

VALIDAÇÃO E APLICAÇÃO DE UM MÉTODO ANALÍTICO NA DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DA FUROSEMIDA POR CLAE-UV EM AMOSTRAS DE MEDICAMENTOS COMERCIALIZADOS NA CIDADE DE CARUARU-PE

Irthylla Nayalle da Silva Muniz ¹, Izabella Cinthia Tôrres de Vasconcelos ¹, Joice Luiza Pereira da Silva ^{1*}, Carlos Eduardo Miranda de Sousa ¹

¹Centro Universitário Tabosa de Almeida – ASCES/UNITA

RESUMO: A furosemida é um diurético de alça amplamente utilizado em virtude de sua rápida ação diurética, sobretudo em quadros hipertensivos agudos. Como alternativa de doseamento da furosemida, foi utilizado o método cromatográfico com finalidades de desenvolvimento e validação. O método desenvolvido doseou a Furosemida em comprimidos Lasix®, Neosemid® e Furosemida. Utilizou-se como fase estacionária uma coluna de fase reversa, C₁₈ (Phenomenex® - 150 mm de comprimento e 0,46 mm de diâmetro e 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro), à temperatura de 25°C. A fase móvel foi constituída por acetonitrila, (LiChrosolv® - lote JA067436) água deionizada (Asfer® - lote 180049) (20:80 v/v), vazão de 1 mL/minuto e comprimento de onda de 254 nm. O método aplicado demonstrou linearidade frente às concentrações de 32 µg/mL - 48 µg /mL, com coeficiente de correlação igual a 0,9996 a partir da equação da reta: $Y = 1,0263 X - 0,7451$. A precisão do método adquiriu um coeficiente de variação de 2,16%. A exatidão, robustez e especificidade frente aos resultados obtidos, apresentaram adequabilidade para o uso do doseamento analítico da furosemida nas condições testadas, evidenciando que os produtos em estudo são seguros, eficazes e de boa qualidade.

Unitermos: Furosemida; Doseamento; Cromatografia Líquida de alta eficiência; Validação.

INTRODUÇÃO

A furosemida corresponde quimicamente ao ácido 5-(aminosulfonil) -4-cloro-2-[(2-furanilmetil) amino]-benzóico, ou ácido 4-cloro-N-furfuril-5- sulfamoilantranílico (British pharmacopoeia, 1993; Merck,1989; Sturn et al., 1966) (Figura 1). Denomina-se como diurético potente ou de alça devido a capacidade de inibir a reabsorção de eletrólitos na membrana luminal das células do ramo ascendente da alça de Henle, e em decorrência, favorece a redução de reabsorção de água, resultando em diurese excessiva. É também relatada a atividade vasodilatadora da furosemida, estando relacionada com a diminuição de retenção de sódio e aumento na síntese de algumas prostaglandinas (DIAS, 2004).

Dentre os diuréticos de alça, a furosemida parece ser mais efetiva por apresentar ampla curva dose-resposta. Seu uso é indicado para casos de Hipertensão arterial em estágios 1 e 2 (leve e moderada); edema devido a distúrbios cardíacos, hepáticos e renais e no tratamento de edemas causados por queimaduras (SANOFI-AVENTIS, 2014). Também se mostra efetivo em casos de hepatopatias e situações acompanhadas de hipercalcemia e oligúria por insuficiência renal (MARTINDALE, 1991).

1 *Joice Luiza Pereira da Silva
Centro Universitário Tabosa de Almeida
Rua Alcides Semeão de Azevedo, N° 116 – Rendeiras
55022-080 - Caruaru – PE, Brasil
E-mail: joiceluizaa96@gmail.com

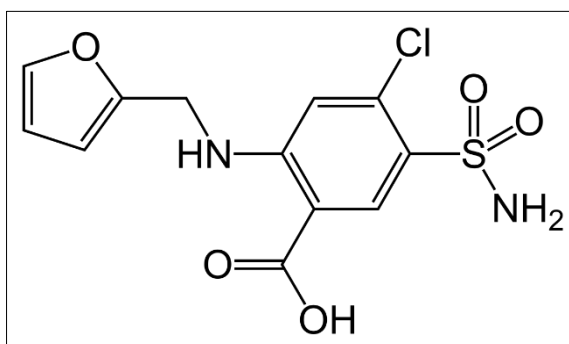


FIGURA 1 – Estrutura química da furosemida.

Em laboratórios de análise de indústrias químicas e farmacêuticas, em áreas médicas e em muitos outros campos da ciência e até em órgãos governamentais, a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-UV) tem sido uma das técnicas analíticas mais desenvolvidas, difundidas e empregadas nos últimos 40 anos. Associada a essa expansão, na última década, seu desenvolvimento tem sido direcionado à necessidade de análises mais rápidas. Desde 1950 com o início da cromatografia líquida, até os dias atuais, ocorreram muitos avanços e todos eles impulsionados pelo desenvolvimento contínuo de novas partículas de fases estacionárias que fossem capazes de gerar colunas mais seletivas, eficientes e estáveis química e mecanicamente (MALDANER, 2009).

Frente a sua seletividade e sensibilidade, a CLAE-UV tem sido empregada para a quantificação de furosemida em formulações farmacêuticas contendo somente furosemida ou em associação com outros fármacos e também em estudos de estabilidade (GOTARDO, 2006). Em ensaios anteriores realizados, foi utilizado um detector UV (237 nm) para a determinação de furosemida em comprimidos, onde empregou-se uma coluna C_{18} *homemade* (SEMAAN et al., 2005), o que elucida a afinidade da amostra para com o método e equipamento a ser testado.

Em um estudo semelhante executado por Correia (2012), pode-se afirmar que os excipientes presentes nos comprimidos não interferiram na análise aplicando o método validado, porém a depender do solvente utilizado. Já Duarte (2007) afirma que, nas condições testadas, foi possível observar a interferência de componentes na varredura da solução. Desta forma, a quantificação de furosemida carece do desenvolvimento e validação de um método analítico, uma vez que a especificidade do método validado expõe o estudo a muitas variáveis.

Segundo a Farmacopeia Brasileira (2010), a análise quantitativa da furosemida é realizada através do espectro de absorção no ultravioleta, na faixa de 220 nm a 320 nm, da solução final obtida no doseamento, onde exibe máximos de absorção em 228 nm e 271 nm. Um outro método também utilizado para a identificação da estrutura molecular de compostos é a Ressonância Magnética Nuclear (RMN), este que dispensa métodos de separação para analisar quantitativamente o analito de interesse, mostrando-se assim um método simples, rápido e eficiente (DA COSTA, 2016).

Desta forma, este trabalho buscou desenvolver e validar um método analítico alternativo para o doseamento e ampliar a atenção para esta temática através da análise da furosemida, visto que o método padrão imprime pouca seletividade quando comparado a CLAE. Este método propõe separar, identificar e quantificar substâncias presentes em diferentes tipos de produtos baseando-se em suas estruturas e funções moleculares diferenciadas (CHUST, 1990), o que torna possível avaliar a qualidade e eficácia dos medicamentos em questão.

MATERIAL E MÉTODOS

Reagentes e produtos farmacêuticos

Para desenvolver e validar o método, foi utilizado água deionizada (Asfer® - lote 180049), acetonitrila (LiChrosolv® - lote JA067436), metanol (ISOFAR® - lote 150139) e hidróxido de sódio (EMSURE® - lote B1101198). As amostras de furosemida utilizadas foram obtidas em farmácias comerciais de Caruaru-PE. O medicamento de referência, Lasix furosemida 40mg, foi produzido pelo laboratório Sanof-Aventis Farmacêutica Ltda (Lote 726244). O similar, Neosemid furosemida 40mg, produzido pelo laboratório Neo Química Comércio e Indústria Ltda (Lote B17E0149) e o genérico, Furosemida 40 mg, foi produzido pelo laboratório Teuto Brasileiro S/A (Lote 7031557). Como padrão para as análises, utilizou-se Furosemida matéria-prima produzida pelo laboratório Purifarma.

Vidrarias e Equipamentos

Os equipamentos e instrumentos certificados necessários à execução do estudo foram: balança (OHAUS®), cromatógrafo, limpador ultrassônico CD-2800 (Varilux Ipseo®), Vortex Mixer (KASVI basic®), colunas, pipeta graduada 100 – 1000 µL, papel filtro. As análises de cromatografia líquida de alta eficiência foram realizadas em cromatógrafo Shimadzu®, equipado com os módulos: duas bombas LC 20AD, Detector UV-Visível SPD 20A, Controlador CBM 20A, injetor manual SIL e software Lab-Solutions versão 3.6.

As colunas cromatográficas de fase reversa aplicadas no estudo apresentam tamanho de partículas de 5 µ. Foram analisados os perfis de separação nas colunas C₈, com 150 mm de comprimento e 0,46 mm de diâmetro e 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro; e coluna reversa C₁₈, com 150 mm de comprimento e 0,46 mm de diâmetro e 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro, ambas da marca Phenomenex®.

Preparo da solução e padrão

Inicialmente foi pesado 10 mg do fármaco padrão em seguida foi adicionado a 10 mL da fase móvel levando ao vortex para homogeneização da solução, formando assim uma solução padrão com a concentração de 1 mg/mL. Para realização das injeções foram feitas diluições com concentrações de 32 µg/mL, 35 µg/mL, 40 µg/mL, 45 µg/mL, 48 µg/mL e 100 µg/mL. No preparo da diluição primeiro adicionou-se 9 mL de fase móvel combinado com 1 mL da solução inicial de 1 mg/mL, obtendo assim a concentração de 100 µg/mL, a qual foi levada ao vortex por 30 segundos. Repetiu-se o mesmo processo, respeitando os respectivos cálculos de diluição, para o preparo das demais soluções.

Processamento da amostra

Para a etapa de estudo com os comprimidos foram realizados alguns procedimentos, iniciando com a trituração de um comprimido de 40mg da furosemida e a dissolução em 100 mL de hidróxido de sódio 0,1M para realizar a separação do princípio ativo dos outros componentes do comprimido. Após esses processos, procedeu-se a filtração e novamente a diluição de 1 mL do filtrado para 9 mL da fase móvel (80% água/ 20% ACN) adquirindo o padrão de 40 µg/mL.

Desenvolvimento do método analítico

O estudo proposto tem como objetivo identificar a furosemida pelo método de CLAE a partir da comparação do resultado obtido com a curva de solução padrão da furosemida e a determinação da concentração do princípio ativo dos medicamentos (genérico, similar e referência) também realizado pela mesma técnica. Esse teor é determinado de acordo com os parâmetros verificados na análise. O processo de validação da técnica consiste em determinar a fidedignidade do procedimento quantitativo utilizado, avaliando a especificidade e seletividade do método, linearidade e intervalo dos resultados, precisão, exatidão e robustez.

O procedimento de extração da furosemida foi desenvolvido com base em estudos já disponíveis na literatura, visando a determinação de um método rápido e simples. Cada medicamento de furosemida foi analisado individualmente. As análises qualitativas e quantitativas de doseamento das amostras foram realizadas no laboratório da Asces-Unita ao longo dos seis meses de estudo, utilizando CLAE-UV e vidrarias pertinentes.

O método de análise cromatográfica foi determinado de acordo com o melhor desempenho de separação obtida, a partir das variáveis analisadas. Em todas as colunas (C_8 e C_{18}) analisou-se a separação por troca iônica, com fase móvel entre os fluxos de 0,5 mL/min e 1 mL/min e solventes acetonitrila:água e metanol:água em variados gradientes e nos comprimentos de onda de 254 nm e 271 nm. A determinação do melhor sistema cromatográfico considerou qual condição o perfil apresentou melhor condição de separação e pressão do sistema constante.

Condições cromatográficas

Foi utilizada uma coluna C_{18} de fase reversa com proporção de 150x4,6, e como fase móvel, acetonitrila e água na proporção de 20:80 (v/v), respectivamente, fluxo 1 mL/min e comprimento de onda de 254 nm. A corrida foi realizada no período de 5 minutos com um volume de injeção de 20 μ L.

Validação do método

A validação do método analítico desenvolvido para doseamento da furosemida nos comprimidos testados seguiu a literatura a partir da determinação de parâmetros, o que possibilitou avaliar a capacidade do método de medir exatamente a furosemida, a presença de impurezas, componentes pertencentes a matriz e outros produtos resultantes da degradação das substâncias, comprovando que os resultados não serão afetados e assegurando a ausência de interferência das variáveis no sistema. Foi preparada uma solução padrão de furosemida no limite inferior de quantificação (LIQ); uma solução placebo, contendo somente o solvente extrator; e uma amostra extraída. A avaliação baseou-se na verificação dos picos obtidos e a comparação entre eles para analisar se os componentes indesejados interferem na análise.

Frente a utilização de métodos quantitativos e ensaios limite, tem-se que a seletividade deve ser demonstrada por meio da comprovação de que a resposta analítica deve deter-se exclusivamente ao analito, sem interferência do diluente, da matriz, de impurezas ou de produtos de degradação (Brasil, 2017). Desta forma, foi realizada a verificação da seletividade do método a partir da execução dos testes consequentes e através da obtenção dos resultados demonstrativos da detecção do analito estudado.

Quanto a linearidade e intervalo, as amostras foram sujeitas a testes que avaliaram a capacidade de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais a concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado. Para leitura, foram determinadas cinco soluções de furosemida na solução de acetonitrila/água, em triplicata nas concentrações de 80%; 87,5%; 100%; 112,5%; e 120 %, visto que, recomenda-se que a linearidade seja determinada pela análise de, no mínimo, cinco concentrações diferentes.

A partir dos dados obtidos, produziu-se a curva de calibração e analisado o coeficiente de correlação, que deveria ser o mais próximo de 1, indicando a precisão com que o sistema consegue explicar os dados observados. A precisão avaliou a proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra. As amostras foram produzidas por dois analistas diferentes e em dois dias consecutivos. A análise consistiu em seis injeções da solução no sistema, por cada analista e em cada dia. Os dados gerados forneceram a média aritmética, o desvio padrão que representará a precisão; e o desvio padrão relativo, servindo como estimativa da precisão intermediária da análise, bem como da precisão nos diferentes dias e os diferentes analistas.

Na exatidão as amostras foram produzidas em três níveis de concentração (80%, 100% e 120%) para atender todo o intervalo de quantificação do método. A análise consistiu

em três injeções da solução no sistema, por cada nível de concentração. Os dados gerados forneceram a média aritmética, o desvio padrão, desvio padrão relativo e teor servindo para estimar a exatidão.

As amostras foram sujeitas a testes que avaliaram a robustez, cuja corresponde a medida da sua capacidade em resistir a pequenas e deliberadas variações dos parâmetros analíticos atestando assim a confiabilidade na rotina de uso (GASPERIN, 2015). Deste modo foram realizados dois testes, o teste 1 que analisou os resultados utilizando as diferentes marcas e solventes, neste caso, a acetonitrila (LiChrosolv® - lote JA067436) e acetonitrila (J.T.Beker® - lote T23C55), e o teste 2, onde a mesma solução foi refrigerada a 5°C e reavaliada após 7 dias. O objetivo desses testes foi determinar que não houve diferença no resultado do método, sendo esses procedimentos realizados em sextuplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seletividade pode ser observada no cromatograma apresentado na Figura 2, proporcionando a elucidação do pico referente à substância analisada, com tempo de retenção de 1,996 minutos. Portanto, foi possível determinar que o método desenvolvido não apresenta interferência dos constituintes da formulação, caracterizando-se específico para a furosemida nas condições testadas.

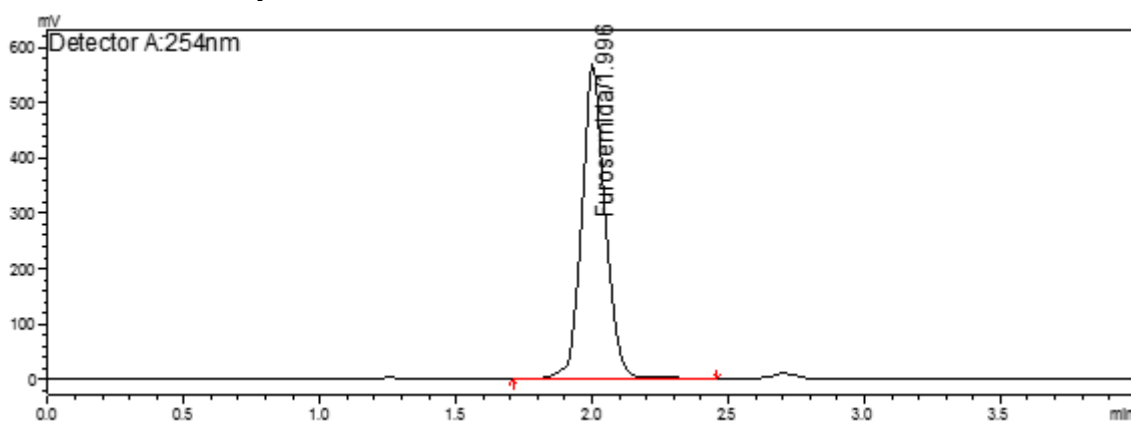


FIGURA 2 - Perfil cromatográfico da furosemida na concentração de 40 µg/mL, utilizando fase estacionária C₁₈, fase móvel acetonitrila:água (20:80 v/v), vazão 1mL/min, 27°C e comprimento de onda de 254 nm.

A certeza que o método em questão é linear foi obtida ao tratar matematicamente os resultados, fornecendo, a partir de então, a equação da reta: $Y = 1,0263 X - 0,7451$. Nesta equação, o Y representa a área do pico no cromatograma obtido e X a concentração de furosemida (Gráfico 1), obtendo-se o coeficiente de correlação igual a 0,9996. O critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação (r) circunda o valor de 0,99, atestando a adequabilidade do resultado encontrado (Tabela I).

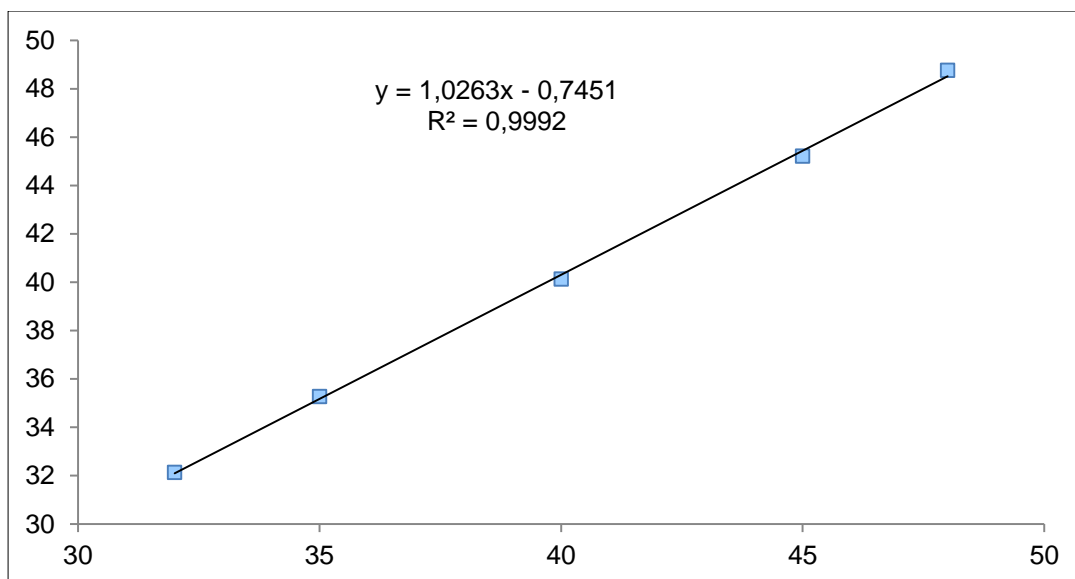


Gráfico 1 – Curva de linearidade para Furosemida a 254 nm, utilizando como fase móvel acetonitrila:água (20:80 v/v), fluxo de 1 mL/min e 27 °C de temperatura.

TABELA I - Linearidade

Nível (%)	Média (n=3)	Desvio padrão	Coefficiente de variação	Exatidão (%)
32	32,140	0,207	0,644	0,438
35	35,277	0,403	1,141	0,790
40	40,136	0,597	1,488	0,340
45	45,223	0,277	0,614	0,495
48	48,759	0,488	1,002	1,581

A precisão do método foi determinada pela precisão intermediária. O coeficiente de variação (CV%) obtido foi, para o analista 1 de 2,16% e 1,08%, e para o analista 2, 1,14% e 1,61% (Tabela II), sendo estes valores enquadrados no que preconiza as agências internacionais, pela não admissão de valores acima de 5%.

TABELA II - Precisão intermediária determinada com dois analistas distintos (A e B), em dias distintos (1 e 2).

Dias	Analistas	Média (n=3)	Desvio padrão	Coefficiente de variação	Exatidão (%)
1	A	40,492	0,88	2,16	101,23
	B	40,152	0,46	1,14	100,38
2	A	40,493	0,44	1,08	101,23
	B	40,111	0,24	0,61	100,28

De acordo com a execução do teste da exatidão, foi revelado que não houve diferença entre os valores obtidos e os esperados, comprovando que o método é exato. O percentual recuperado pode ser visualizado na Tabela III.

TABELA III - Valores obtidos na exatidão do método a partir de diferentes concentrações de furosemida (32%, 40% e 48%), em triplicata.

Nível (%)	Média (n=3)	Desvio padrão	Coefficiente de variação	Exatidão (%)
48	48,549	0,500	1,031	101,14
40	41,164	0,477	1,158	102,91
32	32,266	0,572	1,772	100,83

Fatores que devem ser considerados na determinação da robustez circundou a preparação das amostras quanto a estabilidade das soluções sob refrigeração, operada a 5°C durante 7 dias e uso de diferentes fornecedores de solventes na produção de fase móvel e preparo de soluções (Tabela IV).

TABELA IV - Valores obtidos na determinação da robustez a partir da execução dos dois testes, sendo: Teste 1, análise de resultados utilizando diferentes marcas e solventes, neste caso, a acetonitrila (LiChrosolv® - lote JA067436) e acetonitrila (J.T.Baker® - lote T23C55); Teste 2, refrigeração da solução a 5°C e reavaliação da mesma após 7 dias.

	Média (n=3)	Desvio padrão	Coefficiente de variação	Exatidão (%)
Padrão	40,492	0,88	2,16	101,23
Teste 1	39,896	0,25	0,62	99,74
Teste 2	40,369	0,38	0,94	100,92

Para o doseamento foi utilizada uma variação de 5% para mais ou para menos, sendo assim os valores aceitos para esse parâmetro no seguinte estudo foram de 95% a 105%, seguindo essas informações as amostras apresentaram um doseamento adequado de acordo com os parâmetros adotados para esse teste (Tabela V).

TABELA V - Doseamento

Amostras (40 mg)	Média (n=3)	Desvio padrão	Coefficiente de variação	Exatidão (%)
Referência	40,893	0,090	0,220	102,23
Similar	41,120	0,173	0,421	102,80
Genérico	40,486	0,211	0,522	101,21

CONCLUSÃO

A análise dos resultados obtidos frente ao método desenvolvido e validado fornece atributos lacônicos capazes de assegurar a precisão, exatidão, especificidade, linearidade e robustez, uma vez que os mesmos determinam a adequabilidade de aplicação. Desta

maneira, o método em discussão está de acordo com as Boas Práticas de Laboratório sendo um método alternativo ao doseamento analítico descrito nos compêndios oficiais, que condiz com as buscas atuais de agilidade e eficiência num processo produtivo mais eficiente (LAVRA, 2008).

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, visto que se trata de uma ação conjunta, envolvendo todos os setores da indústria (controle da qualidade, garantia da qualidade e produção) (SOUZA, 2012).

Portanto, foi comprovado que o método está apto a ser utilizado como método alternativo de análise, visto que a Farmacopeia Brasileira não preconiza a utilização de um método cromatográfico, e pode ser incluído ainda, em estudos de equivalência farmacêutica devido a sua facilidade, velocidade e sensibilidade. Sendo assim, os resultados deste trabalho evidenciam não só a aplicação benéfica do método em questão, mas também que os produtos em estudo são seguros, eficazes e de boa qualidade (Ibid).

ABSTRACT: Furosemide is a widely used loop diuretic because of its rapid diuretic action, especially in acute hypertensive conditions. As an alternative to furosemide dosing, the chromatographic method was used for development and validation purposes. The developed method dosed Furosemide in Lasix®, Neosemid® and Furosemide tablets. A C₁₈ reverse phase column (Phenomenex® - 150 mm long and 0,46 mm in diameter and 250 mm long and 4,6 mm in diameter) at 25 ° C was used as the stationary phase. The mobile phase consisted of acetonitrile (LiChrosolv®-lot JA067436) deionized water (Asfer®-lot 180049) (80:20 v/v), flow rate of 1 mL / min and wavelength of 254 nm. The applied method showed linearity against the concentrations of 32 µg/mL - 48 µg/mL, with correlation coefficient equal to 0,9996 from the equation of the line: $Y = 1,0263 X - 0,7451$. The accuracy of the method acquired a coefficient of variation of 2,16%. The accuracy, robustness and specificity of the obtained results were adequate for the use of the analytical assay of furosemide under the tested conditions, showing that the products under study are safe, effective and of good quality.

Key words: Furosemide; Dosing; High performance liquid chromatography; Validation.

REFERÊNCIAS

BRASIL, Resolução RE. nº 899, de 29 de maio de 2003. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília, DF, 2003.**

Brasil, 2017b. Resolução RDC nº 166/2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Poder Executivo, Brasília, DF, Diário Oficial da União, 24 de julho de 2017.

CORREIA, B. et al. Validação de um método espectrofotométrico UV para determinação de furosemida em medicamentos genéricos e comercial. In: Guia do IV Simpósio de Farmácia-Guide for the 1st International Symposium of Pharmacy. Instituto Politécnico da Guarda, 2012. p. 23-32.

CHUST, Rafael Berbert. Introdução à Cromatografia de Líquidos (HPLC). **Boletim SPQ**, v. 39, p. 43-53, 1990.

DA COSTA, Luana F.; ALCANFOR, Sílvia Keli B.; DE OLIVEIRA, Aline L. Desenvolvimento e Validação de Método de Quantificação de Furosemida por RMN de 1H. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 5, 2016.

DIAS, Iara Lúcia Tescarollo; OLIVEIRA NETO, Graciliano de; MARTINS, Jorge Luiz Seferin. Metodologias analíticas para a determinação da furosemida. **Lecta**, v. 22, p. 9-26, 2004.

DUARTE, Livia Teixeira. Desenvolvimento E Validação De Metodologia Espectrofotométrica Para Doseamento De Furosemida Matéria-Prima. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 4, n. 2, 2007.

GASPERIN, Franciele Tams. Otimização e validação de método analítico por CLAE para quantificação de dinitrato de isossorbida matéria-prima, comprimidos simples e sublingual. 2015

GOTARDO, Mara Andréia. Desenvolvimento de métodos para análise de medicamentos utilizando reflectância difusa e espectrofotometria. 2006.

LAVRA, Zênia Maria Maciel et al. Desenvolvimento e validação de método analítico para nistatina creme vaginal por cromatografia líquida de alta eficiência. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 4, p. 637-643, 2008.

MALDANER, Liane et al. O estado da arte da cromatografia líquida de ultra eficiência. **Química nova**, 2009.

MARTINDALE, W. H. The extra pharmacopoeia, 30. ed. London: Pharmaceutical Press, 1991. p. 815-818.

SANOFI-AVENTIS. Lasix and Lasix Oral Solution Product Monograph-Control No: 168106. Quebec, Canada, 2014;

SEMAAN, F. S.; DOS SANTOS NETO, A. J.; LANÇAS, F. M.; CAVALHEIRO, E. T. G. Rapid HPLC-DAD determination of furosemide in tablets using a short home-made column. *Anal. Lett.*, v. 38, n. 10, p. 1651-1658, 2005.

SOUZA, Aline Mirelly Ferreira et al. Validação de limpeza de equipamentos multipropósitos da linha de manipulação de comprimidos por granulação úmida: caso da furosemida. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 2, p. 299-306, 2012.