

**Master di II Livello in Preparazioni Galeniche per  
uso umano e veterinario**

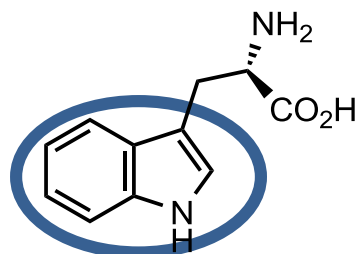
**Preparazioni Galeniche a base  
di  
3-(IDROSSIMETIL)INDOLO**

Studente: Rosanna Verdiglione

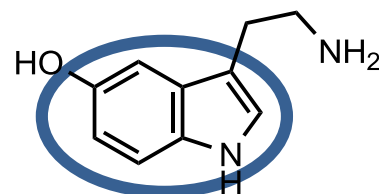


# IL NUCLEO INDOLICO

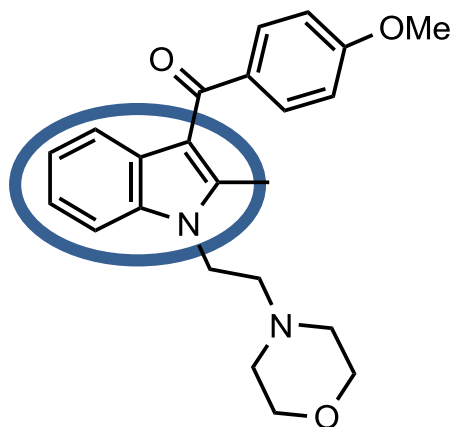
Il nucleo indolico è stato descritto da Evans et al. (J. Med. Chem. 1988, 31, 2235) come una struttura privilegiata, e definito come “un singolo raggruppamento molecolare in grado di stabilire interazioni con diversi recettori”



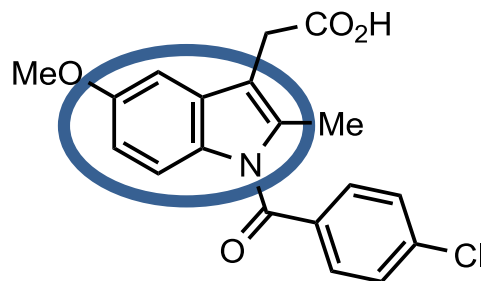
**L-triptofano**



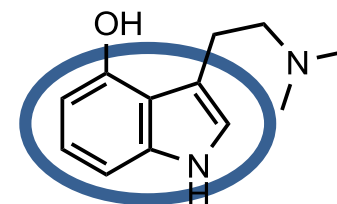
**Serotonina**



**pravadolina**

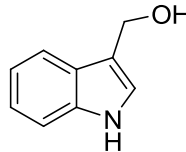


**indometacina**



**psilocina**

# IMPORTANZA FARMACOBIOLOGICA DEL 3-(IDROSSIMETIL)INDOLO



- Prodotto di idrolisi della glucobrassicina, normalmente presente nei vegetali della famiglia delle *Crucifere*;
- **Attività preventiva** nei confronti della carcinogenesi grazie all'inibizione enzimatica di alcune proteine tumorali,
- **Attività antiestrogenica** mediante induzione dell'enzima estradiolo-2-idrossilasi e conseguente aumento del metabolita 2-idrossiestrone;
- **Attività antiproliferativa** mediante induzione dell'arresto del ciclo cellulare in fase G<sub>1</sub> dimostrata da studi in vitro e in vivo in numerose linee cellulari tumorali (es. cancro al colon, al seno, alla pelle).

# IMPORTANZA FARMACOBIOLOGICA DEL 3-(IDROSSIMETIL)INDOLO



DR. [REDACTED]  
Medico Chirurgo  
Spec. Anatomia Patologica  
Spec. Oncologia Medica  
Resp. Servizio Anatomia Patologica e Citodiagnostica  
Pres. A.R.T.O.I. (Associazione Ricerca Terapie Oncologiche Integrate)  
Membro S.I.O. (Society of Integrative Oncology - U.S.A.)

Li, 11/10/16

Sr [REDACTED]

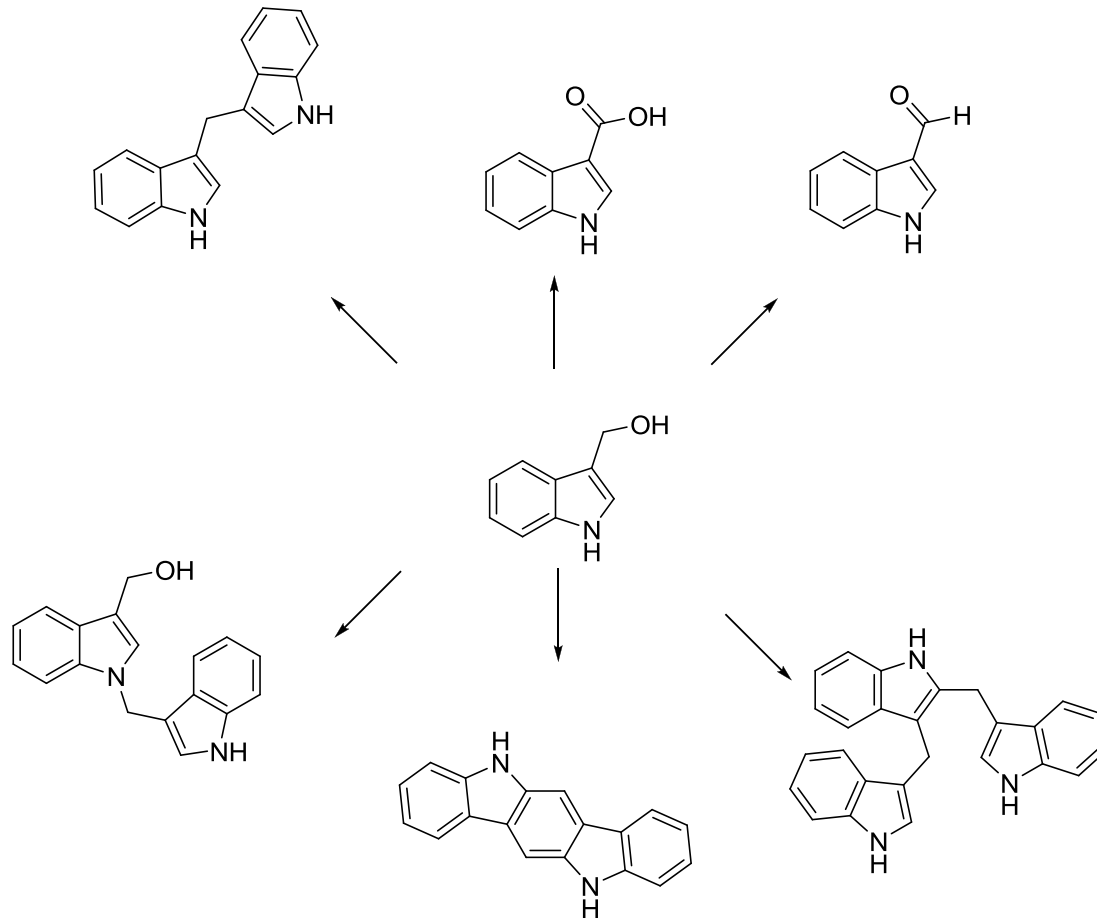
✓ INDOLO-3-CARBINOLO 300 mg (715-PTX)  
1 compressa x 2 volte al giorno

✓ CURCUTIN GEL P5  
1 bustina.

✓ POLINDAL (muntaca)  
1 compressa x 2 volte al giorno

[REDACTED]

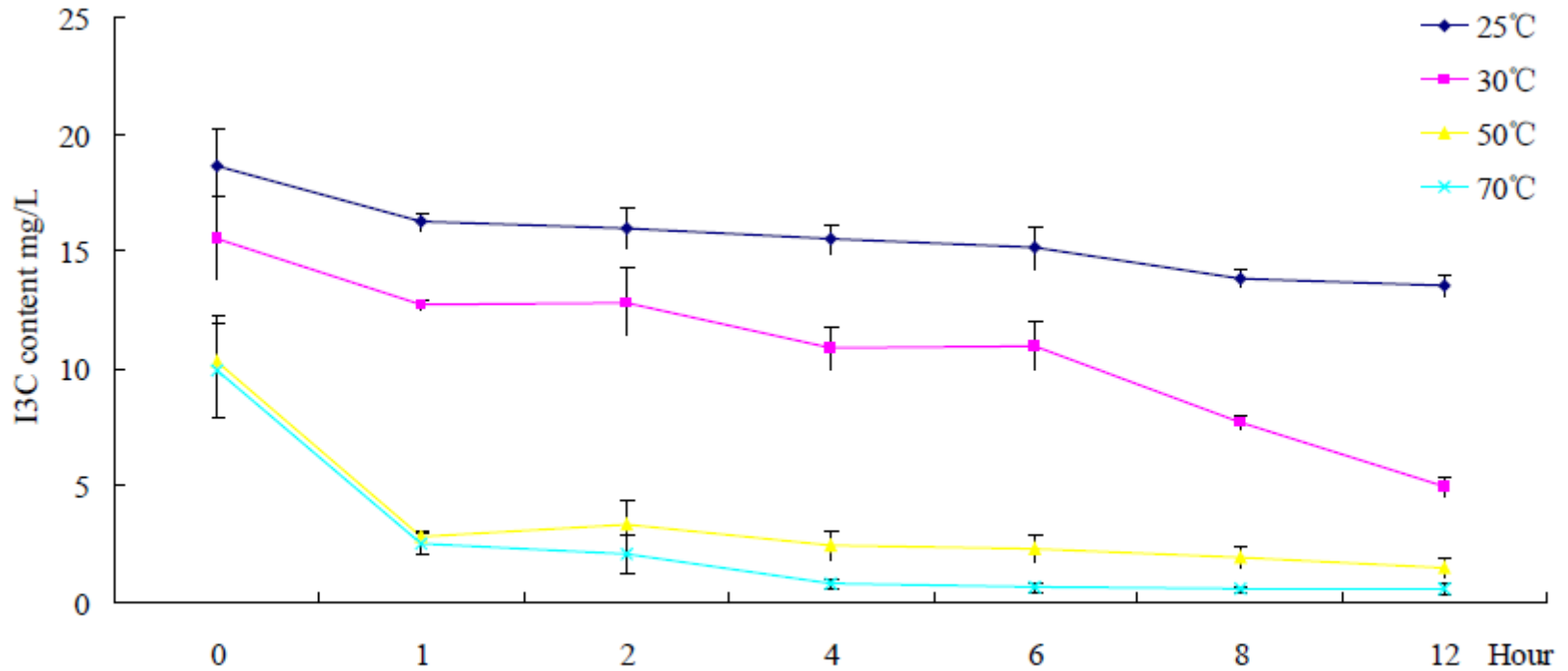
# METABOLISMO IN VIVO DEL 3-(IDROSSIMETILINDOLO)



Nel grafico sono riportate le principali reazioni di condensazione ed ossidazione osservate in seguito alla somministrazione *in vivo* di I3C.

DIM e LTR<sub>1</sub>, sono i metaboliti principali, formati in seguito a reazione con il pH acido gastrico anch'essi attivi come potenziali antitumorali.

# STABILITA' TERMICA DEL 3-(IDROSSIMETILINDOLO)



**Figure 4.** Stability of indole-3-carbinol in different temperature

# PREPARAZIONE DI CAPSULE DI INDOLO-3-CARBINOLO

---

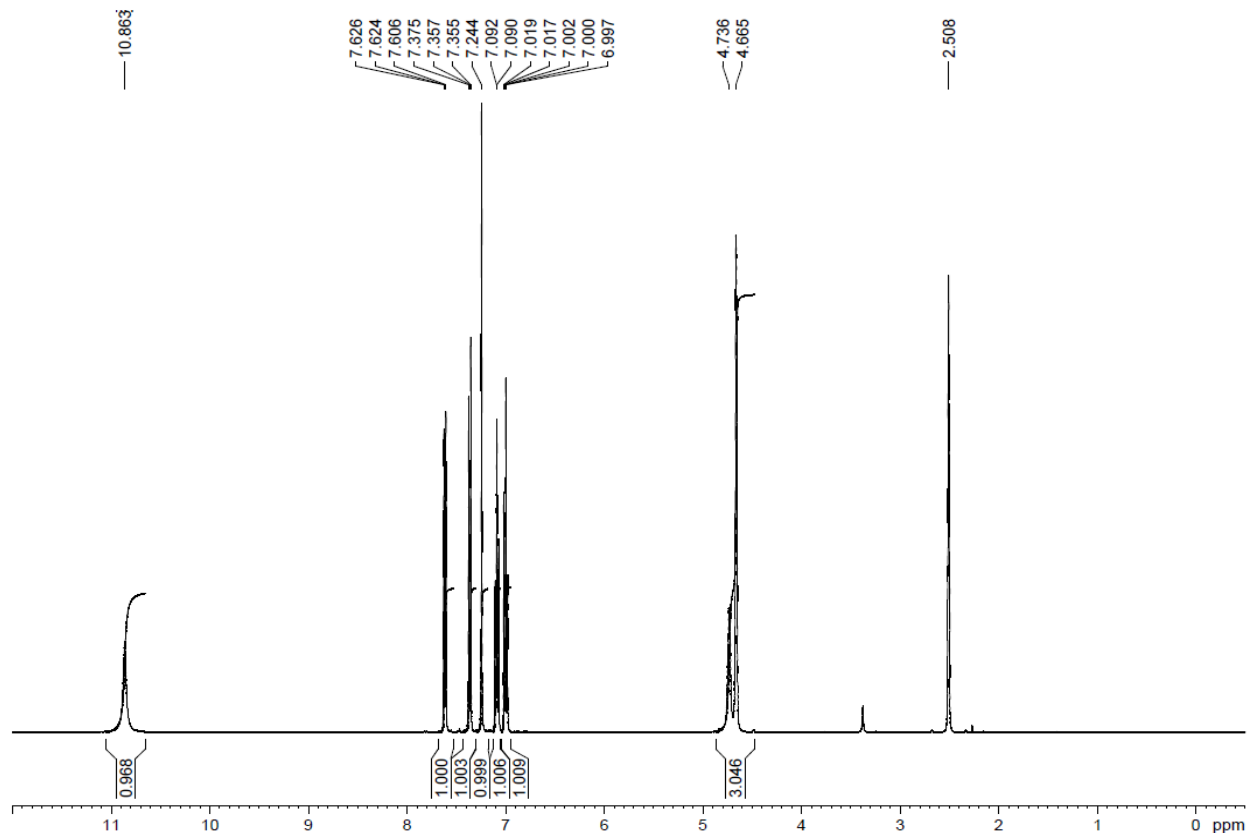
Cosa dovrebbe garantire la nostra preparazione galenica:

- **Riproducibilità** (importanza del corretto stoccaggio di I3C );
- **Qualità** (utilizzo di eccipienti idonei adatti a conservare al meglio il principio attivo);
- **Innovazione** (sviluppo di formulazioni non convenzionali che possano migliorare la *compliance* del paziente o, ove possibile che possano permettere nuove vie di somministrazione per aumentarne i campi di applicazione).

# RIPRODUCIBILITA':

## Confronto tra le temperature di conservazione di I3C

**Prova 1:** 100 mg di polvere di Indolo-3-carbinolo, sono stati conservati in frigo ad una temperatura compresa tra 2 e 8 °C, in un recipiente di alluminio ben chiuso. I risultati sperimentali, hanno dimostrato che la polvere mantiene lo stesso titolo anche dopo 3 mesi dall'apertura.

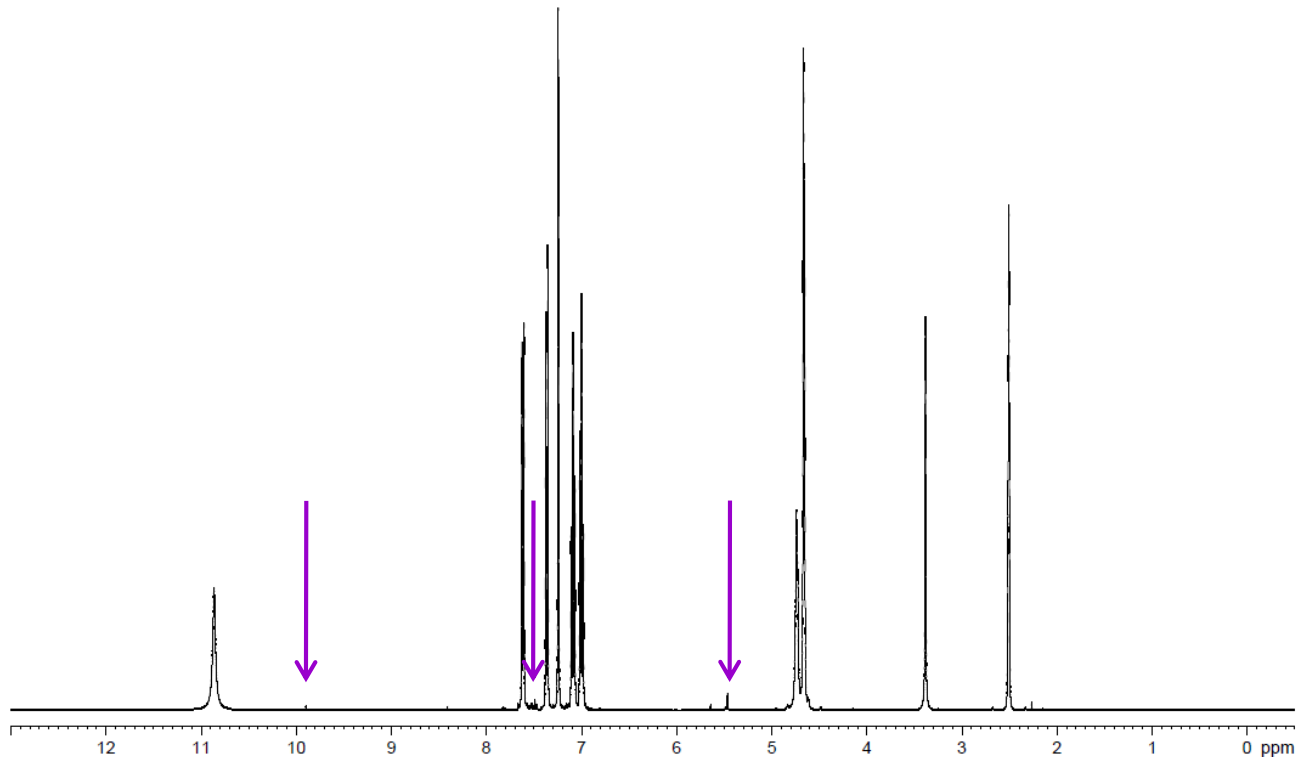




# RIPRODUCIBILITA':

## Confronto tra le temperature di conservazione di I3C

**Prova 2:** 100 mg di polvere di Indolo-3-carbinolo, sono stati conservati ad una temperatura di 25 °C, in un recipiente non in grado di schermare la luce solare. I risultati sperimentali, condotti effettuando un'analisi NMR dopo 20 giorni, hanno dimostrato che la polvere non mantiene il titolo in indolo-3-carbinolo.



# RIPRODUCIBILITA': RISULTATO

---

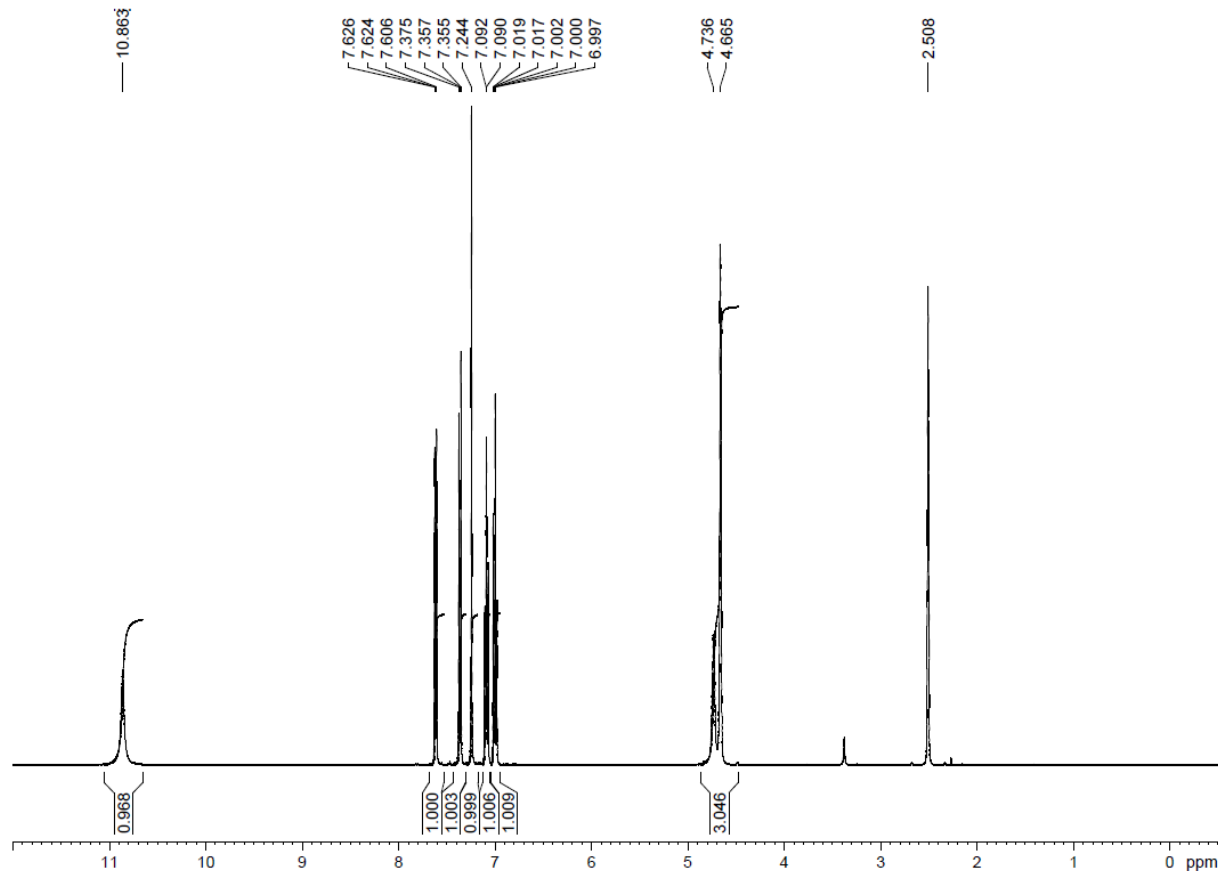
Per garantire di allestire correttamente la preparazione sarebbe quindi necessario:

- ASSICURARSI CHE LA MATERIA PRIMA VIAGGI CON LA CATENA DEL FREDDO;
- CONSERVARE LA POLVERE IN FRIGO;
- RICHIUDERE IMMEDIATAMENTE DOPO L'UTILIZZO;
- NON CONFEZIONARE IN CONTENITORI TRASPARENTI CHE POTREBBERO ESPORRE LA MOLECOLA AI RAGGI SOLARI.

# QUALITA' : Formulazione ideale

## FORMULAZIONE 1: CAPSULE DI INDOLO-3-CARBINOLO E CELLULOSA MICROCRISTALLINA

Capsule di 300 mg di I3C e 60 mg di Cellulosa Microcristallina sono state allestite in data 19.12.2017 e conservate in frigo per 20 giorni. I risultati delle analisi hanno confermato la stabilità della preparazione .



# QUALITA' : Formulazione ideale

## INDICAZIONI IN ETICHETTA

Si consiglia di assumere una capsula al giorno a stomaco vuoto, secondo prescrizione medica.

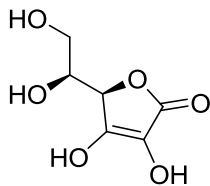
Conservare ad una temperatura compresa tra 2 e 8 °C (temperature maggiori pregiudicano l'integrità del prodotto).

Chiudere bene il flacone dopo l'uso. Uso interno.

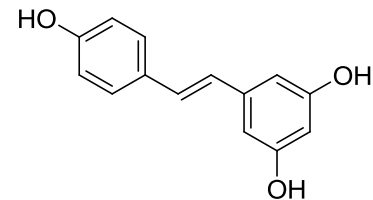
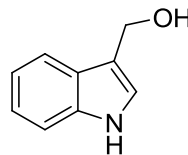


# QUALITA' E INNOVAZIONE: Proposte di formulazione

Nelle terapie integrative di pazienti oncologici ai quali viene prescritta l'assunzione di capsule di I3C, spesso vengono associati integratori alimentari contenenti sostanze antiossidanti. In media, un paziente in terapia, assume un'elevata quantità di farmaci. Pertanto è stata valutata la stabilità di preparazioni in capsule contenenti I3C e Vitamina C e I3C e Resveratrolo.



Acido Ascorbico



Resveratrolo



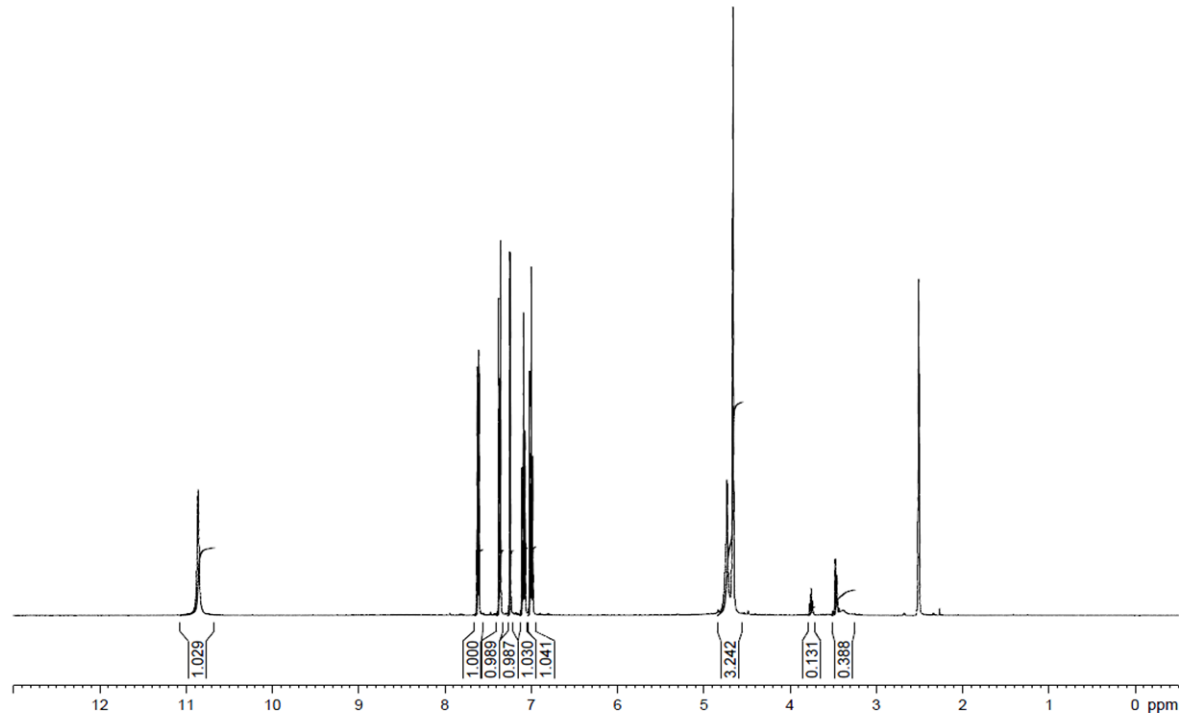
# QUALITA' E INNOVAZIONE: Proposte di formulazione

## FORMULAZIONE 2: CAPSULE DI INDOLO-3-CARBINOLO E VITAMINA C

Capsule di 300 mg di I3C , 70 mg di Vitamina C e 50 mg di Cellulosa Microcristallina sono state allestite in data 19.12.2017 e conservate in frigo per 20 giorni.

I risultati delle analisi hanno confermato la stabilità della preparazione

3-idrossimetilindolo + acido ascorbico. (DMSO-d6). 19.12.2017

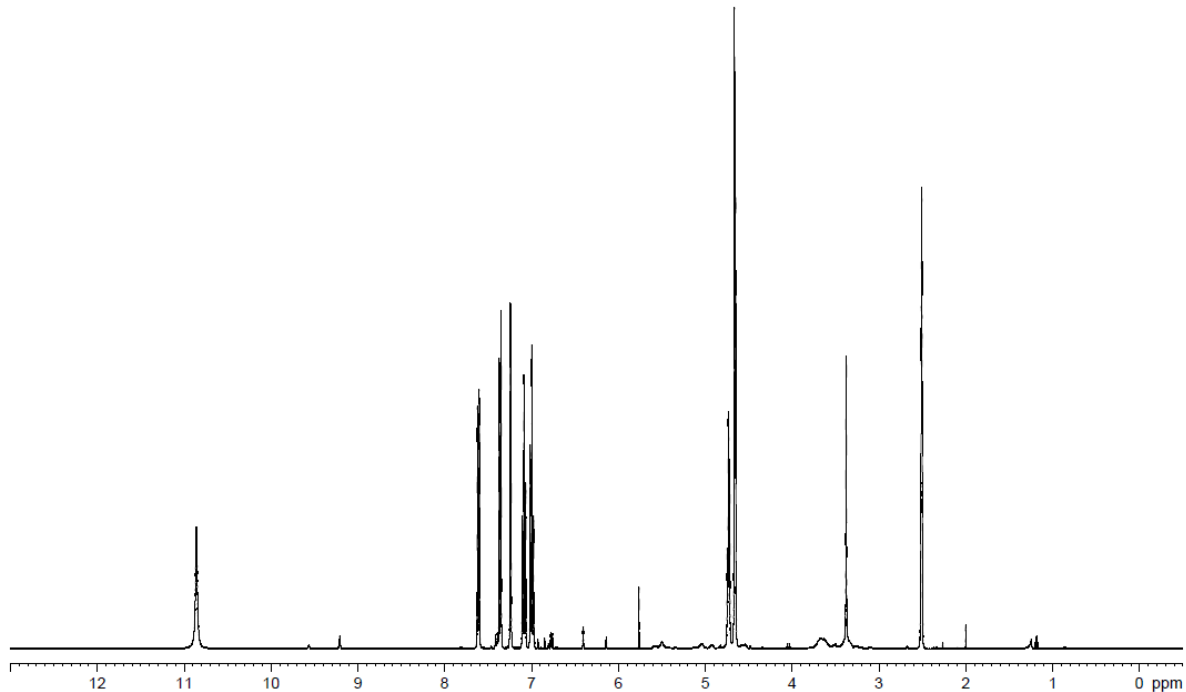


# QUALITA' E INNOVAZIONE: Proposte di formulazione

## FORMULAZIONE 2: CAPSULE DI INDOLO-3-CARBINOLO E VITAMINA C

Capsule di 300 mg di I3C , Polygonum Cuspidatum Tit. Resv 98 % 40mg e 50 mg Cellulosa Microcristallina sono state allestite in data 19.12.2017 e conservate in frigo per 20 giorni. I risultati delle analisi hanno confermato la stabilità della preparazione

2-idrossimetilindolo + poly, campione del 19.12.2017 in DMSO-d6, controllo il giorno 08.01.2018



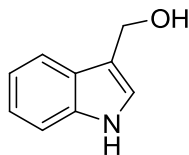
# QUALITA' E INNOVAZIONE: RISULTATI

---

- Le formulazioni di I3C da sole o in combinazione con Polygonum Cuspidatum e Acido ascorbico sono stabili per un periodo di 20 giorni se conservate in recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce e a temperature non superiori a 25 °C;
- E' possibile proporre al medico prescrittore formulazioni innovative che consentono un aumento della *compliance* del paziente grazie alla riduzione del numero di capsule che deve assumere giornalmente .

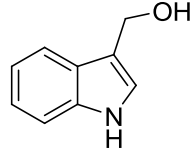


# QUALITA' E INNOVAZIONE: UNA PROPOSTA FORMULAZIONE TOPICA AL 2 % DI 3-(IDROSSIMETIL)INDOLO



- Scarsa solubilità in acqua;
- Poco stabile a pH acido ed in solventi acquosi;
- Potenzialmente irritante per la cute;
- Odore particolarmente forte.

# QUALITA' E INNOVAZIONE: UNA PROPOSTA



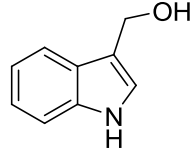
- **Poco solubile in acqua;**
- Poco stabile a pH acido ed in solventi acquosi;
- Potenzialmente irritante per la cute;
- Odore particolarmente forte.

L'I3C è scarsamente solubile in solventi acquosi e molto solubile in solventi organici.

E' stata preparata una soluzione 1,9 M di I3C in una miscela 5:1 di Etanolo: DMSO. (**Soluzione 1**)

La soluzione risulta stabile se conservata a basse temperature

# QUALITA' E INNOVAZIONE: UNA PROPOSTA

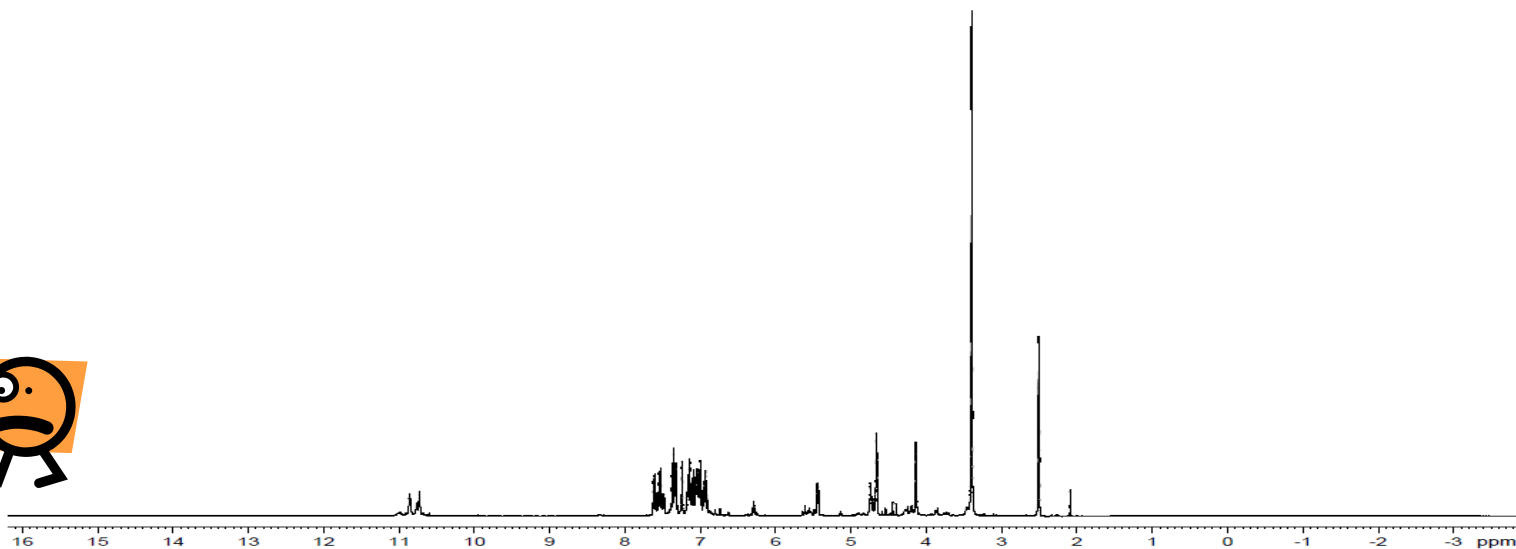


- Poco solubile in acqua;
- **Poco stabile a pH acido ed in solventi acquosi;**
- Potenzialmente irritante per la cute;
- Odore particolarmente forte.

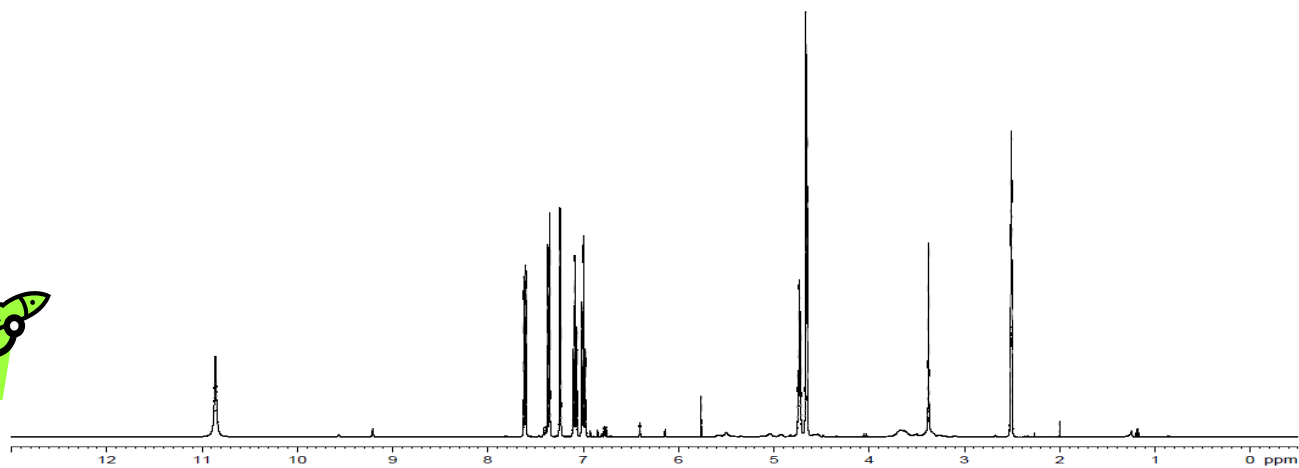
Prove sperimentali hanno evidenziato che l'I3C non è stabile in soluzioni anche non acquose in cui è stato aggiunto acido ascorbico come antiossidante, pertanto, è stata valutata la possibilità di aggiungere alla formulazione l'1 % di Resveratrolo. Tale associazione protegge l'I3C da reazioni di ossidazione e ne garantisce la stabilità nel tempo.

# QUALITA' E INNOVAZIONE: CONFRONTO TRA LA STABILITA' IN SOLUZIONE DI DMSO

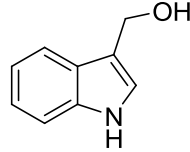
2-idrossimetilindolo + acido ascorbico, campione del 19.12.2017 in DMSO-d6, controllo



2-idrossimetilindolo + poly, campione del 19.12.2017 in DMSO-d6, controllo il giorno 08.01.2018



# QUALITA' E INNOVAZIONE: UNA PROPOSTA



- Poco solubile in acqua;
- **Poco stabile a pH acido ed in solventi acquosi;**
- Potenzialmente irritante per la cute;
- Odore particolarmente forte.

## PROVA 1 – VEICOLAZIONE IN GEL DI CARBOPOL

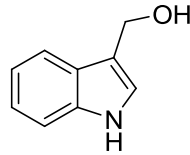
Come addensante è stato scelto il Carbopol (carbossilimetilene), un polimero dell'acido poliacrilico che gelifica a pH basici, compresi tra 6-11.

Il pH ideale per la stabilità di I3C è compreso tra 7 e 9, pertanto, alla soluzione acquosa per formare il gel di Carbopol è stata aggiunto l'1 % di TEA.

Tuttavia, quando la soluzione 1 viene veicolata in un gel di Carbopol, nel giro di poche ore l'I3C si degrada anche a basse temperature.



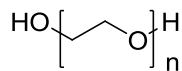
# QUALITA' E INNOVAZIONE: UNA PROPOSTA



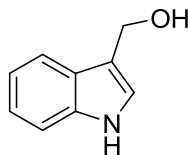
- Poco solubile in acqua;
- **Poco stabile a pH acido ed in solventi acquosi;**
- Potenzialmente irritante per la cute;
- Odore particolarmente forte.

## PROVA 2 – VEICOLAZIONE IN UNGUENTO AI PEG

Per evitare reazioni secondarie che portano alla degradazione del P.A. , è stato preparato un unguento ai PEG utilizzando PEG 400 E PEG 4000. Questa formulazione garantisce la stabilità dell'indolo-3-carbinolo.



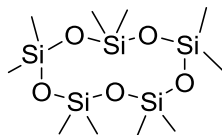
# QUALITA' E INNOVAZIONE: UNA PROPOSTA



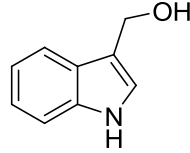
- Poco solubile in acqua;
- **Poco stabile a pH acido ed in solventi acquosi;**
- Potenzialmente irritante per la cute;
- Odore particolarmente forte.

## PROVA 3 – VEICOLAZIONE IN CICLOPENTASILOSSANO (SF1202)

Con lo scopo di formulare un gel siliconico, è stata valutata anche la stabilità della soluzione 1 in SF1202. Anche in questo veicolo I3C risulta stabile.

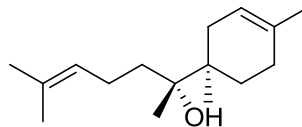


# QUALITA' E INNOVAZIONE: UNA PROPOSTA



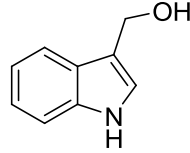
- Poco solubile in acqua;
- Poco stabile a pH acido;
- **Potenzialmente irritante per la cute;**
- Odore particolarmente forte.

La presenza di DMSO ed Etanolo, potrebbe rendere il veicolo irritante per la cute. E' stato quindi valutata la possibilità di aggiungere un composto che ne compensasse il potenziale effetto irritante dei solventi: l'  $\alpha$  - bisabololo.





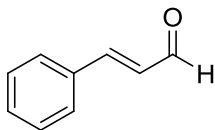
# QUALITA' E INNOVAZIONE: UNA PROPOSTA



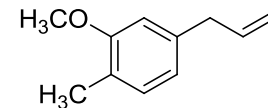
- Poco solubile in acqua;
- Poco stabile a pH acido;
- Potenzialmente irritante per la cute;
- **Odore particolarmente forte.**

Particolare attenzione, negli ultimi anni, è stata rivolta alle formulazioni transdermiche. In letteratura è riportato come, alcuni oli essenziali, anche in piccole percentuali possono favorire l'assorbimento di alcuni attivi.

L'O.E. di cannella, in particolare, è risultato utile per coprire il forte odore dell'I3C ma anche di aiuto nell'analisi di stabilità come standard interno.



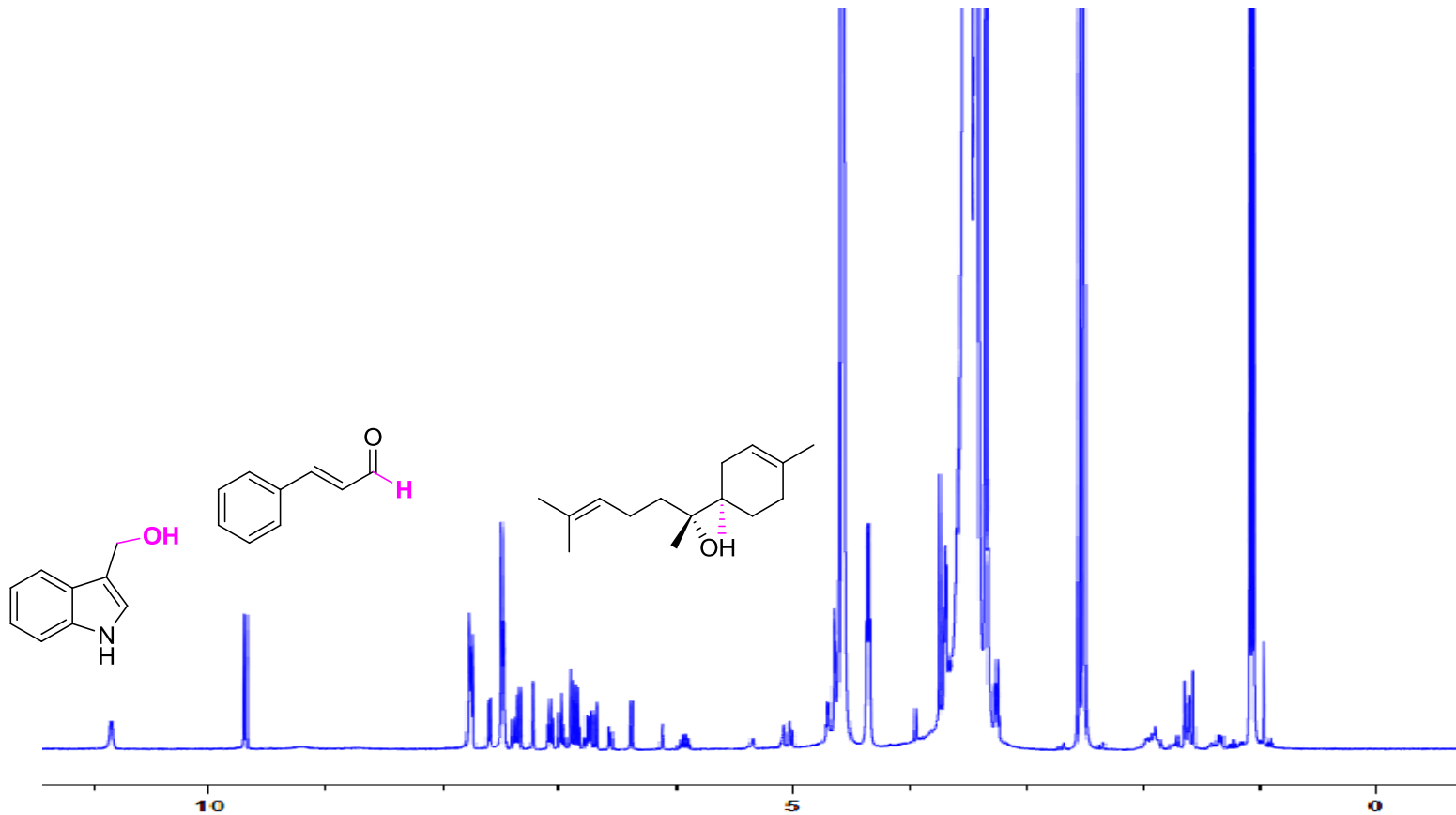
Aldeide cinnamica



Eugenolo

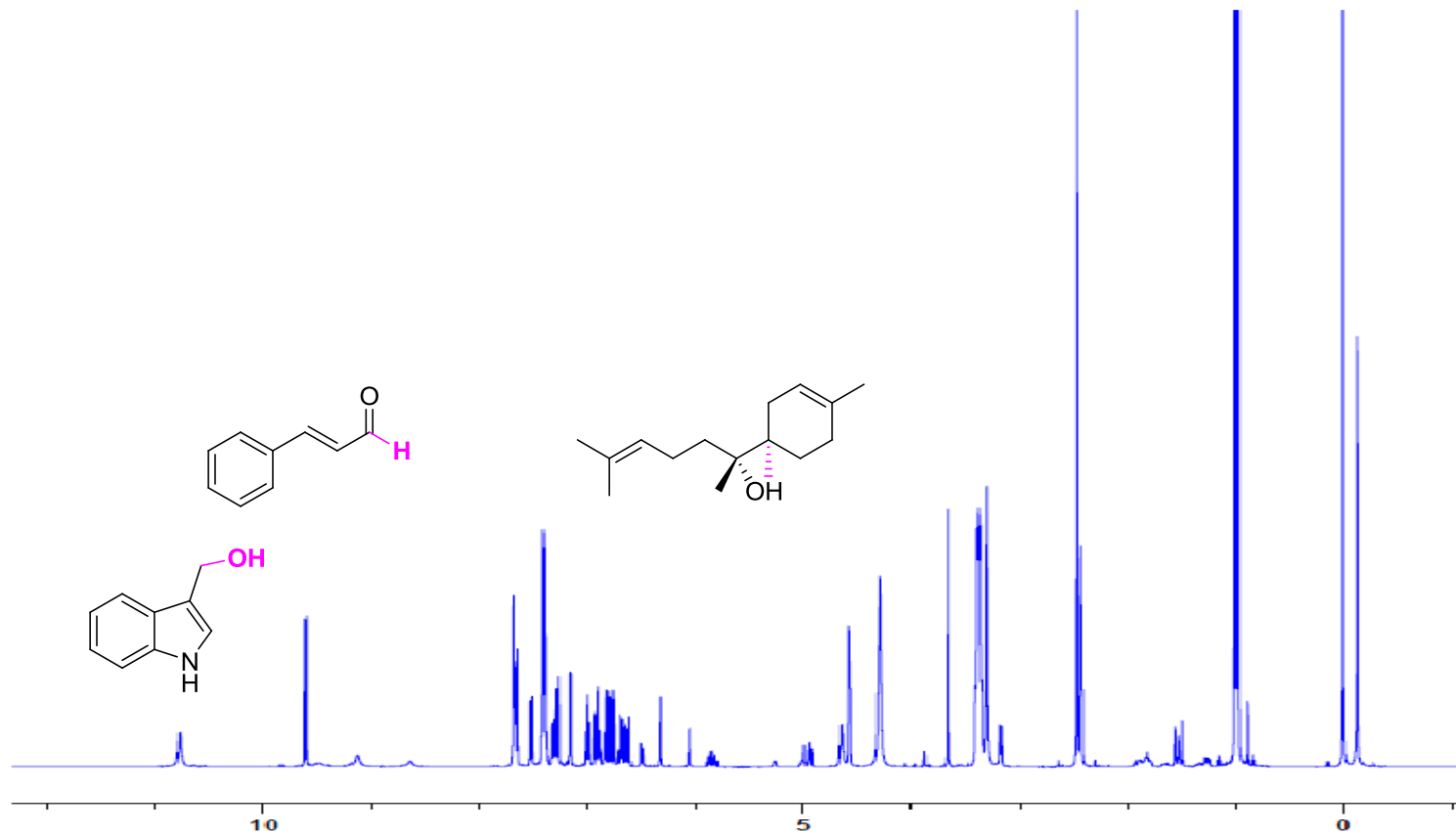
# QUALITA' E INNOVAZIONE: VANTAGGI USO O.E. CANNELLA

ANALISI NMR PROVA IN PEG 400



# QUALITA' E INNOVAZIONE: VANTAGGI USO O.E. CANNELLA

ANALISI NMR PROVA IN SF1202



# QUALITA' E INNOVAZIONE: FORMULAZIONE FINALE 1

1.	3-(idrossimetil)indolo	1 g
2.	Resveratrolo 98 % polv.	0,5 g
3.	Olio Essenziale di Cannella	2 g
4.	$\alpha$ -bisabololo	0,5 g
5.	Dimetilsolfossido	0,5 g
6.	Etanolo	2,5 g
7.	PEG 400	38,7 g
8.	PEG 4000	4,3 g

**CONSERVARE IN FLACONI  
AIRLESS**

## Procedimento

### Miscela di PEG

7 e 8 sono stati fusi a bagnomaria a 65 °C sotto agitazione. Successivamente l'unguento è stato lasciato raffreddare fino a temperatura ambiente.

### Soluzione di I3C e Resveratrolo

1 e 2 sono stati disciolti in una soluzione di 5 e 6. Successivamente 3 e 4 sono stati aggiunti sotto leggera agitazione magnetica.

La soluzione contenente indolo è stata aggiunta all'unguento PEG raffreddato , agitando meccanicamente.

**NB! Le proporzioni dei PEG non possono essere diverse perché l'unguento si conserva in frigo!**

# QUALITA' E INNOVAZIONE: FORMULAZIONE FINALE 2

1.	3-(idrossimetil)indolo	1,0 g
2.	Resveratrolo 98 % polv.	0,5 g
3.	Olio Essenziale di Cannella	2,0 g
4.	$\alpha$ -bisabololo	0,5 g
5.	Dimetilsolfossido	0,5 g
6.	Etanolo	2,5 g
7.	Aerosil® (SiO <sub>2</sub> )	2,6 g
8.	SF1202	40,4 g

**CONSERVARE IN FLACONI  
AIRLESS**

## Procedimento

### Formazione GEL siliconico

La sospensione iniziale Aerosil e SF1202 , dopo agitazione magnetica, è stata lasciata riposare in un beker per 12 h.

### Soluzione di I3C e Resveratrolo

1 e 2 sono stati disciolti in una soluzione di 5 e 6. Successivamente 3 e 4 sono stati aggiunti sotto leggera agitazione magnetica.

La soluzione contenente I3C è stata aggiunta al gel siliconico formatosi. Dopo una breve agitazione meccanica, il gel è lasciato riposare in frigo per altre 12 h e infine ripartito in contenitori airless.

# QUALITA' E INNOVAZIONE: PROSPETTIVE FUTURE

---

- Valutazione della permeabilità di I3C nei diversi strati del derma;
- Possibilità di preparare un gel in ciclodestrine, data l'affinità dell'indolo per questi substrati.

# COLCLUSIONI

---

- Indicazione per il corretto stoccaggio di I3C;
- Sviluppo di formulazioni in capsule che consentono la corretta conservazione e somministrazione del Principio attivo prescritto;
- Dimostrazione dell'importanza che le nostre competenze rivestono in ambito formulativo;
- Importanza che la collaborazione medico-formulatore riveste nei confronti del miglioramento della risposta del paziente alle cure prescritte.

# RINGRAZIAMENTI

Dott. Pietro Siciliano  
Dott. Adalberto Fabbriconi  
Dott. Piero Lussignol  
Prof. Maria Carafa

Prof. Giancarlo Fabrizi

