



Validação de limpeza de equipamentos multipropósitos da linha de manipulação de comprimidos por granulação úmida: caso da furosemida

Aline Mirelly Ferreira Souza²; Antônio Diogenes Pereira Oliveira³; Severino Granjeiro Júnior³; Davi Pereira Santana²; José Alexandro da Silva^{1*}

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF), Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), Campina Grande-PB, Brasil.

²Departamento de Ciências Farmacêuticas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, PE, Brasil.

³Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco S/A, LAFEPE®, Recife, PE, Brasil.

RESUMO

Como parte integrante do conjunto de normas das boas práticas de fabricação de medicamentos, a validação de limpeza visa demonstrar a garantia da remoção de resíduos de produtos recém-fabricados, evitando a contaminação cruzada. Neste trabalho, apresenta-se uma estratégia para validação de limpeza de formas farmacêuticas sólidas, manipuladas por granulação úmida. Para tanto, foi escolhido a furosemida, um fármaco de ação diurética, apresentado na forma de comprimidos e produzido pelo Lafepe® (Recife-PE, Brasil). Para análise dos resíduos do fármaco, a coleta das amostras foi realizada por swab e os métodos de quantificação utilizados foram por espectrofotometria e por cromatografia líquida de alta eficiência, este último foi desenvolvido e validado pelo Lafepe®. Na detecção de resíduos de produtos de limpeza, a amostragem foi realizada por água de enxágüe, analisando o pH e a condutividade. O limite de aceitação da limpeza do princípio ativo foi de 8,26 µg mL⁻¹ de furosemida no produto subsequente e do detergente nos equipamentos foi de 10 ppm. Por conseguinte, observou-se que os resíduos dos contaminantes encontrados nos equipamentos após a limpeza foram inferiores aos limites de aceitação admitidos, o que assevera a eficácia e segurança da limpeza realizada na empresa.

Palavras-chave: Validação de limpeza. Comprimido. Furosemida.

INTRODUÇÃO

A furosemida, Figura 1, potente diurético de alça, inibe a reabsorção de eletrólitos predominantemente na membrana luminal das células do ramo ascendente da alça de Henle e, como consequência, favorece a redução da reabsorção de água, resultando em diurese profusa. Tem-se relatado que a furosemida também possui uma ação vasodilatadora, que parece estar relacionada com a diminuição da retenção de sódio e no aumento da síntese de algumas prostaglandinas (Dias, 2004; Lafepe®, 2006). A Farmacopéia Brasileira (2010) descreve como sendo um pó cristalino branco ou levemente amarelo e inodoro, praticamente insolúvel em água e clorofórmio, facilmente solúvel em acetona, dimetilformamida, metanol e pouco solúvel em etanol e éter etílico, o qual corresponde quimicamente ao ácido 5-(aminosulfonil)-4-cloro-2-[(2-furanilmetil) amino]-benzóico ou ácido 4-cloro-N-furfúril-5-sulfamoilantranílico.

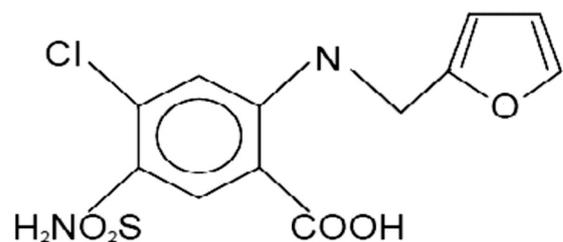


Figura 1: Estrutura química da furosemida.

O processo produtivo de medicamentos a base de furosemida requer e necessita de cuidados rigorosos nas unidades de produção das indústrias farmacêuticas que as produzem, pois se deve assegurar que os resíduos deste fármaco, ainda por ventura existente após a limpeza dos equipamentos, não contaminem o produto seguinte,

Autor correspondente: José Alexandro da Silva, Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS), Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF). Rua Juvêncio Arruda, s/n - Bairro Universitário. CEP: 58429-600 – Campina Grande-PB, Brasil. E-mail: alexuepb@pq.cnpq.br

evitando, assim, a contaminação cruzada. Tais prerrogativas são alcançadas quando estas indústrias farmacêuticas adotam a validação de limpeza como meta e requisito imprescindível, obedecendo, portanto, aos preceitos das boas práticas de fabricação de medicamentos.

É importante assinalar que a validação de limpeza de equipamentos e dos locais de produção faz parte das operações essenciais e inerentes ao processo de manufatura de qualquer produto farmacêutico. Estas operações contribuem para reduzir o risco de contaminação durante a fabricação de lotes de produtos diferentes, agregando qualidade e segurança ao produto final (Peres, 2001). Além disso, é inegável contestar que a avaliação constante da limpeza na indústria farmacêutica garante aos processos de fabricação que estes sejam consolidados e que sejam executados nos diversos setores com presteza na qualidade.

Por conseguinte, a maior dificuldade encontrada pelos profissionais da área tecnológica é acreditar que seus procedimentos de limpeza de equipamentos envolvidos na fabricação dos produtos possam ser padronizados, vistoriados, detalhados e executados de forma coerente conforme exigências e pertinências da legislação vigente. O real valor a este tipo de procedimento e processo deve ser dado, pois é incontestável sua importância nas ações da Garantia da Qualidade de uma indústria farmacêutica, fato este ressaltado que nos conduziu a realização desse artigo.

Assim sendo, o objetivo deste trabalho foi validar a limpeza de equipamentos durante o processo de produção de comprimidos de furosemida 40 mg, processado pelo método da granulação úmida na linha de fabricação de sólidos orais do Lafepe®, planta multipropósito, bem como o de dar suporte e obter evidências que a fabricação do medicamento furosemida 40 mg comprimido deverá ser mantida e continuada sem prejuízo da integridade dos demais produtos fabricados na unidade, determinando os critérios de aceitação para o pior caso da área em questão.

MATERIAL E MÉTODOS

A estratégia adotada neste trabalho pressupõe a existência de procedimentos operacionais escritos para a limpeza de cada equipamento envolvido no processo, bem como operadores treinados para a adequada demanda de execução dos mesmos, segundo indicação de Nicolósi (2008).

Os reagentes utilizados foram metanol (JT Baker®), água ultrapura (Milli-Q Gradient R) e ácido acético (Nuclear®), padrão secundário de furosemida do lote 16278 (LAFEPE®), do fornecedor Genix – fabricado 31/07/2008 com validade 30/06/2013 e com um grau de pureza de 99,4% e as amostras dos lotes 09101431, 09101432 e 09101433.

Para a amostragem do resíduo do fármaco, foi utilizado um cromatógrafo a líquido da marca Shimadzu® modelo 10 ADVP, um sonicador da marca Unique do modelo USC – 1880, uma balança da Mettler H20T e Swab TX® 761 de Poliéster.

Além disso, utilizou-se um espectrofotômetro da marca Shimadzu® UV-2401 PC equipado com detector ultravioleta e cubetas de quartzo de seção transversal de 1cm². Todos os instrumentos de medição e vidrarias utilizados foram calibrados e os equipamentos devidamente

qualificados conforme o plano de confirmação metrológica de instrumentos de medição e do Plano Mestre de Validação do Lafepe®.

A abordagem metodológica adotada neste trabalho partiu da premissa de buscar a validação e utilização de metodologia alternativa, por cromatografia líquida de alta eficiência, aplicável tanto para doseamentos de rotina de produtos acabados quanto no processo dos resíduos de furosemida nas superfícies após a limpeza dos equipamentos multipropósitos do processo de fabricação.

Instrumentação e condições analíticas

Como instrumentos para as condições cromatográficas foram usados: coluna cromatográfica chromolith performance R RP-18 e (monolítica) 100 x 4,6 mm, fase móvel, água ultrapura acidificada com 0,1% de ácido acético com o pH de $3,0 \pm 0,5$ e metanol R (2:3) e fluxo binário, na bomba A com metanol R e com a pressão 55 kgf e na bomba B água acidificada com ácido acético a 0,1% com pH de $3,0 \pm 0,5$ e com a pressão de 53 kgf a uma temperatura de 30°C com uma injeção de 20 µL e comprimento de onda de 275 nm.

Desenvolvimento e validação do método analítico

A primeira etapa do processo de validação de limpeza adotado neste trabalho foi assegurar que as metodologias analíticas utilizadas para a quantificação dos resíduos da furosemida respondessem adequadamente aos níveis de concentração próximos dos critérios de aceite requeridos pela legislação para limpeza.

Para a validação do método foram analisados os parâmetros de especificidade, linearidade, precisão, exatidão, robustez, limite de detecção e limite de quantificação conforme preconiza a RE n° 899 de 29 de maio de 2003.

Esta etapa do estudo foi iniciada com a realização da varredura espectrofotométrica a fim de se identificar o comprimento de onda no qual a furosemida apresenta máxima absorvância, ou seja, a de 275 nm.

Na preparação das amostras, pesou-se precisamente uma unidade de furosemida comprimido (equivalente a 40 mg de furosemida), diluindo-se com metanol e sonicando por 20 minutos. Em seguida completou-se o volume para 100 ml com metanol R. Posteriormente, foi utilizada uma alíquota de 1 mL da solução anterior para balão volumétrico de 100 mL, completando-o com a fase móvel (água ultrapura acidificada com 0,1% de ácido acético com o pH de $3,0 \pm 0,5$ e metanol R 2:3). Por fim, foi feita uma filtração da diluição final com membrana filtrante de 0,45 µm para os frascos de análise (vial) e, por conseguinte, foram injetadas automaticamente alíquotas de 20 µL das soluções padrão e amostras, para a obtenção dos cromatogramas.

Processo de fabricação dos comprimidos de furosemida

A Tabela 1 apresenta a relação de componentes do produto e a função desses na formulação. O processo de fabricação deste fármaco consiste inicialmente em preparar a goma de amido adicionando água purificada a ela, sob

aquecimento em recipiente de aço inox, para em seguida misturá-la com os seguintes componentes: manitol e furosemida, deixando-os no misturador em “V”, por cerca de 30 minutos. Por conseguinte, esta mistura foi transferida para a malaxadeira, onde é processada até atingir o ponto de granulação. Em seguida, a mistura foi transferida para o granulador, onde se processa a granulação em tamiz malha nº 5. O tamizado foi recolhido em bandejas de aço inox e colocado em estufa com ar circulante para iniciar a secagem por 12 horas a 60 °C. Para uniformização do granulado, foi utilizado tamiz malha nº 1,5 obtendo os grânulos calibrados. Com o granulado pronto, adicionou-se o talco, estearato de magnésio e a croscarmelose sódica, misturando-os por 10 minutos. No final do processo, a mistura foi comprimida com punções 7,0 mm e transferida para máquinas de envase.

Tabela 1. Relação dos componentes presentes na furosemida comprimido e função exercida na formulação

Componentes da formulação	Função exercida
Furosemida	Princípio ativo
manitol	material de enchimento
amido	aglutinante
talco	deslizante
estearato de magnésio	lubrificante
croscarmelose sódica	desintegrante

Escolha do pior caso

Antes de iniciar a validação de limpeza propriamente dita, realizou-se o agrupamento de todos os produtos produzidos na planta multipropósito de produção de sólidos orais (Lafepe®), com o objetivo de escolher qual seria utilizado na validação. No presente caso, a produção foi dividida em três grandes grupos: linha de sólidos, líquidos e antirretrovirais. De acordo com os critérios adotados e pelas necessidades desta empresa, a linha de sólidos foi a escolhida. Assinala-se, ainda, que a solubilidade e toxicidade de todos os produtos envolvidos foram analisadas e, juntamente com os manipuladores, efetuou-se uma análise de quais produtos apresentavam uma maior dificuldade de limpeza dos equipamentos. Finalmente, por apresentar um alto grau de dificuldade de limpeza e baixa solubilidade em água, a furosemida 40 mg comprimido foi escolhida como o produto representativo da linha de sólidos para a realização deste estudo, na condição de contaminante. Para a escolha do melhor produto subsequente, determinou-se que a metildopa 500 mg na forma de comprimido fosse a escolhida por apresentar o menor quociente para relação de tamanho de lote por máxima dose terapêutica diária do subsequente.

Controle visual

Inicialmente, antes mesmo de ser feita a coleta das amostras nos locais escolhidos dos equipamentos, verificou-se a qualidade da limpeza a nível visual, sem a utilização de nenhum aparelho, observando se existiam resíduos visíveis a olho nu. Posteriormente a essa constatação da ausência

de resíduos ou partículas perceptíveis a coleta foi iniciada, determinando, portanto, a limpeza visual do equipamento.

Limpeza dos equipamentos

A limpeza dos equipamentos foi realizada pelos operadores das máquinas da divisão de sólidos do Lafepe®, os quais foram devidamente treinados, seguindo, portanto, os Procedimentos Operacionais Padrão de limpeza previamente determinados. Realizou-se o acompanhamento visual da produção dos três lotes consecutivos de furosemida em questão.

Áreas de amostragem

Com o auxílio dos manipuladores, foram escolhidos os pontos considerados críticos em cada equipamento utilizado na produção da furosemida. A Tabela 2 lista os equipamentos envolvidos na produção e suas respectivas áreas superficiais. Os pontos críticos são aqueles que oferecem maiores dificuldades de se efetuar a limpeza, como por exemplo, as emendas, os cantos das paredes e as ranhuras nas superfícies internas dos equipamentos. Assim sendo, foram escolhidos 14 pontos em quatro equipamentos da linha de produção de comprimidos de furosemida, os quais estão demonstrados na Tabela 2.

Tabela 2. Equipamentos, Lista dos pontos de amostragem para detecção de resíduo de furosemida e área superficial.

Equipamentos	Pontos de Amostragem	Área Superficial (cm ²)
Misturador em “V”	Vértice inferior (escoador)	40.000
	Corpo	
	Tampa	
Malaxadeira	Corpo	25.000
	1ª extremidade lateral	
	2ª extremidade lateral	
Granulador Oscilante	Corpo do alimentador	6.500
	Tamiz nº 5	
	1º ponto de amostragem	
Estufas de secagem	2º ponto de amostragem	273.600
	3º ponto de amostragem	
	4º ponto de amostragem	
	5º ponto de amostragem	
	6º ponto de amostragem	

Padronização dos swabs

Os swabs utilizados na validação de limpeza dos equipamentos foram TX® 761 de poliéster cuja atribuição do fator de recuperação é superior a 0,75. A padronização dos swabs teve como finalidade eliminar possíveis interferentes advindos do poliéster ou ainda da haste de polietileno em contato com o solvente de extração. Seis swabs foram imersos em 5 mL de Hidróxido de sódio a 0,1N durante 20 minutos. Em seguida a absorvância de cada swab foi determinada no comprimento de onda $\lambda = 271$ nm, a absorvância média entre eles foi calculada e o valor encontrado foi diminuído de todas as absorvâncias

encontradas nas amostragens dos equipamentos, as quais foram analisadas por espectrofotometria.

Definição do limite de aceitação

Para determinação dos limites de aceitação, teve-se como ponto inicial, a quantificação de resíduo que podia ser encontrado no produto seguinte sem apresentar nenhum risco. Convém notar que foram seguidos alguns critérios com suas possíveis variações individuais, conforme especificado no Guia de Validação de limpeza da Anvisa (Brasil, 2006), entre os quais foram considerados que nenhuma quantidade de resíduo deveria ser visível após a execução do procedimento de limpeza e que o cálculo do limite de aceitação na amostra analisada (C) seria baseado no cálculo do limite de aceitação no produto subsequente (A) e do limite de aceitação por área (B), equações 1, 2 e 3.

$$(1) \quad A = \frac{0,001 \times \text{MTDcont} \times \text{MBSsubs} \times 1000}{\text{MáxTDsubs}}$$

$$(2) \quad B = \frac{A}{\text{SRSA}}$$

$$(3) \quad C = \frac{B \times \text{Área}}{\text{volume}}$$

Onde, MTDcont = Mínima dose diária do contaminante (em mg); MBSsubs = Tamanho mínimo do Lote do Subsequente (em g ou mL); MáxTDsubs = Máxima dose diária do subsequente (em g ou mL); SRSA = Área Compartilhada pelos Produtos em cm²; ÁREA = Toda a área compartilhada no caso de água de rinsagem ou a área amostrada no caso de amostragem por Swab (em cm²); Volume = volume utilizado na rinsagem ou volume utilizado na recuperação do Swab em mL. Sendo assim, para calcularmos o limite da substância ativa no produto subsequente, levamos em conta, que no nosso caso: MTDcont = 40 mg; MBSsubs = 120000 g; MáxTDsubs = 3 g; SRSA = 387.500 cm²; ÁREA = 10 cm²; Volume = 5 mL. Portanto, após conhecimento destes valores e utilizando as equações (1), (2) e (3), obteve-se o limite C = 8,26 µg mL⁻¹.

Descrição do procedimento de amostragem para análise dos resíduos de furosemida

A análise dos resíduos da furosemida foi realizada pelo método direto do Swab, em seguida, analisada por cromatógrafo a líquido de alta eficiência (CLAE) da marca Shimadzu[®] cujas condições de análises já foram relatadas anteriormente. As coletas das amostras realizaram-se no mesmo dia em que foram feitas as limpezas dos equipamentos, cuja técnica foi descrita por Santos Júnior et al. (2003). Nesta amostragem, cada swab foi passado sobre a superfície demarcada com um gabarito de papelão no equipamento e, posteriormente, os mesmos foram mergulhados em 5 mL da solução de metanol/água acidificada (3:2), sonicada por 20 minutos, e quantificado por CLAE.

Com intuito de comparar os resultados da metodologia proposta, foi realizada simultaneamente análise do fármaco, pela técnica preconizada na Farmacopéia Brasileira (2010). Assim, para detecção no espectrofotômetro UV Shimadzu[®] (EF-UV), utilizaram-se swabs, para amostragem em cada ponto de coleta e depois os mesmos foram umedecidos com hidróxido de sódio a 0,1N. Estes foram, também, passados sobre uma superfície demarcada com um gabarito de papelão em 10 cm², posteriormente, foram mergulhados em 5 mL de Hidróxido de sódio 0,1N e, em seguida realizou-se as leituras espectrofotométricas em 271 nm.

Análise de resíduo do detergente

Para a determinação do detergente fez-se, primeiramente, diluições crescentes do detergente para concentrações de 1, 2, 4, 5, 10 e 20 ppm (µL/L), determinando-se a condutividade e o pH de cada concentração. Antes disso, fez-se análise de uma amostra de água purificada, coletada no dia, com intuito de utilizá-la como branco para os resultados das diluições com detergente.

Definiu-se que não deveria haver mais do que 10 ppm de detergente na última água de enxágüe, como citado por LeBlanc (1999), assim foram considerados que os valores para a variação das análises das amostras e da água pura (branco) não poderiam ultrapassar 0,07 para pH e 1,11 µS/cm para condutividade (σ). Obtiveram-se como fator de correção (resultados da leitura para água purificada): pH = 5,99 e Condutividade = 0,67.

RESULTADOS

Análise visual

A análise visual de todos os equipamentos envolvidos nesta validação foi feita e, com isso, certificou-se que nenhum apresentou nem resíduo de furosemida nem do detergente utilizado para limpeza. Fato este que conduziu o prosseguimento da pesquisa.

Desenvolvimento e validação da metodologia analítica

O desenvolvimento de um novo método analítico deve garantir informações confiáveis e interpretáveis sobre a amostra e este deve ser submetido a uma avaliação denominada validação (Ribani et al., 2004; Leite, 2002). Para a validação deste método foram analisados os parâmetros de especificidade, linearidade, precisão, exatidão, robustez, limite de detecção e limite de quantificação conforme preconiza a RE nº 899.

Especificidade

Ao analisar os dados das Figuras 2 e 3, pode-se observar que não há interferência significativa dos excipientes da formulação, em relação ao pico da furosemida. Logo, se implica que o método demonstrou ser

específico e seletivo para furosemida, pois foi detectado o pico desta substância sem nenhum interferente, em relação ao tempo de retenção compatível encontrado para o padrão.

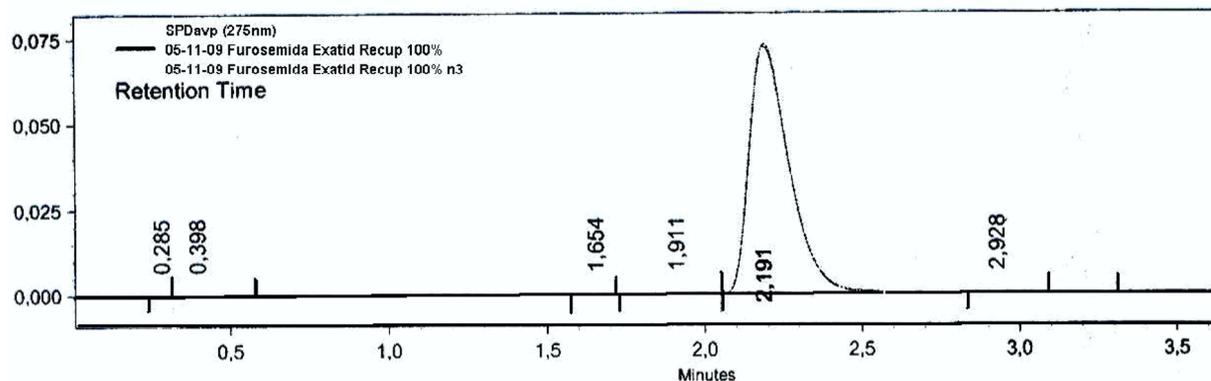


Figura 2. Pico cromatográfico do padrão da furosemida

Linearidade

Os dados para construção da curva de linearidade do método analítico estão apresentados na Tabela 3. A faixa de concentração foi 25% a 150% do produto em teste. A equação de regressão linear obtida pelo método proposto foi obtida a partir de três curvas de calibração autênticas ($y = 80233x + 556,2$), onde y representa a área integrada do pico no cromatograma e x representa a concentração de furosemida em $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Tabela 3. Resultados da Linearidade do método analítico (CLAE)

Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Curva 1*	Curva 2*	Curva 3*	Desvio Padrão	CV (%)
2,5	201700	199996	198497	1602,59	0,80
5,0	403536	401538	399123	2209,78	0,55
7,5	611562	603676	596855	7359,92	1,22
10,0	812677	804173	795538	8569,58	1,06
12,5	1014620	1000726	992084	11369,54	1,13
15,0	1219543	1201178	1189615	15145,62	1,26

* = Área dos picos

Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)

O limite de detecção e o de quantificação foram calculados pela divisão do desvio padrão dos coeficientes lineares das três curvas de calibração do ensaio de linearidade pela média dos coeficientes angulares (equação 4 e 5), Onde DPa é o desvio padrão do intercepto com o eixo y obtido das três curvas analíticas; Ic é a inclinação da curva de calibração.

$$(4) \quad LD = \frac{DPa \times 3}{Ic}$$

$$(5) \quad LQ = \frac{DPa \times 10}{Ic}$$

Os valores dos limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram respectivamente $0,009 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $0,031 \mu\text{g mL}^{-1}$, mostrando uma sensibilidade adequada para o método avaliado, possibilitando a utilização do método

para avaliação de resíduos de furosemida, em processos da validação de limpeza e equipamentos industriais.

No teste de precisão foram avaliados os critérios de repetibilidade e o de precisão intermediária, de acordo com a USP (2011). O resultado da sextuplicata na repetibilidade apresentou média de 100,99% com um CV% de 0,37%, garantindo assim a sua aprovação, uma vez que a média não pode ser menor que 95% e o CV maior que 5%, de acordo com o preconizado pela resolução RE nº 899 de 29 de maio de 2003. A exatidão do método foi verificada conforme exposto na Tabela 4, cujas análises ($n=3$) foram realizadas nos três níveis de concentração: baixa (50%), média (100%) e alta (150%).

Tabela 4. Resultado da Exatidão em triplicata dos três níveis de concentração.

Concentração (%)	Desvio Padrão	CV (%)
50	0,6279	1,2381
100	0,0813	0,0808
150	0,7095	0,4770

Análise do resíduo da furosemida por Espectrofotometria UV e CLAE

Inicialmente, 14 amostras coletadas foram submetidas à leitura direta em espectrofotômetro a 271 nm no ultravioleta, usando NaOH 0,1N como branco, assim como outras 14 alíquotas foram sujeitas à análise em CLAE, estando esta última em concordância com o método analítico desenvolvido e validado pela empresa para quantificação de furosemida, conforme Arruda (2009).

Segundo a Farmacopéia Brasileira V edição, as absorvâncias das soluções amostrais para método de doseamento de furosemida, devem ser medidas em 271 nm, admitindo para critério de cálculo, que a absorvância do padrão (furosemida) no mesmo comprimento de onda seja igual a 0,58.

Assim, foi necessário quantificar a concentração de resíduo em cada amostra, a partir dos valores da absorvância no EF/UV e das áreas integradas dos picos no CLAE. Para isso, consideramos as equações 6, 7 e 8:

$$(6) \quad \text{Concentração da amostra} \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right) = \frac{\text{Absorbância da amostra} \times 8,258 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}}{\text{Absorbância do padrão secundário}}$$

$$(7) \quad \text{Concentração da amostra} \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right) = \frac{\text{Área da amostra da amostra} \times 8,258 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}}{\text{Média das áreas do padrão}}$$

$$(8) \quad \text{Concentração da amostra} \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right) = \frac{\frac{\text{Absorbância}}{\text{área}} \text{ da amostra} \times 8,258 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}}{\frac{\text{Absorbância}}{\text{área}} \text{ do padrão secundário}}$$

Considerando que a média das áreas das seis amostras do padrão secundário foi igual a 810887,5 (método cromatográfico) obtivemos os dados para construir a Tabela 5, cujos resultados são de cada amostra

analisada, especificando quanto de resíduo de furosemida foi quantificado segundo análise por CLAE, metodologia proposta, como por EF/UV (preconizado pela Farmacopeia Brasileira V edição).

Tabela 5. Comparação das Concentrações de resíduo de furosemida ($\mu\text{g mL}^{-1}$) por análise EF/UV e CLAE

Equipamentos e pontos de Amostragem	Concentrações Lote 1		Concentrações Lote 2		Concentrações Lote 3	
	CLAE*	EF/UV*	CLAE*	EF/UV*	CLAE*	EF/UV*
	Misturador V		Misturador V		Misturador V	
Vértice inferior	0,09	0,12	0,33	1,00	0,17	1,08
Corpo	0,13	0,08	0,36	1,07	0,03	0,73
Tampa	0,17	0,09	0,27	0,77	0,06	0,90
Malaxadeira						
Corpo	0,08	0,23	0,28	0,89	0,06	1,00
1ª extremidade lateral	0,08	0,95	0,28	0,72	0,06	0,97
2ª extremidade lateral	0,08	0,49	0,34	0,89	0,15	0,80
Granulador oscilante						
Corpo do alimentador	0,09	0,30	1,32	0,85	0,40	2,03
Tamiz n° 5	0,53	0,36	0,28	2,28	0,38	2,03
Estufa						
1° ponto de amostragem	2,43	1,01	0,08	1,51	0,98	2,04
2° ponto de amostragem	2,72	3,44	0,07	2,12	0,36	1,12
3° ponto de amostragem	0,57	1,75	0,24	2,57	1,43	2,65
4° ponto de amostragem	4,30	1,24	0,05	1,41	0,21	1,82
5° ponto de amostragem	0,96	1,44	0,05	0,75	0,17	2,47
6° ponto de amostragem	6,08	2,51	0,03	1,42	0,57	1,30

* = $\mu\text{g mL}^{-1}$

Avaliando os resultados da análise espectrofotométrica, percebe-se que o terceiro lote foi o que apresentou média de concentração do resíduo de furosemida mais evidente. Em contrapartida, o método proposto (CLAE) detectou o primeiro lote como sendo o mais crítico. Para justificarmos a diferença de concentrações de resíduos nas amostras, na análise com espectrofotômetro e CLAE, faz-se menção que a coleta de amostras é realizada, de forma que para leitura em espectrofotômetro, o campo de amostragem é diferente do campo de amostragem para análise em CLAE, não havendo chance de um dos solventes contaminarem o campo de amostragem da outra metodologia. Assim, considera-se que as concentrações diferentes são, por conveniência,

admissíveis, por se tratarem de técnicas diferentes, as quais fazem uso de solventes/fase móvel com diferentes comportamentos (solubilidade) frente ao analito testado (no caso, furosemida).

Ao comparar os resultados por equipamento e pontos de amostragem, Tabela 6, tem-se o devido destaque as grandes concentrações de furosemida nos pontos de amostragem coletados na estufa. Esta seria justificada, por se tratar de um equipamento com maior área superficial e com possibilidade de limpeza por vários operadores ao mesmo tempo, uma vez que as bandejas são removíveis e existem em número de 30. Em contrapartida, o misturador em "V", foi o que demonstrou as menores concentrações de furosemida por 5 mL de solvente.

Tabela 6. Médias das análises de furosemida por CLAE considerando os pontos de amostragem e equipamentos.

Equipamentos e pontos de amostragem	Média por ponto amostral	Desvio padrão
Vértice inferior	0,20	0,12
Corpo	0,18	0,17
Tampa	0,17	0,10
Corpo	0,14	0,12
1° Extremidade	0,15	0,12
2° Extremidade	0,19	0,13
Corpo	0,61	0,64
Tamiz nº 5	0,40	0,12
1° ponto	1,17	1,18
2° ponto	1,05	1,45
3° ponto	0,75	0,61
4° ponto	1,52	2,41
5° ponto	0,39	0,50
6° ponto	2,23	3,35

Em processos de limpeza realizados por operadores é permitida uma variação natural dos mesmos. Sob esta perspectiva os resultados demonstram uma variabilidade pouco expressiva, o que corrobora a qualificação dos operadores na execução do procedimento, demonstrando reprodutibilidade visível por análise de resultados homogêneos, como os que se apresentam acima, respeitando a variabilidade de procedimento manual e admitindo valores abaixo do critério de aceitação dos mesmos.

Se utilizarmos os valores médios de concentração obtidos pela técnica mais seletiva e sensível, cromatografia líquida de alta eficiência, podemos calcular que numa área de 140 cm² (somatório da área amostral) temos aproximadamente 9,15 µg mL⁻¹. Transformando este valor em µg e conhecendo-se que o volume de diluição das soluções amostrais era de 5 mL, podemos concluir que o valor em massa de furosemida em 140 cm² de equipamento amostrado é de 45,68 µg. Dessa forma, é possível fazer um cálculo utilizando a área total dos equipamentos, além de comparar esta com a quantidade de furosemida presente em 140 cm², obtendo-se 126,42 µg (ou 0,126 mg) de contaminação em toda linha de fabricação, que passará para o próximo lote de metildopa 500 mg. Como o tamanho do lote de metildopa descrito acima é de 120000 g chega-se, após proporções calculadas, em um total aproximado de 0,57 x 10⁻³ µg de furosemida em cada comprimido de metildopa.

Na avaliação farmacológica deste teor pode-se concluir que existe um risco mínimo de contaminação e de toxicidade entres estes produtos, visto que a concentração mínima de furosemida capaz de promover ação tóxica é de > 25 µg mL⁻¹ (Katzung, 2010). Ainda neste âmbito, Hardman & Limbird, (2004) afirmam que a metildopa é um agente anti-hipertensivo eficaz quando administrado juntamente com um diurético. Esta condição é de suma importância, uma vez que ambos os medicamentos são hipotensores. Todavia, vale ressaltar que, a interação em excesso poderia proporcionar hipotensão nos usuários da metildopa com resíduos do fármaco produzido anteriormente (furosemida), caso não fossem verificadas as condições de limpeza da linha de fabricação dos mesmos.

Análise de resíduo do detergente

Para leitura do branco (água purificada), obteve-se como fator de correção (resultado da leitura para água purificada): pH = 5,99 e Condutividade (σ) = 0,67. Assim, a Tabela 7, nos remete aos resultados das amostras, sendo subtraída destes, o resultado para o branco.

Tabela 7: Determinação de pH e Condutividade (σ) das amostras de detergente.

Amostra	pH	pH corrigido	σ (µS/cm)	σ (µS/cm)	Temperatura °C
1 ppm	5,81	- 0,18	0,65	-0,02	20,2
2ppm	5,82	-0,19	0,80	0,13	20,3
4 ppm	5,86	-0,13	1,12	0,45	20,5
5 ppm	5,94	-0,05	1,15	0,48	20,2
10 ppm	6,06	0,07	1,78	1,11	20,2
20 ppm	6,14	0,15	2,67	2,00	20,4

A Tabela 8 demonstra os resultados de análise de pH e condutividade das águas de enxágüe coletadas nos equipamentos, por lote, devidamente corrigidos pelo branco do dia da coleta (água pura). É importante salientar que para o primeiro lote, a água pura apresentou pH = 5,86 e condutividade = 1,05 µS/cm; para o segundo lote, pH = 5,82 e condutividade = 0,67 µS/cm; e para o terceiro lote, pH = 6,09 e condutividade = 0,83 µS/cm.

Tabela 8: Resultados de análises de pH e condutividade (σ) do detergente residual nos equipamentos.

Equipamentos	1° Lote (T= 22,5°C)		2° Lote (T= 23,1°C)		3° Lote (T= 21,5°C)	
	pH	σ	pH	σ	pH	σ
Misturador V	5,57	1,38	5,48	0,62	5,84	0,87
Granulador oscilante	5,53	2,03	5,84	1,51	5,50	1,23
Malaxadeira	5,49	1,78	5,80	1,02	5,45	1,50
Estufa	5,83	0,61	5,82	0,64	5,79	0,70

Todas as análises das amostras de detergente residual nos equipamentos mostraram valor inferior ao limite estabelecido, fato esse que nos permite concluir que a limpeza executada após fabricação de furosemida confere segurança ao produto subsequente, não transferindo resíduo de detergente capaz de contaminá-lo.

DISCUSSÃO

Os resultados deste trabalho fornecem evidências de que a fabricação da forma farmacêutica comprimido de furosemida não promove contaminação cruzada deste fármaco com os produtos subsequentes, o que reafirma o objetivo das boas práticas de fabricação, bem como a comprovação da segurança dos medicamentos produzidos pelo Lafepe® na linha de manipulação das formas sólidas.

Constatou-se que para ambas as metodologias investigadas, cujos resultados não demonstraram motivos comprobatórios para que os processos de limpeza adotados nos equipamentos em questão não sejam considerados validados, uma vez que as concentrações encontradas

nas amostras estavam abaixo do limite de aceitação estabelecido.

É válido ressaltar ainda, que as empresas farmacêuticas devam realizar, periodicamente, revalidações destes processos e monitoramento contínuo de sua qualidade, no intuito de fiscalizar e aperfeiçoar os procedimentos de limpeza, visto que se trata de uma ação conjunta, envolvendo todos os setores da indústria (controle da qualidade, garantia da qualidade e produção). Sendo assim, os resultados deste trabalho evidenciam que os produtos da linha sólida desenvolvidos são medicamentos seguros, eficazes e de boa qualidade.

ABSTRACT

Validation of cleaning equipment in multipurpose line producing tablets by wet granulation: the case of furosemide

As an integral part of the set of good practices in medicine fabrication, the purpose of cleaning validation is to guarantee the removal of remains of newly manufactured products and thus avoid cross-contamination. This article presents an approach to cleaning validation for the compounding of solid pharmaceutical forms by wet granulation. The method is demonstrated for furosemide, a diuretic drug, fabricated in the form of tablets by Lafepe® (Recife, PE, Brazil), in a multipurpose production line. To analyze drug residues left in the equipment after cleaning, samples were collected from surfaces by swab and traces of furosemide were quantitated by spectrophotometry and by a high performance liquid chromatography method developed and validated at the Lafepe® laboratories. To detect residues of detergent used in cleaning, the pH and conductivity of the final rinsing water were measured and compared with those of known dilutions. The acceptance cleaning limit of the active principle was 8.26 µg mL⁻¹ of furosemide in the subsequent product and for the detergent it was 10 ppm in the last rinse of the equipment. The results showed that the residues of contaminants found in the equipment after cleaning were below the acceptable limits, which certifies the effectiveness and security of the cleaning practices in this company.

Keywords: Cleaning validation. Tablet. Furosemide.

REFERÊNCIAS

Arruda, SMS. Desenvolvimento e validação do método analítico para a quantificação de furosemida na avaliação do processo de limpeza de equipamentos industriais. [Monografia de conclusão de curso de farmácia] Recife: Departamento de Ciências Farmacêuticas, UFPE; 2009.

Brasil. Ministério da Saúde. Guia relacionado à garantia da qualidade. [Internet]. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Poder executivo, Brasília, DF, 2006. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/inspecao/guias_qualidade.pdf. Acesso em: 15 de setembro de 2009.

Brasil. Resolução n° 899, de 29 maio de 2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos [Internet]. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Poder executivo, Brasília, DF, Diário Oficial da União, 02 jun 2003. Disponível em: https://anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899_03re.htm. Acesso em: 07 de outubro de 2009.

Dias ILT, Oliveira Neto G, Martins JLS. Metodologias analíticas para a determinação da furosemida. *Lecta*. 2004;22(1/2):19-26.

Farmacopéia Brasileira. 5ª ed. Brasília; 2010.

Hardman JG, Limbird LE, editors. Goodman & Gilman: as bases farmacológicas da terapêutica. 10ª ed. Rio de Janeiro: Mc Graw-Hill; 2004.

Katzung, BG. Farmacologia: farmácia & clínica. 10ª ed. Porto Alegre: McGraw Hil; 2010.

Lafepe. Memento Terapêutico. Governo do Estado de Pernambuco. Secretaria de Saúde, Recife; 2006.

LeBlanc. Definição de critérios de aceitação cientificamente justificados na validação de produtos farmacêuticos. *Pharm Technol*. 1999;34-8.

Leite F. Validação em análise química. 4ª ed. Campinas: Editora Átomo; 2002.

Nicolosi M. Validação de Limpeza exige equipe multidisciplinar. *Rev Controle Contaminação*. 2008;20-27.

Peres LP. Validação dos Processos de Limpeza na Indústria Farmacêutica. *Rev. Fármacos & Medicamentos*. 2001; 3(13):20-3.

Ribani M, Bottoli CBG, Collins CH, Jardim ICSF. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Quím Nova*. 2004;27(5):771-80.

Santos Júnior N, Moretto LD, Zardo H. Validação de Limpeza Aplicada a Indústria Farmacêutica. *Pharm Technol*. 2003;7(5):58-64.

United States Pharmacopeia USP 34: the National Formulary: NF 29. Rockville; 2011.

Recebido em 29 de maio de 2011.

Aceito em 31 de janeiro de 2012.