ,17 α -epoxipregnenolona (4).....	19
3.3.8	Síntese de 16 β -Cloro-3 β ,17 α -dihidroxipregn-5-en-20-ona (6).....	20
3.3.9	Tentativa de Síntese de 3 β ,17 α -Dihidroxi-16 β -iodopregn-5-en-20-ona.....	20
3.4.	Avaliação Biológica.....	21
3.4.1	Materiais e Equipamentos Utilizados.....	21
3.4.2	Técnicas de Cultura Celular Utilizadas	21

3.4.2.1	Tripsinização	22
3.4.2.2	Contagem, Sementeira e Incubação dos Compostos	22
3.4.2.3	Ensaio com MTT	23
4.	Resultados e Discussão.....	24
4.1.	Síntese Química	24
4.1.1	Hidrólise Alcalina	24
4.1.2	Epoxidação	25
4.1.3	Adição de Aza-Michael.....	26
4.1.4	Abertura de epóxidos com Haletos de Hidrogénio.....	27
4.2.	Avaliação Biológica.....	28
4.2.1	Comparação dos efeitos dos compostos em células NHDF, MCF-7 e LNCaP..	28
5.	Conclusão	34
5.1.	Perspetivas Futuras	34
	Bibliografia	36
	Capítulo 2 - Farmácia Hospitalar	39
1.	Introdução.....	39
1.1.	A Unidade Local de Saúde da Guarda	39
1.2.	Serviços Farmacêuticos da Unidade Local de Saúde da Guarda.....	40
2.	Organização e Gestão dos Serviços Farmacêuticos	40
2.1.	Aprovisionamento	41
2.2.	Sistemas e Critérios de Aquisição.....	42
2.3.	Receção e Conferência de Produtos Adquiridos.....	44
2.4.	Armazenamento	45
3.	Distribuição	46
3.1.	Distribuição Clássica	46
3.2.	Reposição por <i>stocks</i> nivelados	46
3.3.	Distribuição individual e em dose unitária.....	46

3.4.	Distribuição a Doentes em Ambulatório	47
3.5.	Medicamentos Sujeitos a Controlo Especial	49
4.	Produção e Controlo.....	50
4.1.	Preparação de Formas Farmacêuticas Não Estéreis	51
4.2.	Reembalagem	52
5.	Informação e Atividades de Farmácia Clínica	52
6.	Farmacovigilância	53
7.	Participação do Farmacêutico Nos Ensaio Clínicos	54
8.	Nutrição Assistida.....	55
8.1.	Nutrição Entérica	55
8.2.	Nutrição Parentérica.....	55
9.	Acompanhamento da Visita Médica.....	56
10.	Atividades Farmacêuticas na Enfermaria	56
11.	Informação e Documentação	57
12.	Comissões Técnicas	58
12.1.	Comissão de Controle de Infecção Hospitalar	58
12.2.	Comissão de Farmácia e Terapêutica.....	58
12.3.	Comissão de Ética	59
13.	Conclusão	59
	Bibliografia	60
	Capítulo 3 - Farmácia Comunitária	61
1.	Introdução.....	61
2.	Organização da Farmácia.....	61
3.	Informação e Documentação	65
4.	Medicamentos e Outros Produtos de Saúde	66
5.	Aprovisionamento e Armazenamento	67
6.	Aspetos Básicos da Interação Farmacêutico-Utente	70

6.1. Farmacovigilância	71
7. Dispensa de medicamentos	72
7.1. Automedicação.....	75
8. Aconselhamento e dispensa de outros produtos de saúde.....	76
8.1. Produtos de dermofarmácia, cosmética e higiene	76
8.2. Produtos dietéticos para alimentação especial	77
8.3. Produtos dietéticos infantis	77
8.4. Fitoterapia e suplementos nutricionais.....	78
8.5. Medicamentos de uso veterinário	78
8.6. Dispositivos médicos	79
9. Outros cuidados de saúde prestados na farmácia onde decorreu o estágio.....	79
10. Preparação de medicamentos.....	80
11. Contabilidade e gestão	81
11.1. Processamento de receituário e faturação a entidades participantes.....	81
11.2. Documentos contabilísticos e princípios fiscais	82
12. Conclusão	82
Bibliografia	84

Lista de Figuras

Figura 1 - Numeração do núcleo esteróide.....	1
Figura 2 - Numeração dos substituintes no colestano.....	2
Figura 3 - Biossíntese de hormonas esteróides a partir do colesterol.....	3
Figura 4 - Degradação de Marker da diogenina.....	6
Figura 5 - Compostos sintetizados por Kumar, com atividade inibidora da DPP IV.....	8
Figura 6 - Pirazolinias obtidas em mistura racémica por Z. Iványo.....	9
Figura 7 - Holamina.....	9
Figura 8 - 15 α -hidroxiholamina.....	9
Figura 9- Estratégia de síntese proposta.....	12
Figura 10 - Estratégia de sínteses utilizando o 16 α ,17 α -epoxipregnenolona.....	13
Figura 11 Representação esquemática do mecanismo reaccional proposto para a hidrólise do acetato de 16-desidropregnenolona.....	24
Figura 12 - Representação esquemática da introdução do grupo metoxilo na posição 16 do núcleo esteróide.....	25
Figura 13 - Mecanismo proposto para a formação do α -epóxido na posição 16,17 do núcleo esteróide.....	26
Figura 14 - Mecanismo reaccional da introdução de amins alifáticas no carbono 16 do núcleo esteróide.....	27
Figura 15 - Mecanismo proposto para a abertura do 16 α ,17 α epóxido com ácido clorídrico...	28

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Requisitos de Envio ao INFARMED para medicamentos especiais;	82
---	----

Lista de Gráficos

Gráfico 1 - Viabilidade celular relativa das células LNCaP MCF-7 e NHDF quando incubadas com a 16-DHP em concentrações entre 0,01 μM e 100 μM e durante 48h, determinada pelo ensaio MTT com um N=3. Os dados estão expressos como percentagem da viabilidade celular em relação ao respetivo controlo; as barras representam a média e as linhas o desvio-padrão da respetiva média associada. * $p < 0,05$ versus respetivo controlo (teste *t*-student) 29

Gráfico 2 - Viabilidade celular relativa das células LNCaP MCF-7 e NHDF quando incubadas com a 16 α -metoxipregnenolona em concentrações entre 0,01 μM e 100 μM e durante 48h, determinada pelo ensaio MTT com um N=3. Os dados estão expressos como percentagem da viabilidade celular em relação ao respetivo controlo; as barras representam a média e as linhas o desvio-padrão da respetiva média associada. * $p < 0,05$ versus respetivo controlo (teste *t*-student) 30

Gráfico 3 - Viabilidade celular relativa das células LNCaP, MCF-7 e NHDF quando incubadas com 16 β -cloro-17 α -hidroxipregnenolona em concentrações entre 0,01 μM e 100 μM e durante 48h, determinada pelo ensaio MTT com um N=3. Os dados estão expressos como percentagem da viabilidade celular em relação ao respetivo controlo; as barras representam a média e as linhas o desvio-padrão da respetiva média associada. * $p < 0,05$ versus respetivo controlo (teste *t*-student) 31

Gráfico 4 - Viabilidade celular relativa das células LNCaP, MCF-7 e NHDF quando incubadas com o acetato de 16 α -morfolinopregnenolona em concentrações entre 0,01 μM e 100 μM e durante 48h, determinada pelo ensaio MTT com um N=3. Os dados estão expressos como percentagem da viabilidade celular em relação ao respetivo controlo; as barras representam a média e as linhas o desvio-padrão da respetiva média associada. $p < 0,05$ versus respetivo controlo (teste *t*-student) 32

Gráfico 5 - Viabilidade celular relativa das células LNCaP, MCF-7 e NHDF quando incubadas a 16 α -morfolinopregnenolona em concentrações entre 0,01 μM e 100 μM e durante 48h, determinada pelo ensaio MTT com um N=3. Os dados estão expressos como percentagem da viabilidade celular em relação ao respetivo controlo; as barras representam a média e as linhas o desvio-padrão da respetiva média associada. $p < 0,05$ versus respetivo controlo (teste *t*-student) 33

Lista de Acrónimos

¹³ C	Carbono 13
16-DHP	16-desidropregnenolona
16-DPA	Acetato de 16-desidropregnenolona
¹ H	Protão
Ac	Acetilo
AIM	Autorização de Introdução no Mercado
AUE	Autorização de Utilização Especial
BPF	Boas Práticas de Farmácia
br	broad
CCF	Cromatografia de Camada Fina
CIM	Centro de Informação do Medicamento
d	duplete
DCI	Designação Comum Internacional
DMEM	<i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPP IV	Dipeptidil-peptidase IV
FBS	Soro Bovino Fetal
FSA	Faça Segundo a Arte
INFARMED	Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento
IRC	Imposto sobre Rendimento de pessoas Coletivas
IRS	Imposto sobre Rendimento de pessoas Singulares
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
IV	Infravermelho
IVA	Imposto sobre Valor Acrescentado
LNCaP	<i>Lymph node carcinoma of the prostate</i>
m	multipleto
MNSRM	Medicamento Não Sujeito a Receita Médica
MSRM	Medicamento Sujeito a Receita Médica
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolina
NHDF	<i>Normal Human Dermal Fibroblast</i>
OF	Ordem dos Farmacêuticos
OMS	Organização Mundial de Saúde
PBS	Tampão fosfato salino
PVP	Preço de Venda ao Público
q	quarteto
RCM	Resumo das Características do Medicamento
Rf	Factor de retenção
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RMPI-1640	<i>Roswel IPark Memorial Institute</i>

s	singuleto
SF	Serviços Farmacêuticos
SIM	Serviço de Informação do Medicamento
SNS	Serviço Nacional de Saúde
t	tripleto
Tf	Triflato
ULS	Unidade Local de Saúde
UV	Ultravioleta
δ	Desvio Químico

Capítulo 1 - Projeto de Investigação: “Esteróides antitumorais: a funcionalização seletiva do anel D de esteróides da série pregnano no desenvolvimento de potenciais agentes anticancerígenos”

1. Introdução

1.1. Esteróides

Os esteróides consistem numa extensa família de compostos que têm sido estudados ao longo das últimas décadas, tendo elevada importância fisiológica, patológica e farmacológica. Dada a sua relevância e potencial terapêutico, continuam a ser extensamente estudados nos dias de hoje, nomeadamente com o objetivo de se desenvolverem novos fármacos.

1.1.1 Generalidades estruturais

Quimicamente, a estrutura-base dos esteróides consiste num anel ciclopentano, designado anel D, fundido com três anéis de seis membros na forma de fenantreno, comumente designados por A, B e C, originando uma estrutura com dezassete átomos de carbono (Figura 1). O núcleo tetracíclico dos esteróides designa-se por ciclopentanoperhidrofenantreno, sendo a principal característica estrutural comum a todas as moléculas pertencentes a esta classe de compostos [1].

Respeitando as atuais indicações da IUPAC para a numeração do núcleo esteróide [2], a contagem deve ser iniciada no anel A, continuando conforme o esquema representado na figura 1. Por sua vez, a numeração de cadeias laterais substituintes anexadas ao núcleo esteróide pode ser representada recorrendo ao exemplo do colestano, conforme demonstrado na figura 2.

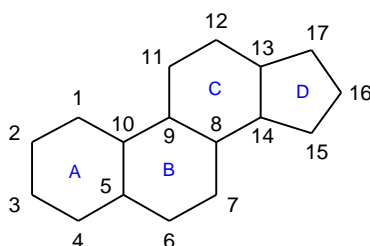


Figura 1 - Numeração do núcleo esteróide.

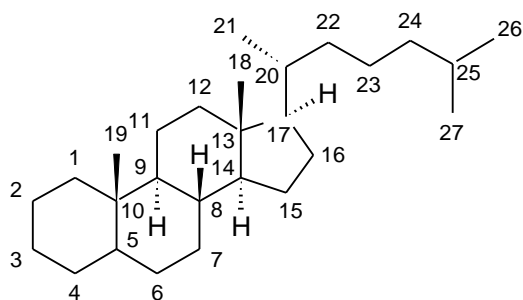


Figura 2 - Numeração dos substituintes no colestano

Relativamente à sua estereoquímica, podem ocorrer variações de molécula para molécula. Quando os anéis A e B se encontram no seu estado saturado, a conformação na junção entre estes pode ser tanto *cis* como *trans*. No entanto, as junções entre os anéis B e C e C e D são habitualmente *trans*. Por sua vez, os substituintes podem apresentar estereoquímica α ou β , conforme se encontrem abaixo do plano dos anéis, ou acima do plano dos anéis, respetivamente, os quais são estabelecidos pela posição dos metilos angulares (que se definem como estando na face β). As ligações α são representadas em tracejado enquanto as ligações β se representam com o uso de uma linha sólida [3].

1.1.2 Importância Fisiológica, fisiopatológica e farmacológica

1.1.2.1 Fisiologia

No organismo humano, os esteróides desempenham o papel vital de mensageiros químicos hormonais e são responsáveis por diversas funções biológicas, desde a diferenciação sexual, fisiologia reprodutiva, regulação osmótica, regulação de diversos processos metabólicos e constituem parte integrante de alguns componentes estruturais das células. [4] A biossíntese destas moléculas está intrinsecamente dependente de um mecanismo enzimático complexo, que envolve diversos órgãos como o hipotálamo, a hipófise anterior, os testículos, as glândulas suprarrenais e os ovários. Conforme a sua estrutura e a sua origem, estas hormonas podem ser classificadas em progestagénios, androgénios, estrogénios, mineralocorticóides e glucocorticóides (Figura 3) [4-6].

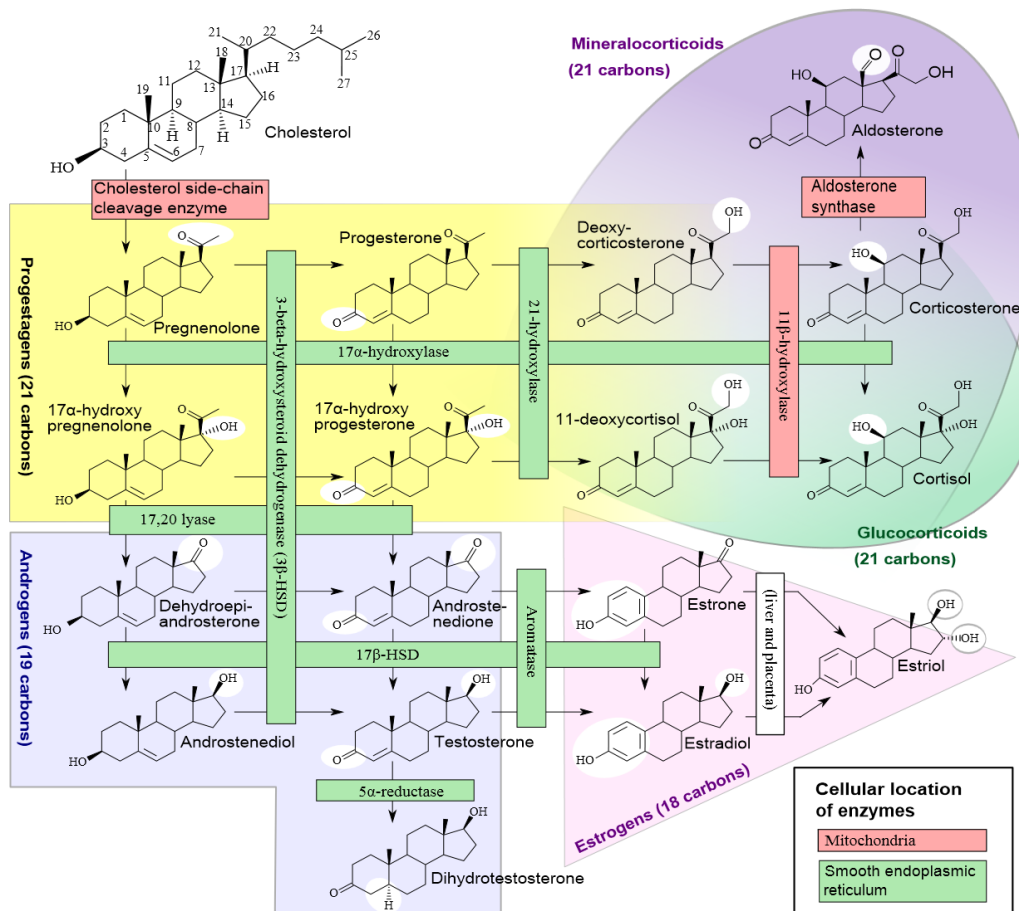


Figura 3 - Biossíntese de hormonas esteróides a partir do colesterol (imagem adaptada da referência 6)

Para assegurar o desempenho das funções essenciais à vida, estas hormonas devem ser mantidas em concentrações ideais no organismo. Um desequilíbrio na biossíntese de uma destas hormonas por motivos patológicos ou fisiológicos pode conduzir a diversas situações clínicas graves, como é o caso do aparecimento de massas tumorais, nomeadamente tumores hormono-dependente.

1.1.2.2 Tumores Hormono-dependentes

Um tumor consiste numa massa anormal tecidual resultante de proliferação autónoma, progressiva e excessiva de células não integradas no tecido circundante normal [7]. Estas massas celulares podem apresentar características benignas ou malignas [7]. Uma neoplasia é considerada benigna quando se encontra encapsulada e não apresenta tendência nem para formar metástases nem para reaparecer após remoção cirúrgica. Estas possuem melhor prognóstico clínico e geralmente não são fatais. Contrariamente, as neoplasias malignas possuem capacidade para invadir os tecidos vizinhos e formar metástases capazes de originar novas neoplasias noutras regiões do organismo, sendo fatais se não tratados adequadamente [7].

O conceito de tumor hormono-dependente surgiu após ter sido verificado experimentalmente a existência de um comportamento distinto entre diferentes linhas de células cancerígenas da próstata, aquando da retirada de hormonas de suporte. Na ausência dessas hormonas, as células de alguns tipos de tumores apresentavam-se pequenas e com um ritmo metabólico bastante reduzido. No entanto, após a adição de testosterona verificou-se um aumento de metabolismo e da divisão celular, ocorrendo novamente retrocesso no desenvolvimento após remoção do esteróide, verificando-se a existência de uma relação entre a concentração da hormona esteróide e o desenvolvimento do tumor [8]. Os tumores hormono-dependentes mais conhecidos são os da mama e da próstata, os quais apresentam carateristicamente uma elevada resposta a moléculas esteróides através da sua interação com os respetivos recetores, o que torna os análogos destas moléculas potenciais agentes de eleição para o tratamento destas patologias [9].

1.1.2.3 Esteróides com Utilidade Terapêutica

Devido ao seu papel como sinalizadores fundamentais no organismo, as moléculas esteróides têm elevado potencial para a possível utilização como agentes terapêuticos. Através de estudos intensivos de relação estrutura-atividade, tem-se vindo a verificar que a presença de determinados grupos funcionais em diversos pontos do esqueleto esteróide conduz a uma elevada diversidade nas ações biológicas, uma vez que estas moléculas podem interagir com diversos alvos biológicos no organismo [10]. Exemplos de esteróides com utilidade terapêutica incluem agentes anticoncecionais, estrogénios usados na terapêutica hormonal de substituição, corticosteróides anti-inflamatórios, glicosídeos cardiotónicos, alguns diuréticos, inibidores da 5 α -redutase utilizados na hiperplasia benigna da próstata, etc. [11].

Especificamente no tratamento dos tumores hormono-dependentes, os esquemas terapêuticos atuais por vezes recorrem à utilização de fármacos como os progestagénios, os androgénios e estrogénios, os anti-estrogénios, os anti-androgénios e os análogos da hormona de libertação de gonadotrofina e os inibidores da aromatase e da 17 β -hidroxilase-17,20-liase [11].

Os fármacos derivados dos estrogénios e dos androgénios demonstraram ser valiosos no tratamento de tumores hormono-dependentes, uma vez que órgãos como a próstata e a glândula mamária dependem de hormonas para o seu desenvolvimento e função e constituem habitualmente o local primário de crescimento destas massas. Muitas vezes, estes carcinomas mantêm alguma da resposta hormonal das células normais que os originaram, sendo possível através da modificação do ambiente hormonal destes tumores alterar a evolução do processo neoplásico. Assim, estratégias como a interferência na biossíntese destas hormonas bem como o antagonismo dos seus recetores constituem forma de atuação terapêutica neste contexto.

No tratamento do cancro da mama, anti-estrogénios não-esteróides, nomeadamente o tamoxifeno, têm sido frequentemente utilizados com sucesso, embora possuam significativos

efeitos secundários [8,11]. Adicionalmente, o fulvestrant é um anti-estrogênio puro com estrutura esteróide que tem sido cada vez mais equacionado neste contexto. A inibição da biossíntese de estrogênios, nomeadamente da enzima aromatase, é outra estratégia terapêutica com sucesso neste âmbito. A aromatase é a enzima responsável pela conversão dos androgênios em estrogênios, podendo como tal desempenhar um papel extremamente útil no tratamento de tumores mamários hormono-dependentes. Atualmente, são clinicamente utilizadas duas classes destes inibidores, os esteróides análogos da androstenodiona, como o formestano e o exemestano, e os inibidores imidazólicos, não-esteróides, como o anastrozol, o vorozol e o letrozol [11].

Os análogos da hormona libertadora de gonadotropina começaram a ser utilizados em 1980 e proporcionaram uma forma clínica de castração para o carcinoma da próstata, bem como uma forma de manipulação hormonal adicional no tratamento de tumores mamários. Estes fármacos atuam através da estimulação da segregação da hormona estimuladora dos folículos e da hormona luteinizante, até atingirem a dessensibilização celular ocorrendo seguidamente queda das concentrações de testosterona nos homens e queda das concentrações de estrogênio nas mulheres. São exemplos destes fármacos a leuprolida, a gosserelina e a triptorreline [11].

Os agentes anti-androgénicos são compostos que impedem competitivamente a ligação dos ligandos naturais do receptor do androgénio. Por este motivo, estes agentes podem ter atividade intrínseca contra os tumores prostáticos hormono-dependentes. Para além disso, estes agentes são igualmente úteis quando associados aos estádios iniciais da terapia com análogos da hormona de libertação de gonadotropina, uma vez que auxiliam no equilíbrio dos níveis de testosterona que estes agentes originam. Estes fármacos encontram-se divididos em esteróides e não esteróides e possuem mecanismos de ação distintos, sendo que neste trabalho serão mais aprofundados os esteróides dada a relevância do tema. Os anti androgénios não esteróides podem ser vantajosos por apresentarem efeitos adversos mais suaves, embora a sua potência possa ser inferior, o que torna necessário o desenvolvimento de novos fármacos capazes de conciliar potência aceitável com reduzida toxicidade. O acetato de ciproterona e o acetato de megestrol são alguns dos compostos esteróides que pertencem a esta classe e são utilizados na prática clínica [11].

Adicionalmente, alguns agentes progestagénicos têm sido úteis como terapia hormonal de segunda linha no tratamento de tumores mamários hormono-dependente com metástases e em tratamento de carcinoma do endométrico após remoção cirúrgica e radioterapia. São exemplos desta classe o acetato de megestrol e o acetato de medroxiprogesterona [11]. Assim, dada a importância destas patologias oncológicas e a eficácia modesta dos agentes utilizados atualmente na sua terapia, bem como os seus efeitos secundários, pretende-se

neste trabalho, desenvolver compostos esteróides com potencial ação antitumoral e efetuar uma avaliação básica da sua citotoxicidade em células tumorais hormono-dependentes.

1.1.3 Obtenção dos esteróides

Apesar de ser possível obter quase todos os esteróides conhecidos através de síntese total, a maior parte destas moléculas prepara-se por semi-síntese a partir de matérias-primas que contenham o núcleo esteróide previamente formado. No entanto, grande parte da produção comercial somente se tornou possível devido aos trabalhos desenvolvidos por R. E. Marker e restante equipa sobre sapogeninas esteróides [12]. Marker descobriu que tratando a diogenina extraída das raízes de *Dioscorea spp* com anidrido acético a 200°C em autoclave ocorre abertura do anel espiroqueta originando um diacetato, que após ser oxidado com trióxido de crómio forma um cetoéster, que pode ser tratado com ácido acético, originando o acetato de 16-desidropregnenolona (16-DPA) (Figura 4), principal substrato utilizado neste trabalho de investigação. A partir do 16-DPA é possível obter a pregnenolona por redução seletiva da ligação dupla no carbono 16 com hidrogénio e também outros esteróides de elevado interesse terapêutico nomeadamente a progesterona [12]. No entanto, esta forma de produção apresenta rendimentos relativamente reduzidos, razão pela qual o processo tem vindo a ser estudado por parte da indústria farmacêutica numa tentativa de conciliar uma maximização do rendimento da produção e uma diminuição do impacto ambiental. Por exemplo, no estudo realizado por Goswami e colaboradores conseguiu-se sintetizar o 16-DPA com um rendimento superior a 70% e diminuir a toxicidade do processo, utilizando como agente oxidante o permanganato de potássio em vez de trióxido de crómio [13]. No estudo realizado por Zhang e restante equipa foi possível uma diminuição no impacto ambiental da síntese do 16-DPA através da utilização de oxigénio molecular gerado *in situ* por foto-oxigenação, o que permitiu evitar a criação de resíduos inorgânicos provenientes do uso dos reagentes mencionados previamente, sem alterar significativamente o rendimento final [14].

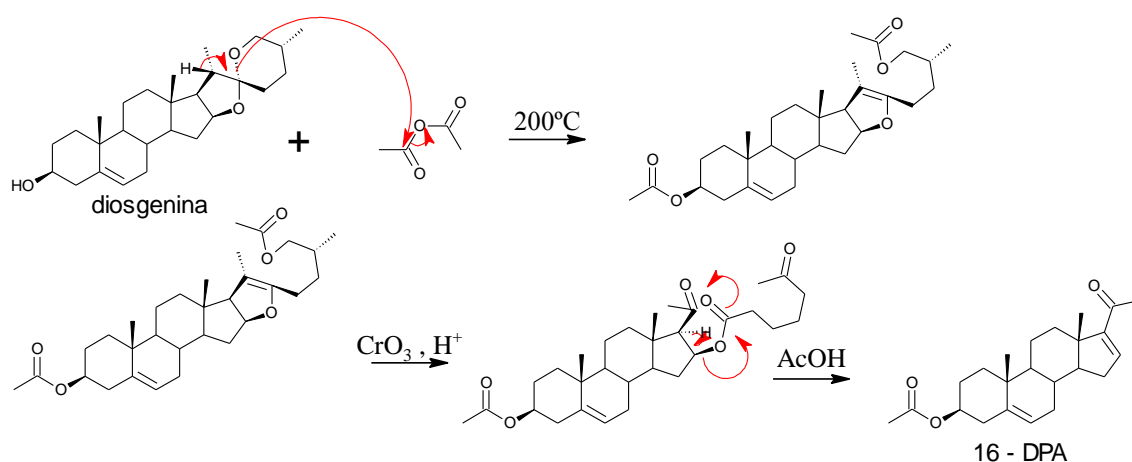


Figura 4 - Degradação de Marker da diogenina

É igualmente possível obter a progesterona a partir do estigmasterol, submetendo este substrato a oxidação de Oppenauer seguida de ozonólise e transformação do aldeído resultante em enamina por adição nucleofílica e por fim a sua oxidação original a progesterona [15].

1.2. Pregnanos bioativos

Nos últimos anos, tem-se vindo a verificar um aumento significativo da investigação na área das modificações estruturais em moléculas esteróides e respetivos estudos de relação estrutura atividade, uma vez que após modificações na sua estrutura, estas moléculas conseguem exercer atividades biológicas diferentes dos seus substratos de origem em vários processos do organismo, podendo apresentar ação anti-inflamatória, diurética, hipotensiva, antimicrobiana, entre outras. Ao tentar compreender a relação entre os substituintes inseridos no núcleo esteróide e o efeito verificado no organismo, permite-se potenciar ou diferenciar a atividade das moléculas obtidas, o que contribui não só para o desenvolvimento do conhecimento e de estratégias de síntese de novas moléculas esteróides, mas também para o aparecimento de novos fármacos com potenciais usos em diversas áreas da medicina [16,17].

Os esteróides da série do pregnano (C21) são uma importante classe de compostos esteróides de elevado interesse para o desenvolvimento de novos fármacos, uma vez que apresentam diversas atividades farmacológicas. A maioria destas atividades foi descoberta com base na medicina tradicional, uma vez que algumas plantas das famílias *Asclepiadaceae* e *Solanaceae* têm sido utilizadas para o tratamento de diversas patologias, entre as quais tumores. Um destes exemplos é o extrato de *Solanum lyratum* que revelou a presença de 16-desidropregnenolona (16-DHP) e de compostos análogos, nomeadamente funcionalizados na posição 3. Neste estudo, observou-se que a 16-DHP demonstrou uma moderada potência citotóxica contra as linhas celulares A375-S2, HeLa, SGC-7091 e Bel-7402 [18].

1.2.1 Funcionalização do Anel D

Desde a década de cinquenta do século passado, diversos grupos de investigação têm tirado partido da reatividade do anel D do núcleo esteróide na síntese de novos compostos com variadas atividades biológicas. Em 1966 Bergstrom estudou a abertura do epóxido da 16 α ,17 α -epoxipregnenolona com aminas alifáticas, o que permitiu introduzir as aminas utilizadas na posição 16 do núcleo esteróide. As moléculas obtidas foram submetidas a avaliação biológica, revelando potenciais usos farmacológicos como agentes hipotensores, antimicrobianos e analgésicos [19]. Mais recentemente e de modo semelhante ao estudo anterior, Kumar e colaboradores reportaram igualmente a introdução de diversas aminas na posição 16 do núcleo esteróide. No entanto, estes compostos foram obtidos a partir do 16-DPA, aproveitando a reatividade da enona que este composto apresenta no anel D para adicionar a

amina pretendida, segundo um mecanismo conhecido como adição de Michael [20]. Os compostos obtidos neste estudo foram sujeitos à avaliação da capacidade inibitória da dipeptidil-peptidase IV (DPP IV), uma enzima expressa na superfície de diversas classes celulares, estando associada à regulação imune, transdução de sinal e apoptose, cuja inibição se demonstrou útil no tratamento de diabetes tipo 2. Os resultados dos ensaios de atividade biológica neste estudo revelaram que quatro dos compostos obtidos, representados na figura 5, inibiram significativamente esta enzima, o que demonstra a importância de estudar mais aprofundadamente a atividade anticancerígena destes compostos, bem como os mecanismos responsáveis por este efeito farmacológico, uma vez que esta enzima se encontra elevada em diversos tipos de tumores [21].

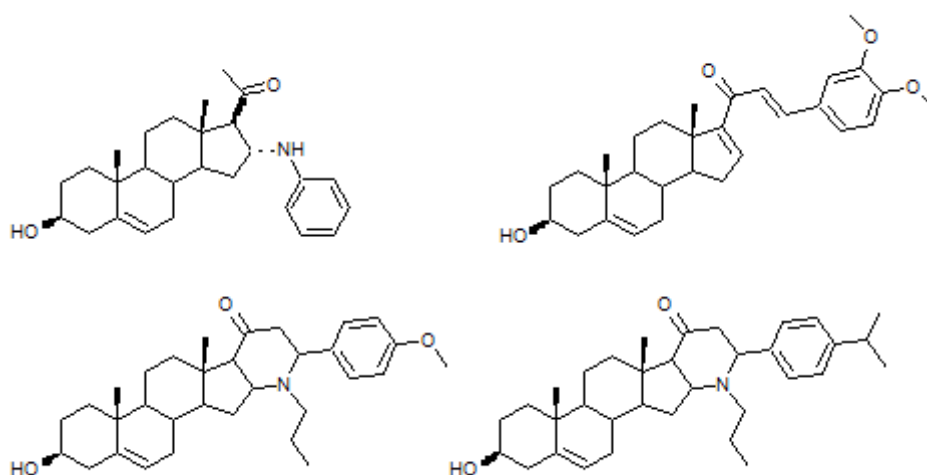


Figura 5 - Compostos sintetizados por Kumar, com atividade inibidora da DPP IV [21]

Adicionalmente, noutros estudos também se fez a avaliação da potencial atividade anticancerígena de esteróides modificados no anel D em diversas linhas celulares, tendo alguns destes compostos apresentado resultados promissores. Como exemplos destes trabalhos encontramos os estudos desenvolvidos por Iqbal Choudhary e colaboradores, em que foi proposta uma estratégia de síntese a partir da pregnenolona que permitiu obter um elevado número de compostos, nomeadamente por formação de derivados benzilideno funcionalizados no anel aromático ligados ao C21, com atividade contra as linhas celulares provenientes do adenocarcinoma da glândula mamária (MDA-MB-231) e do carcinoma hepático (HepG2) [17]. Adicionalmente, os trabalhos de Banday e colaboradores têm igualmente contribuído para a síntese de novos compostos importantes na classe das pirazolinas, como é o caso da síntese de *N*-acetilpirazolinas ligadas ao carbono 17 algumas das quais são significativamente potentes e seletivas contra linhas de adenocarcinoma coloretal (HT-15 e HT-29) [16]. Os trabalhos realizados por Z. Iványo e equipa permitiram evidenciar a importância da estereoquímica associada aos substituintes no anel D, podendo esta ser uma mais-valia a considerar no desenho de novos fármacos com atividade antiproliferativa. A

estratégia de síntese proposta neste estudo consistiu em obter pirazolininas com diferentes estereoquímicas no carbono 5', com o objetivo de avaliar a sua atividade antiproliferativa. Após acetilação dos produtos obtidos e separação em coluna, os compostos foram testados em quatro linhas celulares distintas, verificando-se que os isómeros 5'-(S) apresentam substancialmente maior capacidade antiproliferativa que os isómeros 5'-(R), conforme representado na figura 6 [22].

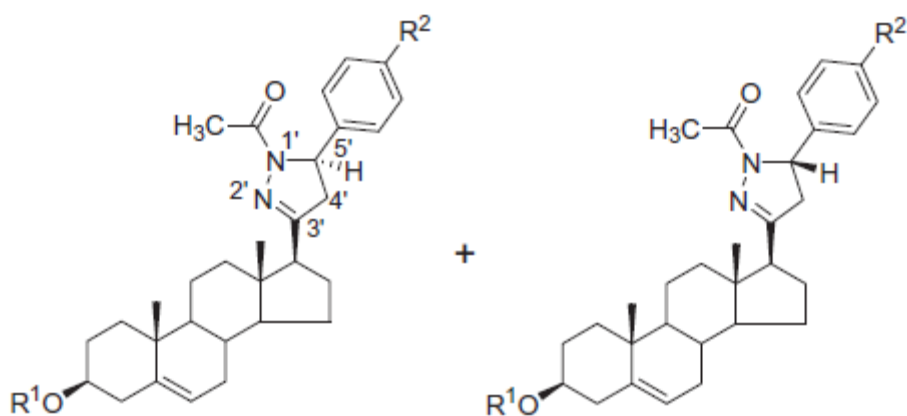


Figura 6 - Pirazolininas obtidas em mistura racêmica por Z. Iványo. [22]

Noutro estudo, Kam e colaboradores conseguiram isolar e caracterizar alguns pregnanos presentes no extrato de *Holarrhena curtisii* e avaliar biologicamente os mesmos. Dos compostos isolados, a holamina e a 15 α -hidroxiholamina, representadas na figura 7 e 8, respetivamente, apresentaram atividade antiproliferativa relevante contra as linhas celulares HL-60, P-388, P-388 resistente à adriamicina e P-388 resistente à vincristina [23].

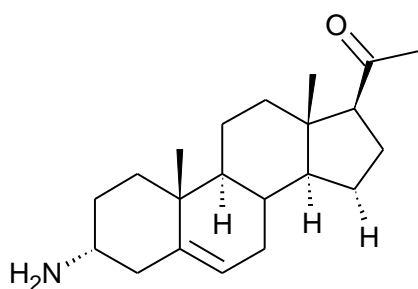


Figura 7 - Holamina [23]

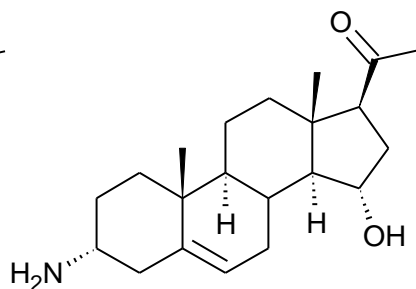


Figura 8 - 15 α -hidroxiholamina [23]

Noutro estudo foram isolados diversos pregnanos a partir de *Nerium oleander*, designadamente contendo um 16 β ,17 β -epóxido ou uma enona no anel D e outras funcionalizações, que revelaram não só atividade contra o crescimento das linhas celulares

VA-13 e HepG2, mas um dos compostos revelou também atividade inibitória de proteínas associadas a resistência a múltiplos fármacos (*Multi-Drug Resistance*) [24].

Li e restantes colaboradores prepararam um grupo de esteróides, incluindo pregnanos, metilados estereoseletivamente em diferentes regiões do núcleo, a fim de avaliar a sua ação citotóxica numa linha de tumor gástrico (MGC-803) e estabelecer relações estrutura-atividade. Dos resultados obtidos é de salientar que o acetato de 16 α -metilpregnenolona e a 16 α -metilpregnenolona revelaram elevada potência contra esta linha celular [25].

Assim, atendendo à informação disponível, pretendeu-se, com este trabalho, continuar a explorar a funcionalização seletiva do anel D da 16-DPA através de diferentes reações orgânicas, com o objetivo de obter esteróides da série pregnano com diversas alterações estruturais. O objetivo deste estudo é, além da avaliação da reatividade destes sistemas em diferentes condições reacionais, obter compostos para se tentar estimar, através de estudos de proliferação celular, a sua ação citotóxica seletiva em diferentes linhas celulares humanas. No final do estudo, além de se tentar obter compostos “hits” no âmbito desta atividade biológica, pretende-se acrescentar informação sobre a relação estrutura atividade neste âmbito para orientação em estudos posteriores.

Este trabalho vem na sequência dos trabalhos realizados no âmbito do Mestrado em Bioquímica do aluno Márcio Geraldes [26] em que foram igualmente preparados e avaliados derivados da série pregnano, tendo-se verificado que alguns dos compostos sintetizados apresentavam atividade seletiva contra linhas celulares de cancro da próstata (LNCaP) e cancro da mama (MCF-7). Assim, pretende-se continuar e complementar estes estudos.

2. Objetivos

O objetivo geral deste trabalho é, explorando alterações estruturais em esteróides pregnanos, obter compostos com potencial ação antitumoral em tumores da mama e da próstata hormono-dependentes. Adicionalmente pretende-se obter informação relevante sobre a relação entre a estrutura e a atividade biológica que possa ser importante em estudos futuros neste âmbito.

Assim os objetivos específicos deste trabalho são:

- funcionalização seletiva do anel D do 16-DPA, através de diferentes tipos de reações
- exploração de diferentes condições reacionais que, de acordo com o nosso conhecimento, nunca tinham sido aplicadas na química de esteróides
- purificação adequada e caracterização estrutural dos produtos obtidos
- avaliação dos efeitos dos compostos obtidos, purificados e caracterizados, em células humanas de cancro da mama e da próstata hormono-dependentes e em fibroblastos saudáveis da derme através do ensaio MTT

3. Secção Experimental

3.1. Estratégia de Síntese

Tendo como base os estudos de relação estrutura atividade reportados anteriormente, foi proposta a funcionalização seletiva do anel D do núcleo esteróide partindo do 16-DPA como substrato, pretendendo-se sobretudo substituições no carbono 16.

Neste contexto, pretendeu-se hidrolisar o substrato de partida com o objetivo de obter o seu derivado 3 β -hidroxilado (para referência) e identificar corretamente o produto minoritário desta reação (16 α -metoxipregnenolona) [27], a fim de proceder também à avaliação biológica do mesmo.

Para a introdução de amina no carbono 16, inicialmente foi decidido o seguimento de duas vias sintéticas principais: adição de aza-Michael na ligação dupla 16,17, ou formação de epóxido na posição 16,17 para posteriormente introduzir uma amina na posição 16 através da abertura do mesmo, conforme se encontra esquematizado na figura 9. Estas vias sintéticas deveriam permitir, teoricamente, obter seletivamente compostos aminados na posição 16, com estereoquímica *beta* e *alfa*.

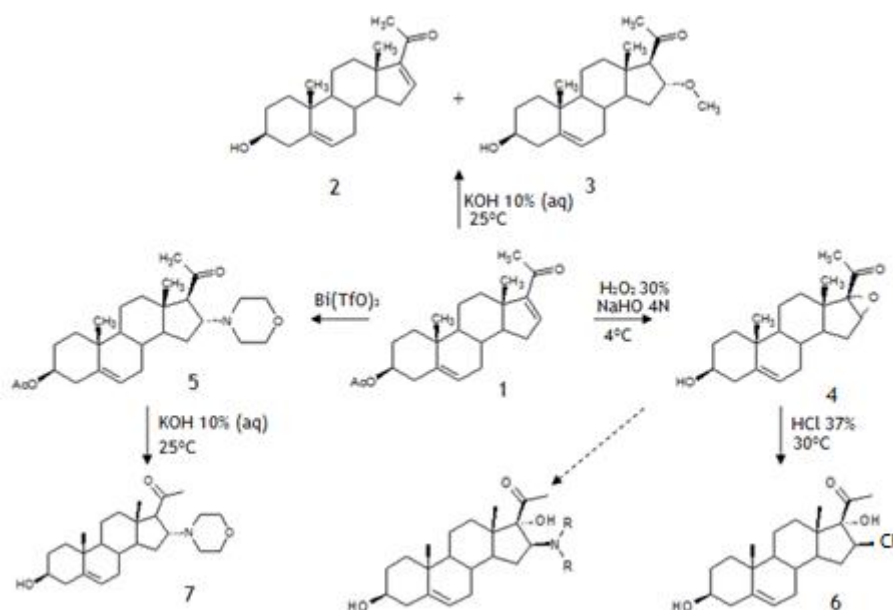


Figura 9- Estratégia de síntese proposta

Assim, a adição de aza-Michael foi estudada em várias condições reacionais, e com diferentes aminas (morfolina, pirrole e imidazole), tendo sido possível obter derivados morfolínicos com sucesso relativo.

A estratégia de abertura do epóxido 4 com aminas acabou por se revelar infrutífera, pois após alguma pesquisa verificámos que este epóxido é muito estável, designadamente devido a algum impedimento estereoquímico, o que dificulta o ataque nucleofílico com aminas volumosas e consequentemente abertura do mesmo [28]. Tendo em conta esta situação, decidiu-se tentar a abertura do epóxido com ácido clorídrico, uma vez que, neste contexto, esta é uma exceção conhecida e descrita na literatura [28] (Figura 10). Propõe-se ainda a aplicação das condições reacionais referidas anteriormente mas utilizando alternativamente ácido iodídrico com o objetivo de explorar a possibilidade de introduzir também um átomo de iodo na posição 16.

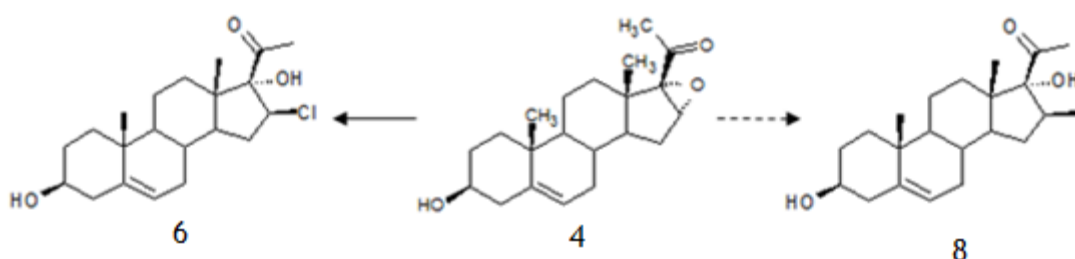


Figura 10 – Estratégia de síntese utilizando o 16 α ,17 α -epoxipregnenolona

3.2. Equipamentos e Reagentes Utilizados

O 16-DPA, utilizado como substrato principal neste trabalho, foi adquirido à Sigma-Aldrich. Relativamente aos restantes reagentes utilizados nas reações efetuadas: o triflato de bismuto, a morfolina, o peróxido de hidrogénio a 30%, o bicarbonato de sódio e a etanolamina foram igualmente adquiridos à Sigma-Aldrich. O ácido iodídrico, o sulfato de sódio anidro, o éter de petróleo 40-60°C foram comprados à Merck. O cloreto de sódio foi comprado aos Laboratórios José M. Vaz Pereira. O hidróxido de sódio, o ácido clorídrico e o ácido sulfúrico foram adquiridos à Panreac. O hidróxido de potássio foi adquirido à Pronalab. Os solventes orgânicos como o acetonitrilo, o diclorometano, o éter etílico e o acetato de etilo foram comprados à Fisher Chemical. O metanol, por sua vez, foi adquirido à Prolabo.

As reações foram realizadas em placas de aquecimento e agitação magnética da marca Heidolph e foram usadas placas de Cromatografia de Camada Fina (CCF) Kieselgel 60 F254, da Merck, para monitorizar as reações, bem como um leitor UV a 254 nm, que permitiu visualizar substâncias com absorção UV na CCF e facilitar a sua identificação. A solução de revelação, composta por 95% de etanol absoluto e 5% de ácido sulfúrico concentrado, permitiu, após imersão da CCF na mesma e de aquecimento da CCF em placa, revelar o cromatograma e tornar visíveis todos os potenciais produtos no meio reacional. Após revelação foi possível calcular o fator de retenção (Rf) que permite auxiliar na identificação de diferentes produtos.

Para auxílio na purificação dos compostos foram ainda utilizados evaporadores rotativos da marca Heidolph, para concentrar e/ou secar as misturas reacionais e os produtos finais, sempre que necessário.

Os espectros de Infravermelhos (IV) foram obtidos através de um espectrofotômetro Nicolet iS10 da Thermo Scientific, pelo método ATR, apresentando-se os principais dados provenientes destes espectros em frequência expressa em cm^{-1} . Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de próton (^1H) e de carbono (^{13}C) foram obtidos através do espectrofotômetro Bruker Avance III 400 e registados a 400 MHz para ^1H -RMN e 100 MHz para ^{13}C -RMN, utilizando-se em ambos os casos clorofórmio deuterado como solvente. Os dados obtidos nos espectros de ^1H -RMN estão indicados pela seguinte ordem: desvio químico δ (ppm), tipo de sinal, integração e indicação do respetivo hidrogénio responsável pelo sinal. Os espectros de ^{13}C -RMN foram realizados em desacoplamento, sendo apresentados os desvios químicos observados e, quando possível e se justificar, a atribuição do sinal.

3.3. Procedimentos Experimentais Realizados

3.3.1 Síntese de 16-desidropregnenolona (2) e de 16 α -metoxipregnenolona (3)

Para a hidrólise do 16-DPA foi seguido um procedimento relativamente conhecido, tendo por base um protocolo referido por Vânia Moreira [5]. Começou-se por dissolver 179,33 mg (0,5 mmol) de 16-DPA (1) em 4 mL de metanol num balão de fundo redondo. Posteriormente, foram adicionados 1,34 mL de solução aquosa de hidróxido de potássio a 10%. A reação foi mantida em agitação magnética à temperatura ambiente. A análise por CCF após 3 h de reação revelou uma mancha com absorção UV com Rf de 0,55 e uma mancha sem absorção UV com Rf de 0,87 (eluente: acetato de etilo: éter de petróleo 40-60°C 1:1).

Após parar a reação, procedeu-se de seguida à concentração da mistura reacional em evaporador rotativo. Após dissolução do resíduo obtido em 10 mL de diclorometano e 11 mL de água, a solução foi mantida em agitação durante 2 horas. A mistura final foi extraída em ampola de decantação com 3 x 25 mL de diclorometano, recuperando-se a fase orgânica. Esta última foi lavada com 50 mL de água e posteriormente seca com sulfato de sódio anidro. Após filtração e evaporação, foi obtido um sólido de cor branca. Os dois produtos observados na CCF foram separados em coluna de sílica com uma fase móvel composta por acetato de etilo: éter de petróleo 40-60°C (1:3), tendo sido obtidos dois sólidos de cor branca: 82 mg de 16-DHP (2), e 39 mg de 16 α -metoxipregnenolona (3), com um rendimento de 51,6% e 22,5% respetivamente.

Ambos os compostos obtidos foram sujeitos a análise por IV e RMN a fim de elucidar as suas estruturas. Relativamente à 16-DHP (2), o espectro ^1H RMN apresenta sinais conforme a literatura [29]: 0,89 (s, 3 H, H-18), 1,02 (s, 3 H, H-19), 2,23 (s, 3 H, H-21) 3,50 (m, 1 H, H-3),

5,33 (d, 1 H, H-6) e 6,68 (q, 1H, H-16). O espectro de IV deste composto revelou sinais a 3433, 3046. 2928, 1661, 1371 e 1055 cm^{-1} [26]. Do mesmo modo, após análise do espectro ^1H RMN da 16 α -metoxipregnenolona (3) foram identificados sinais característicos do composto [30]: δ (ppm) 0,68 (s, 3 H, H-18), 0,97 (s, 3 H, H-19), 2,16 (s, 3 H, H-21), 3,19 (s, 3 H, MeO-16), 3,51 (m, 1 H, H-3), 4,33 (m, 1 H, H-16) e 5,32 (m, H-6). Por sua vez, a análise ^{13}C RMN foi igualmente coincidente com o descrito na literatura, apresentando como sinais: δ (ppm) 14,4, 19,3, 20,7, 31,4, 31,5 (2C), 31,6, 31,9, 36,5, 37,1, 38,8, 42,2, 44,3, 49,8, 54,4, 57,1, 71,4, 71,5, 81,4, 121,2 (C-6), 140,7 (C-5), 208,1 (C-20). Por fim, a análise do espectro IV deste composto revelou os sinais a 3426, 3029, 2934, 1698, 1377 e a 1067 cm^{-1} .

3.3.2 Síntese de Acetato de 16 α -morfolinopregnenolona (5)

Para a síntese do acetato de 16 α -morfolinopregnenolona foi seguido um procedimento proposto por Kumar e restante equipa para a preparação de derivados aminados da pregnenolona [21]. Inicialmente, o protocolo foi seguido estritamente, tendo-se dissolvido 71,3 mg (0,20 mmol) de 16-DPA em 173 μl (10 equivalentes) de morfolina, aquecendo-se o sistema até aos 45°C dissolvendo-se todo o substrato. Após algumas análises por CCF verificou-se que a reação não estava a decorrer, tendo-se mantido as condições reacionais até dezanove horas após o início da reação. A fim de contornar o problema da falta de reatividade, adicionaram-se mais 173 μl de morfolina aumentando-se assim a quantidade total de amina para 20 equivalentes. Cinco horas depois, foi realizada nova análise por CCF, tendo-se observado a formação ténue de um produto com elevada polaridade. Assim, foi decidido adicionar 16 mg (0,025 mmol) de triflato de bismuto, uma vez que os sais de bismuto são conhecidos catalisadores em adições de Aza-Michael [10,20].

A reação decorreu durante mais sessenta e seis horas, tendo sido terminada noventa horas após o seu início. Antes de terminar a reação foi realizada nova análise por CCF que revelou uma mancha de substrato mais intensa que a anterior, transmitindo a ideia que ou o tempo ou o catalisador auxiliaram no decorrer da reação.

A análise por CCF revelou a presença de uma mancha com absorção UV com um R_f de 0,9, correspondente ao substrato utilizado e, uma mancha sem absorção UV com um R_f de 0,04, utilizando como eluente acetato de etilo e éter de petróleo 40-60°C na proporção 4:1

Ao resíduo final obtido foram adicionados 15 mL de água destilada e 25 mL de acetato de etilo que se transferiram para uma ampola de decantação. A fase aquosa foi depois extraída com mais 25 mL de acetato de etilo, tendo-se repetido este procedimento mais três vezes. Recuperou-se toda a fase orgânica, lavando-se a mesma com 30 mL de solução aquosa saturada de NaCl. A fase orgânica foi posteriormente seca com sulfato de sódio anidro e filtrada a vácuo, concentrando-se de seguida o resíduo final em evaporador rotativo.

Os dois produtos foram separados por cromatografia em coluna, composta por sílica de 230-400 mesh, utilizando primeiramente uma fase móvel de acetato de etilo e éter de petróleo 40-60°C (4:1) até à saída do produto com absorção UV, alterando-se a fase móvel para metanol a fim de se recolher produto mais polar. No final da coluna foram recuperados 37 mg do composto mais polar (5), com um rendimento final de 42,5% e 42 mg do composto mais apolar (1), que após análise em ^1H RMN se confirmou tratar-se de substrato que não reagiu, com um rendimento final de 55,1 %.

Esta reação foi repetida, tendo-se dissolvido num balão de fundo redondo 71,7 (0,20 mmol) mg de 16-DPA em 346 μl (20 equivalentes) de morfolina, aquecendo-se o sistema até aos 45°C. Logo de seguida, adicionaram-se 16 mg (0,025 mmol) de triflato de bismuto e deixou-se a reação decorrer durante aproximadamente 90 horas. Embora a análise por CCF realizada cerca de 24 horas após o início da reação demonstrasse a ocorrência de reatividade significativa, ainda existia substrato por reagir e por isso foi necessário mais tempo. A reação foi terminada ao fim das referidas 90h ainda sem que todo o substrato tivesse sido totalmente consumido. No entanto, a última análise por CCF realizada ao produto final revelou uma mancha de substrato um pouco mais ténue que o verificado na reação anterior, indiciando que a quantidade de produto final obtido deverá ser maior.

Nas análises por CCF observaram-se resultados similares à primeira tentativa, embora houvesse maior consumo aparente do substrato. O *work-up* foi realizado de forma similar ao anteriormente descrito. Os dois produtos foram novamente separados por cromatografia em coluna composta por sílica, utilizando primeiramente uma fase móvel de acetato de etilo e éter de petróleo 40-60°C 4:1 até à saída do produto com absorção UV, alterando-se a fase móvel para metanol a fim de se obter produto mais polar. Recuperaram-se 15 mg do substrato (1) com um rendimento de 21% e 51 mg do produto esperado (4), com um rendimento de 58,6%.

O produto obtido (5) foi submetido a análise dos espetros IV, ^1H e ^{13}C RMN, apresentando sinais concordantes com o esperado quando comparado com o substrato que lhe deu origem, e de acordo com o que se encontra descrito na literatura [21]. O espetro ^1H RMN revelou sinais em: δ (ppm) 5,33 (d, 1H, H-6), 4,55 (m, 1H, H-3), 3,66 (t, 4H, H-3',5'), 3,55 (t, 1H, H-16), 2,69 (d, 1H, H-17), 2,47 (brs, 2H, H-4), 2,29 (m, 4H, H-2',6'), 2,15 (s, 3H, H-21), 1,99 (s, 3H, H-3-OAc), 0,97 (s, 3H, H-18) e 0,62 (s, 3H, H-19). Por sua vez, o espetro ^{13}C RMN revelou sinais em: δ (ppm) 208,3 (C-20), 170,7 (OCOCH₃), 139,9 (C-5), 122,3 (C-6), 73,9 (C-3), 66,8 (C-17), 65,7 (2C, C-2'), 65,2 (C-16), 55,1 (2C, C-1'), 51,6 (C-14), 49,9 (C-9), 44,9 (C-13), 38,9 (C-4), 38,2 (C-12), 37,1 (C-10), 36,8 (C-1), 31,9 (C-8), 31,8 (C-21), 31,7 (C-2), 29,2 (C-7), 27,8 (C-15), 21,6 (OCOCH₃), 20,9 (C-11), 19,5 (C-18) e 14,7 (C-19). O espetro IV revelou sinais a 3379, 2938, 2162, 1719, 1697, 1558, 1357, 1233, 1116 e 1033 cm^{-1} .

3.3.3 Síntese de 16 α -morfolinopregnenolona (7)

As condições reacionais utilizadas foram baseadas nos procedimentos anteriormente seguidos para a hidrólise do 16-DPA (1), ajustando as quantidades ao peso molecular do acetato de 16 α -morfolinopregnenolona (5), substrato utilizado nesta reação. Começou-se por dissolver 44,56 mg (0,10 mmol) de substrato em 800 μ l de metanol, adicionando-se 268 μ l de solução aquosa de hidróxido de sódio a 10%, após se completar a dissolução do substrato. Deixou-se a reação decorrer à temperatura ambiente durante cerca de quatro horas. No final deste tempo foi realizada uma análise por CCF, tendo-se verificado que todo o substrato havia sido consumido, observando-se uma única mancha sem absorção UV e com um R_f de 0,625, utilizando um eluente de acetato de etilo, éter de petróleo 40-60°C e metanol nas proporções de 3:1:1.

Após o término da reação, evaporou-se o metanol presente no balão e adicionaram-se 2 mL de água destilada e 4 mL de diclorometano, deixando-se esta mistura em agitação durante duas horas. De seguida, transferiu-se o conteúdo do balão para uma ampola de decantação a fim de separar a fase orgânica da fase aquosa, tendo-se extraído ainda a fase aquosa com 25 mL de acetato de etilo duas vezes. Por fim, reuniu-se toda a fase orgânica, secando-se a mesma com sulfato de sódio anidro para ser posteriormente filtrada e concentrada em evaporador rotativo, obtendo-se um sólido amarelado. Recuperaram-se 26 mg do produto final (7), com um rendimento final de 64,8%.

Após secagem do composto em estufa, o mesmo foi submetido a análise por IV, ¹H e ¹³C RMN, comparando-se os sinais obtidos com o descrito para a literatura [21]. Para o espectro ¹H foram identificados os sinais: δ (ppm) 5,31 (d, 1H, H-6), 3,71 (brs, H-3',5'), 3,55 (m, 1H, H-16), 2,72 (brs, 1H, H-17), 2,52 (m, 2H, H-4), 2,30 (m, 4H, H-2',6'), 2,17 (s, 3H, H-21), 0,97 (s, 3H, H-18) e 0,63 (s, 3H, H-19). No espectro ¹³C RMN foram detetados os sinais em: δ (ppm) 140,9 (C-5), 121,3 (C-6), 71,8, 66,6, 65,8 (2C), 65,3, 55,1 (2C), 51,7, 49,9, 45,89, 45,03, 42,4, 38,9, 36,7, 31,9, 31,8, 31,7, 31,67, 29,2, 21,0, 19,6 e 14,7. O espectro IV deste composto revelou sinais a 3197, 2926, 2253, 1697, 1360 e 1114 cm⁻¹.

3.3.4 Tentativas de Síntese de Acetato de 16-morfolinopregnenolona (5)

Foi igualmente explorada a obtenção do acetato de 16-morfolinopregnenolona através de outras duas reações com algum potencial para originar o substrato pretendido. Primeiramente, tentou-se seguir o procedimento proposto por Gould e colegas para a síntese do 16-piperidinopregnenolona [31], uma vez que foi igualmente utilizado o 16-DPA como substrato, existindo somente diferença na amina a introduzir na posição 16, uma vez que no presente trabalho tentou-se introduzir a morfolina em vez da piperidina. De acordo com o procedimento descrito, dissolveram-se 89,125 mg (0,25 mmol) de 16-DPA em 326,6 μ l (19 equivalentes) de morfolina num balão de fundo redondo. Após aparente dissolução do

substrato, à mistura reacional foram adicionados 28 µl de água e 19,64 mg de hidróxido de potássio, mantendo-se em agitação magnética durante duas horas. Ao fim desse tempo efetuou-se CCF para controlar a reação e verificou-se que a mesma ainda não se tinha iniciado. Mantiveram-se as condições reacionais até 192 horas após o início da reação, não se tendo verificado a ocorrência de reação durante este período de tempo, parando-se sistema reacional após este período de tempo.

De um modo semelhante, seguiu-se o procedimento reportado por Tabatabaeian e colaboradores [32] em que foi introduzido o anel pirrole no carbono 5 da progesterona, por adição nucleofílica à enona, catalisada por tricloreto de ruténio. Seguindo este processo, foi testada a utilização do catalisador triflato de bismuto nesta mesma reação, tendo esta ocorrido com sucesso. Assim, uma vez que o nosso substrato de partida possui uma cetona conjugada com a dupla ligação 16,17, tentou-se adaptar o referido procedimento ao 16-DPA, usando triflato de bismuto como catalisador e morfolina em vez de pirrole, tentando-se verificar a ocorrência de reatividade. Assim, num balão de fundo redondo foram dissolvidos 89,125 mg (0,25 mmol) de 16-DPA em 2 mL de metanol. Após total dissolução do substrato, adicionaram-se 21,63 µl (0,25 mmol) de morfolina e 8,2 mg (0,0125 mmol) de triflato de bismuto, aquecendo-se a solução a refluxo (65°C). Durante o acompanhamento da reação por CCF foi verificado que a mesma não estava a decorrer, tendo-se adicionado mais 21,63 µl de morfolina oito horas após o início da reação, aumentando-se assim a quantidade de amina para 2 equivalentes em relação ao substrato. Após deixar a reação a decorrer durante a noite, foi novamente verificado que a reação ainda não se tinha iniciado através de CCF, tendo-se decidido adicionar mais 9,2 mg (0,0125 mmol) de triflato de bismuto 24 horas após o início da reação. No entanto, 48 horas após o início da reação o substrato ainda não tinha reagido, razão pela qual foi decidido desligar o sistema e recuperar o substrato.

3.3.5 Tentativa de Síntese de 16 α -pirrolepregnenolona

Numa perspetiva similar à da secção anterior, tentou-se seguir o procedimento proposto por Tabatabaeian e restante equipa, similar ao procedimento descrito na secção anterior [32]. Deste modo, dissolveram-se 89,0 mg (0,25 mmol) de 16-DPA em 2 mL de metanol num balão de fundo redondo de 10 mL. Após verificar a dissolução do substrato, adicionaram-se 17,28 µl (0,25 mmol) de pirrole ao meio reacional, tendo-se aquecido o sistema até à temperatura de 65°C a fim de manter o metanol em refluxo. Quando se atingiu esta temperatura, adicionaram-se 6,2 mg (0,0125 mmol) de triflato de bismuto deixando-se a reação sob agitação magnética. Duas horas após o início da reação, fez-se análise por CCF e uma vez que a reação não estava a decorrer, optou-se por adicionar mais 17,28 µl de pirrole a fim de aumentar a quantidade de amina para dois equivalentes em relação ao substrato. A reação decorreu durante mais 22 horas, tendo-se verificado novamente por CCF que o substrato continuava sem reagir. Optou-se ainda por adicionar mais 6,2 mg de triflato de bismuto,

tendo-se deixado a reação decorrer durante mais 24 horas. Ao fim deste tempo, uma vez que não se observou reatividade, optou-se por desligar o sistema e recuperar o substrato.

3.3.6 Tentativa de Síntese de 16 α -imidazolepregnenolona

De acordo com o método descrito por Banik e colaboradores [33], tentou-se realizar uma adição nucleofílica de imidazole ao 16-DPA, utilizando nitrato de bismuto como catalisador. O trabalho referido dedicou-se ao estudo da adição de aminas, incluindo aminas aromáticas, a enonas em moléculas relativamente simples. Após a adaptação possível das condições reacionais descritas nesse processo ao presente trabalho, tentou-se dissolver 89,5 mg (0,25 mmol) de substrato em 600 μ l de diclorometano e adicionaram-se 15,05 mg (0,22 mmol) de imidazole quando o meio reacional se tornou ligeiramente mais homogéneo. Após mais alguns minutos de agitação, para garantir uma melhor homogeneização do substrato e da amina, foram adicionados 18,9 (0,05 mmol) mg de nitrato de bismuto, tendo-se mantido a reação em agitação à temperatura ambiente durante cerca de 48 horas. Após a realização de diversas análises ao meio reacional por CCF, verificou-se que a reação não ocorreu, tendo-se desligado o sistema e recuperado o substrato original.

3.3.7 Síntese de 16 α ,17 α -epoxipregnenolona (4)

A fim de conseguir obter a 16 α ,17 α -epoxipregnenolona foi seguido o procedimento previamente relatado por Julian e respetivos colegas [34]. De acordo com o descrito, foram dissolvidos num balão de fundo redondo de 50 mL 365,85 mg (1 mmol) de 16-DPA (1) em 23,88 mL de metanol. Após total dissolução do substrato, foram adicionados 0,71 mL de solução aquosa de hidróxido de sódio 4 N e seguidamente 1,43 mL de peróxido de hidrogénio aquoso a 30%. A mistura reacional foi posteriormente colocada no frigorífico a 4°C durante 24 horas. A análise por CCF após as 24 horas de reação revelou consumo total do substrato e uma única mancha de produto, sem absorção UV (254nm) e com um R_f de 0,57 (eluente: éter de petróleo 40-60°C : acetato de etilo 2:1)

Após parar a reação adicionaram-se 50 mL de água para formar um precipitado branco, filtrando-se de seguida esta mistura sob vácuo e recuperando o resíduo sólido obtido no filtro com acetato de etilo. A fase aquosa recuperada foi ainda extraída 3 vezes com 25 mL de acetato de etilo. A fase orgânica reunida foi lavada com 25 mL de solução aquosa de HCl a 5%, com 25 mL de solução aquosa saturada de hidrogenocarbonato de sódio e com 50 mL de água. Por fim secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio anidro, filtrando-se a suspensão e concentrando o resíduo em evaporador rotativo. Obteve-se um sólido branco cuja análise por CCF revelou uma única mancha, tratando-se da 16 α ,17 α -epoxipregnenolona (4) que foi obtida com um rendimento final de 96%, obtendo-se 316 mg de massa final. Este produto foi sujeito a análise por ¹H RMN, que revelou sinais concordantes com o descrito na literatura [35], tendo

sido identificados sinais a: δ (ppm) 5,33 (m, 1H, H-6), 3,56 (s, 1H, H-16), 3,51 (m, 1H, H-3), 2,03 (s, 3H, H-21), 1,04 (s, 3H, H-19) e 1,02 (s, 3H, H-18).

3.3.8 Síntese de 16 β -Cloro-3 β ,17 α -dihidroxipregn-5-en-20-ona (6)

Para a abertura do 16 α ,17 α -epóxido foi seguido um procedimento proposto por Girdhar e colaboradores [28], onde foi reportada a abertura deste epóxido com dois haletos de hidrogénio: o HCl e o HBr. Conforme descrito, dissolveram-se 71 mg (0,25 mmol) de 16 α ,17 α -epoxipregnenolona (4), obtida previamente, em 4,5 mL de acetona num balão de fundo redondo. Após total dissolução do substrato, adicionou-se gota a gota, 710 μ l de HCl a 37%. A reação foi aquecida até à temperatura de 30°C e mantida em agitação magnética durante 2 horas e 45 minutos. No fim deste período de tempo foi realizada uma análise do meio reacional por CCF que revelou o consumo total do substrato utilizado e o aparecimento de uma única mancha, sem absorção UV (254nm), e com Rf de 0,625 utilizando um eluente de acetato de etilo: éter de petróleo 40-60°C (4:1).

Após parar a reação, evaporou-se a acetona e recuperou-se o resíduo obtido com 5 mL de água e 30 mL de acetato de etilo, colocando-se a mistura em ampola de decantação. Seguidamente, a fase aquosa foi novamente extraída com 30 mL de acetato de etilo, tendo-se repetido este procedimento mais duas vezes. Após reunião da fase orgânica, esta foi lavada com 25 mL de solução aquosa saturada de NaHCO₃ e com 20 mL de água. Por fim, procedeu-se à secagem da fase orgânica com sulfato de sódio anidro e posterior filtração e concentração do resíduo em evaporador rotativo. O resíduo obtido foi purificado em coluna de sílica com uma fase móvel de acetato de etilo: éter de petróleo 40-60°C (1:1), tendo-se recuperado 39 mg de sólido branco, correspondente a 48,8% de rendimento final.

Foi realizada a análise dos espectros de IV, ¹H e ¹³C RMN, demonstrando-se a concordância dos sinais obtidos com os descritos na literatura para o composto esperado [28]. Para o espectro ¹H foram identificados sinais em: δ (ppm) 5,35 (d, 1H, H-6), 4,13 (m, 1H, H-16), 3,52 (m, 1H, H-3), 2,41 (s, 3H, H-21) 1,24 (s, 3H, H-18) e 1,03 (s, 3H, H-19). No espectro ¹³C RMN foram detetados os sinais: δ (ppm) 206,7 (C=O), 140,8 (C-5), 121,0 (C-6), 90,2 (C-17), 71,6 (C-3), 63,1 (C-16), 49,5, 47,6, 42,2, 38,2, 37,2, 36,5, 31,7, 31,5, 31,2, 30,9, 29,5, 19,9, 19,4 e 15,8. O espectro IV revelou sinais a 3348, 2935, 1697, 1353 e 1050 cm⁻¹.

3.3.9 Tentativa de Síntese de 3 β ,17 α -Dihidroxi-16 β -iodopregn-5-en-20-ona

Com base nos resultados observados na abertura da 16,17 α -epoxipregnenolona com ácido clorídrico referidos anteriormente, tentou-se repetir a reação, mas utilizando ácido iodídrico a 67% a fim de conseguir colocar o átomo de iodo na posição 16 do anel D. Uma vez que se utilizou o mesmo substrato, foi somente necessário calcular quantidade equivalente de ácido iodídrico para ocorrer reação. Dissolveram-se então 91 mg (0,25 mmol) de 16 α ,17 α -

epoxipregnenolona em 4,5 mL de acetona, aquecendo-se o sistema até aos 30°C. Após total dissolução do substrato, adicionaram-se 1,39 mL de ácido iodídrico gota-a-gota, tendo-se deixado a reação a decorrer durante cerca de 72 horas. Após esse tempo, foi realizada uma análise por CCF e uma vez que a reação não estava a decorrer, foi decidido aumentar-se a temperatura do sistema para 65°C, dado que esta temperatura foi utilizada pelos autores do estudo seguido para a abertura de epóxido com ácido brómico. Cerca de 48 horas depois foi realizada uma nova análise por CCF que revelou uma única mancha com Rf aparentemente inferior ao substrato, tendo-se parado a reação após esta verificação. Após *work-up* similar ao descrito na abertura da 16,17 α -epoxipregnenolona com ácido clorídrico, verificou-se por CCF que afinal não tinha ocorrido qualquer reatividade, tendo-se recuperado o substrato.

3.4. Avaliação Biológica

Após a sua purificação e secagem, os compostos obtidos foram dissolvidos em DMSO numa concentração de 0,01 mM a fim de se proceder 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).

3.4.1 Materiais e Equipamentos Utilizados

Os meios de cultura *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI) e *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM), a L-Glutamina, o MTT, o HEPES, o dimetilsulfóxido (DMSO) e o ácido pirúvico foram comprados à Sigma-Aldrich. O azul de triptano foi adquirido 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. 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 ao uso de alguns instrumentos, como o leitor espectralfotométrico de microplacas Anthos 2020 na realização do ensaio do MTT, a incubadora Bioblock Scientific para incubação das células antes e durante os ensaios, e a centrífugadora Nuaire DHD Autoflow.

3.4.2 Técnicas de Cultura Celular Utilizadas

As células LNCaP foram isoladas em 1977 e 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 RPMI completo, com 10% de FBS e 1% de antibiótico SP, a 37°C em incubadora com atmosfera humidificada e com 5% de Dióxido de Carbono. De modo a manter

as células nas condições recomendadas até ao ensaio, o meio de cultura foi substituído a cada 72 horas, procedendo-se à expansão das células sempre que se verificasse confluência. No ensaio realizado, as células LNCaP encontravam-se na passagem 22.

As células MCF-7 consistem em 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 em meio DMEM completo, com 10% FBS e com 1% de antibiótico/antimicótico AB, em incubadora a 37°C e com atmosfera humidificada de CO₂. O meio de cultura foi substituído a cada 48 horas, recorrendo-se à expansão sempre que as células se apresentassem confluentes. Para os ensaios realizados foram utilizadas células na passagem 10.

As células NHDF foram escolhidas para avaliar a potencial toxicidade dos compostos em células normais, pois expressam, designadamente, recetores de estrogénio e enzimas que metabolizam os estrogénios. Neste trabalho estas células foram mantidas em meio de cultura RPMI, suplementado com 10% de FBS, 20 mM de L-glutamina, 10 mM de HEPES, e 1 mM de piruvato de sódio e 1% de antibiótico/antimicótico AB. Os frascos foram mantidos a 37°C em incubadora com atmosfera humidificada de 5% de CO₂, procedendo-se à substituição do meio de cultura de 72 em 72 horas, tendo-se igualmente expandido as células em caso de confluência. Nos ensaios utilizados foram utilizadas células na passagem 3.

3.4.2.1 Tripsinização

A realização da tripsinização, necessária em células aderentes, é necessária sempre que se pretende expandir ou utilizar as células em ensaios. Este procedimento iniciou-se com a aspiração a vácuo do meio de cultura existente no interior do frasco de cultura, seguindo-se a lavagem das células com PBS. Posteriormente colocou-se cerca de 10 mL de tripsina no frasco de 75 mL, incubando-se as células durante aproximadamente 5 minutos na incubadora, a fim de soltar as células da superfície do frasco. Uma vez confirmada ao microscópio a suspensão das células, neutralizou-se a tripsina com meio de cultura suplementado com FBS, procedendo-se de seguida à centrifugação da suspensão celular resultante. Por fim, descartou-se o sobrenadante e ressuspendeu-se o *pellet* no meio de cultura apropriado, colocando-se a nova suspensão celular resultante em novos frascos de cultura, ou iniciando-se a etapa da contagem de células e sementeira para realizar um ensaio.

3.4.2.2 Contagem, Sementeira e Incubação dos Compostos

O ensaio de avaliação da citotoxicidade destes compostos foi realizado em placas com 48 poços, onde foram semeadas as células na densidade adequada. Para isso, primeiramente foi necessário proceder à contagem do número de células. Assim, da suspensão de células obtida

após a tripsinização foram retirados 10 µl aos quais se adicionaram 10 µl de solução de azul de triptano 0,4%. O conteúdo resultante foi aplicado numa câmara de *Neubauer*, procedendo-se de seguida à contagem do número de células existentes nos quatro quadrantes da mesma. Após calculada a média dos quatro quadrantes, multiplicou-se o valor obtido por dois uma vez que as células se encontram diluídas na proporção de 1:1 com a solução do azul de triptano, aplicando-se a fórmula de *Neubauer*. Com a concentração de células determinada, calculou-se o volume de suspensão inicial a diluir no volume total de meio necessário para a realização dos ensaios, a fim de conseguir uma concentração celular de 2×10^4 células por mL. Esta suspensão final foi colocada em 35 poços da placa, tendo-se colocado somente meio nos restantes 13, posicionados na periferia superior e esquerda da placa, que constituem os zeros. A placa foi finalmente incubada durante 48 horas, a fim de favorecer o crescimento celular antes de proceder à aplicação dos compostos a avaliar.

A partir das soluções mãe preparadas anteriormente com uma concentração de 0,01mM, foram preparadas seis soluções diluídas no respetivo meio de cultura adequado e para cada composto a avaliar, com as concentrações de 0,01 µM, 0,1 µM, 1 µM, 10 µM, 50 µM e 100 µM. Cada uma destas soluções foi adicionada a três poços com suspensão celular, deixando-se os restantes cinco poços sem composto para serem utilizados como controlo. Seguidamente, a placa foi novamente incubada durante 48 horas, tendo-se posteriormente procedido ao ensaio MTT para analisar a viabilidade e a proliferação celular.

3.4.2.3 Ensaio com MTT

A fim de calcular o efeito dos compostos na viabilidade celular das células estudadas foi realizado o ensaio de MTT. Este ensaio tem como fundamento o fato de as células viáveis terem a capacidade de reduzir o MTT a cristais de formazano, insolúveis no meio aquoso, através da enzima mitocondrial succinato-desidrogenase. Deste modo, a quantidade de formazano produzido pode considerar-se diretamente proporcional ao número de células viáveis existentes no interior do poço.

Assim, no fim do tempo de incubação com os compostos a avaliar, procedeu-se à aspiração cuidadosa do meio sobrenadante em cada poço, seguida de adição da solução de MTT. Após completar este procedimento em todos os poços, as placas foram novamente incubadas a 37°C com atmosfera humidificada com 5% de CO₂, e na ausência de luz, durante 4 horas. Após este período de tempo, o conteúdo dos poços foi aspirado cuidadosamente a fim de evitar o mínimo de remoção dos cristais formados. Por fim, adicionou-se DMSO para dissolver os cristais de formazano e tampão glicina para estabilizar a cor roxa obtida com a dissolução. Uma vez que a intensidade da cor é diretamente proporcional ao número de cristais de formazano formados e, conseqüentemente, ao número de células viáveis no final do ensaio, o conteúdo dos poços pode ser transferido para uma microplaca de 96 poços, procedendo-se por fim à leitura da absorvância a 570 nm e ao registo dos valores obtidos para

posteriormente relacionar com os valores obtidos para o controlo. Considera-se um efeito inibidor do crescimento celular quando são obtidos valores abaixo dos do controlo e estimuladores do crescimento quando são obtidos valores acima dos do controlo.

3.5. Análise Estatística

Os resultados gráficos de citotoxicidade foram expressos como valores médios \pm desvio padrão. A comparação entre múltiplos grupos foi analisada pelo teste *t*-student para determinar a existência de diferenças significativas entre as médias. A diferença entre grupos foi considerada estatisticamente significativa quando $p < 0,05$. Os valores de IC_{50} indicados foram calculados a partir da curva dose-resposta por cálculos de ajustamento sigmóide.

4. Resultados e Discussão

4.1. Síntese Química

4.1.1 Hidrólise Alcalina

A hidrólise de ésteres trata-se de uma reação amplamente conhecida e encontra-se largamente descrita na literatura, uma vez que tem sido aplicada a um elevado número de moléculas desde a sua descoberta, não sendo os esteróides uma exceção neste ponto. Esta reação pode ser concretizada em meio ácido ou alcalino, optando-se pelas condições alcalinas neste trabalho dada a existência de experiência prévia com as mesmas. A reação inicia-se com o ataque nucleofílico do ião hidroxilo da base ao carbonilo do grupo éster, originando quebra da ligação dupla entre o carbono e o oxigénio e a formação de um intermediário tetraédrico instável com carga negativa no oxigénio. Esta instabilidade conduz novamente à formação da ligação dupla entre o carbono e o oxigénio, que culmina na quebra da ligação entre o substrato e o grupo acetilo, formando-se ácido acético e o substrato hidrolisado (figura 11).

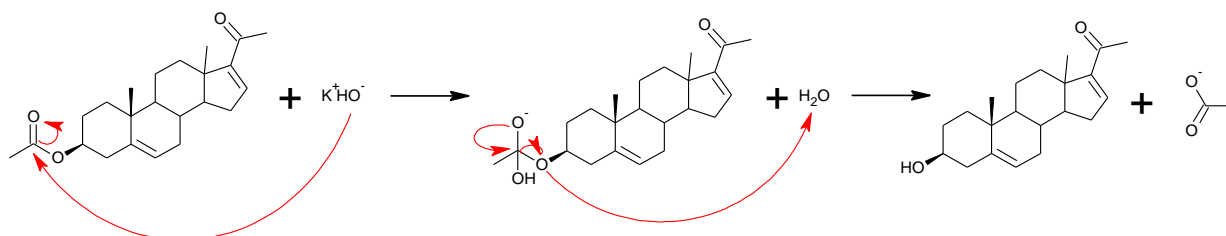


Figura 11 - Representação esquemática do mecanismo reacional proposto para a hidrólise do 16-DPA

De acordo com o descrito na parte experimental, estas condições reacionais foram aplicadas de forma idêntica ao acetato de 16 α -morfolinopregnenolona e ao 16-DPA. No primeiro composto verificou-se a formação de um único produto. Contudo, no caso do 16-DPA ocorreu a formação de dois produtos na proporção 1:2 (16 α -metoxipregnenolona:16-DPA), uma vez

que para além de ter ocorrido a remoção do grupo acetilo ligado ao OH-3, conforme pretendido, ocorreu também adição nucleofílica de um grupo metoxilo ao carbono 16, devido à existência da dupla ligação conjugada nesta posição. A formação do produto minoritário 16 α -metoxipregnenolona deverá ter ocorrido devido à utilização do metanol como solvente para esta reação, uma vez que na presença de uma base forte pode ocorrer ativação do metanol no ião metoxilo, que por sua vez é um nucleófilo suficientemente forte para atacar a ligação dupla na posição 16, uma vez que a existência de uma cetona na posição 20 polariza a dupla ligação e facilita a entrada do nucleófilo. De forma a conseguir um aumento de estabilidade, a ligação dupla do carbonilo forma-se novamente, permitindo desfazer a dupla ligação entre o carbono 17 e o 20 (figura 12). Refere-se ainda que o substituinte se liga estereoseletivamente em posição *alfa* relativamente ao plano dos anéis, dada a presença de substituintes na face *beta*.

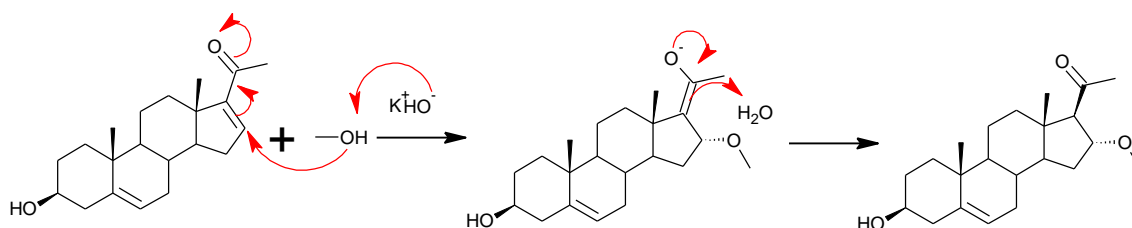


Figura 12 - Representação esquemática da introdução do grupo metoxilo na posição 16 do núcleo esteróide

Conforme descrito na parte experimental, o rendimento obtido foi de 51,6% para o 16-DHP e 22,5% para o derivado 16 α -metoxipregnenolona. Estes resultados encontram-se de acordo com o descrito na literatura [27], em que nestas condições reacionais se obtém uma proporção de cerca de 2:1 do derivado hidrolisado *versus* metoxilado, como referido acima.

4.1.2 Epoxidação

Neste trabalho procedeu-se à formação de um epóxido com configuração *alfa* a partir da ligação dupla entre o carbono 16 e o carbono 17 do núcleo esteróide, servindo este composto como substrato intermediário para a síntese de esteróides halogenados na posição 16.

Foi necessário recorrer à utilização de um peróxido em meio alcalino em vez de um perácido (reagente habitual em epoxidações de alenos), uma vez que se espera que este último não reaja com duplas ligações conjugadas.

O mecanismo proposto para esta reação pode ser encontrado na figura 13, considerando as condições reacionais utilizadas e referenciadas na parte experimental. O peróxido de hidrogénio sofre ativação em meio básico, originando o ião peróxido que é um nucleófilo suficientemente forte para atacar a dupla ligação nos carbonos 16 e 17, ocorrendo a transferência da carga negativa para o oxigénio na posição 20. Depois, os eletrões acumulados

neste oxigénio formam novamente um grupo carbonilo, formando-se uma ligação covalente com o oxigénio do peróxido, ocorrendo a libertação do ião hidróxido.

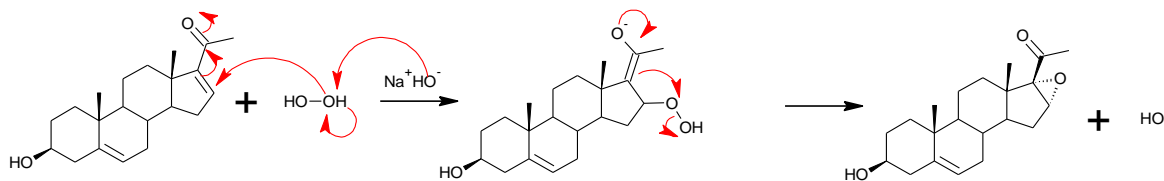


Figura 13 – Mecanismo proposto para a formação do α epóxido na posição 16,17 do núcleo esteróide.

Uma vez que o produto final se encontra comumente descrito na literatura e já havia sido previamente sintetizado pelo aluno Márcio Geraldês [26], somente foi necessária a análise ^1H RMN para confirmar se a síntese foi bem-sucedida, tendo-se verificado a existência de sinais concordantes com o descrito.

Esta síntese originou um rendimento de 96%, o que vai de encontro ao descrito na literatura para esta reação [34], obtendo-se um único produto, conforme o esperado.

4.1.3 Adição de Aza-Michael

De acordo com o descrito na parte experimental, conseguiu-se introduzir a amina morfolina na posição 16 do núcleo esteróide, embora sem que se consumisse todo o substrato. Apesar de não ter sido possível otimizar a reação ao ponto de consumir todo o substrato utilizado, os resultados obtidos levam-nos a concluir que esta reação necessita de uma concentração de catalisador triflato de bismuto na ordem dos 5 a 10% e um excesso de amina de pelo menos 20 equivalentes por quantidade de substrato, uma vez que nas condições propostas por Kumar não permitiram verificar a ocorrência de reação [21]. Na tentativa de introdução de amina com catálise básica, com hidróxido de potássio em água, foi verificado que a reação não decorreu, mesmo utilizando um excesso de amina. Possivelmente a baixa reatividade do substrato e a necessidade de condições reacionais mais drásticas poderá explicar a baixa reatividade observada neste contexto.

O mecanismo reacional proposto para esta reação é semelhante ao descrito previamente para a introdução do grupo metoxilo na posição 16, encontrando-se descrito na figura 14. No entanto, dado o potencial impedimento estereoquímico associado à amina utilizada e a baixa reatividade do sistema, foi necessário aumentar a quantidade de amina em reação e recorrer ao uso de triflato de bismuto como catalisador a fim de facilitar o ataque nucleofílico por parte da mesma.

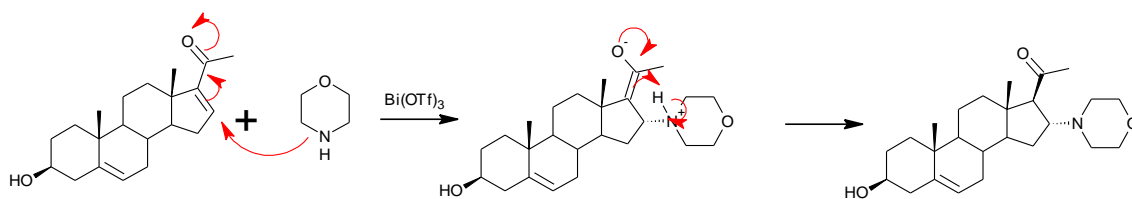


Figura 14 – Mecanismo reacional da introdução de aminas alifáticas no carbono 16 do núcleo esteróide.

Pelo que foi possível observar durante a primeira vez que se tentou adicionar a morfolina ao 16-DPA, a adição de mais amina foi suficiente para iniciar a reação, no entanto não foi o suficiente para consumir todo o substrato. A adição de um catalisador de bismuto não permitiu igualmente consumir todo o substrato, no entanto, uma vez que o rendimento obtido na segunda tentativa efetuada foi na ordem dos 60% e ligeiramente acima do habitualmente descrito na bibliografia [20, 21], poderá ser vantajoso estudar mais pormenorizadamente o processo químico para melhorar os rendimentos e tempos reacionais. O triflato de bismuto deverá comportar-se como um ácido de Lewis, capaz de se ligar ao carbonilo da posição 20 e facilitando a transferência dos eletrões em hibridação, ao ponto de tornar o carbono 16 eletropositivo e favorecer o ataque nucleofílico. Do mesmo modo, o excesso de amina utilizado permite aumentar significativamente a probabilidade da reação ocorrer, podendo ser útil a conjugação destas duas variáveis.

Tentou-se igualmente introduzir aminas aromáticas (pirrole e imidazole) na posição 16 do núcleo esteróide, igualmente utilizando catalisadores de bismuto, embora nenhuma das tentativas tenha tido sucesso. Nos artigos que serviram de base a estes trabalhos [20, 33], as enonas estudadas são muito simples, ao contrário do substrato em causa aqui, que tem certamente maior impedimento estérico e possivelmente menor reatividade.

4.1.4 Abertura de epóxidos com Haletos de Hidrogénio

A abertura do 16 α ,17 α -epoxipregnenolona com HCl decorreu como o previsto, obtendo-se o produto pretendido com um rendimento de 49%. Este rendimento foi inferior ao esperado provavelmente por terem ocorrido perdas na coluna cromatográfica, uma vez que o rendimento antes da coluna foi de 97%, o que se encontra de acordo com a bibliografia seguida [28].

Conforme demonstrado pelo mecanismo na figura 15, o epóxido é ativado pelo próton, favorecendo-se o ataque pelo ião cloreto.

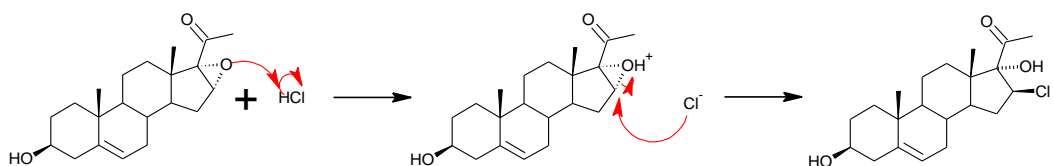


Figura 15 – Mecanismo proposto para a abertura do 16 α ,17 α epóxido com ácido clorídrico.

Com esta abertura é possível obter substituintes na posição 16 com estereoquímica *beta*, ao contrário do que se observou na adição nucleofílica descrita acima. Uma vez que o epóxido tem estereoquímica *alfa*, o nucleófilo ataca na face *beta*, originando um grupo hidroxilo *alfa* na posição 17.

Tentou-se também abrir o 16 α ,17 α -epóxido com ácido iodídrico conforme descrito na parte experimental, não se tendo verificado a ocorrência de reação. Conforme referido anteriormente, este epóxido encontra-se bastante impedido estericamente, razão pela qual é conhecido um número reduzido condições reacionais que conseguiram efetuar a sua abertura com sucesso [28]. Embora o Cloro e o Bromo sejam duas exceções conhecidas e o Iodo pertença ao mesmo grupo da tabela periódica, este último é um átomo com maior dimensão, razão pela qual o seu tamanho possa dificultar o ataque nucleofílico ao epóxido. Encontra-se descrito que é necessário um aumento da temperatura da reação para favorecer a abertura do epóxido com o ácido bromídrico [28], razão pela qual também foi decidido usar uma temperatura mais elevada. No entanto, mesmo com a elevação de temperatura para 65°C durante 48 horas, a reação não ocorreu.

4.2. Avaliação Biológica

4.2.1 Comparação dos efeitos dos compostos em células NHDF, MCF-7 e LNCaP

Após purificação dos compostos sintetizados foi possível realizar ensaios de toxicidade nas três linhas celulares distintas, com os cinco compostos obtidos, sendo os mesmos a 16-DHP, a 16 α -metoxipregnenolona, o 16 β -cloro-17 α -hidroxipregnenolona, o acetato de 16 α -morfolinopregnenolona e a 16 α -morfolinopregnenolona.

Os resultados obtidos na avaliação biológica da 16-DHP estão representados no gráfico 1, comparando-se os efeitos do composto nas três linhas celulares estudadas, procedendo-se do mesmo modo para os restantes compostos. Foi efetuado um estudo similar a este pelo aluno Márcio Geraldês [26], onde foi igualmente verificado que este composto apresenta alguma ação antiproliferativa para todos os tipos de células estudadas, incluindo alguma toxicidade para as células NHDF. Apesar deste composto já ter sido estudado em condições similares [26], decidimos também analisar os seus efeitos considerando-o como referência. É de notar

que os valores para as células LNCaP e NHDF são bimodais, o que pode pressupor mais que um tipo de resposta ao composto por parte dessas células.

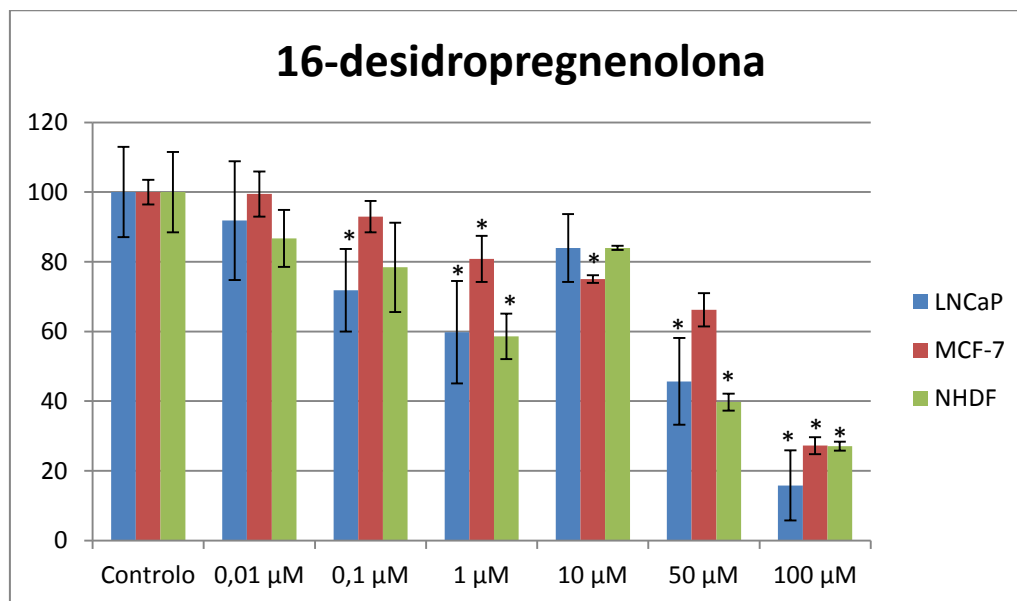


Gráfico 1 - Viabilidade celular relativa das células LNCaP MCF-7 e NHDF quando incubadas com a 16-DHP em concentrações entre 0,01 µM e 100 µM e durante 48h, determinada pelo ensaio MTT com um N=3. Os dados estão expressos como percentagem da viabilidade celular em relação ao respetivo controlo; as barras representam a média e as linhas o desvio-padrão da respetiva média associada. * p<0,05 versus respetivo controlo (teste t-student)

Por sua vez, a 16α-metoxipregnenolona demonstrou uma elevada seletividade para as células LNCaP, revelando reduzida toxicidade nas células NHDF, apresentando por isso algum potencial para estudos futuros, conforme se pode verificar no gráfico 2.

Os resultados obtidos nas células LNCaP vão de encontro ao reportado por Li e colaboradores [25], na medida em que este grupo de investigação estudou o potencial da introdução de metilos na posição 16-*alfa* do núcleo esteróide, embora a avaliação realizada por este grupo de investigação tenha sido focalizada nas células de tumor gástrico. Embora no nosso trabalho tenha sido introduzido um grupo metoxilo e não metilo, é igualmente valorizada a substituição na posição 16, realçando também a possível importância da introdução de outras cadeias carbonadas nesta posição.

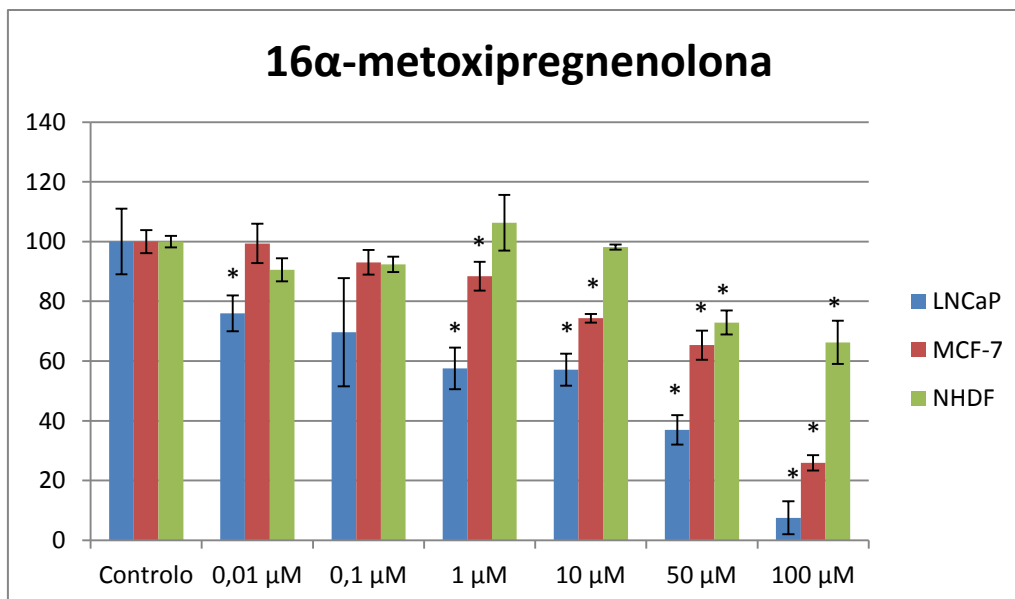


Gráfico 2 – Viabilidade celular relativa das células LNCaP MCF-7 e NHDF quando incubadas com a 16 α -metoxipregnenolona em concentrações entre 0,01 μ M e 100 μ M e durante 48h, determinada pelo ensaio MTT com um N=3. Os dados estão expressos como percentagem da viabilidade celular em relação ao respetivo controlo; as barras representam a média e as linhas o desvio-padrão da respetiva média associada. * $p < 0,05$ versus respetivo controlo (teste t-student)

Relativamente à 16 β -cloro-17 α -hidroxipregnenolona, foi novamente observada uma toxicidade seletiva para células cancerígenas, principalmente para as LNCaP, em concentrações até 50 μ M, observando-se uma elevada toxicidade para as três linhas celulares na concentração máxima, conforme pode ser observado no gráfico 3. É de realçar ainda que nas células NHDF, na concentração de 0,1 μ M, se observa um estímulo da proliferação celular. Foi ainda possível calcular o IC₅₀ para este composto nas células LNCaP (IC₅₀ 28,36 μ M).

Dada a semelhança da 16 α -metoxipregnenolona e da 16 β -cloro-17 α -hidroxipregnenolona com a pregnenolona e com a 17 α -hidroxipregnenolona, substratos da CYP17, existente nas células LNCaP, a interação daqueles compostos com a enzima, podendo inibi-la, poderá ser uma forma de explicar a sua ação seletiva nestas células.

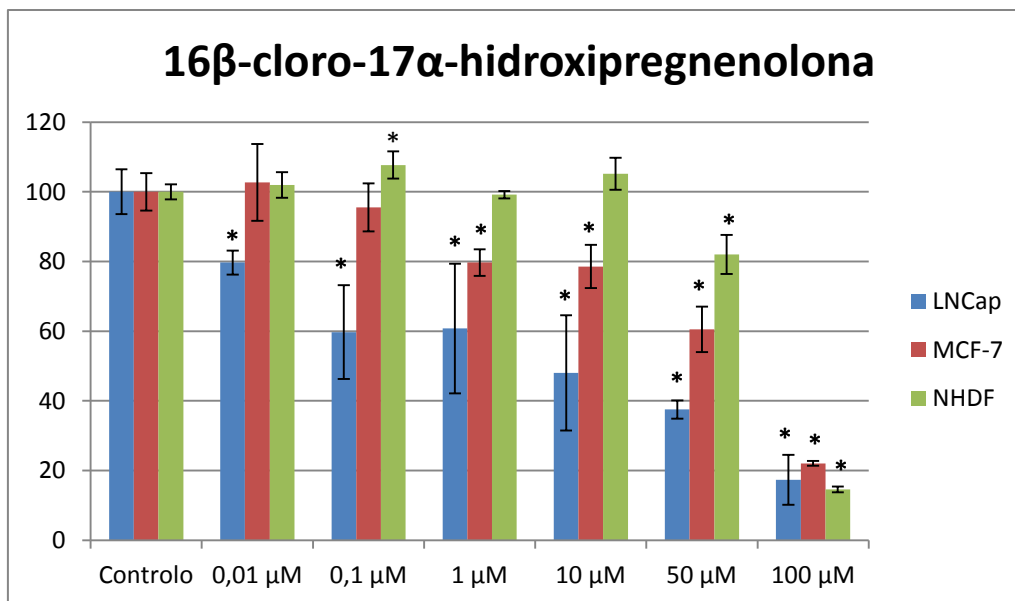


Gráfico 3 – Viabilidade celular relativa das células LNCaP, MCF-7 e NHDF quando incubadas com 16 β -cloro-17 α -hidroxipregnenolona em concentrações entre 0,01 μ M e 100 μ M e durante 48h, determinada pelo ensaio MTT com um N=3. Os dados estão expressos como percentagem da viabilidade celular em relação ao respetivo controlo; as barras representam a média e as linhas o desvio-padrão da respetiva média associada. * p<0,05 versus respetivo controlo (teste t-student)

Os valores obtidos para o acetato de 16 α -morfolinopregnenolona revelaram que o composto apresenta uma fraca seletividade para células MCF-7 e apresenta alguma toxicidade para células NHDF, apresenta citotoxicidade relevante para a linha celular LNCaP nas concentrações mais elevadas, conforme pode ser verificado através da observação do gráfico 4. Possivelmente o volume elevado do substituinte na posição 16 poderá, de alguma forma, impedir o encaixe desta molécula, nomeadamente em moléculas-alvo de pregnanos (enzimas e recetores)

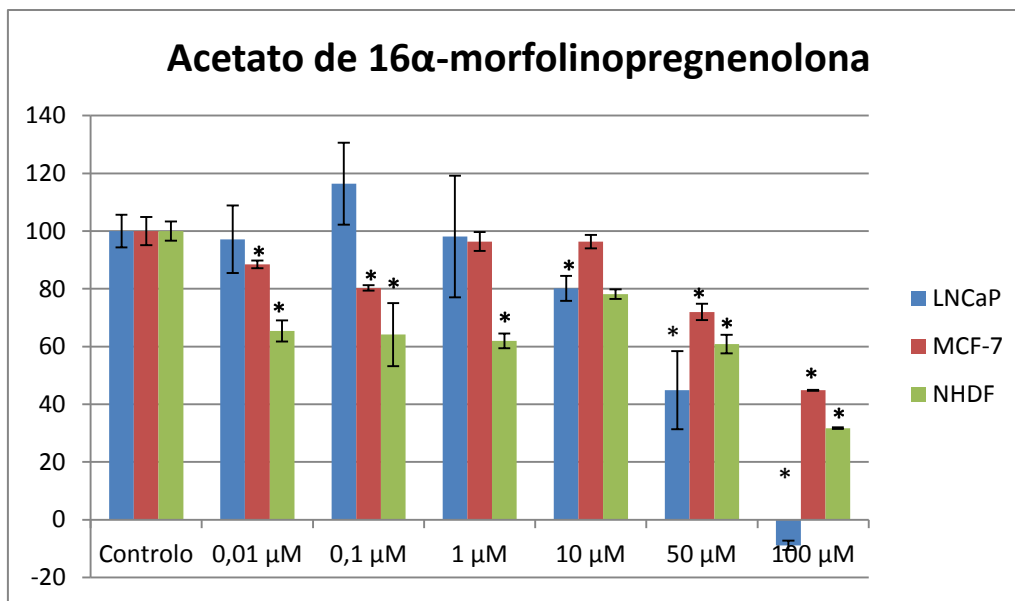


Gráfico 4 – Viabilidade celular relativa das células LNCaP, MCF-7 e NHDF quando incubadas com o acetato de 16 α -morfolinopregnenolona em concentrações entre 0,01 μM e 100 μM e durante 48h, determinada pelo ensaio MTT com um N=3. Os dados estão expressos como percentagem da viabilidade celular em relação ao respetivo controlo; as barras representam a média e as linhas o desvio-padrão da respetiva média associada. $p < 0,05$ versus respetivo controlo (teste t-student)

Relativamente à 16 α -morfolinopregnenolona (gráfico 5), seria de esperar que apresentasse resultados semelhantes aos obtidos para o acetato de 16 α -morfolinopregnenolona uma vez que a única diferença entre estes dois compostos é o grupo acetilo na posição 3. Encontra-se descrito na literatura que a presença de um grupo hidroxilo nesta posição pode contribuir para um aumento da ação antiproliferativa em relação aos compostos análogos acetilados [36]. Contudo, contrariamente ao obtido em estudos anteriores, neste composto não foi verificado um aumento da citotoxicidade no derivado hidroxilado no carbono 3, tendo-se verificado até uma ligeiramente maior ação antiproliferativa com o derivado acetilado. O valor de IC_{50} determinado nas células NHDF foi de 24,65 μM .

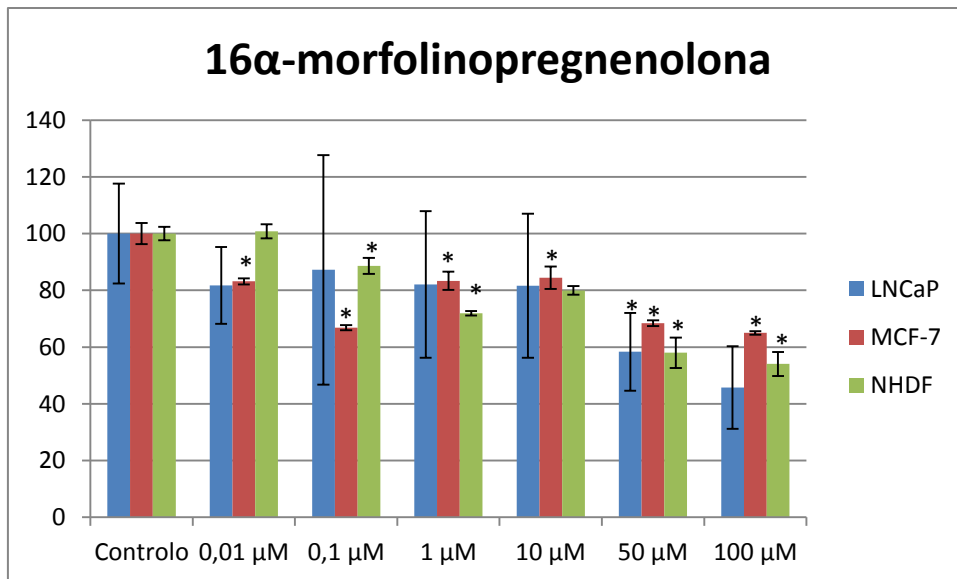


Gráfico 5 – Viabilidade celular relativa das células LNCaP, MCF-7 e NHDF quando incubadas a 16 α -morfolinopregnenolona em concentrações entre 0,01 μ M e 100 μ M e durante 48h, determinada pelo ensaio MTT com um N=3. Os dados estão expressos como percentagem da viabilidade celular em relação ao respetivo controlo; as barras representam a média e as linhas o desvio-padrão da respetiva média associada. p<0,05 versus respetivo controlo (teste t-student)

5. Conclusão

Embora o número de compostos com potencial atividade antitumoral tenha vindo a aumentar significativamente durante as últimas décadas, ainda existe um longo caminho a percorrer em direção à necessidade de obter fármacos mais eficientes que os disponíveis atualmente, capazes de conjugar elevada potência com o mínimo de efeitos adversos para os doentes. Neste sentido, a química farmacêutica deve contribuir fortemente para este objetivo, não só através do desenvolvimento de estudos de relação estrutura atividade que originem novas moléculas, mas também através da otimização de processos que permitam diminuir o custo elevado e o impacto ambiental associado à produção destas moléculas.

Com a realização deste trabalho, utilizando o 16-DPA como ponto de partida e aplicando reações relativamente conhecidas a esse substrato, foi possível preparar vários compostos que, embora se encontrem descritos na literatura, se julga não terem ainda sido sujeitos a avaliação da sua citotoxicidade em células humanas cancerígenas (LNCaP e MCF-7) e normais (NHDF). Dos resultados desta avaliação biológica verifica-se genericamente que, para as células e nas condições estudadas, os compostos não são agentes antiproliferativos muito potentes, quando comparados com o composto que considerámos referência, a 16-DHP. Destaca-se, contudo, a ação antiproliferativa marcada e seletiva para as células LNCaP dos compostos 16 α -metoxipregnenolona e 16 β -cloro-17 α -hidroxipregnenolona, situação que não se observa com a 16-DHP e que deve ser explorada em estudos futuros. A introdução da morfolina na posição 16 α do 16-DPA não originou efeito antiproliferativo marcado nas células e nas condições estudadas.

Em relação aos processos explorados para a introdução de aminas em C16 pela reação de aza-Michael, podemos concluir que a aplicação de condições reacionais que funcionam em moléculas simples nem sempre funciona em moléculas mais complexas como é o caso dos esteróides. Esta situação pode ser explicada por motivos estéricos e eletrónicos. Adicionalmente, a reatividade da enona em diversos pontos da estrutura esteróide também pode variar, pois a aplicação de um processo que funcionou na progesterona não resultou em 16-DPA.

5.1. Perspetivas Futuras

Este trabalho fornece bases para a sua continuação em potenciais ensaios futuros. Durante a sua realização foi possível aprofundar os conhecimentos existentes, nomeadamente acerca da introdução de aminas na posição 16 do anel D, podendo ser de interesse futuro otimizar a reação e aplicá-la a mais aminas para conseguir realizar um estudo mais complexo de relação estrutura atividade e que contribua para uma melhor compreensão do papel destes substituintes na atividade biológica. Por outro lado, alguns compostos avaliados revelaram

citotoxicidade em pelo menos uma linha celular, o que deve ser explorado em estudos futuros, confirmando essa informação e tentando elucidar os mecanismos moleculares da ação. Adicionalmente, essas estruturas podem ser o ponto de partida para outros estudos de relação estrutura atividade para aumentar a potência e a seletividade dos mesmos.

Bibliografia

- [1] Lemke T. L., Williams D. A., *Foyes: Principles of Medicinal Chemistry*, 6th Edition, 2008, Walters Kluwer;
- [2] Moss G. P., *NOMENCLATURE OF STEROIDS*, Pure and Applied Chemistry, 1989, 61, 1783-1822;
- [3] Thomas G., *Fundamentals of Medicinal Chemistry*, Wiley, 2003;
- [4] Melmed S., Conn P. M. *Endocrinology: Basic and Clinical Principles*, 6th Edition, Humana Press, 2005;
- [5] Moreira V. M. A., *Novos Esteróides Inibidores da Biossíntese de Androgénios*, Dissertação de Doutoramento apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, Coimbra, 2008;
- [6] Boron W. F., Boulpaep E. L., *Medical Physiology: A Cellular And Molecular Approach*, 2nd Edition, Saunders, 2003;
- [7] Boultonwood J., Fiddler C., *Molecular Analysis of Cancer*, Humana Press, 2002;
- [8] Huggins C. B., *The Hormone-dependent Cancers*, Bulletin of the New York Academy of Medicine, 1963, 39, 752-757;
- [9] Goldhirsch A., Glick J. H., Gelber R. D., Coates A. S., Thurlimann B., Senn H. J., *Meeting Highlights: International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer*, Annals of Oncology, 2005, 16, 1569-1583;
- [10] Baruah B., Boruah A., Prajapati D., Sanduh J., *BiCl₃- or CdI₂-Catalyzed Michael Addition of 1,3-Dicarbonyl Compounds under Microwave Irradiations*, Tetrahedron Letters, 1997, 8, 1449-1450;
- [11] Hardman J. G., Limbird L. E., Gilman A. G., *As Bases Farmacológicas da Terapêutica*, 10^a Edição, Mc Graw Hill, 2005;
- [12] Lehmann P. A. F., Bolivar A. G., Quintero R. R., *Russel E. Marker: Pioneer of the Mexican Steroid Industry*, Journal of Chemical Education, 1973, 50, 195-199;
- [13] Goswami A., Kotoky R., Rastogi R. C., Ghosh A. C., *A One-Pot Efficient Process for 16-Dehydropregnenolone Acetate*, Organic Process Research and Development, 2003, 7, 306-308;

- [14] Zhang Y., Liu Y. Y., Cheng X. X., Wang X. S., Zhang B. W., *An Environmentally Friendly Process for the Preparation of 16-Dehydropregnenolone Acetate*, Chinese Journal of Chemistry, **2005**, 23, 753-756;
- [15] Lopez C. A., *Introducción a la Química Farmacéutica*, 2^a Edición, McGrawHill, **2001**;
- [16] Banday A. H., Mir B. P., Lone I. H., Suri K. A., Kumar H. M. S., *Studies on novel D-ring substituted steroidal pyrazolines as potential anticancer agents*, Steroids, **2010**, 75, 805-809;
- [17] Choudhary M. I., Alam M. S., Rahman A., Yousuf S., Wud Y. C., Lin A. S., F. Shaheen F., *Pregnenolone derivatives as potential anticancer agents*, Steroids, **2011**, 76, 1554-1559;
- [18] Sun L. X., Fu W. W., Ren J., Xu L., Bi K. S., Wang W. M., *Cytotoxic Constituents from Solanum Lyratum*, **2006**, 29, 135-139;
- [19] Bergstrom C. G., *The Synthesis and Biological Evaluation of 16 β -Amino-17 α ,20-dihydroxypregnanes*, Journal of Medicinal Chemistry, **1968**, 11, 875-879;
- [20] Rulev A. Y., *Aza-Michael reaction: achievements and prospects*, Russian Chemical Reviews, **2011**, 80, 197-218;
- [21] Kumar M., Rawat P., Khan M. F., Rawat A. K., Srivastava A. K., Maurya R., *Aza-annulation on the 16-dehydropregnenolone, via tandem intermolecular Aldol process and intramolecular Michael addition*, Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, **2011**, 21, 2232-2237;
- [22] Iványi Z., Szabó N., Huber J., Wölfling J., Zupkó I., Szécsi M., Wittmann T., Schneider G., *Synthesis of D-ring-substituted (5'R)- and (5'S)-17 β -pyrazolinylandrosterone epimers and comparison of their potential anticancer activities*, Steroids, **2012**, 77, 566-574;
- [23] Kam T. S., Sim K. M., Koyano T., Toyoshima M., Hayashi M., Konimya K., *Cytotoxic and Leishmanicidal Aminoglycosteroids and Aminosteroids from Holarrhena curtisii*, Journal of Natural Products, **1998**, 61, 1332-1336;
- [24] Bai L., Wang L., Zhao M., Toki A., Hasegawa T., Ogura H., Kataoka T., Hirose K., Sakai J., Bai J., Ando M., *Bioactive Pregnanes from Nerium oleander*, Journal of Natural Products, **2007**, 70, 14-18;
- [25] Li C., Qiu W., Yang Z., Luo J., Yang Z., Luo J., Yang F., Liu M., Xie J., Tang J., *Stereoselective synthesis of some methyl-substituted steroid hormones and their in vitro cytotoxicity activity against human gastric cancer cell line MGC-803*, Steroids, **2010**, 75, 859-869;

- [26] Gerald M. F. M., *Descoberta e desenvolvimento de esteróides da série pregnano com ação anticancerígena*, Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior, Covilhã, **2011**;
- [27] Fukushima D. K., Gallagher T. F., *The action of methanolic potassium hydroxide on a Δ^{16} -29-ketosteroid: Isolation of 3 β -acetoxy-16-methoxy- Δ^5 -pregnen-20-one*, Journal of the American Chemical Society, **1950**, 72, 2306;
- [28] Girdhar N. K., Ishar M. P. S., Kumar R., Singh R., Singh G., *Highly efficient Lewis Acid catalyzed, one step conversions of 16 α ,17 α -epoxy-hydroxypregn-5-en-20-one to D-homosteroid and Δ^{13} -steroids*, Tetrahedron, **2001**, 57, 7199-7204;
- [29] Szendi Z., Forgó P., Sweet F., *Complete and ^{13}C NMR spectra of pregnenolone*, Steroids, **1995**, 60, 442-446;
- [30] Wolfling J., Magyar A., Schneider G., *Synthesis of Novel D-Seco-Pregnenes*, Monatshefte für Chemie, **2003**, 134, 1387-1393;
- [31] Gould D., Shapiro E. L., Finckenor L. E., Gruen F., Hershberg E. B., *Steroid Amines. 111. 16 α -Amino-Substituted Pregnanes*, Journal of the American Chemical Society, **1951**, 78, 3158-3163;
- [32] Tabatabaeian K., Mamaghani M., Mahmoodi N., Khorshidi A., *Diastereoselective Ruthenium-Catalyzed Michael Addition of Indoles to Hormone Steroids: An Efficient Route to New Indole Derivatives*, Synthetic Communications, **2010**, 40, 1677-1684;
- [33] Srivastava N., Banik B. M., *Bismuth Nitrate-Catalyzed Versatile Michael Reactions*, Journal of Organic Chemistry, **2003**, 68, 2109-2114;
- [34] Julian P. L., Meyer E. W., Karpel W. J., Waller I. R., *Sterols. XI. 17 α -Hydroxy-11-desoxycorticosterone (Reichstein's Substance S)*, Journal of the American Chemical Society, **1950**, 72, 5145-5147;
- [35] Litvinovskaya R. P., Drach S. V., Khripach, V. A., *Synthesis and Transformations of 20-Isoxazolylsteroids with Modified D Ring: I. Synthesis of 16 α ,17 α -Epoxyderivatives*, Russian Journal of Organic Chemistry, **2001**, 37, 787-792;
- [36] Minorics R., Szekeres T, Krupitza G., Saiko P., Giessrigl B., Wölfling J., Frank E., Zupkó I., *Antiproliferative effects of some novel synthetic solanidine analogs on HL-60 human leukemia cells in vitro*, Steroids, **2011**, 76, 156-162;

Capítulo 2 - Farmácia Hospitalar

1. Introdução

A Farmácia Hospitalar é um órgão assistencial, com capacidade técnico-científica e administrativa, responsável por desenvolver atividades ligadas à produção, armazenamento, controlo, dispensa e distribuição de medicamentos e matérias-primas no meio hospitalar. É também responsável pela orientação de pacientes em regime interno e de ambulatório, sempre com o objetivo de maximizar a eficácia da terapêutica e racionalizar os custos.

Desde o aparecimento da Farmácia Hospitalar até à atualidade, os Serviços Farmacêuticos têm-se transformado cada vez mais numa estrutura importante dos cuidados de saúde dispensados em meio hospitalar, assumindo responsabilidades desde a garantia de uma terapêutica com qualidade e segurança a todos os doentes do hospital, até à promoção de ensaios clínicos e formação de farmacêuticos e outros profissionais de saúde, propiciando assim um vasto campo de aperfeiçoamento profissional.

Os serviços farmacêuticos são departamentos hospitalares com autonomia científica e técnica, mas orientados pelos órgãos de administração; no entanto, a chefia é obrigatoriamente da responsabilidade do farmacêutico. Apesar desta atividade farmacêutica se encontrar devidamente regulamentada em diário da república, a maioria das administrações hospitalares nacionais ainda não se centralizou numa política de modernização e reestruturação dos mesmos a fim de conseguir uma correta adaptação às necessidades do presente. [1]

O estágio do qual resultou este relatório foi realizado na Unidade Local de Saúde da Guarda (ULS), entre o dia vinte e sete de Fevereiro e vinte e sete de Abril de dois mil e doze. Neste documento pretende-se abordar os conhecimentos técnico-científicos adquiridos e as tarefas desempenhadas durante o estágio.

1.1. A Unidade Local de Saúde da Guarda

A Unidade Local de Saúde da Guarda tem a seu cargo a responsabilidade de prestar cuidados de saúde de qualidade a todos os utentes, com residência no distrito da Guarda. O sucesso do seu trabalho depende diretamente da coordenação entre todas as instituições que a integram. A unidade é composta por dois hospitais, um centro de diagnóstico pneumológico e doze centros de saúde. O presente estágio decorreu no Hospital Sousa Martins na Guarda que, dada a sua dimensão, assume um papel essencial na coordenação de toda a Unidade.

Os serviços Farmacêuticos do Hospital Sousa Martins possuem um papel ativo na garantia do bom funcionamento de todos os serviços no distrito, uma vez que têm a responsabilidade de gerir as dispensas de medicação para todos os Centros de Saúde da região, sem comprometer o funcionamento global da unidade e para que o medicamento se encontre disponível sempre que necessário.

1.2. Serviços Farmacêuticos da Unidade Local de Saúde da Guarda

Os serviços farmacêuticos da ULS-Guarda encontram-se organizados segundo as normas descritas no manual de farmácia hospitalar, apesar de não possuírem algumas das áreas referenciadas [1,2]. Conforme pode ser verificado no anexo 1, os serviços farmacêuticos possuem uma zona de receção de encomendas em proximidade com o exterior e perto dos dois armazéns de que dispõem, estando um reservado para soluções de grande volume e desinfetantes e outro exclusivo para medicamentos e dispositivos médicos. Próximo do armazém dos medicamentos encontra-se a sala de dose unitária onde os Técnicos de Diagnóstico e Terapêutica distribuem a medicação para todos os doentes em regime de internamento e fornecem os medicamentos e produtos requeridos pelos serviços. Os SF dispõem ainda de uma área administrativa e secretariado, com os respetivos gabinetes, que trabalha em conjunto com os farmacêuticos, o aprovisionamento e a administração. A fim de assegurar a qualidade dos serviços prestados, os SF possuem uma sala de ambulatório bem localizada e de fácil acesso para os utentes, que funciona também como sala de trabalho dos farmacêuticos garantindo um atendimento eficiente do utente. Por fim, encontra-se ainda o laboratório de preparação de manipulados, onde se armazenam as matérias-primas e se produzem todas as preparações galénicas necessárias, a biblioteca e arquivo, onde se encontram armazenados todos os registos de dispensa e toda a bibliografia disponível para consulta e o gabinete do diretor do serviço.

Para o bom funcionamento do serviço são ainda necessários recursos humanos qualificados, dedicados e responsáveis. Aquando a realização deste estágio, o trabalho de todo o serviço era da responsabilidade de um farmacêutico diretor do serviço, seis farmacêuticos hospitalares, quatro técnicos de diagnóstico e terapêutica, três administrativos e dois auxiliares. [1,2]

2. Organização e Gestão dos Serviços Farmacêuticos

Os serviços farmacêuticos são um departamento com autonomia técnica, no entanto são orientados pelos órgãos administrativos da instituição aos quais têm de responder perante os resultados do seu exercício profissional. Estes serviços encontram-se geralmente enquadrados

numa estrutura complexa e em constante alteração, embora a sua organização varie amplamente conforme a política da instituição na qual estão inseridos.

Da organização e gestão dos serviços farmacêuticos depende a prestação correta de todos os cuidados farmacêuticos desenvolvidos na instituição, sendo estes imprescindíveis para o fornecimento de serviços hospitalares de qualidade.

2.1. Aprovisionamento

De modo a conseguir fornecer a devida assistência a todos os utentes do hospital, é necessário implementar um sistema de gestão de *stocks* capaz de garantir a dispensa de todos os medicamentos, dispositivos médicos e outros produtos farmacêuticos sem interrupções nem atrasos. O farmacêutico hospitalar tem o dever de colocar à disposição dos doentes medicamentos de qualidade com o menor custo possível e dentro do espaço de tempo compatível com a eficácia do tratamento instaurado. Este dever é conseguido não só, através de uma boa articulação entre os serviços farmacêuticos e os restantes serviços hospitalares mas, também através de uma boa coordenação interna nos serviços farmacêuticos entre os farmacêuticos e técnicos responsáveis pela distribuição. Na Unidade Local de Saúde da Guarda, grande parte de toda esta gestão é conseguida com o *software* ALERT®, desenhado para facilitar a maioria dos procedimentos realizados na instituição, incluindo todo o aprovisionamento desenvolvido nos serviços farmacêuticos.

Ao farmacêutico hospitalar compete a responsabilidade técnica de todas as aquisições de medicamentos e produtos farmacêuticos, bem como a sua correta conservação a fim de manter a qualidade dos mesmos. Em conjunto com os restantes membros do serviço de aprovisionamento, o farmacêutico é responsável por fazer estimativas de consumo e seleccionar os produtos a adquirir, podendo pedir parecer técnico a outros profissionais de saúde sempre que achar necessário. Para além disso, o farmacêutico tem ainda o dever de colaborar na política de utilização de medicamentos da Instituição, em articulação com a Comissão de Farmácia e Terapêutica. A comissão de farmácia e terapêutica da instituição reúne-se duas a três vezes por ano, com o intuito de analisar o circuito do medicamento no seu todo e também apreciar novas propostas para introdução de medicamentos no formulário da instituição, baseando-se em critérios técnico-científicos, legais e comerciais.

Como em qualquer outro serviço ou trabalho, para conseguir qualidade no cumprimento das funções desenvolvidas e nos cuidados prestados, é essencial planificar todos os procedimentos e identificar todas as variáveis das quais, as funções desempenhadas possam depender. Para que não haja quebras na distribuição, é de extrema importância definir um ponto de encomenda para todos os produtos utilizados no serviço. Este ponto de encomenda corresponde à quantidade mínima de um determinado produto a partir da qual é necessário realizar uma encomenda. Qualquer farmacêutico ou técnico, após observar que um

determinado *stock* se encontra abaixo do ponto de encomenda, tem a obrigação de anotar o produto em questão na lista de encomendas a realizar. Na Unidade Local de Saúde da Guarda são considerados, no cálculo do ponto de encomenda, diversos fatores tais como, o número de unidades fornecidas por encomenda, o preço unitário do produto em questão, as doses diárias segundo os protocolos terapêuticos utilizados na instituição, os grupos de diagnósticos homogêneos em funcionamento na instituição e o respetivo peso individual de cada um, os dados estatísticos relativos ao movimento de doentes em anos anteriores e as existências atuais de todos os produtos utilizados. Para além de todos estes fatores, é ainda importante salientar a análise de consumos ABC, como uma ferramenta essencial para gerir os produtos médicos mais utilizados e mais essenciais aos serviços, dos produtos esporádicos, sazonais e utilizados em condições mais específicas e medicamentos órfãos. O *software* ALERT® possui a capacidade de gerar automaticamente uma lista com todos os produtos consumidos pelos serviços durante um período de tempo específico, ordenando conforme o consumo unitário dos mesmos. Com esta lista, o farmacêutico possui mais um dado capaz de o auxiliar no estabelecimento dos pontos de encomenda dos produtos, conseguindo mais facilmente evitar quebras na dispensa ao doente, bem como excesso de *stock*.

O farmacêutico responsável pelas compras e encomendas encontra-se ainda encarregue de verificar, diariamente, quais os produtos em falta, elaborando de seguida, uma nota de encomenda a reencaminhar para os serviços administrativos, onde posteriormente terá início o processo de compra. As notas de encomenda são realizadas diariamente, dada a existência de múltiplos laboratórios fornecedores e a constante chegada de novas encomendas ao serviço.

2.2. Sistemas e Critérios de Aquisição

A seleção de medicamentos para o hospital é baseada no Formulário Hospitalar Nacional de Medicamentos e nas necessidades terapêuticas dos utentes da instituição - Adenda Interna. Pretende-se que seja um processo contínuo e multidisciplinar, de modo a assegurar a aquisição dos medicamentos mais adequados às necessidades farmacoterapêuticas da instituição em questão, tendo sempre como base a avaliação de características como a qualidade, a segurança, a eficácia a eficiência e os custos relativos a cada produto.

A aquisição de todos os medicamentos, dispositivos médicos e outros produtos farmacêuticos, deve respeitar sempre a legislação portuguesa que rege todas as compras por parte do setor público. Estas compras encontram-se regulamentadas pelo Decreto-Lei nº 18/2008 de 29 [3] de Janeiro no qual, foi aprovado o código dos contratos públicos. A lei engloba vários tipos de procedimentos, desde diálogo concorrencial, ajuste direto e negociação, embora os mais utilizados na Unidade Local de Saúde da Guarda sejam o concurso público, consulta direta e estudo de mercado.

As compras a nível hospitalar são facilitadas pela existência de catálogos de compras, como seja, o Catálogo de Aprovisionamento Público de Saúde da Administração Central do Sistema de Saúde, o Catálogo do Instituto de Gestão Informática e Financeira da Saúde, entre outros. Quando uma compra é realizada por concurso, a nota de encomenda pode ser realizada automaticamente após término do concurso, sendo esta validada posteriormente pelo farmacêutico e enviada ao fornecedor a fim de terminar o processo de compra. Por sua vez, caso a compra não seja efetuada por concurso, é necessário verificar se o produto em questão se encontra no Catálogo da Administração Central de Saúde. Caso se encontre no catálogo, é realizada uma consulta direta aos fornecedores e posteriormente são analisadas as propostas recebidas. Após a seleção e autorização, é elaborada a respetiva nota de encomenda, sendo esta posteriormente validada pelo farmacêutico, como no caso anterior. Se o produto não se encontrar inserido em nenhum dos catálogos usados na instituição, é necessária a realização de uma consulta ao mercado e verificar quais os fornecedores disponíveis. Como na situação anterior, as propostas são analisadas, sendo posteriormente requerida autorização para efetuar a nota de encomenda que é validada pelo farmacêutico em última instância.

Na eventualidade de uma rutura de *stock* de um determinado produto, é importante assegurar um maior controlo de toda a quantidade existente e garantir que o seu uso só se verificará quando for estritamente necessário. Quando um determinado laboratório se encontra com problemas no fornecimento, toda a medicação em questão é retirada dos *stocks* de enfermaria e reunida novamente nos serviços farmacêuticos a fim de garantir o máximo de controlo. Posteriormente, é estudada a possibilidade de substituir o medicamento por outros dentro do mesmo grupo homogéneo, na tentativa de reduzir o consumo. Como o medicamento se encontra somente nos serviços farmacêuticos e, sendo necessário o seu uso, estes têm de ser obrigatoriamente contactados a fim de proceder à dispensa da medicação. Deste modo, o farmacêutico consegue imediatamente apresentar a sua opinião e sugerir o uso de outro medicamento dentro do mesmo grupo homogéneo, avaliando todas as situações com rigor e dispensando o medicamento somente quando outra alternativa terapêutica não é viável.

Alguns medicamentos necessários ao hospital requerem regime de aquisição especial, conforme a lei em vigor, relativa ao Decreto-Lei nº 176/2006 de 30 de Agosto alusivo ao Estatuto do Medicamento e à Deliberação 105/CA/2007 [4] que rege os princípios para a Autorização de Utilização Especial (AUE). São consideradas aquisições especiais, todas as compras de medicamentos e produtos pertencentes aos grupos dos estupefacientes, psicotrópicos e benzodiazepinas, hemoderivados e gases medicinais, bem como medicamentos em regime de aquisição excecional.

Para aquisição de todos os medicamentos pertencentes aos grupos dos psicotrópicos, benzodiazepinas e estupefacientes é necessário preencher devidamente o anexo VII da

portaria 981/98 de 8 de Junho [5], que deve forçosamente de acompanhar a nota de encomenda, devendo o duplicado deste documento permanecer arquivado nos Serviços Farmacêuticos. A receção destes medicamentos é feita obrigatoriamente por um farmacêutico, sendo no mesmo instante, confirmada a quantidade recebida a fim de assegurar que toda a encomenda foi entregue pelo distribuidor e não se verificaram possíveis desvios. Estes medicamentos são posteriormente colocados em local seguro, idealmente num cofre de acesso controlado. Na ULS-Guarda as benzodiazepinas e os estupefacientes e psicotrópicos eram armazenados em cofres distintos, a fim de facilitar a distribuição e por motivos logísticos.

A introdução de uma autorização de utilização especial, a nível hospitalar, pode ser facilitada caso o medicamento se encontre no Formulário Hospitalar Nacional de Medicamentos. Nesta situação, a instituição deve pedir ao laboratório responsável toda a documentação relativa ao medicamento e, reencaminhar a mesma para a direção clínica e, conseqüentemente para o INFARMED (Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento) . Caso o INFARMED aprove o pedido, a informação deve ser transmitida ao laboratório fornecedor para ser possível utilizar o produto em território nacional. Por sua vez, caso o medicamento não venha descrito no Formulário Hospitalar Nacional de Medicamentos, é necessário reger o processo segundo os princípios descritos no artigo 16º da Deliberação Europeia 105/CA/2007 [4]. Se o medicamento em questão possuir benefício clínico reconhecido, é somente necessária uma justificação clínica que contenha além, das indicações terapêuticas para o medicamento, a respetiva posologia, as estratégias terapêuticas para a situação clínica em causa, a listagem com as terapêuticas existentes no mercado e os motivos pelos quais não são adequadas no caso em questão bem como toda a fundamentação científica da utilização do fármaco. Por sua vez, se o medicamento ainda se encontrar com provas preliminares de benefício clínico e ao abrigo de uma Autorização de Introdução no Mercado, o pedido deverá conter uma justificação clínica semelhante à descrita anteriormente, mas também fazer-se acompanhar de uma justificação da impossibilidade de inclusão em ensaios clínicos, de uma descrição pormenorizada da terapêutica a instaurar aos doentes, de uma declaração comprovativa em como o medicamento vai ser administrado nas condições de segurança exigidas e ainda de uma declaração de consentimento informado por parte dos doentes, conforme o estabelecido nos artigos 6º e 8º do Decreto de Lei nº. 46/2004 de 19 de Agosto [6].

2.3. Receção e Conferência de Produtos Adquiridos

Os serviços farmacêuticos da Unidade Local de Saúde da Guarda dispõem de uma área, na proximidade do armazém, onde decorre a receção de todos os produtos adquiridos. Esta receção é realizada por um Técnico de Farmácia que possui ainda a responsabilidade de conferir todas as entregas e verificar se a quantidade encomendada é a mesma que a quantidade recebida [1,2]. Para além disso, na receção de matérias-primas é essencial o

fornecimento do boletim de análises do composto, no ato de entrega, não devendo mesmo serem aceites sem o respetivo documento, uma vez que, não podem ser utilizadas na preparação de especialidades farmacêuticas, sem o mesmo [2]. Os medicamentos termolábeis devem ser transportados em circuito de frio, com controlo de temperatura durante o transporte. O técnico deve pedir os dados relativos ao controlo de temperatura antes de rececionar a encomenda, tendo sempre o cuidado de rejeitar os produtos caso eles tenham sido sujeitos a temperaturas fora do intervalo recomendado, para o produto em questão. Os produtos citotóxicos, estupefacientes, benzodiazepinas, hemoderivados e inflamáveis devem ser imediatamente armazenados nos locais específicos do armazém. Todos os medicamentos sujeitos a controlo especial são obrigatoriamente rececionados por um farmacêutico, sendo da responsabilidade do mesmo conferir imediatamente se a quantidade encomendada é a mesma que a recebida, a fim de detetar possíveis extravios.

Os produtos entram no *stock* do Alert® assim que o Técnico de Farmácia realiza a leitura ótica do mesmo, sendo extremamente importante que, os medicamentos sejam arrumados nos respetivos locais, o mais rapidamente possível.

2.4. Armazenamento

Conforme referido anteriormente, os SF possuem duas áreas principais para o armazenamento de todos os produtos da sua responsabilidade: um armazém para a grande distribuição, que engloba todos os soros, desinfetantes e água destilada e, outro armazém para medicamentos. Este último está organizado por áreas, encontrando-se os medicamentos de uso comum, dispostos por ordem alfabética do seu nome genérico e ocupando a maior parte do espaço disponível. Aí, existe também uma secção para medicamentos do serviço de psiquiatria, uma secção com antídotos, uma secção com todas as dietas disponibilizadas nos serviços, uma secção com alimentação parentérica, uma secção de grande rotação para os medicamentos mais utilizados no hospital, como heparinas e alguns antibióticos de primeira linha, uma secção para pensos terapêuticos e por fim uma secção para anticoncepcionais. Encontra-se ainda na mesma divisão, a arca de armazenamento de plasma, um frigorífico para citotóxicos, um frigorífico para hemoderivados, vários frigoríficos para vacinas, um frigorífico para medicamentos de frio, um armário com medicamentos exclusivos de ambulatório e um armário somente para medicamentos em ensaios clínicos. Os medicamentos citotóxicos que não necessitam de conservação a frio são armazenados num armário na sala de dose unitária, acontecendo o mesmo com medicamentos importados sujeitos a AUE. Por fim, os SF dispõem ainda de um cofre para armazenamento de estupefacientes e antipsicóticos e um cofre para armazenamento de benzodiazepinas. [1,2]

3. Distribuição

A Distribuição de Medicamentos é a função da Farmácia Hospitalar responsável por tornar disponível o medicamento correto, na quantidade e qualidade certas, para cumprimento da prescrição médica proposta a todos os doentes do hospital, mediante o uso de metodologias e circuitos próprios. Esta função engloba vários tipos de distribuição que serão descritos mais pormenorizadamente nas secções seguintes.

3.1. Distribuição Clássica

Conforme o próprio nome indica, este modelo de distribuição foi o primeiro sistema de distribuição de medicamentos, sendo ainda utilizado a nível hospitalar como meio de dispensa de todos os produtos que não necessitem de ser regidos por um modelo de distribuição especial, em serviços que não se encontrem em dose unitária e nos cuidados primários. Segundo esta distribuição, cada enfermaria dispõe de um *stock* de medicamentos e outros produtos farmacêuticos que é controlado pelos enfermeiros do serviço.

3.2. Reposição por *stocks* nivelados

Segundo este modelo de distribuição, cada enfermaria possui um *stock* de medicamentos fixo, previamente acordado entre os clínicos, farmacêutico responsável pelo serviço e o enfermeiro chefe tendo por base as patologias tratadas e os consumos habituais. Este *stock* é repostado semanalmente, devendo a quantidade ser suficiente para assegurar todo o período até à reposição seguinte.

Os serviços de pediatria, urgência, ginecologia, obstetrícia e oftalmologia funcionam com base neste regime de distribuição.

3.3. Distribuição individual e em dose unitária

Este tipo de distribuição surgiu com o principal objetivo de minimizar a distância entre os serviços farmacêuticos e os doentes internados no hospital. Estes procedimentos tornaram possível aumentar a segurança no circuito do medicamento, conhecer pormenorizadamente o perfil farmacoterapêutico dos doentes, diminuir o risco de interações entre fármacos e racionalizar os custos e benefícios da terapêutica, diminuindo os desperdícios.

Segundo este modelo de distribuição, após prescrição de medicamentos por parte do médico, o esquema terapêutico deve ser simultaneamente transmitido aos serviços farmacêuticos e aos enfermeiros do respetivo serviço. Especificamente, na ULS-Guarda, a prescrição é elaborada em folhas de terapêutica manuais com duplicado, permanecendo o original nas

enfermarias enquanto os duplicados são recolhidos para os serviços farmacêuticos. Nas enfermarias, os enfermeiros devem transcrever a terapêutica prescrita para o CARDEX, ou registo de terapêutica, onde assinalam todas as administrações. Ao mesmo tempo, nos serviços farmacêuticos é feita a transcrição da terapêutica para o perfil farmacoterapêutico individualizado, sendo estudada a terapêutica prescrita, verificando possíveis interações e desvios aos protocolos utilizados na instituição. Após finalização do perfil farmacoterapêutico de todos os doentes do mesmo serviço, a informação é transmitida aos técnicos de diagnóstico e terapêutica que, posteriormente, preparam todas as doses a administrar na enfermaria, colocando toda a medicação em cassetes individuais que serão, de seguida, transportadas para os serviços. No entanto, nenhum carro de serviço com a terapêutica individualizada sai para as enfermarias, sem antes ser conferido por um farmacêutico e um técnico que não prepararam nem os perfis nem a dose unitária relativa a esse mesmo serviço. Estes dois profissionais possuem a responsabilidade de conferir todas as cassetes individuais do serviço com o objetivo de detetarem possíveis erros de transcrição e distribuição.

Com o propósito de aumentar a segurança e detetar potenciais erros de administração, o CARDEX preenchido na enfermaria e o perfil farmacoterapêutico elaborado nos serviços farmacêuticos são comparados diariamente.

Na ULS-Guarda os serviços de Medicina, Cirurgia, Ortopedia, Pneumologia e Unidade de Cuidados Intensivos funcionam atualmente em regime de dose unitária. A prescrição eletrónica ainda só se encontra em funcionamento na Unidade de Cuidados Intensivos Polivalente, no entanto trata-se de uma ferramenta de um elevado peso na diminuição do erro, associado à transcrição que deve gradualmente ser aplicada aos restantes serviços.

3.4. Distribuição a Doentes em Ambulatório

A distribuição de medicamentos a doentes externos em regime de ambulatório surgiu da necessidade de controlar permanentemente determinadas patologias crónicas, de modo a conseguir realizar uma vigilância terapêutica mais próxima do doente. Este tipo de distribuição pode ainda auxiliar a dispensa de medicamentos em situações de emergência quando esta função não pode ser assegurada pelas farmácias comunitárias. Com o ambulatório é possível promover uma melhor adesão à terapêutica, através da prestação de aconselhamento de qualidade e identificação e controle de potenciais interações e reações adversas, que possam prejudicar o bem-estar do utente.

Neste regime de distribuição o farmacêutico deve ser responsável pela distribuição, informação e controlo de todos os medicamentos dispensados ao doente, bem como a elaboração de todos os procedimentos de dispensa e organização de receituário de acordo com a legislação em vigor e as diretivas administrativas que regem os medicamentos cedidos no ambulatório na instituição.

O ambulatório de uma farmácia hospitalar deve estar integrado numa área com boa localização e capaz de permitir um atendimento confidencial e de qualidade. Deve ter à disposição armários necessários para o armazenamento da medicação e de material para acondicionamento dos mesmos. Idealmente, seria também aconselhável a existência de uma sala de espera nas proximidades ou na área do ambulatório. A sala de trabalho deve ser bem iluminada, com temperatura e humidade adequadas à correta conservação dos medicamentos. Para além disso, deve ainda dispor de um sistema informático apropriado que permita manter atualizada a informação relativa aos doentes externos.

As terapêuticas injetáveis são fornecidas aos doentes externos de modo a assegurarem o tratamento durante um período mínimo de 30 dias, uma vez que a maioria destas preparações, deve ser conservada no frio para que a conservação do medicamento possa ser feita nas condições ideais, durante o máximo de tempo possível. No caso das terapêuticas orais, pode ser dispensado tratamento para mais de 30 dias, no entanto, a quantidade cedida pode variar conforme a disponibilidade de *stock* do medicamento ou, ser ajustada até à data da próxima consulta.

Anualmente, é afixada em Diário da República, a lista de medicamentos comparticipados, sendo também definidos os grupos e subgrupos farmacoterapêuticos que integram e os respetivos escalões de comparticipação. Estes medicamentos destinam-se ao tratamento de doenças oncológicas, artrite reumatoide e artrite psoriática, insuficiência renal crónica, esclerose lateral amiotrófica e esclerose múltipla, hepatite C e doença de Crohn ativa. Existem ainda medicamentos cedidos em ambulatório que não são abrangidos pela legislação, uma vez que são destinados a doentes com patologias crónicas totalmente comparticipáveis mas, têm que ser prescritos na consulta externa do hospital. Estes podem ser dispensados gratuitamente pelos serviços farmacêuticos desde que a sua cedência seja autorizada pela administração hospitalar. São exemplos destas patologias a hepatite B e a hemofilia.

A maioria dos medicamentos distribuídos em ambulatório não acarretam custos para o doente. No entanto, estes podem ser vendidos mediante situações excecionais como a ausência de farmácia comunitária na localidade ou quando estas pertencem à Santa Casa da Misericórdia, ainda em situação de emergência individual e coletiva ou, caso não exista no mercado o medicamento necessário; neste caso é essencial que a receita apresente prova de rotura através do carimbo da farmácia comunitária. O preço de venda de medicamentos em ambulatório não se encontra regulamentando, devendo ser pelo menos igual ao custo de aquisição acarretado pela instituição.

A dispensa dos medicamentos é sempre assegurada por um farmacêutico, sendo o médico obrigado a prescrever por Designação Comum Internacional (DCI), informando relativamente à forma farmacêutica, à posologia e duração do tratamento. A receita deve conter ainda a vinheta do médico prescriptor, a vinheta da consulta e a etiqueta com os dados identificativos

do doente. O farmacêutico tem o dever de avaliar os aspetos farmacêuticos e farmacológicos da terapêutica, as interações medicamentosas e contra indicações dos medicamentos prescritos, contactando o médico sempre que seja necessário esclarecer qualquer dúvida. Os medicamentos dispensados devem ser corretamente embalados e identificados, confirmando sempre se é dispensado o medicamento certo e se este se encontra dentro do prazo de validade. O farmacêutico deve também participar nos programas de monitorização promovidos pelo Sistema Nacional de Farmacovigilância e reportar qualquer reação adversa que possa surgir da utilização dos medicamentos dispensados.

3.5. Medicamentos Sujeitos a Controlo Especial

Com o objetivo de diminuir a criminalidade associada ao tráfico de estupefacientes, bem como controlar e fiscalizar todas as substâncias usadas nos serviços de saúde que possam contribuir para o aumento destas atividades ilícitas, foram adotadas medidas capazes de reforçar e complementar as previstas na convenção de estupefacientes de 1961. Deste modo, todos os medicamentos que contenham princípios ativos referidos em Diário da República são sujeitos a controlo especial quando usados em meio hospitalar.

Segundo a legislação atual, estes medicamentos só podem ser dispensados mediante correto preenchimento do anexo X da portaria 981/98 de 8 de Junho [5]. Eles são exclusivamente cedidos a enfermeiros, sendo o referido anexo preenchido, no ato da dispensa com o registo do farmacêutico que o distribui e do enfermeiro que o recebe e, devidamente validado com as respetivas assinaturas, bem como a quantidade entregue. Com este procedimento são criados dois documentos de registo, permanecendo o duplicado nos serviços Farmacêuticos, enquanto o original deve ser levado pelo enfermeiro que requereu a medicação. Por fim, o enfermeiro deve preencher o original com os nomes dos doentes aos quais foram administrados os medicamentos, tal como as quebras e medicamentos que não foram utilizados. Este documento tem de vir assinado pela chefia clínica do serviço em causa. O original é devolvido aos serviços farmacêuticos e arquivado junto ao duplicado, durante um período mínimo de cinco anos.

São ainda sujeitos a controlo especial todos os produtos hemoderivados utilizados em meio hospital, sendo semelhante a sua distribuição. A dispensa e aquisição destes produtos são regidas pelo Despacho n.º Despacho conjunto n.º 1051/2000, de 14 de Setembro [7]. É de extrema importância uniformizar e organizar os registos hospitalares que reúnam os dados referentes a lotes, fabricantes, distribuidores e doentes envolvidos, de modo a que seja possível estabelecer eventuais relações de causalidade entre a administração do hemoderivado e o aparecimento de uma doença infecciosa transmitida por derivados do plasma e sangue. Por esse mesmo motivo, a lei obriga a que os mesmos registos sejam arquivados durante um período mínimo de vinte anos.

No ato da dispensa de um hemoderivado, deve ser devidamente preenchido o anexo do Despacho conjunto n.º 1051/2000, de 14 de Setembro [7], referente ao registo de requisição, dispensa e administração. As folhas devem ser preenchidas em duplicado a fim de, na altura da dispensa, ser fornecido o duplicado juntamente com a medicação e o original nos registos dos Serviços Farmacêuticos. Após a administração o duplicado é devolvido devendo ser armazenado juntamente com o original respeitando a legislação em vigor.

Por fim, especificamente no caso do plasma, é necessário obter primeiramente o grupo sanguíneo do doente recetor, de tal modo que todo procedimento é realizado em conjunto com o laboratório de análises do hospital. Deve ser pedida uma análise de grupo sanguíneo (tipagem) antes de requerer o plasma, transmitindo-se o resultado aos serviços farmacêuticos a fim de descongelar o mesmo. O plasma encontra-se conservado a uma temperatura de -40°C sendo descongelado em banho-maria a 37,5°C durante 20 minutos. Após o descongelamento, este deve ser utilizado num prazo máximo de doze horas. Por fim o plasma é entregue nos serviços clínicos por um farmacêutico e assinado o registo conjuntamente com o enfermeiro.

A eliminação dos resíduos hospitalares provenientes de medicamentos sujeitos a controlo especial é efetuada numa incineradora própria para o efeito. A eliminação é obrigatoriamente presencial, de tal modo que é necessária a comparência de um farmacêutico desde o início até ao fim do processo para se garantir a correta eliminação dos resíduos. Quando se reúne uma quantidade justificativa de resíduos, são verificadas as quantidades unitárias dos medicamentos a incinerar, sendo posteriormente pedida permissão aos serviços administrativos para se efetuar o transporte até ao Serviço Comum de Utilização Hospitalar em Lisboa, local onde são eliminados. Após receção no Serviço Comum de Utilização Hospitalar os resíduos podem ser novamente conferidos a fim de garantir que a quantidade em registo e a quantidade eliminada é a mesma. Se tudo estiver conforme o requerido, a eliminação é realizada, sendo entregue ao farmacêutico uma declaração comprovativa da eliminação das substâncias, que deve ser arquivada pelos Serviços Farmacêuticos.

4. Produção e Controlo

Com a evolução dos Cuidados de Saúde tornou-se cada vez mais importante assegurar que o cuidado farmacêutico seja mais dirigido ao doente, podendo este implicar uma adaptação da terapêutica farmacológica.

O volume de medicamentos produzidos a nível hospitalar tem diminuído acentuadamente nas últimas décadas, visto que cada vez mais, a indústria desempenha uma ocupação quase plena da área produtiva. Apesar disso, nem sempre esta indústria dá resposta à necessidade de adaptação individualizada da terapêutica ao doente, pelo que a Farmácia Hospitalar tem a

necessidade de integrar uma área de produção e controlo. Assim, é necessário que os serviços farmacêuticos realizem preparações farmacêuticas para serem utilizadas no tratamento de doentes específicos e preparações em larga escala, como lotes destinados a potenciais doentes. Embora tenham sido verificadas alterações nos processos de fabrico, tem-se mantido a exigência de produzir preparações seguras e eficazes, fato somente conseguido com a utilização de equipamentos e procedimentos adequados. Deste modo, dependendo do tipo de preparação em questão, será necessário reunir as condições necessárias a fim de garantir a qualidade do produto final.

A qualidade pode ser definida como um conjunto de ações organizadas que assegurem que os medicamentos possuam a qualidade exigida para o fim a que se destinam. A garantia da qualidade não abrange somente as boas práticas de fabrico mas também, um leque de procedimentos prévios e precedentes à produção que, determinam o conceito integrado de Garantia de Qualidade.

4.1. Preparação de Formas Farmacêuticas Não Estéreis

Para um melhor ajuste da dose ao paciente, pode ser necessário proceder à manipulação de medicamentos existentes no mercado a fim de fraccionar as doses a administrar ou facilitar a administração ao doente.

O procedimento de preparação é registado em fichas de preparação idênticas às disponíveis no formulário nacional galénico [8,9] nas quais é registado o nome do preparado e do doente, os procedimentos, a quantidade de matérias-primas utilizadas e respetivos lotes, os ensaios de estabilidade e a avaliação do produto final, a data de preparação e o prazo de validade calculado, finalizando com as rubricas do operador e do supervisor. Este processo é obrigatoriamente orientado por um farmacêutico embora o preparado possa ser produzido por um técnico auxiliar de terapêutica. Por fim, o medicamento deve ser devidamente rotulado antes de ser cedido ao doente ou ao serviço e, estar bem visível o nome da preparação, o nome do doente, o prazo de validade, a posologia indicado pelo clínico e outras informações consideradas importantes para o seu uso. [8,9]

A secção de produção é responsável por manter o registo de todas as matérias-primas utilizadas na preparação de produtos medicamentosos. Devem ser arquivados em *dossier* todos os boletins de análise das matérias-primas utilizadas, sendo também imprescindível tomar nota do grossista que forneceu a matéria-prima com o respetivo número de nota de encomenda. [8]

Durante o decorrer do estágio foram preparadas diversas formas farmacêuticas não estéreis, desde veículos para a incorporação de matérias-primas até medicamentos destinados ao consumo final por parte dos utentes. Foram preparados alguns lotes de veículos como o

xarope comum. Prepararam-se inúmeros xaropes e soluções para a administração pediátrica, como a solução de Shoull, soluções de cafeína, xaropes de espironolactona e de trimetoprim. Ainda para administração pediátrica, foram também preparados alguns lotes de papéis com doses fraccionadas de ácido acetilsalicílico e nitrofurantoína.

4.2. Reembalagem

Os procedimentos de reembalagem têm permitido cada vez mais adaptar a oferta da indústria farmacêutica às necessidades hospitalares, contudo nem sempre a indústria farmacêutica apresenta o fármaco em blister completamente identificado. Juntamente com um regime de dose unitária, estes processos tornaram possível a divisão de comprimidos e conciliar uma administração da dose certa ao doente com o menor custo possível. Um medicamento pode ser reembalado quando é possível o seu fracionamento em metades e/ou quartos e quando é possível garantir que cada porção fragmentada possui a mesma quantidade de princípio ativo.

Ao ser reembalado, o prazo de validade de um medicamento é reduzido até um período máximo de seis meses. No entanto, alguns comprimidos possuem propriedades físico-químicas que permitem o seu armazenamento em frascos, podendo neste caso específico, o prazo de validade ser mantido igual ao indicado pelo fabricante.

5. Informação e Atividades de Farmácia Clínica

A atividade de informação é uma tarefa complexa que exige uma seleção e avaliação de toda a informação disponível. Para além disso, é frequentemente necessário emitir uma opinião crítica e resolver questões relacionadas com situações clínicas de doentes concretos.

Primeiramente, é importante distinguir um Centro de Informação do Medicamento (CIM) de um Serviço de Informação do Medicamento (SIM). Um SIM é um local que reúne, analisa, avalia e fornece informações sobre medicamentos, com o objetivo de promover o seu uso racional e esclarecer potenciais dúvidas que possam surgir acerca da sua aplicação. Por sua vez, um CIM possui igualmente a função de informar profissionais de saúde em prol do uso racional do medicamento. No entanto, o seu conhecimento deve ser baseado num maior número de fontes bibliográficas, possuindo também a responsabilidade de elaborar material informativo sobre medicamentos e colaborar em atividades de formação. Ambos os serviços surgem da necessidade de equacionar a grande quantidade de informação disponível sobre medicamentos e a aplicação destes conhecimentos à prática clínica, sendo destinados a profissionais da área de saúde que desejem informações credíveis sobre o uso racional e correto dos medicamentos.[2]

A informação existente num CIM ou num SIM deve ser de fácil acesso e armazenada segundo um sistema de classificação. É imprescindível que os livros e revistas estejam arrumados por matérias e ordem alfabética, ao passo que os artigos, revisões e informação proveniente de laboratórios podem ser guardados em arquivadores após correta classificação. Idealmente, todas as fontes de informação devem estar combinadas num sistema singular, que deve cumprir todos os seguintes requisitos:

- **Simplicidade**, de tal modo que a classificação de um novo artigo ou folheto informativo possa ser executada com rapidez e com o mínimo de trabalho burocrático. Este processo pode ser manual ou informatizado mas sempre fácil e rápido de realizar.
- **Adaptabilidade**, tornando possível abrir uma nova secção sempre que seja necessário.
- **Expansibilidade**, podendo-se aumentar o espaço de uma secção sem que seja necessário diminuir outras.
- **Eliminável**, ao ponto de ser possível retirar material antigo que deixou de ser útil sem comprometer a restante informação.

Cada vez mais, a investigação e o desenvolvimento de novos medicamentos e novas tecnologias de produção, bem como a crescente competitividade da indústria farmacêutica e a conseqüente variedade de fontes de informação dificultam a seleção e obtenção de fontes adequadas e independentes. Os serviços farmacêuticos são constantemente requisitados para colaborar na prestação de informação quer a comissões técnicas ou grupos de trabalho, quer individualmente, a profissionais de saúde e utentes em situações clínicas concretas.

Para além de fornecerem informação passiva, ou seja quando requisitada por um consultante a fim de resolver qualquer dúvida, os serviços farmacêuticos têm ainda a obrigação de fornecer informação ativa, sempre que possível, a fim de garantir o uso correto e racional do medicamento.

6. Farmacovigilância

A introdução de uma nova molécula no mercado é inerente a uma série de ensaios prévios, capazes de fornecer informações relevantes acerca do perfil farmacológico e toxicológico, embora nem sempre todos os aspetos da sua atividade sejam detetados. Para além disso, durante os ensaios clínicos a população alvo pode não apresentar as mesmas características da população geral, à qual o medicamento vai ser aplicado. Neste ponto, surge a necessidade de estabelecer um programa de farmacovigilância adequado, na quarta fase do ensaio clínico que se inicia com a comercialização do produto de tal modo que, todo o profissional de saúde

possua o dever de relatar, ao Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento qualquer efeito inesperado causado pelo medicamento.

O meio hospitalar surge como uma excelente oportunidade de farmacovigilância, quer para o profissional farmacêutico, quer para os restantes profissionais de saúde que devem igualmente contribuir para este programa, quer ainda para o doente. Quando um utente se encontra internado num hospital, é possível conseguir um maior controlo da medicação que lhe é administrada, sendo conseqüentemente mais fácil relacionar diversos aspetos farmacológicos da mesma com possíveis efeitos adversos apresentados pelo doente. No entanto, também em ambulatório o farmacêutico tem a oportunidade de acompanhar o doente, devendo ouvir atenciosamente tudo o que este refere acerca da medicação e identificar possíveis efeitos adversos que possam surgir da mesma.

7. Participação do Farmacêutico Nos Ensaios Clínicos

Um ensaio clínico corresponde a toda e qualquer investigação conduzida num ser humano com o objetivo de descobrir ou verificar efeitos farmacológicos, clínicos ou farmacodinâmicos de um ou mais medicamentos experimentais, a fim de apurar a sua segurança e eficácia. Entre a síntese de um novo fármaco e o doente alvo existe um longo caminho a percorrer e um espaço de tempo na ordem dos dez a vinte anos, a fim de garantir que o medicamento desenvolvido se adequa às necessidades dos doentes.

A investigação clínica num hospital exige a presença de equipas multidisciplinares que permitam um desenvolvimento eficaz do ensaio clínico. Os serviços farmacêuticos hospitalares constituem um dos elementos básicos que permitem otimizar a gestão dos medicamentos em investigação bem como, garantir a máxima segurança e eficácia dos respetivos estudos. Para além disso, para a realização deste tipo de ensaios é primeiramente necessária a autorização do conselho de administração do INFARMED, que sujeita o protocolo da investigação a um parecer da comissão de ética da instituição. De acordo com a legislação [6], o farmacêutico hospitalar é o profissional responsável pelo armazenamento e dispensa dos medicamentos experimentais, podendo também integrar a comissão de ética e ser responsável pela avaliação dos protocolos associados ao ensaio,

Os ensaios clínicos desenvolvidos a nível hospitalar, compreendem uma área fundamental para a garantia da segurança e viabilidade do medicamento, uma vez que abrangem um universo de dimensões relativamente aceitáveis e, com indivíduos provenientes de diversos grupos populacionais, apresentando ainda como vantagem a enorme proximidade entre o investigador, profissionais de saúde e doentes, que se desenvolve numa instituição de saúde.

Os medicamentos em ensaio clínico são armazenados em armários fechados e apropriados para o efeito, sendo necessário controlar todos os parâmetros descritos no protocolo com elevado rigor. O farmacêutico deve prestar ao utente toda a informação necessária, de forma a garantir a adesão à terapêutica, a segurança do participante e o cumprimento de todo o protocolo. Toda a informação disponível deve ser registada e arquivada. [6]

8. Nutrição Assistida

A nutrição artificial pode ser definida como o aporte de macro e micronutrientes quantitativamente e qualitativamente adequados a um doente específico, de modo a recuperar ou manter um estado nutricional adequado. Esta nutrição pode ser administrada por via entérica ou parentérica e pode ser considerada segura e eficaz desde que se cumpram os requisitos necessários. Deste modo, é essencial a monitorização clínica e laboratorial do doente e a correção dos aportes em função da evolução, a fim de adaptar o esquema nutritivo à situação clínica do doente.

8.1. Nutrição Entérica

Neste tipo de nutrição assistida, os nutrientes são administrados ao doente através do auxílio de uma sonda entérica. É aconselhada a sua utilização em todos os utentes que demonstrem incapacidade de satisfazer as necessidades nutricionais através da ingestão oral de alimentos. A sua aplicação deve ser preferida em vez da parentérica, sendo mais fisiológica uma vez que, o intestino continua a absorver nutrientes garantindo a preservação das funções do mesmo. Para além disso, apresenta menor custo e melhores resultados. Apesar das vantagens, não pode ser utilizada em todas as situações clínicas, uma vez que é obrigatória a presença de uma mucosa intestinal funcional e com capacidade para absorver a maioria dos nutrientes administrados.

As dietas são compostas por glúcidos, proteínas, lípidos, vitaminas, oligoelementos e eletrólitos de acordo com as necessidades diárias do doente. Existem ainda dietas específicas para determinadas condições clínicas como a diabetes, disfunção gastrointestinal, doenças autoimunes, doentes pediátricos e insuficiências renais e hepáticas.

8.2. Nutrição Parentérica

A administração de nutrientes é parentérica quando os nutrientes são administrados diretamente na circulação sanguínea do doente, através do acesso direto a uma veia. Podem ser administradas por acesso venoso central ou periférico, respetivamente quando o vaso envolvido consiste numa veia de grande calibre como a veia subclávia ou jugular, ou quando o vaso utilizado consiste num capilar ou outro vaso de dimensões reduzidas.

A nutrição parentérica pode ser administrada de um modo cíclico ou contínuo, sendo a primeira administrada por períodos de dezasseis horas com intervalos de oito horas entre tomas, enquanto a segunda é administrada durante vinte e quatro horas consecutivas.

9. Acompanhamento da Visita Médica

Com a integração do farmacêutico na equipa multidisciplinar de saúde hospitalar, a participação na visita médica passou a ser de carácter obrigatório. Esta participação permite ao farmacêutico maximizar a sua intervenção direta visto que lhe é permitido dar opinião sobre todos os pontos da terapêutica instituída ao doente, desde esquemas posológicos, formas e vias de administração de medicamentos, até à deteção de efeitos secundários, interações e vigilância do cumprimento de protocolos terapêuticos específicos da instituição.

Durante a visita médica o farmacêutico possui ainda a responsabilidade de verificar se os protocolos de antibioterapia estão a ser aplicados corretamente. Salvo algumas situações específicas, a maioria dos protocolos de antibioterapia possuem sete a catorze dias de duração, a fim de evitar resistências e combater a infeção eficazmente. Ao fim do sétimo dia a situação clínica do doente deve ser avaliada pela equipa multidisciplinar a fim de refletir sobre a continuação do esquema atual de antibioterapia, cessação da terapêutica ou alteração do antibiótico. A visita médica é uma ótima altura para discutir estas temáticas uma vez que, toda a equipa do serviço está reunida e, os profissionais de saúde podem falar abertamente sobre todos os pormenores clínicos dos doentes, individualmente.

Esta participação permite ao farmacêutico contribuir para a racionalização terapêutica e consequentemente melhorar a qualidade dos cuidados prestados ao doente, para além de demonstrar interesse, competência e sentido de responsabilidade perante a restante equipa de saúde.

10. Atividades Farmacêuticas na Enfermaria

A presença do farmacêutico na enfermaria permite a vigilância da conservação de *stocks* de medicamentos, bem como a verificação do cumprimento da prescrição médica e das linhas orientadoras de terapêutica de forma mais eficaz, atualizada e adaptada às características de cada serviço, verificando ainda se os medicamentos são administrados corretamente e em tempo útil. Na ULS-Guarda os diferentes serviços encontram-se distribuídos pelos farmacêuticos, ficando no máximo dois serviços sob a responsabilidade do mesmo farmacêutico.

Diariamente são confirmados todos os utentes que tiveram alta, bem como todos os novos internamentos, verificando sempre com os enfermeiros de modo a assegurar que os

medicamentos são administrados ao doente certo. Na ULS-Guarda o perfil farmacoterapêutico dos serviços farmacêuticos está organizado por doentes dentro dos respetivos serviços. A introdução de um doente numa cama errada ou a incorreta remoção de um doente com alta médica pode originar trocas que, conseqüentemente, podem levar a erros na medicação em internamento. Deste modo, este procedimento possui uma importância crucial capaz de evitar possíveis conseqüências que possam resultar de um erro desta dimensão.

O farmacêutico deve comparar o perfil terapêutico dos serviços farmacêuticos com o CARDEX da enfermaria, detetando possíveis erros na administração e esclarecendo diretamente com os enfermeiros possíveis dúvidas relacionadas com a administração.

11. Informação e Documentação

A formação constante e permanente é indispensável para o exercício da profissão farmacêutica e, conseqüentemente, para a integração de farmacêuticos em equipas multidisciplinares, contribuindo simultaneamente para a afirmação da classe farmacêutica como elemento indispensável nos cuidados de saúde. Para além de procurar o conhecimento através das mais diversas formas, é de extrema importância que o profissional farmacêutico, consiga transmitir claramente e com exatidão as novas ideias para que, em discussão, se possa concluir qual o melhor caminho a seguir e a respetiva justificação.

As formações a nível hospitalar podem ser promovidas por entidades externas ou formações realizadas pelos próprios funcionários dos serviços farmacêuticos. No decorrer do estágio, foram realizadas duas formações promovidas por laboratórios, a fim de divulgarem aos serviços farmacêuticos, os resultados de ensaios clínicos de novos medicamentos e, partilharem sugestões relativamente à forma de inserção dos mesmos no arsenal farmacológico hospitalar.

A nível interno, foi realizado um projeto durante o estágio para implementação de uma sinalética de identificação de medicamentos, baseada nos conhecimentos adquiridos durante a frequência da unidade curricular de Farmácia Clínica. A sinalética tem como objetivo alertar todos os funcionários dos serviços farmacêuticos para a possibilidade de ocorrência de erro durante a dispensa do medicamento, a fim de diminuir o risco para o utente. Por fim, realizou-se uma apresentação oral com o objetivo de explicar o trabalho desenvolvido a todos os funcionários dos serviços farmacêuticos envolvidos no ato da dispensa, tendo sido esclarecidas potenciais dúvidas e, de igual forma, aceites sugestões para possíveis melhorias do trabalho.

12. Comissões Técnicas

As comissões técnicas são órgãos consultivos indispensáveis para a implementação de regras e procedimentos na utilização de medicamentos e outros produtos farmacêuticos. São de extrema importância como instrumentos multidisciplinares de decisão acerca de pareceres que condicionem, adequem, normalizem e contribuam para a qualidade dos cuidados prestados ao doente.

Especificamente, na Unidade Local de Saúde da Guarda, encontram-se em funcionamento três comissões técnicas: Comissão de Controlo de Infeção, Comissão de Farmácia e Terapêutica e Comissão de Ética, sendo estas comissões essenciais ao ponto de serem obrigatórias para um correto funcionamento da instituição. [10-12]

12.1. Comissão de Controle de Infeção Hospitalar

Esta comissão foi criada com o objetivo de desenvolver linhas de orientação para a utilização de antibióticos e antimicrobianos na instituição. É da sua responsabilidade reunir e analisar todos os indicadores de controlo de infeção bem como a sensibilidade dos microorganismos aos químicos utilizados. Para além disso, é também da sua competência monitorizar as prescrições de antimicrobianos e estabelecer uma rotina de dispensa dos mesmos, a fim de evitar ao máximo o desenvolvimento de resistências antimicrobiana e controlar os custos. Deve ainda proceder à elaboração de relatórios do consumo de medicamentos anti-infecciosos e promover a educação permanente de todos os recursos humanos capazes de lutar contra a problemática da infeção hospitalar. [10]

12.2. Comissão de Farmácia e Terapêutica

A comissão de farmácia e terapêutica tem como responsabilidades elaborar a política de dispensa de medicamentos, atualizando e padronizando a mesma conforme as necessidades da instituição. Para além disso, compete-lhe ainda fixar critérios para obtenção de medicamentos que não constem nos padrões da instituição e validar protocolos de tratamento elaborados pelos diferentes serviços clínicos. Possui ainda o dever de promover a educação e atualização de todos os profissionais de saúde relativamente à terapêutica em uso na instituição e o seu uso racional. O funcionamento desta comissão encontra-se regulamentado pelo decreto de Lei n.º 188/2003, de 20 de Agosto [11]

12.3. Comissão de Ética

É da responsabilidade da comissão de ética emitir parecer sobre os projetos de investigação a realizar na instituição, mantendo as suas bases atualizadas no que se refere às normas nacionais e internacionais pertinentes à ética nos ensaios clínicos. [12]

13. Conclusão

O estágio realizado atingiu a maioria dos objetivos inicialmente propostos, tendo proporcionado uma visão bastante ampla acerca de algumas das funções e responsabilidades do profissional farmacêutico na área hospitalar.

A carga horária foi dividida conforme a complexidade das rotinas de todas as seções dos Serviços Farmacêuticos da ULS-Guarda, tendo sido suficiente para conhecer e compreender o funcionamento de cada setor visitado.

Os conhecimentos teóricos, adquiridos previamente em cada disciplina do curso, foram de fundamental importância no desempenho de todas as atividades realizadas, contribuindo tanto para o bom aproveitamento do estágio como para a facilidade de integração na rotina do serviço.

Para além disso, a relação interpessoal com todos os funcionários foi muito agradável e respeitosa, possibilitando o amadurecimento pessoal e profissional a ambas as partes envolvidas.

Bibliografia

- [1] Saúde M. d., *Manual da Farmácia Hospitalar*, Conselho Executivo da Farmácia Hospitalar, **2005**;
- [2] Farmacêuticos O., *Boas Práticas de Farmácia Hospitalar*, Conselho do Colégio da Especialidade em Farmácia Hospitalar, **1999**;
- [3] República A. d., *Decreto de Lei n.º 18/2008 de 19 de Janeiro*, in *Diário da República*, **2008**;
- [4] República A. d., *Decreto de Lei n.º 176/2006, de 30 de Agosto*, in *Diário da República*, **2006**;
- [5] República A. d., *Decreto de Lei n.º 216/1998 de 18 de Setembro*, in *Diário da República*, **1998**;
- [6] República A. d., *Decreto de Lei n.º 46/2004 de 19 de Agosto*, in *Diário da República*, **2004**;
- [7] República A. d., *Decreto de Lei n.º 251/2000 de 30 de Outubro*, in *Diário da República*, **2000**;
- [8] INFARMED, G.J.e.C.d., *Portaria n.º 594/2004 de 2 de Junho*, in *Legislação Farmacêutica Compilada*, **2004**;
- [9] República A. d., *Decreto de Lei n.º 95/2004 de 22 de Abril*, in *Diário da República*, **2004**;
- [10] República A.d, *Decreto de Lei n.º 127/2007 de 4 de Julho*, in *Diário da República*, **2007**;
- [11] República A. d., *Decreto de Lei n.º 188/2003, de 20 de Agosto*, in *Diário da República*, **2003**;
- [12] República A. d., *Decreto de Lei n.º 97/1995 de 10 de Maio*, in *Diário da República*, **1995**;

Capítulo 3 - Farmácia Comunitária

1. Introdução

O trabalho em Farmácia Comunitária representa, por excelência, a atividade do Farmacêutico. Desde há muito que este profissional é considerado bem mais do que um técnico de saúde que dispensa o medicamento. Em vez disso, o farmacêutico intervém em áreas tão essenciais da saúde da comunidade de hoje, como são a informação e o aconselhamento farmacêutico, a comunicação com o doente, a automedicação, a farmacovigilância, a medição de parâmetros de autocuidado e rastreio. Em suma, são atividades que necessitam dominar para marcar o seu papel e distinguir-se como profissional de saúde.

Ser Farmacêutico requer uma enorme responsabilidade profissional e uma constante atualização dos conhecimentos, visando sempre a promoção da saúde e a prevenção da doença. Exige também uma enorme atenção e disponibilidade para o utente, fazendo um uso ideal da capacidade de ouvir, de observar e, acima de tudo, de comunicar.

O estágio curricular, do qual resultou este documento, foi realizado na Farmácia Mousaco Torrão localizada no Ferro, entre os dias 7 de Maio e 22 de Julho de 2012. Neste relatório é pretendida a descrição resumida de todas as atividades realizadas ao longo do estágio, bem como a caracterização do funcionamento da Farmácia de Oficina e o papel do Farmacêutico enquanto especialista do medicamento e agente de saúde pública.

2. Organização da Farmácia

A Farmácia Mousaco Torrão localiza-se no número 11 da Estrada Municipal, no Ferro e possui também um Posto Farmacêutico Móvel numa localidade vizinha - Peraboa. [1]

Grande parte dos utentes da farmácia são idosos polimedicados, residentes na zona e fiéis ao estabelecimento. Alguns destes utentes encontram-se numa situação socioeconómica bastante precária, que tem vindo a ser agravada pela atual crise financeira. Procuram, para além da dispensa de medicamentos, o aconselhamento e uma oportunidade para serem ouvidos, o que demonstra o importante papel social que a Farmácia também desempenha.

No entanto, alguns dos utentes são pessoas jovens e de meia-idade que trabalham e habitam nas proximidades do estabelecimento e, também ocasionalmente, pessoas em viagem que circulem na estrada municipal.

O principal objetivo de uma farmácia é promover a excelência em benefício da comunidade, tendo como primeira preocupação a saúde do doente. Deste modo, os recursos humanos constituem um elemento crucial na organização de uma Farmácia de oficina, uma vez que toda a relação comercial desenvolvida está sustentada num modelo de atendimento personalizado, em que o utente se fideliza ao estabelecimento. Esta fidelização é de elevada importância, pois permite criar um ambiente de confiança, tornando-se mais fácil ajudar as pessoas a alterarem alguns aspetos no seu estilo de vida, a seguirem uma terapêutica correta ou, simplesmente, a estarem mais atentas ao seu estado de saúde.

Conforme a legislação portuguesa, a farmácia encontra-se aberta desde as nove até as vinte horas, com uma hora para almoço, entre as catorze e as quinze, de Segunda a Sexta-feira e aos Sábados das nove às catorze, garantindo-se assim as cinquenta horas semanais previstas na lei. [1]

Uma vez que a Farmácia Mousaco Torrão se trata de um farmácia de vila e dada a sua proximidade com outras farmácias do concelho da Covilhã, o estabelecimento encontra-se em regime de disponibilidade, ou seja, encontra-se disponível para atendimento em caso de necessidade fora do período laboral, podendo ser recusada a dispensa de medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) nestas situações.

Exteriormente, a Farmácia Mousaco Torrão possui um letreiro indicativo com o respetivo nome e uma cruz verde luminosa colocada perpendicularmente à fachada do edifício. Existe também uma placa com informações relativas à propriedade e direção técnica, como consta no certificado de registo do INFARMED. O acesso faz-se diretamente pela Estrada Municipal, possuindo uma porta junto à montra.

No seu interior, a atmosfera da Farmácia é profissional e calma, criando um ambiente que permite uma boa comunicação com os utentes. O Decreto-lei 307/2007, de 31 de Agosto refere-se às instalações da Farmácia de Oficina, estando a sua área mínima e a das respetivas divisões regulamentada pela legislação. [2]

A sala de atendimento é uma zona acolhedora, ampla, bem iluminada e funcional. É constituída por um balcão de atendimento com dois terminais de venda e alguns expositores com publicidade e/ou produtos, que são modificados consoante a época do ano, *stocks* e campanhas publicitárias por parte da indústria farmacêutica. Na parte interior do balcão, existem prateleiras individuais para guardar o receituário antes do mesmo ser conferido pelo profissional responsável pelo atendimento.

Na zona envolvente ao balcão estão dispostos vários armários de vitrina. Os armários laterais possuem, essencialmente, linhas dermo-cosméticas de diferentes marcas, permitindo uma boa visibilidade e o contato do utente com o produto. A região superior dos armários, situados

atrás do balcão, corresponde ao local de maior exposição da farmácia, sendo o seu conteúdo variável ao longo do ano e correspondendo essencialmente a produtos dietéticos, protetores solares, produtos fitoterápicos e medicamentos não sujeitos a receita médica como alguns antigripais, anti-histamínicos, anti-inflamatórios e analgésicos. Os armários inferiores servem para guardar os mesmos produtos que se encontram expostos, quando a sua quantidade não permite que todo o *stock* esteja visível. Em frente ao balcão existe ainda uma zona de descanso para os utentes.

O local de armazenamento é formado essencialmente por armários de vitrina com janelas de correr, nas quais são dispostos os medicamentos por ordem alfabética. Os medicamentos encontram-se agrupados conforme a via de administração, existindo armários específicos para anticoncepcionais, administração retal, pomadas e géis de aplicação tópica, loções, aplicadores nasais e auditivos, administração vaginal, colírios, dispositivos médicos e medicamentos de uso veterinário, tendo sido recentemente criada uma secção para medicamentos genéricos, dado o seu crescimento exponencial no mercado durante os últimos anos.

A área de receção de encomendas é composta por uma bancada na qual se encontram vários dispositivos necessários à tarefa: um computador com *modem* para o envio das encomendas diárias, um aparelho de leitura ótica e uma impressora de códigos de barras. Este terminal é utilizado para o envio de pedidos, devoluções e receção de encomendas e também para consulta de *stocks*. Nesta zona pode ainda encontrar-se informação diversa relativa a produtos novos bem como, circulares referentes à retirada de produtos do mercado e alertas de segurança

Do laboratório fazem parte um balcão, um lavatório, uma chaminé com exaustor e diversos armários. Nestes encontram-se as matérias-primas utilizadas na preparação de manipulados, material para a embalagem e rotulagem, material para a manipulação em laboratório e outros produtos como álcool, soro fisiológico, borato de sódio, bicarbonato de sódio e soluções como a tintura de iodo entre outros. O material de laboratório consiste numa balança de precisão sensível ao miligrama, almofarizes de vidro e porcelana, diferentes espátulas, uma pedra de preparação de pomadas e cremes e o restante material definido por Lei necessário à preparação de manipulados. [3]

No gabinete da direção técnica, são guardados os vários documentos de organização e gestão da farmácia bem como alguma bibliografia, que pode ser consultada quando necessário. Neste espaço decorrem todas as ações de formação realizadas na farmácia. A farmácia dispõe ainda de um sanitário essencialmente para uso dos seus funcionários mas que também pode ser utilizado pelos utentes em alguma eventualidade.

Os Recursos Informáticos de uma Farmácia são uma ajuda preciosa nas atividades diárias, auxiliando tanto em aspetos burocráticos como técnico-científicos e de gestão. Permitem uma economia de tempo e diminuição dos erros graças à sistematização de muitos dos processos que ocorrem diariamente na Farmácia.

O *software* utilizado é o SIFARMA clássico, da Associação Nacional de Farmácias, estando prevista a alteração para SIFARMA 2000 até ao final do presente ano. De forma a responder prontamente à constante evolução do setor da Farmácia e do Medicamento, o sistema informático é constantemente alvo de atualizações. Estas podem ser de ordem diversa, sendo indispensáveis ao correto funcionamento da Farmácia.

Há um computador central situado na zona de receção de encomendas, ao qual estão ligados através de uma rede interna, mais dois computadores existentes nos balcões, utilizados como terminais de venda. Em paralelo com o sistema informático, há uma impressora fiscal que regista o duplicado dos documentos emitidos pelas impressoras dos postos de trabalho para efeitos fiscais.

Como profissional liberal/livre o Farmacêutico está sujeito a normas jurídicas e normas deontológicas. O Decreto-Lei nº307/2007, de 31 de Agosto estabelece o regime jurídico das Farmácias de oficina, preconizando que estas “prosseguem uma atividade de saúde e de interesse público e asseguram a continuidade dos serviços que prestam aos utentes”. [2]

A Ordem dos Farmacêuticos (OF) e o INFARMED são órgãos que tutelam os aspetos relacionados com um bom exercício farmacêutico, proporcionando aos cidadãos o acesso a medicamentos, a tecnologias de saúde e a produtos de saúde de qualidade, eficazes e seguros. A OF é a associação pública que abrange e representa os licenciados em Farmácia ou em Ciências Farmacêuticas, que exercem a profissão farmacêutica ou praticam atos próprios desta profissão em território nacional. Funciona como mecanismo de autorregulação. O Estatuto da Ordem dos Farmacêuticos [4] define “Ato farmacêutico” e refere-se aos direitos e deveres do farmacêutico. O INFARMED é um organismo pertencente ao Ministério da Saúde, que possui autonomia financeira e administrativa. A sua principal missão é garantir a qualidade, a segurança e a eficácia dos medicamentos e dos produtos de saúde, prevenindo os riscos decorrentes da sua utilização, assegurando os mais elevados padrões de saúde pública e a defesa dos interesses do consumidor.

A Associação Nacional das Farmácias (ANF), órgão de cariz associativo, tem como objetivo defender os legítimos interesses dos Farmacêuticos inseridos nas Farmácias comunitárias, com uma vertente virada para o serviço de interesse público. Esta associação promove várias atividades de formação contínua e estabelece protocolos entre o Estado e as Farmácias dispostas a colaborar. As *Boas Práticas de Farmácia* (BPF), adotadas pela OF e pela ANF, têm o objetivo de disciplinar e melhorar a intervenção dos Farmacêuticos e das Farmácias de forma

a ajudar, cada pessoa individualmente e a comunidade em geral, a usar os medicamentos o melhor possível. Com esta finalidade, as BPF preconizam que o bem-estar do utente e do público em geral sejam a primeira preocupação do Farmacêutico. [5]

3. Informação e Documentação

Durante a sua formação académica, o profissional farmacêutico adquire um conjunto de conhecimentos e experiências em diversas áreas, que se tornam fundamentais para o bom desempenho da profissão farmacêutica. No entanto, o mundo atual encontra-se em constante mudança, sendo frequente o aparecimento de inovações e alterações em diversas áreas do saber, incluindo a saúde. O farmacêutico deve assim encontrar-se sempre atento e informado, sendo fundamental saber procurar, organizar e classificar corretamente todas as fontes de informação disponíveis e torná-las acessíveis sempre que seja necessário.

A biblioteca é uma área fundamental de qualquer farmácia, devendo estar disponíveis obrigatoriamente um exemplar da Farmacopeia Portuguesa atual e respetivos suplementos, um do Formulário Galénico Nacional atualizado, um dos Estatutos da Ordem dos Farmacêuticos e um do Código de Ética da Ordem dos Farmacêuticos. No ato da dispensa o farmacêutico deve ter obrigatoriamente acesso físico ou eletrónico a fontes de informação que contenham informações sobre indicações, contra indicações, interações, posologia e precauções com a utilização dos medicamentos, razão pela qual deve ser garantido também o acesso aos Resumos das Características do Medicamento (RCM), Martindale, The Extra Pharmacopeia, British National Formulary e ao Epocrates Online [5]. Durante uma eventual inspeção por parte do INFARMED, pode ser verificada a existência de toda a bibliografia essencial numa farmácia. Para além destas publicações, a Farmácia Mousaco Torrão possui alguns exemplares do Prontuário Terapêutico, do Simposium Terapêutico, o Manual Merck de Veterinária, o Direito Farmacêutico e Guias Práticos publicados pela ANF. Para além disso, a farmácia é ainda assinante de diversas revistas e publicações da área, como a Farmácia Distribuição.

É importante ainda salientar a existência de diversas estruturas de apoio que podem ser contactadas para eventuais esclarecimentos das mais variadas dúvidas, como sejam o CIM da Ordem dos Farmacêuticos, o Centro de Informação sobre Medicamentos pertencente à ANF, o Laboratório de estudos Farmacêuticos, o Centro de Estudos de Farmacoepidemiologia e o Centro Tecnológico do Medicamento pertencentes à ANF, com a qual a Ordem dos Farmacêuticos colabora.

4. Medicamentos e Outros Produtos de Saúde

A farmácia comunitária é o principal elo de ligação entre a população e o medicamento. O medicamento é definido como toda a substância ou associação de substâncias capazes de prevenir, curar ou diagnosticar uma determinada patologia, quer no homem quer no animal. Torna-se ainda importante definir medicamento genérico como um medicamento com a mesma composição qualitativa e quantitativa, a mesma forma farmacêutica e bio equivalente a um determinado medicamento de referência, verificado através de estudos de biodisponibilidade apropriados [6]. Os medicamentos de uso humano são abrangidos por um regime jurídico específico, que regulamenta o seu fabrico, a sua importação e exportação, autorização de introdução no mercado e posteriores comercialização e farmacovigilância.

A Farmácia dispensa ainda diversos produtos de saúde que, embora possuam características diferentes dos medicamentos descritos anteriormente, encontram-se igualmente referenciados na legislação aplicada aos medicamentos [7]. Entre estes produtos encontram-se os suplementos alimentares, utilizados para complementar o regime alimentar do utente e constituídos essencialmente por um ou mais nutrientes concentrados e devidamente quantificados, os produtos cosméticos, utilizados para perfumar, limpar, proteger, conservar, corrigir ou modificar o aspeto da pele e, produtos para alimentação especial ou seja, géneros alimentícios sujeitos a um processamento e formulação especial com vista a satisfazer as necessidades nutricionais do doente e, para consumo mediante supervisão médica, podendo constituir alimentação complementar ou exclusiva de doentes com um estado de saúde que exija quantidades superiores dos nutrientes normalmente fornecidos pela dieta comum.

Numa farmácia encontram-se ainda disponíveis medicamentos homeopáticos e fitoterápicos. Um medicamento fitoterápico resume-se numa preparação que contenha como princípio ativo, uma ou mais substâncias exclusivamente de origem natural ou que consista numa preparação exclusivamente à base de plantas. Por sua vez, um medicamento homeopático é constituído por uma preparação à base de matérias-primas de carácter homeopático e preparado de acordo com a farmacopeia europeia ou, de acordo com a farmacopeia de um estado membro. Estes produtos são caracteristicamente administrados por via oral ou tópica, com um grau de diluição que garanta a inocuidade do produto e com ausência de indicações terapêuticas no seu rótulo. É ainda importante a distinção entre forma magistral, como qualquer medicamento preparado numa farmácia comunitária ou farmácia hospitalar conforme prescrito numa receita médica e preparação oficial, quando o medicamento é preparado de acordo com as indicações de um formulário oficial ou farmacopeia.

A lei abrange ainda os dispositivos médicos, que constituem qualquer instrumento, aparelho, equipamento, *software* ou material e, cujo principal efeito pretendido não possa ser conseguido com meios farmacológicos, imunológicos e metabólicos, mesmo que a função do

dispositivo seja apoiada nestes meios. Estes dispositivos são geralmente utilizados para diagnóstico, prevenção, controlo, tratamento ou atenuação de uma dada patologia, diagnóstico, controlo, tratamento, atenuação ou compensação de uma lesão ou deficiência, estudo, substituição ou alteração anatómica de um processo fisiológico ou controlo de concepção [8].

A farmácia tem ainda a responsabilidade de dispensar medicamentos e de produtos de uso veterinário. Estes medicamentos consistem em toda e qualquer substância ou composição que possa apresentar propriedades curativas ou preventivas de patologias animais e respetivos sintomas, através do estabelecimento de diagnóstico ou do restauro, correção ou modificação das funções orgânicas do animal. Por sua vez, os produtos de uso veterinário centram-se em substâncias ou misturas de substâncias destinadas não só, ao tratamento ou prevenção das doenças animais e dos respetivos sintomas mas também, manejo zootécnico tendo em vista a promoção do bem-estar e estado higiénico-sanitário do animal, correção ou modificação das funções orgânicas ou ainda para diagnóstico médico quer, das instalações e ambiente que rodeia o animal quer, de atividades diretamente relacionadas com produtos de origem animal.

Relativamente à dispensa ao utente, os medicamentos são classificados em Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM) e Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM). São considerados MSRM todos os que possam constituir um risco para a saúde do utente caso sejam utilizados sem vigilância médica, mesmo quando utilizados para o fim pretendido, contenham substâncias com atividade e reações adversas pouco estudadas ou ainda caso sejam de uso parentérico [9]. Os MSRM podem ainda ser organizados conforme a receita médica na qual são prescritos, podendo ser medicamentos de receita médica renovável, comumente utilizada em patologias crónicas, medicamentos de receita médica restrita, mais utilizada em meio hospitalar e para medicamentos passíveis de causar efeitos adversos severos e receita médica especial, para medicamentos estupefacientes, psicotrópicos e qualquer substância com elevado risco de uso abusivo. Os medicamentos estupefacientes e psicotrópicos atuam a nível central e apresentam propriedades sedativas, narcóticas e euforizantes, podendo causar dependência e toxicomania, sendo esta principal razão pela qual pertencem aos medicamentos de controlo especial [10].

5. Aproveitamento e Armazenamento

Os *stocks* da farmácia têm que ser cuidadosamente pensados, de acordo com as necessidades dos utentes habituais e potenciais utentes. Para um bom funcionamento do estabelecimento, os produtos com mais volume de vendas devem existir em maior quantidade do que os vendidos esporadicamente, sendo assim necessário deter o máximo controlo dos movimentos dos produtos comercializados. Para além disso, também é necessário ter em conta as

diferentes épocas do ano, para que os produtos sazonais se encontrem disponíveis na farmácia antes que comecem a ser solicitados pelos utentes.

A seleção de um fornecedor pode ser feita utilizando vários parâmetros, tendo-se principalmente em conta as condições comerciais, o número de entregas diárias e a respetiva rapidez das mesmas, a qualidade dos serviços prestados, a disponibilidade para entregar diversos produtos e a facilidade na devolução de encomendas.

Os principais fornecedores de uma farmácia comunitária são os armazéns grossistas e os laboratórios. Aos laboratórios apenas se compram alguns tipos de produtos, essencialmente produtos de saúde que não sejam medicamentos e habitualmente vendidos em maior quantidade. Os produtos de cosmética e de higiene corporal, alguns dispositivos médicos, alguns produtos de higiene oral e alguns suplementos alimentares são normalmente comprados a este tipo de fornecedor. A negociação com estas entidades apresenta algumas vantagens, como a prestação de formação gratuita aos recursos humanos da farmácia que por vezes se verifica, auxiliam na exposição dos produtos através da oferta de material publicitário e expositores, fornecem amostras gratuitas, aceitam reclamações dos clientes e devoluções dos produtos alterados ou fora do prazo de validade. Em contrapartida, este meio de compra apresenta algumas desvantagens como a necessidade de investir mais capital e o fato de a farmácia necessitar de espaço extra para expor e armazenar os produtos adquiridos. As compras aos laboratórios são feitas por intermédio de delegados de informação médica, que se deslocam ao estabelecimento em representação do respetivo laboratório.

A farmácia Mousaco Torrão faz diariamente duas encomendas para dois armazéns grossistas diferentes: a OCP e a Plural. Semanalmente, também são encomendados produtos à BeiraVet, uma empresa especializada em produtos e medicamentos de uso veterinário. Frequentemente há uma grande rapidez na entrega das encomendas, o que proporciona também uma boa gestão de *stocks* e sempre de acordo com boas práticas de distribuição.

Relativamente à receção, os produtos de frio são recebidos em contentores próprios e são os primeiros a ser aceites e armazenados. Quanto às matérias-primas, na sua receção é necessário verificar se vêm acompanhadas do respetivo Boletim de Análise, se este corresponde ao lote enviado e se está em conformidade com a Farmacopeia.

A introdução da encomenda no sistema é realizada na opção do SIFARMA de “Gestão de entregas”. Seleciona-se qual o fornecedor e a encomenda e procede-se à leitura ótica do código de barras de todos os produtos. Na farmácia Mousaco Torrão verifica-se também o prazo de validade e o preço dos medicamentos inseridos durante esta etapa, realizando-se alterações destes parâmetros caso seja necessário.

Em relação aos preços, é diferente caso se trate de um produto com Preço de Venda ao Público (PVP) marcado, como acontece com todos os medicamentos sujeitos a receita médica, de um produto sem PVP recomendado, sendo da responsabilidade da farmácia calcular o mesmo e colocar a respetiva etiqueta. No produto com PVP marcado, caso o preço do produto descrito na encomenda seja diferente do que está marcado no computador, é necessário alterar o PVP do mesmo na ficha do produto. Nos restantes produtos, devem ser sempre verificados o preço e a margem de comercialização. Todos os produtos devem possuir o PVP marcado, por isso, após fazer-se a receção da encomenda, procede-se à impressão dos códigos de barras para os produtos não marcados.

Depois de recebidos os produtos confirma-se a entrega, colocando-se o número da fatura no computador. Quando medicamentos benzodiazepinas fazem parte do pedido, é-lhes atribuído um número e a lista é impressa e junta à fatura enviada pelo fornecedor, para ser conferida pela pessoa que introduziu a encomenda.

Por vezes pode ser necessária a devolução de alguns produtos. Existem diversas razões para se proceder a este tipo de pedido, nomeadamente o envio de embalagens danificadas, fora do prazo de validade ou com prazo de validade inferior a três meses, troca de produto, produto enviado e não faturado, entre outras situações. Nestes casos, independentemente do fornecedor, o pedido de devolução deve ser realizado no programa informático, colocando-se o produto em causa, o número de embalagens e o motivo.

Por fim, é necessário armazenar os produtos nos devidos locais, sendo de elevada importância a ordem pela qual estes se colocam nas gavetas e prateleiras. Os que já se encontram armazenados devem ser os primeiros a sair e os que chegam devem ser os últimos. Todos os medicamentos e restantes produtos de saúde têm que ser adequadamente armazenados para que se mantenham em perfeitas condições de consumo ou utilização. As condições de luz, temperatura e humidade têm que ser adequadas para a manutenção da qualidade e do prazo de validade estabelecido pelo fabricante.

Em relação aos prazos de validade, além do controlo feito no momento da receção da encomenda, mensalmente é ainda impressa uma lista dos produtos que têm prazo de validade inferior a três meses. Posteriormente procede-se à verificação de todos esses produtos a fim de serem devolvidos, atualizando-se o campo da validade na ficha informática no final do processo.

Na Farmácia Mousaco Torrão existe um procedimento manual para facilitar os pedidos de encomendas e evitar a falta de alguns produtos. Consiste no registo, num bloco de folhas de papel, dos produtos em falta ou que existem em pequena quantidade na farmácia. Isto é importante porque, por vezes, pode haver erros nos *stocks* no programa informático, assegurando-se assim a dispensa da medicação aos utentes.

6.Aspetos Básicos da Interação Farmacêutico-Utente

Durante o atendimento, é necessária uma rigorosa atenção a diversos aspetos e técnicas de comunicação que podem auxiliar o diálogo com o utente. Primeiramente, 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.

O farmacêutico deve cuidar da sua apresentação e da postura corporal. Ao atender um utente, é importante o farmacêutico identificar o utente e tratá-lo pelo nome. Caso o utente não seja habitual na farmácia, o farmacêutico deve cumprimentar igualmente o utente e apresentar-se, disponibilizando-se para o assistir na sua visita ao estabelecimento. O atendimento não deve ser interrompido para tratar de outras pessoas ou assuntos, devendo demonstrar-se interesse pelo utente, pelos seus problemas e focalizar toda a atenção no mesmo. 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.

Perante uma pergunta do utente, deve-se estimulá-lo a manifestar a sua opinião antes de responder objetivamente, utilizando palavras simples e expressões positivas, evitando o uso de expressões com conotação negativa. Devem-se desdramatizar as situações e desculpar o utente ou terceiros, assim como se deve evitar paternalismo, autoritarismo ou agressividade.

Existem ainda alguns casos específicos em que o utente deve ser alertado para alguns tópicos relativamente ao uso da medicação. São exemplos destas situações a prescrição de antibióticos, em que o utente deve ser alertado para cumprir o horário de tratamento durante o período de tempo indicado pelo clínico, sendo igualmente importante alertar para algumas interações importantes entre os antibióticos e outros medicamentos, como acontece com os contraceptivos orais. Nos descongestionantes nasais de aplicação tópica, que são muitas vezes usados em exagero, é necessário informar que a aplicação deve ser por um período muito curto, devendo ser consultado o médico caso a situação não melhore. Os corticóides de aplicação tópica, em relação aos quais muitas vezes as pessoas não sabem as

precauções de utilização mesmo quando prescritos pelo médico, não devem ser aplicados em zonas extensas e a região de aplicação deve encontrar-se protegida da luz solar. Para além disso, devem ser aplicados por um curto período de tempo seguido de suspensão gradual. Os anti-inflamatórios não esteróides devem ser administrados depois das refeições e a terapêutica deve ser de reduzida duração. Relativamente aos laxantes e antidiarreicos, que são usados por vezes de forma exagerada pelos utentes, é preferível recomendar alterações na dieta. No entanto caso seja necessário um destes medicamentos, deve ser aconselhado um não agressivo e alertar os utentes que não devem usar excessivamente.

Além da prestação de esclarecimentos verbais é também importante que se escreva parte da informação, particularmente no que se refere ao modo de administração e posologia. Esta indicação deve ser simplificada e sumarizada para que o utente a entenda corretamente, devendo-lhe ser pedido que repita as informações prestadas para garantir que o diálogo foi produtivo e atingiu o objetivo esperado. Por vezes podem ser usados pictogramas para facilitar o entendimento.

A disponibilidade do utente também é um fator importante no processo de atendimento. Por vezes, as pessoas têm pressa e por isso exigem um atendimento rápido, mas o serviço prestado na farmácia não pode ser comparado ao serviço prestado numa loja qualquer, pelo que por vezes pode ser um pouco complicado, mas é preciso fazer o esforço para que o atendimento seja, mesmo assim, feito com qualidade e da forma mais correta possível.

Na farmácia também se deve dar informação sobre o projeto VALORMED, 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.

6.1. Farmacovigilância

O sistema de autorização de introdução no mercado de medicamentos, muito desenvolvido desde que Portugal pertence à UE, é acompanhado por um sistema de avaliação prévia que visa assegurar a verificação dos critérios de qualidade, segurança e eficácia de cada medicamento, garantindo uma relação favorável entre os benefícios e os riscos associados à sua utilização. Após a introdução no mercado e, porque a saúde pública tem que ser posta em primeiro lugar, tem que continuar a haver um controlo da utilização do medicamento.

A farmacoepidemiologia é uma área científica cujo objetivo é o estudo dos efeitos adversos e benéficos da utilização de medicamentos pela população. Tem como finalidade identificar e quantificar riscos de aparecimento desses efeitos secundários decorrentes da utilização de medicamentos, caracteriza padrões de consumo e seus fatores determinantes. A farmacovigilância é uma das áreas da farmacoepidemiologia. Consiste na observação, registo,

análise e interpretação de efeitos adversos supostamente relacionados com a utilização de um medicamento.

Os sistemas de farmacovigilância desempenham um importante papel na recolha e avaliação de informação sobre reações adversas de medicamentos, estabelecendo ainda a responsabilidade dos titulares de Autorização de Introdução no Mercado (AIM) de medicamentos, dos profissionais de saúde e das demais autoridades de saúde.

O INFARMED é a entidade responsável pelo acompanhamento, coordenação e aplicação do Sistema Nacional de Farmacovigilância. Este Sistema compreende o conjunto articulado de regras e possui a responsabilidade de recolher toda a informação relativa a suspeitas de reações adversas no ser humano pela utilização de medicamentos de uso humano, avaliar cientificamente essa informação e tratar a mesma no plano comunitário e internacional.

O farmacêutico deve estar atento a informações de farmacovigilância e deve notificar situações suspeitas de reações adversas graves ou inesperadas. Na dúvida, qualquer caso de suspeita de reação adversa que o preocupe deverá ser notificada. As notificações devem ser feitas nas fichas disponibilizadas para o efeito que, para os farmacêuticos, são de cor roxa.

7. Dispensa de medicamentos

A dispensa consiste na cedência de medicamentos ou outros produtos de saúde mediante receita médica, ou em regime de automedicação desde que devidamente orientado por um farmacêutico.

Quando há dispensa de medicamentos mediante receita médica, é aconselhável proceder à confirmação da validade da mesma. Uma receita é válida somente se identificar o utente corretamente com o respetivo número do cartão de utente, se o relacionar com o subsistema responsável e se possuir vinheta da entidade de cuidados de saúde onde foi emitida, bem como vinheta do médico prescriptor responsável e respetiva assinatura. Caso a receita seja proveniente de um consultório privado, a mesma pode ser dispensada mesmo quando não apresenta vinheta identificativa do local de prescrição. Para além disso, a receita tem de ser aviada antes do limite em vigor, sendo este de seis meses para receitas em triplicado, trinta dias úteis para receitas normais informatizadas ou manuais. As receitas manuais só são válidas se for referenciada a exceção relativa à portaria 198/2011 e respetiva alínea [11]. Para os diferentes subsistemas, devem ainda ser cumpridas todas as exigências legais, específicas para cada organismo que podem ser consultadas na ANF (ver referência). Quando as receitas não são consideradas válidas, os medicamentos não podem ser cedidos, mas é preciso avaliar a situação e tentar resolvê-la do melhor modo possível, tanto para a farmácia como para o utente.

Igualmente importante é dispensar o medicamento certo conforme a receita, na mesma dose, número de unidades da embalagem e número de embalagens, verificando também se os medicamentos vendidos se encontram dentro do prazo de validade. O farmacêutico tem o dever de transmitir ao utente todas as informações relativas à posologia e duração do tratamento segundo a receita, esclarecendo eventuais dúvidas que possam surgir. Devem ainda ser referenciados quaisquer efeitos adversos comuns da medicação, condições especiais de conservação, contra indicações e possíveis interações julgadas importantes. As prescrições devem ser analisadas com espírito crítico, sempre com o objetivo de compreender o pensamento do clínico e relacionar a terapia prescrita com a condição apresentada pelo utente, a fim de facilitar a deteção de possíveis problemas ligados ao medicamento.

Para o Serviço Nacional de Saúde (SNS) existe um modelo de receita médica que tem que ser obrigatoriamente usado (Anexo 2). Este modelo pode ser usado para todos os subsistemas, embora nem sempre seja um requisito essencial. Após correta leitura dos códigos de barras dispensados e seleção do organismo apropriado, os códigos de barras dos medicamentos comparticipados, são impressos na parte de trás da receita. Em alguns subsistemas, ou em casos de complementaridade, é necessário tirar fotocópia da receita a fim de imprimir os códigos de barras duas vezes, uma vez que cada documento vai ser faturado em entidades distintas.

Para algumas entidades, incluindo o SNS, o máximo de embalagens por receita é quatro, que podem ser quatro medicamentos distintos ou não, embora o número máximo de embalagens por medicamento seja duas.

Depois de terem sido prestadas as informações que se julguem necessárias, é pedido ao utente que a rubrique. No caso de ter sido dispensado um medicamento genérico quando a prescrição está com o nome comercial, o utente assina também num local em que informa ter conhecimento da dispensa desse tipo de medicamento. Para além disso, sempre que, na receita constem medicamentos ou outros produtos comparticipados que o utente não deseje adquirir, os mesmos são riscados na sua presença.

Na impossibilidade da dispensa total da receita e, caso o utente concorde aguardar pela chegada do medicamento, é feita uma venda suspensa. São dados os medicamentos disponíveis e um talão que permite identificar a receita pendente. Estas situações são descritas e armazenadas num dossier, anotando o medicamento em falta e com o apontamento de que está uma receita à espera do mesmo. As receitas nestas condições são guardadas numa gaveta debaixo do balcão.

A partir do primeiro dia de Junho de dois mil e doze, entrou em vigor a portaria 137-A/2012 de 11 de Maio, segundo a qual a prescrição passou obrigatoriamente a ser feita por DCI [12]. Após esta data, a prescrição por marca passou a estar limitada a situações específicas como

casos de alergia ou reação adversa conhecida, medicamentos com margem terapêutica estreita ou situações clínicas que exijam um tratamento superior a vinte e oito dias.

Com as novas regras, o utente tem ainda direito de opção, o que permite manter os doentes com o medicamento habitual, ou optar por um mais económico sem que este seja obrigatoriamente prescrito pelo clínico. Caso o utente não utilize o direito de opção, o farmacêutico tem o dever de disponibilizar um medicamento dentro dos cinco mais baratos para o grupo homogéneo específico.

Posteriormente ao ato de dispensa, deve proceder-se à reconfirmação total da receita, tendo em conta não só os parâmetros descritos inicialmente mas também, se os medicamentos foram dispensados em concordância com a receita, preço e organismos corretos e, desde o primeiro dia de Junho de dois mil e doze, tornou-se também importante confirmar sempre se o utente exerceu direito de opção nas condições descritas pela legislação.

Todos os utentes pertencem a uma entidade de assistência médica, que comparticipam alguns medicamentos e outros produtos farmacêuticos em determinadas percentagens. Mesmo quando não pertencem a nenhum subsistema específico, enquadram-se no SNS.

Cada organismo apresenta diferentes percentagens de comparticipação, que podem variar ainda conforme o tipo de medicamento. Especificamente, nos utentes do SNS, o estado comparticipa os medicamentos com base em preços de referência atribuídos aos grupos homogéneos dos mesmos, estabelecendo assim um valor máximo de comparticipação. Por vezes, esta comparticipação pode ainda ocorrer mediante um modelo de complementaridade, existindo um sistema e um subsistema que comparticipam o medicamento, sendo necessário tirar uma fotocópia à receita para que seja possível enviar o original para a entidade principal e a fotocópia para o organismo de complementaridade. Um exemplo específico deste sistema é o regime de complementaridade entre a ADSE e a EDP. Uma vez que a Cova da Beira sempre foi uma região conhecida pela sua forte indústria dos lanifícios, um dos regimes de comparticipação mais verificados é o dos pensionistas da indústria dos lanifícios, no qual se verifica total comparticipação dos medicamentos prescritos.

Devido à elevada prevalência de *diabetes mellitus*, existem protocolos que estabelecem uma comparticipação fixa às tiras e lancetas utilizadas pelos doentes para medição de glicémia. A principal diferença em relação às restantes receitas é que estas são submetidas a um regime de comparticipação específico, mediante o sistema de comparticipação, e não podem conter na mesma receita outros produtos ou medicamentos que não os abrangidos pelo protocolo.

A dispensa de medicamentos estupefacientes e psicotrópicos é regida por um controlo mais apertado e permitida exclusivamente ao farmacêutico, dada as características que estas substâncias apresentam. Hoje em dia, o modelo de receita utilizado para estes medicamentos

é o mesmo que para os restantes medicamentos sujeitos a receita médica, o que aumenta a importância de uma correta e atenciosa verificação da sua autenticidade e validade. A grande diferença entre uma dispensa comum e a dispensa de medicamentos desta classe é a necessidade de tirar duas fotocópias à receita original, a fim de enviar uma delas para a entidade de comparticipação, outra para o INFARMED em conjunto com a lista de movimentos psicotrópicos e estupefacientes e, uma última, que deve de ser armazenada na farmácia por um período mínimo de cinco anos. Outro aspeto importante que ocorre durante a dispensa, tem a ver com o fato de, após ser lido um medicamento pertencente a esta classe, o programa SIFARMA automaticamente requer o preenchimento com os dados do utente identificado na receita. Deste modo, devem ser preenchidos o nome completo, o número do bilhete de identidade e a respetiva data de emissão. Para além dos dados do utente, é ainda necessário o fornecimento do nome completo, da idade e número de bilhete de identidade do adquirente, devendo este ser sempre maior de idade.

7.1. Automedicação

Muitas das vezes, a farmácia é o primeiro local que um utente visita quando tenta resolver os seus problemas de saúde. Nesta medida, o farmacêutico pode promover a automedicação do utente, através da seleção de um MNSRM adequado aos problemas de saúde apresentados com o objetivo de aliviar ou resolver os mesmos. Este profissional de saúde desempenha assim um papel fundamental na orientação do utente, sendo capaz de o informar e educar para a promoção de um automedicação responsável.

O farmacêutico possui a responsabilidade de avaliar corretamente o quadro sintomático do utente, conseguindo através da entrevista realizada distinguir se o quadro clínico apresentado é tratável com medidas não farmacológicas, se exige a administração de um MNSRM ou se está perante uma situação mais grave passível de referência médica. Na grande maioria dos casos, as situações de referência médica compreendem febre associada a náuseas e vômitos, febre acima dos 39°C e durante períodos superiores a três dias, febre em crianças com idade inferior a dois anos e situações de automedicação superiores a sete dias sem melhoria do quadro clínico. Por sua vez, cefaleias ligeiras e moderadas, resfriados, tosse, odontalgias, dismenorreias, diarreia de duração inferior a três dias, herpes labial, afeções músculo-esqueléticas e síndromes varicosos, são situações passíveis de automedicação mediante orientação farmacêutica.

Na seleção de um MNSRM, o farmacêutico deve ainda ter em conta possíveis interações com outros medicamentos que o utente tome, devendo inquirir o mesmo sobre a terapêutica habitual e sobre outros quadros clínicos e patologias crónicas que possa apresentar. O utente deve ser sempre questionado relativamente à duração dos sintomas descritos, devendo a entrevista consistir num diálogo aberto para que se possam identificar o máximo de sintomas

possíveis, uma vez que podem existir mais sintomas do que aqueles que inicialmente conduziram o utente à farmácia. Posteriormente, cabe ao farmacêutico analisar o benefício, risco e custo da terapêutica a instituir, devendo sempre alertar o utente acerca dos possíveis efeitos secundários.

No campo do aconselhamento em automedicação, é de salientar ainda a existência de protocolos específicos que têm como objetivo uniformizar e melhorar a intervenção farmacêutica. São exemplos o protocolo de aconselhamento e cedência de contraceção hormonal de emergência, o protocolo para a cessação tabágica, o protocolo da febre e o protocolo da dor, que constituem os mais utilizados no quotidiano farmacêutico. [13,14]

8.Aconselhamento e dispensa de outros produtos de saúde

8.1. Produtos de dermofarmácia, cosmética e higiene

Conforme referido anteriormente, os produtos englobados nesta categoria encontram-se regulamentados pelo DL 189/2008 de 24 de Setembro, que pretende garantir a proteção da saúde pública e do consumidor final [7]. Embora estes produtos não sejam medicamentos, são muitas vezes prescritos para o tratamento de diversas patologias, sendo importante que exista uma entidade responsável que promova à regulamentação e ao controlo dos mesmos, como o INFARMED em Portugal.

A maioria das vezes, o utente procura estes produtos sem aconselhamento médico, possuindo o farmacêutico um papel fundamental na orientação nesta área. Do mesmo modo, o farmacêutico deve saber diferenciar entre um problema meramente estético e uma condição mais grave que requeira referenciação 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. Por outro lado, este tipo de dispensa pressupõe ainda que seja corretamente identificado o tipo de pele do utente a fim de selecionar os produtos adequados para o mesmo. Dentro de cada gama existem diferentes formulações como cremes, leites nutritivos e loções que apresentam diferentes propriedades sendo adequadas a tipos de pele específicos. Por exemplo, a um utente com pele seca deve ser aconselhada uma preparação emoliente cujo caráter gorduroso seja capaz de hidratar e reter a água tornando a pele menos seca. Por sua vez, a um utente com uma pele mais gordurosa deve ser aconselhada uma preparação menos gordurosa capaz de remover o excesso de sebo, como uma loção. Para além disso, a utentes com risco elevado de reação alérgica devem ser aconselhadas gamas isentas de perfumes, parabenos entre outros constituintes capazes de provocar alergias.

Tendo em conta o elevado grau de oferta que esta classe de produtos apresenta, na Farmácia Mousaco Torrão 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® e Uriage®, sendo estas marcas mais direcionadas para a dermocosmética e tratamento de algumas patologias e pele atópicas. Para uma vertente mais cosmética e estética a farmácia dispõe de outras gamas como a Itherapotek®, Roc® e Avène®. Estes produtos apresentam linhas de rosto, corpo, podologia, protetores solares e tratamento capilar.

8.2. Produtos dietéticos para alimentação especial

Os produtos dietéticos para alimentação especial podem ser classificados em três classes distintas conforme o seu objetivo. Encontram-se no mercado produtos com forma dietética padrão, que constituem uma fonte alimentar única para as pessoas a que se destinam, com forma dietética adaptada, para situações clínicas ou sanitárias específicas que também constituem uma fonte alimentar única e produtos incompletos que podem ter fórmula padrão ou adaptada, no entanto não são adequados para utilização como único regime alimentar.

A composição e a fórmula destes produtos devem basear-se em princípios médicos e nutricionais sólidos. A sua utilização é normalmente definida pelo fabricante, devendo ser segura, benéfica e eficaz no que respeita à satisfação das necessidades nutricionais particulares dos doentes às quais, estes produtos se destinam, em conformidade com dados científicos válidos. Estes alimentos dietéticos são destinados a fins medicinais específicos como doenças oncológicas, doenças gastrointestinais, estados diarreicos/vómitos, situações de *stress* pós-operatório, geriatria, gravidez, situações de disfagia e malnutrição. [15]

8.3. Produtos dietéticos infantis

O leite materno é composto por inúmeras proteínas, anticorpos, lípidos e vitaminas, apresentando um teor em água ideal para o recém-nascido. Para além disso, a amamentação estimula o desenvolvimento psicomotor e social do bebé, melhora a formação da boca e o alinhamento dos dentes e favorece o elo afetivo com a mãe [16].

O farmacêutico deve sempre promover o aleitamento materno, uma vez que este traz inúmeros benefícios de saúde ao recém-nascido. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), o aleitamento deve ser mantido durante os primeiros seis meses de vida, sendo posteriormente introduzidas outras formas de alimentação ao longo do tempo, embora seja aconselhável o prolongamento do aleitamento materno até aos dois anos de idade, complementado com outros tipos de alimentação. [16]

A composição dos leites disponíveis no mercado varia conforme as exigências nutricionais da idade da criança. A farmácia Mousaco Torrão disponibiliza leites para diferentes idades até aos seis meses de idade, uma vez que a partir desta fase devem ser introduzidos alimentos sólidos na dieta da criança, como farinhas láteas ou não láteas. Estas farinhas dissolvem-se em água ou leite apropriado, devendo ser adequadas à criança mediante conhecimento da tolerabilidade apresentada pela mesma.

8.4. Fitoterapia e suplementos nutricionais

Os medicamentos fitoterápicos encontram-se muitas vezes associados à ideia generalizada que, dado tratarem-se de produtos de origem natural, não apresentam contraindicações, interações ou efeitos adversos. O farmacêutico tem o dever de alertar os utentes para a realidade, uma vez que estes produtos são ricos em diversas substâncias que podem interagir com muitos dos medicamentos existentes no mercado. Uteses que requisitem estes produtos devem ser cuidadosamente analisados a fim de verificar se têm alguma terapêutica instaurada ou alguma patologia crónica diagnosticada.

Os suplementos nutricionais são bastante solicitados para corrigir e prevenir desequilíbrios do organismo, provocados essencialmente por fadiga, má alimentação e stress. O mercado encontra-se recheado de produtos desta classe, sendo importante para a farmácia dispor os produtos mais procurados pelos utentes, tentando apresentar uma parte de toda a oferta possível.

8.5. Medicamentos de uso veterinário

Uma vez que a farmácia Mousaco Torrão se trata de uma farmácia de vila, os medicamentos e produtos de uso veterinário são bastante requisitados pelos utentes habituais.

Durante o estágio foram solicitados diversos antibióticos para animais destinados ao consumo humano, quer para prevenção quer para tratamento de algumas patologias associadas à respetiva espécie. A dose do medicamento a utilizar deve ser sempre adaptada ao peso do animal, sendo que a maioria dos medicamentos apresenta uma tabela de conversão para facilitar o cálculo.

Os medicamentos antiparasitários, as pílulas anticoncepcionais e alguns produtos de limpeza são habitualmente pedidos pelos utentes para os seus animais de companhia. O farmacêutico deve ainda alertar sempre para a necessidade de vacinação dos animais, possíveis doenças transmissíveis ao Homem e para idas periódicas ao veterinário.

8.6. Dispositivos médicos

Os dispositivos médicos já definidos acima estão divididos em quatro classes de risco, conforme o possível dano que possam causar ao utente com o seu uso. Esta classificação depende da duração do contato com o organismo, a visibilidade do dispositivo no corpo humano e a anatomia afetada pela utilização (Anexo 3). [8]

9. Outros cuidados de saúde prestados na farmácia onde decorreu o estágio

Com o objetivo de atingir a plenitude do cuidado farmacêutico, diversas atividades podem ser desenvolvidas na farmácia comunitária a fim de melhorar a saúde do utente e o atendimento ao mesmo. A determinação dos parâmetros bioquímicos consiste na medição de indicadores do estado de saúde do doente que podem posteriormente ser seguidos a fim de otimizar a terapêutica administrada ao utente, em cooperação com o clínico.

A Farmácia Mousaco Torrão dispõe de equipamentos e instalações adequadas para desenvolver a determinação: do peso, da glicémia, do colesterol total, ácido úrico, triglicéridos e pressão arterial. De forma a complementar ainda mais o seguimento do utente é ainda possível calcular o índice de massa corporal, bem como o risco cardiovascular. Estes testes são determinantes no seguimento e no rastreio de diversas patologias como a obesidade, diabetes, dislipidémias e hipertensão arterial, permitindo ao utente controlar a sua situação clínica mais facilmente, proporcionando também a avaliação da terapêutica e da evolução clínica realizada pelos profissionais de saúde.

Os testes de colesterol e triglicéridos são habitualmente requisitados por utentes em terapêutica com estatinas e fibratos, do mesmo modo que os utentes medicados com antidiabéticos orais solicitam frequentemente medições de glicémia, sendo por vezes pedidos ambos os testes em alguns utentes que apresentam ambas as patologias. Os referidos testes assentam no uso de reagentes químicos secos que se encontram impregnados nas tiras de determinação, embora sejam utilizados dois equipamentos diferentes, um para a medição do colesterol e dos triglicéridos e outro para a glicémia. Para cada parâmetro existe uma tira específica com um determinado código numérico que deve coincidir com o apresentado pelo aparelho, antes de efetuar a medição. Nesta tira coloca-se a amostra de sangue, obtida por simples punção capilar num dedo do utente, atingindo-se posteriormente o valor relativo ao parâmetro medido. Embora não tenha sido realizada nenhuma análise ao ácido úrico durante o período de estágio, o procedimento é semelhante ao descrito anteriormente.

Muitos utentes requisitam também a medição da tensão arterial, desde doentes com hipertensão diagnosticada que pretendem controlar os valores até outros utentes mais esporádicos que solicitam o serviço devido a apresentarem algum sintoma indicativo de possível variação de pressão arterial, como fraqueza, estados de ansiedade entre outros. Antes de realizar a medição da pressão arterial é importante questionar se o utente tomou café, fumou ou praticou exercício físico no espaço de trinta minutos que antecedem a medição, realizando o procedimento somente após ter a certeza que a pessoa se encontra em repouso há pelo menos cinco minutos.

Os valores obtidos devem ser analisados tendo em conta todo o enquadramento clínico e terapêutico do utente e não devem ser encaradas como diagnóstico final. Embora valores muito desviados possam constituir uma situação de alarme para o utente, pode-se tratar de uma situação pontual, sendo útil realizar nova determinação noutra dia. Caso o utente possua uma doença crónica diagnosticada e tenha uma terapia instituída deve ser analisada a adesão terapêutica e só, posteriormente, referenciar para o médico se for necessário um ajuste de dose. Por outro lado, numa situação nova e sem diagnóstico clínico prévio nem terapêutica instituída, o doente deve ser sempre referenciado para o médico a fim de ser sujeito a uma apreciação mais minuciosa. O farmacêutico possui sempre o dever de prestar todo o aconselhamento possível relativamente à situação clínica em causa.

10. Preparação de medicamentos

Um medicamento manipulado consiste em qualquer forma magistral ou preparado farmacêutico que seja manipulado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico. Estes medicamentos devem ser prescritos em preparados conforme a legislação em vigor [17] e feitos de acordo com as Boas Práticas de Fabrico de Manipulados que são definidas pela Portaria 594/2004, de 2 de junho [3]. Para além disso, todas as matérias-primas utilizadas na preparação destes produtos devem obrigatoriamente cumprir as exigências da respetiva monografia, estando esta obrigatoriamente inscrita na Farmacopeia Portuguesa ou numa farmacopeia de outro estado membro da União Europeia. Do mesmo modo, estas matérias-primas têm de ser acompanhadas pelo respetivo boletim de análise aquando a entrega na farmácia.

Neste momento, o estado comparticipa 30% do preço total de todos os medicamentos manipulados, desde que os mesmos estejam inscritos na Farmacopeia Portuguesa, no Formulário Galénico Nacional ou na lista de medicamentos manipulados comparticipáveis disponível em Diário da República [18]. A prescrição tem que ser feita em modelo normal de receita devendo apenas constar o nome do medicamento manipulado e estar indicado “Faça Segundo a Arte” (FSA).

A preparação de um manipulado exige o preenchimento de uma ficha de preparação de acordo com o Formulário Galénico Nacional, onde deve ser registado o número de lote do medicamento, matérias-primas utilizadas e respetivos lotes e validades, procedimento, dados do médico prescriptor, dados do utente, ensaios de controlo de qualidade efetuados, prazo de validade do produto final e condições de conservação. O preço do produto final deve ser calculado de acordo com a legislação em vigor [3], tendo em conta o custo total das matérias-primas e matérias de embalagens utilizadas, juntamente com o valor dos honorários de preparação.

O medicamento deve ser devidamente rotulado, apresentando toda a informação necessária. O rótulo deve conter a identificação da farmácia e identificação da direção técnica responsável, nome do utente, composição, número de lote conforme a folha de registo, prazo de utilização, condições especiais de conservação, instruções de modo a fomentar o uso correto da medicação, via de administração e posologia.

A documentação proveniente do serviço prestado deve ser arquivada na farmácia durante um período mínimo de três anos, sendo parte integrante destes documentos o registo dos controlos e de calibrações dos aparelhos de medida, os registos referentes às preparações efetuadas, juntamente com a respetiva receita e rótulo e o arquivo dos boletins de análise de todas as matérias-primas, sendo referido o seu fornecedor.

11. Contabilidade e gestão

11.1. Processamento de receituário e faturação a entidades participantes.

O receituário dos diversos organismos é sujeito a um tratamento mensal para que o valor correspondente à percentagem comparticipada possa ser reembolsado à farmácia. Quando a receita é aviada, o SIFARMA atribui automaticamente um número de receita, agrupando-a num lote de trinta receitas, conforme o organismo a que esta pertence. Na altura do fecho do mês, procede-se à impressão dos verbetes de identificação para todos os organismos. Este documento contém obrigatoriamente o número do respetivo lote e a quantidade de receitas do mesmo, o número de embalagens referentes a cada receita, o PVP, os encargos para o utente e o valor a pagar pela entidade participante. Este verbete deve ser validado com o carimbo da farmácia e anexado às receitas, antes de enviar às entidades participantes. Na farmácia Mousaco Torrão, a emissão das faturas e de todos os documentos respetivos, ao final do mês, é efetuada pela diretora técnica.

Por fim, é ainda necessário enviar ao INFARMED os registos relativos aos psicotrópicos e estupefacientes conforme os prazos exigidos. Estes registos devem ser executados conforme

o descrito pela legislação e é apresentado na tabela 1, devendo os duplicados dos documentos ser arquivados durante um período mínimo de 3 anos. [19]

Estupefacientes e psicotrópicos	Registo de Entradas	Registo de Saídas	Balanço	Duplicado das receitas
Sujeitos a receita médica especial, em triplicado	Trimestralmente, até 15 dias após o término de cada trimestre		Anualmente, até ao 3º dia de Janeiro do ano seguinte	Mensalmente, até ao 8º dia do mês seguinte
Sujeitos a receita médica normal	Não se Aplica			Não se aplica

Tabela 1 - Requisitos de Envio ao INFARMED para medicamentos especiais [19];

11.2. Documentos contabilísticos e princípios fiscais

O profissional farmacêutico deve possuir conhecimentos básicos de gestão, uma vez que é preciso contactar diariamente com uma série de documentos sendo necessário saber interpretar e manusear corretamente, para o bom funcionamento do estabelecimento. (Anexo 4).

Para melhor entendimento dos princípios fiscais base de uma farmácia, é imprescindível primeiramente definir imposto como uma prestação patrimonial estabelecida por lei, sendo a mesma coativa e sem caráter sancionatório. Estas prestações são unilaterais e definitivas, sempre a favor do estado ou outra entidade designada para a realização de fins públicos. Especificamente, no enquadramento fiscal português, uma farmácia lida com três impostos diferentes, o Imposto sobre Valor Acrescentado (IVA) que é aplicado ao preço final do produto vendido, o Imposto sobre Rendimento de pessoas Singulares (IRS) que é relativo ao ordenado de todos os funcionários do estabelecimento, sendo o valor variável conforme a particularidade da situação e o Imposto sobre Rendimentos de pessoas Coletiva (IRC) que é calculado pelas finanças conforme o rendimento gerado pela farmácia durante um determinado ano de funcionamento.

12. Conclusão

A realização do estágio foi, sem dúvida, um importante e determinante complemento de toda a formação adquirida ao longo dos anos curriculares do mestrado integrado em Ciências Farmacêuticas, tendo esta formação sido indispensável para o aproveitamento do mesmo.

Conforme referido no código deontológico da Ordem dos farmacêuticos: “a primeira e principal responsabilidade do farmacêutico é para com a saúde e o bem-estar do doente e da

pessoa humana em geral, devendo pôr o bem dos indivíduos à frente dos seus interesses pessoais ou comerciais e promover o direito das pessoas a terem acesso a um tratamento com qualidade, eficácia e segurança”. Como tal, e apoiado neste código, o farmacêutico exerce a sua profissão de uma forma responsável e digna, trabalhando sempre para o bem-estar do doente e das pessoas em geral.

A atividade, como agente de saúde pública e especialista do medicamento, a preocupação na qualidade dos serviços prestados, o contato personalizado, a disponibilidade do Farmacêutico e o espaço privilegiado da Farmácia são cada vez mais serviços reconhecidos pela Sociedade. A sociedade atual cada vez mais confia e solicita os serviços do farmacêutico sendo da obrigação do mesmo corresponder às expectativas.

O desempenho da profissão farmacêutica depende intrinsecamente de um aperfeiçoamento e uma atualização permanente, tanto no domínio técnico-científico como ao nível das relações interpessoais, para que a sua atuação se revele dinâmica, responsável e acima de tudo competente.

Bibliografia

- [1] INFARMED, G.J.e.C.d., Deliberação nº 2473/2007, de 28 de Novembro: *Aprova os regulamentos sobre áreas mínimas das farmácias de oficina e sobre os requisitos de funcionamento dos postos farmacêuticos móveis*, 2007;
- [2] Saúde M. d., *Decreto de Lei nº 307/2007, de 31 de Agosto: Regime Jurídico das Farmácias de Oficina*, in *Diário da República*, 2007;
- [3] INFARMED G.J.e.C.d., *Portaria n.º 594/2004 de 2 de Junho*, in *Legislação Farmacêutica Compilado*, 2004;
- [4] República, A. d., *Decreto de Lei nº 288/2001 de 10 de Novembro*, in *Diário da República*, 2001;
- [5] Farmacêuticos O., *Boas Práticas Farmacêuticas para a Farmácia Comunitária*, Conselho Nacional de Qualidade, 3ª Edição, 2009;
- [6] República A. d., *Decreto de Lei n.º 242/2000 de 26 de Setembro*, in *Diário da República*, 2000;
- [7] República A.d., *Decreto de Lei nº 189/2008 de 24 de Setembro*, in *Diário da República*, 2008;
- [8] República A.d., *Decreto de Lei n.º 145/2009 de 17 de Junho*, in, *Diário da República*, 2009;
- [9] INFARMED, G.J.e.C.d., *Decreto-Lei nº 145/2009 de 17 de Junho*, in *Legislação Farmacêutica Compilada*, 2009;
- [10] República A. d., *Decreto de Lei n.º 15/93 de 22 de Janeiro*, in *Diário da República*, 1993;
- [11] República A. d., *Portaria n.º 198/2011*, in *Diário da república*, 2011;
- [12] República, A.d., *Portaria n.º 137-A/2012*, in *Diário da Republica*, 2012;
- [13] GERAL, ND.C.P.A.P.D.M.D.C., *Recomendações para o tratamento farmacológico da Dor*. 2007;
- [14] INFARMED G.J.e.C.d., *Portaria nº 769/2004, de 1 de Julho*, in *Legislação Farmacêutica Compilada*, 2004;

[15] Agricultura M. d., *Decreto de Lei nº 216/2008 de 11 de Novembro*, in *Diário da República*, 2008;

[16] Saúde O. M., *The optimal duration of exclusive breastfeeding - Report of an Expert Consultation March*, 2001;

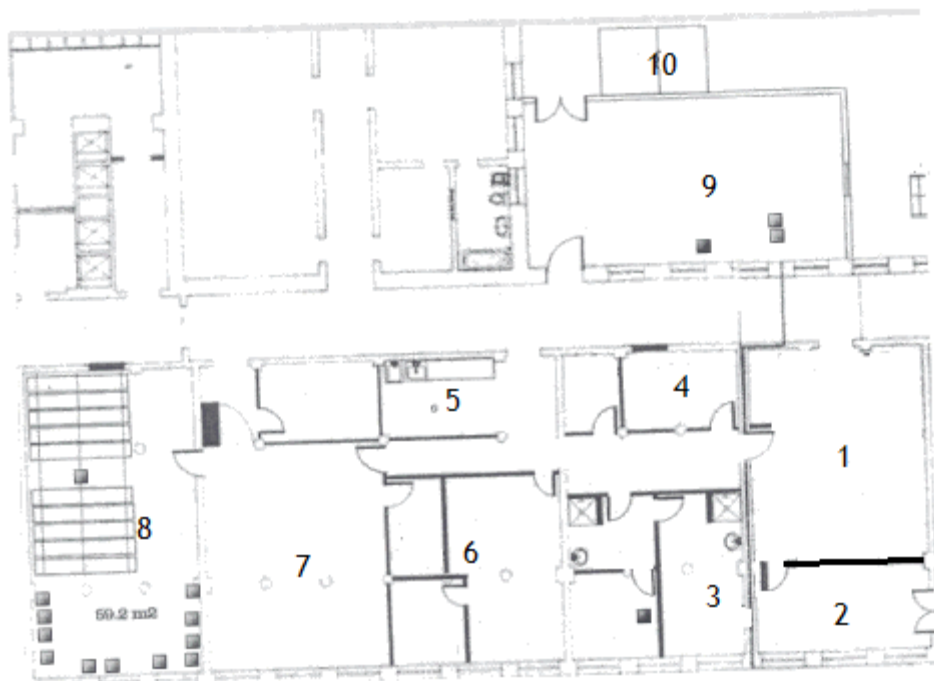
[17] República, A. d., *Decreto de Lei nº 95/2004 de 22 de Abril*, in *Diário da República*, 2004;

[18] República, A.d., *Decreto de Lei. nº 48-A/2010, de 13 de Maio*, in *Diário da República*, 2010;

[19] Farmácias A. N., A., *Circular nº112/2005: Estupefacientes e psicotrópicos*, 2005;

Anexos


Anexo 1 - Planta dos SF da ULS-Guarda



- 1 Ambulatório
- 2 Gabinete da Direção Técnica
- 3 Laboratório de Preparações Farmacêuticas Não Estéreis
- 4 Biblioteca e Arquivo
- 5 Lavagem e Desinfecção
- 6 Serviços Administrativos
- 7 Sala de Dose Unitária
- 8 Armazém de Medicamentos
- 9 Armazém de Grandes Volumes
- 10 Cais de Acesso

Anexo 2 - Modelo de Receita Médica do SNS


Receita Médica Nº.



000000001881

Local de prescrição

Vinheta do local



Ministério da Saúde

UTENTE


Utente: _____

Telefone: _____

Entidade responsável: _____

N.º de beneficiário: _____

Dr. _____



*M _____

Dr. _____

Especialidade _____

Contacto telefónico _____

	Designação do medicamento, dosagem, forma farmacéutica, dimensão da embalagem	N.º	Extenso	Identificação óptica
1	PAROXETINA 20mg cf. 10	1	uma	
	Posologia: s/ 1cf / dia.			
2	PANITIDINA 150mg cf. 20	1	uma	
	Posologia: s/ 1cf. 2x / dia.			
3				
	Posologia			
4				
	Posologia			

Assinatura do médico prescriptor: _____

Data: 2003 / 01 / 01

Validade: 10 DIAS ÚTEIS

Modelo n.º 1806 (Exclusivo da INCM, S. A.)

Autorizo o fornecimento ou a dispensa de um medicamento genérico

Assinatura do médico prescriptor: _____

Não autorizo o fornecimento ou a dispensa de um medicamento genérico

Assinatura do médico prescriptor: _____

Anexo 3 - Dispositivos Médicos e Respetivas

Classes de Risco

Dispositivos médicos de classe I	Sacos para colheita de urina, sacos para ostomia, fraldas e pensos para incontinência, meias de compressão, pulsos, meias e joelheiras elásticas, canadianas, cadeiras de rodas, seringas sem agulha, soluções para irrigação ou lavagem mecânica, dispositivos invasivos, destinados a serem utilizados na cavidade oral até à faringe, no canal auditivo até ao tímpano ou na cavidade nasal, algodão hidrófilo e ligaduras.
Dispositivos médicos da classe IIa	Compressas de gaze hidrófila, pensos de gaze não impregnados com medicamentos, adesivos oclusivos tópicos, agulhas das seringas e lancetas.
Dispositivos médicos classe IIb- médio risco	Material destinado ao tratamento de feridas que atingem de forma substancial e extensa a derme, pelo que a cicatrização exige intervenção secundária, canetas de insulina, preservativos, dispositivos destinados especificamente a serem utilizados na desinfeção, limpeza, lavagem ou hidratação de lentes de contato.
Dispositivos médicos classe III - alto risco	Preservativos com espermicida; pensos com medicamentos, dispositivos implantáveis utilizados na contraceção ou invasivos de utilização a longo prazo.

Anexo 4 - Documentos Contabilísticos em Gestão de Farmácia Comunitária

Fatura	<ul style="list-style-type: none"> - É o documento que caracteriza a encomenda, quanto à qualidade, quantidade, preço e taxas de IVA, devendo ser conferida após a sua chegada à farmácia com a guia de remessa.
Guia de remessa	<ul style="list-style-type: none"> - É o documento que acompanha obrigatoriamente a mercadoria desde o fornecedor até à farmácia. - Permite conferir a encomenda.
Recibo	<ul style="list-style-type: none"> - É o documento que comprova um pagamento efetuado pela farmácia.
Nota de devolução	<ul style="list-style-type: none"> - É o documento emitido aquando do processamento de uma devolução. - Deve conter a identificação da farmácia, o número da nota de devolução, a identificação do fornecedor, a enumeração dos produtos, referindo a quantidade, os preços de venda e de custo, a taxa de IVA e o motivo de devolução.
Nota de crédito	<ul style="list-style-type: none"> - É o documento enviado pelo fornecedor aquando da receção da nota de devolução.
Inventário	<ul style="list-style-type: none"> - Consiste na quantificação de todas as imobilizações físicas da farmácia. No final de cada ano civil procede-se informaticamente à listagem do inventário. Este discrimina todos os produtos existentes na farmácia, sendo depois remetido aos serviços de contabilidade.
Balanço	<ul style="list-style-type: none"> - Constitui um inventário valorizado de todos os bens (equipamentos, existências) e direitos (dívidas dos utentes, créditos do SNS e de subsistemas de saúde) da farmácia, assim como de todas as suas obrigações (dívidas da empresa a terceiros). - Através do balanço pode apurar-se a situação financeira da farmácia, servindo o mesmo de suporte documental ao património da empresa. - O balanço deve ser feito no final de cada ano civil.
Balancete	<ul style="list-style-type: none"> - É um complemento ao balanço realizado todos os meses pelo contabilista. - O balancete permite que o farmacêutico vá avaliando a situação económica da farmácia.