



Spray Nasale e Orale Anti Covid -19 ingegnerizzato con liposomi



SPRAY ANTI COVID -19

WP3 – A3.6 - P18
REPORT DI VALUTAZIONE RISULTATI ANTIVIRALI

Sommario

INFEZIONE CELLULARE E COMPOSTI DELLE CELLULE VERO E6.....	3
VALUTAZIONE DELL'ATTIVITÀ ANTIVIRALE DEI COMPOSTI MEDIANTE RT-PCR QUANTITATIVA IN TEMPO REALE	3
PRIMA VALUTAZIONE DELL'ATTIVITÀ VIRUCIDA DEI COMPOSTI	3
VALUTAZIONE DELL'ATTIVITÀ ANTIVIRALE DEI COMPOSTI MEDIANTE QRT-PCR ..	3
SECONDA VALUTAZIONE DELL'ATTIVITÀ VIRUCIDA DEI COMPOSTI	4

INFEZIONE CELLULARE E COMPOSTI DELLE CELLULE VERO E6

Le cellule Vero E6 sono state seminate in piastre da 96 pozzetti e sono state incubate per 24 ore a 37 °C.

Le cellule sono state quindi infettate a un MOI di 0,05 (1000 PFU/pozzetto) e incubate per 2 ore a 37 °C.

L'inoculo virale è stato rimosso e le cellule infette sono state incubate con il terreno per 72 ore a 37 °C (cellule infette non trattate).

Il virus è stato incubato per 1 ora a 37°C in presenza di diverse concentrazioni dei Composti fitoterapici selezionati e ingegnerizzati con liposomi; contemporaneamente le cellule sono state incubate con diverse concentrazioni dei composti.

Dopo la rimozione dei composti dalle cellule, la miscela virus-composti è stata aggiunta al monostrato cellulare per 2 ore a 37°C.

Dopo la rimozione dell'inoculo virale, è stata aggiunta la stessa quantità di composti nel mezzo cellulare e le cellule sono state incubate per 78 ore a 37°C.

Il test è stato eseguito in triplicato e in tre repliche biologiche.

VALUTAZIONE DELL'ATTIVITÀ ANTIVIRALE DEI COMPOSTI MEDIANTE RT-PCR QUANTITATIVA IN TEMPO REALE

La quantificazione dei numeri di copie virali nel surnatante cellulare è stata valutata tramite RT-PCR quantitativa specifica in tempo reale (qRT-PCR), mirata al gene N1 SARS-CoV-2, dopo l'isolamento dell'RNA dai surnatanti cellulari. I risultati sono stati espressi come: la percentuale di replicazione virale, rispetto alle cellule infette non trattate (100%).

L'attività antivirale del 50% (IC50) che causa una riduzione del 50% della replicazione di SARS-CoV-2 rispetto alle cellule infette di controllo non trattate è stata determinata utilizzando il software Gene5.

PRIMA VALUTAZIONE DELL'ATTIVITÀ VIRUCIDA DEI COMPOSTI

Per verificare l'attività virucida dei composti più attivi, è stato condotto il test della placca, utilizzando i surnatanti delle cellule infette, raccolti dopo 72 ore di infezione, come inoculo virale. In breve, dopo 2 ore di inoculo con sospensione del virus, l'inoculo è stato rimosso e le cellule sono state coperte con agarosio disciolto in mezzo cellulare e incubate per 72 ore a 37 °C.

Le cellule sono state fissate con una soluzione di formaldeide e colorate con blu di metilene. Sono state contate le placche e i risultati sono espressi come unità formanti placca (PFU)/ml e come percentuale di replicazione virale, rispetto alle cellule infette non trattate.

Valutazione del SI dei composti. L'indice di selettività (SI) è stato calcolato come rapporto CC50/IC50.

VALUTAZIONE DELL'ATTIVITÀ ANTIVIRALE DEI COMPOSTI MEDIANTE QRT-PCR

L'attività antivirale è stata valutata per tutti i composti, a concentrazioni non tossiche, mediante qRT-PCR. Liposomi caricati con varie concentrazioni di ingredienti fitoterapici selezionati, hanno mostrato la capacità di sopprimere la replicazione di SARS-CoV-2, con attività dose-dipendente.

SECONDA VALUTAZIONE DELL'ATTIVITÀ VIRUCIDA DEI COMPOSTI

Al fine di verificare i risultati ottenuti mediante qRT-PCR e per escludere la possibilità di risultati dovuti ad artefatti tecnici, l'attività virucida dei composti più attivi è stata verificata mediante saggio su placca. I composti testati hanno mostrato una completa soppressione virale quando utilizzati ad una determinata concentrazione.

Tra le soluzioni testate, molto promettente è stata il Liposoma caricato on Lapacho che ha mostrato una significativa attività antiSARS-CoV-2.

Technical Director
Dr. Di Lorenzo Fabrizio

CEO and General Manager
Dr. Di Lorenzo Fabrizio

Last revision: Luglio 2023

DGP PHARMA srl
Via Cimabue 8 – 28100 NOVARA (Italy)

Seguici sui social



FACEBOOK
Poloibis



INSTAGRAM
Consorzio Ibis



TIK TOK
Consorzio Ibis



LINKEDIN
Consorzio Ibis Novara

