

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**DESONIDA: DESENVOLVIMENTO E ESTUDO DE
ESTABILIDADE DE FORMULAÇÕES DE USO TÓPICO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Priscila Rosa

**Santa Maria, RS, Brasil
2013**

DESONIDA: DESENVOLVIMENTO E ESTUDO DE ESTABILIDADE DE FORMULAÇÕES DE USO TÓPICO

Priscila Rosa

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração em Controle e Avaliação de Insumos e Produtos Farmacêuticos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM,RS), como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

**Orientadora: Prof^a. Dr^a. Andréa Inês Horn Adams
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Cristiane de Bona da Silva**

**Santa Maria, RS, Brasil
2013**

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas**

A comissão examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**DESONIDA: DESENVOLVIMENTO E ESTUDO DE ESTABILIDADE DE
FORMULAÇÕES DE USO TÓPICO**

elaborada por
Priscila Rosa

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciências Farmacêuticas

COMISSÃO EXAMINADORA:

Andréa Inês Horn Adams, Prof^a. Dr^a.
(Presidente/Orientador)

Cristiane de Bona da Silva, Prof^a. Dr^a. (UFSM)
(Co-orientador)

Cássia Virginia Garcia, Prof^a. Dr^a. (UFRGS)

Scheila Rezende Schaffazick, Prof^a. Dr^a. (UFSM)

Santa Maria, 09 de outubro de 2013.

Dedico este trabalho à minha família

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, *Alcir* e *Lidia*, por todo amor, carinho, incentivo, apoio e atenção durante este período e sempre. À minha irmã *Larissa*, pelo carinho, amor, incentivo, apoio, e cuidados, em todos os momentos. Aos meus irmãos *Ricardo*, *Paula* e *Roberta* pelo carinho, alegria, incentivo e momentos de descontração.

À prof^a. Dr^a. *Andréa I. H. Adams* pela disponibilidade na orientação deste trabalho, pelo conhecimento e aprendizado na vida acadêmica e fora dela, confiança, amizade e apoio.

À prof^a. Dr^a *Cristiane de Bona da Silva* pela disponibilidade na co-orientação do trabalho, suas contribuições e atenção prestada.

Às colegas do LabCQ, *Marjana*, *Ana Isa*, *Lais* e *Mariana*, pela ótima convivência e apoio. À *Tássia Lehmen* e *Juliana*, que apesar do pouco tempo no laboratório foram fundamentais para o término dos experimentos. Às minhas ICs *Ana Paula Salla* e *Tássia Dalcin* pelo auxílio, incentivo e apoio mesmo nas horas de desânimo e cansaço. À *Karla* pelo “nobre” apoio, companheirismo, amizade e momentos de descontração.

À *Ana Christ*, minha companheira de mestrado, pela amizade, conversas, risadas, desabafos, consultorias, reclamações, apoio, por me agüentar mesmo nos momentos de mau humor. À *Muri* pelo apoio, amizade, conversas, risadas e troca de experiências com a desonida.

Às colegas da Farmacotécnica *Andréia*, *Julia W*, *Julia Barros*, *Mariana Motta*, *Roseane*, *Julia Lima* e *Fernanda* pelas conversas, ensinamentos, auxílio, apoio e cuias de mate.

Às amigas de sempre *Carla* e *Tati*, pela amizade, paciência, carinho, cuidados, incentivo e apoio. Às amigas *Paula*, *Fernanda*, *Laura*, *Sil* e *Fabi*, longe ou perto, pelo apoio e amizade.

À todos que, de alguma forma, contribuíram para a elaboração deste trabalho.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas
Universidade Federal de Santa Maria

DESONIDA: DESENVOLVIMENTO E ESTUDO DE ESTABILIDADE DE FORMULAÇÕES DE USO TÓPICO

AUTORA: PRISCILA ROSA
ORIENTADORA: ANDRÉA INÊS HORN ADAMS
CO-ORIENTADORA: CRISTIANE DE BONA DA SILVA

Local e data da defesa: Santa Maria, 09 de outubro de 2013.

A desonida é um corticosteroide de uso tópico, utilizada no tratamento de doenças dermatológicas de origem alérgica ou inflamatória. No Brasil, encontra-se disponível sob as formas de creme (0,05%), loção cremosa (0,05%), loção capilar (0,1%), pomada (0,05%) e gel creme (0,05%). Estudos de estabilidade recentes demonstraram a fotoinstabilidade da desonida nas formulações de loção capilar, loção cremosa e gel creme comercializadas após exposição direta à radiação UVA. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi desenvolver solução capilar e gel creme de desonida, buscando obter produtos com maior fotoestabilidade do que os produtos comercializados. Prepararam-se soluções capilares com composição semelhante à disponível no comércio nacional, porém contendo excipientes como antioxidantes e o filtro ultravioleta benzofenona-3 (BZ-3). Os antioxidantes usados não evitaram a fotodegradação da desonida quando as formulações foram expostas à radiação UVA durante 15 horas (teores residuais entre 43,2% e 61,8%). O uso da BZ-3 na concentração de 0,3% preveniu a fotólise da desonida, visto que após 15 horas de exposição direta à radiação UVA, o teor residual de desonida foi 98,61%. A fotoestabilidade da solução capilar com BZ-3 também foi avaliada frente à radiação UVC, e seus resultados comparados à formulação sem o adjuvante. Observou-se que na formulação com BZ-3 a desonida degradou mais lentamente (t_{90} 1,41h) do que na formulação sem BZ-3 (t_{90} 0,64 h). O gel creme desenvolvido também contém a BZ-3 em sua composição, porém na concentração de 0,1%. Essa formulação foi caracterizada quanto às suas propriedades reológicas, espalhabilidade, pH, perfil de liberação in vitro e teor, apresentando características físico-químicas satisfatórias e adequadas à aplicação tópica. O estudo de fotoestabilidade, realizado através da exposição direta da formulação à radiação UVA demonstrou a estabilidade da desonida na formulação, sendo obtido teor residual em torno de 95% após 48 horas de avaliação. O estudo de estabilidade realizado a 20°C e a 40°C demonstrou que a formulação de solução capilar manteve-se estável em ambas as condições durante 70 dias. Nas mesmas condições gel creme demonstrou ser estável em temperatura de 20°C durante 60 dias.

Palavras-chave: Desonida. Corticoide. Fotoestabilidade. Benzofenona-3. Gel creme. Solução capilar. Estabilidade

ABSTRACT

Master's Degree Dissertation
Postgraduate Program in Pharmaceutical Sciences
Federal University of Santa Maria

DESONIDE: DEVELOPMENT AND STABILITY STUDY OF TOPICAL FORMULATIONS

AUTHOR: PRISCILA ROSA
ADVISER: ANDRÉA INÊS HORN ADAMS
CO-ADVISER: CRISTIANE DE BONA DA SILVA

Presentation date: Santa Maria, October 9th, 2013.

Desonide is a corticoid used topically in the treatment of dermatological diseases of inflammatory or allergic origin. In Brazil, is available as cream (0.05%), creamy lotion (0.05%), gel cream (0.05%), ointment (0.05%) and hair lotion (0.1%). Recent studies demonstrated the photoinstability of some marketed formulations of desonide (hair lotion, creamy lotion and gel cream), upon direct exposure to UVA radiation. Thus, the aim of this work was to develop desonide hair solution and desonide gel cream, seeking to obtain products with higher photostability than the marketed products. Capillary solutions with similar composition to the one commercially available were prepared and they were added of excipients such as antioxidants and ultraviolet filter benzophenone-3 (BZ-3). The antioxidants used were not able to avoid desonide fotodegradation upon UVA light exposure (15h), being the residual content of desonide between 43.2 and 61.8%. The antioxidants used were not able to avoid the desonide fotodegradation when the formulations were exposed to UVA for 15 hours (residual levels between 43.2% and 61.8%). BZ-3 at 0.3% prevented desonide photolysis, since after 15 hours of exposure to direct UVA radiation, the residual content of desonide was 98.61%. The photostability of the hair solution with BZ-3 was also evaluated against UVC radiation, and their results compared to the formulation without this adjuvant. It was observed that desonide in hair solution with BZ-3 degraded slowly (t_{90} 1.41 h) than the formulation without BZ-3 (t_{90} 0.64 h). The BZ-3 was also used as adjuvant in the gel cream developed, but at the concentration of 0.1%. This formulation was characterized with respect to its rheological properties, spreadability, pH, in vitro release profile and content, presenting satisfactory physicochemical characteristics and being suitable for topical application. The photostability study conducted by direct exposure to UVA radiation demonstrated the stability of the desonide gel cream, which was indicated by the residual content around 95% after 48 hours of evaluation. The stability study performed at 20°C and 40°C showed that the capillary solution formulation was stable under both conditions for 70 days. Under the same conditions, the gel cream proved to be stable at a temperature of 20°C for 60 days.

Keywords: Desonide. Corticoid. Photostability. Benzophenone-3. Gel-cream. Hair solution. Stability

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Estrutura química do ciclo básico dos corticoides.....	22
Figura 2- Principais produtos de degradação obtidos no estudo de fotoquímica da desonida.....	26
Figura 3- Estrutura química da benzofenona-3.....	31

CAPÍTULO 1

Figure 1- Desonide chemical structure.....	53
Figure 2- Residual content of desonide in hair solution after UVA exposure (15 hours): commercial formulation (CF), F1 (simulated commercial formulation), F2 (BHT formulation), F3 (BHA formulation), F4 (ascorbic acid formulation), F5 (α -tocopherol formulation) and F7 (BP-3, 0.3% formulation).....	53
Figure 3- Chromatogram of F7 obtained by the method proposed. (1) acetone; (2) methylparaben; (3) propylparaben; (DES) desonide; (BP-3) benzophenone-3.....	54
Figure 4- UV spectrum of BP-3 (A) and desonide (B) in hair solution F7.....	54
Figure 5- BP-3 peak area on photostability study of F7 (UVA, 352 nm).....	55

CAPÍTULO 2

Figure 1- Rheogram (A) and graphical representation of D-GC viscosity (mPa s) as function of shear rate (s^{-1}) (B).....	75
Figure 2- Release profile of desonide from D-GC and C-GC (n=6) according to Higuchi's mode.....	75

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Table 1- Quali quantitative composition of the hair solution formulation.....	56
Table 2- Desonide content (%) in hair solution F6 after exposure to UVA radiation (15 hours).....	56
Table 3- Results of desonide assay in hair solution F7, on photostability study (n = 3/time, UVA, 352 nm).....	57
Table 4- Results of desonide content on accelerated and room temperature conditions.....	57

CAPÍTULO 2

Table 1- Quali-quantitative composition of the developed gel-cream (D-GC).....	76
Table 2- Desonide remaining content (%) on photostability study (UVA, 352 nm).....	76
Table 3- Physicochemical characteristics of D-GC during stability study under accelerated and room temperature conditions (mean \pm SD).....	77

LISTA DE ABREVIATURAS

BP-3	Benzophenone-3
BZ-3	Benzofenona-3
CLAE	Cromatografia a Líquido de Alta Eficiência
CAS	<i>Chemical Abstracts</i>
C-GC	Commercial gel-cream
COLIPA	<i>The European Cosmetics Association</i>
CT	Corticoide tópico
DEF	Dicionário de Especialidades Farmacêuticas
D-GC	Developed gel-cream
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
GC-C	Gel creme comercial
GC-D	Gel creme desenvolvido
ICH	<i>International Conference on Harmonization</i>
IL	Interleucina
UV	Ultravioleta
UR	Umidade relativa

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 OBJETIVOS.....	16
2.1 Objetivo geral.....	16
2.2 Objetivos específicos.....	16
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	19
3.1 Desonida.....	19
3.1.1 Descrição.....	19
3.1.2 Aspectos gerais.....	19
3.1.3 Mecanismo de ação.....	20
3.1.4 Farmacocinética.....	21
3.1.5 Reações adversas.....	22
3.2 Fotoestabilidade.....	23
3.3 Antioxidantes.....	27
3.4 Filtros UV.....	29
3.4.1 Benzofenona-3.....	30
3.5 Estudos de estabilidade.....	32
3.6 Via tópica e administração de medicamentos.....	34
4 CAPÍTULO 1: PUBLICAÇÃO CIENTÍFICA.....	38
1 Introduction.....	39
2 Material and Methods.....	41
2.1 Material.....	41
2.2 Preparation of formulations F1-F7.....	42
2.3 Assay of formulations F1-F6.....	42
2.4 Preliminary photostability evaluation.....	42
2.5 Validation of the analytical method.....	45
2.5.1 Preparation of desonide reference substance and sample solutions.....	43
2.5.2 Validation parameters.....	43

2.6 Stability studies.....	44
2.6.1 Photostability study.....	44
2.6.2 Accelerated stability study.....	45
2.6.3 Room temperature stability.....	45
2.6.4 Statistical analysis.....	45
3 Results and Discussion.....	45
3.1 Assay of formulations and preliminary photostability study.....	45
3.2 Validation of the analytical procedure.....	46
3.3 Stability studies.....	47
3.3.1 Photostability study.....	47
3.3.2 Accelerated stability study.....	49
3.3.3 Stability at room temperature.....	49
4 Conclusion.....	49
5 References.....	50
5 CAPÍTULO 2: PUBLICAÇÃO CIENTÍFICA.....	59
1 Introduction.....	60
2 Material and Methods.....	61
2.1 Material.....	61
2.2 Preparation of gel-cream.....	62
2.3 Analytical method.....	62
2.3.1 Chromatographic system	62
2.3.2 Method validation.....	62
2.3.3 Preparation of reference substance and sample solutions.....	63
2.4 Physicochemical characterization of D-GC.....	63
2.5 In vitro release study.....	65
2.6 Stability study.....	65
2.6.1 Photostability study.....	65
2.6.2 Accelerated and room temperature conditions.....	66

3 Results and Discussion	66
3.1 Physicochemical characterization of D-GC and C-GC.....	66
3.2 In vitro release study.....	67
3.3 Stability study.....	69
3.3.1 Photostability study.....	69
3.3.2 Accelerated and room temperature conditions.....	69
4 Conclusion	71
5 References	71
6 DISCUSSÃO	79
7 CONCLUSÕES	88
8 REFERÊNCIAS	91

1. INTRODUÇÃO

Os corticoides são fármacos muito utilizados no tratamento de patologias da pele, tanto nas de origem inflamatória, (como dermatites e eczemas), proliferativas (psoríase), como nas de causa imunológica, sendo também eficazes no tratamento de sintomas cutâneos, como prurido e sensação de queimadura (GRAU, 2006). Funcionam através de diversos mecanismos e afetam tanto a epiderme como a derme, devendo a eficácia clínica às suas propriedades vasoconstritoras, efeito antiproliferativo, anti-inflamatório e imunomodulador (HUGES; RUSTIN, 1997, GRAU, 2006).

A eficácia clínica destes fármacos depende da potência do corticosteroide, da concentração na preparação, do coeficiente de permeabilidade, do veículo e excipientes e de processos metabólicos locais (NICHOLS, 2004). A desonida é um corticosteroide não fluorado que vem sendo utilizado no tratamento de dermatoses sensíveis aos corticosteroides desde a década de 1970. Em estudo divulgado no ano de 2009, foi citado como o corticosteroide de baixa potência mais prescrito por dermatologistas dos EUA para o tratamento de dermatite atópica (GELBARD; HEBERT, 2009). Não há consenso quanto à classificação da desonida em relação à sua potência: é citada como corticoide de potência média nas formulações creme e pomada (ROSS et al., 2004) ou de potência baixa, em cremes (WYATT; SUTTER; DRAKE, 2004, NICHOLS, 2004 GELBARD; HEBERT, 2009). Com exceção de doenças tópicas graves, muitas vezes os glicocorticóides de baixa potência são preferidos, visto que os efeitos adversos cutâneos parecem ser menos graves do que os provocados pelos agentes de alta potência, mesmo quando esses últimos são utilizados em concentrações adequadamente mais baixas. Além disso, pode haver absorção para a circulação sistêmica, especialmente quando a área de aplicação é extensa e ocluída e quando o período de administração é longo (NICHOLS, 2004).

Os corticosteroides são fármacos reconhecidamente suscetíveis à degradação por hidrólise e fotólise (ALBINI; FASANI, 1998). Iqbal, Husain e Gupta (2006) avaliaram a fotoestabilidade da desonida solubilizada em solventes orgânicos após exposição às radiações UVB e UVC, constatando a instabilidade do fármaco nestas condições.

Recentemente, Dalla Santa e colaboradores (2013) avaliaram a fotoestabilidade da desonida em loção capilar produzida industrialmente frente à radiação UVA (352 nm). Os autores verificaram a fotodegradação do fármaco, sendo observado teor residual de 39% após 15 horas de exposição direta à radiação, com t_{90} equivalente a 1,7 horas. Resultados semelhantes foram encontrados na avaliação da fotoestabilidade das formulações loção cremosa e gel creme contendo desonida. Foi verificado o decaimento de aproximadamente 50% no teor de fármaco após 15 e 24 horas de exposição direta à radiação UVA (352 nm), na loção cremosa e gel creme, respectivamente (BRAGA, 2013). Os resultados obtidos nestes estudos indicam a fotoinstabilidade da desonida nestas formulações, quando expostas à radiação UVA.

A radiação ultravioleta pode ser dividida em três regiões: UVA (320-400 nm), UVB (290-320 nm) e UVC (200-290 nm). A radiação UVC, considerada a mais energética, é absorvida pela camada de ozônio, e não atinge a superfície terrestre. Da radiação ultravioleta que incide na superfície da Terra, 95% corresponde a região UVA e 5% à região UVB (POLEFKA et al., 2011). É importante ressaltar que apesar de verificada a fotodegradação da desonida em formulações industriais, nas bulas dos medicamentos não constam informações quanto à fotoproteção ou recomendação para uso noturno (DESONOL[®] loção capilar, DESONOL[®] loção cremosa, ADINOS[®]). A degradação química e física de um fármaco pode alterar seu efeito farmacológico e resultar em ineficácia terapêutica e em alguns casos, toxicidade. Assim, identificar os fatores que alteram a estabilidade dos medicamentos e estabelecer formas de garantir a sua estabilidade são fundamentais para manter a qualidade de um medicamento (YOSHIOKA; STELLA, 2002).

Dessa forma, considerando o amplo uso da desonida no tratamento das afecções cutâneas e as informações sobre a fotoinstabilidade das formulações disponíveis no mercado nacional, este trabalho teve por objetivo desenvolver novas formulações de desonida, como solução capilar e gel creme, visando a obtenção de formulações mais estáveis, de modo a contribuir para a eficácia e segurança das intervenções terapêuticas. O trabalho está estruturado na forma de capítulos, sendo no Capítulo 1 apresentado o desenvolvimento e avaliação de solução capilar e no Capítulo 2, o desenvolvimento, caracterização e avaliação do gel creme de desonida.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Este trabalho teve por objetivo desenvolver formulações de uso tópico do tipo solução capilar e gel creme contendo desonida com fotoestabilidade superior à evidenciada nos produtos comerciais.

2.2 Objetivos específicos

- Preparar soluções capilares de desonida contendo antioxidantes de diferentes classes e avaliar o efeito dos mesmos sobre a fotoestabilidade das formulações frente à radiação UVA;
- Verificar o efeito da benzofenona-3 (BZ-3) sobre a fotoestabilidade das soluções capilares de desonida quando expostas à radiação UVA e UVC;
- Realizar estudo de estabilidade da formulação desenvolvida mais fotoestável em temperatura ambiente e a 40°C.
- Preparar formulação semissólida de desonida com BZ-3, para uso tópico, e avaliar a sua estabilidade sob exposição à radiação UVA;
- Caracterizar a formulação semissólida desenvolvida quanto ao teor de fármaco, pH, espalhabilidade e propriedades reológicas;
- Verificar o perfil de liberação *in vitro* do fármaco a partir da formulação desenvolvida e da formulação comercial, utilizando células de difusão do tipo Franz.

- Avaliar a estabilidade das formulações com melhor perfil de fotoestabilidade sob condições ambientais e aceleradas.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Desonida

3.1.1 Descrição

A desonida, designada quimicamente por (11 β , 16 α)-11,21-diidroxi-16,17-[(1-metiletilideno)bis(oxi)]pregna-1,4-dieno-3,20-diona, é um corticosteroide não halogenado, de baixa potência utilizada para o alívio do prurido e inflamação, em dermatoses de gravidade baixa à moderada e responsivas aos corticosteroides, bem como na terapia de dermatoses crônicas (BHANKHARIA; SANJANA, 2004; GELBARD; HEBERT, 2009). Está registrada sob o número 638-94-8 no Chemical Abstracts (CAS) e sua Denominação Comum Brasileira (DCB) é desonida.

Algumas características físico-químicas da desonida são apresentadas abaixo (THE MERCK, 2006; SCIFINDER WEB):

- Fórmula química: C₂₄H₃₂O₆
- Massa molécula: 416,51
- Ponto de fusão: 263-266 °C para substância purificada a partir de acetato de etila e 274-275 °C a partir de metanol
- logP: 2,565 \pm 0.628 a 25°C
- pKa: 12,87

3.1.2 Aspectos gerais

A partir da síntese da hidrocortisona, em 1951, os esteroides tópicos foram reconhecidos como agentes eficazes no tratamento de doenças de pele. Ainda na década de 50, foram sintetizados outros glicocorticoides, os quais, após o

desenvolvimento de veículos adequados, tornaram-se a base da terapia de diversas doenças inflamatórias de pele (WYATT; SUTTER; DRAKE, 2004).

Os corticosteroides tópicos são usados para o tratamento de eczemas, tais como dermatites atópicas e seborreicas, devido às suas ações anti-inflamatórias, antipruriginosas e vasoconstritoras. A dermatite atópica é uma doença inflamatória crônica que afeta em torno de 17% das crianças e 1 a 3% dos adultos, podendo atingir extensa área corporal (CATHCART; THEOS, 2011).

Apesar do uso tópico dos corticoides ser limitado por fatores como dose, duração e localização do tratamento, idade do paciente e efeitos locais (ROSS et al, 2004), o tratamento com corticoides tópicos é considerado efetivo, de fácil administração e pode ser seguro, quando usado corretamente (WIEDERSBERG; LEOPOLD; GUY, 2007). Esses fármacos são classificados em várias categorias de acordo com a potência. Devido à menor propensão em causar efeitos adversos, os esteróides de baixa potência, como a desonida, podem ser usados em áreas sensíveis como o rosto, dobras intertriginosas, genitais e região perianal (BHANKHARIA; SANJANA, 2004).

No Brasil, a desonida está disponível sob as formas de loção cremosa (0,05%), creme (0,05%), pomada (0,05%), gel creme (0,05%) e loção capilar (0,1%) (DEF, 2012/13). Em outros países, estão disponíveis espuma (0,05%) e hidrogel (0,05%) de desonida (FDA, 2013).

3.1.3 Mecanismo de ação

Para que os corticoides tópicos (CT) exerçam seu efeito, estes devem sofrer o processo de absorção percutânea. A absorção percutânea envolve os seguintes passos: (1) liberação do fármaco da formulação; (2) penetração na camada mais externa da pele, o estrato córneo, seguida da difusão/permeação por esta camada; (3) partição entre o estrato córneo, epiderme viável e derme; (4) na epiderme ou derme viável, sofrer difusão e ligar-se ao receptor (WIEDERSBERG; LEOPOLD; GUY, 2007).

Os CT possuem como células alvo os fibroblastos e queratinócitos, entre a epiderme e derme, onde estão localizados seus receptores. Os efeitos anti-inflamatório

e imunossupressor parecem ser mediados pelos genes responsivos aos corticosteroides. Assim, o glicocorticóide se liga a seu receptor, que, dentro do núcleo, liga-se a regiões específicas que regulam o processo inflamatório. Além deste efeito direto, os CT também inibem a liberação de algumas interleucinas (IL-1; IL-2; IL-6), interferon e fator de necrose tumoral e a proliferação de células T. Nos fibroblastos, a IL-1 é responsável pela proliferação e indução da colagenase, e a IL-6 pela síntese, o que controla a espessura da pele. A inibição da IL-1 nos queratinócitos tem efeito anti-inflamatório, enquanto que a mesma inibição, nos fibroblastos, tem efeito atrófico e antiproliferativo. O efeito vasoconstritor dos corticoides tópicos favorece a atividade anti-inflamatória, diminuindo o eritema da área afetada; no entanto, este mecanismo de ação ainda não está completamente elucidado (GRAU, 2006; WIEDERSBERG; LEOPOLD; GUY, 2007).

3.1.4 Farmacocinética

A absorção percutânea dos fármacos é um processo complexo dependente de diversos fatores. Esse processo, nos corticoides, é determinado por fatores como o veículo da forma farmacêutica, características do esteroide, como potência e metabolismo local (WYATT; SUTTER; DRAKE, 2004; WIEDERSBERG; LEOPOLD; GUY, 2007; PARISER, 2009). A presença do grupamento hidroxila livre no carbono 11 é essencial para que haja atividade tópica. Redução da atividade mineralocorticóide e aumento da atividade glicocorticóide podem ser adquiridas através da introdução de ligação dupla em C1 e substituição em C16 (Figura 1). A lipofilicidade e duração do efeito dos corticoides podem ser aumentadas através da adição de halogênio na posição seis ou nove. Além disso, a lipofilicidade e resistência ao metabolismo podem ser aumentadas através da acetilação ou esterificação no anel D (WIEDERSBERG; LEOPOLD; GUY, 2007).

Uma vez absorvidos através da pele, os corticosteroides tópicos apresentam farmacocinética semelhante a dos corticosteroides administrados sistemicamente. Ligam-se às proteínas plasmáticas em diferentes graus, são metabolizados no fígado e

excretados pelos rins, sendo que alguns corticoides e seus metabólitos são excretados pela bile. Corticosteroides que contêm grupos 17-hidroxil substituídos, como a desonida, são resistentes ao metabolismo local na pele. Assim, aplicações repetidas resultam em efeito cumulativo na pele, o qual pode prolongar o efeito, aumentar as reações adversas e aumentar sua absorção sistêmica.

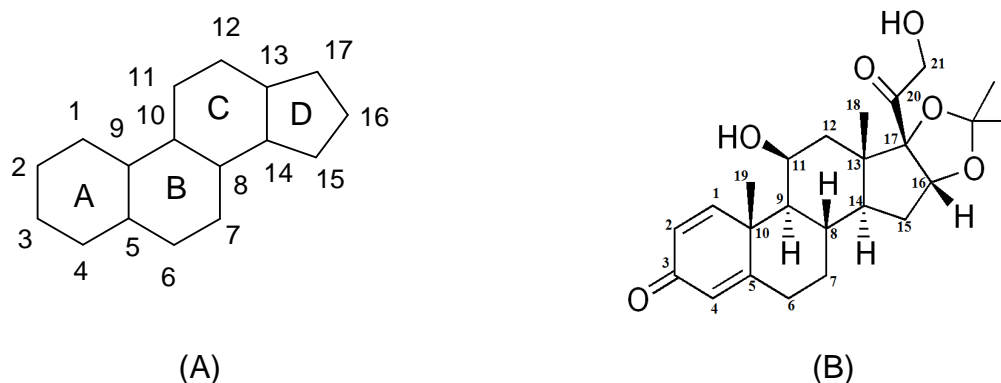


Figura 1- Estrutura química do ciclo básico dos corticoides (A) e estrutura química da desonida (B).

3.1.5 Reações adversas

Os glicocorticoides tópicos são conhecidos e amplamente utilizados devido aos seus efeitos anti-inflamatório e antiproliferativo. No entanto, os mesmos mecanismos de ação, responsáveis pelo efeito farmacológico, também são os causadores de efeitos adversos (HENGGE et al., 2006). Estes incluem reações locais que ocorrem na área de aplicação e efeitos adversos sistêmicos que podem ocorrer caso haja absorção sistêmica do corticoide (DEL ROSSO; FRIEDLANDER, 2005).

Os efeitos indesejados dos corticoides tópicos estão relacionados à potência e concentração do fármaco, quantidade aplicada, oclusão da área tratada e duração do tratamento (HENGGE et al. 2006). Os principais efeitos adversos cutâneos relatados são atrofia, estrias, telangiectasias, erupções acneiformes, hipopigmentação,

hipertricose e púrpura senil (DEL ROSSO; FRIEDLANDER, 2005; WIEDERSBERG; LEOPOLD; GUY, 2007).

Efeitos sistêmicos podem ocorrer quando os corticoides aplicados topicamente são absorvidos na circulação sanguínea. O desenvolvimento de efeitos sistêmicos ocorre principalmente devido ao uso de fármacos de alta potência, em extensa área corporal e durante período prolongado. Estes incluem a Síndrome de Cushing, hiperglicemia e glicosúria (ROSS et al., 2004; DEL ROSSO; FRIEDLANDER, 2005; HENGGE et al., 2006; GRAU, 2006; WIEDERSBERG; LEOPOLD; GUY, 2007).

Quanto à eficácia e segurança da desonida, um programa de farmacovigilância global com duração de nove anos coletou relatos de efeitos adversos ocorridos com uso de formulações tópicas a 0,05%. Neste estudo, apenas 62 pessoas relataram a ocorrência de efeitos adversos. Dos efeitos adversos relatados, 66% incluíam reações classificadas como comuns aos corticoides e de natureza leve, como irritação da pele, reação alérgica local e irritação ocular. Os demais efeitos incluíam a exacerbação do efeito ou sua ausência e reações inesperadas (WONG; FUCHS; LEBWOHL, 2004). Em outro estudo, no qual os autores avaliaram a adesão dos pacientes ao tratamento da dermatite atópica com diferentes formulações contendo desonida, apenas dois efeitos adversos possivelmente relacionados ao tratamento foram relatados. Estes incluíam hipopigmentação e prurido na área da aplicação do medicamento (YENTZER et al., 2010).

3.2 Fotoestabilidade

A fotodegradação tem sido relatada para um grande número de substâncias e normalmente segue mecanismos complexos. A perda da potência de um fármaco é a principal consequência da fotodecomposição. No entanto, degradações menos severas também podem originar produtos de degradação capazes de causar efeitos tóxicos (TØNESSEN, 2004).

As consequências práticas da fotoinstabilidade nem sempre serão as mesmas em todos os casos. Como exemplo, pode-se citar o nifedipino, fármaco fotossensível

que é decomposto pela luz em apenas alguns minutos de exposição, enquanto outros fármacos, também considerados fotossensíveis, requerem um tempo superior para sofrer alguma decomposição. Dessa forma, o conhecimento sobre a fotoestabilidade dos fármacos e produtos farmacêuticos tem importância na escolha da embalagem adequada, rotulagem, precauções que devem ser tomadas durante a manipulação do produto e no caso da existência de produtos de degradação, orientar sobre possíveis efeitos tóxicos (TØNESSEN, 2004).

O espectro de absorção de radiação de um fármaco pode indicar a faixa de comprimento de onda na qual o fármaco é suscetível à fotodegradação (MOORE, 2004). Para que a reação fotoquímica ocorra, a molécula deve ter máximo de absorção na região de comprimento de onda da fonte de radiação (NUDELMAN, 1975). Fármacos cujo máximo de absorção ocorre em comprimentos de onda superiores a 330 nm merecem atenção especial, visto que essa radiação tem a capacidade de penetrar na pele. Sendo assim, a reação entre a radiação luminosa e os fármacos pode gerar produtos tóxicos e, por conseqüência, promover fotossensibilização ou fototoxicidade (ALBINI; FASANI, 1998; ONOUE; TSUDA, 2006). Além disso, a administração de fármacos fotoreativos seguida de exposição à radiação pode ter por conseqüência o aparecimento de efeitos adversos. O amplo uso de medicamentos, a grande exposição à luz de fontes artificiais, como lâmpadas e à radiação solar, podem ser indicadas como causas do aumento do número de efeitos adversos induzidos pela radiação. Neste sentido, torna-se importante que os estudos de fotoestabilidade sejam conduzidos de forma a simular as condições de uso do medicamento, principalmente para medicamentos aplicados topicamente, fármacos ou metabólitos que se acumulem em tecidos facilmente expostos à luz, fármacos fotolábeis e que possuam grupos funcionais capazes de induzir efeitos fototóxicos e fármacos administrados em altas doses, que podem ter efeito cumulativo (TØNESSEN, 2004).

As reações induzidas pela radiação ultravioleta e visível iniciam pela excitação das moléculas do fármaco, do estado fundamental para o estado reativo excitado, através da absorção de fótons de determinados comprimentos de onda (ALBINI; FASANI, 2004; MOORE, 2004). Durante este estágio, que tem duração de nanosegundos, as moléculas excitadas podem interagir com outras moléculas

provocando modificações químicas. Moléculas excitadas, com maior tempo de duração podem mediar reações como a oxidação, que neste caso é induzida pela reação fotoquímica. Assim, a reação de oxidação pode ocorrer através da geração de radicais livres, conhecida como foto-oxidação do tipo I, ou através da formação de oxigênio singlete, caracterizada como foto-oxidação do tipo II (MOORE, 2004).

Em relação à fotoquímica dos corticoides, Ricci e colaboradores (2003) abordaram os principais mecanismos de fotodegradação de alguns destes fármacos. Os corticoides apresentam dois grupamentos cromóforos separados espacialmente, a cetona conjugada no anel A, e a cetona isolada no C₂₀. O estudo da fotoquímica da prednisolona (corticoide não fluorado) solubilizada em acetonitrila e em atmosfera de argônio indicou que após irradiação em 254 nm, 310 nm e 360 nm, a principal reação envolvida foi o rearranjo da cetona conjugada no anel A (RICCI et al., 2003). Iqbal, Husain e Gupta (2006) avaliaram a fotoquímica da desonida solubilizada em acetonitrila e propanol em atmosferas de argônio e oxigênio após exposição à radiação UVC (254 nm) e UVB (310 nm). Quando irradiada em 254 nm, os autores observaram a formação do mesmo produto de degradação, independentemente do solvente ou da atmosfera utilizada, o qual foi formado através do rearranjo da cetona conjugada no anel A. Já em 310 nm, a saturação e o solvente influenciaram os produtos de degradação obtidos. Nas mesmas condições estudadas por Ricci e colaboradores houve a formação de mistura de produtos complexos. Em solução de propanol e atmosferas de argônio e oxigênio, formaram-se hidroperóxido e um produto obtido através da quebra das ligações entre C₁₇ e C₂₀ (IQBAL; HUSAIN; GUPTA, 2006). A figura 2 apresenta os principais produtos de degradação obtidos no estudo da fotoquímica da desonida.

Como forma de evitar que ocorram reações de fotodegradação em preparações sensíveis à luz, podem ser adotadas algumas estratégias. Muitos medicamentos são protegidos da luz utilizando-se embalagens não transparentes e proteção à luz durante as etapas de manipulação e armazenamento. Entretanto, o fármaco continuará fotoreativo quando exposto à radiação. Assim, a fotoestabilização da formulação deve ser adotada, quando possível (TØNESSEN, 2004).

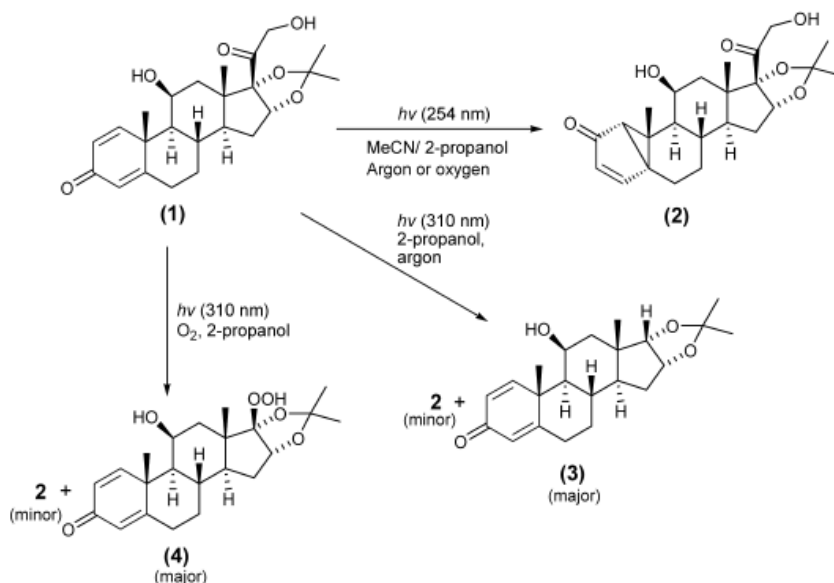


Figura 2- Principais produtos de degradação obtidos no estudo de fotoquímica da desonida (IQBAL; HUSAIN; GUPTA, 2006).

Sabe-se que em uma reação fotoquímica direta, apenas a radiação absorvida pelo fármaco pode causar a fotodegradação. Dessa forma, o bloqueio dos comprimentos de onda em que o fármaco absorve pode evitar a fotodecomposição. Esta estratégia, descrita por Thoma e Klimeck (1991), é conhecida como princípio da sobreposição espectral, sendo considerada uma importante ferramenta na fotoproteção. Estabilizantes com espectro de absorção semelhante ou que se sobreponham ao fármaco podem ser incorporados à formulação ou ao seu revestimento, como no caso de comprimidos e cápsulas, com o objetivo de melhorar a fotoestabilidade da formulação. Assim, a adição de substâncias capazes de absorver radiação UV, de antioxidantes e o uso de atmosfera inerte são algumas alternativas para a fotoestabilização de fármacos em formas farmacêuticas (TØNESSEN, 2004).

Nesse sentido, a adição de filtros UV a fim de estabilizar substâncias em diferentes preparações já foi reportada por alguns autores. Brisaert e Vercammen (2000) avaliaram a fotoestabilidade da tretinoína em loção e propuseram sua estabilização através do uso aditivos como filtros UVA e UVB, corantes e incorporação em β -ciclodextrina. Os autores verificaram que o filtro UVB e a incorporação em β -

ciclodextrina não foram eficazes em evitar a fotólise da tretinoína. O filtro UVA teve um pequeno efeito fotoestabilizador, enquanto que o uso do corante foi citado como a melhor alternativa encontrada pelos autores para prevenir a fotodegradação do fármaco. Gaspar e Maia Campos (2007) avaliaram a fotoestabilidade e a eficácia de formulações contendo vitaminas A, C, E e derivados adicionadas de filtro UV fotoestável e fotoinstável. Neste estudo, os autores verificaram que a combinação de filtros UV considerados fotoestáveis permitiu maior recuperação da vitamina A no estudo de fotoestabilidade (GASPAR, MAIA CAMPOS, 2007).

3.3 Antioxidantes

De forma geral, pode-se definir os antioxidantes como substâncias que previnem ou inibem as oxidações. Quando adicionados às formas farmacêuticas, protegem os componentes da formulação suscetíveis à degradação por oxidação (THOMPSON, 2006).

Os antioxidantes também podem ser encontrados de forma natural em nosso organismo e em alimentos, sendo responsáveis pela proteção do organismo contra a ação oxidativa dos radicais livres. Estes são moléculas instáveis formadas a partir da energia recebida por um átomo de oxigênio que perdeu um elétron de sua camada mais externa (CHORILLI; LEONARDI; SALGADO, 2007).

Os radicais livres podem causar danos às membranas das células, e dessa forma provocar efeitos negativos sobre a pele, como acelerar o envelhecimento devido à morte ou mau funcionamento celular. Estas moléculas atacam as células da epiderme, degradam os fibroblastos da derme, podem também lesar a cadeia de DNA, proteínas, carboidratos, lipídios e as membranas celulares situadas na parte mais profunda da epiderme (CHORILLI; LEONARDI; SALGADO, 2007).

A degradação por oxidação e redução de fármacos é responsável pela instabilidade de diversas preparações farmacêuticas. Essas reações são complexas e ocorrem por uma série de reações em cadeia, que incluem três etapas: iniciação, propagação e terminação (THOMPSON, 2006). Na etapa de iniciação, a instabilidade

de moléculas orgânicas e a presença de catalisadores, como calor, luz e íons metálicos, leva à formação do radical livre. Na propagação, o radical livre é atacado pelo oxigênio molecular, resultando na formação do radical livre peróxido. Este radical ataca outras moléculas provocando a oxidação em cadeia. Na etapa final, há combinação de peróxidos formando moléculas mais estáveis (CHORILLI; LEONARDI; SALGADO, 2007). Os antioxidantes podem interferir em qualquer uma dessas etapas (THOMPSON, 2006).

O antioxidante ideal deve apresentar as seguintes características (THOMPSON, 2006):

- Ser efetivo em baixa concentração e estável nas condições normais de uso;
- Solúvel na concentração requerida;
- Livre de odor e sabor desagradável;
- Incolor tanto na forma original como na forma oxidada;
- Atóxico e não-sensibilizante na concentração requerida;
- Ter custo razoável;
- Não reativo com o material de acondicionamento e embalagem.

Os antioxidantes atuam por meio de diferentes mecanismos, podendo ser divididos em três grupos. O primeiro grupo compreende os antioxidantes verdadeiros, que atuam inibindo a oxidação através da reação com os radicais livres e bloqueio da reação em cadeia. Os antioxidantes que agem por este mecanismo são os tocoferóis, butilhidroxitolueno (BHT), butilhidroxianisol (BHA) e ácido nordihidroguaiacorrético (NDGA). O segundo grupo compreende os agentes redutores, que tem potencial redox maior do que a molécula que vão proteger, sendo assim mais rapidamente oxidados. Os antioxidantes pertencentes a este grupo também podem atuar reagindo com os radicais livres. Exemplos deste grupo são o ácido ascórbico e os sais de sódio do ácido sulfúrico. O terceiro grupo inclui os antioxidantes sinergistas: os sequestrantes e agentes quelantes. Estes possuem pequeno efeito antioxidante quando adicionados individualmente, entretanto são capazes de melhorar a atividade dos antioxidantes verdadeiros, quando usados em associação, pois reagem com íons metálicos

catalisadores da reação de oxidação. A classe dos antioxidantes sinérgicos inclui o ácido cítrico, ácido tartárico, EDTA e a lecitina (BARRY, 1983).

Em relação à afinidade química, os antioxidantes podem ser classificados como lipofílicos ou hidrofílicos. Os antioxidantes lipofílicos tem maior afinidade pela fase oleosa. Compreendem os tocoferóis, ácido nordihidroguaiacoretico (NDGA), butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), galato de propila e ésteres do ácido ascórbico. Os antioxidantes com maior afinidade pela fase aquosa são classificados como hidrofílicos. São exemplos dessa categoria combinações orgânicas e inorgânicas contendo enxofre e o ácido ascórbico (CHORILLI; LEONARDI; SALGADO 2007). A eficácia dos antioxidantes pode depender da concentração usada, quer sejam usados individualmente ou em combinação com outros fatores como pH, integridade ou reatividade da embalagem. A eficácia pode aumentar através do uso de substâncias sinergistas, tais como os agentes quelantes (LACHMAN; DeLUCA; AKERS, 2001).

3.4 Filtros UV

Os filtros UV são as substâncias ativas utilizadas nos filtros solares, e geralmente atuam por dois mecanismos: absorvendo ou refletindo a luz. Podem ser divididos em duas classes: os filtros inorgânicos ou físicos e os filtros orgânicos ou químicos (SAMBANDAN; RATNER, 2011; KOCKLER et al., 2012).

Os filtros inorgânicos consistem em materiais particulados que atuam refletindo ou espalhando a luz (NOHYNEK; SCHAEFER, 2001). Como a reflexão e o espalhamento da luz são fenômenos físicos, estes tipos de filtro também são conhecidos como filtros físicos. Dependendo do tamanho das partículas, estes filtros também podem atuar absorvendo a radiação UV (SERPONE; DONDI; ALBINI, 2007).

Esta classe é representada principalmente pelo óxido de zinco e óxido de titânio, que consistem nos filtros inorgânicos mais utilizados. Sua tendência em deixar película branca sobre a pele diminui a aceitabilidade das formulações que os contêm. Entretanto, o recente desenvolvimento de partículas menores destes óxidos tem

diminuído este efeito (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007; SAMBANDAN; RATNER, 2011).

Os filtros orgânicos são compostos aromáticos que possuem grupamentos carboxílicos. Geralmente apresentam um grupo doador de elétrons, como uma amina ou metoxila na posição *orto* ou *para* do anel aromático. Atuam absorvendo a radiação ultravioleta altamente energética, transformando-a em radiação de menor energia, inofensiva ao ser humano (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007). Esta pode ser dissipada como calor ou luz ou ainda ser transferida para moléculas vizinhas (SERPONE; DONDI; ALBINI, 2007). Quanto ao espectro de absorção, podem ser subdivididos em filtros UVA, capazes de absorver radiação apenas nesta região do espectro UV, filtros UVB que absorvem apenas a radiação UVB e os filtros de amplo espectro que absorvem as radiações da faixa UVA e UVB (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007; KOCKLER et al., 2012).

Para que sejam considerados efetivos, os filtros UV devem ser fotoestáveis, não irritantes, não sensibilizadores e não fototóxicos (NOHYNEK; SCHAFFER, 2001; FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007).

3.4.1 Benzofenona-3 (BZ-3)

As substâncias derivadas das benzofenonas são cetonas aromáticas que vêm sendo utilizadas há mais de trinta anos não apenas como filtro UV em formulações de filtros solares, mas também em formulações cosméticas a fim de proteger a preparação da descoloração causada pela exposição à radiação solar (YESUDIAN; KING, 2002). Além disso, seu uso como fotoestabilizador de substâncias em diferentes preparações também vem sendo relatado (BIANCHI; MARCHETTI; SCALIA, 2011; GASPAR; MAIA CAMPOS, 2007).

A benzofenona-3 (Figura 4), também conhecida como oxibenzona e cujo nome químico é 2-hidróxi-4-metoxibenzona, é um filtro UV químico, derivado das benzofenonas utilizado em preparações tópicas (YESUDIAN; KING, 2002; FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007). Apresenta máximos de absorção na região UVA e UVB

(THE MERCK, 2006), sendo por isso classificado como de amplo espectro. Algumas de suas características são apresentadas abaixo:

- Número de CAS: 131-57-7
- Fórmula molecular: $C_{14}H_{12}O_3$;
- Massa molar: 228,26 g/mol;
- Ponto de fusão: entre 62 e 65°C.
- logP: 3,57

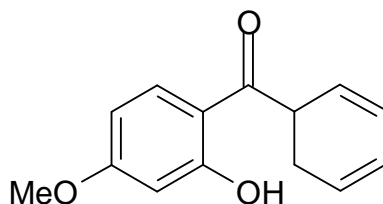


Figura 3- Estrutura química da benzofenona-3.

No Brasil, consta na lista de filtros ultravioleta permitidos para produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes. Na Europa, também consta na lista de filtros UV permitidos para uso em cosméticos (COLIPA, 2006). A legislação brasileira prevê a concentração de 10% como a máxima permitida para uso nestes produtos, sendo que preparações que contenham concentrações acima de 0,5% devem indicar a presença da benzofenona-3 na formulação (BRASIL, 2006). Nos Estados Unidos, é indicada como a substância ativa dos filtros solares, considerados medicamentos de venda livre (FDA, 2010).

Estudos têm demonstrado que a BZ-3 pode penetrar através da epiderme, sendo seus metabólitos excretados na urina. Alguns autores demonstraram que após um período de 10 horas, em torno de 1 a 2% da quantidade do filtro aplicada topicamente pode ser absorvida (HAYDEN; ROBERTS; BENSON, 1997); outros indicam absorção em torno de 0,5% da quantidade total aplicada, após um período de 48 horas (GONZALEZ; FARBROT; LARKO, 2002). Dessa forma, a extensão da superfície corporal e o número de aplicações das formulações contendo o filtro, estão diretamente

relacionados à quantidade absorvida e ao possível desenvolvimento de reações alérgicas (GONZALEZ et al., 2006; YESUDIAN; KING, 2002). Alguns estudos também têm indicado existência de atividade estrogênica e androgênica a partir da absorção das benzofenonas (MOROHOSHI et al., 2005), enquanto outros sugerem a ausência de efeitos endócrinos para a benzofenona-3. Schelecht e colaboradores (2004) avaliaram o possível efeito uterotrófico deste filtro em úteros de ratas adultas. Assim como Suzuki e colaboradores (2005), não verificaram atividade estrogênica da BZ-3. Janjua e colaboradores (2004) verificaram que a absorção de BZ-3 não influenciou os níveis de hormônios reprodutivos endócrinos em homens jovens e mulheres pós menopausa.

Quanto à estabilidade, a benzofenona-3 demonstrou não sofrer fotólise frente à radiação solar simulada e radiação emitida por lâmpada de vapor de mercúrio após 150 minutos de exposição (ALBINI; FASANI, 1998). Boa fotoestabilidade também foi relatada por Kockler e colaboradores (2012), que avaliaram a fotoestabilidade do filtro incorporado em emulsões O/A após exposição à radiação solar simulada durante 120 minutos (KOCKLER et al., 2012).

3.5 Estudos de estabilidade

Os fármacos têm diferentes estruturas químicas e são suscetíveis a diversas reações de degradação (YOSHIOKA; STELLA, 2002). As reações de degradação nos medicamentos ocorrem de forma definida e são de natureza química. Dependem de condições tais como concentração dos reagentes, temperatura, pH, radiação ou da presença de catalisadores (LACHMAN; DeLUCA; AKERS, 2001). Além dos fatores ambientais, a estabilidade dos produtos farmacêuticos também depende de fatores relacionados ao próprio produto, como propriedades físicas e químicas de substâncias ativas excipientes, forma farmacêutica e sua composição, processo de fabricação, tipo e propriedades dos materiais de embalagem (BRASIL, 2005).

O prazo de validade de um produto farmacêutico pode ser definido como o tempo que este mantém, dentro dos limites especificados, as mesmas condições que possuía no momento de sua fabricação (SILVA et al., 2009), ou o tempo compreendido

entre sua fabricação e aquele em que sua potência decai à 90% (CARSTENSEN; RHODES, 2007, SILVA et al., 2009). Realizados durante o desenvolvimento dos produtos farmacêuticos, os testes de estabilidade permitem avaliar, prever e prevenir problemas relacionados à qualidade do produto. A verificação da formação de produtos de degradação, que podem causar perda da atividade terapêutica ou toxicidade, constitui, também, uma forma de avaliação da eficácia e segurança do produto farmacêutico (SILVA et al., 2009).

De acordo com a ICH (2003), os testes de estabilidade permitem obter informações sobre como a qualidade de um fármaco ou forma farmacêutica varia com o tempo sob a influência de fatores como temperatura, luz e umidade e também estabelecer o período de reteste de fármacos, o prazo de validade e as condições adequadas de estocagem.

A fim de determinar o prazo de validade de fármacos e formas farmacêuticas, a ICH determina a realização dos seguintes estudos (ICH, 2003):

- *Estabilidade de longa duração*: as amostras devem ser mantidas nas condições de temperatura e umidade previstas na estocagem durante o período mínimo de 12 meses, para fins de registro, devendo ser continuado pelo tempo proposto como prazo de validade do produto. Tem por objetivo estabelecer o período de reteste ou o prazo de validade do produto ou fármaco. Os medicamentos devem estar contidos na embalagem prevista para a dispensação.

- *Estabilidade acelerada*: emprega-se temperatura superior à utilizada no estudo de longa duração, a fim de aumentar a velocidade de degradação química ou alterações físicas de fármacos e medicamentos. Este tipo de estudo objetiva prever o efeito de pequenos desvios nas condições ideais de armazenamento, como os que podem ocorrer durante o transporte. Assim como no estudo de longa duração, os medicamentos devem estar contidos na embalagem prevista para a dispensação.

- *Testes de degradação forçada*: são conduzidos sob condições drásticas. Permitem estabelecer a estabilidade intrínseca da molécula, identificar os possíveis produtos de degradação e elaborar os prováveis mecanismos da reação de degradação. Os testes de degradação forçada também são utilizados para a avaliação da especificidade na validação de métodos analíticos indicativos de estabilidade.

No Brasil, a RE nº 1 de 29 de julho de 2005 apresenta um guia para a realização dos estudos de estabilidade para produtos farmacêuticos; entretanto, não há regulamentação quanto aos estudos de fotoestabilidade (BRASIL, 2005). Recentemente, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária elaborou a RE nº 45 de 10 de agosto de 2012, a qual dispõe sobre a realização de estudos de estabilidade de insumos farmacêuticos ativos (BRASIL, 2012). Essa Resolução apresenta regulamentação quanto aos estudos de fotoestabilidade, os quais são considerados como parte integrante dos estudos de estabilidade.

Segundo a ICH, os estudos de fotoestabilidade com medicamentos devem ser conduzidos de forma seqüencial, sendo que a extensão do teste deve ser determinada com base na avaliação das mudanças ocorridas após a exposição. Iniciam com a exposição direta do produto, seguido da exposição do medicamento em suas embalagens primária e secundária. As amostras devem ser expostas de modo a promover a maior exposição à fonte de luz. Ao final da exposição devem ser analisadas modificações nas propriedades físicas da amostra, deve ser realizado o doseamento do fármaco por método validado e verificar-se a existência de produtos de degradação resultantes da reação fotoquímica (ICH, 1996).

3.6 Via tópica e administração de medicamentos

A aplicação de fármacos e substâncias medicinais na pele é um conceito bastante antigo. A pele é considerada o maior órgão do corpo e fatores como acessibilidade e oportunidade de manter íntegras, por tempo prolongado, as preparações aplicadas, tornaram crescente seu uso como via de administração, tanto para efeitos locais como sistêmicos. Anatomicamente a pele pode ser dividida em três estratos: a epiderme, camada mais externa, abrangendo células epiteliais escamosas estratificadas; a derme que dá suporte e interage com a epiderme, nela estão os vasos sanguíneos, linfáticos e nervos, além das glândulas sebáceas e folículos pilosos; a camada subcutânea, composta por gordura e que serve como amortecedor para a derme e epiderme (BLOCK, 2004).

Em geral, as preparações farmacêuticas aplicadas na pele tem função local. Dessa forma, são formuladas para proporcionar contato local prolongado e absorção mínima. Entre os fármacos aplicados na pele, para efeito local, estão antissépticos, antifúngicos, anti-inflamatórios, anestésicos locais, emolientes, entre outros (ANSEL; POPOVICH; ALLEN, 2000; BARRY, 2005). Os corticosteroides para uso tópico estão disponíveis em diversos veículos, incluindo cremes, pomadas, loções, géis e espumas (HUGHES; RUSTIN, 1997; ROSS et al., 2004 DEL ROSSO; FRIEDLANDER, 2005). O veículo utilizado pode influenciar o efeito clínico e potência do corticosteroide e a aceitabilidade pelo paciente (DEL ROSSO; FRIEDLANDER, 2005). Além disso, a escolha do veículo deve levar em consideração a área de aplicação e as condições da pele (ROSS et al., 2004). Em geral, pomadas contendo corticoide são consideradas mais potentes que os cremes contendo estes fármacos; entretanto outras características do veículo e excipientes específicos podem modificar a absorção e a potência do fármaco (DEL ROSSO; FRIEDLANDER, 2005).

Pomadas, cremes e pastas são preparações semissólidas nas quais o fármaco fica contido em base adequada de caráter hidrofílico ou hidrofóbico. Os cremes são emulsões semissólidas, em geral menos viscosos e mais suaves que as pomadas (ANSEL; POPOVICH; ALLEN, 2000; BARRY, 2005). Por formarem camada oclusiva sobre a pele, as pomadas aumentam a absorção percutânea dos corticoides aplicados, sendo indicadas para áreas menos hidratadas (DEL ROSSO; FRIEDLANDER, 2005). Em termos de aceitabilidade, as emulsões óleo em água são preferidas, por possuírem caráter não gorduroso e maior facilidade para espalhar-se sobre a pele (ANSEL; POPOVICH; ALLEN, 2000; BARRY, 2005). No tratamento da dermatite atópica e psoríase, os cremes são indicados para tratar lesões exsudativas e em placa, podendo ser aplicados em diversas regiões do corpo (HUGERS; RUSTIN, 1997). As loções são preparações líquidas aquosas ou hidroalcoólicas, com viscosidade variável, para aplicação na pele, incluindo o couro cabeludo. Podem ser soluções, emulsões ou suspensões contendo um ou mais princípios ativos (FB 5, 2010). Em algumas situações, as formulações líquidas podem ser preferidas às preparações semissólidas, por não serem gordurosas e serem mais facilmente espalhadas sobre grandes áreas (ANSEL; POPOVICH; ALLEN, 2000).

Os géis são constituídos por dispersões de partículas inorgânicas ou de grandes moléculas orgânicas, encerradas e interpenetradas por um líquido, sendo considerados dispersões coloidais (ANSEL; POPOVICH; ALLEN, 2000). Do ponto de vista cosmético, são consideradas preparações mais elegantes. No tratamento da dermatite atópica são veículos de fácil aplicação principalmente em regiões mais oleosas, como rosto e couro cabeludo (DEL ROSSO; FRIEDLANDER, 2005).

Géis-creme são preparações semissólidas relativamente recentes. São considerados emulsões com alta percentagem de fase aquosa e baixa percentagem de fase oleosa (MARQUARDT; SUCKER, 1998; LIRA et al., 2007; FERREIRA, 2008).

**4. CAPÍTULO 1. Benzophenone-3 prevents desonide
photodegradation in hair solution**

Benzophenone-3 improves desonide photostability in hair solution

Priscila Rosa¹, Ana Paula Snovarski Salla², Clarice Madalena Bueno Rolim², Cristiane de Bona da Silva², Andréa Inês Horn Adams².

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.

²Departamento de Farmácia Industrial, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima, 1000, 97105-900. Santa Maria - RS, Brasil.

Address all correspondence to Prof. Dr. Andréa I. H. Adams. Universidade Federal de Santa Maria – UFSM. Av Roraima, 1000. Santa Maria/RS - CEP 97105-900. Tel.: +55 55 3220 8661 Fax: +55 55 3220 8248 E-mail: andrea.i.h.adams@gmail.com

Abstract: Desonide is a topical corticoid used in the treatment of skin diseases that is marketed in different pharmaceutical dosage forms. Recently, the poor photostability of the hair solution that is commercially available after direct exposure to UVA light was verified. In this study, we investigated the ability of the antioxidants ascorbic acid, BHT, BHA, and alfa-tocopherol and the UV filter benzophenone-3 in preventing desonide photodegradation in hair solution (desonide 0.1%) and the stability under environmental conditions of the formulation proposed. The antioxidants tested were not able to prevent desonide photolysis, whereas the addition of 0.3% benzophenone-3 (BP-3) enhanced the drug photostability. After 15 hours of direct exposure to UVA radiation, the desonide remaining content in the hair solution with BP-3 was around 98%. Higher photostability was also verified under UVC radiation. As regards stability under accelerated and room temperature conditions, the results indicated the stability of the formulation in both conditions, during 70 days, corresponding to the total period of the study.

Keywords: desonide; hair solution; benzophenone-3; antioxidants; photostability; UVA radiation; stability

1. Introduction

Desonide (Figure 1) is a glucocorticoid with anti-inflammatory and antipruritic activity used in the treatment of dermatosis sensitive to corticosteroids. These drugs are widely used for the treatment of skin diseases of inflammatory, proliferative, or immunological origin¹.

The topical efficacy of these drugs depends on the potency of the steroid, the concentration in the preparation, permeability coefficient, the vehicle and excipients and metabolic local processes. There is no consensus about the potency of desonide: it is classified as a corticosteroid of middle² or low potency^{3,4}. In a study published in 2009, desonide was indicated as the topical corticoid most prescribed for the treatment of atopic dermatosis in United States⁵. In Brazil, it is marketed as ointment, cream, gel cream, cream lotion (0.5 mg/g), and hair lotion (1.0 mg/g), and has been produced by several national laboratories and compounding pharmacies⁶. In some countries it is available as foam⁵.

The photoreactive potential of glucocorticoids is well known. Photo-oxidation was reported for hydrocortisone, cortisone and its acetates, in solid state, mediated by the loss of side chain on C17. For prednisone, triamcinolone, prednisolone, and betamethasone, a photorearrangement from cyclohexadienones to bicyclohexenones has been reported. Considering their photoreactive activity, the protection from light is indicated to this class of drugs⁷, as recommended in compendial monographs. Regarding desonide photostability, Iqbal and co-workers reported the photoinstability of desonide solubilized in organic solvents, after exposure to UVB and UVC radiation. They verified the lumiketone rearrangement on cross-conjugated ketone after exposure to UVC radiation and the photocleavage of C17-C20 bond followed by hydrogen atom abstraction when the drug was exposed to UVB radiation⁸.

The three ranges of ultraviolet radiation have different effects and characteristics. The UVC radiation (200-280 nm) is called shortwave or far-UV and does not reach the Earth's surface because of absorption by the stratosphere. However, it can be found in artificial radiation sources, such germicide lamps and can cause skin damage and fast

photodegradation⁹. The UVB component is responsible for causing sunburn and skin cancer, among other biological effects^{9, 10}. UVA radiation is the least energetic band and is known as near-UV. However, 95% of the ultraviolet radiation that reaches the Earth comprises UVA radiation (320-400 nm) and only 5% UVB radiation (290-320 nm)¹⁰. Photosensitization by endogenous or exogenous substances and radiation absorption by DNA and proteins may be some of the chemical and biological effects caused by UVA radiation⁹.

Recently, Dalla Santa and co-workers verified the photoinstability of a marketed desonide hair solution after direct UVA radiation exposure (352 nm). It was found that after two hours of irradiation, the residual content of the drug was less than 90%¹¹. It is important to emphasize that the manufacturer of this pharmaceutical preparation recommends application twice a day and no information about photostability is given. Some practical consequences of the photoinstability are the loss of potency, resulting in a therapeutically inactive product, and the formation of degradation products, which can be toxic¹².

Photolabile drugs need light protection, from handling until the final product. Photoprotection can be acquired through external or internal protection. The external protection avoids radiation from reaching the formulation, by appropriate packaging, or by the use of a coating as in the case of capsules and tablets. The internal protection occurs through the addition of stabilizers. These substances should be able to absorb the radiation more quickly than the drug, or can act by suppressing the photoreaction^{7,12,13}.

Therefore, in this study we evaluated the effect of some known stabilizers aiming to prevent the photodegradation of desonide in hair solution. To perform this, several formulations were prepared and their photostability under UVA and UVC radiation was determined, in order to obtain a new formulation with higher stability. Furthermore, a stability test under room conditions was accomplished.

2. Material and Methods

2.1 Material

The desonide (99.67%, lot DS002/0510/EF) that was used to prepare the formulations was obtained from CosmeTrade (Porto Alegre, Brazil). The desonide reference substance (98.55%, lot 0622-3) was purchased from Proactive Molecular Research (USA). Methanol and acetonitrile (HPLC grade) were purchased from Merck (Darmstadt, Germany) and Tedia (Ohio, USA), respectively. Ultrapure water (>18 M Ω -cm) used to prepare the mobile phase was purified by Megapurity Water Purification System. Isopropyl alcohol, methylparaben, propylparaben, and benzophenone-3 were obtained from Delaware (Porto Alegre, Brazil). The acetone was purchased from Impex (Diadema, Brazil) and the propylene glycol from Belga Importação e Exportação de Produtos Químicos Ltda (Santa Maria, Brazil). Butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluen (BHT), ascorbic acid and alpha-tocopherol were obtained from Henrifarma (São Paulo, Brazil), Embacaps (Porto Alegre, Brazil), Delaware (Porto Alegre, Brazil), and Pharma Nostra (Rio de Janeiro, Brazil), respectively. All the reagents were used as received.

2.2 Preparation of formulations F1–F7

Hair solution with a qualitative composition similar to the one commercially available was prepared (F1); alternatively, it was added of the antioxidants BHT, BHA, ascorbic acid and α -tocopherol, in the higher concentration usually employed in pharmaceuticals¹⁴. These formulations were denominated as F2, F3, F4, and F5, respectively. In addition, hair solutions containing different quantities of benzophenone-3 (BP-3) were prepared (named F6). The composition of the formulations is indicated in Table 1. To prepare them, desonide, methylparaben, and propylparaben were solubilized in propylene glycol and then isopropyl alcohol and acetone were added. BP-3 was solubilized on acetone and antioxidants were solubilized in propylene glycol. After the mixture of all the components, acetone was used to obtain the appropriate weight and the formulations were packed and sealed tightly in amber glass flasks. All the components were at room temperature before the mixture.

2.3 Assay of formulations F1-F6

The desonide content in the formulations that were prepared was determined by HPLC¹¹. The chromatographic system consisted of a Shimadzu LC system (Kyoto, Japan) with a LC-20AT pump, SPD-M20A detector, DGU-20A5 degasser, CBM-20A system controller and LC-SOLUTION software. An RP-18 column (Luna[®] 4.6 x 150 mm, 5 μ m, Phenomenex, Torrance, CA, USA) was used, with a mobile phase composed by aqueous solution of triethylamine 0.3%, (pH 4.0), methanol and acetonitrile (50:10:40) at a flow rate of 1.0 mL min⁻¹, injection volume of 20 μ L and detection at 244 nm.

To prepare sample solutions, portions of each hair lotion developed (1.0 g, equivalent to 1.0 mg of desonide) were accurately weighed and then diluted to 50 μ g mL⁻¹, with methanol. The content of desonide in the formulations was calculated against a desonide reference substance solution (50 μ g mL⁻¹) and was assumed as a reference to the subsequent assays.

2.4 Preliminary photostability evaluation

In the preliminary photostability study, we investigated if antioxidants and the UV filter would be able to protect desonide from photodegradation. To perform it, aliquots of 1.0 g of formulations F1 to F6 (Table 1) were disposed in transparent capped cuvettes (Brand[®] ultra-micro UV-Cuvettes, 12.5 mm x 45 mm x 12.5 mm) and exposed to UVA radiation in a mirrored chamber during a period of 15 hours. At the end of the exposure period, the samples were diluted to the estimated concentration of 50 μ g mL⁻¹ with methanol and the drug content was determined by HPLC, by the method mentioned in item 2.3. Samples and analysis were performed in triplicate.

2.5 Validation of the analytical method

To realize the experiments with the most photostable formulation, which was indicated by the preliminary photostability study, the adaptation of the analytical conditions was necessary in order to decrease the analysis time. From this point, a

mobile phase with the same qualitative composition but with the proportion changed to 60:10:30 at a flow rate of 1.0 mL min^{-1} was employed. An RP-18 $4.6 \times 250 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$ column (Phenomenex Luna[®], Torrance, CA, USA) and the same chromatographic system described before were used. A validation of the modified analytical method was performed by the evaluation of specificity, linearity, precision and accuracy parameters, as described below. The chromatographic parameters (theoretical plates, tailing factor, capacity factor and resolution) were also checked.

2.5.1 Preparation of desonide reference substance and sample solutions

The stock solutions of desonide reference substance ($500 \mu\text{g mL}^{-1}$) were prepared with methanol, considering the desonide solubility. From these solutions, dilutions with the same solvent were made up to work concentration ($50 \mu\text{g mL}^{-1}$). To the sample preparation, 1.0 g of hair solution (equivalent to 1 mg of desonide) was accurately weighed and diluted with methanol to an estimated concentration of $50 \mu\text{g mL}^{-1}$.

2.5.2 Validation Parameters

The following parameters were evaluated: specificity, linearity, precision and accuracy. In order to verify the method specificity, the interference from the excipients was determined. Thus, solutions of the placebo and desonide hair solutions were prepared in accordance with the sample preparation procedure and analyzed by the method developed. A placebo solution was composed by a mixture of all the excipients of the most photostable formulation. Furthermore, the peak purity index was evaluated using the PDA detector, considering acceptable values higher than 0.9999^{15} .

Linearity was determined through the analysis of three independent analytical curves, each one with 5 concentrations ($5, 10, 20, 50, \text{ and } 100 \mu\text{g mL}^{-1}$) of the reference substance, diluted as mentioned at item 2.5.1. Analytical curves were constructed plotting peak areas against respective concentration of desonide. The linear regression

was studied by the least squares method, evaluating the calibration equation and the correlation coefficient (r). Analysis of variance (ANOVA) was used for the compliance with the linear model.

The precision of the analytical method was evaluated in the levels of repeatability and intermediate precision, and expressed as a relative standard deviation. For repeatability, the results from six independent samples of F7, at 100% of work concentration ($50 \mu\text{g mL}^{-1}$), in the same experimental conditions (day and analyst) were analyzed. For intermediate precision, the same procedure was repeated, on another day and performed by a second analyst.

From the data of specificity, linearity, and precision, the accuracy was inferred¹⁶.

2.6 Stability studies

2.6.1 Photostability study

To evaluate the photostability of the formulation pointed in the previous stages as the most resistant to radiation, aliquots of 1.0 g of F7 were accurately weight in transparent plastic cuvettes (Brand[®], ultra-micro UV-Cuvettes, 12.5 mm x 45 mm x 12.5 mm) and exposed to UVA radiation during 15 hours. Over this period, on times 2, 4, 6, 8, and 15 hours the samples ($n = 3/\text{time}$) were analyzed for desonide content. The drug content was determined by comparison with samples that were prepared in the same way but not irradiated. Benzophenone-3 decay over time was also assessed, considering the peak area of zero time as a reference.

F7 was also exposed to UVC radiation (254 nm) for 8 hours. For comparison, simulated commercial formulation (F1) was also exposed to UVC radiation for 4 hours, following the procedure that utilized UVA light. The desonide content was assayed along the time of exposure ($n = 3/\text{time}$). The samples submitted to the same procedure but protected from light were used as controls.

2.6.2 Accelerated stability study

Hair solutions F1 and F7 were submitted to a climatic chamber (Mecalor, São Paulo, Brazil) at $40 \pm 2^\circ\text{C}$ and $75 \pm 5\%$ of relative humidity for 70 days. Along this period, at days 7, 14, 30, and 70, aliquots of the products were removed and analyzed on the content and visual appearance. The formulations were packaged in amber glass bottles tightly closed. Samples were prepared and analyzed in triplicate.

2.6.3 Room temperature stability

F1 and F7 were maintained under laboratory conditions ($20 \pm 2^\circ\text{C}$), for 70 days, in order to evaluate the stability under room conditions. At days 7, 14, 30, and 70, aliquots of the products were removed and the content of desonide was determined by HPLC. Visual appearance was also determined each time. Just after preparation, the samples were tightly closed and packaged in amber glass bottles, staying protected from the light. Samples were prepared and analyzed in triplicate.

2.6.4 Statistical analysis

Statistical analysis of data was performed using Student's *t-test*, analysis of variance (ANOVA) and Tukey's post test, at 5% of significance.

3. Results and Discussion

3.1 Assay of the formulations and preliminary photostability study

It is well known that corticosteroids are susceptible to oxidation and that oxidative reactions can be catalyzed by light⁷. Thus, considering the previous results from desonide commercial formulation¹¹, initially we investigated the effect of some antioxidants on desonide stability. To perform it, we prepared desonide hair solutions added by antioxidants with different mechanisms of action (F2-F5) or added by a UV filter (F6) and exposed them to UVA radiation (15 h). For comparison, a hair solution

with the same composition but without these additives was submitted to the same condition (F1). Immediately after preparation (zero time), the formulations developed were analyzed by the HPLC method¹¹. All of them presented desonide content in the range of 90-110% of the expected value. These values were considered as a reference for the subsequent assay. The results comparing the desonide content at zero time and after 15 h of irradiation are presented in Figure 2. As shown, the antioxidants were not able to protect desonide from photodegradation, since a significant decay on desonide content was observed. After 15 h of exposure, the desonide percentage in all the formulations developed fell to 43 and 62% of the theoretical value.

On the other hand, in the formulations with BP-3 no decrease on desonide content was observed (Table 2). The BP-3 was used in a wide range of concentration (2.5 to 0.15%) and all of them proved to be effective, keeping the desonide content higher than 90% of the theoretical value (1.0 mg/g). However, a significant difference in desonide content between the formulation containing BP-3 at 0.15% and all the others was observed ($p < 0.05$). Thus, the formulation containing BP-3 at 0.30% was chosen as the one with the best photostability profile, being submitted to stability studies. Therefore, stability studies were performed with this preparation, preceded by the validation of the analytical procedure.

3.2 Validation of the analytical procedure

Modifications in the method conditions were necessary in order to decrease the retention time of BP-3. Thus, the mobile phase was changed and a validation of the method was performed, by the evaluation of specificity, linearity, precision, and accuracy. The analysis of the placebo solution indicated the specificity of the method, since no interference of the excipient was observed and the peak purity index was above 0.9999.

A typical chromatogram obtained by the method proposed is shown in Figure 3. Chromatographic parameters were evaluated and fulfilled the required values¹⁷ (theoretical plates: 4591 ± 27.02 ; tailing factor: 1.08 ± 0.03 ; capacity factor: 2.93 ± 0.05 ; resolution: 3.0 ± 0.04). The linearity study demonstrated the linear range of the method

from 5 to 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, with an adequate correlation coefficient ($r=0.9999$). The statistical analysis (ANOVA) demonstrated significant linear regression ($p<0.05$) and non-significant linear deviation ($p>0.05$), with the linear regression equation $y= 43415x - 6772$, in which x is the concentration and y the peak area (mAU).

The precision was evaluated in levels of repeatability and intermediate precision, and expressed as relative standard deviation (RSD). The repeatability RSD values were 0.38 ($n = 6$, analyst 1, day 1) and 0.27 ($n = 6$, analyst 2, day 2). The intermediate precision RSD value was 1.85 ($n = 12$). These results indicated the precision of the analytical method, with the average content of 98.21 ± 1.37 ($n = 12$). Once the specificity, linearity, and precision were well-established, the method was inferred as accurate¹⁶.

3.3 Stability studies

3.3.1 Photostability study

To the photostability study, F7 was exposed to UVA radiation (352 nm) in a light chamber for 15 h into transparent cuvettes. During this time, samples ($n = 3/\text{time}$) were analyzed by the validated analytical procedure. Additionally, the peak area of BP-3 was also monitored to verify its decay during exposure to UVA radiation.

The results obtained indicated that BP-3 stabilized desonide on hair solution, since after 15 h of exposure the residual content of desonide was 98.61% (Table 3). In the same conditions, the residual content of desonide in the commercial pharmaceutical preparation was around 39%, with a t_{90} value equivalent to 1.7 h¹¹. Assay of F7 submitted to the same procedure but protected from light indicated that degradation occurs without the influence of temperature, since desonide remaining content on these samples was around 99%.

Considering that the radiation absorbed by the drug can cause the photochemical process which in turn may result in photodegradation, the blocking of the wavelengths absorbed by the drug may prevent photodecomposition¹². Substances with absorption spectra similar to the drug can be incorporated into the formulation in order to protect it from photodegradation. This is known as the overlay spectral principle¹⁸. The use of UV filters as photostabilizers has already been reported for some substances in different

preparations^{19,20}. BP-3 is an organic filter able to absorb both UVA and UVB radiation²¹. As can be seen in Figure 4, desonide maximum absorption band (244 nm) is overlapped by one BP-3 maximum absorption band (241 nm).

We verified just a small decay on BP-3 peak area along the 15 h of exposure (Figure 5). This result was expected, once the photostability studies of several UV filters including BP-3 indicated the photostability of this substance⁷.

An additional photostability study was developed, employing UVC radiation (254 nm). Although most part of the UVC radiation is filtered by ozone in the upper atmosphere, the determination of the chemical and biological effects of this radiation has been receiving more attention in recent years, not only for better knowledge on the photochemistry of this radiation but also about the specific damage caused by it⁹. Considering that UVC is the most energetic ultraviolet radiation, causing fast photodegradation, the employment of this radiation is interesting since it is possible to expose the formulation to a drastic condition, allowing the evaluation of its effect. In this irradiation condition, we compared the F1 and F7 formulations. BP-3 was able to avoid the desonide UV photolysis, even in such adverse conditions, but not completely, since the remaining drug content after 4 h of irradiation was 71.3% and after 8 h, 53.0%. On the other hand, in the F1 formulation, the residual content of desonide after 4 h of irradiation was 44.4%.

The degradation kinetics of the two analyzed formulations was also determined in order to define the reaction order and the reaction rate. For most substances, degradation reactions occur as zero order, first-order, or pseudo first order²². Analysis of the correlation coefficients obtained plotting drug concentration *versus* time, log of drug concentration *versus* time and the inverse of concentration *versus* time, indicated that the degradation reaction of F7 follows first-order kinetics ($y = -0.075x + 3.905$, $r = 0.9954$). The slope of the straight line indicated the reaction constant (k) and expresses the fraction of drug that reacts per time; from k value, the t_{90} was estimated as 1.41 h. The degradation kinetics study of F1 showed that it follows zero order kinetics ($y = -6.746x + 49.38$, $r = 0.9954$) with a t_{90} value of 0.64 h. These results suggest that the BP-3 modified the kinetic of degradation reaction of the formulations and duplicated the t_{90} value in the conditions used.

3.3.2 Accelerated stability study

To the accelerated stability study, three batches of F1 and F7 were maintained in a climatic chamber for 70 days and analyzed at predetermined times (7, 15, 30, and 70 days). Right after preparation, F1 presented transparent and colorless, while F7 presented transparent and slightly yellowish, most likely due to benzophenone-3, which is yellow in color. After formulations were exposed to the moisture and temperature conditions as mentioned above, alterations in the color or appearance were not observed.

As can be seen in Table 4, the assay of desonide demonstrated the decay of drug content over time for both formulations. At the end of day 70 the residual content of desonide in F7 was 94.13%, whereas for F1 the observed content was 88.33%. At the end of the period of the stability study, the desonide content on F7 remained within the most common shelf life specification, which indicates the loss of 10% of the content as the maximum acceptable^{22,23}.

3.3.3 Stability at room temperature

To perform this evaluation, three batches of formulations F1 and F7 were kept under laboratory conditions for 70 days. The temperature was monitored and maintained at $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$. As occurred in the accelerated stability study, alterations to the color or appearance of the formulations over the period were not observed. Regarding the drug content, the same decay found on the accelerated conditions was not observed. This result was expected, considering that exposure to higher temperatures increases the chemical degradation rate or physical change in pharmaceuticals^{13,22-24}.

4. Conclusion

In this study, the effect of different stabilizers on desonide photostability in hair solution was evaluated. We verified that the antioxidants that were used were not able to

protect desonide from degradation after exposure to UVA radiation. However, BP-3 at low concentrations was able to prevent desonide photodegradation. In addition, the developed formulation showed suitable stability, since the desonide content in formulation F7 fell within the most usual compendial potency limits during the accelerated and room temperature stability test. Thus, we can conclude that this formulation can be considered an alternative to the available ones.

5. References

1. GRAU, P. S. Corticoides tópicos. Atualização. *Medicina Cutânea Ibero Latino Americana*, v. 34, n. 1, p. 33-38, 2006.
2. ROSS, T. C. et al. Recent advances in treatment strategies for atopic dermatitis. *Drugs*, v. 64 (23), p. 2639-2666, 2004.
3. WYATT, E. L.; SUTTER, S. H.; DRAKE, L. A. Farmacologia dermatológica. In: GOODMAN, L. S. *Goodman & Gilman: As bases farmacológicas da terapêutica*. Seção XIV: Dermatologia. 10th ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2004.
4. NICHOLS, W. K. Hormônios e antagonistas hormonais. In: GENNARO, A. R. *A ciência e a prática da farmácia*. 20th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.
5. GELBARD, C. M., HEBERT, A. A. Desonide hydrogel: advances in vehicle technology. *Expert Review of Dermatology*, v. 4, n. 1, p. 23-27, 2009.
6. DEF, 2012/13. Dicionário de Especialidades Farmacêuticas. 41st ed. Rio de Janeiro: EPUC, 2013.
7. ALBINI, A; FASANI, E. *Drugs: Photochemistry and Photostability*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 1998.
8. IQBAL, J; HUSAIN, A.; GUPTA, A. Photochemistry of desonide, a non fluorinated steroidal anti-inflammatory drug. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, v. 54, n. 6, p. 836-838, 2006.

9. MOORE, D. E. Photophysical and photochemical aspects of drug stability. In: TONESSEN, H. H. *Photostability of drugs and drug formulations*. 2nd. ed. Boca Raton: CRC Press LLC, 2004.
10. POLEFKA, T.G. et al. Effects of solar radiation on the skin. *Journal of Cosmetic Dermatology*, n.11, p. 134-143, 2011.
11. DALLA SANTA, F. et al. Development and validation of a simple stability-indicating LC-method and UVA photostability study of desonide hair lotion. *Current Analytical Chemistry*, v. 9, p. 659-667, 2013.
12. TØNESSEN, H. H. Photostability testing of drugs and drug formulations-Why and How? In: TONESSEN, H. H. *Photostability of drugs and drug formulations*. 2nd. ed. Boca Raton: CRC Press LLC, 2004.
13. YOSHIKA, S.; STELLA, V.J. *Stability of Drugs and Dosage Forms*. New York: Kluwer Academic Publishers, 2002.
14. ROWE, R.C.; SHESKEY, P.J.; WELLER, P.J. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. London: Pharmaceutical Press, 2001.
15. WATSON, D.G. *Pharmaceutical Analysis. A Textbook for Pharmacy Students and Pharmaceutical Chemists*; Edinburgh: Elsevier Churchill Livingstone, 2005.
16. ICH – International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. ICH Harmonised Tripartite Guideline: *Guideline on Validation of Analytical Procedure – Q2R1 Methodology*, 2005.
17. CDER. Center for Drug Evaluation and Research. *Reviewer Guidance: Validation of Chromatographic Methods*, 1994.
18. THOMA, K.; KLIMECK, R. Photostabilization of drugs in dosage forms without protection from packaging materials. *International Journal of Pharmaceutics*, n. 67, p. 169-175, 1991.
19. BRISAERT, M.; VERCARMEN, P. J. Investigation on the photostability of a tretinoin lotion and stabilization with additives. *International Journal of Pharmaceutics*, n.199, p. 49-57, 2000.

20. GASPAR, L.R., MAIA CAMPOS P.M.B.G. Photostability and efficacy studies of topical formulations containing UV filters combination and vitamin A, C and E. *International Journal of Pharmaceutics*, n. 343, p. 191-189, 2007.
21. THE MERCK. Index. 14. Ed. Rahway: Merck & co. 2006.
22. LACHMAN, L.; DeLUCA,P.; AKERS, A. J. Testes de estabilidade e fundamentos de cinética química. In: Lachman, L.; Lieberman, H. A.; Kanig, J. L. *Teoria e prática na indústria farmacêutica*, v.2. Lisboa: Fundação Lacouste Gulbenkian , 2001.
23. CARSTENSEN, J. T.; RHODES, C. T. *Drug stability. Principles and Practices*. New York: Informa Healthcare, 2007.
24. ICH- International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. ICH Harmonised Tripartite Guideline: *Stability Testing of New Drug Substances and Products - Q1A(R2)*, 2003.

Figures

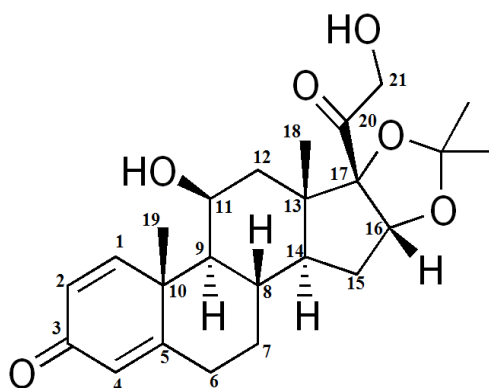


Figure 1- Desonide chemical structure.

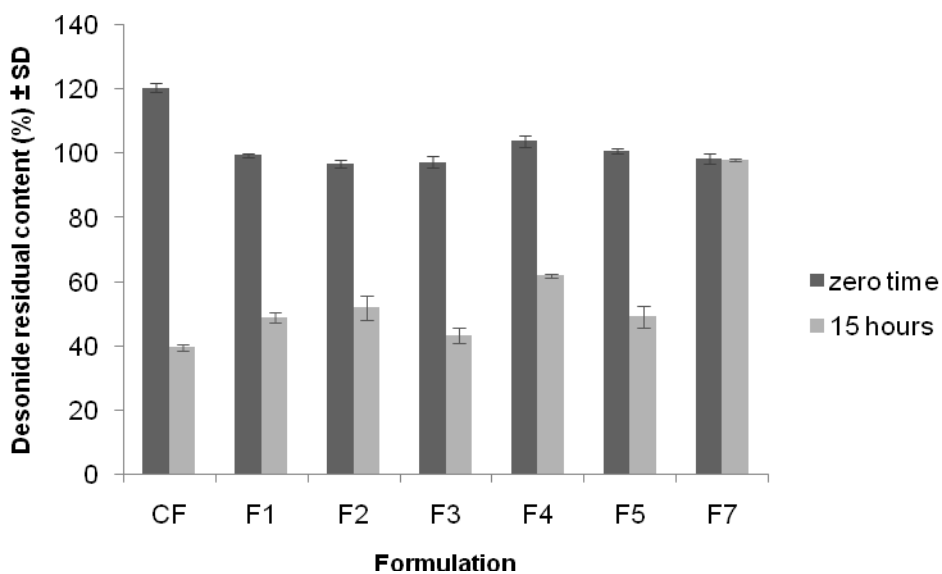


Figure 2- Residual content of desonide in hair solutions after UVA exposure (15 hours): commercial formulation (CF), F1 (simulated commercial formulation), F2 (BHT formulation), F3 (BHA formulation), F4 (ascorbic acid formulation), F5 (α -tocopherol formulation) and F7 (BP-3, 0.3% formulation).

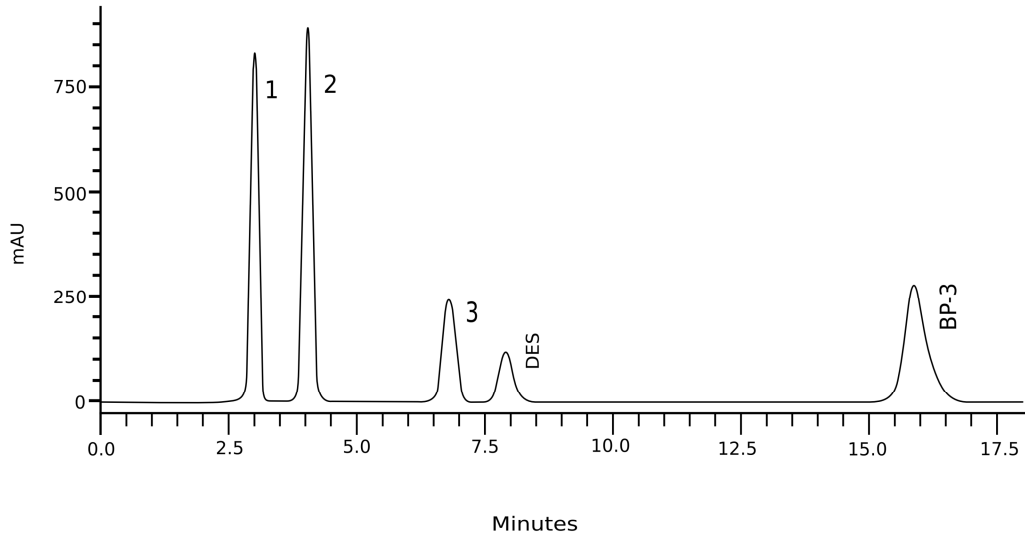


Figure 3- Chromatogram of F7 obtained by the method proposed. (1) acetone; (2) methylparaben; (3) propylparaben; (DES) desonide; (BP-3) benzophenone-3.

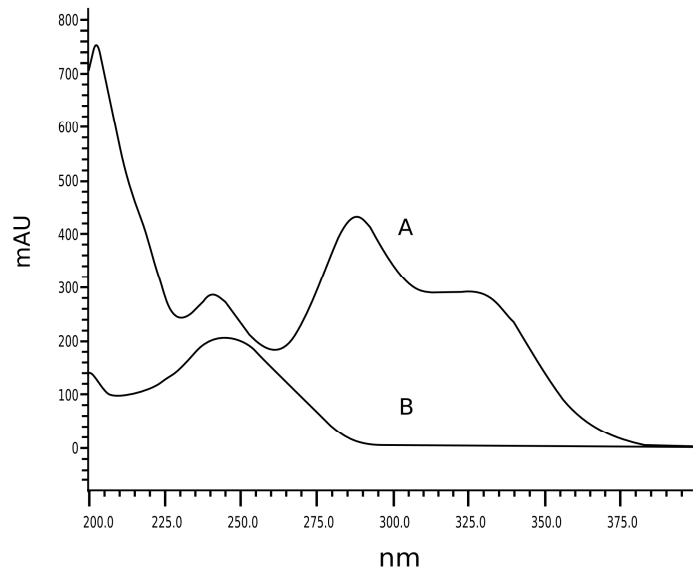


Figure 4- UV spectrum of BP-3 (A) and desonide (B) in hair solution F7.

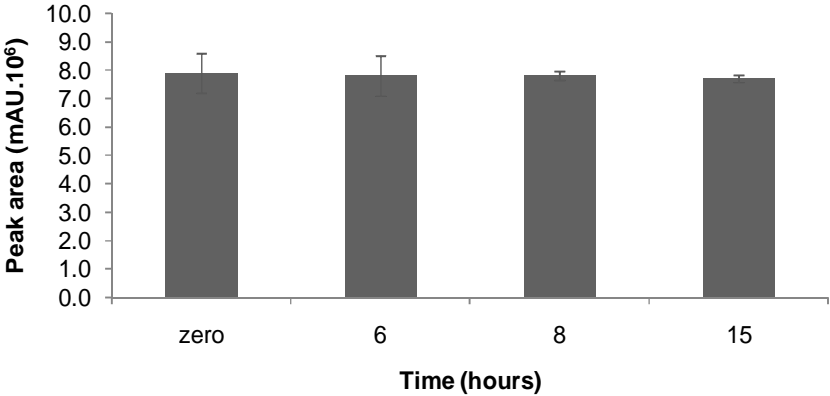


Figure 5- BP-3 peak area on photostability study of F7 (UVA, 352 nm).

Tables

Table 1- Quali-quantitative composition of the hair solution formulation

Percentage of each component (w/w)							
Component	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7
Desonide	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Isopropyl alcohol	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Methylparaben	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Propylparaben	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Propylene glycol	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0
BHT	—	0.1	—	—	—	—	—
BHA	—	—	0.02	—	—	—	—
Ascorbic acid	—	—	—	0.1	—	—	—
α -tocopherol	—	—	—	—	0.05	—	—
BP-3	—	—	—	—	—	#	0.3
Acetone	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p	q.s.p
	100 g	100 g	100 g	100 g	100 g	100 g	100 g

#At concentrations 2.5; 1.25; 0.6; 0.3 and 0.15%.

Table 2- Desonide content (%) in hair solution F6 (n = 3/formulation) after exposure to UVA radiation (15 hours)

BP-3 concentration (%)	Drug content (%) (zero time)	Desonide content (%)* (after 15h UVA)
2.5	100.35 \pm 1.57	99.87 \pm 0.69 ^a
1.25	101.22 \pm 1.03	98.90 \pm 1.22 ^a
0.6	100.59 \pm 0.79	98.99 \pm 1.87 ^a
0.3	98.49 \pm 1.00	97.66 \pm 0.66 ^a
0.15	99.68 \pm 2.29	95.63 \pm 0.06 ^b

*means followed by the same letter do not differ ($p > 0.05$).

Table 3- Results of desonide assay in hair solution F7, on photostability study (n = 3/time, UVA, 352 nm)

Time of exposure (h)	Theoretical concentration (mg/g)	Drug content (mg/g)	Drug content (%)
0	1.0	1.002 ± 0.72	100.20 ± 0.72
2		0.995 ± 1.28	99.53 ± 1.28
6		0.980 ± 0.23	98.03 ± 0.23
8		0.979 ± 0.18	97.92 ± 0.18
15		0.986 ± 0.64	98.61 ± 0.64

Table 4- Results of desonide content on accelerated and room temperature conditions (n = 3/formulation)

	Drug content (%) ± SD Accelerated condition		Drug content (%) ± SD Room temperature	
	F1	F7	F1	F7
0	100.00 ± 1.07	100.00 ± 1.15	100.00 ± 3.41	100.00 ± 1.75
7	100.20 ± 0.70	105.03 ± 0.87	100.29 ± 0.35	101.38 ± 1.02
15	91.61 ± 0.55	95.50 ± 2.60	100.82 ± 1.64	99.70 ± 1.50
30	95.86 ± 5.90	94.87 ± 1.67	103.85 ± 2.53	98.89 ± 1.88
70	88.33 ± 0.84	94.13 ± 1.14	102.37 ± 2.90	99.84 ± 1.74

**CAPÍTULO 2. Development of a desonide semisolid topical
preparation with improved photostability**

Development of a desonide semisolid topical preparation with improved photostability

Priscila Rosa¹, Tássia Lehmen², Julia Weber¹, Juliana dos Santos², Cristiane de Bona da Silva², Andréa Inês Horn Adams².

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.

²Departamento de Farmácia Industrial, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima, 1000, 97105-900. Santa Maria - RS, Brasil.

Address correspondence to Prof. Dr. Andréa I. H. Adams. Universidade Federal de Santa Maria – UFSM. Av Roraima, 1000. Santa Maria/RS - CEP 97105-900. Phone: +55 55 3220 8661. Fax: +55 55 3220 8248. E-mail: andrea.ih.adams@gmail.com

Abstract: Desonide is a low potency topical corticosteroid used for the treatment of steroid-responsive dermatosis. The aim of this study was to develop a gel-cream preparation containing desonide with greater photostability than the commercially available. The developed preparation was characterized regarding its appearance, pH, drug content, spreadability and rheological properties. It presented characteristics compatibles with topical application, appropriate drug content and good spreadability. Regarding its rheological properties, gel-cream presented non-Newtonian behavior with pseudoplastic flow best fit to the Herschel-Bulkley model. Developed formulation showed a good photostability profile, presenting desonide content of 95.70% after 48 hours of exposure to UVA radiation. In vitro release profile using vertical Franz cell indicated the release of approximately 79 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ of desonide after eight hours of experiment. The stability study indicated the stability of formulation under room conditions during 60 days.

Keywords: Desonide; gel-cream; photostability; stability study.

1. Introduction

Drugs administered into the skin can produce local or systemic effects ¹. Topical medication is usually applied as liquid, semisolid or solid form ². A semisolid dosage form presents some advantages, such as easy application, rapid formulation and ability to topically deliver several classes of drugs ³. Over the years, new methods to administering medicines were developed in order to overcome limitations of the conventional vehicles or to optimize the administration of these drugs. Gel-creams, which are oil-in-water systems containing a polymeric solution as thickened aqueous external phase are a relatively new semisolid form ^{4,5}.

Corticosteroids are the first choice therapy for the treatment of many topical inflammatory disorders, including the atopic, contact and seborrheic dermatitis and psoriasis. They act through several mechanisms, affecting both epidermis and dermis and its clinic efficacy is due their vasoconstrictive, antiproliferative, anti-inflammatory and immunomodulator properties ⁶. Except for serious topical diseases, the low potency glucocorticoids are preferred, since cutaneous adverse effects seem to be less severe than that caused by the use of those with high potency. Besides, circulatory systemic absorption can happens, mainly when the application area is extensive or occluded and the administration period is longer ⁷.

Desonide is a low potency corticosteroid available since 1960 for the treatment of steroid-responsive dermatoses ⁸. In Brazil, desonide is available as ointment, hair lotion, creamy lotion, cream and gel-cream ⁹. Recently, our research group validated a stability-indicating HPLC-UV method for desonide quantification on gel-cream and evaluated desonide photostability in this formulation (BRAGA, 2013). We verified desonide photoinstability after direct exposure to UVA radiation (352 nm), with a degradation rate of 0.0285 µg/mL/h and a t_{90} value (time required to degrade 10% of drug, correspondent to the most common shelf life) of 3.6 hours ¹⁰. Besides, the photostability of desonide in different drug dosage forms was studied and was reported instability of drug in hair lotion and creamy lotion after direct exposure to UVA light ^{11, 12}. Photoinstability may cause loss of potency, which can result in an inappropriate therapeutic effect, and formation of degradation products ¹³.

Considering the poor photostability of commercial gel-cream and the previously reported desonide photodegradation in other drug products, the aim of this study was to develop a new desonide gel-cream formulation with a better photostability profile than the commercially available. The formulation developed was evaluated regarding to its *in vitro* release profile, and stability under accelerated and room temperature conditions.

2. Material and methods

2.1 Material

Desonide (99.67%, lot DS002/0510/EF) was purchased from CosmeTrade (Porto Alegre, Brazil). Desonide reference substance (98.55%, lot 0622-3) was obtained from Proactive Molecular Research (USA). Commercial gel-cream (named C-GG, Adinos[®], lot 1201991, Aché, Guarulhos, Brazil) presenting the following excipients: lactose, milk protein, ammonium acryloyldimethyltaurate, sorbitol esters and mono-di-triglycerides derived from rapessed oil, triester phosphoric acid of ethoxylated lauryl alcohol, liquid petrolatum, isopropyl palmitate, methyl, ethyl, butyl and isobutyl and propylparaben, phenoxyethanol, dehydrate disodium edetate, racealphanol acetate, propylene glycol, purified water, citric acid and sodium hydroxide was acquired in local commerce. The excipients used were obtained from the following suppliers: butylhydroxitoluen (BHT) and benzophenone-3 (BP-3), Delaware (Porto Alegre, Brazil); Carbopol Ultrez[®] 10 NF and grape seed oil, Fagron (São Paulo, Brazil); imidazolidinyl urea (Cheminol[®]), DEG (São Paulo, Brazil); polysorbate 80 (Tween 80[®]), Vetec(Rio de Janeiro, Brazil). Methanol and acetonitrile (HPLC grade) which were used to prepare the samples and mobile phase were supplied from Merck (Darmstadt, Germany) and Tedia (Ohio, USA), respectively. Ultrapure water was purified by Megapurity Water Purification System. All chemicals and solvents were used as received.

2.2 Preparation of gel-cream

Gel-cream was prepared, in triplicate, with a mortar and pestle. Formulation was prepared accordingly procedure described by Rigo, Rascovetzki and Beck ¹⁵. An aqueous phase was prepared dispersing the polymer in ultrapure water and solubilizing imidazolidinyl urea in part of water. The oily phase, containing desonide, BP-3, BHT, Tween 80[®] and grape seed oil was heated at 40°C. This phase was slowly added to the aqueous phase, under constant stirring. The dispersion was neutralized with triethanolamine to obtain a semisolid formulation suitable for topical use. Table 1 shows the quali-quantitative composition of the gel-cream developed (D-GC).

2.3 Analytical method

2.3.1 Chromatographic system

A Shimadzu LC- system equipped with a LC-20AT pump, SPD-M20A detector (DAD detector), DGU-20A5 degasser, CBM-20A system controller and LC-SOLUTION software was used. Chromatographic separations were performed on a RP-18-column (Nano Separation Technologies[®], 4.6 x 250 mm, 5 µm). The mobile phase consisted of a mixture of methanol, acetonitrile and acidic water (pH 4.0) (60:10:30), at flow rate of 1.0 mL.min⁻¹. The pH was adjusted with fosforic acid reagent, the injection volume was 20 µL and the detection was at 244 nm.

2.3.2 Method validation

To the method validation, the following parameters were evaluated: specificity, linearity, precision and accuracy, following ICH guidelines ¹⁶. To verify the interference from the excipients, specificity was evaluated through analysis of placebo and desonide peak purity on samples solutions, considering acceptable values above 0.9999 ¹⁷. Linearity was assessed through analysis of three independent analytical curves (5, 10, 20, 50 and 100 µg mL⁻¹) of the reference substance. To study the linear regression, we used the least squares method, evaluating the calibration equation and the correlation

coefficient (r). Precision was evaluated in the levels of repeatability and intermediate precision, been expressed as relative standard deviation (RSD). To repeatability, six independent samples at 100% of work concentration ($25 \mu\text{g mL}^{-1}$) were analyzed in the same experimental conditions (day and analyst). Intermediate precision was evaluated comparing these results with those obtained by a second analyst in a different day. Accuracy was inferred from the data obtained of specificity, linearity and precision parameters ¹⁶.

2.3.3 Preparation of reference substance and sample solutions

The stock solutions of desonide reference substance ($500 \mu\text{g mL}^{-1}$) were prepared with methanol. From these solutions dilutions with the same solvent were made up to work concentration ($25 \mu\text{g mL}^{-1}$).

To assay desonide in gel-cream, approximately 1.0 g of the formulation (equivalent to 0.5 mg of desonide) was accurately weighed in a glass flask and methanol was added to extract the drug. The obtained solution was quantitatively transferred to a 20 mL volumetric flask. The volume was made up with methanol, followed by centrifugation at 4000 rpm during 15 minutes. The supernatant was filtered through a $0.45 \mu\text{m}$ nylon membrane and analyzed.

2.4 Physicochemical characterization

The developed gel-cream (D-GC, $n = 3$) was characterized after preparation (first 48 hours) regarding pH, desonide content, spreadability and viscosity. For comparison, commercial gel-cream (C-GC) was analyzed by the same procedures.

The pH values were determined in a dispersion of the formulation in ultrapure water (10%, w/v) using a calibrated potentiometer (Model UB-10, Denver Instrument, New York, USA). Three batches were analyzed, in triplicate. Assay of desonide in D-GC was done by the LC-UV method previously validated (item 2.3). Samples and reference

substances were prepared according described on item *Preparation of reference substance and sample solutions*.

The spreadability of formulations ($n = 3$) was evaluated according to the methodology described by Rigo and co-workers (2012)¹⁸. The sample was introduced in a central hole (1 cm) of a mold glass plate. The mold glass plate was removed and the sample was pressed subsequently with glass plates of known weights, with intervals of 1 minute between each plate, in a total of 20 plates. At each plate that was added, one image was captured using the desktop scanner. The spread areas obtained from the scanned images were calculated using the ImajeJ software (Version 1.47, National Institutes of Health, USA). The spreading factor (S_f) which represents the ability of a formulation to spread on a smooth horizontal surface, when a gram of weight is added on it under the conditions above described, was calculated using the following equation:

$$S_f = A / W$$

where: S_f ($\text{mm}^2 \text{g}^{-1}$) is the spreading factor, resulting from the ratio between the maximum spread area (A) after addition of the sequence of weights and the total weight added (W).

Evaluation of viscosity and rheological properties was carried out using a rotational viscosimeter DV-II + Pro model Brookfield (Middleboro, USA) and data were analyzed by RHEOCALC software program (V3.1-1 version). Rheological parameters were determined at $25 \pm 2^\circ\text{C}$ using a SC4-25 spindle and a small sample adapter, up to 48 h after preparation of gel-cream ($n = 3$) and after different storage times. The shear stress ramp was applied for 120 s. Rheogram curves obtained with ascendant and descendant segment were obtained using a shear rate interval of 0.05 s^{-1} . For comparison, rheological behavior of the commercial desonide gel-cream (C-GC) was also evaluated. To establish the rheological behavior, rheograms were analyzed using different flow models: Bingham ($\tau = \tau_0 + \eta\dot{\gamma}$), Casson ($\tau = \tau_0^{0.5}n + \eta^{0.5}\dot{\gamma}^{0.5}$), Power Law ($\tau = k\dot{\gamma}^n$) and Herschell-Bulkley ($\tau = \tau_0 + k\dot{\gamma}^n$), where τ is the shear stress, τ_0 is the yield stress, η is the viscosity, n is the flow index, k is the consistency index and $\dot{\gamma}$ is the shear rate¹⁹.

2.5 *In vitro* release study

In vitro release of desonide from D-GC and CG-C was studied using vertical Franz cells diffusion at $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ($n = 6$). The diffusion area was 2.0 cm^2 and volume of receptor compartment was 7.0 mL. An acetate cellulose membrane ($0.45 \mu\text{m}$, pore size) was fit between donor and receptor compartment. The receptor medium consisted of a mixture of ethanol and ultrapure water (40/60, v/v) and was continuously stirred. An amount of gel-cream containing 250 μg of desonide was evenly spread on the membrane surface. At predetermined time intervals (30 minutes, 1, 2, 4, 6 and 8 hours), 200 μL of the receptor medium were withdrawn and replaced by an equal volume of fresh medium. The experiment was conducted maintaining the *sink* condition. The amount of desonide released was determined by HPLC, in the conditions described on section *Analytical method*. To evaluate drug release profiles, we used Higuchi's model ($C = kt^{0.5}$). C represents the amount of drug released at time t and k is a constant, which reflects the design variables of system, related to diffusion area, diffusion coefficient and drug's solubility in the system. To mathematical modeling, we used the software Micro-Math[®] Scientist[®] for Windows[™]. The procedure was applied to developed gel-cream (D-GC) and to commercial gel-cream (C-GC) and results were compared.

2.6 Stability study

2.6.1 Photostability study

To study the photostability of D-GC, 1.0 g of the formulation (accurately weighed) was added to an open petri plate (60 x 15 mm), forming a thin layer and then exposed to UVA radiation (352 nm) in a light chamber, during 48 hours. At times eight, 24, 36 and 48 hours the entire content of the petri plates was transferred to a 20 mL volumetric flask and the volume was filled up with methanol. Resulting solution was centrifuged at 4000 rpm during 15 minutes. Then, the supernatant was filtered through a $0.45 \mu\text{m}$ membrane and analyzed by the validated method cited before.

2.6.2 Accelerated and room temperature conditions

The stability study of D-GC was performed under accelerated condition ($40 \pm 2^\circ\text{C}/75 \pm 5\% \text{ RH}$) in a climatic chamber and at room temperature ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) during 60 days. Three batches of D-GC for each condition were stored in double wall plastic pots and analyzed according to their macroscopic characteristics (such as appearance and color), pH, desonide content, viscosity and spreadability, after preparation (zero time) and at times seven, 15, 30 and 60 days. Samples stored at accelerated condition were kept at room temperature before performing analysis.

2.7 Statistical analysis

Statistical analysis was performed using Student's t-test, analysis of variance (ANOVA) and Tukey's post test at 5% of significance.

3. Results and discussion

3.1 Physicochemical characterization of D-GC and C-GC

After preparation, D-GC presented satisfactory organoleptic characteristics, showing a homogeneous white color. The pH of skin varies in the range of 4.0 and 6.5, depending on the area, being considered slightly acid ². The pH values of the D-GC ranged from 6.2 to 6.3, which are compatible with topical application. Drug content of D-GC was $105.97 \pm 0.3\%$, which is in the range of 90 to 110%, in according with the most common content compendia specification ^{19,20,21}. Desonide content of C-GC was 95.83% and the pH value 5.88.

Spreadability, which is an important characteristic of the topical dosage form, can be defined as the expansion of a semisolid formulation on a surface after a specified time and is closely related to the application of formulation at site of action ²³. It's also represented by the thickness of the film that the formulation leaves on the skin ²⁴. To assess gel-cream spreadability of D-GC and C-GC, we employed the method described by Rigo and co-workers (2012)¹⁸, which uses scanned images to determine the

expansion area of the formulation after addition of known weight plates. The D-GC showed greater spreadability than the C-GC, with a spreading factor of $5.07 \text{ mm}^2 \text{ g}^{-1}$, while for C-GC the spreading factor obtained was $3.40 \text{ mm}^2 \text{ g}^{-1}$, which are statistically different ($p < 0.05$). These results indicate that for the same applied force, a larger area is achieved when D-GC is applied to the skin.

Regarding to rheological properties, viscosity of D-GC was determined using a shear rate interval of 0.05 s^{-1} during 120 seconds. Gel-cream rheograms were obtained by graphical representation of applied shear rate *versus* shear stress. As can be observed in Figure 1, D-GC presented non-Newtonian behavior, since a non-linear relation between shear rate and shear stress was observed; additionally, D-GC did not shown thixotropy. To perform the analysis of rheological behavior of semisolid formulations, literature presents several mathematical models which are useful to establish the flow index of non-Newtonian systems. Rheograms were analyzed according Bingham, Power Law (Ostwald), Casson and Herschel-Bulkley models. The model which best described the flow of D-GC was Herschel-Bulkley, presenting a correlation coefficient higher than 0.99 (0.993 ± 0.17). According to this model equation, the consistency index obtained was $114821 \pm 4150.41 \text{ mPa.s}$, and the flow index values (0.48 ± 0.006) were below 1.0, indicating the pseudoplastic behavior of D-GC. Recently, Rigo, Rascovetzki and Beck (2011) described a similar rheological behavior (non-Newtonian, Herschel-Bulkley model) to gel-cream sunscreen formulations when Carbopol Ultrez[®] 10 NF was used as gel former polymer¹⁵. Carbopol Ultrez[®] 10 NF an acrylic acid polymer was used because of its good dispersion properties and wide application in pharmaceutical and cosmetic fields¹⁴. Materials that exhibit pseudoplastic flow include aqueous dispersion of natural or chemically modified hydrocolloids, like methylcellulose and carmellose, and synthetic polymers like polyvinylpyrrolidone and acrylic acid²⁵.

C-GC was also characterized about its rheological properties. Initially, we tried to use the same shear rate interval applied to the developed gel-cream (0.05 s^{-1}). However, the measurements could not be done because the limit of torque was exceeded. Thus, to rheological characterization of commercial gel-cream, a shear rate interval of 0.02 s was applied during 120 seconds. The flow curve obtained to this

formulation indicated a non-Newtonian behavior and absence of thixotropy. Analysis of the rheograms demonstrated that Casson was the best model to describe the flow of this formulation, with a correlation coefficient higher than 0.99. Yield stress and viscosity were calculated, being obtained the values of 88642 mPa.s to viscosity and 336.0 Pa to yield stress. Plastic flow of formulations containing the ammonium acryloyldimethyltaurate (Aristoflex® AVC) polymer, which is the gel former polymer present in the C-GC has already been reported. Recently, Savian (2012) described Casson model to hydrogels with the ammonium acryloyldimethyltaurate polymer containing anthralin polymeric nanocapsules²⁶. Similar result was found by Harter (2013), which observed non-Newtonian behavior and plastic flow on hydrogels containing tioconazole as nanocapsules, nanoemulsions and the drug in free form²⁷.

3.2 *In vitro* release study

Considering that small amounts of drugs are released in the initial times of the experiment, a revalidation of some parameters of the analytical method was performed. Linearity of the method was revalidated and regression study demonstrated the linear range of method in the range of 0.5 to 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ($y= 41287x + 87.46$; $r= 0.9999$).

The detection limit (DL) and quantitation limit (QL) were calculated using the following equations¹⁵: $DL= 3.3 \sigma / S$ and $QL= 10 \sigma / S$, where σ is the standard deviation of the response and S is the slope of calibration curve. The calculated values indicated a detection limit (DL) of 0.06 $\mu\text{g mL}^{-1}$ and a quantitation limit (QL) of 0.20 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Precision was evaluated in the level of repeatability ($n = 6$), considering acceptable $RSD < 2.0\%$. The low RSD values (0.52%) obtained indicated the precision of the method. Specificity was evaluated in the presence of the medium release components and it was demonstrated that the solvents did not altered desonide assay.

Drug release was determined by the slope of the curve obtained by plotting the average of desonide released per cm^2 as a function of the square root of time. Regression analysis was performed to each experiment cell. *In vitro* release study demonstrated that release profiles follow Higuchi's square root model since the cumulative amount of desonide released was linear and directly proportional to the

square root of time (Figure 3) ^{28,29,30}. C-GC presented lower release rate ($27.78 \pm 4.63 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \text{ h}^{1/2}$) than the D-GC ($33.43 \pm 3.07 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \text{ h}^{1/2}$). After 8 hours of experiment the amount of desonide released from the developed gel-cream was about $79.36 \pm 6.77 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ whereas for the commercial gel-cream the amount released was around $67.45 \pm 9.83 \mu\text{g}/\text{cm}^2$. The difference between the amount of desonide released from the formulations can be explained by the different composition of gel-creams, since the in vitro release is formulation dependent ²⁹.

3.3 Stability study

3.3.1 Photostability study

To the photostability study, 1.0 g of the D-GC was accurately weighted and spreaded on an opened petri plate, forming a thin layer and exposed to UVA radiation (352 nm) during 48 hours. At times, eight, 24, 36 and 48, samples ($n = 3/\text{time}$) were analyzed for desonide content. After 48 hours of exposure to UVA radiation, desonide remaining content was about 95.70% (Table 2). Recently, our research group evaluated the photostability of a desonide gel-cream commercially available. In this study, the author found that for the same irradiation conditions the residual content of desonide, after 48 hours of exposure was around 22.53% and the t_{90} was 3.6 hours (data not published). Results found on the photostability study of the D-GC, indicate the higher photostability when compared to the formulation commercially available, since after direct exposure to UVA radiation desonide content remained above 90%, the most common shelf life ³¹.

3.3.2 Accelerated and room temperature conditions

Stability of the D-GC was evaluated under accelerated condition ($40 \pm 2^\circ\text{C}/ 75 \pm 5\% \text{ RH}$) and at room temperature ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) for 60 days. Samples were analyzed for desonide content and possible alterations in formulation, such as changes in macroscopic appearance, viscosity and pH. Macroscopic analysis of gel-cream showed

no changes on gel-cream appearance, which remained with the same appearance and color. Regarding desonide content, it was observed decay on drug content after 60 days of storage at 40°C and 75% of relative humidity, being the residual desonide content 88.70%. However, at room temperature it was observed no decay on desonide content since the drug assay after 60 days of storage was around 103.3% (Table 3). This result showed the instability of D-GC under the accelerated conditions employed. Thus, care during transport and storage, in order to maintain adequate temperature, are required to maintain the stability of formulation.

Viscosity of D-GC during storage under accelerated condition and at room temperature can be seen in Table 3. It was observed a decay more prominent in the earliest 15 days of study. After 60 days, lower viscosity was verified to the formulation stored under accelerated condition, which was significantly different ($p < 0.05$) from the initial value. To the gel-cream stored at room temperature it was also observed decrease in viscosity, mainly at first 15 days. After this period, this characteristic remained almost constant, and despite the decrease observed in the first period, there was no evidence of significant difference between the final and initial value ($p > 0.05$). Decrease in viscosity during storage (4 months at room temperature and temperature cycle test) was also observed in gel-creams formulations containing a liquid oil phase, in formulations with Carbopol[®] 934 and Carboxymethylcellulose polymers⁴. Another study, which evaluated rheological behavior at 25 and 40°C of hydrophilic gels formed with Carbopol Ultrez[®], during 28 days, indicated that the temperature did not interfere on viscosity of formulations. Contreras, Diéguez and Soriano (2001) also found little change of this characteristic in Carbopol Ultrez[®] hydroalcoholic gels under variations of temperature (20-50°C)¹⁴. Thus, it can be suggested that the decreased viscosity of developed gel-cream during stability study is due to the presence of liquid oil phase.

Evaluation of spreadability of D-GC during stability study demonstrated evidence of no significant difference ($p > 0.05$) between the spreading factor of formulation after preparation and after 60 days stored at room temperature and under accelerated conditions, being maintained the spreadability profile. The pH determinations demonstrated evidence of no significant difference ($p > 0.05$) between the values obtained to gel-cream after preparation and after storage conditions (Table 3).

4. Conclusion

It was developed a gel-cream containing desonide with satisfactory physical-chemical characteristics: pH compatible with topical application, adequate drug content and pseudoplastic behavior. Besides, it presented better photostability profile than the commercial formulation available, since desonide content remained within most common specification limits to shelf-life. The *in vitro* release study demonstrated that gel-cream allows drug release from the formulation. D-GC also demonstrated to be stable during 60 days at room temperature since the chemical and physical characteristics were maintained on this condition.

5. References

1. ANSEL, H.C., POPOVICH, N.G, ALLEN. L. V. *Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos*. 6. Ed. Editorial Premier, 2000.
2. BLOCK, L.H. Medicação Tópica. In: GENNARO, A. R. *A Ciência e a Prática da Farmácia*. 20.Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.
3. GUPTA, P.; GARG, S. Recent advances in semisolid dosage forms for dermatological application. *Pharmaceutical Technologies*, p. 144-162, 2002.
4. MARQUARDT, D.; SUCKER, H., Oil-in-water emulsion gels: determination and mathematical treatment of flow properties. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v.46, p. 115-124, 1998.
5. LIRA, A.M., et al. Compatibility studies of lapachol with pharmaceutical excipients for the development of topical formulations. *Termochimica Acta*, v. 457, p. 1-6, 2007.
6. GRAU, P. S. Corticoides tópicos. Actualización. *Medicina Cutánea Ibero Latino Americana*, v. 34, n. 1, p. 33-38, 2006.
7. NICHOLS, W. K. Hormônios e antagonistas hormonais. In: GENNARO, A. R. *A ciência e a prática da farmácia*. 20. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan , 2004.

8. GELBARD, C. M., HEBERT, A. A. Desonide hydrogel: advances in vehicle technology. *Expert Review of Dermatology*, v. 4, n. 1, p. 23-27, 2009.
9. DEF, 2012/13. *Dicionário de Especialidades Farmacêuticas*. 41st. ed. Rio de Janeiro: EPUC, 2012.
10. BRAGA, M. P. Desonida: validação de métodos analíticos e estudo de fotoestabilidade de formulações. 2013. 99-100 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.
11. DALLA SANTA et al. Development and validation of a simple stability-indicating LC-method and UVA photostability of desonide hair lotion. *Current Analytical Chemistry*, v.9 p.659-667, 2013.
12. BRAGA, et al. Assay and photodegradation kinetics of desonide lotion by an LC-UV stability-indicating method. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. No prelo 2013.
13. TØNESSEN, H. H. Formulation and stability testing of photolabile drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 225, p. 1- 14, 2001.
14. CONTRERAS, M. J. F.; DIÉGUEZ, A. R.; SORIANO, M. M. J. Rheological characterization of hydroalcoholic gels -15% ethanol – of Carbopol® Ultrez™ 10. *IL Farmaco*, v. 56, p. 437-441, 2001.
15. ICH – International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. ICH Harmonised Tripartite Guideline: *Guideline on Validation of Analytical Procedure – Q2R1 Methodology*, 2005.
16. WATSON, D.G. *Pharmaceutical Analysis. A Textbook for Pharmacy Students and Pharmaceutical Chemists*; Elsevier Churchill Livingstone: Edinburgh, 2005.
17. RIGO, L.A et al. Evaluation of the spreadability of pharmaceutical or cosmetic semisolid formulations using scanned images. *Latin American Journal of Pharmacy*, v. 31, n.10, p. 1387-1391, 2012.
18. KIM, J.Y., et al. Rheological properties and microstructures of Carbopol network system. *Colloid and Polymer Science*, v. 281, p. 614-623, 2003.

- 19.FB 5 - FARMACOPEIA BRASILEIRA. 5ed. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília, 2010.
- 20.BRITISH, 2012. British Pharmacopoeia. London: The Stationary Office, 2012.
- 21.USP 35. THE UNITED STATES Pharmacopeia. 35 ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2012.
- 22.BORGHETTI, G. S.; KNORST, M. T. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de loções O/A contendo filtros solares. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v.42, n.4, p. 531-537, 2006.
- 23.CONTRERAS, M. J. F.; DIÉGUEZ, A. R.; SORIANO, M. M. J. Rheological characterization of hydroalcoholic gels -15% ethanol – of Carbopol® Ultrez™ 10. *IL Farmaco*, v. 56, p. 437-441, 2001.
- 24.CONTRERAS, M. J. F.;SANCHEZ, R. Application of a factorial design to the study of the flow behavior, spreadability and transparency of a Carbopol ETD 2020 gel. Part II. *International Journal of Pharmaceutics* v. 234, p. 149-157, 2002.
- 25.MARRIOTT, C. Reologia. In: AULTON, M. E. *Delineamento de Formas Farmacêuticas*. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- 26.SAVIAN, A. L. Desenvolvimento de nanocápsulas contendo ditranol e sua incorporação em formulação semissólida de base aquosa. 2012. 114p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.
- 27.HARTNER, A. G. Nanoemulsões e nanocápsulas poliméricas contendo tioconazol: preparação, caracterização e incorporação em géis hidrofílicos. 2013. 87 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.
- 28.SHAH, V. P. et al. In vitro release of hydrocortisone from topical preparations and automated procedure. *Pharmaceutical Research*. v. 8, n. 1, p. 55-59, 1991.
- 29.FLYNN, G.L. et al. Assessment of value and applications of in vitro testing of topical dermatological drug products. *Pharmaceutical Research*, v. 16, n.9, p. 1325-1330, 1999.

30.HAUCK et al. Reliability and reproductibility of vertical diffusion cells for determining release rates from semisolid dosage forms. *Pharmaceutical Research*, v. 24, n.11, p. 2018-2024, 2007.

31.CARSTENSEN, J. T.; RHODES, C. T. *Drug stability. Principles and Practices*. New York: Informa Healthcare, 2007.

Figures

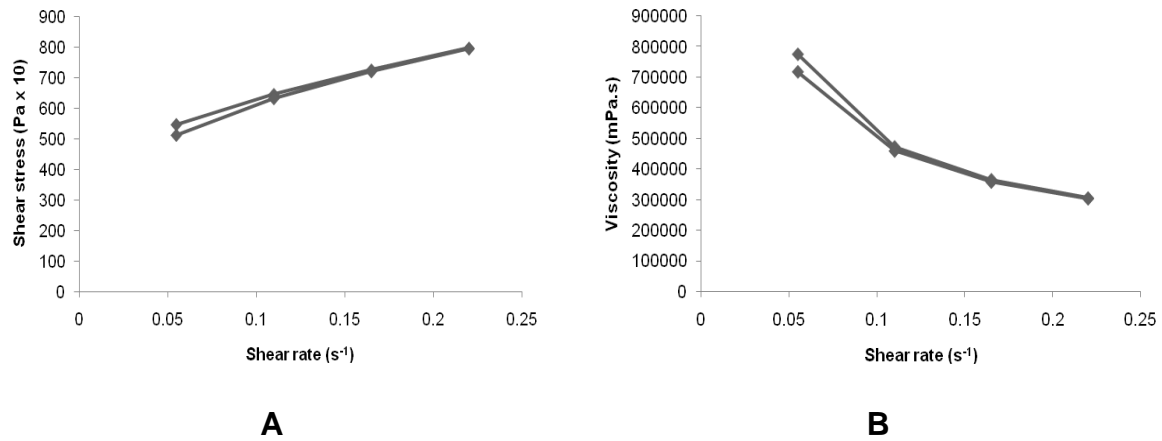


Figure 1- Rheogram (A) and graphical representation of D-GC viscosity (mPa.s) as function of shear rate (s⁻¹) (B).

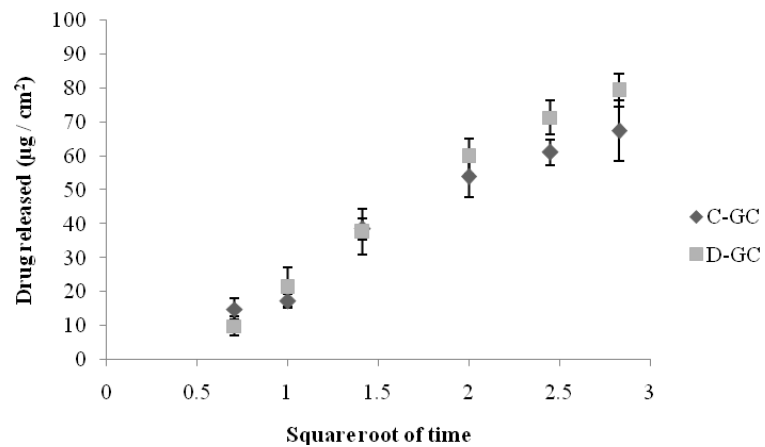


Figure 2- Release profile of desonide from D-GC and C-GC (n = 6), according to Higuchi's model.

Tables

Table 1- Quali-quantitative composition of the developed gel-cream (D-GC)

Component	Quantity (% w/w)
Carbopol Ultrez [®] 10 NF	0.5
Imidazolidynil urea	0.6
Triethanolamine	0.2
Desonide	0.05
Benzophenone-3	0.1
Grape seed oil	3.0
BHT	0.5
Tween 80 [®]	0.8
Ultrapure water	q.s.p 100 g

Table 2- Desonide remaining content on photostability study (UVA, 352 nm)

Time (hours)	Desonide remaining content (%) \pm SD
0	100.00 \pm 0.52
8	99.96 \pm 0.30
24	98.85 \pm 1.18
36	96.81 \pm 0.07
48	95.70 \pm 1.12

Table 3- Physicochemical characteristics of D-GC during stability study under accelerated and room temperature conditions (mean \pm SD)

	Time (days)	Drug content (%)	pH	Viscosity (mPas x 10 ³)	Spreadability factor (mm ² g ⁻¹)
Accelerated conditions	0	100.00 \pm 1.09	6.29 \pm 0.08	439372 \pm 71574	5.06 \pm 0.38
	7	99.80 \pm 2.27	6.40 \pm 0.14	354484 \pm 3510	5.00 \pm 0.18
	15	93.25 \pm 2.01	6.36 \pm 0.11	290498 \pm 18018	5.05 \pm 0.06
	30	91.00 \pm 0.28	6.30 \pm 0.14	259571 \pm 38136	4.44 \pm 0.57
	60	88.70 \pm 0.48	6.38 \pm 0.24	245494 \pm 4539	4.63 \pm 0.51
Room temperature	0	100.00 \pm 0.32	6.20 \pm 0.11	412072 \pm 100444	4.97 \pm 0.96
	7	101.00 \pm 4.55	6.27 \pm 0.16	396075 \pm 10858	4.66 \pm 0.08
	15	104.91 \pm 3.20	6.12 \pm 0.09	301055 \pm 161525	4.15 \pm 0.02
	30	102.81 \pm 0.85	6.19 \pm 0.10	291777 \pm 131222	4.11 \pm 0.20
	60	103.35 \pm 0.19	6.15 \pm 0.11	307774 \pm 19002	4.84 \pm 0.96

6. DISCUSSÃO

Este trabalho foi iniciado a partir da constatação, por nosso grupo de pesquisa, da fotoinstabilidade da desonida em formulações tópicas disponíveis comercialmente. A avaliação da estabilidade do fármaco, nas formas farmacêuticas loção capilar, loção cremosa e gel creme demonstrou acentuada diminuição no teor de fármaco nas diferentes preparações, após exposição direta à radiação UVA. Nas condições avaliadas, o tempo para que o teor de fármaco fosse reduzido a 90% (t_{90}), foi de 1,7; 1,6 horas e 3,7 horas para as formulações de loção capilar, loção cremosa e gel creme, respectivamente (DALLA SANTA et al., 2013; BRAGA et al., 2013; BRAGA, 2013). No entanto, as bulas destes medicamentos não trazem informações quanto à fotoproteção ou não exposição à radiação solar após a aplicação dos mesmos e recomendam o uso dos medicamentos durante o dia e à noite (DESONOL[®] loção capilar; DESONOL[®] loção cremosa; ADINOS[®]). Os resultados demonstraram maior fotodegradação do fármaco na loção capilar e loção cremosa do que no gel creme.

Os corticoides são considerados fármacos com potencial fotorreativo. Uma vez que a foto-oxidação foi relatada para corticoides como hidrocortisona, cortisona e seus acetatos, no estado sólido, a proteção à luz é indicada para esta classe de fármacos (ALBINI; FASANI, 1998). Iqbal, Husain e Gupta (2006) avaliaram a fotoestabilidade da desonida, matéria-prima, solubilizada em solventes orgânicos frente às radiações UVB e UVC e verificaram que esta sofre degradação nestas condições. Frente à radiação UVC, os autores reportaram a ocorrência de um rearranjo na cetona conjugada do anel A, já a quebra da ligação entre os carbonos 17 e 20 foi relatada após exposição à radiação UVB (IQBAL; HUSAIN; GUPTA, 2006). Resultados semelhantes foram obtidos para outros corticoides avaliados frente a estas radiações (RICCI et al., 2003).

Sabe-se que da radiação ultravioleta que atinge a Terra, 95% compreende a região UVA e 5% a região UVB (POLEFKA et al., 2011). Dessa forma, considerando a instabilidade das formulações de desonida frente à radiação UVA, após aplicação dos medicamentos e exposição à radiação solar, o fármaco estaria suscetível à fotólise. A

degradação química e física dos fármacos pode modificar seu efeito farmacológico resultando em alterações no efeito terapêutico e toxicológico (YOSHIOKA; STELLA, 2002).

Entre as reações químicas responsáveis pela instabilidade de fármacos e medicamentos estão a hidrólise, isomerização e racemização, eliminação, oxidação e fotólise (YOSHIOKA; STELLA, 2002). A hidrólise e oxidação podem ser consideradas os processos mais frequentes na instabilidade de fármacos, sendo que a oxidação pode ser catalisada pela presença de luz. Quando atuam como fotocalisadores, as ondas de luz transferem energia, na forma de fótons, para as moléculas do fármaco, tornando-as mais reativas (ANSEL; POPOVICH; ALLEN, 2000).

Dessa forma, inicialmente, avaliou-se a capacidade de antioxidantes em proteger a desonida da fotodegradação, em loção capilar. A análise da composição da formulação comercial indicou tratar-se de uma solução orgânica, sendo a acetona o excipiente em maior proporção. Foram preparadas soluções capilares com composição qualitativa idêntica à formulação disponível comercialmente, adicionadas de antioxidantes como BHA, BHT, α -tocoferol e ácido ascórbico e estas foram expostas à radiação UVA em câmara espelhada internamente durante 15 horas. Optou-se por denominá-las “soluções capilares”, termo que melhor descreve a formulação em estudo. A fim de que a reação de oxidação pudesse ser evitada em qualquer uma de suas etapas, foram selecionados antioxidantes com diferentes mecanismos de ação. Para fins comparativos também foi preparada solução capilar sem adição de antioxidantes, denominada formulação comercial simulada. O teor de fármaco foi quantificado utilizando-se método analítico por CLAE validado em trabalhos anteriores (DALLA SANTA et al., 2013). Os resultados obtidos indicaram que os antioxidantes adicionados às formulações não foram eficazes em evitar a fotólise da desonida, visto que a degradação nas soluções com antioxidantes foi similar à observada na formulação comercial simulada. Tal resultado sugere o não envolvimento de mecanismos oxidativos na degradação da desonida em solução capilar de composição orgânica.

Outra abordagem para prevenir a degradação de fármacos fotoinstáveis em preparações farmacêuticas é a incorporação de substâncias com espectro de absorção semelhante ao do fármaco que se quer estabilizar. Isso é conhecido como princípio da

sobreposição espectral e baseia-se no bloqueio dos comprimentos de onda de maior absorção do fármaco fotoinstável (THOMA; KLIMECK, 1991; TØNESSEN, 2004). A adição de filtros ultravioleta nas preparações pode ser utilizada para esta finalidade (TØNESSEN, 2004). A benzofenona-3 é um filtro UV orgânico comumente utilizado em filtros solares e preparações tópicas. É considerado um filtro UV de amplo espectro, por absorver na faixa UVA e UVB (THE MERCK, 2006).

Para verificar a capacidade da BZ-3 em evitar a fotodegradação da desonida, diferentes concentrações da mesma foram adicionadas às soluções capilares. Todas as concentrações testadas (2,5; 1,25; 0,6; 0,3 e 0,15%) demonstraram ser efetivas. No entanto, houve diferença significativa entre os teores obtidos nas formulações contendo BZ-3 na concentração 0,15% e as demais. Assim, numa análise preliminar, a solução capilar de desonida contendo BZ-3 a 0,3% apresentou a melhor fotoestabilidade e foi selecionada para as etapas subsequentes. Quanto ao aspecto macroscópico, a formulação apresentou-se transparente, levemente amarelada, devido à presença da BZ-3, e com odor característico da acetona.

A análise cromatográfica das soluções capilares contendo BZ-3 através do método proposto por Dalla Santa e colaboradores (2013) resultou em elevado tempo de retenção da BZ-3 (aproximadamente 25 minutos), dificultando a análise das amostras. A fim de diminuir o tempo de retenção do filtro UV, novas condições analíticas foram adotadas e o método foi validado. Para a validação do método analítico foram avaliados os parâmetros de especificidade, linearidade, precisão e exatidão. O método demonstrou ser específico, pois não houve interferência dos excipientes na quantificação da desonida, linear (na faixa de 5 a 100 µg/mL), preciso, em níveis de repetibilidade e precisão intermediária, com valores de DPR inferiores a 2,0%, e exato, uma vez que os parâmetros de especificidade, linearidade e precisão foram atendidos (ICH, 2005).

O estudo da fotoestabilidade da formulação contendo BZ-3 a 0,3% frente à radiação UVA, por 15 horas, indicou a estabilidade do fármaco durante o período, uma vez que ao término da exposição o teor residual de desonida obtido foi de $98,61 \pm 0,64\%$. Paralelamente ao doseamento da desonida na formulação, avaliou-se o possível decaimento da concentração de BZ-3 através da análise das áreas dos picos

cromatográficos ao longo do estudo de fotoestabilidade. Verificou-se que ao término do período de exposição houve pequeno decréscimo na área do pico cromatográfico da BZ-3, indicando boa fotoestabilidade deste filtro UV, anteriormente relatada por outros autores (ALBINI; FASANI, 1998; KOCKLER et al., 2012).

Estudo de estabilidade complementar foi realizado, empregando-se a radiação UVC (254 nm), que embora não atinja a superfície terrestre, por ser mais energética permite avaliar a fotoestabilidade da formulação frente a condições mais drásticas. A solução capilar desenvolvida e a comercial simulada foram expostas a esta condição durante oito horas e a cinética de degradação foi determinada. Após quatro horas de exposição, a formulação desenvolvida apresentou teor de desonida de $71,31 \pm 2,60$. A cinética de degradação foi de primeira ordem ($y = -0,075x + 3,905$; $r = 0,9954$) e o valor de t_{90} foi de 1,41 horas. Para a formulação comercial simulada, nas mesmas condições, a cinética de degradação seguiu ordem zero ($y = -6,746x + 49,38$; $r = 0,9954$) com valor de t_{90} de 0,64 horas e teor de desonida de 44,45% após quatro horas de exposição. Os resultados obtidos demonstraram que a BZ-3 também se mostrou eficaz em prevenir a degradação da desonida; entretanto, de forma mais discreta, uma vez que este filtro apresenta pequena absorção na região UVC.

Após a avaliação da fotoestabilidade, a estabilidade das formulações foi avaliada em condições usuais de armazenamento. Para isso, amostras das soluções capilares foram mantidas em câmara climática a $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e $75 \pm 5\%$ de umidade relativa e em temperatura ambiente ($20 \pm 2^{\circ}\text{C}$) durante 70 dias. As amostras das soluções capilares foram acondicionadas em frascos de vidro âmbar, bem fechados. Sabe-se que a embalagem primária consiste no dispositivo de acondicionamento que está em contato direto com o produto e por isso, deve conter e restringir os riscos químicos, climáticos e biológicos que possam causar ou conduzir à deterioração do produto. Além disso, deve ser de fácil manuseio, a fim de facilitar a administração do medicamento (DEAN, 2005). Considerando-se a volatilidade da acetona e a aplicação no medicamento no couro cabeludo, pode-se sugerir como embalagens para o acondicionamento da formulação desenvolvida frasco âmbar de vidro com conta gotas ou frasco de plástico branco leitoso com conta gotas.

As análises realizadas durante o período de armazenamento mostraram que não houve alterações nas características macroscópicas das formulações, sendo mantidos a cor e odor verificados logo após o preparo das mesmas. Durante o estudo de estabilidade acelerado foi evidenciado decréscimo no teor de desonida, tanto na formulação desenvolvida, como na formulação comercial simulada, sendo obtidos os teores de $94,13 \pm 1,14\%$ e $88,33 \pm 0,84\%$, respectivamente, após 70 dias de estudo. Em temperatura ambiente, os teores das formulações mantiveram-se próximos de 100%, demonstrando maior estabilidade nesta condição. A maior estabilidade em temperatura ambiente é esperada, pois aumento na temperatura favorece a velocidade de degradação e alterações físicas nas preparações farmacêuticas (LACHMAN; DeLUCA; AKERS, 2001; YOSHIOKA; STELLA, 2002; ICH, 2003; CARSTENSEN; RHODES, 2007).

Após a constatação do efeito de fotoproteção da BZ-3 sobre a desonida em solução capilar, iniciou-se o desenvolvimento de formulação semissólida do tipo gel, abordada no Capítulo 2. Os primeiros testes realizados previam o desenvolvimento de hidrogel contendo BZ-3 como estabilizante. No entanto, devido à lipofilicidade do filtro UV, não foi possível a incorporação da benzofenona-3 na formulação hidrogel. Sendo assim, optou-se por preparar formulação gel creme, que teve por base a composição e o preparo descrito por Rigo, Rascovetzki e Beck (2011), os quais desenvolveram formulações filtro solares contendo BZ-3 (RIGO; RASCOVETZKI; BECK, 2011). O gel creme foi preparado a partir da homogeneização de suas fases, uma aquosa, contendo o polímero formador de gel e o conservante, e outra oleosa, contendo o fármaco, óleo de semente de uva, a BZ-3, polissorbato 80 e BHT. A formulação apresentou-se de cor branca homogênea. O teor de fármaco foi determinado por CLAE. Testes iniciais indicaram que a BZ-3 na concentração de 0,1% foi efetiva em evitar a fotólise da desonida na formulação gel creme desenvolvida (GC-D), e dessa forma, optou-se por utilizar essa concentração do filtro UV na preparação.

O método analítico foi validado avaliando-se os parâmetros de especificidade, linearidade, precisão e exatidão. Este demonstrou ser específico, não apresentando co-eluição de interferentes com o pico da desonida, linear na faixa de 5 a 100 $\mu\text{g/mL}$, preciso, com valores de DPR inferiores a 2,0% (nos níveis de repetibilidade e precisão

intermediária) e exato, inferido pelo cumprimento dos parâmetros de especificidade, linearidade e precisão (ICH, 2005).

Durante o desenvolvimento de formas farmacêuticas semissólidas, algumas características como propriedades reológicas, estabilidade, pH aparente, mudanças físicas e teor do princípio ativo devem ser avaliadas (ANSEL; POPOVICH, ALLEN, 2000; BARRY, 2005). Em relação às características reológicas, o GC-D apresentou características de fluxo não-newtoniano, sem tixotropia, com propriedades pseudoplásticas, ajustado ao modelo de Herschel-Bulkley. Resultados semelhantes foram encontrados para as formulações desenvolvidas por Rigo, Rascovetzki e Beck (2011) e hidrogéis de Carbopol Ultrez[®], contendo nanocápsulas de dexametasona (MARCHIORI et al., 2010). Formulações pseudoplásticas têm sua viscosidade reduzida quando submetidas a tensões de cisalhamento crescentes, existindo um valor de viscosidade aparente para cada valor da taxa de cisalhamento (SCHOTT, 2000). Quanto à formulação gel creme comercialmente disponível (GC-C), esta apresentou fluxo não-newtoniano, plástico do tipo Casson e não apresentou tixotropia. O modelo Casson caracteriza-se por apresentar tensão de cisalhamento inicial (valor de cedência) para iniciar o fluxo (LACHMAN; DELUCA; AKERS, 2001). A avaliação da espalhabilidade das formulações GC-D e GC-C demonstrou que estas possuem fatores de espalhabilidade de 5,07 e 3,40 mm²/g, respectivamente, o que indica que o gel creme desenvolvido espalha-se sobre maior área quando a mesma força é aplicada para ambas as formulações. Os valores de pH da formulação desenvolvida estiveram na faixa de 6,0, valor compatível com a aplicação tópica. Dessa forma, as características físico-químicas da formulação desenvolvida foram consideradas satisfatórias.

O perfil de liberação *in vitro* do fármaco a partir do D-GC foi avaliado utilizando célula de difusão do tipo Franz. Os resultados indicaram a liberação de aproximadamente 79 µg/cm² do fármaco, em oito horas de experimento. O ensaio de liberação *in vitro* do fármaco a partir do GC-C, conduzido da mesma forma, resultou na liberação de 67 µg/cm² do fármaco. Diferenças nos perfis de liberação de fármacos podem ser esperadas, uma vez que este é dependente da formulação (FLYNN et al., 1999) e as formulações avaliadas apresentam diferentes composições. Ambas

seguiram o modelo de Higuchi, onde a velocidade de liberação varia em função da raiz quadrada do tempo (SHAH et al., 1991; FLYNN et al., 1999; HAUCK et al., 2007).

A avaliação da fotoestabilidade do D-GC foi realizada através da exposição da preparação à radiação UVA durante 48 horas. Após o período de exposição, o teor remanescente de desonida foi de 95,70%, confirmando a fotoestabilidade da formulação, visto que para as mesmas condições o teor de fármaco no C-GC foi de 22,53%.

A estabilidade do GC-D foi avaliada em temperatura ambiente ($20 \pm 2^{\circ}\text{C}$) e sob condições aceleradas ($40 \pm 2^{\circ}\text{C} / 75 \pm 5\% \text{ UR}$) durante 60 dias. Neste período, amostras da formulação foram avaliadas quanto a modificações macroscópicas, como aparência, viscosidade, espalhabilidade, pH e teor de fármaco. As amostras do GC-D foram acondicionadas em potes de plástico de parede dupla. Em condições aceleradas, a formulação apresentou instabilidade físico-química visto que houve decréscimo significativo em sua viscosidade e redução no teor de desonida, superior a 10% ao final do período de avaliação. No estudo de estabilidade à temperatura ambiente, não foram verificadas alterações significativas nas características físico-químicas da formulação e os teores de fármaco mantiveram-se próximos de 100% durante o período do estudo. Este resultado indica que a formulação é sensível a temperaturas elevadas, situação que pode ocorrer durante o transporte dos medicamentos. Dessa forma, o armazenamento em temperaturas próximas aos 25°C é fundamental para que a formulação mantenha sua estabilidade.

O conjunto dos resultados obtidos neste trabalho demonstrou o desenvolvimento de formulações de uso tópico, nas formas farmacêuticas líquida (solução capilar) e semissólida (gel creme) com fotoestabilidade superior aos produtos disponíveis comercialmente. A adição do filtro UV benzofenona-3 à formulação qualitativamente idêntica à comercial demonstrou que este filtro foi capaz de prevenir a fotodegradação da desonida nesta formulação. O estudo da estabilidade da formulação solução capilar demonstrou a estabilidade durante 70 dias sob condições ambiente e acelerada. O gel creme desenvolvido apresentou características físico-químicas satisfatórias e também evidenciou a habilidade da BZ-3 de prevenir a fotodegradação da desonida na preparação. A eficiência da menor concentração de BZ-3 empregada na formulação

semissólida pode ser devido a sua maior viscosidade, que pode influenciar na absorção de radiação pela formulação. Em formulações mais viscosas a radiação tende a atingir as moléculas das camadas mais externas, protegendo as demais moléculas da degradação (TØNESSEN, 2004). O gel creme desenvolvido apresentou estabilidade adequada em temperatura ambiente durante o período de 60 dias. Como perspectivas para a continuidade deste trabalho pode-se citar a avaliação da permeação cutânea da desonida a partir da formulação semissólida, a avaliação biológica das formulações, como a determinação do potencial irritante, bem como a continuidade da avaliação da estabilidade durante o armazenamento.

7. CONCLUSÕES

- Os diferentes antioxidantes adicionados à solução capilar não aquosa de desonida a 0,1% não foram efetivos em prevenir a fotodegradação do fármaco frente à radiação UVA;
- O filtro UV benzofenona-3 preveniu a fotodegradação da desonida em solução capilar não aquosa, frente à radiação UVA durante 15 horas, mesmo em baixas concentrações;
- A solução capilar de desonida a 0,1% adicionada de benzofenona-3 na concentração de 0,3% apresentou fotoestabilidade superior ao produto comercial, nas mesmas condições experimentais;
- A BZ-3 mostrou-se efetiva inclusive na faixa UVC, visto que a velocidade da degradação da desonida em solução capilar foi cerca de duas vezes menor quando comparada à formulação similar, sem esse componente;
- O estudo de estabilidade demonstrou que a solução capilar desenvolvida mostrou-se estável pelo período de 70 dias, em temperatura ambiente e a 40°C, com teores mantidos dentro do limite aceitável como prazo de validade mais usual.
- A formulação semissólida desenvolvida do tipo gel creme contendo desonida a 0,05% e BZ-3 a 0,1% apresentou características físico-químicas satisfatórias para a aplicação tópica;
- O estudo de fotoestabilidade com radiação UVA do gel creme demonstrou que a formulação apresentou fotoestabilidade superior ao gel creme disponível comercialmente;

- A avaliação da estabilidade do gel creme demonstrou que a preparação manteve-se estável, em temperatura ambiente, durante 60 dias. No entanto, o estudo em condições aceleradas indicou que a formulação necessita ser mantida à temperatura ambiente para que mantenha sua estabilidade físico-química;
- As formulações desenvolvidas neste trabalho podem ser uma alternativa às disponíveis comercialmente, pois apresentaram características satisfatórias e fotoestabilidade superior aos produtos comerciais.

8. REFERÊNCIAS

ADINOS: gel creme. Responsável técnico Dr. Wilson R. Farias. Guarulhos: Aché, 2013. Bula de remédio.

ALBINI A.; FASANI E. *Drugs: Photochemistry and Photostability*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 1998.

ALBINI, A; FASANI, E. Rationalizing the photochemistry of drugs. In: TONESSEN, H.H. *Photostability of drugs and drug formulations*. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press LLC, 2004.

ANSEL, H.C.; POPOVICH, N.G; ALLEN, L.V. *Formas Farmacêuticas & Sistemas de Liberação de Fármacos*. 6 ed. São Paulo: Editorial Premier, 2000.

BARRY, B. Liberação Transdérmica de Fármacos. In: AULTON, M. E. *Delineamento de Formas Farmacêuticas*, 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

BARRY, B. W. *Dermatological formulations: percutaneous absorption*. Vol. 18, New York: Marcel Dekker, 1983.

BHANKHARIA, D. A.; SANJANA, P. H. Efficacy of desonide 0.05% cream and lotion in steroid-responsive dermatoses in Indian patients: A post-marketing surveillance study. *Indian Journal of Dermatology Venereol Leprol*, v. 70, n. 5, p.288-291, 2004.

BIANCHI, A.; MARCHETTI, N.; SCALIA, S. Photodegradation of (-) epigallocatechin-3-gallate in topical cream formulations and its photostabilization. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 56, p. 692-697, 2011.

BLOCK, L.H. Medicação Tópica. In: GENNARO, A. R. *A Ciência e a Prática da Farmácia*. 20. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

BRAGA, M.P et al. Assay and Photodegradation Kinetics of Desonide Lotion by an LC-UV Stability-Indicating Method. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 2013. No prelo.

BRAGA, M.P. Desonida: validação de métodos analíticos e estudo de fotoestabilidade de formulações, 2013. 121 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Resolução nº 01 de 29 de julho de 2005*. Guia para a realização de estudos de estabilidade. Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Resolução nº 47 de 16 de março de 2006*. Aprova o Regulamento Técnico Lista de Filtros Ultravioleta Permitidos para Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Resolução nº 45 de 9 de agosto de 2012*. Dispõe sobre a realização de estudos de estabilidade de insumos farmacêuticos ativos.

BRISAERT, M.; VERCARMEN, P. J. Investigation on the photostability of a tretinoin lotion and stabilization with additives. *International Journal of Pharmaceutics*, n.199, p. 49-57, 2000.

CARSTENSEN, J. T.; RHODES, C. T. *Drug stability. Principles and Practices*. New York: Informa Healthcare, 2007.

CATHCART, S.D, THEOS, A. Inpatient management of atopic dermatitis. *Dermatology Therapy*, v. 24, p. 249-255, 2011.

CHORILLI, M., LEONARDI, R.G., SALGADO, N. R. H. Radicais livres e antioxidantes: conceitos fundamentais para aplicação em formulações farmacêuticas e cosméticas. *Revista Brasileira de Farmácia*, v. 88 (3), p. 113 -118, 2007.

COLIPA. The European Cosmetics Association. 2006. *Opinion on Benzophenone-3*.

DALLA SANTA, F. et al. Development and validation of a simple stability-indicating LC-method and UVA photostability study of desonide hair lotion. *Current Analytical Chemistry*, v.9, p. 659-667, 2013.

DEAN, D. Embalagem e acondicionamento. In: AULTON, M. E. *Delineamento de Formas Farmacêuticas*. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

DEF, 2012/13. *Dicionário de Especialidades Farmacêuticas*. 41 ed. Rio de Janeiro: EPUC, 2012.

DEL ROSSO, J., FRIEDLANDER, S.F. Corticosteroids: Options in the area of steroid-sparing therapy. *Journal of American Academy of Dermatology*, v. 53, n. 1, p. 50-58, 2005.

DESONOL: loção capilar. Responsável técnico Miriam Onoda Fujisawa. Campinas: Medley, 2012. Bula de remédio.

DESONOL: loção cremosa. Responsável técnico Miriam Onoda Fujisawa. Campinas: Medley, 2013. Bula de remédio.

FDA. United States Food and Drug Administration. 2010. *OTC Active Ingredients*.

FDA. United States Food and Drug Administration. Disponível em <
<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/drugsatfda/index.cfm>> Acesso em: 13 ago.
2013.

FERREIRA, A.O. *Guia Prático da Farmácia Magistral*. 3 ed. São Paulo: Pharmabooks,
2008.

FLOR, J.; DAVOLOS, M. R.; CORREA, M. A. Protetores solares. *Química Nova*, v. 30,
n. 1, p. 153-158, 2007.

FLYNN, G.L. et al. Assessment of value and applications of in vitro testing of topical
dermatological drug products. *Pharmaceutical Research*, v. 16, n.9, p. 1325-1330, 1999.

GASPAR, L.R., MAIA CAMPOS P.M.B.G. Photostability and efficacy studies of topical
formulations containing UV filters combination and vitamin A, C and E. *International
Journal of Pharmaceutics*, n. 343, p. 191-189, 2007.

GELBARD, C. M., HEBERT, A. A. Desonide hydrogel: advances in vehicle technology.
Expert Review of Dermatology., v. 4, n. 1, p. 23-27, 2009.

GONZALEZ, H., et al. Percutaneous absorption of the sunscreen benzophenone-3 after
repeated whole body applications, with and without ultraviolet irradiation. *Photobiology*,
v. 154, p. 337-340, 2006.

GONZALEZ, H.; FARBROT, A.; LARKO, O. Percutaneous absorption of benzophenone-
3, a common component of topical sunscreen. *Clinical and Experimental Dermatology*,
v. 27, p. 691-694, 2002.

GRAU, P. S. Corticoides tópicos. Atualización. *Medicina Cutánea Ibero Latino
Americana.*, v. 34, n. 1, p. 33-38, 2006.

HAYDEN, C.G., ROBERTS, M.S.; BENSON; HA. Systemic absorption of sunscreen after topical application. *Lancet*, v. 35, p.683-684, 1997.

HENGGE, U. R., et al. Adverse effects of topical glucocorticosteroids. *Journal of American Academy Dermatology*, v. 54, n. 1, p. 1-15, 2006.

HUGHES, J.; RUSTIN, M. Corticosteroids. *Clinics in Dermatology*, v. 15, p. 715-721, 1997.

ICH – International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. ICH Harmonised Tripartite Guideline: *Guideline on Validation of Analytical Procedure – Q2R1 Methodology*, 2005.

ICH - International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. ICH Harmonised Tripartite Guideline: *Stability Testing: Photostability testing of new drugs substances and products*, Q1B, 1996.

ICH - International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. ICH Harmonised Tripartite Guideline: *Stability Testing of New Drug Substances and Products - Q1A (R2)* 2003.

IQBAL, J; HUSAIN, A.; GUPTA, A. Photochemistry of desonide, a non-fluorinated steroidal anti-inflammatory drug. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, v. 54, n. 6, p. 836-838, 2006.

JANJUA, N. R., et al. Systemic Absorption of the Sunscreens Benzophenone-3, Octyl-Methoxycinnamate, and 3-(4-Methyl Benzilidene) Camphor after Whole-Body Topical Application and Reproductive Hormone Levels in Humans. *Journal of Investigative Dermatology*, v. 123, p. 57-61, 2004.

KOCKLER, J. et al. Photostability of sunscreens. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry reviews*, v. 13, p. 91-110, 2012.

LACHMAN, L.; DeLUCA, P.; AKERS, A. J. Testes de estabilidade e fundamentos de cinética química. In: LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H. A.; KANIG, J. L. *Teoria e prática na indústria farmacêutica*, v.2. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001.

LIRA, A.M., et al. Compatibility studies of lapachol with pharmaceutical excipients for the development of topical formulations. *Termochimica Acta*, v. 457, p. 1-6, 2007.

MARCHIORI, M. et al. Hydrogel containing dexamethasone-loaded nanocapsules for cutaneous administration: preparation, characterization and in vitro drug release. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 36, n. 8, p. 962-971, 2010.

MARQUARDT, D.; SUCKER, H. Oil-in-water emulsion gels: determination and mathematical treatment of flow properties. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 46, p. 115-124, 1998.

MOORE, D. E. Photophysical and photochemical aspects of drug stability. In: TØNESSEN, H.H. *Photostability of drugs and drug formulations*. 2nd. ed. Boca Raton: CRC Press LLC, 2004.

MOROHOSHI, K., et al. Estrogenic activity of 37 components of commercial sunscreen lotions evaluated by in vitro assays. *Toxicology in vitro*, v. 19, p. 457-469, 2005.

NICHOLS, W. K. Hormônios e antagonistas hormonais. In: GENNARO, A. R. *A ciência e a prática da farmácia*. 20. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. cap. 77, p. 1421.

NOHYNEK, G. J.; SCHAEFER, H. Benefit and Risk of organic ultraviolet filters. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v. 33, p. 285-299, 2001.

NUDELMAN, N. E. E. *Estabilidad de medicamentos*. Buenos Aires: El Atheneu, 1975.

ONOUE, S.; TSUDA, Y. Analytical Studies on the Prediction of Photosensitive/Phototoxic Potential of Pharmaceutical Substances. *Pharmaceutical Research*, v. 23, n.1, p. 156-164, 2006.

PARISER, D. Topical corticosteroids and topical calcineurin inhibitors in the treatment of atopic dermatitis: focus on percutaneous absorption. *American Journal of Therapeutics*, v. 16, p. 264-273, 2009.

POLEFKA, T.G., et al. Effects of solar radiation on the skin. *Journal of Cosmetic Dermatology*, n.11, p. 134-143, 2011.

RICCI, et al. General patterns in the Photochemistry of Pregna-1,4-dien-3,20-diones. *The Journal of Organic Chemistry*, v. 68, p. 4361-4366, 2003.

RIGO, L.A, RASCOVETZKI, R. H., BECK, R. C. R. Sunscreen formulations containing rice bran or soybean oil: Rheological properties, spreadability and in vitro Sun Protection Factor. *Latin American Journal of Pharmacy*, v. 30, n.2, p. 246-252, 2011.

ROOS, T. C. et al. Recent advances in treatment strategies for atopic dermatitis. *Drugs*, v. 64, n 23, p. 2639-2666, 2004.

SAMBANDAN, D. R.; RATNER, D., Sunscreens: An overview and update. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 64, p. 748-758, 2011.

SCHLECHT, C. et al. Effects of estradiol, benzophenone-2, benzophenone-3 on the expression pattern of the estrogen receptors (ER) alpha and beta, the estrogen receptor-related receptor 1 (ERR1) and the aryl hydrocarbon receptor (AhR) in adult ovariectomized rats. *Toxicology*, v. 205, p. 123-130, 2004.

SCHOTT, H. Reologia In: *A Ciência e Prática da Farmácia*. 20. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

SCI FINDER WEB - CAS Chemical Abstracts Service. Disponível em: <<https://scifinder.cas.org/scifinder/view/scifinder/scifinderExplore.jsf>>. Acesso em: 12 jul. 2013.

SERPONE, N.; DONDI, D.; ALBINI, A., Inorganic and Organic UV filters: Their role and efficacy in sunscreens and suncare products. *Inorganica Chimica Acta*, v. 360, p. 794-802, 2007.

SHAH, V. P. et al. In vitro release of hydrocortisone from topical preparations and automated procedure. *Pharmaceutical Research*. V. 8, n. 1, p. 55-59, 1991.

SILVA, K.E.R. et al. Modelos de avaliação da estabilidade de fármacos e medicamentos para a indústria farmacêutica. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 30, n. 2, p. 1-8, 2009.

SUZUKI, T. et al. Estrogenic and androgenic activities of 17 benzophenones derivatives used as UV stabilizers and sunscreens. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 203 p. 9-17, 2005.

THE MERCK Index. 14. ed. Rahway: Merck & co. 2006.

THOMA, K.; KLIMECK, R. Photostabilization of drugs in dosage forms without protection from packaging materials. *International Journal of Pharmaceutics*, n. 67, p. 169-175, 1991.

THOMPSON, J. E., *A prática farmacêutica na manipulação de medicamentos*. 1. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

TØNESSEN, H. H. Photostability testing of drugs and drug formulations-Why and How?

In: TØNESSEN, H. H. *Photostability of drugs and drug formulations*. 2.nd ed. Boca Raton: CRC Press LLC, 2004.

USP 35. THE UNITED STATES Pharmacopeia. 35 ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2012.

WIEDERSBERG, S., LEOPOLD, C.S., GUY, R.H. Bioavailability and bioequivalence of topical glucocorticoids. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 68, p. 453-466, 2008.

WONG, V. K., FUCHS, B., LEBWOHL, M. Overview on desonide 0.05%: A Clinical safety profile. *Journal of Drugs in Dermatology*, v. 3, n. 4, p.393-397, 2004.

WYATT, E. L.; SUTTER, S. H.; DRAKE, L. A. Farmacologia dermatológica. In: GOODMAN, L. S. *Goodman & Gilman: As bases farmacológicas da terapêutica*. Seção XIV: Dermatologia. 10. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2004. cap. 65, p. 1351-1352.

YENTZER, B.A. et al. Good adherence and early efficacy using desonide hydrogel for atopic dermatitis: Results from a program addressing patient compliance. *Journal of Drugs in Dermatology*, v. 9, n. 4, p. 324-329, 2010.

YESUDIAN, P.D.; KING, C.M. Severe contact urticaria and anaphylaxis from benzophenone-3 (2-hydroxy-methoxy benzophenone). *Contact Dermatitis*, v. 46, p. 55-56, 2002.

YOSHIOKA, S.; STELLA, V.J. *Stability of Drugs and Dosage Forms*. New York: Kluwer Academic Publishers, 2002.