



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Catarina Outor Monteiro Diogo

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Alcalóides Pirrolizidínicos:
Uma (Re)Visão da Problemática” referentes à Unidade Curricular
“Estágio”, sob a orientação do Dr. Paulo Monteiro e do Professor
Doutor Carlos Cavaleiro e apresentados à Faculdade de Farmácia da
Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas
públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro de 2020



UNIVERSIDADE D COIMBRA

Catarina Outor Monteiro Diogo

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Alcalóides Pirrolizidínicos: Uma (Re)Visão da Problemática” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação do Dr. Paulo Monteiro e do Professor Doutor Carlos Cavaleiro e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2020

Declaração de Autoria

Eu, Catarina Outor Monteiro Diogo, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2015229592, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Alcalóides Pirrolizidínicos: Uma (Re)Visão da Problemática” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

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

Coimbra, 11 de setembro de 2020.

Catarina Outor Monteiro Diogo

(Catarina Outor Monteiro Diogo)

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Filomena e Luís, por estarem sempre presentes e acreditarem em mim. Por me ajudarem em tudo o que lhes foi possível, por nunca me deixarem desistir e por me instigarem, sempre, a ir mais além. Um obrigado nunca será suficiente.

À minha irmã, Sara, a minha outra metade, por ser o raio de sol nos meus dias nublados. E em todos os outros, também.

Ao meu namorado, Rui, por ter estado sempre lá para mim, para toda e qualquer coisa, e por ter sido uma peça vital, nesta reta final do meu percurso académico.

Às minhas melhores amigas da faculdade, Ângela e Rosana, por terem vivido, desde o primeiro momento, estes 5 anos, comigo. Sem vocês, não teria sido a mesma coisa.

Às minhas outras meninas - Xana, Rita e Sofia - por se terem juntado a nós, nesta aventura.

A todas as minhas colegas de casa, por me terem dado o privilégio de aprender a viver em comunidade, por me terem aturado, com tanta paciência e por terem feito da nossa casa uma casa, de facto.

Aos meus avós, tios, primos e restantes amigos, de sempre e para sempre, que fizeram, igualmente, parte desta etapa da minha vida.

Ao Senhor Professor Doutor Carlos Cavaleiro, por ter depositado em mim a confiança para realizar esta monografia e por me ter orientado eximamente, com a maior das atenções, no decurso da sua realização. Um obrigado muito especial.

Ao Dr. Paulo Monteiro e restante equipa, por me terem proporcionado a melhor experiência de estágio possível e por terem feito parte do culminar da minha formação académica.

À FFUC, por ter sido, no decurso destes 5 anos, como uma segunda casa para mim e por me ter formado com os melhores dos valores.

A Coimbra, por me ter acolhido e por se ter tornado na cidade do meu coração. Por me ter visto entrar menina e me ter feito sair mulher.

A todos, sem exceção, o meu mais profundo e sincero,

OBRIGADA!

“Success is the ability of going from one failure to another with no loss of enthusiasm.”

Winston Churchill

ÍNDICE

RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA

Lista de Abreviaturas e Acrónimos	8
Introdução	9
A Farmácia São José	10
Análise SWOT	11
Pontos Fortes	12
• Conhecimentos adquiridos no MICF	12
• Diversidade de tarefas executadas	12
• Autonomia no atendimento ao público	13
• Boas capacidades de comunicação	14
Pontos Fracos	15
• Conhecimento diminuto dos nomes comerciais dos medicamentos	15
• Desconhecimento de alguns produtos comercializados na farmácia	16
Oportunidades	17
• Variedade de produtos e serviços	17
• Robô e <i>Cashguard</i>	18
• Medicamentos manipulados	18
• Formações com delegados de informação médica	19
• Filosofia Kaizen	20
• COVID-19	20
Ameaças	21
• COVID-19	21
• Elevado número de colaboradores	22
• Preparação para as obras internas	23
Conclusão	23
Bibliografia	25
Anexos	26
Anexo 1 Fichas de Preparação de Medicamentos Manipulados	26
Anexo 2 Quadro Kaizen	32
Anexo 3 Caso Clínico I	33
Anexo 4 Caso Clínico II	34

ALCALÓIDES PIRROLIZIDÍNICOS: UMA (RE)VISÃO DA PROBLEMÁTICA

Lista de Abreviaturas e Acrónimos	36
Abstract	37
Resumo	38
Introdução	39
Alcalóides Pirrolizidínicos	40
Estrutura e Propriedades Físico-Químicas	41
Biossíntese e Ocorrência Vegetal dos Alcalóides Pirrolizidínicos	45
Toxicidade dos Alcalóides Pirrolizidínicos e Riscos por Exposição	48
Toxicocinética	49

Relação Estrutura-Toxicidade	51
Ativação Metabólica e Formação de Metabolitos Tóxicos Reativos	51
Hepatotoxicidade	54
Genotoxicidade e Carcinogenicidade	56
Especificidades que Influenciam a Toxicidade	59
Risco de Exposição a Alcalóides Pirrolizidínicos	60
Limites de Exposição.....	61
Posição das Autoridades Europeias.....	65
Posição da EMA	65
Posição da EFSA.....	67
Conclusão.....	69
Bibliografia	72

PARTE I

RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA

Lista de Abreviaturas e Acrónimos

AINE – Anti-Inflamatório Não Esteroide

COVID-19 – do inglês, *Coronavirus Disease 2019*

DCI – Denominação Comum Internacional

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

FSJ – Farmácia São José

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

SWOT – do inglês, *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

Introdução

De todos os ramos da farmácia, a comunitária é tida como a mais representativa da atividade farmacêutica. Para além de ser aquela que mais profissionais abarca, é a que desempenha, junto da população, um papel mais próximo e ativo. Apesar disso, este papel é, geralmente, desempenhado de forma discreta, camuflando a sua real importância.

O farmacêutico comunitário, para além de ser considerado “especialista do medicamento”, é também um “agente de saúde pública”, não só por ocupar uma posição privilegiada na cadeia de prestação de cuidados de saúde - funcionando como elo de ligação entre o médico e o utente -, mas também pela visibilidade que detém junto ao público, não fosse a farmácia um dos primeiros locais que o utente procura, para as mais diversas situações. De facto, o objetivo principal do ato farmacêutico é a pessoa do doente, o que faz com que as funções do farmacêutico vão muito além do medicamento [1]. Exemplo disso são as muitas atividades, para além da cedência do medicamento, desempenhadas por estes profissionais de saúde, que incluem o aconselhamento e indicação farmacêuticos, a revisão da terapêutica, o seguimento farmacoterapêutico, a farmacovigilância, o despiste e identificação, de forma precoce, de fatores de risco, a educação para a saúde e a sensibilização para o uso racional do medicamento, sempre com o objetivo de acompanhar e melhorar os resultados clínicos obtidos, minimizar as queixas do utente e promover o seu bem-estar.

A fim de concluir o Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) é necessária a realização de um estágio curricular em farmácia comunitária. Este estágio vai, assim, ser o culminar de cinco anos de ensino teórico-prático, dando a oportunidade de consolidar e aplicar os conhecimentos até aqui adquiridos, contactar verdadeiramente com as funções do farmacêutico comunitário e com o utente, e aprender a lidar com os desafios e exigências desta profissão. Para além disso, constitui ainda uma óbvia vantagem para aqueles que desejam ingressar neste mercado de trabalho.

No presente relatório, redigido na forma de uma análise SWOT (do inglês, *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*), abordo a realidade vivida, enquanto estagiária, na Farmácia São José (FSJ), destacando, de forma crítica e fundamentada, os pontos fortes, os pontos fracos, as oportunidades e as ameaças relativos a este estágio. Por fim, apresento alguns casos clínicos práticos, com os quais me deparei, ao longo deste período.

A Farmácia São José

Realizei o meu estágio na FSJ, entre os dias 11 de maio e 21 de agosto de 2020, completando um total de 680h, sob a orientação do Dr. Paulo Monteiro, diretor técnico e proprietário da farmácia, e com o acompanhamento diário da restante equipa. A sua localização, a diversidade de produtos, o *feedback* que obtive por parte de estagiários anteriores e o grande fluxo de utentes foram os principais motivos que me levaram a selecioná-la para a realização do meu estágio.

A FSJ teve o seu primeiro alvará em junho de 1949, tendo sido oficialmente aberta ao público no ano seguinte. Em 1984, foi transferida para a localização onde, atualmente, se encontra, na Avenida Calouste Gulbenkian, lote 5, R/C, na freguesia de Santo António dos Olivais, em Coimbra, tendo, ao longo dos anos, sofrido várias e constantes remodelações, até atingir a atual disposição.

No seu interior, a FSJ dispõe de 2 pisos. O rés-do-chão, onde se localiza a área de atendimento, constituída por 10 balcões e 2 gabinetes, sendo estes últimos destinados à prestação de serviços farmacêuticos, como medição de pressão arterial, determinação de parâmetros bioquímicos, administração de injetáveis, mas também consultas de nutrição e reuniões. O primeiro andar, para além de um laboratório, de um escritório, de uma sala destinada a arrumação de produtos e de uma casa de banho, possui a instalação do robô, constituindo este a maior área de armazenamento da farmácia.

Além da sua localização privilegiada, junto ao Centro Hospitalar Universitário de Coimbra, ao Centro de Saúde de Celas, à Maternidade Bissaya Barreto, ao Instituto Português de Oncologia de Coimbra e, ainda, a vários consultórios médicos existentes na zona, a FSJ encontra-se aberta ao público de segunda a sexta, das 8:30h às 21h e aos sábados, das 9h às 20h, tendo, por isso, um horário bastante competitivo. Aliando as razões supracitadas à vasta gama de produtos e serviços disponíveis, e também à própria história da FSJ, não é de estranhar a grande afluência de todo o tipo de utentes, das mais variadas faixas etárias, estratos socioeconómicos e níveis de literacia. Este contacto com diferentes realidades requer uma constante adaptação e, para isso, a FSJ dispõe de colaboradores à altura destes requisitos. A sua equipa é constituída por 9 farmacêuticos, 5 técnicos de farmácia e 2 técnicas auxiliares de farmácia. Para além disso, conta ainda com 1 auxiliar de limpeza e 1 contabilista.

Análise SWOT

Através do presente relatório, pretendo fazer uma reflexão crítica, onde destaco os aspetos positivos e os negativos, acerca do meu desempenho e das atividades que desenvolvi, ao longo do meu estágio na FSJ. Para tal, vou recorrer à realização de uma análise SWOT, que será relativa à frequência do estágio, à integração da aprendizagem teórica e em contexto simulado na prática profissional e à adequação do curso às perspetivas profissionais futuras, nomeadamente no que toca ao farmacêutico comunitário.

Uma análise SWOT inclui os pontos fortes (**Strengths**), os pontos fracos (**Weaknesses**), as oportunidades (**Opportunities**) e as ameaças (**Threats**), sendo que os dois primeiros são referentes ao ambiente interno e os dois últimos ao ambiente externo. Assim, os pontos fortes e os pontos fracos são relativos a mim, às minhas capacidades, conhecimentos e habilidades. Já os outros dois são situações externas e por mim não controláveis, que, enquanto estagiária, me permitiram (Oportunidades) ou, pelo contrário, me impediram (Ameaças) de ir além do expectável. De seguida, apresento um resumo esquemático, onde discrimino todos os 4 parâmetros supracitados.



Esquema I | Análise SWOT relativa ao estágio na FSJ.

Pontos Fortes

- **Conhecimentos adquiridos no MICF**

Sem dúvida alguma, considero que um dos pontos fortes do meu estágio foi toda a bagagem de conhecimentos que me foram transmitidos, enquanto estudante, no MICF. Sendo esta uma das primeiras vezes que contactei verdadeiramente com a prática da farmácia comunitária e lidei, de perto, com utentes e medicamentos, não posso negar a importância de ter tido bases sobre muitas das questões com que fui posta à prova, no decorrer do meu estágio, nomeadamente saber as classes farmacoterapêuticas e mecanismos de ação de muitos dos medicamentos com que contactava; ter conhecimento de algumas possíveis interações, contraindicações e precauções especiais de utilização; que questões colocar aos utentes em determinadas situações; conhecer os valores dos parâmetros bioquímicos; ter ideia de alguns dos procedimentos e protocolos de manipulados que eram preparados na FSJ; e, ainda, ter uma noção relativamente ao Sifarma 2000[®], sistema informático da farmácia.

Assim, tenho perfeita noção de que grande parte dos conhecimentos que adquiri no MICF, ao longo destes 5 anos, me fizeram lidar com as situações com que me deparei, ao longo deste estágio na FSJ, de forma mais segura e confiante, tendo-se isso traduzido numa melhor prestação da minha parte.

- **Diversidade de tarefas executadas**

Ao longo do meu estágio na FSJ, realizei das mais variadas tarefas que se podem executar numa farmácia comunitária. Para além da habitual conferência e receção de encomendas, da arrumação de produtos e do atendimento ao público, também trabalhei ativamente com o Sifarma 2000[®], tendo realizado de forma autónoma e rotineira tarefas como: fazer encomendas instantâneas, fazer devoluções, regularizar devoluções e notas de crédito, trabalhar com o cartão das farmácias portuguesas, fazer quebras de produtos, atender encomendas feitas *online* e fazer a faturação, no final do mês. Para além disso, também coloquei produtos no robô, fiz a medição da tensão arterial a utentes, preparei manipulados e ajudei a inventariar todo o material de acondicionamento, bem como todas as matérias-primas presentes no laboratório da FSJ, liguei para fornecedores, armazenistas, laboratórios, médicos e utentes, conferi e organizei receituário, alterei a disposição de lineares, de acordo com técnicas de gestão, rentabilidade e *marketing*, e ajudei nos processos de reorganização pelos quais a farmácia passou, durante o meu período de estágio. Para além disso, também fui, bastas vezes, ao banco, fazer depósitos da farmácia e buscar trocos, participei em entregas ao domicílio e assisti a reuniões com delegados de informação médica.

O facto de a equipa da FSJ sempre ter feito questão de me tratar, a mim e aos restantes estagiários, como colaboradores da farmácia, fez com que pudéssemos realizar toda uma panóplia de tarefas e lidar com inúmeras situações, tal como se de membros efetivos da equipa nos tratássemos. Esta postura, para além de me ter acrescentado um sentido de autonomia e de responsabilidade, transpareceu a confiança que depositavam em nós, o que, no meu caso, me conferiu muita mais confiança e segurança para realizar novas e diferentes tarefas, que iam sendo propostas e deu-me à vontade suficiente para pedir para realizar e participar na execução de outras, pelas quais eu tinha especial interesse e curiosidade e até para, em certos momentos e contextos, tecer considerações e dar opiniões, ideias e sugestões sobre os mais variados assuntos relativos à farmácia.

Assim, considero que a diversidade de tarefas que executei se revelou um ponto forte do meu estágio, pois permitiu-me ter uma melhor prestação, já que tive uma visão muito mais abrangente da dinâmica e do funcionamento interno da farmácia e de todo o trabalho aí desenvolvido. O meu estágio foi, assim, muito mais enriquecedor e completo, na medida em que adquiri imensas competências em várias áreas, no âmbito da farmácia e não só, que certamente me deixaram mais preparada para, no futuro, ingressar no mercado de trabalho, em qualquer contexto profissional.

- **Autonomia no atendimento ao público**

Tendo em conta que a função primária da farmácia comunitária é a prestação de cuidados de saúde à população e uma vez que, a principal forma de o fazer é através do contacto direto com os utentes, torna-se clara a importância do atendimento ao público. Para além da óbvia dispensa de medicamentos, é no ato do atendimento que o farmacêutico tem a oportunidade de se destacar e de demonstrar a sua mais-valia enquanto profissional de saúde, isto porque, é neste contexto que tem a possibilidade de verificar a acuidade da dispensa e de dar informações relevantes ao utente acerca da medicação, posologia, possíveis efeitos adversos e cuidados especiais a ter. É aqui que pode escutar ativamente o utente, indo ao encontro das suas necessidades, prestando aconselhamento farmacêutico e, até mesmo, descortinar efeitos e reações adversos a algum produto. É com base na qualidade do aconselhamento e do atendimento que se estreita uma relação de confiança entre o farmacêutico e o utente, que vai permitir um seguimento e otimização da terapêutica.

Posto isto, o atendimento ao público acaba por ser a parte mais importante e desafiante de todas as tarefas da farmácia comunitária e no contexto do estágio é, simultaneamente, a parte mais esperada e a mais temida, pela complexidade e pela enorme responsabilidade que acarreta e, também, por ser como uma espécie de “teste final”, relativamente a todos os

ensinamentos que nos foram transmitidos, ao longo do MICF. Assim sendo, não fui exceção e, de facto, o atendimento ao público foi o maior desafio deste meu estágio. No entanto, desde cedo fui instigada a enfrentar os meus receios e inseguranças - advindos da minha inexperiência e do facto de cada caso ser, efetivamente, um caso - e a ir para o balcão, contando sempre com todo o apoio e auxílio da equipa da FSJ. Estes, para além de me esclarecerem toda e qualquer dúvida que me fosse surgindo, quer relativamente a produtos, questões informáticas ou situações mais atípicas, também me ensinaram a fazer um “atendimento de excelência” e deram-me dicas valiosas, nomeadamente, sobre como lidar com os diferentes tipos de utentes que pela FSJ passam. Assim, com o passar do tempo, fui encarando cada vez mais situações diferentes e, uma vez sabendo como proceder perante elas, fui ganhando mais confiança e à vontade, que se traduziram numa maior qualidade e competência dos meus atendimentos, até ao ponto em que me tornei praticamente autónoma.

Deste modo, a minha autonomia no atendimento ao público foi dos maiores pontos fortes do meu estágio, porque me permitiu alcançar esse objetivo, que sempre ambicionei. Para além disso, satisfez-me, pessoal e profissionalmente, ao fazer-me sentir uma “farmacêutica de verdade”, capaz de prestar um bom serviço aos utentes que por mim passaram, de os aconselhar e de, em certos casos, acreditar que melhorei, efetivamente, a sua situação, pondo, para isso, em prática, não só o que me foi transmitido pelos colaboradores da FSJ, mas também os conhecimentos que aprendi no MICF, tendo sido no decurso desta atividade que achei que estes mais se consolidaram e interligaram.

- **Boas capacidades de comunicação**

Tal como dito anteriormente, apesar de o atendimento ao público ter sido, para mim, um grande desafio, considero que uma das “armas” com que o enfrentei foi a minha capacidade de comunicação. Esta, para além de ser extremamente útil na hora de contactar com os utentes e de lhes passar as devidas informações, de forma mais clara - concedendo-me a possibilidade de realizar um melhor atendimento -, permitiu-me ainda, algumas vezes, dar a volta a determinadas situações. Para além disso, viabilizou que entabulasse diálogos com alguns utentes, após ouvir as suas queixas e preocupações. Este estreitamento de conversa levou, em certos casos, à criação de uma relação de confiança, entre mim e esses utentes, algo que me deixa extremamente orgulhosa e realizada, estando eu ciente da importância da relação farmacêutico-utente para uma maior garantia de qualidade e segurança das terapêuticas.

Para além dos utentes, ao longo do meu estágio, tive de estabelecer contacto com várias outras pessoas, como por exemplo armazenistas, delegados de informação médica e médicos - já para não falar de toda a equipa da FSJ - e, também nesses casos, me fiz valer das

minhas capacidades comunicativas. Assim, por todo o supracitado, creio que estas minhas aptidões se revelaram um ponto forte da minha prestação neste estágio - que tanto contacto com “o próximo” exige -, ao permitirem-me estabelecer diálogos e relacionamentos e a resolver equívocos e problemas de uma forma melhor e mais eficaz, pois “é a falar que a gente se entende”. Além do mais, acredito que estas minhas capacidades de comunicação me serão bastante úteis no futuro, quer em contexto profissional, quer fora dele.

Pontos Fracos

- **Conhecimento diminuto dos nomes comerciais dos medicamentos**

Uma das principais dificuldades pelas quais passei durante o meu estágio na FSJ foi, sem dúvida, a constatação da minha ignorância acerca dos nomes comerciais dos medicamentos, apesar de no MICF me terem introduzido alguns deles.

Desde 2012 que foi instituída a “promoção da prescrição por denominação comum internacional (DCI), nomeadamente através do controlo da prescrição e incentivo à utilização de medicamentos genéricos, como elementos estruturantes para o uso mais racional do medicamento” [2]. Assim, e desde sempre, a FFUC direccionou e abordou o ensino farmacológico para a substância ativa, o que vai ao encontro do que está previsto para a prescrição, segundo a Portaria nº137- A/2012, de 11 de maio, acima citada. No entanto, o utente não está sensibilizado para a prescrição por DCI e é, muitas vezes, consumidor assíduo de certas marcas, quer pela desconfiança que tem nos medicamentos genéricos, quer porque já está fidelizado com determinada marca, há vários anos.

Muitas vezes, ao longo dos atendimentos que realizei, fui confrontada com pedidos de medicamentos através do seu nome comercial. Nessas situações, sentia dificuldades em associar as substâncias ativas com as marcas dos medicamentos, que me tinham sido solicitados. Esta situação traduzia-se num constrangimento e num impasse durante o atendimento, que se acabava por tornar mais demorado e por vezes, até confuso, face à minha incapacidade de relacionar ambos os conceitos e, assim, entender claramente o que o utente me estava a pedir.

Esta minha lacuna, que foi sinceramente mais notória no início do meu estágio, para além de deixar os utentes com dúvidas acerca das minhas capacidades e competências, acabava por me deixar a mim também, tendo sido, por isso, um ponto fraco da minha prestação. Apesar disso, é com orgulho que posso dizer que, gradualmente, fui ultrapassando este

obstáculo, familiarizando-me com grande parte dos nomes comerciais e respetivas substâncias ativas, e por ter desenvolvido técnicas que me permitiram fazer essas associações, de forma discreta e em tempo útil, não comprometendo o atendimento, nem pondo em causa as minhas competências, perante os utentes.

- **Desconhecimento de alguns produtos comercializados na farmácia**

Nunca, em alguma outra altura, tinha sentido que o ditado “há de tudo, como na farmácia” tivesse tanto fundo de verdade, como após a realização deste estágio na FSJ. Isto porque, apesar de o MICF estar estruturado de forma a nos conferir uma vasta e diversificada formação - tendo, inclusive, unidades curriculares específicas sobre determinadas temáticas - e de nos consciencializar de que, nas farmácias, se comercializam muito mais do que medicamentos e dermocosméticos, ao longo do meu estágio, fui-me deparando com algumas dificuldades. Estas, foram particularmente sentidas nas áreas de dispositivos médicos, suplementação e dietética e veterinária, face à minha noção limitada da panóplia de artigos destas áreas, disponíveis na farmácia comunitária.

Desde almofadas que previnem e corrigem as deformidades cranianas posturais dos bebés; máscaras para colocar ao dormir, aromatizadas com alfazema; pensos em spray; dispositivos de crioterapia para verrugas; emplastos de eletroterapia; protetores solares em pó; bandas elásticas que impedem a entrada de água nos ouvidos; gotas auriculares que ajudam a secar a água que entrou para os ouvidos; tintas e ganchos para o cabelo; glucose líquida e edulcorantes; sopas, bebidas, bolachas, panquecas, gelatinas e sobremesas com baixas calorias: todos estes itens se encontravam disponíveis para venda ao público. Já no âmbito dos produtos de uso veterinário, tomei consciência de que estão disponíveis na farmácia muito mais do que os badalados desparasitantes externos e internos, por exemplo, comprimidos para insuficiência cardíaca congestiva, insuficiência renal crónica, manutenção do equilíbrio da função renal e melhoria dos sintomas associados à velhice.

Este meu desconhecimento causou, por vezes, alguns constrangimentos durante os atendimentos onde estes produtos me eram solicitados, já para não falar das dificuldades que senti relativamente ao seu aconselhamento e a dúvidas que sobre eles me eram colocadas, tendo-se, por isso, revelado um ponto fraco. Foi nestas situações que pude contar com o imprescindível auxílio da equipa da FSJ, que fez toda a diferença no decorrer destes atendimentos.

Não obstante, considero que consegui transformar esta minha lacuna numa oportunidade para aumentar o meu conhecimento nestas áreas e, atualmente, apesar de ter

plena consciência de que ainda há todo um mundo de produtos comercializados em farmácia comunitária que desconheço, creio estar mais inteirada e informada sobre este assunto, sentindo-me mais preparada para ser abordada com questões neste âmbito.

Oportunidades

- **Variedade de produtos e serviços**

A FSJ possui uma oferta invejável de produtos e serviços, ao dispor dos seus utentes. Neste âmbito, saliento a sua grande aposta em produtos de dermocosmética, fazendo desta farmácia um local de referência nesta área. Tal deve-se, não só à enorme variedade de produtos disponíveis, que permite satisfazer um largo espectro de necessidades apresentadas pelos vários utentes, mas também pela existência de colaboradores especializados nesta área, capacitados para fazerem um aconselhamento de excelência.

Embora no MICF tenha tido uma cadeira dedicada a esta temática, considero que o facto de a FSJ ter uma forte componente no ramo da dermocosmética, se revelou uma ótima oportunidade de consolidar os conhecimentos que adquiri, ao longo do curso, e de os complementar e aprofundar. Para além disso, e considerando esta uma área em crescente expansão na farmácia comunitária, acredito que o meu contacto com tantas marcas, produtos e situações será uma ferramenta bastante útil no meu futuro profissional.

Já no que aos serviços concerne, a FSJ disponibiliza uma grande variedade, todos eles visando a promoção da saúde e do bem-estar do utente. Para além de sessões de aconselhamento com conselheiras de marcas de dermocosmética, administração de injetáveis, consultas de nutrição e de rastreios auditivos mensais, dispõe, ainda, da medição da pressão arterial, frequência cardíaca, glicémia, colesterol total e triglicéridos.

Estes últimos representam uma área de atuação farmacêutica de elevada importância, uma vez que permitem um contacto mais próximo e mais interventivo com o utente, podendo ser útil no despiste e deteção de algum fator de risco e no consequente encaminhamento para serviços médicos. No caso de doentes já medicados, é extremamente útil para monitorizar e seguir estes parâmetros bioquímicos, permitindo avaliar a eficácia das terapêuticas, perceber se a medicação está a ser tomada corretamente ou não e, ainda, reforçar junto do utente algumas medidas não farmacológicas a adotar.

Durante o meu estágio na FSJ tive a oportunidade de medir, bastas vezes, a pressão arterial a vários utentes, tendo, com isto, tido a hipótese de aplicar e consolidar os

conhecimentos adquiridos no MICF e de, simultaneamente, sentir que estava a prestar um serviço de cariz social, útil à comunidade. Ademais, e dada a situação de pandemia global de *Coronavirus Disease 2019* (COVID-19) que se vive, considero esta uma oportunidade, de facto, já que é do meu conhecimento que, em muitas outras farmácias, este tipo de serviços se encontrava, à data, suspenso.

- **Robô e Cashguard**

A FSJ encerra, nas suas instalações, um robô. Este elemento tecnológico, onde fica armazenada a grande maioria dos medicamentos da farmácia, é de extrema importância, uma vez que, para além de permitir uma maior rentabilização do espaço da farmácia, garante um atendimento mais eficaz, já que o robô minimiza erros de troca de medicamentos, e mais centrado no utente, na medida em que, como é o robô a fazer a dispensa da medicação, podemos utilizar esse tempo de permanência ao balcão para prestar aconselhamento ao utente. Para além disso, considero que a introdução manual dos produtos neste equipamento tenha sido uma ótima oportunidade para eu fazer a associação entre os nomes comerciais dos medicamentos e o princípio ativo, e também para me familiarizar com o aspeto das embalagens, visto que muitos utentes me pediam a medicação através da descrição da sua cartonagem. De salientar também que, os medicamentos introduzidos são arrumados e dispensados segundo a sua data de validade, o que acaba por permitir um controlo mais eficiente deste parâmetro. Assim, e para além de ter tido a oportunidade de, pela primeira vez, contactar com um equipamento deste género, está claro que o robô constitui uma óbvia vantagem na dinâmica e no funcionamento da FSJ, o que consequentemente se refletiu positivamente no meu desempenho durante o estágio.

Outro elemento tecnológico com o qual tive a oportunidade de, também, contactar pela primeira vez foi o *Cashguard*. Este é um aparelho que permite guardar o dinheiro resultante das vendas na farmácia, fazendo, simultaneamente, os trocos, de forma rápida e sem erros. Para além disso, este aparelho regista todos os movimentos nele realizados, por cada elemento da farmácia, constituindo uma importante ferramenta de gestão e de controlo de caixa, no fim do dia. Desta forma, considero a existência deste equipamento uma oportunidade, na medida em que me proporcionou uma prestação melhor e mais eficiente, nomeadamente no atendimento, durante o meu período de estágio.

- **Medicamentos manipulados**

Um medicamento manipulado é “qualquer fórmula magistral ou preparado oficial preparado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico” [3]. Apesar da notória

evolução da indústria farmacêutica, existe, ainda, a necessidade de preparação deste tipo de medicamentos, nomeadamente quando não existem no mercado determinadas formulações. Assim, a FSJ recebe com bastante frequência pedidos de medicamentos manipulados, quer por parte dos seus utentes, quer por parte de outras farmácias. Neste sentido, tive a oportunidade de acompanhar e ajudar na preparação de alguns deles, nomeadamente cápsulas de minoxidil, solução antisséptica de base alcoólica, cápsulas de ivermectina, pomada com ácido salicílico e suspensão oral de piridostigmina (Anexo I). Tive também a oportunidade de contactar com o *software* de gestão de manipulados existente na FSJ, o SoftGaleno[®], que permitia, entre outras, consultar e modificar fichas de preparação dos medicamentos manipulados anteriormente preparados, de forma mais fácil; calcular o preço do medicamento manipulado; gerir o *stock* do material de acondicionamento e das matérias-primas, bem como controlar o seu prazo de validade.

Assim, considero esta experiência muito útil e proveitosa, no sentido em que pude recordar e aplicar conhecimentos apreendidos em unidades curriculares do MICEF, concretamente, farmácia galénica e tecnologias farmacêuticas. Para além disso, foi, realmente, uma oportunidade, dado que nem todas as farmácias fazem este tipo de preparações, tendo este contacto representado uma vantagem e uma mais-valia na minha formação, e quem sabe, no meu futuro profissional.

- **Formações com delegados de informação médica**

Sendo a área da saúde e da farmácia um ramo em constante evolução, torna-se clara a importância de realizar frequentes e contínuas formações, para, assim, se poder prestar um melhor e mais atualizado serviço à comunidade. Neste sentido, a FSJ recebe com bastante assiduidade delegados de várias marcas de produtos, para pequenas formações. Durante o meu período de estágio tive a oportunidade de assistir a três delas, subordinadas aos temas de saúde oral, infeções virais e novos produtos da marca Avène[®]. Considero a presença nestas atividades como uma oportunidade para consolidar conhecimentos previamente adquiridos no MICEF, para enriquecer o meu conhecimento em novas áreas e, também, para melhorar a minha prestação no que ao aconselhamento dos utentes diz respeito. Mais oportunidade a considero, por saber que devido à pandemia de COVID-19 que atualmente vivemos, formações destas - presenças - a que assisti, com oportunidade de contactar e experimentar ao vivo os produtos que nos iam sendo apresentados, foram extremamente raras durante este período, tendo por isso sido um enorme privilégio frequentá-las.

- **Filosofia Kaizen**

Kaizen significa, em português, “mudar para melhor” e é tido como um pilar importante da estratégia competitiva de longo prazo de uma organização, sendo usado como uma arma para alcançar o crescimento rentável sustentável [4]. Na FSJ, esta metodologia já se encontrava implementada há alguns anos, mas durante o pico da pandemia de COVID-19 esteve em pausa, tendo sido retomada durante o meu período de estágio.

Esta ferramenta, que envolve a cooperação de toda a equipa, consiste na implementação de um conjunto de metodologias que vão culminar numa maior organização do espaço, numa otimização das atividades da farmácia, num trabalho de equipa mais normalizado e eficiente e num incentivo a uma maior comunicação entre os colaboradores.

Assim, considero vantajosa a realização do meu estágio mediante esta filosofia, pois, para além de ter sido uma ótima oportunidade de aprender sobre esta estratégia de melhoria contínua, acredito, realmente, que desde que foi reimplementada na FSJ, melhorou o seu funcionamento e desempenho, tendo tornado o espaço mais organizado, o trabalho de equipa mais focado e estimulado a comunicação e troca de ideias entre todos os membros da equipa, através de reuniões semanais, permitindo monitorizar os parâmetros críticos da FSJ, detetar falhas neste e noutros assuntos e, em conjunto, encontrar soluções para as ultrapassar. Neste sentido, o facto de esta filosofia organizacional ter melhorado o ambiente geral da FSJ foi benéfico, e acabou por se refletir no meu próprio estágio e na minha prestação durante o mesmo, melhorando-os.

- **COVID-19**

Foi no início deste ano que o mundo foi assolado por uma pandemia à escala global, que em muito veio alterar a rotina e a vida da população. Não obstante, e apesar de todos os inconvenientes que causou, acredito que também se tenha transformado numa oportunidade para me fazer ir mais além, quer como estagiária e futura profissional de saúde, quer como cidadã.

Durante esta pandemia, e embora com a habitual falta de reconhecimento, as farmácias tiveram um papel fulcral na prestação de cuidados de saúde, garantindo sempre o acesso dos medicamentos à população, e foram, uma vez mais, um dos primeiros sítios a que a população recorreu em busca de auxílio, tentando evitar hospitais e centros de saúde.

Assim, é com grande orgulho que posso dizer que estagiei durante este período e pude estar numa das linhas da frente do combate a esta pandemia. Para além de ter tido a oportunidade de realizar tarefas que de outro modo não tinha realizado tão cedo,

nomeadamente o atendimento ao público, uma vez que a equipa se encontrava, no início do meu período de estágio, reduzida, também pude ver e fazer parte de toda a reestruturação interna pela qual a farmácia passou, a fim de se adaptar a estes tempos conturbados. Deste modo, acredito que toda esta experiência tenha sido uma oportunidade única, de facto, e me tenha munido de ferramentas preciosas que certamente porei em prática, não só na minha vida profissional, mas também fora dela.

Ameaças

- **COVID-19**

Apesar da pandemia de COVID-19 ter apresentado algumas oportunidades no decorrer do meu estágio, a verdade, é que foi, maioritariamente, uma ameaça ao mesmo. Para além de ter atrasado o seu início em cerca de um mês, causou alguma desordem na FSJ. Por exemplo, o aumento da procura de material de proteção e combate à COVID-19 (álcool, álcool gel, máscara, luvas e viseiras) resultou no crescimento dos *stocks* destes produtos, que por falta de espaço, ficavam espalhados um pouco por toda a farmácia. Por outro lado, surgiram também novas rotinas e tarefas, de forma repentina, que ainda não estavam totalmente assimiladas, nem distribuídas por todos os membros da equipa. Para além disso, também em termos de recursos humanos, a FSJ apresentou, até determinada altura, alguma falta de pessoal, devido a baixas ou a redução de horário, que se traduziu numa redistribuição e, até mesmo numa sobrecarga, de tarefas pelos restantes elementos. Houve ainda, durante algum do tempo em que realizei este estágio, uma restrição no horário de funcionamento da farmácia, bem como do número de pessoas permitidas no seu interior.

Um outro aspeto importante prende-se com a diminuição do poder económico, resultante desta pandemia, e também da própria insegurança, que se fazia sentir, em sair de casa. Ambas se traduziram em menos idas à farmácia, o que, na FSJ, farmácia sempre muito movimentada, também se notou, havendo, por vezes, períodos do dia em que o fluxo de utentes era extremamente reduzido. Aliado a isto, procedimentos outrora normalíssimos, como contactar diretamente com o utente e com os seus pertences, ou deixá-lo tocar e experimentar certo material da farmácia, transforam-se em desconfianças e reservas, de ambas as partes, o que acabava por causar alguns constrangimentos no atendimento e na prestação de serviços aos utentes.

Assim, todas estas mudanças repentinas, fruto das restrições impostas por esta nova realidade, se traduziram nalguma, mas perfeitamente natural, desorganização, confusão e

incerteza na dinâmica da FSJ, que conseqüentemente, se repercutiram no meu estágio e na minha prestação.

- **Elevado número de colaboradores**

Apesar de, durante uma fase, a equipa da FSJ se ter encontrado reduzida, a verdade é que, com o restabelecimento da “normalidade”, todos os colaboradores voltaram ao ativo. Tal como referido anteriormente, a FSJ possui uma equipa numerosa, dada a sua dimensão e fluxo de utentes. Ora, um grande número de colaboradores pode, por vezes, criar alguns transtornos, não só porque, logo à partida, vão haver muitos feitios, pontos de vista e modos de atuação distintos, que são, por si só, difíceis de conciliar, mas também pela dificuldade que há em estabelecer uma forte comunicação entre todos os elementos, caso este que, por vezes, acontecia na FSJ. Esta falta de comunicação gerava algumas situações desconfortáveis, como a não transmissão de mensagens ou recados a todos os elementos da equipa; o desconhecimento da autoria e da responsabilidade de uma série de tarefas, nomeadamente, a arrumação de determinado produto ou o contacto com determinado utente ou fornecedor; ou a arrumação de produtos em sítios errados ou diferentes, dando origem a “erros de stock”. A ocorrência destas situações gerava constrangimentos, não só entre os membros da equipa, mas também no atendimento, perante os utentes, e tendo em conta que eu era um membro da equipa, tal como outro qualquer, naturalmente que esta situação também teve um impacto no meu estágio e na minha prestação durante o mesmo. Não obstante, creio que a COVID-19 tenha sido uma agravante de toda esta questão, dada a confusão que se viveu, as mudanças repentinas que se tiveram de fazer, a reorganização do espaço a que se teve de proceder e a redefinição de prioridades e de tarefas que houve, por entre todos membros da equipa.

Falando agora enquanto membro da equipa em processo de aprendizagem, o facto de haver muitos colaboradores diferentes na FSJ faz com que houvesse modos de desempenhar determinada tarefa, e de a ensinar, de formas diferentes, o que por vezes, me suscitou algumas dúvidas e confusões na execução de algumas delas.

Apesar de tudo isto, ao longo do meu estágio, foi notório o empenho de toda a equipa para contornar esta questão, nomeadamente através da reimplementação da filosofia Kaizen e das suas reuniões, que permitiram adotar medidas e estratégias para aumentar a comunicação entre todos os colaboradores, redefinir novos espaços de arrumação, atribuir inequivocamente tarefas a determinados elementos da equipa, minimizar erros e elaborar procedimentos para certas situações.

- **Preparação para as obras internas**

Tal como já vimos, a FSJ, tem como foco a sua melhoria contínua, não sendo exceção as suas instalações. Assim, será alvo de obras internas de forma a remodelar grande parte do primeiro piso, dando um cariz mais moderno à zona de atendimento e respetivos lineares.

Antes destas obras começarem, houve que retirar e arrumar, em locais provisórios, todos os produtos expostos e guardados nas zonas a ser intervencionadas. Tal empreendimento, para além de ter sido extremamente trabalhoso, exigiu a organização e colaboração de toda a equipa, não só para proceder à passagem e arrumação dos produtos, mas também para pensar nos melhores locais e na melhor forma para os dispor, durante este período provisório.

Apesar de o objetivo final ser claramente vantajoso, a situação em si revelou-se causadora de alguns constrangimentos, principalmente no atendimento, isto porque como uma grande parte dos produtos da farmácia tinha mudado de sítio, a sua localização era mais demorada. No entanto, e embora, inicialmente, tenha sido um desafio reaprender a localização destes produtos, não posso deixar de reconhecer que o processo de rearrumação, do qual fiz parte, foi uma oportunidade para contactar com muitos produtos que desconhecia, tendo-se isto transformado numa ótima forma de aprofundar conhecimentos.

Conclusão

Após a realização deste estágio, na FSJ, percebi que não seria possível, de todo, dar por terminado o meu curso sem a sua realização. Isto porque o estágio, como unidade curricular que é, acaba por ser parte integrante da nossa formação académica, e ainda que cinco anos de instrução teórico-prática nos deem uma preparação fundamental, nada se equipara à componente prática proporcionada pelo estágio curricular, que assim se torna numa boa ponte entre a formação universitária e a entrada no mercado de trabalho.

Este estágio, para além de ter sido uma ótima oportunidade para aplicar, consolidar e aprofundar os conhecimentos adquiridos ao longo do curso, foi também uma chance de ultrapassar dificuldades, aprender novos conceitos, desenvolver novas capacidades e contactar com novas realidades. Para além disso, também me permitiu perceber a real importância do papel do farmacêutico, na sociedade, e que este vai muito para além do medicamento. De facto, apercebi-me que a farmácia comunitária possui um estatuto único junto da população, não só pela sua facilidade de acesso, mas também porque os utentes veem no farmacêutico

um especialista de saúde, munido de uma enorme capacidade de ouvir e aconselhar as mais variadas situações e disponível a qualquer momento.

Deste modo, tornou-se, para mim, clara, a importância que o farmacêutico exerce junto da comunidade, o que só acrescentou responsabilidade ao meu futuro desempenho profissional e me fez querer, ainda mais, transformar-me numa farmacêutica conscienciosa, ativa e detentora de uma curiosidade, de uma vontade de aprender e de um espírito crítico constantes, inerentes a qualquer profissional de saúde que se preze. No fundo, transformar-me numa farmacêutica à altura das exigências, não só do mercado de trabalho e da constante inovação científica, mas também dos próprios utentes e da sociedade em geral, e ser capaz de mostrar o valor desta tão nobre profissão, de modo a que lhe seja atribuído o merecido reconhecimento.

Assim, é com este conjunto de ideologias e valores que termino o meu estágio na FSJ e o meu percurso académico e com os quais encaro o futuro profissional que se avizinha. Desta forma, considero que este estágio foi uma experiência extremamente enriquecedora, quer pelo enorme crescimento profissional e pessoal, quer por me ter munido de sólidos alicerces e de uma panóplia de ferramentas para construir, não só o meu futuro, mas também o futuro da profissão farmacêutica e contribuir para a sua valorização, esperando, ao longo deste caminho, poder fazer a devida diferença, junto da comunidade.

Bibliografia

- [1] - PITA, J.R., BELL, V. - **A Farmácia em Portugal nos Últimos 30 Anos: algumas reflexões sobre a farmácia de oficina ou comunitária.** Debater a Europa. (2016) 197-215.
- [2] - MINISTÉRIO DA SAÚDE - **Portaria N°137-A/2012, de 11 de maio** - Diário da República n° 92/2012, 1°Suplemento, Série I de 11 de maio. n° 137-A. (2012): (2478-(2-7)). [Acedido a 11 de agosto de 2020]. Disponível em: <https://dre.pt/application/file/a/668403>
- [3] - MINISTÉRIO DA SAÚDE - **Portaria N°594/2004, de 2 de junho** - Diário da República n° 129/2004, 1ªSérie B de 2004-06-02. n°594. (2004): (3441-3445). [Acedido a 14 de agosto de 2020]. Disponível em: http://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/portaria_594-2004.pdf/d8b8cac3-3250-4d05-b44b-51c5f43b601a
- [4] - KAIZEN INSTITUTE - **Missão do Kaizen Institute.** [Acedido a 14 de agosto de 2020]. Disponível em: <https://pt.kaizen.com/home.html>
- [5] - INFARMED - **Resumo das Características do Medicamento - Thrombocid 1 mg/g pomada.** [Acedido a 16 de agosto de 2020]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
- [6] - INFARMED - **Resumo das Características do Medicamento - Voltaren Emulgelex 23,2 mg/g gel.** [Acedido a 16 de agosto de 2020]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
- [7] - INFARMED - **Resumo das Características do Medicamento - Spidifen EF 400 mg granulado para solução oral.** [Acedido a 16 de agosto de 2020]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
- [8] - INFARMED - **Resumo das Características do Medicamento - Telfast 120, 120 mg comprimido revestido por película.** [Acedido a 16 de agosto de 2020]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
- [9] - INFARMED - **Evolução da Utilização e Despesa dos Anti-Histamínicos de 2010-2017.** [Acedido a 16 de agosto de 2020]. Disponível em: <https://www.infarmed.pt/documents/15786/2713015/Anti-histam%C3%ADnicos/417480e7-a88b-4fbe-9111-6036346588d6>

Anexo I | Fichas de Preparação de Medicamentos Manipulados

FARMÁCIA S. JOSÉ

Farmácia São José

Ficha de Preparação do Manipulado

Solução Antissética Base Alcoólica-SABA

Cliente: _____
 Forma Farmacêutica: SOLUÇÃO
 Data de Preparação: 12/05/2020 Prazo Validade : 10/08/2020
 N° Lote : 10.V.20 Registo Copiador : 2.131
 Condições de Conservação : _____
 Posologia: _____
 Qtd. Total Medicamento : 1 X 5.000,00 ml
 Director Técnico : Dr. Paulo Monteiro
 Operador : Dra. Carla Sousa
 Médico: _____

Honorários:	5,05 €	Valor Net :	220,71 €	Valor PVP
Factor Multiplicativo:	27,50	Valor IVA :	13,24 €	
		Valor Total:	233,95 €	233,95 €

Matérias Primas	Usar	N° Lote	Origem	Qtd. Usada	Unid	Preço Aq. s/ IVA	Factor Multiplic.	Preço Mat.prima
Água Purificada		0010322	Maialab	167,30	g	0,01 €	1,60	2,68 €
Água Purificada		0001.2020	J. M. Vaz Pereira	385,20	g	0,01 €	1,60	6,16 €
Glicerina (Glicerol)		42522	Vencilab	72,50	ml	0,01 €	1,90	1,24 €
Subtotal								10,08 €

Produto	Cod de Iva	% Iva	P.V.P	Preço
Água Oxigenada 10 V	NOR	23,00	1,00 €	0,81 €
alcohol a 96 %	NOR	23,00	1,90 €	1,54 €
alcohol a 96 %	NOR	23,00	1,90 €	1,54 €
alcohol a 96 %	NOR	23,00	1,90 €	1,54 €
alcohol a 96 %	NOR	23,00	1,90 €	1,54 €
alcohol a 96 %	NOR	23,00	1,90 €	1,54 €
alcohol a 96 %	NOR	23,00	1,90 €	1,54 €
alcohol a 96 %	NOR	23,00	1,90 €	1,54 €
alcohol a 96 %	NOR	23,00	1,90 €	1,54 €
alcohol a 96 %	NOR	23,00	1,90 €	1,54 €
alcohol a 96 %	NOR	23,00	1,90 €	1,54 €
alcohol a 96 %	NOR	23,00	1,90 €	1,54 €
alcohol a 96 %	NOR	23,00	1,90 €	1,54 €
alcohol a 96 %	NOR	23,00	1,90 €	1,54 €
alcohol a 96 %	NOR	23,00	1,90 €	1,54 €
alcohol a 96 %	NOR	23,00	1,90 €	1,54 €
alcohol a 96 %	NOR	23,00	1,90 €	1,54 €
alcohol a 96 %	NOR	23,00	1,90 €	1,54 €
alcohol a 96 %	NOR	23,00	1,90 €	1,54 €
alcohol a 96 %	NOR	23,00	1,90 €	1,54 €
alcohol a 96 %	NOR	23,00	1,90 €	1,54 €
alcohol a 96 %	NOR	23,00	1,90 €	1,54 €

Preparação

Consultar as fichas de dados de segurança dos constituintes.

Verificar o estado de limpeza da bancada e do material.

Medir o etanol 96° para proveta.

Adicionar lentamente o peróxido de hidrogénio 3% e a glicerina pura.

Preparação	
Homogeneizar com agitação suave.	
Completar o volume com água purificada e agitar suavemente.	
Proceder ao controlo de qualidade.	
Acondicionar nas embalagens finais e rotular.	
Aparelhagem	
Proveta	
Alcoómetro	
Vareta de vidro	

Ensaio	Especificação	Conforme	Utilizador	Assinatura
Odor	Característico	<input checked="" type="checkbox"/>		
Quantidade	5000 mL +/- 5%	<input checked="" type="checkbox"/>		
Aspecto	Limpida	<input checked="" type="checkbox"/>		
Cor	Transparente e incolor	<input checked="" type="checkbox"/>		

____/____/____
(Data)

(Assinatura)



Ficha de Preparação do Manipulado

Cápsulas: Minoxidil 0,5 mg + Lactose qb

Cliente:
 Forma Farmacéutica: CAPSULA
 Data de Preparação: 16/06/2020
 N° Lote : 12.VI.20
 Condições de Conservação : Em recipiente bem fechado, em local seco e fresco.
 Posologia:
 Qtd. Total Medicamento : 1 X 100,00 uni
 Director Técnico : Dr. Paulo Monteiro
 Operador : Dra. Marta Abreu
 Médico:

Valor Net : 39,08 €
 Valor IVA : 2,34 €
Valor Total: 41,42 €

Valor PVP
41,42 €

Honorários: 5,05 €
 Factor Multiplicativo: 5,00

Matérias Primas	Usar	N° Lote	Origem	Qtd. Usada	Unid	Preço Aq. s/ IVA	Factor Multipl.	Preço Mat.prima
Lactose		190614-P-	Acofarma	54,00	g	0,02 €	1,90	1,95 €
Minoxidil		180257-J-	Acofarma	0,05	g	0,32 €	2,80	0,04 €
Subtotal								1,99 €

Preparação	
Verificar o estado de limpeza e conservação do material e laboratório.	
Pesar o minoxidil. (Ver cálculos)	
Pesar a lactose.	
Misturar por diluição geométrica no almofariz de porcelana.	
Proceder ao encapsulamento.	
Acondicionar e rotular.	
Limpar e arrumar o laboratório.	

Embalagem	Tipo	N° Lote	Fornecedor	Capac	Qtd	Preço	Fact. Mult.	Valor Net
Frasco de Vidro 150 mL	EMBAL		Plural	150 mL	1,00	0,65 €	1,20	0,78 €
Cápsulas nº0	EMBAL	19100159-23	Fagron	0,68 mL	++++	0,02 €	1,20	2,04 €
Subtot								2,82 €

Ensaio	Especificação	Conforme	Utilizador	Assinatura
Cor	Esbranquiçada	<input checked="" type="checkbox"/>		
Odor	Inodoro	<input checked="" type="checkbox"/>		
Quantidade	100 cápsulas	<input checked="" type="checkbox"/>		

16/06/2020
(Data)

(Assinatura) **Paulo Monteiro** Unip., Lda
 Director Técnico:
 Paulo Jorge da Silva Monteiro
 NIPC mat. CRC Coimbra 503 864 387
 Rua da Universidade, Lote 5
 3000-072 COIMBRA



Ficha de Preparação do Manipulado

Cápsulas de Ivermectina 16 mg

Cliente: _____
 Forma Farmacêutica: CAPSULA
 Data de Preparação: 13/08/2020 Prazo Validade: 09/02/2021
 Nº Lote: 4.VIII.20 Registo Copiador: 2.193
 Condições de Conservação: Em local seco e fresco e recipiente bem fechado.
 Posologia:
 Qtd. Total Medicamento: 1 X 2,00 uni
 Director Técnico: Dr. Paulo Monteiro
 Operador: Dra. Marta Abreu
 Médico: _____

Honorários: 5,05 €
 Factor Multiplicativo: 4,50

Valor Net: 32,48 €
 Valor IVA: 1,95 €
Valor Total: 34,43 €

Valor PVP
34,43 €

Matérias Primas	Usar	Nº Lote	Origem	Qtd. Usada	Unid	Preço Aq. s/ IVA	Factor Multiplic.	Preço Mat.prima
Lactose	1.06	190614-P-	Acofarma	1,06	g	0,02 €	2,20	0,04 €
Ivermectina	0.032	191334-E-	Acofarma	0,03	g	19,58 €	2,80	1,64 €
Subtotal								1,68 €

Preparação

Verificar o estado de limpeza e conservação do material e laboratório.

Pesar a Ivermectina e o diluente (lactose) - Cálculos Método Algébrico.

Misturar a s.a. e o diluente num almofariz de porcelana pelo método de diluição geométrica, misturando um corante se necessário.

Proceder ao encapsulamento.

Colocar em frasco de vidro e rotular.

Limpar e arrumar o laboratório.

Aparelhagem

Balança electrónica

Embalagem	Tipo	Nº Lote	Fornecedor	Capac	Qtd	Preço	Fact. Mult.	Valor Net
Frasco de Vidro 30 mL	EMBAL	191080-X-1	Acofarma	30 mL	1,00	0,45 €	1,20	0,54 €
Cápsulas nº0	EMBAL	200295-CB-1	Acofarma	0,68 mL	2,00	0,02 €	1,20	0,04 €
Subtot								0,58 €

Ensaio	Especificação	Conforme	Utilizador	Assinatura
Cor	Esbranquiçada	<input checked="" type="checkbox"/>		
Odor	Inodoro	<input checked="" type="checkbox"/>		

(Data)

(Assinatura)

FARMÁCIA S. JOSÉ



Ficha de Preparação do Manipulado

Pomada de Aquaphor 100gr e Ác. salic10gr

Cliente: _____
 Forma Farmacéutica: POMADA
 Data de Preparação: 19/08/2020 Prazo Validade: 15/02/2021
 Nº Lote: 8.VIII.20 Registo Copiador: 2.197
 Condições de Conservação: Conservar à temperatura ambiente inferior a 25°.
 Posologia:
 Qtd. Total Medicamento: 1 X 110,00 g
 Director Técnico: Dr. Paulo Monteiro
 Operador: Dra. Andreia Madanelo
 Médico: _____

Honorários:	5,05 €	Valor Net:	35,67 €	Valor PVP
Factor Multiplicativo:	3,10	Valor IVA:	2,14 €	
		Valor Total:	37,81 €	

Matérias Primas	Usar	Nº Lote	Origem	Qtd. Usada	Unid	Preço Aq. s/ IVA	Factor Multiplic.	Preço Mat.prima
Acido salicilico (po fino)		RAS18132	LabChem	10,00	g	0,02 €	1,90	0,30 €
Subtotal								0,30 €

Produto	Cod de Iva	% Iva	P.V.P	Preço
Aquaphor 110ml (Lote:84934757)	NOR	23,00	15,40 €	12,52 €
Preparação				
Verificar o estado de limpeza e arrumação do material e laboratório.				
Pesar as quantidades necessárias para preparar o manipulado.				
Colocar no recipiente unguento e homogenizar no unguator.				
Fechar e rotular a embalagem.				
Limpar e arrumar o material e laboratório.				
Aparelhagem				
Balança electrónica				
Unguator B				

Embalagem	Tipo	Nº Lote	Fornecedor	Capac	Qtd	Preço	Fact. Mult.	Valor Net
Unguator 100/140	EMBAL		Fagron	100/140	1,00	1,55 €	1,20	1,85 €
Subtot								1,85 €

Ensaio	Especificação	Conforme	Utilizador	Assinatura
Cor	Esbranquiçada	<input checked="" type="checkbox"/>		
Odor	Inodoro	<input checked="" type="checkbox"/>		
Aspecto	Homogéneo	<input checked="" type="checkbox"/>		
Quantidade	110 mL +/- 5%	<input checked="" type="checkbox"/>		

(Data)

(Assinatura)

FARMÁCIA S. JOSÉ

Farmácia
São José

Ficha de Preparação do Manipulado

Susp. Oral de Piridostigmina 20mg/mL

Cliente: _____
 Forma Farmacéutica: SUSPENSAO
 Data de Preparação: 19/08/2020 Prazo Validade: 18/10/2020
 N° Lote: 9.VIII.20 Registo Copiador: 2.198
 Condições de Conservação: Conservar no frigorífico.
 Posologia:
 Qtd. Total Medicamento: 1 X 200,00 ml
 Director Técnico: Dr. Paulo Monteiro
 Operador: Dra. Andreia Madanelo
 Médico: _____

Honorários:	5,05 €	Valor Net:	41,02 €	Valor PVP
Factor Multiplicativo:	5,20	Valor IVA:	2,46 €	
		Valor Total:	43,48 €	43,48 €

Matérias Primas	Usar	N° Lote	Origem	Qtd. Usada	Unid	Preço Aq. s/ IVA	Factor Multiplic.	Preço Mat.prima
Xarope simples, BP2000 (F)		191422-P-	Acofarma	100,00	ml	0,01 €	1,60	1,76 €
Água Purificada		0001.2020	J. M. Vaz Pereira	100,00	g	0,01 €	1,60	1,60 €
Benzoato de Sódio	0.2	180329-J-	Acofarma	0,20	g	0,05 €	2,50	0,03 €
Subtotal								3,39 €

Produto	Cod de Iva	% Iva	P.V.P	Preço
Mestinon 60 mg * 100 cp (lote:80181616)	RED	6,00	0,00 €	0,00 €

Preparação

- Verificar o estado de limpeza do material e laboratório.
- Pulverizar os comprimidos necessários de piridostigmina (Mestinon) num almofariz até obter um pó fino.
- Dissolver o benzoato de sódio num pouco de água purificada.
- Adicionar aos poucos a água purificada agitando até obtenção de uma dispersão homogénea.
- Adicionar um pouco de xarope simples até obtenção de uma mistura homogénea.
- Transferir para proveta graduada, adicionar a essência de banana (se necessário), e completar o volume com o restante xarope e homogeneizar.
- Transferir para frasco de vidro âmbar com capacidade adequada.
- Rotular.
- Lavar e secar o material utilizado.

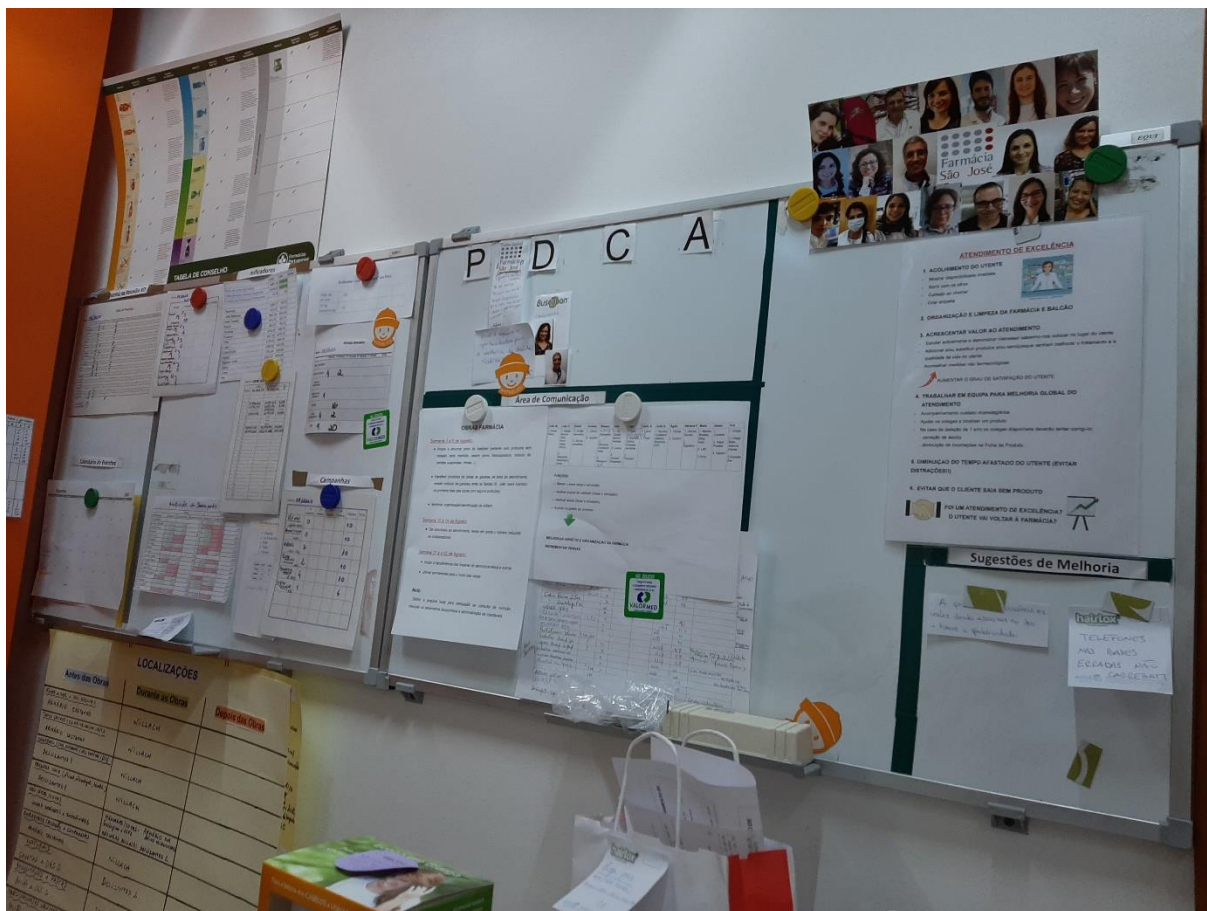
Embalagem	Tipo	N° Lote	Fornecedor	Capac	Qtd	Preço	Fact. Mult.	Valor Net
Frasco de Vidro 250 mL	EMBAL		Plural	250 mL	1,00	1,59 €	1,20	1,90 €
Subtot								1,90 €

Ensaio	Especificação	Conforme	Utilizador	Assinatura
Quantidade	200 mL +- 5%	<input checked="" type="checkbox"/>		
Aspecto	Homogéneo	<input checked="" type="checkbox"/>		
Odor	Inodoro	<input checked="" type="checkbox"/>		
Cor	Rosado/Esbranquiçada	<input checked="" type="checkbox"/>		

_____/_____/_____
(Data)

(Assinatura)

Anexo 2 | Quadro Kaizen



Anexo 3 | Caso Clínico I

Senhor, na casa dos quarenta anos, que se dirige à farmácia para pedir aconselhamento para dores lombares, “ao fundo das costas”, após queda, há alguns dias.

Começo por lhe perguntar se se trata de uma dor muito intensa, ao que me responde que não, que “dá bem para dormir e trabalhar”. De seguida, questiono se já tinha ido ao médico ou se já estava a tomar alguma medicação para o caso, ao que me responde, a ambas as perguntas, que não, retorquindo que “tem estado a aguentar”. Pergunto também se terá algum hematoma na zona afetada, ao que também me responde negativamente, fazendo-me descartar a ideia de lhe sugerir um medicamento tópico para esse fim [5]. Assim, mediante as respostas anteriores, e considerando não se tratar de nenhuma situação complicada, pelo menos à primeira vista, recomendo um gel anti-inflamatório, neste caso concreto, Voltaren Emulgelex[®], à base de diclofenac - um anti-inflamatório não esteroide (AINE) - indicado para o tratamento sintomático do alívio da dor e inflamação pós-traumáticos [6].

Perante esta sugestão, o utente indaga se não haverá “uma coisinha mais forte, tipo comprimidos”, porque “o gel só, é capaz de não resolver”. Face a este pedido, e após questionar se o senhor tinha algum antecedente relevante, como por exemplo, asma, doenças cardiovasculares, hepáticas, renais, gastrointestinais, transtornos de coagulação ou se tomava alguma medicação regularmente, sugiro Spidifen EF 400 mg[®], um granulado para solução oral, à base de ibuprofeno - um AINE - indicado para o tratamento de dores ligeiras a moderadas. De entre todos os AINEs disponíveis na FSJ, sugiro este, em concreto, porque permite uma absorção três vezes mais rápida do ibuprofeno, graças à presença do aminoácido *L*-arginina, na sua composição, que vai permitir a solubilização, melhorar a biodisponibilidade do ibuprofeno e acelerar o início do efeito terapêutico [7].

Posto isto, indico ao senhor que deve aplicar o Voltaren Emulgelex[®] duas vezes por dia, uma de manhã e outra à noite e que, relativamente ao Spidifen EF 400 mg[®], deve tomar uma saqueta dissolvida em água, de 8 em 8 horas, preferencialmente após as refeições, para melhorar a tolerabilidade do medicamento e reduzir a probabilidade de problemas gastrointestinais [7]. Recomendo, ainda, uma ida ao médico, caso não verificasse melhoras nos próximos dias ou se registasse um agravamento dos sintomas.

Anexo 4 | Caso Clínico II

Senhora estrangeira, na casa dos 20 anos, que se dirige à farmácia em busca de algo para as alergias ao pó e aos pólenes.

Após questionar a senhora se já tinha tomado alguma coisa para o efeito, se sofria de algum problema de saúde, nomeadamente problemas cardíacos, ou se tomava alguma medicação regularmente, sugeri-lhe Telfast 120[®], comprimidos à base de fexofenadina - anti-histamínico HI não sedativo - indicado para o alívio dos sintomas associados com rinite alérgica sazonal. Aconselhei este produto, em particular, por apresentar algumas vantagens face a outros anti-histamínicos presentes no mercado, nomeadamente, não provocar sedação, causar menos sonolência e não sofrer biotransformação hepática, não havendo, assim, risco de interação com outros medicamentos através de mecanismos hepáticos [8, 9].

Por fim, indiquei-lhe como proceder à toma do medicamento, que em adultos, é um comprimido por dia, antes de uma refeição [8].

PARTE II

ALCALÓIDES PIRROLIZIDÍNICOS: UMA (RE)VISÃO DA PROBLEMÁTICA

Lista de Abreviaturas e Acrônimos

ADN – Ácido desoxirribonucleico

AP – Alcalóide pirrolizidínico

APNO – Alcalóide pirrolizidínico na forma N-óxido

BfR – Instituto Federal Alemão de Avaliação de Riscos - do alemão *Bundesinstitut für Risikobewertung*

BMDL₁₀ – Dose de referência para um limite de confiança de 10% - do inglês *Benchmark Dose Lower Confidence Limit 10%*

BPAR – Boas Práticas de Agricultura e Recolheção

CONTAM – Painel sobre Contaminantes na Cadeia Alimentar da Autoridade Europeia de Segurança Alimentar

CYP – Citocromo P

DHP – (±)-6,7-dehidro-7-hidroxi-1-hidroxi-metil-5H-pirrolizidina

DHPA – Alcalóide dehidropirrolizidínico

EFSA – Autoridade Europeia de Segurança Alimentar - do inglês, *European Food and Safety Authority*

EMA – Agência Europeia do Medicamento - do inglês, *European Medicines Agency*

GSH – Glutathiona

HMPC – Comité de Produtos Medicinais à Base de Plantas da Agência Europeia do Medicamento - do inglês, *Herbal Medicinal Products Committee, European Medicines Agency*

HSOS – Síndrome de obstrução sinusoidal hepática - do inglês, *Hepatic Sinusoidal Obstruction Syndrome*

MOE – Margem de exposição - do inglês, *Margin of Exposure*

PMBP – Produtos medicinais à base de plantas

VOD – Doença veno-oclusiva - do inglês, *Veno-Occlusive Disease*.

Abstract

Pyrrolizidine alkaloids (PAs) are a large group of natural toxins. They are nitrogen containing compounds that are exclusively biosynthesized by plants, particularly those belonging to the families *Asteraceae*, *Boraginaceae* and *Fabaceae*.

PA containing plants are probably the most common poisonous plants affecting humans and animals. In fact, for many years now, there have been several reports on adverse effects of these compounds.

Their toxicity is dependent on a metabolic bioactivation, mainly in the liver, leading to toxic metabolites. These are very reactive and can bind with proteins and nucleic acids, to generate DNA adducts, protein adducts and DNA and protein cross-links, resulting in DNA damage, gene mutations and chromosomal mutations.

Recently, it has been shown that PAs are contaminating all sorts of foodstuff, herbal medicinal products and food supplements. Since these alkaloids exhibit strong hepatotoxic, genotoxic and carcinogenic activities, a potential health risk for humans should be seriously considered.

The inadvertent ingestion and the increasing awareness of PA contamination has raised special attention and concern of food and drug safety authorities and many countries worldwide. Thereby, regulations, exposition limits and recommendations about these compounds have been established, over the past few years.

This work gives an overview about the structure and physicochemical properties of PAs, their biosynthesis and plant occurrence. Furthermore, we discuss their toxicokinetics, toxicity and risks to human health. Finally, exposition limits and european authorities' public statements regarding consumers safety are discussed.

Keywords: pyrrolizidine alkaloids, toxicity, risk assessment, exposition limits, food and drug safety.

Resumo

Os alcalóides pirrolizidínicos (APs) são um grande grupo de toxinas naturais. São compostos azotados, exclusivamente biossintetizados em plantas, particularmente nas pertencentes às famílias *Asteraceae*, *Boraginaceae* e *Fabaceae*.

As plantas produtoras de APs são, provavelmente, as plantas venenosas mais comuns, capazes de afetar, tanto humanos, como animais. De facto, há já largos anos, que tem havido vários relatos dos efeitos adversos destes compostos.

A toxicidade dos APs é dependente de uma ativação metabólica, que ocorre, maioritariamente, no fígado e que leva à formação de metabolitos tóxicos. Estes, são altamente reativos e ligam-se a proteínas e ácidos nucleicos, formando adutos e ligações cruzadas de ADN e proteínas, o que resulta em lesões no ADN, mutações génicas e cromossómicas.

Recentemente, foi demonstrado que os APs estão a contaminar diversos alimentos, produtos medicinais à base de plantas e suplementos alimentares. Uma vez que estes alcalóides desencadeiam hepatotoxicidade, genotoxicidade e carcinogenicidade, o potencial risco para a saúde humana deve ser seriamente considerado.

A ingestão inadvertida e a crescente consciencialização da contaminação com APs, despertaram especial atenção e preocupação por parte das autoridades de segurança alimentar e do medicamento, bem como de vários países. Neste sentido, foram estabelecidas regulamentações, limites de exposição e recomendações acerca destes compostos, ao longo dos últimos anos.

Neste trabalho apresenta-se uma revisão sobre a estrutura e propriedades físico-químicas dos APs, a sua biossíntese e ocorrência vegetal. Para além disso, também é abordada a toxicocinética e a toxicidade destes compostos, bem como os seus riscos para a saúde humana. Finalmente, limites de exposição e os pareceres emitidos pelas autoridades europeias, tendo em vista a segurança dos consumidores, são também discutidos.

Palavras-chave: alcalóides pirrolizidínicos, toxicidade, avaliação de risco, limites de exposição, segurança alimentar e do medicamento.

Introdução

Os alcalóides pirrolizidínicos são um grupo de toxinas naturais, que estão amplamente distribuídas em várias plantas, nomeadamente, em algumas espécies com interesse para os humanos (EFSA, 2017; MOREIRA *et al.*, 2018). Para além disso, o carácter infestante de algumas delas faz com que haja vastas contaminações com APs (FIELD *et al.*, 2015).

Desde 1920, que há relatos de envenenamentos por estes compostos, em humanos, tendo os primeiros sido reportados na África do Sul, nessa mesma década (WILLMOT & ROBERTSON, 1920). A partir de então, muitos outros têm surgido, quer em humanos, quer em animais (PRINSLOO *et al.*, 2019), fazendo da intoxicação com APs um grave problema de saúde pública (YANG *et al.*, 2015).

Os efeitos tóxicos dos APs ganharam outra dimensão, quando animais de experiência, aos quais se administraram estes compostos, desenvolveram tumores hepáticos e lesões pulmonares (FU *et al.*, 2004).

Em humanos, o envenenamento com APs era, inicialmente, um problema dos países em desenvolvimento, principalmente como resultado do uso de medicamentos tradicionais, que continham estes compostos. No entanto, nos últimos anos, tem havido um crescimento do uso deste tipo de medicinas alternativas, nos países industrializados, o que tornou este problema numa preocupação maior (WIEDENFELD & EDGAR, 2011).

Embora a contaminação, quer de produtos medicinais à base de plantas (PMBP), quer de alimentos, não seja um fenómeno recente, os novos e mais sensíveis métodos analíticos são capazes de detetar, nestes bens de consumo, quantidades residuais de APs (EMA, 2016). Assim, vários estudos de segurança e química alimentar têm demonstrado que muitos dos alimentos que consumimos são fontes de APs (MOREIRA *et al.*, 2018). Destes, podemos destacar tisanas, cereais, saladas, vegetais, suplementos alimentares, mel e pólen (MOREIRA *et al.*, 2018). Os APs também podem ser encontrados em produtos de origem animal, como leite e ovos, indicando que estes podem ser transferidos desde a alimentação contaminada dos animais, até aos tecidos comestíveis (EDGAR *et al.*, 2014; FAO & WHO, 2014; VALESE *et al.*, 2016). Também o aumento, à escala global, desde o início dos anos 90, do consumo de produtos à base de plantas, seja como ingredientes de medicamentos ou de preparações usadas em sistemas de medicina tradicional, seja como ingredientes de suplementos alimentares, aumenta a preocupação com a exposição a APs (FU *et al.*, 2004).

Pensa-se que a ingestão de APs por humanos tenha sido bastante constante ao longo das últimas décadas (EMA, 2016). Em 1988, a Organização Mundial de Saúde tinha concluído que os efeitos tóxicos dos APs são cumulativos e, portanto, uma exposição crónica baixa a estes compostos, poderia representar um risco para a saúde (IPCS, 1988). De facto, a toxicidade crónica devido ao consumo, a longo prazo, de alimentos ou PMBP contendo estes alcalóides, é uma realidade que preocupa, atualmente, as autoridades europeias (MERZ & SCHRENK, 2016).

Sabe-se, há já várias décadas, que os APs são hepatotóxicos em humanos, e foi já demonstrado o seu potencial genotóxico e carcinogénico em animais de laboratório (EMA, 2016; SCHRENK *et al.*, 2019). Assim, e embora os mecanismos de toxicidade gerais já tenham sido elucidados, permanecem, por esclarecer, importantes questões sobre o risco que estes compostos representam (SCHRENK *et al.*, 2019). Recentemente, a atenção centrou-se no potencial que os APs têm para contaminar diversos produtos alimentares e na consequente possibilidade da exposição, mesmo a baixas quantidades, poder desencadear doenças crónicas (MOLYNEUX *et al.*, 2011).

Alcalóides Pirrolizidínicos

Alcalóides são um vasto grupo de compostos azotados, derivados de aminoácidos e quase exclusivamente de origem vegetal, a maioria evidenciando propriedades básicas e carácter lipofílico, com solubilidade em solventes apolares orgânicos e álcool. São um grupo de metabolitos de origem natural, caracterizado pela potência da sua atividade biológica sendo, por isso, vários alcalóides reconhecidos, quer pela sua toxicidade, quer pelo seu valor farmacológico. Estão presentes em 14-20% das espécies do reino vegetal, como catabolitos aptos para a eliminação de azoto, desempenhando, também, funções ecofisiológicas relevantes para a adaptação e competitividade interespecífica. Os alcalóides podem classificar-se de acordo com as suas estruturas, em particular, de acordo com os seus heterocíclios azotados (PROENÇA DA CUNHA, 2006).

Os alcalóides pirrolizidínicos são uma dessas classes, integrando os alcalóides em cuja estrutura se reconhecer o núcleo bicíclico azotado da pirrolizidina (PROENÇA DA CUNHA, 2006).

Como metabolitos secundários vegetais, os APs desempenham funções ecofisiológicas importantes, nomeadamente são agentes de proteção e defesa contra o ataque de insetos,

mamíferos e patógenos fúngicos e bacterianos. É importante referir que nem só as plantas usufruem deste papel protetor dos APs: várias espécies de insetos adaptaram-se, não apenas para ultrapassar a barreira defensiva das plantas protegidas por APs, mas também para sequestrar e utilizar estes compostos para seu próprio benefício, defendendo-se dos seus predadores (HARTMANN, 1999).

À semelhança dos restantes alcalóides, também alguns APs apresentam propriedades biológicas com potencial farmacológico (MOREIRA *et al.*, 2018). Foi já evidenciada a atividade antibacteriana da usaramina, da monocrotalina e da azido-retronecina (DA SILVA NEGREIROS NETO *et al.*, 2016). Também já foi estudada a potencial atividade anti-inflamatória dos seis tipos de nervosina, da paludosina e da auriculina (HUANG *et al.*, 2013). A indicina N-óxido revelou atividade citotóxica promissora para inibição de vários modelos de tumores (PRAKASH & RATHINASAMY, 2013). Outros quatro APs, nomeadamente, a 7-O-angeloil-licopsamina-N-óxido, a equimidina, a equimidina-N-óxido e a 7-O-angeloil-retronecina, demonstraram ter atividade moderada de inibição da acetilcolinesterase (BENAMAR *et al.*, 2016). A casuarina, a hiacintacina, a australina, a alexina e a uniflorina evidenciaram atividade inibitória da glicosidase (LAHIRI *et al.*, 2013). Foi demonstrado que os APs polihidroxiados, como a australina e a alexina, apresentam uma forte capacidade inibitória da glicosidase, tendo potencial para serem usadas como agentes quimioterapêuticos, antivirais e imunomoduladores (SCHRAMM *et al.*, 2019).

Até à data, conhecem-se mais de 660 APs que têm vindo a receber atenção crescente, devido à consciencialização dos riscos da contaminação, por estes compostos, de inúmeros tipos de produtos de consumo humano e animal (MOREIRA *et al.*, 2018).

Estrutura e Propriedades Físico-Químicas

Como acima referido, os APs são uma classe de alcalóides caracterizados pela estrutura heterocíclica da pirrolizidina, hidroximetilada na posição 1 (necina) e geralmente esterificada com ácidos alifáticos que, no contexto, são genericamente designados por ácidos nécicos (BfR, 2013; FU *et al.*, 2004; MOLYNEUX *et al.*, 2011; VALESE *et al.*, 2016) (Figura 1).

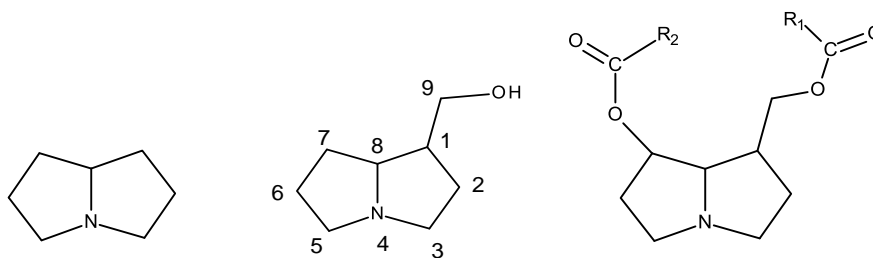


Figura 1 | Estruturas fundamentais dos APs. Da esquerda para a direita: pirrolizidina, 1-hidroximetilpirrolizidina (necina), diéster da necina.

Na maioria dos casos, a base necina além do hidroximetilo em C-1, é hidroxilada em C-7 (ROEDER, 1999). Também este hidroxilo poderá ser esterificado (ROEDER, 1999; XIA *et al.*, 2008). Dependendo se a esterificação ocorre em um ou em ambos os grupos hidroxilo (posições C-7 e C-9), os APs podem ser mono-ésteres ou diésteres e, no último caso, serem ésteres de cadeia aberta ou ésteres cíclicos (BfR, 2013) (Figura 2).

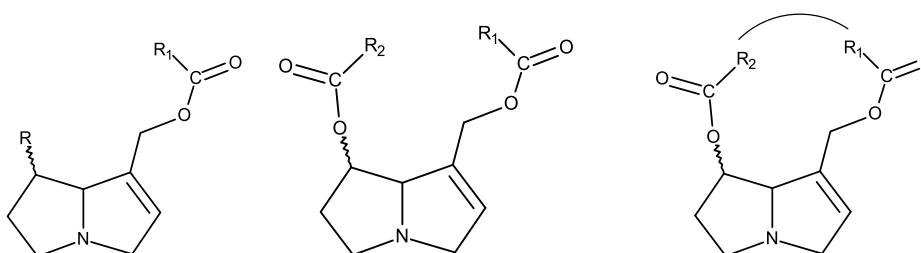


Figura 2 | Diferentes tipos de esterificação dos APs. Da esquerda para a direita: mono-éster, diéster de cadeia aberta e diéster cíclico.

Dependendo da estrutura da base necina, os APs podem ser divididos em quatro tipos principais: retronecina, heliotridina, otonecina e platinecina (FU *et al.*, 2004) (Figura 3). Os tipos retronecina, heliotridina e otonecina incluem os APs derivados da pirrolizidina 1,2-insaturada (bases insaturadas), enquanto que os do tipo platinecina são derivados da base saturada (MOREIRA *et al.*, 2018). Do ponto de vista estrutural, o tipo otonecina é o mais peculiar, por derivar de uma base monocíclica, possuir um carbonilo em C-8 e apresentar o azoto metilado (CHEN *et al.*, 2010). Os APs do tipo retronecina e heliotridina são diastereoisômeros na posição C-7 (BfR, 2013). É importante ressaltar que existem outros tipos de bases necina, para além dos quatro principais, aqui destacados (EFSA, 2011; ROEDER, 1999).

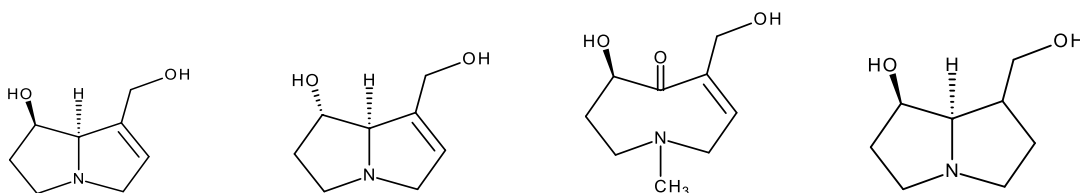


Figura 3 | Estruturas das bases necina mais comuns. Da esquerda para a direita: retronecina, heliotridina, otonecina e platinecina.

Os APs aparecem normalmente na forma de bases terciárias ou dos seus N-óxidos (APNOs) (VALESE *et al.*, 2016), podendo coexistir nessas duas formas (EFSA, 2011). APNOs são estruturas iônicas (EFSA, 2011), que resultam da oxidação do átomo de azoto da base necina (LOUISSE *et al.*, 2019) e que representam a forma que mais predomina nas plantas (SCHRAMM *et al.*, 2019) (Figura 4). Comparativamente com as bases terciárias, que são solúveis em solventes orgânicos apolares e em alguns solventes orgânicos polares, os APNOs, para além de também serem solúveis em solventes orgânicos polares, são hidrossolúveis (EFSA, 2011). Estas características são relevantes nos processos fisiológicos de transporte e armazenamento dos APs (EHMKE *et al.*, 1988) e têm significado para fundamentar processos laboratoriais para extração e análise. Todos os APs conhecidos são capazes de formar derivados N-óxidos, exceto os do tipo otonecina (ROEDER, 1999).

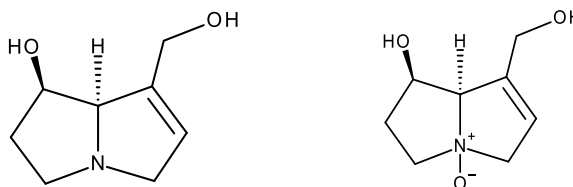


Figura 4 | Da esquerda para a direita: retronecina e o seu respetivo N-óxido.

Enquanto as bases necina são estruturalmente relacionadas, os ácidos néricos possuem uma larga diversidade estrutural (SCHRAMM *et al.*, 2019). São ácidos alifáticos, monocarboxílicos ou dicarboxílicos, a maioria com cadeias carbonadas ramificadas e substituintes hidroxí e alcóxi (BfR, 2013; ROEDER, 1999). Como exemplos de ácidos monocarboxílicos mais simples temos o ácido acético, o ácido angélico e o ácido tíglico; os ácidos traquelântico e viridiflórico são exemplos de entre os mais complexos (ROEDER, 1999; SCHRAMM *et al.*, 2019). Relativamente aos ácidos dicarboxílicos, destacamos os ácidos senécico e isatinécico (MOREIRA *et al.*, 2018; ROEDER, 1999) (Figura 5). Raramente se encontram ácidos néricos com sistemas aromáticos (SCHRAMM *et al.*, 2019).

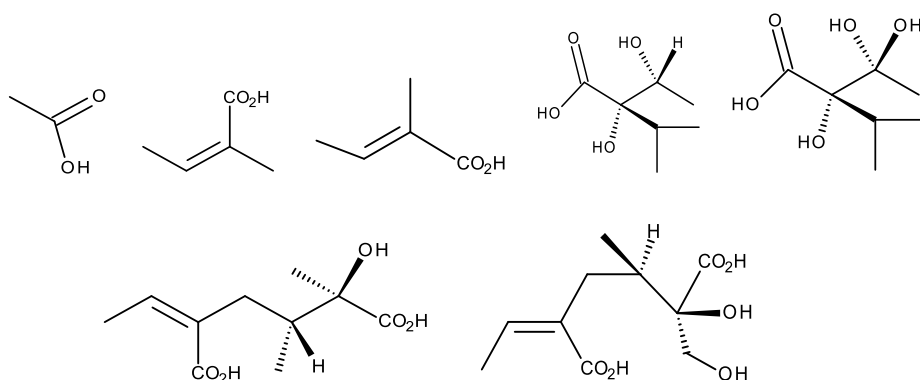


Figura 5 | Estruturas de ácidos néricos comuns. Da esquerda para a direita: 1ª fila - ácidos néricos monocarboxílicos: ácido acético, ácido angélico, ácido tíglico, ácido traquelântico e ácido viridiflórico; 2ª fila - ácidos néricos dicarboxílicos: ácido senécico e ácido isatinécico.

Das combinações das diversas bases necina com os muitos ácidos néricos, resulta uma enorme diversidade de APs (ROEDER, 1999; SCHRAMM *et al.*, 2019). A N-oxidação do azoto terciário da base necina, com formação de APNOs, multiplica essa diversidade (SCHRAMM *et al.*, 2019) (Figura 6). Foram já descritos centenas de APs e novas variantes continuam a ser descobertas (SCHRAMM *et al.*, 2019).

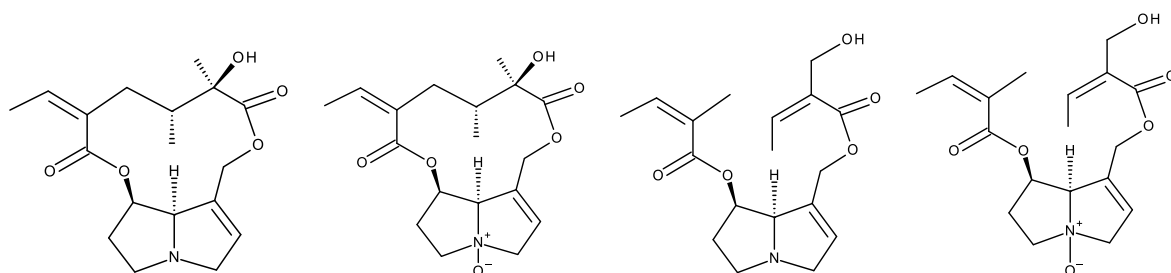


Figura 6 | Exemplos de alcalóides pirrolizidínicos (derivados da retronecina). Da esquerda para a direita: senecionina e senecionina-N-óxido (diésteres cíclicos); triangularina e triangularina-N-óxido (diésteres de cadeia aberta).

É, ainda, comum agrupar os APs em tipos, definidos pelos padrões de ligação entre as bases necina e os ácidos néricos (SCHRAMM *et al.*, 2019), ou definidos pelos *taxa* vegetal onde, originalmente, se identificaram (EFSA, 2011). São exemplos os tipos triangularina, monocrotalina, senecionina, licopsamina, heliotrina e falaenopsina (EFSA, 2011; SCHRAMM *et al.*, 2019).

Biossíntese e Ocorrência Vegetal dos Alcalóides Pirrolizidínicos

Tal como vimos anteriormente, os APs consistem numa base necina esterificada com um ou mais ácidos nécicos (MOREIRA *et al.*, 2018; SCHRAMM *et al.*, 2019). A biossíntese das bases necina começa com a descarboxilação dos aminoácidos *L*-arginina e *L*-ornitina, que levam à formação de putrescina (MOREIRA *et al.*, 2018; ROEDER, 1999; SCHRAMM *et al.*, 2019). De seguida, ocorre a formação do precursor das bases necina - a homoespermidina -, para a qual estão propostas duas teorias (MOREIRA *et al.*, 2018): uma que defende que a homoespermidina resulta da condensação de duas moléculas de putrescina (MOREIRA *et al.*, 2018; ROEDER, 1999); outra que atesta que a formação de homoespermidina resulta da reação entre uma molécula de putrescina e outra de espermidina (EFSA, 2011; HARTMANN, 1999; SCHRAMM *et al.*, 2019). Independentemente dos precursores, a formação da homoespermidina, passo fulcral da biossíntese dos APs, é catalisada pela homoespermidina sintase (EFSA, 2011; ROEDER, 1999). A homoespermidina é depois ciclizada ao correspondente íão imínio, que, por sua vez, vai ser reduzido e ciclizado, dando origem ao isoretronecanol, à traquelantamidina e à rosmarinecina (ROEDER, 1999), todas bases necina. Posteriormente, através de hidroxilação e desidratação, chega-se à retronecina e à heliotridina (ROEDER, 1999). A partir da retronecina, e por via de hidroxilações e metilações subsequentes, obtém-se a otonecina (ROEDER, 1999) (Figura 7).

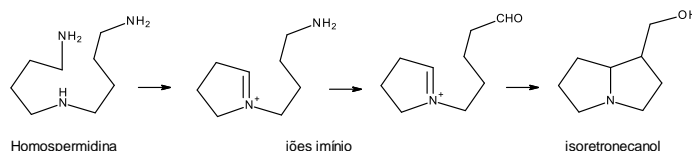


Figura 7 | Biossíntese de base necina. (Adaptado de: ROEDER, 1999)

Enquanto as bases necina são sintetizadas através de uma via comum, os ácidos nécicos podem ter origens biossintéticas distintas. Alguns deles, como é o caso do ácido acético, são produtos do metabolismo primário da planta (SCHRAMM *et al.*, 2019). Os outros são, maioritariamente, derivados de aminoácidos alifáticos (HARTMANN, 1999), como a *L*-treonina, *L*-valina, *L*-leucina e *L*-isoleucina (MOREIRA *et al.*, 2018), tendo, este último, um papel fulcral como precursor dos ácidos nécicos (LANGEL *et al.*, 2011) (Figura 8). No que toca à formação dos ácidos monocarboxílicos, como o angélico, o tíglico ou o sarracínico, estão envolvidos, sobretudo, a treonina (MOREIRA *et al.*, 2018) e a isoleucina (SCHRAMM *et al.*, 2019). Já a biossíntese dos ácidos traquelântico, viridiflórico ou senecióico envolve, sobretudo, a valina, como precursor (MOREIRA *et al.*, 2018). Por fim, os ácidos dicarboxílicos, como o

ácido senécico, são formados a partir da isoleucina, principalmente, e da treonina (MOREIRA *et al.*, 2018; SCHRAMM *et al.*, 2019).

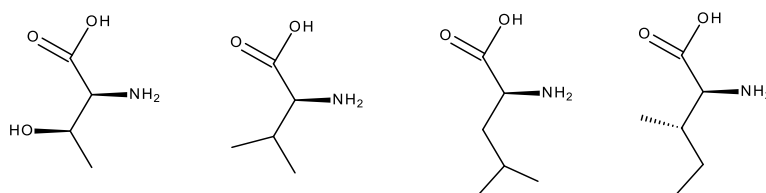


Figura 8 | Aminoácidos envolvidos na biossíntese de ácidos nécicos. Da esquerda para a direita: L-treonina, L-valina, L-leucina e L-isoleucina.

A biossíntese dos APs ocorre fundamentalmente nas raízes (EHMKE *et al.*, 1988), no entanto também já foi descrito que o processo biossintético pode dar-se em folhas jovens específicas (KRUSE *et al.*, 2017). Estes compostos são quase exclusivamente disponibilizados e armazenados sob a forma de N-óxidos (HARTMANN, 1999), que graças à sua elevada hidrossolubilidade, podem, depois, ser facilmente deslocados para outros órgãos da planta (EHMKE *et al.*, 1988). A qualquer momento, os APNOs podem sofrer redução às respetivas aminas terciárias (SCHRAMM *et al.*, 2019).

Estima-se que cerca de 6000 espécies de plantas tenham capacidade para produzir algum ou alguns dos 660 APs e APNOs já identificados. Tal facto, torna, provavelmente, as plantas produtoras de APs no grupo mais comum de plantas tóxicas, capazes de afetar, tanto animais, como humanos (FU *et al.*, 2004).

Os APs são, maioritariamente, encontrados nas Angiospérmicas, nas famílias *Asteraceae* (tribos *Senecioneae* - onde se destaca o género *Senecio* - e *Eupatorieae*), *Boraginaceae* (todos os géneros, destacando-se o género *Heliotropium* da subfamília *Heliotropioideae* e os géneros *Echium* e *Symphytum* da subfamília *Boraginoideae*), *Fabaceae* (género *Crotalaria*), *Orchidaceae* e *Apocynaceae* (EFSA, 2011; LANGEL *et al.*, 2011; SCHRENK *et al.*, 2019) (Figura 9). As toxinas estão normalmente concentradas nas sementes e nas partes floridas, diminuindo a sua concentração quando se passa para as folhas, caules e raízes. Estas concentrações podem ir desde quantidades vestigiais, até 19% do peso seco da planta (EFSA, 2011).

Algumas destas plantas são usadas como cobertura vegetal para melhoramento de solos, como plantas ornamentais ou como alimento para animais. Há, entre elas, algumas espécies dos géneros *Heliotropium* e *Crotalaria*, que são infestantes comuns nos campos de cultivo, outras são particularmente apreciadas como plantas melíferas (família *Boraginaceae*) (EFSA, 2011).

A maior parte das plantas produz diversos APs, em concentrações variadas (EFSA, 2011). De certa forma, os diferentes tipos estruturais de APs são típicos de determinados *taxa*, havendo, no entanto, algumas sobreposições (SCHRENK *et al.*, 2019). Os APs do tipo senecionina (de que são exemplo a jacobina, jacolina, jaconina, retrorsina, senecionina e senecifilina) são característicos da tribo *Senecioneae* (da família *Asteraceae*), mas também da família *Fabaceae*, particularmente do género *Crotalaria* (EFSA, 2011). Quanto aos APs do tipo licopsamina (onde se destacam a equimidina, licopsamina e vulgarina), eles aparecem, particularmente, na família *Boraginaceae*, mas também na tribo *Eupatorieae* da família *Asteraceae* (EFSA, 2011). Já o tipo heliotrina (que tem como APs a europina, heliotrina e lasiocarpina) é típico do género *Heliotropium* (da família *Boraginaceae*) (EFSA, 2011). Os APs do tipo monocrotalina (por exemplo a fulvina, monocrotalina e tricodesmina) aparecem mais frequentemente na família *Fabaceae*, mais precisamente, no género *Crotalaria* (EFSA, 2011). No que toca ao tipo triangularina, encontra-se predominantemente presente na tribo *Senecioneae* e na família *Boraginaceae* (LANGEL *et al.*, 2011). APs do tipo falenopsina podem ser encontrados na família *Orchidaceae* (LANGEL *et al.*, 2011). No que respeita aos ácidos nélicos, os monocarboxílicos são característicos da família *Boraginaceae* e diésteres macrocíclicos são característicos da família *Asteraceae* (MOREIRA *et al.*, 2018).

A biossíntese de APs, que está dependente de variação genética e hereditariedade, é regulada de forma distinta durante o desenvolvimento da planta (SCHRAMM *et al.*, 2019). A ocorrência de APs varia muito, dependendo da espécie e da parte da planta - sabendo-se, por exemplo que nos géneros *Senecio* e *Eupatorium* (família *Asteraceae*), a síntese de APs está restrita às raízes (HARTMANN, 1999). É também influenciada por outros fatores como o clima e propriedades do solo, nomeadamente nutrientes, quantidade de água e infestações herbívoras (BfR, 2013; EFSA, 2011; SCHRAMM *et al.*, 2019).



Figura 9 | Exemplos representativos de plantas produtoras de APs. Da esquerda para a direita: 1ª fila – *Senecio vulgaris*, *Heliotropium europaeum*, *Echium plantagineum*; 2ª fila – *Eupatorium cannabinum* (Fotografias originais de: JARDIM BOTÂNICO UTAD, s.d.), *Crotalaria retusa* (Adaptado de: RIET-CORREA et al., 2011).

Toxicidade dos Alcalóides Pirrolizidínicos e Riscos por Exposição

Estima-se que, aproximadamente, metade dos APs sejam tóxicos (CHEN et al., 2010) e que ocorram em cerca de 3% das Fanerogâmicas (SMITH & CULVENOR, 1981), pelo que o consumo de produtos vegetais, originários de inúmeras espécies ou de produtos delas derivados, poderá implicar risco de toxicidade. Neste aspeto, são particularmente relevantes os géneros *Heliotropium* e *Crotalaria* que incluem as espécies mais comumente associadas a intoxicações em humanos (EFSA, 2011).

Os efeitos toxicológicos da exposição aguda de humanos e animais de gado a APs são conhecidos e estão bem documentados, na literatura (EFSA, 2011).

A maioria dos casos reportados em humanos está relacionada com consumo de medicamentos e de suplementos alimentares à base de plantas, infusões vegetais, cereais ou produtos deles provenientes, contaminados com sementes de plantas produtoras de APs; de mel e de produtos lácteos. Estes eventos estão, maioritariamente, relacionados com produtos produzidos em regiões da Ásia Central, Afeganistão e Índia, com uma relação direta com períodos de seca meteorológica, que favorecem o desenvolvimento de ervas daninhas e a contaminação das colheitas (EFSA, 2011). Alguns dos últimos casos documentados, estão relacionados com farinha de trigo contaminada com sementes de *Heliotropium* e com *qurut* - um queijo de leite de cabra, comum na Ásia Central -, onde foram detetados APs característicos de espécies de *Heliotropium* e de *Crotalaria* (KAKAR et al., 2010).

Na Europa, este tipo de ocorrências são raras (SCHRENK *et al.*, 2019) e o risco de intoxicação aguda por APs é considerado baixo, tanto pelo Instituto Federal Alemão de Avaliação de Riscos (BfR), como pela Autoridade Europeia de Segurança Alimentar (EFSA) (BfR, 2013; EFSA, 2017). No entanto, são os potenciais riscos para a saúde, por exposição crónica a doses baixas, que têm sido a causa da recente preocupação das autoridades regulamentares europeias - EFSA e Agência Europeia do Medicamento (EMA) (AVILA *et al.*, 2020) -, motivada, sobretudo, pela deteção de quantidades significativas de APs em diversos alimentos, bem como em PMBP e suplementos alimentares (SCHRAMM *et al.*, 2019).

Esta preocupação deve-se ainda ao facto de haver pouca informação toxicológica sobre a maioria dos APs (EFSA, 2011) e de os seus mecanismos moleculares de toxicidade não estarem totalmente esclarecidos (LUCKERT *et al.*, 2015). Toda esta apreensão é reforçada pelo conhecimento, de há já várias décadas, da toxicidade aguda, da genotoxicidade e da carcinogenicidade de alguns destes compostos, em animais de laboratório (EFSA, 2011, 2017; EMA, 2016; FU *et al.*, 2004). Apesar de tudo, a tumorigenicidade não foi, ainda, demonstrada em humanos (AVILA *et al.*, 2020; MOREIRA *et al.*, 2018).

Toxicocinética

Os APs são rapidamente absorvidos no trato gastrointestinal (BfR, 2013; EFSA, 2011), estimando-se que a absorção cutânea tenha pouco significado (EFSA, 2011).

Estudos compartimentais revelaram distribuição, principalmente nos glóbulos vermelhos, fígado, rim, pulmão e plasma (EFSA, 2011). Alguns APs, devido às suas propriedades lipofílicas, são capazes de atravessar a barreira placentária (LUCKERT *et al.*, 2015; SUNDARES, 1942).

O catabolismo dos APs envolve três vias metabólicas: a hidrólise, para libertação das bases necina e dos ácidos nélicos; a N-oxidação, para conversão em APNOs; e uma C-oxidação, para formação de intermediários reativos (AVILA *et al.*, 2020; EFSA, 2011).

O fígado é o principal órgão responsável pelo metabolismo, embora já tenham sido observadas pequenas contribuições dos pulmões e dos rins (PRAKASH *et al.*, 1999).

A hidrólise, podendo ocorrer no processo de transporte e distribuição, por via de esterases não específicas presentes no sangue (ROEDER, 1999), ocorre, sobretudo, pela catálise de carboxilesterases microsossomais hepáticas (FU *et al.*, 2004). Os produtos, bases

necina e ácidos néricos, não são tóxicos e poderão ser imediatamente conjugados e excretados por via urinária (ROEDER, 1999).

No entanto, a maior parte dos APs é oxidada aos correspondentes N-óxidos, através de monooxigenases microsossomais hepáticas: a flavina monooxigenase e a monooxigenase microsossomal citocromo P450 (CYP₄₅₀) (PRAKASH *et al.*, 1999; ROEDER, 1999). Esta N-oxidação é exclusiva das bases dos tipos retronecina e heliotridina, já que nas bases do tipo otonecina, o azoto está metilado (EFSA, 2011). Os metabolitos N-óxidos são muito solúveis em água, sendo, por isso, facilmente excretados pela urina (BfR, 2013). No entanto, dado que os APNOs podem ser metabolicamente reconvertidos em APs, pode ocorrer um efeito cíclico (CHEN *et al.*, 2010).

A C-oxidação, em particular do carbono- α , catalisada pela monooxigenase microsossomal CYP₄₅₀, vai converter os APs a metabolitos pirrólicos tóxicos reativos (PRAKASH *et al.*, 1999) - os ésteres pirrólicos ou alcalóides dehidropirrolizidínicos (DHPAs) -, que abordaremos em pormenor, mais adiante (Figura 10).

O metabolismo dos APs é rápido, sendo que os seus metabolitos podem ser detetados no fígado e nos pulmões 30 a 120 minutos, após a ingestão (MATTOCKS & DRIVER, 1987).

Cerca de 80% dos APs ingeridos são excretados inalterados, predominantemente através da urina (NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2003), mas também nas fezes e no leite (MOREIRA *et al.*, 2018).

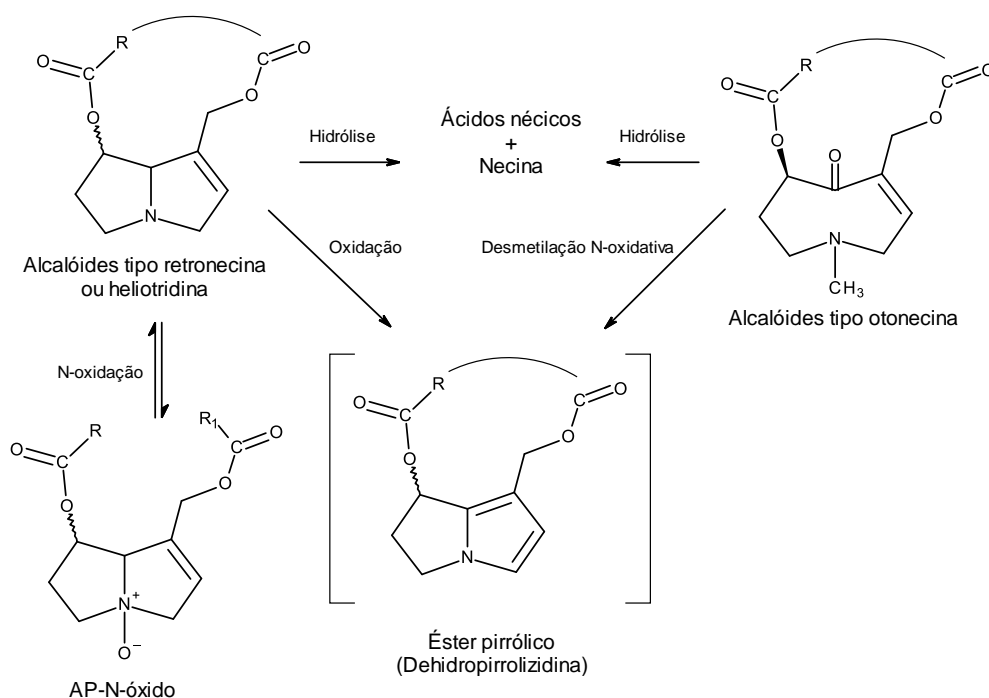


Figura 10 | Metabolismo de APs. (Adaptado de: CHEN *et al.*, 2010)

Relação Estrutura-Toxicidade

Tal como dito anteriormente, nem todos os APs são tóxicos. Assim, aqueles que o são, têm características estruturais comuns, entre as quais se destaca a dupla ligação na posição 1,2 do anel pirrolizidínico (BfR, 2013).

Isto inclui os APs insaturados do tipo retronecina, heliotridina e otonecina, excluindo os saturados do tipo platinecina (BfR, 2013). Estes últimos, ao contrário dos 1,2-insaturados, são considerados não tóxicos, uma vez que não podem ser ativados a ésteres pirrólicos, as estruturas diretamente responsáveis pela toxicidade, e são rapidamente convertidos em metabolitos hidrossolúveis, facilmente excretados (EFSA, 2011; RUAN *et al.*, 2014).

A toxicidade dos APs 1,2-insaturados, em animais experimentais, manifesta-se, principalmente, por hepatotoxicidade, genotoxicidade e carcinogenicidade (EFSA, 2011). Para além da existência da dupla ligação (1), a toxicidade dos APs depende de mais algumas características estruturais, como a existência de um ou dois grupos hidroxilo ligados ao C-7 ou ao grupo metilo do C-1 (2), a esterificação desses grupos (3) e a ramificação da cadeia lateral alquílica em, pelo menos, um dos ácidos nécicos (4) (IPCS, 1988; PRAKASH *et al.*, 1999) (Figura 11).

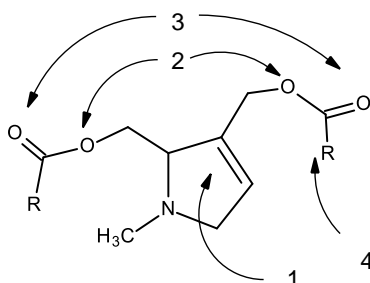


Figura 11 | Características químicas estruturais essenciais para a toxicidade dos APs. Os números correspondem aos itens listados no parágrafo acima. (Adaptado de: PRAKASH *et al.*, 1999)

Ativação Metabólica e Formação de Metabolitos Tóxicos Reativos

À semelhança de outras toxinas, a toxicidade imputável aos APs 1,2-insaturados depende de ativação metabólica prévia, sendo, por isso, considerados protoxinas (EMA, 2016; FU *et al.*, 2004; SCHRENK *et al.*, 2019).

Tal como referido anteriormente, o metabolismo destes compostos pode envolver três vias metabólicas - hidrólise, N-oxidação e C-oxidação -, sendo que esta última, é a responsável pela formação dos metabolitos tóxicos reativos. Esta oxidação, envolve duas etapas, a hidroxilação da base necina (dos tipos retronecina e heliotridina), seguida de

desidratação espontânea, que culmina na formação dos derivados dehidropirrolizidínicos - DHPAs - ou ésteres pirrólicos. No caso dos APs do tipo otonecina, os ésteres pirrólicos são formados através de uma N-desmetilação oxidativa da base necina, seguida do encerramento do anel e desidratação (CHEN *et al.*, 2010; FU *et al.*, 2004). Os DHPAs vão, assim, conter uma base necina idêntica, independentemente do AP que lhe deu origem (COOPER & HUXTABLE, 1996).

A formação destes metabolitos reativos, nos humanos, é maioritariamente catalisada pela CYP₄₅₀, presente no fígado, mais concretamente pelas isoformas CYP3A e CYP2B (FU *et al.*, 2004). Uma vez formados, estes compostos pirrólicos reagem com substâncias celulares nucleofílicas, como os ácidos nucleicos e proteínas, formando adutos covalentes e estabelecendo ligações cruzadas entre ácidos nucleicos e proteínas (CHEN *et al.*, 2010; VALESE *et al.*, 2016).

A formação de ésteres pirrólicos é, assim, considerada a ativação metabólica primária para a genotoxicidade e para a carcinogenicidade dos APs (CHEN *et al.*, 2010; FU *et al.*, 2004; PRAKASH *et al.*, 1999). No entanto, a informação quanto à toxicidade dos DHPAs, apesar de conhecida desde a década de 60 (MATTOCKS, 1968), é limitada, devido a dificuldades técnicas que condicionam a sua síntese e purificação, uma vez que são metabolitos altamente instáveis, reativos e com uma semivida bastante curta (YANG *et al.*, 2015).

Os DHPAs, como metabolitos química e biologicamente ativos, tendem a sofrer biotransformações adicionais (FU *et al.*, 2004). Se passarem por mais processos de hidrólise, originam (\pm)-6,7-dehidro-7-hidroxi-1-hidroximetil-5H-pirrolizidina (DHP) (CHEN *et al.*, 2010; FU *et al.*, 2004; PRAKASH *et al.*, 1999). Esta, à semelhança dos DHPAs, é capaz de formar adutos (YANG *et al.*, 2015), sendo considerada um metabolito tóxico secundário, com efeitos antimutagénicos, mutagénicos e carcinogénicos (CHEN *et al.*, 2010; FU *et al.*, 2004; PRAKASH *et al.*, 1999). Não obstante, é tida como menos reativa e mais estável (FU *et al.*, 2004; YANG *et al.*, 2015). Além disso, apresenta maior tempo de semivida e maior hidrofília que os DHPAs, sendo rapidamente excretada na urina e na bÍlis de animais tratados com APs (LI *et al.*, 2011; YANG *et al.*, 2015). Deste modo, a DHP é considerada menos tóxica, comparativamente aos DHPAs (YANG *et al.*, 2015).

Como vimos, os ésteres pirrólicos têm elevada reatividade e por isso, também reagem com água e com outros constituintes endógenos, como por exemplo, a glutathiona (GSH) (FU *et al.*, 2004). Neste caso, os DHPAs ligam-se a uma ou duas moléculas de GSH, formando conjugados de glutathiona - produtos destoxificados - para serem excretados (CHEN *et al.*,

2010; FU *et al.*, 2004). Esta conjugação é catalisada pela glutiona S-transferase (GST) e é considerada a principal via de destoxificação (FU *et al.*, 2004). Tal como os DHPAs, também a DHP se liga à GSH, formando conjugados (YANG *et al.*, 2015).

Como anteriormente referido, os APNOs, resultantes da N-oxidação dos APs, podem ser metabolicamente reconvertidos aos APs originais (CHEN *et al.*, 2010). Um estudo de 2017, confirmou, pela primeira vez, que os APNOs também induzem síndrome de obstrução sinusoidal hepática (HSOS) em humanos, sendo esta toxicidade mediada pela biotransformação destes nos seus correspondentes APs (YANG *et al.*, 2017). Em 2019, foi demonstrado que essa biotransformação ocorre no fígado, mediada pelas monooxigenases hepáticas CYP₄₅₀, particularmente pelas CYP1A2 e CYP2D6, mas também no intestino, através da microbiota intestinal. Subsequentemente, dá-se, então, a bioativação oxidativa dos APs recém-formados, resultando nos metabolitos tóxicos reativos (YANG *et al.*, 2019) (Figura 12).

Também a N-glucuronidação foi identificada como uma potencial nova via metabólica em humanos e noutras espécies animais, tanto para a ativação, como para a destoxificação de APs (HE *et al.*, 2010).

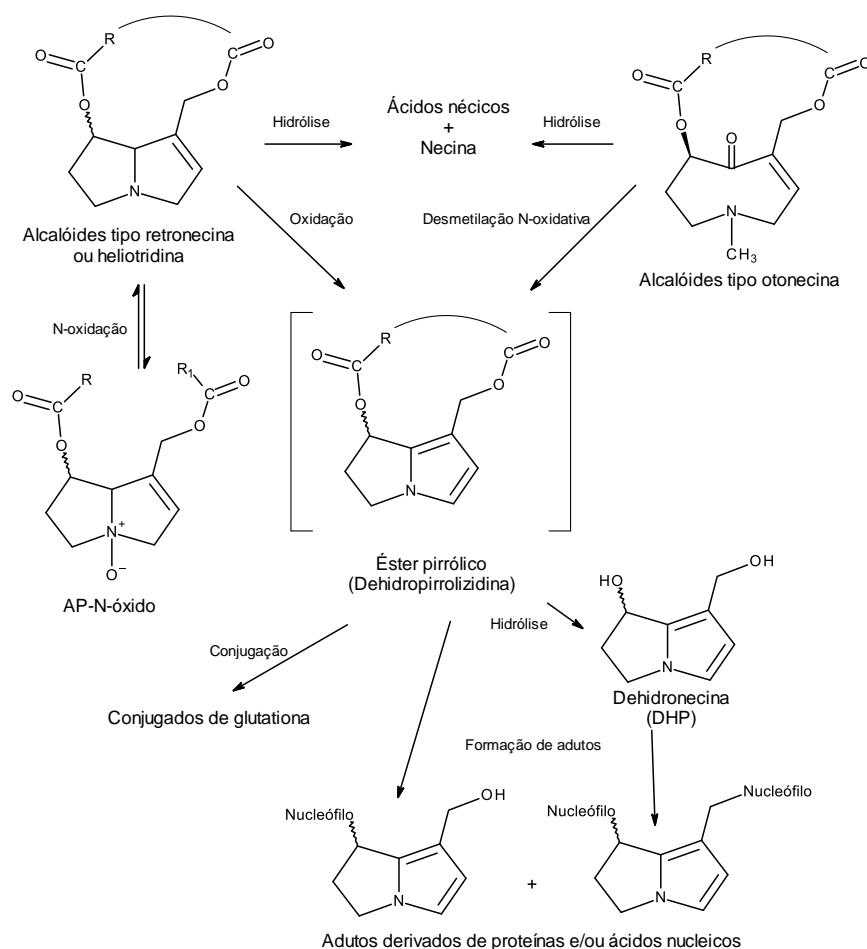


Figura 12 | Ativação Metabólica dos APs. (Adaptado de: CHEN *et al.*, 2010)

As observações de que APs de diferentes classes estruturais dão origem a intermediários reativos comuns (ésteres pirrólicos e DHP) e formam os mesmos adutos de ácido desoxirribonucleico (ADN), sugerem que pode ser aplicado o mesmo mecanismo de ação para todos os APs 1,2-insaturados (EFSA, 2011; EMA, 2016; FU *et al.*, 2004).

No entanto, o mesmo não se pode concluir sobre as suas potências de toxicidade, que evidenciam diferir bastante (LOUISSE *et al.*, 2019; MERZ & SCHRENK, 2016; SCHRENK *et al.*, 2019). Estas diferenças parecem dever-se a uma grande variabilidade toxicocinética e toxicodinâmica, que pode ser explicada pela diversidade estrutural dos APs, que resulta em diferenças na biodisponibilidade, na biotransformação e na destoxificação destes compostos (EFSA, 2017; SCHRENK *et al.*, 2019).

É preconizado, há já várias décadas, que os APs com maior potência de toxicidade e carcinogénese são os diésteres cíclicos (BfR, 2013; IPCS, 1988). Mais recentemente, e no sentido de colmatar algumas falhas que se sentem ao nível da abordagem usada para avaliar os riscos dos APs, Merz & Schrenk calcularam Fatores Teóricos de Potência Relativa para diversos APs. Estes preconizam que os diésteres cíclicos e os de cadeia aberta com configuração 7S são mais tóxicos que os diésteres de cadeia aberta 7R, seguindo-se os monoésteres. No entanto, este estudo, embora promissor, deixou algumas incertezas, pelo que é ainda necessário proceder a estudos complementares, nomeadamente acerca da potência exata dos vários APs, bem como da sua toxicocinética (LOUISSE *et al.*, 2019; MERZ & SCHRENK, 2016; SCHRENK *et al.*, 2019), por exemplo, para clarificar a interação dos APs ou dos seus metabolitos com alvos celulares específicos, que possam induzir desregulação da sinalização celular e de vias metabólicas (LUCKERT *et al.*, 2015).

Sabe-se sim, que as diferentes vias metabólicas tanto podem levar à biotransformação, como à destoxificação (EFSA, 2011), e que é a cinética metabólica entre a formação de ésteres pirrólicos e as diferentes vias de destoxificação - hidrólise, N-oxidação e conjugação com a GSH - que determinam a toxicidade dos APs (EFSA, 2011; FU *et al.*, 2004).

Hepatotoxicidade

O fígado é o principal alvo de toxicidade provocada por APs, principalmente porque a bioativação ocorre, fundamentalmente, neste órgão (MOREIRA *et al.*, 2018).

Sabe-se que, após a produção de metabolitos tóxicos primários, estes reagem, maioritariamente, com proteínas, no local de formação. Sabe-se também, que estes

metabolitos, são capazes de penetrar até ao núcleo e reagir com o ADN, sendo que, qualquer uma destas reações, leva a danos imediatos nos hepatócitos (PRAKASH *et al.*, 1999).

Alguns dos ésteres pirrólicos são suficientemente persistentes para serem capazes de passar do hepatócito para o espaço de Disse e para o lúmen sinusoidal, onde podem comprometer as células sinusoidais das pequenas veias hepáticas (PRAKASH *et al.*, 1999).

Assim, os danos causados pelos metabolitos tóxicos, tanto nos hepatócitos, como nas paredes das veias hepáticas, levam ao aparecimento da doença veno-oclusiva (VOD), conhecida atualmente por HSOS (MOREIRA *et al.*, 2018; PRAKASH *et al.*, 1999). Tal acontece porque as células hepáticas que são destruídas, vão embolizar e obstruir o fluxo sinusoidal, resultando na necrose de hepatócitos e em hipertensão portal (LIU *et al.*, 2020; VALLA & CAZALS-HATEM, 2016).

Em humanos, a VOD é a manifestação clínica mais frequentemente encontrada, sendo considerada um marcador de intoxicação por APs (CHEN *et al.*, 2010). Aliás, os casos reportados de intoxicação, em humanos, são caracterizados pela forma aguda desta doença (EFSA, 2011; IPCS, 1988). A VOD apresenta como manifestações clínicas ascite, distensão abdominal, icterícia e dor abdominal (LIU *et al.*, 2020; PRAKASH *et al.*, 1999), tendo também sido reportados vômitos, hepatomegalia e diarreia sanguinolenta (CHEN *et al.*, 2010).

A forma aguda da VOD apresenta uma elevada taxa de mortalidade, devido a falência hepática (IPCS, 1988), no entanto é possível recuperar completamente desta doença (BfR, 2013; PRAKASH *et al.*, 1999). Dentro dos sobreviventes, aparentemente recuperados, de VOD aguda, alguns poderão desenvolver VOD crónica e cirrose, passado uns anos (BfR, 2013; PRAKASH *et al.*, 1999). Também aqueles que estiverem expostos a pequenas quantidades de APs insaturados, durante um período alargado de tempo, desenvolverão VOD crónica (BfR, 2013; SCHRENK *et al.*, 2019). Existe ainda a possibilidade de desenvolver VOD sub-aguda, que eventualmente se resolverá ou então, evoluirá para VOD crónica e cirrose (PRAKASH *et al.*, 1999).

Também a intoxicação com APs pode ser aguda, sub-aguda ou crónica (LUCKERT *et al.*, 2015). A toxicidade aguda, associada a elevada mortalidade, provoca ascite, hepatomegalia e necrose hemorrágica centrolobular (LUCKERT *et al.*, 2015; VALLA & CAZALS-HATEM, 2016). No entanto, é na intoxicação sub-aguda que, para além da hepatomegalia persistente e da ascite recorrente, vai haver oclusão das veias hepáticas, levando ao aparecimento da VOD (IPCS, 1988; LUCKERT *et al.*, 2015). Já a toxicidade crónica é caracterizada por necrose, fibrose e cirrose, mas também por VOD (LUCKERT *et al.*, 2015; PRAKASH *et al.*, 1999).

Pensa-se que tanto para a toxicidade aguda, como para a toxicidade crónica estejam subjacentes os mesmos mecanismos de toxicidade (EMA, 2016).

No que toca ao tempo que medeia a exposição a APs e o aparecimento dos sinais e sintomas, parece não haver consenso, uma vez que, enquanto uns acreditam que estes apareçam de repente (CHEN *et al.*, 2010; EFSA, 2011), outros afirmam que as manifestações clínicas não são observadas até vários dias após a exposição (IPCS, 1988). Num estudo realizado em 2020, foi observado que o primeiro aparecimento de sintomas clínicos variou entre 2 dias e 2 anos (LIU *et al.*, 2020), permanecendo, assim, esta questão em aberto.

A seguir ao fígado, os pulmões são o local mais afetado pela toxicidade crónica de APs (PRAKASH *et al.*, 1999), uma vez que, quando os metabolitos já não se conseguem manter nas células hepáticas, viajam até às arteríolas pulmonares (ROEDER, 1999). Aí, a toxicidade pulmonar manifesta-se na forma de hipertensão pulmonar, devido a oclusão, podendo levar a hipertrofia ventricular direita (IPCS, 1988). É de notar que, os APs responsáveis por causar toxicidade pulmonar em animais experimentais (monocrotalina e fulvina) têm sido reportados como tendo os mesmos efeitos em humanos (EFSA, 2011).

Também já foi reportada neurotoxicidade (HUXTABLE *et al.*, 1996), incluindo casos em humanos (IPCS, 1988), bem como teratogenicidade (ROULET *et al.*, 1988; SMALL *et al.*, 1993), sendo esta última justificada pelo facto de os APs serem capazes de atravessar a placenta (SUNDARES, 1942).

Até à data, já foram reportados, mais de 15 mil casos de intoxicações com APs em humanos, em todo o mundo (YANG *et al.*, 2019).

Genotoxicidade e Carcinogenicidade

O metabolismo e a determinação das vias de ativação metabólica que levam à toxicidade têm sido extensivamente estudados, particularmente, a genotoxicidade (FU *et al.*, 2004). Assim, sabe-se que metade dos APs identificados são genotóxicos e muitos deles tumorogénicos (CHEN *et al.*, 2010).

Resultado da ativação metabólica, os APs podem produzir adutos de ADN, ligações cruzadas de ADN, quebras de ADN, trocas entre cromatídeos-irmãos, micronúcleos, aberrações cromossómicas, mutações de genes e de cromossomas *in vivo* e *in vitro* (CHEN *et al.*, 2010), afetando vias relacionadas com a regulação do ciclo celular, morte celular e desenvolvimento de cancro (LUCKERT *et al.*, 2015).

Dentro dos danos primários provocados por estes compostos, no ADN, está a formação de adutos, que são formados através da ligação covalente entre o grupo funcional de uma molécula e o ácido desoxirribonucleico (CHEN *et al.*, 2010; RAJALAKSHMI *et al.*, 2015). Esta ligação dá origem a replicação anormal, que sem a devida reparação celular, pode causar mutações e levar à formação de cancro (RAJALAKSHMI *et al.*, 2015). No caso dos APs, sabe-se que o seu metabolismo gera adutos de ADN derivados de DHP (CHEN *et al.*, 2010) e que, pelo menos parcialmente, estes são responsáveis pelo desenvolvimento de tumores hepáticos (FU *et al.*, 2004). Para além disso, conclui-se que este tipo de adutos têm o potencial de serem utilizados como biomarcadores de exposição a APs e de tumorigenicidade (FU *et al.*, 2004; RAJALAKSHMI *et al.*, 2015).

Uma outra forma de danificar o ADN, prende-se com a formação de ligações cruzadas. Os metabolitos dos APs contêm 2 grupos funcionais capazes de se ligarem em 2 sítios ao ADN ou a proteínas, formando ligações cruzadas. Estas impedem a separação das cadeias de ADN, bloqueando a sua replicação e transcrição, podendo culminar em morte celular (NOLL *et al.*, 2006). Assim, as propriedades antimitóticas, tóxicas e carcinogénicas dos APs podem, também, ser explicadas por este fenómeno. Quebras de cadeias de ADN também já foram reportadas (CHEN *et al.*, 2010).

O teste laboratorial denominado “Síntese de ADN Não Programada” mede a capacidade de reparação de danos primários no ADN (GRIFFIN & SEGALL, 1986). Este teste foi utilizado para medir a indução destes danos, por parte dos APs, tendo-se concluído que o composto *trans*-4-hidroxi-2-hexenal será um metabolito tóxico dos APs (GRIFFIN & SEGALL, 1986). Este composto, que é um produto reativo da peroxidação lipídica, é considerado genotóxico e citotóxico (LARSSON *et al.*, 2016).

Para além de danificarem o ADN, os APs também podem lesar os cromossomas (CHEN *et al.*, 2010). Uma das formas de que os APs se servem para tal é a indução de micronúcleos, demonstrando, assim, que são poderosos agentes clastogénicos (CHEN *et al.*, 2010). Esta anomalia genética compreende corpos extra-celulares, que contêm cromossomas, inteiros ou fragmentados, danificados, que não foram incorporados no núcleo depois da divisão celular (LUZHNA *et al.*, 2013). Os micronúcleos levam a morte celular, instabilidade genómica e desenvolvimento de cancro (LUZHNA *et al.*, 2013).

Muitos APs têm ainda a capacidade de induzir aberrações cromossómicas, em células de mamífero e na medula óssea de ratinho (CHEN *et al.*, 2010). Apesar de tudo, e sabendo que os estudos de genotoxicidade em humanos são raros, estão reportados casos de crianças

com VOD, em cujas células sanguíneas foram identificadas aberrações cromossômicas (IPCS, 1988).

Adicionalmente, também se descobriu que os APs têm a capacidade de provocar trocas de material genético entre cromátídeos-irmãos, estando este fenómeno associado a lesões cromossômicas e indução de tumores (CHEN *et al.*, 2010).

Os APs também são capazes de induzir mutações, como foi demonstrado em bactérias, em *Drosophila* e em roedores (CHEN *et al.*, 2010; EFSA, 2011). Para além disto, foram detetadas mutações no proto oncogene K-ras e no gene supressor tumoral p53, em tumores hepáticos induzidos pelo AP ridelina, em roedores (HONG *et al.*, 2003). Desta forma, e uma vez que, tanto em tecidos tumorigénicos alvo, como em oncogenes, têm sido encontradas mutações, é razoável inferir que a carcinogenicidade dos APs tenha um mecanismo mutagénico e genotóxico (CHEN *et al.*, 2010; EFSA, 2011). Tal já foi demonstrado para a ridelina, através de um estudo em murganhos, que determinou que este AP induz tumores hepáticos através de um mecanismo genotóxico de formação de adutos de ADN (YANG *et al.*, 2001).

Schoental *et al.* demonstraram que o AP retrorsina era capaz de induzir tumores hepáticos em animais, em estudos experimentais (SCHOENTAL *et al.*, 1954). A partir daí, foi descoberta a existência de tumores no fígado, pulmão, bexiga, rim, cérebro, espinal medula, pâncreas, glândulas supra-renais e trato gastrointestinal (CHEN *et al.*, 2010; FU *et al.*, 2004; LUCKERT *et al.*, 2015). Os APs também já foram associados a cancro da pele, uma vez que podem levar a fotossensibilização (ZHAO *et al.*, 2011).

Embora o aparecimento frequente de tumores hepáticos primários, em nativos da África do Sul e Central, tenha sido associado ao consumo de plantas produtoras de APs usadas em medicina tradicional (CHEN *et al.*, 2010), existem evidências contraditórias sobre o potencial carcinogénico dos APs, em humanos (BfR, 2013; EFSA, 2011; LUCKERT *et al.*, 2015). De facto, não só ainda não se conseguiram identificar casos de cancro em humanos, como consequência direta de exposição a APs (MOREIRA *et al.*, 2018), como alguns tipos de tumores, como o hemangiossarcoma hepático, característico dos estudos de carcinogenicidade de APs em roedores, apresentam uma taxa de incidência muito baixa em humanos (EMA, 2016).

Apesar de tudo, já foi demonstrado que o metabolismo da ridelina em microsomas hepáticos humanos é semelhante ao dos roedores, incluindo a formação de adutos de ADN. Assim, e uma vez que este AP induz tumores hepáticos, em animais, através da formação

destes adutos, é lógico discorrer que este mesmo AP também possa ser genotóxico e tumorogénico em humanos (XIA *et al.*, 2003).

Por esta mesma razão, o Programa Nacional de Toxicologia dos Estados Unidos da América declarou, em 2008, a ridelina como sendo um “carcinogénico humano previsível” (GPO, s.d.). Também a Agência Internacional de Pesquisa em Cancro classificou este AP, juntamente com outros 2 - lasiocarpina e monocrotalina -, como pertencente ao grupo 2B - “possível carcinogéneo para humanos” (EFSA, 2011).

Especificidades que Influenciam a Toxicidade

A toxicidade dos APs pode ser influenciada por diversos fatores, que incluem a espécie alvo, o género e a idade (FU *et al.*, 2004).

Regra geral, a toxicidade sobre bovinos, equinos, suínos, galinhas, patos e roedores assemelha-se à toxicidade que se manifesta em humanos (FU *et al.*, 2004). De facto, estudos *in vitro*, com microssomas hepáticos, sugerem que os humanos fazem parte das espécies sensíveis à toxicidade destes compostos (EFSA, 2011). Por outro lado, ovelhas, cabras, coelhos e porquinhos da Índia parecem ser mais resistentes aos APs (FU *et al.*, 2004).

É o balanço, entre as vias de ativação metabólica e as de destoxificação, o principal responsável pelas diferentes sensibilidades à toxicidade dos APs, que se observam nas diversas espécies (EFSA, 2011; FU *et al.*, 2004). Assim, o conteúdo em GSH e GST - responsáveis pela eliminação dos APs - tem influência na destoxificação realizada, que se repercutirá na toxicidade destes compostos (EFSA, 2011; FU *et al.*, 2004; YANG *et al.*, 2015). De facto, pensa-se que será devido a um menor conteúdo em glutathione, que as células endoteliais hepáticas sinusoidais são mais vulneráveis, do que os hepatócitos, aos efeitos tóxicos dos APs (DELEVE *et al.*, 1996).

De igual modo, também diferenças na atividade das CYPs, que são as grandes responsáveis pela formação dos metabolitos tóxicos, podem explicar suscetibilidades distintas à toxicidade dos APs (PRAKASH *et al.*, 1999). Seguindo esta ordem de ideias, é razoável supor que substâncias que induzam ou inibam as CYPs afetem a toxicidade dos APs. Certos medicamentos, como corticosteroides, efavirenz, fenobarbital, carbamazepina, oxcarbazepina, fenitoína e algumas espécies de plantas medicinais, como o *Hypericum perforatum* são indutores da atividade da CYP3A (LIU *et al.*, 2007). Assim, espera-se que a co-administração destes agentes com APs, aumente os efeitos adversos destes (AVILA *et al.*, 2020). Estudos relativos

ao fenobarbital já foram levados a cabo, em murganhos, tendo sido comprovada esta teoria (FU *et al.*, 2004; YANG *et al.*, 2001).

Variações na dieta, certos medicamentos, bem como o estilo de vida, também podem alterar a microbiota intestinal, que como vimos anteriormente, está implicada na conversão de N-óxidos a APs (YANG *et al.*, 2019).

Não só há diferenças na toxicidade dos APs entre as diversas espécies, como também dentro da mesma espécie (DALEFIELD *et al.*, 2016). Particularmente, o sexo masculino parece ser mais suscetível aos efeitos dos APs (DALEFIELD *et al.*, 2016; FU *et al.*, 2004; IPCS, 1988; PRAKASH *et al.*, 1999). Uma das razões que foi apontada neste sentido, especificamente no caso de murganhos machos, prende-se com expressões diferentes das CYPs metabolizadoras, comparativamente às fêmeas (DALEFIELD *et al.*, 2016; FU *et al.*, 2004; PRAKASH *et al.*, 1999). Também a idade tem influência na toxicidade, sendo que, tanto as crianças, como os jovens animais, aparentam ser mais sensíveis aos efeitos tóxicos dos APs, do que os adultos (BfR, 2013; FU *et al.*, 2004; IPCS, 1988).

Risco de Exposição a Alcalóides Pirrolizidínicos

Não será de estranhar que qualquer produto de consumo que contenha plantas capazes de produzir APs ou que esteja contaminado por elas, conterá estes compostos (EFSA, 2011). De facto, foram detetadas quantidades significativas de APs em preparações para tisanas, especiarias e PMBP, apesar de as matérias-primas genuínas não provirem de espécies produtoras destas toxinas (SCHRAMM *et al.*, 2019). Inicialmente, especulou-se que tal se deveria a contaminações acidentais, com ervas daninhas produtoras de APs (SELMAR *et al.*, 2019). Isto porque, sabe-se, hoje, que uma única planta de *Senecio* é suficiente para contaminar todo um lote de produto de consumo, preparado a partir de uma colheita inteira de um outro produto vegetal (NOWAK *et al.*, 2016).

Contudo, algumas observações foram apontando para outros mecanismos de contaminação, por exemplo, as que afetavam material vegetal obtido por colheita manual meticulosamente conduzida, como acontece na colheita do chá (*Camelia sinensis*) (NOWAK *et al.*, 2016). Assim, a possibilidade de ocorrência de “transferência horizontal entre produtos” foi ponderada e confirmada (NOWAK *et al.*, 2016). Este fenómeno consiste na libertação de APs para o solo durante a decomposição de plantas que os produzem (plantas dadoras), na subsequente difusão no solo e na ulterior absorção pelas raízes das plantas aceitadoras - (onde

se incluem plantas não produtoras de APs), que os vão acumular (NOWAK *et al.*, 2016). Mais recentemente, foi comprovado que essa transferência pode ocorrer entre plantas vivas, embora as vias exatas desta transferência não estejam, ainda, clarificadas (SELMAR *et al.*, 2019).

Assim, face a todos os riscos toxicológicos - quer os conhecidos, quer os potenciais - que os APs apresentam e considerando o grande número de plantas produtoras de APs, a sua distribuição global, o facto de um grande número dessas espécies serem ervas daninhas com grande disseminação em áreas agrícolas, bem como as várias formas de difusão e de contaminação por APs, a ampla ocorrência destes compostos em produtos de consumo não é negligenciável e pode constituir risco para os consumidores e para a saúde pública, devendo ser considerada como um importante problema de segurança alimentar (SCHRENK *et al.*, 2019).

Limites de Exposição

As descobertas de uma contaminação generalizada por APs confirmaram que a situação de contaminação por estes compostos é séria e a uma escala sem precedentes (EMA, 2016). Com o objetivo de proteger os consumidores da ingestão de APs tóxicos, algumas autoridades estabeleceram limites para o conteúdo destes compostos nos diversos produtos (STEINHOFF, 2019).

Na União Europeia, a EFSA determinou que a ingestão de APs tóxicos provocam VOD e têm efeitos carcinogénicos em roedores (EFSA, 2007). Uma vez sabendo os potenciais efeitos genotóxicos e carcinogénicos dos APs, o Painel da EFSA considerou não ser apropriado estabelecer um valor para a ingestão diária tolerável, tendo, por isso, adotado a abordagem da margem de exposição (MOE) (EFSA, 2011).

A MOE é a razão entre um ponto definido na curva dose-resposta para um determinado efeito adverso e a ingestão humana, e, portanto, não faz suposições de ingestões “seguras”, sendo considerada apropriada para substâncias genotóxicas e carcinogénicas, como é o caso dos APs. Esta estratégia usa um ponto de referência, normalmente retirado de um estudo animal, que corresponda a uma dose que provoque uma resposta pequena, mas mensurável, nos animais. Este ponto de referência é depois comparado com várias ingestões diárias estimadas em humanos, que têm em conta diferentes padrões de consumo. Ao dividir o ponto de referência pelas ingestões diárias estimadas, obtemos a MOE (EFSA, 2005).

De modo a podermos calcular a MOE, é recomendado utilizar como ponto de referência a BMDL₁₀, que representa a dose de referência para um limite de confiança de 10% e que é uma estimativa da dose mais baixa, que com 95% de certeza, não provocará mais do que 10% de incidência de cancro em roedores (EFSA, 2005).

Em geral, uma MOE de 10000 ou superior, se for baseada na BMDL₁₀ de um estudo animal, pode ser considerada como pouco preocupante, do ponto de vista da saúde pública, e de baixa prioridade para ações de gestão de riscos (EFSA, 2005).

Assim, em 2011, a EFSA decidiu adotar a MOE, e calculou uma BMDL₁₀ de 70 µg/kg de peso corporal, a partir da indução de hemangiossarcomas hepáticos pelo AP lasiocarpina, em murganhos macho, como ponto de referência para ser comparado com a exposição diária estimada (EFSA, 2011). Para se obter a dose em humanos considerada como pouco preocupante, aplica-se o fator de segurança de 10000 (EMA, 2016), chegando-se, assim, a uma dose de 0,007 µg (7 ng) por kg de peso corporal por dia (MOREIRA *et al.*, 2018). Então, para um indivíduo de 60 kg, uma ingestão diária de 0,42 µg de APs não representaria risco para a sua saúde (EFSA, 2011; STEINHOFF, 2019).

Esta conclusão vai ao encontro de outras duas, anteriormente tecidas, uma pelo COT - UK Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment - e outra pelo BfR (GOTTSCHALK *et al.*, 2015). Ambas, baseadas na abordagem da MOE, recomendaram que os consumidores não devessem ultrapassar uma ingestão diária de 0,007 µg de APs/kg de peso corporal (BfR, 2013; EFSA, 2011).

No que diz respeito aos PMBP, já em 1992, o BfR tinha estabelecido limites máximos de APs nestes produtos e restringido o seu uso em mulheres grávidas ou a amamentar (BfR, 2013). Entretanto, em 2013, este organismo publica uma série de resultados que demonstravam a presença de APs em tisanas medicinais, iniciando, a partir desse momento, uma discussão sobre a potencial contaminação de plantas medicinais (BfR, 2013; STEINHOFF, 2019). Em busca de contaminações de PMBP por APs, a indústria alemã elaborou uma lista dos fármacos vegetais que têm maior risco de contaminação, identificando *Hyperici herba*, *Passiflorae herba*, *Matricariae flos*, *Alchemillae herba*, *Liquiritiae radix*, *Melissae folium*, *Menthae piperitae folium*, *Salviae folium*, *Taraxaci herba cum radice* e *Thymi herba* (EMA, 2016).

A EMA, demonstrou preocupação face a este assunto e em 2014, baseando-se num valor oriundo da MOE da EFSA, em considerações toxicológicas e nas *guidelines* de avaliação e gestão de carcinogénicos genotóxicos disponíveis, recomendou uma ingestão máxima diária de 0,35 µg de APs, para uma pessoa de 50 kg, durante um máximo de 14 dias. Em 2016, e

seguindo-se às Agências do Medicamento Alemã, Austríaca e do Reino Unido, a EMA harmonizou o valor limite de contaminação em PMBP, revendo-o para 1,0 µg de APs, durante um período de transição, após o qual devia passar a ser de 0,35 µg de APs diários (EMA, 2016).

Já anteriormente, a EMA tinha alertado para a possibilidade de a ingestão diária de APs poder ser maior do que as quantidades consideradas como seguras, de acordo com a literatura publicada (EMA, 2014). Este facto pode ser comprovado considerando as concentrações encontradas em amostras de mel (0,019–0,120 µg/g) e partindo do princípio que a dose comum são 1 a 2 colheres de sopa por dia (10,0–20,0 g), conclui-se que um consumidor de mel ultrapassa, facilmente, o limite máximo recomendado de 1,0 µg de APs por dia (MOREIRA *et al.*, 2018).

Em 2017, a EFSA publicou um novo parecer científico sobre os riscos para a saúde humana relacionados com a presença de APs, na qual estabeleceu um novo ponto de referência para a avaliação do risco crónico destes compostos - uma BMDL₁₀ de 237 µg/kg de peso corporal por dia, derivada da incidência de hemangiossarcomas hepáticos em murganhos fêmea, expostas a ridelina (EFSA, 2017).

Relativamente aos riscos agudos, a EFSA usou, para os avaliar, a dose mais baixa conhecida associada a efeitos agudos em humanos: 2,0 mg/kg de peso corporal, por dia (EFSA, 2017). Este valor foi baseado na pouca informação disponível relativa a casos em humanos, que indicava a existência de toxicidade a curto prazo, após a exposição a uma faixa de 1,0 a 3,0 mg de APs por kg de peso corporal por dia, durante um período que podia variar entre 4 dias a 2 semanas (EFSA, 2017). No entanto, após verificar, através de uma série de casos de intoxicações, que o consumo de certos suplementos alimentares à base de plantas atingia níveis de exposição muito próximos dos acima mencionados, a EFSA conclui que níveis de exposição menos de 100 vezes inferiores a 1,0-3,0 mg AP/kg de peso corporal por dia, ou seja, 10,0-30,0 µg AP/kg de peso corporal por dia, podem estar associados ao risco de efeitos agudos (EFSA, 2017).

O grande número de APs, incluindo os correspondentes N-óxidos, torna impossível gerar dados *in vivo* sobre a toxicidade de todos eles, mesmo para aqueles que aparecem mais frequentemente nos alimentos e PMBP (SCHRENK *et al.*, 2019). Assim, sem esta informação, a atual avaliação de risco dos APs usa uma abordagem preventiva, que pressupõe o “pior caso possível”, classificando todos os APs como igualmente potentes, isto é, tão potentes quanto os mais tóxicos - lasiocarpina e ridelina (SCHRENK *et al.*, 2019). Aliado a isto, e partindo do princípio que a maioria das amostras contém mais do que um AP, a atual avaliação de risco

destas misturas de APs é baseada na soma de um número selecionado destes compostos, assumindo igual toxicidade para todos (EFSA, 2017). Devido às grandes e bem documentadas diferenças dependentes da estrutura entre vários grupos de APs, em relação à sua toxicidade, este procedimento parece inadequado (MERZ & SCHRENK, 2016).

Neste sentido, vários estudos foram desenvolvidos a fim de comprovar as diferentes potências entre os diferentes APs (PRINSLOO *et al.*, 2019), tendo sido proposto que vários destes compostos apresentam uma potência tóxica inferior à ridelina e à lasiocarpina (CHEN *et al.*, 2017; LOUISSE *et al.*, 2019; MERZ & SCHRENK, 2016). A EFSA concluiu que devido a diversas limitações, nenhum destes estudos (CHEN *et al.*, 2017; MERZ & SCHRENK, 2016) foi considerado adequado para a avaliação de risco dos APs (EFSA, 2017), mantendo, por isso a sua abordagem conservativa, apesar da possível sobrestimação do risco, e decorrentes preocupações entre consumidores e doentes, e restrições à comercialização de PMBP e suplementos alimentares valiosos (SCHRENK *et al.*, 2019).

Um outro assunto a ser considerado é como avaliar os APNOs, uma vez que embora estes apresentem uma menor toxicidade, ainda são adicionados às estimativas de exposição combinadas, sem qualquer correção à sua toxicidade inferior (PRINSLOO *et al.*, 2019). Mais recentemente, em 2019, a acuidade da MOE para determinar o risco dos APs também foi questionada, ao supor-se que esta abordagem sobrestima a exposição e o risco a estes compostos (CHEN *et al.*, 2019).

Há que ter em conta que a avaliação de riscos dos APs é baseada em estudos sobre animais (MOREIRA *et al.*, 2018) e, por isso, podem ser esperadas diferenças dependentes das espécies. Assim, foram já sugeridas várias formas para converter as doses animais em riscos de exposição humana, que têm em conta as diferenças entre espécies (MOREIRA *et al.*, 2018; NAIR & JACOB, 2016).

Até agora, não estão estabelecidos, na União Europeia, limites máximos para a ingestão diária de APs, com a exceção do estabelecido para PMBP (CHEN *et al.*, 2019). No entanto, todos concordam que os APs são uma classe de compostos indesejáveis (MOREIRA *et al.*, 2018). Comparando a ingestão total, que resulta em toxicidade humana, com as doses letais que se verificam em estudos de toxicidade crónica em murganhos, conclui-se que os seres humanos são mais suscetíveis e podem sobreviver tempo suficiente para desenvolverem cancro, mesmo após uma breve exposição a níveis tóxicos ou a uma exposição prolongada a níveis mais baixos (IPCS, 1988). Assim, o potencial risco de cancro em humanos deve ser seriamente considerado (CHEN *et al.*, 2010) e, uma vez que os efeitos em humanos podem

ser cumulativos, a taxas de ingestão muito baixas, é recomendado que a exposição seja minimizada sempre que possível (IPCS, 1988).

Posição das Autoridades Europeias

Tal como já nos foi possível verificar, e face à problemática que os APs parecem representar, as autoridades europeias - EMA e EFSA - já se manifestaram, através da emissão de vários pareceres públicos, sendo os mais recentes de 2016 (EMA, 2016) e de 2017 (EFSA, 2017), respetivamente.

Enquanto a EMA emitiu a sua declaração pública focando-se na contaminação de PMBP, tendo como objetivo a elaboração de recomendações no âmbito da gestão de riscos e controlo de qualidade (EMA, 2016), a EFSA centrou-se na contaminação de mel, chá, infusões à base de plantas e suplementos alimentares, tendo como objetivo primordial emitir uma opinião científica sobre os riscos dos APs para a saúde humana e identificar quais destes compostos são os mais relevantes nos alimentos (EFSA, 2017).

Posição da EMA

Já em 2014, o *Herbal Medicinal Products Committee* (HMPC), o comité técnico especializado da EMA, tinha estabelecido uma dose limite de ingestão para os APs, no entanto, à luz de novas informações, decidiu emitir um parecer atualizado, de forma a permitir uniformizar as abordagens dos diferentes Estados Membros, relativamente à implementação de controlos nos seus mercados (EMA, 2016).

Assim, e após rever um conjunto de novos dados, o HMPC posiciona-se na questão da toxicidade aguda e sub-crónica dos APs mostrando que estudos em animais revelaram toxicidade aguda para doses elevadas de APs ingeridas, levando ao desenvolvimento de HSOS. Também em humanos foi descrita uma toxicidade semelhante, no entanto, tendo por base uma ingestão diária inferior a 1,0 µg de APs proveniente de PMBP, esta não é passível de provocar HSOS em humanos (EMA, 2016).

No que toca ao potencial carcinogénico, e baseando-se em estudos de carcinogenicidade realizados em roedores e na tomada de posição de várias outras entidades, o Comité sublinhou o risco de desenvolvimento cancerígeno em humanos, como elemento instigador da avaliação de risco de APs (EMA, 2016).

Neste sentido, o HMPC articulou um conjunto de recomendações, nomeadamente de:

- gestão de riscos - fundamentando-se no conceito ALARA (do inglês, *as low as reasonably achievable*), transmitindo assim, que a exposição dos doentes aos APs deve ser tão baixa quanto possível e estar de acordo com os valores limite já anteriormente estipulados: 0,35 µg diárias e 1,0 µg por dia durante o período transacional;
- qualidade dos PMBP - onde sugere a implementação de testes que tenham como finalidade garantir que os níveis de APs estão dentro dos limites acordados e de medidas que evitem ou diminuam a contaminação destes produtos (EMA, 2016).

Relativamente aos testes que tenham como finalidade garantir os níveis apropriados de APs, o Comité alerta para a sua consideração urgente, tendo em conta a evidência de uma contaminação generalizada em ingredientes de PMBP, destacando como principais assuntos a abordar:

- Os métodos analíticos e recursos laboratoriais existentes, uma vez que são necessários métodos analíticos extremamente sensíveis para quantificar APs em PMBP sendo que, atualmente, não existe nenhum método oficial. O HMPC considerou que o desenvolvimento de um método analítico apropriado era um assunto prioritário;
- A priorização de quais os ingredientes à base de plantas/PMBP a analisar, que vai requerer uma avaliação individualizada de cada ingrediente, bem como da posologia de cada um em PMBP. O Comité sugeriu que se desse prioridade às substâncias à base de plantas com alto risco de contaminação. Para além disso, também considerou relevante a averiguação sobre a necessidade da demonstração de conformidade dos PMBP por testes de lote *versus* testes aleatórios periódicos;
- A definição das especificações da qualidade das substâncias à base de plantas, das preparações à base de plantas e dos PMBP, tendo em conta o melhor momento para a avaliação, face ao equilíbrio dos interesses dos produtores e dos consumidores. Estas especificações reguladoras devem ser atualizadas, de maneira a espelharem a evolução nas metodologias de controle dos APs (EMA, 2016).

Já no que às medidas que evitem ou diminuam a contaminação de PMBP por APs diz respeito, o HMPC considera que serão necessárias, além do cumprimento das regras de Boas Práticas de Agricultura e Recolha (BPAP) outras medidas do âmbito dos processos agronómicos, nomeadamente, a inspeção dos campos durante a produção, o rigoroso controle de emergência e desenvolvimento de plantas invasivas, colheita seletiva, triagem, limpeza de sementes, entre outras. Refere ainda que estas não poderão ser alcançadas num curto período

de tempo, uma vez que são precisos vários ciclos de crescimento, para que os controlos se tornem eficientes. Nesse sentido, é plausível que haja um período de transição, que permita a implementação das referidas medidas. Este período, durante o qual o limite máximo (1,0 µg) de APs poderá ser aplicado a certos ingredientes, deve ser o mais breve possível, não ultrapassando os três anos. (EMA, 2016).

Mais recentemente, em 2019, a EMA publicou uma atualização deste parecer de 2016, onde prolonga o período de transição por mais dois anos, isto é, até 31 de maio de 2021 (EMA, 2019).

Adicionalmente, e como parte da aferição de risco, os titulares de autorização de introdução no mercado, bem como os fabricantes de ingredientes ativos farmacêuticos à base de plantas deviam fornecer informações relativas às estratégias implementadas para reduzir os níveis de APs, de forma rotineira, permitindo uma avaliação durante o período de transição (EMA, 2016).

A EMA declara ainda que, caso as melhoradas BPAR se revelem pouco eficazes, proceder-se-á a uma revisão adicional (EMA, 2016).

Posição da EFSA

Em 2011, a EFSA já tinha avaliado os riscos relativos à presença de APs em alimentos para humanos e para animais, e baseando-se unicamente em dados relativos a mel, conclui que poderia haver uma possível preocupação relativamente a crianças grandes consumidoras deste alimento. Para além disto, e embora não reunisse essa informação, a EFSA concluiu que a exposição a APs provenientes de pólen, chá, infusões à base de plantas e suplementos alimentares à base de plantas podia representar um potencial risco para os consumidores (EFSA, 2017).

Em 2016, o mesmo Painel sobre Contaminantes na Cadeia Alimentar (CONTAM) da EFSA publicou um relatório científico sobre a exposição alimentar a APs através do consumo de mel, chá, infusões e suplementos, que foi utilizado para atualizar a caracterização do risco destes compostos (EFSA, 2017).

Desta forma, e tendo por base o surgimento de novas informações, foi requerido à EFSA uma avaliação da exposição alimentar a APs em mel, chá, infusões e suplementos. Para além disso, foi ainda solicitado que se averiguassem os riscos para a saúde relacionados com

as exposições estimadas, assim como quais os APs relevantes nestes e noutros alimentos, quer para humanos, quer para animais (EFSA, 2017).

Face a estas novas informações, o CONTAM decidiu adotar o valor de 237µg/kg de peso corporal por dia, como nova BMDL₁₀, para avaliar os riscos carcinogénicos dos APs (EFSA, 2017).

No que toca à exposição crónica, o painel científico concluiu que todas as MOEs calculadas, para todos os consumidores, nos cenários de consumo médio e elevado, indicam uma possível preocupação para a saúde humana, no que toca à exposição a APs. Deu especial enfoque a esta preocupação, no caso de grandes e frequentes consumidores de chá e infusões à base de plantas (EFSA, 2017).

Adicionalmente, o CONTAM chegou à conclusão de que há um baixo risco relativamente à exposição aguda a APs provenientes do consumo de chá, infusões e mel. No entanto, afirma que a exposição a APs através do consumo de suplementos alimentares varia consideravelmente, dependendo do tipo de suplemento e alerta para o facto de o consumo de suplementos alimentares à base de plantas produtoras de APs poder atingir níveis de exposição aguda muito próximos da gama de doses associada a efeitos agudos severos em humanos. Conclui ainda que o consumo de suplementos à base de pólen não é considerado capaz de provocar riscos agudos à saúde humana (EFSA, 2017).

Relativamente aos APs a monitorizar nos alimentos, foi tida em conta a sua presença em diferentes alimentos, toxicidade e separação cromatográfica, e assim, 17 APs foram selecionados. Contudo, uma série de análises demonstrou que também outros APs podem contribuir de forma significativa para os níveis detetados em certos alimentos, pelo que se recomenda a monitorização de outros APs, para além dos 17 propostos (EFSA, 2017).

No que se refere aos alimentos para animais, e devido ao número insuficiente de amostras disponíveis, é sugerido analisar, pelo menos, os 17 APs designados para os alimentos, com a igual ressalva de se poderem e deverem incluir APs adicionais (EFSA, 2017).

Em jeito de conclusão, tece algumas recomendações relativas à necessidade de mais informações acerca da toxicidade dos APs mais comumente encontrados nos alimentos, nomeadamente, toxicocinética, ativação metabólica e potência carcinogénica, o que permitiria um aprimoramento da avaliação do risco destes compostos. Também enfatiza a pertinência de se continuarem a recolher dados relativos à presença de APs em alimentos e alimentação animal e reafirma a conveniência de se monitorizarem mais destes compostos, para além dos

17 propostos. Por fim, faz referência à carência de métodos analíticos sensíveis e seletivos e recomenda o seu desenvolvimento, com vista a diminuir as incertezas relativas à aferição de exposição (EFSA, 2017).

Conclusão

Os APs são uma classe de metabolitos secundários vegetais tóxicos, presentes em centenas de espécies de plantas (LI *et al.*, 2011). O número crescente de contaminações com estes compostos, em alimentos, suplementos alimentares, infusões e produtos medicinais à base de plantas, bem como as conclusões de várias avaliações de risco, fundamentam uma preocupação com a segurança dos consumidores, identificada pela comunidade científica e assumida por diversas autoridades europeias (EFSA, 2011, 2017; SCHRENK *et al.*, 2019). De facto, embora o risco de exposição aguda a APs, por consumo de produtos contaminados, seja considerado baixo, a exposição crónica, particularmente, de grandes e frequentes consumidores de infusões, impõe riscos para a saúde humana, de dimensão ainda não completamente esclarecida e quantificada (EFSA, 2017).

A informação epidemiológica relativa à carcinogenicidade por APs em humanos é escassa. Contudo, os resultados dos diversos estudos que demonstraram a carcinogenicidade de APs em animais de experiência (CHEN *et al.*, 2010) e elucidaram os respetivos mecanismos moleculares (ativação metabólica, formação de adutos) não permitem excluir a possibilidade de risco de carcinogénese, também em humanos (BfR, 2013; MERZ & SCHRENK, 2016).

Neste contexto, a Autoridade Europeia de Segurança Alimentar sugeriu um conjunto de recomendações, onde destacou a necessidade de monitorizar a contaminação por APs nos diferentes produtos alimentares e a necessidade de aperfeiçoamento e validação de métodos analíticos seletivos e sensíveis, capazes de reduzir as incertezas quanto à extensão e significado da exposição a estes compostos. De igual modo, sublinhou a necessidade de aprofundamento do conhecimento sobre a toxicocinética, os mecanismos de ativação metabólica e a potência carcinogénica dos APs, principalmente daqueles que, com mais frequência, contaminam produtos alimentares, já que, só assim, será possível melhorar o rigor das avaliações de risco pela exposição (EFSA, 2017).

Também a Agência Europeia do Medicamento publicou recomendações, onde destaca a obrigatoriedade de minimizar ou eliminar a possibilidade de exposição a APs por consumo de medicamentos. Desde logo, a indústria farmacêutica deverá acautelar que qualquer produto

medicinal à base de plantas não implique exposição a APs superior a 0,35 µg por dia. Sugeriu, também, a monitorização, pelas autoridades nacionais dos Estados Membros, dos teores de APs, em matérias primas vegetais e produtos medicinais à base de plantas e exortou à aplicação de estratégias que evitem ou diminuam a possibilidade de ocorrência de contaminações. Para além disso, propôs que os titulares de autorização de introdução no mercado e os fabricantes de ingredientes ativos farmacêuticos à base de plantas partilhem detalhes sobre as estratégias implementadas para reduzir os níveis de APs (EMA, 2016).

A contaminação com APs de plantas medicinais, de produtos medicinais à base de plantas e de matérias-primas de alguns suplementos alimentares é, também, um desafio para os produtores agrícolas, no que diz respeito à necessidade de redução dos níveis de contaminação. Os atuais processos de cultivo, de colheita e de processamento não permitem eliminar completamente a possibilidade de contaminação por APs (STEINHOFF, 2019). Estes aspetos foram reconhecidos por cientistas e outros intervenientes da cadeia de valor desta fileira e ulteriormente transmitidos ao Directorado Europeu para a Agricultura e Desenvolvimento Rural, num relatório que identifica necessidades e prioridades para as intervenções para limitação dos riscos e para a investigação básica e aplicada, que deverá ser desenvolvida em resposta aos problemas emergentes (CAVALEIRO *et al.*, s.d.).

Tendo em conta as orientações dadas pelas autoridades europeias, a fim de combater esta problemática, é possível discorrer que muitas das intervenções necessárias, quer no domínio científico, quer na sua realização técnica, se inserem nas competências das Ciências Farmacêuticas e das suas especializações. Assim, o aconselhamento preventivo dos consumidores e a deteção de condições favoráveis ao risco de exposição a APs é compatível com o papel do Farmacêutico, uma vez que este é um agente de saúde pública, inserido e ao serviço da comunidade. Também o desenvolvimento de regulamentos, de documentos técnicos orientadores (nomeadamente, em domínios da regulamentação do medicamento e da qualidade alimentar), bem como o aperfeiçoamento e a validação de metodologias analíticas para deteção, identificação e quantificação de APs, em matérias primas vegetais e produtos acabados (alimentos, suplementos alimentares, produtos medicinais à base de plantas), se inserem no quadro de competências do Ato Farmacêutico. Já no que aos programas de avaliação e gestão de risco, no âmbito da segurança alimentar, diz respeito, estes requerem a contribuição de profissionais qualificados, como por exemplo, especialistas em Segurança Alimentar. Por fim, também a própria investigação, com propósitos tão distintos quanto a avaliação do potencial toxicológico e da toxicocinética de cada AP, o estudo dos mecanismos biossintéticos destes compostos na célula vegetal, a cinética da sua distribuição nos órgãos

vegetais, bem como a de difusão no solo e de absorção trans-radicular, não dispensam o conhecimento e as competências de especialistas em Toxicologia, em Farmacocinética e em Farmacognosia, competências estas presentes em qualquer profissional de Ciências Farmacêuticas.

Tendo-se tornado claro que o problema de contaminação com APs não vai ser completamente resolvido num futuro próximo (STEINHOFF, 2019), é, de facto, imperativo continuar a trabalhar no sentido de se preencherem as lacunas de informação existentes, aprimorar os atuais modelos e parâmetros que descrevem a toxicidade e prosseguir com os esforços para evitar a contaminação de consumíveis, com estes compostos (FU *et al.*, 2004; LOUISSE *et al.*, 2019; SCHRENK *et al.*, 2019). Para a realização de semelhante tarefa, e tendo sempre em vista a proteção e segurança dos consumidores, espera-se um longo caminho pela frente e uma entreaajuda multidisciplinar entre as diversas áreas de estudo e investigação. Neste campo, estão, certamente, inseridas as Ciências Farmacêuticas, onde o Farmacêutico e as suas respetivas especializações poderão desempenhar um papel fundamental na mitigação deste problema de segurança alimentar.

Bibliografia

AVILA, C., BREAKSPEAR, I., HAWRELAK, J., SALMOND, S., EVANS, S. - **A systematic review and quality assessment of case reports of adverse events for borage (*Borago officinalis*), coltsfoot (*Tussilago farfara*) and comfrey (*Symphytum officinale*).** *Fitoterapia*. (2020).

BENAMAR, H., TOMASSINI, L., VENDITTI, A., MAROUF, A., BENNACEUR, M., SERAFINI, M., NICOLETTI, M. - **Acetylcholinesterase inhibitory activity of pyrrolizidine alkaloids from *Echium confusum* Coincy.** *Natural Product Research*. (2016) 1–9.

BUNDESINSTITUT FÜR RISIKOBEWERTUNG (BfR) - **Pyrrolizidine alkaloids in herbal teas and teas.** (2013).

CAVALEIRO, C., COGLIANDRO, A., FRÉMONDIÈRE, G., ARGYROPOULOS, D. - **Plant raw materials for herbal-medicinal products, botanical food supplements and frontier products: requirements for quality, safety and efficacy.** In: European Partnership for Innovation in Agriculture - Focus Group: Diversification opportunities through plant-based medicinal and cosmetic products. Directorate-General for Agriculture and Rural Development. *In press*.

CHEN, L., MULDER, P. P. J., LOUISSE, J., PEIJNENBURG, A., WESSELING, S., RIETJENS, I. M. C. M. - **Risk assessment for pyrrolizidine alkaloids detected in (herbal) teas and plant food supplements.** *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 86 (2017) 292–302.

CHEN, L., MULDER, P. P. J., PEIJNENBURG, A., RIETJENS, I. M. C. M. - **Risk assessment of intake of pyrrolizidine alkaloids from herbal teas and medicines following realistic exposure scenarios.** *Food and Chemical Toxicology*. 130 (2019) 142–153.

CHEN, T., MEI, N., FU, P. P. - **Genotoxicity of pyrrolizidine alkaloids.** *Journal of Applied Toxicology*. 30 (2010) 183–196.

COOPER, R. A., HUXTABLE, R. J. - **A simple procedure for determining the aqueous half-lives of pyrrolic metabolites of pyrrolizidine alkaloids.** *Toxicon*. 34, 5 (1996) 604–607.

DA SILVA NEGREIROS NETO, T., GARDNER, D., HALLWASS, F., LEITE, A. J. M., GUIMARÃES DE ALMEIDA, C., NUNES SILVA, L., ARAÚJO ROQUE, A. DE, GOBBI DE BITENCOURT, F., GUIMARÃES BARBOSA, E., TASCÁ, T., MACEDO, A. J., VIEIRA DE ALMEIDA, M., BRANDT GIORDANI, R. - **Activity of pyrrolizidine alkaloids against bio**

film formation and *Trichomonas vaginalis*. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 83 (2016) 323–329.

DALEFIELD, R. R., GOSSE, M. A., MUELLER, U. - **A 28-day oral toxicity study of echimidine and lasiocarpine in Wistar rats.** *Regulatory Toxicology and Pharmacology.* (2016).

DELEVE, L. D., WANG, X., KUHLENKAMP, J. F., KAPLOWITZ, N. - **Toxicity of Azathioprine and Monocrotaline in Murine Sinusoidal Endothelial Cells and Hepatocytes: The Role of Glutathione and Relevance to Hepatic Venooclusive Disease.** *American Association for the Study of Liver Diseases.* 23, 3 (1996) 589–599.

EDGAR, J. A., MOLYNEUX, R. J., COLEGATE, S. M. - **Pyrrolizidine Alkaloids: Potential Role in the Etiology of Cancers, Pulmonary Hypertension, Congenital Anomalies and Liver Disease.** *Chemical Research in Toxicology.* (2014) 1–60.

EUROPEAN FOOD AND SAFETY AUTHORITY (EFSA). - **Opinion of the Scientific Committee on a request from EFSA related to a Harmonised Approach for Risk Assessment of Substances which are both Genotoxic and Carcinogenic.** *EFSA Journal.* 282 (2005) 1–31.

EUROPEAN FOOD AND SAFETY AUTHORITY (EFSA). - **Opinion Of The Scientific Panel On Contaminants In The Food Chain On A Request From The European Commission Related To Pyrrolizidine Alkaloids As Undesirable Substances In Animal Feed.** *EFSA Journal.* 447 (2007) 1–51.

EUROPEAN FOOD AND SAFETY AUTHORITY (EFSA). - **Scientific Opinion on Pyrrolizidine alkaloids in food and feed.** *EFSA Journal.* 9, 11 (2011).

EUROPEAN FOOD AND SAFETY AUTHORITY (EFSA). - **Risks for human health related to the presence of pyrrolizidine alkaloids in honey, tea, herbal infusions and food supplements.** *EFSA Journal.* 15, 7 (2017).

EHMKE, A., BORSTEL, K. VON, HARTMANN, T. - **Alkaloid N-oxides as transport and vacuolar storage compounds of pyrrolizidine alkaloids in *Senecio vulgaris* L.** *Planta.* 176 (1988) 83–90.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY (EMA). - **Public statement on the use of herbal medicinal products containing toxic, unsaturated pyrrolizidine alkaloids (PAs).** (2014).

EUROPEAN MEDICINES AGENCY (EMA). - **Public statement on contamination of herbal medicinal products/traditional herbal medicinal products with pyrrolizidine alkaloids.** (2016).

EUROPEAN MEDICINES AGENCY (EMA). - **HMPC meeting report on European Union herbal monographs, guidelines and other activities.** (2019).

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO), WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). - **Proposed Draft Code of Practice for Weed Control to Prevent and Reduce Pyrrolizidine Alkaloid contamination in Food and Feed.** (2014).

FIELD, R. A., STEGELMEIER, B. L., COLEGATE, S. M., BROWN, A. W., GREEN, B. T. - **An in vitro comparison of the cytotoxic potential of selected dehydropyrrolizidine alkaloids and some N-oxides.** *Toxicol.* 97 (2015) 36–45.

FU, P. P., XIA, Q., LIN, G., CHOU, M. W. - **Pyrrolizidine Alkaloids - Genotoxicity, Metabolism Enzymes, Metabolic Activation and Mechanisms.** *Drug Metabolism.* 36, 1 (2004) 1–55.

GOTTSCHALK, C., RONCZKA, S., PREIß-WEIGERT, A., OSTERTAG, J., KLAFFKE, H., SCHAFFT, H., LAHRSEN-WIEDERHOLT, M. - **Pyrrolizidine alkaloids in natural and experimental grass silages and implications for feed safety.** *Animal Feed Science and Technology.* 207 (2015) 253–261.

GOVERNMENT PUBLISHING OFFICE (GPO). - **Federal Register: National Toxicology Program.** (s.d.). [Acedido a 20 de abril de 2020]. Disponível em: <https://www.gpo.gov/fdsys/%0Asearch/pagedetails.action?granuleId=E8-9379&packageId=FR-2008-04-30&acCode=FR&collectionCode=%0AFR>

GRIFFIN, D. S., SEGALL, H. J. - **Genotoxicity and Cytotoxicity of Selected Pyrrolizidine Alkaloids, A Possible Alkenal Metabolite of the Alkaloids, and Related Alkenals.** *Toxicology and Applied Pharmacology.* 86 (1986) 227–234.

HARTMANN, T. - **Chemical ecology of pyrrolizidine alkaloids.** *Planta.* 207 (1999) 483–495.

HE, Y.-Q., YANG, L., LIU, H.-X., ZHANG, J.-W., LIU, Y., FONG, A., XIONG, A.-Z., LU, Y.-L., YANG, L., WANG, C.-H., WANG, Z.-T. - **Glucuronidation, a New Metabolic Pathway for Pyrrolizidine Alkaloids.** *Chem. Res. Toxicol.* 23, 3 (2010) 591–599.

- HONG, H. L., TON, T. V., DEVEREUX, T. R., MOOMAW, C., CLAYTON, N., CHAN, P., DUNNICK, J. K., SILLS, R. C. - **Chemical-specific alterations in ras, p53, and beta-catenin genes in hemangiosarcomas from B6C3F1 mice exposed to o-nitrotoluene or riddelliine for 2 years.** *Toxicology and Applied Pharmacology*. 19 (2003) 227–234.
- HUANG, S., ZHOU, X., WANG, C., WANG, Y., XIAO, F., SHAN, L., GUO, Z., WENG, J. - **Pyrrolizidine alkaloids from *Liparis nervosa* with inhibitory activities against LPS-induced NO production in RAW264.7 macrophages.** *Phytochemistry*. (2013) 1–8.
- HUXTABLE, R. J., YAN, C. C., WILD, S., MAXWELL, S., COOPER, R. - **Physicochemical and Metabolic Basis for the Differing Neurotoxicity of the Pyrrolizidine Alkaloids, Trichodesmine and Monocrotaline.** *Neurochemical Research*. 21, 2 (1996) 141–146.
- INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS). - **Environmental Health Criteria 80: Pyrrolizidine Alkaloids.** (1988). [Acedido a 2 de maio de 2020]. Disponível em: <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc080.htm>
- JARDIM BOTÂNICO UTAD. - **Flora Digital de Portugal.** (s.d.). [Acedido a 31 de março de 2020]. Disponível em: <https://jb.utad.pt/flora>
- KAKAR, F., AKBARIAN, Z., LESLIE, T., MUSTAFA, M. L., WATSON, J., EGMOND, H. P. VAN, OMAR, M. F., MOFLEH, J. - **An Outbreak of Hepatic Venous Occlusive Disease in Western Afghanistan Associated with Exposure to Wheat Flour Contaminated with Pyrrolizidine Alkaloids.** *Journal of Toxicology*. 2010 (2010) 1–7.
- KRUSE, L. H., STEGEMANN, T., SIEVERT, C., OBER, D. - **Identification of a Second Site of Pyrrolizidine Alkaloid Biosynthesis in Comfrey to Boost Plant Defense in Floral Stage.** *Plant Physiology*. 174 (2017) 47–55.
- LAHIRI, R., ANSARI, A. A., VANKAR, Y. D. - **Recent developments in design and synthesis of bicyclic azasugars, carbasugars and related molecules as glycosidase inhibitors.** *Chem. Soc. Rev.* 5 (2013).
- LANGEL, D., OBER, D., PELSER, P. B. - **The evolution of pyrrolizidine alkaloid biosynthesis and diversity in the Senecioneae.** *Phytochem Rev.* 10 (2011) 3–74.
- LARSSON, K., HARRYSSON, H., HAVENAAR, R., ALMINGER, M., UNDELAND, I. - **Formation of malondialdehyde (MDA), 4-hydroxy-2-hexenal (HHE) and 4-hydroxy-2-nonenal (HNE) in fish and fish oil during dynamic gastrointestinal in vitro digestion.** *Food & Function*. 7 (2016) 1176–1187.

LI, N., XIA, Q., RUAN, J., FU, P. P., LIN, G. - **Hepatotoxicity and Tumorigenicity Induced by Metabolic Activation of Pyrrolizidine Alkaloids in Herbs.** *Current Drug Metabolism.* 12 (2011) 823–834.

LIU, F., RONG, X., GUO, H., XU, D., LIU, C., MENG, L., YANG, X., GUO, T., KAN, X., SONG, Y. - **Clinical characteristics, CT signs and pathological findings of Pyrrolizidine alkaloids-induced sinusoidal obstructive syndrome: a retrospective study.** *BMC Gastroenterology.* 20, 30 (2020) 1–10.

LIU, Y.-T., HAO, H.-P., LIU, C.-X., WANG, G.-J., XIE, H.-G. - **Drugs as CYP3A Probes, Inducers, and inhibitors.** *Drug Metabolism Reviews.* 39 (2007) 699–721.

LOUISSE, J., RIJKERS, D., STOOPEN, G., JANSEN, W., DELAGRANGE, M., MOLTHOF, E., MULDER, P. P. J., HOOGENBOOM, R. L. A. P., AUDEBERT, M., PEIJNENBURG, A. A. C. M. - **Determination of genotoxic potencies of pyrrolizidine alkaloids in HepaRG cells using the γ H2AX assay.** *Food and Chemical Toxicology.* 131 (2019).

LUCKERT, C., HESSEL, S., LENZE, D., LAMPEN, A. - **Toxicology in Vitro Disturbance of gene expression in primary human hepatocytes by hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids: A whole genome transcriptome analysis.** *Toxicology in Vitro.* 29 (2015) 1669–1682.

LUZHNA, L., KATHIRIA, P., KOVALCHUK, O. - **Micronuclei in genotoxicity assessment: from genetics to epigenetics and beyond.** *Frontiers in Genetics.* 4, 131 (2013) 1–17.

MATTOCKS, A. R. - **Toxicity of Pyrrolizidine Alkaloids.** *Nature.* 217 (1968) 723–728.

MATTOCKS, A. R., DRIVER, H. E. - **Metabolism and Toxicity of anacrotine, a pyrrolizidine alkaloid, in rats.** *Chem-Biol Interactions.* 63 (1987) 91–104.

MERZ, K., SCHRENK, D. - **Interim Relative Potency Factors for the Toxicological Risk Assessment of Pyrrolizidine Alkaloids in Food and Herbal Medicines.** *Toxicology Letters.* (2016).

MOLYNEUX, R. J., GARDNER, D. L., COLEGATE, S. M., EDGAR, J. A. - **Pyrrolizidine alkaloid toxicity in livestock: a paradigm for human poisoning?** *Food Additives & Contaminants: Part A.* 28, 3 (2011) 293–307.

MOREIRA, R., PEREIRA, D. M., VALENTÃO, P., ANDRADE, P. B. - **Pyrrolizidine Alkaloids: Chemistry, Pharmacology, Toxicology and Food Safety.** *International Journal of*

Molecular Sciences. 19, 1668 (2018) 1–22.

NAIR, A. B., JACOB, S. - **A simple practice guide for dose conversion between animals and human.** Journal of Basic and Clinical Pharmacy. 7, 2 (2016) 27–31.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. - **National Toxicology Program Technical Report On The Toxicology And Carcinogenesis Studies Of Riddelliine (Cas No. 23246-96-0) in f344/n rats and b6c3f I mice.** NIH Public. (2003).

NOLL, D. M., MASON, T. M., MILLER, P. S. - **Formation and Repair of Interstrand Cross-Links in DNA.** Chemical Reviews. 106, 2 (2006) 277–301.

NOWAK, M., WITTKÉ, C., LEDERER, I., KLIER, B., KLEINWÄCHTER, M., SELMAR, D. - **Interspecific transfer of pyrrolizidine alkaloids: An unconsidered source of contaminations of phytopharmaceuticals and plant derived commodities.** Food Chemistry. 213 (2016) 163–168.

PRAKASH, A., RATHINASAMY, K. - **Indicine N-oxide binds to tubulin at a distinct site and inhibits the assembly of microtubules: A mechanism for its cytotoxic activity.** Toxicology Letters. (2013) 1–12.

PRAKASH, A. S., PEREIRA, T. N., REILLY, P. E. B., SEAWRIGHT, A. A. - **Pyrrolizidine alkaloids in human diet.** Mutation Research. 443 (1999) 53–67.

PRINSLOO, G., STEFFENS, F., VERVOORT, J., IVONNE, M. C. M. - **Risk assessment of herbal supplements containing ingredients that are genotoxic and carcinogenic.** Critical Reviews in Toxicology. (2019) 1–13.

PROENÇA DA CUNHA, A. (coord.) - **Farmacognosia e Fitoquímica.** Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2006, ISBN: 9789723111422.

RAJALAKSHMI, T. R., ARAVINDHABABU, N., SHANMUGAM, K. T., MASTHAN, K. M. K. - **DNA adducts-chemical addons.** Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences. 7, 1 (2015) 197–200.

RIET-CORREA, F., CARVALHO, K. S., DANTAS, A. F. M., MEDEIROS, R. M. T. - **Spontaneous acute poisoning by *Crotalaria retusa* in sheep and biological control of this plant with sheep.** Toxicon. 58 (2011) 606–609.

ROEDER, E. - **Analysis of Pyrrolizidine Alkaloids.** Current Organic Chemistry. 3, 6 (1999) 557–576.

- ROULET, M., LAURINI, R., RIVIER, L., CALAME, A. - **Hepatic veno-occlusive disease in newborn infant of a woman drinking herbal tea.** *The Journal of Pediatrics.* 112, 3 (1988) 433–436.
- RUAN, J., LIAO, C., YE, Y., LIN, G. - **Lack of Metabolic Activation and Predominant Formation of an Excreted Metabolite of Nontoxic Platynecine-Type Pyrrolizidine Alkaloids.** *Chemical Research in Toxicology.* 27 (2014) 7–16.
- SCHOENTAL, R., HEAD, M. A., PEACOCK, P. R. - **Senecio Alkaloids: Primary Liver Tumours In Rats As A Result Of Treatment With (1) A Mixture Of Alkaloids From *S. Jacobae* Lin.; (2) Retrorsine; (3) Isatidine.** *British Journal of Cancer.* 8, 3 (1954) 458–465.
- SCHRAMM, S., KÖHLER, N., ROZHON, W. - **Pyrrolizidine Alkaloids: Biosynthesis, Biological Activities and Occurrence in Crop Plants.** *Molecules.* 24, 498 (2019) 1–44.
- SCHRENK, D., GAO, L., LIN, G., MAHONY, C., MULDER, P. P. J., PEIJNENBURG, A., PFUHLER, S., RIETJENS, I. M. C. M., RUTZ, L., STEINHOFF, B., THESE, A. - **Pyrrolizidine alkaloids in food and phytomedicine: Occurrence, exposure, toxicity, mechanisms, and risk assessment - A review.** *Food and Chemical Toxicology.* (2019).
- SELMAR, D., WITTKER, C., BECK-VON WOLFFERSDORFF, I., KLIER, B., LEWERENZ, L., KLEINWÄCHTER, M., NOWAK, M. - **Transfer of pyrrolizidine alkaloids between living plants: A disregarded source of contaminations.** *Environmental Pollution.* 248 (2019) 456–461.
- SMALL, A. C., KELLY, W. R., SEAWRIGHT, A. A., MATTOCKS, A. R., JUKES, R. - **Pyrrolizidine Alkaloidosis in a Two Month Old Foal.** *Journal of Veterinary Medicine Series A.* 40 (1993) 213–218.
- SMITH, L. W., CULVENOR, C. C. J. - **Plant Sources Of Hepatotoxic Pyrrolizidine Alkaloids.** *Journal of Natural Products.* 44, 2 (1981) 129–152.
- STEINHOFF, B. - **Pyrrolizidine alkaloid contamination in herbal medicinal products: Limits and occurrence.** *Food and Chemical Toxicology.* 130 (2019) 262–266.
- SUNDARES, A. E. - **An experimental study on placental permeability to cirrhotogenic poisons.** *The Journal of Pathology and Bacteriology.* 54, 3 (1942).
- VALESE, A. C., MOLOGNONI, L., PLOÊNCIO, L. A. DE S., LIMA, F. G. DE, GONZAGA, L. V., GÓRNIK, S. L., DAGUER, H., BARRETO, F., COSTA, A. C. O. - **A fast and simple**

LC-ESI-MS/MS method for detecting pyrrolizidine alkaloids in honey with full validation and measurement uncertainty. Food Control. (2016).

VALLA, D.-C., CAZALS-HATEM, D. - **Sinusoidal obstruction syndrome.** Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology. (2016) 1–8.

WIEDENFELD, H., EDGAR, J. - **Toxicity of pyrrolizidine alkaloids to humans and ruminants.** Phytochem Rev. 10 (2011) 137–151.

WILLMOT, F. C., ROBERTSON, G. W. - **Senecio disease, or cirrhosis of the liver due to senecio poisoning.** The Lancet. 196, 5069 (1920) 848–849.

XIA, Q., CHOU, M. W., KADLUBAR, F. F., CHAN, P., FU, P. P. - **Human Liver Microsomal Metabolism and DNA Adduct Formation of the Tumorigenic Pyrrolizidine Alkaloid, Riddelliine.** Chem. Res. Toxicol. 16 (2003) 66–73.

XIA, Q., YAN, J., CHOU, M. W., FU, P. P. - **Formation of DHP-derived DNA adducts from metabolic activation of the prototype heliotridine-type pyrrolizidine alkaloid, heliotrine.** Toxicology Letters. 178 (2008) 77–82.

YANG, M., MA, J., RUAN, J., YE, Y., FU, P. P., LIN, G. - **Intestinal and hepatic biotransformation of pyrrolizidine alkaloid N - oxides to toxic pyrrolizidine alkaloids.** Archives of Toxicology. (2019).

YANG, M., RUAN, J., FU, P. P., LIN, G. - **Cytotoxicity of pyrrolizidine alkaloid in human hepatic parenchymal and sinusoidal endothelial cells: Firm evidence for the reactive metabolites mediated pyrrolizidine alkaloid-induced hepatotoxicity.** Chemico-Biological Interactions. (2015) 1–8.

YANG, M., RUAN, J., GAO, H., LI, N., MA, J., XUE, J., YE, Y., FU, P. P. C., WANG, J., LIN, G. - **First evidence of pyrrolizidine alkaloid N-oxide-induced hepatic sinusoidal obstruction syndrome in humans.** Archives of Toxicology. 91, 12 (2017) 3913–3925.

YANG, Y.-C., YAN, J., DOERGE, D. R., CHAN, P., FU, P. P., CHOU, M. W. - **Metabolic Activation of the Tumorigenic Pyrrolizidine Alkaloid, Riddelliine, Leading to DNA Adduct Formation in Vivo.** Chem. Res. Toxicol. 14 (2001) 101–109.

ZHAO, Y., XIA, Q., YIN, J. J., LIN, G., FU, P. P. - **Photoirradiation of dehydropyrrolizidine alkaloids - Formation of reactive oxygen species and induction of lipid peroxidation.** Toxicology Letters. 205 (2011) 302–309.