



**exolab**  
I T A L I A

# Plant Derived Extracellular Vesicles for nanomedicine

Dott.ssa Rossella Di Raimo  
R&D Coordinator  
Exo Lab Italia



# ExoLab Italia una Start-up BioTech Innovativa

Siamo pionieri, con oltre 30 anni di ricerca sui farmaci antitumorali presso l'ISS (Istituto Superiore di Sanità), dell'uso innovativo delle vescicole extracellulari (EVs).

Negli ultimi 10 anni, abbiamo dedicato la nostra ricerca e sviluppo agli esosomi vegetali derivati da frutta e verdura biologica italiana e allo sviluppo di un farmaco innovativo ("ibrido") per i tumori orfani.

In soli 3 anni Exo Lab Italia è diventata la prima azienda in Europa a occuparsi di prodotti basati sull'innovazione, la ricerca, lo sviluppo e la produzione di prodotti a base di Vescicole Extracellulari Vegetali.



# 1. Ricerca e Innovazione

Grazie all'esperienza del team di ricerca e sviluppo guidato dal Prof. Stefano Fais e dalla Dott.ssa Mariantonia Logozzi, puntiamo a rinnovare il mercato dei prodotti naturali attraverso una ricerca basata su conoscenze specifiche e innovazione nel campo delle Vescicole Extracellulari Vegetali.

## 2. Biologico e Made in Italy

L'Italia è la nazione con il più alto tasso di biodiversità, vantando più di 1500 differenti varietà vegetali (9000 a livello mondiale).

Tutte le vescicole extracellulari derivano da frutta e vegetali provenienti da **agricoltura biologica italiana**.

# 3. Sostenibilità

Durante il processo di purificazione e concentrazione delle vescicole extracellulari, non produciamo scarto.

Tutti i prodotti di scarto intermedi sono riutilizzati nel processo di produzione oppure utilizzati come fertilizzante organico.



Finanziato  
dall'Unione europea  
NextGenerationEU



Ministero  
dell'Università  
e della Ricerca



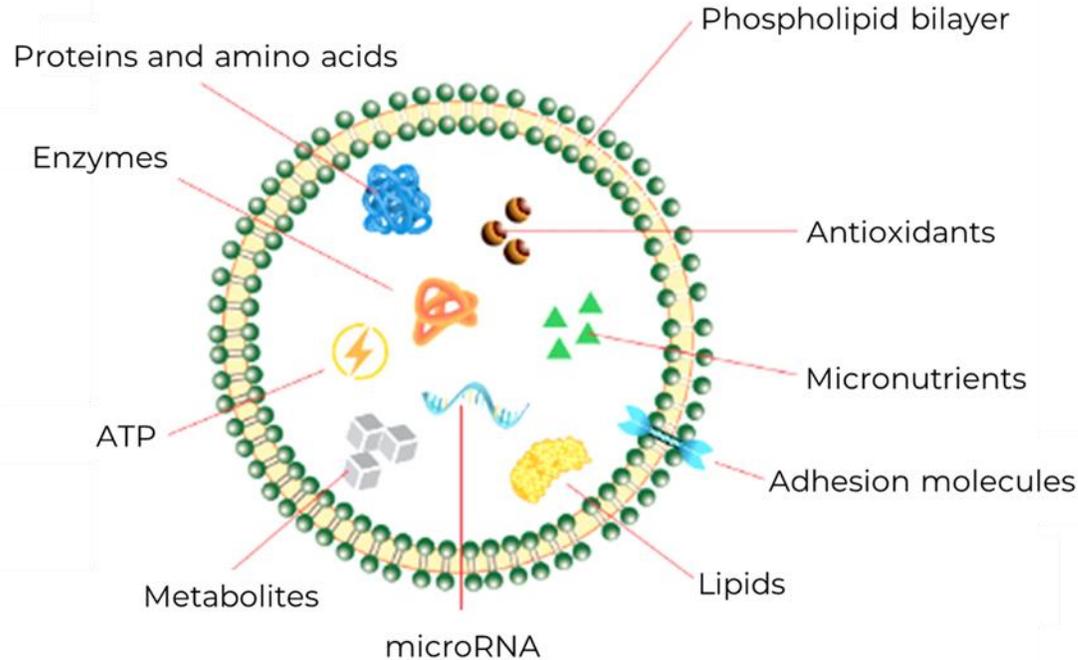
Italiadomani  
PIANO NAZIONALE  
DI RIPRESA E RESILIENZA

## Il nostro Team





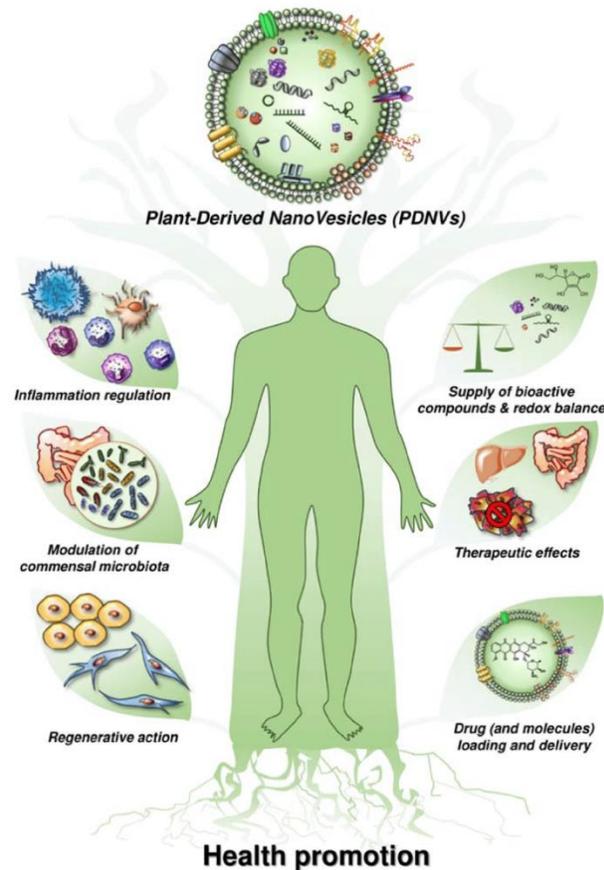
## PDEVs: Caratteristiche



- Dimensioni comprese tra i 40 e i 500 nm
  - Membrana fosfolipidica altamente resistente agli stimoli esterni (arricchita in fosfatidilserina e fosfatidiletanolamina che sono coinvolte nel mantenimento della forma sferica delle vescicole e acido fosfatidico coinvolto nell'assorbimento delle EVs a livello intestinale)
  - Contengono proteine, acidi nucleici e metaboliti secondari
- Le PDEVs sono coinvolte nella comunicazione intraspecie ed interspecie tra le piante e gli altri organismi
- Svolgono una potente azione antiossidante, antinfiammatoria ed antitumorale



## PDEVs: Effetti



### Attività antitumorale

Le PDEVs isolate da pompelmo, limone, zenzero ed uva hanno dimostrato un'attività antitumorale. È stato inoltre dimostrato che le vescicole di limone hanno un'attività antiproliferativa del tumore sia *in vitro* che *in vivo*.

### Attività antinfiammatoria

Le PDEVs derivate dallo zenzero e dal pompelmo svolgono un importante ruolo antinfiammatorio, modulando l'espressione delle citochine antinfiammatorie.

### Attività antiossidante

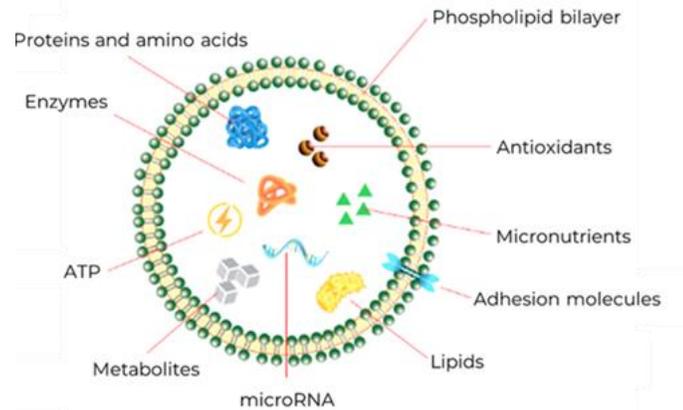
Le PDEVs del limone contengono vitamina C e acido citrico che proteggono le cellule staminali mesenchimali dallo stress ossidativo.

### Attività antimicrobica

Le PDEVs derivate dalle piante possono promuovere alcuni probiotici; al contrario, possono inibire la proliferazione dei batteri patogeni. La loro azione è probabilmente dovuta al loro contenuto di RNA.

# PDEVs: Applicazioni

## PDEVs TOUT COURT



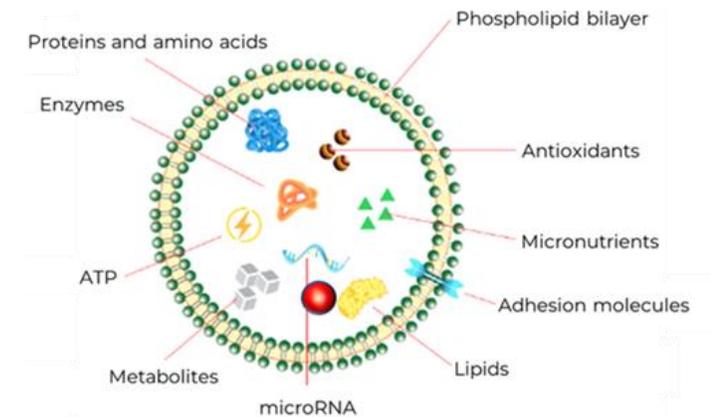
Attività antitumorale

Effetto antinfiammatorio

Effetto antiossidante

Effetto antimicrobico

## PDEVs CARICATE



Farmaci chimici

Acidi nucleici

Composti naturali

## PDEVs: Applicazione nel drug delivery

### NANOCARRIER SINTETICI

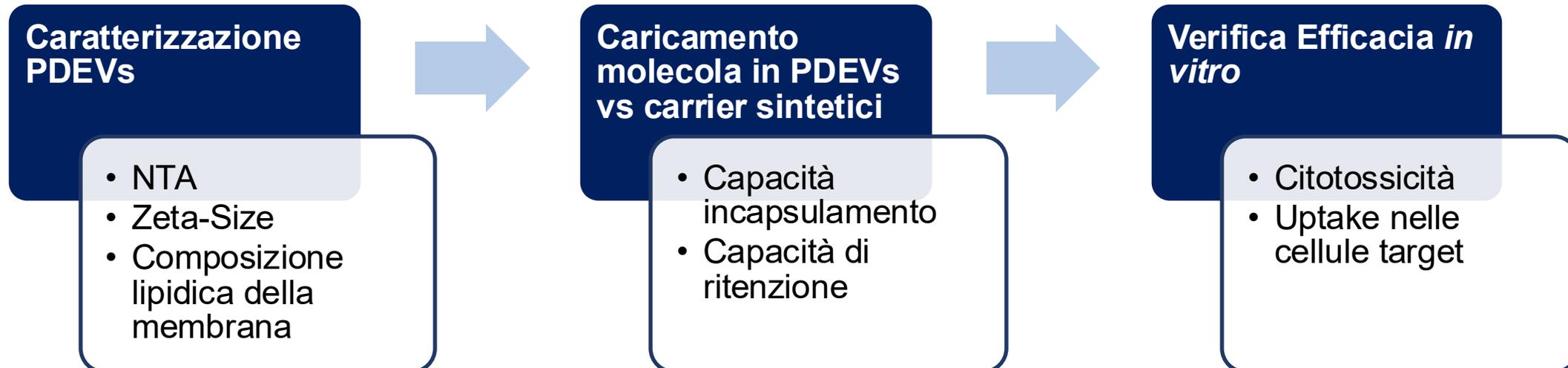
- I sistemi di drug delivery proteggono i farmaci dalla degradazione e dalla rapida clearance nel corpo, ma il loro passaggio attraverso le membrane è molto debole.
- Visto che sono ottenuti da sintesi chimica, i nanocarrier non sono interamente compatibili con le strutture biologiche, inducendo tossicità nel corpo umano
- La scala di produzione è limitata

### VESCICOLE VEGETALI EXTRACELLULARI

- Le PDEVs hanno membrane altamente resistenti alla degradazione da parte degli enzimi gastrici e della bile, insieme a un'elevata stabilità nel tratto gastrointestinale
- Le PDEVs sono sicure, completamente biocompatibili con le strutture biologiche e mostrano una grande capacità di attraversare le barriere biologiche (possono attraversare la barriera emato-encefalica).
- Possono essere prodotti su larga scala



## PLANT DERIVED EXTRACELLULAR VESICLES: a new innovative technological platform for nanomedicine





Finanziato dall'Unione europea  
NextGenerationEU



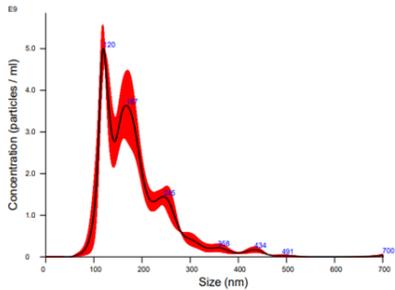
Ministero dell'Università e della Ricerca



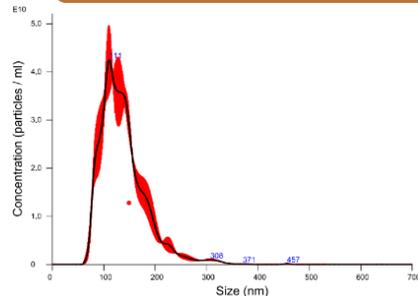
Italiadomani  
PIANO NAZIONALE DI RIPRESA E RESILIENZA

# Caratterizzazione delle vescicole extracellulari vegetali: Distribuzione dimensionale

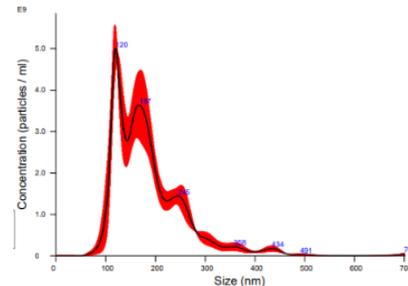
ALOE



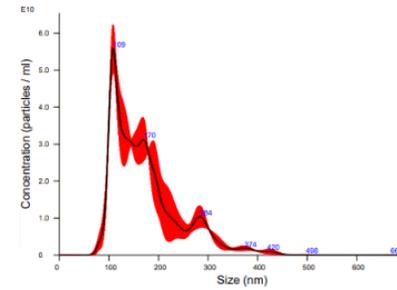
ARANCIA BIONDA



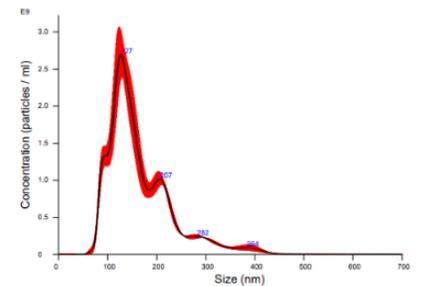
CARDO MARIANO



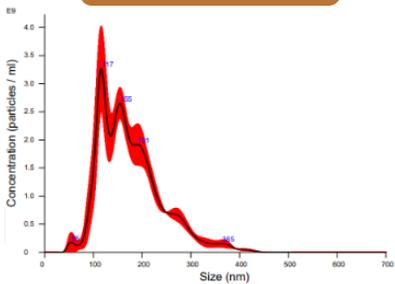
CURCUMA



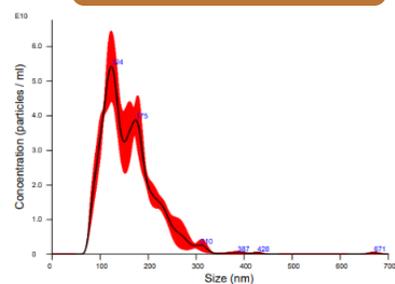
LIQUIRIZIA



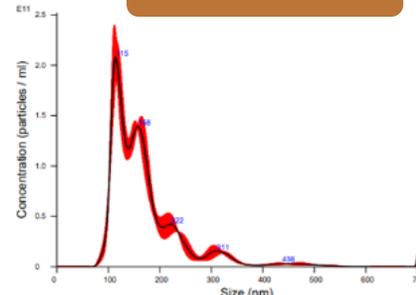
PEPERONE



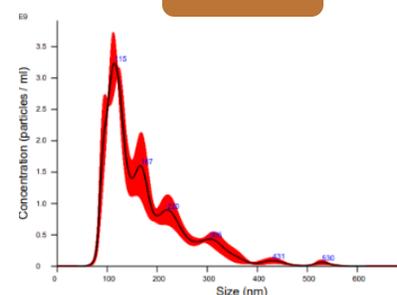
POMPELMO



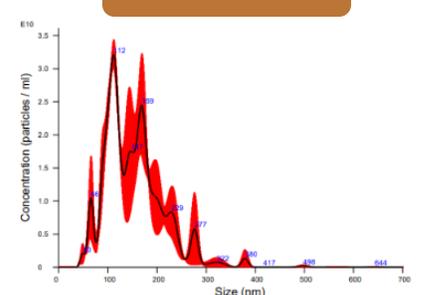
TE' VERDE



UVA



ZENZERO



## Caratterizzazione delle vescicole extracellulari vegetali: Distribuzione dimensionale



Campione	Quantità	Dimensione Media (nm)
Aloe Vera	$2,2 \cdot 10^{12} \pm 2,13 \cdot 10^{10}$	$189,0 \pm 4,1$
Arancia	$3,54 \cdot 10^{12} \pm 1,92 \cdot 10^{11}$	$138,3 \pm 0,2$
Cardo Mariano	$4,8 \cdot 10^{11} \pm 6,60 \cdot 10^{10}$	$186,8 \pm 5,5$
Curcuma	$4,8 \cdot 10^{12} \pm 4,3 \cdot 10^{11}$	$173,7 \pm 0,8$
Liquirizia	$2,5 \cdot 10^{11} \pm 2,18 \cdot 10^{10}$	$165,5 \pm 4,1$
Peperone	$3,6 \cdot 10^{12} \pm 5,70 \cdot 10^{10}$	$178,1 \pm 6,3$
Pompelmo	$5,4 \cdot 10^{12} \pm 8,05 \cdot 10^{11}$	$159,3 \pm 2,7$
Tè Verde	$1,62 \cdot 10^{13} \pm 5,48 \cdot 10^{11}$	$169,7 \pm 1,7$
Uva	$3,1 \cdot 10^{11} \pm 3,03 \cdot 10^{10}$	$175,0 \pm 3,9$
Zenzero	$3 \cdot 10^{12} \pm 2,10 \cdot 10^{11}$	$152,7 \pm 3,1$



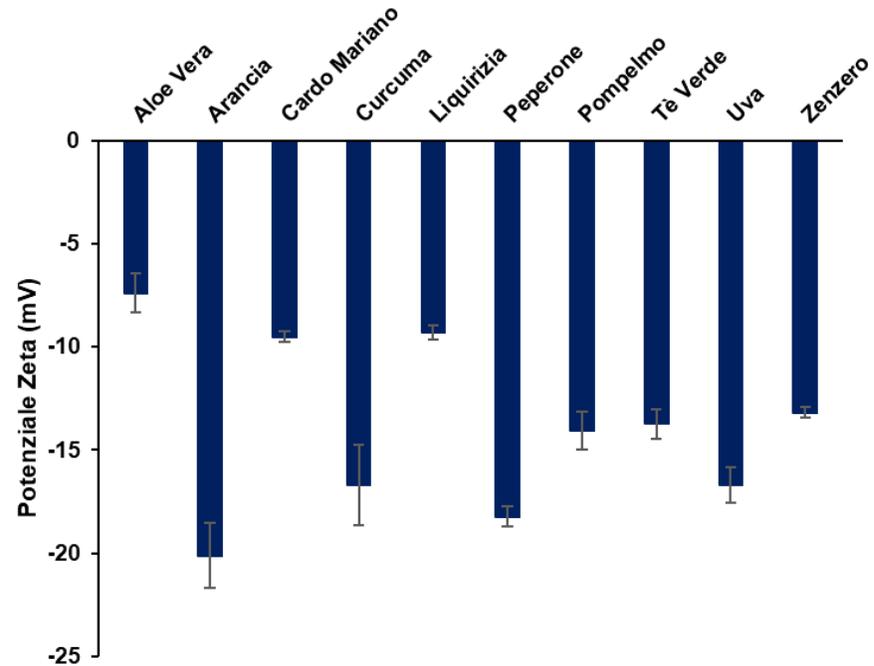
## Valori D delle vescicole extracellulari



Campione	D10 (nm)	D50 (nm)	D90 (nm)
Aloe Vera	105,9 ± 3,1	168,8 ± 7,9	279,6 ± 8,1
Arancia	90,7 ± 1,0	129,5 ± 0,9	195,3 ± 2,0
Cardo Mariano	115,5 ± 2,9	170,4 ± 3,2	272,0 ± 5,2
Curcuma	104,6 ± 1,1	156 ± 1,0	278,1 ± 5,2
Liquirizia	98,6 ± 3,2	146,3 ± 1,9	253,7 ± 11,9
Peperone	109,8 ± 6,2	164,8 ± 4,8	265 ± 8,2
Pompelmo	101,0 ± 2,9	148,8 ± 1,3	231,0 ± 8,2
Tè Verde	109,3 ± 0,8	151,6 ± 1,4	257 ± 14,5
Uva	99,1 ± 2,3	149,0 ± 5,7	293,2 ± 14,5
Zenzero	89,3 ± 1,9	143,0 ± 4,8	241,0 ± 13,2



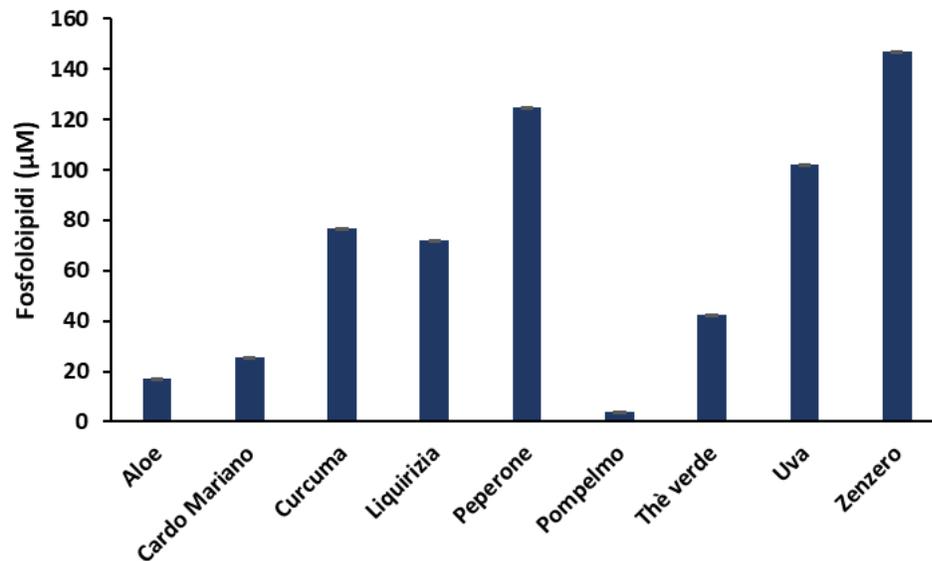
## Potenziale zeta delle vescicole extracellulari



La valutazione del potenziale zeta permette di predire la stabilità o le interazioni elettrostatiche delle vescicole extracellulari presenti nelle dispersioni: un valore assoluto elevato di potenziale zeta implica che le particelle rimangono lontane l'una dall'altra, evitando fenomeni di agglomerazione, aggregazione e/o flocculazione. Questa analisi permette di stabilire quali tra le vescicole extracellulari analizzate sono più stabili in soluzioni acquose.

I risultati preliminari dell'analisi del potenziale di membrana, stanno dimostrando che le vescicole analizzate finora hanno un potenziale zeta negativo, tra i **-10 e -20 mV**, indicando **l'alta stabilità in soluzione acquosa**.

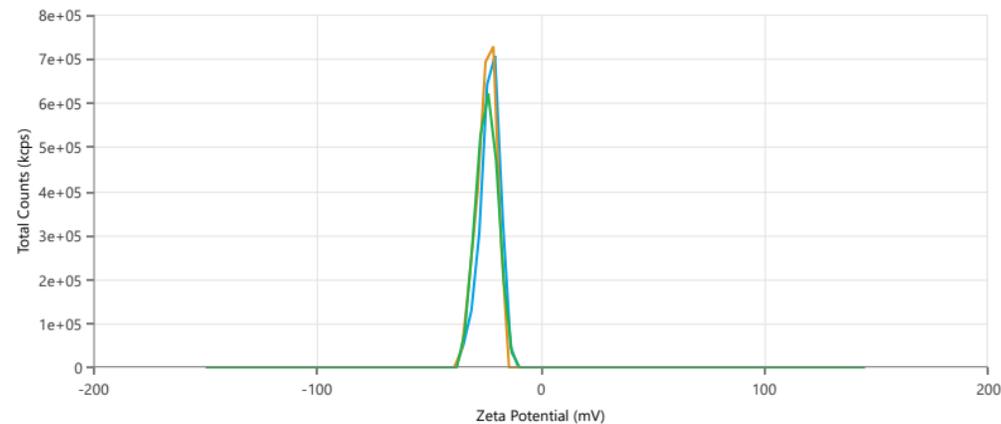
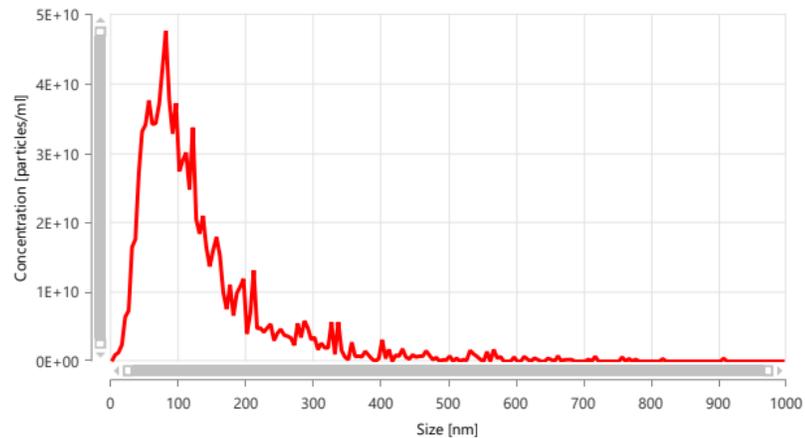
## Quantificazione dei fosfolipidi presenti nelle vescicole extracellulari



Campione	Fosfolipidi (µM)
Aloe Vera	17,1428 ± 0,0014
Cardo Mariano	25,3571 ± 0,0049
Curcuma	76,7857 ± 0,0007
Liquirizia	72,1428 ± 0,0113
Peperone	125 ± 0,0233
Pompelmo	3,7812 ± 0,1414
Tè Verde	42,5 ± 0,0049
Uva	102,062 ± 0,0185
Zenzero	147,1428 ± 0,0014

# CARICAMENTO PDEVs DI MELOGRANO CON TOCOFEROLO

## Caratterizzazione biofisica



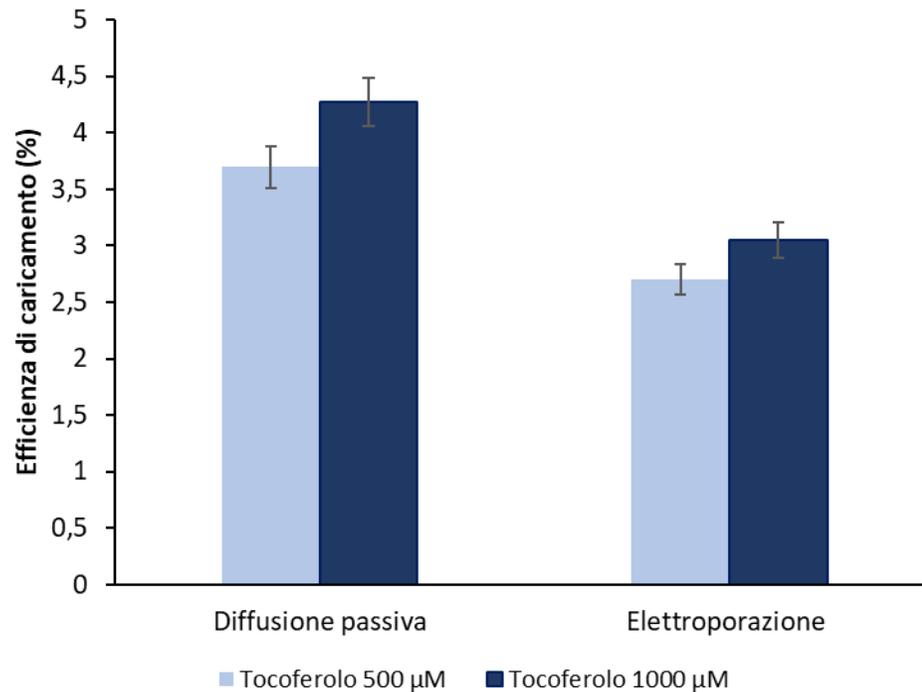
### Caratterizzazione biofisica Melograno

Dimensione	$178,3 \pm 1,8$ nm
Potenziale zeta	$-23,63 \pm 0,83$ mV

- a) Distribuzione dimensionale vescicole di Melograno
- b) Potenziale zeta vescicole Melograno

# CARICAMENTO PDEVs DI MELOGRANO CON TOCOFEROLO

## Efficienza di caricamento



A parità di concentrazione di tocoferolo utilizzato per il caricamento (500 e 1000 µM), l'incapsulamento della molecola attraverso la diffusione passiva (3,7% e 4,27% rispettivamente per 500 e 1000 µM) risulta essere più efficiente rispetto all'elettroporazione (2,7% e 3,05% per 500 e 1000 µM).

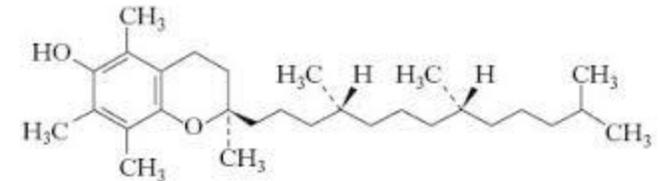


# CARICAMENTO PDEVs DI MELOGRANO CON TOCOFEROLO

## Efficienza di caricamento

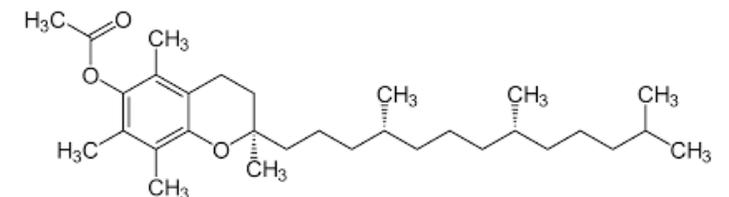
### Tocoferolo

- Forma di Vitamina E che si trova in natura
- Efficiente antiossidante, ma poco stabile
- Direttamente disponibile
- Frequentemente utilizzato negli integratori



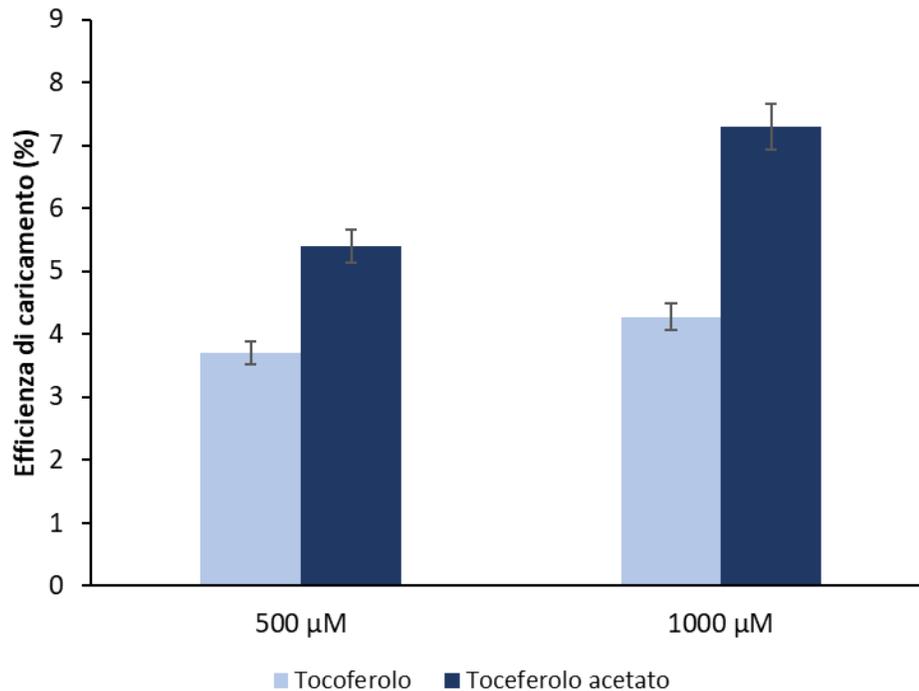
### Tocoferolo Acetato

- Forma sintetica di Vitamina E, gruppo idrossile sostituito da un gruppo acetato
- Molto più stabile della forma pura (utilizzato in cosmetica)
- Deve essere convertito dal corpo in Vit E prima di esercitare la sua azione antiossidante
- Frequentemente utilizzato per applicazione topiche



## CARICAMENTO PDEVs DI MELOGRANO CON TOCOFEROLO

### Efficienza di caricamento



Per confrontare l'efficienza di caricamento della molecola pura e della sua forma acetata nelle PDEVs abbiamo incubato le vescicole overnight con le molecole, sfruttando la capacità di queste ultime di diffondere attraverso la membrana vescicolare secondo un gradiente di concentrazione; l'efficienza di caricamento dipende dall'idrofobicità del composto. Considerando lo stesso numero di PDEVs e la concentrazione massima utilizzata (1000 μM) l'efficienza di caricamento è maggiore nel caricamento del tocoferolo acetato (7,3%) rispetto alla molecola pura (4,27%).

## Conclusioni

- Caratterizzazione biofisica delle vescicole vegetali:
  - NTA ✓
  - Zetasizer ✓
  - Caratterizzazione lipidi di membrana ✓
- Efficienza di caricamento della molecola liposolubile nelle PDEVs vs liposomi
  - Capacità incapsulamento ✓
  - Capacità di ritenzione
- Valutazione effetti *in vitro*: molecola in PDEVs vs molecola in liposomi
  - Citotossicità
  - Uptake nelle cellule target



**“Nature is great in the great things,  
but is greater in the small ones.”**

**Plinio**

Exo Lab Italia  
Tecnopolo d’Abruzzo  
Strada Statale 17  
Loc. Boschetto di Pile  
67100 L’Aquila (Italy)

<https://exolabitalia.com/>  
<https://www.exolabitalia.shop/>

[infoRD@exolabitalia.com](mailto:infoRD@exolabitalia.com)