

Mariana Elisabete Rodrigues Caldas

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Electro-responsive controlled drug delivery from melanin nanoparticles”, referentes à Unidade Curricular “Estágio Curricular”, sob a orientação da Dra. Fátima Silva, Dra. Teresa Almeida e da Professora Doutora Ana Cláudia Santos, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

setembro 2018



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Mariana Elisabete Rodrigues Caldas, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2012133041, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Electro-responsive controlled drug delivery from melanin nanoparticles” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade curricular de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 07 de setembro de 2018

(Mariana Elisabete Rodrigues Caldas)

Agradecimentos

Ao meu avô César, por me ensinar a lutar por todos os meus sonhos. Será sempre o pilar da minha vida e a quem devo tudo o que sou e alcancei;

À minha Família que sempre esteve ao meu lado principalmente aos meus irmãos por serem a minha força e motivação em cada passo que dava;

À Damiana por todo o apoio e amor que me deu, os sorrisos que me fez esboçar nos momentos mais difíceis e por ser a calma de que tanto precisei;

À Família que fui (re)encontrando e à que me acolheu como se deles fizesse parte, aconchegando-me e dando força para lutar em todas as marés;

Aos meus amigos que me permitiram crescer e ultrapassar todos os obstáculos criando memórias que durarão eternidades;

À Professora Doutora Ana Cláudia por desde o início acreditar em mim e ser exímia nos conhecimentos que me foi transmitindo;

À equipa dos “3B’s Research Group” por me acolherem e serem a minha porta de entrada para o mundo da investigação;

À equipa da Farmácia Santos, principalmente à Dra. Fátima Silva, por me ter transmitido valores tanto pessoais como profissionais que me fizeram crescer como pessoa e futura profissional;

Aos Serviços Farmacêuticos do Centro Hospitalar do Porto, em especial à Dra. Teresa Almeida por toda a dedicação em proporcionar um estágio completo integração na equipa de farmacêuticos com elevado sentido de profissionalismo e dedicação;

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, por me permitir realizar um dos sonhos que sempre tive presente, de me tornar Farmacêutica.

RESUMO

A liberação de fármacos de forma controlada por estímulos elétricos tem atraído um enorme interesse como um dos sistemas mais atrativos concebidos para melhorar a eficácia da terapêutica, através do controlo da quantidade de fármaco libertada num determinado período de tempo e sítio alvo. Dessa forma, têm sido explorados “materiais inteligentes” que são capazes de modular as suas propriedades físicas, através de estímulos elétricos, desencadeando a liberação do fármaco. Assim, neste trabalho é reportado um método simples para o desenvolvimento de sistemas liberação controlada de fármacos através de estímulos elétricos, utilizando nanopartículas de melanina como nanotransportador, funcionalizadas com polidopamina e polipirrol, de forma a controlar de forma precisa a liberação de dexametasona. As nanopartículas funcionalizadas com os polímeros apresentaram um tamanho de partícula de 376.77 ± 62.05 nm, um índice de polidispersão de 0.26 ± 0.09 e um potencial-zeta de -32.59 ± 3.61 mV, apresentando também uma forma esférica característica confirmada por microscopia eletrónica de varrimento e microscopia de força atómica. As análises efetuadas através de espectroscopia de infravermelhos com transformadas de Fourier e espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios-X permitiram confirmar a deposição dos polímeros na superfície das nanopartículas funcionalizadas. A incorporação da dexametasona nas nanopartículas funcionalizadas foi concluída com uma eficiência de incorporação de $94.45 \pm 0.63\%$, o que levou a um aumento no potencial-zeta para -40.34 ± 4.65 mV, atribuída à natureza aniónica do fármaco. Foram realizados estudos de liberação da dexametasona *in vitro* sem estímulos, obtendo-se uma liberação de fármaco máxima inferior a 10%. Quando foi aplicada uma corrente elétrica como estímulo, a liberação do fármaco foi aumentada, obtendo-se um máximo de 32.39% após 24 h e da aplicação de uma voltagem de $-4:4$ V e frequência de estímulo de 0.5 s⁻¹. O sistema de liberação controlada de fármaco desenvolvido é um sistema que responde a estímulos elétricos, conseguindo, portanto, ultrapassar a falta de eficácia e estabilidade dos sistemas de liberação de fármacos tradicionalmente utilizados.

Palavras-chave: melanina; biopolímeros; material natural; nanopartícula; liberação de fármaco; liberação de fármaco sensível a estímulos elétricos.

ABSTRACT

Electro-responsive controlled drug delivery has been attracting an increasing interest as one of the on-demand drug delivery systems, which aims to improve the efficacy of therapeutics by controlling the amount of drug release at a specific time and target site. "Smart-materials" have been exploited for this matter, as they can modulate their inherent physical properties by means of external stimuli, triggering the release of an active agent. Herein, we report a simple method to develop electro-responsive controlled drug delivery systems using melanin nanoparticles (MNPs) as the nanocarrier, functionalized with polydopamine and polypyrrole (FMNPs), used to precisely control the release of dexamethasone (Dex). FMNPs showed 376.77 ± 62.05 nm of particle size, a polydispersity index of 0.26 ± 0.09 and a zeta-potential of -32.59 ± 3.61 mV, and a characteristic spherical shape which was confirmed by scanning electron microscopy and atomic force microscopy. Fourier-transform infrared spectrometry and X-ray photoelectron spectroscopy analysis were able to confirm the successful deposition of polymers on the surface of FMNPs. The incorporation of Dex on FMNPs (DexFMNPs) was achieved with an incorporation efficiency of $94.45 \pm 0.63\%$ and the increase of zeta-potential to -40.34 ± 4.65 mV was attributed to the anionic nature of Dex. *In vitro* Dex release studies were performed without stimuli, with a maximum Dex release below 10%. Applying an increased voltage as stimuli the release of Dex is augmented, with a maximum of 32.39% after 24 h upon a voltage of -4:4 V and a stimuli frequency of 0.5 s^{-1} application. The designed controlled drug delivery system is an electro-responsive system that can improve the lack of efficiency and stability of the current traditional systems.

Keywords: melanin; biopolymer; green material; nanoparticle; drug delivery; stimuli electro-responsive drug release.

ÍNDICE

RESUMO.....	3
ABSTRACT	4
ABREVIATURAS.....	9
ABBREVIATIONS.....	10
PARTE I - RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA	11
1. INTRODUÇÃO	12
2. FARMÁCIA SANTOS.....	13
2.1. HISTÓRIA E LOCALIZAÇÃO	13
2.2. HORÁRIO DE FUNCIONAMENTO E EQUIPA.....	13
2.3. DESCRIÇÃO DO ESPAÇO	14
3. ANÁLISE SWOT	16
3.1. ANÁLISE INTERNA.....	16
3.1.1. PONTOS FORTES	16
3.1.2. PONTOS FRACOS.....	18
3.2. ANÁLISE EXTERNA.....	20
3.2.1. OPORTUNIDADES.....	20
3.2.2. AMEAÇAS.....	22
4. CONCLUSÃO	23
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25
PARTE II - RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR EM FARMÁCIA HOSPITALAR	26
1. INTRODUÇÃO	27
2. CENTRO HOSPITALAR DO PORTO	28
2.1. SERVIÇOS FARMACÊUTICOS	28
2.2. FUNÇÃO DO SERVIÇO FARMACÊUTICO - CIRCUITO DO MEDICAMENTO	28
3. ANÁLISE SWOT	29
3.1. ANÁLISE INTERNA.....	29

3.1.1.	PONTOS FORTES	29
3.1.2.	PONTOS FRACOS.....	35
3.2.	ANÁLISE EXTERNA.....	36
3.2.1.	OPORTUNIDADES.....	36
3.2.2.	AMEAÇAS.....	37
4.	CONCLUSÃO.....	39
5.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40
PARTE III – MONOGRAFIA “ELECTRO-RESPONSIVE CONTROLLED DRUG DELIVERY FROM MELANIN NANOPARTICLES”		41
1.	INTRODUCTION.....	42
2.	MATERIALS AND METHODS.....	44
4.	CONCLUSION	64
5.	REFERENCES	65

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Síntese de pontos fortes e pontos fracos relativos à análise interna do Estágio Curricular em Farmácia Comunitária.....	20
--	----

Tabela 2: Síntese de oportunidades e ameaças relativos à análise externa do Estágio Curricular em Farmácia Comunitária.....	23
--	----

Tabela 3: Síntese de pontos fortes e pontos fracos relativos à análise interna do Estágio Curricular em Farmácia Hospitalar.	36
--	----

Tabela 4: Síntese de oportunidades e ameaças relativas à análise externa do Estágio Curricular em Farmácia Hospitalar.	39
--	----

Table 1: Results obtained for particle size, polydispersity index (PDI), zeta-potential and incorporation efficiency (IE%) for melanin nanoparticles (MNPs), functionalized melanin nanoparticles (FMNPs) and dexamethasone (Dex)-loaded FMNPs-I.	50
---	----

Table 2: Composition of functionalized melanin nanoparticles (FMNPs), regarding the different mass ratio between dopamine (Da) and pyrrole (Py) monomers (being pyrrole mass equal to 25 mg).	52
Table 3: Elementary analyses performed by X-ray photoelectron spectroscopy (XPS).....	58
Table 4: Variable design factors for the electrically controlled dexamethasone-loaded functionalized nanoparticle's (ESDexFMNPs) delivery system. Voltage was set at low (-0.5/0.5 V), mid (-2/2 V) and high (-4/4 V); different periods (2, 5, 10 s) which are equivalent of low (0.1 s ⁻¹), mid (0.2 s ⁻¹) and high (0.5 s ⁻¹) frequencies and the corresponding duration of application time (1.60 min, 3.33 min, 8.33 min). Result of the cumulative release of Dex after 24 h are also displayed.....	60

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Esquema de organização semanal do Estágio em Farmácia Hospitalar no CHP	27
Figure 1: Scanning electron microscopy (SEM) images of melanin nanoparticles (MNPs). (a) MNPs captured using low-resolution SEM (displaying the size measurements); (b) MNPs image acquired with an high-resolution SEM equipment.....	49
Figure 2: Scanning electron microscopy (SEM) images of functionalized melanin nanoparticles (FMNPs): (a) FMNPs-1; (b) FMNPs-2; (c) FMNPs-3 and (d) FMNPs-4.....	51
Figure 3: (a) Melanin nanoparticles (MNPs) showing a smooth surface; (b) FMNPs-4, which surface displays a different shade around the surface of the nanoparticle (NP) corresponding to the polydopamine (PDA) and polypyrrole (PPy) functionalization.....	53
Figure 4: Atomic Force Microscopy (AFM) images of: a) MNPs, confirming the aggregation between the particles; b) FMNPs-1, with visible NPs and fragments.	55
Figure 5: Fourier-transform infrared (FTIR) spectroscopy spectra of dopamine (Da), pyrrole (Py), melanin nanoparticles (MNPs), functionalized melanin nanoparticles (FMNPs-1), dexamethasone and dexamethasone-loaded FMNPs-1.....	56
Figure 6: X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) wide-scan spectra of MNPs and functionalized melanin nanoparticles (FMNPs-1, FMNPs-2 and FMNPs-3).....	57

Figure 7: Dexamethasone (Dex) release profile of free dexamethasone methanolic solution (1 mg/mL) and dexamethasone-loaded functionalized melanin nanoparticles (DexFMNPs)...60

Figure 8: Dexamethasone release profile of dexamethasone-loaded functionalized melanin nanoparticles (DexFMNPs) non-stimulated (control) and dexamethasone-loaded functionalized melanin nanoparticles after electrical stimulation (ESDexFMNPs) with different variable design factors: voltage (-0.5/0.5V; -2/2V; -4/4V) and stimuli frequency ($0.1s^{-1}$; $0.2s^{-1}$; $0.5s^{-1}$).62

Figure 9: Cumulative percentage release of dexamethasone (Dex) from Dex-loaded functionalized melanin nanoparticles after electrical stimulation (ESDexFMNPs) in function of frequency (s^{-1}) and for each stimuli voltage applied (V), post 24h.....63

ABREVIATURAS

AO – Assistentes Operacionais
APF – Armazém De Produtos Farmacêuticos
CA – Conselho de Administração
CAT – Centro De Atendimento De Toxicodependentes
CdM – Circuito Do Medicamento
CE – Contracetivo De Emergência
CFT – Comissão de Farmácia e Terapêutica
CHP – Centro Hospitalar do Porto
CMIN – Centro Materno Infantil do Norte
CO – Contracetivos Orais
COC – Contracetivo Oral Combinado
CTX – Citotóxicos
DCI – Denominação Comum Internacional
DIDDU – Distribuição Individual Diária em Dose Unitária
EC – Ensaio Clínicos
FH – Farmacêutico Hospitalar
FNM – Formulário Nacional Do Medicamento
GHAF – Gestão Hospitalar De Armazém E Farmácia
ME – Medicamentos Experimentais
MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
MM – Medicamentos Manipulados
MNSRM – Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica
MSRM – Medicamentos Sujeitos a Receita Médica
OP – Ordens de Preparação
PF – Produto Farmacêutico
RAM – Reações Adversas Medicamentosas
RCM – Resumo Das Características Do Medicamento
SF – Serviços Farmacêuticos
TDT – Técnicos de Diagnóstico e Terapêutica
UFA – Unidade de Farmácia de Ambulatório
UFO – Unidade de Farmácia Oncológica

ABBREVIATIONS

AFM – Atomic Force Microscopy

APS – Ammonium Persulfate

Da – Dopamine

Dex – Dexamethasone

DexFMNPs – Dex-loaded Functionalized Melanin Nanoparticles

DLS – Dynamic Light Scattering

ELS – Electrophoretic Light Scattering

ESDexFMNPs – Dex-Loaded Functionalized Melanin Nanoparticles After Electrical Stimulation

FMNPs – Functionalized Melanin Nanoparticles

FTIR – Fourier-Transform Infrared Spectroscopy

ICPs – Inherently Conductive Polymers

IE – Incorporation Efficiency

MNPs – Melanin Nanoparticles

NPs – Nanoparticles

OTC – Over-The-Counter

PBS – Phosphate Buffered Saline

PDa – Polydopamine

PDI – Polydispersity Index

PPy – Polypyrrole

Py – Pyrrole

SEM – Scanning Electron Microscopy

STEM – Scanning Transmission Electron Microscopy

SWOT – Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats

TRIS – Tris(hydroxymethyl)aminomethane

UV – Ultraviolet

XPS – X-Ray Photoelectron Spectroscopy

ZP – Zeta-Potential



PARTE I - RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA

Farmácia Santos – Braga

janeiro – maio de 2018

I. INTRODUÇÃO

A Farmácia Comunitária, tal como o nome indica, é a estrutura de cuidados de saúde que se encontra mais acessível para os utentes, logo para a comunidade. Os farmacêuticos têm o privilégio de poder contactar com a grande parte da população de uma forma mais alargada do que os restantes profissionais de saúde, não só pela facilidade de acesso, como pela gratuidade da maioria dos serviços prestados. O farmacêutico comunitário além de poder avaliar o estado de saúde da população está apto para acompanhar a terapêutica e detetar doenças precocemente. O objetivo é sempre promover a saúde e bem-estar da população proporcionando o direito a um tratamento com qualidade, segurança e eficácia. Além disso, o farmacêutico tem de estar apto para esclarecer qualquer tipo de dúvida que surja relativamente a um medicamento ou terapêutica utilizada para garantir que esta seja feita da forma mais correta e eficaz.

O estágio curricular em Farmácia Comunitária permite que nós, futuros farmacêuticos, possamos consolidar todos os conhecimentos que obtivemos durante o Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas e transpor para a realidade. Esta etapa possibilita o nosso crescimento como profissionais de saúde e proporciona que sejam desenvolvidas as nossas capacidades sociais e éticas inerentes a um farmacêutico que trabalha para a comunidade.

O meu estágio foi realizado na Farmácia Santos, em Braga, com a Orientação da Doutora Maria Fátima Silva. Desde o início do estágio foram-me transmitidos os valores éticos e profissionais que um bom profissional de saúde deve apresentar. A equipa sempre demonstrou enorme dedicação para que a minha aprendizagem fosse excelente e todas as minhas dúvidas pudessem ser esclarecidas, de modo a que pudesse transmitir da melhor forma a informação para os utentes. Inicialmente aprendi o modo de funcionamento da farmácia, incluindo os protocolos a seguir e de forma a aumentar o meu contacto com os medicamentos e produtos da farmácia, fui direcionada para a gestão de *stocks*, receção e armazenamento de produtos no *BackOffice*. Desde o início que fui observando alguns atendimentos por parte de colegas, além de determinações bioquímicas e atendimentos personalizados. Após algumas semanas, comecei a participar nos atendimentos com a supervisão da Diretora Técnica para ter a oportunidade de aprender como lidar e proceder em todo o tipo de situações. Quando me encontrei apta para fazer o atendimento independente, fi-lo sempre com total responsabilidade transmitindo todos os conhecimentos que considerava necessários e oportunos. As tarefas do *BackOffice* eram divididas por todos os colegas, sendo crucial que tudo fosse bem coordenado entre todos, processo no qual sempre tentei dar o máximo de apoio.

Relatório de Estágio Curricular em Farmácia Comunitária

Este relatório tem por base uma Análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*), permitindo sintetizar de forma crítica o meu percurso na Farmácia Santos.

2. FARMÁCIA SANTOS

2.1. HISTÓRIA E LOCALIZAÇÃO

A Farmácia Santos, localizada no centro da cidade de Braga faz parte de um grupo de farmácias no norte do país, o Grupo Sofarma que engloba as farmácias Birra, Santo Ovídio, Braga, Guifões, Gomes e Monte da Virgem. Este grupo de farmácias caracteriza-se pela modernização de antigos estabelecimentos farmacêuticos e criação de serviços para a comunidade, prezando por prestar um serviço de qualidade num ambiente informal e descontraído, cujo objetivo é o bem-estar físico e mental do utente.

Situada na freguesia de São Vicente, na rua Conselheiro Januário, a Farmácia Santos, prima pela proximidade com a Escola Secundária Sá de Miranda, com o Hospital Privado de Braga e com o Centro de Atendimento de Toxicodependentes (CAT) de Braga. A sua localização central faz com que os utentes que a frequentam sejam bastante heterogêneos e as suas necessidades diferentes, além do seu funcionamento ser ininterrupto. Apesar de ter sofrido mudanças de instalações, os clientes já há muito fidelizados continuaram a sê-lo devido aos bons serviços prestados pelos funcionários mais antigos, como a Dra. Fátima Silva e os Técnicos José Azevedo e Augusto Silva.

2.2. HORÁRIO DE FUNCIONAMENTO E EQUIPA

A Farmácia Santos encontra-se aberta 24h, 365 dias por ano, sendo uma mais valia para os utentes, pois podem recorrer sempre que desejem aos seus serviços. No entanto, da 1h às 8h o atendimento ao público é feito através de um postigo por razões de segurança. Os horários dos funcionários são rotativos com duas folgas semanais.

A equipa é composta por 4 farmacêuticas: a Diretora Técnica Dra. Fátima Silva, a Dra. Rita Andrade, a Dra. Diana Basto e a Dra. Ana Clara Sá, e 14 técnicos: Alexandre Jorge, Ana João Sousa, Augusto Silva, Christophe Silva, Cristiana Costa, Debora Martins, João Paulo Rodrigues, Mariana Leitão, Marta Ferreira, Patrícia Costa, Sara Cristina Lopes, Sara Rafaela Cordeiro, Eliana Peixoto. Além da equipa farmacêutica, há um responsável pela receção de encomendas, Roberto Correia e uma auxiliar de limpeza a D. Elisa Silva.

Relatório de Estágio Curricular em Farmácia Comunitária

Todos os funcionários têm tarefas rotativas mensalmente, excetuado a Técnica Patrícia Costa que é a responsável pela Dermocosmética e os Técnicos João Paulo Rodrigues e o Técnico Augusto Silva que efetuam a conferência do receituário.

A equipa está formada para saber resolver qualquer tipo de problema que possa surgir tanto no atendimento como no *BackOffice*, onde há sempre bastante trabalho para manter a farmácia organizada e funcional. A boa disposição dos funcionários torna o ambiente informal o que se reflete na grande afluência de clientes, não só pela proatividade da equipa, como pela eficácia e exigência prática que todos demonstram ter.

2.3. DESCRIÇÃO DO ESPAÇO

A Farmácia Santos exteriormente está sinalizada pela cruz verde luminosa, indicando o seu horário de funcionamento e o seu acesso é feito por duas portas com deteção de movimento, uma para a entrada e outra para a saída dos utentes, garantindo uma melhor fluidez. Está igualmente preparada para pessoas com mobilidade reduzida.

No seu interior o atendimento é feito por senhas sinalizadas por letras: A – atendimento normal; B – reservas pagas; C – atendimento prioritário. Após o utente retirar a senha, será atendido quando aparecer e soar o seu número e letra correspondente no ecrã indicando para qual dos 7 balcões se deslocar.

A zona de atendimento ao público está organizada por lineares de Dermocosmética, puericultura e higiene oral nas zonas de acesso ao utente e ainda por de trás dos balcões de atendimento estão localizados os medicamentos over-the-counter (OTC) em lineares e algumas gavetas que contêm medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM) e medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) de acesso exclusivo aos funcionários, como por exemplo os contraceptivos orais (CO) e material de penso, seringas e outros produtos com grande rotação. Há ainda várias gôndolas onde se faz a exposição de produtos promocionais para aumentar a sua rotação e que permitem que o utente analise esses produtos enquanto aguarda pelo seu atendimento.

No centro do interior das instalações há uma sala de atendimento personalizado onde se fazem as determinações de parâmetros bioquímicos como de glicose, triglicerídeos, colesterol, determinação da pressão arterial entre outros. Neste gabinete também é possível a administração de injetáveis e vacinas não integradas no Plano Nacional de Vacinação, sendo uma mais valia para o utente não ter que se deslocar desnecessariamente ao centro de saúde.

Relatório de Estágio Curricular em Farmácia Comunitária

Há outra sala de atendimento personalizada mais direcionada para a área de Dermocosmética e nutrição. Esta organização da farmácia atende aos requisitos da Deliberação nº 2473/2007, de 28 de novembro de 2007, revogado pela Deliberação nº 1502/2004, apresentando as condições legalmente exigidas relativamente às áreas mínimas das farmácias. [1] [2]

No andar inferior localiza-se a zona de receção, conferência e emissão de encomendas, denominada *BackOffice*, onde há dois postos de trabalho, um para conferir e rececionar as encomendas e outro para a sua emissão. Após ser rececionada e conferida uma encomenda, os medicamentos são separados e encaminhados para o seu correto armazenamento, dando-se especial prioridade aos medicamentos de frio que vão diretamente para os frigoríficos. A maioria dos medicamentos é encaminhada para o andar superior onde está localizado o robô que dispensa os produtos para os balcões de atendimento e um armário com as ampolas bebíveis, xaropes, carteiras e embalagens de grandes dimensões. Os restantes produtos são armazenados no andar do *BackOffice* e colocados por ordem alfabética e sujeitos à regra *first-in-first-out*, cujos produtos com validade mais curta se localizam à frente. A monitorização da temperatura de armazenamento dos medicamentos é feita automaticamente por registos de temperatura e humidade diários, através de dispositivos colocados em vários pontos da farmácia.

O laboratório da farmácia está equipado com o material necessário para a produção e manipulação de medicamentos como almofarizes de vidro e porcelana, gobelés, pipetas graduadas, balões volumétricos, uma pedra de espatulação, uma balança analítica devidamente calibrada, vidros de relógio, espátulas entre outros materiais. Este laboratório segue igualmente as diretrizes legais dispostas na Deliberação nº 1500/2004 de 7 de dezembro de 2004 acerca da lista de equipamento mínimo de existência obrigatória para as operações de preparação, acondicionamento e controlo de medicamentos manipulados. [3] Aqui armazenam-se não só as matérias-primas utilizadas na preparação de medicamentos manipulados (MM) mas também os dossiês com as fichas de preparação de MM e a atual legislação.

Encontra-se também um escritório onde se armazena a bibliografia indispensável de uma farmácia e os documentos legais. É neste escritório onde são realizadas as formações por parte de delegados que dão a conhecer os novos produtos quer sejam por exemplo OTC ou Dermocosmética ou Puericultura.

3. ANÁLISE SWOT

A análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*), tem sido uma estratégia comumente utilizada hoje em dia tanto para empresas como produtos e que permite abordar tanto a vertente interna como a vertente externa das competências que se adquiriu. Assim, permite valorizar os pontos fortes e diminuir os pontos fracos, considerados a vertente interna, e ainda explorar oportunidades e determinar as ameaças, isto é, a vertente externa, as quais foram analisadas durante o estudo observacional realizado.

Neste relatório irei focar o meu desempenho no estágio curricular de forma a analisar a dimensão interna contemplando a ponte entre os conhecimentos adquiridos na faculdade e os obtidos a nível pessoal, sendo a Farmácia Santos o objeto de estudo para a dimensão externa onde irei centrar-me nas oportunidades e ameaças que foram aparecendo ao longo do percurso.

3.1. ANÁLISE INTERNA

3.1.1. PONTOS FORTES

1. Integração na equipa

A equipa jovem que constitui a Farmácia Santos fez com que o tempo que passei lá fosse bastante descontraído e senti logo que fazia parte da equipa. Desde o primeiro dia que cada pessoa tentava transmitir os conhecimentos que pudessem ser úteis para a minha formação durante aquele período. Nas primeiras semanas fui colocada sempre com uma pessoa diferente que me guiou por todo o processo do atendimento enquanto ia observando e retendo a informação que, apesar de o processo ser o mesmo, cada pessoa tinha o seu ritmo e forma diferente de trabalhar. Os Técnicos José Azevedo, Augusto Silva e a Dra. Fátima Silva são os que contam mais anos na Farmácia Santos e acabam por ser as pessoas a quem os utentes mais querem recorrer, não só pela confiança que depositam neles, mas também pela sabedoria que eles demonstram. Foi com eles que aprendi a ter uma boa postura para com o utente, mas também a saber responder a todas as dúvidas que me pudessem colocar, consolidando fortemente os meus conhecimentos académicos.

2. Proatividade

Na primeira semana de estágio fui encaminhada para o *BackOffice* onde era feito o armazenamento e receção dos medicamentos para perceber como funcionava a logística e organização da Farmácia. Esta tarefa foi de extrema importância pois foi o primeiro contacto que obtive com os medicamentos e pude relembrar alguns conhecimentos relacionados com os mesmos, como o mecanismo de ação, interações medicamentosas e possíveis efeitos adversos. À medida que fui começando a compreender como proceder em cada tarefa, quer seja a organizar a medicação ou a efetuar a receção de encomendas, ia tentando efetuar essas tarefas de forma a ajudar a equipa quando necessário. O dinamismo é o que caracteriza fortemente a equipa da Farmácia Santos pois devido à grande afluência tem que haver sempre uma boa coordenação entre todos. Os produtos devem ser recebidos, encaminhados para o seu local respetivo e estar imediatamente disponíveis para poderem ser dispensados ao utente. De forma a manter este fluxo, tentei ser proativa e ajudar em todos estes processos. Quando a Dra. Fátima considerou que já era capaz de efetuar atendimentos ao balcão tentei ao máximo estar presente e ser uma ferramenta importante no funcionamento espelhando o profissionalismo habitual da política da Farmácia, através dos conhecimentos que me tinham sido passados.

3. Postura e dedicação para com o utente

O utente que se desloca à Farmácia é a prioridade máxima de um Farmacêutico Comunitário que presta um serviço à sociedade. O utente quer que a sua necessidade seja satisfeita de forma pronta e eficaz. A dedicação é a parte mais importante de um atendimento pois cada utente tem a sua forma de nos transmitir o seu problema ou pedido e temos que saber interpretar cada um deles de forma correta e cuidada. No início do meu estágio pude observar os atendimentos feitos pelos meus colegas e fui tentando aperceber-me de qual seria a melhor abordagem para com as pessoas, de forma a verem o farmacêutico como um profissional capaz de solucionar cada problema encontrado. À medida que o Estágio foi decorrendo senti-me capaz de saber responder às necessidades dos utentes sempre com confiança, pois essa é a chave para um bom atendimento. Desde o aviamento de uma receita, ao aconselhamento de um MNSRM, o conhecimento do produto com que estamos a lidar é crucial para o utente ficar satisfeito e esclarecido. É imperativo perceber se a informação que transmitimos ao doente foi bem compreendida de forma a aumentar a adesão à terapêutica e o sucesso do nosso profissionalismo.

Relatório de Estágio Curricular em Farmácia Comunitária

Nesta unidade farmacêutica tive a oportunidade de presenciar a ligação que se cria com os utentes que estão fidelizados à Farmácia Santos e que vão pelo menos mensalmente aviar receitas ou satisfazer necessidades de saúde. Estes utentes normalmente são mais idosos e acabam por ter um atendimento mais privilegiado pois veem no farmacêutico não só um profissional de saúde, mas também alguém em quem podem confiar para serem ouvidos e compreendidos. Penso que esta foi uma particularidade bastante enriquecedora para mim enquanto pessoa e enquanto futura profissional.

4. Facilidade de adaptação ao ambiente de trabalho e ao software utilizado

O sistema informático utilizado na farmácia foi novo para mim pois só tinha contactado com o Sifarma 2000. No entanto, o programa utilizado pela Farmácia Santos, o SPharm é um programa bastante intuitivo e contém toda a informação necessária relativa aos medicamentos necessária para um bom atendimento. Este programa é utilizado para efetuar, receber e devolver as encomendas; efetuar vendas e reservas; gerir os stocks, entre outras funções. Além disso, permite a criação de fichas de cliente individuais em que era possível rapidamente verificar a medicação que o utente fazia habitualmente e podermos validar a prescrição garantindo que as doses e princípios ativos eram os corretos, confirmando sempre com o utente esses dados. O laboratório dos medicamentos podia ser verificado nessa mesma ficha sendo uma ferramenta de extrema importância para garantir que não houvesse confusão com laboratórios diferentes, evitando nomeadamente a duplicação da medicação apenas por alteração da embalagem. Durante o atendimento, quando me surgisse uma dúvida acerca da dose ou mesmo sobre o mecanismo de ação do medicamento podia rapidamente aceder à ferramenta que contém a classe terapêutica em que o medicamento se insere ou consultar o Resumo das Características do Medicamento (RCM), garantindo que transmitia a informação correta ao utente. Com o decorrer do estágio fui adaptando uma metodologia que me permitisse utilizar o software sem me esquecer de nenhum passo fundamental que compromettesse o atendimento e pudesse prejudicar a farmácia.

3.1.2. PONTOS FRACOS

1. Falta de experiência

O Estágio Curricular foi o meu primeiro contacto com a Farmácia Comunitária e no início senti uma certa insegurança no que tocava a resolver problemas e saber direcionar a terapêutica para o tipo de situação que surgia. Uma grande parte dos utentes desloca-se à

Relatório de Estágio Curricular em Farmácia Comunitária

farmácia para resolver problemas como a congestão nasal, cefaleias e tosse e os OTC's são a resposta mais correta para essas necessidades gerais. Nesse campo sinto que tive uma dificuldade inicial em saber qual seria o produto indicado para cada situação, dependendo do doente e das possíveis patologias que pudesse ter. De igual modo os suplementos alimentares, as pomadas oftálmicas e colírios são produtos que deveriam merecer uma maior atenção durante a nossa formação acadêmica pois a sua variedade é imensa e saber indicar ao utente qual é o mais aconselhado para a situação que querem resolver é bastante difícil. No entanto, sempre me foi dada autonomia e confiança para evoluir ao longo do estágio nestes campos, o que me levou a esforçar para exceder as expectativas que eram depositadas em mim.

2. Receituário e participações

No que toca ao receituário, as participações foram a matéria mais complexa devido à enorme quantidade e variedade de entidades existentes. Principalmente quando lidava com receitas manuais, a necessidade de saber qual era a entidade que participava a medicação tornou-se um inconveniente na eficácia do atendimento pois tinha quase sempre de consultar um membro da equipa para me esclarecer as dúvidas, interrompendo também o atendimento que eles pudessem estar a fazer. Seria importante uma formação acerca desta matéria para permitir que quando nos deparássemos com estas situações já pudéssemos ter uma ideia do que se tratava e soubéssemos mais rapidamente associar as participações às respetivas entidades, evitando possíveis constrangimentos com o utente. As receitas manuais são as mais complicadas de interpretar, não só pela caligrafia dos médicos, a qual apenas com o tempo vamos conseguindo decifrar, mas também pela necessidade da conferência de todos os pontos chave da receita. No ato de validação de uma prescrição manual é crucial verificar se há rasuras, se foi escrito com caneta de igual cor, se o cabeçalho foi devidamente preenchido pelo Médico prescriptor e confirmar se ainda se encontra dentro da validade legal após prescrição. Este ato demora sempre algum tempo de forma a garantir a conformidade de todos os parâmetros e muitas vezes, para tornar o atendimento mais célere pode haver algum erro involuntário que acaba por passar. Com a prática fui conseguindo localizar possíveis erros que inicialmente, por falta de prática, poderia ter deixado passar, o que se torna um inconveniente para a farmácia pois a receita ficaria inválida não sendo feita a participação.

Relatório de Estágio Curricular em Farmácia Comunitária

3. Veterinária, Dermocosmética e Puericultura

Durante o atendimento uma das minhas maiores inseguranças foi certamente o aconselhamento na área da veterinária pois, apesar de no Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) termos uma unidade curricular de Produtos de Uso Veterinário, considero que deveria estar mais associada para a resolução de situações que nos deparamos na farmácia comunitária.

A área da Dermocosmética e Puericultura igualmente sofrem de uma lacuna no nosso percurso académico sendo áreas de extrema importância na farmácia pois são os produtos que maior lucro dão e fidelizam os clientes. Na Farmácia Santos a Técnica Patrícia Costa é apenas responsável por esta área, o que foi uma grande mais valia para mim pois consegui aprender e consolidar conhecimentos acerca dos demais produtos que tínhamos na farmácia. Muitas vezes apareciam jovens que queriam ver os seus problemas de pele solucionados, como por exemplo acne polimórfico e era de extrema importância o conhecimento dos produtos e procedimentos que deveriam ser tomados tal como a limpeza diária do rosto com produtos sem óleo e não comedogénicos.

Tabela 1: Síntese de pontos fortes e pontos fracos relativos à análise interna.

Análise Interna	
Pontos Fortes	Pontos Fracos
<ul style="list-style-type: none">• Integração na equipa• Proatividade• Postura e dedicação para com o utente• Facilidade de adaptação ao ambiente de trabalho e ao software utilizado	<ul style="list-style-type: none">• Falta de experiência• Receituário e participações• Veterinária, Dermocosmética e Puericultura

3.2. ANÁLISE EXTERNA

3.2.1. OPORTUNIDADES

1. Serviços disponibilizados

Na Farmácia Santos era bastante habitual os utentes fazerem a determinação de parâmetros bioquímicos, fisiológicos e antropométricos tanto para rastreio de problemas de saúde como

Relatório de Estágio Curricular em Farmácia Comunitária

para controlo dos valores habituais. Durante o meu estágio tive a oportunidade de participar num rastreio de prevenção da doença e promoção de saúde onde se analisou a pressão arterial, níveis de colesterol total e glicémia. De modo geral a população encontrava-se com os parâmetros medidos dentro dos valores de referência. Havia bastantes utentes que vinham todas as semanas fazer a medição da pressão arterial por indicações médicas para controlo da terapêutica ou para controlo pessoal. Todos os valores medidos eram colocados num cartão fornecido pela farmácia e caso houvesse descontrolo ligeiro dos valores eram aconselhadas terapêuticas não farmacológicas, se fossem alterações mais acentuadas aconselhávamos o utente a deslocar-se ao médico.

Na parte de Dermocosmética eram organizadas, por parte da Técnica Patrícia, visitas feitas por de conselheiras de marcas de cosmética e previamente os utentes eram consultados para poderem usufruir de cuidados gratuitos oferecidos pelas marcas. Esta estratégia era uma forma de aumentar a fidelização de clientes à Farmácia Santos.

2. Localização da Farmácia

A Farmácia Santos tem situada nas suas imediações uma escola secundária, um Hospital e o CAT de Braga o que permite que os utentes que frequentem a farmácia tenham necessidades mais heterogêneas entre si. Por exemplo, os utentes que vinham do CAT normalmente aviavam receitas de medicamentos psicotrópicos cujo procedimento é mais controlado e exige que seja apresentado um bilhete de identidade cujos dados têm de ser corretamente validados no SPharm. Estes utentes exigiam sempre mais cuidado a efetuar todos os procedimentos pois a dispensa dos medicamentos psicotrópicos é bastante mais regularizada.

Os utentes que vinham da escola secundária muitas vezes queriam comprar contraceptivos orais ou testes de gravidez. No caso de as utentes desejarem comprar um contraceptivo de emergência (CE) fiz sempre o aconselhamento certo no que toca a saber quando foi a relação sexual desprotegida, quando teve a última menstruação ou no caso de tomar contraceptivo oral combinado (COC) quando foi a hemorragia de privação, entre outras perguntas, de forma a saber se era realmente necessário ceder CE. Muitas utentes não sabiam que durante o período de privação não havia possibilidade de engravidar, recorrendo então ao CE, pelo que achei necessário frisar sempre a ideia de que era um medicamento com bastantes efeitos adversos e devia ser ao máximo evitado, devendo assim optar-se por outros métodos contraceptivos.

3. Formação contínua

Pelo menos uma vez por semana havia na farmácia formações por parte de delegados farmacêuticos os quais vinham dar a conhecer os seus produtos novos ou mesmo a relembrar

Relatório de Estágio Curricular em Farmácia Comunitária

as características de alguns já existentes. Estas formações permitiam com que a nossa formação evoluísse sempre e o aconselhamento terapêutico aos utentes pudesse ser mais consolidado. Assim, a maioria das formações decorria na farmácia num horário pós-laboral e maioritariamente estavam relacionadas com a dermofarmácia e cosmética, suplementação alimentar, OTC's tal como colírios e pomadas. Estas formações permitiram colmatar algumas lacunas que não tinham sido abordadas durante o MICF e são de extrema importância para um bom aconselhamento na farmácia de oficina.

3.2.2. AMEAÇAS

1. Falta de aconselhamento eficiente

Como a Farmácia Santos tinha um fluxo bastante grande de utentes, muitas vezes era impossível poder fazer um aconselhamento farmacoterapêutico completo. Nas horas em que havia menos pessoas nós conseguíamos devidamente preencher as fichas de cliente com os dados do utente, a medicação habitual e verificar os possíveis efeitos adversos de interações entre medicamentos ou doses sobre-terapêuticas. Os utentes normalmente não vêm à farmácia com muito tempo, portanto na altura do atendimento, como já estiveram bastante tempo à espera da sua vez, querem que seja feito tudo com bastante rapidez, impedindo-nos de fazer um aconselhamento mais completo.

2. Rutura de stocks e retirada de produtos

Durante o estágio observei a retirada de certos produtos do mercado por não cumprir as normas impostas pelo INFARMED I.P. o que levava ao desagrado por parte dos utentes pois sentiam-se inseguros relativamente ao produto, achando que havia algum problema para a sua saúde com o medicamento que tinham estado a tomar, sem haver nenhuma informação que pudessemos dar acerca disso. Igualmente a rutura de stocks, era recorrente devido à enorme rotação do produto ou por falta de fornecimento por parte dos fornecedores, os quais apenas cediam poucas quantidades para poderem satisfazer o mínimo do stock para todas as farmácias ficando o produto como “rateado”. Como por exemplo o AVAMYS 27,5 microgramas de furoato de fluticasona /pulverização, um medicamento utilizado para tratar os sintomas da rinite alérgica, é um medicamento com elevada rotação e que estava quase sempre esgotado, gerando uma enorme revolta por parte dos utentes. [4]

3. Alterações de preço

Na Farmácia Santos havia bastantes promoções nos produtos de venda livre de forma a aumentar a sua rotação. Todos os meses era escolhida uma marca de cosmética e era feita

Relatório de Estágio Curricular em Farmácia Comunitária

uma promoção. Por um lado, era benéfico para a farmácia e para o cliente, por outro lado fazia com que os clientes esperassem pelo próximo período de promoção, não criando a fidelização esperada do cliente. Os MSRM sofriam bastantes alterações de preço e, apesar de o preço já vir marcado na embalagem, as pessoas assumiam que era a farmácia que alterava o preço gerando bastante desconfiança por parte do cliente. Houve bastantes situações em que tive que explicar ao utente que era o laboratório ou mesmo a comparticipação dos medicamentos por parte do Estado que fazia alterar o preço e não a farmácia.

Tabela 2: Síntese de oportunidades e ameaças relativos à análise externa.

Análise Externa	
Oportunidades	Ameaças
<ul style="list-style-type: none">• Serviços disponibilizados• Localização da farmácia• Formação contínua	<ul style="list-style-type: none">• Falta de aconselhamento eficiente• Rutura de stocks e retirada de produtos• Alterações de preço

4. CONCLUSÃO

O primeiro passo para o mundo profissional tende sempre a parecer uma experiência inicialmente assustadora, mas que com o passar dos dias se revela bastante prazerosa. O facto de podermos aplicar todos os conhecimentos que fomos obtendo no nosso percurso académico torna-se muito gratificante. O verdadeiro significado do que é ser um Farmacêutico de Oficina só se aprende com o contacto com a comunidade e com o medicamento. Em cada dia vamos fomentando não só a nossa aprendizagem, mas também a forma de lidar com as diversas situações, isto é, a interação farmacêutico-utente.

Durante o meu percurso na Farmácia Santos, consegui obter os conhecimentos necessários sobre as boas práticas farmacêuticas, enquadrar as terapêuticas atuais nas diversas patologias e saber como proceder nas demais patologias e sintomas dos utentes. Este tipo de “*know-how*” apenas se obtém com a prática e torna-nos aptos para saber colmatar todas as dificuldades que vão aparecendo, como por exemplo a facilidade de transmitir e adequar a informação ao utente de forma simples, correta e concisa.

No final do percurso do Estágio Curricular em Farmácia Comunitária, a minha expectativa foi completamente superada pela realidade. A ligação que se consegue estabelecer com os utentes

Relatório de Estágio Curricular em Farmácia Comunitária

e a importância que um farmacêutico tem no dia-a-dia da comunidade é enorme. Somos o último elo de ligação entre o utente e o medicamento, o que aumenta a responsabilidade que temos para com a comunidade. Esta é uma área em que consigo facilmente integrar-me no futuro, sempre com a ideologia de me superar a cada dia de modo a poder prestar um serviço de qualidade.

Não posso deixar de agradecer à Dra. Fátima Silva por todo o empenho e pela formação completa que me transmitiu durante o estágio, sempre com uma enorme disposição. Agradeço ainda aos Técnicos Sr. Augusto e Sr. José Azevedo por todo o conhecimento e valores que conseguiram inculcar, valorizando-me como profissional do medicamento e saúde pública.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. INFARMED. Deliberação n.º 2473/2007, de 28 de novembro de 2007. Diário da República. 2ª Série. N.º 247, de 24 de dezembro de 2007. [Acedido a 27 de Julho de 2018]. Disponível na Internet: http://www.infarmed.pt/documents/15786/1067254/023D_Delib_2473_2007_REV.pdf
2. INFARMED. Deliberação n.º 1502/2014, de 3 de julho de 2014. Diário da República. 2ª Série. N.º 145, de 30 de julho de 2014. [Acedido a 27 de Julho de 2018]. Disponível na Internet: http://www.infarmed.pt/documents/15786/1067254/023-C5_Delib_1502_2014_VF.pdf
3. INFARMED. Deliberação n.º 1500/2004, 7 de dezembro de 2004. Diário da República. 2ª Série. N.º 303, de 29 de dezembro de 2004. [Acedido a 27 de Julho de 2018]. Disponível na Internet: <http://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/Equipamento+minimo+%28Delib+1500-2004%29.pdf/e69630e6-44fa-4eaf-91ad-d7f25897df4f>
4. COMISSÃO EUROPEIA. **Resumo das Características do Medicamento.** AVAMYS 27,5 microgramas/pulverização. [Acedido a 29 de Julho de 2018]. Disponível na Internet em: https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2018/20180430140967/anx_140967_pt.pdf



PARTE II - RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR EM FARMÁCIA HOSPITALAR

Centro Hospitalar do Porto – Porto

junho – julho de 2018

I. INTRODUÇÃO

A Farmácia Hospitalar é “o conjunto de atividades farmacêuticas exercidas em organismos hospitalares ou serviços a eles ligados para colaborar nas funções de assistência que pertencem a esses organismos e serviços, e promover a ação de investigação científica e de ensino que lhes couber.” (Decreto-Lei n.º 44/204 de 2 de fevereiro de 1962) [1] O farmacêutico hospitalar (FH) tem como principal missão “assegurar a terapêutica necessária ao tratamento dos doentes com qualidade, segurança e eficácia, monitorizando os resultados e a satisfação dos doentes e dos profissionais envolvidos.

Foi nesta ótica, e pela vontade de conhecer a realidade de um profissional farmacêutico em ambiente Hospitalar que decidi realizar um estágio em Farmácia Hospitalar. O Centro Hospitalar do Porto (CHP) foi escolhido devido à sua qualidade e quantidade de serviços prestados, por ser um Hospital central na cidade do Porto.

O meu estágio foi realizado pela orientação da Dra. Teresa Almeida, que como orientadora esteve sempre disponível com enorme dedicação para nos receber e oferecer um estágio de excelência. O presente relatório está elaborado na forma de uma Análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*), de forma a sintetizar o meu percurso nos serviços farmacêuticos do CHP.

O estágio teve a duração de 270h decorridas entre os meses de maio e junho de 2018. A organização do estágio pela Orientadora foi distribuída semanalmente ao longo de sete semanas, de forma a podermos conhecer todos os setores da atividade Farmacêutica, esquematizado de seguida.

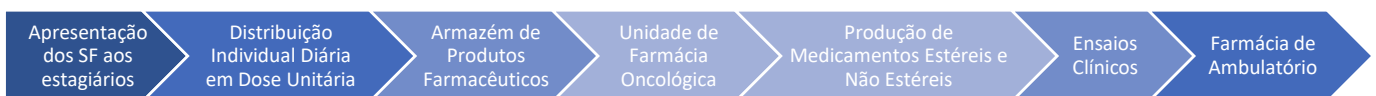


Figura I: Esquema de organização semanal do Estágio em Farmácia Hospitalar no CHP

2. CENTRO HOSPITALAR DO PORTO

O Centro Hospitalar do Porto foi criado em 2007, regulado pelo Decreto-Lei n° 326/2007, de 28 de setembro, que funde vários hospitais do Porto, nomeadamente o Hospital Geral Santo António, Hospital Central Especializado de Crianças Maria Pia e a Maternidade Júlio Dinis. [2] A junção dos dois últimos hospitais permitiu formar o Centro Materno Infantil do Norte (CMIN). O Hospital Joaquim Urbano e o Centro de Genética Médica Doutor Jacinto Magalhães juntaram-se ao CHP em 2011 e 2013, respetivamente.

O CHP tem duas localizações: O HGSA, no Largo do Professor Abel Salazar, onde decorreu o nosso estágio, e o CMIN, no Largo da Maternidade Júlio Dinis.

2.1. SERVIÇOS FARMACÊUTICOS

Os Serviços Farmacêuticos (SF) do CHP estão localizados no edifício neoclássico à exceção do serviço de Unidade de Farmácia Oncológica (UFO) que se situa no edifício Doutor Luís de Carvalho.

Os SF estão sob a direção técnica da Doutora Patrocínia Rocha que gere uma equipa constituída por 23 Técnicos Superiores de Saúde/Farmacêuticos, 27 Técnicos de Diagnóstico e Terapêutica (TDT), 15 Assistentes Operacionais (AO) e ainda 3 Assistentes Técnicos. Esta equipa vai sendo distribuída pelos vários setores de forma rotativa sempre com um farmacêutico responsável por cada setor.

Os setores do SF estão divididos em: Unidade de Farmácia de Ambulatório (UFA), Armazém de Produtos Farmacêuticos (APF), Sistema de Distribuição Individual Diária em Dose Unitária (DIDDU), Ensaios Clínicos (EC) e Farmacotecnia que se subdivide na unidade de produção de estéreis e não estéreis e na UFO.

As funções dos profissionais de saúde estão devidamente regularizadas e protocoladas em instruções de trabalho certificados pelo APCER.

2.2. FUNÇÃO DO SERVIÇO FARMACÊUTICO - CIRCUITO DO MEDICAMENTO

Os SF como profissionais de saúde, nomeadamente especializados na terapêutica medicamentosa, estão dotados de autonomia técnica e científica de forma a assegurar a qualidade, segurança e eficácia do medicamento. O circuito do medicamento (CdM) é a chave de ligação e orientação deste serviço, que se baseia na seleção e aquisição dos medicamentos,

Relatório de Estágio Curricular em Farmácia Hospitalar

o seu correto armazenamento, a preparação e distribuição, o controlo da qualidade e ainda garantir a eficácia e segurança das terapêuticas no ato da prescrição. Todas as etapas são validadas por uma comissão técnica, a Comissão de Farmácia e Terapêutica (CFT) que faz o elo entre os serviços clínicos e os SF. Estas etapas sofrem constantemente processos de auditoria de forma a controlar a qualidade dos serviços e possíveis oportunidades de melhorar os SF.

3. ANÁLISE SWOT

Este relatório pretende basear-se numa análise SWOT de forma a avaliar os aspetos que contribuíram para a minha formação académica e os que por outro lado a possam ter condicionado, isto é, a dimensão interna. O CHP será o objeto de estudo para a análise da dimensão externa, avaliando de que forma me proporcionou oportunidades para uma experiência curricular mais completa, mas também as ameaças que encontrei que limitaram, de certa forma, essa experiência.

3.1. ANÁLISE INTERNA

3.1.1. PONTOS FORTES

I. Plano de estágio semanal

O estágio nos SF do CHP realizou-se durante o mês de maio e junho e, apesar de ser um curto período, a estrutura semanal proposta pela Dra. Teresa Almeida conseguiu proporcionar um estágio curricular de excelência. Cada semana estava direcionada para um setor dos SF onde éramos acompanhadas pelo farmacêutico responsável diariamente por aquele setor que nos explicava todos os procedimentos e tarefas a serem efetuadas.

Na primeira semana tivemos uma abordagem geral acerca de cada setor onde foi possível perceber exatamente o que era feito em cada departamento do SF nomeadamente os procedimentos a seguir para assegurar a qualidade do serviço. Todos os estagiários foram divididos em grupos de forma a assegurar que durante o curto período de estágio fosse possível passarmos por todos os setores. Durante as segunda-feira de cada semana cada grupo de trabalho analisava as matrizes de processo e as instruções de trabalho alusivas a cada setor e, nos restantes dias participávamos nas atividades diárias do mesmo setor. Esta organização

Relatório de Estágio Curricular em Farmácia Hospitalar

permitiu que rapidamente conseguíssemos integrar-nos no seio da equipa e reter toda a informação acerca dos procedimentos que eram efetuados.

Na segunda semana fui dirigida para a Distribuição Individual Diária em Dose Unitária onde é feita a distribuição diária de medicamentos e produtos farmacêuticos sob a forma de dose unitária para os doentes do CHP nomeadamente dos serviços clínicos e internamento, para um período de 24h ou 48h no caso dos fins-de-semana e feriados. Os SF da DIDDU contemplam os farmacêuticos, responsáveis por validar as prescrições médicas e efetuar a dispensa ou devolução dos medicamentos prescritos; os TDT que procedem à identificação, preparação dos medicamentos de forma individualizada e a sua dispensa para os determinados serviços clínicos. Assim, a DIDDU está delimitada por diferentes áreas, uma sala onde estão os farmacêuticos que procedem à validação das prescrições; e duas salas de aprovisionamento de medicamentos onde estão os TDT. O sistema da DIDDU baseia-se num ciclo de planeamento, execução, verificação de forma a racionalizar os medicamentos, garantir que a terapêutica prescrita está correta assegurando a sua eficácia e segurança e diminuindo os erros associados aos medicamentos.

A terceira semana foi passada no Armazenamento de Produtos Farmacêuticos, que, tal como o nome indica é o local de receção, armazenamento e aquisição de produtos farmacêuticos. Diariamente tem que ser assegurada a aquisição de produtos que estejam no ponto quantitativo de reposição, solicitados pelos SF. Este processo tem de ser feito com a maior brevidade para assegurar uma fluidez do CdM sem que haja rutura de stocks. Esta gestão é feita através de um sistema Kanban em que um cartão identificativo do produto ou medicamento é colocado junto do mesmo indicando o ponto de encomenda, isto é, o stock mínimo que deve estar em armazém até nova encomenda; a quantidade que se deve encomendar quando se atinge este ponto; uma descrição do produto ou medicamento e ainda o código de barras e localização no setor. A seleção do medicamento ou produto farmacêutico é feita com base no Formulário Nacional do Medicamento (FNM) adaptando-o à realidade do CHP. Assim, a CFT reúne-se regularmente para estabelecer estas escolhas, optando-se sempre pelo produto farmacêutico (PF) ou medicamento com menor custo, sem comprometer a sua eficácia, segurança e qualidade.

Na semana seguinte fui encaminhada para o setor de Farmacotecnia, que reúne a Produção de Medicamentos Estéreis e Nutrição Parentérica e ainda a Produção de Medicamentos Não Estéreis. Este setor permite colmatar necessidades específicas de determinados doentes ou patologias especiais e diminuir desperdícios permitindo que se faça uma melhor gestão dos

Relatório de Estágio Curricular em Farmácia Hospitalar

recursos utilizados em meio hospitalar. Assim consegue-se personalizar a terapêutica ao perfil de cada doente ajustando a composição do medicamento às necessidades individuais do doente, como por exemplo na área da neonatologia e pediatria. São elaboradas Ordens de Preparação (OP) para cada formulação a ser preparada que contém as matérias primas, o procedimento, os ensaios de validação a serem efetuados e ainda o acondicionamento e rotulagem. No setor de Produção de Medicamentos Não Estéreis são feitas preparações de medicamentos manipulados como suspensões, soluções, papéis medicamentosos e ainda pomadas, pastas e cremes que não necessitam de condições assépticas para a sua preparação. Por outro lado, no setor de Preparação de Estéreis, preparam-se bolsas de nutrição parentérica, colírios, intravítreos e ainda medicamentos de ensaios clínicos. Nesta sala a pressão é positiva para evitar que o ambiente interno não é contaminado por partículas externas ou agentes microbiológicos, garantido um ambiente assético de classe C.

Continuando a Produção de Medicamentos, a semana seguinte foi passada na UFO onde se procede à preparação de medicamentos citotóxicos (CTX) principalmente utilizados para quimioterapia no Hospital de Dia. Esta unidade está localizada junto do Hospital de Dia de forma a tornar mais eficiente a administração e reduzir a exposição dos medicamentos tanto a nível ambiental como a nível operacional. Neste setor de preparação a sala branca está exposta a uma pressão negativa de forma a não contaminar o ambiente externo com os medicamentos tóxicos. Os TDT responsáveis pela preparação dos medicamentos CTX têm de estar devidamente equipados para evitar a exposição e possível contaminação com os agentes CTX e efetuar a preparação dos mesmos em câmaras de fluxo laminar classe II-B2, com filtros HEPA.

A penúltima semana foi passada na Unidade de Ensaios Clínicos em que o farmacêutico é responsável por assegurar o armazenamento correto dos medicamentos experimentais (ME), manter todos os registos do circuito dos ME incluindo a receção, dispensa e devoluções, e ainda a preparação dos mesmos para a sucessiva administração. Para que um Ensaio Clínico ocorra têm de haver cooperação por parte de diferentes entidades nomeadamente o promotor que decide os centros de ensaio e, após aprovação pelas autoridades regulamentares nacionais e a Comissão de Ética, é feita uma visita de iniciação por um monitor. Este monitor está encarregado por acompanhar o estudo até ao fim no qual, durante a realização do estudo, está encarregue por fazer várias visitas e auditorias ao centro, que neste caso é o CHP, para ver se o estudo está a decorrer dentro das conformidades estabelecidas garantindo a linearidade do estudo.

Relatório de Estágio Curricular em Farmácia Hospitalar

Na última semana fui para a Farmácia de Ambulatório, local onde é feita a distribuição de medicamentos e PF que necessitam de maior controlo e cuidado na sua utilização por estarem associados a patologias e efeitos adversos mais graves devido à margem terapêutica estreita e ser preciso garantir a adesão à terapêutica. Esta dispensa de medicamentos é feita de forma completamente gratuita para que os doentes possam fazer a terapêutica no domicílio, diminuindo bastante os custos associados ao seu internamento. Os doentes que normalmente frequentam a Farmácia de Ambulatório estão a fazer tratamentos cujos medicamentos estão listados no FNM e aprovados ou por Diário da República ou pelo Conselho de Administração (CA) do CHP e CFT. Caso as patologias para a cedência gratuita de medicamentos em ambiente hospitalar não estiverem descritas em Diário da República, a autorização é dada pelo CA e CFT e os custos serão suportados pelo Hospital.

Com esta organização semanal do estágio por parte da Dra. Teresa Almeida, foi possível perceber todas as funções de um farmacêutico hospitalar pois estávamos integrados na sua rotina diária. Todos os farmacêuticos estiveram dispostos a explicar cada tarefa que faziam permitindo algumas vezes que fizéssemos nós próprios possibilitando que a informação ficasse melhor retida.

2. Unidade Curricular de Farmácia Hospitalar

No âmbito académico a Unidade Curricular de Farmácia Hospitalar permitiu dar umas noções sobre qual era o papel do farmacêutico em ambiente Hospitalar. A importância do acompanhamento da terapêutica prescrita a um doente por parte de um especialista do medicamento ainda não está completamente instruída no nosso país. É imprescindível que o doente perceba as indicações, posologia e a importância de aderir à terapêutica. Assim, sempre me interessei pela possibilidade de um farmacêutico interagir diretamente a nível da prescrição médica fazendo parte de uma equipa multidisciplinar que pudesse colmatar todas as faltas de informação relativas a uma dada terapêutica. Também foi nesta UC que tomei conhecimento do processo de notificação de Reações Adversas Medicamentosas (RAM's) que é mais facilmente identificável a nível Hospitalar devido à maior proximidade com os doentes em que o farmacêutico tem um papel crucial.

3. Regime Ambulatório em ambiente Hospitalar

A dispensa de medicamentos em ambiente Hospitalar é bastante diferente do ambiente de Farmácia Comunitária. Como o meu estagio em Comunitária foi realizado anteriormente ao de Hospitalar deu-me uma perspetiva comparativa entre os dois ambientes. Enquanto que na Farmácia de Oficina há cedência de todo o tipo de medicamentos e produtos farmacêuticos,

Relatório de Estágio Curricular em Farmácia Hospitalar

no regime ambulatorio da Farmácia do Hospital só se cedem os medicamentos de patologias especiais que, como referi, precisam de uma vigilância e controlo adicional no que diz respeito à sua administração. Na prescrição hospitalar, todos os parâmetros têm de estar em conformidade para que esta seja válida, como a identificação do doente, denominação comum internacional (DCI) do medicamento, a forma farmacêutica, a dose, frequência, via de administração, identificação do médico e da especialidade médica em que se insere e ainda a deliberação legal que autoriza a utilização do medicamento na determinada patologia ou se for utilização *off-label*, se está autorizado pela CFT. A dispensa tem de ser feita de forma racionalizada devido ao seu elevado custo para evitar desperdícios. Aquando da dispensa, na prescrição também vem indicada a data da próxima consulta para que seja feita a racionalização da quantidade a ceder.

Na Farmácia Comunitária o doente vai adquirindo a medicação conforme as suas preferências enquanto que no Hospital é o farmacêutico que decide qual a quantidade que o doente pode levar. Normalmente os medicamentos podem ser cedidos para um prazo de três meses, excetuando alguns medicamentos que só podem ser fornecidos para o prazo de um mês. O farmacêutico pergunta sempre se o doente ainda tem medicação em casa de forma a diminuir a despesa para o Hospital sem que haja desperdício de medicação. Como as consultas dos doentes que frequentam a farmácia de ambulatorio costumam ser mensais, a medicação é apenas cedida até esse período pois pode haver sempre ajustes na dose ou até mudança de medicamento. Este curto período permite ao farmacêutico um controlo mais apertado na adesão à terapêutica e detetar possíveis efeitos adversos que levam o doente a desistir da terapêutica.

Tal como na Farmácia Comunitária é imprescindível que o doente entenda como tomar a medicação, principalmente em doentes polimedicados. O aconselhamento farmacêutico é de extrema importância para garantir que não haja falhas de comunicação que levem a erros de medicação que comprometam a eficácia da terapêutica.

4. Preparação Medicamentos Estéreis e Não Estéreis e Nutrição Parentérica

Durante o Estágio pude contactar de perto com a rotina de um farmacêutico ou mesmo de um TDT pois possibilitavam-me que ajudasse nas tarefas. Este contacto tão direto foi certamente um dos pontos fortes do estágio onde auxiliei na produção tanto de medicamentos estéreis e não estéreis. Durante dois dias estive a acompanhar um farmacêutico e um TDT no setor da preparação dos medicamentos não estéreis. Após receção das requisições, o farmacêutico é responsável por elaborar as OP e respetivo rótulo, e se o manipulado se

Relatório de Estágio Curricular em Farmácia Hospitalar

encontrar em conformidade o farmacêutico valida a preparação. O rótulo deve conter informações relativas à composição, número de lote, prazo de utilização, condições de conservação, como utilizar o produto, a via de administração e ainda o local de prescrição e a assinatura do farmacêutico responsável. Tive a possibilidade de auxiliar na preparação de alguns manipulados como substituto de saliva, suspensão oral de sildenafil, suspensão de hidrato de cloral 100 mg/ml, papéis medicamentosos para neonatologia, entre outros. Este setor permitiu-me relembrar conhecimentos adquiridos na Unidade Curricular de Farmácia Galénica, que são bastante importantes para preparar este tipo de formulações em ambiente hospitalar.

Nos dois dias seguintes estive na área de produção de medicamentos estéreis. O circuito inicia com a elaboração de OP por parte do farmacêutico após receber prescrição médica informaticamente. Há dois turnos diariamente que vão para a câmara para preparar os manipulados, o primeiro fica responsável pelos produtos estéreis como colírios, intravítreos, e aditivação de bolsas de nutrição; o segundo turno termina a preparação das bolsas de nutrição nomeadamente as bolsas pediátricas. Quando o farmacêutico e TDT chegam à câmara começam a organizar o sistema para preparar as bolsas pois o enchimento destas é feito maioritariamente com recurso a um método semiautomático de enchimento para a solução de macronutrientes. Os micronutrientes, como são volumes bastante pequenos vão acondicionados numa seringa ou são adicionados posteriormente à bolsa, no entanto, é o TDT que faz a medição e o farmacêutico tem sempre de conferir os valores. É sempre importante uma dupla verificação tanto pelo farmacêutico como pelo TDT para garantir que a preparação está de acordo com os valores estabelecidos para cada doente e se está em conformidade a nível de alterações de cor ou partículas em suspensão. No final as preparações são embaladas em alumínio para proteger da luz, validadas através de ensaios de verificação como a medição do peso e rotuladas, processo no qual participei ativamente.

Foi neste setor onde me senti mais realizada como futura profissional pois pude participar diretamente nas atividades que os farmacêuticos fazem diariamente relacionado com a manipulação de medicamentos. Contrariamente aos outros setores esta é uma área em que o farmacêutico participa ativamente no trabalho laboratorial sendo que nos outros está mais centrado no controlo da qualidade de produto ou validação de processos.

3.1.2. PONTOS FRACOS

1. Medicamentos de Uso Hospitalar

Uma das dificuldades que senti no estágio foi o conhecimento dos medicamentos mais dispensados na Farmácia de Ambulatório. Estes medicamentos, sendo de uso exclusivo hospitalar não são tão abordados sendo que a maioria deles são para tratamentos de patologias raras como polineuropatia amiloidótica familiar cuja terapêutica passava pelo medicamento Tafamidis. Estas patologias têm de estar abrangidas por um diploma legal como fazem parte, por exemplo, a Esclerose Múltipla, Profilaxia de Rejeição Aguda do Transplante Hepático ou Renal, VIH, Hepatites C, Insuficiência Renal Crónica, entre outras. A medicação no Ambulatório encontra-se armazenada em gavetas organizadas por patologias para a rápida identificação. Durante a semana que passei neste setor tive a oportunidade de fazer atendimento ao público e preparar a medicação para o doente levar, de forma a familiarizar-me com a medicação utilizada em determinada patologia.

2. Duração do Estágio

Considerando as diversas funções de um farmacêutico hospitalar, dois meses de estágio não foram suficientes para obter todo o conhecimento acerca das atividades realizadas em cada setor. Apesar de cada semana ser passada num setor diferente, só ao fim da mesma é que começávamos a estar habituados nos procedimentos de cada setor. No entanto, os farmacêuticos responsáveis por nos acompanhar nessas semanas demonstraram um esforço enorme para poder transmitir toda a informação possível, de forma a tirar todas as dúvidas que pudessem existir. Como referi, apenas na área da Produção pude participar mais ativamente pois nas outras áreas restringia-se mais a uma participação observacional, não por falta de interesse, mas sim por inaptidão devido à falta de prática. Considero que este estágio poderia ter uma maior duração para que, como estagiários, fosse possível podermos estar mais preparados como futuros profissionais e sabermos lidar com as diversas situações que possam aparecer no ambiente hospitalar.

Tabela 3: Síntese de pontos fortes e pontos fracos relativos à análise interna.

Análise Interna	
Pontos Fortes	Pontos Fracos
<ul style="list-style-type: none">• Plano de estágio semanal• Unidade Curricular de Farmácia Hospitalar• Regime Ambulatório em ambiente Hospitalar• Preparação Medicamentos Estéreis e Não Estéreis e Nutrição Parentérica	<ul style="list-style-type: none">• Medicamentos de Uso Hospitalar• Duração do Estágio

3.2. ANÁLISE EXTERNA

3.2.1. OPORTUNIDADES

1. Rotatividade dos Farmacêuticos Hospitalares

Os farmacêuticos hospitalares do CHP diariamente são colocados em setores diferentes consoante as necessidades do SF. No entanto, os farmacêuticos responsáveis por um determinado setor tendem a passar mais tempo na sua área de forma a garantir que tudo ocorra dentro das conformidades. Na minha opinião, isto é, uma mais valia para a formação de um FH pois com esta rotatividade consegue estar apto para exercer qualquer função. Com a escassez de recursos humanos que se tem verificado principalmente em ambiente hospitalar, é imperativo que o farmacêutico ou um TDT possa colmatar as dificuldades que possam existir nos demais setores. O farmacêutico como especialista do medicamento necessita de estar sempre em melhoria constante a nível profissional e com esta rotação por todos os setores consegue diariamente estar presente nas mudanças que são efetuadas principalmente a nível da terapêutica.

2. Dimensão do CHP

O CHP é um dos maiores centros hospitalares do Norte de Portugal, foi igualmente nessa ótica que escolhi este centro para realizar o estágio curricular de forma a ser possível conhecer todas as funções que um FH pudesse ter num Hospital de grandes dimensões. Principalmente após as fusões que sofreu com outros Hospitais, o CHP fica assim dotado de

Relatório de Estágio Curricular em Farmácia Hospitalar

um maior número de doentes e por conseguinte de um vasto leque de patologias a estes associados. Talvez por estas razões possa ser uma das instituições que mais contribui para os ensaios clínicos no país, nomeadamente na área da oncologia. Esta é uma área em que o farmacêutico prima pela sua proximidade com o circuito do ME sendo responsável por toda a gestão e burocracia deste mesmo circuito. Assim, o CHP consegue oferecer aos doentes a tratamentos inovadores e consequentemente contribuir para o progresso científico.

Por outro lado, a fusão com a Maternidade Júlio Dinis, possibilitou a preparação de medicamentos manipulados (MM) para uso pediátrico, nomeadamente para a neonatologia, como a nutrição através de bolsas para administração parentérica. Assim, o FH vê-se possibilitado de elaborar protocolos e terapêuticas para esta população podendo ter um papel relevante e diferenciado nesta área, o que de outro modo, num hospital de menor dimensão não seria possível.

3. Hospital de Dia e Unidade de Farmácia Oncológica

A UFO desloca-se do espaço designado para os SF de forma a estar mais perto do Hospital de Dia, local onde são administradas as preparações produzidas na UFO. A maioria das preparações são CTX, assim, necessitam de um cuidado adicional no seu manuseamento de forma a evitar a exposição ocupacional destes medicamentos. Tantos os farmacêuticos como TDT e AO estão diariamente em contacto com estes medicamentos, assim é imperativo que se tomem todas as precauções para evitar que os agentes CTX não entrem em contacto com os operadores e tenham efeitos adversos e, tal como o nome indica, terem efeitos tóxicos a nível celular. O Hospital de Dia no CHP é uma oportunidade de diferenciação para os FH pois estão em contacto com os medicamentos comumente usados principalmente para oncologia tal como os ME. Por outro lado, a proximidade com os doentes do Hospital de Dia faz com que haja uma consciencialização acerca da doença oncológica e uma preocupação acrescentada para com os doentes. Durante o estágio pude ver-me crescer como pessoa e profissional após a experiencia de contactar diretamente com esta crescente realidade.

3.2.2. AMEAÇAS

I. Falta recursos humanos

A falta de recursos humanos no CHP é uma realidade notável, principalmente no SF onde há muito tempo não são contratados novos farmacêuticos. O normal funcionamento do SF é afetado pois não há uma equipa suficientemente grande para poder suportar todas as tarefas

Relatório de Estágio Curricular em Farmácia Hospitalar

com qualidade. Por sempre um Hospital que alberga um número bastante elevado de doentes, também deveria estar dotado de um maior número de profissionais. O desgaste que se observa no FH por se esforçarem ao máximo para poder prestar um serviço de qualidade com a crescente carga de trabalho é notório. Principalmente no setor da Farmácia de Ambulatório em que há um fluxo enorme de pessoas para levantar a medicação e apenas quatro balcões de atendimento. Neste serviço é imprescindível um atendimento de qualidade para que os doentes vejam todas as suas dúvidas esclarecidas e o acompanhamento terapêutico seja eficiente. No setor da DDDU, onde se procede à validação da medicação prescrita, muitas vezes o FH não tem tempo suficiente para observar com cuidado todos os parâmetros relativos ao doente e à terapêutica.

2. Falta de informatização

Diariamente, no serviço de APF, os Kanbans respetivos aos medicamentos ou PF em falta são recolhidos e introduzidos numa lista no software informático de Gestão Hospitalar de Armazém e Farmácia (GHAF). Após aquisição dos produtos e emissão de uma nota de encomenda os Kanbans voltam a ser colocados junto do medicamento ou produto respetivo. Este sistema manual sofre bastantes falhas pois pode-se perder um Kanban e todo o circuito de gestão e aprovisionamento de stocks fica comprometido. Deveria ser implementado um sistema informático que transformasse esse processo manual num processo diretamente automático, assim, o sistema detetaria sempre que fosse necessário efetuar uma reposição de stock e em que setor.

Por outro lado, há um sistema que automatiza a distribuição, gestão e controlo de certos medicamentos com maior rotação, o Pyxis™. Este sistema armazena os medicamentos e quando há uma requisição para um determinado medicamento este dispensa-o. Como é composto por um sistema de segurança através de códigos, o controlo de medicamentos como de estupefacientes e psicotrópicos é mais regulado. Um dos serviços que mais opera com este sistema é o dos cuidados intensivos, por ser o que mais utiliza os medicamentos psicotrópicos e estupefacientes. O farmacêutico está responsável por estabelecer quais os medicamentos que vão para o Pyxis™ e em que quantidade, de acordo com a rotação que eles tiverem. Este tipo de sistemas é bastante vantajoso tanto para o CHP como para os SF pois há um controlo muito maior na gestão dos medicamentos e produtos farmacêuticos.

Tabela 4: Síntese de oportunidades e ameaças relativas à análise externa.

Análise Externa	
Oportunidades	Ameaças
<ul style="list-style-type: none">• Rotatividade dos Farmacêuticos Hospitalares• Dimensão do CHP• Hospital de Dia e Unidade de Farmácia Oncológica	<ul style="list-style-type: none">• Falta de Recursos Humanos• Falta de Informatização

4. CONCLUSÃO

Os Serviços Farmacêuticos, a nível hospitalar, enquadram-se numa equipa multidisciplinar que tem de estar sempre em constante sintonia com todos os outros profissionais de forma a otimizar os resultados terapêuticos dos doentes. Sendo um profissional de saúde especialista do medicamento, o farmacêutico é uma mais valia no uso racional do medicamento e tende sempre na melhoria da qualidade do serviço de saúde. Apesar de ainda não ter um papel tão crucial como deveria na área clínica, há uma preocupação crescente para a gestão da terapêutica de forma a garantir a sua segurança e eficácia sempre com os menores custos.

Durante o estágio no CHP, os valores profissionais que deve ter um farmacêutico, no sentido da melhoria dos serviços prestados, foram-me constantemente transmitidos por parte de todos os profissionais. Foi claro que o farmacêutico tem um papel essencial em todo o circuito do medicamento, especialmente na área da validação das prescrições provenientes de internamento em que os erros de medicação eram recorrentes.

A oportunidade que me foi concedida em poder conhecer o funcionamento de um Serviço farmacêutico de excelência no CHP foi muito gratificante e enriquecedora para o meu futuro como profissional de saúde. Toda esta experiência curricular não teria sido possível sem o apoio da Dra. Teresa Almeida à qual agradeço profundamente o empenho e disponibilidade que sempre teve para nos ensinar. Agradeço ainda a toda a equipa de profissionais do CHP que tornou o meu percurso de estágio bastante positivo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. INFARMED. Decreto-Lei 44/204, de 2 de fevereiro de 1962. [Acedido a 10 de Agosto de 2018]. Disponível na Internet: http://www.infarmed.pt/documents/15786/1068150/decreto_lei_44204-1962.pdf
2. DIÁRIO DA REPÚBLICA. Decreto-Lei 326/2007, 2007-09-28. [Acedido a 11 de Agosto de 2018]. Disponível na Internet: <http://data.dre.pt/eli/dec-lei/326/2007/09/28/p/dre/pt/html>



**PARTE III – MONOGRAFIA “ELECTRO-
RESPONSIVE CONTROLLED DRUG DELIVERY
FROM MELANIN NANOPARTICLES”**

2018

I. INTRODUCTION

Controlled drug delivery has been one of the major topics from of the current scientific medical research. Targeted drug delivery technological strategies allow the release of a certain amount of a drug (or drugs) at a specific time and place, which is crucial to offer new and individualized treatments. [1] In this context, "smart materials" have the ability to modulate the release profile of a substance under specific internal or external stimuli. [2] Different approaches have been carried out to enable a response triggered by stimuli, such as temperature, pH, light, enzymes and magnetic fields. [3, 4] To achieve these responses it is usually required specific and expensive equipment. Alternatively, electrical stimuli are easy to generate and control. [5]

Among the "smart materials", inherently conductive polymers (ICPs) present electrical, magnetic and optical properties. Electro-responsive polymers-based nanoconstructs with the encapsulating of a drug may be an interesting drug delivery system, hypothesizing that the drug release profile can be controlled by applying an external electrical current as stimulus. [5] Through alterations in the redox state of ICPs, by controllable and reversible redox reactions, it is possible to change drug release profiles. The synthesis of these conductive polymers usually involves oxidative polymerization. The oxidation of ICPs creates "holes" along the backbone, through the removal of the electrons, and neighboring electrons are then able to move into such "holes" and, therefore, allow the progression of the charge along the polymer. [6, 7]

Recent years have seen a growing interest in developing "green" biomaterials, with biocompatible properties, i.e., with absence of side effects, including cytotoxicity and antigenic response, when incubated with cell culture or injected into living organisms. Polypyrrole (PPy) is the most common used ICP due to its recognized biocompatibility and conductivity properties. However, its drug-incorporation efficiency is limited and presents lack of cell affinity and adhesion. [8-10] Polydopamine (PDA), a polymer inspired in the specialized foot protein Melf-5 secreted by mussel, affords many functional groups for reaction with biomolecules and proteins, displaying an excellent biocompatibility and low toxicity. Bioinspired PDA has emerged as a promising polymer to coat nanoparticles (NPs) for diverse biomedical applications. This catechol rich protein reacts with nucleophilic amine and thiol groups, being capable to covalently bond and immobilize ligands such as proteins or drugs, achieving tailored drug delivery systems. [11] Incorporating PDA and PPy simultaneously in the composition of NPs constitutes an interesting technological solution, because, on one hand, it is possible to improve the lack of cell affinity of PPy, while, on the other hand, PDA acts as a

Electro-responsive controlled drug delivery from melanin nanoparticles

dopant in the PPy backbone, being able to neutralize positive charges and to promote the conductivity of the drug delivery system. [12]

In this study, the focus is to target the developed drug delivery system to cancer cells, so it was developed a mechanism able to incorporate drugs of interest in the ICP, by using melanin nanoparticles (MNPs) as the drug delivery system. Dexamethasone (Dex) was used as a model drug. Since cancer processes occur at the nanoscale, nanotechnology has been greatly sought after for these challenging pathological processes fighting. NPs evidence a particle size ranging between 1 and 1000 nm. Due to their particular dimension, NPs are more selective and specific to a tumor site, introducing advantage in the internalization and accumulation of the drug inside the tumor cells. [13] This selectivity allows the optimization of the dose, diminishing the drug side effects, which is the main problem associated with anticancer drugs administration. The toxicity of the drug is diminished as a consequence of the accumulation on a specific target site, therefore the concentrations found in healthy tissues are smaller. [14] These properties make NPs an outstanding medical tool for diagnosis, therapy, and their combination gives origin to the recent theranostic approach. [15, 16]

Natural melanin is a biopolymer material found in different types of organisms and, specifically, in mammals, in the skin, hair and in some neurosensorial tissues. [17] It is an heterogeneous material, and it is presented into two basic types: dark eumelanin and red to yellowish pheomelanin. [18] The difference between these two types is that eumelanin does not contain sulfur in its composition, in contrast to the pheomelanin. Both are photo protectant agents, as eumelanin presents antioxidant properties, whilst pheomelanin holds pro-oxidant features. [19] Melanin also presents hybrid ionic–electronic conductance, metal chelation, free radical scavenging capacities, redox reversibility and chemical versatility, representing a viable biomaterial among the research areas, such as biomedicine, bioengineering and dermocosmetics. [20] In the biomedicine field, research has been evolving towards the specificity of therapeutics diminishing the side effects by searching for carriers that offer the highest safety and efficiency. Melanin presents noteworthy optoelectrical, photoacoustic and photoconductivity properties. These features are valuable for biomedical applications such as magnetic imaging, drug release and theranostics. This natural occurring insoluble biopolymer appears in the nature at the nanometric scale. Therefore, it has been used in nanotechnology drug delivery as a carrier to prepare formulations without using solvents or drying processes, which are associated with low production efficiency and toxic effects. Nevertheless, the remarkable biodegradability and biocompatibility of melanin is extremely important when it is used for drug delivery purposes, i.e., the absence of cytotoxic or side effects for the organism

Electro-responsive controlled drug delivery from melanin nanoparticles

commonly occurring by antigenic response. In this case, there aren't specific enzymes in the organism that are capable of degrade melanin, which is benefic for biostability.

The current nanosystems developed for drug delivery purposes present some limitations that can be counterbalanced with the use of melanin as a nanocarrier. Drug-loaded polymeric coacervates show particles with a large size and a low drug-loading capacity. In the same way, micelles also have low drug-loading capacity but present a suitable size when loading low water-soluble drugs. Synthetically obtained polymeric drug conjugates demonstrate lack of stability under physiological conditions, low drug-loading capacity and those are not able to be used in controlled drug delivery. [21] Following these research lines, melanin, acting like a drug carrier was chosen to be used in therapies based on electro-responsive controlled drug release applications.

Dex, a low soluble drug used as a synthetic adrenocortical steroid was used in this study, as referred, as a model drug. Commonly, it is used for its anti-inflammatory properties in rheumatology, dermatologic diseases, severe allergies such as asthma, dermatitis, among other uses. [22] This drug was, thus, used in order to prospect the nanoencapsulation of antineoplastic drugs whose current therapies are limited mainly for its unspecific targeting ability. Besides causing severe adverse effects by affecting the surrounding environment, when the antineoplastic drug reaches its supposed target, the amount of available drug is very limited. Thus, a nanocarrier capable of efficiently incorporating the antineoplastic drug and delivering it to a specific target without affecting other cells is needed.

The main objective of this work was to develop a simple method creating a stimuli-electroresponsive drug delivery system capable of controlling antineoplastic drug delivery with the feasibility to scale-up. In order to do so, PDA and PPy were used as functionalization agents incorporated in the surface of MNPs to carry the model drug Dex. The release profile of the Dex was studied upon electrical stimulation for controlled drug delivery purposes.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Preparation and functionalization of drug-loaded melanin nanoparticles

Cuttlefish ink (*Sepia officinalis*) was purified by a method described elsewhere. [23] An ink suspension was obtained by dissolving 100 g of the commercial ink with 200 mL of ultrapure water. The suspension was centrifuged at 12,000 rpm for 15 min at 5 °C (5810R, Eppendorf, Germany) and the supernatants were discarded, while the obtained pellet was resuspended in

Electro-responsive controlled drug delivery from melanin nanoparticles

ultrapure water. This process was repeated for 15-20-times. Then, the purified melanin was frozen at -80 °C and lyophilized for 48 h for further use during this study.

Around 25 mg of lyophilized purified melanin was dispersed in 1 mL of ultrapure water and sonicated at 25 °C during 1 h for particle desegregation at 35 kHz. A solution of 10 mM of tris(hydroxymethyl) aminomethane (TRIS) buffer was prepared and 12.5 mL were added to the MNPs suspension along with 2.5 mL of ammonium persulfate (APS)/TRIS solution (0.1 g/mL). Dopamine (Da) hydrochloride was added in different molar ratios regarding Pyrrole (Py) (Da/Py ratios): 0.2; 0.5; 0.8; 1, where, 25 mg of Da would correspond to 9.15 µL of Py. The synthesis of functionalized melanin NPs (FMNPs) was carried out under magnetic stirring at 300 rpm in an open flask and was left to stir overnight at room temperature, allowing the polymerization of Da and Py in the NPs surface. The obtained suspensions were centrifuged to remove non-polymerized residues at 12,000 rpm for 20 min at 25 °C, for three times. The first obtained supernatant was kept for further incorporation efficiency assessment. The obtained pellets were frozen at -80 °C and lyophilized for 48 h.

Different concentrations of Dex were added following the previously described protocol but adding the drug simultaneously to the polymers. As the drug is poorly soluble in water, a stock solution of Dex in methanol was initially prepared at a concentration of 25 mg/mL in order to allow the production of the Dex-loaded FMNPs.

2.2. Particle size and Zeta-potential

Samples were prepared for surface charge analysis by zeta-potential (ZP) measurements by electrophoretic light scattering (ELS), and for particle size and the polydispersity index (PDI) analysis by Dynamic Light Scattering (DLS), both using Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, UK). All samples were prepared by dispersing 0.5 mg of MNPs and FMNPs in 1 mL of ultrapure water followed by sonication during 1 h. The samples were further diluted to a concentration of 0.025 mg/mL and were analyzed in a Malvern quartz cuvette. The experiments were carried at room temperature and performed in triplicate.

2.3. Drug Incorporation efficiency

The incorporation efficiency (IE%) of the Dex on the surface of the FMNPs was determined indirectly by ultraviolet (UV)-Visible spectrophotometry, by using the stored first supernatant, referred in Section 2.1. Standard solutions of Dex in methanol were prepared to obtain a calibration curve, using the following concentrations: 0 µg/mL (blank); 5 µg/mL; 25 µg/mL; 50 µg/mL; 125 µg/mL; 250 µg/mL. The absorbance was measured at 242 nm using an UV spectrometer (UV-1601, Shimadzu, Japan) and results were performed in triplicate. IE% was calculated using the following Eq.1:

Electro-responsive controlled drug delivery from melanin nanoparticles

$$IE (\%) = 100 - \left(\frac{W_s}{W_t} \times 100 \right) \text{ (Eq.1)}$$

Where W_s stands for the amount of measured Dex in the supernatant (free Dex) and W_t for the total amount of Dex added to the suspension of MNPs.

2.4. Imaging

The morphology of the FMNPs was investigated by scanning electron microscopy (SEM) (JSM-6010 LV, JEOL, Japan) coupled with a Leica Cambridge S-360 apparatus (Leica, UK) and High-Resolution Field Emission Scanning Electron Microscope with Focused Ion Beam (FIB – SEM). The samples were prepared by dispersing 0.5 mg of FMNPs in 1 mL of ultrapure water and submitted to sonication for 1 h. Then, the samples were diluted to a concentration of 0.025 mg/mL and a drop was poured into glass slides and left to dry at room temperature. Before analysis, the samples were sputtered with 0.9 nm of platinum. The samples were analyzed with an acceleration voltage of 25 kV and photomicrographs were taken at magnifications of 10.000x and 20.000x.

Scanning transmission electron microscopy (STEM) was also performed to analyze the surface of the MNPs and FMNPs to confirm the success of the functionalization. The preparation of the samples was the previously described for SEM analysis. Samples were analyzed with an acceleration voltage of 15 kV. The images were captured at 50.000x, 100.000x and 200.000x.

The surface roughness was evaluated by atomic force microscopy (AFM) using an AFM Dimension Icon (Bruker, USA), operating in PeakForce Tapping (ScanAsyst) in air. AFM cantilevers (ScanAsyst-Air, Bruker) made of silicon nitride with a spring constant of 0.4 N/m and frequency of 70 kHz were used.

2.5. Fourier-transform infrared spectrometry and X-ray photoelectron spectroscopy

Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) was performed by an IR Prestige-21 apparatus (Shimadzu, Japan) to analyze the functional groups of MNPs, Da and Py polymers, as well as the FMNPs and Dex-loaded FMNPs. The preparation of the samples consisted in pressing 1 mg of the individual samples with potassium bromide (KBr), using a manual press (161-1100 hand press, Pike technologies, Madison, WI), to form a pellet before measuring. The spectra were recorded using 40 scans with a resolution of 4 cm^{-1} from 500 cm^{-1} to 4000 cm^{-1} .

X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) was used in order to obtain the elements of the samples quantitatively, precisely, melanin, the used polymers and the functionalized NPs. A Kratos Axis-Supra instrument was used, with ESCApe software for data acquisition. The XPS measurements were carried out using monochromatic aluminium-K α radiation (1486.6 eV).

Electro-responsive controlled drug delivery from melanin nanoparticles

Photoelectrons were collected from a take-off angle of 90° relative to the sample surface. The measurement was carried out in a Constant Analyser Energy mode (CAE) with a 160 eV pass energy for survey spectra and 40 eV pass energy for high resolution spectra. Charge referencing was performed by setting the lower binding energy C1s photo peak at 285.0 eV C1s hydrocarbon peak. The residual vacuum in the X-ray analysis chamber was maintained at around 6.5×10^{-9} torr. The samples were fixed to the sample holder with a double-sided carbon tape. Data were analyzed with CASAXPS software.

2.6. Drug release studies

The release profile of Dex from the surface of the FMNPs was performed using Franz diffusion cells. The receptor chamber was filled with Phosphate Buffered Saline (PBS) + methanol (50:50 (v/v)) and placed in a thermostatic bath at 37°C with magnetic stirring at 300 rpm. A dialysis membrane (12-14 kDa, Sigma) was washed in water and left for 30 min at $60-70^\circ\text{C}$ in ultrapure water for membrane activation before use. Then, the membrane was placed between the receptor and the donor chambers, which were sealed with parafilm to avoid leaks. Suspensions of MNPs and Dex-loaded MNPs were placed in the donor chamber, precisely 2 mg of each NPs suspended in 2 mL of PBS + methanol (50:50 (v/v)), previously sonicated to ensure the homogeneity of the suspension. At specific time points 200 μL of the sample was withdrawn through the sampling port and replaced with fresh PBS:methanol (50:50 (v/v)) medium. The quantity of released Dex was assessed using the same quantification procedure using UV-Visible spectrophotometry, as described above in Section 2.3.

The protocol above described was used also for distinct drug release studies, namely by using also a function generator (Velleman, DVM20FGCN2) for electrical stimulation tests linked to an oscilloscope (UNI-T, UTD2062C). The stimuli were applied at specific time points ($t = 1, 3, 5, 7$ and 23 h), followed by the withdrawn of samples and replacing with fresh buffer. Different parameters as voltage ($-0.5/0.5$ V; $-2/2$ V; $-4/4$ V), frequency ($0.1, 0.2, 0.5$ s^{-1}) and consequently the time of stimuli application (1.60 min, 3.33 min, 8.33 min) were varied and studied.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Preparation and functionalization of melanin nanoparticles

Melanin from cuttlefish (*Sepia officinalis*) was obtained after several purification steps to remove the impurities, and it was naturally presented in the form of NPs with no need of synthetic procedures to reduce the particle size. The development of these nanoparticles results from the aggregation of an oligomer of 5,6-dihydroxyindole (DHI) and its 2-carboxylated (DHICA) form. The increased accumulation of the oligomers forms protoparticles in the size range of 10^{-9} m to 10^{-8} m, which will densify to form larger particles reaching the final form of a spherical shape particle with 10^{-7} m. It is this last form that can be found in natural sources and extracted for nanotechnology usage, which will be used in this study. [24] The particle size was, thus, analyzed by DLS and SEM, two different techniques, where the first considers the hydrodynamic diameter and the second the absolute particle diameter. [25] Using DLS, the particle size was found to be 371.68 ± 10.58 nm (as described at **Table I**) and from SEM analysis (**Figure I (a) and (b)**) it was 196.82 ± 57.56 nm. The detected difference between the acquired results was ascribed to some aggregation phenomena of the NPs after resuspension. PDI, which is used to quantitatively estimate the average uniformity of the width of the particle size distribution of the MNPs from 0 to 1, was equal to 0.27 ± 0.04 for MNPs suspended in water, as described at section 2.2. PDI values only consider a sample as monodisperse if the values obtained are less than 0.1. [26] Thus, this obtained value indicates that the NPs population is slightly polydisperse regarding its particle size. Sepia melanin, as aforementioned, is made of aggregated spherical particles which size diameter varies in the range of 100-200 nm. [27] These aggregates are also formed of small spherical granules which size distribution is not uniform. The final form of melanin, type-B particles, presents a smooth surface as it was possible to observe by SEM analysis. [28] It is noteworthy that **Figure I (a)** was obtained using low-resolution SEM equipment, while **Figure I (b)** was acquired with a high-performance field emission SEM instrument. This instrument is designed for structural imaging with the ability of a focused ion beam at a nanometric scale achieving a three-dimensional imaging. Accordingly to **Figure I (a) and (b)**, MNPs were formed in agreement with the reported size range. The spherical shape of the MNPs, were in conformity with previous studies by our group. [29] [23]

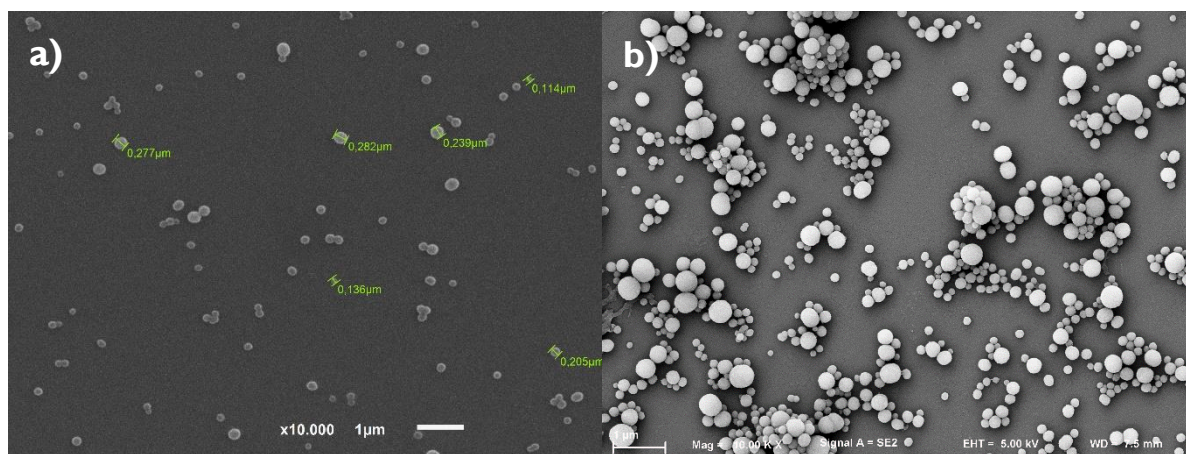


Figure 1: Scanning electron microscopy (SEM) images of melanin nanoparticles (MNPs). (a) MNPs captured using low-resolution SEM (displaying the size measurements); (b) MNPs image acquired with an high-resolution SEM equipment.

The functionalization of MNPs was further achieved by using synergistic Py and Da monomers, which were polymerized at the surface of the extracted MNPs by self-polymerization, under oxidative conditions using TRIS base and APS, with different mass ratios between the monomers. Different mass ratios of Da/Py were evaluated and the composition of FMNPs is presented in **Table 1**. **Figure 2** presents SEM images of the FMNPs from the lowest Da/Py ratio (FMNPs-1) to the highest (FMNPs-4). The first image (**Figure 2 (a)**) corresponds to the lowest ratio between Da/Py (FMNPs-1) where no aggregation is visible and a particle size with ca. 250 nm. On the other hand, at the highest ratio, the aggregation is visible at **Figure 2 (d)**, by the FMNPs formed agglomerates and more heterogeneous particle size population (ca. 100-500 nm). The formulation FMNPs-4, which contains the highest Da/Py ratio, made possible to confirm the success of the polymers coating, by the presence of a different shade and roughness in the surface of the FMNPs, while maintaining the characteristic spherical shape (**Figure 3 (b)**).

Table 1: Results obtained for particle size, polydispersity index (PDI), zeta-potential and incorporation efficiency (IE%) for melanin nanoparticles (MNPs), functionalized melanin nanoparticles (FMNPs) and dexamethasone (Dex)-loaded FMNPs-I.

NPs formulations	Particle size (nm ± SD)	PDI	Zeta- potential (mV)	IE (%)
MNPs	371.68 ± 10.58	0.27 ± 0.04	-30.67 ± 1.60	N.A.
FMNPs-I	376.77 ± 62.05	0.26 ± 0.09	-32.59 ± 3.61	N.A.
FMNPs-2	531.30 ± 34.69	0.49 ± 0.03	-31.90 ± 3.76	N.A.
FMNPs-3	446.70 ± 46.71	0.42 ± 0.04	-31.73 ± 0.34	N.A.
FMNPs-4	1613.30 ± 151.68	0.96 ± 0.06	-31.33 ± 0.29	N.A.
5mg Dex-loaded FMNPs-I	382.63 ± 13.89	0.24 ± 0.01	-40.34 ± 4.65	94.45 ± 0.63
10mg Dex-loaded FMNPs-I	546.15 ± 9.95	0.46 ± 0.03	-44.27 ± 0.52	94.57 ± 0.46

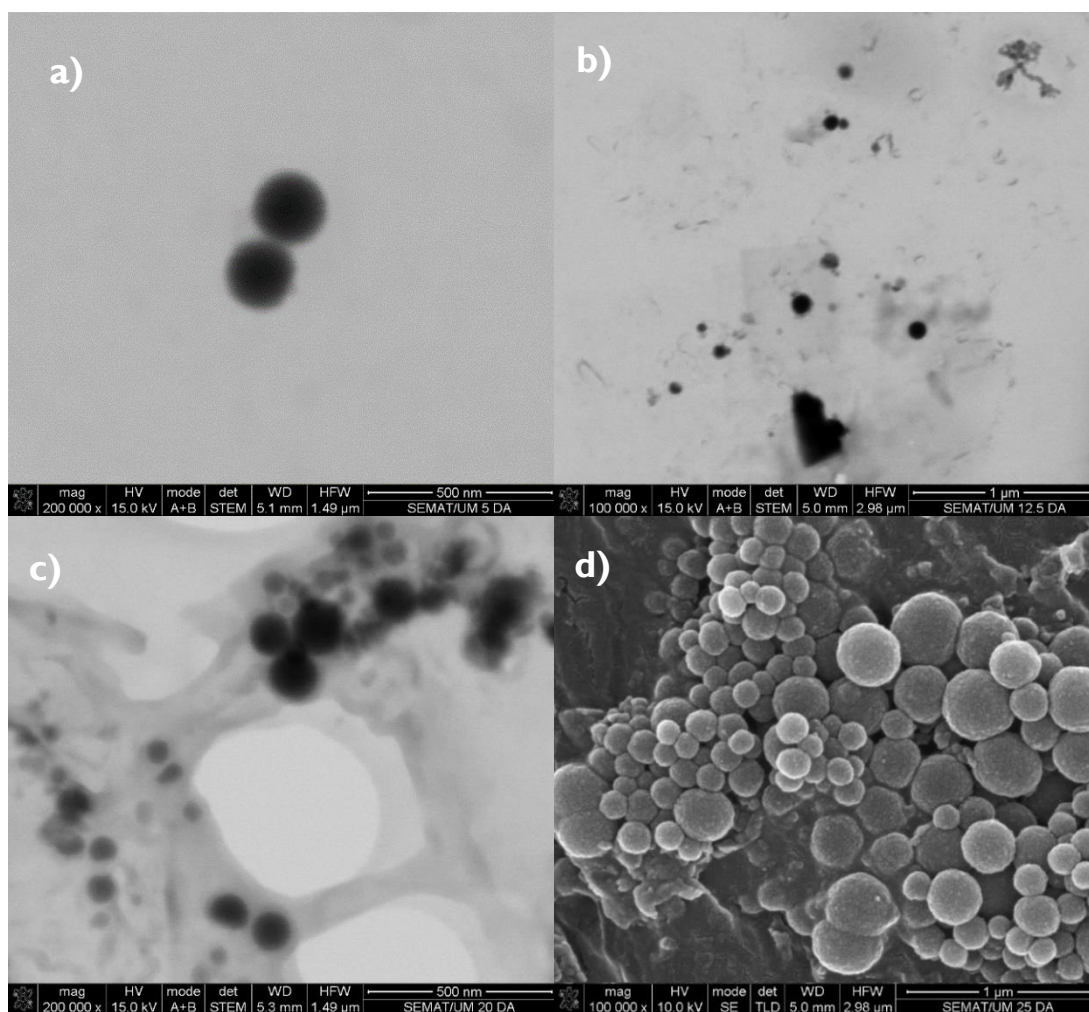


Figure 2: Scanning electron microscopy (SEM) images of functionalized melanin nanoparticles (FMNPs): (a) FMNPs-1; (b) FMNPs-2; (c) FMNPs-3 and (d) FMNPs-4.

The FMNPs obtained were studied by DLS and the results obtained are presented in **Table I**. It was noticed that by increasing the concentration of Da, as specified at **Table 2**, the particle size of the functionalized MNPs enlarged probably due to NPs aggregation phenomena, although the increase is not directly proportional. As a matter of fact, the particle size of FMNPs is higher compared to the MNPs, which could be attributed to the effective polymers coating present on the surface of FMNPs.

Table 2: Composition of functionalized melanin nanoparticles (FMNPs), regarding the different mass ratio between dopamine (Da) and pyrrole (Py) monomers (being pyrrole mass equal to 25 mg).

FMNPs Formulations	Melanin (mg)	Da (mg)	Da/Py mass ratio
FMNPs-1	25	5	0.2
FMNPs-2	25	12.5	0.5
FMNPs-3	25	20	0.8
FMNPs-4	25	25	1

FMNPs-4 with a particle size of 1613.3 ± 151.68 nm were excluded from the NPs particle size range, being higher-sized than $1 \mu\text{m}$, and thus consisting of undesirable microparticles, being excluded for further studies. Both FMNPs-2 and FMNPs-3 present a particle size of 531.30 ± 34.69 nm and 446.7 ± 46.71 nm, respectively, and together with the PDI registered values of 0.49 ± 0.03 and 0.42 ± 0.04 , respectively, reveal their heterogeneity in terms of particle size distribution. This way, FMNPs-1, with a particle size of 376.775 ± 62.05 nm and a PDI of 0.26 ± 0.09 , show the best results in terms of particle size and polydispersity.

PPy and PDa form chemical or hydrogen bonds between the monomers and when polymerization occurs, π - π interactions are formed to create a new morphology between the two polymers. [30] These same bonds, regarding the similar structure of melanin and Da, are thought to be formed between the polymers and the surface of the FMNPs. [17] Therefore, it can be possible that interactions between the different substances occur while the polymerization takes place in oxidative conditions, forming a functionalization layer of polymers in the surface of the MNPs.

In addition, as aforementioned, PDa is a mussel adhesion protein inspired polymer heavily composed of catechol groups. In fact, the effective coating mechanism of the polymers on the surface of the FMNPs is not well established, but the catechol groups present in the PDa can easily explain these adhesion features. [31] [32] FMNPs-1 contains a lower quantity of PDa in the surface, therefore the adhesion-based aggregation do not exert significantly such effect, explaining the lower values found for particle size and polydispersity values, compared to the remaining empty functionalized formulations (FMNPs-2, FMNPs-3 and FMNPs-4).

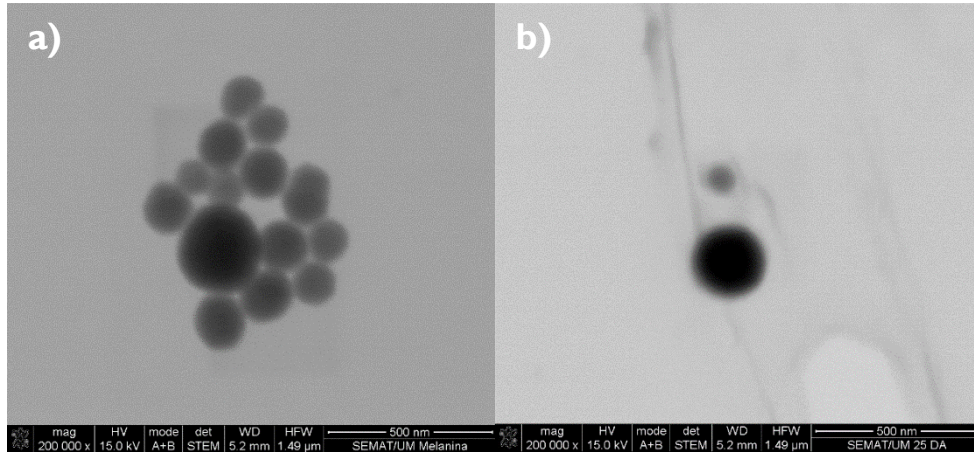


Figure 3: (a) Melanin nanoparticles (MNPs) showing a smooth surface; (b) FMNPs-4, which surface displays a different shade around the surface of the nanoparticle (NP) corresponding to the polydopamine (PDA) and polypyrrole (PPy) functionalization.

Previous research conducted by our group used MNPs functionalized with PDA has encountered the same aggregation problems. In fact, while increasing PDA, the aggregation of NPs was visible and the different results between SEM and DLS were observed, i.e., for a mass ratio between melanin and PDA of 1:1, SEM results displayed a particle size of 230.04 ± 8.25 nm and DLS of 427.6 ± 8.50 nm with a PDI of 0.23 ± 0.02 . [29] In fact, to the best of our knowledge, only research conducted in our research group has functionalized MNPs with PDA. Other studies are available in the literature but using NPs, and the same problem was detected after the functionalization with PDA. This way, Liu et al., modified gold NPs with PDA to form uniform core/shell nanostructures to study their biocompatibility *in vitro* and *in vivo*. The particle size measured was much larger than the physical size, suggesting an aggregation phenomenon when in suspension. As an example, the formulation with a Da concentration of 0.4 mg/mL exhibited a particle size of 131.3 ± 8.5 nm measured by transmission electron microscopy, while the particle size from DLS measurements obtained was 335.3 ± 5.1 nm and a PDI of 0.211. [11] The effect of particle aggregation is probably due to the remarkable adhesion properties of PDA, by the presence of the phenolic C-OH groups, which leads to the interaction between FMNPs and the surrounded water molecules. [33]

ZP, also termed as electrokinetic potential, is the potential at the surface of a colloidal particle moving under an electric field, which offers indications on suspension stability. According to literature, NPs dispersions with ZP superior to ± 30 mV are classified as highly physically

Electro-responsive controlled drug delivery from melanin nanoparticles

stable. [34] All of the values obtained for MNPs and FMNPs are superior to -30 mV with a maximum for the FMNPs-I, -32.59 ± 3.61 mV. Other research groups that used MNPs as nanocarriers also obtained negative zeta-potential values which can only confirm the nature of the empty MNPs. [33] [35] These high zeta-potential values depict a high electrostatic repulsion between neighbor particles in suspension and therefore lower particle aggregation, leading thus to more stable NPs.

The nano-sized FMNPs will allow for a selective intracellular delivery, achieving controlled therapeutic dosing by targeted therapies, avoiding drugs to be effluxed or degraded from cells. Usually an active agent has to cross several membrane layers, which act as an obstacle for the therapeutic agent to achieve intracellular targeting. Nanotechnology can surpass this difficulty by masking the active agent from the biological environment. NPs can undergo endocytosis processes such as phagocytosis, pinocytosis, and receptor-mediated endocytosis. The first process involves the ingestion of particles up to 10 μm by cells from the reticuloendothelial system. Pinocytosis can be achieved by numerous cell types and ingests particles below 1 μm , i.e., NPs. This ability to enter cells may be used for the delivery of therapeutic agents. [36,37] These findings suggest that FMNPs present a particle size appropriate to be delivered to cells, being in the range of nanosized particles less than 500 nm.

Overall, analyzing the results obtained, we selected the lowest molar ratio between Da and Py, considering, thereby, the FMNPs-I formulation for further studies.

The surface roughness of MNPs and FMNPs was evaluated by AFM analysis, as it can be observed in figure 4 (a). Results confirmed the uniform shape of MNPs previously suggested by SEM analysis. Likely in SEM, the aggregation of the MNPs and FMNPs is visible in AFM images, which limited the feasibility of the study, and consequently the acquisition of the image and roughness calculation. However, according to our research group previous studies, the increase of Da concentration leads to an increase in the roughness. [29] A study, performed to assess the structural organization of melanin from *Sepia officinalis*, found that the most predominant structure is an aggregate of particles with a diameter size between 100-200nm that form micron-sized aggregated structures. [38] Another study showed that for different substrates, with different hydrophilicity values (such as mica, glass and gold) melanin will tend to aggregate after the poured drop dry. The self-assembly of these aggregates is owned by the interactions between particles. [39] **Figure 4 (b)** displays the topography of FMNPs-I, where few NPs can be observed along with disperse fragments of FMNPs-I, which suggests

Electro-responsive controlled drug delivery from melanin nanoparticles

that the size of the particles is much superior to the radius of curvature of the AFM tip, ca. 10 nm. [19]

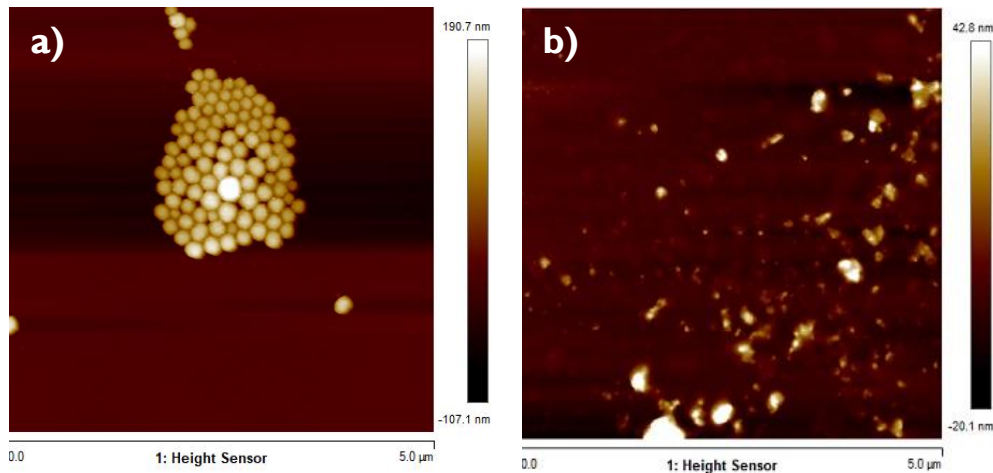


Figure 4: Atomic Force Microscopy (AFM) images of: a) MNPs, confirming the aggregation between the particles; b) FMNPs-I, with visible NPs and fragments.

To better understand the bonds formed between the MNPs and the used polymers, FTIR analysis was performed and the spectra are presented in **Figure 5**. Regarding UV-visible absorption, melanin has a broad-band monotonic absorption. [40] The peak between 3500 cm^{-1} and 3250 cm^{-1} is derived from the N-H and O-H stretching vibrations of amino and hydroxyl groups. The aromatic bending of C-C and C-N of melanin are shown by peaks at 1600 cm^{-1} , which can also demonstrate the aromatic biopolymer nature of melanin by the strong interactions. [41] [42] PDa shows peaks at 1610 cm^{-1} and 1300 cm^{-1} that are associated with the presence of indole rings, namely N-H shearing vibration and the presence of C-O vibrations, respectively, typical of PDa. [12] [43] The broad band ranging from 3400 cm^{-1} to 3040 cm^{-1} can be assigned to the peak of hydroxyl functional groups. [29] PPy presents a strong peak at 3400 cm^{-1} , which is attributed to the N-H stretching vibrations typical of a pyrrole ring. Additionally, C-N stretching are observable between 1550 cm^{-1} and 1428 cm^{-1} and C-H in-plane and out-of-plane deformations in pyrrole units between 1080 cm^{-1} and 1010 cm^{-1} . [44]

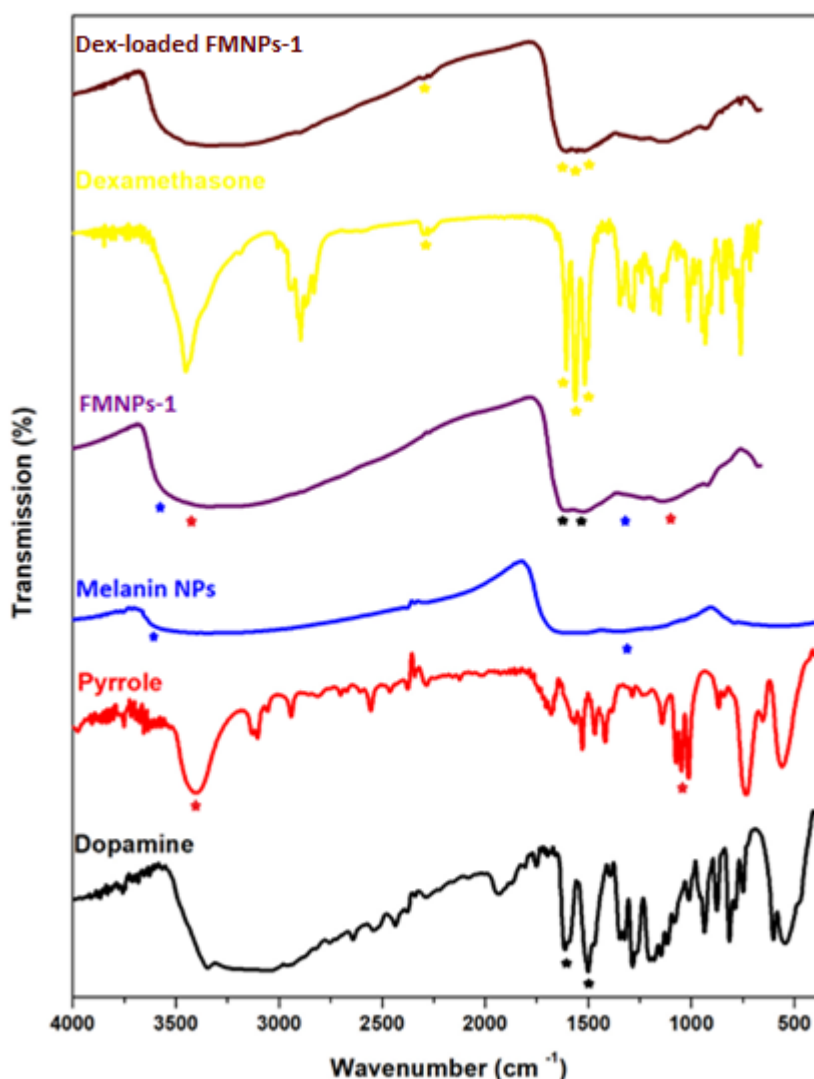


Figure 5: Fourier-transform infrared (FTIR) spectroscopy spectra of dopamine (Da), pyrrole (Py), melanin nanoparticles (MNPs), functionalized melanin nanoparticles (FMNPs-I), dexamethasone and dexamethasone-loaded FMNPs-I (Dex-loaded FMNs-I).

Regarding the spectrum of FMNPs-I it is possible to see the strongest peaks characteristic of PDA, PPy and melanin. A noticeable peak exists between 3600 cm^{-1} and 3000 cm^{-1} , gathering melanin peak and PPy, which leads to an intensity increase, corresponding to the strong π - π interactions. At 1700 cm^{-1} , the peak is the same as melanin, but slightly shifted to the left because of the presence of PPy. At 1610 cm^{-1} and 1260 cm^{-1} other peaks are present as a result of the PDA coating concerning the C-C stretching in the aromatic ring. [30] It can be concluded that FMNPs-I contain the characteristic of the three constituents, specifically PDA, PPy and melanin, supporting the preceding SEM, DLS and AFM studies already performed that indicate the successful functionalization achieved with PDA and PPy.

Electro-responsive controlled drug delivery from melanin nanoparticles

When Dex was incorporated into FMNPs-1 (Dex-loaded FMNPs-1) the FTIR spectrum evidenced the same chemical skeleton as FMNPs-1, although with slight differences. Namely, the peak at 2353 cm^{-1} , which is characteristic of the O-H groups of Dex, being thus absent in the spectrum correspondent to FMNPs-1. Furthermore, the shoulder present between 1750 cm^{-1} and 1600 cm^{-1} changed to three peaks at 1697 cm^{-1} , 1641 cm^{-1} and 1600 cm^{-1} after the incorporation of the drug. This result is consistent to the C-O bonds of the Dex spectrum that are typical of carbonyl stretching vibrations. [45] [46]

An elemental analysis on the surface of MNPs and FMNPs was performed by X-ray photoelectron spectroscopy, whose spectra can be observed in **Figure 6**. The results containing the percentages of oxygen (O), nitrogen (N) and carbon (C) and C/N ratio are displayed on **Table 3**. XPS is a surface analysis technique that has becoming more used to characterize the surface composition of NPs. [47] Nitrogen elemental atomic percentage, attributable to the imino groups of the studied melanin-based NPs, is higher in the MNPs than FMNPs, that contain PDa and PPy at the surface, masking the imino groups of melanin. [48] As expected, FMNPs, contain higher atomic percentages of oxygen (O), and carbon (C) attributed to the superior quantity of the polymers on the FMNPs surface. In the present results, excluding the case of FMNPs-3, as the Da/Py increased so did the C/N ratio, which tended to approach the PDa values (13.2%) previously obtained by our research group. [32] In fact, in the previous studies, PDa evidenced a C/N ratio of 13.2% when compared to the 6.45% from MNPs [29].

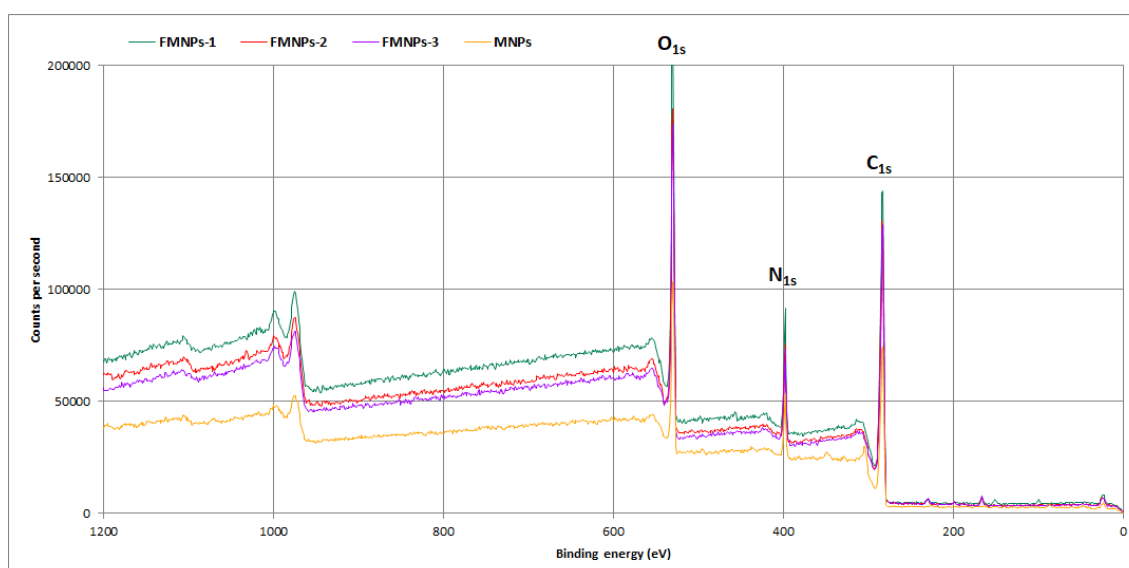


Figure 6: X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) wide-scan spectra of MNPs and functionalized melanin nanoparticles (FMNPs-1, FMNPs-2 and FMNPs-3).

Table 3: Elementary analyses performed by X-ray photoelectron spectroscopy (XPS).

NPs formulations	Atm O (%)	Atm N (%)	Atm C (%)	C/N ratio
MNPs	21.63	10.51	67.82	6.45
FMNPs-1	21.80	10.37	68.75	6.63
FMNPs-2	21.67	9.58	66.28	6.92
FMNPs-3	22.80	10.91	67.85	6.22

3.2. Incorporation of Dexamethasone in functionalized melanin nanoparticles

Dex, an hydrophobic drug with anionic properties, was incorporated in the surface of FMNPs-1 during polymers synthesis. Due to its negative charge, Dex can also act as a dopant during PPy synthesis. [45] FMNPs-1 were used to incorporate Dex in different weight ratios, precisely 5 mg and 10 mg, on the surface of the FMNPs-1, simultaneously to the polymerization of the polymers, by polymers bonding. Zeta-potential measurements confirmed the Dex incorporation, since a higher negative charge was exhibited after incorporation, conferred by the presence of the negatively charged drug. Such effect naturally increased with the concentration of Dex, as depicted in **Table I**. An increased particle size of Dex-loaded FMNPs-1 was also observed with the enhancement of the drug concentration, namely 382.63 ± 13.89 nm and 546.15 ± 9.95 nm for 5 mg and 10 mg of Dex-loaded FMNPs-1, respectively. Regarding 5 mg Dex-loaded FMNPs-1 formulation, the PDI value is 0.24 ± 0.01 which suggests a more homogeneous particle size distribution than 10 mg of Dex-loaded FMNPs-1 formulation with a PDI of 0.46 ± 0.03 , associated with a superior degree of aggregation. Regarding the IE%, obtained values were similar for both Dex-loaded FMNPs-1 formulations, ca. 94.5%, suggesting an optimum incorporation Dex capability at the surface of FMNPs regarding the production method, and, thus, validating the feasibility of the developed formulations. According to Pacheco *et al*, that incorporated Dex in an injectable hydrogel combining poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) (PHBV) microparticles and a gellan gum, the presence of an organic solvent in the drug-loading phase allowed that IE% was increased due to the solubility of Dex in that solvent, achieving an IE% of 92%. [45] Another study that used PDA and PPy composite microcapsules to deliver Dex concluded that the PDA was responsible for increasing the drug-loading capability and that the polymerization itself increased the thickness of the polymer network formed and consequently more drug could be incorporated. [12] According to the aforementioned data, 5 mg Dex-loaded FMNPs-1 was selected for further characterization studies.

3.3. *In vitro* release tests

In vitro release tests were carried out at 37 °C in PBS and methanol (50:50 (v/v)) using 5 mg Dex-loaded FMNPs-I (DexFMNPs), that, as previously referred, was the selected formulation regarding the best results in terms of particle size, PDI, zeta potential and IE (%). Analyzing Dex release profile, without external stimuli (**Figure 7**), a modified drug release was attained by the use of the FMNPs-I, precisely by a controlled Dex release profile. This low released percentage drug profile is common for nanocarriers composed with PDA that retain the loaded drugs in different physiological media conditions, specifically, PBS, cell culture medium and fetal bovine serum. [49] Moreover, no burst release effect was present, which is a very common and problematic disadvantage of many reported NPs in literature, due to weak electrostatic interactions, such as is the case of polymeric micro- and NPs. [50-54] The Dex cumulative release percentage has slightly increased over time, reaching ca. 5% after 7 h and ca. 10% after 27 h, without reaching a plateau. These results suggest, thus, that the drug is well incorporated at the FMNPs-I, being the Dex release rate very limited without stimuli. This behavior was also achieved using PDA for controlled release of doxorubicin, a commonly used anticancer drug, at pH 7.0, which was found to release below 5% of drug over 48 h. [55] This phenomena occurs because the PDA and melanin-based NPs are able to induce strong chelating interactions by π - π bonds, due to the presence of aromatic rings on their surface, or by hydrogen bonding, which are low influenced by pH. [54, 56, 57] Such behavior can be important for *in vivo* applications, due to the lower risk of releasing higher percentages of drug, reducing the possible drug toxicity and the high possibility to be exploited as chemotherapy nanocarrier.

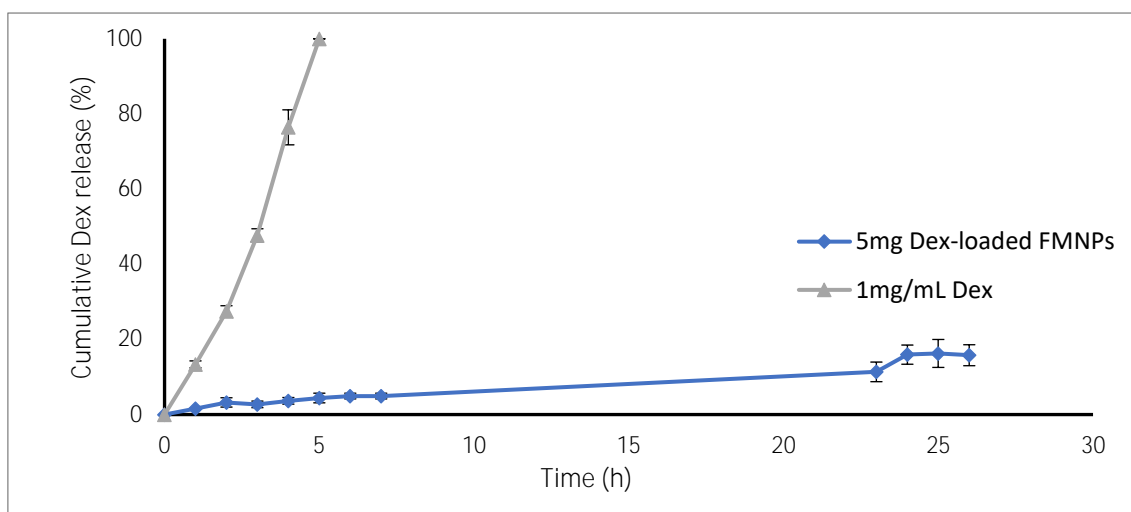


Figure 7: Dexamethasone (Dex) release profile of free dexamethasone methanolic solution (1 mg/mL) and dexamethasone-loaded functionalized melanin nanoparticles (DexFMNPs).

Nevertheless, the purpose of this study was to compare how the drug delivery system of 5 mg Dex-loaded FMNPs-I would behave in the presence of electrical stimulation. Electric field-responsive polymers change their physical properties in response to a slight change in electric current. [2] Depending on the applied potential, PPy holds switching properties from anodic to cathodic. When a current is applied to the drug delivery system, the Dex molecules previously linked with positive charges along the backbone of PPy in the oxidized form will be released as the charges on the polymer are neutralized, promoting the tearing of the bonds previously formed between the PPy and the anionic dopant, PDa. This process will promote an indirect increase of the permeability of the polymers, capable of releasing the incorporated Dex of FMNPs. [4, 45, 58, 59] For that purpose, in this study, a square wave was applied for 1000 cycles and 5 s period. [59]

Design factors allow to study how the delivery of a drug may be interfered by specific variables, such as the duration of the delivery, the mechanism, the frequency of the delivery, among others. In this way, specific design factors were studied for the proposed electro-responsive drug delivery system, including voltage (-0.5/0.5 V; -2/2 V; -4/4 V), frequency (0.1, 0.2, 0.5 s⁻¹) and duration of application time (1.60 min, 3.33 min, 8.33 min), of the electric stimulus. This resulted in a combination of 9 tests with high, mid or low voltage and frequency and consequent application time. It is noteworthy that the frequency of the stimuli was set by the period of the wave desired. For example, for a period of 5 sec it was needed a frequency of 0.2s⁻¹, and to complete 1000 cycles, the duration of application time required was 3.33 min. In the **Table 4** the design factors that were varied for the study of controlled Dex delivery are displayed. The application of stimuli-electroresponsive occurred at specific time points for all the tests: 1, 3, 5, 7 and 23 h. Thereupon, an aliquot of the sample was withdrawn from the receptor Franz-cell and analyzed as described at Section 2.6.

Table 4: Variable design factors for the electrically controlled dexamethasone-loaded functionalized nanoparticle's (ESDexFMNPs) delivery system. Voltage was set at low (-0.5/0.5 V), mid (-2/2 V) and high (-4/4 V); different periods (2, 5, 10 s) which are equivalent of low (0.1 s⁻¹), mid (0.2 s⁻¹) and high (0.5 s⁻¹) frequencies and the corresponding duration of

Electro-responsive controlled drug delivery from melanin nanoparticles

application time (1.60 min, 3.33 min, 8.33 min). Result of the cumulative release of Dex after 24 h are also displayed.

Test	Voltage (V)	Period (s)	Frequency (s^{-1})	Duration of application time (min)	Result of cumulative Dex release at 24 h (%)
1	-4/4	10	0.1	1.60	11.06 ± 0.05
2	-4/4	5	0.2	3.33	14.45 ± 0.07
3	-4/4	2	0.5	8.33	32.39 ± 0.49
4	-2/2	10	0.1	1.60	9.26 ± 0.03
5	-2/2	5	0.2	3.33	15.94 ± 0.07
6	-2/2	2	0.5	8.33	9.55 ± 0.08
7	-0.5/0.5	10	0.1	1.60	8.88 ± 0.05
8	-0.5/0.5	5	0.2	3.33	10.93 ± 0.02
9	-0.5/0.5	2	0.5 ¹	8.33	8.30 ± 0.08

Analyzing the results summarized in **Figure 8**, it is noticeable a different behavior of the Dex release upon different applied conditions of voltage and frequency. In all the experiments, independently of the parameters used, the release of Dex after the stimuli application is higher compared to the formulation of DexFMNPs without electrical stimulation, henceforward designed as control. Using a voltage of -4:4 V after 24 h and at a frequency of $0.5 s^{-1}$, the release of Dex reached its maximum, 32.39%. Comparatively, the minimum Dex release occurred at the same frequency but at the minimum voltage, -0.5:0.5 V, which can indicate that for that voltage magnitude it is needed more frequency of stimuli applied. To study the influence of voltage and frequency, **Figure 9** displays the release of Dex-loaded functionalized melanin nanoparticles after electrical stimulation (ESDexFMNPs) in function of frequency for each voltage applied. This way, it can be noticed that at a fixed frequency, the Dex release increases as the voltage increases, except for the result at a high voltage (-4:4V) and medium frequency ($0.2s^{-1}$), which release was inferior (14.45%). ICP have the exclusivity of a nonlinear response triggered by a small stimulus which leads to noticeable macroscopic transitions in their

Electro-responsive controlled drug delivery from melanin nanoparticles

structure, as changes in the physical state and shape. [2] This nonlinear feature may explain the different release profiles obtained. The purpose of this study was to analyze the behavior of FMNPs under electrical stimulation using different voltage and wave frequency parameters in order to achieve the best release profile. As it can be observed, a direct response release was obtained with a voltage of -4/4V, where increasing the frequency, the release of Dex from ESDexFMNPs was improved.

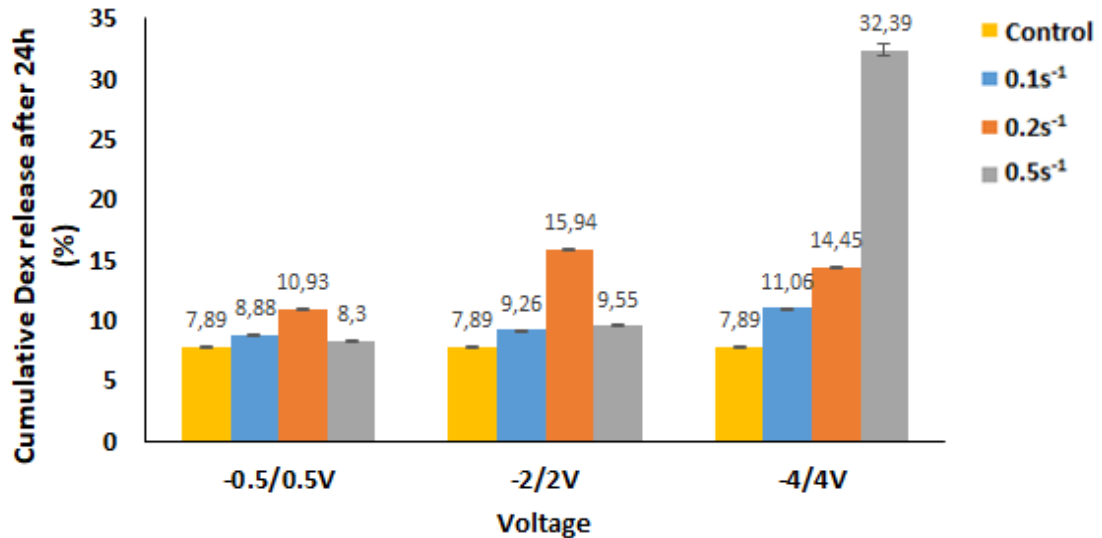


Figure 8: Dexamethasone release profile of dexamethasone-loaded functionalized melanin nanoparticles (DexFMNPs) non-stimulated (control) and dexamethasone-loaded functionalized melanin nanoparticles after electrical stimulation (ESDexFMNPs) with different variable design factors: voltage (-0.5/0.5 V; -2/2 V; -4/4 V) and stimuli frequency (0.1 s⁻¹; 0.2 s⁻¹; 0.5 s⁻¹).

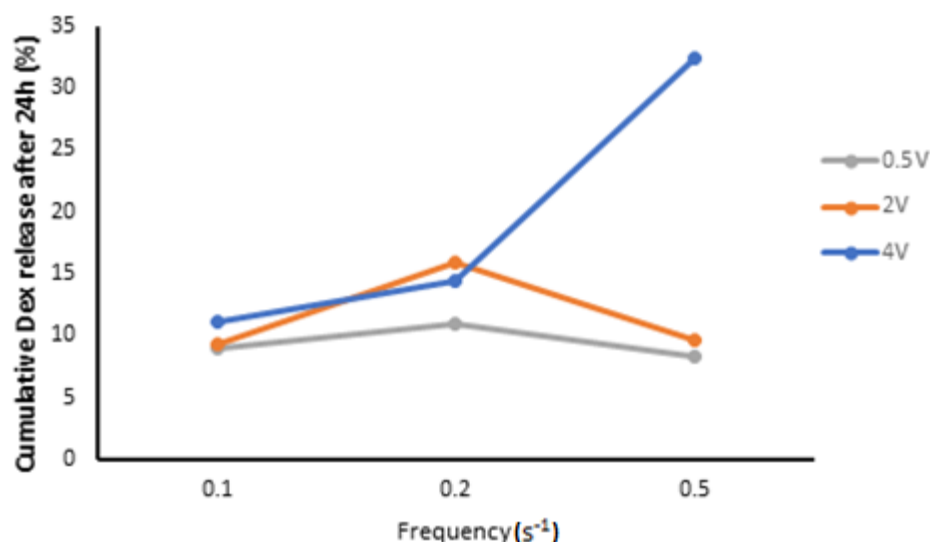


Figure 9: Cumulative percentage release of dexamethasone (Dex) from Dex-loaded functionalized melanin nanoparticles after electrical stimulation (ESDexFMNPs) in function of frequency (s^{-1}) and for each stimuli voltage applied (V), post 24 h.

In fact, the drug release caused by electrical stimulation can be compared to a burst release, with the clear advantage that, by stimulation, the release can be controlled. Literature suggests that the driving mechanism of the release is not only the change in the redox state of PPy and the movement of ions on the backbone, but it is also achieved by the change in the volume of PPy, leading to a contraction with the application of the electrical stimulus. [60] Varying the magnitude of the voltage and frequency of the stimulus it was possible to observe a responsive release, i.e., a high voltage leads to a higher drug release (**Figure 9**).

Similarly, Weaver *et al.*, deposited a nanocomposite, graphene oxide, inside PPy scaffolds and loaded it with Dex to achieve an electrically controlled drug delivery in response to voltage stimulation. The authors observed that small quantities of the drug were released in response to mild electrical stimulation (-0.5/0.5 V), while more negative potentials resulted in larger burst release percentages of Dex. [59] Another study used PPy coated nanostructured electrodes for controlled release of Dex using cyclic voltammetry at 100 mV/s. There was no significant release of Dex by diffusion from the control samples, when no stimuli were applied. On the other hand, it was possible to release nearly 16 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ of Dex after 30 voltammetry cycles. [58]

These observations clearly indicate and prove that ESDexFMNPs is an electrically controlled drug release system. Hence, for controlled drug delivery, not only we can modulate the drug

release rate in a specific site, but also the release can be activated by electrical stimulus when the drug delivery system reaches the desired target *in vivo*. In fact, it can be of great use for personalized therapy as the benefits of these on-demand smart polymer-based drug delivery systems allow the reduction of dosing frequency, maintaining the desired therapeutic concentration with one single dose administration, prolong the release of the drug reducing side effects and increasing biostability. [49]

4. CONCLUSION

In this study, the surface functionalization of MNPs with Pda and PPy and the incorporation of Dex was successfully achieved. The simple inherent production method can be easily used for scale-up procedures. The characterization of melanin and the polymers made possible to establish a correlation between the polymers ratio and their interaction. After the incorporation of Dex into the polymers film formed on the surface of the FMNPs-I with a size ca. 382.63 nm, the incorporation efficiency of $94.45 \pm 0.63\%$ was achieved due to the strong chemical bonds formed between drug and polymers. The main focus of the study was to address if the FMNPs would have electro-responsive features and release Dex in a controlled manner. During drug release studies, without stimulation, the Dex release was almost inconspicuous, meaning that the bonds formed were so strong that the drug was maintained trapped inside the network of polymers. This is very important for *in vivo* as the pharmacokinetics and biodistribution means passing by innumerable cells that usually retain drug molecules. In this way, in the absence of burst release, no “bolus” effect risk exists. On the other hand, when an electrical stimulus is applied a burst drug release is triggered on-demand, i.e., at a specific time and concentration, modulated by a specific voltage and a frequency of the stimulus. The best release response profile was attained after the applied voltage of -4/4 V, in whose conditions a direct response of drug release was observed while increasing the frequency of stimuli. This proves the successful production and application of the described electro-responsive controlled drug delivery system, being in consideration that a certain amount of drug is capable of being released into a specific target site. In due course, this delivery system can be promisingly applied for the targeted delivery of drugs, particularly regarding the anticancer drugs, which strongly benefit from these technological features, including the surpassing of their toxicity concerns. These achievements will certainly conduct us to the new era of personalized treatment medicine.

5. REFERENCES

1. MURDAN, S. - **Electro-responsive drug delivery from hydrogels.** J Control Release. 92, 1-2 (2003) 1-17.
2. PRIYA JAMES, Honey, JOHN, Rijo, ALEX, Anju, ANOOP, K. R. - **Smart polymers for the controlled delivery of drugs a concise overview.** Acta Pharmaceutica Sinica B. 4, 2 (2014) 120-127.
3. KLEINSTREUER, Clement, CHILDRESS, Emily, KENNEDY, Andrew - **Targeted Drug Delivery: Multifunctional Nanoparticles and Direct Micro-Drug Delivery to Tumors.** (2013) 391-416.
4. CABANE, Etienne, ZHANG, Xiaoyan, LANGOWSKA, Karolina, PALIVAN, Cornelia G., MEIER, Wolfgang - **Stimuli-Responsive Polymers and Their Applications in Nanomedicine.** Biointerphases. 7, 1 (2012) 9.
5. GE, J., NEOFYTOU, E., CAHILL, T. J., 3rd, BEYGUI, R. E., ZARE, R. N. - **Drug release from electric-field-responsive nanoparticles.** ACS Nano. 6, 1 (2012) 227-33.
6. PERNAUT, Jean-Michel, REYNOLDS, John R. - **Use of Conducting Electroactive Polymers for Drug Delivery and Sensing of Bioactive Molecules. A Redox Chemistry Approach.** The Journal of Physical Chemistry B. 104, 17 (2000) 4080-4090.
7. SVIRSKIS, Darren, TRAVAS-SEJDIC, Jadranka, RODGERS, Anthony, GARG, Sanjay - **Electrochemically controlled drug delivery based on intrinsically conducting polymers.** Journal of Controlled Release. 146, 1 (2010) 6-15.
8. SHAMAELI, Ehsan, ALIZADEH, Naader - **Nanostructured biocompatible thermal/electrical stimuli-responsive biopolymer-doped polypyrrole for controlled release of chlorpromazine: Kinetics studies.** International Journal of Pharmaceutics. 472, 1-2 (2014) 327-338.
9. ESRAFILZADEH, D., RAZAL, J. M., MOULTON, S. E., STEWART, E. M., WALLACE, G. G. - **Multifunctional conducting fibres with electrically controlled release of ciprofloxacin.** J Control Release. 169, 3 (2013) 313-20.

10. ALIZADEH, Naader, SHAMAELI, Ehsan - **Electrochemically controlled release of anticancer drug methotrexate using nanostructured polypyrrole modified with cetylpyridinium: Release kinetics investigation.** *Electrochimica Acta.* 130, (2014) 488-496.
11. LIU, Xiangsheng, CAO, Jieming, LI, Huan, LI, Jianyu, JIN, Qiao, REN, Kefeng, JI, Jian - **Mussel-Inspired Polydopamine: A Biocompatible and Ultrastable Coating for Nanoparticles *in Vivo*.** *ACS Nano.* 7, 10 (2013) 9384-9395.
12. XIE, Chaoming, LI, Pengfei, HAN, Lu, WANG, Zhenming, ZHOU, Ting, DENG, Weili, WANG, Kefeng, LU, Xiong - **Electroresponsive and cell-affinitive polydopamine/polypyrrole composite microcapsules with a dual-function of on-demand drug delivery and cell stimulation for electrical therapy.** *NPG Asia Materials.* 9, 3 (2017) e358-e358.
13. LI, Zhen, TAN, Shirui, LI, Shuan, SHEN, Qiang, WANG, Kunhua - **Cancer drug delivery in the nano era: An overview and perspectives.** *Oncology Reports.* 38, 2 (2017) 611-624.
14. KOO, Otilia M., RUBINSTEIN, Israel, ONYUKSEL, Hayat - **Role of nanotechnology in targeted drug delivery and imaging: a concise review.** *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine.* 1, 3 (2005) 193-212.
15. BONFERONI, M. C., ROSSI, S., SANDRI, G., FERRARI, F. - **Nanoparticle formulations to enhance tumor targeting of poorly soluble polyphenols with potential anticancer properties.** *Semin Cancer Biol.* (2017)
16. MURA, S., COUVREUR, P. - **Nanotheranostics for personalized medicine.** *Adv Drug Deliv Rev.* 64, 13 (2012) 1394-416.
17. SOLANO, F. - **Melanin and Melanin-Related Polymers as Materials with Biomedical and Biotechnological Applications-Cuttlefish Ink and Mussel Foot Proteins as Inspired Biomolecules.** *Int J Mol Sci.* 18, 7 (2017)
18. SOLANO, F. - **Melanins: Skin Pigments and Much More Types, Structural Models, Biological Functions, and Formation Routes.** *New Journal of Science.* 2014, (2014) 1-28.

19. CHASSEPOT, A., BALL, V. - **Human serum albumin and other proteins as templating agents for the synthesis of nanosized dopamine-eumelanin.** J Colloid Interface Sci. 414, (2014) 97-102.
20. D'ISCHIA, M., WAKAMATSU, K., CICOIRA, F., DI MAURO, E., GARCIA-BORRÓN, J. C., COMMO, S., GALVAN, I., GHANEM, G., KENZO, K., MEREDITH, P., PEZZELLA, A., SANTATO, C., SARNA, T., SIMON, J. D., ZECCA, L., ZUCCA, F. A., NAPOLITANO, A., ITO, S. - **Melanins and melanogenesis: from pigment cells to human health and technological applications.** Pigment Cell Melanoma Res. 28, 5 (2015) 520-44.
21. SANTOS, Ana C., PATTEKARI, Pravin, JESUS, Sandra, VEIGA, Francisco, LVOV, Yuri, RIBEIRO, António J. - **Sonication-Assisted Layer-by-Layer Assembly for Low Solubility Drug Nanoformulation.** ACS Applied Materials & Interfaces. 7, 22 (2015) 11972-11983.
22. DRUGS - Dexamethasone. [Accessed at August 28th]. Available from: <https://www.drugs.com/pro/dexamethasone.html>.
23. SRISUK, Pathomthat, CORRELO, Vitor M., LEONOR, Isabel B., PALLADINO, Pasquale, REIS, Rui L. - **Effect of Melanomal Proteins on Sepia Melanin Assembly.** Journal of Macromolecular Science, Part B. 54, 12 (2015) 1532-1540.
24. BUNGELER, A., HAMISCH, B., STRUBE, O. I. - **The Supramolecular Buildup of Eumelanin: Structures, Mechanisms, Controllability.** Int J Mol Sci. 18, 9 (2017)
25. HACKLEY, Vincent A., CLOGSTON, Jeffrey D. - **Measuring the Hydrodynamic Size of Nanoparticles in Aqueous Media Using Batch-Mode Dynamic Light Scattering.** 697, (2011) 35-52.
26. CLAYTON, Katherine N., SALAMEH, Janelle W., WERELEY, Steven T., KINZER-URSEM, Tamara L. - **Physical characterization of nanoparticle size and surface modification using particle scattering diffusometry.** Biomicrofluidics. 10, 5 (2016) 054107.
27. MBONYIRYIVUZE, Agnes, Y. NURU, Z., DIOP NGOM, Balla, MWAKIKUNGA, Bonex, MOKHOTJWA DHLAMINI, Simon, PARK, Eugene, MAAZA, Malik -

- Morphological and Chemical Composition Characterization of Commercial Sepia Melanin.** American Journal of Nanomaterials. 3, 1 (2015) 22-27.
28. BÜNGELER, Anne, HÄMISCH, Benjamin, HUBER, Klaus, BREMSER, Wolfgang, STRUBE, Oliver I. - **Insight into the Final Step of the Supramolecular Buildup of Eumelanin.** Langmuir. 33, 27 (2017) 6895-6901.
 29. DE TRIZIO, Antonella, SRISUK, Pathomthat, COSTA, Rui R., FRAGA, Alexandra G., MODENA, Tiziana, GENTA, Ida, DORATI, Rossella, PEDROSA, Jorge, CONTI, Bice, CORRELO, Vitor M., REIS, Rui L. - **Natural based eumelanin nanoparticles functionalization and preliminary evaluation as carrier for gentamicin.** Reactive and Functional Polymers. 114, (2017) 38-48.
 30. ZHANG, Wei, YANG, Fut K., PAN, Zihe, ZHANG, Jian, ZHAO, Boxin - **Bio-Inspired Dopamine Functionalization of Polypyrrole for Improved Adhesion and Conductivity.** Macromolecular Rapid Communications. 35, 3 (2014) 350-354.
 31. LEE, Bruce P., MESSERSMITH, P. B., ISRAELACHVILI, J. N., WAITE, J. H. - **Mussel-Inspired Adhesives and Coatings.** Annual Review of Materials Research. 41, 1 (2011) 99-132.
 32. LEE, H., RHO, J., MESSERSMITH, P. B. - **Facile Conjugation of Biomolecules onto Surfaces via Mussel Adhesive Protein Inspired Coatings.** Adv Mater. 21, 4 (2009) 431-434.
 33. JIANG, Q., LUO, Z., MEN, Y., YANG, P., PENG, H., GUO, R., TIAN, Y., PANG, Z., YANG, W. - **Red blood cell membrane-camouflaged melanin nanoparticles for enhanced photothermal therapy.** Biomaterials. 143, (2017) 29-45.
 34. BHATTACHARJEE, Sourav - **DLS and zeta potential What they are and what they are not?** Journal of Controlled Release. 235, (2016) 337-351.
 35. WANG, J., LIU, H., LIU, Y., CHU, C., YANG, Y., ZENG, Y., ZHANG, W., LIU, G. - **Eumelanin-Fe₃O₄ hybrid nanoparticles for enhanced MR/PA imaging-assisted local photothermolysis.** Biomater Sci. 6, 3 (2018) 586-595.
 36. FARAJI, Amir H., WIPF, Peter - **Nanoparticles in cellular drug delivery.** Bioorganic & Medicinal Chemistry. 17, 8 (2009) 2950-2962.

37. MCMILLAN, JoEllyn, BATRAKOVA, Elena, GENDELMAN, Howard E. - **Cell Delivery of Therapeutic Nanoparticles**. 104, (2011) 563-601.
38. CLANCY, Christine M. R., SIMON, John D. - **Ultrastructural Organization of**
Biochemistry. 40, 44 (2001) 13353-13360.
39. JASTRZEBSKA, Maria, MRÓZ, Iwona, BARWIŃSKI, Bogdan, WRZALIK, Roman, BORYCZKA, Stanislaw - **AFM investigations of self-assembled DOPA melanin nano-aggregates**. Journal of Materials Science. 45, 19 (2010) 5302-5308.
40. MEREDITH, P., SARNA, T. - **The physical and chemical properties of eumelanin**. Pigment Cell Res. 19, 6 (2006) 572-94.
41. CHU, M., HAI, W., ZHANG, Z., WO, F., WU, Q., ZHANG, Z., SHAO, Y., ZHANG, D., JIN, L., SHI, D. - **Melanin nanoparticles derived from a homology of medicine and food for sentinel lymph node mapping and photothermal *in vivo* cancer therapy**. Biomaterials. 91, (2016) 182-199.
42. WANG, Y., WANG, X., LI, T., MA, P., ZHANG, S., DU, M., DONG, W., XIE, Y., CHEN, M. - **Effects of Melanin on Optical Behavior of Polymer: From Natural Pigment to Materials Applications**. ACS Appl Mater Interfaces. 10, 15 (2018) 13100-13106.
43. LI, Yan, SHI, Yuzhou, DUAN, Shun, SHAN, Dingying, WU, Zhanpeng, CAI, Qing, YANG, Xiaoping - **Electrospun biodegradable polyorganophosphazene fibrous matrix with poly(dopamine) coating for bone regeneration**. Journal of Biomedical Materials Research Part A. 102, 11 (2014) 3894-3902.
44. SCIENZA, Lisete C., THOMPSON, George E. - **Preparation and Surface Analysis of PPY/SDBS Films on Aluminum Substrates**. Polímeros. 11, 3 (2001) 142-148.
45. WADHWA, Reecha, LAGENAUR, Carl F., CUI, Xinyan Tracy - **Electrochemically controlled release of dexamethasone from conducting polymer polypyrrole coated electrode**. Journal of Controlled Release. 110, 3 (2006) 531-541.
46. PACHECO, Daniela P., AMARAL, Maria H., REIS, Rui L., MARQUES, Alexandra P., CORRELO, Vítor M. - **Development of an injectable PHBV microparticles-GG**

- hydrogel hybrid system for regenerative medicine.** International Journal of Pharmaceutics. 478, 1 (2015) 398-408.
47. LA SPINA, Rita, SPAMPINATO, Valentina, GILLILAND, Douglas, OJEA-JIMENEZ, Isaac, CECCONE, Giacomo - **Influence of different cleaning processes on the surface chemistry of gold nanoparticles.** Biointerphases. 12, 3 (2017) 031003.
 48. BERNSMANN, Falk, PONCHE, Arnaud, RINGWALD, Christian, HEMMERLÉ, Joseph, RAYA, Jesus, BECHINGER, Burkhard, VOEGEL, Jean-Claude, SCHAAF, Pierre, BALL, Vincent - **Characterization of Dopamine-Melanin Growth on Silicon Oxide.** The Journal of Physical Chemistry C. 113, 19 (2009) 8234-8242.
 49. WANG, X., ZHANG, J., WANG, Y., WANG, C., XIAO, J., ZHANG, Q., CHENG, Y. - **Multi-responsive photothermal-chemotherapy with drug-loaded melanin-like nanoparticles for synergetic tumor ablation.** Biomaterials. 81, (2016) 114-124.
 50. GALVEZ, Julio, RODRIGUEZ-NOGALES, Alba, ORTIZ, Victor, ALGIERI, Francesca, ZORRILLA, Pedro, RODRIGUEZ-CABEZAS, M. Elena, GARRIDO-MESA, Natividad, UTRILLA, M. Pilar, MATTEIS, Laura, GARRIDO-MESA, Jose, MARTINEZ DE LA FUENTE, Jesus, CENIS, Jose Luis, LOZANO-PEREZ, Antonio Abel - **Silk fibroin nanoparticles constitute a vector for controlled release of resveratrol in an experimental model of inflammatory bowel disease in rats.** International Journal of Nanomedicine. (2014) 4507.
 51. KUMAR, Vijay, LEEKHA, Ankita, TYAGI, Aakriti, KAUL, Ankur, MISHRA, Anil Kumar, VERMA, Anita Kamra - **Preparation and evaluation of biopolymeric nanoparticles as drug delivery system in effective treatment of rheumatoid arthritis.** Pharmaceutical Research. 34, 3 (2017) 654-667.
 52. GOMEZGAETE, C., TSAPIS, N., BESNARD, M., BOCHOT, A., FATTAL, E. - **Encapsulation of dexamethasone into biodegradable polymeric nanoparticles.** International Journal of Pharmaceutics. 331, 2 (2007) 153-159.
 53. YEO, Yoon, PARK, Kinam - **Control of encapsulation efficiency and initial burst in polymeric microparticle systems.** Archives of Pharmacal Research. 27, 1 (2004) 1-12.

54. XU, W., SUN, J., LI, L., PENG, X., ZHANG, R., WANG, B. - **Melanin-manganese nanoparticles with ultrahigh efficient clearance *in vivo* for tumor-targeting T1 magnetic resonance imaging contrast agent.** Biomater Sci. 6, 1 (2017) 207-215.
55. LI, Y., JIANG, C., ZHANG, D., WANG, Y., REN, X., AI, K., CHEN, X., LU, L. - **Targeted polydopamine nanoparticles enable photoacoustic imaging guided chemo-photothermal synergistic therapy of tumor.** Acta Biomater. 47, (2017) 124-134.
56. ZHANG, R., FAN, Q., YANG, M., CHENG, K., LU, X., ZHANG, L., HUANG, W., CHENG, Z. - **Engineering Melanin Nanoparticles as an Efficient Drug-Delivery System for Imaging-Guided Chemotherapy.** Adv Mater. 27, 34 (2015) 5063-9.
57. LONGO, D. L., STEFANIA, R., AIME, S., ORAEVSKY, A. - **Melanin-Based Contrast Agents for Biomedical Optoacoustic Imaging and Theranostic Applications.** Int J Mol Sci. 18, 8 (2017)
58. LEPRINCE, Lucas, DOGIMONT, Audrey, MAGNIN, Delphine, DEMOUSTIER-CHAMPAGNE, Sophie - **Dexamethasone electrically controlled release from polypyrrole-coated nanostructured electrodes.** Journal of Materials Science: Materials in Medicine. 21, 3 (2010) 925-930.
59. WEAVER, Cassandra L., LAROSA, Jaclyn M., LUO, Xiliang, CUI, Xinyan Tracy - **Electrically Controlled Drug Delivery from Graphene Oxide Nanocomposite Films.** ACS Nano. 8, 2 (2014) 1834-1843.
60. SZUNERITS, Sabine, TEODORESCU, Florina, BOUKHERROUB, Rabah - **Electrochemically triggered release of drugs.** European Polymer Journal. 83, (2016) 467-477.