

METODO DI PRODUZIONE DI MELATONINA SOSTANZA PURA E IL METODO DI SOLUBILIZZARE MELATONINA IN ACQUA.

Franco Fraschini, Luigi Di Bella, entrambi di Milano, Ermanno Duranti di Milano, deceduto, Maria Teresa Moni Duranti legale rappresentante di Urbino, Andrea Duranti legale rappresentante di Urbino, Lucia Duranti legale rappresentante di Urbino, tutti italiani.

ESTRATTO

Un metodo per sintetizzare un derivato indolico del tipo triptamina, in particolare melatonina, comprendente le fasi 1) reazione del potassio ftalimide e 1,3-di-bromopropano per ottenere 3-bromoprofilftalimide; 2) reazione del 3-bromoprofilftalimide con sodio estere acetoacetico in etanolo per ottenere etil-2-acetil-5-ftalimidopentanoato; 3) reazione del prodotto dalla fase 2 con diazo-p-anisidina per ottenere 2-carbossietil-3-(2-ftalimidoetile)-5-metossi-indolo; 4) reazione del 2-carbossietil-3-(2-ftalimidoetile)-5-metossi-indolo con NaOH 2N e poi con H₂SO₄ 20% per ottenere una impura 5-metossitriptamina, che viene purificata mediante ametildisilazano esagonale. Sono ottenuti i derivati mono e disostituito e il derivato monosostituito è idrolisato con metanolo acquoso e quindi ricristallizzato dall'etanolo. Il derivato N-acetil è ottenuto per reazione con anidride acetica. Melatonina di purezza elevata viene usata per profilassi terapeutica e anche contro l'AIDS (Sindrome di Immuno Deficienza Acquisita).

Antefatto dell'invenzione.

La presente invenzione riguarda un metodo di sintesi totale per preparare un prodotto derivato dalla struttura dell'indolo classe tipo triptamina in particolare tipo melatonina o N-acetil-5-metossitriptamina avente un elevato grado di purezza e facilmente solubile per uso terapeutico contro Sindromi da Immuno Deficienza Acquisita o sindromi cosiddetti AIDS.

Come è noto si è trovato che la melatonina (MTL) somministrata in dosi adatte e in tempi giusti è in grado di ridurre la sintesi proteica di ipotalamo e ipofisi e che, inoltre, può inibire la sintesi di gonadostimoline.

Tale azione è probabilmente esercitata mediante una modulazione di trascrizione e repressione genica nonché sulla increzione dei due fattori di crescita GH e PRL in condizioni particolari.

Gli effetti generali sopra citati che sono associati con altre azioni particolari, come descritto in modo più dettagliato in seguito, possono giustificare come utile, anche se non indispensabile, l'uso della melatonina contro i tumori.

In effetti si può ragionevolmente pensare che la melatonina appartenga a quella classe di farmaci che interferiscono con la crescita delle cellule neoplastiche e riducono il tempo di vita dello stesso. D'altra parte, è anche noto il fatto che i metodi attualmente disponibili per rendere la struttura della triptamina con l'atomo di idrogeno in posizione -5 sostituito dal gruppo O-CH₃, si basano su una serie di reazioni chimiche fornenti 2-carbossietil-3-(2-ftalimidoetile)-5-metossi-indolo, mediante i quali si ottiene 5-metossitriptamina con una pluralità di passaggi relativamente complessi e a basso rendimento di trasformazione.

Più specificamente, metodi di tecnica già noti comprendono un passo di saponificazione alcalina fornendo 2-carbossi-3-(2-O-5-carbossibenzamidoetile)-5-metossi-indolo acido che viene quindi decarbossilato a secco a 250°C, allo scopo di formare ftalimidoetile-5-metossi-indolo, che è poi l'acqua idrazinizzata per ottenere 5-metossitriptamina.

Sommario dell'invenzione.

Pertanto, lo scopo principale della presente invenzione è superare l'inconveniente della purificazione prevedendo la realizzazione, con rese molto elevate di produzione, di 5-

metossitriptamina, il cui metodo comprende essenzialmente una sintesi già nota rispetto ai reagenti, ma effettuata con tecniche nuove a partire da 2-carbossietil-3-(2-ftalimidoetile)-5-metossi-indolo. Un altro scopo dell'invenzione è quello di realizzare un procedimento che, oltre a semplificare il trattamento, sia in grado di fornire la melatonina a partire dalla 5-metossitriptamina in forma grezza come dalla 5-metossitriptamina in forma pura.

Ancora un altro scopo della presente invenzione è di ottenere un metodo di sintesi totale che fornisca un prodotto molto puro e affidabile, con proprietà curative costanti.

Metodo di solubilizzazione della melatonina in acqua.

1) Per un migliore utilizzo della melatonina, la presente invenzione suggerisce di solubilizzarla in acqua, per facilitare le applicazioni terapeutiche, con un metodo particolare. Infatti come è noto la melatonina è scarsamente solubile in acqua, con solubilità soddisfacente solo a 40-45°C.

Dopo lunga sperimentazione, si è trovato l'adenosina adatta a dissolvere facilmente in acqua la melatonina. In particolare, un rapporto ottimale è stata trovata come segue: per una mole di melatonina (252,27 g) devono essere utilizzate quattro moli di adenosina (267,26 g).

2) Un metodo di preparazione di melatonina avente un elevato grado di purezza consiste nei seguenti passi:

- a) reazione della ftalimide di potassio con dibromopropano cui si ottiene 3-bromopropilftalimide;
- b) reazione della 3-bromopropilftalimide dal passaggio con uno estere acetoacetico in presenza di etossido di sodio si ottiene etil-2-acetil ftalimido-pentanoato;
- c) reazione della etil 2-acetil ftalimido-pentanoato con il sale di diazonio della p-anisidina da cui si ottiene 2-carbossietil-3-(2-ftalimidoetile)-5-metossi-indolo;
- d) reazione della 2-carbossietil-3-(2-ftalimidoetile)-5-metossi-indolo con idrossido di sodio e poi con acido solforico da cui si ottiene 5-metossitriptamina grezza;
- e) reazione della 5-metossitriptamina grezza con esametil disilazane per ottenere una miscela di prodotti mono e disostituiti e idrolizzando detta miscela con metanolo acquoso per ottenere essenzialmente 5-metossitriptamina pura;
- f) reazione della 5-metossitriptamina pura con anidride acetica per ottenere melatonina grezza e purificare detta melatonina grezza mediante cromatografia su gel di silice e una prima separazione con cloruro di metilene seguita da separazione con cloruro di metilene e acetone, ottenendo una soluzione, concentrando detta soluzione di cloruro di metilene e acetone, si ottiene un solido, ricristallizzando detto solido purificato si ottiene melatonina.

3) Il metodo secondo la detta fase d viene eseguita da riflusso a 135°C per 2 ore e mezza fino a soluzione completa, aggiungendo poi un 20% (v/v) di soluzione H₂SO₄ ed ulteriore riflusso per quattro ore.

4) Dopo riflusso con detto acido solforico 20%, la soluzione viene raffreddata fino a far precipitare l'acido ftalico e filtrata per l'eliminazione di detto acido ftalico.

5) Dopo filtraggio dell'acido ftalico, è aggiunto idrossido di sodio e la 5-metossitriptamina grezza viene estratta con dicloruro di metilene.

6) Dopo riflusso per 12/14 ore la 5-metossitriptamina grezza è trattata con esametil-disilazano, per ottenere prodotti di sostituzione mono e di silyl, distillare quindi la soluzione sotto pressione normale in modo da recuperare eccesso di esametil-disilazano e idrolizzare i prodotti di sostituzione del silyl con metanolo acquoso allo scopo di ottenere 5-metossitriptamina essenzialmente pura.

Preparazioni galeniche magistrali e specialità medicinali utilizzate dalla Multiterapia Biologica dei tumori

Il protocollo terapeutico MDB include preparati farmacologici non reperibili come specialità medicinali e quindi impongono la preparazione di galenici con metodi standard e con necessari controlli chimico-fisici prima della somministrazione.

L'importanza di mettere a disposizione del medico gli adeguati preparati per una efficace terapia, ci induce ad esporre di seguito le nozioni fondamentali per preparare in modo adeguato, con cura e diligenza, le principali sostanze da impiegare nella terapia.

Rif. D.L. 16 giugno 1998 n. 186.

NORME DI BUONA PREPARAZIONE

L'allestimento della preparazione dovrà essere effettuato dal farmacista su prescrizione del medico e dovrà attenersi, oltre a quanto previsto dal prescrittore nella ricetta, alle più recenti acquisizioni della tecnologia farmaceutica nel rispetto altresì delle precauzioni e norme di conservazione riportate nelle Farmacopee o in testi scientifici autorevoli. Le materie prime devono corrispondere per caratteristiche e purezza a quanto stabilito dalla Farmacopea o da altri testi autorevoli. Tali requisiti debbono essere certificati dal produttore mediante certificato di analisi e scheda tecnica. E' comunque buona norma ricontrollare tali requisiti (in farmacia se attrezzata o presso laboratori idonei), in quanto è responsabilità del farmacista garantire l'identità e la qualità di ogni singola sostanza oltre che del prodotto finito. La legge è uguale per tutti: il prodotto che fa la farmacia deve avere la stessa qualità di quello che fa l'industria.

MELATONINA CONIUGATA NELLA MULTITERAPIA BIOLOGICA DEL METODO DI BELLA

Premessa

La melatonina viene assorbita nel nostro organismo legata con l'adenosina; legame che non ha la forza del legame interatomico covalente, ionico metallico, ma è più debole (neben-valenz di Hantzsch & Werner, minor-valenz secondo Huggins). Questo legame d'idrogeno (Hydrogen Bond, Wasserstoffbrück) rappresenta la maggior forza coesiva tra molecole contenenti gruppi $-NH_2$ e $-OH$ ed altre contenenti gruppi $-OH$ o CO (Pauling); esso è più forte delle cosiddette forze di Van der Waals, ed è relativamente aspecifico, poco energetico ($<3Kca/mol$), impiega qualche miliardesimo di secondo per disintegrarsi, per cui può intervenire rapidamente nei processi di riconoscimento intermolecolare.

La melatonina con adenosina in rapporto 1 a 4 stabilizzata con circa il 30% di glicocolle viene impiegata nel MDB, nella forma farmaceutica compresse o liofilizzato fiale. Nel preparato magistrale secondo il metodo Di Bella, la melatonina viene coniugata alla adenosina (nucleoside del DNA, ove la adenina funge da base azotata) tramite una miscelazione o liofilizzazione, ciò allo scopo di garantire una migliore biodisponibilità del medicamento.

La melatonina è in grado di formare un complesso, probabilmente di tipo Pi greco per overlap degli orbitali dei sistemi aromatici e dei doppietti elettronici degli atomi di azoto, con l'adenosina. Il complesso è poi stabilizzato dalla glicina, che, dato il pKa piuttosto basso, contribuisce alla

formazione di ponti d'idrogeno. La formazione del complesso comporta una variazione notevole rispetto alle caratteristiche dei singoli componenti: il complesso è infatti completamente idrosolubile, a concentrazioni a cui adenosina e melatonina da sole precipiterebbero o nemmeno si scioglierebbero.

Ricette

Compresse 2 mg

Melatonina 2 mg
Adenosina 9 mg
Glicina 5 mg
Lattosio 55 mg
Amido di mais 41 mg
Cellulosa micr. 35 mg
Mg stearato 3 mg
TOTALE 150 mg

Fiale 20 mg

Melatonina 20 mg
Adenosina 90 mg
Glicina q.b. all'isotonia

Tecnologia

Nonostante esso rimanga un preparato galenico, viene proceduto il metodo produttivo per garantire la massima qualità del prodotto. Per le lavorazioni vengono applicate le norme di buona preparazione.

Sono previsti due metodi di allestimento. Il primo prevede di liofilizzare la soluzione acquosa di melatonina-adenosina-glicina e quindi preparare le compresse con la polvere così ottenuta aggiungendo gli eccipienti. La seconda per compressione diretta, più economica, consiste nel miscelare le polveri della lavorazione della melatonina. A questo proposito è stato fatto presso il laboratorio Provinciale di Trento una prova di idrosolubilità. Sui campioni melatonina—glicina miscelati o granulati e sui campioni di melatonina-adenosina-glicina liofilizzati. È risultato che solo il liofilizzato offre un notevole aumento di idrosolubilità.

Percentuali di solubilità

Campioni: Melatonina/MLT – Adenosina/ADE – Glicina/GLC

A granulare mix: MLT 68,67 - ADE 111,9 - GLC 74,11

B liofilo: MLT 81,91 - ADE 102,07 - GLC 99,12

C granulare: MLT 72,32 - ADE — - GLC —

D liofilo: MLT 79,85 - ADE 98,58 - GLC 96,01

E granulare: MLT 71,1 - ADE 104,18 - GLC 94,62

Il liofilizzato può essere preparato anche in fiale bevibili.

Lavorazione per miscelazione

Si pongono nel miscelatore la melatonina e in diluizioni successive l'adenosina e infine la glicina. Al termine delle aggiunte si lasciano a miscelare per varie ore. Quindi dopo aver ottimizzato la miscelazione dei principi attivi si aggiungono gli eccipienti e si miscela, per gli ultimi 5 minuti di miscelazione si aggiunge il magnesio stearato (lubrificante e glidante in fase di compressione).

I tempi di miscelazione ottimali devono essere standardizzati e determinati con un appropriato studio. Finita la miscelazione si procede alla fase di compressione.

Pesate per lotti standard da 2Kg:

Adenosina base 120 gr

Melatonina 26,7 gr

Glicina 66,7 gr

Lattosio 733,3 gr

Amido di mais 546,7 gr

Magnesio stearato 40 gr

Lavorazione in liofilizzatrice

Il procedimento di liofilizzazione permette di realizzare su diverse sostanze una efficace disidratazione, tale che il prodotto finito mantenga integre le proprie particolari caratteristiche organolettiche e, addizionato anche a distanza di tempo di acqua, ripristini le specifiche proprietà della soluzione primitiva.

Confezionamento delle compresse

Il confezionamento delle compresse viene fatto in blister per ripararlo dalla luce e dall'umidità.

Il confezionamento viene effettuato entro un'ora dalla compressione. In ultima fase si procede ad etichettare i blister secondo la legge.

Lavorazione per fiale orali

Il liofilizzato ottenuto può essere impiegato anche in fiale orali, in cui l'acqua viene aggiunta in modo estemporaneo al momento della somministrazione.

Lavorazione per fiale iniettabili

La glicina nelle fiale è presente sia come coadiuvante di liofilizzazione che per rendere isotonica la forma farmaceutica stessa. Non essendo veicolata dalla adenosina intestinale, per la melatonina iniettabile è ancora più importante essere legata all'adenosina esogena con legame ad idrogeno.

Le fiale devono rispettare la tecnologia dei preparati STERILI-APIROGENI.

La via parenterale viene utilizzata quando esistono difficoltà di assorbimento della melatonina da parte dell'apparato gastrointestinale, impedimenti all'ingestione della melatonina e soprattutto quando bisogna ricorrere a dosi notevoli di melatonina.

Le fiale iniettabili da 20 mg in MLT liofilizzata, al momento dell'uso vanno sciolte in 10 ml d'acqua per preparazioni iniettabili. Non c'è bisogno di utilizzare la soluzione fisiologica in quanto la presenza di glicina la rende isotonica. Si può eventualmente facilitarne la dissoluzione scaldando leggermente a bagnomaria. La quantità ottenuta si può iniettare tutta in una volta ma molto lentamente, perché l'adenosina è un vaso dilatatore, le arteriole si dilatano e si potrebbe provocare un calo emo-pressorio. Per questo è bene prima saggiare la reattività del paziente, usando da 1 a 5 ml di soluzione. La soluzione può essere iniettata per via intramuscolare o endovenosa.

Analisi

Si analizza il prodotto finito eseguendo i seguenti saggi:

1. Uniformità di peso nelle forme farmaceutiche a dose unica: si determina il peso medio di 20 unità di compresse prelevate a caso da uno stesso lotto. Non più di due di tali unità possono presentare uno scarto rispetto al peso medio superiore al 7,5% e nessuna unità uno scarto maggiore del doppio di tale percentuale, considerando il fatto che le pastiglie pesano 150 mg.
2. Determinazione di disaggregazione, nel caso del protocollo Di Bella è richiesto inferiore a 5 minuti.
3. Determinazione quali/quantitativa dei principi attivi.

SOLUZIONE DI RETINOIDI IN VITAMINA E

Premessa

Nella miscela di vitamine liposolubili MDB la Vitamina A, il Beta-carotene, l'acido Trans-retinoico sono formidabili esoergoni usati nella quantità dell'ordine di millesimi di mg.

Le quantità hanno valore determinante per dare un risultato farmacologico e non creare fenomeni di tossicità.

Agiscono sul processo di crescita nucleare e stabilizzano i potenziali di membrana cellulare.

La Vitamina E esercita, oltre che salvaguardare la membrana cellulare, una azione di difesa antiossidante. La composizione è studiata in modo tale da non arrivare mai ad un accumulo, alle dosi prescritte.

Nel suo insieme la miscela è importante per eliminare i radicali liberi nella microcircolazione, ridurre gli effetti tossici, consistenti nella produzione di stati infiammatori, riperfusione di organi ischemici, aumentata tossicità di alcune sostanze, alterazione del parenchima respiratorio, con produzione a lungo andare di focolai, di enfisema, alterata risposta ai batteri, complessi immunitari, formazione di coaguli intravasali.

Ricetta

AXEROFTOLO PALMITATO 0,5 gr

ACIDO RETINOICO 0,5 gr

BETA CAROTENE 2 gr

d,1-alpha-TOCOPHERYL ACETATO 1000 gr

TECNOLOGIA

Premessa

Le materie prime da impiegare devono avere la massima purezza e devono essere conservate alla temperatura richiesta. La loro conservazione dopo la prima apertura del contenitore, comporta l'immissione di azoto come gas inerte e l'osservanza di quanto prescritto dal produttore e dalle farmacopee.

L'acido Trans-retinoico e il Beta-carotene sono allo stato solido mentre la Vitamina A Palmitato e l'alpha-Tocoferile acetato sono liquidi e molto viscosi, a temperatura ambiente. E' possibile mescolarli tra loro per ottenere una dispersione a livello molecolare.

La soluzione può essere allestita mediante agitazione non turbolenta. E' necessario un sistema di agitazione con controller di temperatura efficiente, da scegliere in funzione dell'entità dei lotti di medicamento da preparare. Le metodiche di preparazione differiscono leggermente a seconda delle apparecchiature impiegate, pur rimanendo simili nei principi generali.

Si può usare l'acetone anidro o l'alcool etilico come coadiuvanti della solubilizzazione dell'acido

Trans-retinoico e del Beta-carotene. In tal caso bisogna operare in modo che vengano poi completamente eliminati sotto flusso di azoto.

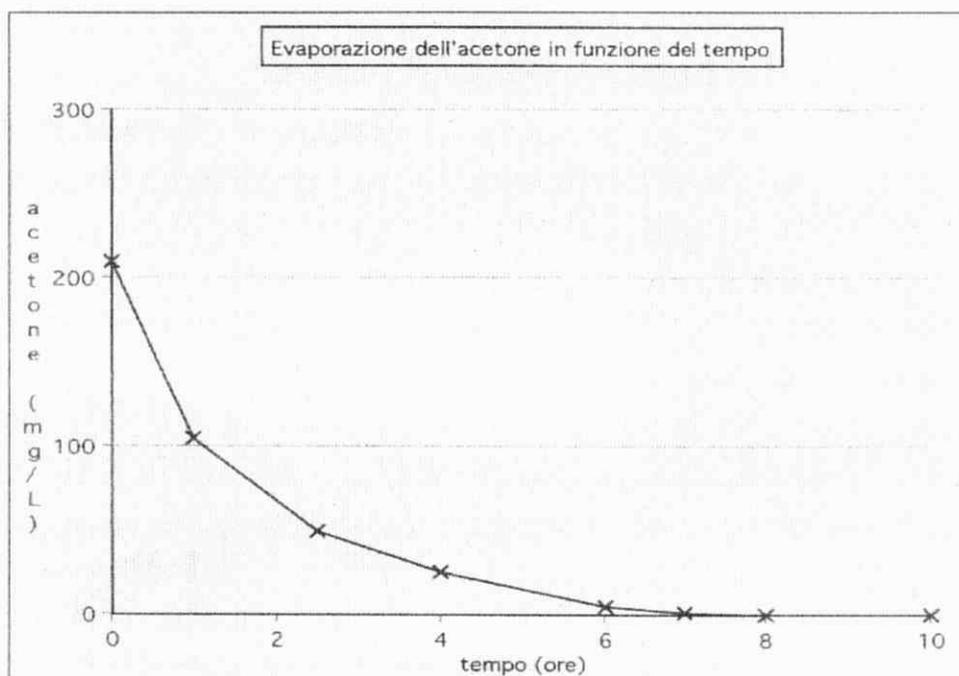
A questo proposito è stata condotta la seguente prova di evaporazione dell'acetone, presso il laboratorio provinciale di Igiene Pubblica di Trento.

50 gr di soluzione di retinoidi contenente acetone pari a 0,21 gr/l vanno posti in un becker da 100 ml, mantenuto a temperatura costante di 40°C e sotto flusso di azoto di circa 160 ml/minuto.

La determinazione dell'acetone è stata eseguita con tecnica gas-cromatografica con spazio di testa.

Primo risultato: la presenza di acetone non ha nessuna influenza sul titolo dei retinoidi.

Secondo risultato: cui fa riferimento il grafico, l'acetone viene completamente eliminato dopo 6 ore sotto flusso di azoto.



Azoto

In tutti i casi è necessario l'azoto.

Le bombole di azoto farmaceutico purissimo possono essere acquistate presso rivenditori di ossigeno terapeutico e/o di altre sostanze gassose. L'azoto contenuto in tali bombole si trova alla pressione di 200 atmosfere; per l'impiego è pertanto necessario collegare alla bombola un riduttore di flusso munito di due manometri, per la misura della pressione nella bombola ed in uscita. Il flusso in uscita viene variato mediante una regolazione fine presente sul riduttore. All'ugello si collega un tubo che porterà in linea un filtro a setto poroso.

Lo scopo del filtro è di trattenere le impurezze metalliche derivanti dalle pareti della bombola, che la corrente di gas potrebbe trascinare; tali impurezze sarebbero un potente catalizzatore di ossidazione, quindi deleterie per la stabilità del prodotto.

Si tenga presente che le sostanze, con esclusione della Vitamina E acetato, sono sensibili:

- 1) alla luce
- 2) all'aria, alterazioni ossidative
- 3) a determinate temperature

Luce

Particolare cura deve essere posta nell'evitare l'esposizione alla luce solare diretta attinica, radiazioni nello spettro dell'ultravioletto, delle sostanze. Si operi usando recipienti opachi alla luce e in spazi alla luce rossa.

Aria

I componenti sono tutti sensibili all'ossidazione da parte dell'ossigeno presente nell'aria; il componente più sensibile è sicuramente il Beta-carotene, data la presenza di un esteso sistema Pi-greco che conferisce anche il tipico colore rosso mattone. Il Tocoferolo agisce come radical scavenger, in grado di catturare l'ossigeno dell'aria e di formare un legame labile con gli elettroni spaiati della molecola di ossigeno in parte proteggendo dall'ossidazione il Beta-carotene.

E' comunque possibile operare in modo tale da evitare anche questo legame. Allo scopo si sfrutta la maggiore solubilità nei lipidi dell'azoto rispetto all'ossigeno, saturando con azoto il Tocoferolo prima dell'aggiunta del Beta-carotene e degli altri retinoidi.

Temperatura

E' da notare che, in assenza di ossidanti, la resistenza alla degradazione termica delle sostanze è relativamente buona ed è comunque in funzione del tempo di lavorazione.

Si consiglia, comunque, di non superare nella lavorazione la temperatura di 40°C.

Metodo di allestimento D.L. 16-06-98 n.186, g.u. 1706-98 n.139

Preparazione di 1000 gr di soluzione di retinoidi con solvente organico acetone o alcol etilico 95%. Il preparatore deve lavorare sotto cappa, a temperatura ambiente, con guanti, mascherina ed occhiali.

1° fase

Si pesano 0,5 gr di acido Trans-retinoico, che deve essere ridotto in polvere finissima, e si sciolgono in un mortaio aggiungendo a gocce il solvente organico; sempre in mortaio si sciolgono 2 gr di Beta-carotene in solvente organico, le polveri rimanenti devono essere conservate al freddo e sotto azoto.

2° fase

Le polveri disciolte si versano nel miscelatore e si inizia ad inserire, lentamente e sotto agitazione, la Vitamina E fino a 100 cc circa.

Gorgogliare l'azoto a medio flusso fino ad eliminazione del solvente organico nel caso dell'acetone, l'alcol permane in soluzione ma in concentrazione atossica.

3 ° fase

Portare gradualmente e lentamente la temperatura fino a $40 \pm 2^\circ\text{C}$, sotto agitazione continua. Lasciare raffreddare per 15-20 minuti e versare lentamente, sempre sotto agitazione, altri 100 cc di Vitamina E; aumentare leggermente la velocità di agitazione per circa 10 minuti.

4° fase

Aggiungere 0,5 gr, goccia a goccia, di Axeroftolo palmitato e continuare ad agitate per 10 minuti; versare altri 100 cc di Vitamina E, mantenendo la velocità di agitazione bassissima per almeno 15 minuti; ripetere questa operazione fino a 1000 gr di Vitamina E. Chiudere ermeticamente il miscelatore e lasciare reagire per almeno 6 ore.

5 ° fase

Aprire il rubinetto, riempire le bottiglie di vetro scuro e chiuderle immediatamente; conservare al riparo dalle fonti di luce e calore. Se il consumo non è immediato, immettere corrente di azoto prima di chiudere.

MATERIALI

Cappa chimica.

Luce rossa.

Miscelatore per liquidi ad alta viscosità con controller di temperatura.

Bombola di azoto da 5 m³, 200 bar, con sistema di flussaggio.

Filtro da gas (Millipore) da 0,22 micron.

Contenitore inox.

Bottiglie di vetro scuro.

ANALISI

La soluzione di retinoidi in Tocoferolo deve presentarsi: limpida, di colore rosso mattone scuro, viscosa, inodore, insapore.

Il criterio di giudizio più semplice e diretto è la trasparenza, infatti le soluzioni vere sono otticamente vuote, né si ha evidenza di effetto Tyndall come è invece normale nelle forme solubilizzate.

Assenza di acetone.

Verifica della omogeneità di dispersione della Vitamina A, Beta-carotene. Acido trans-retinoico nella Vitamina E.

Titolazione: verifica della eventuale presenza di composti di alterazione formati durante l'allestimento.

Stabilità nel tempo.

CONSERVAZIONE

La conservazione del prodotto finito può avvenire a temperatura ambiente in flaconi di vetro scuro. Per una migliore conservazione è preferibile confezionare i flaconi insufflandovi azoto.

POSOLOGIA-ETICHETTATURA

Se ne consiglia l'assunzione al mattino a digiuno da 90 a 150 mg per Kg di peso corporeo, alla quantità riferita alla Vitamina E che rappresenta da sola il 997 per mille. Si consiglia di non ingerire assieme alla miscela sostanze acide, succo di limone/arancia, per non alterarne l'assorbimento e l'attività.

Ancora si consiglia di non assumerla con cucchiari di metallo per evitarne l'ossidazione.

Le bottiglie di vetro scuro vanno correttamente etichettate.

Melatonin p. m. 232,27

A. hirsuta p. m. 267,24
45,07

R. rosalia

267,24 x 4 = 1068,96

45,07 x 8 = 600,56

232,27 x 1 = 232,27
1901,79

melatonin = 12,203%