

# Avaliação preliminar da estabilidade de emulsões não iônicas contendo ácido kójico a 2,0 % manipuladas em farmácias magistrais

*Preliminar evaluation of stability of non-ionic emulsion containing kojic acid 2.0% from compounding pharmacies*

**Cristiana Roman VIEGAS<sup>1</sup>, Andreas S. L. MENDEZ<sup>\*2</sup>**

1- Centro Universitário Metodista IPA, Campus Central, Rua Coronel Joaquim Pedro Salgado, 80 - Rio Branco, Porto Alegre - RS, 90420-060, Brasil 2- Laboratório de Desenvolvimento e Controle de Qualidade de Medicamentos, Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA). BR 472 - Km 592 - Caixa Postal 118 - Uruguaiana - RS - CEP: 97500-970  
E-mail: andreaslmenendez@yahoo.com.br

## ABSTRACT

Emulsions containing kojic acid are common to be used in skin whitening treatments. In this work, it was evaluated the preliminary stability of non-ionic lotions containing 2.0 % kojic acid produced in compounding pharmacies. The products were acquired from four compounding pharmacies in Porto Alegre city. The samples, in polyethylene flasks, were submitted to storage at 25 and 45°C and analyzed at periods of zero, 7, 15, 30 and 60 days. The samples were evaluated in order to determine the organoleptic characteristics, pH, centrifugation test and weight of storage flasks. The organoleptic profile was modified after 7 days of storage for samples at 45 °C. For pH, samples at 45 °C presented a reduction in the values, with an increase in acidity at the time. In this case, the sample centrifugation did not influence in this parameter, neither led to phase separation. For weight determination, the results demonstrated a modification in the samples stored at 45 °C, which illustrate the importance to have attention for storage material. The proposed assays emphasize the importance of stability studies of cosmetic products containing kojic acid, mainly considering the formulation and the product storage conditions.

**Keywords:** Kojic Acid. Emulsions. Pharmaceutical Compounding. Stability Study

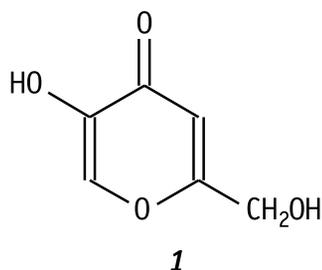
## RESUMO

Formulações emulsionadas contendo ácido kójico são comuns entre os produtos cosméticos para clareamento cutâneo. Neste trabalho, avaliou-se a estabilidade preliminar de loções não iônicas contendo ácido kójico a 2,0 %, manipuladas em farmácias magistrais. As formulações foram adquiridas em 04 estabelecimentos farmacêuticos do município de Porto Alegre-RS. As amostras, em frascos de polietileno, foram submetidas à estocagem a 25 e 45°C e analisadas nos tempos zero, 7, 15, 30 e 60 dias. As amostras foram avaliadas através das seguintes determinações: características organolépticas, pH, teste de centrifugação e determinação de peso da embalagem. Os caracteres organolépticos se apresentaram com modificações a partir de 7 dias de estocagem, em amostras a 45 °C. Quanto ao pH, as amostras a 45 °C apresentaram redução do valor inicial, com acréscimo de acidez ao longo do tempo. Neste caso, a centrifugação das amostras não provocou modificação no parâmetro avaliado, nem levou à separação de fases. Para a determinação de peso, os resultados ilustraram uma leve modificação no peso das amostras estocadas a 45 °C, ilustrando a necessidade de atenção para o material de acondicionamento. Os ensaios desenvolvidos reforçam a importância de atenção na estabilidade de produtos cosméticos contendo ácido kójico, em especial no conhecimento da base galênica e no armazenamento do produto.

**Palavras Chave:** Ácido Kójico. Emulsões. Manipulação Magistral. Estabilidade.

## INTRODUÇÃO

O ácido kójico (**1**) é um metabólito oriundo da fermentação de carboidratos como a glicose, produzido por algumas espécies de fungos como *Aspergillus*, *Acetobacter* e *Penicillium*, por processo aeróbio. É amplamente utilizado como aditivo antioxidante em alimentos, agente despigmentante cutâneo em produtos cosméticos, além de possuir propriedades medicinais analgésicas (1-3).



A substância atua como um inibidor não competitivo da síntese de tirosinase pelos melanossomos (4). É um despigmentante potente, quelante do íon cobre nos sítios ativos da enzima suprimindo a tautomerização do dopacromo 5-6-dihidroxiindol-2-ácido carboxílico. Atua também na inibição da conversão da *o*-quinonas, norepinefrina e dopamina para a forma correspondente de melanina, assim como pode ser um bloqueador dos processos oxidativos importantes na formação da melanina (5,6).

Apesar de ser uma substância ativa reconhecidamente eficaz, o emprego de ácido kójico como componente em preparações cosméticas é afetado pelo fato de apresentar instabilidade química em sistemas aquosos (7,8). A instabilidade frente à exposição a luz e calor, além da baixa solubilidade em alguns tipos de formulações, exige adequações fundamentais para a garantia de sua segurança e eficácia (2). O aumento da estabilidade dessa formulação é obtido pelo uso de emulsões não iônicas, evitando-se assim interações químicas entre os componentes da base com o ácido kójico através da adição de um quelante ou antioxidante à formulação e pela manutenção de seu pH entre 3,0-5,0, uma vez que o ativo se oxida facilmente em formulações com pH acima de 5,0. Cabe ressaltar que formulações com pH acima de 6,0 apresentam degradação considerável do ativo (4-6).

Considerada a instabilidade característica do ácido kójico, é importante a execução de estudos de estabilidade, que podem ser de curto ou longo prazo, através de acompanhamentos em condições específicas e controladas, avaliando-se a manutenção das características do produto do início ao final de sua vida útil. Os procedimentos padronizados utilizados de-

vem exigir o mínimo de investimentos, chegando-se a um produto confiável, que oferece rentabilidade ao fabricante (9-11). A maioria dos ativos é instável quando expostos a alguns fatores interferentes como a luz, calor e umidade. Por isso, as formas farmacêuticas devem ser avaliadas quanto as suas propriedades isoladas, a fim de se eliminar possíveis reações de instabilidade (12).

Com base nos conceitos cinéticos, a avaliação da estabilidade de curto prazo emprega testes de estresse de temperatura e centrifugação, simulando as condições que podem levar a instabilidade do sistema e inativação de ativos (10). Esses testes aceleram o grau de decomposição química de um componente crítico, utilizando-o como rastreador da estabilidade. Contudo, devem ser consideradas as características intrínsecas do produto, além do que esses testes não têm a finalidade de estimar a vida útil, mas auxiliar na triagem das formulações (11,13,14).

Face ao exposto e considerando o aumento de demanda por este tipo de produto nas farmácias, este trabalho tem como objetivo a avaliação da estabilidade preliminar de emulsões não iônicas contendo ácido kójico, manipuladas em farmácias magistrais. A partir de ensaios não complexos, o trabalho busca, na dimensão de controle de qualidade possivelmente existente nessas empresas, demonstrar a aplicabilidade dos mesmos, a fim de possibilitar a visualização da introdução destes parâmetros na rotina.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Amostras

Foram utilizadas amostras de loção não iônica (Base Polawax®) contendo ácido kójico a 2,0 %. As amostras foram adquiridas de forma aleatória em quatro (04) farmácias de manipulação do município de Porto Alegre-RS, sendo identificadas como 1, 2, 3 e 4. Na obtenção do produto, a formulação foi apresentada como descrito na Tabela 1. Para fins de comparação, uma amostra da base, também adquirida comercialmente, foi utilizada como branco.

A identidade das farmácias foi preservada, adotando-se a discriminação numérica das mesmas durante todo o processo de manipulação, onde a correlação dos dados ficou somente de conhecimento e posse dos pesquisadores.

### Ensaio de estabilidade

**Preparo das amostras:** As formulações de estudo foram adquiridas em recipientes de polietileno, usualmente empregados para acondicionamento deste tipo de produto. Foram então armazenadas em estufa de ar seco

Nova Ética® modelo HX400/7D (São Paulo, Brasil), à temperatura de 25°C e 45°C. As mesmas foram avaliadas nos tempos zero, 7, 15, 30 e 60 dias, tomando-se o cuidado de aguardar 30 minutos antes da realização das análises, para que para que as amostras atingissem a temperatura ambiente.

**Tabela 1.** Composição quali-quantitativa de emulsão não iônica contendo ácido kójico a 2,0 %.

Componentes	% (m/v)
Ácido kójico	2,00
Cera Polawax®	9,00
Vaselina líquida	5,00
Nipasol®	0,05
Propilenoglicol	5,00
Nipagim®	0,15
Butilidroxitolueno (BHT)	0,05
Água destilada q.s.p	100,00

**Avaliação das características organolépticas:** As amostras contendo ácido kójico foram analisadas quanto às propriedades organolépticas através da disposição de pequena quantidade em placa de Petri, com auxílio de espátula de plástico para distribuição do material ao longo da superfície. Efetuou-se avaliação visual e de odor, registrando-se qualquer alteração da coloração, formação de grumos, separação de fases e presença de bolhas. A avaliação foi realizada em todas as amostras antes do início das análises de cada tempo de exposição, a fim de se verificar instabilidade do sistema decorrente ao estresse.

**Determinação do pH:** A medida do pH foi realizada através do método potenciométrico, utilizando pHmetro digital PG1800 Gehaka® (São Paulo, Brasil). Uma solução aquosa a 10% foi preparada em proveta graduada e foi realizada a medida do pH em triplicata para cada amostra. A determinação do pH foi realizada antes e após teste de centrifugação. Os dados apresentados representam a média destas medidas.

**Teste de centrifugação:** Para o teste de centrifugação foi utilizada a centrífuga marca Cientec® modelo CT 4000 (Piracicaba, Brasil). A rotação empregada foi de 3.000 rpm (25,0 +/- 0,5°C), por 30 minutos (10). O teste foi efetuado utilizando tubos de ensaio de vidro, com volume nominal de 10 mL, comprimento de 9,8 cm, diâmetro externo de 1,5 cm e diâmetro interno de 1,2 cm. Após a centrifugação, as amostras foram observadas visualmente quanto a modificações passíveis de ocorrer nos sistemas emulsionados, como separação de fases, formação de grumos e cremação.

**Avaliação do peso:** Segundo a Anvisa (10), devem ser efetuados testes de compatibilidade entre o material de acondicionamento desejado e a formulação, a fim de determinar a relação existente entre eles. Com isso, o produtor visualiza quais cuidados devem ser tomados desde o desenvolvimento da formulação até a determinação do aspecto sensorial do produto.

Para fins de avaliação de compatibilidade com o material de acondicionamento, as embalagens foram pesadas analiticamente no início dos ensaios. Após os respectivos períodos de armazenamento, as amostras foram retiradas e as embalagens higienizadas por lavagem manual e secagem em estufa a 50 °C. Concluída a higienização, comparou-se o peso inicial e final de cada embalagem.

**Estatística:** Todos os experimentos foram avaliados estatisticamente por meio do programa GraphPad Prism 5.01. Os resultados foram analisados utilizando ANOVA. As diferenças foram consideradas em nível de significância  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O desenvolvimento de um produto cosmético implica na análise de vários aspectos, dentre eles a concentração dos ativos e o histórico das matérias-primas, o modo de uso, os dados toxicológicos dos componentes da formulação, o controle da viscosidade e a proporção da fase oleosa (15). Estes fatores influenciam diretamente nas características finais do produto, sejam para fins cosméticos e/ou dermatológicos (13). Neste sentido, a determinação da estabilidade dos produtos é de fundamental importância para o reconhecimento das melhores condições de produção e estocagem. O estudo da estabilidade contribui para orientar o desenvolvimento da formulação e a escolha do material de acondicionamento adequado, estimar o prazo de validade e auxiliar no monitoramento da estabilidade organoléptica, físico-química e microbiológica, a fim de garantir confiabilidade e segurança (10).

No presente trabalho, as formulações comerciais estudadas apresentaram-se aparentemente homogêneas, com coloração variando de amarelo claro até marrom escuro, odor característico e mudança do aspecto brilhoso para opaco durante o período de armazenamento. Conforme observado na Tabela 2, as amostras 2 e 3, expostas à temperatura de 25 °C, mostraram-se estáveis quanto às características organolépticas, durante todo o período de armazenamento, enquanto as amostras 1 e 4 apresentaram alterações a partir do 7º dia. A exposição à temperatura de estresse provocou alteração gradativa em todas as amostras, inclusive no branco (Tabela 3).

**Tabela 2.** Avaliação organoléptica de emulsão contendo ácido kójico a 2,0%, após exposição à 25°C, sem centrifugação.

Amostra	Tempo de exposição (dias)				
	0	7	15	30	60
1	N	LM	LM	LM	LM
2	N	N	N	N	N
3	N	N	N	N	N
4	N	LM	LM	LM	LM
Branco	N	N	LM	LM	LM

N: normal; LM: levemente modificado (amarelamento e formação de bolhas); M: modificado (amarelamento, formação de bolhas e de grupos cerosos).

Salienta-se que as amostras estocadas a 45 °C somente foram avaliadas até o tempo 30 dias, pois em tempo maior as mesmas se apresentaram com aspecto seco, o que impediu uma avaliação segura. O fato enfatiza a importância da escolha do material de acondicionamento, considerando conservação antimicrobiana e estabilidade físico-química. Segundo Rodrigues e Ferraz (2007), houve uma revolução quanto ao conceito destes materiais, os quais até uma década atrás eram geralmente considerados como a última prioridade para muitas empresas, entretanto hoje se inserem na tríade segurança, conveniência e conformidade aplicada à escolha da embalagem (16).

**Tabela 3.** Avaliação organoléptica de emulsão contendo ácido kójico a 2,0%, após exposição à 45 °C, sem centrifugação.

Amostra	Tempo de exposição (dias)			
	0	7	15	30
1	N	M	M	M
2	N	LM	LM	M
3	N	LM	LM	M
4	N	LM	LM	M
Branco	N	N	LM	M

N: normal; LM: levemente modificado (amarelamento e formação de bolhas); M: modificado (amarelamento, formação de bolhas e de grupos cerosos).

Cabe ressaltar a coloração amarelada apresentada pela amostra 1 desde a sua aquisição, mantendo-se durante todos os períodos de decomposição. É importante destacar que o ácido kójico é uma matéria-prima que pode apresentar cor variando de branco a amarelo claro. Deve-se considerar também que todas as amostras estudadas apresentam BHT como agente antioxidan-

te em sua formulação. No caso da amostra 1, o amarelamento poderia ser oriundo de concentração errônea deste excipiente, bem como de manipulação errônea e falha de sistema conservante. Outro ponto a se discutir é o estoque das bases galênicas, permitido pela legislação vigente (17). Neste contexto, o armazenamento das mesmas pode ser inadequado, levando a sua alteração. A literatura relata também que devido à atividade quelante do ácido kójico, a presença de cátions na formulação favorece a formação de quelados coloridos, e assim a coloração amarelada poderia indicar a presença de ferro (6). Pode-se sugerir então o uso de um quelante na formulação, evitando a formação dos referidos complexos.

A conservação em recipientes de polietileno, bem como os resultados que ilustram não haver eficiência na proteção das amostras perante o estresse empregado, direcionam as perspectivas para a necessidade de avaliação, durante rotina das farmácias, quanto ao material de acondicionamento a ser empregado. Assim, o armazenamento adequado deste produto em dias de temperatura elevada poderia prevenir modificações características, como oxidação, fotólise e até degradação térmica.

**Tabela 4.** Avaliação do pH de emulsão contendo ácido kójico a 2,0 %, após exposição à 25 °C, sem centrifugação.

Amostra	Tempo de exposição (dias)				
	0	7	15	30	60
1	5,29	5,24	5,09	4,71	4,51
2	4,94	5,04	4,89	4,82	4,67
3	5,02	5,14	5,07	5,10	5,13
4	4,47	4,65	4,49	4,85	4,41
Branco	6,50	6,72	6,87	6,81	6,77

Quanto à análise físico-química por determinação de pH, os resultados demonstram haver diferença significativa ( $p < 0,05$ ) nos valores entre as formulações testadas, com maior acidez para a amostra 4 (Tabelas 4 e 5). Os dados descritivos das tabelas estão também ilustrados na Figura 1, a qual permite visualização gráfica de eventuais variações. Cabe destacar que os valores mensurados para este parâmetro referem-se à condição de tratamento das amostras sem centrifugação. Quando submetidas à centrifugação, não se observou diferença nos valores, indicando que o estresse empregado não influenciou o parâmetro em análise. Numa análise mais detalhada, os resultados são ilustrativos de redução do valor de pH das amostras com o acréscimo do tempo de armazenamento nas condições do estudo, em especial quando da exposição a 45 °C, levando a crer que possa ocorrer uma modificação da matriz da formulação e pos-

sivelmente do ativo incorporado. Sugere-se, neste caso, a ampliação do número de amostras para que se obtenha uma verificação mais segura do comportamento do pH da formulação.

**Tabela 5.** Avaliação do pH de emulsão contendo ácido kójico a 2,0 %, após exposição à 45°C, sem centrifugação.

Amostra	Tempo de exposição (dias)			
	0	7	15	30
1	5,29	4,09	4,01	3,61
2	4,94	4,57	4,37	3,90
3	5,02	4,69	4,29	3,99
4	4,47	4,41	4,22	3,70
Branco	6,50	6,60	6,74	6,70

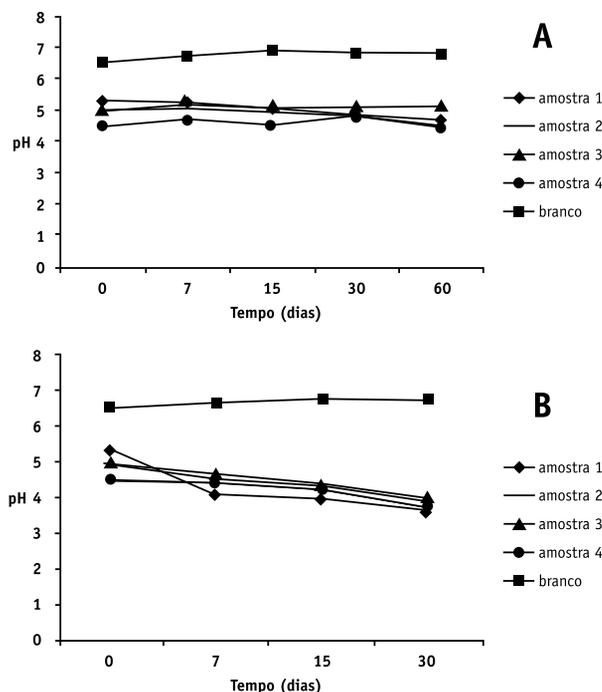
Porém, a observação de diferentes valores de pH entre as amostras distintas indica que a mesma formulação, dispensada por diferentes farmácias magistrais, pode apresentar alterações nas especificações técnicas e talvez terapêuticas do tratamento do paciente, incluindo a característica sensorial da formulação, tão importante para a aceitabilidade do paciente. Não se deve esquecer que a fidelidade, aceitação e confiabilidade do paciente em relação à farmácia magistral dependem da garantia da estabilidade das características organolépticas do produto desde o momento da aquisição.

A avaliação do peso das embalagens de acondicionamento a 25 °C não evidenciou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) de comportamento. Porém as embalagens expostas a 45 °C se mostraram significativamente diferentes em relação a este parâmetro.

As variações observadas entre as temperaturas de armazenamento e a evidenciação de alteração significativa das características organolépticas ressaltam a necessidade de avaliação da possível interferência do material de acondicionamento utilizado na dispensação dos produtos magistrais.

Não menos importante, as variações de qualidade de uma formulação podem ser consequência dos excipientes utilizados, já que a adequabilidade de uma formulação depende da seleção criteriosa destes componentes. Em paralelo, devem ser analisados os parâmetros de administração, liberação, biodisponibilidade do fármaco ou de proteção contra a degradação (16). Os excipientes podem afetar a estabilidade, agindo como catalisadores de superfície, alterando o pH, reagindo diretamente com o os ativos utilizados, alterando sua cristalinidade, e formando complexos de solubilidade em água com comportamento modificado (10).

**Figura 1:** variação de valor de pH em formulações contendo ácido kójico



## CONCLUSÃO

As amostras contendo ácido kójico a 2,0 % se mantiveram estáveis quanto às características organolépticas durante os 60 dias de armazenamento à temperatura de 25°C. Porém, em temperatura de estresse (45°C), as alterações se mostraram críticas. Em específico, deve-se considerar a necessidade de avaliação da eficácia do ativo, considerando que as variações observadas quanto à coloração das mesmas pode ser indicativo de perda ou desvio de atividade. No conjunto, os ensaios se mostraram práticos para execução em rotina de farmácia magistral, indicando a necessidade de maior atenção para a manipulação das formulações, principalmente no que tange o conhecimento dos componentes utilizados, suas possíveis interações físico-químico e como reflexo, o comportamento de estabilidade mesmo quando considerado um curto período de validade.

## REFERÊNCIAS

1. Cheng S, Liu R, Sheu J, Chen S, Sinchaikul S, Tsay G. Toxicogenomics of kojic acid on gene expression profiling of A375 human malignant melanoma cells. *Biol Pharm Bull.* 2006. 29: 655-669.
2. Hsieh H, Giridhar R, Wu W. Regioselective formation of kojic acid-7-o-alpha-d-glucoopyranoside by whole cells of mutated *Xanthomonas campestris*. *Enz Microbial Tech.* 2007. 40: 324-8.
3. Synytsya A, Blafkova P, Copíková J, Speváček J, Uher M. Conjugation of kojic acid with chitosan. *Carboh Polym.* 2008. 72: 21-31.
4. Kim D, Hwang J, Baek H, Kim K, Lee B, Chang I, Kang H, Lee O. Development of 5-[(3-Aminopropyl)phosphinoxy]-2-(hydroxymethyl)-4Hpyran-4-one as a novel whitening agent. *Chem Pharm Bull.* 2003. 51: 113-6.
5. Gonchoroski D, Côrrea GM. Tratamento de hiperpigmentação pós-inflamatória com diferentes formulações clareadoras. *Infarma.* 2005. 17: 84-8.
6. Ribeiro C. Cosmetologia aplicada a dermocosmética. São Paulo: Pharmabooks. 2006.
7. Zuidhoff HW, Rijsbergen JM. Whitening efficacy of frequently used whitening ingredients. *Cosm & Toil.* 2001. 116: 53-9.
8. Kim M, Meng X, Kim A, Wang M, Simon J. Developing a long-lasting tyrosinase inhibitor from *Morus alba* L. *Cosm & Toil.* 2006. 121: 91-102.
9. D'León L. Estudos de estabilidade de produtos cosméticos. *Cosm & Toil Brasil.* 2001. 13: 54-64.
10. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos. 2004.
11. Spellmeier F, Heberlé G. Bases emulsionadas: comparativo de estabilidade acelerada. *Cosm & Toil Brasil.* 2007. 19: 66-70.
12. Petereit H, Weisbrod W. Formulation and process considerations affecting the stability of solid dosage forms formulated with methacrylate copolymers. *Eur J Pharm Biopharm.* 1999. 47: 15-25.
13. Baby A, Maciel C, Zague V, Kaneko T, Consiglieri V, Velasco M. Estabilidade de produtos de aplicação tópica. *Int J Pharm Compounding.* 2004. 6: 130-9.
14. Baby A, Filho C, Velasco M. Formas farmacêuticas emulsionadas: sinais de instabilidade e ensaios de estabilidade acelerada. *Anfarmag.* 2006. 61: 6-10.
15. Santos I, Baby A, Velasco M, Nakano A. Análise sensorial: ferramenta para avaliar eficácia e benefícios. *Cosm & Toil Brasil.* 2005. 17: 52-5.
16. Rodrigues L, Ferraz H. Embalagem farmacêutica tipo blister: escolha de um filme adequado para fármacos sensíveis à umidade. *Revista Analytica.* 2007. 28: 80-6.
17. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 67, de 08 de outubro de 2007. Dispõe sobre Boas Práticas de Manipulação de Preparações Magistrais e Oficiais para Uso Humano em farmácias. 2007.