



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Sílvia Marlene Jesus de Araújo

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Compostos contendo *N* heterociclos e a sua atividade antibiofilme”, sob orientação do Dr. Rui Manuel Romero, da Dra. Catarina Silva e da Professora Doutora Vânia Maria Antunes Moreira Bimbo, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Outubro de 2021



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Sílvia Marlene Jesus de Araújo

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Compostos contendo *N*-heterociclos e a sua atividade antibiofilme”, sob orientação do Dr. Rui Manuel Romero, da Dra. Catarina Silva e da Professora Doutora Vânia Maria Antunes Moreira Bimbo, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Outubro 2021

Eu, Sílvia Marlene Jesus de Araújo, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2015245112, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Compostos contendo N-heterociclos e a sua atividade antibiofilme” 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, 31 de outubro de 2021.

Sílvia Marlene Jesus de Araújo

(Sílvia Marlene Jesus de Araújo)

AGRADECIMENTOS

À Professora Doutora Vânia Moreira, por toda a sua disponibilidade, paciência e pela tranquilidade que me transmitiu. Devo-lhe grande parte desta conquista.

À equipa da Farmácia Vitória, Dr. Rui Romero, Dr. Luís Soares e Maria José, que me acolheu com todo o carinho. Em especial ao Dr. Rui Romero que nunca se inibiu de me ensinar e me fez acreditar em mim. Sem a sua presença, esta etapa não teria o mesmo significado.

À equipa da Garantia da Qualidade de Processos da Farmalabor, Dra. Dália Gonçalves, Eng^a Áurea Ferreira, Dra. Catarina Silva, Dra. Daniela Oliveira e Dra. Matilde Ribeiro que me receberam de braços abertos. Em especial à Daniela e a ti, Áurea, que me ensinaste, orientaste e te tornaste uma amiga. As tuas palavras mudaram a minha vida.

Carol e Diana, para vocês não existem palavras suficientes para agradecer. Estiveram comigo em todos os meus altos e baixos, sem nunca desistir de mim.

À Sofia e à Filipa, que nunca me disseram “não” quando eu precisei e com quem partilhei muitos dos melhores momentos destes anos.

Catarina, Mariana, Isa, Aleixo e Diogo, vão ficar sempre no meu coração. Obrigada por todos os momentos.

Ao Diogo, que durante os cinco anos de Coimbra, não desistiu de mim. Nunca me vou esquecer disso.

À minha família, que se fez sempre presente. Em especial à minha tia Irene que tem o dom de me tranquilizar e esteve ao meu lado em todos os momentos decisivos.

À minha Avó, que não falhou uma única vez a chamada diária todos estes anos e ao meu Avô, que conta a toda a gente, com o maior orgulho, que a neta é farmacêutica. Ter-vos comigo é uma das minhas maiores sortes.

Ao meu Pai, que permitiu que vivesse este sonho e nunca me disse que não. Sem ti, nada disto teria sido possível.

A ti Mãe... a ti devo-te tudo. Obrigada por toda a cumplicidade, por todo o apoio e toda a compreensão. A cada dia que passa, dia fazes de mim uma pessoa melhor.

Coimbra, foste o sonho que eu não sabia que tinha. Agradeço ao destino por me ter trazido até ti. Sei que aqui sempre me irei sentir em casa.

ÍNDICE

PARTE I – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	9
1. INTRODUÇÃO	10
2. ANÁLISE SWOT	11
2.1. PONTOS FORTES (<i>STRENGTHS</i>)	11
2.1.1. Confiança nas capacidades e autonomia do Estagiário	11
2.1.2. Novo Módulo de Atendimento	11
2.1.3. Identificação do utente e ficha de cliente	11
2.1.4. Preparação de medicamentos manipulados	12
2.2. PONTOS FRACOS (<i>WEAKNESSES</i>)	12
2.2.1. Gestão de stocks e reservas	12
2.2.2. Dermofarmácia e Cosmética	13
2.3. OPORTUNIDADES (<i>OPPORTUNITIES</i>)	13
2.3.1. Formação contínua	13
2.3.2. Exercícios de <i>BackOffice</i> e revisão do receituário	14
2.3.3. Dispensa de Medicamentos Hospitalares	15
2.3.4. Preparação Individualizada da Medicação (PIM)	15
2.4. AMEAÇAS (<i>THREATS</i>)	17
2.4.1. Localização da farmácia	17
2.4.2. Parafarmácias e o mercado virtual	17
3. CASOS PRÁTICOS	18
3.1. Preparação de uma pomada de lodo a 10% (m/m), Iodeto de Potássio a 5% (m/m), Cânfora a 10% (m/m), Óleo essencial de Terebentina a 5% (m/m) para uso veterinário	18
3.2. Queimadura de 2º grau por etanol	18
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	20
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22
ANEXOS	23

PARTE II – Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	38
1. INTRODUÇÃO	39

2. ANÁLISE SWOT	41
2.1. PONTOS FORTES (<i>STRENGTHS</i>)	41
2.1.1. Integração na equipa e aquisição de confiança	41
2.1.2. Comunicação com as restantes áreas dentro da Indústria Farmacêutica ...	41
2.1.3. <i>Microsoft Excel</i>	42
2.2. PONTOS FRACOS (<i>WEAKNESSES</i>)	42
2.2.1. Metodologia <i>Kaizen</i>	42
2.3. OPORTUNIDADES (<i>OPPORTUNITIES</i>)	43
2.3.1. <i>Online training course – Process Scale-up, Validation & Technology Transfer</i>	43
2.3.2. Observação de uma auditoria	43
2.4. AMEAÇAS (<i>THREATS</i>)	44
2.4.1. Pandemia por Covid-19	44
2.4.2. Excesso de tarefas vs. oportunidade de emprego	44
2.4.3. Conhecimentos adquiridos no MIFC relativos à Garantia da Qualidade	44
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

PARTE III – Monografia intitulada “Compostos contendo N-heterociclos e a sua atividade antibiofilme”

LISTA DE ABREVIATURAS	48
LISTA DE FIGURAS E TABELA	49
ABSTRACT	50
RESUMO	51
1. INTRODUÇÃO	52
2. Desenvolvimento dos biofilmes: desde a forma planctónica até ao biofilme	53
2.1. Adsorção à superfície e formação da monocamada (colonização)	54
2.2. Formação de microcolónias – crescimento e divisão celular – e maturação	55
2.2.1. Matriz do biofilme	56
2.3. Dispersão	56
3. O problema das resistências ao antimicrobianos	58
3.1. Estratégias de resistência dos biofilmes	58
3.1.1. Matriz	58
3.1.2. Heterogeneidade fisiológica	59
3.1.3. Persisters	59

3.1.4. Bombas de efluxo	60
3.1.5. Quorum sensing (QS)	60
4. Revisão de pequenas moléculas promissoras contendo heterociclos com atividade anti biofilme	61
5. CONCLUSÃO	75
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76



Farmácia **Vitória**

PARTE I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Sob orientação do Dr. Rui Manuel Romero

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ANF	Associação Nacional de Farmácias
ADIFA	Associação de Distribuidores Farmacêuticos
CHUSJ	Centro Hospitalar Universitário de São João
CIMPI	Centro de Informação de Medicamentos de Preparação Individualizada
DCI	Denominação Comum Internacional
EM	Esclerose Múltipla
FFUP	Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto
FV	Farmácia Vitória
F2C	Farma2Care
MICF	Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
MNSRM	Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica
MSRM	Medicamentos Sujeitos a Receita Médica
NMA	Novo Módulo de Atendimento
OF	Ordem dos Farmacêuticos
PIM	Preparação Individualizada da Medicação
PVP	Preço de Venda ao Público
SNS	Serviço Nacional de Saúde
SGLT₂	<i>Sodium-glucose co-transporter-2</i>
SIDA	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
SWOT	<i>Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats</i>
VIH	Vírus da Imunodeficiência Humana

I. INTRODUÇÃO

A Farmácia Vitória (FV) foi fundada no ano de 1944 e situa-se na Rua de São Roque da Lameira, na cidade do Porto. A equipa técnica é constituída por três elementos, a técnica de farmácia D. Maria José, o farmacêutico adjunto Dr. Luís Soares e o diretor técnico e proprietário, Dr. Rui Manuel Romero. Localiza-se no centro de três bairros sociais o Bairro do Cerco, de Contumil e de São Roque da Lameira, onde presta serviços a uma população carente em vários aspetos, desde económicos a sociais, que deposita nestes profissionais um elevado grau de confiança.

Ao frequentar o MICF, através do extenso plano curricular, somos preparados para todas as áreas do setor farmacêutico e muitos de nós, tal como eu, não tendo o objetivo de enveredar pela área de farmácia comunitária, não compreendemos o porquê de este ser um estágio de carácter obrigatório enquanto as restantes áreas não o são. Para além de me ter permitido aplicar parte dos conhecimentos adquiridos nas unidades curriculares, fez-me crescer a nível pessoal, ser mais confiante nas minhas qualidades, ensinou-me a ouvir e ser empática ainda que sempre com um sexto sentido profissional.

O farmacêutico comunitário é um dos pilares do Serviço Nacional de Saúde (SNS) para garantir a prestação de cuidados de saúde básicos de qualidade a todos os cidadãos. A farmácia é, muitas vezes, o primeiro contacto entre o doente e um profissional de saúde e desta forma o primeiro pode ser aconselhado relativamente à correta utilização da medicação ou à utilização de medicamentos não sujeitos a receita média (MNSRM) ou, quando necessário, encaminhados a um médico. Um farmacêutico é, acima de tudo, especialista do medicamento e as suas funções na farmácia comunitária, para além das referidas anteriormente, passam pela gestão e otimização da terapêutica, revisão da medicação, aumentar a literacia em saúde, por exemplo promovendo a utilização de medicamentos genéricos, e prestação de serviços como determinação de parâmetros e administração de injetáveis. Acima de tudo, cabe ao farmacêutico a identificação de situações de risco, deteção precoce de diversas doenças e promoção de estilos de vida saudáveis¹.

O presente relatório vem analisar o meu estágio, decorrido no período de 11 de janeiro a 28 de maio de 2021, na Farmácia Vitória, através de uma análise SWOT, descrevendo os pontos fortes (*Strengths*), pontos fracos (*Weaknesses*), oportunidades (*Opportunities*) e ameaças (*Threats*) que considero oportunas.

2. ANÁLISE SWOT

2.1. PONTOS FORTES (STRENGTHS)

2.1.1. Confiança nas capacidades e autonomia do Estagiário

Dois dos pontos mais fortes do estágio na FV são a confiança depositada no estagiário e a autonomia da qual nos é permitido usufruir. O Dr. Rui Romero, responsável por orientar o meu estágio, utiliza uma metodologia de ensino através da prática de execução com a qual eu me identifiquei, dando-me oportunidade de pesquisar e exercer as mais variadas tarefas sem medo de errar. Desde o meu primeiro dia de estágio que me foi permitido efetuar a receção de encomendas e atendimentos de forma autónoma, ainda que com a sua supervisão.

Outro aspeto a relevar é que, embora como estagiária, senti-me farmacêutica desde o primeiro dia. A minha opinião sobre os mais diversos temas sempre foi ouvida e tida em conta, o que auxiliou na minha integração e autoconfiança, fatores necessários para a transmissão de confiança ao utente aquando do atendimento e aconselhamento farmacêutico.

2.1.2. Novo Módulo de Atendimento

A Farmácia Vitória foi uma das farmácias pioneiras na utilização do novo sistema informático Novo Módulo de Atendimento (NMA) que tem como objetivo, aos poucos, substituir o Sifarma 2000[®]. Este novo sistema ainda não está operacional em todas as farmácias e foi uma mais-valia para o meu percurso ter oportunidade de explorar esta ferramenta muito mais intuitiva e atual que o antigo Sifarma 2000[®]. Para além do atendimento, utilizamos o NMA para a receção de encomendas, apesar desta ainda não estar totalmente otimizada no sistema. O facto do NMA ainda não estar completo, implica que por vezes sejamos direcionados para o Sifarma 2000[®] para realizar operações como a consulta de vendas ou gestão de devoluções, o que me permitiu ter contacto e explorar ambos os sistemas informáticos.

2.1.3. Identificação do utente e ficha de cliente

Desde o meu primeiro contacto com o atendimento que me referiram a importância do primeiro passo ser sempre a identificação do utente. Servindo a FV uma área específica, a maior parte dos utentes têm ficha de cliente, onde fica guardado todo o histórico de

medicação e nos são disponibilizadas outras informações tais como a data de aquisição do medicamento, a posologia e o médico prescritor no caso dos MSRM. Isto é uma mais-valia, uma vez que, para além de nos permitir facilmente alcançar o histórico de vendas do medicamento que o doente tem por hábito adquirir, dá-nos oportunidade de efetuar uma breve revisão da medicação e até controlo da adesão à terapêutica. Quando o utente não tem e não pretende ficha de cliente, a regra é que é de carácter obrigatório na FV efetuar a venda de qualquer MSRM com os dados do utente para que possam ser detetados e comunicados quaisquer erros posteriormente.

2.1.4. Preparação de medicamentos manipulados

Os medicamentos manipulados são formulações adaptadas de acordo com o perfil fisiopatológico do doente de forma a suprir necessidades terapêuticas não existentes no mercado, como formulações pediátricas ou associação de substâncias ativas. A prescrição de medicamentos manipulados é cada vez menos comum, uma vez que a diversidade do mercado está cada vez mais extensa, não obstante a preparação destas formulações é uma forte componente prática do MICEF.

A Farmácia Vitória dispõe de um laboratório destinado à preparação de manipulados e durante o meu estágio tive oportunidade de ser responsável pela preparação, acondicionamento, rotulagem e cálculo do PVP de uma pomada de vaselina enxofrada a 6% (m/m), utilizada para o tratamento da escabiose, uma infestação cutânea causada pelo ácaro *Sarcoptes scabiei*² e ainda da preparação de uma pomada de Iodo a 10% (m/m), Iodeto de Potássio a 5% (m/m), Cânfora a 10% (m/m), Óleo essencial de Terebentina a 5% (m/m) para uso veterinário (Caso Prático I).

2.2. PONTOS FRACOS (WEAKNESSES)

2.2.1. Gestão de stocks e reservas

O processo de gestão de stock na FV ainda não está automatizado, pelo que as encomendas diárias têm de ser efetuadas manualmente consoante as vendas. A situação socioeconómica geral e, principalmente, na zona de inserção da farmácia, dificulta o armazenamento de grandes quantidades de medicamentos. Tem havido uma melhoria contínua no que refere a essa gestão na FV, porém o facto de este ainda não estar automatizado é um ponto fraco, uma vez que é um encargo a mais a cada atendimento ter

de adicionar o produto à encomenda para além de ser suscetível a falhas, especialmente até se tornar hábito.

O processo das reservas é um ponto fraco, no que remete à minha opinião, apesar de estar agilizado na equipa técnica. Está definido que cada colaborador fica responsável pelas suas reservas, pelo que no momento da receção da encomenda, cabe a cada um efetuar a separação das suas reservas. Este processo poderia ser mais eficiente, pois, por vezes, as reservas não são devidamente separadas por falta de comunicação interna e senti diversas vezes que induz em erro o cliente, achando este que terá de levantar a sua reserva apenas com o profissional que o tinha atendido inicialmente.

2.2.2. Dermofarmácia e Cosmética

Não sendo estes produtos essenciais, a componente de dermofarmácia e cosmética é muito escassa devido, uma vez mais, ao poder económico da população em redor. Para além dos MNSRM, a dermocossmética é uma área em que o farmacêutico tem oportunidade de demonstrar o seu conhecimento e praticar o aconselhamento. Não havendo venda substancial destes produtos, foi uma componente em défice no meu estágio.

Para colmatar esse aspeto, eram-me destinados diversos casos de aconselhamento que surgiam para que eu tivesse oportunidade de pesquisar e conhecer novos produtos. Ainda me foi sugerido um trabalho com a finalidade de elaborar uma formação interna acerca de duas gamas da marca EUA THERMALE AVÈNE, a DermAbsolu e PhysioLift (Anexo I), que foram lançadas no decorrer do meu estágio e não tivemos oportunidade de ter formação da marca.

2.3. OPORTUNIDADES (OPPORTUNITIES)

2.3.1. Formação contínua

Um dos aspetos dos quais tive oportunidade de usufruir durante o meu estágio curricular foi a oportunidade de ter formação contínua. Todos os dias aprendi algo novo ou solidifiquei os meus conhecimentos de diversas formas.

Tive oportunidade de presenciar diversas ações de formação de novos produtos através de delegados de informação médica, como a formação acerca do Edistride, cujo princípio ativo é a dapagliflozina, um inibidor da SGLT₂, e do Ebymect, composto por

dapagliflozina e cloridrato de metformina, sendo o segundo uma biguanida, dirigidas por um delegado da BIAL.

À parte das formações externas, era desafiada diariamente com questões abordando os mais diversos temas da área farmacêutica que me faziam estudar, pesquisar e no final ainda ter um esclarecimento que me permitiram aprender bastante e, com certeza, fizeram de mim uma futura profissional mais curiosa e completa.

2.3.2. Exercícios de *BackOffice* e revisão do receituário

Durante o período em que estive na FV, foi-me permitido explorar todas as tarefas de *BackOffice* e ser responsável pela sua realização. Como referi no ponto 2.1.2., o sistema informático utilizado é o NMA, no entanto somos frequentemente direcionados para o Sifarma 2000® quando não se trata de atendimento ou receção de encomendas. Das tarefas por mim realizadas de *BackOffice*, realço a alteração de *stocks*, criação e gestão de devoluções, gestão de quebras e acesso a histórico de vendas para fins de encomendas de novos produtos.

A revisão do receituário na FV está à responsabilidade do Dr. Luís Soares que me instruiu e me deu oportunidade de ter essa experiência. Apesar das receitas manuais estarem a cair em desuso, estas ainda apareciam com alguma frequência exigem cuidados durante todo o processo. Estas requerem especial atenção durante o atendimento, em que devemos numa fase inicial verificar se todos os campos estão devidamente preenchidos pelo médico e se a data ainda se encontra dentro de validade. Contudo mesmo após dispensa estas requerem verificação. O processo de conferência inicia-se pela organização das receitas por organismo de participação, correspondendo a cada organismo um lote diferente. Após agrupamento, verificamos novamente a conformidade da receita e confirmamos o verso da receita em que estão registados a correspondência de DCI, dosagem, quantidade, plano de participação, número de receita, data de dispensa dentro da validade, assinatura do utente e do farmacêutico e carimbo da farmácia, para garantir que o que foi entregue ao utente foi o que realmente foi prescrito e que estão preenchidos todos os dados necessários. No final da conferência é emitido o verbete de cada lote e o “Resumo de lotes” e por fim é enviado para o Centro de Conferência de Faturas que irá validar as receitas para que seja efetuado o pagamento da participação caso tudo esteja conforme. As receitas não-conformes são devolvidas à farmácia, não sendo atribuída a participação.

2.3.3. Dispensa de Medicamentos Hospitalares

A Farmácia Vitória integra o projeto Farma2Care (F2C), que é uma colaboração entre a ANF, o CHUSJ, a ADIFA e a OF que permite ao doente obter os seus medicamentos usualmente dispensados na farmácia de ambulatório do hospital numa farmácia comunitária, melhorando assim a acessibilidade ao tratamento e promovendo a adesão à terapêutica. À data o F2C abrange os doentes do CHUSJ das áreas VIH/SIDA, Esclerose Múltipla e Cancro da Mama³.

No decorrer do meu período de estágio, a Farmácia Vitória acolheu quatro doentes do CHUSJ. Uma das quais é doente de Esclerose Múltipla (EM), uma doença inflamatória crónica do Sistema Nervoso Central (SNC) que afeta mais de dois milhões de pessoas em todo o mundo⁴, estando em tratamento com o modificador da doença de primeira linha para síndrome clínica isolada⁵ o interferão β -I. As restantes doentes têm diagnóstico de cancro da mama e fazem tratamento de hormonoterapia, duas delas com o antiestrogénio tamoxifeno e uma com o inibidor da aromatase, anastrozole.

Presenciar este serviço farmacêutico foi certamente uma mais-valia, não só tive oportunidade de explorar mais sobre estas doenças e o seu tratamento, como também me permitiu envolver em todo o processo⁶ desde a receção da notificação do primeiro doente que aderiu ao F2C até ao momento de dispensa do medicamento.

2.3.4. Preparação Individualizada da Medicação (PIM)

A Preparação Individualizada da Medicação (PIM) é um serviço prestado na farmácia comunitária que tem como principal objetivo ajudar o utente, ou o seu cuidador, a gerir melhor a sua medicação, culminando na diminuição da não adesão à terapêutica, seja ela intencional ou não. A PIM é efetuada por um farmacêutico e consiste na organização das formas farmacêuticas sólidas de uso oral, de acordo com a posologia prescrita e horários de toma, pode ser efetuada de forma manual ou automática resultando em diversos compartimentos selados de forma estanque⁷.

Como o serviço de PIM não faz parte dos serviços prestados na Farmácia Vitória, foi-me dada a oportunidade de visitar a Farmácia Mafalda em que a Dra. Aurora Mafalda Carranho é diretora técnica, onde tive a oportunidade de acompanhar a PIM semanal para os utentes do Lar Pereira de Lima. O sistema de PIM da Farmácia Mafalda está praticamente automatizado e, uma vez inseridos os dados dos utentes no sistema informático, este envia a

informação para a máquina de dispensa automática – ATDPS (Automatic Tablet Dispensing & Packaging System) da marca JVM (Figura I) – e obtemos as saquetas com a medicação individualizada e todas as informações relativas à toma e aos medicamentos (nome do utente, hora da toma com pictograma, nome do medicamento e dosagem, características visuais do comprimido, lote e data de validade) (Figura I). A máquina já vem programada de fábrica, pelo que nem todos os medicamentos podem ser nela adicionados e alguns deles têm de ser retirados do blister e localizados de forma manual.

Este é um processo de muita responsabilidade que carece de uma dupla verificação, pelo que um segundo farmacêutico, que não fez parte do processo, tem de confirmar que tudo está correto e dentro da prescrição médica. Tendo em vista a estabilidade dos medicamentos, uma vez que estes já não se encontram na sua embalagem de acondicionamento primário, a sala tem ainda de estar com condições de luz, temperatura e humidade adequadas e constantes.



Figura I – Máquina de dispensa automática – ATDPS (Automatic Tablet Dispensing & Packaging System) da marca JVM e saquetas da medicação individualizada.

2.4. AMEAÇAS (THREATS)

2.4.1. Localização da farmácia

A Farmácia Vitória, como já referi anteriormente, localiza-se no centro de três bairros sociais da cidade do Porto. A generalidade dos utentes da farmácia são clientes habituais e, como é deduzível, não têm um poder de compra elevado o que traz algumas dificuldades. A principal refere-se ao aconselhamento de medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) que, sendo isentos de comparticipação e tendo um preço mais elevado, ultrapassam o orçamento dos clientes e acabam por não ser prioridade. Outro aspeto a considerar é o facto de existir na zona um grau considerável de iliteracia na área da saúde, tornando-se um desafio conquistar a confiança desses clientes. Em situações em que o medicamento genérico habitual está esgotado, por exemplo, é difícil trocar o laboratório pois não é compreendido o significado do termo e é atribuída grande importância ao aspeto visual da embalagem.

Apesar da localização da farmácia ser uma dificuldade diária no que respeita ao poder económico, é também o que a torna especial, uma vez que ultrapassada a barreira, é-nos possível criar verdadeiras conexões com os utentes e sentir um verdadeiro ambiente familiar.

2.4.2. Parafarmácias e o mercado virtual

É um facto que é nos produtos de venda livre que as farmácias têm oportunidade de obter mais margem de lucro e assim conseguir uma maior estabilidade financeira que se transcreve em mais diversidade de produtos e mais oportunidade de empregabilidade. Uma farmácia pequena, que não pertença a grupos de farmácia, é extremamente penalizada pela existência das parafarmácias, uma vez que estas funcionam associadas a grandes cadeias que lhes permite adquirir grandes quantidades de produtos tendo preços praticamente imbatíveis. Outro obstáculo em evolução constante é o acesso ao mercado virtual estar cada vez mais vulgarizado, que tal como nas parafarmácias, têm acesso a bons preços de produto e prestam serviços como entrega em casa (muitas vezes gratuita) que nem todas as farmácias conseguem alcançar.

Estes meios, para além de prejudicarem as farmácias a nível financeiro, desvalorizam o farmacêutico e o seu conhecimento, uma vez que permitem a aquisição dos produtos de livre vontade sem aconselhamento transmitindo a ideia de que este não é uma mais-valia.

3. CASOS PRÁTICOS

3.1. Preparação de uma pomada de Iodo a 10% (m/m), Iodeto de Potássio a 5% (m/m), Cânfora a 10% (m/m), Óleo essencial de Terebentina a 5% (m/m) para uso veterinário

Foi requerido à FV uma preparação de uso veterinário, mais precisamente para os artelhos dos equídeos, com o objetivo de diminuir os calos ósseos quando coexistem perto dos tendões. Iniciou-se com uma solução de alcoólica de iodo a 30%, mas era demasiado complexo a sua aplicação nos cavalos, então optamos por passar para uma formulação de menor concentração, mas de maior permanência no local ao qual foi sugerida uma pomada vaselinada. Como auxílio ao desenvolvimento da formulação entramos em contacto com a Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto (FFUP) e com o Centro de Informação de Medicamentos de Preparação Individualizada (CIMPI) alcançando a seguinte formulação adaptada da Farmacopeia Britânica:

• Iodo.....	10 g
• Iodeto de potássio.....	5 g
• Cânfora.....	10 g
• Etanol a 96% (v/v).....	Qb
• Essência de trementina, óleo essencial de trementina/ terebentina.....	5 g
• Água purificada.....	5 g
• Lanolina anidra.....	10 g
• Vaselina filante.....	Qbp 100 g

Foi-me dada a oportunidade de efetuar a preparação desta pomada que se dividiu em duas fases: a preparação de uma solução aquosa de iodo a 5% (m/v), para a qual utilizei a Farmacopeia Portuguesa IX, e a preparação da pomada em si. A ordem de tarefas passou pelo preenchimento da ficha de preparação juntamente com a preparação em si, acondicionamento e rotulagem e preenchimento da ficha de cálculo do custo do manipulado que se encontram em anexo (Anexo 2).

3.2. Queimadura de 2º grau por etanol

Dirigiu-se à farmácia uma senhora com cerca de 50 anos com o tornozelo ligado, queixando-se que há 2 dias atrás tinha torcido o pé e que estava com uma “reação alérgica”.

Pedi para que me mostrasse o pé e apresentava a pele avermelhada com aspeto sensível e várias bolhas de água com tamanho significativo. Após efetuar várias questões sobre o acontecimento a senhora explicou-me que torceu o pé ao caminhar e que de imediato fez gelo diretamente em contacto com a pele e que antes de se deitar, para que continuasse a ter uma sensação de “fresco”, embebeu uma ligadura em álcool e colocou em redor do pé, mantendo-a durante toda a noite e repetindo o processo no dia seguinte. Após esta explicação, percebi que me deparava com uma queimadura de 2º grau devido ao etanol.

Aconselhei a utilização de uma pomada de ácido fusídico 20% (m/m), depois de limpeza do local e a colocação de gaze gorda parafinada com troca de 24h em 24h. Para além disso referi que não iria ser benéfico ocluir o local e que deveria utilizar um calçado que não alcançasse a zona da queimadura.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Numa aula de Nanotecnologia Farmacêutica, a Professora Doutora Ana Cláudia Santos disse-nos que a ferramenta mais importante que o MICF nos dava, não era a informação em si, mas sim a capacidade de saber como obtê-la de forma atualizada e fidedigna ao longo da nossa vida. Este discurso pertinente ecoou na minha mente principalmente pela sensação de alívio que acrescentou. Sempre me interroguei o porquê de termos uma carga de unidades curriculares tão densa, com tanta informação, se nunca seria capaz de a absorver de forma permanente. A verdade é que terminei a componente teórica a pensar “não sei nada” e fiquei extremamente surpreendida ao perceber, durante o estágio, que isso não correspondia à verdade e que a professora estava certa.

O MICF é um curso extremamente completo que nos dá as bases necessárias para exercermos qualquer área do setor farmacêutico. Admito que a componente clínica nunca foi o meu forte, mas, para minha surpresa, não me saí mal, tinha muito mais conhecimento do que julgava e sem dúvida que sem este estágio nunca seria capaz de perceber isso. Estagiar 810 horas numa farmácia comunitária permitiu-me consolidar tudo aquilo que sentia que estava perdido e aprender muito mais, não só como profissional de saúde, mas também como pessoa.

Neste estágio percebi o real papel do farmacêutico na comunidade e confirmei que este não é, de todo, um “vendedor”, tal como sempre ouvi. No presente ano letivo vivemos um período de pandemia pela Covid-19 que trouxe diversas mudanças à sociedade e dificuldades acrescidas, tais como o acesso aos cuidados de saúde. Sobretudo nesta fase, a farmácia é o primeiro cuidado de saúde a que o doente recorre, tanto para aconselhamento clínico, quanto para esclarecer dúvidas sobre de todas as mudanças constantes que vivemos durante este período, realçando que é fulcral o farmacêutico ser proativo e manter-se atualizado.

Escolhi estagiar na FV pela localização. Fica na zona onde cresci e conseguia assim compensar os meus Avós, que tanta saudade sentiram nos 5 anos em que vivi na cidade de Coimbra. A verdade é que não podia ter escolhido melhor. Apesar de ter ficado reticente no início, pois nunca tinham recebido estudantes da Universidade de Coimbra e eu pensava que possivelmente não seria a melhor representação, correu muito melhor do que aquilo que alguma vez imaginei. Fui extremamente bem recebida por uma equipa, que nunca se inibiu de me ajudar e de responder às minhas intermináveis perguntas curiosas. Não poderia

ter tido um melhor orientador, tanto a nível profissional como pessoal, serei sempre grata por toda a experiência e pela sabedoria que recebi e transportarei para o meu futuro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 A Farmácia Comunitária. [Acedido a 19 de setembro de 2021] Disponível em <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/a-farmacia-comunitaria/> .
- 2 Escabiose (sarna). [Acedido a 19 de setembro de 2021] Disponível em <https://www.sns24.gov.pt/tema/doencas-infecciosas/escabiose-sarna/> .
- 3 Associação Nacional Das Farmácias; CEDIME - **Projeto Farma2Care | Guia de Suporte à intervenção das Farmácias**; (2020).
- 4 Esclerose Múltipla (EM). [Acedido a 19 de setembro de 2021] Disponível em <https://www.msmanuals.com/pt-pt/casa/dist%C3%BArbios-cerebrais,-da-medula-espinal-e-dos-nervos/esclerose-m%C3%BAltipla-em-e-doen%C3%A7as-relacionadas/esclerose-m%C3%BAltipla-em> .
- 5 Terapêutica Modificadora da Esclerose Múltipla em Idade Pediátrica e no Adulto. [Acedido a 19 de setembro de 2021] Disponível em <https://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas/norma-n-0052012-de-04122012-png.aspx> .
- 6 FARMÁCIAS, Associação Nacional Das; CEDIME - **Farma2Care | Fluxograma Geral de Entrada de Doentes em Projeto**; (2000).
- 7 Nova Norma Geral sobre Preparação Individualizada da Medicação. [Acedido a 19 de setembro de 2021] Disponível em <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/noticias/nova-norma-geral-sobre-preparacao-individualizada-da-medicacao/> .

ANEXOS

ANEXO I - Apresentação das gamas *DermaAbsolu* e *PhysioLift* da EAU

THERMALE AVÈNE

Introdução

A história da EAU THERMALE AVÈNE tem início no ano de 1736 quando se descobriram as propriedades suavizantes e calmantes da Água termal de Avène, uma pequena vila no sul de França. Ao longo dos anos a marca cresceu e cresceu, até que em 2010 os Laboratórios Dermatológicos Avène se tornaram líderes internacionais.

O ingrediente chave da marca é precisamente a água proveniente das termas de Avène que faz parte da formulação de praticamente todos os produtos. Esta é retirada diretamente da sua fonte natural, garantindo que todas as suas propriedades são preservadas, levando uma sensação de conforto na pele que a marca indica durar 24h.

DermaAbsolu

Uma pele envelhecida caracteriza-se pela presença de rugas, manchas, perda de firmeza e elasticidade, secura e densidade, tornando-se também mais fina. A linha *DermaAbsolu* tem como objetivo o cuidado da pele madura, já com rugas instaladas pelo que todos os produtos asseguram nutrir, redensificar e suavizar a pele, mantendo um aspeto luminoso e saudável.

Ingredientes ativos comuns:

VANILLA TAHITENSIS FRUIT EXTRACT

O ácido hialurónico é o glucosaminoglicano principal da matriz extracelular da derme e é responsável pela hidratação e suavidade da pele, uma vez que tem a capacidade de se ligar à água e assim, manter o seu equilíbrio. Durante o envelhecimento da pele ocorre uma diminuição do ácido hialurónico, fazendo com que a pele se torne menos densa e mais seca.

Como forma de combate a este tipo de envelhecimento, a Avène utiliza os polifenóis da baunilha, que são impulsionadores do ácido hialurónico, prevenindo assim a sua diminuição na pele ajudando a combater a flacidez e restaurar a substância e densidade.

BAKUCHIOL - SystemoITM

O *Systemol™* é patenteado pela Avène e na formulação aparece com a denominação de *bakuchiol*. O *bakuchiol* é um composto presente nas sementes e folhas da planta *Psoralea corylifolia*, análogo dos retinóides. Os retinóides normalizam o ciclo de vida dos queratinócitos e levam a um aumento da atividade dos fibroblastos aumentando assim a produção de colagénio e elastina, os quais conferem força e flexibilidade à pele diminuindo os sinais de envelhecimento. Apesar do ácido retinóico (forma usualmente utilizada) apresentar bons resultados, tem efeitos secundários indesejáveis como eritema, descamação, prurido e ardor. As mais recentes pesquisas referem que o *bakuchiol* tem os mesmos benefícios na pele, uma vez que atua nos mesmos recetores dos retinóides, sem os seus efeitos adversos. Assim a Avène assume com este composto fortalecer as células e preservar o volume facial.

GLYCOLEOL

O *Glycoleol* é precursor dos lípidos essenciais da pele. Através do seu efeito *reservoir*, liberta ácido linoleico, essencial para manutenção da integridade da pele e das membranas celulares, de acordo com as necessidades da pele. O *glycoleol* oferece uma nutrição intensa, enquanto protege e mantém a função “barreira” da pele, conferindo flexibilidade e uma sensação contínua de conforto.

Rotina Diária com a gama *DermAbsolu*

Cuidar da nossa pele diariamente é muito importante para que esta mantenha a sua integridade e aspeto jovem durante mais tempo. A base de um cuidado diário da pele deve de ter sempre a mesma ordem: limpeza, nutrição/hidratação e proteção. Antes de utilizarmos qualquer produto na pele devemos de limpá-la com um agente de limpeza adequado, como por exemplo uma água micelar, um gel de limpeza facial ou leite de limpeza e só depois estamos prontos a iniciar a nossa rotina.

1 - *DermAbsolu* Cuidado de Olhos Rejuvenescedor

A pele dos olhos é uma pele muito sensível e delicada devido à sua fina espessura, pelo que nenhum creme deve de ser aplicado diretamente na região acima do contorno ósseo ocular. O creme de olhos *DermAbsolu* contém na sua formulação sulfato de dextrano que estimula a microcirculação e juntamente com o aplicador massajador metálico, proporcionam a redução dos papos e olheiras dando um efeito revitalizante e iluminador nos olhos.

O creme de olhos oferece um efeito revitalizante, descongestionante, nutritivo e de luminosidade. Este deve de ser aplicado de manhã e à noite após limpeza adequada da pele, sobre contorno ósseo e espalhado com o dedo anelar efetuando leves toques de dentro para fora.

2 - DermAbsolu Sérum Essencial

Os sérums são formas farmacêuticas que têm uma grande concentração de princípios ativos, não contêm agentes oclusivos e têm menos diluentes, espessantes e emolientes o que promove uma penetração mais profunda relativamente a um creme clássico. Este é um produto “*serum-in-oil*” que assegura redensificar, redesenhar os contornos do rosto, nutrir, revitalizar e suavizar o rosto.

Deve ser aplicada uma dose do sérum de manhã e à noite, após limpeza adequada da pele através de movimentos circulares suaves.

3 - DermAbsolu Creme de Dia Essencial

Os cremes hidratantes faciais são usualmente emulsões O/A absorvidas pelas camadas superficiais da pele. O Creme de Dia Essencial garante redensificar, redesenhar, preencher e revitalizar a pele, deixando uma textura aveludada após aplicação. Refere ainda um efeito iluminador, devido aos agentes “pérola” contidos na formulação, nomeadamente ao agente mineral mica que integra a formulação deste creme.

Deve ser aplicado de manhã, após limpeza adequada da pele e/ou utilização do sérum.

4 - DermAbsolu Creme Redensificante com Cor

Para além do envelhecimento intrínseco da pele existem outros fatores extrínsecos que diariamente degradam a nossa pele, tais como tabaco, álcool, hábitos alimentares, estilo de vida, poluição e a exposição à luz solar, sendo esta a mais relevante. A luz solar, entre outros tipos de radiação, é composta por radiação ultravioleta (RUV), sendo que os tipos A (UVA) e B (UVA) são os mais prejudiciais, uma vez que atingem a epiderme e a derme respetivamente, levando à destruição celular. Este creme diário tem Fator de Proteção Solar (FPS) 30, o que vai prevenir o fotoenvelhecimento da pele.

Este creme certifica uniformizar a tez tornando-a visivelmente mais saudável através dos subtis pigmentos rosa-damasco presentes na formulação oferecendo simultaneamente proteção e redensificação, nutrição e o efeito suavizante tal como o Creme de Dia Essencial.

Este deve de ser aplicado de manhã após limpeza adequada da pele e/ou aplicação do sérum.

5 - DermAbsolu Bálsamo de Noite Reconfortante

Como todos os órgãos do nosso corpo, a pele “obedece” ao ciclo circadiano. É durante a noite que ocorre a maior parte da renovação celular diária. Para além disso há uma maior perda de água, menor secreção de sebo e suor diminuindo a barreira formada pelo manto hidrolipídico, sendo a melhor hora para aplicar cosméticos com componentes ativos nutritivos, hidratantes e regeneradores.

O bálsamo de noite difere do creme de dia, principalmente pela adição de manteiga de *karité* à sua formulação que, através da sua ação oclusiva, proporciona uma hidratação intensa que ajuda a renovação da pele. Este bálsamo promete uma sensação de pele descansada, luminosa e com vitalidade ao acordar.

PhysioLift

A linha *PhysioLift*, tal como a *DermAbsolu*, tem como objetivo o cuidado da pele madura, mas numa idade mais avançada em que as rugas são profundas e se nota perda de firmeza da pele.

Ingredientes ativos comuns:

ÁCIDO HIALURÓNICO

Uma vez que a gama *PhysioLift* se destina à pele com rugas profundas, a *Avène* utiliza diretamente microesferas de ácido hialurónico de forma a preservar a hidratação e função da pele.

COLAGÉNIO – *Ascofiline*™

A *Ascofiline* é um ativo reestruturador do colagénio que atua na junção dermo-epidérmica, reabastecendo o colagénio na derme, de forma a recuperar a estrutura natural da pele.

PRÉ-TOCOFERIL

O stress oxidativo causado pela produção de espécies reativas de oxigénio (ROS) ou radicais livres, contribui para o envelhecimento da pele, especialmente com o avanço da idade em que os antioxidantes naturais da pele tendem a ser menos eficazes.

O pré-tocoferil é precursor do tocoferol (vitamina E), um antioxidante natural da pele. A adição destas substâncias na formulação, para além de reduzir os danos causados pela RUV, reduzem os efeitos causados pelos radicais livres (como a degradação do colagénio e elastina), evitando danos a nível celular.

POLÍMEROS REFIRMANTES

Para além dos compostos ativos referidos acima, esta gama utiliza uma fórmula *hydro-lifting*, enriquecida com ativos hidratantes e polímeros refirmantes para a obtenção de um efeito de preenchimento suave.

Rotina diária com a gama *PhysioLift*

1- *PhysioLift* Olhos – rugas, olheiras e papos

O creme de olhos é o primeiro produto que deve ser aplicado na pele logo após a limpeza adequada. Para além da *Ascofilline™* e do ácido hialurónico, este creme de olhos tem a ação complementar do retinaldeído que é posteriormente convertido a ácido retinóico (retinol -> retinaldeído -> ácido retinóico), a forma ativa da vitamina A. A vitamina A, quando aplicada de forma tópica leva à estimulação de colagénio, ajuda a prevenir o envelhecimento e alguns sinais de fotoenvelhecimento.

Este creme de olhos promete um efeito descongestionante, calmante e de redução dos papos e olheiras. Este deve de ser aplicado de manhã e à noite após lavagem adequada da pele, sobre contorno ósseo e espalhado com o dedo anelar efetuando leves toques de dentro para fora.

2- *PhysioLift* Sérum

O sérum deve ser aplicado de manhã e à noite, após limpeza adequada da pele através de movimentos circulares suaves. Este produto promete suavizar, hidratar, sublimar e dar volume à pele de forma a combater a perda de firmeza e as rugas profundas.

3 - *PhysioLift* Creme de Dia

Ao contrário dos outros produtos da gama que são adequados a todos os tipos de pele, o creme de dia destina-se às peles secas. Além dos compostos já referidos da gama, o creme de dia é enriquecido com micropérolas que atenuam os papos e olheiras proporcionando um efeito visível da correção das rugas.

O creme tem como objetivo suavizar as rugas marcadas, devolver firmeza à pele e uma luminosidade natural ao rosto. Deve ser aplicado de manhã, após limpeza adequada da pele e/ou utilização do sérum.

4 - *PhysioLift* Emulsão de Dia

Este produto difere do anterior pelo facto de se destinar a peles normais a mistas, o que sugere ter uma componente oleosa menor que o creme de dia. Este produto oferece o mesmo que o anterior e deve ser aplicado de dia, após a limpeza adequada da pele e/ou aplicação do sérum.

5 - *PhysioLift Protect* – Creme Protetor Suavizante SPF 30

Para além dos compostos existentes nos outros produtos, o *PhysioLift Protect* tem uma “dose dupla” de pré-tocoferil que tem funções antioxidantes e reduz os efeitos causados pela RUV. É ainda complementado com FPS 30 anti-UVA e anti-UVB, que garante uma alta eficácia de proteção diária.

Este creme protetor multifunções deve de ser aplicado de manhã após limpeza adequada da pele e/ou aplicação do sérum.

6 - *PhysioLift* Bálsamo de Noite

O bálsamo de noite da gama *PhysioLift* é enriquecido com o flavonóide *hesperidina metil chalcona* (HMC) que atua nos danos oxidativos provocados pela radiação UVB, ajudando na desintoxicação da pele proporcionando um efeito de pele luminosa pela manhã.

O bálsamo de noite deve de ser aplicado após a limpeza adequada da pele e/ou do sérum.

Conclusão

Ter uma rotina de cuidados de pele adequada, tanto do rosto quanto do corpo, é muito importante para manter a sua estrutura e integridade. Ambas as gamas aqui descritas destinam-se ao cuidado de peles maduras, sendo a *DermAbsolu* para peles com rugas mais finas e a *PhysioLift* para peles com rugas mais profundas e perda de firmeza.

Apesar de todos estes cuidados serem importantes, é imprescindível utilizar diariamente um creme com Fator de Proteção Solar e praticarmos um estilo de vida saudável, evitar ambientes com fumo, manter a hidratação diária do nosso corpo e ter uma alimentação variada e nutritiva.

A chave de uma pele com aspeto jovem é sem dúvida a prevenção e os cuidados regulares ao longo da vida.

Referências Bibliográficas

- 1 EAU THERMALE AVÈNE [Acedido a 20 de março de 2021] Disponível em <https://www.eau-thermale-avene.pt/> .
- 2 COSTA, Arminda Patrícia Oliveira - **Fitoterapia- o elixir da juventude da pele.** (2018) Disponível em <https://estudogeral.sib.uc.pt/handle/10316/84398> .
- 3 Documentação fornecida nas aulas de Dermofarmácia e Cosmética relativa ao ano letivo 2019/2020.

ANEXO II – Ficha de Preparação de Medicamentos Manipulados:

Solução alcoólica de iodo a 30% (m/v):

Farmácia Vitória Página 1 de 3

Ficha de Preparação de Medicamentos Manipulados Uso Veterinário

Medicamento: solução alcoólica de iodo a 30% (m/v)

Teor em substância (s) ativa (s): 100 g (mL ou unidades) contém 30 g (mL) de iodo

Forma Farmacêutica: solução Número do Lote: 199130

Data de Preparação: 26/11/2020 Quantidade a preparar: 150 g

Matérias-primas	Origem	Nº de lote	Farmacopeia	Quantidade para 100g (ou mL ou unidades)	Quantidade calculada	Quantidade pesada	Rubrica do operador e data	Rubrica do supervisor e data
Iodeto de K				18,5 g	18,75 g	19 g	SA 26/11	<i>[Signature]</i> 26/11/2020
Iodo				32,5 g	48,75 g	49 g	SA 26/11	<i>[Signature]</i> 26/11/2020
Álcool 96°				99,1 g	82,5 g	82,5 g	SA 26/11	<i>[Signature]</i> 26/11/2020
Água destilada				8,9 g	7,3 g	7,5 g	SA 26/11	<i>[Signature]</i> 26/11/2020

Procedimento de Preparação	Rubrica do operador
1. Pulverizar o iodo em almofariz de porcelana	SA
2. Dissolver o iodeto de potássio em água no almofariz de vidro	SA
3. Adicionar o iodo parcialmente pulverizado na solução em 2.	SA
4. Dissolver	SA
5. Adicionar o álcool 96% (v/v) e misturar	SA
6. Armazenar em frasco de rolha esmerilhada.	SA
7.	

Embalagem

Tipo de embalagem: frasco de vidro rolha esmerilhada Capacidade do Recipiente: _____

Material de embalagem	Origem	Nº do Lote
<u>vidro</u>		

Operador: _____

Rubrica Director-Técnico RUI M. C. ROMERO ANTELO OF 2003P-8993 <i>[Signature]</i>	Data <u>26/11/20</u>
---	-------------------------

Ficha de Preparação de Medicamentos Manipulados

Prazo de utilização e condições de conservação

Condições de conservação

Armazenar em frasco de vidro com tampa esmerilhada ao abrigo da luz.

Operador: _____

Prazo de utilização

3 meses

Operador: _____

Verificação

Ensaio	Especificação	Resultado	Rubrica do Operador
organoléptico	homogeneidade	emparelhado	

Aprovado Rejeitado Supervisor: RyData: 26/11/2020

Identificação do doente

Nome completo

Morada

Telefone/Telemóvel

Identificação do médico prescriptor

Rótulo/Anotações/Observações

Rubrica Director-Técnico
RUI M. C. ROMERO ANTELO
OF 2003P - 89830

Data

26-11-2020

Ficha de Preparação de Medicamentos Manipulados

Cálculo do preço de venda

Matérias-primas

Matéria-prima	Embalagem existente em armazém		Preço de aquisição de uma dada quantidade unitária (s/IVA)		Quantidade a usar	Fator Multiplicativo	Valor da matéria-prima utilizada na preparação	
	Quantidade adquirida	Preço de aquisição (s/IVA)	Quantidade Unitária	Preço Unitário				
Ioduro de K	100g	14,89	1g	0,1482	X 18,75	X 1,9	= 5,28	
Sodio	100g	14,62	1g	0,1462	X 48,35	X 1,9	= 13,54	
Alcool 96% (v/v)	250 g/gal	4,00	1 ml g	0,016	X 75,16	X 1,9	= 2,28	
Água destilada					X 7,3	X 2,2	=	
					X	X	=	
Sub-total A								= 21,10

Honorários de Manipulação

Farma Farmacéutica	Quantidade preparada	Valor de F	Número de gramas	Fator multiplicativo	Total
Soluções	Quantidade base	5,05	100	X 4,63	= 15,15
	Por cada unidade adicional	5,05	X 50	X 0,05	= 1,26
Sub-total B					= 16,41

Material de embalagem

Material de embalagem	Preço de aquisição (sem IVA)	Quantidade	Fator multiplicativo	Total
Frasco de vidro esmerilhado	0,85	X 1	X 1,2	= 1,02
		X	X 1,2	=
Sub-total C				= 1,02

Preço de venda ao público do medicamento manipulado

Sub-total A	Sub-total B	Sub-total C	Total	Fator multiplicativo	Preço sem IVA	IVA (6%)	Preço Total (Valor D)
21,10	+ 16,41	+ 1,02	= 38,53	X 1,3	50,09	X 1,06	= 53,09€

Dispositivos auxiliares de administração

Dispositivo	Preço Unitário	Quantidade	Valor E
		X	

Preço Final

Valor D	Valor E	Preço final do produto
	+	=

Operador: _____

Supervisor: *Ry*

Rubrica Director Técnico RUI M. C. ROMERO OF 2003P - 8863	Data 26-11-20
---	------------------

Pomada de Iodo a 10% (m/m), Iodeto de Potássio a 5% (m/m), Cânfora a 10% (m/m), Óleo essencial de Terebentina a 5% (m/m) para uso veterinário:

Farmácia Vitória
Página 1 de 3

Ficha de Preparação de Medicamentos Manipulados

Uso Veterinário

Medicamento: Pomada de Iodo a 10% (m/m)

Teor em substância (s) ativa (s): 100 g (mL ou unidades) contém 10 g (mL) de iodo

Forma Farmacéutica: pomada Número do Lote: 300134

Data de Preparação: 19/01/2021 Quantidade a preparar: 300g

Matérias-primas	Origem	Nº de lote	Farmacopeia	Quantidade para 100g (ou mL ou unidades)	Quantidade calculada	Quantidade pesada	Rubrica do operador e data	Rubrica do supervisor e data
iodo				10g	30g	33g	SA 19/1	
iodeto de K				5g	15g	16,6g	SA 19/1	
cânfora				10g	30g	33g	SA 19/1	
etanol 96% (v/v)				q b	q b	q b	SA 19/1	
essência de terebentina				5g	15g	16,5g	SA 19/1	


Procedimento de Preparação	Rubrica do operador
1. Pesar cada componente com exatidão de 101.	SA
2. Fundir a lanolina e 90g da vaselina em banho de água a 50°C.	SA
3. Dissolver o iodeto de potássio na água purificada.	SA
4. Sob agitação constante, adicionar lentamente o iodo à solução em 3.	SA
5. Agitar até obtenção de uma solução homogênea e reservá-la.	SA
6. Triturar a cânfora em almofariz de porcelana, adicionando mínima quantidade de etanol 96% (v/v) até obtenção de um pó cristalino de baixa tenacidade.	SA
7. Após completa fusão da lanolina e da vaselina, reunir a mistura do banho sob agitação constante.	SA

Embalagem

Tipo de embalagem: _____ Capacidade do Recipiente: _____

Material de embalagem	Origem	Nº do Lote

Operador: _____

Rubrica Director-Técnico	Data
	19/01/2021

Ficha de Preparação de Medicamentos Manipulados

Medicamento: _____

Teor em substância (s) ativa (s): 100 g (mL ou unidades) contém _____ g (mL) de _____

Forma Farmacêutica: _____ Número do Lote: _____

Data de Preparação: _____ Quantidade a preparar: _____

Matérias-primas	Origem	Nº de lote	Farmacopeia	Quantidade para 100g (ou mL ou unidades)	Quantidade calculada	Quantidade de pesada	Rubrica do operador e data	Rubrica do supervisor e data
água purificada				5g	15g	16,5g	SA 19/11	
amido amido				10g	30g	34g	SA 19/11	
vaselina				q. b. p. 100g	q. b. p. 300g	181,5g	SA 19/11	

Procedimento de Preparação	Rubrica do operador
1. Adicionar a solução obtida em 5., agitando até arrefecimento à temperatura ambiente e de seguida espátula até obtenção de pasta homogênea.	SA
2. Adicionar a restante vaselina e espátula.	SA
3. Adicionar a mistura obtida em 1. e espátula até obtenção de pasta homogênea.	SA
4. Proceder ao controlo de qualidade.	SA
5. Embalagem e rotular.	SA
6.	
7.	

Embalagem

Tipo de embalagem: frasco de vidro escuro

Capacidade do Recipiente: _____

Material de embalagem	Origem	Nº do Lote
vidro escuro		
tampas de plástico		

Operador: SA

Rubrica: <u>SA</u> RUBEN C. ROMERO ANTEL. OF 2003P - 8853	Data: <u>19/11/2021</u>
---	-------------------------

Ficha de Preparação de Medicamentos Manipulados

Prazo de utilização e condições de conservação

Condições de conservação
 Armazenar em embalagem escura e bem fechada, ao abrigo da luz e em local fresco e seco. Operador: SA

Prazo de utilização
 90 dias Operador: SA

Verificação

Ensaio	Especificação	Resultado	Rubrica do Operador
organoléptico	aspecto homogéneo	conforme	SA
organoléptico	cor e odor característicos	conforme	SA
massa final	[285-295] g	conforme	SA

Aprovado

Rejeitado

Supervisor: SA

Data: 19/1/2021

Identificação do doente

Nome completo _____
 Morada _____
 Telefone/Telemóvel _____

Identificação do médico prescriptor

Rótulo/Anotações/Observações

Rubrica Director-Técnico
 NUI M. C. ROMERO ANTELO
 OF 2003P-3963
 SA

Data
 19/1/2021

Cálculo do preço de venda

Matérias-primas

Matéria-prima	Embalagem existente em armazém		Preço de aquisição de uma dada quantidade unitária (s/IVA)		Quantidade a usar	Fator Multiplicativo	Valor da matéria-prima utilizada na preparação
	Quantidade adquirida	Preço de aquisição (s/IVA)	Quantidade Unitária	Preço Unitário			
iodo	100g	14,89€	1g	0,146	x 33	x 1,9	= 9,15€
iodeto de K	100g	14,89€	1g	0,149	x 16,6	x 1,9	= 4,70€
cálcio	50g	3,85€	1g	0,077	x 33	x 1,9	= 4,83€
erranol 96% (v/v)	250ml	4	ml	0,016	x 1	x 2,2	= 0,03€
essência de	1000ml	65,88€	1ml	0,066	x 18,97	x 1,9	= 2,37€
transmittina	1000g	33,25€	1g	0,033	x 34	Sub-total A x 1,9	= 2,13€
Honorários de Manipulação	500g	4,65€	1g	0,0093	x 181,5	x 1,6	= 1,61€
Forma Farmacêutica	Quantidade preparada	Valor de F	Número de gramas	Fator multiplicativo	Total		
pomada	Quantidade base	5,05	100	x 3	= 15		
	Por cada unidade adicional	5,05	x 200	x 0,01	= 10,1		
					Sub-total B = 25,1		

Material de embalagem

Material de embalagem	Preço de aquisição (sem IVA)	Quantidade	Fator multiplicativo	Total
		x	x 1,2	=
		x	x 1,2	=
				Sub-total C =

Preço de venda ao público do medicamento manipulado

Sub-total A	Sub-total B	Sub-total C	Total	Fator multiplicativo	Preço sem IVA	IVA (6%)	Preço Total (Valor-D)
24,72	+ 25,1	+ —	= 49,82	x 1,3	64,77	x 1,06	= 68,65

Dispositivos auxiliares de administração

Dispositivo	Preço Unitário	Quantidade	Valor E
		x	

Preço Final

Valor D	Valor E	Preço final do produto
	+	=

Operador: SA Supervisor: _____

Rubrica Director Técnico ANTELO
UF 2003P - 8963
Data: 12/11/2011



PARTE II

Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Sob orientação da Dra. Catarina Silva

LISTA DE ABREVIATURAS

BPL	Boas Práticas de Laboratório
CAPAs	Ações Corretivas e Preventivas
CMO	<i>Contract Manufacturing Organization</i>
CQ	Controlo de Qualidade
GMP	Boas Práticas de Fabrico (<i>Good Manufacturing Practice</i>)
GQ	Garantia da Qualidade
IF	Indústria Farmacêutica
MICF	Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
PIF	<i>Product Information File</i>
RQP	Relatório da Qualidade do Produto
SGQ	Sistema de Gestão de Qualidade
SGQAS	Sistema de Gestão de Qualidade, Ambiente e Segurança
SWOT	<i>Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats</i>

I. INTRODUÇÃO

O grupo Medinfar é uma empresa farmacêutica que foi fundada no ano de 1970 em Portugal e, atualmente, lideram na categoria de Saúde do Consumidor e Dermatologia. Este está sediado na Venda Nova, Amadora e tem instalada a Unidade de Produção Industrial, Farmalabor, em Condeixa-a-Nova. O grupo executa funções em toda a cadeia de produção, desde a investigação, desenvolvimento e fabrico de produtos farmacêuticos, cosméticos e suplementos alimentares, até à distribuição e comercialização¹.

A Farmalabor, foi fundada em 2001 e em 2020 investiu num aumento da unidade fabril de forma a expandir a capacidade de produção e avanços tecnológicos. Esta é uma Organização de Fabrico Sob Contrato (*Contract Manufacturing Organization*) (CMO) certificada relativamente à qualidade através das ISO 9001:2015, ao ambiente ISO 14001:2015 e à segurança e saúde ocupacional ISO 45001:2018. Para além disso é certificada pelo INFARMED relativamente às Boas Práticas de Fabrico (GMP) e de Laboratório (BPL) e regem-se pelo Sistema de Gestão da Qualidade, Ambiente e Segurança (SGQAS), visando a melhoria contínua de todas as atividades que possam afetar direta ou indiretamente a qualidade dos produtos².

A Farmalabor tem, nos dias de hoje, capacidade de produção de produtos farmacêuticos não-estéreis, cosméticos e suplementos alimentares, com três zonas de produção principais: as formas sólidas, onde são produzidos comprimidos, cápsulas, *pellets* e pós; as formas líquidas, onde se produzem soluções, suspensões, xaropes, ampolas bebíveis e champôs; e as formas semissólidas, onde são produzidos cremes, pomadas, géis, emulsões, loções, espumas, mousses, supositórios e sabonetes. À parte da área de produção propriamente dita, existem outros departamentos como o Controlo de Qualidade (CQ) e a Garantia da Qualidade (GQ), que à data do meu estágio estava dividida entre GQ de Processos e GQ de Produto².

Cabe à GQ garantir de que os produtos e serviços prestados sejam rigorosos, cumpram todas as normas de qualidade exigidas e acompanhem o SGQ de forma a assegurar uma evolução contínua dos serviços prestados. A GQ tem como principais responsabilidades a Gestão e Validação de Processos, de forma a certificar que os produtos cumprem com as especificações previstas contidas na Autorização de Introdução no Mercado (AIM); Gestão de Desvios e Não Conformidades, investigando a sua causa-raiz e implementando Ações Corretivas e Preventivas (CAPAs); o Controlo das Alterações; efetuar Revisão da Qualidade do Produto (RQP) periodicamente, com o objetivo de avaliar a consistência do processo de

fabrico e controlo e execução das CAPAs; a Qualificação de Fornecedores tanto de produtos quanto de serviços, efetuando a sua avaliação anual de forma a garantir a qualidade de todos os produtos e serviços prestados; e, por fim, a Gestão Documental, sendo responsável pela elaboração, revisão e otimização de todos os documentos e procedimentos².

Realizei o meu estágio em indústria farmacêutica (IF) pelo período de três meses, com início a 1 de setembro e término a 28 de novembro de 2020, no departamento da Garantia da Qualidade de Processos sob a orientação da Dra. Catarina Silva. O presente relatório revê a minha experiência como estagiária na Farmalabor através de uma análise SWOT, descrevendo os pontos fortes (*Strengths*), pontos fracos (*Weaknesses*), oportunidades (*Opportunities*) e ameaças (*Threats*) que considero relevantes.

2. ANÁLISE SWOT

2.1. PONTOS FORTES (STRENGTHS)

2.1.1. Integração na equipa e aquisição de confiança

Assim que iniciei o meu estágio na Farmalabor fui recebida com carinho por parte de toda a equipa, não só do departamento da GQ de Processos, como de todos os restantes departamentos que me foram amavelmente apresentados pela Eng^a. Áurea.

A aquisição da confiança no meu trabalho foi um dos aspetos que mais me entusiasmaram durante os três meses em que fiz parte daquela equipa. Sem dúvida que a chave para a confiança é a vontade de aprender e dar o nosso melhor dia após dia, demonstrando interesse em participar ativamente nos acontecimentos diários. No início do estágio era-me atribuído trabalho mais simples, como a elaboração de RQPs, sempre com a posterior verificação da minha orientadora. No final do estágio já sentia que realmente fazia parte da equipa, pela minha participação em reuniões internas do departamento e interdepartamentais, auxiliei a investigação de desvios à qualidade do produto e colaborei na reestruturação de protocolos e procedimentos internos.

2.1.2. Comunicação com as restantes áreas dentro da Indústria Farmacêutica

A GQ traduz-se em ações no início e o final do processo de fabrico. Neste departamento é possível ter uma comunicação com as restantes áreas e ter uma visão geral privilegiada de toda a vida do medicamento. Estando neste departamento tive oportunidade de contactar com principalmente o CQ, que é responsável por toda a componente analítica dos produtos fabricados e com a área de produção propriamente dita. Na produção foi-me permitido colocar em prática a as normas nas aulas de tecnologia farmacêutica sobre como nos devemos equipar e agir neste local de forma que não exista contaminação, ter contacto com equipamentos específicos e ver em grande escala o que exercemos nas aulas laboratoriais.

À parte da comunicação interna, diariamente era necessário comunicar com clientes externos de outras empresas do setor farmacêutico e este estágio fez-me adquirir uma agilidade acrescida neste aspeto.

2.1.3. Microsoft Excel

O *Microsoft Excel* é uma ferramenta fortemente utilizada no mundo empresarial e num departamento de GQ da IF não é diferente. Os meus conhecimentos sobre a plataforma antes do início do estágio eram muito escassos e durante o estágio passei a ser uma utilizadora diária. Todos os documentos elaborados passavam pelo formato *Excel*, uma vez que grande parte já tinham *templates* elaborados prontos para a sua utilização.

Este foi para mim um grande desafio, no entanto considero que o tenha ultrapassado com resultado positivo. Considerei o meu fraco conhecimento nesta área como uma oportunidade de aprender e empenhei-me a pesquisar sobre as suas funcionalidades. Devo também grande parte dos meus conhecimentos atuais à Áurea e à Daniela que sempre me ajudaram e conseguiram tempo para esclarecer todas as minhas dúvidas.

2.2. PONTOS FRACOS (WEAKNESSES)

2.2.1. Metodologia Kaizen

A palavra *Kaizen* significa mudança (“*kai*”) para melhor (“*zen*”) e pressupõe a monitorização diária das tarefas com o objetivo de culminar num processo gradual de melhoria contínua³. Esta metodologia já está implementada em várias empresas e demonstra geralmente bons resultados. Na equipa da GQ de Processos, este conceito ainda não era aplicado e comparativamente a outras equipas da mesma empresa, sem dúvida que seria uma mais-valia.

Nas últimas semanas do meu estágio, iniciou-se a execução desta metodologia e, apesar de haver um largo caminho pela frente até estar agilizado, foi possível sentir uma maior união da equipa e melhoria na organização das tarefas. Na prática, a implementação deste sistema consistia em reuniões semanais ou diárias de forma que toda a equipa tivesse ciente das tarefas que existiam para distribuição do trabalho de uma forma mais uniforme. Para além disso englobava a utilização de um novo sistema informático em que era partilhado, por cada elemento, a sua lista de tarefas e o estado de conclusão, bem como o seu calendário e disponibilidade para reuniões.

2.3. OPORTUNIDADES (OPPORTUNITIES)

2.3.1. Online training course – Process Scale-up, Validation & Technology

Transfer

Nos dias 1 e 2 de outubro de 2020 tive oportunidade de assistir à formação *online Process Scale-up, Validation & Technology Transfer* lecionado pelo Dr. Michael Braun, *ermofar developer* na Boehringer Ingelheim Pharma.

Uma vez que já tinha tido oportunidade de analisar instruções de fabrico, já tinha referências sobre o processo de produção de larga escala e desta forma consegui ter uma visão generalizada do que é o processo de aumento da escala de produção. A transferência tecnológica refere-se aos procedimentos necessários para transferência do conhecimento e documentação necessário sobre qualquer processo de fabrico, entre as fases de desenvolvimento e de fabrico ou mesmo entre locais de fabrico. Uma vez que a Farmalabor é uma CMO e recebe transferência de processos de fabricos, consegui ter um melhor esclarecimento sobre as etapas requeridas e como otimizá-las. A última parte, referente à validação de processos foi a componente que menos ligação com a realidade consegui efetuar, pois não tinha tido contacto com a validação dos processos de fabrico.

Apesar do tema desta formação não estar diretamente relacionado com as minhas funções como estagiária ou com o departamento do qual fazia parte e ser destinado a profissionais com um elevado conhecimento na área, considero que tenha sido uma excelente oportunidade de aprender, uma vez que estes conceitos são apenas brevemente abordados no MICF, o que permite ter uma visão generalizada do conceito, mas não entender realmente como funciona.

2.3.2. Observação de uma auditoria

As auditorias numa IF são frequentes, no entanto, é comum que apenas os elementos essenciais participem. Devido ao facto de estarmos num período de pandemia, vários processos tiveram de ser adaptados e ocorrer virtualmente. Por este motivo e por ter demonstrado curiosidade, a supervisora do meu departamento, responsável também pelas auditorias, e a diretora técnica deram-me oportunidade de assistir à auditoria que, neste caso, foi efetuada à Farmalabor por parte de um cliente para o qual a empresa efetua o processo de fabrico.

Em nenhuma parte da componente letiva do curso há referência a esta componente da IF, pelo que não tinha ideia em que que é que esta consistia na realidade, que tipo de questões eram efetuadas e que postura deveríamos de apresentar nesta situação. Assistir à auditoria permitiu-me, para além de esclarecer as dúvidas anteriores, aumentar o conhecimento relativamente aos restantes departamentos, os quais tive proveito de ouvir as respostas às questões efetuadas por parte do auditor. Para além disso, foi-me permitido dar assistência na procura da documentação necessária dando-me agilidade na procura de documentos e permitindo-me ter acesso a procedimentos que não teria em outra ocasião.

2.4. AMEAÇAS (THREATS)

2.4.1. Pandemia de Covid-19

Durante o período do meu estágio estávamos a passar por uma das fases mais complicadas da pandemia que requeria uma adaptação constante às novas circunstâncias. As restrições de circulação foram um dos maiores desafios, pois a empresa não me emitiu o documento de permissão de circulação e como estagiária não me deram permissão para requisitar um computador portátil de forma a fazer teletrabalho, então nos dias em que a circulação entre concelhos não era permitida entre concelhos não consegui fazer-me presente no estágio.

2.4.2. Excesso de tarefas vs. oportunidade de emprego

A Farmalabor é uma empresa em expansão e cada vez mais está a ganhar território no mercado da IF. Com isto aumentam também as tarefas e as responsabilidades que competem a cada elemento da equipa. Apesar da necessidade de aumentar a mesma e da vontade da supervisora da GQ em dar continuidade ao meu trabalho na empresa após o estágio, a parte financeira não me disponibilizou um lugar. O estágio foi inquestionavelmente uma mais-valia para o meu percurso, por outro lado não considero que seja encarado como uma oportunidade para ingressar na área.

2.4.3. Conhecimentos adquiridos no MICF relativos à Garantia da Qualidade

Para desempenhar com sucesso as funções do departamento da GQ, senti que apliquei conhecimentos base de várias disciplinas lecionadas no MICF. Os métodos

instrumentais de análise foram cruciais para compreender a origem dos resultados analíticos obtidos do CQ, as tecnologias farmacêuticas foram extremamente importantes para compreender o processo de produção propriamente dito, as aulas de farmácia galénica e ermofarmácia e cosmética permitiram-me compreender a formulação dos produtos e, no caso da segunda, a interpretar a documentação necessária dos cosméticos, como o *Product Information File* (PIF). Porém, a disciplina de Gestão e Garantia da Qualidade, uma das disciplinas que eu considero que deveria ter sido muito importante para compreensão dos procedimentos de uma IF, não me providenciou conhecimentos suficientes.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A área da Indústria Farmacêutica sempre me motivou, pelo que foi fundamental para mim a realização deste estágio curricular. O MICF tem uma forte componente letiva em temas que remetem à IF, no entanto são poucos os alunos que têm oportunidade de colocar esses conhecimentos em prática, ao contrário do que acontece em farmácia, onde o estágio é de caráter obrigatório.

A realização deste estágio permitiu-me compreender a função e responsabilidade do farmacêutico na área, bem como a preponderância do seu papel na proximidade aos diversos setores para garantir a máxima segurança, eficácia e qualidade no produto final. Desenvolvi, igualmente, várias competências técnicas relativas ao departamento da GQ e pessoais, bem como o sentido de responsabilidade, resolução de problemas, sentido crítico, gestão de tempo e confiança nas minhas competências. Estas últimas devem-se, principalmente, ao acompanhamento da equipa com quem trabalhava diariamente, que me integraram como parte desde o início.

Considero que este estágio tenha sido uma experiência enriquecedora a nível profissional e pessoal e é, sem dúvida, uma mais-valia para, futuramente, ingressar na área. Para além disso considero um excelente complemento ao MICF no que refere ao setor industrial da área farmacêutica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 MEDINFAR [Acedido a 30 de outubro de 2021] Disponível em <https://www.medinfar.pt/pt> .
- 2 FARMALABOR – Documentação Institucional.
- 3 Filosofia TOYOTA WAY [Acedido a 30 de outubro de 2021] Disponível em <https://www.toyota.pt/world-of-toyota/toyota-no-mundo/the-toyota-way.json> .

PARTE III

Monografia intitulada “Compostos contendo *N*-heterociclos e a sua atividade antibiofilme”

Sob orientação da Professora Doutora Vânia Moreira

LISTA DE ABREVIATURAS

2-AI	2-aminoimidazol
AHL	Homoserina acil-lactonas
AI	Autoindutores
AI-2	Autoindutor-2
AIPs	Peptídeos autoindutores
cAMP	Adenosina monofostato cíclica
c-di-GMP	Guanosina monofosfato dimérica cíclica
CMI	Concentração mínima inibitória
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DPO	di-hidro pirrol-2-onas
eDNA	DNA extracelular
EPS	Exopolissacarídeos
FC	Fibrose cística
IC₅₀	Concentração de composto que inibe um efeito biológico em 50%
MBEC	Contração mínima de erradicação do biofilme
MDH	Manitol desidrogenase
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> metilina-resistentes
MRSE	<i>Staphylococcus epidermis</i> metilina-resistentes
QS	<i>Quorum sensing</i>
RNA	Ácido ribonucleico
ROS	Espécies reativas de oxigénio
SAR	Relação estrutura-atividade
UV	Ultravioleta
VRE	<i>Enterococci</i> vancomicina-resistentes

LISTA DE FIGURAS E TABELA

Figura 1	Representação esquemática das principais etapas de desenvolvimento de um biofilme	54
Figura 2	Estrutura química dos compostos 1, 2 e 3	62
Figura 3	Estrutura química do 2-AIT	63
Figura 4	Estrutura química dos compostos 5 a 8	63
Figura 5	Estrutura química dos derivados do pirazol	66
Figura 6	Estrutura química dos compostos 13a-c e 14	68
Figura 7	Estrutura química de 15, 16 e 17	69
Figura 8	Estrutura química dos compostos 18, 19 e 20	70
Figura 9	Estrutura química dos compostos derivados do pirrol	71
Figura 10	Estrutura química dos compostos 25 e 26a-c	72
Tabela 1	Valores IC ₅₀ , Taxa de inibição ou MBEC com mais destaque obtidos dos compostos analisados	73

ABSTRACT

Biofilm is a group of microorganisms attached to a surface and involved in a matrix of exopolysaccharides, this matrix allows them to live in a self-atmosphere and to be very resistant to external stress factors, such as high temperatures, high pH levels, UV radiation, among others.

Nowadays infections caused by biofilms are a huge public health problem. Since they can mutate and their internal mechanisms are very complex, there are not yet approved drugs to eliminate biofilms in a non-toxic concentration for the patient. Their development process was studied considering *Pseudomonas aeruginosa*'s biofilm, this process has five main steps: initial adhesion, strong adhesion, microcolony formation, maturation and growth, and, ultimately, dispersion that is responsible for infection's spreading.

Biofilms have various resistance mechanisms, as the existence of different phenotypes with nutritional needs and metabolic levels very distinguished and the *quorum sensing*. This is a communication pathway inside the biofilm which modulates bacteria's answer considering external and internal stimulus, this is one of the characteristics that makes them so complex.

On the last two decades, the investment in new molecules with antibiofilm activity has been high and there is an infinitude of compounds currently under investigation. The *N*-heterocyclic compounds showed different biological activities, these are relevant because they take part in an elevated number of drugs, which is why they are under investigation for their antibiofilm activity. In this thesis, I will study in further detail some heterocyclic compounds and their activity, this will be useful to review if these compounds inhibit the growth of new biofilms or even if they can regulate the activity of the current ones.

Key words: biofilm, quorum sensing, biofilms' resistance strategies, heterocycle with antibiofilm activity

RESUMO

Um biofilme consiste num conjunto de microrganismos envolvidos numa matriz de exopolissacarídeos que lhes permite viver numa atmosfera própria e ser extremamente resistentes a fatores de stress externos.

Atualmente as infeções por biofilme são um problema grave de saúde pública, pois devido à sua capacidade de mutação e à complexidade dos seus mecanismos internos, não existem ainda fármacos aprovados que sejam capazes de erradicar os biofilmes a uma concentração não tóxica para o doente. O seu processo de desenvolvimento foi estudado com base no biofilme de *Pseudomonas aeruginosa* e descrito em cinco etapas principais: adsorção à superfície seguida de uma adesão robusta, agregação das células em microcolónias, crescimento e maturação e, por fim, a etapa de dispersão, que é responsável pela disseminação da infeção.

Os biofilmes têm diversos mecanismos de resistência, como são exemplo a existência de diferentes fenótipos com necessidades nutricionais e níveis metabólicos distintos e o *quorum sensing*. Este é uma via de comunicação intra biofilme que é capaz de modular a resposta das bactérias em função de estímulos externos e internos e é um dos aspetos que lhes confere a tão elevada complexidade.

Nas duas últimas décadas, o investimento em novas moléculas com atividade antibiofilme tem sido bastante elevado e existe uma infinidade de compostos em investigação. Os *N*-heterocíclicos têm apresentado atividades fisiológicas diversificadas e estão presentes numa ampla quantidade de fármacos, pelo que têm sido alvo de investigação quanto à sua atividade antibiofilme. Neste trabalho irei incidir sobre algumas classes dessas moléculas e a sua atividade, revendo a sua capacidade de inibir a formação de novos biofilmes ou mesmo modular a atividade dos já existentes.

Palavras-chave: biofilme, *quorum sensing*, estratégias de resistência dos biofilmes, heterociclos com atividade antibiofilme

I. INTRODUÇÃO

Há evidências da presença de biofilmes desde que há registro de vestígios fósseis¹, contudo, apenas em 1970 começou o interesse no estudo desta forma de sobrevivência das bactérias. Nas décadas de 80 e 90, com o desenvolvimento da microscopia de luz acoplada a microelétrodos, conseguiu-se compreender a complexidade e o modo de vida destas comunidades. Sucintamente, um biofilme é um conjunto de microrganismos envolvidos por uma matriz de substâncias extracelulares poliméricas que aderem a uma superfície que pode ser biótica, como as células de um hospedeiro, ou abiótica, como os dispositivos médicos².

A formação de um biofilme é um processo complexo e dinâmico, onde comunidades de microrganismos vivem envolvidas numa matriz de exopolissacarídeos (EPS), produzida pelos mesmos, que mantém interligadas todas as células que nele habitam. A matriz, para além de ser o elo de ligação entre todas as células, é um elemento estrutural e uma barreira natural que protege os microrganismos que habitam o interior, conferindo-lhe uma elevada resistência a agentes externos. Esta resistência permite aos biofilmes viverem sob condições extremas tais como a radiação UV, temperatura e valores de pH pronunciados, alta salinidade, alta pressão, meio pobre em nutrientes e, o mais relevante para o tema em discussão nesta tese, confere uma elevada resistência à ação dos antibióticos³.

A complexidade dos biofilmes não se verifica apenas a nível estrutural, mas também a nível metabólico. Dentro da matriz existem canais por onde são supridas as necessidades nutritivas e efetuadas as trocas gasosas e residuais. As células que habitam as diferentes regiões do biofilme, não têm igual acesso aos nutrientes² e são fenotipicamente distintas, uma vez que vão adquirindo uma informação genética díspar¹. É essa heterogeneidade fisiológica o principal desafio ao estudo dos biofilmes⁴.

A mudança de fenótipo desde a forma planctónica à forma sésil dentro do biofilme é um processo altamente regulado que depende de vários fatores, tanto genéticos quanto ambientais e varia também de espécie para espécie, o que faz com que não existam biofilmes estritamente semelhantes. Enquanto as células planctónicas são expostas a condições ambientais uniformes, os biofilmes experienciam um gradiente de nutrientes e produtos residuais¹, o que torna a microbiologia dos biofilmes uma área que requer muita atenção da parte da comunidade científica⁴. Numa infeção bacteriana provocada por bactérias na sua forma planctónica, amiúde uma infeção aguda, não é complexo o processo de fazer uma cultura bacteriana e calcular a concentração mínima inibitória (CMI) de um antimicrobiano, no entanto quando nos referimos aos biofilmes, o processo não é o mesmo. Devido à sua

heterogeneidade, nem todas as zonas do biofilme têm a mesma atividade metabólica e nem todas as zonas são constituídas pela mesma população microbiana ou têm a mesma densidade, o que impede a utilização dos mesmos métodos de estudo. Para além disso, como já vimos anteriormente, biofilmes são muito menos suscetíveis aos antimicrobianos que as suas células planctónicas correspondentes e ainda não foi aprovado nenhum fármaco capaz de os erradicar¹.

A relevância dos biofilmes a nível medicinal é elevada pois estão envolvidos em inúmeras infeções bacterianas nosocomiais. Entre outras bactérias destaco o biofilme formado pela bactéria Gram-negativa *Pseudomonas aeruginosa* que está associado a uma doença crónica pulmonar, a fibrose cística (FC), e o biofilme formado pela bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus* que coloniza diversos dispositivos médicos, tais como pacemakers e outras próteses, levando a infeções crónicas⁴. O biofilme de *P. aeruginosa* tem sido um dos mais estudados e melhor caracterizado, servindo de modelo para a caracterização das etapas de desenvolvimento dos biofilmes atualmente conhecidas⁵.

2. Desenvolvimento dos biofilmes: desde a forma planctónica até ao biofilme

Com os avanços na tecnologia verificou-se que as bactérias sésseis – bactérias já aderidas a uma superfície – crescem num meio heterogéneo envolto numa matriz, que continha microcolónias interligadas por canais de água. A descoberta desta complexidade veio demonstrar que o desenvolvimento dos biofilmes não é algo simples e uniforme, mas sim um processo bastante diferenciado. Nas últimas duas décadas, a investigação do biofilme formado pela bactéria *Pseudomonas aeruginosa*, talvez o mais estudado até à atualidade, originou uma proposta de modelo para o desenvolvimento dos biofilmes que contempla cinco etapas principais: adsorção à superfície seguida de uma adesão robusta, agregação das células em microcolónias, crescimento e maturação e, por fim, a etapa de dispersão que tem sido recentemente valorizada (Figura 1).

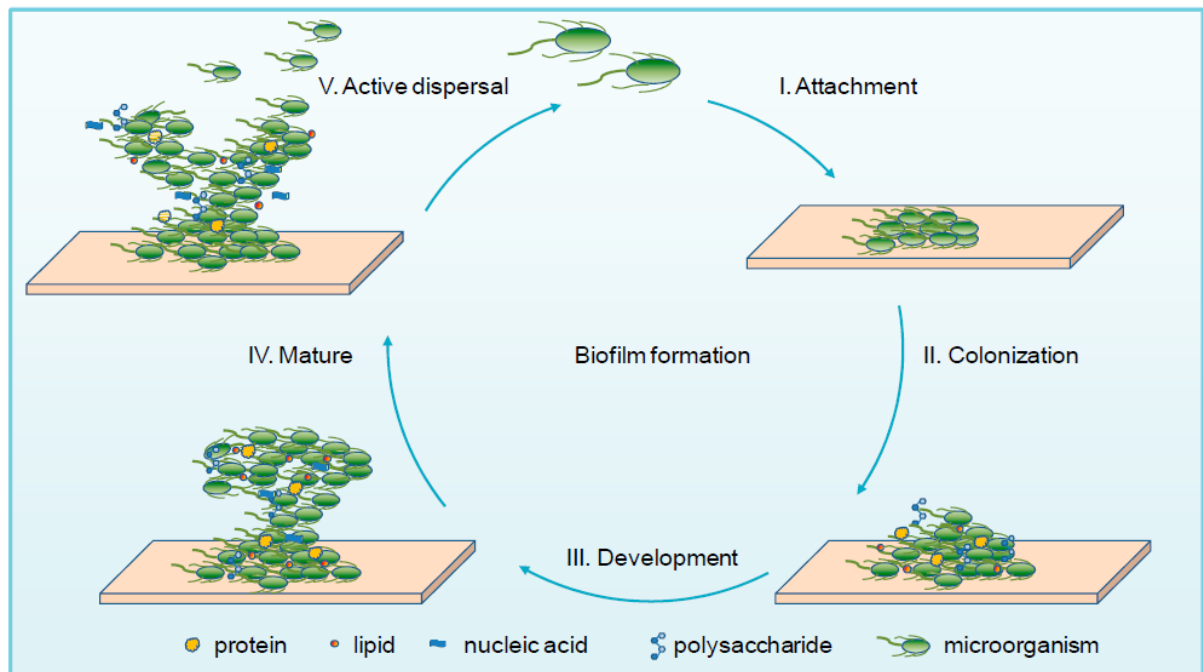


Figura 2 - Representação esquemática das principais etapas de desenvolvimento de um biofilme. Imagem adaptada de ³.

2.1. Adsorção à superfície e formação da monocamada (colonização)

A primeira etapa de formação de um biofilme é a adsorção das bactérias na sua forma planctônica à superfície. Esta ligação inicial é feita através de ligações fracas como forças de Van der Waals, interações eletrostáticas e ácido-base (de Lewis) e o resultado da ligação depende de diversos aspectos como a superfície em si, a espécie bacteriana e o meio envolvente.

As bactérias são seres unicelulares que por vezes têm estruturas no exterior da parede celular, as quais denominamos de apêndices. Duas dessas estruturas são os flagelos e a pili que auxiliam na locomoção da bactéria, na sua sobrevivência e têm também um papel na modulação da resposta imunitária do hospedeiro. As pili são estruturas *hair-like*, uma vez que fazem lembrar pequenos cabelos ao redor da célula, e funcionam como fatores de virulência durante a infecção. Existem 5 tipos de pili, sendo que o tipo IV é o mais relevante uma vez que se descobriu que existe em ambas as bactérias Gram-negativas e também Gram-positivas e, para além das funções previamente descritas, também desempenham um papel na formação do biofilme. Estas estruturas são ainda responsáveis pela primeira ligação não definitiva das bactérias à superfície, permitindo assim a sua exploração. Os flagelos, ao contrário das pili, são estruturas hidrofóbicas e tendem a aderir a superfícies com as mesmas características. Estes desempenham funções na adesão inicial, mas também no desprendimento da superfície.

Se as bactérias se adaptarem à superfície, ocorrem alterações bioquímicas que levam à expressão de genes como o c-di-GMP, que estimula a biossíntese de adesinas e de EPS enquanto reduz e inibe diversas formas de mobilidade, aumentando gradualmente a força de ligação das bactérias à superfície. Além das adesinas, os flagelos e os lipopolissacarídeos da parede celular, demonstraram também ter impacto na estabilidade da ligação à superfície contribuindo para a orientação horizontal das bactérias, tornando a ligação mais estável. Nesta fase, os microrganismos são ainda capazes de manter registros destes eventos de forma a criar uma memória transgeracional através da oscilação dos níveis de cAMP e da atividade da pili do tipo IV. Esta segunda fase de desenvolvimento termina com uma monocamada apta a iniciar processos de divisão celular.

2.2. Formação de microcolónias – crescimento e divisão celular – e maturação

Após formada a monocamada de biofilmes, as bactérias iniciam o processo de crescimento e divisão celular. Uma vez formadas as microcolónias (aglomerados de células), a estrutura do biofilme deixa de ser “bidimensional” e começa a aumentar a sua espessura. De forma a atingir a distribuição espacial e organização que caracteriza os biofilmes, as bactérias têm de comunicar quimicamente e iniciar a expressão de genes que levam ao início da produção da matriz de EPS, que além de função estrutural vai permitir a comunicação intercelular propícia ao desenvolvimento do biofilme (1.1.2.1.).

Ao mecanismo de comunicação e regulação intercelular utilizado pelos biofilmes denominou-se *quorum-sensing* (QS), tópico que será abordado aprofundadamente num dos seguintes tópicos. De entre outras funções, o QS regula a proliferação celular e produção de EPS de forma a atingir-se uma densidade celular ótima. Nesse ponto, os agregados bacterianos passam a colónias de maior dimensão designadas por macrocolónias.

Os biofilmes maduros podem adquirir várias formas levando a que os microrganismos que habitam as diferentes regiões da estrutura tenham uma conexão diferente com o ambiente externo, uma disponibilidade nutritiva distinta e sejam sujeitos a diferentes tipos de forças, o que se transcreve numa elevada diversidade fenotípica. As bactérias que habitam a parte mais interna do biofilme, devido ao menor acesso nutritivo, demonstram ter uma atividade metabólica reduzida o que se traduz numa resistência intrínseca a grande parte dos agentes antimicrobianos uma vez que muitos atuam na divisão celular ou necessitam de atividade metabólica para desempenhar a sua função.

2.2.1. Matriz do biofilme

A matriz, para além de ser a maior componente do biofilme (50-90%)⁶ é também o que os diferencia e os torna tão complexos a nível estrutural e metabólico. É por mérito da matriz que os biofilmes são altamente resistentes e adaptáveis às mais diversas condições ambientais, mesmo às mais extremas³.

A composição da matriz varia consoante a fase de desenvolvimento do biofilme⁶, os microrganismos que compõem o biofilme, os nutrientes disponíveis e o ambiente envolvente. Contudo é geralmente aceite que esta é maioritariamente composta por água (cerca de 97%) sendo caracterizada como um hidrogel¹. Os restantes componentes dividem-se entre as células microbianas, os polímeros excretados, macromoléculas como proteínas, polissacarídeos, DNA e RNA que podem estar ligados ao peptidoglicano, nutrientes e metabolitos absorvidos, entre outros componentes celulares⁷.

A densidade de um biofilme é um aspeto variável que no geral aumenta com o aumento da disponibilidade de nutrientes. Mesmo nos biofilmes mais densos, tal como o de *P. aeruginosa*, existem os canais de água que permitem manter o gradiente e garantir o fluxo de nutrientes, enzimas, metabolitos, produtos excretados e outros solutos através das células de modo a manter o ambiente favorável às subpopulações e também poros, permitindo a entrada e colonização de outras células, pelo que a composição molecular da matriz está em constante alteração⁷.

2.3. Dispersão

A dado ponto de maturação, os biofilmes sofrem perda parcial da sua estrutura, por desprendimento ou por dispersão. O desprendimento pode ser consequência de perturbações externas ou devido ao ataque imunológico do hospedeiro, por outro lado, a dispersão requer a deteção e o processamento de sinais que vão culminar na expressão de alterações fisiológicas específicas⁶.

A ligação inicial à superfície é a fase da formação do biofilme em que se concentram a grande maioria dos estudos já desenvolvidos, mas a fase da dispersão é um processo altamente regulado que garante a recolonização de outros nichos pelas bactérias e a propagação da infeção levando à sua cronicidade¹. Os sinais que levam à indicação do início da dispersão podem vir do ambiente externo como a variação dos níveis de óxido nítrico, oxigénio, temperatura ou alterações nutritivas, ou da relação interna do biofilme através dos gradientes que levam à exaustão das bactérias nas zonas mais profundas do biofilme ativando mecanismos

de regulação internos. Estes mecanismos levam a alterações estruturais nos biofilmes, tais como a produção e libertação de enzimas que vão degradar o EPS e perturbar as ligações de forma que ocorram perdas de partes da estrutura. Verificaram-se três formas distintas de dispersão descritas abaixo.

Swarming/seeding dispersal

Na dispersão em *swarming* as células são libertadas na sua forma individual. Este tipo de dispersão foi descrito através do biofilme *non-mucoid* de *P. aeruginosa*, onde, após o crescimento inicial do biofilme, as microcolónias se diferenciam formando uma camada externa de células estacionárias, enquanto parte do interior se “liquefaz” através de um processo de lise programada, permitindo que células individuais deixem o biofilme novamente na forma planctónica¹.

Clumping dispersal

Ao contrário da estratégia de dispersão anterior, na dispersão em *clumping* são expelidos agregados de células ainda envolvidos na matriz de EPS, com semelhanças à estrutura do biofilme. Este método de dispersão foi verificado nos biofilmes de *S. aureus*, o que pode explicar o cenário de infeção profunda, típico na infeção por estas bactérias, uma vez que a resistência aos antimicrobianos verificada nos *clumps* é semelhante à do biofilme e estes, após dispersão, voltam a colonizar a superfície¹.

Surface dispersal

O biofilme também tem a capacidade de se movimentar como um todo através de uma superfície. Esta dispersão tem sido associada à migração dos biofilmes através dos pulmões provenientes de próteses como tubos endotraqueais, originando infeções pulmonares severas como pneumonias com recurso a ventilador. Este tipo de dispersão é mais desafiador que a dispersão de células planctónicas, pois é mais difícil de detetar e as células, uma vez que estão em biofilme, são muito mais resistentes¹.

Para além deste ser um processo imprevisível e de difícil deteção, as células que vão dispersar têm a vantagem de já ter alterações genéticas que foram adquirindo durante o desenvolvimento dos biofilmes, que lhes permitem ser mais resistentes e mais virulentas do que as células planctónicas da mesma espécie⁷.

3. O problema das resistências ao antimicrobianos

A resistência aos antibióticos é um grave problema de saúde pública associado a grandes encargos, tanto económicos quanto sociais e os biofilmes são autênticos “reservatórios” de resistências. Estes são inerentemente insensíveis aos antissépticos habitualmente utilizados e cerca de mil vezes mais resistentes que as bactérias na sua forma livre. A resistência dos mesmos é muitas vezes uma característica intrínseca, mas também pode ser adaptativa o que os torna um verdadeiro desafio⁸.

Os biofilmes têm a capacidade de adotar diferentes estruturas em resposta às condições externas, o que lhes confere uma grande adaptabilidade que não é possível encontrar nos organismos multicelulares eucariotas¹. As alterações fenotípicas intrínsecas aos biofilmes e a sua estrutura tridimensional, que proporciona uma proximidade entre as células, são um dos principais contributos à sua resistência aos antibióticos, tendo em conta que beneficiam as transferências genéticas⁸.

3.1. Estratégias de resistência dos biofilmes

A resistência aos antimicrobianos deve-se principalmente devida à ocorrência de mutações genéticas. As bactérias com mutações associadas a resistências podem, por si só, formar biofilmes, mas o ambiente do biofilme em si também é benéfico para promover a ocorrência de mutações. A transferência horizontal de genes também é facilitada nos biofilmes uma vez que as células estão mais próximas que na sua forma planctónica⁵. Nos seguintes pontos irei aprofundar um pouco as estratégias que considere mais relevantes.

3.1.1. Matriz

A difícil penetração dos antimicrobianos tem sido um dos principais mecanismos de resistência atribuído aos biofilmes², no entanto, estudos mais recentes não corroboram essa abordagem. Foi demonstrado que a importância da diminuição da penetração dos fármacos nos biofilmes está dependente de várias variáveis, como a espécie bacteriana, o agente em questão e até as condições de crescimento do biofilme. Existem antimicrobianos que penetram rapidamente o biofilme e, ainda assim, não provocam a morte celular, contudo sabe-se que a diminuição da velocidade de penetração do agente microbiano aumenta a probabilidade de existir uma adaptação fenotípica que pode aumentar a tolerância ao antibiótico⁴.

Como já vimos anteriormente, a matriz é muito complexa e o seu efeito barreira não é o único contributo para o aumento da resistência. O eDNA é um importante e universal componente da matriz dos biofilmes. O papel deste componente tem sido investigado

principalmente na *P. aeruginosa*. Independentemente da origem do eDNA ser endógena ou exógena, este aumenta a resistência do biofilme a certos agentes antimicrobianos. A liberação de eDNA é potenciada por alguns antibióticos. Um dos mecanismos pelo que o eDNA contribui para o aumento da resistência é através da alteração do ambiente extracelular. O eDNA é uma macromolécula aniônica que tem capacidade de quelar cátions, como o Mg^{2+} , alterando o ambiente. Estas alterações são sinais que vão ativar diferentes vias de regulação nos biofilmes. Outro mecanismo é a interação física da molécula de eDNA com as moléculas de fármaco, inibindo-o de atingir o seu alvo celular. Para além disso, o eDNA está implícito na transcrição horizontal de genes nos biofilmes, um dos meios pelo qual as resistências se disseminam. Resumindo, a troca de eDNA entre diferentes espécies bacterianas que vivem nos biofilmes, contribui para o desenvolvimento de novas resistências^{4,5}.

Para além destes também os exopolissacarídeos, principal componente da matriz, são capazes de neutralizar algumas moléculas e existem enzimas presentes na matriz dos biofilmes de algumas espécies bacterianas, que têm enzimas β -lactamases que são capazes de degradar antibióticos, mais precisamente os β -lactâmicos que atuam na síntese da parede aquando da divisão celular, impedindo-os de alcançar o seu alvo celular^{4,5}.

3.1.2. Heterogeneidade fisiológica

A heterogeneidade fisiológica é caracterizada pelas diferenças na expressão genética, atividade metabólica e fenótipo, incluindo a tolerância aos diferentes antimicrobianos e as diferenças geográficas dentro do próprio biofilme⁴.

A heterogeneidade advém principalmente do gradiente de oxigénio dentro do biofilme. Em ambientes aeróbios, as células das camadas superficiais têm acesso a oxigénio, enquanto as camadas mais profundas do biofilme vivem em hipoxia. As células em hipoxia têm uma atividade metabólica reduzida e vivem num estado de fase estacionária, tendo uma taxa de crescimento escassa ou mesmo nula. Uma vez que o mecanismo de ação da maioria dos agentes antimicrobianos está relacionado com a atividade metabólica das células, estas possuem uma resistência intrínseca a estas moléculas^{1,2,4}.

3.1.3. Persisters

Parte das células do biofilme têm um fenótipo distinto e protegido que parece ser um mecanismo programado pelo biofilme². *Persisters* são subpopulações extremamente resistentes e muitas vezes responsáveis pela reativação das infeções⁵.

Os *persisters* existem tanto nas células na sua forma planctónica quanto nas sésies, no entanto a grande dificuldade é a existência destas nos biofilmes, onde estão protegidas do ataque imunitário. Estas bactérias têm um fenótipo distinto que parece ser programado. Estas não crescem na presença do agente antimicrobiano, tal como acontece com as espécies resistentes, mas retomam o seu crescimento após este ter sido retirado. São “indiferentes” à sua presença e desta forma conferem uma elevada resistência aos biofilmes⁹.

3.1.4. Bombas de efluxo

As bombas de efluxo são responsáveis por manter as concentrações citoplasmáticas dentro de um certo intervalo. Estas são um complexo composto por três proteínas membranares e fazem a ligação entre o meio intra e extracelular⁹. Conferem resistência aos biofilmes impedindo que o agente antimicrobiano atinja o seu alvo celular, já que o enviam para o espaço extracelular⁴.

3.1.5. Quorum sensing (QS)

Como referido anteriormente, as bactérias dos biofilmes têm um sistema de comunicação intercelular através de vias de sinalização biológicas que regulam a expressão de genes, modulando assim a atividade dos microrganismos¹⁰, o qual é denominado de *quorum sensing* (QS). Este tem influência tanto na formação e desenvolvimento dos biofilmes, quanto na produção de outros fatores de virulência.

De uma perspetiva simplificada, o QS executa-se com base em duas proteínas principais os autoindutores (AI), pequenas moléculas secretadas pelas bactérias responsáveis pela sinalização, e os recetores que detetam os anteriores^{8,11}. É a ligação dos AI aos recetores que desencadeiam as respostas celulares, uma vez que os AI não são detetados a baixas concentrações. As membranas celulares estão envolvidas na deteção destas moléculas e, para além do aumento da expressão de genes, a deteção dos AI leva também ao aumento da sua própria produção¹¹. As três classes principais dos AI são as homoserina acil-lactonas (AHLs), os peptídeos autoindutores (AIPs) e o autoindutor-2 (AI-2)⁸.

As bactérias gram-negativo foram a base para investigação do desenvolvimento dos biofilmes, não excetuando o QS, nomeadamente a *P. aeruginosa*. Nos biofilmes formados por esta bactéria, existem quatro sistemas de sinalização de QS: *lasR/lasI*, *rhlR/rhlI*, *pqs* e *iqs*, sendo o *lasR/lasI* e o *rhlR/rhlI* os principais^{10,11}. *lasI* sintetiza 3-oxo-C12-HSL que é necessária para a diferenciação do biofilme, sendo expresso durante a fase inicial de desenvolvimento. O sistema *rhlR/rhlI* é ativado durante a fase de maturação e demonstrou ser importante para a

sobrevivência das bactérias em meio anaeróbio¹⁰. O gene I codifica os autoindutores (AIP e AI-2) ou as AHL enquanto o gene R codifica as proteínas recetoras, tais como *lasR* e *rhlR*, que quando ligados levam à ativação da expressão genética oportuna, como fatores de virulência específicos¹¹.

Na *P. aeruginosa*, os fatores de virulência controlados pelo QS são os ramnolípidos, moléculas surfactantes, a piocianina e a pioverdina. Os ramnolípidos são considerados “pré-requisitos” para o desenvolvimento da FC uma vez que são os responsáveis pela deterioração dos tecidos nos doentes. A produção destas moléculas é regulada pelo sistema *rhl*, mas especificamente pela expressão de enzimas específicas para a biossíntese de ramnolípidos, as *rhlAB*^{11,12}.

A piocianina e a pioverdina são moléculas sinalizadoras responsáveis pela coloração azul-esverdeada típica do biofilme de *P. aeruginosa*. A piocianina é capaz de induzir a apoptose dos neutrófilos humanos, diminuindo a resposta imunitária, aumentando o risco de infeção. A produção desta molécula é controlada pelo QS, mais precisamente pelas vias *rhl* e *pqs*^{11,12}.

Estudos científicos notaram que as células com mutações no QS tinham uma resistência aos agentes antibacterianos menor que as restantes, denominadas de *wild type*. Um exemplo foi a pesquisa realizada por Bjarnsholt et al. em 2005 que verificou uma diminuição da resistência à tobramicina nos biofilmes formados por *P. aeruginosa* com mutação no QS.

Uma forma de avaliar a real contribuição do QS para a resistência dos biofilmes formados por células *wild type* é inibir esta via de comunicação. A extinção do QS com pequenas moléculas demonstrou, de facto, aumentar a suscetibilidade do biofilme aos antimicrobianos. Ainda assim, o QS em si é extremamente complexo e são necessários mais estudos para definir o mecanismo pelo qual este afeta a resistência do biofilme⁴.

4. Revisão de pequenas moléculas promissoras contendo heterociclos com atividade anti biofilme

Como já vimos anteriormente, a formação do biofilme é um grande obstáculo aos agentes antimicrobianos pelo que nos últimos anos tem havido uma grande dedicação na investigação de novas moléculas com propriedades anti biofilme. Apesar da biblioteca de compostos em desenvolvimento ser muito extensa, neste ponto irei focar apenas os derivados contendo heterociclos que se mostraram mais promissores no desenvolvimento de moléculas com atividade antibiofilme.

Os compostos *N*-heterocíclicos são muito comuns como estrutura base de fármacos devido às suas diversas atividades fisiológicas a vários níveis e são, também, associados a uma boa capacidade antibacteriana e antibiofilme¹³. Os **imidazóis** estão presentes em alcalóides de origem natural e demonstraram ser capazes de inibir e dispersar os biofilmes. O 2-aminoimidazol (2-AI), **1**, foi o composto base utilizado para síntese dos derivados. Utilizaram-se os análogos da *oroidina*, **2**, um alcalóide natural isolado a partir de *Agelas conifer*, para aferir a atividade antibiofilme e de dispersão destes compostos em duas estirpes de *P. aeruginosa* (PAOI E PAI4). Concluíram que a atividade antibiofilme dos compostos é potenciada pelo aumento da cadeia carbonada, quando entre 6 a 12 carbonos, sendo que o composto com capacidade de inibição mais elevada, **3**, apresentou um IC₅₀ de 2,84 μM em PAOI e de 2,26 μM em PAI4 (Tabela 1) (Figura 2)¹⁴.

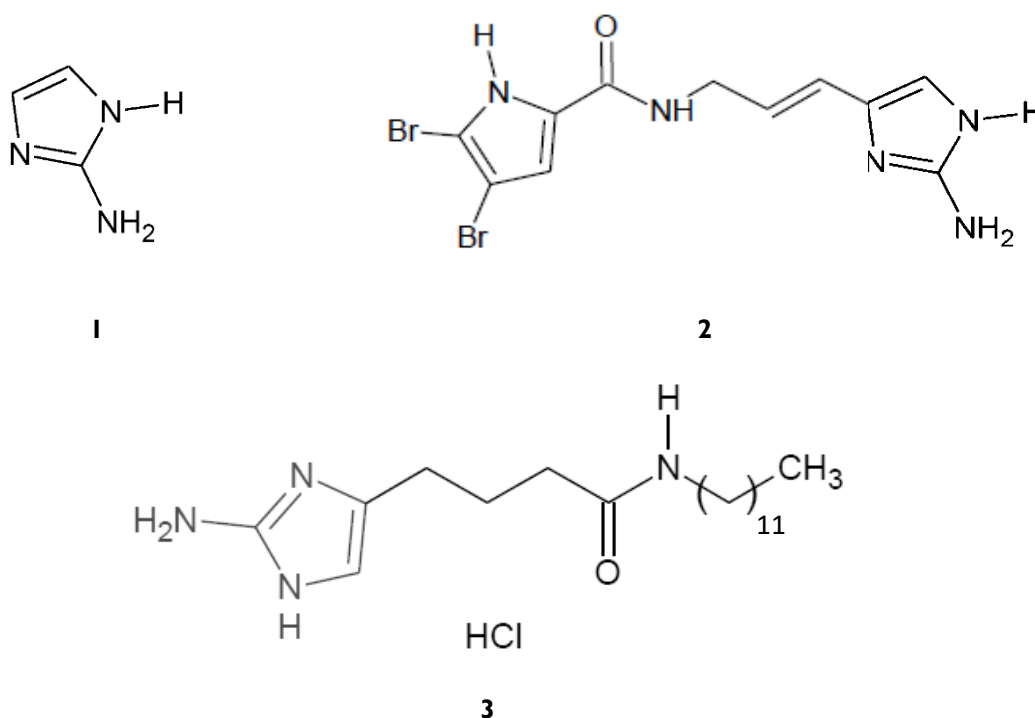


Figura 2 – Estrutura química dos compostos **1**, **2** e **3**. Imagem adaptada de ¹⁴.

Uma vez identificado que o núcleo 2-AI era determinante na atividade antibiofilme, conjugou-se um anel triazol de forma a avaliar possíveis melhorias na atividade. O composto híbrido obtido com melhor atividade (Tabela 1), **4 (2-AIT)**, contém uma ponte de metileno com o comprimento ideal de 5 átomos de carbono entre os dois anéis azotados e um anel aromático anexado (Figura 3)¹⁴. Este demonstrou capacidade de inibir a formação do biofilme e a dispersão do biofilme pré-formado¹⁵.

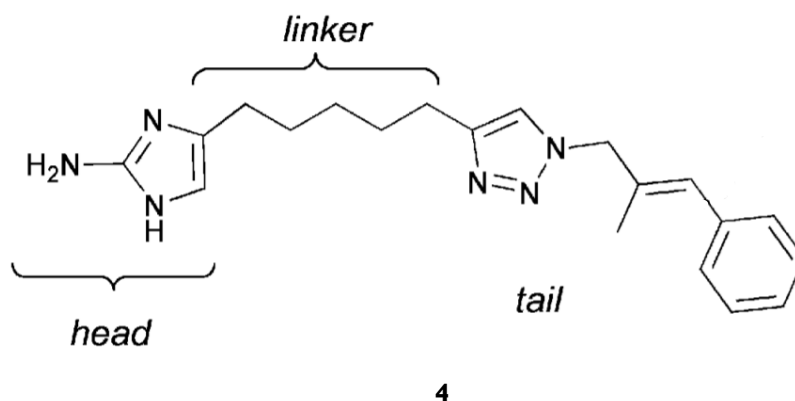
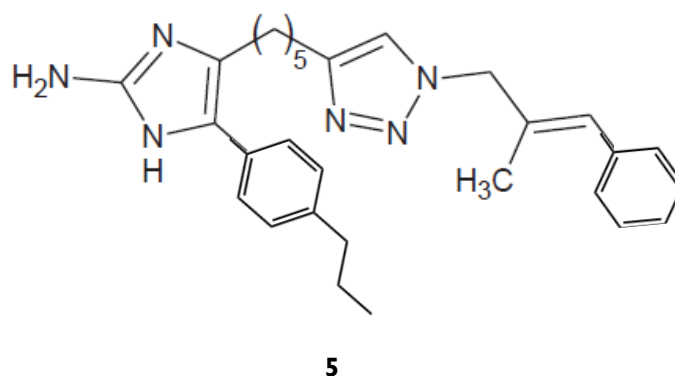
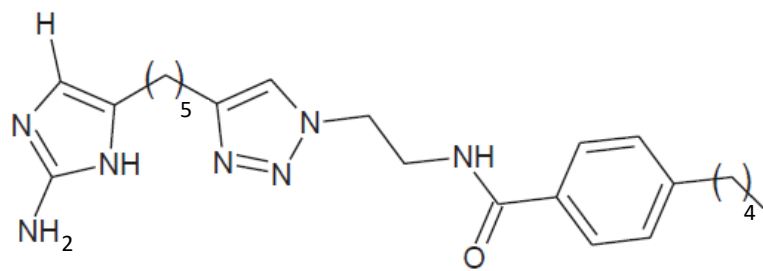


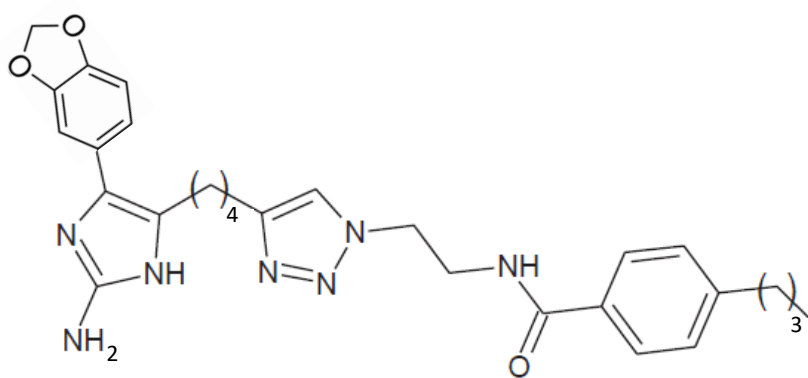
Figura 3 – Estrutura química do 2-AIT. Imagem adaptada de ¹⁵.

Os derivados dos 2-AIT têm sido uma das classes mais exploradas, no entanto é geral que carecem de estudos para averiguar o mecanismo de ação pelo qual atuam. Pela extensão de alterações estruturais estudadas, decidi optar por enumerar algumas das quais considere mais significativas. A 4,5-dissubstituição demonstrou uma melhoria na atividade antibiofilme, obtendo-se um $IC_{50}=1,42 \mu\text{M}$ para inibição da formação do biofilme de *S. aureus* meticilina-resistentes (MRSA) e um $IC_{50}=11,28 \mu\text{M}$ para dispersão do biofilme pré-formado de *Acinetobacter baumannii* para o composto mais potente, **5**. Um novo derivado 2-AIT foi descoberto, **5**, com um poder antibiofilme superior ao inicial. Os derivados 4,5-dissubstituídos de **6** (**6a-c**) também obtiveram melhores resultados (Tabela I) relativamente ao composto base a partir de um mecanismo que não interfere no crescimento bacteriano¹⁴. As N-substituições em **6** quando com cadeias alquila com mais de 5 carbonos ou um grupo benzilo, também foi benéfico para a atividade. O composto **7**, foi o que demonstrou melhores resultados com valores de IC_{50} entre 4,4 e 5,9 μM para três estirpes de biofilme de MRSA (Tabela I). Por fim, o composto **8** foi sintetizado, apresentado bons valores de IC_{50} , nomeadamente $IC_{50}= 3,7 \mu\text{M}$ para MRSA¹⁴.

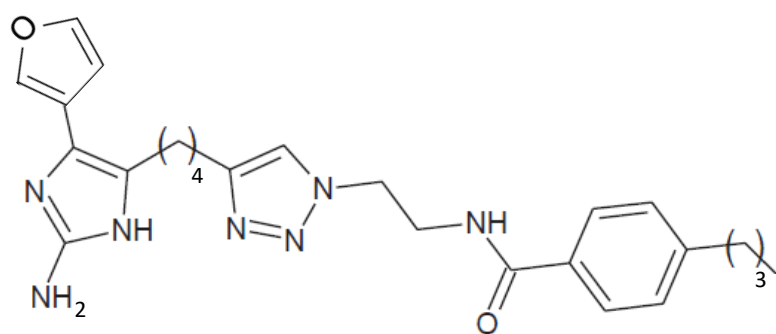




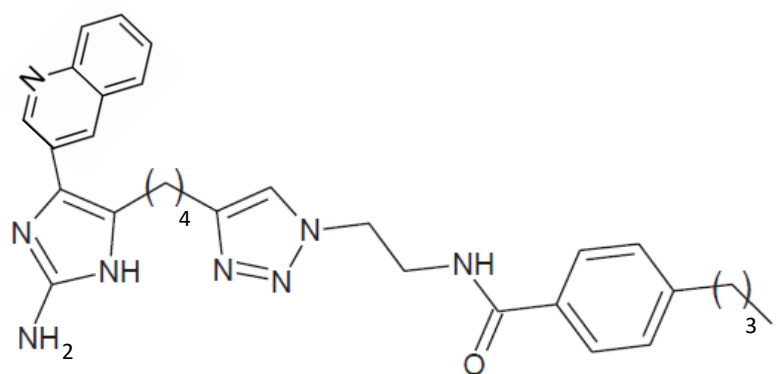
6



6a



6b



6c

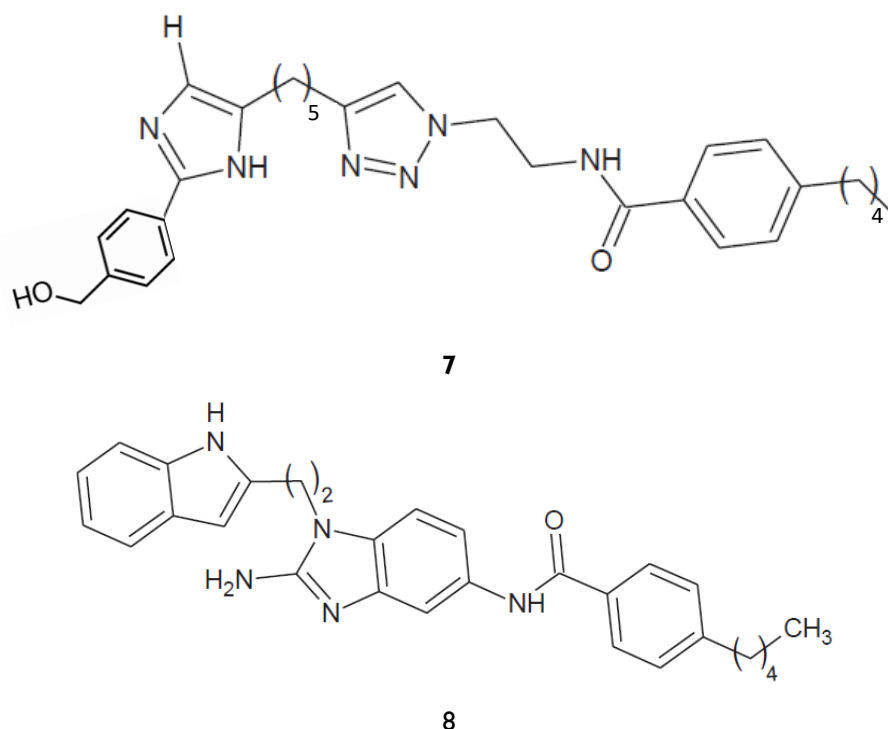
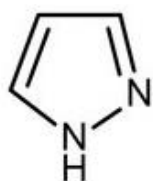


Figura 4 – Estrutura química dos compostos **5** a **8**. Imagem adaptada de ¹⁴.

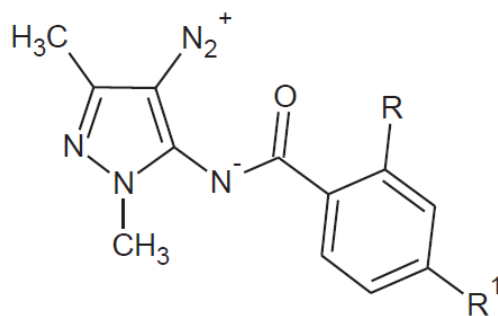
Os análogos do **pirazol**, **9**, são compostos aromáticos heterocíclicos, que possuem diversas atividades farmacológicas. São descritos como bons antibacterianos, nomeadamente inibindo o crescimento de MRSA¹⁶ e, nos últimos anos, como moduladores dos biofilmes. Foram sintetizados vários derivados destas moléculas ao longo dos últimos anos, sendo que as obtiveram melhores resultados foram os derivados do 4-diazopirazol, **10**, do pirazol-piramido[4,5-d] pirimidina, **11**, e da pirazol[3,4-b]quinolinil acetamida, **12**. Os derivados do **10** inibiram a formação do biofilme de *S. aureus* e de *S. epidermis*, sendo que **10a** atingiu melhor resultado com uma taxa de inibição de *S. aureus* ATCC 29213 de 86,5% a uma concentração de 21,6 μM (Tabela 1). O mecanismo de ação pelo qual esta molécula atua não está definido (Figura 5)¹⁴.

No entanto, **11** e **12**, demonstraram uma boa atividade antibiofilme e antibacteriana a baixas concentrações e há conhecimento de que o seu mecanismo de ação está relacionado com as espécies reativas de oxigênio (ROS), que estão envolvidas com a formação de danos ou lise celular⁴. Os derivados do composto **11**, **11a-c** provocaram uma diminuição na formação do biofilme em *S. aureus*, *B. subtilis* e *M. luteus* com valores de IC_{50} entre 6,6 a 35,4 μM e o composto **12** apresentou uma boa atividade antimicrobiana com CMI entre 8,1 e 16,2 μM e antibiofilme com IC_{50} entre 4,4 e 10,6 μM (Tabela 1). Nos últimos compostos foi avaliada a relação entre a estrutura e atividade, do inglês *structure-activity relation* (SAR), concluindo-se

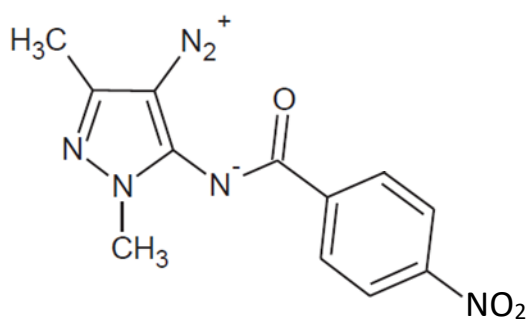
que o grupo acetamido-etil-piperazina acoplado ao pirazoloquinolina é crucial para a atividade¹⁴.



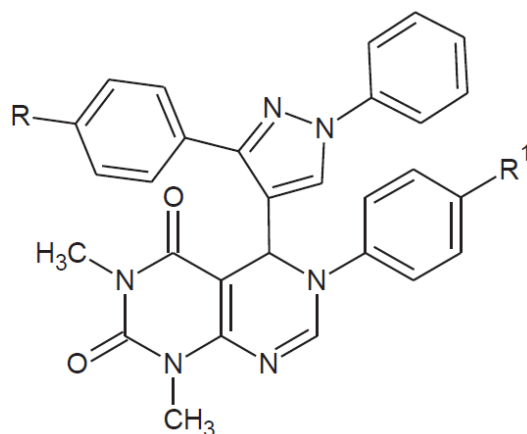
9



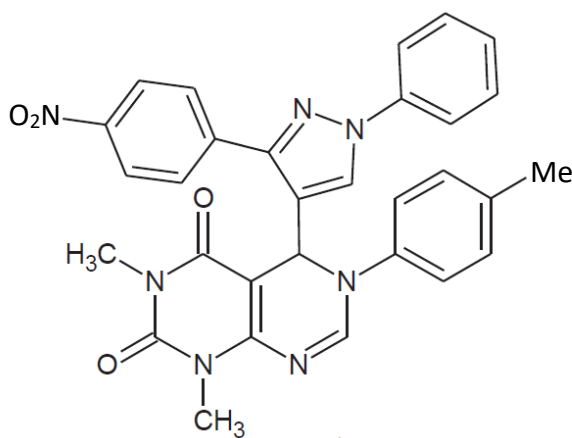
10



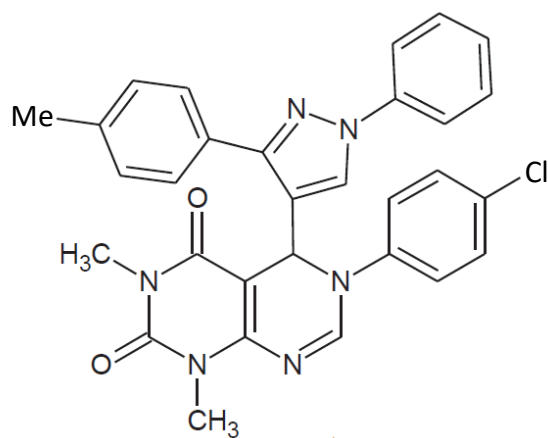
10a



11



11a



11b

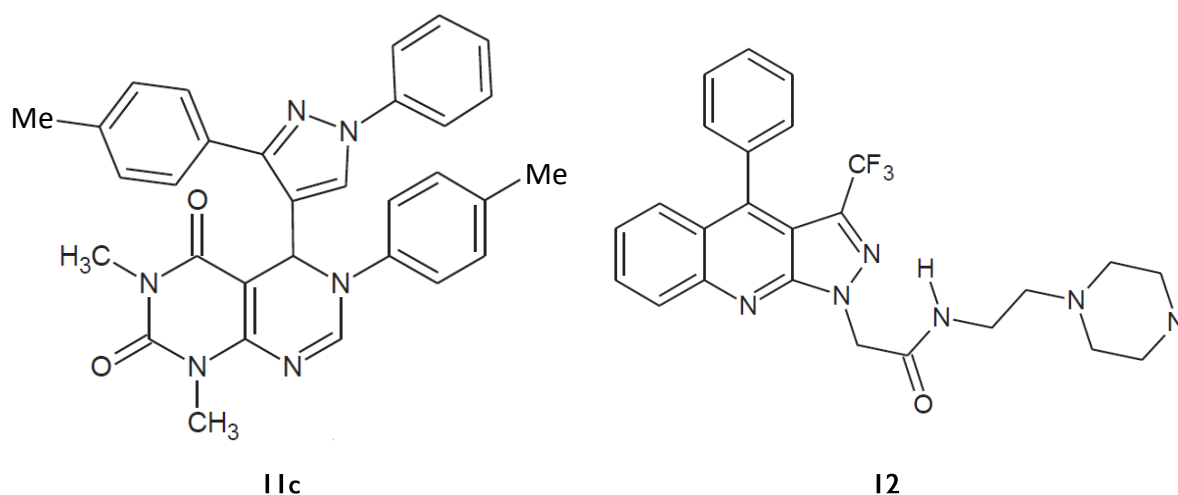


Figura 5 – Estrutura química dos derivados do pirazol. Imagem adaptada de ¹⁴.

Os compostos derivados do **indol** apresentaram efeitos na diminuição do desenvolvimento do biofilme de *Escherichia coli* e capacidade de modulação dos fatores de virulência na *P. aeruginosa* através da repressão da mobilidade celular e adesão bacteriana. Dos seis derivados testados, o indol-3-carboxialdeído e o 3-indolilcetonitrilo demonstraram inibir o biofilme de *E. coli* e de *P. aeruginosa* sem interferir com o crescimento microbiano, através da produção de *curli*, fímbrias características da *E. coli* que desempenham um papel importante na formação e adesão inicial do biofilme¹⁷. Os pirroloindolina triazol amidas, **13a-c**, destacaram-se por serem moduladores dos biofilmes com boa atividade antibiofilme (Tabela I). Análise à SAR revelou que o esqueleto *pirroloindoline* (destacado em **13c**) está relacionado com a capacidade de inibição do biofilme e o anel indol com as propriedades antibiofilme¹⁴.

O composto **14**, derivado do **carbazol** (Figura 6), foi identificado com um bom composto lead, uma vez que demonstrou uma boa capacidade de inibição do biofilme de *E. coli*, *S. aureus*, *S. epidermis*, *Porphyromonas gingivalis* e *P. aeruginosa*, sendo que a uma concentração de 18,5 μM *in vitro*, causou inibição completa do biofilme de *P. aeruginosa* (Tabela I).

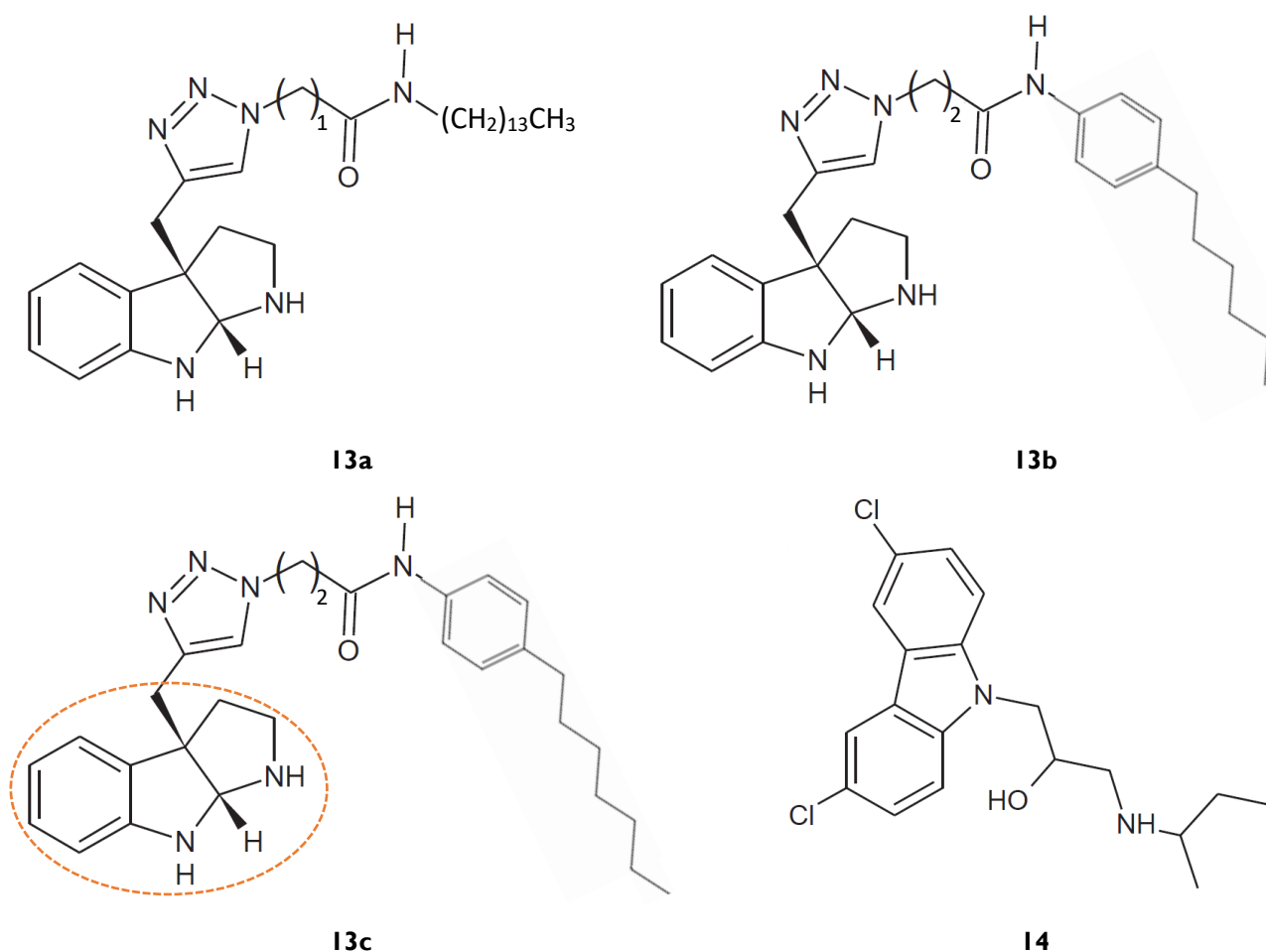


Figura 6 – Estrutura química dos compostos **13a-c** e **14**. Imagem adaptada de ¹⁴.

As **furanonas** apresentam, entre outras, atividade analgésica, anti-inflamatória, antioxidante, antiviral e antibacteriana pelo que têm sido alvo de estudo para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos¹⁹. A sua capacidade de interferir com a formação do biofilme deve-se frequentemente a mecanismos de ação relacionados com o QS, como é exemplo da inibição da comunicação celular mediada pela molécula sinalizadora AI-2 em algumas estirpes de *Streptococcus sp.* A análise SAR do composto sintético Z-5-bromometileno-2(5H)-furanona, **15**, permitiu concluir que a ligação exocíclica na posição 5 é um componente estrutural mais importante para a capacidade inibitória destas moléculas¹⁴ (Figura 7).

As **oxazolidinonas**, **16**, (Figura 7) são uma classe de compostos químicos recentes que demonstrou atividade antibiofilme e antibacteriana contra bactérias Gram positivos como MRSA e *Enterococci* vancomicina-resistentes (VRE)^B. Os derivados desta classe demonstraram ter três elementos estruturais imprescindíveis para a sua capacidade inibitória e de dispersão, os substituintes aceitadores de elétrons no grupo benzilideno, o esqueleto 4-oxazolidinona e

o grupo diclorometileno. O derivado **17**, foi o que demonstrou uma melhor atividade antibiofilme, com um IC_{50} de 0,78 μ M para inibição do biofilme de MRSA ATCC BAA-44 e um IC_{50} de 4,7 μ M para dispersão do biofilme pré-formado de MRSA (Tabela I).

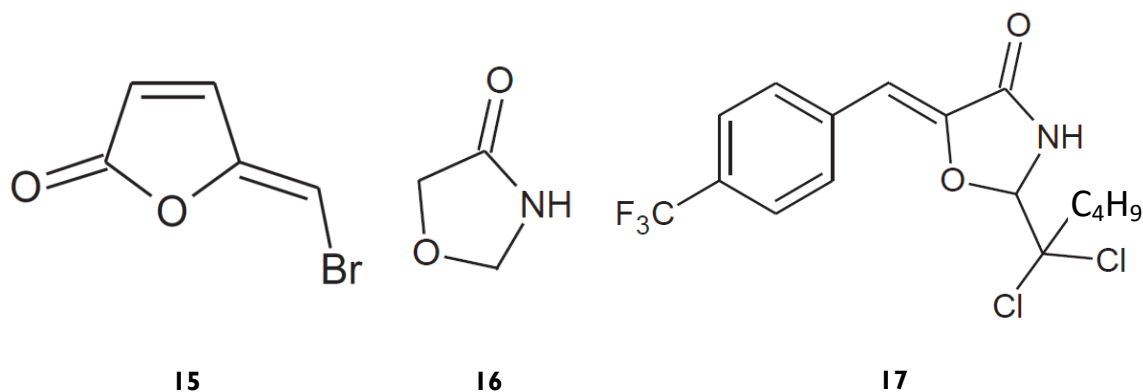


Figura 7 – Estrutura química de 15, 16 e 17. Imagem adaptada de ¹⁴.

Os derivados da **fenazina**, mais precisamente da bromofenazina **18** (Figura 8), demonstraram capacidade de erradicar biofilmes já formados de algumas bactérias Gram positivo. Foram obtidos resultados de contração mínima de erradicação do biofilme (MBEC) com interesse, representados na Tabela I (**18a,b** e **19**), destacando-se o derivado halogenado, **19**, que atua através de um mecanismo de ação que não provoca destruição da membrana celular e apresentou valores de MBEC entre os 0,20 e os 10 μ M contra MRSA, MRSE e VRE (Tabela I)¹⁴.

Os derivados da **quinolina**, **20**, (Figura 8) estão estruturalmente relacionados com os anteriores e, para além da capacidade de erradicação, também demonstraram atividade inibitória e de dispersão do biofilme. A análise da SAR demonstrou que modificações estruturais nas quinolinas halogenadas, **20a**, através da alquilação ou da aminação reductiva, levam a um aumento na capacidade de erradicação. Estas duas classes de derivados, demonstraram baixa toxicidade em células humanas e não apresentam atividade hemolítica. Os resultados mais relevantes de MBEC encontram-se representados na Tabela I¹⁴.

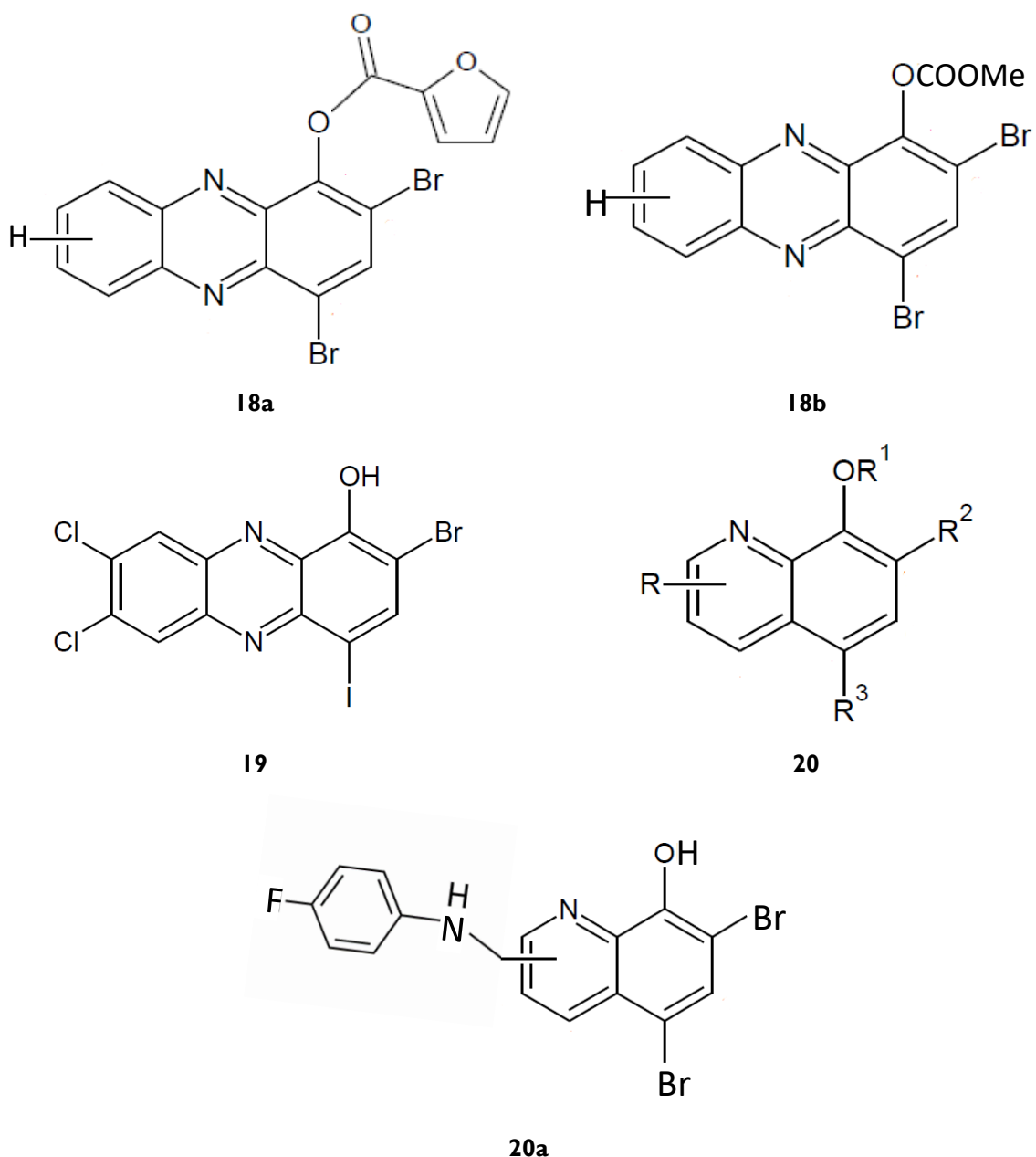


Figura 8 – Estrutura química dos compostos **18**, **19** e **20**. Imagem adaptada de ¹⁴.

Os derivados do **pirrol** têm sido investigados quanto à sua ação antibacteriana e, mais recentemente, antibiofilme. No geral, esta classe apresentou boa capacidade de inibição dos biofilmes de estafilococos, sendo que o composto **21** (Figura 9) se destacou pela sua taxa de inibição superior a 50% apenas com uma concentração de 0,11 μM . Quanto à sua SAR, concluiu-se que a atividade antibiofilme está relacionada com o número de halogênios como substituintes na molécula. Para além do composto **21**, o **22a** e **22b** também apresentaram boa capacidade inibitória, com 68,5 a 100% de inibição a 2,58 μM e 67,9 a 86,7% de inibição a 3,05 μM , respetivamente (Tabela 1). De forma a avaliar a influência da inserção de átomos de flúor, sintetizou-se o composto **23**, que obteve resultados superiores aos anteriores e foi

ainda capaz de inibir totalmente a atividade do biofilme de estafilococos com uma concentração de 22,7 μM , com uma toxicidade tolerável para continuação de desenvolvimento científico¹⁴.

Uma última classe de derivados do pirrol, dihidro pirrol-2-onas (DPO) foi sintetizada com o objetivo de avaliar a sua atividade antibacteriana e capacidade de modulação dos biofilmes. O composto **24**, apresentou a melhor capacidade de inibição do crescimento bacteriano ($\text{IC}_{50} = 60,1 \mu\text{M}$) e de formação do biofilme ($\text{IC}_{50} = 62,3 \mu\text{M}$) para o biofilme de *P. aeruginosa*. O mecanismo de ação para o DPO parece estar relacionado com a inibição da produção de manitol desidrogenase (MDH), responsável pela produção de alginato (um dos principais componentes da matriz de EPS) e de eDNA¹⁴.

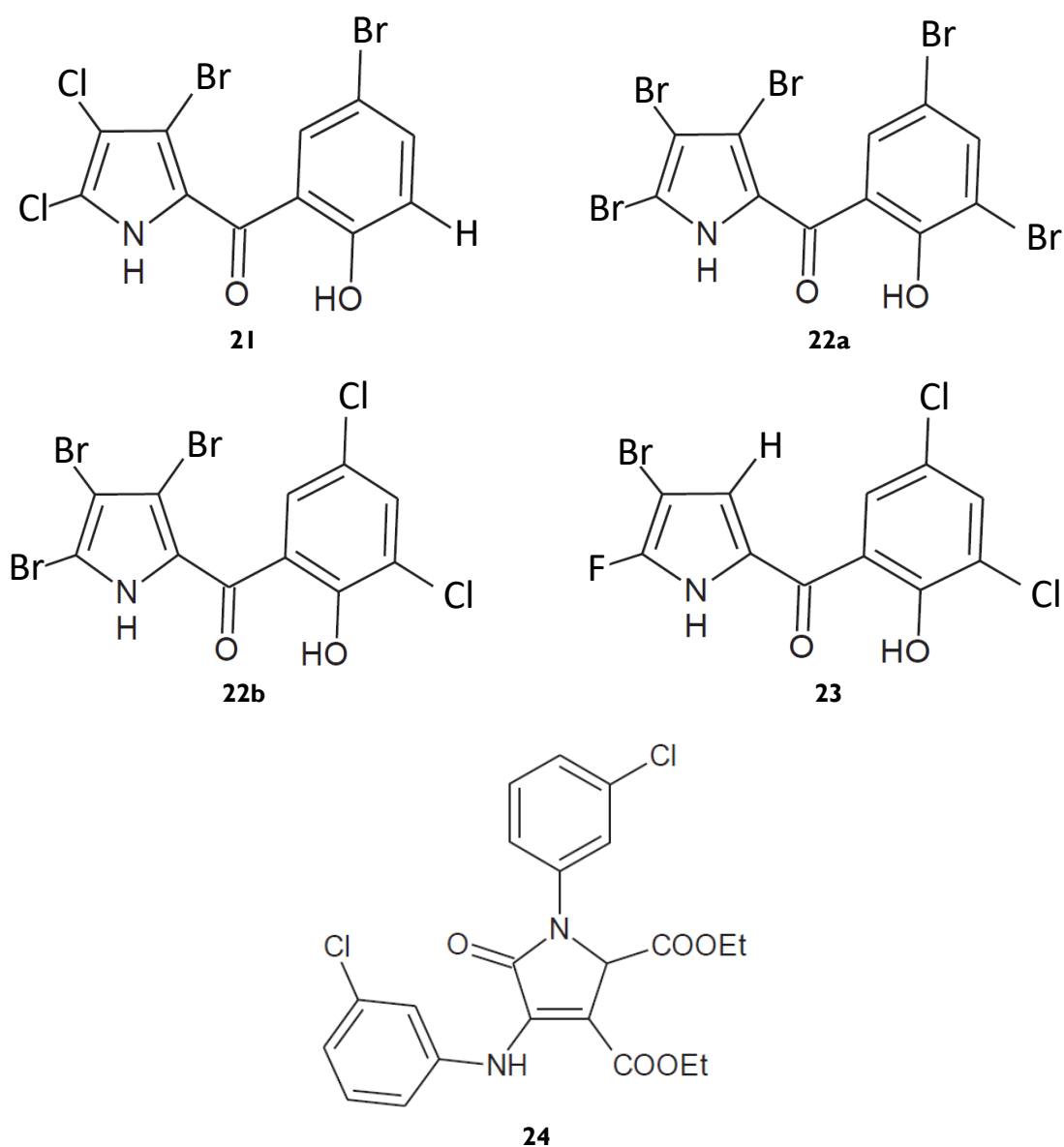


Figura 9 – Estrutura química dos compostos derivados do pirrol. Imagem adaptada de ¹³.

Foi sintetizado o **fenil hidrazinelindeno**, **25a** (Figura 10) com o objetivo de obter novas classes de compostos que inibissem a adesão bacteriana através do *Sortase A* (SrtA), uma transpeptidase membranar responsável pela catálise da ligação covalente de proteínas da superfície à parede celular com impacto na adesão bacteriana¹⁸. Este demonstrou um valor de IC₅₀ de 192 μM contra *S. aureus*. Estudos posteriores da SAR sugeriram que a introdução de um anel heterocíclico na posição R¹ trazia vantagem para a atividade do composto, **25**. Após a observação desta mais-valia, sintetizaram os derivados **26a-c**, cujos valores de IC₅₀ se representam na Tabela I, demonstraram melhor impacto na diminuição da formação do biofilme. O composto **26a** foi ainda avaliado quanto à sua toxicidade e demonstrou não ser tóxico na concentração de 1 mg/mL num modelo *in vivo*¹⁴.

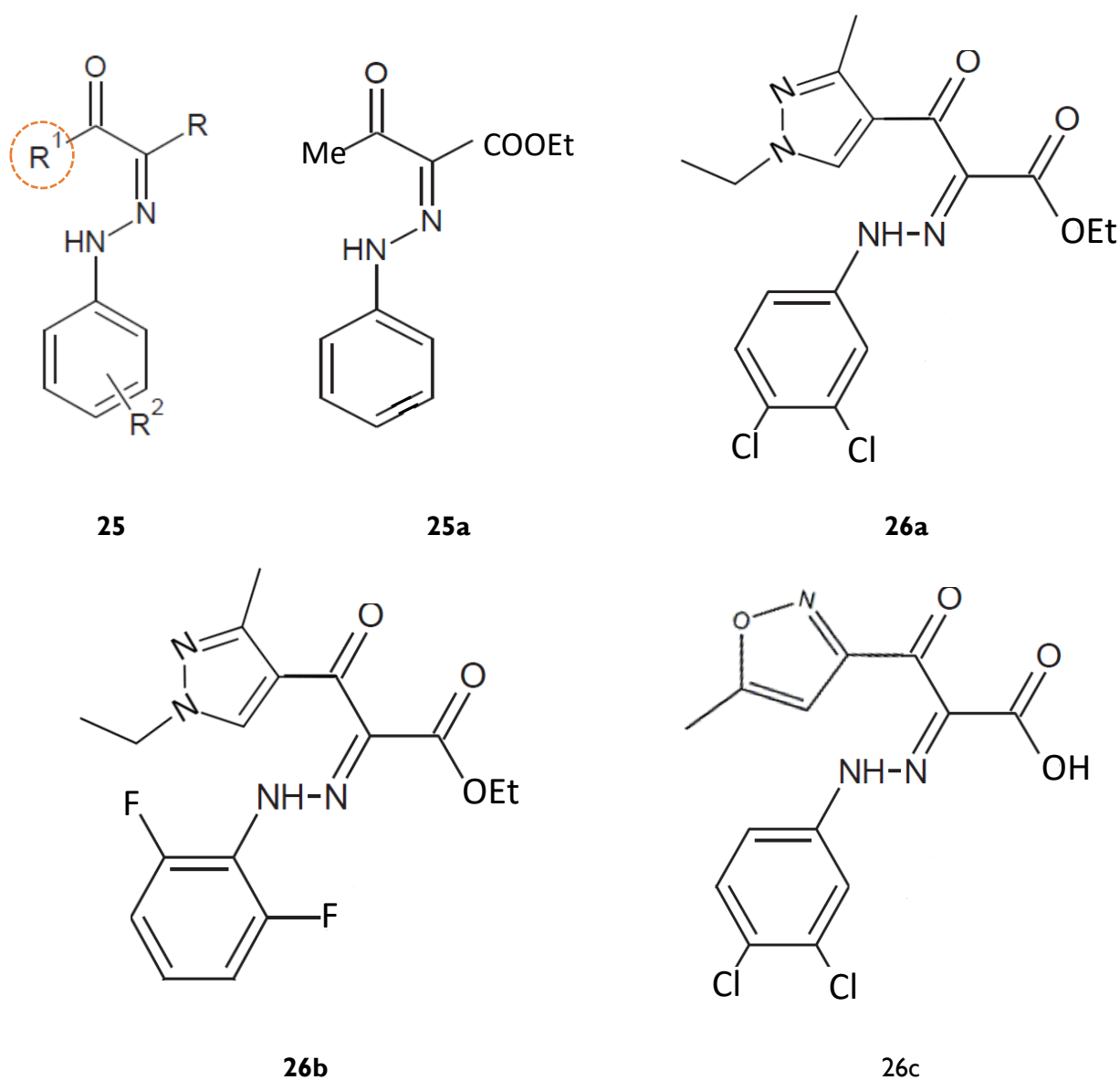


Figura 10 – Estrutura química dos compostos **25** e **26a-c**. Imagem adaptada de ¹⁴.

Tabela I - Valores IC50 ou Taxa de inibição com mais destaque obtidos dos compostos analisados. Tabela adaptada de ¹⁴.

Composto	Estirpe	IC ₅₀ (μM) ^a , Taxa de inibição (TI) (%) ^b ou MBEC (μM) ^c	
3	<i>P. aeruginosa</i>	PAOI	2,84 ^a
		PAI4	2,26 ^a
2-AIT	<i>A. baumannii</i>		0,98 ^a
	<i>P.aeruginosa</i>	PAOI	5,6 ^a
		PAI4	0,53 ^a
	<i>B. bronchiseptica</i>		9,5 ^a
<i>S. aureus</i>		0,81 ^a	
5	MRSA		1,42 ^a
	<i>A. baumannii</i>		11,28 ^a
6	<i>S. aureus</i> e <i>A. baumannii</i>		15,2 – 34 ^a
6a	MRSA		3,7 ^a
6b			7,2 ^a
6c			4,2 ^a
7	MRSA	BAA-1770	5,9 ^a
		BAA-1685	5,5 ^a
		43300	4,4 ^a
8	MRSA		3,7 ^a
10a	<i>S. aureus</i> ATCC 29213		21,6 ^b TI: 85
11	<i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i> e <i>M. luteus</i>		6,6 – 35,4 ^a
12	<i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>M. luteus</i> , <i>E. coli</i> e <i>K. planticola</i>		4,4 – 10,6 ^a
13a	MRSA		5,4 ^a
13b			3,4 ^a
13c			2,8 ^a
14	<i>P. aeruginosa</i>		18,5 ^b TI: 100 <i>in vitro</i>
17	MRSA ATCC BAA-44		0,78 ^a
	MRSA		4,7 ^a
18a	<i>S. aureus</i>		2,6 ^c
18b			2,9 ^c
19	MRSA		10 ^c

	MRSE	2,4 ^c
	VRE	0,2 ^c
20a	MRSA-2	93,8 ^c
	MRSA BAA-1707	7,8 ^c
	MRSE	5,9 ^c
	VRE	1,0 ^c
21	<i>Staphylococcus spp.</i>	0,11 ^b TI > 50
22a		2,58 ^b TI: 68,5 - 100
22b		3,04 ^b TI: 67,9 - 86,7
23		22,7 ^b TI: 100
24		<i>P. aeruginosa</i>
25	<i>S. aureus</i>	1,92 ^a
26a	<i>Straphylococcal strain ATCC 29213</i>	1,7 ^a
26b	<i>Straphylococcal strain ATCC 6538</i>	0,8 ^a
26c	<i>Straphylococcal strain ATCC 29213</i>	0,9 ^a

5. CONCLUSÃO

Os biofilmes são entidades extremamente complexas, tem sido um desafio para a ciência encontrar moléculas que consigam interferir com a sua atividade e que não sejam suscetíveis de desenvolver resistência.

Há uma biblioteca extensa de classes de compostos em investigação acerca da sua atividade antibiofilme. As pequenas moléculas com heterociclos são uma dessas classes e são relativamente recentes no que confere à pesquisa sobre a sua atividade antibiofilme e, por esse motivo, optei por analisá-las. A atividade da maioria destes compostos passa pela prevenção, na medida em que inibem a formação de novos biofilmes, no entanto, alguns deles também já estão a ser estudados quanto à sua capacidade de dispersão dos biofilmes já formados e capacidade de erradicação.

Dentro dos compostos revistos, os derivados do 2-AIT e as oxazolidinonas foram os que me elevaram a curiosidade. Os 2-AIT, pois são uma das classes mais avançadas quanto à sua SAR e as oxazolidinonas por serem uma das classes mais recentes, sendo que ambas demonstraram capacidade de atuar em biofilmes pré formados para além da atividade inibitória a uma concentração reduzida.

As *small molecules* ainda estão em fase inicial de investigação. Carecem ainda de muito estudo sobre o seu mecanismo de ação e ensaios em modelos biológicos, contudo aparentam ser boas armas para prevenção e eliminação dos biofilmes e até bons potenciadores de outros fármacos já existentes no mercado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 HALL-STOODLEY, Luanne; COSTERTON, J. William; STOODLEY, Paul - **Bacterial biofilms: From the natural environment to infectious diseases**. *Nature Reviews Microbiology*. 2:2 (2004) 95–108. doi: 10.1038/nrmicro821.
- 2 COSTERTON, J. W.; STEWART, Philip S.; GREENBERG, E. P. - **Bacterial biofilms: A common cause of persistent infections**. *Science*. 284:5418 (1999) 1318–1322. doi: 10.1126/science.284.5418.1318.
- 3 YIN, Wen *et al.* - **Biofilms: The microbial “protective clothing” in extreme environments**. *International Journal of Molecular Sciences*. 20:3423 (2019) 1–18. doi: 10.3390/ijms20143423.
- 4 HALL, Clayton W.; MAH, Thien Fah - **Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria**. *FEMS Microbiology Reviews*. 41:3 (2017) 276–301. doi: 10.1093/femsre/fux010.
- 5 BJARNSHOLT, Thomas *et al.* - **Applying insights from biofilm biology to drug development-can a new approach be developed?** *Nature Reviews Drug Discovery*. 12:10 (2013) 791–808. doi: 10.1038/nrd4000.
- 6 GUZMÁN-SOTO, Irene *et al.* - **Mimicking biofilm formation and development: Recent progress in in vitro and in vivo biofilm models**. *iScience*. 24:5 (2021). doi: 10.1016/j.isci.2021.102443.
- 7 SUTHERLAND, Ian W. - **The biofilm matrix – an immobilized but dynamic microbial environment**. *Trends in microbiology*. 9:5 (2001) 222–227.
- 8 WORTHINGTON, Roberta J.; RICHARDS, Justin J.; MELANDER, Christian - **Small molecule control of bacterial biofilms**. *Organic & Biomolecular Chemistry*. 10:37 (2012) 7457–7474.
- 9 ACKER, Heleen VAN; COENYE, Tom - **The role of efflux and physiological adaptation in biofilm tolerance and resistance**. *Journal of Biological Chemistry*. 291:24 (2016) 12565–12572. doi: 10.1074/jbc.R115.707257.
- 10 WEI, Qing; MA, Luyan Z. - **Biofilm matrix and its regulation in Pseudomonas aeruginosa**. *International Journal of Molecular Sciences*. 14:10 (2013) 20983–21005. doi: 10.3390/ijms141020983.
- 11 BRINDHADEVI, Kathirvel *et al.* - **Biofilm and Quorum sensing mediated pathogenicity in Pseudomonas aeruginosa**. *Process Biochemistry*. 96:June (2020) 49–57. doi: 10.1016/j.procbio.2020.06.001.

- 12 LI, Shengrong *et al.* - **Anti-biofilm effect of novel thiazole acid analogs against *Pseudomonas aeruginosa* through IQS pathways.** *European Journal of Medicinal Chemistry.* 145:(2018) 64–73. doi: 10.1016/j.ejmech.2017.12.076.
- 13 VITAKU, Edon; SMITH, David T.; NJARDARSON, Jon T. - **Analysis of the structural diversity, substitution patterns, and frequency of nitrogen heterocycles among U.S. FDA approved pharmaceuticals.** *Journal of Medicinal Chemistry.* 57:24 (2014) 10257–10274. doi: 10.1021/jm501100b.
- 14 PARRINO, Barbara *et al.* - **Synthetic small molecules as anti-biofilm agents in the struggle against antibiotic resistance.** *European Journal of Medicinal Chemistry.* 161(2019) 154–178. doi: 10.1016/j.ejmech.2018.10.036.
- 15 REYES, Samuel *et al.* - **Synthesis and biological activity of 2-aminoimidazole triazoles accessed by Suzuki-Miyaura cross-coupling.** *Organic and Biomolecular Chemistry.* 9:8 (2011) 3041–3049. doi: 10.1039/c0ob00925c.
- 16 VERMA, Rameshwari *et al.* - **Pyrazole-based analogs as potential antibacterial agents against methicillin-resistance staphylococcus aureus (MRSA) and its SAR elucidation.** *European Journal of Medicinal Chemistry.* 212 (2021). doi: 10.1016/j.ejmech.2020.113134.
- 17 CARTER, Michelle Qiu *et al.* - **Curli fimbriae are conditionally required in *Escherichia coli* O157: H7 for initial attachment and biofilm formation.** *Food Microbiology.* 57 (2016) 81–89. doi: 10.1016/j.fm.2016.01.006.
- 18 CASCIOFERRO, Stella; TOTSIKA, Makrina; SCHILLACI, Domenico - **Sortase A: An ideal target for anti-virulence drug development.** *Microbial Pathogenesis.* 77 (2014) 105–112. doi: 10.1016/j.micpath.2014.10.007.
- 19 HUSAIN, Asif *et al.* - **Insights into the chemistry and therapeutic potential of furanones: A versatile pharmacophore.** *European Journal of Medicinal Chemistry.* 171(2019) 66–92. doi: 10.1016/j.ejmech.2019.03.021.