



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR
Ciências da Saúde

**Reações de adição conjugada em esteróides -
aplicação à preparação de potenciais agentes
quimioterápicos**
**Experiência Profissionalizante na vertente de Farmácia
Comunitária e Investigação**

Pedro Henrique dos Santos Soares

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

Orientador: Prof. Dr. Samuel Martins Silvestre

Covilhã, 12 Junho de 2013.

*“Dinheiro faz quase tudo
Vontade faz quase nada.
Silêncio, sabedoria
O som, festa na quebrada!
A luta por um ideal abre a porta da caminhada
Humildade faz com que essa porta não seja fechada.*

*O homem faz guerra, o homem quer paz.
O homem se enterra, o homem nem sabe mais,
Problema faz depressão, sistema faz opressão.
E você: faça mais do que pegadas nesse chão!”*

*“Me diz quanto vale o teu coração?
Tantos Pelézim caíram antes de chegar na seleção...
Eu Não!”*

Projota

Agradecimentos

Em primeiro lugar a Deus, pelo fôlego da vida, sem o qual nada seria possível.

Um agradecimento especial à minha família. Nomeadamente: Meu pai, Marcos. Minha mãe, Cleomar. E minha irmã, Samara. Obrigado pelo carinho, pela educação e pelo amor. Só nós sabemos o quanto foi difícil chegar até o final desta etapa. E isto só foi possível por que a cada momento tive o apoio de vocês. Obrigado por tudo. Por cada abraço, por cada incentivo, por cada repreensão quando estive errado, por cada palmada merecida. Se eu sou quem sou hoje, sei que devo isso a vocês. Amo vocês!

Aos meus amigos, que embora distantes sempre estiveram ao meu lado. Em especial, João Pontes e Hannah Lyra, pelos ótimos momentos durante estes anos de faculdade, e que vão continuar durante muitos anos, e à Prima Camilla, pelo nosso círculo de confiança. À Poly por todo o apoio prestado durante este ano em que estivemos fora de nossas casas. Você foi deveras importante, não sei o que teria sido de mim este ano sem você aqui. Você foi minha amiga, companheira, irmã, mãe, filha. Valeu a pena cada momento aqui, e você teve papel fundamental neste ano. Obrigado por tudo! A todos meus primos e primas pelo apoio e pelos momentos vivenciados juntos.

Em especial ao Prof. Dr. Samuel Silvestre, que durante os últimos meses se desdobrou para me prestar todo suporte necessário para que os experimentos fossem realizados, deixo meu sincero agradecimento. E ao Dr. Carlos e sua equipe da Farmácia São Cosme, pelos laços de amizade criados durante o período em que estive lá.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), órgão do Governo Federal do Brasil, pelo financiamento através da bolsa concedida.

Obrigado!

Resumo

O presente trabalho está dividido em duas diferentes partes, as quais foram redigidas utilizando experiências vivenciadas durante o período de estágios no último ano de curso.

O primeiro capítulo é composto pelo relato da experiência de estágio em Farmácia Comunitária. Reúne a vivência da realidade de um farmacêutico de oficina que ocorreu durante o primeiro semestre letivo na Farmácia São Cosme, sita na Covilhã, sob orientação do Dr. Carlos Tavares. Durante o período de estágio foi possível obter uma série de competências e conhecimentos, aqui relatados, bem como entender melhor o sistema de saúde português e o papel que o farmacêutico nele desempenha.

O segundo capítulo faz referência ao período de estágio em investigação, sob supervisão do Prof. Dr. Samuel Silvestre, no Laboratório de Síntese Química do Centro de Investigação em Ciências da Saúde, da Universidade da Beira Interior. No presente trabalho, foi utilizada a adição de Michael para a síntese de novos compostos a partir de esteróides e diferentes aminas. Os compostos produzidos foram purificados e caracterizados, e posteriormente realizar-se-à a avaliação de atividade biológica deles em diferentes linhagens celulares.

Palavras-chave

Farmácia comunitária; Farmacêutico; Esteróides; Reação de Michael; Adição Conjugada; Testosterona; Acetato de 16-desidropregnenolona

Abstract

This work is divided in two diferents parts, which were written about what was experienced in during the final stage of the MSc in Pharmaceutical Sciences, in the last year.

The first chapter consists of the report of internship experience in Community Pharmacy. It brings the experience of the reality of pharmacy professional which occurred during the first semester in São Cosme Pharmacy, located in Covilha, under the guidance of Dr. Carlos Tavares. During the probationary period it was possible to obtain a range of skills and knowledge, reported here, as well as a better understand of the Portuguese health system and the role of pharmacist on it.

The second chapter refers to the period of research, under the supervision of Prof. Dr. Samuel Silvestre, Laboratory of Chemical Synthesis at the Health Sciences Research Centre, University of Beira Interior. In the present study, we used the Michael addition for the synthesis of new compounds from different steroids and amines. The compounds produced were purified and characterized, and subsequently it will assessed their biological activity against different cell lines.

Keywords

Community Pharmacy; Pharmacist; Steroid; Michael Addition; Conjugated Addition; Testosterone; 16-Dehydropregnenolone acetate.

Índice

Capítulo 1 - Estágio em Farmácia Comunitária	1
Introdução	1
Legislação Farmacêutica	2
Área de atendimento ao público	3
Sala de Procedimentos	3
Sala de Análises Clínicas	3
Recepção de encomendas.....	3
Laboratório.....	4
Estoque	4
Áreas destinadas aos funcionários	4
Quadro de pessoal.....	4
Conceitos importantes	5
Sistema Informático	5
Fontes de Informação	6
Medicamentos	6
Recepção das encomendas.....	7
Armazenamento	8
Controle dos prazos de validade	9
Aspectos Básicos da Interação Farmacêutico-Utente-Medicamento.....	9
Cedência e Indicação Farmacêutica	10
Medicamentos sujeitos a receita médica	10
Medicamentos não sujeitos a receita médica	12
Psicotrópicos e estupefacientes.....	12
Preparações extemporâneas.....	13
Dispensa de outros produtos relacionados à saúde	13
Dermocosméticos.....	13
Produto Dietético.....	14
Fitoterápicos e suplementos alimentares.....	14
Dispositivos Médicos.....	14
Medicamentos de Uso Veterinário.....	15
Sistema de comparticipação	15
Outros Serviços de Saúde	16
Parâmetros Antropométricos e Pressão Arterial	16
Glicemia	17
Colesterol total e triglicérides	18
Medicamentos manipulados.....	18
Conclusão	20
Bibliografia	21
Capítulo 2 - Investigação: “Reações de adição conjugada em esteróides - aplicação à preparação de potenciais agentes quimioterápicos”	23
Introdução	23
Esteróides.....	23
Características estruturais gerais	23
Aspectos fisiológicos.....	24
Utilização terapêutica de esteróides e sua obtenção.....	25
Testosterona	26
Progesterona.....	27
Influência hormonal em tumores	28
Reação de Michael.....	28
Objetivos.....	31
Seção Experimental	31
Equipamentos e reagentes	31
Reações experimentais realizadas	32
Síntese do acetato de 16 α -morfolinopregnenolona (1a).....	32
Tentativa de síntese de propionato de 16 α -morfolinotestosterona (1b).....	33
Síntese de propionato de 5 α -indoltestosterona em micro-ondas (2a).....	34

Síntese de 5 α -indoltestosterona em micro-ondas (2b)	35
Tentativa de síntese de propionato de 5 α -morfolinotestosterona em micro-ondas	35
Tentativa de síntese de acetato de 16 α -morfolinopregnenolona em micro-ondas (1c) ..	36
Síntese de acetato de 16 α -piperidinopregnenolona (1d)	36
Síntese de acetato de 16 α -imidazolpregnenolona (1e)	37
Tentativa de síntese de acetato de 16 α -indopregnenolona	37
Discussão	39
Elucidação Estrutural dos Compostos	39
Acetato de 16 α -morfolinopregnenolona.....	39
Acetato de 16 α -piperidinopregnenolona	40
Acetato de 16 α -imidazolepregnenolona.....	41
Propionato de 5 α -indoletestosterona	43
5 α -Indoltestosterona	44
Discussão da parte experimental	45
Conclusão	49
Bibliografia	50

Lista de Figuras

Figura 1 - Estrutura do núcleo esteroidal

Figura 2 - Estrutura tridimensional do colesterol, precursor dos esteróides.

Figura 3 - Estrutura da testosterona e do propionato de testosterona.

Figura 4 - Síntese de esteróide a partir de colesterol

Figura 5 - Análise espectroscópica IV de acetato de 16 α -morfolinopregnenolona

Figura 6 - Expansão do espectro de próton do acetato de 16 α -morfolinopregnenolona

Figura 7 - Análise espectroscópica IV de acetato de 16 α -piperidinopregnenolona

Figura 8 - Expansão do espectro de próton do acetato de 16 α -pirrolepregnenolona

Figura 9 - Análise espectroscópica IV de propionato de 5 α -indoletestosterona

Figura 10 - Análise espectroscópica IV de (2b)

Figura 11 - Acetato de 16 α -morfolinopregnenolona

Figura 12 - Propionato de 5 α -indoletestosterona

Figura 13- Acetato de 16 α -piperidinopregnenolona

Figura 14 - Acetato de 16 α -(1-imidazole)pregnenolona

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Valores Referência de Pressão Arterial

Tabela 2 - Valores Referência para IMC

Tabela 3 - Valores Referência para Pressão Arterial

Tabela 4 - Resumo das reações executadas

Lista de Acrónimos

µL	Microlitro
13C	Carbono 13
16-DHP	16-desidropregnenolona
16-DPA	Acetato de 16-desidropregnenolona
1H	Protão
Ac	Acetilo
AE	Acetato de Etilo
AIM	Autorização de Introdução no Mercado
AUE	Autorização de Utilização Especial
BPF	Boas Práticas de Farmácia
br	broad
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CCF	Cromatografia de Camada Fina
CIM	Centro de Informação do Medicamento
d	duplete
DCI	Designação Comum Internacional
dL	Decilitro
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
EP	Éter de petróleo
FSC	Farmácia São Cosme

INFARMED Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento

IV Infravermelho

IVA Imposto sobre Valor Acrescentado

m múltiplo

mg Miligrama

MHz MegaHertz

mL Mililitro

MNSRM Medicamento Não Sujeito a Receita Médica

MSRM Medicamento Sujeito a Receita Médica

OF Ordem dos Farmacêuticos

OMS Organização Mundial de Saúde

q quarteto

RCM Resumo das Características do Medicamento

Rf Factor de retenção

RMN Ressonância Magnética Nuclear [1linha de intervalo]

Capítulo 1 - Estágio em Farmácia Comunitária

Introdução

Enquadradas no Sistema Nacional de Prestação de Cuidados de Saúde, as farmácias portuguesas são unidades voltadas ao aconselhamento sobre uso correto dos medicamentos e a monitorização dos doentes.

De acordo com um estudo realizado em 2007 por solicitação da Ordem dos Farmacêuticos, pelo Instituto Superior de Ciências do Trabalho e da Empresa, a atividade das farmácias portuguesas está orientada para a promoção da saúde, e não apenas para a comercialização de medicamentos [1].

As farmácias podem prestar os seguintes serviços farmacêuticos de promoção da saúde e do bem-estar dos utentes:

- a) Apoio domiciliário;
- b) Administração de primeiros socorros;
- c) Administração de medicamentos;
- d) Utilização de meios auxiliares de diagnóstico e terapêutica;
- e) Administração de vacinas não incluídas no Plano Nacional de Vacinação;
- f) Programas de cuidados farmacêuticos;
- g) Campanhas de informação;
- h) Colaboração em programas de educação para a saúde. Portaria n.º 1429/2007, de 2 de Novembro.

Durante o período de estágio realizado na Farmácia São Cosme, sob supervisão do Dr. Carlos Tavares, foi possível vivenciar estes e tantos outros aspectos das funções da farmácia no cenário da saúde pública em Portugal, bem como as responsabilidades do farmacêutico como principal promotor destas funções.

Organização da Farmácia

Legislação Farmacêutica

A regulamentação e supervisão dos setores dos medicamentos, dispositivos médicos e produtos cosméticos e de higiene corporal, são de responsabilidade da Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I. P., abreviadamente designado por INFARMED, I. P.

O INFARMED, I.P. é um instituto público, com sede em Lisboa e jurisdição sobre todo o território nacional, integrado na administração indireta do Estado, dotado de autonomia administrativa, financeira e património próprio [2].

Localização e estrutura

A Farmácia São Cosme (FSC) está situada na Covilhã, na Alameda Europa, Lote 15 Fração D, 6200-546 e funciona sob direção técnica do Dr. Carlos Alberto Gama Tavares. Sua localização, em uma das principais avenidas da cidade, bem como proximidade ao principal centro comercial (o Serra Shopping), áreas residenciais, terminal rodoviário e ferroviário, faz com que o acesso à farmácia seja fácil e conveniente, de forma que os utentes não necessitam se deslocar de suas atividades cotidianas para aviar suas receitas ou obter qualquer outro tipo de serviço por ela fornecido.

A FSC funciona diariamente, em dias úteis das 9h às 19h30minh, sem interrupção para horário de almoço. Aos sábados o horário de funcionamento é reduzido, encerrando-se as atividades às 14h. Uma vez por semana a unidade encontra-se de serviço, sendo a única da cidade a estar aberta durante as 24 horas daquele dia. Desta forma, em caso de urgência os utentes de toda Covilhã, tem que recorrer a ela para serem realizados seus atendimentos.

Obedecendo aos requisitos [3] quanto a instalações e espaço físico, a FSC encontra-se perfeitamente instalada ao nível da rua, sem maiores obstáculos para o acesso dos utentes pela porta principal. Nesta porta também se encontra instalado um guarda-vento, para que os doentes que se encontram em atendimento ou à espera não estejam diretamente em contato com o exterior, oferecendo maior conforto. Também se encontram espalhadas poltronas para que o tempo de espera se torne mais agradável, possibilitando descanso dos utentes enquanto aguardam atendimento.

Externamente, a farmácia é dotada de um letreiro luminoso com a cruz verde (característica das farmácias), onde são disponibilizadas informações acerca dos serviços prestados naquela unidade, horário de funcionamento, além de informações úteis como hora e temperatura atual.

Tanto internamente como externamente, existe uma placa identificando o nome da farmácia, e do seu diretor técnico. O ambiente interno é limpo, ventilado e iluminado. É dotado de avisos que acusam a proibição de fumar no interior da farmácia.

Para garantir a confidencialidade no atendimento de cada utente, os balcões são separados por uma distancia de aproximadamente um metro. Em cada um desses balcões existe um computador, interligado ao sistema informático de gestão da farmácia, através do qual se realiza a maioria das operações referentes ao atendimento ao público e dispensação de medicamentos.

Espaço Físico

Área de atendimento ao público

Constitui o átrio principal da farmácia, onde os utentes são geralmente atendidos. Enquanto esperam, as pessoas têm ao seu dispor cadeiras para se sentar, armários com medicamentos não sujeitos a receita médica, cosméticos, produtos para bebês, suplementos alimentares, entre outros. Também encontra-se disponível um aparelho eletrônico que fornece aferição de pressão arterial, peso, altura e realiza o cálculo do Índice de Massa Corpórea e de gordura corporal. O utente pode aproveitar-se do tempo de espera para escolher livremente alguns desses produtos, ou aguardar pela orientação e ajuda de um atendente.

Sala de Procedimentos

Encontra-se anexa a área de atendimento ao público. No interior dessa sala encontram-se uma poltrona e uma cama para realização de procedimentos na farmácia, além de todo material descartável necessário para tais procedimentos.

Sala de Análises Clínicas

Neste segundo anexo, são realizadas as análises clínicas disponíveis na farmácia. Trata-se de uma sala privativa, com temperatura controlada (para que não se afete a calibração dos equipamentos responsáveis pelas análises), onde os utentes são atendidos individualmente.

Recepção de encomendas

No interior da farmácia, numa área não-acessível ao público, posterior à sala de espera, localiza-se a área destinada à recepção de encomendas. Neste setor da farmácia é onde ficam armazenado os medicamentos e outros produtos que não ficam expostos ao público. Também é nesta área que se realiza a gestão das encomendas, através de terminal informatizado, dotado de leitura ótica, uma impressora para código de barras e uma convencional. Também nesta área, encontra-se uma máquina fotocopadora, e um telefone e fax, para quaisquer contatos necessários com os armazenistas, laboratórios, clientes, médicos e etc.

Laboratório

Também existe um espaço dedicado à produção de manipulados e preparações extemporâneas. É um ambiente isolado, aonde as atividades requerem um cuidado especial quanto à assepsia, de forma que se evitem quaisquer tipos de contaminações nas preparações. No laboratório além de todo o material e equipamento necessário para a manipulação, também é possível encontrar uma série de documentos e literaturas científicas, bem como os procedimentos operacionais padrão para a execução das preparações disponíveis na farmácia. Isto visa garantir que as preparações tenham um padrão de qualidade a ser seguido e que as preparações sejam dispensadas de forma mais homogênea possível.

Estoque

Certas vezes existem produtos que são pedidos em quantidades superiores as que a farmácia tem comumente, de forma que acabam não tendo espaço disponível para todas as embalagens. Nestes casos, tais produtos são transportados para o piso superior da farmácia, que dispõe de um espaço mais amplo de prateleiras para arrumação e armazenamento deles.

Áreas destinadas aos funcionários

Além das áreas citadas supra, existe ainda um escritório dedicado ao diretor técnico da farmácia (onde podem ser encontrados mais uma série de literaturas técnicas e bibliografias para consulta em caso de necessidade), um vestiário com armários para os funcionários, bem como instalações sanitárias.

Quadro de pessoal

A Farmácia São Cosme é dotada de um quadro de funcionários composto da seguinte maneira:

Diretor Técnico: Dr. Carlos Alberto Gama Tavares

Farmacêuticas Adjuntas: Dra. Dulce e Dra. Alexandrina

Técnicos: Antônio Querido e Ilda

Além destas pessoas, durante o período em que estive a estagiar, tive a companhia de mais uma estagiária, com o a qual pude também trocar conhecimentos acerca das diferenças entre a realidade de um estudante de Ciências Farmacêuticas cá em Portugal e do Brasil.

Todos os colaboradores encontram-se devidamente identificados mediante o uso de um cartão em que é possível verificar o nome e o título da carteira profissional.

Conceitos importantes

Levando-se em consideração que o farmacêutico é um perito do medicamento, é essencial que seja capaz de diferenciar facilmente os principais termos utilizados para designar medicamentos e produtos farmacêuticos. Assim, inicialmente, foram reforçados conceitos importantes no exercício da função que seria desempenhada no período de estágio. A mim foram passadas as definições oficiais [4] de termos que seriam largamente vivenciados no estágio.

Fórmula magistral: todo o medicamento preparado numa farmácia ou serviço farmacêutico hospitalar, segundo uma receita médica e destino a um doente determinado.

Medicamento em geral: toda a substância ou associação de substância apresentada como possuindo propriedades curativas ou preventivas das doenças em seres humanos ou dos seus sintomas ou que possa ser utilizada ou administrada no ser humano com vista a estabelecer um diagnóstico médico ou, exercendo uma ação farmacológica, imunológica ou metabólica, a restaurar, corrigir ou modificar funções biológicas.

Medicamento genérico: medicamento com a mesma composição qualitativa e quantitativa em substâncias ativas, a mesma forma farmacêutica e cuja bioequivalência com o medicamento de referência haja sido demonstrada por estudos de biodisponibilidade apropriados.

Psicotrópico e estupefaciente: substâncias que atuam diretamente no Sistema Nervoso Central (SNC) podendo ter ação depressora ou estimulante e como tal trazer benefícios terapêuticos em diversas patologias. Uma vez que podem induzir habituação e dependência, estão associadas a atos ilícitos (tráfico e consumo de drogas) e como tal estão sujeitas a um maior controlo por parte das autoridades competentes existindo uma legislação específica que regulamenta este tipo de substâncias, sendo autorizada a sua dispensa pelo farmacêutico apenas mediante apresentação de receita médica.

Substância ativa: toda a matéria de origem humana, animal, vegetal ou química, à qual se atribui uma atividade apropriada para constituir um medicamento.

Reação adversa: qualquer reação nociva e involuntária a um medicamento que ocorra com doses geralmente utilizadas no ser humano para profilaxia, diagnóstico ou tratamento de doenças ou recuperação, correção ou modificação de funções fisiológicas.

Sistema Informático

Todos os computadores da farmácia são interligados ao sistema Sifarma 2000 da Agência Nacional de Farmácias. Este software está diretamente ligado a quase todas as operações

executadas na farmácia. Desde a recepção dos produtos até o aviamento das receitas, passando pela gestão de stocks, lotes de faturação das participações, realização e recepção de encomendas, entre outras funções. O programa também possibilita a criação de fichas individuais aos utentes, de forma que possam ser acompanhadas as movimentações por eles realizadas na compra de medicamentos, bem como atribuído crédito a clientes antigos.

Além das funções administrativas, o programa permite aceder a consultas sobre cada medicamento, trazendo informações relevantes como: composição, medicamentos que compõe um grupo homogêneo, excipientes, indicações e contra-indicações, posologia, precauções a serem tomadas, e interações medicamentosas.

Fontes de Informação

Para que seja prestado um atendimento de qualidade, é necessário que o pessoal da farmácia esteja completamente bem informado. Para isso, além das informações prestadas pelo sistema informático, a FSC dispõe de outros recursos aos quais se podem recorrer sempre que necessário.

De acordo com o Manual de Boas Práticas Farmacêuticas para Farmácia Comunitária [3], elaborado pela Ordem dos Farmacêuticos, são de presença obrigatória na farmácia, para consulta, o Prontuário Terapêutico e o Resumo das Características dos Medicamentos.

Além desses volumes, a FSC dispõe de outros meios de consulta, como Formulários Terapêuticos, diferentes Farmacopéias, além da internet, que não pode ser descartada como um rico meio informativo. Também é importante destacar a existência de centros documentacionais, como o CEFAR (Centro de Estudos de Farmacoepidemiologia) e o CEDIME (Centro de Documentação e Informação do Medicamento), que realizam estudos e prestam informação a respeito da ciência do medicamento.

Durante o período de estágio, também foram realizadas formações de curta-duração, proporcionadas por alguns laboratórios com o intuito de promover e esclarecer quaisquer dúvidas em relação a sua linha de produtos.

Medicamentos

Na Farmácia São Cosme, além dos medicamentos propriamente ditos também se comercializa outros produtos farmacêuticos. O termo “produto farmacêutico” é utilizado para definir as seguintes categorias:

- Especialidades farmacêuticas;
- Manipulados e produtos utilizados na sua preparação;

- Produtos de cosmética;
- Produtos de Higiene Pessoal;
- Produtos dietéticos;
- e Produtos de uso veterinário.

Levando em consideração a necessidade da comunidade atendida pela unidade, bem como critérios de viabilidade econômica, é realizada a gestão de stocks dos produtos comercializados pela farmácia. São definidos níveis de stock máximos e mínimos, considerando o histórico de vendas do produto. Ao stock mínimo ser atingido, é gerada o automaticamente um pedido do produto em questão de modo que o stock desejável seja atingido. Duas vezes por dia, os pedidos referentes aos produtos que atingiram níveis de stock mínimo são agregados, e encaminhados em uma encomenda diária.

As encomendas podem ser feitas diariamente, a armazéns previamente selecionados, levando-se em conta preços, logística de entrega, prazos de pagamento, etc. Também eventualmente são realizadas encomendas diretamente aos laboratórios, o que normalmente é feito em grandes quantidades do produto, gerando descontos e bônus para a farmácia.

Ocasionalmente, um utente pode necessitar de um produto que não esteja disponível nos stocks da farmácia, entretanto, disponível em um dos armazéns que a abastece. Nestes casos, os armazéns são consultados via telefone, e constatando-se a existência do produto nos armazéns, é gerada uma encomenda extra, que é incorporada à próxima entrega de pedidos realizada por este armazém. Ao serem geradas, as encomendas deixam um registro informático, constando os produtos encomendados, suas quantidades, data, operadoras responsáveis pela encomenda, entre outras informações que podem ser úteis futuramente, se necessário uma conferência de stocks.

Recepção das encomendas

Antes de serem disponibilizados para a comercialização regular, os produtos adquiridos passam pelo processo denominado Recepção das Encomendas. Nele seram inseridos no sistema informações acerca das novas unidades que acabaram de chegar

No ato da entrega, o armazenista envia juntamente com a encomenda uma fatura, na qual constam todos os produtos que estão sendo entregues, bem como ficam apontados os que estavam na encomenda, porém não disponíveis no armazém.

Com auxílio desta fatura, e por meio de leitura óptica dos códigos de barras, os produtos são um a um inseridos no sistema. Nesta altura são observadas as unidades de novas embalagens,

o preço e o seu prazo de validade. No caso do preço das novas unidades serem diferentes do preço das unidades anteriores, deve ser feito o reajuste dos preços de venda ao consumidor, para que tal diferença não acarrete prejuízo aos utentes, nem a farmácia.

Na ocasião também confere-se a relação entre o prazo de validade que consta no sistema, e o prazo de validade dos produtos que acabaram de chegar. Sempre que o stock atual, antes de ser dada entrada nos novos produtos, for 'zero', deve-se inserir no sistema o prazo de validade das novas embalagens. No caso de existir outras embalagens em stock, somente altera-se o prazo de validade no sistema for superior ao que consta nas novas embalagens.

É preciso prestar atenção especial aos produtos que devem ser conservados a frio. Estes devem ser sempre os primeiros a serem recepcionados e armazenados. Em casos especiais, nos quais não seja possível executar a receção e armazenamento imediato desses produtos, deve ser retirar-os das caixas térmicas do armazenista, e coloca-los no frigorífico até que seja possível dar entrada dessa encomenda no sistema.

Ao final do processo de receção, o sistema emite uma guia constante a relação de todos os produtos que foram inseridos no stock, data, operador responsável pela receção, horário, etc.

Armazenamento

Após a etapa de receção, os produtos, de acordo com critérios previamente estabelecidos pela gerencia da farmácia, são organizados em seus devidos locais de armazenamento. Tais critérios levam em consideração aspectos como características físico-químicas, para que o armazenamento não altere sua estabilidade. Além disso, também se organizam os produtos de forma a garantir acesso mais fácil àqueles mais solicitados, tornando o processo de dispensação mais rápido e eficiente. Nas prateleiras e gavetas os produtos são organizados obedecendo à regra "First Expired, First Out", que estabelece a saída preferencial dos que se encontram mais próximos da sua data de expiração.

Na Farmácia São Cosme, os parâmetros de temperatura e humidade são controlados através de aparelhos higrômetros, situados nas prateleiras, estoque e frigorífico. Os dados registrados podem ser analisados através da ligação destes dispositivos através de entrada USB a um computador.

Nas prateleiras que se encontram na sala de espera os produtos são organizados inicialmente de acordo com a gama à qual pertencem (cosméticos, produtos de higiene pessoal, medicamentos não-sujeitos a receita médica, produtos infantis, descartáveis, entre outros). Em cada prateleira, os produtos são organizados seguindo em primeiro lugar o fabricante, e depois a ordem alfabética de seus nomes.

No estoque interno, os produtos são divididos em gavetas (comprimidos, carteiras, semi-sólidos) e em basculhantes (formas líquidas, pós, produtos para diabéticos, pensos). Também é obedecido o critério de ordem alfabética na arrumação de produtos da mesma classe. Para os medicamentos e produtos termosensíveis, existe no estoque um frigorífico (com temperatura entre 2 - 8°C).

Controle dos prazos de validade

Mensalmente, é impressa uma lista na qual constam os produtos do stock que de apresentam data de expiração nos próximos sessenta dias. Estes produtos deverão ser recolhidos pelo pessoal da gestão de stocks e posteriormente aberto o processo de devolução ao fornecedor. Para isso é expedida uma “nota de devolução”, que deverá ser encaminhada ao fornecedor juntamente com as embalagens com o prazo a expirar. Dependendo do fornecedor, o produto pode ser substituído por uma nova unidade, ou realizada devolução na forma de crédito numa fatura posterior.

Aspectos Básicos da Interação Farmacêutico- Utente-Medicamento

O artigo 80º do Estatuto da Ordem dos Farmacêuticos diz que: “O farmacêutico é um agente de saúde, cumprindo-lhe executar todas as tarefas que ao medicamento concernem, todas as que respeitam às análises clínicas ou análises de outra natureza de idêntico modo susceptíveis de contribuir para a salvaguarda da saúde pública e todas as ações de educação dirigidas à comunidade no âmbito da promoção da saúde” [5].

Levando-se em conta que a farmácia na maioria dos casos é o último ponto de contato entre o público e o sistema de saúde, é crucial a importância do farmacêutico no que diz respeito à devida orientação no uso racional dos medicamentos, assegurar-se que o medicamento dispensado seja o que melhor satisfaz as relações custo-benefício e benefício-risco, bem como a sua colaboração com os demais profissionais de saúde para a promoção do bem-estar do utente.

Desta forma, na Farmácia São Cosme, toda a equipe está devidamente orientada para se comportar de forma que contribua com o exercício do papel pedagógico da farmácia comunitária. Tal papel se dá, majoritariamente, pelo ato da informação prestada aos utentes durante o atendimento nos balcões. Durante o processo de dispensa do medicamento, são reforçadas informações como efeitos esperados, modo de toma, dosagem, efeitos adversos.

Além da informação oral, sempre que necessário, pode ser também confeccionado um documento escrito no qual conste tais orientações, numa linguagem coesa e de fácil compreensão para o paciente.

Esta simples ação pode ter efeito definitivo na adesão do paciente ao tratamento indicado pelo médico e, conseqüentemente, o sucesso do tratamento, refletindo no reestabelecimento do seu estado saudável, ou bem-estar dos doentes crônicos.

Cedência e Indicação Farmacêutica

Entre os vários papéis que o farmacêutico desempenha na farmácia comunitária, é inegável que se encontra com maior evidência e importância é o da dispensação de medicamentos. É neste ponto que o profissional farmacêutico figura como fator de grande influência no cenário do sistema de saúde pública.

A cedência de medicamentos é oficialmente definida como: “o ato profissional em que o farmacêutico, após avaliação da medicação, cede medicamentos ou substâncias medicamentosas aos doentes mediante prescrição médica ou em regime de automedicação ou indicação farmacêutica, acompanhada de toda a informação indispensável para o correto uso dos medicamentos. Na cedência de medicamentos o farmacêutico avalia a medicação dispensada, com o objectivo de identificar e resolver problemas relacionados com os medicamentos (PRM), protegendo o doente de possíveis resultados negativos associados à medicação” [5]. No processo de cedência de medicamentos o farmacêutico tem a oportunidade de servir a população, dentro do sistema nacional de saúde, ao aplicar sua gama de conhecimentos obtidos em sua formação, bem como vida profissional, enquanto especialista em medicamento.

Na FSC, durante a cedência de medicamentos está sempre a nossa disposição o sistema informático o qual pode servir como fonte de consulta para quaisquer dúvidas em relação aos medicamentos solicitados pelo utente, como composição, posologia, indicações, contra-indicações, efeitos adversos e interações com outros fármacos. Isto contribui para que ao solicitar um medicamento, o cliente, sempre que se fizer necessário, possa ser devidamente instruído sobre fatores determinantes para que a terapia seja eficaz.

Medicamentos sujeitos a receita médica

Na Farmácia São Cosme, o protocolo-padrão estabelecido para a dispensação de medicamentos sujeitos a receita médica segue os seguintes passos:

1. Verificação da Receita (por padrão, informatizada): Conferem-se os dados pessoais do utente e do médico, verifica-se a validade da receita, vinheta, assinatura do médico.
2. Verifica-se no sistema se existem os medicamentos solicitados, na mesma dosagem, forma farmacêutica e número de unidades. No caso, de haver genéricos, convém informar ao utente a existência de tal opção, explicando-o que se trata da mesma substância, desempenhando a mesma função, entretanto por um preço mais acessível na maioria das vezes [4].

3. Após o registro do medicamento no sistema, aplica-se, se for o caso, a comparticipação de acordo com o organismo expresso na receita médica. Dependendo de qual entidade se tratar, pode ser necessária a inserção de alguns dados como número de beneficiário, data de validade, código de barras do cartão de beneficiário.
4. No verso da via da receita que fica retida na farmácia, é impresso pelo sistema o documento de faturação referentes a comparticipação dos medicamentos e produtos adquiridos. É solicitado ao utente que assine a receita, comprovando que realmente adquiriu os medicamentos acima descritos e obteve as informações necessárias.
5. Em alguns casos a receita tem que ser fotocopiada, para que cada uma das vias seja enviada para uma diferente entidade.
6. Finalização do atendimento com prestações de informações que possam ser úteis a garantir a toma correta dos medicamentos, bem como o pagamento dos produtos.

Para que uma receita seja considerada válida e apta para ser aviada, existe a instrução para que o colaborador responsável pelo atendimento esteja atento aos seguintes aspectos:

- O número da receita, a sua forma em código de barras;
- Data de validade;
- Local da prescrição, acompanhado de seu código de barras, exceto para os casos de consultórios privados, os quais estão isentos da obrigatoriedade de código de barras;
- Nome, telefone, especialidade médica, numero da cédula profissional e código de barras do médico responsável pela prescrição;
- Nome e número de utente;
- Se a receita for informática o número de utente e o número de beneficiário deverão estar impressos também em forma de código de barras para leitura óptica;
- Entidade e regime de comparticipação da receita;
- Denominação comum internacional ou nome genérico dos medicamentos prescritos, dosagem indicada, forma farmacêutica e número de unidades.

Apesar do padrão de receitas informatizado estabelecido, existem casos excepcionais, nos quais é aplicável o uso de receitas manuais [6] . São esses: inadaptação comprovada, falência do sistema electrónico, volume de receitas inferior a 50 por mês e prescrição domiciliar. É importante destacar que nos casos de receita manual, tem que se zelar pela legibilidade da letra com a qual a receita foi prescrita, de modo que não sejam dispensados medicamentos

nos casos da receita estar inelegível, a fim de minimizar a possibilidade de erro na cedência daquele produto.

No caso de uma receita ser considerada inválida, seja por expiração da validade, ou por não-atendimento dos fatores acima descritos, deve-se buscar uma alternativa para resolver o problema, de forma que nem a farmácia, nem o utente, no âmbito do seu tratamento farmacológico, sejam prejudicados.

Medicamentos não sujeitos a receita médica

Tanto nas farmácias, como em outros estabelecimentos (Supermercados e parafarmácias, por exemplo), podem ser comercializados medicamentos destinados a tratamentos de sintomas simples, que primariamente não necessitam de avaliação de um médico. Esta categoria de produtos é denominada “Medicamentos não-sujeitos à receita médica”, ou MNSRM.

Embora os MNSRM sejam, geralmente, produtos que oferecem baixo índice de toxicidade, reações adversas e interações medicamentosas, não deixa de ser importante atenção para o fato de, apesar de tais características, seu consumo indiscriminado podem mascarar sintomas importantes de outras patologias, ou até mesmo acarretar maiores danos à saúde.

Neste âmbito se torna indispensável o aconselhamento farmacêutico no momento da compra dos medicamentos utilizados na automedicação, sendo do farmacêutico a decisão final sobre a dispensação ou não da medicação.

Psicotrópicos e estupefacientes

Por se tratar de substâncias que, apesar de seus efeitos terapêuticos eficientes, podem induzir dependência e habituação, psicotrópicos e estupefacientes estão sujeitos à legislação específica, que define seus parâmetros de consumo e comercialização [7].

A dispensação destes medicamentos tem alguns aspectos que os diferenciam dos demais. Entre estes aspectos está a necessidade de uma receita médica especial, bem como a validade máxima de 10 dias desta receita e o seu arquivamento obrigatório por prazo fixado por decreto regulamentado [7].

O sistema informático utilizado na Farmácia São Cosme, Sifarma 2000, ao averiguar que o medicamento a ser dispensado é um psicotrópico ou estupefaciente imediatamente solicita a inserção de alguns dados referente à dispensação. No processo de venda, é automaticamente adicionada uma etapa na qual se faz necessário o preenchimento de um formulário eletrônico no qual se registram informações acerca do doente, do médico prescritor, do utente tem a receita aviada e da receita. Ao final do processo de venda, além da nota fiscal, como é de costume, um talão especial de registro de medicação de uso controlado.

Regularmente, deve ser enviado para o INFARMED um registro de entradas e saídas de psicotrópicos e estupefacientes, para o controle, visto que este é o órgão responsável pelo controle periódico destes produtos em Portugal.

Preparações extemporâneas

Alguns medicamentos, devido a instabilidade da sua formulação final, são vendidos na forma de pós para suspensões. Nestes casos, no momento da dispensação é realizada a reconstituição da formulação, adicionando-se a embalagem a quantidade de água purificada definida pelo fabricante. O utente, no final do processo de cedência deve ser informado da instabilidade daquele produto, sendo orientado em relação ao tempo máximo de consumo daquele conteúdo, correta conservação do medicamento (que habitualmente deve ser armazenado no frigorífico para estender a estabilidade), agitação do conteúdo da embalagem a fim de garantir a uniformidade da dose da suspensão.

Dispensa de outros produtos relacionados à saúde

Além dos produtos definidos oficialmente como medicamentos, na farmácia existe uma vasta gama de outros produtos à venda, acerca dos quais constantemente são solicitadas informações e indicações. Desta forma se faz necessário que o farmacêutico de oficina, além dos subentendidos conhecimentos sobre os medicamentos propriamente ditos, obtenha o mínimo de informação necessária para o devido aconselhamento no uso destes produtos.

Dermocosméticos

Os dermocosméticos são uma categoria de produtos que tem adquirido bastante importância na farmácia de oficina, visto que é cada vez maior a procura dos utentes por eles, bem como também é crescente a variabilidade de marcas e subtipos.

Define-se produto cosmético como qualquer substância ou preparação destinada a ser posta em contato com as diversas partes superficiais do corpo humano, designadamente epiderme, sistemas piloso e capilar, unhas, lábios e órgãos genitais externos, ou com os dentes e as mucosas bucais, com a finalidade de, exclusiva ou principalmente, os limpar, perfumar, modificar o seu aspeto, proteger, manter em bom estado ou de corrigir os odores corporais [8]. Sendo assim, são abrangidos por esta categoria: produtos para a pele do rosto e corpo, protetores solares, dentríficos, maquiagens e produtos para limpeza e tratamento dos cabelos.

Uma vez que, além do evidente uso estético que a palavra “cosmético” por si só implica, eles podem ser aplicados em para tratar ou atenuar alguns sintomas simples, é importante que o farmacêutico seja capacitado para informar aos utentes os principais usos e diferenças

básicas entre os produtos que compõem esta categoria, bem como seu correto modo de aplicação, contraindicações e possibilidade de interações.

Produto Dietético

“Todo o produto de natureza alimentar que possuindo valor nutritivo exclusivo ou predominante, se distingue dos géneros alimentícios correntes pela sua composição particular e pelas modificações de ordem física, química ou biológica ou de outras resultantes do seu processo de fabrico, e se destina a completar ou substituir parcialmente os alimentos habituais ou a satisfazer necessidades nutritivas de pessoas em que o processo normal de assimilação ou metabolismo estejam perturbados” é definido pelo Decreto-Lei nº 227/99, de 22 de Junho como Produto Dietético para alimentação especial [9].

Estes produtos são destinados a pessoas com deficiência no processo de metabolismo, com necessidades fisiológicas especiais ou lactentes e crianças de pouca idade.

Além dos produtos dietéticos, também existem na farmácia uma série extensa de farinhas e leites especiais para a alimentação dos bebês e crianças pequenas, devendo o farmacêutico ser capaz de diferenciar as indicações de cada produto alimentício, bem como aconselhar o uso de algum deles caso seja necessário.

Fitoterápicos e suplementos alimentares

Embora a população, sobre tudo os utentes mais velhos, tenham em mente a idéia que de o que é dito “natural” como infusões, chás, elixires de plantas medicinais, não vem a trazer nenhum prejuízo à saúde, é sabido o risco que o consumo indiscriminado destes produtos pode causar sérios danos ao organismo.

Sabendo isso, o farmacêutico tem que estar apto a aconselhar corretamente os utentes na aquisição e consumo dos produtos chamados Fitoterápicos. Na farmácia é comum serem solicitados produtos como chás Moreno, Arkocápsulas, ampolas, géis, cremes, entre outros fitoterápicos que apesar de terem origem natural, e serem geralmente eficientes para o efeito ao qual se propõe, podem causar uma série de reações adversas ou efeitos colaterais.

Outra classe de produtos bastante solicitada durante meu estágio, fora os suplementos alimentares como Centrum, Stresstabs, Selenium. Estas cápsulas são geralmente utilizadas para ajudar com problemas como fadiga, falta de memória, déficit de atenção e reposição.

Dispositivos Médicos

Durante o período de estágio na Farmácia São Cosme, foi possível observar também, a cedência de outra classe de produtos que, embora não apresentasse diretamente uma

atividade farmacológica, tinham papel importante nas atividades de tratamento e diagnóstico, por exemplo. Tratam-se dos Dispositivos Médicos.

Definidos por lei [10] como “qualquer instrumento, aparelho, equipamento, material ou artigo utilizado isoladamente ou combinado, incluindo os suportes lógicos necessários para o seu bom funcionamento, cujo principal efeito pretendido no corpo humano não seja alcançado por meios farmacológicos, imunológicos ou metabólicos, embora a sua função possa ser apoiada por esses meios e seja destinado pelo fabricante a ser utilizado em seres humanos para fins de diagnóstico, prevenção, controlo, tratamento ou atenuação de uma doença, de uma lesão ou de uma deficiência, estudo, substituição ou alteração da anatomia ou de um processo fisiológico e controlo da contraceção”, os dispositivos médicos são distribuídos nas classes I, IIa, IIb e III, de acordo com a sua ordem crescente de risco na utilização.

Durante o estágio, foram cedidos dispositivos médicos como: sacos coletores de urina, fraldas, meias de compressão, seringas, pensos com e sem medicamentos impregnados, preservativos, lancetas, soluções desinfetantes e agulhas para as seringas.

Medicamentos de Uso Veterinário

Embora não seja tão frequente, nas farmácias de oficina também é realizada cedência de medicamentos de uso veterinário (MUV). Por se tratar de uma farmácia localizada numa região urbana, a Farmácia São Cosme dispensa MUV's geralmente para animais de companhia (Cães, Gatos). Os principais medicamentos dispensados para estes animais são desparasitantes, anticoncepcionais, produtos profiláticos e para o tratamento de doenças animais.

Apesar de existirem receitas de médicos veterinários padronizadas, o farmacêutico também pode atuar indicando alguns produtos de acordo com os sintomas apresentados pelo animal e relatados pelo cliente.

Sistema de participação

De acordo com seu texto introdutório, o diploma n.º 48-A/2010, de 13 de Maio [11], que estabelece as normas dos regimes de participação nos medicamentos, tem três principais objetivos, sendo estes:

1. Melhorar o acesso ao medicamento a quem dele necessita, em especial às pessoas com menos recursos económicos;
2. Tornar o sistema de participações do Estado mais racional e eficiente, de modo a podermos garantir estes benefícios para o cidadão, no presente e para o futuro;
3. Promover a generalização da utilização do medicamento genérico, dada a sua comprovada qualidade e óbvio benefício para o cidadão [11].

Sendo assim, estas resoluções tem caráter fundamental para continuar garantindo um Sistema Nacional de Saúde universal e eficiente.

No aspecto prático, o sistema de comparticipações é um conjunto de normas que fixa uma percentagem em cima do valor do medicamento, a qual o estado se responsabiliza pelo pagamento, diminuindo o preço cobrado ao consumidor [11].

Em linhas gerais, de acordo com uma lista pré-estabelecida, os medicamentos são organizados por escalões. Dependendo do escalão no qual se enquadra, ele pode ter comparticipação do Estado sob seu preço que varia de 15 a 90%. Pensionistas cujo rendimento total anual não seja maior 14 vezes a contribuição mínima mensal garantida, fazem parte de um grupo chamado “Pensionistas em regime especial”, tendo um aumento na comparticipação do Estado nos medicamentos.

Além disso, existem casos como os de patologias crônicas e outros grupos especiais de utentes que seguem a despachos próprios, e tem percentagens de comparticipação diferentes.

Apesar de ser o Sistema Nacional de Saúde o principal organismo responsável pelo sistema de comparticipação, também existem outros que dele participam como a Direção Geral de Proteção Social aos Funcionários e Agentes da Administração Pública (ADSE), a Caixa Geral de Depósitos, Savida, entre outros.

Outros Serviços de Saúde

Além das atividades relacionadas ao medicamento e outros produtos correlatos, a farmácia também exerce papel importante ao disponibilizar aos utentes uma série de outros serviços relacionados à saúde.

Embora os parâmetros medidos nas aferições e exames bioquímicos da farmácia não tenham valor definitivamente diagnóstico, estes tem importante valor dentro do processo de prestação de serviço da farmácia comunitária.

Uma vez constatadas alterações nos parâmetros avaliados, o farmacêutico pode alertar o utente, aconselhando-o a procurar um médico para melhor avaliar aquela alteração, investigando e tratando sua causa devidamente.

Durante o período de estágio, foi possível acompanhar a realização de alguns destes procedimentos.

Parâmetros Antropométricos e Pressão Arterial

Na sala de espera da farmácia encontra-se uma máquina eletrônica destinada a medir os parâmetros antropométricos e a pressão arterial do utente. Para a medição de peso e

altura do utente, é solicitado que suba na balança e permaneça com a postura direita por alguns segundos. Após este tempo, é solicitado para que o utente insira o braço esquerdo no local adequado para que seja aferida a sua pressão arterial. Ao final da medição, se desejar o utente também pode ter seu índice de gordura corporal medido.

Terminado o processo, o sistema avisa o utente que já pode descer do equipamento, e emite um cupom com os dados aferidos e os padrões para cada parâmetro.

Os valores-padrão e suas classificações encontram-se expressos nas tabelas abaixo:

Tabela 1.1 - Valores Referência de Pressão Arterial [13]

Classificação	Pressão (em mmHg)	
	Sistólica	Diastólica
Ótima	< 120	< 80
Normal	120 - 129	80 - 84
Normal Alta	130 - 139	85 - 89
Hipertensão Grau I	140 - 159	90 - 99
Hipertensão Grau II	160 - 179	100 - 109
Hipertensão Grau III	≥ 180	≥ 110
Hip. Sistólica Isolada	≥ 140	< 90

Tabela 1.2 - Valores Referência para IMC [14]

IMC	Classificação
< 18,5	Abaixo do peso
18,6 - 24,9	Saudável
25 - 29,9	Sobrepeso
30 - 34,9	Obesidade Grau I
35 - 39,9	Obesidade Severa (Grau II)
≥ 40	Obesidade Mórbida (Grau III)

Glicemia

A medição da glicemia é realizada num procedimento simples. É feita a coleta de uma pequena quantidade de sangue do paciente, a partir de um furo realizado com uma lanceta estéril. O sangue coletado é inserido através de uma fita na máquina que realiza a medição. O resultado é mostrado em um visor digital.

É importante observar se a pessoa que se submete ao exame está em jejum ou se ingeriu alimentos pouco tempo atrás, uma vez que no período pós-branchial os níveis de glicose no sangue certamente estarão mais altos.

Os valores adotados como referência para a glicemia são:

Tabela 1.3 - Valores referência da glicemia [14]

Jejum (mg/dL)	Pós-brandial (mg/dL)	Classificação
70-109	< 140	Normal
≥ 126	≥ 200	Diabetes

Colesterol total e triglicerídeos

De semelhante modo ao que acontece no exame de medição da glicemia, os exames de colesterol total e triglicerídeos se dão através do recolhimento de sangue por um capilar após uma picada no dedo. Para estes, é indispensável o estado de jejum do paciente. Para o colesterol total, têm-se como valor de referência 190 mg de colesterol por decilitro de sangue. Para triglicerídeos, adota-se o valor padrão de 150 mg/dL.

Quando os valores aferidos se encontram superiores aos padrões, aconselha-se a visita a um médico, geralmente cardiologista, visto que o acúmulo excessivo destas substâncias pode gerar uma série de problemas cardiovasculares.

Medicamentos manipulados

Para atender a necessidade de formulações especiais, não atendidas pela indústria farmacêutica, as farmácias de oficina podem ser dotadas de laboratório para manipulação de medicamentos, sob responsabilidade do farmacêutico. [10]

Para as atividades de preparação, rotulagem, acondicionamento e controle dos medicamentos manipulados, no laboratório são obrigatórios uma lista de equipamentos [12]:

- Matrizes;
- Alcoómetro;
- Papel de filtro;
- Almofarizes de vidro e porcelana;
- Papel indicador de pH universal;
- Balança de precisão sensível ao mg;
- Pedra para a preparação de pomadas;
- Banho de água com temperatura controlada;
- Pipetas graduadas;
- Cápsulas de porcelana;
- Provetas graduadas;
- Copos;
- Tamises FVII, com abertura de malha 180mcm e 355mcm (com fundo e tampa);

- Espátulas metálicas e não metálicas;
- Termómetros (escala mínima até 100°C);
- Funis de vidro;
- Vidros de relógio.

Além desses equipamentos, é obrigatória a presença de literatura técnica a respeito da manipulação dos medicamentos, como a Farmacopéia Portuguesa e o Formulário Galênico Português. Além dessa literatura, a Farmácia São Cosme dispõe de literatura de apoio e documentação suporte na qual consta informações importantes à manipulação, desde os lotes preparados e seus modos de preparação, até o cálculo do seu preço a ser repassado ao utente.

Ao farmacêutico é importante observar a procedência e o estado de conservação das matérias-primas, visando garantir a qualidade do produto final.

O Sistema Nacional de Saúde efetua participações de 50% em medicamentos manipulados, desde que estes estejam incluídos na Farmacopeia Portuguesa, no Formulário Galênico Nacional ou na lista de medicamentos manipulados sujeitos a participação.

Durante o período do estágio não tive oportunidade de realizar manipulação de medicamentos, apenas observei o que esteve sendo feito por um dos farmacêuticos.

Conclusão

A realização do estágio em farmácia comunitária é de grande valia para a formação do profissional farmacêutico.

Durante o período de estágio pude aplicar grande parte do aprendizado obtido durante o período de estudos na universidade, bem como adquirir na prática uma série de outros ensinamentos.

Além disso, fui capaz de ter a percepção real do papel do farmacêutico e de sua importância na composição do Sistema Nacional de Saúde, bem como perceber a situação real dos profissionais da área.

Profissionalmente, obtive uma importante experiência no que diz respeito ao aconselhamento farmacêutico. No cotidiano na Farmácia São Cosme, com supervisão do meu orientador, aprendi a desenvolver o senso crítico que todo farmacêutico precisa ter para realizar aconselhamento, indicações e, sobretudo, atender bem o utente.

Adicionalmente, através de outros colegas, também estagiários da UBI, pude ter uma noção de como funciona o sistema educacional português, desde o ensino básico até o superior.

Finalmente, foi possível traçar um paralelo entre a realidade do farmacêutico em Portugal com o farmacêutico no Brasil, vendo os pontos fortes e fragilidade do SNS e do SUS, seu equivalente brasileiro.

Bibliografia

- [1] ASSOCIAÇÃO NACIONAL DAS FARMÁCIAS (ANF)INFARMED) - As Farmácias Portuguesas. [Consult. 20 Maio 2013]. Disponível em WWW. URL: <http://www.anf.pt/index.php?option=com_content&task=blogcategory&id=107&Itemid=107>
- [2]AUTORIDADE NACIONAL DO MEDICAMENTO E PRODUTOS DE SAÚDE (INFARMED) - Sobre o INFARMED - Apresentação. Lisboa: INFARMED. [Consult. 20 Maio 2013]. Disponível em WWW. <URL: http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/SOBRE_O_INFARMED/APRESENTACAO>;
- [3] Farmacêuticos,O., Boas Práticas Farmacêuticas para a Farmácia Comunitária, Conselho Nacional de Qualidade, 3ª Edição, 2009;
- [4] NFARMED G.J.e.C.d., Portaria n.º 176/2006 de 30 de Agosto, na Legislação Farmacêutica Compilado, 2004;
- [5] Saúde, M., Decreto-Lei n.º 288/2001, Estatuto da Ordem dos Farmacêuticos, Novembro de 2001;
- [6] República, A. d., Portaria n.º 198/2011, no Diário da república, 2011;
- [7] República A. d., Decreto de Lei n.º 15/93 de 22 de Janeiro, no Diário da República, 1993;
- [8] República A.d., Decreto de Lei nº 189/2008 de 24 de Setembro, no Diário da República, 2008;
- [9] República A.d., Decreto de Lei nº 277/199 de 22 de Junho, no Diário da República, 2008;
- [10] República A.d., Decreto de Lei n.º 145/2009 de 17 de Junho, no, Diário da República, 2009;
- [11] República, A.d., Decreto de Lei. nº 48-A/2010, de 13 de Maio, no Diário da República, 2010;
- [12] INFARMED G.J.e.C.d., Portaria n.º 594/2004 de 2 de Junho, na Legislação Farmacêutica Compilado, 2004;
- [13] European Society of Hypertension (ESH) and the European Society of Cardiology (ESC). Guidelines for the management of arterial Hypertension, European Heart Journal, 2007. (28): 1462-1536

[14] Wells, B.G. and DiPiro J.P., Pharmacotherapy Handbook. 7th Edition, 2008. New York. McGraw Hill Inc.

Capítulo 2 - Investigação: “Reações de adição conjugada em esteróides - aplicação à preparação de potenciais agentes quimioterápicos”

Introdução

Esteróides

Os esteróides formam uma classe de compostos de grande importância para a área de estudo da saúde em geral. Isto dá-se pelo fato destes compostos apresentarem uma extensa ação fisiológica e farmacológica, além de terem papel definido em muitas patologias. Na natureza estão espalhados tanto entre os animais quanto entre os vegetais, podendo ser extraídos e servir como ponto de partida para o estudo da produção de novas moléculas bioativas, o que tem chamado grande atenção da química orgânica e medicinal.

Características estruturais gerais

Entre si, todos os esteróides têm em comum na sua estrutura base um conjunto de quatro anéis somando-se 17 carbonos ao total, que se nomeia ciclopentanoperhidrofenantreno (Figura 1). A diferenciação entre as hormonas esteróides, seus precursores e metabolitos, dá-se pelo número e tipo de grupos substituintes e pelo número e localização de duplas ligações, além da sua estereoquímica.

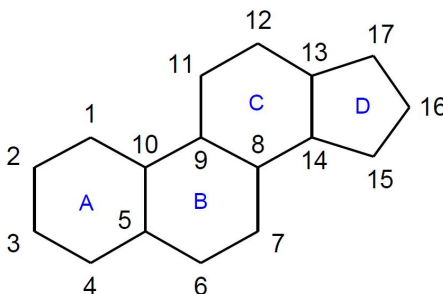


Figura 1 - Estrutura do núcleo esteroidal

A existência de carbonos quirais no esqueleto da molécula caracteriza a existência de estereoisomeria nas posições 5, 8, 9, 10, 13 e 14. Nestes casos adota-se a nomenclatura de β para as substituições acima do plano da molécula (definido pelos dois grupos metilo angulares), representando-as através de linhas contínuas. Quando abaixo do plano, as substituições são denominadas α , sendo representadas graficamente através de linhas tracejadas [1].

Aspectos fisiológicos

Os esteróides são moléculas que formam uma classe de hormonas e fármacos, podendo ser classificados como:

- Glicocorticóides. Ex: cortisol, cortisona, dexametasona, budesonido, beclametasona, prednisona.
- Mineralocorticóides. Ex: aldosterona, fludrocortisona.
- Androgénios. Ex: testosterona, dihidrotestosterona, desidroepiandrosterona.
- Estrogénios: Ex: estrona, estradiol, estriol.
- Progestagénios: pregnelonona, progesterona.

Os esteróides endógenos hormonais são derivados do colesterol (Figura 2) e são secretados em pequenas quantidades na corrente sanguínea, levando a uma resposta fisiológica nos tecidos-alvo, sendo considerados mensageiros químicos. Os esteróides endógenos, além das hormonas do córtex supra-renal e das hormonas sexuais, podem separar-se ainda em derivados da vitamina D e em ácidos biliares [2].

Os esteróides têm atividades fisiológicas como, entre outras, a regulação do equilíbrio hidroeletrólítico (mineralocorticoides), atividade anti-inflamatória, regulação do metabolismo de hidratos de carbono e de proteínas (glicocorticoides), diferenciação sexual e regulação reprodutiva.

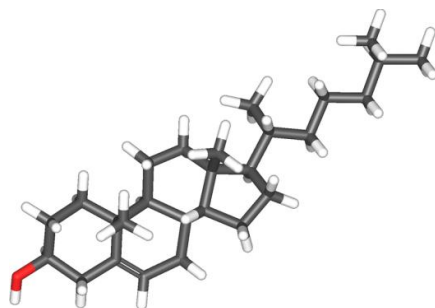


Figura 2 - Estrutura tridimensional do Colesterol, precursor dos esteróides

O processo de biossíntese das hormonas faz-se pela conversão do colesterol nos principais órgãos endócrinos esteroideogénicos, sendo estes as glândulas supra-renais, os testículos e os ovários. Também está descrita a produção de esteróides pela placenta durante a gravidez. Estudos recentes demonstraram que, além destes órgãos, os esteróides também são sintetizados no sistema nervoso central, além de em outros locais, embora com menor intensidade. Entretanto o caminho global de produção de todas as hormonas esteróides é bastante similar.

As diferenças entre os esteróides específicos para um tecido, célula ou compartimento subcelular são reguladas por enzimas esteroidogênicas particulares que alteram o padrão destas hormonas especificamente [3]. Como exemplo, tem-se a enzima 17 α -hidroxilase, que não é expressa na zona glomerulosa supra-renal, impossibilitando esta zona de produzir cortisol ou esteróides sexuais [4].

Utilização terapêutica de esteróides e sua obtenção

Uma vez que são mensageiros químicos do organismo, fazendo com que ele desempenhe adequadamente as suas funções, os esteróides podem ter o seu uso adaptado para serem utilizados na farmacoterapia. Atualmente, os esteróides são utilizados na medicina, entre outras funções, como diuréticos, métodos anticoncepcionais, no tratamento de acne, hipogonadismo, terapia do cancro, crises alérgicas e asma brônquica [5].

Devido ao seu alto potencial terapêutico, e ao fato de pequenas mudanças na sua estrutura poderem levar a alterações dramáticas nas suas funções, os esteróides são um promissor alvo de estudos na área da química farmacêutica.

Desde a descoberta da estrutura dos esteróides, centenas de plantas têm sido estudadas a fim de se descobrir nelas moléculas capazes de fornecer matéria prima para a produção de novos compostos esteroidais. Isto ocorre devido ao fato de, embora existirem metodologias para a síntese total dos esteróides, a maioria do que é utilizado atualmente, é proveniente de reações de semi-síntese de compostos encontrados na natureza [6]. Desta forma, estudos de farmacognosia procuram nestas plantas moléculas contendo um sistema de anéis do tipo esteroidal, que se pudesse constituir como matéria prima para as reações de síntese parcial.

Entre estas, encontram-se espécies da família Agavaceae e Dioscoreaceae, que são ricas em sapogeninas esteroidais, capazes de fornecer uma aglicona após uma simples hidrólise ácida. O pioneiro das vias de síntese parcial de esteróides foi Russel E. Marker com seu trabalho com a diosgenina obtida numa planta originada do México, chamada popularmente como inhame mexicano selvagem, pertencente à família Dioscoreacea. Na via sintética desenvolvida por Marker originava-se o acetato de 16-desidropregnenolona (16-DPA) a partir da diosgenina, a qual pode ser convertida em diversos esteróides ou intermediários metabólicos como a progesterona e pregnenolona [7]. Outro exemplo é a conversão de sarsasapogenina em pregnanodióis, que são metabolitos inativos da progesterona, que podem tanto ser reconvertidos em progesterona, como originar outros esteróides, como testosterona e desoxicorticosterona, num processo rápido e relativamente barato [8]. Em 2011, Fernandez-Herrera e colaboradores descreveram um procedimento com apenas um passo que é capaz de transformar quantitativamente, através de condições ácidas derivados espirostanos em derivados 22-oxocolestanoicos. Através da mesma via sintética, com ajuste de temperatura, pode obter-se uma aglicona análoga do potente agente antitumoral OSW-1 [9]. No âmbito da química verde, Zhang e colaboradores, em 2005, propuseram uma metodologia que elimina os

resíduos inorgânicos produzidos pela degradação de Marker na obtenção de 16-DPA. Foi proposta por estes autores a utilização de um processo fotoquímico para a realização da oxidação, eliminando os oxidantes utilizados (crómio e permanganato), que são importantes poluentes ambientais, bem como a simplificação do *work-up*. Além da sua sustentabilidade ambiental, este processo é comercialmente viável e pode ser um importante método de produção de 16-DPA em escala industrial [10].

Testosterona

A testosterona é a principal hormona esteroide androgénica, e é secretada pelas células de Leydig em resposta à hormona luteinizante. É responsável pela diferenciação masculina *in útero* e pelo aparecimento dos caracteres próprios masculinos na época da puberdade. Nas mulheres, o papel da testosterona ainda não foi totalmente esclarecido. Entretanto, acredita-se que nelas a testosterona esteja ligada com a contribuição para a densidade óssea, líbido, energia, e força e massa muscular.

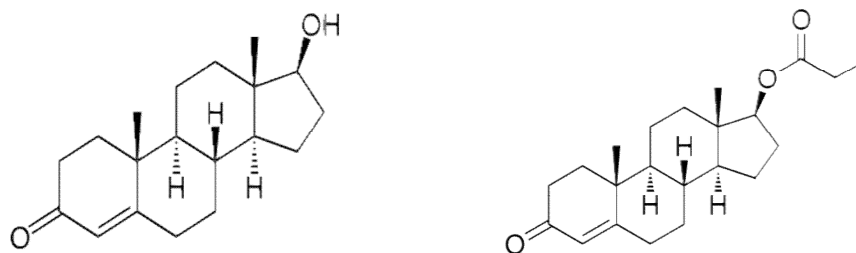


Figura 3 - Estrutura da testosterona e do propionato de testosterona.

Devido ao intenso metabolismo sofrido pela testosterona na sua forma livre pelo fígado, através do sistema enzimático oxidase microssomal mista [11], a sua administração oral é ineficaz caso se deseje obter efeito sistémico. Desta forma, a alternativa encontrada para proporcionar uma administração que originasse o efeito farmacológico desejado foi a síntese de formas de testosterona que contornassem o catabolismo hepático. Entre estas apresentações, encontram-se os androgénios alquilados e os ésteres de testosterona, dentre os quais está o propionato de testosterona (Figura 3), substância utilizada como uma das matérias-primas neste trabalho.

Fisiologicamente, a testosterona tem papéis muito importantes em todas as fases da vida humana, principalmente masculina. Ainda no útero, estimula a diferenciação da parte interna do sistema genital masculino, bem como, após sua conversão em dihidrotestosterona, o desenvolvimento da genitália externa [12]. Durante a puberdade é responsável pelo desenvolvimento da genitália externa, desenvolvimento de pêlos púbicos e aumento da oleosidade da pele. De facto, a gordura subcutânea apresenta diminuição, enquanto a força e a massa dos tecidos muscular e ósseo tem sensível aumento. Ao nível sanguíneo, ocorre

estímulo da eritropoiese, observando-se maior concentração de hemoglobina e hematócrito. No aspecto psicológico, há a elevação dos níveis de agressividade e de líbido. Já na fase adulta, a testosterona mantém-se em níveis constantes. Embora não esteja totalmente elucidado, assume-se que os níveis de testosterona tenham também influência em alterações ao nível da próstata. Existem também relações da testosterona com o aumento do metabolismo basal e e com a regulação do equilíbrio hidroeletrólítico.

Adicionalmente, a testosterona ainda é descrita com um potencial agente antitumoral. Statimatiou & Perris, nos seus estudos, apontaram que, quando acoplada com a albumina, a testosterona é capaz de ter papel terapêutico no cancro da próstata. De facto, o complexo testosterona-albumina exerceu uma potente indução do mecanismo de apoptose celular pela ativação dos receptores androgénicos [13].

Progesterona

Isolada pela primeira vez em 1933, a progesterona é a principal hormona da classe dos progestagénios, hormonas responsáveis basicamente pela preparação do útero para a gravidez, e dos seios para a lactação. São biossintetizados nos ovários, e, assim como todos os esteróides, tem na sua estrutura um esqueleto proveniente da molécula de colesterol. (figura)

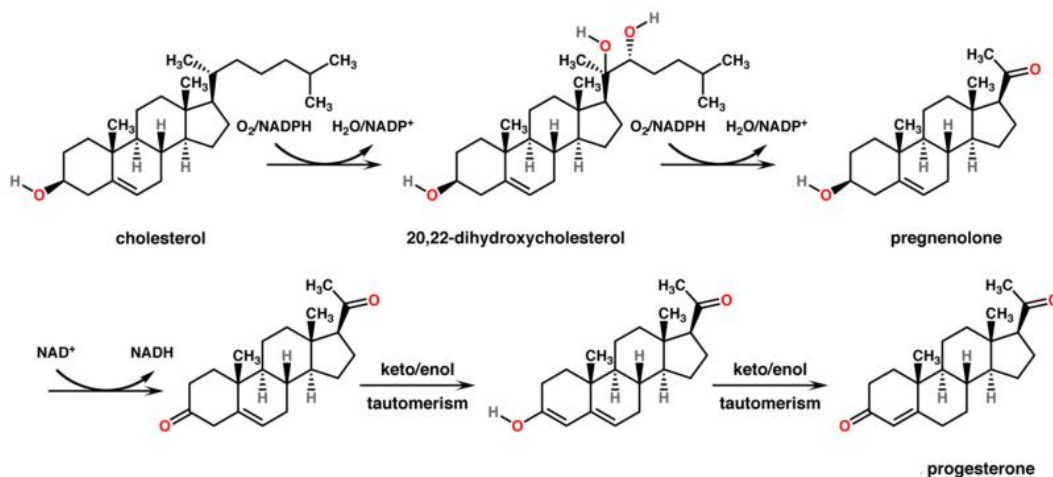


Figura 4 - Síntese de esteróide a partir de colesterol

Durante a fase lútea, a progesterona é formada com ainda maior intensidade, o que naturalmente resulta numa maior secreção no sangue circulante neste momento. Quando libertada no sistema circulatório, a progesterona é transportada ligada a albumina plasmática e a globulinas de ligação específicas, sendo rapidamente libertadas nos tecidos [14].

Fisiologicamente, a função mais importante da progesterona é promover a preparação do útero para a gravidez, através de mudanças no endométrio. Entretanto, a progesterona

também produz efeito sobre as glândulas mamárias, fazendo com que as suas células se desenvolvam e adquiram natureza secretora e produzir o inchaço dos seios. Ao nível do sistema nervoso central, acredita-se que a progesterona promova alterações no centro regulador da temperatura, no hipotálamo, o que resulta num leve aumento da temperatura do corpo no período de ovulação até que o fluxo menstrual comece a acontecer. Metabolicamente, a progesterona aumenta os níveis basais de insulina, estimula a atividade da lipase proteica e a deposição de gordura. Também existe relação entre a secreção de progesterona e os efeitos da aldosterona no sistema renal.

Inversamente aos efeitos atribuídos aos estrogénios, a progesterona atua aumentando a atividade da mono-amino oxigenase, o que desencadeia um efeito depressivo, devido à diminuição dos níveis de serotonina. Além disso, ainda apresenta também ações anestésicas, tranquilizantes, de estabilização do humor, com redução das atividades mentais, e possui ação anticonvulsivante [15].

Influência hormonal em tumores

O termo tumor (do grego *tumoris*, que significa tumefação), ou neoplasia, é utilizado para definir um conjunto de células que passa por processos de divisão e crescimento descoordenado, não sofrendo um processo de diferenciação celular adequadamente. De acordo com as suas características, o tumor pode ser considerado maligno (quando existe possibilidade de invadir tecidos vizinhos ou se espalhar pelo corpo, chamando-se metástase) ou benigno (que não apresenta capacidade de se difundir pelos demais tecidos do corpo).

Após uma série de ensaios experimentais em cancros de próstata, constatou-se que o crescimento das células tumorais estaria ligado à concentração de testosterona presente, sendo diminuídos com a remoção da administração da hormona, e tornando a acontecer aquando da reintrodução de testosterona [16]. Além disso, em 1868, descobriu que a remoção dos ovários causa uma importante remissão no cancro metastático de mama em mulheres em período de pré-menopausa. Também há relatos de que a supressão de hormonas por hipofisectomia e adrenalectomia também serve como tratamento para este tipo de tumores malignos [17].

Reação de Michael

Mesmo que os grandes avanços da química estejam a trazer vários benefícios à humanidade, ainda existe difundido pelo mundo algum receio das consequências deste avanço. A desconfiança maior está geralmente nos resíduos produzidos pela indústria química e farmacêutica que é, em grande parte dos casos, até dezenas de vezes superior aos produtos finais a serem utilizados [18].

Neste âmbito, a química orgânica tentou desenvolver novas estratégias, uma vez que a questão não é apenas o que vai ser produzido, mas também como se dará este processo de produção e como ele poderá afetar o meio ambiente. Assim, o objectivo da química “verde”, que é a principal parte da ciência química envolvida na atuação responsável e no desenvolvimento sustentável, é por reações que causem menos dano ambiental.

Dentro deste cenário, as reações de Michael adicionando carbaniões e nucleófilos, mesmo contendo heteroátomos, a alcenos ativados por um grupo retirador de elétrons forte, surgem como um destes processos. Elas se caracterizam pela sua eficiência atômica de 100% e por usar reagentes iniciais baratos e acessíveis. Por isso, estes conceitos têm se tornado cada vez mais populares, e as reações de adição de Michael têm sido largamente utilizadas como metodologias para a síntese de compostos orgânicos através de formação de ligações carbono-carbono ou heteroátomo-carbono.

Naturalmente, as reações de Michael envolvendo ligações entre carbono e azoto como heteroátomo, chamadas adições Aza-Michael, têm um interesse particular na indústria químico-farmacêutica. Isto dá-se pelo fato de que, de acordo com um questionário realizado em 2006 com os setores de R&D em processo químico de três das maiores indústrias farmacêuticas mundiais (GlaxoSmithKline, AstraZeneca e Pfizer), 90% das moléculas presentes nos medicamentos possuem pelo menos um átomo de azoto [19]. Além disso, as adições aza-Michael são, às vezes, o caminho mais curto para obtenção de certos compostos utilizados como matéria-prima para a produção de outras moléculas nitrogenadas bioativas, como β -aminocetonas e β -aminoácidos. Outra vantagem desta metodologia é a possibilidade de variarmos tanto os nucleófilos como os substratos, resultando numa ampla gama de possibilidade de sínteses de compostos [20].

Para aperfeiçoar ainda mais os processos, as reações de Michael, em geral, ainda podem contar com a possibilidade de serem utilizados processos catalíticos visando uma maior eficiência de reação, bem como reações enantiomericamente e diastereomericamente seletivas [21].

Neste contexto, reações de adição de indole e pirrole a enaminas, utilizando tricloreto de gálio como catalisador, também foram descritas. A ocorrência destas reações em meio aquoso, e os excelentes rendimentos obtidos, chamam atenção especial para o método, podendo ser considerado um dos mais atrativos para a síntese química de derivados pirrólicos e indólicos. Estas moléculas são de grande interesse para a indústria farmacêutica, visto que podem ser utilizadas na síntese de muitos compostos farmacologicamente e biologicamente ativos [22].

Outro exemplo inclui, nomeadamente, estudos realizados no México apontam para a possibilidade da adição de benzilamina a crotonato de metilo sob irradiação de micro-ondas

em metanol. Na ocasião, a reação, que em condições convencionais leva cinco dias para fornecer um rendimento de 73%, ocorreu totalmente em um período de três horas, resultando em um elevado rendimento de produto (até 98%) [23].

Uptal Sharma e colaboradores documentaram também a adição aza-Michael, catalisada e em micro-ondas, de uma série de compostos partindo de moléculas de esteróides. Assim, em apenas 6 minutos, obteve-se 3 β -acetoxi-16-(2'-ciclohexanoilo)pregnenolona (rendimento de 79%), partindo-se de 16-DPA e 1-morfolino-1-ciclohexeno. Da mesma maneira, outros pregnanos também reagiram com outras enaminas, sob irradiação de micro-ondas, obtendo-se elevados rendimentos de reação. Este método apresentou vantagens sob as condições reacionais convencionais, uma vez que, além de evitar o uso de solventes e ácidos ou bases fortes, teve um fácil *work-up* [24].

Por sua vez, Tabatabaeian, com seus colaboradores, focaram seu trabalho na adição de compostos indólicos a hormonas esteróides, também através de micro-ondas. Ao contrário de Sharma, os ensaios realizados por Tabatabaeian resultaram em adições na junção entre os anéis A e B, na posição 5. [25]

Objetivos

Este trabalho tem como objetivo primário e principal a síntese de novos compostos partindo de esteróides e diferentes nucleófilos, para posterior avaliação da atividade biológica, nomeadamente antitumoral em diferentes tecidos humanos. Com isto, espera-se observar pontos relevantes no que diz respeito à mudança da bioatividade das moléculas ao se variar a sua estrutura química, o que pode resultar em informações importantes e úteis para delinear novos estudos.

Teve-se como objetivos específicos:

- Funcionalização do anel D de 16-DPA, através de diferentes reações.
- Funcionalização do anel A de testosterona, bem como da sua forma esterificada, propionato de testosterona, através de diferentes reações.
- Purificação e identificação dos produtos obtidos através de métodos analíticos laboratoriais.
- Posterior avaliação dos efeitos biológicos dos produtos caracterizados em diferentes linhagens celulares do cancro.

Seção Experimental

Equipamentos e reagentes

Para as reações, o substrato 16-DPA foi adquirido a Sigma-Aldrich, tal como o triflato de bismuto e a morfolina. O sulfato de sódio anidro e o éter de petróleo foram fornecidos pela Merck. O metanol foi adquirido à Prolabo. O cloreto de sódio utilizado foi comprado aos Laboratórios M. Vaz Pereira. O hidróxido de sódio e o ácido sulfúrico foram adquiridos à Pancreac. O acetato de etilo foi comprado à Fischer Chemical.

As placas de aquecimento utilizadas durante as reações foram fabricadas pela Heidoph, que é também a marca do evaporador rotativo utilizado para evaporar solventes e concentrar ou secar os produtos. As reações em micro-ondas foram efetuadas num aparelho Milestone ATC-FO 300 MULTISynth em modo *single mold*.

Para análise e monitoração das reações foram utilizadas as placas de cromatografia em camada fina (CCF) Kieselgel 60 F254 da Merk. Para visualizar as placas cromatográficas utilizaram-se dois métodos. O primeiro foi a visualização das placas sob radiação ultravioleta (UV) a 254 nm, o que tornou possível observar os compostos que possuem a propriedade da absorção UV. O outro método utilizado foi através de uma solução de revelação composta por uma mistura de etanol e ácido sulfúrico (95:5). Após a imersão das placas nesta solução, submetiam-se a aquecimento numa placa de aquecimento, para que as manchas na placa fossem revelados.

Os eluentes utilizados nas diferentes TLC foram variando conforme a reação em causa, e está indicado no procedimento experimental segundo a proporção V/V dos reagentes.

A purificação de alguns produtos reacionais obtidos foi efetuada através da realização de cromatografia em coluna. A fase estacionária utilizada foi sempre sílica gel 0,063-0,200mm enquanto a fase móvel variou, sendo indicada no procedimento experimental.

Para efectuar o espectro de infravermelhos (IV), utilizou-se o espectrofotômetro Nicolet iS10 da Thermo Scientific, através do método ATR. No final das análises obtiveram-se os dados num gráfico de transmitância com as frequências expressas em cm^{-1} . As análises de ressonância magnética nuclear (RMN) foram realizadas no aparelho Bruker Avance II 400, utilizando-se as frequências de 400 MHz para a RMN de protão (^1H) e 100 MHz para a RMN de carbono (^{13}C). Os resultados das análises de ^1H -RMN estão organizados na seguinte ordem: desvio químico δ (ppm), tipo de sinal, integração e indicação do hidrogénio responsável pelo sinal. Para os ^{13}C -RMN, são apresentados os desvios químicos, e, quando possível e necessário, a atribuição do sinal.

Reações experimentais realizadas

Síntese do acetato de 16 α -morfolinopregnenolona (1a)

A primeira reação realizada foi tentativa de reprodução da metodologia de síntese do acetato de 16 α -morfolinopregnenolona, baseando-se no o processo proposto por Kumar e colaboradores [26], e já utilizado em trabalhos anteriores realizados em por nossa equipe de investigação [27].

Entretanto, para tentar diminuir o tempo de reação dispendido em nossos experimentos anteriores, considerado alto (cerca de 90 horas), foi aplicado o princípio da regra de Van't Hoff, que observou que, embora com algumas exceções, a velocidade de reação é duplicada com o aumento de cada 10°C na temperatura do sistema [28].

Sendo assim, em um balão de fundo redondo foram colocados 71,7 mg (0,20 mmol) de 16-DPA e 20 equivalentes de morfolina (346 μL), submetendo o sistema a agitação magnética a 1300 RPM e aquecimento de 90°C. Depois de alcançada a temperatura, e dissolução do 16-DPA, foram adicionados ao balão 13,12 mg de triflato de bismuto (0,02 mmol).

Passadas 26 horas, a reação foi finalizada ao se constatar, através de análise por CCF (AE 3:1 EP) o total consumo do substrato.

A reação foi repetida com o intuito de monitorar mais atentamente o tempo de reação pra ter uma melhor noção do tempo no qual ela realmente se processou totalmente. Observou-se que a reação se deu em 20 horas.

Depois de finalizada a reação foram adicionados ao balão 25 mL de acetato de etila, e transferindo o conteúdo deste para uma ampola de decantação, na qual foram vertidos 15 mL de água destilada. Separadas as fases, a fração lipofílica foi acondicionada à parte, e o procedimento de extração se repetiu mais três vezes com a fase aquosa, adicionando-se, por vez, 25 mL de acetato de etila. O processo de extração resultou em 100 mL de fase orgânica, que foi lavada com 20 mL de solução de Brine, e finalmente seca com sulfato de sódio anidro, resultando num produto límpido e de cor amarela.

Filtrou-se a solução a vácuo, realizou-se a rotaevaporação do solvente, originando um sólido cristalino de cor branca.

Para a purificação do produto obtido, foi realizado um fracionamento por coluna cromatográfica composta de sílica, e eluindo-a com acetato de etila e metanol. As amostras retiradas eram monitoradas através de CCF, com o intuito de conhecer quais os tubos que continham a fração desejada, apenas com o produto de forma pura. O conteúdo dos tubos que continham o produto puro foi novamente rotaevaporado, sendo o produto final submetido às análises de IV e RMN.

O espectro ¹H RMN revelou sinais em: δ (ppm) 0,59 (s, 3H, 18-CH₃), 0,94 (s, 3H, 19-CH₃), 1,96 (s, 3H, 21-CH₃), 2,12 (s, 3H, CH₃CO-), 2,24 (m, 4H, H-2' e 4'), 2,63 (d, J=8Hz, 1H, H-17), 3,51 (m, 1H, H-16), 3,61 (m, 4H, H-3' e 5'), 4,53 (m, 1H, H3), 5,29 (d, J=4,82Hz, 1H, H6). A análise do espectro ¹³C RMN revelou sinais em: δ (ppm) 208,1 (C-20), 170,5 (-OCOCH₃), 139,6 (C5), 122,0 (C6), 73,7 (C3), 66,7, 65,4, 64,8, 55,0, 51,3, 49,7, 44,6, 38,7, 37,9, 37,1, 36,5, 31,9, 31,6, 31,5, 29,0, 27,6, 21,4, 20,7, 19,2, 14,5. A análise do espectro infravermelho forneceu como resultado sinais em: 3381, 2939, 1719, 1698, 1659, 1450, 1374, 1234, 1115, 1033, 1100, 872.

Tentativa de síntese de propionato de 16α-morfolinotestosterona (1b)

Uma vez confirmada diminuição no tempo de reatividade da reação anterior com o aumento da temperatura, foram realizadas variações dos substratos.

Para esta reação, foram adicionados no balão de fundo redondo 0,2 mmol de propionato de testosterona (68,9 mg) e 346 μL de morfina (20 equivalentes). Após total dissolução, juntaram-se ao sistema 13,12 mg de triflato de bismuto, submetendo-o a agitação magnética (1300 rpm) e aquecimento (80 °C).

Após 20 horas, foi recolhida uma alíquota que, em análise por cromatografia em camada fina em partes iguais de acetato de etila e éter de petróleo, demonstrou total consumo do substrato. Entretanto não se observou formação de produtos, nem mesmo com a mudança na polaridade do eluente.

A reação foi parada após 21 horas contadas do seu início, obtendo-se um líquido viscoso de cor escura.

Para observar se a ausência de produtos não foi devido ao tempo excessivo de reação, repetiu-se a reação submetendo-a a constante monitorização por CCF. Constatou-se que após 3 horas de reação o produto já havia sido totalmente consumido.

A reação foi repetida, diminuindo-se a temperatura do sistema, para avaliar se os produtos não estariam se decompondo devido à energia térmica. Desta forma, processou-se a reação a 45°C durante 16 horas, e ainda assim não se observou a formação de produto.

Síntese de propionato de 5 α -indoltestosterona em micro-ondas (2a)

A aplicação de técnicas envolvendo irradiação de micro-ondas nas reações químicas tem despertado bastante interesse dos químicos orgânico [28]. Isto dá-se pelo fato de que as reações em micro-ondas possuem grande seletividade, taxas de reatividade aumentadas, produtos “limpos” e simplicidade de manipulação.

Em 2002, Sharma e colaboradores demonstraram ser possível a adição de Michael de amins em enonas sob irradiação de energia na forma de micro-ondas, se apresentando com vantagens sob os métodos convencionais [24].

Baseado nesta possibilidade, reproduziu-se estes experimentos com uma variação de condições e substratos.

Numa reator específico para aparelho de micro-ondas, dissolveram-se em 1,5 mL de metanol 0,125 mmol de propionato de testosterona (43,6 mg), 1,5 mmol de indol (17,6 mg) e 6,25 μ mol de triflato de bismuto (5 mol% - 4,1 mg), resultando numa solução de cor amarelada. O reator foi submetido à irradiação em micro-ondas a 130°C, potência de 250 w, agitação configurada a 25% e tempos de aquecimento, platô e resfriamento iguais a 5, 10 e 5 minutos, respectivamente. Como produto da reação obteve-se mistura bifásica de uma solução amarelada, contendo cristais brancos no corpo de fundo.

A purificação se deu através da filtração e lavagem da fase sólida. Posteriormente os cristais foram diluídos em acetato de etila. E submetidos ao mesmo procedimento de work-up que a reação anterior.

O espectro 1H RMN revelou sinais em δ (ppm): 0,85 (s, 3H, 18-CH₃), 1,07 (s, 3H, 19-CH₃), 1,15 (q, J=7,6, 2H), 2,33 (t, J=7,6, 3H) 4,65 (t, J=8,3Hz, 1H, 17 α -H), 6,62 (m, 1H), 7,18 (m, 1H), 7,38 (m, 1H), 7,48 (m, 1H), 7,97 (m, 1H), 9,02 (br s, NH). A análise do espectro infravermelho forneceu como resultado sinais em: 3534, 3285, 3059, 2946, 1705, 1613, 1455, 1436, 1373, 1340, 1212, 1029 e 744.

Síntese de 5 α -indoltestosterona em micro-ondas (2b)

Semelhantemente a reação anterior, realizou-se a irradiação de micro-ondas, utilizando no lugar de propionato de testosterona, a testosterona na forma livre.

Para tal, no reator foram dissolvidos em 1 mL de metanol 36,05 mg de testosterona (0,125 mmol), 17,6 mg de indol (0,15 mmol), catalisando-se a reação com 6,25 μ mol de triflato de bismuto (5 mol% - 4,1 mg). A reação foi submetida às mesmas condições reacionais da reação com o propionato de testosterona.

Ao final do tempo de reação, obteve-se, diferentemente da reação anterior, uma solução de cor laranja escura com precipitado cristalino no fundo do tubo.

Uma primeira CCF foi realizada, observando-se a formação do que se pensava ser alguns subprodutos. Entretanto as manchas não estavam bem definidas. Para contornar este problema, realizou-se uma segunda CCF, utilizando como eluente um sistema composto por quantidades iguais de acetato de etila e éter de petróleo.

A segunda CCF tornou possível observar a formação de apenas um produto, e não subprodutos da reação.

De semelhante modo ao produto obtido pela reação 3, realizou-se a filtração e lavagem do sólido obtido, resultando em cristais grandes e de cor amarelada, que foram submetidos ao procedimento de work-up padrão para a purificação, procedendo posteriormente às análises espectroscópicas. A análise do espectro infravermelho forneceu como resultado sinais em: 3296, 3056, 2938, 1698, 1614, 1456, 1422, 1376, 1337, 1250, 1045, 1020 e 741.

Tentativa de síntese de propionato de 5 α -morfolinotestosterona em micro-ondas

O êxito da reação utilizando-se, em micro-ondas, propionato de testosterona e testosterona livre, demonstrado nas reações 3 e 4, respectivamente, sugeriu que fossem repetidos estes experimentos variando a amina a ser utilizada como nucleófilo.

Assim, em um reator pra reações em micro-ondas, foram dissolvidos em 1,5 mL de metanol e 216 μ L de morfolina (20 equivalentes), 0,125 mmol de propionato de testosterona (43,06 mg). À solução foram juntados 4,1 mg de triflato de bismuto, catalisador da reação. Assim como nas reações anteriores processadas em micro-ondas, o sistema foi submetido 20 minutos e sob agitação de 25%, à irradiação em micro-ondas de 130°C e potência de 250w.

Ao final do tempo de reação, uma alíquota do produto foi coletada e utilizada em uma análise em CCF, utilizando-se como eluente uma solução de partes iguais de acetato de etila e éter de

petróleo. Após revelação da placa, observou-se que nas condições avaliadas, o sistema não reage.

Tentativa de síntese de acetato de 16 α -morfolinopregnenolona em micro-ondas (1c)

Após confirmarmos a reatividade da 16-DPA com a morfolina em condições normais de reação, realizou-se a tentativa de submeter este mesmo sistema a reação em micro-ondas, visando aperfeiçoá-la pela diminuição do tempo dispendido no processo.

Para tal tentativa, em 1,5 mL de metanol foram dissolvidos 0,125 mmol de 16-DPA (44,56 mg), juntando-se posteriormente a solução 20 equivalentes de morfolina (216 μ L) e 4,1 mg de triflato de bismuto. O aparelho de micro-ondas foi ajustado nos mesmos parâmetros da reação anterior.

Uma análise por CCF, utilizando-se o mesmo sistema de eluição que a reação 7, realizada ao final da reação, indicou uma baixa reatividade do sistema quando submetido à irradiação de micro-ondas.

Síntese de acetato de 16 α -piperidinopregnenolona (1d)

Seguindo com os estudos das reações de adição, e obtendo-se a informação experimental que 16-DPA reagiu satisfatoriamente com a morfolina em condições convencionais, escolheu-se a piperidina como novo nucleófilo a ser testado na reação. Isto ocorreu pela semelhança estrutural entre os dois compostos, o que levanta a suposição que reagiriam de maneira semelhante.

Desta forma, adicionaram-se num balão de fundo redondo 0,20 mmol de 16-DPA (71,7 mg), 20 equivalentes de piperidina (399 μ L) e 13,12 mg de triflato de bismuto. Submeteu-se o sistema reacional a temperatura de 80°C e agitação magnética.

Após 11 horas de reação, foi realizada uma CCF constatando o consumo total do substrato. Desta forma parou-se a reação.

Como produto obteve-se um sólido de cor escura, que foi diluído e submetido aos procedimentos de work-up, para purificação, e análise semelhante aos que foram executados com os produtos das reações anteriores.

O espectro 1H RMN revelou sinais em: δ (ppm) 0,64 (s, 3H, 18-CH₃), 1,00 (s, 3H, 19-CH₃), 2,03 (s, 3H, 21-CH₃), 2,21 (s, 3H, CH₃CO-), 2,42 (br s, 2H, H-3' e 5'), 2,59 (br s, 2H, H-2' e 6'), 2,96 (d, J=8,5Hz, 1H, H-17), 3,67 (t, J=8,5Hz, 1H, H-16), 4,60 (m, 1H, H₃), 5,37 (d, J=5,0Hz, 1H, H₆). A análise do espectro 13C RMN, por sua vez, revelou sinais em: δ (ppm) 208,0 (C-20), 170,5 (-OCOCH₃), 139,6 (C₅), 122,2 (C₆), 73,8 (C₃), 65,6, 65,2, 54,5, 52,5 (C₂' e

C6'), 49,6, 44,9, 38,6, 38,1, 36,9, 36,6, 31,7, 31,6, 31,5, 29,7, 27,7, 25,1 (C3' e C5'), 23,8, 21,5, 20,8, 19,2, 14,5. A análise do espectro infravermelho forneceu como resultado sinais em: 3383, 2934, 1730, 1699, 1641, 1441, 1375, 1240, 1030, 1153, 638.

Síntese de acetato de 16 α -imidazolpregnenolona (1e)

Foi dado prosseguimento aos estudos da viabilidade da adição de Michael em 16-DPA, ao ser trocado novamente a amina utilizada como nucleófilo da reação. Desta vez o agente utilizado foi o imidazol.

Inicialmente, teve-se a idéia de fazer a reação ocorrer de forma solvente free, utilizando como solvente o próprio imidazol após o mesmo ter sido fundido por ação da temperatura. Para isso, ajustou-se a temperatura do sistema para os 90°C, uma vez que o ponto de fusão de imidazol está entre 89 e 91°C. Frente à dificuldade na fusão do substrato, decidiu-se por adaptar a metodologia descrita por Srivastava & Banik [29] e restante da equipe, em seu estudo sobre a adição de aminas em enonas utilizando um sal de bismuto como catalisador.

Assim, foram adicionados 1,5 mL de metanol com o intuito de realizar-se a dissolução de 272,3 mg de imidazol nesta fase orgânica. Após a dissolução, foram inseridos no balão 0,20 mmol de 16-DPA (71,7 mg). A mistura foi submetida ao aquecimento e agitação magnética até homogeneização do conteúdo do balão, quando foram adicionados 13,12 mg de triflato de bismuto.

Após uma hora de reação, já se observava por CCF a formação de produto, entretanto a reação foi interrompida após 4 horas quando já podia se notar total consumo do substrato, através da análise por cromatografia em camada fina.

Da mesma forma que os produtos da reação anterior, realizaram-se a extração, purificação e análise do produto obtido pela reação.

O espectro 1H RMN revelou sinais em: δ (ppm): 0,73 (s, 3H, 18-CH₃), 1,05 (s, 3H, 19-CH₃), 2,04 (s, 3H, 21-CH₃), 2,09 (s, 3H, CH₃CO-), 2,80 (d, J=8,4Hz, 1H, H-17), 4,63 (m, 1H, H₃), 5,27 (br t, J=8,5Hz, 1H, H-16), 5,38 (d, J=4,75Hz, 1H, H₆), 7,10 (s, imidazole), 7,72 (d, J=1,1Hz, imidazole), 11,7 (br s, NH). A análise de IV não demonstrou sinais bem definidos.

Tentativa de síntese de acetato de 16 α -indopregnenolona

Para esta reação, realizou-se a tentativa de adição de indol, que anteriormente se mostrou possível em condições normais na testosterona, em 16-DPA. Isto se fez adicionando em balão de fundo redondo 0,125 mmol de 16-DPA (44,81 mg), 0,15 mmol de indol (17,6 mg), 1,5 mL de metanol e 4,1 mg de triflato de bismuto. Para esta reação, foi utilizada a temperatura de 65°C, com o objetivo de manter-se o metanol em refluxo durante a reação.

Após uma série de análises por CCF, parou-se a reação 17 horas após seu início, observando uma série de subprodutos formados. Entretanto, como era possível a visualização na cromatografia do produto formado, procedeu-se com a rotina de extração numa tentativa de se isolar o produto desejado.

Ao realizar a diluição do produto em acetato de etila, o mesmo, que inicialmente possuía uma coloração preta, passou a ter uma coloração azul petróleo. Após a extração habitual, foi efetuada a lavagem a fase orgânica com ácido clorídrico 5% e a fase orgânica adquiriu instantaneamente uma cor rosa, e durante alguns minutos sua cor transitava entre rosa, e o azul inicial. A mudança de intermitente de coloração só teve final quando a solução foi neutralizada com solução de bicarbonato de sódio. Na ocasião, ocorreu a esperada formação de gás, devido a neutralização do ácido, e a solução adquiriu um tom violeta-claro como coloração.

Quando se passou para a etapa de evaporação da fase orgânica, previamente seca com sulfato de sódio anidro, o produto, a medida que o solvente era evaporado passava a adquirir novamente a cor azul petróleo inicial.

Do produto da rotaevaporação, realizou-se uma nova CCF, e foi observado que os subprodutos não tinham sido eliminados pelo procedimento de extração e lavagem.

Discussão

Elucidação Estrutural dos Compostos

Acetato de 16 α -morfolinopregnenolona

No espectro de IV (Figura 1.5), o composto apresentou sinal a 3381 cm^{-1} , o que caracterizaria uma ligação O-H ou N-H. Este grupo poderia aparecer no composto no caso de ter acontecido uma hidrólise na função éster. Entretanto a banda apresenta-se difusa, o que não certifica a real hidrólise desta função. O pico marcado a 2939 cm^{-1} é característico de elongações da ligação simples entre carbono e hidrogênio, também presentes na estrutura da 16-DPA.

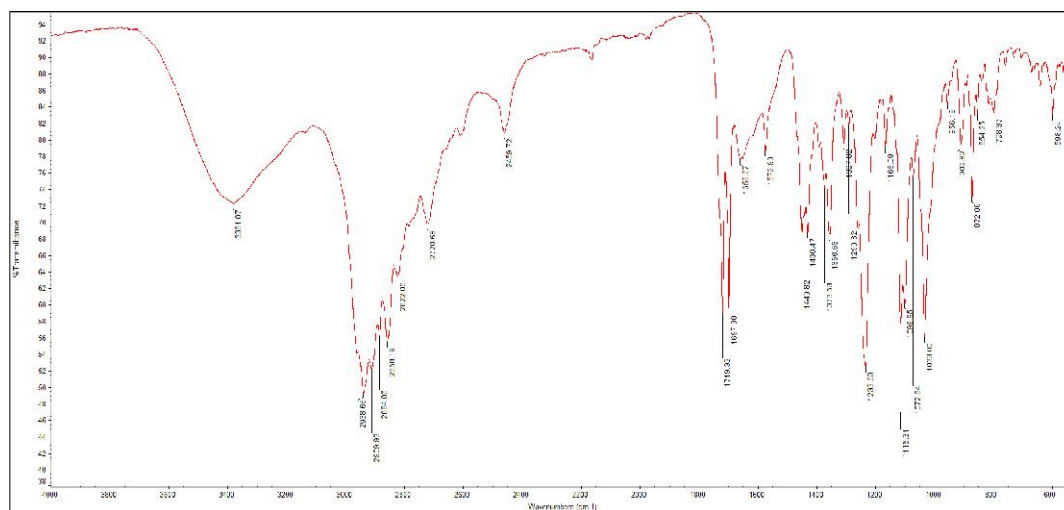


Figura 5 - Análise espectroscópica IV de acetato de 16 α -morfolinopregnenolona

Os sinais indicados nas bandas 1719 e 1698 cm^{-1} caracterizam a presença de dois grupos carbonilo, conforme o esperado. O efeito indutivo causado pelo átomo de oxigênio no grupo éster, encurta esta ligação, o que faz com que sua absorção esteja num valor superior (1719 cm^{-1}). De destacar ainda o desaparecimento do sinal do carbonilo conjugado característico do substrato que mostra que terá desaparecido a ligação dupla. A elongação da ligação dupla entre carbonos, presente no núcleo do esteróide, é indicada pelo aparecimento de sinal na região 1650 cm^{-1} . A existência de grupos CH_2 e CH_3 são evidenciadas ao constatar picos em 1450 e 1374 cm^{-1} , respectivamente, referentes à torções destas ligações. A presença de um novo sinal no espectro, característico da ligação simples entre carbono e oxigênio, é o primeiro indício que a reação ocorreu com sucesso. De fato, no substrato havia apenas dois sinais mais fortes nesta zona, referentes às duas ligações no oxigênio da função éster. Assim, acredita-se que este novo sinal seja referente às duas ligações deste caráter presentes na morfolina, observando-se picos a 1234, 1115 e 1033 cm^{-1} . Os sinais a 1100 e 827 cm^{-1} podem ser característicos das ligações C-N e C-H, respectivamente.

Este composto já é conhecido, e já tinha sido caracterizado por outros autores [26] [27], tendo os dados por nós obtidos confirmado as observações anteriores, confirmando-se assim a obtenção de 16 α -morfolina-DPA. Num dos referidos trabalhos anteriores foi demonstrado que ocorria apenas a formação do isómero 16 α -morfolina em condições reacionais aproximadas [26]. Contudo, da observação da expansão do espectro de próton deste composto na figura 1.6 pode verificar-se que, nas nossas condições reacionais, também se deverá formar derivado 16 β -morfolina em relativamente baixa proporção (cerca de 17%). Em alguns outros picos neste espectro e no de carbono-13 também se parece observar uma pequena duplicação do sinal, o que é mais um dado a suportar esta observação.

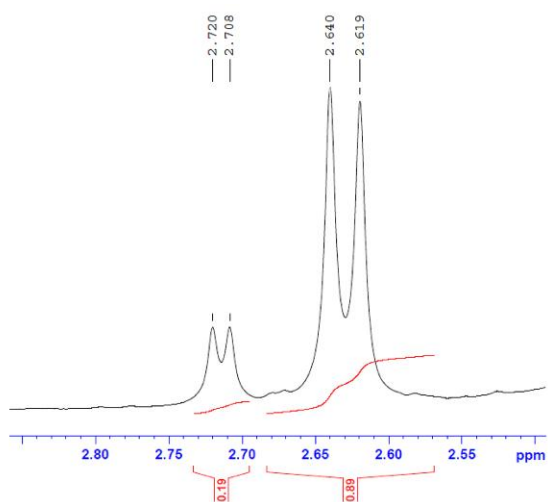


Figura 6 - Expansão do espectro de próton do acetato de 16 α -morfolinopregnenolona

No espectro de carbonos, contam-se 25 sinais equivalentes que correspondem ao esperado para esta molécula. Também neste caso, os sinais estavam de acordo com o descrito na literatura [26] [27].

Acetato de 16 α -piperidinopregnenolona

No espectro de IV (Figura 7), mais uma vez se evidenciou uma banda fraca e difusa na faixa dos 3383 cm^{-1} que podia ser característica de O-H e N-H. Naturalmente, as elongações de ligações simples entre carbono e hidrogênio da estrutura foram evidenciadas na região 2934 cm^{-1} . Os dois carbonilos da estrutura do produto esperado foram indicados pelo acentuamento de dois sinais, 1730 e 1699 cm^{-1} , que são referentes ao carbonilo do grupo éster e ao que se encontra em C-20, respectivamente. A elongação da ligação dupla entre carbonos presentes no anel B do esteróide é evidenciada pelo pico na região média (1641 cm^{-1}). A existência de

grupos CH₂ e CH₃ (torção “fora do plano”) é novamente evidenciada pelas bandas 1441 e 1375 cm⁻¹, respectivamente. Ao analisar os picos referentes à ligação C-O nota-se que, como era esperado, uma vez que a amina introduzida não possui átomo de oxigênio em sua estrutura, foram evidenciadas apenas duas bandas características referentes a este grupo. Assim, as ligações C-O do éster aparecem no espectro a 1240 e 1030 cm⁻¹. Atribui-se ao pico evidenciado em 638 cm⁻¹ a existência de torções de ligações entre C-H para fora do plano.

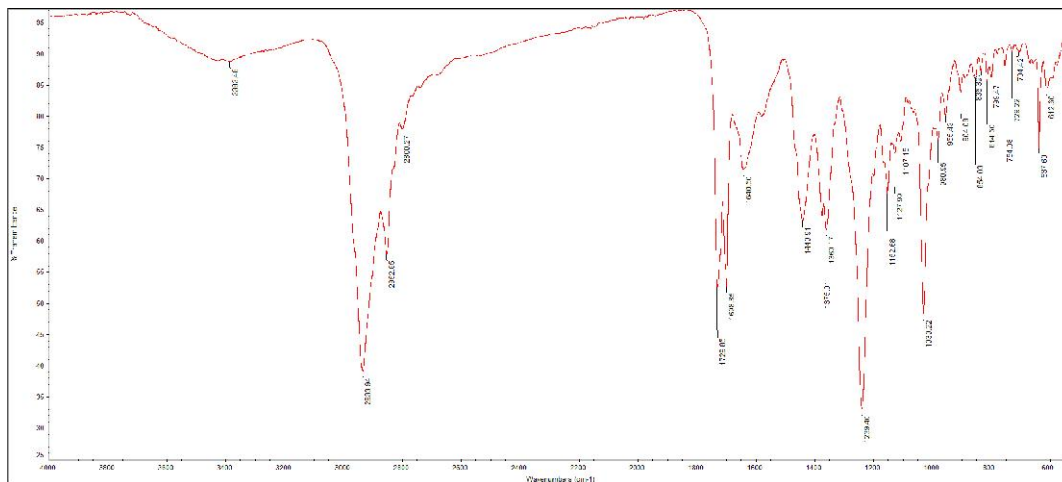


Figura 7 - Análise espectroscópica IV de acetato de 16 α -piperidinopregnenolona

De acordo com a nossa pesquisa bibliográfica, este composto, apesar de já ser conhecido [30], ainda não se encontra descrito no que respeita aos seus espectros de RMN. No espectro ¹H-RMN podem-se encontrar os sinais principais equivalentes aos descritos para a 16 α -morfolina-DPA, cujas características não diferem muito dos sinais deste. Apenas os sinais correspondentes aos prótons do anel piperidina podem suscitar dúvidas, propondo-se, devido ao desvio e à integração observada, que os sinais a 2,42 e a 2,59 possam ser devidos aos H-3' e 5' e aos H-2' e 6', respectivamente.

Adicionalmente, também no caso do 16-piperidino-DPA se observa que deverá existir, além do isômero α principal, uma fracção de isômero β (cerca de 19%).

No caso do espectro de carbono também se observam os 26 sinais diferentes esperados, cujos desvios são, novamente, próximos aos observados para a 16 α -morfolina-DPA.

Acetato de 16 α -imidazolepregnenolona

Neste composto, dada a qualidade do espectro de IV obtido, decidiu-se fazer apenas um espectro de próton na expectativa de não observar resultados relevantes. Contudo, surpreendentemente, o espectro obtido revelou ter qualidade adequada para uma análise dos dados obtidos.

De fato, observaram-se alguns sinais com características similares aos já identificados para os 2 compostos anteriores (sinais dos hidrogénios em 3, 6, 16, 17, 18, 19, 21 e do acetato). A detecção do sinal correspondente ao H-17 e o desvio do H-16 mostrou que ocorreu desaparecimento da enona do 16-DPA. O sinal do H-17, tal como observado para os compostos análogos anteriores, também apareceu duplicado, existindo igualmente uma pequena quantidade de isómero B (cerca de 8%).

Além disto, algumas diferenças relevantes foram observadas, nomeadamente o facto de não se observar um tripleto/ a cerca de 3,6 atribuível ao H-16 nos espectros da 16 α -morfolina-DPA e da 16 α -piperidina-DPA. No entanto, surgiu um tripleto não muito definido a 5,27 ppm correspondente a 1 hidrogénio, em que se determinou um valor J aproximado de 8,5Hz e que, por isso, poderá estar acoplado com o sinal atribuído ao H-17 (duplete a 2,80 com J=8,4Hz). Assim, este sinal foi atribuído ao H-16, sendo este desvio possivelmente explicado pela sua proximidade do anel heteroaromático electroattractor (Figura XX).

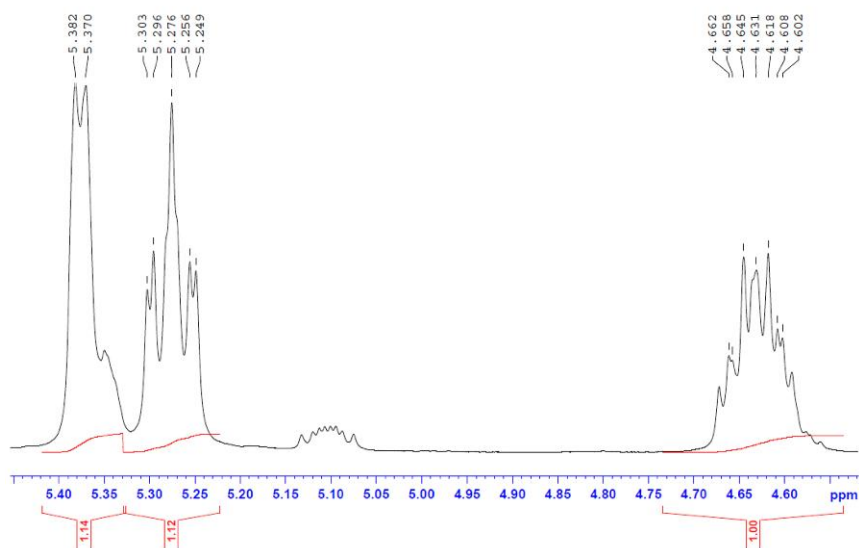


Figura 8 - Expansão do espectro de protão do acetato de 16 α -pirrolepregnenolona

Adicionalmente, os sinais atribuídos aos hidrogénios do imidazole estão identificados a 7,10 ppm (singuleto) e a 7,72 ppm (duplete, J=1,1Hz). A integração destes sinais mostrou ser muito superior à esperada, o que pode ser explicado pela contaminação da amostra com imidazole usado em excesso na reacção e que terá acompanhado o esteróide nas etapas de purificação. De facto, a amostra mesmo após coluna demorou a solidificar, tendo ficado ainda com aspecto oleoso, e nas CCF também se observa sempre uma mancha associável ao

imidazole. Por fim, também se observou um singuleto a 11,7 ppm que foi atribuído ao NH imidazólico.

Propionato de 5 α -indoletestosterona

Nesta reação foi adicionado o indole ao propionato de testosterona. O primeiro sinal do espectro de IV (Figura 9) de que a adição realmente ocorreu pode ter aparecido com o sinal que aparece em 3534 cm^{-1} , característico de ligações simples entre átomos de hidrogênio e azoto, podendo ser referentes ao grupo amina presente na composição estrutural do indol. Uma banda fortemente acentuada em 3285 cm^{-1} , que é característica da ligação entre átomos de oxigênio e hidrogênio também se observa. Tendo em vista a estrutura do substrato, a aparição deste sinal reforça as suspeitas levantadas nas análises por CCF de que a função éster foi hidrolisada, originando uma função OH. Estas suspeitas são ainda mais fortificadas ao constatar-se a existência de apenas um pico que caracteriza o carbonilo, a 1705 cm^{-1} , o que faz acreditar que este pico é referente a um carbonilo não-éster. A absorção na região 2946 cm^{-1} caracteriza as elongações de ligação entre carbono e hidrogênio em estruturas alifáticas. Os sinais expressos em 1613 e 1455 cm^{-1} , caracterizam as ligações duplas entre carbonos em anel aromático. A absorção em 1436 cm^{-1} sugere a presença de grupos CH_2 na estrutura do analito, enquanto a existência de grupos CH_3 é evidenciada pelo sinal expresso em 1373 cm^{-1} . Novamente a formação de hidroxilo proveniente da hidrólise do éster, é sugerida, a partir da observação do pico em 1029 cm^{-1} , característico da ligação simples entre um átomo de carbono e um oxigênio. A absorção na região de 744 cm^{-1} é atribuída ao sistema aromático presente na estrutura esperada do composto final.

De acordo com a nossa pesquisa bibliográfica, e tal como o produto anterior, este composto deverá ser novo, mas o seu espectro de IV e de $^1\text{H-RMN}$ é maioritariamente coincidente com o descrito na literatura para análogos preparados a partir da progesterona [25]

Além dos sinais esperados, neste espectro observa-se, ainda, um sinal a 1,58 ppm correspondente a 6 prótons, que deverá corresponder a uma impureza.

Os sinais a 1,15 ppm e a 2,33 ppm estão acoplados entre si, devendo ser originados por prótons vizinhos, observando-se a regra do $n+1$, sendo atribuíveis ao grupo $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ da cadeia lateral propionato. Estes tipos de sinais surgem com o mesmo desvio químico e características que os correspondentes no substrato propionato de testosterona. Esta informação associada ao sinal a 4,65 ppm, que surge frequentemente em prótons ligados a um carbono ligado a um

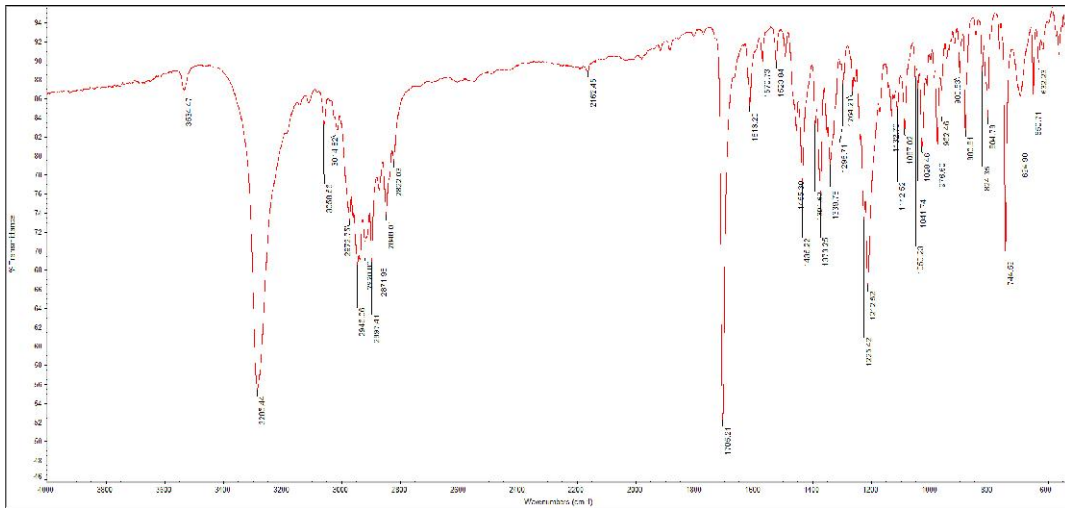


Figura 9 - Análise espectroscópica IV de propionato de 5 α -indolestosterona

grupo éster, indicia que a hidrólise do éster não deverá ter ocorrido, ao contrário dos sinais dados pelo espectro de IV e das CCF efectuadas no decorrer da reacção.

Devido à diluição da amostra e ao baixo número de varrimentos seleccionados no software do espectrómetro de RMN, não foi ainda possível obter o espectro de carbono-13.

5 α -Indolestosterona

No espectro de IV, inicialmente observa-se apenas um sinal na região que caracteriza a existência de OH e NH, em 3296 cm⁻¹. Poderia considerar-se uma possível sobreposição dos sinais que seriam referentes ao OH do esteróide, também presente no espectro de análise do substrato, e da função NH referente ao indol. A absorção expressa na região de 3056 cm⁻¹ caracteriza a elongação de ligação entre C e H em compostos aromáticos, o que é de se esperar que exista no produto. A 2939 cm⁻¹, observa-se um pico que se atribui à elongação nas ligações simples entre carbono e hidrogênio. Embora pouco marcada, a banda que sugere a existência de carbonilo aparece em 1698 cm⁻¹. As ligações duplas no anel aromático, estão relacionadas com os picos em 1614 e 1456 cm⁻¹. De maneira semelhante ao que ocorreu nas análises anteriores, as bandas 1422 e 1376 cm⁻¹ sugerem a presença de grupos CH₂ e CH₃, respectivamente. A ligação entre o OH do hidroxilo com um carbono do anel D pode ser verificada através da formação de um sinal em 1020 cm⁻¹. O pico a 741 cm⁻¹ sugere a existência de um sistema aromático na estrutura analisada.

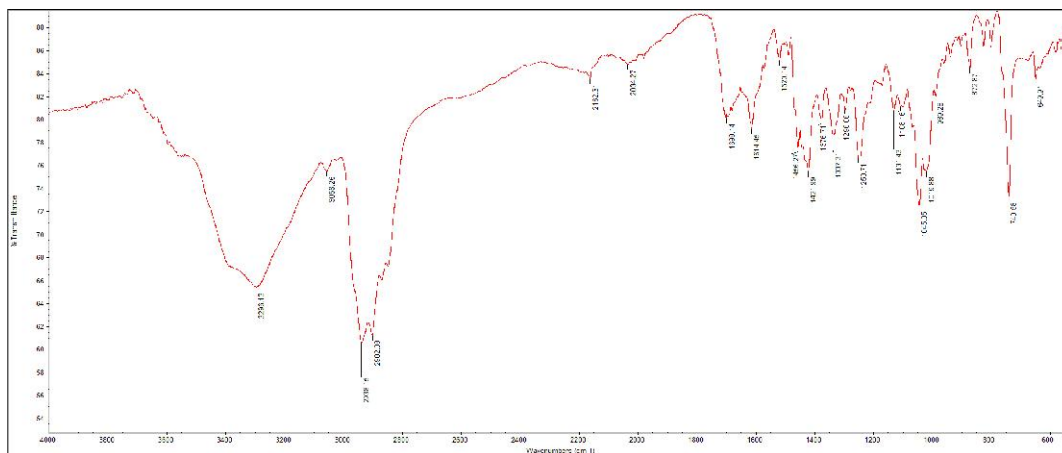


Figura 10 - Análise espectroscópica IV de (2b)

Esta reação parece ter decorrido normalmente, tal como indicaram as CCF realizadas no final da mesma. Após o isolamento do produto na forma de cristais acastanhados, a sua caracterização por espectroscopia IV mostrou, nomeadamente, que o sinal correspondente ao grupo carbonilo era muito mais fraco que o habitual. Os espectros ^1H -RMN e ^{13}C -RMN obtidos mostraram que não estava presente o produto esperado, não tendo sido possível efectuar a caracterização do produto em análise.

Discussão da parte experimental

Assim como foi descrito anteriormente, o presente trabalho teve como foco as adições de Michael de diferentes aminas em moléculas de esteróides.

Em primeiro lugar, reproduziu-se parcialmente o procedimento realizado por Kumar *et al* [26], que também usou morfolina em reações de Michael com 16-DPA. Este procedimento já foi anteriormente realizado pela nossa equipa, mas o tempo dispendido (cerca de 90 horas, sem que todo o substrato fosse consumido) foi imensamente superior ao tempo de reação descrito por Kumar (4 horas) e foi necessário o uso de um catalisador. Assim, experimentou-se aplicar a lei de Van't Hoff que relaciona o aumento da temperatura do sistema com a diminuição do tempo de reação. Assim, com um aumento de 35°C na temperatura reacional, conseguimos diminuir o tempo de reação, de 90 para aproximadamente 20 horas. Após purificação e análise, observamos que os parâmetros de RMN do produto obtido (Figura 6) correspondiam aos descritos por Kumar [26].

As experiências foram prosseguidas através da tentativa do processamento desta reação com micro-ondas, através da adaptação do método proposto por Tabatabaeian e colaboradores [25], que previa a adição de Michael na junção entre os anéis A e B, em C5. A investigação foi iniciada com a avaliação da reatividade do propionato de testosterona com o indol. Devido a motivos ambientais e de reatividade, o catalisador utilizado originalmente por Tabatabaeian

foi substituído pelo triflato de bismuto, uma vez que este é capaz de catalisar, satisfatoriamente, a formação das ligações desejadas.

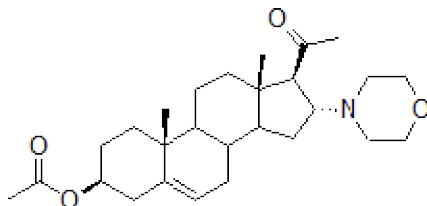


Figura 11 - Acetato de 16 α -morfolinopregnenolona

As experiências foram prosseguidas através da tentativa do processamento desta reação com micro-ondas, através da adaptação do método proposto por Tabatabaeian e colaboradores [25], que previa a adição de Michael na junção entre os anéis A e B, em C5. A investigação foi iniciada com a avaliação da reatividade do propionato de testosterona com o indol. Devido a motivos ambientais e de reatividade, o catalisador utilizado originalmente por Tabatabaeian foi substituído pelo triflato de bismuto, uma vez que este é capaz de catalisar, satisfatoriamente, a formação das ligações desejadas.

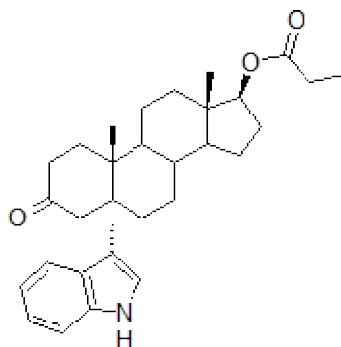


Figura 12 - Propionato de 5 α -indoletestosterona

Conforme o esperado, e confirmado pelas CCFs, o substrato foi consumido durante o tempo de reação, sendo formado um produto cristalino. Entretanto, nas análises por CCF observou-se a formação de mais uma nova mancha de produto. Assim, foi levantada a hipótese da hidrólise da função éster paralelamente à adição de Michael. A hipótese da ocorrência desta possível hidrólise assumiu ainda mais força ao observar-se, na análise de IV que as bandas que seriam relacionadas a esta função, não estavam expressas no espectro, enquanto um sinal

que poderia ser referente à ligação do hidroxilo resultante da hidrólise, passou a aparecer. Entretanto as análises de RMN revelaram que a função éster ainda poderia estar presente (Figura 12), numa possível mistura de produtos.

Dando a continuação aos estudos em micro-ondas, utilizou-se também para reagir com o indole, a testosterona na sua forma livre, sob as mesmas condições da reação anterior. Novamente obteve-se como produto um sólido cristalino. Ao visualizar a CCF desta segunda reação, foi observado que o produto tem um Rf semelhante com o subproduto formado na reação anterior, mais uma vez reforçando a idéia de hidrólise da função éster. A análise dos espectros de IV e de RMN sugeriram que o produto possa, contudo, não ser o esperado.

Em seguida voltou-se a aplicar a reação de adição de Michael em micro-ondas, mas utilizou-se a 16-DPA como substrato. A reação produziu baixa reatividade e uma mistura de produtos, da qual não se conseguiu isolar o produto esperado para a devida caracterização.

Uma vez que 16-DPA não apresentou reatividade em micro-ondas, foi decidido que o próximo teste a ser realizado seria a adição no anel D, já reproduzida pela nossa equipa em condições convencionais. Como em micro-ondas a reação não ocorreu, fica a necessidade de um estudo mais aprofundado acerca da reatividade de 16-DPA em micro-ondas.

Uma vez que as adições em 16-DPA com micro-ondas não estavam a ocorrer, optou-se por retornar às condições reacionais convencionais. Desta forma, foi também testada a reatividade da 16-DPA com a piperidina. Como esperado, devido à sua semelhança estrutural com a morfolina, que obteve resultados positivos, a reação com a piperidina também ocorreu. A análise por IV veio a confirmar que o produto produzido era o esperado (Figura 13) devido aos picos indicando a ligação simples entre carbono e azoto.

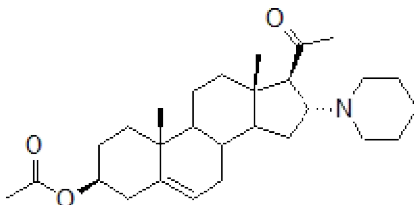


Figura 13- Acetato de 16 α -piperidinopregnenolona

Com o procedimento das reações, foi realizada a tentativa da adição de imidazole, que segundo a CCF realizada, obteve sucesso, ao ser constatado o consumo total do substrato.

Entretanto, a análise do produto através de IV foi inconclusiva, uma vez que os sinais expressos no espectro não foram capazes de conduzir-nos a nenhuma conclusão sobre o que de fato foi produzido pela reação. Contudo, por RMN parece que a reação terá ocorrido obtendo-se o produto pretendido (Figura 14), bem como imidazole como impureza.

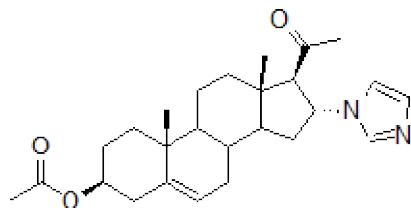


Figura 14 - Acetato de 16 α -(1-imidazole)pregnenolona

A adição conjugada de indole à 16-DPA constituiu um fato curioso nesta investigação. Apesar de acontecer consumo de substrato, foi revelada pela CCF uma série de subprodutos. Durante o processo de extração, ocorreu mudança intermitente de cores ao ser adicionado ao sistema uma solução de ácido clorídrico. Acredita-se que esta mudança tenha sido causada pela interação do ácido com o metal do catalisador a interagir com o anel indole, uma vez que este processo teve final com a neutralização do conteúdo. Ao final do processo de extração, observou-se que não houve sucesso na tentativa de isolar o produto dos subprodutos, pelo que foi avaliado que o prosseguimento deste experimento com as análises em IV e RMN não eram justificáveis.

Finalmente, realizou-se a tentativa de adição de morfolina ao propionato de testosterona, que, apesar do consumo do substrato, não apresentou nenhuma formação de produto. Observou-se, assim, que a enona no anel D se mostrou reactiva perante N-nucleófilos e a do anel A perante o C-nucleófilo indol. De momento, além de possíveis considerações estéricas, ainda não foi encontrada uma possibilidade explicativa da reatividade aqui observada.

O resumo da rotina experimental está expresso na Tabela (4):

Tabela 4 - Resumo das reações executadas

Esteróide	Nucleófilo	Condições	Temp.	Tempo	Rendimento
16-DPA	Imidazol	Convencionais	90°C	4 h	Não foi possível calcular o rendimento
	Indol	Convencionais	65°C	16 h	Mistura de produtos
		Convencionais	80°C	21 h	58,2%
	Morfolina	Microondas	130°C	20 min.	Não houve reação
		Convencionais	80°C	11 h	85,5%
Propionato de Testosterona	Indol	Microondas	130°C	20 min.	75,0%
	Morfolina	Convencionais	45°C	3 h	Não houve reação
			80°C	3 h	Não houve reação
		Microondas	130°C	20 min.	Não houve reação
Testosterona	Indol	Microondas	130°C	20 min.	36,4%

Conclusão

A química farmacêutica tem um papel de fundamental importância na busca por novos compostos candidatos a serem explorados como medicamentos. Os estudos desempenhados nesta área podem contribuir imensamente na busca por novas moléculas, bem como na implementação de melhorias nas estruturas já conhecidas.

Isto foi demonstrado no presente trabalho, no qual, através de procedimentos reacionais simples, foi possível sintetizar vários compostos. O propionato de testosterona apresentou-se como um bom substrato para reações em micro-ondas nas condições descritas, o que confere um caráter sustentável ao processo, e conseguiu-se isolar um produto indolizado. A 16-DPA revelou-se também um promissor alvo de estudos de reações de adição de aminas utilizando porá reação de aza-Michael, uma vez que demonstrou reatividade frente a a várias aminas por nós utilizadas. O triflato de bismuto teve uma eficaz ação catalítica, o que confere valor ao mesmo na substituição de outros catalisadores para as reações de adição de Michael.

A utilização de técnicas *solvent-free* ou com o mínimo de solvente possível, bem como a aplicação de micro-ondas nos processos químicos, demonstraram ser possível a síntese de novos compostos, causando o mínimo de dano ambiental, seja pela economia de energia, ou pela produção diminuída de resíduos reacionais.

Finalmente, o potencial efeito dos esteróides contra linhagens de células tumorais sugere que estes novos compostos obtidos tenham sua atividade biológica avaliada em novos estudos com esta série de moléculas. Esta tarefa não foi executada por falta de tempo, mas deverá ser um ponto seguinte neste projecto.

Bibliografia

- [1] Bioquímica de Harper Murray, R. K. Murray, Harper's Biochemistry, Appleton & Lange, 2000;
- [2] Cunha, T. S., Cunha, N. S., Moura, M. J. C. S., Marcondes, F. K., Esteróides anabólicos androgênicos e sua relação com a prática desportiva, Rev. Bras. Cienc. Farm, 2004, 24, 165-179;
- [3] Solomons, T. W., Fryhle, C. B., Solomons, T. G., Organic Chemistry, 7th Ed. John Wiley, 1999;
- [4] Morrison, R. T., Boyd, R. N., Organic Chemistry, 6th ed., Prentice Hall, 2001;
- [5] Hardman, J. G., Limbird, L. E., Gilman, A. G., As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman & Gilman, 10ª Ed, McGraw-Hill, 2005;
- [6] Silva, C. C., Estudos visando a síntese dos anéis C e D de esteroides, Tese de doutorado apresentado ao departamento de pós-graduação do Instituto de Química da Universidade Nacional de Brasília, Brasília, 2005;
- [7] American Chemical Society International Historic Chemical Landmarks. The "Marker Degradation" and Creation of the Mexican Steroid Hormone Industry 1938-1945. <http://portal.acs.org/portal/PublicWebSite/education/whatischemistry/landmarks/progesteronesynthesis/index.htm> (10 de Junho, 2013);
- [8] Marker, R. E., Rohrmann, E., Sterols. LXXXVIII. Pregnanediols from Sarsasapogenin, J. Am. Chem. Soc., 1940, 62, 518-520;
- [9] Fernandez-Herrera, M. A., Hernandez-Linares, M. G., Guerrero-Luna, G., Meza-Reyesa, S., Montiel-Smith, S., Sandoval-Ramirez, J., Synthesis of (25R)-17 α -Hydroxy-22-oxocholest-5-ene-3 β ,16 β ,26-triyl Triacetate: A One-Pot Approach to the Protected Aglycon Analogue of OSW-1, Lett. Org. Chem., 2011, 8, 341-346;
- [10] Yan, Z., Yong-Yong, L., Xue-Xin, C., Xue-Song, W., Bao-Wen, Z., An Environmentally Friendly Process for the Preparation of 16-Dehydropregnenolone Acetate. Chin. J. Chem., 2005, 23: 753-756;
- [11] Newton, J. F., Braselton Jr., W. E., Lepper, L. F., McCormack, K. M., Hook, J. B., Effects of polybrominated biphenyls on metabolism of testosterone by rat hepatic microsomes, Toxicol.Applied Pharmacol., 1982, 63, 142-149;

- [12] George.F.W., and Wilson,J.D., Embryology of the genital tract. In, Campbell's Urology, 6th ed.(Walsh, P.C., Retik, A.B., Stamey.T.A., eds.) W.B.Saunders, Philadelphia, 1992, 1496-1506;
- [13] Stamatiou, K., Pierris, N., Could Testosterone Have a Therapeutic Role in Prostate Cancer?, Urol J., 2013 Winter;10, 747-54;
- [14] Guyton, A. C., Hall, J. E., Tratado de Fisiologia Médica, 11^a Ed., Elsevier, 2006;
- [15] Rosa e Silva, A. C. J. S., Silva de Sá, M. F., Effect of sexual steroids on mood and cognition, Rev. Psiq. Clín. 2006,33, 60-67;
- [16] Huggins, C. B., The hormone-dependent cancers, Bull. N. Y. Acad. Med. 1963; 39, 752-757;
- [17] Menon, K. M. J., Reel, J. R., Steroid Hormone Action and Cancer, Curr. Topics in Mol. Endocrinol., Springer US, 1976, 4;
- [18] Poliakoff, M., Fitzpatrick, J. M., Farren T. R., Anastas, P. T., Green Chemistry: Science and Politics of Change, 2002, Science, 297, 807-810;
- [19] Carey, J. S., Laffan, D., Thomsonc, C., Williams M. T, Analysis of the reactions used for the preparation of drug candidate molecules, Org. Biomol. Chem., 2006, 4, 2337-2347.
- [20] Rulev, A. Y., Aza-Michael reaction: achievements and prospects, Russ. Chem. Rev., 2011, 80 , 197-218;
- [21] Zhong, C., Wang, Y., O'Herin, C., Young, D. W., Synthesis of substituted Morpholines Using Stereodivergent Aza-Michael Reactions Catalyzed by Brønsted Acids, ACS Catal. 2013, 3, 643-646;
- [22] Xu, R., Ding, J. C., Chen, X. A., Liu, M. C., Wu, H. Y., Gallium trichloride-catalyzed conjugate addition of indole and pyrrole to α , β -unsaturated ketones in aqueous media, Chin. Chem. Lett., 2009, 20, 676-679;
- [23] Escalante, J., Carrillo-Morales, M., Linzaga, I., Michael Additions of Amines to Methyl Acrylates Promoted by Microwave Irradiation, Molecules 2008, 13, 340-347;
- [24] Sharma, U., Bora, U., Boruah, R. C., Sandhu, J. S., Alumina-promoted fast solid-phase Michael addition of enamines with conjugated enones under microwave irradiation, Tetrahedron Lett., 2002, 43, 143-145;

- [25] Tabatabaeian, K., Mamaghani, M., Mahmoodi, M., Khorshidi, A., Diastereoselective ruthenium-catalyzed Michael addition of indoles to hormone steroids: an efficient route to new indole derivatives, *Synth. Commun.*, 2010, 40, 1677 - 1684;
- [26] Kumar M., Rawat P., Khan M. F., Rawat A. K., Srivastava A. K., Maurya R., Azaannulation on the 16-dehydropregnenolone, via tandem intermolecular Aldol process and intramolecular Michael addition, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2011, 21, 2232- 2237
- [27] Inácio, J. P. F., Esteróides antitumorais: a funcionalização seletiva do anel D de esteróides da série pregnano no desenvolvimento de potenciais agentes anticancerígenos, Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas apresentada à Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior;
- [28] Cohen Stuart, C.P., A study of temperature-coefficients and van 't Hoff's rule, in: KNAW, *Proceedings*, 14 II, 1911-1912, Amsterdam, 1912,. 1159-1173.
- [29] Barthakur, M. G., Chetia, A., Boruah, R. C., Microwave-promoted one-pot synthesis of 4H-thiopyrans from α,β -unsaturated ketones via a three-component reaction, *Tetrahedron Lett.*, 2006, 47, 4925-4927;
- [30] Gould D., Shapiro E. L, Finckenor, L. E., Gruen F., Hershberg E. B., Steroidal Amines. 111. 16 α -Amino-Substituted Pregnanes, *J Am. Chem. Soc.*, 1956, 78, 3158-3163.
- [31] Srivastava N., Banik B. M., Bismuth Nitrate-Catalyzed Versatile Michael Reactions, *J. Org. Chem.*, 2003, 68, 2109-2114.