

Rapporto Finale SAM3334**VALUTAZIONE TOSSICOLOGICA INTEGRATIVA
PER CALCOLO**

Programma di Studio n.: SAM3334

Contratto n.: M06/0929.1MI

Committente: INCELL DBF SRL
VIA BOCCACCIO, 4
20123 MILANO

Sostanza in esame: SNORE OFF

Direttore dello studio: Data emissione:
(Dr. M. Cavalleri)

Il presente rapporto non può essere riprodotto parzialmente, salvo approvazione scritta del laboratorio

INDICE

SOMMARIO	3
INTRODUZIONE	4
ARCHIVIAZIONE	4
PROCEDURE	4
BIBLIOGRAFIA	4
SOSTANZA IN ESAME.....	5
CAMPIONE ANALIZZATO	5
VALUTAZIONE TOSSICOLOGICA INTEGRATIVA PER CALCOLO	6
DESCRIZIONE DELL'AZIONE DEL PRODOTTO FINITO.....	7
DATI TOSSICOLOGICI E DI TOLLERABILITÀ RELATIVI AGLI INGREDIENTI	8
VALUTAZIONE TOSSICOLOGICA.....	11
VALUTAZIONE DEL POTENZIALE IRRITANTE	12
CONCLUSIONI	13
ALLEGATI	14
- Composizione quali-quantitativa della sostanza in esame (1 pagina)	

SOMMARIO

Sulla sostanza in esame sono stati già condotti due studi ufficiali presso Biolab: il primo - su base bibliografica - volto a definire la funzione degli ingredienti all'interno della formulazione, il secondo teso a stabilire l'eventuale potenziale di irritazione *in vitro* del prodotto in esame.

Mentre il primo studio ha posto in evidenza come nel suo insieme la sostanza in esame espliciti un'azione prevalentemente emolliente, decongestionante e rinfrescante, il test di irritazione su epitelio oro-faringeo umano 3D ricostruito *in vitro*, ha evidenziato una lieve potenziale irritante (ET₅₀, cioè istante in cui si ha citotossicità sul 50% delle cellule trattate, pari a oltre 8 ore dopo l'inizio del test).

Con il presente studio si è inteso chiarire, attraverso una valutazione tossicologica e di tollerabilità cutanea integrativa, l'eventuale potenziale irritante *in vivo* del prodotto ai danni della mucosa oro-faringea.

Non esistendo in letteratura dati tossicologici relativi al prodotto finito, si è ritenuto opportuno – in accordo con quanto prescritto dalle normative vigenti – valutare l'eventuale tossicità e il potenziale irritante dei singoli ingredienti.

Nella valutazione si è tenuto conto dei tempi e delle modalità d'uso della sostanza in esame, della concentrazione dei singoli ingredienti all'interno della formulazione e dei risultati ottenuti nel precedente studio di irritazione *in vitro* su epitelio oro-faringeo (studio DTM54).

- Valutata la composizione e la concentrazione dei singoli ingredienti che compongono la sostanza in esame, la loro tossicità e il loro potenziale di irritazione in base ai dati disponibili in letteratura;
- valutati i risultati del test di irritazione *in vitro* già effettuato sulla sostanza in esame alla luce delle reali condizioni d'uso *in vivo*;
- valutata la funzione emolliente, idratante e lenitiva di diverse sostanze (studio SAM3172);

si può concludere che la sostanza in esame SNORE OFF:

1. **posseda un basso potenziale di irritazione per l'uomo,**
2. **posseda un livello di tossicità estremamente basso per l'uomo,**

a livello della mucosa orale e in particolare del palato, se usato correttamente e secondo le indicazioni riportate nel foglietto illustrativo, da un soggetto sano, non acclaratamente allergico verso alcuno degli ingredienti.

I risultati della ricerca bibliografica sono riportati nel rapporto SAM3334.A1.

INTRODUZIONE

Su incarico della società INCELL DBF SRL, sulla sostanza in esame SNORE OFF è stata eseguita una ricerca bibliografica, al fine di stabilire l'eventuale potenziale irritante del prodotto ai danni della mucosa oro-faringea.

Il presente studio è stato effettuato presso Biolab SpA, via B. Buozzi 2, Vimodrone (MI).

Lo studio ha avuto inizio il 15/05/2006 e ha avuto termine il 19/05/2006 con la stesura del presente report.

ARCHIVIAZIONE

Il programma di studio, con eventuali modifiche e i dati grezzi, sono conservati negli archivi Biolab S.p.A. per un periodo di 10 anni dall'emissione del rapporto finale.

Il controcampione della sostanza esaminata non è stato archiviato.

Il Committente può richiedere, stipulando uno specifico contratto, un'estensione del periodo di archiviazione dei materiali (o di parti di essi), o la loro restituzione.

PROCEDURE

Le procedure utilizzate nello studio sono documentate nel manuale di procedure di Biolab S.p.A.

BIBLIOGRAFIA

1. K. Schrader, A. Domsch, "Cosmetology – Theory and Practice", vol.I-II-III; Verlag fuer Chemische Industrie H. Ziolkowsky GmbH, Augsburg, 2005.
2. The Physical and Theoretical Chemistry Laboratory, Oxford University, 2005.
3. A. O. Barel, M. Paye, H. I. Maibach, "Handbook of Cosmetic Science and Technology"; Marcel Dekker Inc. NewYork – Basel, 2001.
4. A. O. Barel, M. Paye, H. I. Maibach, "Handbook of Ingredients"; Marcel Dekker Inc. NewYork – Basel, 2005.
5. ScienceLab.com Inc. – Chemical & Laboratory equipment; 2005.

SOSTANZA IN ESAME

La sostanza in esame consiste in un prodotto spray per uso orale.

Denominazione: SNORE OFF

Composizione: vedi Allegato

Stabilità: 5 anni

CAMPIONE ANALIZZATO

Il campione rappresentativo della sostanza in esame è uno spray orale a base di oli essenziali dall'odore caratteristico.

Lotto: 302501 del 01/01/2005

Numero di ricevimento: R00766.06

Data di ricevimento: 14/02/2006

La caratterizzazione della sostanza in esame è a cura del Committente.

Rapporto di sperimentazione SAM3334.A1***VALUTAZIONE TOSSICOLOGICA
INTEGRATIVA PER CALCOLO***

RICERCATORE PRINCIPALE: M. CAVALLERI

DESCRIZIONE DELL'AZIONE DEL PRODOTTO FINITO

La sostanza in esame è uno preparato a base di oli essenziali naturali.
In base a quanto riporta il foglietto illustrativo, è indicata per combattere il disturbo transitorio risolvibile rappresentato dal russare.

Azione indicata: combattere il restringimento delle vie aeree superiori che durante il sonno predispone all'apnea ostruttiva e che porta a russare.

Modalità d'uso indicate: prima di coricarsi spruzzare tramite l'apposito erogatore 3 volte nel cavo orale in direzione della parte superiore del palato, non deglutire per 10 secondi.

La quantità media di sostanza in esame erogata è pari a 0.5 ml (dati grezzi non mostrati).

In questo studio, come soggetto si indica un uomo adulto sano, del peso medio di 70 Kg, non allergico verso alcun ingrediente del prodotto e con le vie respiratorie non irritate.

DATI TOSSICOLOGICI E DI TOLLERABILITÀ RELATIVI AGLI INGREDIENTI**1. Aqua CAS N° 7732-18-5**

Non irritante.

Non tossico.

2. Polysorbate-60, CAS N° 9005-67-8

Tollerabilità cutanea: non irritante/lievemente irritante a livello intraoculare (CIR, dati quantitativi non mostrati).

Tossicità orale (cronica): TD₁₀ su topo pari a 41.6 g/Kg

Tossicità orale (acuta): dati non disponibili (minima LD₅₀ riscontrata pari a 1220 mg/Kg, endovena su ratto)

3. Glycerin, CAS N° 56-81-5

Tollerabilità cutanea: lievemente irritante a livello intraoculare su coniglio (500mg/24ore)

Tossicità orale (cronica): TD₁₀ su uomo pari a 1428 mg/Kg

Tossicità orale (acuta): dati non disponibili (minima LD₅₀ riscontrata pari a 100 mg/Kg, sottocute su ratto)

4. Olea europaea (olive oil), CAS N° 008001-25-0

Tollerabilità cutanea: lievemente irritante *in vitro* su epidermide 3D umana ricostruita (300mg)

Tossicità orale (cronica): dati non disponibili.

Tossicità orale (acuta): dati non disponibili (minima LD₅₀ riscontrata pari a 1320 mg/Kg, endovena su topo)

5. Sesamum Indicum (Sesame Oil), CAS N° 8008-74-0

Tollerabilità cutanea: lievemente irritante *in vitro* su epidermide 3D umana ricostruita (300mg)

Tossicità orale (cronica): dati non disponibili.

Tossicità orale (acuta): dati non disponibili (minima LD₅₀ riscontrata pari a 0.678 mg/Kg, endovena su coniglio)

6. Eucaliptus globulus (Eucaliptus oil), CAS N° 8000-48-4

Tollerabilità cutanea: moderatamente irritante a livello cutaneo su coniglio (500mg/24ore)

Tossicità orale (cronica): dati non disponibili

Tossicità orale (acuta): LD₁₀ su uomo pari a 375 mg/Kg.

7. Apricot kernel oil (Prunus armeniaca) CAS N° 072869-69-3

Dati non disponibili (vedi dati ingrediente numero 9).

8. Helianthus annuus (sunflower seed oil), CAS N° 8001-21-6

Dati di tossicità non disponibili.

Sostanza comunemente usata negli alimenti.

9. Prunus dulcis (sweet almond oil), CAS N° 8007-69-0

Tollerabilità cutanea: moderatamente irritante a livello cutaneo su coniglio (500mg/24ore)

Tossicità orale (cronica): dati non disponibili

Tossicità orale (acuta): LD₁₀ su uomo pari a 107 mg/Kg.

10. Mentha piperita (peppermint oil), CAS N° 8006-90-4

Tollerabilità cutanea: moderatamente irritante a livello cutaneo su coniglio (500mg/24ore)

Tossicità orale (cronica): dati non disponibili

Tossicità orale (acuta): LD₅₀ su ratto pari a 2426 mg/Kg.

Classificato come allergene.

11. Sodium ciclamate, CAS N° 139-05-9

Tollerabilità cutanea: citotossico su fibroblasti umani alla concentrazione di 0.5 g/L.

Tossicità orale (cronica): dati non disponibili

Tossicità orale (acuta): LD₅₀ su uomo pari a 15250 mg/Kg.

12. Citric acid, CAS N° 77-92-9

Tollerabilità cutanea: fortemente irritante a livello intraoculare su coniglio (0.75mg/24ore)

Tossicità orale (cronica): dati non disponibili

Tossicità orale (acuta): LD50 su ratto pari a 6730 mg/Kg.

13. Disodium EDTA, CAS N° 139-33-3 (Anidro)

Tollerabilità cutanea: dati non disponibili

Tossicità orale (cronica): dati non disponibili

Tossicità orale (acuta): LD50 su ratto pari a 2000 mg/Kg.

14. Sodium benzoate, CAS N° 532-32-2

Tollerabilità cutanea: moderatamente irritante a livello cutaneo su coniglio (500mg/24ore)

Tossicità orale (cronica): dati non disponibili

Tossicità orale (acuta): LD₅₀ su ratto pari a 4070 mg/Kg.

15. Methylparaben, CAS N° 99-76-3

Tollerabilità cutanea: citotossico su fibroblasti di criceto alla concentrazione di 500 mg/L.

Tossicità orale (cronica): dati non disponibili

Tossicità orale (acuta): LD₁₀ su coniglio pari a 3 g/Kg.

VALUTAZIONE TOSSICOLOGICA

Non esistendo in letteratura dati tossicologici relativi al prodotto finito, si è ritenuto opportuno – in accordo con quanto prescritto dalle normative vigenti – valutare il potenziale irritante dei singoli ingredienti.

Pur tenendo conto della diversa via di somministrazione (endovenosa anziché orale) e del diverso organismo bersaglio, si è ritenuto opportuno valutare l'eventuale tossicità della sostanza in esame basandosi sul dato tossicologico di gran lunga più rilevante, cioè quello relativo al *Sesamum indicum* (Sesame Oil).

Rapportato a un uomo adulto sano del peso medio di 70 Kg, otteniamo una soglia di tossicità acuta pari a $0.678 \text{ mg/Kg} * 70 \text{ Kg} = 47.5 \text{ mg}$.

Supponendo che la quantità mediamente rilasciata in seguito a 3 erogazioni consecutive sul palato della sostanza in esame, venga totalmente ingerita dal soggetto, si avrà: $0.5 \text{ g} * 3 / 100 = 15 \text{ mg}$ di *Sesamum indicum* ingerito.

Questa quantità è oltre 3 volte inferiore rispetto alla soglia di tossicità riscontrata precedentemente. Inoltre, è necessario tener conto che, iniettata direttamente per via endovenosa, tale sostanza risulta molto più tossica (> di uno ordine di grandezza) che non assunta per via orale.

Possiamo quindi considerare estremamente basso il rischio di tossicità della sostanza in esame nelle dosi di somministrazione prescritte.

VALUTAZIONE DEL POTENZIALE IRRITANTE

Valutate le concentrazioni e i dati di tollerabilità cutanea/oculare *in vivo* degli ingredienti attivi, non risultano esservi all'interno della sostanza in esame, ingredienti in grado di indurre irritazione da parte del prodotto nelle normali e corrette condizioni d'uso.

Alcuni ingredienti risultano citotossici *in vitro* come materie prime: nella fattispecie si tratta dei conservanti (e sinergizzanti) e del dolcificante (sodio ciclamato). Queste sostanze sono comunemente sfruttate dall'industria alimentare e farmaceutica.

Nel complesso, a queste concentrazioni, queste sostanze non presentano rischi di intolleranza *in vivo* per un soggetto sano.

I risultati dello studio DTM54 di irritazione su epitelio umano oro-faringeo 3D ricostruito *in vitro* indicano che la sostanza in esame risulta lievemente irritante. Il test è stato condotto cercando di simulare la situazione *in vivo*, sia come quantità di prodotto per centimetro quadrato di mucosa oro-faringea (0.1 mg/cm²), sia come tempo massimo di esposizione a questo tipo di emulsioni (16 ore) della mucosa orale.

Possiamo assumere però che in condizioni d'uso reali, parte della sostanza sprayzzata a livello del palato non venga assorbita tal quale nel corso di una nottata di 8 ore, a causa della rimozione meccanica dovuta alla deglutizione e alla lingua. Si assume inoltre che gli stessi fattori comportino, sempre in condizioni reali, una distribuzione della quantità di prodotto erogato - ca. 0.5 g – su una superficie maggiore di 5 cm², rendendo le condizioni *in vivo* mediamente meno probanti rispetto a quelle *in vitro*.

Riassumendo, si può ragionevolmente concludere che, nelle reali condizioni d'uso da parte di un soggetto sano e non allergico verso alcuno degli ingredienti della sostanza in esame, il potenziale di irritazione della sostanza in esame su epitelio oro-faringeo risulti essere basso.

Si suggerisce come ulteriore step di effettuare un test d'uso su volontari umani sani.

CONCLUSIONI

- Valutata la composizione e la concentrazione dei singoli ingredienti che compongono la sostanza in esame, la loro tossicità e il loro potenziale di irritazione in base ai dati disponibili e referenziati in letteratura;
- valutati alla luce delle reali condizioni d'uso, i risultati del test di irritazione *in vitro* precedentemente effettuato sulla sostanza in esame (studio DTM54);
- valutata la funzione emolliente, idratante e lenitiva di diverse sostanze (studio SAM3172);

si può concludere che la sostanza in esame SNORE OFF:

- 1 posseda un basso potenziale di irritazione per l'uomo,**
- 2 posseda un livello di tossicità estremamente basso per l'uomo,**

a livello della mucosa orale e in particolare del palato, se usato correttamente da un soggetto adulto sano, non acclaratamente allergico ad alcuno degli ingredienti, e secondo le indicazioni riportate nel foglietto illustrativo.

VALUTAZIONE TOSSICOLOGICA INTEGRATIVA PER CALCOLO

ALLEGATI

(COMPOSIZIONE QUALI-QUANTITATIVA DELLA SOSTANZA IN ESAME, 1
PAGINA)