

Validação de limpeza de zidovudina: estratégia aplicada ao processo de fabricação de medicamentos anti-retrovirais

João Rui Barbosa de Alencar^{1,2,*}, Selma Verônica Vieira Ramos¹, Líbia Bentes Machado³, Amanda Tatiane Costa Oliveira¹, Deborah Bezerra Monteiro¹, Flávia Patrícia Moraes de Medeiros¹, Pedro José Rolim Neto^{1,3}

¹Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco S/A – LAFEPE, ²Centro de Tecnologia – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, ³Depto. Ciências Farmacêuticas Universidade Federal de Pernambuco

A validação de limpeza é parte integrante do conjunto de normas que compõem as boas práticas de fabricação de medicamentos. Trata-se de sistemática utilizada para assegurar que os procedimentos de limpeza de equipamentos, efetivamente, removam os resíduos existentes até um nível de aceitação pré-determinado. Poucos trabalhos abordando a validação de limpeza estão disponíveis na literatura concernente à área. Neste, apresenta-se estratégia para validação do processo de limpeza utilizado na fabricação do medicamento zidovudina, produzido pelo LAFEPE⁰ (Recife – PE, Brasil) largamente prescrito no tratamento da AIDS. Utilizou-se um método analítico por via espectrofotométrica e técnica de amostragem de superfícies por swab. O critério de aceitação da limpeza utilizado foi de 10 ppm de zidovudina no produto subsequente (estavudina). Os resíduos de zidovudina encontrados nos equipamentos após a limpeza foram inferiores aos critérios de aceitação da limpeza, bem como do menor nível de concentração capaz de provocar ação farmacológica.

Unitermos

- Validação de Limpeza
- Medicamentos
- Anti-retrovirais
- Zidovudina

*Correspondência:

J. R. B. Alencar
Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco S/A
LAFEPE
Largo de Dois Irmãos, 1117
52171.010 – Recife – PE - BRASIL
E-mail: rui.alencar@lafepe.pe.gov.br

INTRODUÇÃO

A zidovudina (AZT) é um dos fármacos mais antigos e consagrados quando se trata do combate ao vírus da AIDS. Disponível comercialmente na forma de cápsulas de 100 mg, a zidovudina foi produzida, inicialmente, pelo laboratório Glaxo Smith Kline sob o nome de Retrovir[®] e, ao lado de outros fármacos, tais como a estavudina, didanosina, lamivudina, constitui um grupo de substâncias - os anti-retrovirais - sujeitos a controle especial e principais responsáveis pelo estado avançado de controle da doença. Não menos rigoroso é o processo produtivo de

medicamentos à base destes fármacos, em quaisquer formas farmacêuticas.

A validação de limpeza dos equipamentos integrantes do processo produtivo de medicamentos anti-retrovirais é requisito imprescindível para assegurar as boas práticas de fabricação de medicamentos (Brasil, 2003a) e para que os produtos tenham a eficácia e segurança esperada. Trata-se de processo utilizado para assegurar que os procedimentos de limpeza de equipamentos efetivamente removam os resíduos existentes até um nível de aceitação pré-determinado, ou melhor, garante-se que, após a limpeza dos equipamentos, o próximo produto a ser

fabricado não contenha substância do produto anterior, ou ainda, que não haja contaminação cruzada (FDA, 1993; Peres, 2001).

Várias metodologias de validação de limpeza de equipamentos têm sido testadas (Mazonakis *et al.*, 2002; Westman, Karisson, 2000; Mirza *et al.*, 1999; Segretario *et al.*, 1998; Hwang, *et al.*, 1998; Shea *et al.*, 1996), porém cada indústria tem desenvolvido seus próprios critérios e metodologias (Agalloco, 1992). Por outro lado, muito pouco tem sido publicado na literatura aberta sobre os métodos adotados nas indústrias para validação de processos de limpeza na indústria farmacêutica, o que remonta o caráter inovador do presente estudo.

O objetivo deste trabalho é apresentar uma estratégia utilizada para validação de limpeza dos equipamentos do processo de produção de zidovudina do LAFEPE® – Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco S/A (Recife – PE, Brasil). O LAFEPE foi o primeiro laboratório público no Brasil a produzir este medicamento para o Ministério da Saúde e constitui-se em um dos seus principais fornecedores de medicamentos anti-retrovirais. A escolha da zidovudina como forma de avaliar o grau de limpeza dos equipamentos do processo de fabricação de medicamentos anti-retrovirais na forma de cápsulas não se prende somente a suas propriedades físico-químicas, mas ao histórico que os operadores fazem referência como o produto de mais difícil limpeza dos anti-retrovirais fabricados na planta. A importância do trabalho fica realçada, uma vez que se elimina a suposição de que a resistência a medicamentos anti-retrovirais possa estar associada à contaminação cruzada dos medicamentos que compõem a terapia.

METODOLOGIA

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 execução dos mesmos. Com esta premissa este trabalho envolveu as etapas que seguem.

Validação da Metodologia Analítica

A primeira etapa do processo de validação de limpeza adotado neste trabalho foi assegurar que a metodologia analítica utilizada para a quantificação de resíduos do fármaco responde adequadamente nos níveis de concentração próximos aos critérios de aceitação da limpeza. A metodologia analítica para determinação do teor de zidovudina em cápsulas de 100 mg prevista tanto na

farmacopéia americana (USA, 1999) como na farmacopéia brasileira (Brasil, 2002) é por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Neste trabalho, buscou-se a validação e utilização de metodologia alternativa, por espectrofotometria, aplicável tanto para doseamentos de rotina de produtos acabados ou de processo quanto dos resíduos de zidovudina nas superfícies após a limpeza dos equipamentos do processo de fabricação.

Utilizou-se espectrofotômetro da marca SHIMADZU UV-2401 PC equipado com detector ultravioleta e cubetas de quartzo de seção transversal de 1 cm².

A ausência de produtos de degradação ou outros decorrentes de condições agressivas à zidovudina ficou evidenciada através de testes de estabilidade acelerada e testes de longa duração, imprescindíveis para a obtenção do registro do produto junto a autoridade sanitária do País. No caso do teste acelerado, o produto zidovudina cápsulas de 100 mg foi submetido por 6 meses a condições ambientais agressivas, isto é $40 \pm 2^\circ\text{C}$ e $75 \pm 5\%$ de umidade relativa, tendo sido acompanhado, dentre outras variáveis, o perfil de concentração do fármaco no produto ao longo desse tempo. No caso do teste de longa duração, o mesmo perfil foi avaliado, só que, desta feita, tendo o produto, sido armazenado por 24 meses em condições próximas da ambiente, $30 \pm 2^\circ\text{C}$ e $70 \pm 5\%$ de umidade relativa. Para os referidos testes o produto foi analisado por CLAE e nenhum pico, além da zidovudina, apareceu nos cromatogramas obtidos ao se analisar o perfil de concentração do fármaco no produto. O resultado destes testes foi a razão para o desenvolvimento de um método analítico por espectrofotometria.

A metodologia utilizada foi validada conforme a legislação em vigor (Brasil, 2003b), utilizando como substância química de referência a zidovudina USP, lote G. O procedimento utilizado consistiu em pesar quantidade equivalente a 100 mg de zidovudina (equivalente a 100% do valor rotulado), transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água destilada. Agitou-se por 10 minutos e filtrou-se. Transferiu-se 1 mL do filtrado para balão volumétrico de 100 mL e completou-se, novamente o volume com água destilada; a solução resultante possui aproximadamente 0,01 mg/mL, que equivale a 10 µg/mL ou 10 ppm em unidades mais comumente utilizadas em validação de limpeza. Homogeneizou-se e procedeu-se à leitura no espectrofotômetro a 268 nm, usando água destilada como branco. Diluições sucessivas ou tomadas de amostras distintas da anterior possibilitaram a construção de três curvas de linearidade do método. Foram utilizadas concentrações de 3, 5, 7,5, 10 e 15 ppm.

A curva de linearidade obtida ao final da validação da metodologia analítica, obtida pela média das três curvas, foi utilizada para fornecer os níveis de concentração residuais das superfícies dos equipamentos após a limpeza. Para cálculo dos limites de detecção e quantificação do método, realizou-se, a partir do último ponto da curva de linearidade, 3 ppm, diluições para mais três níveis menores (Brittain, 1998), 2, 1 e 0,5 ppm. Os limites foram calculados a partir da curva da linearidade resultante e as equações previstas no regulamento sanitário em vigor (Brasil, 2003b). A precisão do método foi avaliada pelo testes de repetibilidade de seis amostras individuais, bem como pela variação entre analistas treinados preparando amostras em triplicata em dias distintos. A exatidão foi avaliada em dois dias distintos, pela preparação de amostras em triplicata nas concentrações de 50, 100 e 150%. A especificidade do método foi testada pela utilização de um placebo contendo somente os excipientes do medicamento - glicolato de amido sódico, celulose microcristalina e estearato de magnésio - e verificando-se a absorvância.

Processo de Fabricação e a Seleção dos Equipamentos e das Superfícies

A fabricação de cápsulas de zidovudina consiste das seguintes etapas:

Após secagem do amido de milho a 60 °C, por 12 horas, o mesmo amido é tamizado em malha nº1 juntamente com a zidovudina. Na seqüência, o material tamizado é colocado em um misturador tipo “V”, ali permanecendo sob constante agitação por 30 minutos. À mistura anterior, adicionam-se a celulose microcristalina e o glicolato de amido sódico e mistura-se por mais 15 minutos. Ao final, acrescenta-se o estearato de magnésio e mistura-se por 5 minutos. Transfere-se a mistura final para encapsuladeira automática e dispensa o pó nas cápsulas gelatinosas duras. Ao final, as cápsulas são, então, transferidas para a máquina de envase. Os equipamentos envolvidos no processo são misturador tipo “V”, encapsuladeira da marca Zanazzi e máquina de envase de cápsulas.

Documentação do Processo de Validação

A validação é um ato documentado, que atesta que qualquer procedimento, processo, equipamento, material, operação ou sistema, realmente conduz aos resultados esperados (Brasil, 2003a). No presente trabalho, pretendeu-se avaliar e garantir que os procedimentos de limpeza dos equipamentos já implantados atendem aos requisitos das boas práticas de fabricação e não apresentam quaisquer evidências de contaminação cruzada. Para tan-

to, o processo de validação foi planejado por equipe multidisciplinar, com profissionais das áreas de garantia da qualidade, produção, manutenção e controle de qualidade. O documento básico do processo de validação de limpeza foi o seu protocolo no qual estão descritas todas as etapas do processo, pessoas e áreas envolvidas, critérios de aceitação e testes a serem realizados. Os resultados da execução do protocolo estão condensados em outro documento denominado relatório de validação.

Procedimentos de Limpeza dos Equipamentos

Os procedimentos de limpeza dos equipamentos consistem basicamente de desmontagem de todas as peças móveis dos mesmos e lavagem com água potável seguida de aplicação de detergente neutro sob fricção e novamente lavagem com água purificada.

Crítérios de Aceitação da Validação de Limpeza

Um aspecto essencial na validação de limpeza é determinar quanto de limpeza é suficiente. Apesar de oficialmente não endossar critérios adotados por indústrias farmacêuticas, o FDA (*Food Drug Administration*) dos Estados Unidos da América faz referência a critérios adotados pela empresa *Eli Lilly*, que estabelece os seguintes critérios (LeBlanc, 1999):

- O equipamento deve estar visualmente limpo;
- Qualquer agente ativo do produto após a limpeza deve estar presente em níveis máximos de 10 ppm ou 10 mg/g do produto após a limpeza em relação ao produto subsequente, ou
- Qualquer agente ativo do produto após a limpeza deve estar presente em níveis máximos de 1/1000 da dose mínima diária da substância ativa em relação à dose máxima diária do produto subsequente, calculado de acordo com a equação seguinte (LeBlanc, 1999):

$$L_1 = \frac{1}{1000} \cdot \frac{Z}{W} \quad (1)$$

Onde:

L_1 = Limite no produto subsequente em mg/g

Z = Dose mínima diária do produto a ser limpo (zidovudina)

W = Dose máxima diária do produto subsequente (estavudina)

A terapêutica do produto zidovudina estabelece que a dose máxima é 600 mg/dia ou seis cápsulas de 100 mg (LAFEPE, 2000) sendo este o valor Z da equação 1. No

caso da estavudina a dose máxima diária é de 80 mg ou duas cápsulas de 40 mg/dia, valor que representa a variável W na equação 1. Aplicando estes valores na equação 1 obtemos:

$$L_1 = \frac{1}{1000} \cdot \frac{600 \text{ mg}}{80 \text{ mg}} \Rightarrow L_1 = 0,0075 \text{ mg/mg ou } 7500 \text{ } \mu\text{g/g}$$

Percebe-se que o limite de 10 ppm (10 mg/g) é bem inferior ao limite calculado pela equação 1, que tomado como referência para critério de aceitação da limpeza. Os valores encontrados nas superfícies dos equipamentos foram comparados ao limite de 10 ppm fixados da forma acima. Uma comparação com o limiar de ação terapêutica para a zidovudina citados na literatura também foi realizado.

Amostragem e Procedimentos Analíticos

O procedimento de amostragem mais comum é a técnica de *swab*, utilizada para testar pequenas áreas do equipamento quanto à presença do resíduo. Assumiu-se que cada área amostrada é representativa da superfície do equipamento contendo o resíduo distribuído de maneira uniforme. Foram consideradas em cada equipamento as superfícies difíceis de limpar, tais como cantos de equipamentos, de difícil acesso e locais distribuídos ao acaso. Os resíduos foram coletados durante três corridas ou lotes sucessivos em áreas de 10 cm² dos equipamentos com o auxílio de uma peça metálica vazada na dimensão indicada acima a ser apoiada na superfície do equipamento para o friccionamento do *swab*. Foram utilizados *swab* de rayon aos quais se atribuiu um fator de recuperação de 0,7. *Swab* de algodão com hastes de madeira também foram testados, porém, apresentaram alta absorvância no teste do branco. Os do tipo rayon não apresentaram qualquer absorvância quando postos em contato com o meio de diluição da amostra.

Cada *swab* foi colocado em tubo de ensaio deixado imerso por 10 minutos em 10 mL, volumetricamente medidos, de água destilada. Para cada solução assim obtida, filtrou-se e procedeu-se a leitura da absorvância no espectrofotômetro. De posse da curva de linearidade do método analítico, obteve-se a concentração equivalente a cada uma das absorvâncias.

Determinação dos Resíduos de Limpeza

Após a determinação da concentração associada a cada *swab* e de posse das áreas superficiais dos equipamentos, o resíduo de zidovudina nos equipamentos foram calculados pela equação 2:

$$\text{Resíduo} = \frac{X \cdot V_a \cdot A_s}{F \cdot A_a} \quad (2)$$

Onde: X é a média dos resíduos de zidovudina em cada equipamento, V_a é o volume de imersão do *swab* igual a 10 mL, A_s é a área superficial do equipamento, A_a é a área de amostragem de 10 cm² e F é o fator de recuperação.

RESULTADOS

Validação da Metodologia Analítica

Foram avaliados os parâmetros de linearidade, precisão, exatidão, especificidade e calculados os limites de quantificação e detecção do método. Os dados para construção da curva de linearidade do método analítico estão mostrados na Tabela I. Os valores da variável y estão expressos na forma da média \pm desvio padrão. Para a faixa de concentração estudada de 0,5 a 15 ppm, as variáveis apresentaram respostas lineares com um coeficiente de correlação para um modelo linear de $R^2 = 0,99999$, e equação característica $y = 0,03731 \cdot X + 0,00315$, onde y representa as leituras das absorvâncias e X a concentração das soluções expressas em ppm.

TABELA I – Linearidade do método espectrofotométrico

Concentração (ppm) X	Absorvâncias (n=3) y	CV (%)
0,5	0,018 + 0,00300	16,666
1,0	0,034 + 0,00100	2,941
2,0	0,075 + 0,00100	1,333
3,0	0,115 + 0,00105	0,917
5,0	0,190 + 0,00142	0,749
7,5	0,283 + 0,00278	0,984
10,0	0,376 + 0,00194	0,515
15,0	0,563 + 0,00414	0,735

Os limites de quantificação (LQ) e detecção (LD) foram calculados com base na equação da reta obtida e apresentada acima e equações previstas no regulamento específico (Brasil, 2003b), a saber:

$$LQ = \frac{10 \cdot \sigma}{S} \quad (3)$$

$$LD = \frac{3,3 \cdot \sigma}{S} \quad (4)$$

onde σ é desvio padrão médio dos três níveis de concen-

tração mais baixos da curva de linearidade e S é o coeficiente angular da equação característica. Os valores dos limites de quantificação e detecção, obtidos desta forma, são 0,45 e 0,15 ppm.

A precisão do método foi avaliada através da repetibilidade do método em seis amostras individuais. Os resultados estão agrupados na Tabela II.

TABELA II – Avaliação da Precisão, através da repetibilidade

Amostra	Absorbância	Concentração (%)
01	0,357	94,78
02	0,357	94,78
03	0,348	92,37
04	0,354	93,97
05	0,354	93,97
06	0,354	93,97
Média	0,354 ± 0,093	93,97 ± 0,93

A exatidão é avaliada pela equação (5) (Brasil, 2003b) e mede a resposta do método em relação a concentrações teóricas. No presente trabalho esta foi avaliada em triplicata em dois dias distintos nas concentrações de 50, 100 e 150% do valor rotulado; os seus resultados estão agrupados nas Tabelas III e IV.

$$Exatidão = \frac{Concentração_{Média}}{Concentração_{Teórica}} \cdot 100\% \quad (5)$$

A especificidade do método foi avaliada mediante a leitura da absorbância de soluções preparadas a partir de cápsulas placebos preparadas com os excipientes do medicamento, seguindo o mesmo procedimento. Para amostras em triplicata, todas as leituras obtidas apresentaram valor “zero” de absorbância, indicado a especificidade do método.

Validação de Limpeza - Determinação de Resíduos de Zidovudina

Para verificação do grau de limpeza dos equipamentos do processo, a equação acima foi escrita da forma $X = 26,80247 \cdot y - 0,08443$, para determinação das concentrações associadas a cada uma das leituras das absorbâncias das soluções com os resíduos de zidovudina.

Todos os equipamentos envolvidos no processo foram aprovados no critério de “visualmente limpo”, isto é, não se observaram a olho nu a presença de quaisquer resíduos do medicamento em todas as corridas. A Tabela V detalha os pontos amostrados em cada um dos equipamentos, bem como apresenta o valor das leituras das absorbâncias em cada um desses pontos.

A Tabela VI apresenta os resultados da equivalência entre a leitura das absorbâncias e as concentrações de zidovudina em cada ponto de amostragem após a limpeza dos equipamentos obtidas via equação da reta. Observa-se, nesta tabela, que foram encontrados valores inferiores ao limites de detecção do método analítico, que poderiam ser indicados como “Não Detectável” mas deixamos os valores encontrados para seguir o formalismo matemático.

TABELA III – Avaliação da Exatidão do Método Espectrofotométrico – entre dias

Concentração (%)	Dia	Concentração (%)			Média	CV (%)
50	1	49,56	50,09	49,56	49,73	0,3071
100	1	99,06	99,33	99,06	99,15	0,1560
150	1	149,19	148,65	148,65	148,83	0,2084
50	2	50,44	49,64	49,38	49,82	1,1132
100	2	99,55	100,09	99,55	99,73	0,3079
150	2	147,94	147,67	147,14	147,58	0,2772

TABELA IV – Avaliação da Exatidão do Método

Concentração (%)	Média dos Dias	Exatidão (%)
50	49,77	99,46
100	99,44	99,44
150	148,20	98,80

TABELA V – Equipamentos, Pontos de amostragem e Leituras das Absorbâncias após a limpeza

Equipamento / Pto. Amostragem	Corrida 1	Corrida 2	Corrida 3	Média	Média Global
Tamis					
Parede Interna	0,004	0,005	0,004	0,0043	0,004
Malha	0,004	0,004	0,003	0,0037	0
Misturador V					
Parede Interna	0,005	0,006	0,007	0,006	
Vértice Superior	0,004	0,005	0,006	0,005	0,006
Vértice Inferior	0,005	0,006	0,007	0,006	
Tampa	0,006	0,005	0,008	0,006	
Estufa de Ar Circulante					
Parede Interna Bandeja 1	0,006	0,005	0,006	0,006	
Parede Interna Bandeja 2	0,007	0,005	0,007	0,006	0,006
Parede Interna Bandeja 3	0,009	0,004	0,005	0,006	
Saída do Ar	0,003	0,004	0,005	0,004	
Encapsuladeira					
Recipiente Alimentação Superior	0,024	0,022	0,025	0,024	
Recipiente Alimentação Inferior	0,017	0,019	0,020	0,019	
Conduto Ligação Recipientes	0,015	0,020	0,017	0,017	0,021
Seccionador Cápsulas	0,016	0,019	0,018	0,018	
Suporte das Matrizes	0,021	0,025	0,022	0,023	
Filtro do Seccionador de Cápsulas	0,024	0,026	0,021	0,024	
Máquina de Envase					
Disco Alimentador 1	0,028	0,021	0,022	0,024	
Disco Alimentador 2	0,023	0,018	0,021	0,021	
Suporte do Disco Alimentador 1	0,076	0,056	0,044	0,059	
Suporte do Disco Alimentador 2	0,111	0,090	0,100	0,100	0,045
Funil Alimentador 1	0,040	0,045	0,055	0,047	
Funil Alimentador 2	0,020	0,032	0,044	0,032	
Escova Seccionadora 1	0,020	0,036	0,056	0,037	
Escova Seccionadora 2	0,027	0,035	0,048	0,037	

TABELA VI – Equivalência Absorbâncias x Concentração – Aplicação da Equação Característica

Equipamentos	Média das absorbâncias (y)	Concentração em $\mu\text{g/mL}$ (X)
Tamis	0,004	0,023
Misturador “V”	0,006	0,076
Estufa Ar Circulante	0,006	0,076
Encapsuladeira	0,021	0,478
Máquina de Envase	0,045	1,122

De posse da média dos resíduos recuperados dos *swabs* apresentados na Tabela VI e da área superficial de cada equipamento, determinou-se o resíduo de zidovudina em cada equipamento do processo através da equação 2. A Tabela VII apresenta os resultados do cálculo.

Analisando os resultados da Tabela VII, verificamos que se somarmos os valores da coluna 4 desta, encontramos um total de 16.834,07 mg, quantidade do produto após a limpeza valor que seria transferido para o produto

seguinte fabricado na unidade. No presente caso, o produto seguinte foi cápsulas de 40 mg de estavudina, outro anti-retroviral largamente utilizado na terapia anti-HIV.

Considerando que o menor tamanho do lote possível de estavudina fabricado na unidade é de 30 kg, pode-se estimar quanto do produto zidovudina seria transferido para o produto estavudina, dividindo-se o resíduo total 16.834,07 μg por 30 kg (30.000 g), obtendo-se 0,561 $\mu\text{g/g}$. Considerando que o peso médio de uma cápsula de

TABELA VII – Resíduos de zidovudina (AZT) após a limpeza dos equipamentos

Equipamento	Área Superficial (A_s) (cm ²)	Resíduo Swab (X) (µg/mL)	Resíduo Equipamento (µg)
Tamis	2.765	0,023	90,85
Misturador “V”	14.450	0,076	1568,86
Estufa Ar Circulante	12.250	0,076	1330,00
Encapsuladeira	13.345	0,478	9112,73
Máquina de Envase	2.952	1,122	4731,63

estavudina de 40 mg é de 300 mg, o valor acima pode ser expresso como 0,168 µg de zidovudina por cápsula de 40 mg de estavudina como fruto da pretensa contaminação cruzada. A Tabela VIII sumariza os valores residuais de zidovudina em cada equipamento, que seriam transferidos para o produto subsequente, estavudina.

TABELA VIII – Resíduos de zidovudina transferidos para produto subsequente por equipamento

Equipamentos	Resíduos de AZT (µg/g)
Tamis	0,003
Misturador “V”	0,052
Estufa Ar Circulante	0,044
Encapsuladeira	0,304
Máquina de Envase	0,158

Analisando os valores da Tabela VIII vemos que para todos os equipamentos do processo os resíduos de zidovudina encontrados nos equipamentos são bastante inferiores ao critério de aceitação da limpeza estabelecido neste trabalho, que foi de 10 ppm ou 10 µg/g.

Segundo a literatura (Hardman *et al.*, 1996), a menor concentração de zidovudina capaz de promover atividade farmacológica em um indivíduo normal é da ordem de 0,001 µg/mL. Assim, determinou-se que o resíduo deste fármaco presente em uma cápsula de estavudina seria suficiente para provocar ação terapêutica.

Considerando-se que a volemia de um homem típico com 70 kg gira em torno de 5,5 L (Hardman *et al.*, 1996) e que, de forma conservadora, todo o resíduo de zidovudina, presente numa cápsula de estavudina, seja absorvido e chegue inalterado à corrente sanguínea e sem levar em conta os outros líquidos corporais, e que a dose diária padrão de estavudina 40 mg é 2 (duas) cápsulas por dia, chega-se que a concentração de zidovudina no organismo é: $2 \times 0,13 \mu\text{g}/5500 \text{ mL} = 0,0000472 \text{ mg/mL}$. Observa-se que o resíduo de AZT transferido através das cápsulas de estavudina não é suficiente para desenvolver atividade terapêutica, pois o valor do resíduo é cerca de 20

vezes menor que a menor concentração capaz de causar atividade farmacológica no indivíduo humano.

CONCLUSÕES

O presente trabalho possibilitou a utilização de metodologias analíticas alternativas para a validação de processos de limpeza de equipamentos na fabricação de medicamentos anti-retrovirais. Através de método espectrofotométrico, puderam-se quantificar os níveis residuais de zidovudina remanescentes nos equipamentos do processo inferiores a 0,4 mg/mL (ou ppm) e garantir que todos os equipamentos submetidos a limpeza atenderam aos requisitos dos critérios de aceitação de visualmente limpos e de 10 ppm (mg/g) residual do princípio ativo após a limpeza. Pode-se comprovar também que os níveis residuais de zidovudina ainda presentes nos equipamentos ou transferidos para o produto subsequente estiveram em concentrações inferiores à menor concentração do fármaco capaz de provocar qualquer ação terapêutica. A estratégia utilizada para validação da limpeza mostrou-se simples, rápida e eficaz podendo ser aplicada para outras formas farmacêuticas.

ABSTRACT

Cleaning validation of zidovudine: strategy applied to the process manufacture of antiretroviral medicines

The cleaning validation is integrant part of the laws of good manufacturing practices of medicines. Cleaning validation procedures are carried out in order to assure that residues are within acceptable limits after the cleaning process. Very little has been published regarding practices within the pharmaceutical industry. This work presents a strategy for cleaning validation of the process equipments of the medicine zidovudine produced by LAFEPE (Recife - PE, Brazil) utilized in AIDS treatment. An analytical method by spectrofotometry and samples surfaces by swab was utilized. The acceptance criteria from the cleaning utilized

was 10 ppm of zidovudine in the subsequent product (stavudine). The residues of zidovudine found in the equipment after cleaning were lower than limits established as well as to the smaller level of concentration capable of producing pharmacological effects.

UNITERMS: *Cleaning Validation. Medicines. Antiretrovirals. Zidovudine.*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGALLOCO, J. Points to consider in the validation of equipment cleaning procedures. *J. Parenter. Sci. Technol.*, v. 46, n. 5, p. 163-168, 1992.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC N°199 de 12.07.2002, Farmacopéia Brasileira, Fascículo 3 da Parte II da 4ª Edição, Diário Oficial da União, Brasília, DF, 16 jul. 2002. Seção 1, p. 89-132.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC N°210 de 04.08.2003, Regulamento técnico de boas práticas de fabricação de medicamentos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 14 ago. 2003. Seção ?, p. 24-50.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RE N°899 de 29.05.2003, Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 02 jun. 2003. Seção 1, p. 56-59.
- BRITAIN, H. G. Validação de métodos analíticos não cromatográficos. *Pharm. Technol. Brasil*, v.2, p.4-9, 1998.
- FDA. *Electronic publishing: Guide to inspections of validation of cleaning process.* July 1993. Disponível em: www.fda.gov. Acesso em: 20 ago. 2002.
- HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L. E.; MOLINOFF, P. B.; RUDDON, R. W.; GILMAN, A. G., eds. *Goodman & Gilman. As Bases farmacológicas da terapêutica.* 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p. 15, 887.
- HWANG, R.-C.; KOWALSKI, D. L.; TRUELOVE, J. E. Definição do processo e análise dos dados para validação de limpeza. *Pharm. Technol. Brasil*, v.2, n. 5, p.4-8, 1998.
- LAFEPE. Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco. Memento Terapêutico. Recife: Editora Gráfica Amália, 2000. 240 p.
- LeBLANC, D. A. Definição de critérios de aceitação cientificamente justificados na validação de protocolos farmacêuticos *Pharm. Technol. Brasil*, v. 5, n. 2, p. 34-38, 1999.
- MAZONAKIS, N. E.; KARATHANASSI, P. H.; PANAGIOTOPOULOS, D. P.; HAMOSFAKIDI, P. G.; MELISSOS, D. A. Cleaning validation in the toiletries industry. *Anal. Chim. Acta*, v. 467, p. 261-266, 2002.
- MIRZA, T.; LUNN, M. J.; KEELEY, F. J.; GEORGE, R. C.; BODENMILLER, J. R. Cleaning level acceptance criteria and a high pressure liquid chromatography procedure for the assay of Meclizine Hydrochloride residue in swabs collected from pharmaceutical manufacturing equipment surfaces, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, v. 19, n. 2, p. 747-756, 1999.
- PERES, C.P. Validação dos processos de limpeza na indústria farmacêutica. *Fármacos & Medicamentos*, v. 3, n. 13, p. 20-23, 2001.
- ROMÁNACH, R. J.; GARSIA, S. F.; VILLANUEVA, O.; PEREZ, F. Esforço conjunto na limpeza de equipamentos de uma fábrica de ingredientes ativos farmacêuticos. *Pharm. Technol.* v. 5, n. 4, p. 30-36, 1999.
- SEGRETARIO, J.; COOK, S. C.; UMBLES, C. L.; WALKER, J. T.; WOODDESHICK, R. W.; RUBINO, J. T.; SHEA, J. A., Validation of Cleaning Procedures for Highly Potent Drugs. II. Bisnafide, *Pharm. Develop. Technol.*, v. 3, n.4, p. 471-476, 1998.
- SHEA, J. A.; SHAMROCK, W. F.; ABBOUD, C. A.; WOODDESHICK, R. W.; NGUYEN, L. S.; RUBINO, J. T.; SEGRETARIO, J. Validation of Cleaning Procedures for Highly Potent Drugs. I. Losoxantrone. *Pharm. Develop. Technol.*, v. 1, n. 1, p. 69-75, 1996.
- UNITED STATES PHARMACOPEIA. 24. ed. Rockville, United States Pharmacopeial Convention, 1999. 2569 p.
- WESTMAN, L.; KARISSON, G. Methods for detecting residues of cleaning agents during cleaning validation, *PDA J. Pharm. Sci. Technol.*, v 54, n.5, p. 365-372, 2000.

Recebido para publicação em 27 de dezembro de 2002.