

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO

CORSO DI LAUREA IN FARMACIA

TESI DI LAUREA MAGISTRALE

Azadirachta indica: uso tradizionale e
potenziale attività antidiabetica

Laureanda
Vesna Sacchetto

Relatrice
PROF.SSA GUGLIELMINA FROLDI

ANNO ACCADEMICO 2023-2024

«Non è meraviglioso pensare a tutte le cose che devi scoprire? Mi fa sentire felice essere viva. Il mondo è così interessante! Non sarebbe così interessante se sapessimo già tutto: non ci sarebbe spazio per la fantasia, non crede?»

Lucy Maud Montgomery, Anna dai capelli rossi, 1908

INDICE

ABBREVIAZIONI	4
ELENCO DELLE IMMAGINI	6
ELENCO DELLE TABELLE	8
INTRODUZIONE	10
CAPITOLO 1: <i>AZADIRACHTA INDICA</i>	11
1.1. Caratteristiche botaniche	11
1.2. Distribuzione geografica	13
CAPITOLO 2: DIABETE MELLITO	15
2.1. Classificazione ed eziologia	15
2.2. Trattamenti farmacologici	17
2.3. Ruolo degli <i>Advanced Glycation End products</i> (AGEs) nelle complicanze diabetiche	19
CAPITOLO 3: COMPOSIZIONE FITOCHIMICA	23
CAPITOLO 4: POTENZIALI PROPRIETÀ	25
CAPITOLO 5: ATTIVITÀ ANTIDIABETICA	28
CONCLUSIONI	39
RINGRAZIAMENTI	40
BIBLIOGRAFIA	41

ABBREVIAZIONI

DM: Diabetes Mellitus
DM1: Diabetes Mellitus type-1
DM2: Diabetes Mellitus type-2
PCOS: Polycystic Ovary Syndrome
FPG: Fasting Plasma Glucose
OGTT: Two-hour Oral Glucose Tolerance Test
DPP-4: Dipeptidyl Peptidase 4
GIP: Gastric Inhibitory Peptide
GLP-1: Glucagon-like Peptide-1
SGLT2: Sodium-Glucose Cotransporter-2
PPAR- γ : Peroxisome Proliferator-activated Receptor γ
AGEs: Advanced Glycation End-products
MR: Maillard Reaction
RAGE: Receptor for Advanced Glycation End-products
ALEs: Advanced Lipoxidation End-products
FN3K: Fructosamine-3-Kinase
PKC: Protein Kinase C
sRAGE: soluble RAGE
NF- κ B: Nuclear Factor kappa B
TNF- α : Tumor Necrosis Factor α
VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor
RAS: Renin-Angiotensin System
ROS: Reactive Oxygen Species
GAPDH: Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase
POF: Premature Ovarian Failure
FSH: Follicle Stimulating Hormone
ERK 1/2: Extracellular signal-Regulated Kinase
LH: Luteinizing Hormone
HIF-1 α : Hypoxia-Inducible Factor 1 α
SARS-CoV-2: Severe Acute Respiratory Syndrome CoronaVirus-2
ACE2: Angiotensin-Converting Enzyme 2
COVID-19: Coronavirus Disease 2019
HSV-1: Herpes Simplex Virus type 1
NS1: Nonstructural Protein 1
AIDS: Acquired Immune Deficiency Syndrome
IL-17: Interleukin-17

IL-23: Interleukin-23
HSP70: Heat Shock Protein 70
IFN- γ : Interferon γ
GR: Glutathione Reductase
GST: Glutathione S-Transferase
GPx: Glutathione Peroxidase
iNOS: inducible Nitric Oxide
NMDA: N-Methyl-D-Aspartate
ASICs: Acid-Sensing Ion Channels
TrkB: Tropomyosin receptor kinase B
LDL: Low-Density Lipoproteins
HDL: High-Density Lipoproteins
VLDL: Very-Low-Density Lipoprotein
IR: Insuline Receptor
IRS-1: Insuline Receptor Substrate-1 protein
GLUT4: Glucose Transporter type 4
LPO: Lipid Peroxidation
HPA: Human Pancreatic α -Amylase
AI-AgNPs: Azadirachta indica silver Nanoparticles
GLUT2: Glucose Transporter 2
RI: Reflection Index
hsCRP: High-sensitivity C-Reactive Protein
IL-6: Interleukin-6

ELENCO DELLE IMMAGINI

Figura 1. <i>Albero di A. indica</i> (https://it.wikipedia.org/wiki/Azadirachta_indica).....	12
Figura 2. <i>Corteccia di A. indica</i> (https://it.wikipedia.org/wiki/Azadirachta_indica).....	12
Figura 3. <i>Fiori di A. indica</i> (https://it.wikipedia.org/wiki/Azadirachta_indica).....	13
Figura 4. <i>Frutti di A. indica</i> (https://it.wikipedia.org/wiki/Azadirachta_indica).....	13
Figura 5. <i>Distribuzione nel mondo della specie A. indica</i> (Shellikeri et al., 2018).....	14
Figura 6. <i>Prevalenza del diabete mellito nel mondo e trend espresso in percentuale, dal 2021 al 2045</i> (https://idf.org/about-diabetes/diabetes-facts-figures/).....	15
Figura 7. <i>Principali effetti degli AGEs sull'organismo</i> (J. Zhu et al., 2020).....	20
Figura 8. <i>Schema della reazione di Maillard</i> (Shen et al., 2020).....	20
Figura 9. <i>Valori di glicemia a digiuno dei ratti diabetici dopo 30 giorni di trattamento con un estratto acquoso di foglie di A. indica</i> (Satyanarayana et al., 2015).....	28
Figura 10. <i>Valori di insulina dei ratti diabetici dopo 30 giorni di trattamento con un estratto acquoso di A. indica</i> (Satyanarayana et al., 2015).....	29
Figura 11. <i>Espressione del recettore dell'insulina nel muscolo di gastrocnemio di ratti diabetici dopo 30 giorni di trattamento con un estratto acquoso di foglie di A. indica</i> (Satyanarayana et al., 2015).....	30
Figura 12. <i>Espressione di IRS-1 (a), fosforilazione di IRS-1 sulla tirosina in posizione 632 (b) e serina in posizione 636 (c) nel muscolo di gastrocnemio di ratti diabetici dopo 30 giorni di trattamento con un estratto acquoso di foglie di A. indica</i> (Satyanarayana et al., 2015).....	30
Figura 13. <i>Ossidazione del glucosio nel muscolo del gastrocnemio di ratti diabetici dopo 30 giorni di trattamento con un estratto acquoso di foglie di A. indica</i> (Satyanarayana et al., 2015).....	31

Figura 14. <i>Espressione del recettore GLUT 4 nel muscolo del gastrocnemio di ratti diabetici dopo 30 giorni di trattamento con un estratto acquoso di foglie di A. indica (Satyanarayana et al., 2015).....</i>	31
Figura 15. <i>Fosforilazione della proteina Akt nel muscolo del gastrocnemio di ratti diabetici dopo 30 giorni di trattamento con un estratto acquoso di foglie di A. indica (Satyanarayana et al., 2015).....</i>	32
Figura 16. <i>Effetti tossici e capacità di inibizione dell'enzima α-amilasi su cellule AR42J dei composti azadiradione, epossiazadiradione e gedunina (Ponnusamy et al., 2015).....</i>	33
Figura 17. <i>Uptake del glucosio studiato in cellule di lievito usando concentrazioni crescenti di AI-AgNPs, a confronto con l'impiego di estratto di semi di A. indica e acarbosio, quest'ultimo usato come controllo positivo (Rehman et al., 2023).....</i>	34
Figura 18. <i>Percentuale di inibizione dell'attività dell'α-amilasi in presenza di concentrazioni crescenti di solo estratto di semi di A. indica, nanoparticelle AI-AgNPs e acarbosio, quest'ultimo usato come controllo positivo (Rehman et al., 2023).....</i>	34

ELENCO DELLE TABELLE

Tabella 1. <i>Nomi comuni della pianta A. indica nei vari Paesi (Schmutterer, 1995)....</i>	11
Tabella 2. <i>Usi tradizionali della pianta A. indica (Saleem et al., 2018).....</i>	23
Tabella 3. <i>Composizione fitochimica della pianta A. indica (Saleem et al., 2018)....</i>	24
Tabella 4. <i>Profilo lipidico dei ratti diabetici dopo 30 giorni di trattamento con l'estratto acquoso di foglie di A. Indica (Satyanarayana et al., 2015).....</i>	29
Tabella 5. <i>Livelli di GSH e LPO dopo 7 giorni di trattamento dei ratti diabetici con un estratto acquoso di foglie di A. indica (N. K. Gupta et al., 2016).....</i>	32
Tabella 6. <i>Livello degli enzimi antiossidanti dopo 7 giorni di trattamento di ratti diabetici con un estratto acquoso di foglie di A. indica (N. K. Gupta et al., 2016).....</i>	33
Tabella 7. <i>Effetto del trattamento con estratti acquosi di foglie e ramoscelli di A. indica dopo dodici settimane sulla glicemia post-prandiale (Pingali et al., 2020).....</i>	35
Tabella 8. <i>Effetto del trattamento con estratti acquosi di foglie e ramoscelli di A. indica dopo dodici settimane sulla glicemia a digiuno (Pingali et al., 2020).....</i>	35
Tabella 9. <i>Effetto del trattamento con estratti acquosi di foglie e ramoscelli di A. indica dopo dodici settimane sui valori di emoglobina glicata (Pingali et al., 2020)..</i>	36
Tabella 10. <i>Effetto del trattamento con estratti acquosi di foglie e ramoscelli di A. indica dopo dodici settimane sulla funzione endoteliale (Pingali et al., 2020).....</i>	36
Tabella 11. <i>Effetto del trattamento con estratti acquosi di foglie e ramoscelli di A. indica dopo dodici settimane sui valori di MDA (Pingali et al., 2020).....</i>	37
Tabella 12. <i>Effetto del trattamento con estratti acquosi di foglie e ramoscelli di A. indica dopo dodici settimane sui valori di GSH (Pingali et al., 2020).....</i>	37

Tabella 13. *Effetto del trattamento con estratti acquosi di foglie e ramoscelli di A. indica dopo dodici settimane sui valori di hsCRP (Pingali et al., 2020).....38*

Tabella 14. *Effetto del trattamento con estratti acquosi di foglie e ramoscelli di A. indica dopo dodici settimane sui valori di IL-6 (Pingali et al., 2020).....38*

Tabella 15. *Effetto del trattamento con estratti acquosi di foglie e ramoscelli di A. indica dopo dodici settimane sui valori di TNF- α (Pingali et al., 2020).....38*

INTRODUZIONE

Lo studio degli effetti benefici e nocivi delle sostanze vegetali risale all'antichità. Il più antico erbario medico, ritrovato in Cina, infatti, risale al 3000 a.C., ma ci sono fonti che testimoniano l'utilizzo delle piante a scopo curativo anche nell'antico Egitto e fra i popoli della Mesopotamia.

Oggi, c'è una grande frenesia nei confronti del naturale in quanto sinonimo di sicuro e benefico: molto spesso, infatti, i pazienti che si rivolgono a professionisti nell'ambito sanitario chiedono un'alternativa "vegetale" al farmaco etico.

In questa tesi, verranno trattati gli usi tradizionali e le potenziali attività farmacologiche della specie vegetale *Azadirachta indica*, largamente impiegata in medicina tradizionale cinese, ayurvedica e Unani, con particolare attenzione alla sua possibile azione ipoglicemizzante e, in generale, antidiabetica.

CAPITOLO 1: *AZADIRACHTA INDICA*

1.1 Caratteristiche botaniche

La specie *Azadirachta indica*, appartenente alla famiglia delle *Meliaceae*, è conosciuta con diversi nomi, **Tabella 1**. Si tratta di un albero sempreverde che può raggiungere l'altezza di 15-20 metri e, in condizioni ideali di temperatura e precipitazioni, perfino 35-40 metri, **Figura 1**. La chioma, rotondeggiante od ovale, ha un diametro di 15-20 metri (Schmutterer, 1995).

Tabella 1. Nomi comuni della pianta A. indica nei vari Paesi (Schmutterer, 1995).

Paese	Nomi comuni
India	Limba, Limbo, Neem, Nim, Nimb, Nimba, Vembu, Vepa, Veppam
Pakistan	Nimmi
Burma	Tamarkhla
Sri Lanka	Kohomba
Tailandia	Sadao India, Kwinin Dao
Malesia	Mambu
Singapore	Nimbagaha
Iran	Azad-darakht-i-hindi, Nib
Yemen	Meraimarah
Australia	Neem
Papua Nuova Guinea	Neem
Fiji	Neem
Nigeria	Babo Yaro, Dogon Yaro
Tanzania	Mwarobaini
Camerun	Ganye, Marrango
Madagascar	Nim
USA	Neem
America Latina	Nim
Germania	Indischer Zedrach, Großblättringer Zedrach, Indischer Flieder, Niem, Nim
Francia	Azadira d'Inde, Azadirac, Lilas de Inde, Margousier
Portogallo	Margosa
Spagna	Nim, Margosa
UK	Indian Lilac, Neem



Figura 1. Albero di *A. indica* (https://it.wikipedia.org/wiki/Azadirachta_indica).

Il tronco, breve e diritto, arriva a una circonferenza di 1.5-3.5 metri. La corteccia, fessurata o squamosa, può presentarsi di colore grigio-bianco o rosso-marrone, **Figura 2.**



Figura 2. Corteccia di *A. indica* (https://it.wikipedia.org/wiki/Azadirachta_indica).

Le foglie imparipennate sono lunghe 20-40 cm, con margini dentati quando mature. I fiori, di colore bianco e profumati, presentano 5 petali e raggiungono la lunghezza di 5-6 mm e larghezza di 8-11 mm (Schmutterer, 1995), **Figura 3.**



Figura 3. Fiori di *A. indica* (https://it.wikipedia.org/wiki/Azadirachta_indica).

I frutti sono delle drupe di forma ovale, tendente al rotondeggiante, di colore giallo/verde-giallo quando maturano, **Figura 4** (Schmutterer, 1995).



Figura 4. Frutti di *A. indica* (https://it.wikipedia.org/wiki/Azadirachta_indica).

La fioritura e la produzione dei frutti, che, solitamente, avviene dopo 3-6 anni, sono influenzate dalle condizioni ambientali. In media un albero di 8 metri è in grado di produrre approssimativamente dai 37 ai 55 kg di frutti l'anno (Schmutterer, 1995).

1.2 Distribuzione geografica

A. indica è largamente distribuita nelle zone secche, aride tropicali e subtropicali di Asia, Africa, America, Australia e Isole del Pacifico, **Figura 5**.

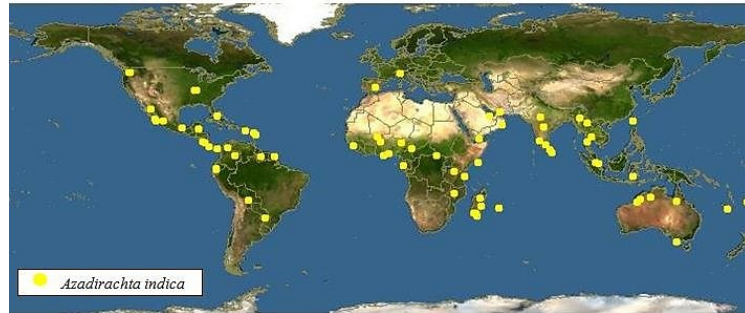


Figura 5. Distribuzione nel mondo della specie *A. indica* (Shellikeri et al., 2018).

Nel continente africano si trovano piantagioni di questa specie vegetale in: Somalia (Mogadishu), Kenya (Mombasa), Tanzania, sudovest del Madagascar, Mauritius, nordovest dell’Etiopia e nella valle Awash, est della Nigeria, Benin, Burkina Faso, Togo, Ghana e Costa d’Avorio (Schmutterer, 1995). Nelle Americhe, invece, *A. indica* è particolarmente diffusa in stati quali: Repubblica Domenicana, Cuba, Porto Rico, Miami, Florida, sud della California, Oklahoma, Arizona, Messico, sud-est del Guatemala, El Salvador, Costa Rica, Panama, ovest della Colombia, nordovest del Venezuela, Bolivia, ovest dell’Equador e Brasile (Schmutterer, 1995).

CAPITOLO 2: DIABETE MELLITO

gr. *διαβαίνειν*: passare attraverso
lat. *mellitus*: contenente miele

Il diabete mellito è una patologia metabolica cronica caratterizzata da prolungata iperglicemia, di cui si stima siano affetti, a livello mondiale, circa 415 milioni di individui di età compresa tra i 20 e i 79 anni, **Figura 6** (Zheng et al., 2018).

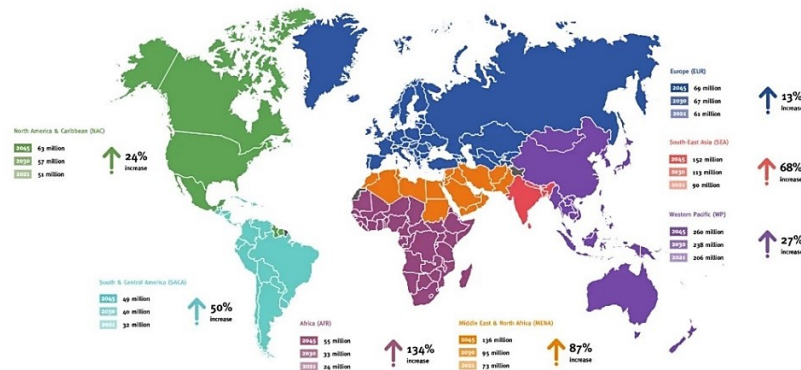


Figura 6. Prevalenza del diabete mellito nel mondo e trend espresso in percentuale, dal 2021 al 2045 (<https://idf.org/about-diabetes/diabetes-facts-figures/>).

2.1 Classificazione ed eziologia

Il diabete mellito (DM) si classifica, a seconda dell'eziologia e della manifestazione clinica, in: tipo 1, tipo 2 e diabete gestazionale.

Il diabete mellito di tipo 1 (DM1) riguarda poco più del 10% dei pazienti e si instaura a seguito della progressiva distruzione autoimmune delle cellule β -pancreatiche (Maahs et al., 2010).

Comuni sintomi del DM1 sono:

- polidipsia e sensazione di bocca secca,
- perdita di peso improvvisa,
- eccessiva minzione,
- mancanza di energia e stanchezza,
- sensazione di fame costante,
- visione offuscata,
- sudorazione notturna.

Il rimanente 90% dei soggetti malati, prevalentemente con età superiore ai 45 anni, invece, presenta diabete mellito di tipo 2 (DM2) (Chatterjee et al., 2017).

Comuni sintomi del DM2 sono:

- polidipsia e sensazione di bocca secca,
- frequente minzione,
- stanchezza e mancanza di energia,
- lenta cicatrizzazione delle ferite,
- ricorrenti infezioni nella pelle,
- visione offuscata,
- formicolio e intorpidimento a mani e piedi.

La comparsa di iperglicemia in gravidanza, specialmente durante il secondo e terzo trimestre, è nota come diabete gestazionale (Choudhury & Devi Rajeswari, 2021).

Fattori di rischio che concorrono all'insorgenza del diabete gestazionale sono:

- età (>45 anni),
- obesità,
- eccessivo aumento di peso durante la gravidanza,
- storia familiare di diabete o diabete gestazionale nelle gravidanze precedenti,
- sindrome PCOS (*Polycystic Ovary Syndrome*).

Tutti i soggetti con età superiore ai 40 anni dovrebbero sottoporsi ad annuali controlli della glicemia, al fine di verificare l'eventuale presenza di DM2 (Goyal et al., 2024).

Fattori di rischio che contribuiscono allo sviluppo della patologia sono:

- etnia (nativi americani, afro-americani, ispanici, americani asiatici, abitanti delle isole del Pacifico),
- sovrappeso od obesità,
- parenti di primo grado con il DM,
- storia di malattie cardiovascolari o di ipertensione,
- PCOS,
- inattività fisica,
- condizioni associate a insulino-resistenza.

Per la diagnosi del DM si ricorre a vari test laboratoriali.

Generalmente, si esegue il test *Fasting Plasma Glucose* (FPG), in cui viene effettuata la diagnosi di diabete se, a seguito dell'esecuzione di un prelievo di sangue dopo un digiuno notturno di 8 ore, i livelli di glucosio sono superiori a 126 mg/dL.

Differentemente, nel *Two-Hour Oral Glucose Tolerance Test* (OGTT), si diagnostica il DM se, dopo 2 ore dall'ingestione di 75 g di glucosio, la glicemia è superiore a 200 mg/dL.

Con il test dell'emoglobina glicata, invece, si ottengono informazioni sui livelli di glucosio presenti nel sangue nei 2/3 mesi precedenti: valori superiori al 6.5% comportano la diagnosi di DM.

Donne in gravidanza, specialmente oltre i 35 anni, dovrebbero essere esaminate per il diabete gestazionale alla 24esima e 28esima settimana (Linea Guida Gravidanza fisiologica, 2011; Goyal et al., 2024).

2.2 Trattamenti farmacologici

La terapia del DM1 si basa sulla somministrazione di insulina per via sottocutanea utilizzando opportuni dispositivi (siringhe, penne da insulina o micropompe). Attualmente, in commercio, esistono vari tipi di insuline, che differiscono tra loro per le caratteristiche farmacocinetiche.

Le insuline ad azione ultrarapida, come *Aspart*, *Glulisine* e *Lispro*, agiscono dopo 5 minuti dall'iniezione e sono da assumere prima del pasto, al fine di limitare il picco glicemico. Le insuline regolari, come *Actrapid*, *Humulin R* e *Insuman Rapid*, agiscono più lentamente delle insuline ad azione rapida (15-20 minuti) e sono da somministrare 15-30 minuti prima del pasto. Le insuline ad azione intermedia, come *Humulin I*, *Monotard* e *Protaphane*, spesso impiegate in associazione alle insuline regolari, agiscono tra la prima e la terza ora dopo l'iniezione e raggiungono il picco di attività tra la quarta e la dodicesima ora dall'erogazione. Le insuline a lunga durata d'azione, come *Detemir* e *Glargine*, iniziano ad agire tra la seconda e la quarta ora dopo la somministrazione e sono spesso prese al mattino o alla sera, prima di andare a dormire, dal momento che la loro azione si prolunga fino alla trentaseiesima ora dall'erogazione (Linea Guida della Associazione dei Medici Diabetologi, 2024).

Il trattamento del DM2, invece, si basa sull'adozione di stili di vita corretti combinati a una terapia farmacologica orale, alla quale, in alcuni casi, è possibile associare, qualora insufficiente a controllare adeguatamente la glicemia, anche l'insulina.

Le linee guida dell'OMS raccomandano la pratica di almeno 150-300 minuti settimanali di attività aerobica di intensità moderata o 75-150 minuti settimanali di attività aerobica di intensità vigorosa. Ulteriormente, si suggeriscono 2-3 sessioni a settimana di esercizi per il condizionamento muscolare (Ministero della Salute. Linee di indirizzo sull'attività fisica, 2021).

Una dieta equilibrata, fondamentale per la gestione del DM2, consiste nel:

- ridurre le calorie (specialmente in caso di paziente sovrappeso),
- introdurre grassi insaturi di origine vegetale e marina,
- assumere alimenti ricchi di fibre quali frutta, verdura e cereali integrali,
- evitare fumo, alcol e zuccheri semplici,
- scegliere cibi cotti al forno o al vapore.

I farmaci più frequentemente prescritti per i pazienti con DM2 sono la *metformina* (come trattamento di prima linea) e alcune sulfoniluree (*gliburide*, *glipizide*, *glimepiride*). Tuttavia, vengono sempre più spesso utilizzati:

- inibitori di DPP-4,
- agonisti GLP-1,

- inibitori SGLT2,
- *pioglitazone*,
- inibitori dell' α -glucosidasi.

Gli inibitori dell'enzima dipeptidil-peptidasi 4 (DPP-4), noti anche come gliptine, sono una classe di farmaci antidiabetici orali di recente introduzione. L'enzima DPP-4 è responsabile della rapida degradazione delle incretine GIP (*Gastric Inhibitory Peptide*) e GLP-1 (*Glucagon-like Peptide 1*), prodotte in concomitanza al pasto.

GLP-1 è in grado di:

- stimolare la secrezione e biosintesi di insulina,
- inibire la secrezione di glucagone,
- aumentare la proliferazione e inibire l'apoptosi delle cellule β -pancreatiche,
- migliorare la risposta all'insulina nei tessuti insulino-dipendenti,
- rallentare il processo digestivo e diminuire l'appetito.

Capostipite di questa classe di farmaci è il *sitagliptin*, approvato per la prima volta dall'FDA nel 2006 (Katzung et al., 2017; Rossi et al., 2017).

Un'altra classe di farmaci, di recente introduzione, sono gli agonisti al recettore GLP-1, quali l'*esendina 4*, contenuta nella saliva del rettile *Gila Monster*, e la *liraglutide*, ottenuta mediante tecnologia del DNA ricombinante e caratterizzata da una sequenza amminoacidica uguale per il 97% a quella del GLP-1 (Katzung et al., 2017; Rossi et al., 2017).

Gli agonisti al recettore GLP-1 sono in grado di:

- aumentare la secrezione di insulina,
- diminuire la secrezione di glucagone,
- ridurre il processo apoptotico e aumentare la proliferazione delle cellule β -pancreatiche,
- diminuire l'appetito e il peso corporeo, per rallentamento dello svuotamento gastrico,
- abbassare i livelli di trigliceridi e acidi grassi liberi.

La *liraglutide*, somministrata per via sottocutanea una volta al giorno, può essere eventualmente utilizzata in associazione con l'insulina. In commercio, inoltre, sono disponibili farmaci quali la *dulaglutide* e la *semaglutide* (di nuova introduzione), somministrabili una volta a settimana (Katzung et al., 2017; Rossi et al., 2017).

Recentemente, sono stati introdotti anche gli inibitori reversibili di SGLT2 (*Sodium-Glucose Cotransporter-2*), sviluppati a partire dalla *florizina*, un glicoside naturale in grado di promuovere l'escrezione del glucosio attraverso le urine (Katzung et al., 2017; Rossi et al., 2017). *Canagliflozin*, *dapagliflozin*, *empagliflozin*, *ertugliflozin* sono alcuni esempi di questa categoria di farmaci, noti anche come glifozine.

Gli inibitori SGLT2 sono in grado di:

- ridurre la glicemia per escrezione del glucosio attraverso le urine,

- favorire la perdita di peso corporeo,
- ridurre la pressione arteriosa per effetto diuretico con meccanismo osmotico.

Gli inibitori SGLT2 sono spesso usati in associazione con la *metformina* e, generalmente, sono somministrati una volta al giorno per via orale. Gli inibitori SGLT2 sono controindicati in soggetti con diabete mellito di tipo 1, chetoacidosi diabetica, ipo-funzionalità renale (in particolare a livello glomerulare), pancreatiti (in atto o pregresse), gravidanza e allattamento (Katzung et al., 2017; Rossi et al., 2017).

Il *pioglitazone*, anch'esso di nuova introduzione, è in grado di:

- diminuire la produzione di glucosio epatico,
- favorire la captazione del glucosio a livello del muscolo scheletrico ed epatico,
- aumentare la risposta all'insulina endogena,
- attivare il recettore PPAR γ (*Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ*) a livello del tessuto adiposo e muscolare, promuovendo la trascrizione di geni che regolano l'utilizzo di acidi grassi e di glucosio.

Gli effetti ipoglicemici di questo farmaco vengono progressivamente raggiunti dopo 2/3 mesi dall'inizio della terapia. La somministrazione del *pioglitazone* può portare a incremento del peso corporeo, ritenzione di liquidi ed edema periferico, aumentando, quindi, il rischio di eventi cardiovascolari (Katzung et al., 2017; Rossi et al., 2017).

L'*acarbosio* è un inibitore reversibile dell' α -glucosidasi, enzima responsabile della digestione degli oligosaccaridi in unità monomeriche di glucosio.

L'*acarbosio*, somministrato in concomitanza dei pasti, è in grado di :

- controllare la glicemia post-prandiale,
- ridurre il peso corporeo,
- diminuire i valori di emoglobina glicata.

Questo farmaco può dare disturbi gastro-intestinali e flatulenza a causa della fermentazione degli zuccheri non digeriti a livello intestinale (Katzung et al., 2017; Rossi et al., 2017).

2.3 Ruolo degli *Advanced Glycation End-products* (AGEs) nelle complicanze diabetiche

In una condizione di iperglicemia continua, il glucosio forma addotti con le proteine del plasma alterandone la struttura e la funzione attraverso un processo non enzimatico detto glicazione. Gli AGEs, classificati in *fluorescent cross-linking*, *non-fluorescent cross-linking*, *non cross-linking*, sono coinvolti nell'insorgenza delle complicanze diabetiche quali retinopatia, nefropatia, neuropatia, cardiomiopatia, cataratta, aterosclerosi, malattie neurodegenerative, artrite e infertilità, **Figura 7** (Singh et al., 2014; J. Zhu et al., 2020).

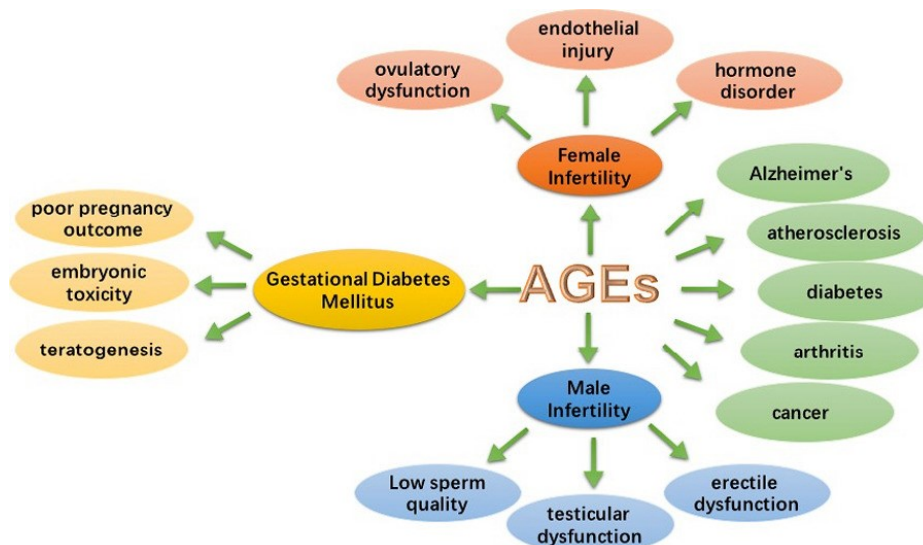


Figura 7. Principali effetti degli AGEs sull'organismo (J. Zhu et al., 2020).

La reazione non enzimatica che avviene tra i gruppi amminoacidici liberi delle proteine e i gruppi carbonilici riducenti degli zuccheri è nota come reazione di Maillard (MR). La reazione tra il glucosio (o altro zucchero riducente) e un residuo amminoacidico libero (in particolare lisina o arginina) porta alla formazione di una base di Schiff instabile, dalla quale, per riarrangiamento, si genera il composto di Amadori. Successivamente, dal composto di Amadori, per degradazione, riarrangiamento, ossidazione, deidratazione e polimerizzazione, originano composti dicarbonilici reattivi come *gliossano*, *metilgliossale* e *deossiglucosoni*, **Figura 8** (Shen et al., 2020).

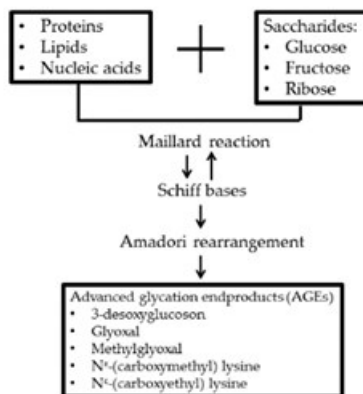


Figura 8. Schema della reazione di Maillard (Shen et al., 2020).

Gli AGEs, a seguito dell'interazione con specifici recettori denominati RAGE (*Receptor for Advanced Glycation End-products*), promuovono il rilascio di molecole pro-infiammatorie, la formazione di radicali liberi e l'alterazione del signaling intracellulare e dell'espressione genica (N. Ahmed, 2005).

Gli AGEs e gli *Advanced Lipoxydation End-products* (ALEs, prodotti di lipossidazione avanzata) sono implicati nell'insorgenza della retinopatia diabetica poiché inducono disfunzione e morte delle cellule retiniche (Portillo et al., 2024; Stitt & Curtis, 2011). Studi preclinici e clinici hanno evidenziato, inoltre, che anche il

sistema renina-angiotensina è coinvolto nell'insorgenza della retinopatia (Miller et al., 2013).

Gli AGEs sono responsabili anche della comparsa di cataratta nei pazienti con DM (De Bruyne et al., 2021). Vari studi hanno evidenziato che l'eccesso di glucosio concorre alla formazione di specie reattive dell'ossigeno, all'alterazione del quantitativo di enzimi antiossidanti e dell'espressione genica e alla modifica del processo fibrotico, apoptotico, autofagico, omeostatico delle cellule epiteliali della lente (Guo et al., 2023). Recentemente, è stato dimostrato che l'enzima FN3K (*Fructosamine-3-Kinase*) e alcuni flavonoidi, quali *campferolo*, *tassifolina* e *quercetina*, sono in grado di inibire la formazione degli AGEs (De Bruyne et al., 2021; Patil et al., 2019).

L'accumulo dei prodotti di glicazione avanzata, l'aumento delle specie reattive dell'ossigeno e l'attivazione della PKC (*Protein Kinase C*) concorrono all'ipertrofia glomerulare, all'apoptosi dei podociti renali e allo sviluppo e progressione della nefropatia (Parwani & Mandal, 2023). Recentemente, è stato dimostrato che l'inibizione dell'attività di RAGE mediante l'impiego di sRAGE (*soluble RAGE*) impedisce la produzione e il rilascio di citochine pro-infiammatorie, migliorando la condizione di fibrosi tubulo-interstiziale (C. H. Kim et al., 2023; Steenbeke et al., 2022). Ulteriormente, è stato evidenziato che anche gli agonisti al recettore GLP-1 sono in grado di inibire l'attività di RAGE, di risolvere l'infiammazione e di ridurre lo stress ossidativo a livello renale (Sourris et al., 2024).

È stato registrato che circa il 50-60% dei pazienti diabetici sviluppa almeno un sintomo neuropatico durante il decorso della malattia, in particolare intorpidimento, dolore e formicolio agli arti inferiori (Strand et al., 2024).

L'iperglicemia è responsabile, infatti, della distruzione della mielina nei nervi periferici e dell'iperexcitabilità dei neuroni centrali e dei nocicettori afferenti (Dewanjee et al., 2018). All'insorgenza della neuropatia diabetica contribuiscono anche NF- κ B (*Nuclear Factor- κ B*) e TNF- α (*Tumor Necrosis Factor- α*), coinvolti nella risposta immunitaria e infiammatoria (Strand et al., 2024).

Vari studi hanno evidenziato che nei pazienti con DM vi è un rischio di morte per un evento cardiovascolare dalle due alle quattro volte superiore rispetto a soggetti non diabetici (Hangaard et al., 2018).

Gli AGEs, infatti, favoriscono l'aumento della permeabilità vascolare a livello cardiaco poiché sono in grado di modificare il collagene di tipo IV e la laminina della matrice extracellulare delle cellule endoteliali e di stimolare direttamente la produzione del VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) e di fattori profibrotici (Saboor et al., 2014; Zhao et al., 2014).

Ulteriormente, l'interazione dei prodotti di glicazione avanzata con il recettore CD36, localizzato sulla membrana delle piastrine, promuove la formazione di trombi e, di conseguenza, l'insorgenza di eventi ischemici cardiaci (W. Zhu et al., 2012). A tale riguardo, recenti studi clinici hanno dimostrato che gli inibitori di SGLT2 (*empagliflozin*), agonisti GLP-1 (*liraglutide*) e inibitori DPP-4 (*sitagliptin*) sono in grado di ridurre in modo significativo il rischio di eventi cardiovascolari (Green et al.,

2015; Qin et al., 2020). Alle complicanze cardiovascolari diabetiche, inoltre, contribuiscono anche l'attivazione della PKC e del sistema RAS (*Renin-Angiotensin System*), l'infiammazione cronica, la disfunzione mitocondriale e lo stress ossidativo (Madamanchi & Runge, 2013; Maiuolo et al., 2018; Wen et al., 2019; Yang et al., 2019).

Un composto ampiamente studiato in clinica, sebbene non utilizzato come farmaco, è l'*aminoguanidina*, la quale è in grado di limitare la formazione degli AGEs e dei ROS (*Reactive Oxygen Species*) mediante l'inibizione dell'attività di NF-κB (J. Kim et al., 2014). Nonostante gli effetti terapeutici promettenti, però, l'*aminoguanidina* non viene impiegata in terapia poiché induce importanti effetti collaterali, quali sintomi simil-influenzali, anemia e disturbi gastrointestinali (Yang et al., 2019).

Il DM2 è implicato anche nello sviluppo della malattia di Alzheimer (W. Y. Li et al., 2022; Ooi & Koriyama, 2023). Si è osservato, infatti, che nei pazienti con insulino-resistenza sono presenti a livello cerebrale, con una frequenza più elevata, aggregati di proteina β-amiloide, proteina tau iperfosforilata e ROS, a causa dell'accumulo di gliceraldeide, dovuta, probabilmente, alla diminuzione dell'attività dell'enzima GAPDH (*Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase*) (Ooi & Koriyama, 2023). Si pensa, inoltre, che anche la riduzione dell'attività della fruttosio-1-fosfato aldolasi possa concorrere al progressivo accumulo di gliceraldeide a livello neuronale (Ooi & Koriyama, 2023).

Elevati livelli di *pentosina* e *carbrossimetillisina* sono correlati ad un aumento del rischio di frattura ossea e osteoporosi in soggetti con DM2 (Dhaliwal et al., 2022; Schwartz et al., 2009). Il composto *carbrossimetillisina*, infatti, concorre alla demineralizzazione ossea in quanto in grado di legarsi agli ioni calcio (Wang & Vashishth, 2023). Ulteriormente, studi *in vitro* hanno evidenziato che, all'aumentare dell'espressione di RAGE, si verifica un incremento delle risposte infiammatorie e l'alterazione del processo di differenziazione, proliferazione e apoptosi degli osteoblasti (Franke et al., 2011; Yamamoto & Sugimoto, 2016).

Il segnale AGEs-RAGE e lo stress ossidativo sono responsabili anche del POF (*Premature Ovarian Failure*) e dell'infertilità nella PCOS (Azhar et al., 2020; Hu et al., 2020; Lin et al., 2020). Secondo recenti evidenze, la disfunzione ovarica, indotta dagli AGEs, sembrerebbe dovuta alla diminuzione dei valori di FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) e all'alterazione della segnalazione ERK1/2 (*Extracellular Signal-regulated Kinase 1/2*) indotta da LH (*Luteinizing Hormone*) (Diamanti-Kandarakis et al., 2016). Gli AGEs, inoltre, inibiscono il processo di spermatogenesi e di apoptosi delle cellule di Leydig, per attivazione del fattore HIF-1α (*Hypoxia-Induced Factor 1α*), e la sintesi di steroidi e inducono le cellule di Sertoli all'apoptosi, per attivazione della segnalazione NF-κB (Antognelli et al., 2018; Y. Chen et al., 2016; Moschonas et al., 2014; Turner & Lysiak, 2008). A tale riguardo, recenti studi hanno dimostrato che la *metformina* è in grado di migliorare la motilità degli spermatozoi e di ridurre i livelli sierici di AGEs in donne con PCOS (Diamanti-Kandarakis et al., 2007; Ferreira et al., 2015).

CAPITOLO 3: COMPOSIZIONE FITOCHIMICA

La pianta *A. indica*, conosciuta anche con il nome “*Farmacia del villaggio*” per le sue molteplici proprietà (**Tabella 2**), è stata recentemente dichiarata dalle Nazioni Unite come “*L’albero del XXI ° secolo*”(S. C. Gupta et al., 2017).

Tra le attività riportate, si possono citare le proprietà antiossidanti, antinfiammatorie, anticancerose, antidiabetiche, neuroprotettive, cardioprotettive, insetticide, antimicrobiche, larvicide, antibatteriche, antivirali, antiaterosclerotiche e antipertensive (Sandhir et al., 2021). Ulteriormente, *A. indica* viene utilizzata nel trattamento di vaiolo, lebbra e disturbi del tratto urinario (S. C. Gupta et al., 2017; Islas et al., 2020).

Tabella 2. Usi tradizionali della pianta *A. indica* (Saleem et al., 2018).

Parts used	Uses	References
Leaves	Treatment of chicken pox, skin infections, cosmetics, pest repellents, leprosy, intestinal infections, respiratory disorders, constipation, and vegetables	Drabu et al., 2012; Chopra et al., 1956; Biswas et al., 2002; Kirtikar & Basu, 1935; Benthall, 1933; Anon, 1988
Seeds	Leprosy and GIT infections	Drabu et al., 2012; Chopra et al., 1956; Biswas et al., 2002
Flowers	GIT infections	Drabu et al., 2012; Chopra et al., 1956; Biswas et al., 2002
Oil	Cosmetics, pest repellents, leprosy, intestinal infections, respiratory disorders, constipation, soaps, toothpastes, and waxes	Drabu et al., 2012; Chopra et al., 1956; Biswas et al., 2002; Kirtikar & Basu, 1935; Benthall, 1933; Dastur, 1964
Bark	Pain, malaria, cosmetics, pest repellents, leprosy, intestinal infections, respiratory disorders, constipation, stomachache	Drabu et al., 2012; Chopra et al., 1956; Biswas et al., 2002; Kirtikar & Basu, 1935; S. L. Patil & Patil, 2007
Twigs	Pyrexia, increase in appetite, and teeth cleaner	Drabu et al., 2012; Chopra et al., 1956; Biswas et al., 2002; Benthall, 1933
Gum	Healing of wounds, scabies, ulcer, tonic, and stimulant	Benthall, 1933; Charles & Charles, 1992
Sap	Cooling drink and stomach tonic	Benthall, 1933
Whole tree	Fever, headache, rheumatism, chronic syphilitic sores, ulcer, skin disorders, and blood purification	Drabu et al., 2012; Chopra et al., 1956; Biswas et al., 2002; Kirtikar & Basu, 1975; Charles & Charles, 1992; Mitra, 1963; Gul et al., 2012

Tali proprietà benefiche derivano dalla capacità di questa specie vegetale di modulare diversi meccanismi cellulari e molecolari implicati nello scavenging dei radicali liberi (Heyman et al., 2017), nella riparazione del DNA (Patel et al., 2021), nella modulazione del ciclo cellulare (Arumugam et al., 2014), nell’apoptosi (Shilpa et al., 2017) e nell’infiammazione (Schumacher et al., 2011).

I principali componenti chimici, isolati da varie parti della pianta, appartengono alla classe degli isoprenoidi e non-isoprenoidi, **Tabella 3**.

Tra gli isoprenoidi si possono citare i diterpenoidi triciclici (*nimbione*, *nimbinone*, *nimbionone* e *nimbionolo*), triterpenoidi, tetranortriterpenoidi, pentanortriterpenoidi (*nimbandiolo*, *6-acetilmimbandiolo*, *nimbinene* e *6-deacetilmimbinene*), vilasinine, limonoidi e C-secomeliacine (Akhila & Rani, 1999; Schmutterer, 1995).

Alla categoria dei limonoidi e C-secomeliacine fanno parte l'*azadirone*, *amoorastatina*, *vepinina*, *vilasinina*, *gedunina*, *nimbina*, *nimbolinina*, *salannina* e *azadirachtina* (Schmutterer, 1995).

Alla classe dei non-isoprenoidi appartengono proteine, polisaccaridi, composti solforosi, polifenoli, diidroalconi, cumarine, tannini e composti alifatici (Akhila & Rani, 1999; Schmutterer, 1995)

Tabella 3. Composizione fitochimica della pianta *A. indica* (Saleem et al., 2018).

Parts used	Phytochemicals isolated	Nature of extract	References
Leaves	Stigmasterol, terpinen-4-ol, sugiol, 4-cymene, nimbiol, α -terpinene, and vitamin E	Dichloromethane and methanolic extracts	Nand et al., 2016
	Steroid, glycoside, flavonoids, triterpenoid, carbohydrate, alkaloids, and antiquinone	Chloroform, aqueous and ethanolic extracts	Rapheal, 2012; Prashanth & Krishnaiah, 2014
	Zafaral, meliacinanthridide, nimocinol, and isomeldenin	Ethanolic extract	Siddiqui, Afshan, Gulzar, & Hanif, 2004
	Nimanol	Ethanolic extract	Gopalakrishnan et al., 2002
	Nimbothalin and <i>n</i> -tridecyl benzene	Ethanolic extract	V. Sharma et al., 1998
	Isoprenoid, flavanone (8,3'-di-isoprenyl-5,7-dihydroxy-4'-methoxyflavanone), nonisoprenoids, and meliacin	Ethanol extract fractionated with chloroform and <i>n</i> -butanol	Garg & Bhakuni, 1984
	22,23-Dihydranimocinol and desfurano-6- α -hydroxyazadiradione	Methanolic extract	Siddiqui et al., 2002
	Meliatetraenone and odoratone	Methanolic extract	Siddiqui, Ali, Rasheed, & Kardar, 2003
	Volatile compounds	Oil extracted with steam	El-Hawary, El-Tantawy, Rabeh, & Badr, 2013
	Tetracyclic triterpenes	Ethanolic extract	Siddiqui & Faizi, 1984; Siddiqui, Mahmood, Siddiqui, & Faizi, 1986.
	α -Linolenic acid	<i>n</i> -hexane extract	Nair, Gopal, & Issac, 1997
	Nimanol	Methanolic extract	Suresh, Narasimhan, Masilamani, Partho, & Gopalakrishnan, 1997
Roots	Nimbinil and nimolinin	Dichloromethane and methanolic extracts	Ara, Siddiqui, Faizi, & Siddiqui, 1989b
Flowers	Prenylated flavonoids	Methanolic extract	Nakahara et al., 2002
	Flowerine, flowerone, <i>o</i> -methylaziridinolide, and diepoxyzadirol	Methanolic extract	Siddiqui et al., 2003
	Sesquiterpenes, aromatic compounds, fatty acids and fatty acid esters, steroids, and few hydrocarbons	<i>n</i> -hexane extract	Siddiqui et al., 2009
Azharone, azadirone, and isoazadiridinolide	Methanolic extract	Siddiqui, Ali, & Kashif, 2006	
Seeds	Genistein 7-O-glucoside and (-)-epi-catechin	Methanol, <i>n</i> -hexane, and ethyl acetate extracts	Kanwal et al., 2011
	Tetranortriterpene alcohol	Seed oil	Gaikwad, Mayelvaganan, Vyas, & Bhat, 1990
	Organosulphur compounds	Diethyl ether extract	Balandrin, Lee, & Klocke, 1988
	Salannin	Steam volatile extract	Mubarak & Kulatilleke, 1990
	Azadirachtin M, azadirachtin N, 11-epi-azadirachtin H, triterpenoid(1 α ,7 α -diacetoxypotirucall-14-ene-3 α ,21,22,24,25-pentaol), odoratone, and 2 β ,3 β ,4 β -trihydroxypregnan-16-one	<i>n</i> -hexane	Yamasaki, Ritland, Barn, & Klocke, 1988
	11-Hydroxyazadirachtin-B, 1-tigloyl-3-acetylazadirachtinin, 1,2-diacetyl-7-tigloyl-12-hydroxyvilasinin, and 23-desmethyllimocin-B	Methanolic extract	Luo, Ma, Wu, & Wu, 1999; Luo, Wu, Ma, & Wu, 2000
	1 α -Methoxy-1,2-dihydroepoxyazadiradione, 1 β ,2 β -diepoxyazadiradione, 7-acetylneotrichilenone, desacetyl-7-benzoylazadiradione 7-desacetyl-7-benzoylepoxiazadiradione, and 7-desacetyl-7-benzoyl-gedunin	Petroleum ether extract dissolved in methanol	Kraus, Cramer, & Sawitzki, 1981
	Azadirachtin	Dichloromethane extract	Jarvis & Morgan, 2000
	Deacetylazadirachtinol	Methanolic extract	Deota, Upadhyay, Patel, & Mehta, 2000
	1 α ,2 α -Epoxy-17 β -hydroxyazadiradione, 1 α ,2 α -epoxynimocinol and 7-deacetylnimocinol along with epoxyazadiradione, 17 β -hydroxyazadiradione, gedunin, nimbin, and nimocinol	Seed oil	Kubo, Matsumoto, & Matsumoto, 1986
		Methanolic extract	Hallur, Sivramakrishnan, & Bhat, 2002
	Fruit	Mahmoodin, azadirachtol, and naheedid	Ethanolic extract
Salimuzzalin, azadirolic acid, azadiradinol, and azadironeol		Ethanolic extract	Siddiqui, Ghaiussdin, & Faizi, 1998
Limocinone, limocin A, limocin B, limocinol, and limocinin		Ethanolic extract	Siddiqui, Siddiqui, Ghiasuddin, & Faiz, 1991

CAPITOLO 4: POTENZIALI PROPRIETÀ

A. indica si è dimostrata attiva nei confronti dei microorganismi antibiotico-resistenti *S. aureus* e *P. aeruginosa* e nel trattare infezioni associate a biofilm batterici (Lahiri et al., 2021; Wylie et al., 2022; Wylie & Merrell, 2022). Alcuni studi riportano, inoltre, che *A. indica* è in grado di ridurre la placca dentale e gengiviti e di prevenire e trattare patologie del cavo orale (S. C. Gupta et al., 2017; Nimbalkar et al., 2020; Selvaraj et al., 2020).

Le attività pesticida, insetticida, fertilizzante e nematocida dei semi di *A. indica* sembrerebbero principalmente derivare dalla presenza del composto *azadirachtina*, in grado di inibire la divisione cellulare, di bloccare la sintesi proteica e di indurre paralisi flaccida nell'infestante (Saleem et al., 2018).

Negli ultimi anni, *A. indica* viene impiegata anche nell'industria alimentare per la realizzazione di imballaggi “*pathogen free*”, nei quali vengono incorporati in film estratti di foglie e di olio (W. Ahmed et al., 2022).

Ulteriormente, è stato proposto l'utilizzo di *A. indica* nel trattamento del SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome CoronaVirus-2*).

A tal proposito, estratti preparati con acetone-acqua delle foglie sembrerebbero impedire il legame della proteina spike del SARS-CoV-2 al recettore ACE2 (*Angiotensin-Converting Enzyme 2*) localizzato sulle cellule endoteliali vascolari (Eze et al., 2022). Inoltre, è stato osservato che la *nimbina*, composto presente nella corteccia, somministrata per via intranasale e orale, è in grado di inibire l'espressione dell'envelope e del nucleocapside delle particelle virali di SARS-CoV-2 (Sarkar et al., 2022). Nonostante i dati promettenti, al momento, si stanno ancora effettuando studi clinici sia per confermare l'effettiva capacità degli estratti nel trattare il COVID-19 (*Coronavirus Disease-19*) sia per identificare il dosaggio terapeutico (Eze et al., 2022).

Recenti studi hanno dimostrato che gli estratti acquosi di corteccia sono potenti inibitori dell'entrata cellulare del virus HSV-1 (*Herpes Simplex Virus type 1*) grazie alla loro capacità di impedire il legame e la fusione dei virioni alle cellule target (Tiwari et al., 2010).

Composti quali il *tetratriacontano*, *6-o-acetilnimbaniolo*, *rutina*, *tiplasinina*, *iperoside*, *nimocinolide* e *quercetina*, contenuti negli estratti di foglie di *A. indica*, sono in grado di legarsi alla proteina NS1 (*Non-Structural glycoprotein 1*) del virus dell'influenza (Ahmad et al., 2015).

È stato proposto anche l'impiego di estratti di foglie in acetone di *A. indica* per il trattamento di infezioni associate all'AIDS (*Acquired Immune Deficiency Syndrome*) poiché in grado di aumentare i livelli di CD4 (Mbah et al., 2007).

Salannina, *sodio nimbinato*, *nimbolide* sono tra i più noti composti ad attività antinfiammatoria (Saleem et al., 2018).

A tal proposito, recenti evidenze hanno dimostrato che il *nimbolide*, nell'artrite reumatoide, favorirebbe l'inibizione dell'espressione di recettori Toll-like, IL-17 (*Interleukin-17*), IL-23 (*Interleukin-23*), HSP70 (*Heat Shock Protein 70*) e IFN- γ (*Interferon γ*), riducendo lo stato infiammatorio alle articolazioni (Israr et al., 2023).

Recenti studi *in vivo* hanno evidenziato che il composto di semisintesi *deacetilepossiazadiradione*, derivato dall'*epossiazadiradione*, favorirebbe, con un meccanismo di tipo concentrazione-dipendente, l'aumento dell'espressione di geni antiossidanti quali GR (*Glutathione Reductase*), GST (*Glutathione S-Transferase*) e GPx (*Glutathione Peroxidase*) e la diminuzione dei livelli di citochine pro-infiammatorie e di iNOS (*inducible Nitric Oxide Synthase*), (Murugan et al., 2022).

Interessante da menzionare, è la capacità dell'estratto etanolic di frutti di *A. indica* di attenuare il dolore acuto nocicettivo similmente alla morfina, probabilmente per la capacità dei composti in esso contenuti di interferire con le vie di segnalazione degli oppioidi, con i recettori NMDA (*N-Methyl-D-Aspartate*) e con i canali ASICs (*Acid-sensing Ion Channel*) (Batista et al., 2018).

Ulteriormente, è stato osservato che estratti di *A. indica* sono in grado di sopprimere, in cellule tumorali, l'attività di NF-kB, di aumentare l'espressione di oncosoppressori, quali p53 e pTEN, di diminuire l'espressione di oncogeni, di aumentare l'apoptosi e di ripristinare l'attività antiossidante (Iman et al., 2022).

Recenti studi hanno riportato che la *deossigedunina* è in grado di attivare il recettore TrkB, (*Tropomyosin receptor kinase B*) e di favorire, in nervi periferici danneggiati, la rigenerazione assonale (J.-G. Chen et al., 2018; English et al., 2013; Jang et al., 2010). Ulteriormente, composti limonoidi, quali *gedunina*, *epossiazadirone*, *azadirone* e *azadiradione*, impediscono l'aggregazione e favoriscono la destabilizzazione delle fibrille di proteina tau (Gorantla et al., 2020).

Studi *in vivo* in animali dislipidemic hanno evidenziato che gli estratti etanolici di foglie sono in grado di diminuire i livelli di colesterolo totale, trigliceridi, colesterolo

LDL (*Low-Density Lipoprotein*) e di aumentare i livelli di HDL (*High-Density Lipoprotein*) (Asghar et al., 2023).

Gli estratti di corteccia di stelo possiedono proprietà antiacide e anti-ulcera, probabilmente per la capacità dei composti chimici in essi contenuti, di interagire con il recettore H2 dell'istamina a livello gastrico (Raji et al., 2004). Studi *in vitro* hanno dimostrato, inoltre, che estratti di olio e *nimbolide* possiedono attività battericida nei confronti dell'*H. pylori*, responsabile dell'insorgenza di ulcera peptica e, nell'1% della popolazione, di cancro allo stomaco (Blum et al., 2019; Bray et al., 2018; Wylie et al., 2022).

Ulteriormente, le foglie di *A. indica* sono ampiamente usate in medicina ayurvedica per controllare la fertilità (Chaube et al., 2014). Studi in modelli animali hanno evidenziato che gli estratti acquosi di foglie favoriscono l'aumento dei ROS, l'attivazione di p53, l'espressione della proteina Bax e l'incremento dei livelli di citocromo c, caspasi-9 e 3 negli oociti, inducendone l'apoptosi (Chaube et al., 2014). Ulteriormente, è stato osservato, in modelli animali, che gli estratti metanolici e acquosi di foglie, metanolici di frutti ed etanolici di corteccia di stelo sono in grado di diminuire il peso dei testicoli e i valori di testosterone ed LH sierico, di ridurre la motilità e la conta degli spermatozoi (Irais et al., 2021; Mishra & Singh, 2005; Raji et al., 2003).

Per quanto riguarda gli studi di tossicità, è stato evidenziato che gli estratti non acquosi della pianta sono più tossici dell'olio di semi e degli estratti acquosi (Boeke et al., 2004). Studi *in vivo* hanno concluso che gli estratti di foglie secche non sono embriotossici, fetotossici e genotossici (Ramalho et al., 2023).

CAPITOLO 5: ATTIVITÀ ANTIDIABETICA

Vari studi hanno dimostrato che *A. indica* è in grado di aumentare la produzione di insulina e di limitare l'azione dell'adrenalina sul metabolismo del glucosio (Saleem et al., 2018). Ulteriori evidenze, inoltre, hanno riportato che gli estratti etanolici di foglie sono efficaci nell'inibire l'enzima α -amilasi e nel migliorare l'attività delle cellule β -pancreatiche in ratti diabetici. Similmente, anche gli estratti acquosi delle foglie, estratti di radice, fiori e frutti presentano attività ipoglicemizzante (Saleem et al., 2018).

È stato dimostrato, in uno studio sperimentale *in vivo* condotto su ratti maschi adulti resi diabetici mediante iniezione intraperitoneale di *streptozocina*, che estratti acquosi di foglie di *A. indica*, somministrati a un dosaggio di 400 mg/kg, sono in grado di modulare il segnale dell'insulina e, in cellule muscolari di gastrocnemio, di migliorare la capacità di utilizzo del glucosio (Satyanarayana et al., 2015).

Più precisamente, dopo 30 giorni di trattamento con un estratto acquoso di foglie di *A. indica*, si è registrata una riduzione del 50% dei valori di glucosio ematico a digiuno e di insulina rispetto al gruppo di ratti diabetici di controllo, **Figure 9 e 10** (Satyanarayana et al., 2015)

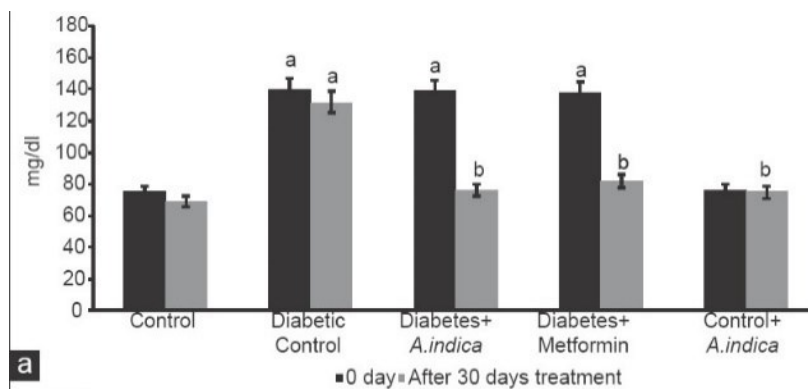


Figura 9. Valori di glicemia a digiuno dei ratti diabetici dopo 30 giorni di trattamento con un estratto acquoso di foglie di *A. indica* (Satyanarayana et al., 2015).

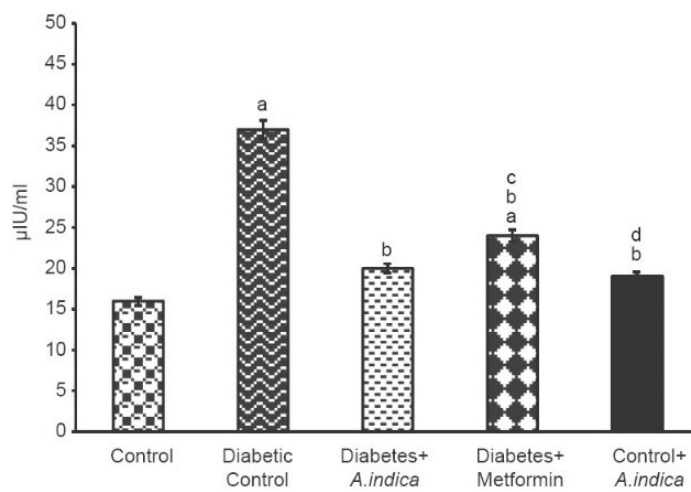


Figura 10. Valori di insulina dei ratti diabetici dopo 30 giorni di trattamento con un estratto acquoso di *A. indica* (Satyanarayana et al., 2015).

Ulteriormente, come riportato nella **Tabella 4**, si è evidenziata anche una marcata riduzione dei valori di colesterolo totale, trigliceridi, LDL, VLDL (*Very-Low-Density Lipoprotein*) e acidi grassi liberi e un incremento, di quasi il doppio, dei valori di colesterolo HDL nei ratti diabetici trattati (Satyanarayana et al., 2015).

Tabella 4. Profilo lipidico dei ratti diabetici dopo 30 giorni di trattamento con un estratto acquoso di foglie di *A. Indica* (Satyanarayana et al., 2015).

Effect of *Azadirachta indica* on serum lipid profile of type-2 diabetic adult male rats

Parameters (mg/dl)	Control	Diabetic control	Diabetes+ <i>A.indica</i>	Diabetic+ metformin	Control+ <i>A.indica</i>
TC	35±4	109±6 ^a	40±3 ^b	57±2 ^{a,b}	39±2 ^{b,d}
TGs	64±3	191±9 ^a	70±5 ^{a,b}	80±4 ^{a,b}	66±6 ^{b,d}
HDL	39±1	19±1 ^a	41±2 ^b	35±3 ^b	41±4 ^b
VLDL	17±1	40±3 ^a	19±1 ^b	22±2 ^{a,b}	16±2 ^{b,d}
LDL	51±4	101±6 ^a	53±5 ^b	64±5 ^{a,b,c}	49±3 ^{b,d}
FFAs	63±6	135±7 ^a	70±5 ^b	79±4 ^{a,b}	64±4 ^{b,d}

Each value represents mean±SEM of 6 animals (n=6). Significance at P<0.05. ^a=Compared with control, ^b=Compared with diabetic control, ^c=Compared with diabetes+*Azadirachta indica* (400 mg/kg b.wt), ^d=Compared with diabetes+metformin (50 mg/kg b.wt), TC=Total cholesterol, TGs=Triglycerides, HDL=High-density lipoprotein, VLDL=Very low-density lipoprotein, LDL=Low-density lipoprotein, FFAs=Free fatty acids

Successivamente ai 30 giorni di trattamento, si sono determinati anche a) l'espressione del recettore IR (*Insuline Receptor*), b) l'espressione e la fosforilazione di IRS-1 (*Insulin Receptor Substrate-1 Protein*), c) l'espressione di GLUT4 (*Glucose Transporter type 4*) e d) l'ossidazione del glucosio nel tessuto muscolare di gastrocnemio (Satyanarayana et al., 2015).

Nei ratti trattati, dopo 30 giorni, si sono registrati un aumento della quantità di IR, dell'espressione di IRS-1 e della fosforilazione di IRS-1 sulla tirosina 632, mentre una diminuzione del 50% della fosforilazione di IRS-1 sulla serina 636, **Figura 11 e 12** (Satyanarayana et al., 2015).

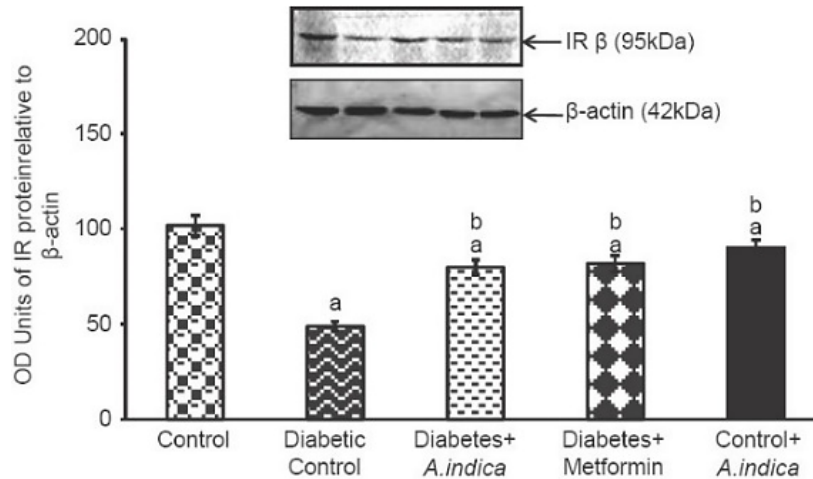


Figura 11. Espressione del recettore dell'insulina nel muscolo di gastrocnemio di ratti diabetici dopo 30 giorni di trattamento con un estratto acquoso di foglie di *A. indica* (Satyanarayana et al., 2015).

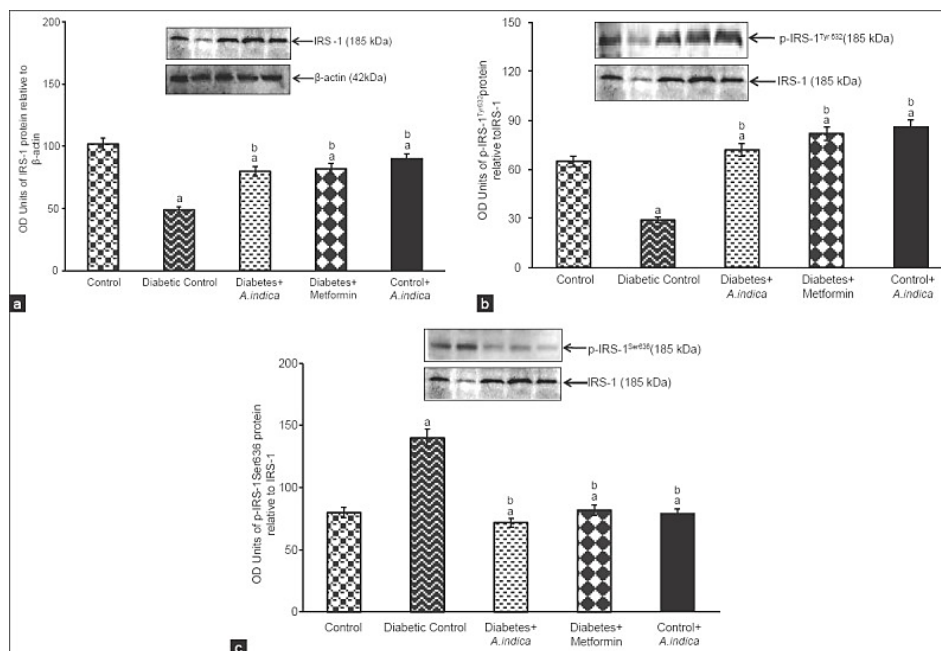


Figura 12. Espressione di IRS-1 (a), fosforilazione di IRS-1 sulla tirosina in posizione 632 (b) e serina in posizione 636 (c) nel muscolo di gastrocnemio di ratti diabetici dopo 30 giorni di trattamento con un estratto acquoso di foglie di *A. indica* (Satyanarayana et al., 2015).

Inoltre, si è verificato un incremento dell'espressione della proteina GLUT4 e della quantità di glucosio ossidato, **Figure 13 e 14** (Satyanarayana et al., 2015).

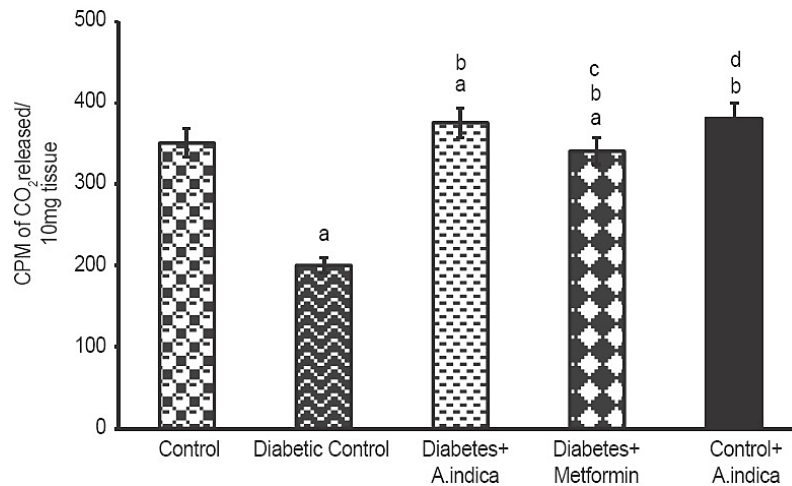


Figura 13. Ossidazione del glucosio nel muscolo del gastrocnemio di ratti diabetici dopo 30 giorni di trattamento con un estratto acquoso di foglie di *A. indica* (Satyanarayana et al., 2015).

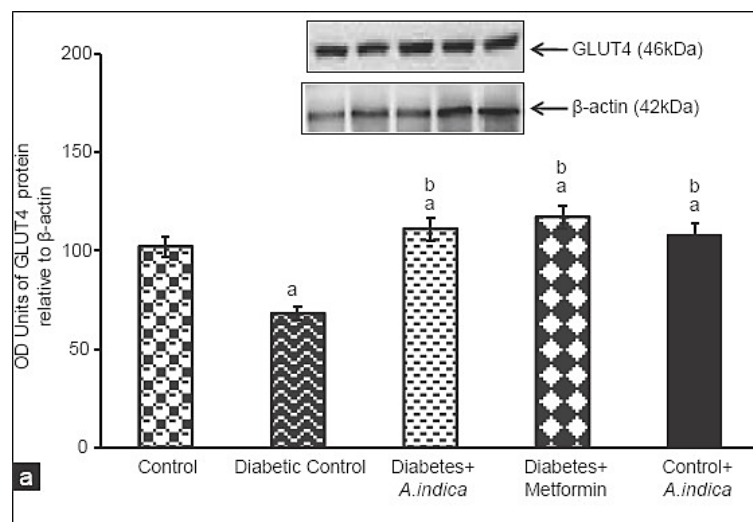


Figura 14. Espressione del recettore GLUT 4 nel muscolo del gastrocnemio di ratti diabetici dopo 30 giorni di trattamento con un estratto acquoso di foglie di *A. indica* (Satyanarayana et al., 2015).

Negli animali diabetici trattati si è evidenziato anche un significativo miglioramento dell'attività di Akt, probabilmente dovuto all'aumento dell'espressione di IR e della fosforilazione di IRS-1, **Figura 15**.

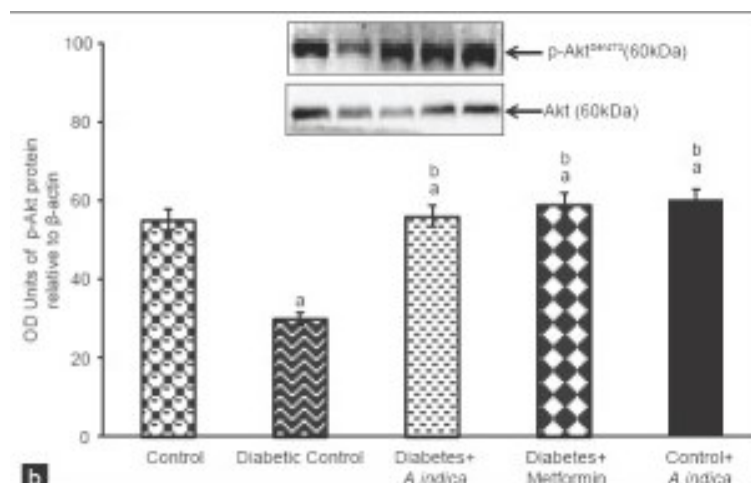


Figura 15. Fosforilazione della proteina Akt nel muscolo del gastrocnemio di ratti diabetici dopo 30 giorni di trattamento con un estratto acquoso di foglie di *A. indica* (Satyanarayana et al., 2015).

Nel DM2, come precedentemente riportato, vi è un elevato rischio di sviluppare un evento cardiovascolare a causa dello stress ossidativo (Ansley & Wang, 2013).

A tal proposito, uno studio *in vivo* ha dimostrato che gli estratti acquosi di foglie di *A. indica*, somministrati per via orale tutti i giorni per 7 giorni al dosaggio di 600 mg/kg, sono in grado di ridurre la perossidazione lipidica e di aumentare il contenuto di glutazione ridotto e l'attività di enzimi antiossidanti, migliorando la microangiopatia cardiaca in ratti maschi adulti diabetici (N. K. Gupta et al., 2016).

Più in dettaglio, l'esposizione per 7 giorni all'estratto ha indotto un aumento dei valori di GSH, una riduzione dei livelli di LPO (*Lipid Peroxidation*) e promosso un'adeguata modulazione dell'attività di enzimi antiossidanti quali catalasi, glutazione perossidasi, glutazione reduttasi, glutazione-S-transferasi e superossido dismutasi, **Tabella 5 e 6** (N. K. Gupta et al., 2016).

Tabella 5. Livelli di GSH e LPO dopo 7 giorni di trattamento di ratti diabetici con un estratto acquoso di foglie di *A. indica* (N. K. Gupta et al., 2016).

Cardiac reduced glutathione content and lipid peroxidation indices in control and treated animals

Groups	GSH (nmoles/ mg protein)	LPO (nmoles MDA formed/mg protein)
C	5.58±0.23	0.693±0.16
D	3.0±0.21 ^{***a,***b}	1.26±0.06 ^{***a,***b}
D +ALE	4.13±0.17 ^{***a,***c}	0.920±0.05 ^{***a,***c}

n=6 in all groups, values are mean±SEM. *Significant at 0.05 level; **Significant at 0.001 level; ^aCompared with control group; ^bCompared with D + ALE group; ^cCompared with diabetic group. All experiments were replicated thrice. GSH: Glutathione; LPO: Lipid peroxidation; ALE: *Azadirachta indica* leaf extract; MDA: Malondialdehyde; D: Diabetic; C: Control; SEM: Standard error of mean

Tabella 6. Livello degli enzimi antiossidanti dopo 7 giorni di trattamento di ratti diabetici con un estratto acquoso di foglie di *A. indica* (N. K. Gupta et al., 2016).

Activities of cardiac antioxidant enzymes in control and treated animals

Groups	Catalase (μ moles hydrogen H_2O_2 decomposed/min/mg protein)	GP (nmoles NADPH oxidized/min/mg protein)	GR (nmoles NADPH oxidized/min/mg protein)	GST (nmoles CDNB conjugated/min/mg protein)	SOD (enzyme units/mg protein)
C	14.63 \pm 1.15	70.61 \pm 2.90	17.90 \pm 0.66	132.82 \pm 1.78	2.5 \pm 0.12
D	35.08 \pm 1.36 ^{**a,ab}	75.22 \pm 3.89	29.81 \pm 2.93 ^{**a}	148.46 \pm 2.26 ^{**a,ab}	4.0 \pm 0.42 ^{**a,ab}
D + ALE	23.15 \pm 1.43 ^{**a,c}	64.0 \pm 5.78	24.38 \pm 0.84 ^{**a,c}	141.97 \pm 2.55 ^{**a,c}	2.1 \pm 0.23 ^{**c}

n=6 in all groups, values are mean \pm SEM. ^{*}Significant at 0.05 level; ^{**}Significant at 0.001 level; ^aCompared with control group; ^bCompared with D + ALE group; ^cCompared with diabetic group. The enzyme activity of SOD was expressed as units/mg protein, where one unit of enzyme is the amount of enzyme inhibiting the rate of reaction (NBT reduction) by 50%. All experiments were repeated thrice. SOD: Superoxide dismutase; NADPH: Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; GST: Glutathione-S-transferase; GP: Glutathione peroxidase; GR: Glutathione reductase; ALE: *Azadirachta indica* leaf extract; D: Diabetic; C: Control; SEM: Standard error of mean; NBT: Nitro blue tetrazolium

Ulteriormente a seguito di un'attenta analisi istologica, nei ratti trattati è stato evidenziato un ripristino dell'architettura del tessuto cardiaco e una riduzione dello stato infiammatorio e fibrotico (N. K. Gupta et al., 2016).

In un altro studio *in vitro*, condotto su una linea di cellule di acini pancreatici di ratto (cellule AR42J), è stata dimostrata la capacità dei limonoidi *azadiradione*, *epossiazadiradione* e *gedunina*, isolati dai frutti, di inibire, in maniera dose-dipendente, l'attività dell'HPA (α -1,4-glucan-4-glucanohydrolase o *human pancreatic α -amylase*), enzima sintetizzato dalle cellule degli acini pancreatici e responsabile dell'idrolisi dell'amido a maltosio, **Figura 16** (Ponnusamy et al., 2015).

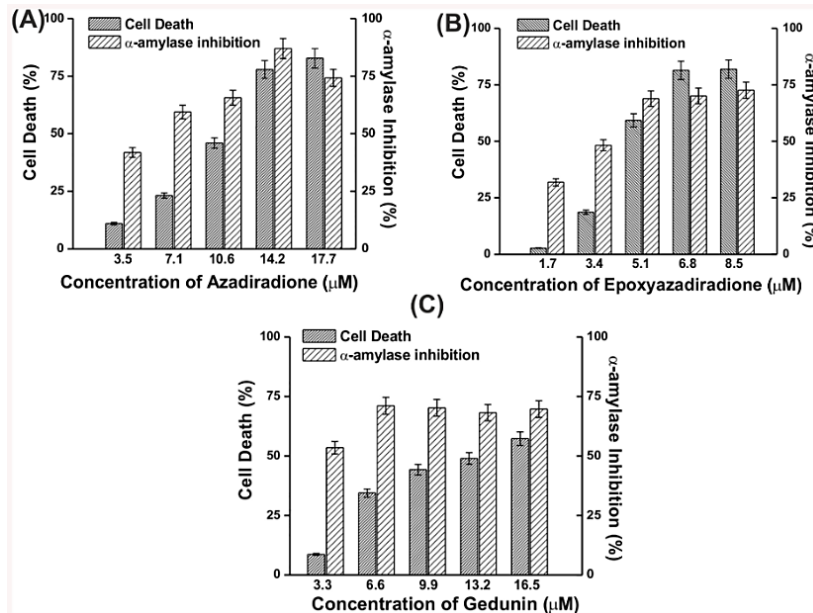


Figura 16. Effetti tossici e capacità di inibizione dell'enzima α -amilasi su cellule AR42J dei composti azadiradione, epossiazadiradione e gedunina (Ponnusamy et al., 2015).

Un recentissimo studio ha evidenziato che gli estratti di semi di *A. indica*, contenenti *azadirachtina*, *nimbina* e *nimbidina*, per effetto sinergico con nanoparticelle di argento (AI-AgNPs, *Azadirachta indica silver nanoparticles*), delle quali è stata dimostrata la

capacità di aumentare i valori del recettore IRS-1, l'espressione di GLUT2 (*Glucose Transporter 2*) e di migliorare la sensibilità all'insulina, sono in grado di incrementare il loro potenziale antidiabetico, aumentando, con un andamento concentrazione-dipendente, l'uptake del glucosio in cellule di lievito e l'inibizione dell'enzima α -amilasi, **Figura 17** e **18** (L. Li et al., 2019; Rehman et al., 2023).

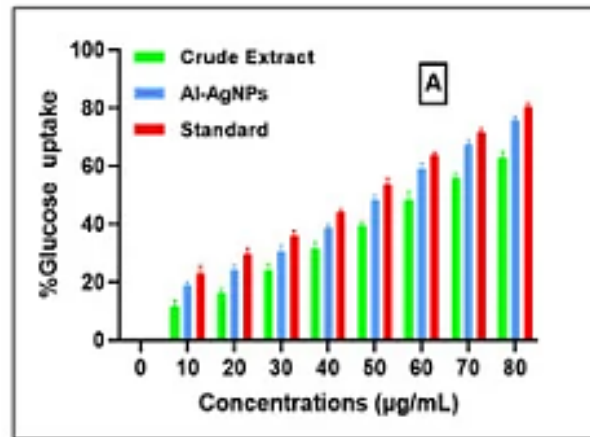


Figura 17. Uptake del glucosio studiato in cellule di lievito usando concentrazioni crescenti di AI-AgNPs a confronto con l'impiego dell'estratto di semi di *A. indica* e acarbosio, quest'ultimo come controllo positivo (Rehman et al., 2023).

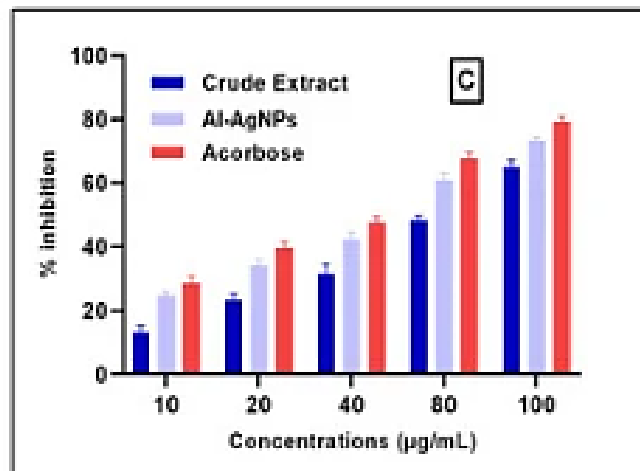


Figura 18. Percentuale di inibizione dell'attività dell' α -amilasi in presenza di concentrazioni crescenti di solo estratto di semi di *A. indica*, nanoparticelle AI-AgNPs e acarbosio, quest'ultimo usato come controllo positivo (Rehman et al., 2023).

Ulteriormente, si è evidenziato che ratti diabetici trattati per 30 giorni con AI-AgNPs a un dosaggio da 10 a 40 mg/kg, presentavano livelli di glucosio ematico significativamente minori, in particolare, negli animali ai quali era stata somministrata

la dose più elevata di nanoparticelle, si era evidenziato un significativo miglioramento della struttura delle isole di Langerhans e del tessuto epatico (Rehman et al., 2023).

Recente studio clinico randomizzato, in doppio cieco e controllato con placebo condotto su 78 pazienti con DM2, già in trattamento con metformina, della durata di 12 settimane, ha dimostrato che gli estratti acquosi di foglie e ramoscelli, somministrati in capsule a diversi dosaggi (125, 250 e 500 mg), sono in grado di migliorare il controllo glicemico, la disfunzione endoteliale e l'infiammazione sistemica (Pingali et al., 2020).

A seguito della somministrazione degli estratti vegetali, si è osservata una diminuzione della glicemia post-prandiale e a digiuno, così come i valori di emoglobina glicata, in modo dose-dipendente, **Tabella 7, 8 e 9** (Pingali et al., 2020).

Tabella 7. Effetto del trattamento con estratti acquosi di foglie e ramoscelli di *A. indica* dopo dodici settimane sulla glicemia post-prandiale (Pingali et al., 2020).

Effect on Post-Prandial Blood Sugar (PPBS in mg/dL)							
Group	Baseline	4 Weeks	% Change	8 Weeks	% Change	12 Weeks	% Change
Placebo (A)	202.3 ± 12.6	200.7 ± 12.6 ns	-0.8 ± 2.3	200.9 ± 12.9 ns	-0.7 ± 2.3	201.1 ± 14.4 ns	-0.6 ± 2.3
NEEM125 (B)	194.4 ± 14.7	188.4 ± 14.0 * NS	-3.1 ± 1.5	181.3 ± 14.4 * ∞	-6.7 ± 4.5	173.1 ± 12.8 * ∞	-10.8 ± 4.8
NEEM250 (C)	192.3 ± 17.1	184.2 ± 16.6 * NS	-4.2 ± 2.6	175.5 ± 13.4 * ∞ NS	-8.6 ± 3.6	161.8 ± 9.7 * ∞ ‡	-15.6 ± 4.7
NEEM500 (D)	205.9 ± 7.2	194.9 ± 6.0 * NS	-5.3 ± 1.8	177.9 ± 4.4 * ∞ NS	-13.5 ± 3.4	159.3 ± 7.1 * ∞ Ω NS	-22.6 ± 4.4

Tabella 8. Effetto del trattamento con estratti acquosi di foglie e ramoscelli di *A. indica* dopo dodici settimane sulla glicemia a digiuno (Pingali et al., 2020).

Effect on Fasting Blood Sugar (FBS, Mg/dL)							
Group	Baseline	4 Weeks	% Change	8 Weeks	% Change	12 Weeks	% Change
Placebo (A)	121.8 ± 3.5	120.9 ± 3.1 ns	-0.7 ± 1.6	119.5 ± 4.7 ns	-1.8 ± 4.7	120.1 ± 3.5 ns	-1.3 ± 3.4
NEEM125 (B)	119.2 ± 5.0	115.8 ± 4.8 \$ ‡	-2.8 ± 2.7	113.8 ± 5.8 * β	-4.5 ± 4.2	109.2 ± 5.7 * ∞	-8.3 ± 4.1
NEEM250 (C)	115.5 ± 4.4	112.1 ± 4.7 \$ ∞ NS	-2.9 ± 3.7	108.8 ± 3.8 * ∞ ‡	-5.7 ± 3.8	103.7 ± 4.2 * ∞ β	-10.1 ± 3.7
NEEM500 (D)	120.7 ± 4.2	113.5 ± 4.4 * ∞ NS	-6.0 ± 2.1	105.3 ± 3.3 * ∞ NS	-12.7 ± 3.4	97.3 ± 3.7 * ∞	-19.3 ± 3.9

Tabella 9. Effetto del trattamento con estratti acquosi di foglie e ramoscelli di *A. indica* dopo dodici settimane sui valori di emoglobina glicata (Pingali et al., 2020).

Effect on HbA1c			
Group	Baseline	12 Weeks	% Change
Placebo (A)	7.62 ± 0.4	7.57 ± 0.4 #	-0.7 ± 1.3
NEEM125 (B)	6.87 ± 0.4	6.64 ± 0.4 * ∞	-3.4 ± 1.6
NEEM250 (C)	7.52 ± 0.4	6.86 ± 0.3 * ∞ NS	-8.7 ± 3.2
NEEM500 (D)	7.78 ± 0.2	6.26 ± 0.4 * ∞	-19.6 ± 4.9

Nel gruppo di soggetti trattati si è verificato, inoltre, un miglioramento della funzione endoteliale, espressa attraverso la percentuale RI (*Reflection Index*), **Tabella 10** (Pingali et al., 2020).

Tabella 10. Effetto del trattamento con estratti acquosi di foglie e ramoscelli di *A. indica* dopo dodici settimane sulla funzione endoteliale nei soggetti trattati (Pingali et al., 2020).

Effect on Reflection Index (RI%)							
Group	Baseline	4 Weeks	Δ	8 Weeks	Δ	12 Weeks	Δ
Placebo (A)	-2.59 ± 1.11	-2.62 ± 1.10 ns	-0.03 ± 0.20	-2.65 ± 1.21 ns	-0.06 ± 0.20	-2.69 ± 1.60 ns	-0.10 ± 1.00
NEEM125 (B)	-2.16 ± 0.62	-2.31 ± 0.59 @	-0.16 ± 0.17	-2.41 ± 0.59 @	-0.25 ± 0.27	-3.00 ± 0.58 *	-0.84 ± 0.31
NEEM250 (C)	-2.47 ± 1.08	-3.17 ± 0.92 @	-0.71 ± 0.68	-4.21 ± 1.59 @	-1.74 ± 1.72	-4.88 ± 1.51 *∞	-2.41 ± 1.93
NEEM500 (D)	-2.76 ± 0.97	-3.53 ± 1.02 * ‡	-0.78 ± 0.32	-4.47 ± 1.07 *	-1.72 ± 0.46	-5.96 ± 0.86 *∞ ‡	-3.21 ± 0.89

Gli estratti vegetali si sono rivelati efficaci anche nel ridurre i valori di *malondialdeide* e nell'aumentare i livelli di GSH in modo dose-dipendente, concorrendo a un miglioramento della condizione di stress ossidativo, **Tabella 11 e 12** (Pingali et al., 2020).

Tabella 11. Effetto del trattamento con estratti acquosi di foglie e ramoscelli di *A. indica* dopo dodici settimane sui valori di MDA (Pingali et al., 2020).

Effect on MDA ($\mu\text{M/L}$)							
Group	Baseline	4 Weeks	% Change	8 Weeks	% Change	12 Weeks	% Change
Placebo (A)	3.28 \pm 0.40	3.29 \pm 0.39 ns	0.38 \pm 1.13	3.27 \pm 0.39 ns	-0.07 \pm 0.82	3.27 \pm 0.40 ns	-0.25 \pm 0.57
NEEM125 (B)	3.18 \pm 0.39	3.15 \pm 0.39 *	-1.23 \pm 0.84	3.12 \pm 0.39 @	-1.94 \pm 2.12	3.09 \pm 0.39 *	-2.90 \pm 2.16
NEEM250 (C)	3.25 \pm 0.37	3.20 \pm 0.37 *	-1.45 \pm 0.64	3.17 \pm 0.36 *	-2.31 \pm 1.33	3.14 \pm 0.36 *	-3.18 \pm 1.33
NEEM500 (D)	3.32 \pm 0.37	3.23 \pm 0.35 *	-2.63 \pm 1.54	3.14 \pm 0.36 *	-5.43 \pm 2.32	2.94 \pm 0.29 *	-11.47 \pm 3.50

Tabella 12. Effetto del trattamento con estratti acquosi di foglie e ramoscelli di *A. indica* dopo dodici settimane sui valori di GSH (Pingali et al., 2020).

Effect on GSH ($\mu\text{mol/L}$)							
Group	Baseline	4 Weeks	% Change	8 Weeks	% Change	12 Weeks	% Change
Placebo (A)	561.86 \pm 12.92	561.97 \pm 12.85 ns	0.02 \pm 0.06	562.22 \pm 12.79 ns	0.06 \pm 0.14	562.40 \pm 12.34 ns	0.10 \pm 0.39
NEEM125 (B)	558.76 \pm 15.81	560.09 \pm 15.87 * NS	0.24 \pm 0.16	561.69 \pm 16.32 * NS	0.52 \pm 0.28	565.30 \pm 16.55 * NS	1.17 \pm 0.34
NEEM250 (C)	556.26 \pm 13.35	560.04 \pm 12.67 * NS	0.68 \pm 0.33	563.51 \pm 12.83 * NS	1.31 \pm 0.52	601.47 \pm 13.92 * ∞	8.14 \pm 1.49
NEEM500 (D)	559.01 \pm 16.64	574.30 \pm 18.79 * NS ‡	2.75 \pm 2.53	603.47 \pm 13.65 * ∞	7.99 \pm 2.04	626.58 \pm 11.23 * ∞	12.14 \pm 2.39

Si è evidenziata, inoltre, anche una diminuzione dei biomarcatori dell'infiammazione hsCRP (*high-sensitivity C-reactive protein*), IL-6 (*Interleukin-6*) e TNF- α , **Tabella 13, 14 e 15** (Pingali et al., 2020).

Tabella 13. Effetto del trattamento con estratti acquosi di foglie e ramoscelli di *A. indica* dopo dodici settimane sui valori di hsCRP (Pingali et al., 2020).

Effect on hsCRP (mg/L)							
Group	Baseline	4 Weeks	%Change	8 Weeks	% Change	12 Weeks	% Change
Placebo (A)	3.33 ± 0.35	3.34 ± 0.36 ns	-0.24 ± 0.97	3.31 ± 0.36 ns	-0.76 ± 1.42	3.32 ± 0.36 ns	-0.59 ± 1.31
NEEM125 (B)	3.42 ± 0.30	3.31 ± 0.30 *	-3.40 ± 2.58	3.22 ± 0.27 *	-5.83 ± 3.71	3.02 ± 0.24 *	-11.39 ± 7.72
NEEM250 (C)	3.67 ± 0.57	3.41 ± 0.54 *	-7.04 ± 6.53	3.37 ± 0.48 *	-7.91 ± 3.43	2.98 ± 0.41 *	-18.28 ± 6.93
NEEM500 (D)	3.25 ± 0.41	3.01 ± 0.35 *	-7.32 ± 6.53	2.83 ± 0.34 * β	-12.49 ± 10.51	2.45 ± 0.35	-23.86 ± 12.10

Tabella 14. Effetto del trattamento con estratti acquosi di foglie e ramoscelli di *A. indica* dopo dodici settimane sui valori di IL-6 (Pingali et al., 2020).

Effect on IL-6 (pg/ml)					
Group	Baseline	4 Weeks	% Change	12 Weeks	% Change
Placebo (A)	12.75 ± 3.50	12.72 ± 3.51 ns	-0.20 ± 0.41	12.73 ± 3.49 ns	-0.08 ± 0.24
NEEM125 (B)	8.24 ± 2.69	8.18 ± 2.66 \$ ∞	-0.61 ± 0.81	7.95 ± 2.67 @ ∞	-3.86 ± 5.03
NEEM250 (C)	9.21 ± 2.18	9.06 ± 2.15 * ∞ NS	-1.61 ± 1.22	8.47 ± 2.06 * ∞ NS	-8.10 ± 4.87
NEEM500 (D)	8.07 ± 3.70	7.87 ± 3.61 * ∞ NS	-2.35 ± 2.22	7.17 ± 3.22 * ∞ NS	-10.31 ± 8.87

Tabella 15. Effetto del trattamento con estratti acquosi di foglie e ramoscelli di *A. indica* dopo dodici settimane sui valori di TNF-α (Pingali et al., 2020).

Effect on TNF-α (pg/ml)					
Group	Baseline	4 Weeks	% Change	12 Weeks	% Change
Placebo (A)	15.81 ± 2.61	15.82 ± 2.55 ns	0.20 ± 1.49	15.80 ± 2.53 ns	-0.06 ± 1.42
NEEM125 (B)	18.96 ± 4.45	18.71 ± 4.37 \$ NS	-0.01 ± 0.02	17.92 ± 3.88 * NS	-5.11 ± 3.37
NEEM250 (C)	19.35 ± 3.26	19.03 ± 3.16 @ NS	-0.02 ± 0.01	17.90 ± 2.89 * NS	-7.27 ± 4.40
NEEM500 (D)	17.84 ± 2.44	17.42 ± 2.33 * NS	-0.02 ± 0.01	16.14 ± 1.87 * NS	-9.09 ± 6.72

Si è osservato, però, che gli estratti non avevano alcun effetto sul profilo lipidico a differenza degli studi effettuati precedentemente su specie animali, dove si era assistito a un miglioramento dei livelli di colesterolo totale, trigliceridi, colesterolo LDL e VLDL (Pingali et al., 2020).

CONCLUSIONI

Nei Paesi in via di sviluppo, spesso si ricorre, accanto al farmaco etico, all'impiego di prodotti vegetali propri della medicina tradizionale nel trattamento delle malattie, anche per una questione economica.

A. indica è una specie dalle molteplici proprietà, tanto che è stato difficile poterne elencare, in maniera esaustiva, tutti i potenziali benefici.

Studi *in vivo* e *in vitro*, hanno riportato la sua efficacia nella cura del diabete mellito, tuttavia, la maggior parte degli autori sottolinea la necessità di ricorrere all'impiego degli estratti di *A. indica* in associazione ai classici trattamenti farmacologici, al fine di poter controllare adeguatamente la glicemia.

Nonostante sia ampiamente descritta la potenziale capacità di questa specie vegetale nella gestione del diabete, è prioritario condurre studi clinici randomizzati in cieco in pazienti affetti da tale patologia, per verificarne l'effettiva efficacia clinica.

RINGRAZIAMENTI

Ringrazio di cuore la mia relatrice Guglielmina Froidi per l'infinita pazienza, i preziosi consigli e per avermi spronato a dare il meglio.

Ringrazio mia mamma Susy e mio papà Renzo per aver vegliato su di me in tutti questi 24 anni e per aver avuto sempre fiducia nelle mie capacità.

Ringrazio mia nonna Tosca per avermi insegnato l'arte della perseveranza e del sacrificio.

Ringrazio mio nonno Vito, ovunque ora si trovi, per avermi indirizzato nella scelta di questo corso di laurea.

Ringrazio Gabriele per avermi fatto scoprire il valore dell'amore e per avermi supportato, ma soprattutto sopportato, per tutti questi 5 anni.

Ringrazio Lorella e Fabio per avermi sempre dato una parola di conforto nei momenti più difficili.

Ringrazio i miei sogni per avermi fatto arrivare all'inizio del traguardo più importante della vita.

BIBLIOGRAFIA

- Agbaje, I. M., Rogers, D. A., McVicar, C. M., McClure, N., Atkinson, A. B., Mallidis, C., & Lewis, S. E. M. (2007). Insulin dependant diabetes mellitus: Implications for male reproductive function. *Human Reproduction*, 22(7), 1871–1877. <https://doi.org/10.1093/humrep/dem077>
- Ahmad, A., Ahad, A., Rao, A. Q., & Husnain, T. (2015). Molecular docking based screening of neem-derived compounds with the NS1 protein of Influenza virus. *Bioinformation*, 11(7), 359–365. <https://doi.org/10.6026/97320630011359>
- Ahmed, N. (2005). Advanced glycation endproducts—Role in pathology of diabetic complications. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 67(1), 3–21. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2004.09.004>
- Ahmed, W., Azmat, R., Khojah, E., Ahmed, R., Qayyum, A., Shah, A. N., Abbas, A., Moin, S., & Samra, B. N. (2022). The Development of a Green Innovative Bioactive Film for Industrial Application as a New Emerging Technology to Protect the Quality of Fruits. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(2), 486. <https://doi.org/10.3390/molecules27020486>
- Aitken, R. J., & Drevet, J. R. (2020). The Importance of Oxidative Stress in Determining the Functionality of Mammalian Spermatozoa: A Two-Edged Sword. *Antioxidants*, 9(2), Articolo 2. <https://doi.org/10.3390/antiox9020111>
- Akhila, A., & Rani, K. (1999). Chemistry of the Neem Tree (*Azadirachta indica* A. Juss.). In A. Akhila, G. Adam, K. Rani, J. Schmidt, B. Schneider, W. Herz, H. Falk, G. W. Kirby, R. E. Moore, & Ch. Tamm (A c. Di), *Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe / Progress in the Chemistry of Organic Natural Products* (pp. 47–149). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-6394-8_2
- Ansley, D. M., & Wang, B. (2013). Oxidative stress and myocardial injury in the diabetic heart. *The Journal of Pathology*, 229(2), 232–241. <https://doi.org/10.1002/path.4113>
- Antognelli, C., Mancuso, F., Frosini, R., Arato, I., Calvitti, M., Calafiore, R., Talesa, V. N., & Luca, G. (2018). Testosterone and Follicle Stimulating Hormone-Dependent Glyoxalase 1 Up-Regulation Sustains the Viability of Porcine Sertoli Cells through the Control of Hydroimidazolone- and Argpyrimidine-Mediated NF-κB Pathway. *The American Journal of Pathology*, 188(11), 2553–2563. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2018.07.013>
- Arumugam, A., Agullo, P., Boopalan, T., Nandy, S., Lopez, R., Gutierrez, C., Narayan, M., & Rajkumar, L. (2014). Neem leaf extract inhibits mammary carcinogenesis by altering cell proliferation, apoptosis, and angiogenesis. *Cancer Biology & Therapy*, 15(1), 26–34. <https://doi.org/10.4161/cbt.26604>
- Asghar, H. A., Syed, Q. A., Shukat, R., & Israr, B. (2023). EXPLORING the prophylactic potential of *Azadirachta indica* leaf extract against dyslipidemia. *Journal of Ethnopharmacology*, 303, 116008. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.116008>

- Ashfaq, U. A., Jalil, A., & Ul Qamar, M. T. (2016). Antiviral phytochemicals identification from *Azadirachta indica* leaves against HCV NS3 protease: An in silico approach. *Natural Product Research*, *30*(16), 1866–1869. <https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1075527>
- Azhary, J. M. K., Harada, M., Kunitomi, C., Kusamoto, A., Takahashi, N., Nose, E., Oi, N., Wada-Hiraike, O., Urata, Y., Hirata, T., Hirota, Y., Koga, K., Fujii, T., & Osuga, Y. (2020). Androgens Increase Accumulation of Advanced Glycation End Products in Granulosa Cells by Activating ER Stress in PCOS. *Endocrinology*, *161*(2), bqaa015. <https://doi.org/10.1210/endocr/bqaa015>
- Batista, F. L. A., Lima, L. M. G., Abrante, I. A., de Araújo, J. I. F., Batista, F. L. A., Abrante, I. A., Magalhães, E. A., de Lima, D. R., Lima, M. da C. L., do Prado, B. S., Moura, L. F. W. G., Guedes, M. I. F., Ferreira, M. K. A., de Menezes, J. E. S. A., Santos, S. A. A. R., Mendes, F. R. S., Moreira, R. A., Monteiro-Moreira, A. C. O., Campos, A. R., & Magalhães, F. E. A. (2018). Antinociceptive activity of ethanolic extract of *Azadirachta indica* A. Juss (Neem, Meliaceae) fruit through opioid, glutamatergic and acid-sensitive ion pathways in adult zebrafish (*Danio rerio*). *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie*, *108*, 408–416. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.08.160>
- Blum, F. C., Singh, J., & Merrell, D. S. (2019). In vitro activity of neem (*Azadirachta indica*) oil extract against *Helicobacter pylori*. *Journal of Ethnopharmacology*, *232*, 236–243. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.12.025>
- Boeke, S. J., Boersma, M. G., Alink, G. M., van Loon, J. J. A., van Huis, A., Dicke, M., & Rietjens, I. M. C. M. (2004). Safety evaluation of neem (*Azadirachta indica*) derived pesticides. *Journal of Ethnopharmacology*, *94*(1), 25–41. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.05.011>
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, *68*(6), 394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
- Chatterjee, S., Khunti, K., & Davies, M. J. (2017). Type 2 diabetes. *The Lancet*, *389*(10085), 2239–2251. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)30058-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30058-2)
- Chaube, S. K., Shrivastav, T. G., Tiwari, M., Prasad, S., Tripathi, A., & Pandey, A. K. (2014). Neem (*Azadirachta indica* L.) leaf extract deteriorates oocyte quality by inducing ROS-mediated apoptosis in mammals. *SpringerPlus*, *3*, 464. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-464>
- Chen, J.-G., Jiang, Q.-C., Wen, B., Wang, R.-Y., Wu, Y.-G., & Li, X. (2018). [Effects of deoxygedunin on Alzheimer-like pathologic dysfunction induced by D-galactose combined with AlCl₃]. *Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi = Zhongguo Yingyong Shenglixue Zazhi = Chinese Journal of Applied Physiology*, *34*(6), 496–500. <https://doi.org/10.12047/j.cjap.5732.2018.111>

- Chen, M.-C., Lin, J.-A., Lin, H.-T., Chen, S.-Y., & Yen, G.-C. (2019). Potential effect of advanced glycation end products (AGEs) on spermatogenesis and sperm quality in rodents. *Food & Function*, *10*(6), 3324–3333. <https://doi.org/10.1039/C9FO00240E>
- Chen, Y., Zhang, Y., Ji, H., Ji, Y., Yang, J., Huang, J., & Sun, D. (2016). Involvement of hypoxia-inducible factor-1 α in the oxidative stress induced by advanced glycation end products in murine Leydig cells. *Toxicology in Vitro*, *32*, 146–153. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2015.12.016>
- Choudhury, A. A., & Devi Rajeswari, V. (2021). Gestational diabetes mellitus—A metabolic and reproductive disorder. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *143*, 112183. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112183>
- Date, K., Satoh, A., Iida, K., & Ogawa, H. (2015). Pancreatic α -Amylase Controls Glucose Assimilation by Duodenal Retrieval through N-Glycan-specific Binding, Endocytosis, and Degradation. *The Journal of Biological Chemistry*, *290*(28), 17439–17450. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.594937>
- De Bruyne, S., van Schie, L., Himpe, J., De Somer, F., Everaert, I., Derave, W., Van den Broecke, C., Huizing, M., Bostan, N., Speeckaert, M., Callewaert, N., Van Aken, E., & Delanghe, J. R. (2021). A Potential Role for Fructosamine-3-Kinase in Cataract Treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(8), 3841. <https://doi.org/10.3390/ijms22083841>
- Dewanjee, S., Das, S., Das, A. K., Bhattacharjee, N., Dihingia, A., Dua, T. K., Kalita, J., & Manna, P. (2018). Molecular mechanism of diabetic neuropathy and its pharmacotherapeutic targets. *European Journal of Pharmacology*, *833*, 472–523. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2018.06.034>
- Dhaliwal, R., Ewing, S. K., Vashishth, D., Semba, R. D., & Schwartz, A. V. (2022). Greater Carboxy-Methyl-Lysine Is Associated With Increased Fracture Risk in Type 2 Diabetes. *Journal of Bone and Mineral Research*, *37*(2), 265–272. <https://doi.org/10.1002/jbmr.4466>
- Diamanti-Kandarakis, E., Alexandraki, K., Piperi, C., Aessopos, A., Paterakis, T., Katsikis, I., & Panidis, D. (2007). Effect of metformin administration on plasma advanced glycation end product levels in women with polycystic ovary syndrome. *Metabolism - Clinical and Experimental*, *56*(1), 129–134. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2006.09.006>
- Diamanti-Kandarakis, E., Chatzigeorgiou, A., Papageorgiou, E., Koundouras, D., & Koutsilieris, M. (2016). Advanced glycation end-products and insulin signaling in granulosa cells. *Experimental Biology and Medicine*, *241*(13), 1438–1445. <https://doi.org/10.1177/1535370215584937>
- English, A. W., Liu, K., Nicolini, J. M., Mulligan, A. M., & Ye, K. (2013). Small-molecule trkB agonists promote axon regeneration in cut peripheral nerves. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *110*(40), 16217–16222. <https://doi.org/10.1073/pnas.1303646110>

- Eze, M. O., Ejike, C. E. C. C., Ifeonu, P., Udeinya, I. J., Udenigwe, C. C., & Uzoegwu, P. N. (2022). Anti-COVID-19 potential of *Azadirachta indica* (Neem) leaf extract. *Scientific African*, *16*, e01184. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2022.e01184>
- Ferreira, C., Sousa, M., Rabaça, A., Oliveira, P. F., Alves, M. G., & Sá, R. (2015). Impact of Metformin on Male Reproduction. *Current Pharmaceutical Design*, *21*(25), 3621–3633. <https://doi.org/10.2174/1381612821666150710150041>
- Franke, S., Rüster, C., Pester, J., Hofmann, G., Oelzner, P., & Wolf, G. (2011). Advanced glycation end products affect growth and function of osteoblasts. *Clinical and Experimental Rheumatology*, *29*(4), 650–660. Scopus.
- Goldberg, I. J. (2001). Diabetic Dyslipidemia: Causes and Consequences. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *86*(3), 965–971. <https://doi.org/10.1210/jcem.86.3.7304>
- Gorantla, N. V., Das, R., Chidambaram, H., Dubey, T., Mulani, F. A., Thulasiram, H. V., & Chinnathambi, S. (2020). Basic Limonoid modulates Chaperone-mediated Proteostasis and dissolve Tau fibrils. *Scientific Reports*, *10*(1), 4023. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60773-1>
- Goyal, R., Singhal, M., & Jialal, I. (2024). Type 2 Diabetes. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513253/>
- Green, J. B., Bethel, M. A., Armstrong, P. W., Buse, J. B., Engel, S. S., Garg, J., Josse, R., Kaufman, K. D., Koglin, J., Korn, S., Lachin, J. M., McGuire, D. K., Pencina, M. J., Standl, E., Stein, P. P., Suryawanshi, S., Van de Werf, F., Peterson, E. D., Holman, R. R., & TECOS Study Group. (2015). Effect of Sitagliptin on Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes. *The New England Journal of Medicine*, *373*(3), 232–242. <https://doi.org/10.1056/NEJMoal1501352>
- Guo, Z., Ma, X., Zhang, R. X., & Yan, H. (2023). Oxidative stress, epigenetic regulation and pathological processes of lens epithelial cells underlying diabetic cataract. *Advances in Ophthalmology Practice and Research*, *3*(4), 180–186. <https://doi.org/10.1016/j.aopr.2023.10.001>
- Gupta, N. K., Srivastva, N., Bubber, P., & Puri, S. (2016). The Antioxidant Potential of *Azadirachta indica* Ameliorates Cardioprotection Following Diabetic Mellitus-Induced Microangiopathy. *Pharmacognosy Magazine*, *12*(Suppl 3), S371–S378. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.185772>
- Gupta, S. C., Prasad, S., Tyagi, A. K., Kunnumakkara, A. B., & Aggarwal, B. B. (2017). Neem (*Azadirachta indica*): An indian traditional panacea with modern molecular basis. *Phytomedicine*, *34*, 14–20. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2017.07.001>
- Hangaard, M. H., Rossing, P., Jensen, J. S., & Jensen, M. T. (2018). [Heart failure often accompanies diabetes mellitus]. *Ugeskrift for Laeger*, *180*(20A), V02170164.

- Hegarty, B. D., Furler, S. M., Ye, J., Cooney, G. J., & Kraegen, E. W. (2003). The role of intramuscular lipid in insulin resistance. *Acta Physiologica Scandinavica*, *178*(4), 373–383. <https://doi.org/10.1046/j.1365-201X.2003.01162.x>
- Heyman, L., Hourri-Haddad, Y., Heyman, S. N., Ginsburg, I., Gleitman, Y., & Feuerstein, O. (2017). Combined antioxidant effects of Neem extract, bacteria, red blood cells and Lysozyme: Possible relation to periodontal disease. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, *17*(1), 399. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1900-3>
- Hu, R., Wang, M., Ni, S., Wang, M., Liu, L., You, H., Wu, X., Wang, Y., Lu, L., & Wei, L. (2020). Salidroside ameliorates endothelial inflammation and oxidative stress by regulating the AMPK/NF- κ B/NLRP3 signaling pathway in AGEs-induced HUVECs. *European Journal of Pharmacology*, *867*, 172797. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.172797>
- Iman, M., Taheri, M., & Bahari, Z. (2022). The anti-cancer properties of neem (*Azadirachta indica*) through its antioxidant activity in the liver: Its pharmaceuticals and toxic dosage forms. A literature review. *Journal of Complementary & Integrative Medicine*, *19*(2), 203–211. <https://doi.org/10.1515/jcim-2021-0009>
- Irais, C.-M., Claudia, B.-R., David, P.-E., Ashutosh, S., Rubén, G.-G., Agustina, R.-M., Del Carmen, V.-M. M., Mario-Alberto, R.-G., & Luis-Benjamín, S.-G. (2021). Leaf and Fruit Methanolic Extracts of *Azadirachta indica* Exhibit Antifertility Activity on Rats' Sperm Quality and Testicular Histology. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, *22*(3), 400–407. <https://doi.org/10.2174/1389201021666200730145621>
- Islas, J. F., Acosta, E., G-Buentello, Z., Delgado-Gallegos, J. L., Moreno-Treviño, M. G., Escalante, B., & Moreno-Cuevas, J. E. (2020). An overview of Neem (*Azadirachta indica*) and its potential impact on health. *Journal of Functional Foods*, *74*, 104171. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104171>
- Israr, M., Naseem, N., Akhtar, T., Aftab, U., Zafar, M. S., Faheem, M. A., & Shahzad, M. (2023). Nimbolide attenuates complete Freund's adjuvant induced arthritis through expression regulation of toll-like receptors signaling pathway. *Phytotherapy Research: PTR*, *37*(3), 903–912. <https://doi.org/10.1002/ptr.7672>
- Jang, S.-W., Liu, X., Chan, C. B., France, S. A., Sayeed, I., Tang, W., Lin, X., Xiao, G., Andero, R., Chang, Q., Ressler, K. J., & Ye, K. (2010). Deoxygedunin, a Natural Product with Potent Neurotrophic Activity in Mice. *PLOS ONE*, *5*(7), e11528. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011528>
- Karimi, J., Goodarzi, M. T., Tavilani, H., Khodadadi, I., & Amiri, I. (2011). Relationship between advanced glycation end products and increased lipid peroxidation in semen of diabetic men. *Diabetes Research and Clinical Practice*, *91*(1), 61–66. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2010.09.024>

- Karimi, J., Goodarzi, M. T., Tavilani, H., Khodadadi, I., & Amiri, I. (2012). Increased receptor for advanced glycation end products in spermatozoa of diabetic men and its association with sperm nuclear DNA fragmentation. *Andrologia*, *44*(s1), 280–286. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.2011.01178.x>
- Katzung, B. G., Preziosi, P., & Trevor, A. J. (2017). *Farmacologia generale e clinica / a cura di Bertram G. Katzung ; con la collaborazione di Anthony J. Trevor* (10. ed. italiana condotta sulla 13. ed. americana / curata dal prof. Paolo Preziosi). Piccin.
- Kim, C. H., Kang, H.-Y., Kim, G., Park, J., Nam, B. Y., Park, J. T., Han, S. H., Kang, S.-W., & Yoo, T.-H. (2023). Soluble receptors for advanced glycation end-products prevent unilateral ureteral obstruction-induced renal fibrosis. *Frontiers in Pharmacology*, *14*, 1172269. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1172269>
- Kim, J., Kim, C.-S., Sohn, E., Lee, Y. M., Jo, K., Shin, S. D., & Kim, J. S. (2014). Aminoguanidine protects against apoptosis of retinal ganglion cells in Zucker diabetic fatty rats. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, *18*(11), 1573–1578.
- Lahiri, D., Nag, M., Dutta, B., Mukherjee, I., Ghosh, S., Dey, A., Banerjee, R., & Ray, R. R. (2021). Catechin as the Most Efficient Bioactive Compound from *Azadirachta indica* with Antibiofilm and Anti-quorum Sensing Activities Against Dental Biofilm: An In Vitro and In Silico Study. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, *193*(6), 1617–1630. <https://doi.org/10.1007/s12010-021-03511-1>
- Li, L., Li, L., Zhou, X., Yu, Y., Li, Z., Zuo, D., & Wu, Y. (2019). Silver nanoparticles induce protective autophagy via Ca²⁺/CaMKK β /AMPK/mTOR pathway in SH-SY5Y cells and rat brains. *Nanotoxicology*, *13*(3), 369–391. <https://doi.org/10.1080/17435390.2018.1550226>
- Li, W. Y., Lee, C. Y., Lee, K. M., Zhang, G., Lyu, A., & Yue, K. K. M. (2022). Advanced Glycation End-Product Precursor Methylglyoxal May Lead to Development of Alzheimer's Disease. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, *15*, 3153–3166. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S382927>
- Lin, X., Dai, Y., Tong, X., Xu, W., Huang, Q., Jin, X., Li, C., Zhou, F., Zhou, H., Lin, X., Huang, D., & Zhang, S. (2020). Excessive oxidative stress in cumulus granulosa cells induced cell senescence contributes to endometriosis-associated infertility. *Redox Biology*, *30*, 101431. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101431>
- Maahs, D. M., West, N. A., Lawrence, J. M., & Mayer-Davis, E. J. (2010). Epidemiology of Type 1 Diabetes. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, *39*(3), 481–497. <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2010.05.011>
- Madamanchi, N. R., & Runge, M. S. (2013). Redox signaling in cardiovascular health and disease. *Free Radical Biology & Medicine*, *61*, 473–501. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.04.001>

- Maiuolo, J., Maretta, A., Gliozzi, M., Musolino, V., Carresi, C., Bosco, F., Mollace, R., Scarano, F., Palma, E., Scicchitano, M., Nucera, S., Sergi, D., Muscoli, S., Gratteri, S., Muscoli, C., & Mollace, V. (2018). Ethanol-induced cardiomyocyte toxicity implicit autophagy and NFκB transcription factor. *Pharmacological Research*, *133*, 141–150. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.04.004>
- Mbah, A. U., Udeinya, I. J., Shu, E. N., Chijioke, C. P., Nubila, T., Udeinya, F., Muobuiké, A., Mmuobieri, A., & Obioma, M. S. (2007). Fractionated neem leaf extract is safe and increases CD4+ cell levels in HIV/AIDS patients. *American Journal of Therapeutics*, *14*(4), 369–374. <https://doi.org/10.1097/MJT.0b013e3180a72199>
- Miller, A. G., Zhu, T., & Wilkinson-Berka, J. L. (2013). The renin-angiotensin system and advanced glycation end-products in diabetic retinopathy: Impacts and synergies. *Current Clinical Pharmacology*, *8*(4), 285–296. <https://doi.org/10.2174/1574884711308040004>
- Mishra, R. K., & Singh, S. K. (2005). Effect of aqueous leaf extract of *Azadirachta indica* on the reproductive organs in male mice. *Indian Journal of Experimental Biology*, *43*(11), 1093–1103.
- Moschonas, D. P., Piperi, C., Korkolopoulou, P., Levidou, G., Kavantzias, N., Trigka, E.-A., Vlachos, I., Arapostathi, C., Perrea, D., Mitropoulos, D., Diamanti-Kandarakis, E., & Papavassiliou, A. G. (2014). Impact of diet-induced obesity in male mouse reproductive system: The role of advanced glycation end product–receptor for advanced glycation end product axis. *Experimental Biology and Medicine*, *239*(8), 937–947. <https://doi.org/10.1177/1535370214531899>
- Murugan, R., Rajesh, R., Guru, A., Haridevamuthu, B., Almutairi, B. O., Almutairi, M. H., Juliet, A., Renganayagi, S., Gopinath, P., & Arockiaraj, J. (2022). Deacetyloxyazadiradione Derived from Epoxyazadiradione of Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) Fruits Mitigates LPS-Induced Oxidative Stress and Inflammation in Zebrafish Larvae. *Chemistry & Biodiversity*, *19*(9), e202200041. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202200041>
- Nagini, S., Palrasu, M., & Bishayee, A. (2024). Limonoids from neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) are potential anticancer drug candidates. *Medicinal Research Reviews*, *44*(2), 457–496. <https://doi.org/10.1002/med.21988>
- Nimbulkar, G., Garacha, V., Shetty, V., Bhor, K., Srivastava, K. C., Shrivastava, D., & Sghaireen, M. G. (2020). Microbiological and Clinical evaluation of Neem gel and Chlorhexidine gel on Dental Plaque and Gingivitis in 20-30 Years Old Adults: A Randomized Parallel-Armed, Double-Blinded Controlled Trial. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, *12*(Suppl 1), S345–S351. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_101_20
- Ooi, H., & Koriyama, Y. (2023). Toxic Advanced Glycation End-Products-Dependent Alzheimer's Disease- Like Alternation in the Microtubule System. *Current Alzheimer Research*, *20*(10), 677–681. <https://doi.org/10.2174/0115672050288723240213053342>

- Parwani, K., & Mandal, P. (2023). Role of advanced glycation end products and insulin resistance in diabetic nephropathy. *Archives of Physiology and Biochemistry*, *129*(1), 95–107. <https://doi.org/10.1080/13813455.2020.1797106>
- Patel, S., Maru, H., Chavda, V., Shah, J., & Patel, S. (2021). *Ethanol extract of Azadirachta indica ameliorates ovarian defects through phosphoinositide-3 kinase inhibition in a rat model of polycystic ovary syndrome*. <https://doi.org/10.4103/2305-0500.306434>
- Patil, K. K., Meshram, R. J., Barage, S. H., & Gacche, R. N. (2019). Dietary flavonoids inhibit the glycation of lens proteins: Implications in the management of diabetic cataract. *3 Biotech*, *9*(2), 47. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1581-3>
- Pingali, U., Ali, M. A., Gundagani, S., & Nutalapati, C. (2020). <p>Evaluation of the Effect of an Aqueous Extract of Azadirachta indica (Neem) Leaves and Twigs on Glycemic Control, Endothelial Dysfunction and Systemic Inflammation in Subjects with Type 2 Diabetes Mellitus – A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Study</p>. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity*, *13*, 4401–4412. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S274378>
- Ponnusamy, S., Haldar, S., Mulani, F., Zinjarde, S., Thulasiram, H., & RaviKumar, A. (2015). Gedunin and Azadiradione: Human Pancreatic Alpha-Amylase Inhibiting Limonoids from Neem (*Azadirachta indica*) as Anti-Diabetic Agents. *PLOS ONE*, *10*(10), e0140113. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140113>
- Portillo, J.-A. C., Pfaff, A., Vos, S., Weng, M., Nagaraj, R. H., & Subauste, C. S. (2024). Advanced Glycation End Products Upregulate CD40 in Human Retinal Endothelial and Müller Cells: Relevance to Diabetic Retinopathy. *Cells*, *13*(5), 429. <https://doi.org/10.3390/cells13050429>
- Qin, Z., Zhou, K., Li, Y., Cheng, W., Wang, Z., Wang, J., Gao, F., Yang, L., Xu, Y., Wu, Y., He, H., & Zhou, Y. (2020). The atherogenic index of plasma plays an important role in predicting the prognosis of type 2 diabetic subjects undergoing percutaneous coronary intervention: Results from an observational cohort study in China. *Cardiovascular Diabetology*, *19*(1), 23. <https://doi.org/10.1186/s12933-020-0989-8>
- Raji, Y., Ogunwande, I. A., Osadebe, C. A., & John, G. (2004). Effects of *Azadirachta indica* extract on gastric ulceration and acid secretion in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, *90*(1), 167–170. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2003.09.020>
- Raji, Y., Udoh, U. S., Mewoyeka, O. O., Ononye, F. C., & Bolarinwa, A. F. (2003). Implication of reproductive endocrine malfunction in male antifertility efficacy of *Azadirachta indica* extract in rats. *African Journal of Medicine and Medical Sciences*, *32*(2), 159–165.

- Ramalho, C. E. L., Reis, D. D. S., Caixeta, G. A. B., Oliveira, M. C. de, Silva, D. M. F. da, Cruvinel, W. de M., Teófilo, M. N. G., Gomes, C. M., Sousa, P. A. de, Soares, L. F., Melo, A. M. de, Rocha, J. D., Bailão, E. F. L. C., Amaral, V. C. S., & Paula, J. A. M. de. (2023). Genotoxicity and maternal-fetal safety of the dried extract of leaves of *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae) in Wistar rats. *Journal of Ethnopharmacology*, *310*, 116403. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.116403>
- Rehman, G., Umar, M., Shah, N., Hamayun, M., Ali, A., Khan, W., Khan, A., Ahmad, S., Alrefaei, A. F., Almutairi, M. H., Moon, Y.-S., & Ali, S. (2023). Green Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles Using *Azadirachta indica* Seeds Extract: In Vitro and In Vivo Evaluation of Anti-Diabetic Activity. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, *16*(12), 1677. <https://doi.org/10.3390/ph16121677>
- Rossi, F., Riccardi, C., Cuomo, V., & Berrino, L. (2017). *Farmacologia: Principi di base e applicazioni terapeutiche / [a cura di] F. Rossi, V. Cuomo, C. Riccardi; [con la collaborazione di] L. Berrino ... [et al.]* (3. ed). Minerva medica.
- Saboor, M., Moinuddin, null, Ajmal, M., & Ilyas, S. (2014). Functional status of vascular endothelium in diabetes mellitus. *Journal of Ayub Medical College, Abbottabad: JAMC*, *26*(2), 239–243.
- Saleem, S., Muhammad, G., Hussain, M. A., & Bukhari, S. N. A. (2018). A comprehensive review of phytochemical profile, bioactives for pharmaceuticals, and pharmacological attributes of *Azadirachta indica*. *Phytotherapy Research*, *32*(7), 1241–1272. <https://doi.org/10.1002/ptr.6076>
- Sandhir, R., Khurana, M., & Singhal, N. K. (2021). Potential benefits of phytochemicals from *Azadirachta indica* against neurological disorders. *Neurochemistry International*, *146*, 105023. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2021.105023>
- Sarkar, L., Oko, L., Gupta, S., Bubak, A. N., Das, B., Gupta, P., Safiriyu, A. A., Singhal, C., Neogi, U., Bloom, D., Banerjee, A., Mahalingam, R., Cohrs, R. J., Koval, M., Shindler, K. S., Pal, D., Nagel, M., & Sarma, J. D. (2022). *Azadirachta indica* A. Juss bark extract and its Nimbin isomers restrict β -coronaviral infection and replication. *Virology*, *569*, 13–28. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2022.01.002>
- Satyanarayana, K., Sravanthi, K., Shaker, I. A., & Ponnulakshmi, R. (2015). Molecular approach to identify antidiabetic potential of *Azadirachta indica*. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, *6*(3), 165–174. <https://doi.org/10.4103/0975-9476.157950>
- Schmutterer, H. (1995). *The neem tree: Azadirachta indica A. Juss. And other meliaceous plants: Sources of unique natural products for integrated pest management, medicine, industry, and other purposes*. VCH.
- Schumacher, M., Cerella, C., Reuter, S., Dicato, M., & Diederich, M. (2011). Anti-inflammatory, pro-apoptotic, and anti-proliferative effects of a methanolic neem (*Azadirachta indica*) leaf extract are mediated via modulation of the nuclear factor- κ B pathway. *Genes & Nutrition*, *6*(2), 149–160. <https://doi.org/10.1007/s12263-010-0194-6>

- Schwartz, A. V., Garnero, P., Hillier, T. A., Sellmeyer, D. E., Strotmeyer, E. S., Feingold, K. R., Resnick, H. E., Tylavsky, F. A., Black, D. M., Cummings, S. R., Harris, T. B., Bauer, D. C., & for the Health, A., and Body Composition Study. (2009). Pentosidine and Increased Fracture Risk in Older Adults with Type 2 Diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *94*(7), 2380–2386. <https://doi.org/10.1210/jc.2008-2498>
- Selvaraj, K., Bharath, N., Natarajan, R., Dinesh, S., Murugesan, S., & Selvaraj, S. (2020). Comparative Evaluation of Antimicrobial Efficacy of Toothpastes Containing Probiotic and Neem as Primary Ingredient on Salivary Streptococcus mutans in Melmaruvathur Population: An In Vivo Study. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, *12*(Suppl 1), S595–S600. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_209_20
- Shellikeri, A., Kaulgud, V., Yaradoddi, J., Ganachari, S., Banapurmath, N., & Shettar, A. (2018). Development of Neem Based Bioplastic for Food Packaging Application. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, *376*(1), 012052. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/376/1/012052>
- Shen, C.-Y., Lu, C.-H., Wu, C.-H., Li, K.-J., Kuo, Y.-M., Hsieh, S.-C., & Yu, C.-L. (2020). The Development of Maillard Reaction, and Advanced Glycation End Product (AGE)-Receptor for AGE (RAGE) Signaling Inhibitors as Novel Therapeutic Strategies for Patients with AGE-Related Diseases. *Molecules*, *25*(23), Articolo 23. <https://doi.org/10.3390/molecules25235591>
- Shilpa, G., Renjitha, J., Saranga, R., Sajin, F. K., Nair, M. S., Joy, B., Sasidhar, B. s., & Priya, S. (2017). Epoxyzadiradione Purified from the Azadirachta indica Seed Induced Mitochondrial Apoptosis and Inhibition of NFκB Nuclear Translocation in Human Cervical Cancer Cells. *Phytotherapy Research*, *31*(12), 1892–1902. <https://doi.org/10.1002/ptr.5932>
- Singh, V. P., Bali, A., Singh, N., & Jaggi, A. S. (2014). Advanced Glycation End Products and Diabetic Complications. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology: Official Journal of the Korean Physiological Society and the Korean Society of Pharmacology*, *18*(1), 1–14. <https://doi.org/10.4196/kjpp.2014.18.1.1>
- Soni, N., & Prakash, S. (2014). Silver nanoparticles: A possibility for malarial and filarial vector control technology. *Parasitology Research*, *113*(11), 4015–4022. <https://doi.org/10.1007/s00436-014-4069-4>
- Sourris, K. C., Ding, Y., Maxwell, S. S., Al-Sharea, A., Kantharidis, P., Mohan, M., Rosado, C. J., Penfold, S. A., Haase, C., Xu, Y., Forbes, J. M., Crawford, S., Ramm, G., Harcourt, B. E., Jandeleit-Dahm, K., Advani, A., Murphy, A. J., Timmermann, D. B., Karihaloo, A., ... Coughlan, M. T. (2024). Glucagon-like peptide-1 receptor signaling modifies the extent of diabetic kidney disease through dampening the receptor for advanced glycation end products-induced inflammation. *Kidney International*, *105*(1), 132–149. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2023.09.029>

- Steenbeke, M., Speeckaert, R., Desmedt, S., Glorieux, G., Delanghe, J. R., & Speeckaert, M. M. (2022). The Role of Advanced Glycation End Products and Its Soluble Receptor in Kidney Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(7), 3439. <https://doi.org/10.3390/ijms23073439>
- Stitt, A. W., & Curtis, T. M. (2011). Diabetes-related adduct formation and retinopathy. *Journal of Ocular Biology, Diseases, and Informatics*, 4(1–2), 10–18. <https://doi.org/10.1007/s12177-011-9070-x>
- Strand, N., Anderson, M. A., Attanti, S., Gill, B., Wie, C., Dawodu, A., Pagan-Rosado, R., Harbell, M. W., & Maloney, J. A. (2024). Diabetic Neuropathy: Pathophysiology Review. *Current Pain and Headache Reports*, 28(6), 481–487. <https://doi.org/10.1007/s11916-024-01243-5>
- Tiwari, V., Darmani, N. A., Yue, B. Y. J. T., & Shukla, D. (2010). In vitro antiviral activity of neem (*Azadirachta indica* L.) bark extract against herpes simplex virus type-1 infection. *Phytotherapy Research: PTR*, 24(8), 1132–1140. <https://doi.org/10.1002/ptr.3085>
- Turner, T. T., & Lysiak, J. J. (2008). Oxidative Stress: A Common Factor in Testicular Dysfunction. *Journal of Andrology*, 29(5), 488–498. <https://doi.org/10.2164/jandrol.108.005132>
- Valcourt, U., Merle, B., Gineyts, E., Viguet-Carrin, S., Delmas, P. D., & Garnero, P. (2007). Non-enzymatic glycation of bone collagen modifies osteoclastic activity and differentiation. *The Journal of Biological Chemistry*, 282(8), 5691–5703. <https://doi.org/10.1074/jbc.M610536200>
- Wang, B., & Vashishth, D. (2023). Advanced glycation and glycoxidation end products in bone. *Bone*, 176, 116880. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2023.116880>
- Wen, Y., Liu, R., Lin, N., Luo, H., Tang, J., Huang, Q., Sun, H., & Tang, L. (2019). NADPH Oxidase Hyperactivity Contributes to Cardiac Dysfunction and Apoptosis in Rats with Severe Experimental Pancreatitis through ROS-Mediated MAPK Signaling Pathway. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 4578175. <https://doi.org/10.1155/2019/4578175>
- Wylie, M. R., & Merrell, D. S. (2022). The Antimicrobial Potential of the Neem Tree *Azadirachta indica*. *Frontiers in Pharmacology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.891535>
- Wylie, M. R., Windham, I. H., Blum, F. C., Wu, H., & Merrell, D. S. (2022). In vitro antibacterial activity of nimbolide against *Helicobacter pylori*. *Journal of Ethnopharmacology*, 285, 114828. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114828>
- Yadav, R. (2013). The Evaluation of Serum Amylase in the Patients of Type 2 Diabetes Mellitus, with a Possible Correlation with the Pancreatic Functions. *JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH*. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2013/6016.3120>

- Yamamoto, M., & Sugimoto, T. (2016). Advanced Glycation End Products, Diabetes, and Bone Strength. *Current Osteoporosis Reports*, 14(6), 320–326. <https://doi.org/10.1007/s11914-016-0332-1>
- Yang, P., Feng, J., Peng, Q., Liu, X., & Fan, Z. (2019). Advanced Glycation End Products: Potential Mechanism and Therapeutic Target in Cardiovascular Complications under Diabetes. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019(1), 9570616. <https://doi.org/10.1155/2019/9570616>
- Zatelli, A., Fondati, A., Maroli, M., & Canine Leishmaniosis Working Group. (2022). The knowns and unknowns of the efficacy of neem oil (*Azadirachta indica*) used as a preventative measure against *Leishmania* sand fly vectors (*Phlebotomus* genus). *Preventive Veterinary Medicine*, 202, 105618. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2022.105618>
- Zhao, J., Randive, R., & Stewart, J. A. (2014). Molecular mechanisms of AGE/RAGE-mediated fibrosis in the diabetic heart. *World Journal of Diabetes*, 5(6), 860–867. <https://doi.org/10.4239/wjd.v5.i6.860>
- Zheng, Y., Ley, S. H., & Hu, F. B. (2018). Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nature Reviews. Endocrinology*, 14(2), 88–98. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2017.151>
- Zhu, J., Cai, Y., Long, S., Chen, Z., & Mo, Z. (2020). The role of advanced glycation end products in human infertility. *Life Sciences*, 255, 117830. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117830>
- Zhu, W., Li, W., & Silverstein, R. L. (2012). Advanced glycation end products induce a prothrombotic phenotype in mice via interaction with platelet CD36. *Blood*, 119(25), 6136–6144. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-10-387506>

SITOGRAFIA:

Linea Guida Gravidanza fisiologica, 2011

Linea Guida della Associazione dei Medici Diabetologi, 2024

Ministero della Salute. Linee di indirizzo sull'attività fisica, 2021

