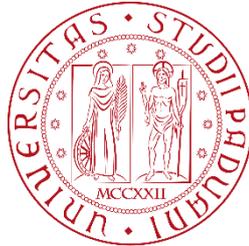


UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO



CORSO DI LAUREA IN SCIENZE FARMACEUTICHE APPLICATE

TESI DI LAUREA

**APPROCCIO FITOTERAPICO NELLA PREVENZIONE DELLE
MALATTIE NEURODEGENERATIVE**

RELATORE: CHIAR.MA PROF.SSA MORENA ZUSSO

LAUREANDA: ADRIANA ANTONELLI

ANNO ACCADEMICO 2023/2024

INDICE

ABBREVIAZIONI	V
ABSTRACT	VII

CAPITOLO PRIMO

Principali patologie neurodegenerative	1
1.1 La malattia di Alzheimer	1
1.2 La malattia di Parkinson	3
1.3 La sclerosi multipla	4
1.4. La sclerosi laterale amiotrofica	5
1.5 La malattia di Huntington	6

CAPITOLO SECONDO

Patogenesi delle malattie neurodegenerative	8
2.1 Lo stress ossidativo	8
2.2 La disfunzione mitocondriale	9
2.3 La neuroinfiammazione.....	11
2.4. Ripiegamento errato delle proteine.....	12
2.5 Altre cause	13
2.6 Approfondimento della patogenesi dell'AD	14

CAPITOLO TERZO

I composti naturali nella prevenzione della malattia di Alzheimer:

cenni fitochimici ed attività	17
3.1 Potenziale terapeutico dei composti naturali	17
3.2. Metaboliti secondari utili nella prevenzione e terapia della malattia di Alzheimer	19
3.2.1 I fenoli: cenni fitochimici, attività e potenziale terapeutico nella malattia di Alzheimer	19

3.2.2 Gli alcaloidi: cenni fitochimici, attività e potenziale terapeutico nella malattia di Alzheimer	21
3.2.3 I terpenoidi e gli steroidi: cenni fitochimici, attività e potenziale terapeutico nella malattia di Alzheimer	23
3.2.4 Oli essenziali e droghe non organizzate: cenni fitochimici, attività e potenziale terapeutico nella malattia di Alzheimer	27

CAPITOLO QUARTO

Piante con attività preventiva nella formazione di placche β-amiloidi e iperfosforilazione di Tau	29
4.1 <i>Bacopa monnieri</i> (L.) Pennell	29
4.1.1 Descrizione botanica e composizione fitochimica.....	29
4.1.2 Attività e meccanismi d'azione di <i>Bacopa monnieri</i> (L.) Pennell	31
4.1.3 Tossicità ed interazione farmacologica di <i>Bacopa monnieri</i> (L.) Pennell	33
4.2 <i>Withania somnifera</i> (L.) Dunal	35
4.2.1 Descrizione botanica e composizione fitochimica.....	35
4.2.2 Attività e meccanismi d'azione di <i>Whitania somnifera</i> (L.) Dunal.....	39
4.2.3 Tossicità ed interazione farmacologica di <i>Whitania somnifera</i> (L.) Dunal	41
4.3 <i>Crocus sativus</i> L.....	42
4.3.1 Descrizione botanica e composizione fitochimica.....	42
4.3.2 Attività e meccanismi d'azione dello zafferano.....	44
4.3.3 Tossicità ed interazione farmacologica dello zafferano	47
4.4 <i>Curcuma longa</i> L.	48
4.4.1 Descrizione botanica e composizione fitochimica.....	48
4.4.2 Attività e meccanismi d'azione di <i>Curcuma longa</i> L.	53
4.4.3 Tossicità ed interazione farmacologica di <i>Curcuma longa</i> L.....	55

CAPITOLO QUINTO

Piante ad azione multifattoriale nella prevenzione della malattia di Alzheimer	58
5.1 <i>Arthrospira platensis</i> (Nordstedt) Gomont	58
5.1.1 Descrizione botanica e cenni fitochimici.....	58
5.1.2 Attività e meccanismi d'azione di <i>Arthrospira platensis</i> (Nordstedt) Gomont	62
5.1.3 Tossicità ed interazione farmacologica di <i>Arthrospira platensis</i> (Nordstedt) Gomont ..	66
5.2 <i>Boswellia</i> spp.....	68
5.2.1 Descrizione botanica e composizione fitochimica	68
5.2.2 Attività e meccanismi d'azione di <i>Boswellia</i> spp.	71
5.2.3 Tossicità ed interazione farmacologica di <i>Boswellia</i> spp.	74
5.3 <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (<i>Salvia rosmarinus</i> Spenn.).....	75
5.3.1 Descrizione botanica e composizione fitochimica	75
5.3.2 Attività e meccanismi d'azione di <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	80
5.3.3 Tossicità ed interazione farmacologica di <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	82
CONCLUSIONI	85
BIBLIOGRAFIA	87

ABBREVIAZIONI

A β , proteina β -amiloide

AD, *Alzheimer's disease* – malattia di Alzheimer

Apo E, apolipoproteina E

APP, *Amyloid Precursor Protein* – precursore della proteina amiloide

BA, acido betulinico

BM, *Bacopa monnieri* (L.) Pennell

CBD, cannabidiolo

CDK5, chinasi ciclina-dipendente-5

COX, ciclossigenasi

CUR, curcumina

FDA, *Food and Drug Administration*

HD, *Huntington's disease* – malattia di Huntington

IDP, proteine intrinsecamente disordinate

IL-1, interleuchina-1

IL-6, interleuchina-6

Keap1, proteina 1 associata a ECH simile a Kelch

NADH, complesso 1 della catena respiratoria

ND, malattie neurodegenerative

NF- κ B, fattore nucleare kappa-light chain enhancer delle cellule B attivate

NFT, grovigli neurofibrillari

NOS, specie reattive dell'azoto

Nrf2, fattore nucleare eritroide 2

OMS, Organizzazione mondiale della sanità

PD, *Parkinson's disease* – malattia di Parkinson

SM, sclerosi multipla

ROS, specie reattive dell'ossigeno

SLA, sclerosi laterale amiotrofica

SNC, sistema nervoso centrale

SNP, sistema nervoso periferico

TLR4, recettore Toll-like 4

TNF- α , fattore di necrosi tumorale- α

WS, *Withania somnifera* (L.) Dunal

ABSTRACT

Le malattie neurodegenerative (ND) sono un insieme di patologie che interessano il sistema nervoso centrale (SNC) e periferico. Tali patologie sono caratterizzate da un progressivo e irreversibile deterioramento della struttura e delle capacità funzionali dei neuroni, in aree selettive del cervello. In particolare, vengono distrutte le cellule che controllano i sistemi associativi e motori, localizzati in diverse sedi, provocando disturbi cognitivi, comportamentali, motori con ipo- o ipermobilità, che possono accompagnarsi a disturbi del linguaggio, della deglutizione e della respirazione. I dati epidemiologici del Ministero della Salute indicano che la demenza è in crescente aumento nella popolazione generale ed è stata definita dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) e dalla Federazione *Alzheimer Disease International* una priorità mondiale di salute pubblica. Attualmente si stima che nel mondo oltre 69 milioni di persone convivano con una demenza. I dati del *Global Action Plan 2017-2025* dell'OMS indicano che nel 2015 la demenza ha colpito 47 milioni di persone in tutto il mondo, una cifra che si prevede aumenterà a 75 milioni entro il 2030 e 132 milioni entro il 2050, con circa 10 milioni di nuovi casi all'anno. Attualmente, in Italia il numero totale dei pazienti con demenza è stimato in oltre 1 milione (di cui circa 600 mila con demenza di Alzheimer) e circa 3 milioni sono le persone direttamente o indirettamente coinvolte nella loro assistenza, con conseguenze anche sul piano economico e organizzativo. Tutte le terapie farmacologiche disponibili per i disturbi neurodegenerativi sono inefficaci per bloccare completamente le malattie e la loro progressione. Le cure attuali forniscono solo sollievo sintomatico per i pazienti. La maggior parte dei farmaci, provoca effetti indesiderati come mal di testa, confusione, vertigini, stitichezza, nausea, vomito, perdita di appetito e altri disturbi intestinali. È fondamentale quindi cercare nuove cure, anche preventive, per queste malattie.

Nel corso degli anni, i composti naturali hanno suscitato un crescente interesse grazie alle loro proprietà neuroprotettive e alla biocompatibilità e sono all'attenzione della comunità scientifica, come possibili composti di supporto, nella prevenzione di tali patologie. Nel presente lavoro è stato analizzato il potenziale terapeutico di alcune piante nella prevenzione e nel trattamento delle ND, con un focus particolare sull'AD, esaminando i meccanismi molecolari alla base della loro azione e l'importanza della loro integrazione nelle strategie mediche future.

CAPITOLO PRIMO

Principali patologie neurodegenerative

Le ND comprendono un'ampia categoria di condizioni neurologiche che coinvolgono principalmente i neuroni del SNC, per le quali spesso non sussiste una diagnosi definitiva. Le ND sono classificate in base alla distribuzione anatomica della neurodegenerazione, alla patogenesi molecolare e ai sintomi clinici iniziali. Le cinque ND più diffuse sono: la malattia di Alzheimer (AD), la malattia di Parkinson (PD), la sclerosi multipla (SM), la sclerosi laterale amiotrofica (SLA) e la malattia di Huntington (HD) (Andrade et al., 2023).

1.1. La malattia di Alzheimer

L'AD è la malattia neurodegenerativa più comune; rappresenta a livello globale circa il 70% dei casi di demenza. Oggi vengono riportati in letteratura, solo i dati dei casi conclamati di AD. L'AD però inizia in modo asintomatico da 20 a 30 anni prima della diagnosi. Alcuni individui possono rimanere nello stadio preclinico per il resto della loro vita, mentre altri (dal 20% al 73% a seconda dello stadio) sviluppano sintomi cognitivi riferibili alla demenza. Valutare questi dati risulta fondamentale poiché offre notevoli opportunità di prevenzione. Le stime di un recente studio indicano che il numero di persone con AD preclinico è di 315 milioni (con un intervallo compreso tra 258 e 376 milioni), il 17% di tutte le persone di età pari o superiore a 50 anni e il 52% di queste sono donne (Gustavsson et al., 2023).

La patologia prende il nome dal neurologo tedesco Alois Alzheimer, che nel 1907 ne descrisse i sintomi e gli aspetti neuropatologici, in seguito all'esame autoptico del tessuto cerebrale di una donna morta in seguito ad una sconosciuta malattia mentale. Il medico evidenziò nel tessuto cerebrale della donna, la presenza di agglomerati (definiti in seguito placche amiloidi) e di grovigli neurofibrillari. Studi successivi chiarirono le scoperte del neurologo portando a definire l'AD come patologia caratterizzata da progressiva e grave perdita delle funzioni cognitive e della memoria dichiarativa, da problemi di comunicazione e sintomi psichiatrici come apatia, disorientamento spazio-temporale, disinteresse generale, depressione, agitazione e aggressività, fino alla compromissione dell'autonomia e della capacità di compiere le normali attività quotidiane. Il decorso patologico è stato imputato alla cascata amiloide. Secondo tale

ipotesi la neurodegenerazione tipica dell'AD è da riferire all'alterazione del metabolismo del precursore della proteina amiloide (APP). Tale proteina per ragioni ancora non note, in alcuni individui, ad un certo punto della vita, inizia ad alterare il suo processo metabolico, portando all'accumulo, in vari distretti cerebrali, di placche di proteina definita amiloide- β ($A\beta$) (Andrade et al., 2023). Le placche di $A\beta$ sono costituite da peptidi di $A\beta$ ottenuti dall'APP mediante scissione enzimatica ad opera di secretasi α , β e γ . La β -secretasi è una proteasi che opera tagli specifici nella catena di alcune proteine particolarmente importanti per la funzione neurale. Nell'AD il passaggio fondamentale nella generazione delle placche di $A\beta$ è la scissione dell'APP da parte della β -secretasi, per produrre un frammento di membrana C-terminale costituito da 99 amminoacidi e un frammento extracellulare. Il frammento di membrana viene ulteriormente scisso dalla γ -secretasi, dando origine a diversi frammenti, tra cui i peptidi di $A\beta$, che vengono rilasciati nello spazio extracellulare. Dal frammento C99 si ottengono peptidi di diversa lunghezza, tra cui $A\beta_{1-42}$, che è la forma che aggrega più facilmente e forma la placca grazie alla presenza dei due aminoacidi terminali isoleucina e alanina. Anche alcuni neuropeptidi potrebbero essere coinvolti nella formazione delle placche, sia perché presenti a bassi livelli come per l'ormone di rilascio della corticotropina, somatostatina o neuropeptide Y, o perché presenti a livelli più elevati come per l'ormone angiotensina II. Le placche di $A\beta$ provocano neuroinfiammazione, stress ossidativo e formazione di grovigli neurofibrillari (NFT). I NFT contengono la proteina Tau iperfosforilata. Questa proteina ha un dominio di legame ai microtubuli e ne indirizza la polimerizzazione e la stabilizzazione contribuendo a mantenere l'integrità del citoscheletro. Questo legame è regolato dalla fosforilazione dei residui di serina e treonina da parte di diverse chinasi. La chinasi ciclina-dipendente-5 (CDK5), in particolare, ha un potenziale ruolo nella formazione di grovigli neurofibrillari. Essa viene iperstimolata dal suo attivatore p35, che per motivi ancora non noti, in alcuni casi può venir ridotto, nelle dimensioni, ad una forma più stabile, denominata p25, che mantiene inalterata la capacità di attivare CDK5, ma accumulandosi nella cellula ne aumenta l'attività catalitica. CDK5 iperattivata iperfosforila la proteina Tau, con conseguente formazione dei NFT. Questi contribuiscono alla rottura del citoscheletro, si accumulano all'interno dei neuroni portando a deficit della neurotrasmissione, disfunzione sinaptica e perdita neuronale in aree critiche, associate alle funzioni cognitive (Khan et al., 2020). La cascata di eventi culmina nella morte cellulare e nel successivo stato di demenza. Oggi le placche formate da proteine amiloidi e i grovigli neurofibrillari vengono considerati gli effetti sui tessuti nervosi di una malattia di cui,

nonostante i grossi sforzi messi in campo, ancora non si conoscono le cause (ISS, Epicentro, malattia di Alzheimer).

1.2. La malattia di Parkinson

Il PD è la seconda patologia neurodegenerativa più diffusa, dopo l'AD. Tale patologia colpisce in particolare gli adulti di età superiore ai 66 anni ed è più diffusa negli uomini che nelle donne. Secondo l'OMS, più di dieci milioni di persone nel mondo ne soffrono. Il PD idiopatico, comunemente chiamato PD, è stata descritto per la prima volta da James Parkinson nel 1817 nello studio "*An Assay on the Shaking Palsy*". Questa malattia degenerativa è indicata come sindrome extrapiramidale. Il sistema extrapiramidale è un insieme complesso di centri nervosi e vie di trasmissione che controlla e regola il tono posturale, i movimenti volontari, quelli automatici e semiautomatici e i movimenti della mimica facciale, mentre i gangli della base contribuiscono alla fluidità degli stessi (ICS Maugeri). Il PD colpisce principalmente i muscoli e la funzione motoria dei pazienti ed è caratterizzato da rigidità muscolare, resistenza nei movimenti passivi e tremore che si manifesta nello stato di riposo o in caso di stato di ansia. La malattia è caratterizzata da bradicinesia che provoca difficoltà a iniziare e terminare i movimenti. Successivamente insorgono disturbi dell'equilibrio, andatura impacciata e postura curva (ISS, 2013). Altri sintomi possono comprendere problemi psichiatrici (in particolare depressione), disfunzioni autonome, deterioramento cognitivo e disturbi del sonno.

La fisiopatologia del PD non è ancora ben chiara. Sicuramente la neuroinfiammazione, la disfunzione mitocondriale e lo stress ossidativo sono indicate come cause principali. Da un punto di vista biochimico sono state accertate, a livello della *substantia nigra pars compacta* di soggetti parkinsoniani, una riduzione della quantità di dopamina, una minore concentrazione di neuromelanina, una riduzione dell'attività del complesso I della catena respiratoria mitocondriale e una minore attività dell'alfa-chetoglutarato deidrogenasi (ISS, 2013). Alla base della degenerazione dei neuroni della *substantia nigra pars compacta*, che producono dopamina, sarebbe coinvolta la proteina α -sinucleina aggregata, presente nei corpi di Lewy. Sebbene l'eziologia del PD non sia del tutto chiara, è ormai accettata l'ipotesi di un'origine multifattoriale della malattia, in cui interagiscono componenti ambientali e genetiche. Possibili fattori eziologici sono ereditarietà, lesioni cerebrali, infezioni, neurotossine endogene, fattori ambientali e alterate espressioni geniche (ISS, 2013). Fattori ambientali determinanti sarebbero

legati all'uso o al contatto con cibi contaminati, inalazione diretta o contatto cutaneo di pesticidi erbicidi, insetticidi, fungicidi, metalli come manganese, rame, ferro, alluminio e piombo, nonché con prodotti chimici industriali. Anche lo stile di vita e la dieta avrebbero notevole influenza: l'assunzione di cibi ricchi di grassi animali, saturi o insaturi e di vitamina D agirebbero positivamente sullo sviluppo della malattia. Cibi come noci, legumi, patate e caffè sembrerebbero svolgere un ruolo protettivo. Una storia familiare positiva potrebbe aumentare il rischio di insorgenza della malattia. Forme ereditarie della malattia sono causate da mutazioni identificate per i seguenti geni: α -sinucleina, parkina, dardarina, DJ-1 (ISS, 2013). Alcuni studi, inoltre, suggeriscono come potenziali concause per lo sviluppo della malattia patologie infettive, come certe forme di encefalite. Ad oggi non è disponibile una terapia per la cura del PD, ma sono disponibili diversi trattamenti che possono controllarne i sintomi.

1.3. La sclerosi multipla

La SM è la terza malattia neurodegenerativa più diffusa al mondo. La malattia, che colpisce circa 2,8 milioni di persone, si manifesta più frequentemente nelle donne (due volte di più rispetto agli uomini). La diagnosi avviene solitamente nei giovani di età compresa tra i 20 e i 50 anni, con un'età media di 32 anni. I casi pediatrici che si riferiscono all'insorgenza della malattia, prima del compimento del diciottesimo anno di età, interessano il 3-5% delle diagnosi. Al momento dell'individuazione, l'80-85% dei pazienti manifesta la forma recidivante remittente, caratterizzata da ricadute, con episodi neurologici acuti, seguite da fasi di remissione dei sintomi. Nel 10-15% dei casi la malattia esordisce come una forma progressiva (primaria progressiva) caratterizzata da un costante peggioramento dei sintomi. Il 65% circa delle forme recidivanti remittenti sviluppa una forma progressiva (secondaria progressiva) dopo un periodo di tempo variabile, in media dopo circa 15 anni dall'esordio. Vi sono inoltre tre tipologie patologiche:

- sindrome clinicamente isolata, classificata come un singolo episodio di demielinizzazione infiammatoria del sistema nervoso centrale;
- fulminante, caratterizzata da malattia grave con ricadute multiple e rapida progressione verso la disabilità;
- benigna che presenta un decorso complessivo di disabilità lieve con rare ricadute.

Nonostante la sua causa sia sconosciuta, si ipotizza che la patologia sia di natura autoimmune. Il meccanismo coinvolge le cellule T proinfiammatorie CD4+ che innescano l'infiammazione locale del SNC, portando alla demielinizzazione delle cellule nervose, alla gliosi e alla perdita assonale. La fisiopatologia della SM colpisce principalmente il SNC e coinvolge varie aree come la sostanza grigia corticale, la sostanza bianca periventricolare e iuxtacorticale, i nervi ottici, il midollo spinale, il cervelletto e le meningi. La SM causa diversi sintomi, comprese manifestazioni psichiatriche, come depressione e disturbi della personalità, manifestazioni fisiche come affaticamento, debolezza muscolare e atassia. Con la progressione della malattia, si manifestano disturbi del linguaggio, della vista e disfunzioni cognitive che portano a deficit di attenzione, memoria e paralisi.

Sebbene l'eziologia esatta della SM sia sconosciuta, i fattori coinvolti nella patogenesi sono generalmente raggruppati in tre categorie: fattori immunitari, fattori ambientali e genetici. La carenza di vitamina D è stata considerata una possibile causa predisponente alla malattia, in particolare in riferimento alle popolazioni che vivono nelle latitudini più elevate. Alcune infezioni, incluso il virus Epstein-Barr, possono contribuire all'insorgenza della SM. Per quanto riguarda i fattori genetici, diversi studi hanno evidenziato come pazienti con parenti biologici affetti da SM abbiano un rischio più elevato di sviluppare la patologia. Avere un parente di primo grado affetto da SM è associato a un rischio di malattia compreso tra il 2% e il 4%, rispetto allo 0,1% nella popolazione generale.

Ad oggi, nessuna terapia è in grado di bloccare la SM. Sono disponibili numerosi farmaci che intervengono sul decorso della patologia, con azione sul sistema immunitario; in particolare, vengono somministrati immunomodulatori e immunosoppressori. Questi farmaci riescono a ridurre la comparsa di nuove lesioni rallentandone la progressione (Tafti et al., 2024).

1.4. La sclerosi laterale amiotrofica

La SLA è una malattia progressiva, caratterizzata da degenerazione dei motoneuroni e atrofia del muscolo scheletrico. Non esistono terapie efficaci per questa patologia ed il decorso è ad oggi fatale. La sopravvivenza media dopo la diagnosi è compresa tra tre (70% dei pazienti) e cinque anni, che può essere leggermente superiore quando la progressione è più lenta. La malattia colpisce annualmente, a livello mondiale, circa 290.000-360.000 pazienti ed è maggiormente diffusa nel genere maschile. La SLA, spesso denominata malattia di Lou Gehrig,

è considerata la quarta malattia neurodegenerativa più diffusa al mondo. Molti studi sulla sua eziologia sono stati neurocentrici, ma a partire dai primi anni 2000, diversi articoli hanno iniziato a descrivere i ruoli chiave di tipi cellulari non neuronali, nell'innescare o supportare i processi degenerativi neuromuscolari tipici di questa patologia. Oggi la SLA è considerata una malattia multisistemica e multifattoriale, caratterizzata dalla degenerazione dei motoneuroni superiori e inferiori nella corteccia motoria e nel midollo spinale, accelerata da alterazioni fisiologiche di altri tipi di cellule e organi. È caratterizzata da debolezza muscolare progressiva che causa la perdita del controllo muscolare, da stanchezza persistente, depressione e disfonia. La sua origine è ancora sconosciuta, ma si ritiene che questa patologia neurodegenerativa sia causata da fattori genetici ed ambientali. Ad oggi non esistono terapie efficaci per la cura della SLA, gli unici farmaci approvati dalla *Food and Drug Administration* (FDA) sono riluzolo e edaravone, farmaci che hanno un impatto modesto sul decorso della malattia. Le nuove prospettive di cura, ancora oggetto di studio, sono terapie di tipo genico (Scaricamazza et al., 2021).

1.5. La malattia di Huntington

L'HD o "corea" è una malattia neurodegenerativa ereditaria progressiva. Colpisce indifferentemente uomini e donne ed è la quinta malattia neurodegenerativa in ordine di diffusione. Il termine corea deriva dal greco (*chorós*) e può essere riferito al termine danza. Chi soffre di questa patologia è preda di movimenti coreici, cioè accidentali, rapidi, aritmici e non controllabili. Tali contrazioni involontarie ed irregolari, interessano soprattutto tronco, arti, viso e collo. La patologia è inoltre caratterizzata da disturbi mentali e comportamentali. Spesso nei pazienti insorgono sintomi maniacali e psicotici con frequenti tentativi di suicidio (25% dei pazienti). Altri sintomi comuni sono la disartria, la difficoltà a deglutire e il decadimento della memoria a breve termine. L'HD colpisce circa 300.000 pazienti ogni anno; 4 persone su 100.000 con età media di esordio di 40 anni, ma il disturbo può manifestarsi in qualsiasi momento. La morte si verifica 15-20 anni dopo la diagnosi. La causa dell'HD è una mutazione nel gene HTT che codifica per la proteina huntingtina. La mutazione presenta una ripetizione anomala di una specifica sequenza di DNA, con formazione di grovigli che danneggiano i neuroni. In particolare, si instaura un'espansione del tratto trinucleotidico CAG che porta alla formazione di poliglutammine. La ripetizione trinucleotidica fino a 35 unità di sequenze CAG è considerata

normale, quando il tratto CAG presenta più di 40 ripetizioni della tripletta CAG, si ha l'insorgenza della malattia. Ad oggi, la malattia viene trattata solo con farmaci sintomatici. Non è stata ancora trovata una cura che porti alla guarigione, che ne rallenti il decorso o che ne prevenga l'insorgenza (Walker, 2007).

CAPITOLO SECONDO

Patogenesi delle malattie neurodegenerative

Le ND presentano caratteristiche molecolari e cellulari comuni, tra cui lo stress ossidativo, la disfunzione mitocondriale, la neuroinfiammazione, l'eccitotossicità, il ripiegamento scorretto delle proteine e la disregolazione dell'omeostasi del calcio (Cui et al, 2023). Tali eventi sono tra loro correlati; concausa degli eventi stessi e della neurodegenerazione (Fig. 1).

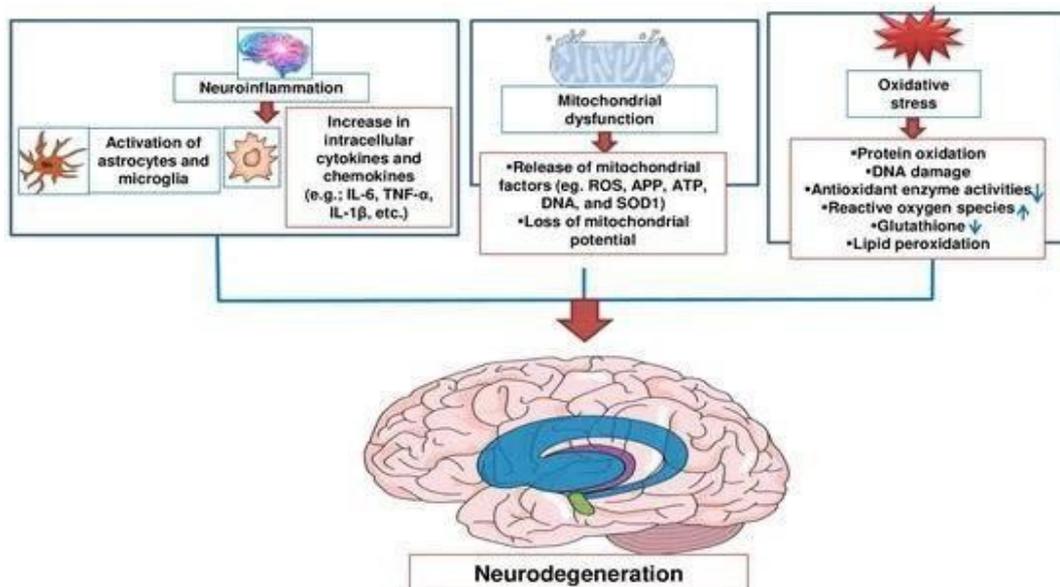


Fig. 1. Processi biologici coinvolti nella patogenesi e nello sviluppo delle malattie neurodegenerative (Rahman et al., 2021).

2.1 Lo stress ossidativo

Lo stress ossidativo è uno stato patologico che ha tra le principali cause lo squilibrio tra l'attività antiossidante delle cellule e la produzione e l'accumulo di specie chimiche ossidanti quali: radicali ossidrilici, anioni superossido ed ossido nitrico. Le specie reattive dell'ossigeno (ROS) sono sottoprodotti metabolici necessari per le funzioni fisiologiche, ma a livelli elevati, possono diventare tossici. Il SNC utilizza il 20% dell'ossigeno del corpo ed è pertanto molto sensibile allo stress ossidativo. Lo stress ossidativo cronico di basso grado, in particolare, aumenta l'aggregazione di specie oligomeriche a carico di popolazioni neuronali più sensibili, come ad

esempio quelle presenti nel nucleo motore dorsale del nervo vago. L'iperattività dei neuroni, inoltre, esacerbando reazioni ossidative e di nitrificazione, favorisce le aggregazioni proteiche. Lo stress ossidativo provoca inizialmente disfunzione cellulare portando poi le cellule alla morte. Recenti studi hanno dimostrato che lo stress ossidativo può indurre processi ossidativi del DNA, alterando le modifiche istoniche post-traduzionali. Tali cambiamenti possono modificare la struttura della cromatina, l'espressione e la stabilità genica facilitando la progressione delle ND. La fosforilazione ossidativa è il processo biochimico, primo produttore di superossido e perossido di idrogeno, responsabile della generazione di ROS, che contribuiscono alla patogenesi delle ND (Ionescu-Tucker, Cotman, 2021). In particolare, i ROS prodotti inibiscono l'attività del complesso I della catena respiratoria (NADH). Questo evento innesca un meccanismo che induce il NADH a produrre a sua volta ROS ed a subirne l'effetto. Gli inibitori del NADH come 1-metil-4 fenil -1,2,3,6- tetraidropiridina e rotenone hanno attività citotossica per i neuroni dopaminergici, implicati nel PD. La produzione di ROS è inoltre promossa dalla ciclossigenasi (COX)-2 che viene attivata da processi infiammatori (Gahtani et al., 2024). Il glutathione è un'importante molecola tripeptidica con attività antiossidante, prodotta naturalmente dall'organismo. La diminuzione dei livelli di glutathione con il progredire dell'età è un altro importante fattore di rischio per la neurodegenerazione.

2.2 La disfunzione mitocondriale

I mitocondri sono organelli cellulari nei quali avviene il processo denominato fosforilazione ossidativa, grazie al quale viene prodotta energia nella forma di adenosina trifosfato. Il compito principale dei mitocondri è quello di convertire i prodotti del metabolismo di carboidrati, grassi e proteine in acqua ed anidride carbonica (Fig. 2). La fosforilazione ossidativa, come già detto in precedenza, è il processo biochimico che produce la maggior quantità di ROS, in particolare di anione superossido e potenzialmente del radicale idrossile, molecola che presenta un'alta reattività ed è pertanto molto pericolosa per l'organismo. Grazie all'attività dei mitocondri, inoltre, viene regolata la quantità di calcio presente nel citosol cellulare. Con l'invecchiamento la funzionalità dei mitocondri si riduce anche del 40% (Johannsen, Ravussin, 2009). Questa limitata funzionalità è caratteristica nei pazienti con ND (Cui et al., 2023). Durante la senescenza sembra che i mitocondri disfunzionali, attraverso la produzione di ROS, possano portare ad uno squilibrio ossidoriduttivo, a neurotossicità ed instabilità genomica, a trascrizione

genica proinfiammatoria e al rilascio di citochine, come fattore di necrosi tumorale- α (TNF- α), interleuchina-6 (IL-6) e IL-1, con compromissione del DNA. Esso verrebbe danneggiato in particolare nella regione dei promotori di geni coinvolti nella plasticità sinaptica e nella funzionalità mitocondriale. La ricerca sta valutando inoltre un'eventuale correlazione tra disfunzione mitocondriale e malattie metaboliche. Sembrerebbe infatti che tali patologie, che insorgono tipicamente con l'avanzare dell'età, originino da disfunzioni mitocondriali (Johannsen, Ravussin, 2009). I neuroni sono particolarmente sensibili perché sono cellule post-mitotiche che non si dividono e non possono essere sostituite in caso di danno. Verso la fine della loro vita essi vanno incontro a disfunzione mitocondriale, che determina un minor apporto energetico a neuroni che, già compromessi nell'attività dallo stress ossidativo e dallo squilibrio del calcio, innescano fenomeni apoptotici (Ionescu-Tucker, Cotman, 2021). Recenti studi stanno valutando il ruolo della mitofagia, come principale mezzo della cellula per rimuovere i mitocondri danneggiati, in relazione alla patogenesi di malattie immunitarie, cancro e ND ed in relazione alla salute ed alla funzionalità neuronale (Lizama, Chu, 2021).

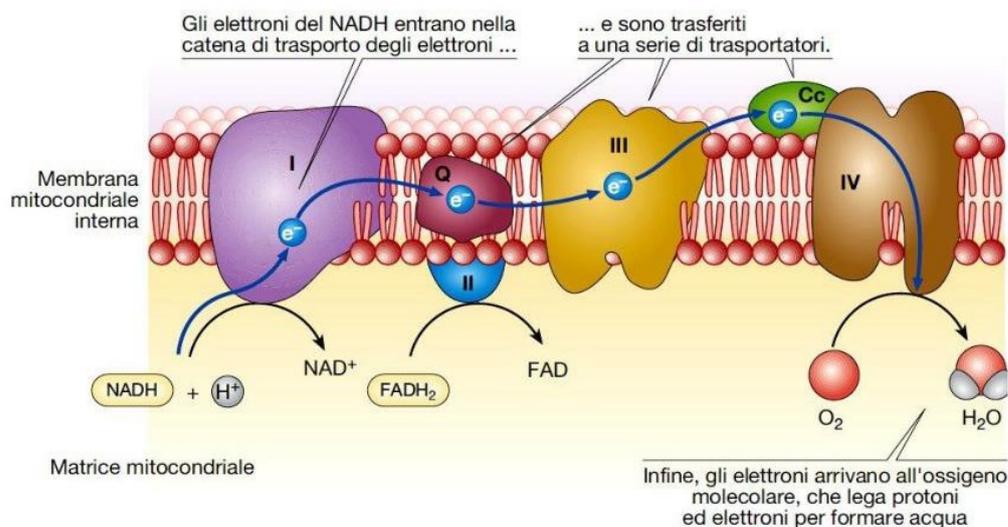


Fig. 2. Catena di trasporto degli elettroni. Il coenzima nicotinammide adenina dinucleotide (NADH) accetta elettroni e li trasferisce al coenzima Q (ubichinone), un trasportatore solubile. Esso, che riceve gli elettroni anche dal complesso II (succinato deidrogenasi), trasferisce gli elettroni al complesso III (citocromo riduttasi). Quest'ultimo cede gli elettroni al complesso solubile citocromo che li passa al complesso IV (citocromo ossidasi). Il complesso IV utilizza gli elettroni e gli ioni idrogeno per ridurre l'ossigeno molecolare ad acqua. Gli elettroni che fluiscono lungo la catena di trasporto generano energia che viene utilizzata per pompare protoni attraverso la membrana mitocondriale interna attraverso i complessi I, II e IV. Il gradiente elettrochimico che si genera serve per portare calcio e proteine nel mitocondrio, per sintetizzare adenosina trifosfato nella matrice mitocondriale e per generare calore (Lobo-Jarne, Ugalde, 2017).

2.3 La neuroinfiammazione

La neuroinfiammazione si riferisce alla risposta infiammatoria nel SNC, causata da infezioni, traumi, ischemia o tossine. Nelle ND la neuroinfiammazione è da riferirsi in particolare ad eventi stimolatori del sistema immunitario che inducono il rilascio di molecole proinfiammatorie. Gli studi effettuati affermano che il sistema immunitario aspecifico o innato, primo ad intervenire in caso di insulti patogeni, è causa di danni cerebrali in relazione a stimolazioni incontrollate e a lungo termine, di sostanze nocive. In particolare, i recettori citoplasmatici di tipo NOD, espressi nelle cellule dell'immunità innata e responsabili dell'insorgenza di fenomeni infiammatori, possono avere influenza in varie neuropatie degenerative. Come esempio, può essere citato il recettore NLRP3. Esso è un complesso multiproteico citoplasmatico coinvolto nella tossicità neuronale tramite l'induzione della secrezione di molecole infiammatorie ed elementi genotossici da parte delle cellule gliali, in particolare della microglia.

La neuroinfiammazione è inizialmente un processo neuroprotettivo, ma può diventare cronico e portare ad un'esagerata produzione di molecole infiammatorie neurotossiche. Le risposte infiammatorie croniche, mediate dalla microglia, hanno un ruolo determinante nella manifestazione e nella progressione delle ND, in particolare di AD e PD. Il processo patogenetico vede da un lato, la produzione di citochine proinfiammatorie e di ROS prodotti dalla microglia, che amplificano le risposte al danno neuronale, e l'ulteriore attivazione e sensibilizzazione della microglia stessa, con produzione di proteine del complemento (Cui et al., 2023).

Un altro fattore responsabile della neuroinfiammazione è il sovrappeso (Fig. 3). Il tessuto adiposo è distribuito attorno agli organi interni ed agisce come organo endocrino regolando il metabolismo. Il tessuto adiposo immagazzina e rilascia acidi grassi e adipochine nei tessuti. Un apporto nutrizionale eccessivo provoca ipertrofia e proliferazione degli adipociti, cui consegue ipossia locale e modificazioni nel rilascio di adipochine, eventi che richiamano ed attivano le cellule immunitarie che, a loro volta, rilasciano citochine proinfiammatorie inducendo uno stato di infiammazione sistemica. Alti livelli di acidi grassi liberi e molecole proinfiammatorie interferiscono con la segnalazione intracellulare dell'insulina generando un processo neuroinfiammatorio, in particolare nell'ipotalamo e nell'ippocampo (de A Boleti et al., 2023).

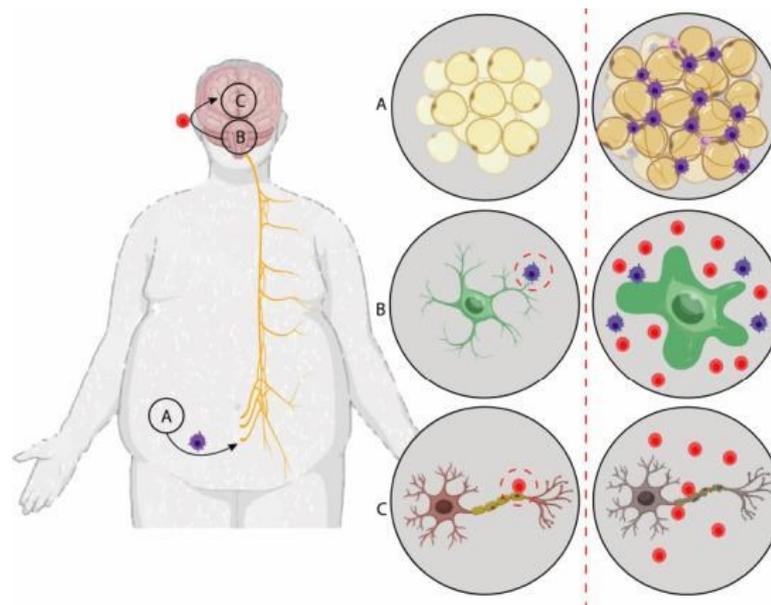


Fig. 3. Fasi del processo di degenerazione neurale dall'adipogenesi. (A) Adipogenesi: in questa fase si assiste alla differenziazione degli adipociti con generazione di mediatori pro-infiammatori (leptina, adiponectina, resistina, IL-6, IL-8, e TNF- α , IL-6, IL-8, fattore di crescita insulino-simile 1, proteina chemioattrattiva dei monociti-1 e visfatina). Le citochine attraverso il nervo vago raggiungono la barriera ematoencefalica ed attivano le cellule microgliali dell'ipotalamo. (B) La microglia produce citochine proinfiammatorie e chemochine con conseguente neuroinfiammazione. (C) La neuroinfiammazione causa distruzione selettiva della mielina e conseguente danno assonale (de A Boleti et al., 2023).

2.4 Ripiegamento errato delle proteine

Le proteine sono sintetizzate come una sequenza lineare di amminoacidi e successivamente subiscono modifiche post-traduzionali per raggiungere il loro stato nativo e funzionale. Alcune proteine si ripiegano in modo spontaneo non appena vengono sintetizzate, altre, che seguono un ripiegamento determinato, possono andare incontro a *misfolding*. Le aggregazioni proteiche scorrette possono, se non eliminate, essere altamente citotossiche. Negli ultimi decenni, molte ricerche hanno evidenziato l'esistenza di un meccanismo comune associato alle ND ossia l'aggregazione di proteine mutate e il loro deposito in zone specifiche del cervello, con conseguente amiloidosi del SNC. In particolare, le proteine altamente solubili vengono convertite in polimeri filamentosi che presentano una caratteristica struttura a foglietto ripiegato incrociato β , formando fibrille amiloidi che si depositano nel nucleo o nel citoplasma delle cellule cerebrali o a livello extracellulare. Particolari proteine ad essere colpite, sono le proteine

intrinsecamente disordinate (IDP)¹ che non possiedono una struttura tridimensionale definita, ma svolgono importanti funzioni biologiche. Nelle ND la regolazione delle IDP risulta disturbata e questo favorisce il *misfolding*. Le ND associate a IDP sono AD, PD, SLA, HD, taupatie, malattie da prioni. Gli aggregati proteici causano infiammazione cronica nel cervello, con astrocitosi diffusa e attivazione microgliale e conseguente degenerazione (Kumar et al., 2016).

2.5 Altre cause

La patogenesi delle ND è associata all'invecchiamento, alla regolazione genica anormale, ai disturbi metabolici del cervello e ad alcuni altri meccanismi. L'invecchiamento è un fattore di rischio molto importante per le diverse ND in relazione a processi apoptotici e alla presenza della proteina sirtuina. L'apoptosi è un processo naturale, geneticamente controllato, che porta alla morte programmata di una cellula. Le cellule che muoiono a seguito del processo di apoptosi subiscono l'eliminazione da parte dell'organismo, nei lisosomi, senza che ci siano conseguenze o danni per gli altri tessuti. I substrati danneggiati, arrivano ai lisosomi attraverso diversi meccanismi, tra cui la distribuzione all'interno di endosomi e autofagosomi. La digestione comporta interazioni dinamiche tra i vari compartimenti. Con l'invecchiamento del cervello, i geni che regolano tali interazioni possono subire mutazioni con conseguenze a livello neuronale. I neuroni, infatti, sono particolarmente vulnerabili alle variazioni di queste interazioni con conseguenze neurodegenerative (Nixon, 2013). Nel processo di invecchiamento sono coinvolti inoltre due omologhi della proteina sirtuina, comunemente definita proteina anti-invecchiamento. La mancanza di sirtuina è correlata alla patogenesi di malattie come AD e PD. Anche il fattore nucleare eritroide, correlato al fattore 2 e i processi di morte dipendenti dal ferro, sono argomenti attuali di ricerca in relazione alle ND. Alcuni studi affermano che il

¹ Molte proteine devono adottare una struttura definita per svolgere la loro funzione, ma una grande frazione di proteine di tutti gli organismi è costituita da segmenti polipeptidici che non formano una struttura tridimensionale definita e sono comunque funzionali. Questi segmenti proteici sono denominati regioni intrinsecamente disordinate (IDR). Di solito tali regioni non possiedono amminoacidi idrofobici ingombranti e non riescono a formare un nucleo idrofobico ben organizzato. Di conseguenza la loro funzionalità si manifesta diversamente dalla classica struttura-funzione delle proteine globulari. Le proteine senza IDR sono chiamate proteine strutturate e le proteine con sequenze completamente disordinate che non adottano alcuna struttura terziaria sono chiamate proteine intrinsecamente disordinate (IDP). In alcuni casi le IDP possono assumere una conformazione tridimensionale fissa, in seguito al legame con altre molecole, assumendo funzioni, strutture, sequenze, e stabilendo interazioni che possono portare all'insorgenza di varie malattie umane (van der Lee et al., 2014)

particolato 2,5, presente nell'aria inquinata, aumenterebbe il rischio di neurodegenerazione, attraverso l'attivazione di processi infiammatori. Alcune tossine cianofitiche, prodotte da cianobatteri, sarebbero altamente neurotossiche con conseguente influenza nella neurodegenerazione (Cui et al., 2023).

2.6 Approfondimento della patogenesi dell'AD

L'AD è caratterizzata dall'accumulo di placche di A β nel parenchima e nel sistema vascolare cerebrale, di NFT e dalla formazione di assoni distrofici, che portano ad una progressiva perdita di collegamenti sinaptici ed alla morte dei neuroni. Nonostante l'AD sia noto da più di cento anni, ancora oggi non sono stati completamente chiariti i meccanismi fisiopatologici molecolari responsabili di questa patologia. Il paziente con AD va incontro ad un progressivo declino cognitivo, con perdita di memoria e dell'autonomia. Una piccola percentuale di AD è legata a mutazioni genetiche dominanti in geni della APP, in particolare presenilina 1 e presenilina 2, coinvolti nella formazione delle placche amiloidi. Queste mutazioni sono associate a forme di malattia ad esordio precoce, nelle quali i segni clinici si manifestano prima dei 65 anni di età. La maggioranza dei pazienti presenta una malattia ad esordio tardivo che si manifesta in età avanzata. Alcuni pazienti sviluppano una forma lieve di AD, definita deterioramento cognitivo lieve amnesico, nel quale gli individui riescono a svolgere le attività quotidiane (Rostagno, 2022). L'AD ad esordio tardivo deriva probabilmente da una combinazione di fattori che includono il rischio genetico, ma anche stili di vita modificabili.

L'apolipoproteina E (ApoE) è una glicoproteina prodotta dalle cellule gliali e dai neuroni del SNC ed è implicata nel trasporto di lipidi e nella risposta al danno eccitotossico. ApoE è un gene polimorfico, situato sul cromosoma 19 e codifica tre isoforme: E2, E3, E4. Il possesso dell'allele E4 è ritenuto attualmente, il fattore di rischio genetico più significativo per lo sviluppo di AD ad esordio tardivo. Il 60% dei pazienti con AD a livello mondiale, possiede almeno un allele E4. È interessante notare che il 60% di questi pazienti è di genere femminile. La dieta di tipo occidentale, che prevede l'assunzione prolungata di grassi saturi e zuccheri, aumentando fortemente il rischio di malattie cardiovascolari, obesità e diabete di tipo 2, viene collegate al rischio di sviluppo di AD. La dieta occidentale è stata associata all'accumulo di A β e ad aumentati effetti di neuroinfiammazione (Mattar et al., 2022).

Un'ulteriore causa dell'insorgenza dell'AD è la disfunzione del sistema colinergico. I neuroni colinergici nel nucleo della base di Meynert sono luogo di deposito di A β e NFT e subiscono degenerazione a causa di eventi pro-infiammatori. Il deficit colinergico altera la permeabilità della barriera ematoencefalica e peggiora la condizione della malattia causando un trasporto errato di metaboliti e limitando la rimozione delle placche amiloidi. La modificazione del recettore colinergico può compromettere l'integrità sinaptica nella regione ippocampale e corticale. L'acetilcolinesterasi interagisce con il peptide A β e contribuisce alla formazione di placche. La degenerazione dei neuroni noradrenergici del *locus coeruleus* determina neurodegenerazione e danno cognitivo. Lo squilibrio funzionale di alcuni neurotrasmettitori sembra influenzare lo sviluppo dell'AD. I pazienti con AD presentano generalmente livelli inferiori di serotonina e nel tronco encefalico di questi pazienti, è stata rilevata una perdita di neuroni serotoninergici. L'input corticale serotoninergico, dai nuclei del rafe e del mesencefalo, è responsabile della plasticità corticale e della formazione della memoria; la disfunzione di questo percorso, pertanto, causa perdita di memoria.

Il glutammato è un neurotrasmettitore fondamentale nel mantenimento della plasticità sinaptica. Lo squilibrio nel metabolismo glutammato/glutamina determina depolarizzazione stabile nei neuroni con eccitotossicità e conseguente danno sinaptico.

L'ossido nitrico agisce come neurotrasmettitore primario del SNC, SNP ed enterico. I bifidobatteri e i lattobacilli convertono il nitrito e il nitrato in ossido nitrico. Anche gli streptomiceti possono sintetizzare ossido nitrico. L'alterazione dell'attività di uno qualsiasi di questi batteri intestinali, insieme all'aumento dell'assunzione di nitrato, può portare a una sovrapproduzione di ossido nitrico, alla degenerazione assonale, alla neuroinfiammazione e a disturbi neurodegenerativi. L'interazione corretta dei diversi neurotrasmettitori è dunque essenziale per mantenere intatta l'attività cognitiva, mentre uno squilibrio di uno dei neurotrasmettitori sopraelencati, può contribuire alla progressione dei sintomi di AD.

Recenti e molto interessanti studi, stanno valutando la funzione della disbiosi intestinale nella progressione dell'AD. La disbiosi intestinale determina infatti infiammazione sistemica, neuroinfiammazione e resistenza insulinica. L'alterazione del microbiota intestinale provoca un aumento della produzione di acido biliare citotossico, principalmente acido desossicolico, che può attraversare la barriera ematoencefalica e depositarsi nel cervello, portando ad apoptosi, generazione di ROS, infiammazione e neurodegenerazione. Alcune specie batteriche influenzano la formazione di placche amiloidi, responsabili della cascata infiammatoria. Il

microbiota intestinale influenza, inoltre, la formazione, l'assorbimento ed il trasporto di serotonina e GABA nel cervello. L'alterazione del microbiota, ancora, può portare alla secrezione di lipopolisaccaridi immunogenici e amiloidi che diffondendosi a livello cerebrale possono aggravare i sintomi dell'AD, aumentando il livello di citochine proinfiammatorie e ROS, i cui effetti sono ben noti (Khan et al., 2020).

La ricerca sta anche valutando il ruolo della ferroptosi nell'eziologia delle diverse ND. La ferroptosi è una modalità di morte cellulare dipendente dal ferro, non apoptotica, non autofagica e non necrotica. È causata dall'accumulo eccessivo di ROS e dallo squilibrio della perossidazione lipidica (Jing et al., 2022). In particolare, nell'AD, l'eccessiva quantità di ferro presente nel cervello dei pazienti e la sua disregolazione, inducono la produzione di radicali idrossilici con conseguente neuroinfiammazione, stress ossidativo e neurodegenerazione.

Da tutto questo emerge che l'AD è una patologia multifattoriale e individuarne con esattezza le cause è sicuramente molto complesso. Le ricerche scientifiche concordano che l'esordio avviene fino a due decenni prima dell'insorgenza dei sintomi clinici. Le terapie farmacologiche, utilizzate² quando ormai i primi sintomi sono già comparsi, non portano ad un arresto della malattia. La ricerca in campo medico sta predisponendo infatti nuovi sistemi diagnostici, poco invasivi, che possano permettere un intervento precoce di modo da rallentare o arrestare la progressione dell'AD (Butterfield, Halliwell, 2019). In tale contesto gli studi scientifici si stanno sempre più concentrando sull'individuazione di composti e molecole di origine naturale con attività neuroprotettiva, che possano essere utilizzate a scopo preventivo e/o come supporto alla terapia farmacologica tradizionale.

² I farmaci approvati ed utilizzati in Italia per il trattamento dell'AD sono inibitori dell'acetilcolinesterasi ed in particolare donepezil, rivastigmina e galantamina e un antagonista del recettore dell'N-metil-D-aspartato, la memantina. Questi farmaci sono approvati anche da FDA con l'aggiunta di un ulteriore inibitore dell'acetilcolinesterasi, la tacrina, approvato nel 1993. Nel giugno 2021 la FDA ha approvato anche l'anticorpo monoclonale aducanumab, anticorpo IgG1 anti-A β , che ha mostrato un campo di applicazione emergente contro la progressione dell'AD (Siddiqui et al., 2021)..

CAPITOLO TERZO

I composti naturali nella prevenzione della malattia di Alzheimer: cenni fitochimici ed attività

3.1 Potenziale terapeutico dei composti naturali

Il mondo vegetale è una fonte inesauribile di metaboliti secondari bioattivi che le piante, in primo luogo, usano per interagire con l'ambiente circostante e che l'uomo ha da sempre utilizzato per curarsi. I meccanismi grazie ai quali le piante producono i metaboliti secondari sono unici per ogni organismo e rappresentano l'espressione dell'individualità di una specie vegetale. I metaboliti secondari non sono considerati essenziali per la crescita, lo sviluppo o la riproduzione di una specie, ma sono il risultato dell'adattamento dell'organismo all'ambiente circostante, come meccanismo di difesa o con ruolo vessillare. La biosintesi di questi composti deriva dai processi fondamentali della fotosintesi, della glicolisi e del ciclo di Krebs, e fornisce intermedi biosintetici che portano alla formazione dei metaboliti secondari. Sebbene il numero di questi elementi sia limitato, la formazione di nuovi composti è infinita (Dewick, 2014, pag. 7). I principi naturali presenti nelle piante sono stati utilizzati per le loro proprietà medicinali fin dall'antichità e spesso sono stati impiegati per lo sviluppo di farmaci. Le molecole di origine naturale però, continuano a fornire una diversità strutturale unica rispetto alle molecole di sintesi chimica. Negli ultimi anni i composti bioattivi delle piante, sono stati ampiamente studiati per il loro potenziale terapeutico, in numerose patologie, tra cui malattie cardiovascolari, diabete, malattie riproduttive, neoplasie e anche nelle ND. I composti naturali, in tale ambito, stanno guadagnando popolarità come supporto ai farmaci sintetici grazie alle loro proprietà neuroprotettive e alla maggiore biocompatibilità.

I principi attivi contenuti nelle piante hanno azioni che possono essere potenzialmente molto tossiche e per questo motivo, le piante, devono essere usate con oculatezza. Il loro utilizzo deve essere basato sulla conoscenza, supportata da studi scientifici che ne evidenzino effetti benefici, eventuali effetti collaterali e possibili interazioni con i farmaci per garantire sicurezza ed efficacia per i pazienti.

L'utilizzo dei composti naturali non è semplice. Aspetti centrali da approfondire sono la caratterizzazione del profilo fitochimico delle diverse specie botaniche, l'individuazione, per

molte specie, delle molecole attive, presenti nel fitocomplesso, i meccanismi d'azione sinergici o di inibizione, la mancanza di stabilità per numerose molecole, i problemi di biodisponibilità ed il passaggio limitato attraverso la barriera ematoencefalica. L'indagine di quest'ultimo aspetto in particolare, in riferimento alle ND, avrebbe maggiore significato se potesse essere valutato scientificamente anche avvalendosi della sperimentazione clinica. Le prove di potenziali effetti di specie vegetali d'interesse si basano ancora, molto spesso, su prove *in vitro* o *in vivo*, con l'utilizzo di modelli animali. Poche sono le sperimentazioni cliniche che hanno convalidato la sicurezza e l'efficacia dei composti naturali per il trattamento delle ND o di altre patologie (di Paolo et al., 2019). Esistono anche preoccupazioni in riferimento alla purezza e alla concentrazione dei prodotti, alla qualità delle specie vegetali usate come base di partenza per l'estrazione di principi attivi, alla loro corretta identificazione, alla presenza di contaminanti microbiologici o chimici. Un approccio scientifico dovrebbe tendere a valutare anche il momento più opportuno per la raccolta: la concentrazione delle molecole attive può variare infatti, non solo durante il periodo della fioritura, ma a volte nell'arco della stessa giornata. Ancora, dovrebbero essere attentamente scelti i metodi estrattivi più adeguati in riferimento ai composti d'interesse. La qualità del prodotto è influenzata dalla qualità della pianta utilizzata e la standardizzazione nei processi di coltivazione, raccolta, essiccazione ed estrazione è sicuramente un obiettivo da perseguire. La standardizzazione garantisce la costanza della concentrazione del principio attivo di interesse e, in relazione alla titolazione, può indicare la quantità precisa di un fitocostituente, presente in un estratto. La moderna fitoterapia sta affrontando queste problematiche e si sta sempre più impegnando per offrire medicinali realizzati in modo accurato.

I metaboliti secondari possono essere suddivisi in due categorie: molecole contenenti azoto e molecole non contenenti azoto. Sono generalmente classificati in quattro fondamentali gruppi, in base alla loro origine: fenilpropanoidi, polichetidi, alcaloidi e terpenoidi. I principi attivi utili nella prevenzione e terapia delle ND che verranno analizzati nel presente lavoro, appartengono alla classe dei fenoli con fenilpropanoidi in *Rosmarinus officinalis* L., e diarileptanoidi in *Curcuma longa* L., alla classe dei terpenoidi con diterpeni e triterpeni in *Rosmarinus officinalis* L., saponine triterpeniche, presenti in *Bacopa monnieri* (L.) Pennell steroidi in *Withania somnifera* (L.) Dunal, carotenoidi in *Crocus sativus* L. e *Arthrospira platensis* (Nordstedt) Gomont, composti volatili ed oleogommoresine presenti in *Rosmarinus officinalis* L. e *Boswellia* spp.

Di seguito verranno proposti cenni fitochimici relativi ai diversi gruppi di metaboliti secondari e indicate alcune specie vegetali che sono all'attenzione della ricerca scientifica perché potenzialmente utili in prevenzione e terapia dell'AD.

3.2. Metaboliti secondari utili nella prevenzione e terapia della malattia di Alzheimer

3.2.1 I fenoli: cenni fitochimici, attività e potenziale terapeutico nella malattia di Alzheimer

I fenoli sono un vastissimo gruppo di composti naturali che presentano uno o più anelli benzenici ed uno o più ossidrili fenolici. Sono composti privi di azoto che derivano dalla via dell'acido shikimico o di un poliacetato o da entrambe le vie (Fig. 4). Il loro metabolismo è unico ed altamente specie-specifico. Fino ad ora sono stati individuati più di 8000 composti suddivisi in vari sottogruppi.

I sottogruppi derivanti dalla via dell'acido shikimico sono gli acidi idrossicinnamici, le cumarine, i lignani, i fenilpropeni, gli acidi benzoici, i tannini idrolizzabili, formati dall'aggregazione di unità di acido gallico. Dei fenoli fanno parte i chinoni originati dalla via dell'acetato, mentre alcuni sottogruppi si originano da una via biosintetica mista. Essi sono gli stilpironi, i diarileptanoidi, i flavonoidi, gli stilbeni, i flavolignani, gli isoflavonoidi, le proantocianidine o tannini condensati la cui molecola di base è il flavan-3-olo o catechina (Dewick, 2014, pag. 9). Questi composti esplicano spiccata attività antiossidante, inibendo la formazione di ROS e di specie reattive dell'azoto, agendo anche a livello mitocondriale, contrastando la disfunzione di tali organelli, causa, tra altre, dei fenomeni neurodegenerativi. L'attività antinfiammatoria di tali molecole ha effetto inibitorio nella formazione di citochine proinfiammatorie anche a livello della microglia, attraverso l'attivazione del sistema immunitario innato (Dewick, 2014, pag. 150-151).

I fenilpropanoidi o acidi cinnamici sono un gruppo di composti sintetizzati a partire dagli amminoacidi fenilalanina o tirosina che si caratterizzano per la presenza di un anello aromatico legato ad una unità propanoica a tre atomi di carbonio. Essi possono essere suddivisi in cinque sottogruppi: acidi cinnamici, fenilpropeni, lignani e lignine, acidi benzoici, cumarine. Molecole

come l'acido caffeico o l'acido clorogenico presenti in piante come *Melissa officinalis* L, o l'acido rosmarinico in *Rosmarinus officinalis* L. o in *Ocimum tenuiflorum* L. che possiedono proprietà antiossidanti ed antinfiammatorie, suscitano grande interesse nella prevenzione delle ND.

I polichetidi possono essere suddivisi in vari sottogruppi. Tra questi vi sono gli stilpironi e diarileptanoidi, presenti questi ultimi, ad esempio, in *Curcuma longa* L. La curcumina, il principale componente attivo isolato dal rizoma di *Curcuma longa* L., esplica molteplici effetti farmacologici nell'AD, tra cui la capacità di sopprimere il danno ossidativo, la neuroinfiammazione, l'aggregazione e il deposito di A β (De Lorenzi et al., 2022).

Altri polichetidi sono i flavonoidi, gli stilbenoidi, di cui fa parte il resveratrolo, i flavolignani e gli isoflavonoidi come la daidzeina e la genisteina in *Glycine max* L. Gli isoflavonoidi, in particolare, hanno attività fitoestrogenica, poiché mimano la forma e la polarità dell'ormone estradiolo. Essi hanno la capacità di legarsi al recettore estrogenico, esplicando però una minore attività rispetto all'ormone prodotto dall'organismo. In alcuni tessuti, inoltre, gli isoflavonoidi stimolano l'attività estrogenica, mentre in altri agiscono come antagonisti degli estrogeni (Dewick, 2014, pag.168-177). È noto che gli estrogeni svolgono un ruolo chiave nella regolazione dell'apprendimento e della memoria dell'ippocampo e le variazioni ormonali dopo la menopausa aumentano notevolmente il rischio di perdita di memoria e malattie neurodegenerative nelle donne. In tale prospettiva anche i fitoestrogeni sono all'attenzione come possibili molecole utili nella prevenzione dell'AD (Singh, Paramanik, 2022).

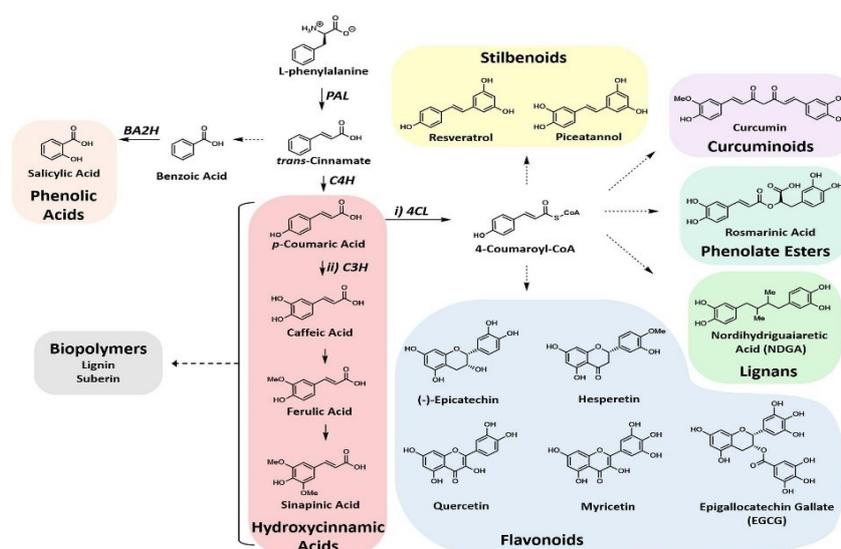


Fig. 4. Formazione dei composti fenolici (Kolaj et al., 2018).

3.2.2 Gli alcaloidi: cenni fitochimici, attività e potenziale terapeutico nella malattia di Alzheimer

Gli alcaloidi sono composti organici azotati, hanno basso peso molecolare, derivano da piante, microrganismi o animali ed hanno per questi, ruolo di difesa. La maggior parte degli alcaloidi sono di origine vegetale; su ventisettemila sostanze caratterizzate, ben ventunomila derivano dalle piante. Queste molecole presentano spiccate proprietà farmacologiche anche a basse dosi. Gli alcaloidi sono anche composti di notevole interesse per il trattamento delle ND.

Dal punto di vista chimico, gli alcaloidi contengono uno o più atomi di azoto, presenti nelle molecole come ammine primarie, secondarie o terziarie, che possono conferire basicità ai composti; il nome alcaloide, indicato da Meisner all'inizio dell'800, è riferibile, infatti, a tale caratteristica. La basicità degli alcaloidi è però legata alla struttura molecolare ed in modo particolare alla presenza e alla posizione di specifici gruppi funzionali. In base a tali peculiarità, gli alcaloidi vengono distinti in veri alcaloidi, pseudoalcaloidi e protoalcaloidi.

Un importante gruppo sono gli alcaloidi purinici caffeina, teobromina e teofillina. Questi composti sono stati studiati in relazione ai loro possibili impieghi terapeutici nella prevenzione delle ND. La loro origine è correlata a quella delle basi puriniche adenina e guanina che compongono nucleosidi, nucleotidi ed acidi nucleici. Gli alcaloidi purinici sono derivati metilici della xantina e sono presenti contemporaneamente nelle piante, anche se in diversa concentrazione. Le principali fonti di derivazione sono vegetali: la caffeina deriva principalmente da piante del genere *Coffea*, la teofillina da *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, la teobromina da *Theobroma cacao* L. Queste molecole presentano attività stimolante per il SNC con azione mimetico-catecolaminica, rilassante del muscolo liscio bronchiale e diuretica. Tra i tre composti, la caffeina presenta la maggiore attività stimolante, mentre teobromina e teofillina presentano una maggiore attività diuretica e miorilassante (Dewick, 2014, pag. 413-415). Un numero sempre maggiore di studi sta confermando che il consumo regolare di caffè, tè e cioccolato fondente, che contiene la maggior percentuale di cacao, può promuovere la salute del cervello e ridurre il rischio di disturbi neurodegenerativi legati all'età. Tuttavia, il profilo fitochimico di caffè, cacao e tè deve essere approfondito per consentire una chiara comprensione dei principi attivi che influenzano la plasticità neuronale (Camandola et al., 2019).

Recenti studi stanno valutando l'attività di alcune piante contenenti alcaloidi, capaci di contrastare i deficit cognitivi, la compromissione della memoria, l'autofagia e favorire la

sopravvivenza neuronale, modulare l'effetto dell'acetilcolinesterasi, la neuroinfiammazione, la demielinizzazione, la perossidazione lipidica, il flusso dei canali del sodio e del calcio, attenuando l'apoptosi e lo stress ossidativo con evidenti attività neuroprotettive e neuromodulatorie.

Alcaloidi come galantamina, huperzina A, berberina, rincofilina, isorincofilina e morfina, agirebbero come inibitori dell'enzima acetilcolinesterasi, con aumento dei livelli di acetilcolina nel cervello e conseguente miglioramento dell'attività neuronale.

Come già riportato, gli studi scientifici ritengono che la produzione, l'aggregazione e la tossicità di A β nell'AD siano causate anche da interazioni anomale con il ferro neocorticale. La disomeostasi del ferro svolgerebbe un ruolo iniziale e centrale nella patogenesi dell'AD. Gli alcaloidi identificati come inibitori dell'acetilcolinesterasi ridurrebbero significativamente anche il contenuto di ferro e l'espressione del recettore della transferrina 1 nel cervello, con conseguente inibizione della formazione di placche A β . Questi alcaloidi, inoltre, sarebbero in grado di inibire l'iperfosforilazione della proteina Tau (Ng et al., 2015) (Fig. 5).

Gli alcaloidi, ancora, potrebbero modulare l'attività insulinica ed attenuare i disturbi metabolici, che come precedentemente affermato, sono ritenuti concausa delle ND. Nuovi studi stanno valutando una potenziale relazione tra leptina (un ormone peptidico prodotto dagli adipociti, coinvolto nella regolazione dell'obesità, nell'emostasi energetica, nelle funzioni neuroendocrine, nel miglioramento dell'attività del sistema immunitario e del SNC) e insulina in riferimento alla salute del SNC.

Un interessante approccio in via di approfondimento si riferisce alla possibilità di indurre, attraverso la somministrazione di estratti polifenolici e di alcaloidi, l'aumento di una delle sei isoforme del recettore della leptina, per prevenire la progressione delle ND (Kooshki et al., 2023). Sono necessarie ulteriori ricerche, in particolare studi sulla somministrazione cronica e indagini dettagliate sulla sicurezza degli alcaloidi perché il loro effetto benefico nell'AD potrebbe richiedere una somministrazione a lungo termine. Sicuramente gli alcaloidi sono molecole con grandi e promettenti potenzialità per il trattamento dell'AD e si auspica possano presto venir proficuamente utilizzati (Ng et al., 2015).

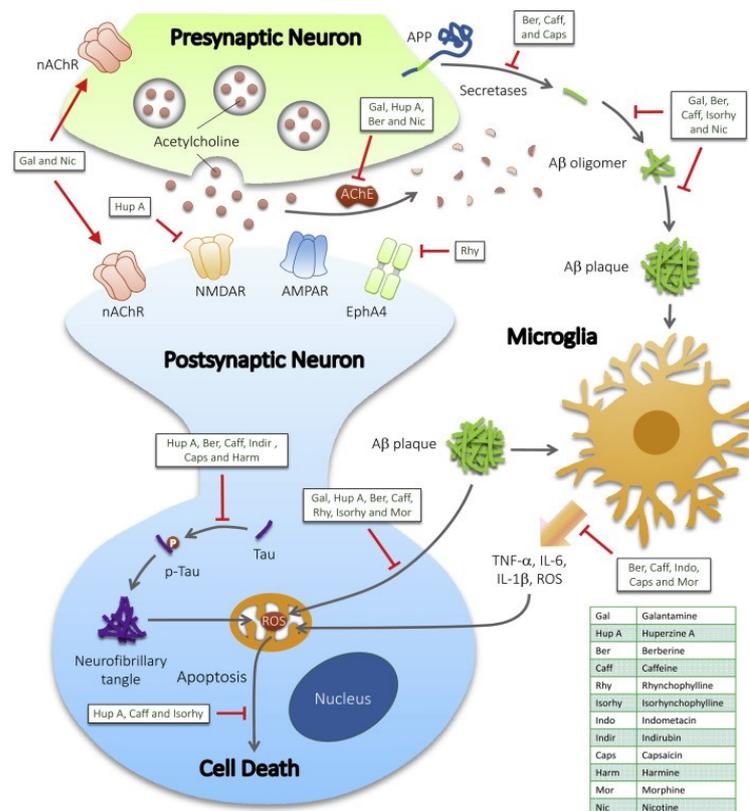


Fig. 5. Meccanismi degli effetti degli alcaloidi nella malattia di Alzheimer (Ng et al., 2015).

3.2.3 I terpenoidi e gli steroidi: cenni fitochimici, attività e terapeutico nella malattia di Alzheimer

I terpenoidi e gli steroidi costituiscono il gruppo più numeroso di composti naturali. Sono noti, infatti, più di ottantamila molecole. Molte sostanze naturali inoltre, come alcaloidi, composti fenolici e vitamine, presentano nella loro struttura frammenti terpenoidici legati a scheletri carboniosi che derivano da vie biogenetiche come la via dell'acetato o dello shikimato.

I terpenoidi e gli steroidi sono molecole fondamentali nella crescita e nello sviluppo degli organismi viventi. Dal punto di vista fisiologico e metabolico, i terpenoidi, con gli steroli in particolare, mantengono la fluidità delle membrane cellulari, sono implicati nella catena di trasporto degli elettroni e costituiscono gli ormoni, fondamentali messaggeri biochimici.

Due sono le vie che portano alla formazione di queste molecole nelle piante: la via del mevalonato e la via del non mevalonato. Queste due vie coesistono ed operano nelle piante, in modo simultaneo. La via del mevalonato avviene principalmente nei mitocondri e porta alla

formazione di steroli, sesquiterpeni ed ubiquinoni. La via del non mevalonato, prevalentemente presente nei plastidi, porta alla formazione di emi-, mono-, sesqui- e diterpeni, carotenoidi e fitolo.

Strutturalmente i terpenoidi derivano da unità isopreniche a cinque atomi di carbonio unite generalmente secondo un'orientazione testa-coda. Possono essere distinti in emiterpeni, molecole con cinque atomi di carbonio (C5), monoterpeni (C10), sesquiterpeni (C15), diterpeni (C20), sesterterpeni (C25), triterpeni (C30) e tetraterpeni (C40). I terpenoidi sono presenti in molte piante con potenziale attività nei confronti dell'AD. Di particolare interesse sono i diterpeni, i triterpeni, le saponine triterpeniche, gli steroidi, i carotenoidi ed i composti volatili. I diterpeni derivano dal geranylgeranyl difosfato (C20). Uno dei diterpeni più semplici, ma più importanti è il fitolo che forma la catena laterale lipofila delle clorofille. Altre molecole diterpeniche importanti da ricordare sono i ginkgolidi di *Ginkgo biloba* L. noti composti utilizzati per potenziare la memoria e l'attività cognitiva (Fig. 6).

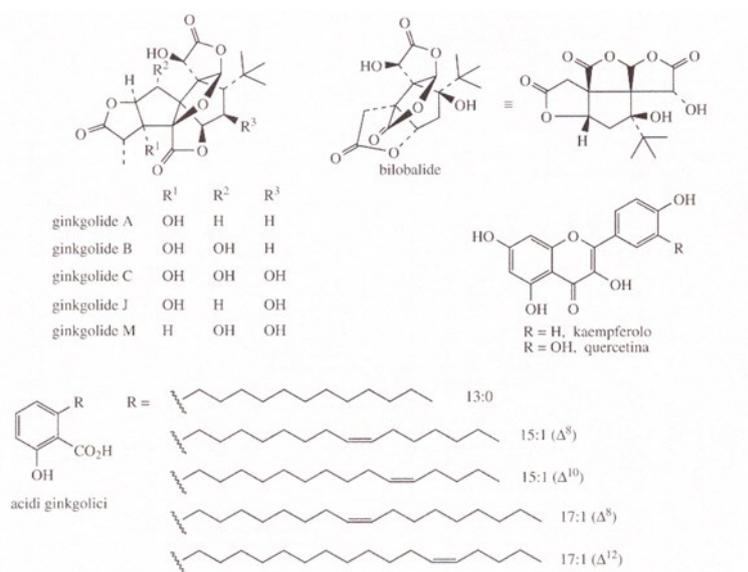


Fig. 6. Struttura chimica dei ginkgolidi (Dewick, 2014, pag. 232).

I triterpeni (C30) e gli steroidi sono costituiti dall'unione coda-coda di due molecole di farnesil pirofosfato. Due sono i tipi di molecole triterpeniche: i triterpeni tetraciclici, che presentano un sistema tetraciclico con 4 anelli condensati (tre a 6 termini ed uno a 5 termini) ed i triterpeni pentaciclici (sistema policiclico costituito da cinque anelli a 6 termini). Gli steroidi invece sono costituiti generalmente da 27 atomi di carbonio, ma possono contenere anche un numero minore

di atomi. I triterpeni e gli steroidi sono molecole che presentano numerose applicazioni, basti pensare ai glicosidi cardioattivi o alle droghe che contengono saponine. Queste ultime, in particolare, sono molecole di natura stereoidica o triterpenica (Dewick, 2014, pag.187-247).

Secondo recenti studi le saponine sono promettenti candidati terapeutici nel trattamento dell'AD e delle ND, in generale. In particolare, i bacosidi di *Bacopa monnieri* (L.) Pennell (saponine triterpeniche di tipo dammaranico), ginsenoside e xanthoceraside (saponina triterpenica tetraciclica) estratti dalla corteccia della *Xanthoceras sorbifolia* Bunge, teasaponina E1 da *Camellia sinensis* (L) Kuntze, asiaticoside da *Centella asiatica* (L.) Urb, riducono la deposizione di A β , inibiscono la fosforilazione della proteina Tau, riducono lo stress ossidativo, l'apoptosi dei neuroni e la neuronfiammazione. Per esempio, astragaloside IV, un triterpene tetraciclico di *Astragalus membranaceus* Bunge e jujuboside A, una saponina triterpenoide estratta dai datteri acidi, possiede proprietà neuroprotettive (Zhang et al., 2023).

Dei terpenoidi fanno parte anche i carotenoidi (Fig. 7), strutture tetraterpeniche costituite da 40 atomi di carbonio. I carotenoidi comprendono alcune centinaia di varianti strutturali naturali. Queste molecole possono essere distinte in caroteni, costituiti da atomi di carbonio e idrogeno e xantofille, derivati ossigenati dei caroteni. Sono composti colorati, con colorazioni dal giallo al rosso, in cui il gruppo cromoforo è costituito da almeno dieci doppi legami coniugati, con possibile formazione di numerosi isomeri geometrici. I carotenoidi, che si trovano in moltissimi vegetali, sono molecole molto importanti, basti pensare che il betacarotene è precursore della vitamina A, che si forma per scissione della parte centrale della catena idrocarburica (Dewick, 2014, pag. 298-301). I carotenoidi sono molecole particolarmente interessanti nella prevenzione delle ND contenuti in specie vegetali come *Arthrospira platensis* (Nordstedt) Gomont e *Crocus sativus* L. delle quali si parlerà approfonditamente nei capitoli 4 e 5. Altra specie contenente carotenoidi, con potenziale terapeutico nelle ND è la microalga flagellata *Euglena gracilis*. I carotenoidi di *Euglena gracilis* esercitano attività antinfiammatoria in modelli di neuroinfiammazione *in vitro*. Gli effetti antinfiammatori di *Euglena gracilis* devono però essere approfonditi in riferimento alle capacità di tali molecole di attraversare la barriera ematoencefalica, anche se la maggior parte dei carotenoidi sono lipofili e in grado di raggiungere il cervello in concentrazioni biologicamente rilevanti (Piovan et al., 2021).

Il cannabidiolo (CBD), molecola terpenofenolica, non psicoattiva, presente in *Cannabis sativa* L. sta suscitando notevole interesse per le sue proprietà antiepilettiche, analgesiche, neuroprotettive, antidepressive, ansiolitiche, antipsicotiche e sedative. In particolare, il CBD è

stato esaminato per il suo potenziale nel trattamento di varie patologie a carico del SNC. Il CBD agisce controllando il rilascio di neurotrasmettitori, riducendo lo stress ossidativo e esplicando azione antinfiammatoria (Singh et al., 2023).

Altri composti terpenici e fenolici di interesse, per le proprietà neuroprotettive dimostrate, sono gli oli essenziali. In particolare, questi composti molto complessi appartengono al gruppo dei monoterpeni e dei sesquiterpeni, per quanto riguarda i terpeni ed a composti aromatici di origine fenolica. Gli oli essenziali, così come le oleoresine e le gommoresine, meritano sicuramente una trattazione specifica che verrà proposta nel prossimo paragrafo.

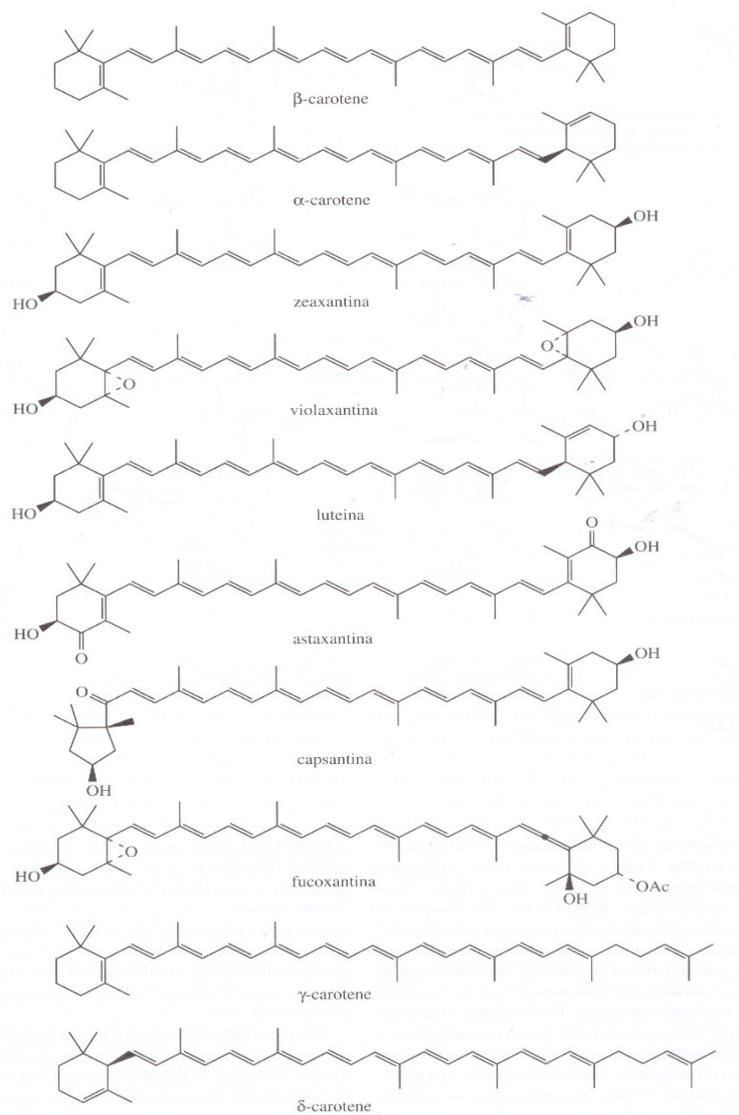


Fig. 7. Struttura chimica dei carotenoidi (Dewick, 2014, pag. 301).

3.2.4 Oli essenziali e droghe non organizzate: cenni fitochimici, attività e potenziale terapeutico nella malattia di Alzheimer

Gli oli essenziali sono definiti dalla FUI XII edizione come prodotti odorosi, generalmente di composizione complessa, ottenuti da una materia prima vegetale botanicamente identificata, sia tramite distillazione semplice o distillazione in corrente di vapore, sia tramite spremitura, senza riscaldamento, in particolare in riferimento alle specie del genere *Citrus*. Gli oli essenziali si trovano solo nelle piante superiori nelle famiglie delle: Lamiaceae, Lauraceae, Asteraceae, Rutaceae, Myrtaceae, Poaceae, Cupressaceae e Piperaceae (El Asbahani et al., 2015). Dal punto di vista fitochimico, gli oli essenziali possono essere suddivisi in due gruppi: composti aromatici dalla via dello shikimato e composti di natura terpenica che derivano dalla via del mevalonato e del metileritritolfosfato. Molteplici sono le attività riconosciute agli oli essenziali: *Ocimum basilicum* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Lavandula angustifolia* Miller., *Origanum vulgare* L. hanno dimostrato proprietà antinfiammatorie ed antiossidanti. La ricerca sta in particolare rivolgendo l'attenzione all'olio essenziale di rosmarino per le sue dimostrate capacità di ridurre gli enzimi coinvolti nella patogenesi e progressione dell'AD (Singh et al., 2024). Analogamente l'olio essenziale di *Salvia lavandulifolia* Vahl (salvia spagnola) ha dimostrato la capacità di inibire l'attività dell'enzima acetilcolinesterasi sia *in vitro* che *in vivo*. Altre attività rilevanti di tale olio, per la prevenzione e il trattamento dell'AD includono effetti antiossidanti, antinfiammatori ed estrogenici (Perry et al., 2001). Anche gli oli essenziali di *Citrus aurantiifolia* (Christm.) Swingle e *Melissa officinalis* L. hanno mostrato elevate attività inibitorie dell'acetilcolinesterasi e regolatrici della butirrilcolinesterasi (Chaiyana, Okonogi, 2012). Gli oli essenziali, inoltre, hanno dimostrato attività ansiolitica. In particolare, è stato dimostrato che attraverso l'inalazione, le molecole odorose attivano i recettori olfattivi situati sull'epitelio olfattivo nasale, dove inizia la trasmissione dei segnali olfattivi fino al bulbo olfattivo. Questo, a sua volta, ha un collegamento con il sistema limbico, principalmente con l'amigdala, responsabile della regolazione emotiva e con l'ippocampo, coinvolto nei processi di memoria (Cimino et al., 2021). L'ansia e la depressione sono comuni nei pazienti affetti da AD e sono correlate alla durata della demenza e alla sua gravità. L'olio di coriandolo estratto da *Coriandrum sativum* var. *microcarpum* L. ha effetti ansiolitici e antidepressivi e può conferire neuroprotezione agendo sullo stress ossidativo e sulla presenza di placche A β . L'inalazione dell'olio volatile di coriandolo potrebbe offrire una scelta complementare nella prevenzione o nel trattamento della condizione di demenza (Cioanca et al., 2014).

Le resine, oleoresine, balsami, gommoresine e le oleogommoresine, come gli oli essenziali, sono droghe non organizzate o essudati. Tra questi, di particolare interesse, in riferimento all'AD, è l'incenso, un'oleogommoresina estratta da piante del genere *Boswellia spp.* della quale si tratterà approfonditamente nel capitolo 5.

Da quanto descritto finora, le specie vegetali che possono essere impiegate nella prevenzione dell'AD, sono numerose, come emerge anche da uno studio recente di Sen e collaboratori (2024) in cui è stata fatta una revisione dei diversi studi pubblicati che hanno utilizzato numerosi approcci erboristici nell'AD. Sicuramente la ricerca deve approfondire la possibilità di utilizzo dei fitopreparati per garantire, come imprescindibili, la qualità, la sicurezza e l'efficacia che anche alle piante possono e devono venir riconosciute.

CAPITOLO QUARTO

Piante con attività preventiva nella formazione di placche β -amiloidi e iperfosforilazione di Tau

4.1 *Bacopa monnieri* (L.) Pennell

4.1.1 Descrizione botanica e composizione fitochimica

Bacopa monnieri (L.) Pennell (BM) è una pianta perenne, appartenente alla famiglia delle Scrophulariaceae. È originaria di India, Indocina, Australia, Sri Lanka, ma è diffusa in Europa, Africa, Asia, Nord e Sud America. BM è una pianta glabra, succulenta, strisciante, con numerosi rami prostrati di lunghezza variabile tra 10 e 30 cm. Presenta piccole foglie carnose di colore verde brillante, lunghe, spatolate, sessili e decussate. Le foglie sono molto fitte ed hanno una dimensione variabile tra 4-6 mm. I fiori sono piccoli, ascellari, attinomorfi e solitari formati da 4-5 petali bianchi e/o viola che producono frutti a capsula ovoidale-acuminata. I semi oblungi sono troncati longitudinalmente e costolati, con striature trasversali. La propagazione è spesso ottenuta tramite talea (Oudhia, Pankaj, 2004) (Fig. 8). La pianta viene indicata con diversi nomi: brahmi, issopo d'acqua, gratiola a foglie di timo ed erba della grazia. Il termine Brahmi deriva dalla mitologia indù e significa "Brahma" o "creatore supremo". L'utilizzo di BM è infatti documentato nel testo ayurvedico "Caraka Samhita" ed è riferito al trattamento di patologie del SNC. La medicina ayurvedica descrive BM come una pianta "medhya rasayana", ovvero appartenente a una classe di erbe ritenute in grado di migliorare la memoria, l'attività cognitiva e l'epilessia, di apportare benefici negli stati di depressione e di ansia, di intervenire contro l'insonnia promuovendo il ringiovanimento e la longevità. La droga può essere utilizzata da sola o in combinazione con altre erbe come la *Centella asiatica* (L.) Urb. Sia BM che *Centella asiatica* (L.) Urb. possiedono proprietà neuroprotettive, ansiolitiche ed hanno attività nootropica. BM esplica numerose attività benefiche: antiossidante, antinfiammatoria, anticonvulsivante, cardiotonica, broncodilatatrice e di protezione dall'ulcera peptica. È stato dimostrato infatti, che la droga cura le ulcere gastriche negli animali e ha attività contro *Helicobacter pylori* nel tessuto del colon umano (Walker, Pellegrini, 2024). La droga è costituita dalle foglie di BM anche se può venir utilizzata, a scopo curativo, l'intera pianta. Le foglie

contengono numerose sostanze tra cui saponine triterpeniche di tipo dammarano (come bacoside A, bacoside A2, bacoside A3, bacoside B) bacopasaponine, sapogenine, cucurbitacine, Jujubacogenina, pseudojujubacogenina, D-mannitolo, acido A, alcaloidi (brahmia, nicotina, herpestina, idrocotilina), flavonoidi (luteolina, apigenina, wogonin, oroxindina), glicosidi (asiaticoside, thanakunicide, monnieraside), inoltre acido betulico, acido betulico, fitosteroli (come stigmasterolo, beta-sitosterolo) ed ancora acido brahmico, brahamoside, brahminoside, acido isobrahmico. Le saponine triterpeniche sono ritenute responsabili della maggior parte delle azioni farmacologiche della droga (Dubey, Chinnathambi, 2019; Walker, Pellegrini, 2024). I bacosidi sono strutturalmente costituiti da uno scheletro triterpenico non polare legato a una o più catene di zucchero. L'unità agliconica nelle saponine triterpenoidi è costituita da iujubogenina o pseudojujubogenina, isomeri con catene laterali preniliche, unità isobutileniche, sostituite rispettivamente nelle posizioni C-23 e C-22. La maggior parte dei glicosidi ha catene di zucchero unite solo in posizione C-3 (monodesmosidi); pochi glicosidi hanno catene zuccherine sia in posizione C-3 che C-20 (bidesmosidi) dell'unità agliconica (Fatima et al., 2022) (Fig. 9).



Fig. 8. *Bacopa monnieri* (L.) Pennell.

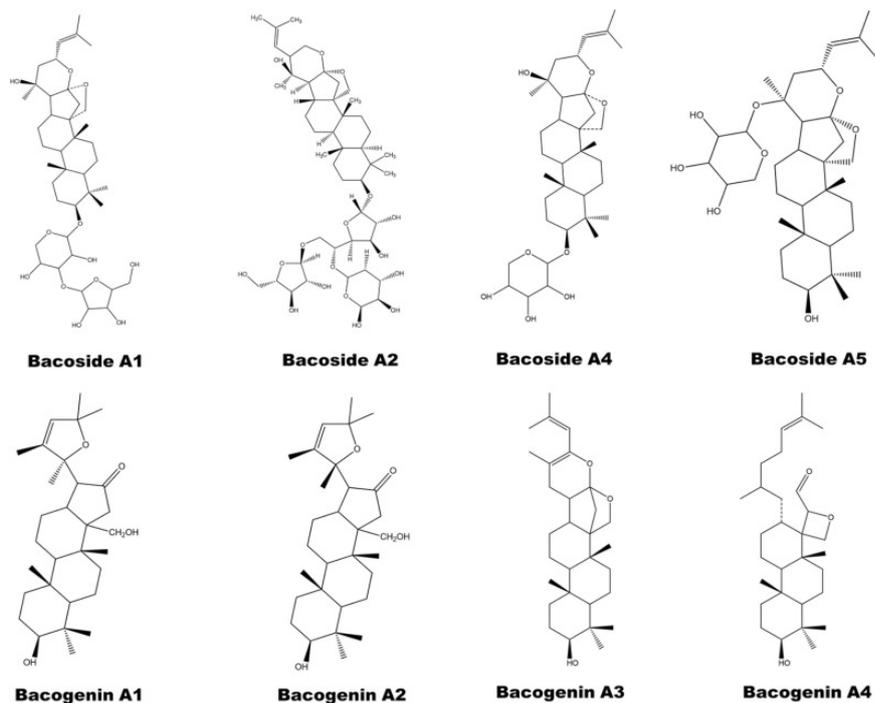


Fig. 9. Saponine triterpeniche presenti in *Bacopa monnieri* (L.) Pennell (Fatima et al., 2022).

4.1.2 Attività e meccanismi d'azione di *Bacopa monnieri* (L.) Pennell

Molti studi clinici hanno dimostrato gli effetti positivi dell'assunzione di BM in relazione a problematiche tipiche dell'AD come la compromissione dell'espressione verbale, della memoria a breve termine, dei processi di apprendimento e dei disturbi d'ansia. Le saponine triterpeniche di BM modulano l'attività dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene e proteggono l'ippocampo. La droga potrebbe essere definita come un tonico neurale e potenziatore della memoria, con proprietà calmanti. Le prove attuali suggeriscono che l'estratto di BM agisce tramite meccanismi di neuroprotezione con effetto antiossidante, attraverso l'aumento dell'espressione di molecole come l'enzima superossido dismutasi e il glutazione (Dubey, Chinnathambi 2019), l'inibizione dell'acetilcolinesterasi e/o attivazione della colina acetiltransferasi con modulazione dei neurotrasmettitori acetilcolina, 5-idrossitriptamina e dopamina, aumento del flusso sanguigno cerebrale, riduzione della formazione di placche A β e inibizione dell'iperfosforilazione della proteina Tau (Nemetchek et al., 2016).

L'estratto di BM determina un effetto antinfiammatorio nelle colture di cellule microgliali attivate (Nemetchek et al., 2016). L'estratto di BM è in grado di diminuire i livelli di caspasi-

10³ nelle cellule microgliali, con conseguenze positive sulla neuroinfiammazione. Anche l'acido betulinico (BA), acido triterpenico pentaciclico di tipo lupano (Fig. 10) contenuto in BM, diminuisce la risposta proinfiammatoria, riducendo l'espressione di COX-2 e la produzione di prostaglandina E2 (Dubey, Chinnathambi, 2019).

L'azione nootropica e neuroprotettiva di BM è stata confermata da numerosi studi *in vitro*, *in vivo*, oltre che diversi studi randomizzati, in doppio cieco, controllati con placebo sugli esseri umani (Walker, Pellegrini, 2024). Il componente bioattivo bacoside A, che riesce ad attraversare la barriera ematoencefalica, ha mostrato attività neuroprotettiva contro la citotossicità indotta da A β nelle cellule neuronali SH-SY5Y. La molecola ha infatti ridotto la dimensione degli aggregati di A β e potrebbe essere pertanto una molecola attiva contro la tossicità mediata da A β nelle cellule neuronali (Holcomb et al., 2006). Anche BA è in grado di attraversare la barriera ematoencefalica e interagire con la proteina A β , favorendone il corretto ripiegamento e bypassando o accelerando la clearance degli oligomeri tossici "on-pathway". Tuttavia, il corretto ripiegamento indotto da BA, che avviene a scapito di oligomeri solubili tossici, sembra essere esclusiva della formazione "on-pathway". BA non sarebbe infatti in grado di interagire contro gli aggregati neurotossici già formati (Planchard et al., 2012), (Witter et al., 2018), ma, come detto precedentemente, tale specifica azione sugli aggregati neurotossici, sarebbe svolta dai bacosidi contenuti in BM.

BM contiene numerosi polifenoli, che come dimostrato da studi recenti, inibiscono l'aggregazione della proteina Tau e, si conseguenza, sono in grado di proteggere i neuroni. In particolare, uno studio condotto nelle cellule PC12 ha evidenziato che l'estratto di BM può ridurre l'espressione della proteina Tau e ridurre la sua fosforilazione. Questo processo si verifica attraverso l'aumento dell'azione dell'enzima fosfatidilinositolo-3-chinasi e una riduzione dell'attività dell'enzima glicogeno sintasi chinasi-3 beta che portano a una ridotta fosforilazione della proteina Tau (Fatima et al., 2022).

Numerosi sono stati anche gli studi condotti sull'uomo, volti a indagare l'attività nootropica di BM. In uno studio randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo, è stato somministrato a 54 pazienti, un estratto standardizzato contenente 300 mg di Bacopa o placebo.

³ Le caspasi sono un gruppo di proteasi principalmente coinvolte nell'apoptosi e nei percorsi infiammatori. La caspasi-10, in particolare, è un enzima coinvolto nella scissione proteolitica delle pro-citochine, che favorisce il rilascio delle interleuchine.

Il gruppo trattato ha dimostrato miglioramenti nell'attività mnemonica e di analisi, rispetto al placebo (Calabrese et al., 2008). Un altro studio randomizzato, condotto in Australia nel 2010 su 81 adulti con età superiore ai 55 anni, ha dimostrato un significativo miglioramento delle capacità mnemoniche dei soggetti, dopo somministrazione di un estratto di BM per 12 settimane (Morgan, Stevens, 2010). Una metanalisi che ha incluso nove studi clinici randomizzati (437 soggetti) ha dimostrato un miglioramento dell'attenzione e della velocità apprendimento e una riduzione del tempo di reazione (Kongkeaw et al., 2013). Un piccolo studio randomizzato controllato (17 pazienti) ha rilevato un miglioramento statisticamente significativo delle prestazioni cognitive, dell'umore ed una diminuzione della risposta allo stress, dopo somministrazione di BM (320 mg e 640 mg) (Benson et al., 2014). Comprendere più approfonditamente gli effetti di BA sarà fondamentale per lo sviluppo di eventuali farmaci (Witter et al., 2018).

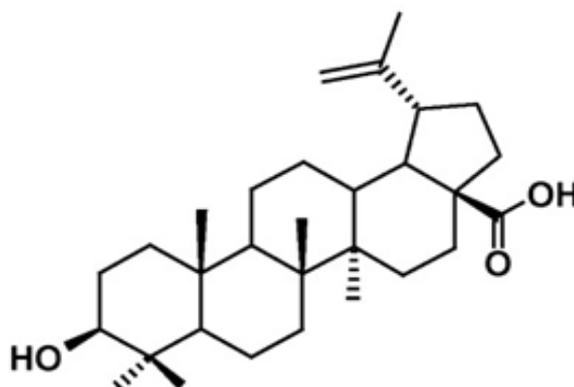


Fig. 10. Acido betulinico (Dubey, Chinnathambi, 2019).

4.1.3 Tossicità ed interazione farmacologica di *Bacopa monnieri* (L.) Pennell

La pianta è presente nell'Allegato 1 del Decreto Ministeriale 10 agosto 2018 ed è, in Italia, approvata per l'uso, senza però indicazioni specifiche. La FDA non ha approvato l'utilizzo di prodotti a base di BM e nel 2019 ha emesso un avviso, vietando ai produttori di integratori alimentari di usare affermazioni sui suoi potenziali terapeutici della droga (Walker, Pellegrini 2024). La tossicità orale, acuta e cronica, dell'estratto di BM è stata valutata in uno specifico studio del 2016 in ratti Sprague-Dawley.

Una singola somministrazione orale di estratto di BM alla dose di 5.000 mg/kg (circa 1.000 volte superiore a quella generalmente utilizzata nell'uomo di 5 mg/kg/giorno) non ha causato effetti indesiderati gravi. I ratti sono stati monitorati, per segni di tossicità, per un periodo di 14 giorni. Nei ratti trattati non sono state osservate anomalie né macroscopiche né istopatologiche in nessuno degli organi interni, compresi fegato e reni. Nel test di tossicità cronica sono state somministrate ai ratti dosi di 30, 60, 300 e 1.500 mg/kg per 270 giorni. L'estratto di BM non ha prodotto alcuna tossicità. Un altro gruppo di animali ha ricevuto una dose di estratto di 1.500 mg/kg al giorno per 270 giorni, dopodiché i ratti sono stati allevati per altri 28 giorni, senza somministrazione di estratto, per osservare la loro ripresa e identificare eventuali effetti ritardati dell'estratto. Il comportamento e la salute di questi animali sono risultati normali. Tuttavia, è stato dimostrato che l'estratto di BM può provocare effetti collaterali nel tratto gastrointestinale, come nausea e disturbi gastrointestinali, quali aumento della frequenza delle feci e crampi addominali.

Un altro studio ha mostrato che l'assunzione di BM (50 mg/kg/giorno per 28 e 56 giorni) provoca una soppressione reversibile della spermatogenesi e della fertilità nei topi.

BM è leggermente sedativa, effetto che può contribuire alla sua attività ansiolitica. L'estratto di BM può inibire l'enzima acetilcolinesterasi ed indurre un presumibile aumento dei livelli di acetilcolina. BM potrebbe contrastare gli effetti dei farmaci colinergici (e.g., acetilcolina, metacolina o betanecolo), aumentando la possibilità di effetti collaterali a causa di un effetto additivo o ridurre l'efficacia di farmaci anticolinergici, come atropina o alcaloidi della belladonna. L'assunzione di BM potrebbe peggiorare la bradicardia ed esacerbare condizioni come ostruzione gastrointestinale, ulcera peptica, patologie polmonari come l'asma e broncopneumopatia cronica ostruttiva o ostruzione del tratto urogenitale. È inoltre stato dimostrato che l'estratto di BM inibisce l'attività di alcune isoforme dell'enzima citocromo P450, in particolare CYP1A2, CYP2C9, CYP3A4 e CYP2C19. Questo potrebbe pertanto contribuire alle interazioni tra l'estratto di BM e farmaci metabolizzati da queste isoforme di citocromo P450. Inoltre, uno studio eseguito nei topi ha evidenziato che gli estratti di BM possono aumentare i livelli di tiroxina (di circa il 40%). Di conseguenza, gli estratti di BM dovrebbero essere utilizzati con cautela (o evitati) da coloro che soffrono di problemi alla tiroide o che assumono farmaci ormonali tiroidei (Walker, Pellegrini, 2024).

4.2 *Withania somnifera* (L.) Dunal

4.2.1 Descrizione botanica e composizione fitochimica

Withania somnifera (L.) Dunal (WS) è una pianta perenne appartenente alla famiglia delle Solanaceae. Fa parte del genere *Withania* che comprende circa 26 specie. Cresce abbondantemente nelle aree aride che si estendono dal Mediterraneo all'Africa tropicale, Sud Africa, isole Canarie, Capo Verde e in Afghanistan, Belucistan, Pakistan, Sri Lanka, Cina, Nepal e India. WS si è diffusa naturalmente anche in Australia meridionale e nel Nuovo Galles del Sud. È un arbusto sempreverde ramificato, alto tra 30 e 150 cm. I rami sono ricoperti di peli corti e sottili che conferiscono al fusto un colore argenteo. Le foglie sono ovate, picciolate, a margine intero, con apice appuntito, lievemente pubescenti, lunghe fino a 10 cm. Sui germogli vegetativi, le foglie, di grandi dimensioni, sono disposte in modo alterno, mentre sui rami floreali, sono opposte ed alternano coppie di foglie grandi e piccole. I fiori sono semplici, con pedicelli corti, gamosepali, persistenti, con cinque sepali nettamente lobati. La corolla è gamopetala, ha cinque lobi allargati o ricurvi, pubescenti, di colore verde chiaro. I fiori sono riuniti in un grappolo cimoso tra 5 e 25 unità, disposti all'ascella delle foglie. La fioritura avviene quasi tutto l'anno. Il frutto è una bacca di colore verde persistente, quando acerbo, rosso-arancio quando è maturo e contiene numerosi semi di piccole dimensioni (Fig. 11). Le radici sono lunghe e tuberose (~20–30 cm e 6–12 mm di diametro) con poche radici laterali, non ramificate. Presentano una superficie esterna dal giallo al grigio con rughe longitudinali ed hanno una consistenza spugnosa. Sono di sapore amaro e acre.



Fig. 11. *Withania somnifera* (L.) Dunal.

In India la pianta viene coltivata principalmente per le radici, ricche di fitocostituenti di alto valore terapeutico (Bashir et al., 2023). WS nota come ashwagandha, ginseng indiano o ciliegio d'inverno, nagouri e punir è infatti un'importante pianta medicinale utilizzata nella medicina ayurvedica. Nei testi antichi Charaka Samhita, Susruta Samhita e altri, WS viene indicata come pianta balya (che aumenta la forza), brusya (che migliora le prestazioni sessuali), vajikari (spermatogenica), kamarupini (che aumenta la libido), pustida (nutriente). Le diverse attività farmacologiche di WS sono state ampiamente studiate, ma solo alcune sono state convalidate da studi *in vivo*, tra cui proprietà antimicrobiche, antitumorali, adattogene, immunostimolanti, neuroprotettive, cardioprotettive, antidiabetiche epatoprotettive, ansiolitiche e afrodisiache. WS sembra aumentare il valore di emoglobina, il numero dei globuli rossi e migliorare il livello di energia (Mukherjee et al., 2021). Studi *in vitro* hanno dimostrato che WS possiede attività antiossidanti ed antinfiammatorie. Inoltre, sono disponibili prove cliniche dei suoi benefici neurologici come la promozione cognitiva (Tetali et al., 2020). I metaboliti secondari presenti in WS appartengono alla classe degli steroidi, degli alcaloidi e flavonoidi (Fig. 12).

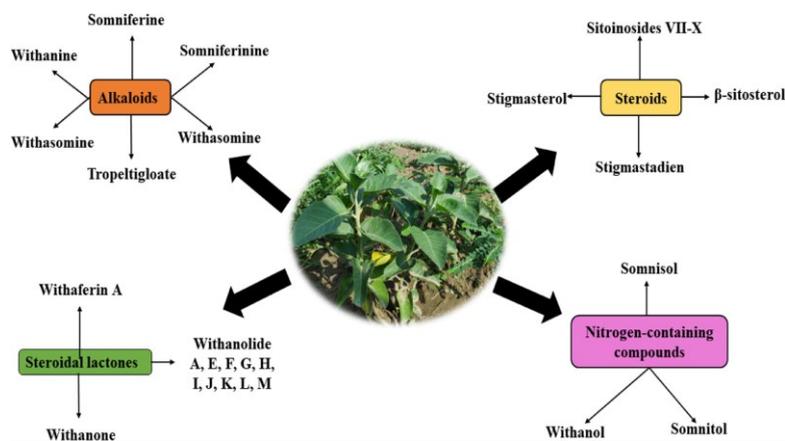


Fig. 12. Metaboliti secondari presenti in *Withania somnifera* (L.) Dunal (Tewari et al., 2022).

Gli steroidi presenti in WS vengono denominati withanoidi. Dal punto di vista chimico i withanoidi sono costituiti da uno scheletro di ergostano e sono pertanto lattoni steroidei poliossigenati. I principali withanolidi di WS hanno tipicamente atomi di ossigeno nelle posizioni C-1, C-22 e C-26, tuttavia, ci sono alcune eccezioni in cui l'atomo di ossigeno in posizione C-22 non è funzionalizzato. Questi composti possono essere divisi in due gruppi principali in base alla disposizione della loro catena laterale: quelli contenenti un δ -lattone (o

δ -lattolo) nelle posizioni C-22 e C-26 e quelli contenenti un γ -lattone, che in genere coinvolge le posizioni C-23 e C-26. La maggior parte dei withanolidi noti, sono classificati come δ -lattone e possono essere ulteriormente suddivisi in diversi sottogruppi, come i withanolidi che hanno lo stesso scheletro genitore della withaferina A tra cui withaphysaline, physaline, acnistine, withajardin, withameteline, wstivolidi, subtriflora- δ -lattoni, spiranoidi- δ -lattoni (Fig. 13) e withanolidi di tipo norbornano, withanolidi aromatici ad anello D, withanolidi aromatici ad anello A e taccalonolide- δ -lattoni. In relazione alla presenza di un gruppo ossigenato in C-23, può formarsi un γ -lattone con un gruppo carbossilico in C-26. Questi withanolidi sono classificati in cinque sottogruppi: spiranoidwithanolidi, trechonolidi, subtriflora- γ -lattoni, ixocarpalactoni e taccalonolide- γ -lattoni. I perulattoni sono un sesto sottogruppo con una catena laterale γ -lattone che coinvolge C-26 e C-28.

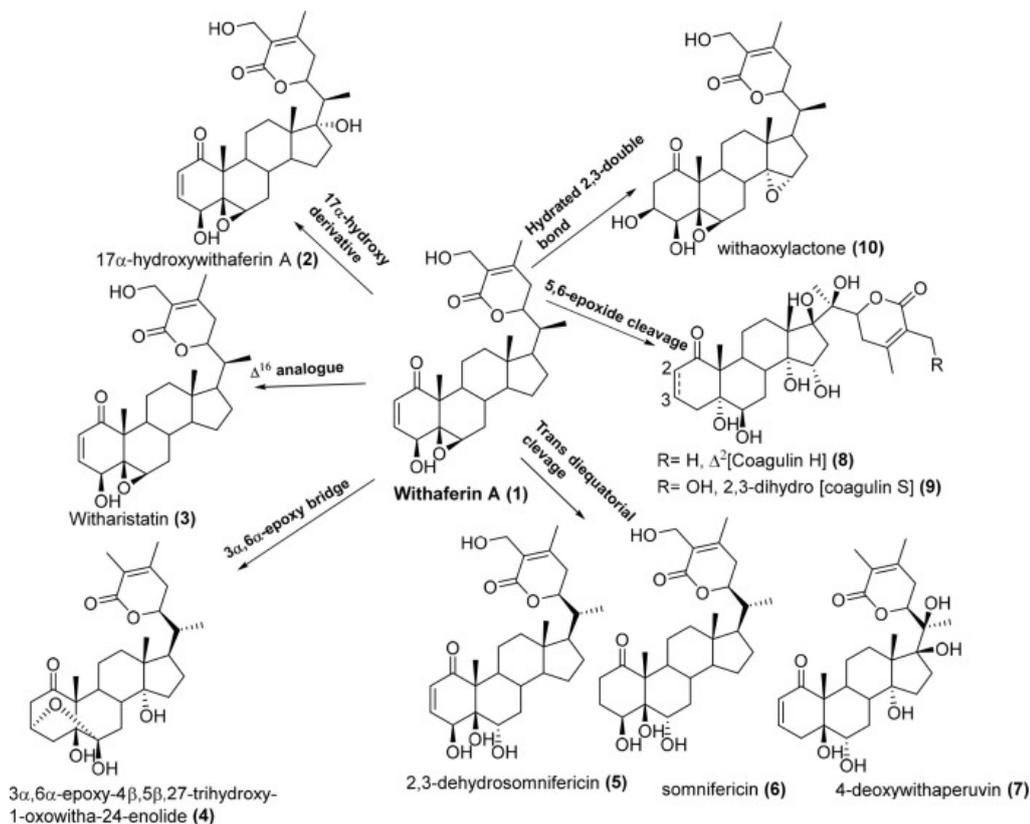


Fig. 13. Withanolidi derivanti da withaferina A (Shinde et al., 2023).

In tutta la pianta di WS sono presenti numerosi alcaloidi che sono tuttavia maggiormente concentrati nelle radici. Alcaloidi isolati in particolare dalle radici sono: l'anahgrina, la

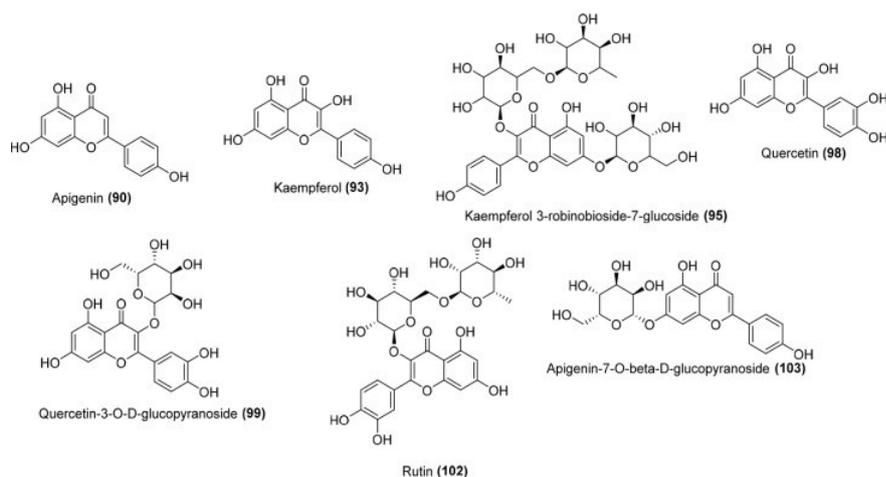


Fig. 15. Flavonoidi in WS (Shinde et al., 2023).

4.2.2 Attività e meccanismi d'azione di *Withania somnifera* (L.) Dunal

L'efficacia terapeutica di WS nella prevenzione e trattamento dell'AD è stata valutata attraverso studi di *docking* molecolare, al fine di indagare i siti specifici di interazione dei metaboliti secondari di WS, e in numerosi studi *in vitro* e *in vivo* su modelli animali. I metaboliti presenti in WS hanno ridotto la formazione di placche A β , l'iperfosforilazione della proteina Tau, lo stress ossidativo e la neuroinfiammazione, attraverso diversi meccanismi che hanno come bersagli recettori ed enzimi coinvolti nella patogenesi della malattia. Gli studi di *docking* molecolare hanno mostrato che il withanolide A può interagire con gli amminoacidi Leu17 e Phe19 del peptide A β 42, il withanolide B con i residui Phe19 e Phe20, il withanoside IV con i residui Asp23, Val24 e Ser26 e il withanoside V, si può legare nello stesso sito del withanolide A, interagendo con i residui Leu17 e Phe9 (Dubey et al., 2021).

L'inibizione della formazione delle placche di A β è stata valutata in uno studio *in vitro* attraverso il saggio con tioflavina T, colorante fluorescente che si lega a A β nelle regioni ricche di β sheets (Fig. 16).

Gli effetti neuroprotettivi di withanolide A, withanolide B, withanoside IV e withanoside V sono stati testati sulle cellule SK-N-MC, una linea neuronale umana. I composti hanno ridotto gli effetti tossici degli aggregati di A β (Dubey et al., 2021).

In vitro, i composti di WS, soprattutto withanolide A e withanolide B, hanno ridotto significativamente anche la produzione di ROS. Anche gli studi *in vivo*, condotti su modelli

animali, hanno mostrato diversi effetti positivi. WS ha dimostrato attività neuroprotettiva attraverso la riduzione dell'aggregazione di A β e dell'accumulo della proteina Tau e l'inibizione dei processi ossidativi e infiammatori. La somministrazione orale di WS ha indotto un aumento dell'attività dell'enzima acetilcolinesterasi con conseguente aumento dell'acetilcolina in aree cerebrali quali il proencefalo corticale e basale, importanti per la funzione cognitiva. WS ha inoltre inibito la proteina Hsp90, coinvolta nell'accumulo e aggregazione di A β e aumentato l'espressione della proteina neuroprotettiva eme ossigenasi-1, la cui attività è importante nella prevenzione dell'AD (Das et al., 2021). Altri studi hanno dimostrato che i composti presenti in WS aumentano l'espressione dell' α -secretasi e diminuiscono l'espressione della β -secretasi nei neuroni corticali di ratto. La somministrazione di WS ha inoltre ridotto l'aggregazione di proteina Tau in un modello murino.

Un problema di notevole importanza è rappresentato dalla capacità di questi composti di attraversare la barriera ematoencefalica. È stato dimostrato che grazie all'uso di nano formulazioni liposomiali, sempre più utilizzate nella produzione di integratori, allo scopo di aumentare la biodisponibilità di composti vegetali, i principi attivi di WS riescono ad attraversare la barriera ematoencefalica aumentando la loro efficacia (Das et al., 2021).

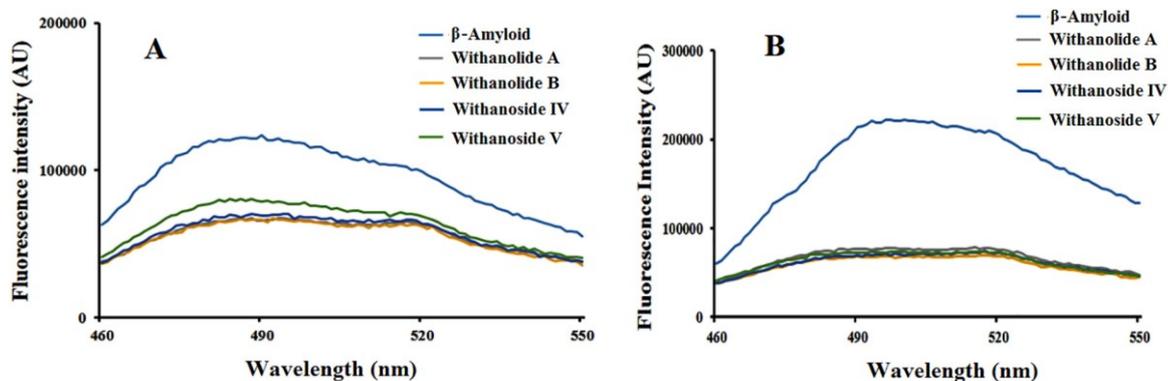


Fig. 16. Determinazione degli aggregati di A β mediante il saggio della tioflavina T. In figura sono riportati gli spettri di fluorescenza (λ ex = 450 nm, λ em = 482 nm) di una soluzione 5 μ M di tioflavina T (in tampone fosfato, 50 mM) miscelata con A β 42 (25 μ M) e withanolide A, withanolide B, withanoside IV e withanoside IV in rapporto 1:4, nello stato (A) oligomerico (incubazione di 6 ore), (B) fibrillare (dopo 24 ore di incubazione), (Dubey et al., 2021).

4.2.3 Tossicità ed interazione farmacologica dell'estratto *Withania somnifera* (L.) Dunal

La tossicità subacuta e cronica di estratti di radice di WS è stata valutata in diversi studi. La tossicità subacuta di un estratto di polvere di radice di WS è stata valutata in ratti Wistar, in cui l'estratto è stato somministrato per via orale, per un periodo di 28 giorni, con osservazione per 43 giorni. Le dosi somministrate erano di 200, 400, 800 mg/kg/die. La dose più bassa utilizzata nello studio (200 mg/kg/die) corrisponde al doppio della dose massima utilizzata nell'uomo (600 mg/kg/die). A conclusione dello studio, in tutti gli animali, è stato osservato un graduale aumento di peso. Non sono stati osservati segni di intossicazione e non sono stati osservati cambiamenti biochimici. Le modificazioni istopatologiche negli organi erano entro i limiti normali (Kalaivani et al., 2023). Per gli studi di tossicità cronica è stato usato un estratto acquoso di radice, (> 5% del contenuto totale di withanolide) costituito principalmente da withastramonolide A, withanoside IV, withanolide A e withanone withaferina A in seguito a somministrazione orale in ratti Wistar, per un periodo di 90 giorni. Le dosi di 500, 1000 e 2000 mg/kg non hanno mostrato alcuna morbilità/mortalità o segni clinici di tossicità, né hanno indotto variazioni del peso corporeo, del consumo di cibo, e nei parametri ematologici e biochimici. Inoltre, non sono state rilevate variazioni nei livelli dell'ormone tiroideo e l'esame istopatologico del fegato non ha rivelato lesioni negli animali trattati con il dosaggio più elevato rispetto agli animali del gruppo di controllo (Kalaivani et al., 2023).

Questi risultati sono stati confermati anche da un altro studio, eseguito nei ratti, in cui 2000 mg/kg dell'estratto di radice di WS non ha indotto effetti avversi (Kalaivani et al., 2023).

È stata valutata anche la tossicità di un estratto idroalcolico e uno metanolico di radici di WS. Entrambi gli estratti sono risultati sicuri alla dose di 2000 mg/kg sia nello studio di tossicità acuta che subacuta. In particolare, nello studio sono stati valutati gli effetti avversi della somministrazione di 500, 1000 e 2000 mg/kg attraverso la misurazione di parametri ematologici, biochimici e istologici (Prabu, Panchapakesan, 2015).

Infine, uno studio del 2015 ha valutato la tossicità di WS dopo somministrazione orale a ratte gravide durante il periodo di organogenesi e istogenesi (giorni 5-19 di gestazione). Sono state somministrate dosi di 500, 1000 e 2000 mg/kg/die, senza evidenziare segni di tossicità materna o fetale e teratogenicità (Prabu, Panchapakesan, 2015).

Gli estratti di WS sembrano essere sicuri nella somministrazione con substrati di CYP3A4, CYP2C8 e CYP2D6, mentre è stato notato un effetto inibitorio moderato sul CYP2C8 (Kasarla et al., 2022). Uno studio del 2023 ha raccolto segnalazioni di interazioni farmacologiche tra farmaci antidepressivi e WS. In particolare, sono state riportate interazioni con reboxetina (dolore ai testicoli e disfunzioni eiaculatorie), sertralina (diarrea grave), escitalopram (mialgia, dolore epigastrico, nausea, vomito, pesantezza delle gambe e tosse grave) e paroxetina (mialgia generalizzata, oftalmalgie e ipertensione oculare) (Siwek et al., 2023).

4.3 *Crocus sativus* L.

4.3.1 Descrizione botanica e composizione fitochimica

Crocus sativus L., una pianta erbacea perenne e autunnale che appartiene alla famiglia delle Iridaceae. La parte aerea della pianta si origina da un bulbo-tubero arrotondato a base appiattita. Il bulbo è rivestito da tuniche reticolate, fibrose, strette e prolungate a formare guaine membranose che avvolgono gli scapi floreali (Fig. 17). Le foglie sono lineari e solcate all'interno. Nel periodo della fioritura raggiungono un'altezza simile a quella del fiore (10 cm), in seguito si allungano fino a raggiungere un'altezza di 30 cm. I fiori sono ermafroditi e si sviluppano in numero di 1 o 2 per ogni scapo. Il perigonio è di colore viola intenso con tepali oblungo-ottusi. Il fiore presenta tre stami di colore giallo acceso. L'ovario è infero, lo stilo si divide in alto in tre stigmi lunghi quanto la corolla, di colore rosso, che costituiscono la droga della pianta. (Fig. 19) Il frutto è una capsula a tre logge; la specie è triploide, sterile e viene riprodotta per via vegetativa. *Crocus sativus* L. è originario della Grecia, ma introdotto e coltivato in Cecoslovacchia, Turchia, Iran, Afghanistan, India, Marocco, Spagna ed Italia (Maugini et al., 2014, pag. 607-608). L'Iran è considerato il più grande produttore al mondo, con il 90% della produzione globale, che è stimata in 418 tonnellate all'anno (Cardone et al., 2020). La droga, comunemente denominata zafferano, è costituita dagli stigmi, uniti ad una breve porzione dello stilo, che vengono raccolti a mano. Può essere messa in commercio come tale in forma di fili intrecciati o in polvere (Maugini et al., 2014, pag. 607-608). Il peso fresco medio di ogni fiore varia da 300 a 500 mg con stimmi freschi di 25-47 mg e stimmi secchi di 6-9 mg, quindi sono necessari 160.000-110.000 fiori per ottenere 1 kg di spezia. Lo zafferano è pertanto una delle colture commerciali più costose al mondo e per questo motivo viene anche

definita “oro rosso” (Cardone et al., 2020). Lo zafferano ha un odore intenso caratteristico, gusto amaro ed aromatico ed è untuoso al tatto. La droga è di colore rosso scuro per la presenza di carotenoidi. Lo zafferano contiene oltre 150 composti volatili e non volatili. Tra questi vi sono carotenoidi, polifenoli, terpeni, le cui proporzioni possono variare a seconda del paese di origine. Percentualmente i diversi componenti possono essere quantificati come di seguito: acqua (10%), proteine e aminoacidi (12%), lipidi (5%), minerali (5%), fibre (5%), zuccheri (63%), vitamina B1(riboflavina) e B2 (tiamina). I principali composti biologicamente attivi nello zafferano sono il glicoside crocina (25-35%), l'aglicone crocetina che conferiscono allo zafferano il suo colore giallo, la picrocrocina (26%) che conferisce il sapore e il safranale (dallo 0,001% allo 0,006% della sostanza secca) che conferisce il caratteristico profumo. Crocina, crocetina, picrocrocina e safranale derivano dalla zeaxantina per scissione ossidativa. Dalla scissione si formano una molecola di dialdeide e due frammenti apocarotenoidi, denominati 3-OH- β -ciclocitrale. La trasformazione ossidativa della dialdeide in diacido (crocetina) è seguita da una diesterificazione che porta alla formazione di diverse molecole di crocine in relazione ai diversi radicali glicosidici che compongono la molecola. La funzione alcolica dei frammenti apocarotenoidi viene invece trasformata in glicosil-etero, per dare picrocrocina. Il safranale, monoterpene con funzione aldeidica, si origina in seguito per la perdita di una molecola di glucosio. Vari enzimi concorrono alle trasformazioni dei diversi composti; tuttavia, la deglicosilazione della picrocrocina che porta alla produzione del safranale, avviene principalmente durante la conservazione e l'essiccazione all'aria degli stimmi freschi (El Midaoui et al., 2022) (Fig. 18).



Fig. 17. *Crocus sativus* L.: bulbo e fiore. Foto Maddalena Micheli 2023 - Coltivazione di zafferano in località "Rio" comune di Cembra-Lisignago, Trento.

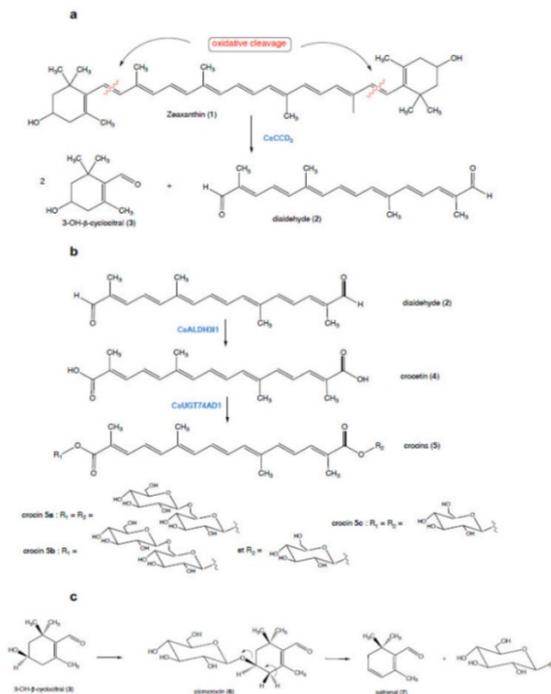


Fig. 18. Biosintesi dei principali composti (crocetina, crocine, picrocrocina, safranale) dello zafferano (a e b) a partire dalla zeaxantina, per scissione ossidativa e metabolismo enzimatico. c) Sintesi del safranale (El Midaoui et al., 2022).

4.3.2 Attività e meccanismi d'azione dello zafferano

Lo zafferano è stato ed è oggetto di numerosi studi che confermano le sue proprietà antiossidanti, antinfiammatorie, antitumorali, antinocicettive e afrodisiache. Lo zafferano previene le ulcere gastriche e la resistenza all'insulina, ha inoltre dimostrato avere un effetto positivo nelle malattie neuropsichiatriche (depressione, ansia e schizofrenia), nonché nel trattamento delle più frequenti patologie legate all'età, come malattie cardiovascolari, oculari, sarcopenia e in particolare nelle ND, con effetti positivi sia in prevenzione che in terapia. Sono però ancora in fase di discussione i meccanismi farmacocinetici e farmacodinamici attraverso i quali si esplica l'azione dei principi attivi dello zafferano. L'azione dello zafferano nell'AD risulta particolarmente interessante, perché è stata comparata con quella dei farmaci donepezil e memantina, comunemente utilizzati nel trattamento dell'AD. Gli effetti dalla droga non sono risultati diversi da quelli prodotti dalla terapia farmacologica. Due, in particolare, sono le

molecole responsabili dell'azione della droga: trans-crocetina e safranale. Dal punto di vista farmacocinetico sembra che la crocina venga infatti idrolizzata, nel tratto gastrico, a trans-crocetina e cis-crocetina, assorbite poi nel tratto intestinale. La trans-crocetina viene assorbita più rapidamente rispetto ad altri carotenoidi e dopo un'ora dalla somministrazione viene riscontrata nel plasma (picco a 4 ore circa dall'assunzione). Sembra che la trans-crocetina sia il metabolita attivo, presente nella droga, in grado di attraversare la barriera ematoencefalica e influenzare il SNC (D'Onofrio et al., 2021). In particolare, nei modelli animali, la crocina si è dimostrata efficace nella regolazione dei livelli di glutammato, nella riduzione dello stress ossidativo e dell'apoptosi, nell'inibizione dell'aggregazione di placche di A β e di proteina Tau. Uno studio del 2012 ha evidenziato il ruolo protettivo della crocina sulla neurotossicità indotta da acrilamide. Il pretrattamento delle cellule PC12 con crocina (10–50 μ M) ha ridotto notevolmente l'apoptosi e inibito la generazione di ROS in modo concentrazione-dipendente (D'Onofrio et al., 2021). Uno altro studio *in vivo*, su ratti Wistar, ha dimostrato che la molecola inibisce l'aggregazione di A β 40 e A β 42 e ne riduce l'accumulo nella corteccia cerebrale e a livello ippocampale, destabilizzando le fibrille. In particolare, dosi di 30 mg/kg somministrate per 3 settimane, sono efficaci per migliorare le capacità di apprendimento e memoria. Lo stesso studio ha dimostrato che le crocine aumentano i livelli di glutatione perossidasi, superossido dismutasi e colina acetiltransferasi e diminuiscono i livelli di ROS e acetilcolinesterasi nella corteccia cerebrale e nell'ipotalamo con effetto antiapoptotico (El Midaoui et al., 2022). Uno studio *in vitro* ha riportato invece, l'effetto inibitorio della crocina sull'aggregazione dell'isoforma 1N/4R della proteina Tau umana ricombinante, sopprimendo la formazione di filamenti, con massimo effetto inibitorio dato da 100 μ g/ml (D'Onofrio et al., 2021). Anche il safranale ha mostrato notevoli attività positive comea diminuzione dello stress ossidativo e dell'infiammazione, preservando l'attività mitocondriale e inibendo l'attività dell'acetilcolinesterasi (Baluchnejadmojarad et al., 2019). Uno studio sugli effetti benefici del safranale, sui deficit cognitivi, dopo un'iniezione intra-ippocampale di A β 40 in ratti Wistar, ha evidenziato, infatti, la diminuzione dei livelli di oligomeri di A β dopo il trattamento (El Midaoui et al., 2022). Un altro studio ha valutato l'effetto *in vivo* dello zafferano, in modelli di tossicità indotta da alluminio (che corrisponde meglio ai tratti patologici dell'AD), mostrando una potenziale risposta di inibizione della tossicità. Il gruppo trattato con alluminio e zafferano (60 mg di estratto/kg/die, per via intraperitoneale, per 6 giorni) non ha migliorato le prestazioni cognitive, ma ha ridotto significativamente i cambiamenti indotti dal metallo nell'attività delle

monoamino ossidasi, oltre ad aver ridotto i livelli di malato deidrogenasi decarbossilante e glutatione e ripristinato l'attività mitocondriale (Fig. 20).

In letteratura sono inoltre riportati i risultati di interessanti studi clinici. In uno studio clinico in doppio cieco controllato con placebo, sono stati somministrati a pazienti con AD da lieve a moderato, 30 mg/die (15 mg due volte al giorno) di zafferano o 10 mg/die (5 mg due volte al giorno) di donepezil per 16 settimane. I pazienti hanno avuto miglioramenti nelle funzioni cognitive. Lo studio è poi continuato valutando gli effetti dati dall'assunzione delle stesse dosi giornaliere, per 22 settimane. Le valutazioni finali hanno evidenziato che lo zafferano è stato efficace quanto il donepezil, senza indurre gli effetti avversi e i rischi che si sono verificati dopo il trattamento con il farmaco (D'Onofrio et al., 2021). In uno studio randomizzato, in doppio cieco, gruppi paralleli di 68 pazienti con AD da moderato a grave hanno assunto capsule di estratto di zafferano (30 mg/giorno) o memantina (20 mg/giorno) per un periodo di 12 mesi. È stato dimostrato che la somministrazione di capsule di estratto di zafferano ha ridotto significativamente il declino cognitivo rispetto alla memantina. Inoltre, non sono state rilevate differenze significative tra i gruppi in termini di frequenza di eventi avversi. Infine, è stato condotto uno studio clinico randomizzato in singolo cieco, della durata di un anno, su 35 pazienti con compromissione cognitiva lieve: 17 pazienti sono stati assegnati casualmente all'assunzione di una capsula di zafferano e 18 pazienti sono stati assegnati casualmente a una lista d'attesa per 12 mesi. I risultati hanno riportato che i pazienti trattati con zafferano avevano migliorato le prestazioni cognitive come valutato dai punteggi del *Mini-Mental State Examination* ($p = 0,015$) e dalla risonanza magnetica e elettroencefalogramma, rispetto al gruppo di controllo che invece era peggiorato (D'Onofrio et al., 2021).

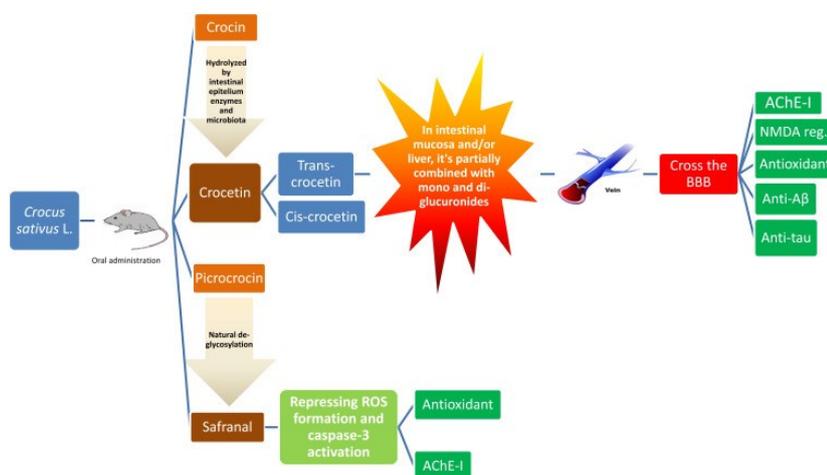


Fig. 20. Attività *in vivo* di crocetina e safranale nell'AD (D'Onofrio et al., 2021)

4.3.3 Tossicità ed interazione farmacologica dello zafferano

Nonostante in letteratura, siano numerosi gli studi sulla droga, non sono stati trovati dati sulle interazioni tra farmaci e zafferano. In uno studio *in vivo* sono stati valutati parametri biochimici, ematologici e patologici nei topi e nei ratti dopo il trattamento con crocina (somministrazione orale, fino a 3 g, o somministrazione intraperitoneale, 15–180 mg/kg). I risultati hanno rivelato che la crocina non ha causato danni a nessun organo (Alavizadeh, Hosseinzadeh, 2014). Un altro studio di tossicità acuta di un estratto, costituito da una miscela di crocine contenente *trans*-4-GG-crocina (36% p/p) come componente principale, ha mostrato la sicurezza dell'uso fino alla dose di 2000 mg/kg, senza effetti sul peso corporeo e sui parametri biochimici/ematologici dei ratti. La somministrazione orale ripetuta di questo estratto per 28 giorni alla dose di 100 mg/kg non ha causato mortalità e anomalie nei ratti Wistar (Bharate et al., 2018). Uno studio condotto su volontari umani ha dimostrato che la crocina presenta un profilo di sicurezza quando somministrata sotto forma di compresse alla dose di 20 mg al giorno, per un periodo di 30 giorni consecutivi. Tuttavia, la ricerca evidenzia la necessità di ulteriori studi che comprendano periodi di osservazione prolungati, schemi di dosaggio variabili e un numero maggiore di partecipanti, per confermare la sicurezza e gli effetti terapeutici della crocina. Sebbene la crocina abbia mostrato potenzialità terapeutiche, le prove cliniche attuali sono ancora limitate e sono necessari studi più approfonditi per valutare il suo utilizzo nell'uomo (Alavizadeh, Hosseinzadeh, 2014).

4.4 *Curcuma longa* L.

4.4.1 Descrizione botanica e composizione fitochimica

Curcuma longa L., (*Curcuma domestica* Val.) è una pianta erbacea perenne, rizomatosa, appartenente alla famiglia delle Zingiberaceae. La pianta è originaria dell'India, che ne è la maggior produttrice mondiale ed è coltivata in Sri Lanka, Indonesia, Cina e Giamaica. *Curcuma* presenta grandi foglie ellittiche, guainanti penninervie con picciolo allungato, di dimensione variabile tra 20 e 45 cm. I fiori sono gialli, riuniti in una spiga munita di brattee verdi in basso e bianco violacee nella parte alta. La corolla del fiore presenta un petalo posteriore ben sviluppato, androceo ridotto, un solo stame e staminoidi che formano un labello petaloide. Il gineceo è tricarpellare (Fig. 21). La droga è costituita dai rizomi primari ovali (*curcuma* rotonda) e secondari allungati (*curcuma* lunga) raccolti dopo la fine del periodo vegetativo, privati delle radici e come da tradizione, cotti nell'acqua ed essiccati al sole oppure essiccati direttamente e ripuliti dalle impurità. Il rizoma internamente è di colore giallo rossastro, ha odore aromatico ed è leggermente amaro (Fig. 22).



Fig. 21. *Curcuma longa* L., fiore.



Fig. 22. *Curcuma longa* L., rizoma e polvere.

La curcuma è stata storicamente utilizzata e viene ancor oggi impiegata come colorante naturale, repellente per insetti e agente antimicrobico. La medicina ayurvedica usa la curcuma per guarire ferite, per curare problemi respiratori, epatici e disturbi dermatologici. Il colore giallo della droga è dato dai curcuminoidi, il cui tenore varia a seconda delle cultivar (in genere 8%) ed in particolare, tra questi, dalla curcumina (per il 50-60% dei curcuminoidi) (Maugini et al., 2014, pag. 597-598). La droga e in particolare il suo composto polifenolico principale, la curcumina (CUR), è oggetto di studio da decenni per il suo potenziale terapeutico. La molecola possiede un'ampia gamma di attività biologiche che includono attività antiossidanti, antinfiammatorie, antivirali, antibatteriche, antimicotiche, antiproliferative, nefroprotettive, neuroprotettive, epatoprotettive e immunomodulatorie (Fig. 23). Inoltre, studi *in vitro* hanno riportato che CUR è antitumorale: modula infatti molteplici vie di segnalazione cellulare, riduce l'espressione di geni che controllano la sopravvivenza cellulare, regola l'attività dei fattori di trascrizione p53, p21 e p27 (fattori di trascrizione che inibiscono il ciclo cellulare), inducendo apoptosi.



Fig. 23. Effetti di curcumina in diverse patologie (Hassanzadeh et al., 2020).

Il rizoma di *Curcuma longa* L. contiene circa il 70% di carboidrati, in particolare amido ed arabino-galattani, il 6% di proteine, il 6% di oli essenziali come fellandrene, sabinene, cineolo, borneolo e sesquiterpeni tra cui zingiberene β e δ -curcumene, *ar*-curcumene, turmerone, *ar*-turmerone, burlone, α e γ -atlantone, il 5% di grassi, il 3% di minerali quali: potassio, calcio, fosforo, ferro e sodio, il 3-5% di curcuminoidi tra cui CUR per il 77%, demetossicurcumina per il 17%, bisdemetossicurcumina, per il 3-6% (Fig. 24A) e tracce di vitamine B1, B2, C e niacina o vitamina B3.

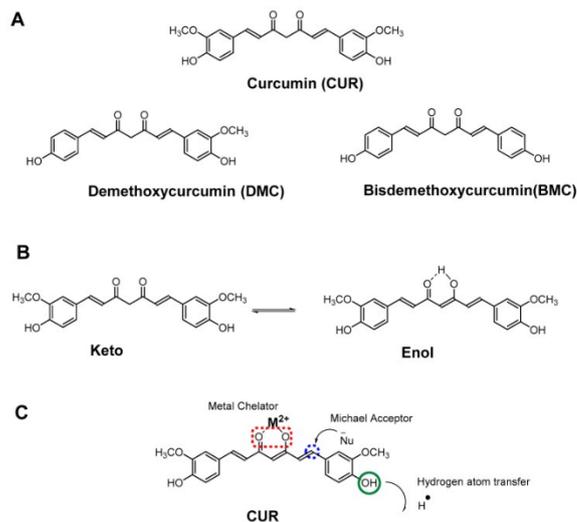


Fig. 24. (A) strutture chimiche dei curcuminoidi. (B) Tautomeri cheto-enolici di CUR. (C) Siti di reattività chimica in CUR che contribuiscono alla sua attività e biodisponibilità (Kotha, Luthria, 2019).

A CUR, in particolare, vengono ascritte le numerose proprietà della curcuma. La molecola fu isolata per la prima volta da Vogel e Pelletier nel 1815 dai rizomi di *Curcuma longa* L. CUR è un diarileptanoide la cui struttura comprende l'1,6-eptadiene-3 e il 5-dione centrali, legati con 2 anelli fenolici terminali. La presenza di atomi di idrogeno intramolecolari trasferiti alla catena β -dichetone determina le conformazioni tautomeriche cheto-enoliche tra loro in equilibrio (Fig. 24B). Sia a pH neutro che acido la forma cheto è predominante. CUR è praticamente insolubile in soluzione acquosa, a temperatura ambiente, sia a pH neutro che acido. Tuttavia, a causa della natura lipofila è solubile in solventi organici come metanolo, etanolo, acetone e dimetilsolfossido. La forma enolica è presente esclusivamente in condizioni alcaline ed è la forma più solubile in acqua. La molecola, tuttavia, si degrada rapidamente sia in condizioni neutre che alcaline. CUR, infatti, ha un'emivita di 10 minuti in tampone fosfato a pH fisiologico (Jamwal, 2018). Questa caratteristica rende CUR poco biodisponibile. Diversi studi hanno inoltre verificato che CUR è sensibile alla luce sia in forma solida che in soluzione (Kotha, Luthria, 2019). I dati di laboratorio e gli studi clinici hanno dimostrato che la biodisponibilità e l'attività biologica della molecola sono influenzate dalle caratteristiche dei tipi di complessi molecolari che essa forma. CUR ha infatti un'elevata capacità di formare complessi molecolari con diverse proteine (proteine del siero del latte, albumina sierica bovina, β -lattoglobulina), carboidrati, lipidi e composti naturali come ad esempio resveratrolo, quercetina e piperina (Racz et al., 2022). Quest'ultima in particolare, migliora notevolmente la biodisponibilità di CUR. Infatti, la combinazione CUR e piperina (noto inibitore della glucuronidazione epatica e intestinale) ha aumentato la biodisponibilità di CUR nei ratti e in un gruppo di volontari umani sani. Quando CUR è stata somministrata da sola, alla dose di 2 g/kg ai ratti, sono state raggiunte in 4 ore, moderate concentrazioni sieriche. La co-somministrazione con piperina (20 mg/kg) ha aumentato la concentrazione sierica di CUR, nei ratti, per un periodo di 1-2 ore e la biodisponibilità rilevata è stata del 154%. Negli esseri umani dopo la somministrazione di una dose di 2 g di CUR, i livelli sierici erano o non rilevabili o molto bassi. La somministrazione concomitante di piperina (20 mg) ha prodotto concentrazioni molto più elevate con un aumento della biodisponibilità del 2000%, senza mostrare effetti avversi. Tuttavia, l'aumento dei livelli sierici è stato molto breve (Shoba et al., 1998; Fig. 25).

In letteratura, inoltre, vengono riportati vari tipi di formulazioni di CUR, come liposomi, nanoparticelle a base lipidica, nanoparticelle polimeriche, micelle, microemulsioni, nanoparticelle a base metallica che aumentano la biodisponibilità della molecola. In particolare, una formulazione fitosomiale brevettata di CUR (Meriva®), preparata aggiungendo fosfolipidi all'estratto idroalcolico di rizomi di curcuma, ha mostrato una biodisponibilità e profili farmacocinetici migliorati rispetto a CUR non complessata. Questa struttura protegge CUR dalla degradazione e ne aumenta l'assorbimento cellulare attraverso le membrane cellulari lipofile mediante un meccanismo di diffusione facilitata (Hassanzadeh et al., 2020). Sono stati condotti diversi studi incentrati sull'efficacia di CUR fitosomiale nel trattamento di condizioni quali cancro, malattie infiammatorie e diabete. I dati suggeriscono che la formulazione di CUR fitosomiale ha eccellenti proprietà come sistema di somministrazione (Racz et al., 2022). In un'altra preparazione, CUR viene inclusa in una formulazione basata su particelle lipidiche solide (LongVida®). Questo complesso impedisce a CUR di degradarsi ed essere rapidamente escreta, con miglioramento della concentrazione plasmatica sistemica e dell'emivita. Alcune formulazioni micronizzate di CUR ne incrementano la biodisponibilità rispetto a CUR pura. La molecola micronizzata, che presenta un diametro inferiore, determina un aumento del grado di dissoluzione e della biodisponibilità (Hassanzadeh et al., 2020).

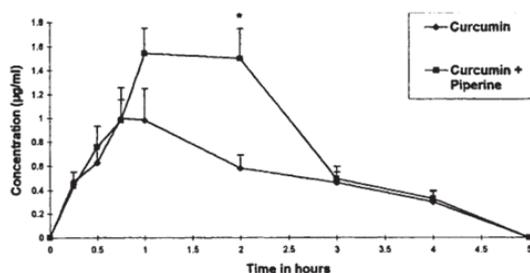


Fig. 1 Serum concentrations $\mu\text{g/ml}$ (mean \pm SEM) of curcumin 20 g/kg oral alone and with piperine 20 mg/kg in rats (n = 6/group/time cut). Significance as compared to curcumin alone; *P < 0.02.

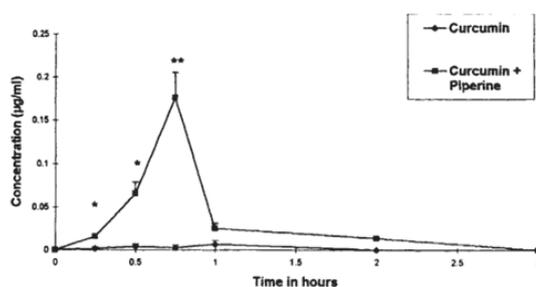


Fig. 2 Serum concentration $\mu\text{g/ml}$ (mean \pm SEM) of curcumin 2 g oral alone and with piperine 20 mg in humans (n = 8). Significance as compared to curcumin alone; * P < 0.01; ** P < 0.001.

Fig. 25. Biodisponibilità di CUR dopo somministrazione con piperina in modello animale (in alto) e in volontari sani (in basso) (Shoba et al., 1998).

4.4.2 Attività e meccanismi d'azione di *Curcuma longa* L.

Dai numerosi studi condotti *in vitro* e *in vivo*, CUR ha dimostrato di essere efficace nel trattamento di numerose patologie, tra cui le ND. CUR, infatti, influenza più bersagli biologici, tra i quali sono inclusi fattori di trascrizione, fattori di crescita, mediatori infiammatori, citochine, proteine del ciclo cellulare, enzimi, protein-chinasi, proteine apoptotiche (Fig. 26).

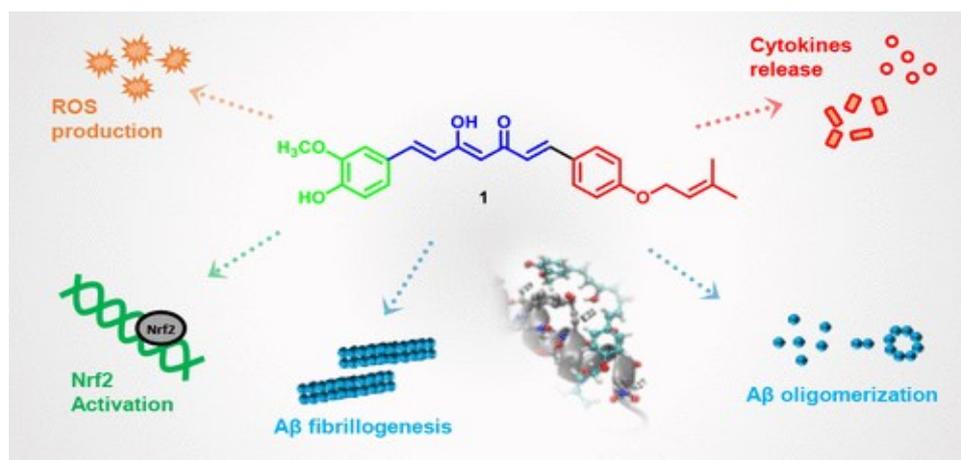


Fig. 26. Bersagli di curcumina nella malattia di Alzheimer (Bisceglia et al., 2019).

CUR agisce nel processo neuroinfiammatorio, inibendo la produzione e l'aggregazione di A β , contrastando lo stress ossidativo e influenzando sulla formazione di NFT. Diversi studi *in vitro* e *in vivo* su modelli animali, hanno dimostrato che CUR attenua la risposta infiammatoria agendo sui recettori Toll-like 4 (TLR4), che appartiene alla famiglia dei recettori Toll-like, deputati al riconoscimento di patogeni esogeni e di stimoli dannosi endogeni, che inducono risposte immunitarie innate e adattative. CUR può migliorare la neuroinfiammazione, riducendo, *in vitro*, l'attivazione delle cellule microgliali e la tossicità neuronale indotta da A β attraverso un meccanismo che coinvolge la via di segnalazione intracellulare TLR4/MyD88/NF- κ B (Zusso et al., 2017; De Lorenzi et al., 2022). Ancora, nello studio, è stato dimostrato che l'attività antinfiammatoria di CUR e di alcuni suoi derivati, aventi un gruppo 1,3-dichetonico α , β -insaturo, è associata alla capacità di coordinare Mg^{2+} (Fig. 24C), influenzando il corretto assemblaggio del complesso ternario TLR4–MD-2–LPS (Zusso et al., 2017).

Gli studi condotti, al fine di comprendere la base molecolare degli effetti anti-neurodegenerativi di CUR, hanno evidenziato inoltre che la funzione diarilepta-1,4,6-trien-3-one, contenente un sistema carbonilico insaturo α , β ricco di elettroni, offre l'opportunità di modulare diversi target caratteristici delle ND e dell'AD. È stato infatti ipotizzato che la funzione diarileptanoide reagisca, attraverso l'addizione di Michael (Fig. 24C) con residui di cisteina. In particolare, recenti studi di *docking* molecolare hanno dimostrato che il legame di CUR alle fibrille di A β 42 è regolato da un corretto equilibrio tra interazioni polari e idrofobiche, principalmente correlate alla capacità degli anelli arilici laterali di CUR, di stabilire sia legami H che interazioni π - π . Il riarrangiamento complanare di CUR permette un inserimento della molecola tra le fibrille A β , ostacolando così l'assemblaggio dei foglietti β e inibendo la fibrillazione (Bisceglia et al., 2019). La curcuma ha un profilo di sicurezza elevato e una storia di utilizzo millenaria, è infatti usata da quasi 4000 anni, come spezia culinaria e nella medicina tradizionale ayurvedica (Nirvanashetty et al., 2022). La FDA ha riconosciuto la sicurezza di CUR, indicando come quantità massime giornaliere, dosi di 10 g (Hassanzadeh et al., 2020). I dati preclinici ottenuti da numerosi studi su modelli animali e da studi clinici di fase I, condotti su volontari sani, hanno confermato la sicurezza di CUR, quando assunta per via orale, anche a concentrazioni molto alte; non è stata segnalata alcuna tossicità in seguito al trattamento con dosi fino a 8.000 mg/giorno, formulate come compresse di CUR, pura al 99,3% (500 mg di CUR in ogni compressa) (Lao et al., 2006). È stata valutata anche la tolleranza ad un estratto di CUR, demetossicurcumina e bisdemetossicurcumina, standardizzato e concentrato al 95% in 24 volontari sani. Lo studio intendeva valutare gli effetti tossici ad alti dosaggi di CUR per un possibile uso chemiopreventivo. I soggetti hanno assunto dosi da 500 mg a 12.000 mg in forma di capsule. Si sono verificati sette eventi avversi e tutti erano di grado 1, classificati quindi come leggeri. Altri due studi, che valutavano l'efficacia di CUR per il trattamento dell'artrite o dell'infiammazione post-operatoria, hanno rilevato che dosi da 1200 mg a 2100 mg di CUR al giorno, per 2-6 settimane, erano prive di effetti avversi.

4.4.3 Tossicità ed interazione farmacologica della polvere di *Curcuma longa* L.

Sono stati tuttavia riportati effetti avversi limitati a livello gastrointestinale. In pazienti con cancro al pancreas è stato segnalato dolore addominale seguito dal consumo di CUR a una dose di 8000 mg/giorno. Gli effetti collaterali di tipo gastrointestinale potrebbero essere correlati all'inibizione della ciclossigenasi, indotta da CUR, e alla successiva inibizione della sintesi delle prostaglandine e/o alla sua influenza sulla composizione del microbiota intestinale (Lao et al., 2006). Oltre agli effetti collaterali gastrointestinali, sono stati segnalati un leggero mal di testa o nausea in alcuni pazienti affetti da colangite sclerosante primaria, che assumevano CUR ad una dose fino a 1400 mg/giorno.

La somministrazione endovenosa di CUR in formulazione liposomiale, in soggetti sani, ha dimostrato di essere sicura fino a una dose di 120 mg/m², mentre in pazienti con cancro metastatico, la quantità di 300 mg/m² è stata segnalata come il dosaggio massimo tollerato. Inoltre, sono stati segnalati un caso di emolisi e un decesso, associati a preparazioni di CUR per via endovenosa, indicando che, per quanto riguarda la sicurezza della somministrazione endovenosa della molecola, sono necessari ulteriori studi. La monografia dell'Unione europea dà indicazioni sulle dosi da assumere⁴ e sull'uso di *Curcuma longa* L. come droga in grado di alleviare problemi digestivi, come la sensazione di pesantezza, la digestione lenta e la flatulenza. L'efficacia dei prodotti a base di *Curcuma longa* L. è plausibile, secondo l'uso tradizionale, confermato dal suo utilizzo, in modo sicuro, da almeno 30 anni, compresi almeno 15 anni all'interno dell'UE. Tra gli effetti indesiderati anche la monografia elenca lievi sintomi di secchezza delle fauci, flatulenza e irritazione gastrica. Il documento riporta che non è consigliato assumere preparati a base di *Curcuma longa* L. in caso di ostruzione del dotto biliare, colangite, malattie epatiche, calcoli biliari ed altre patologie a carico del fegato (HMPC 2018).

Dal 10 aprile 2002 al 15 luglio 2019, sono state registrate, dal sistema di fitovigilanza italiano, 76 segnalazioni spontanee di sospette reazioni avverse a prodotti, principalmente integratori

⁴ La monografia europea precisa indicazioni in merito ai dosaggi di assunzione, ritenuti sicuri: come sostanza vegetale in polvere la posologia è di 0,5-1g 2-3 volte al giorno, in tisana 0,5-1,0 g come infusione 2-3 volte al giorno, in tintura con diluizione 1:10 o 1:5, la posologia è rispettivamente di 0,5-1 ml 3 volte al giorno e 10 ml una volta al giorno o 5 ml 3 volte al giorno, in estratto secco (DER 13-25:1): 90-162 mg, diviso in 2-5 dosi al giorno, estratto secco (DER 5,5-6,5:1): 100-200 mg, 2 volte al giorno.

alimentari, contenenti solo *Curcuma longa* L. o polvere di curcuma in combinazione con altri ingredienti. Trentanove di questi rapporti (51%) indicavano sintomi attribuibili al danno epatico. In quasi tutti i casi, la diagnosi era di epatite acuta, per lo più con colestasi. In particolare, tra il 10 novembre 2018 e il 17 giugno 2019 vi è stato un cluster di 28 segnalazioni spontanee di epatite acuta, per lo più con colestasi, associate al consumo di prodotti a base di *Curcuma longa* L. I prodotti sospetti sono stati raccolti e analizzati per verificare l'eventuale presenza di farmaci, metalli pesanti, aflatossine, pesticidi, coloranti sintetici e alcaloidi pirrolizidinici. In tutti i casi, tranne uno, la valutazione della causalità è stata almeno possibile. La maggior parte dei prodotti analizzati dal sistema di fitovigilanza italiano riportavano in etichetta un contenuto quantitativo superiore alla dose giornaliera ammissibile, fattore che non ha potuto escludere la correlazione con l'insorgenza di effetti avversi. La quantità di curcuminoidi o CUR assunta da 18 pazienti era compresa tra 40 e 1425 mg/die. Nel 67% dei casi, l'assunzione giornaliera di CUR è stata da 1,6 a 7 volte superiore al valore di riferimento giornaliero fissato dall'EFSA, corrispondente a 3 mg/kg/giorno (Menniti-Ippolito et al., 2020). Sulla base dei risultati di tutte le attività svolte dal gruppo multidisciplinare, è stato intrapreso un intervento normativo e in data 26 luglio 2019 il Ministero della Salute italiano, ha emesso un comunicato in cui si afferma che “a seguito delle indagini condotte sui casi di epatite colestatica segnalati dopo l'assunzione di integratori alimentari contenenti estratti e preparati di *Curcuma longa*, e, in un caso, dopo il consumo di curcuma in polvere, il gruppo interdisciplinare di esperti appositamente costituito e la sezione dietetica e nutrizione del comitato tecnico per la nutrizione e la sanità animale hanno concluso che, ad oggi, le cause sono verosimilmente da ricondurre a particolari condizioni di suscettibilità individuale, di alterazioni preesistenti, anche latenti, della funzione epato-biliare o anche alla concomitante assunzione di farmaci. Pertanto, alla luce di tali conclusioni, si è deciso di adottare una specifica avvertenza per l'etichettatura degli integratori in questione, volta a sconsigliarne l'uso a soggetti con alterazioni della funzione epato-biliare o con calcolosi delle vie biliari e, in caso di concomitante assunzione di farmaci, ad invitare comunque a sentire il parere del medico. Per la curcuma in polvere, considerando la storia e le dimensioni del consumo come alimento, non sono emersi elementi per particolari raccomandazioni” (https://www.salute.gov.it/portale/news/p3_2_1_1_1.jsp?id=3842&lingua=italiano&menu=notizie&p=dalministero).

L'EFSA ha stabilito che la dose giornaliera ammissibile di CUR di 3 mg/kg è sicura, considerando la bassa biodisponibilità della molecola. Tuttavia, queste indicazioni non sono riferite ai casi in cui CUR viene somministrata in associazione a sostanze che ne aumentano la biodisponibilità, come la piperina. Quest'ultima, in particolare, potenzia l'effetto colecistico di CUR, che potrebbe essere un fattore di rischio per l'epatotossicità (Hassanzadeh et al., 2020). Alcuni studi indicano, inoltre, che CUR, così come la piperina, modulano l'attività di diversi enzimi coinvolti nel metabolismo di alcuni farmaci. CUR può inibire l'attività degli enzimi citocromo P450, glutatione-S-transferasi e UDP-glucuronosiltransferasi. L'inibizione di questi enzimi può portare ad un aumento indesiderabile nel sangue delle concentrazioni di alcuni farmaci con conseguente tossicità. La piperina inibisce sia la P-glicoproteina che l'enzima CYP3A4: queste proteine, espresse negli enterociti ed epatociti, contribuiscono in misura significativa all'eliminazione di molti farmaci mediante l'effetto di primo passaggio. Pertanto, l'effetto metabolico di CUR, in particolare se associato con la piperina, potrebbe essere anche un fattore di rischio per numerose interazioni farmacologiche, soprattutto nei pazienti sottoposti a politerapia (Menniti-Ippolito et al., 2020).

CAPITOLO QUINTO

Piante ad azione multifattoriale nella prevenzione della malattia di Alzheimer

5.1 *Arthrospira platensis* (Nordstedt) Gomont

5.1.1 Descrizione botanica e cenni fitochimici

Arthrospira platensis (Nordstedt) Gomont, o *Spirulina platensis*, è una microalga blu-verde, classificata tassonomicamente come appartenente al regno dei Bacteria, phylum dei Cyanobacteria, ordine degli Oscillatoriales, famiglia delle Phormidiaceae e genere di *Arthrospira* (ElFar et al., 2022) (Fig. 27).

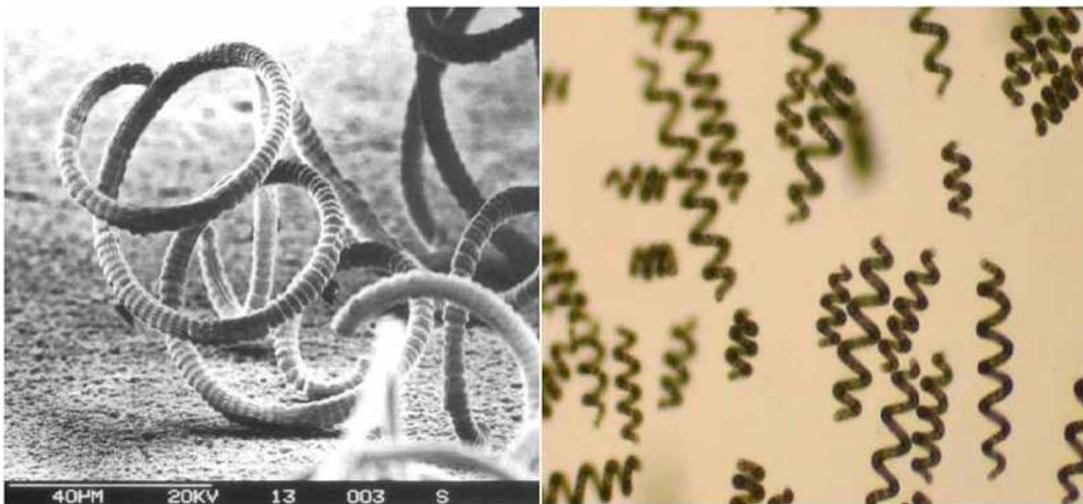


Fig. 27. *Arthrospira platensis* (Nordstedt) Gomont (ElFar et al., 2022).

I cianobatteri sono organismi procarioti, fotoautotrofi, appartenenti al regno dei Batteri, presenti sia in acqua dolce che nei sistemi marini. Queste microalghe sono in grado di fissare l'azoto atmosferico e secondo la teoria endosimbiontica, hanno dato origine ai plastidi. I cianobatteri possono vivere isolati o più frequentemente in colonie, generalmente filamentose, nelle quali le singole cellule, del diametro medio di 5 μm , sono collegate tra loro attraverso le pareti, formando un *continuum*. La parete delle cellule presenta una struttura complessa, generalmente pluristratificata formata da acetil-glucosammina, acido muramico, acido diaminopimelico e alanina. I pigmenti fotosintetici sono localizzati nei tilacoidi. Sulle membrane tilacoidali vi sono

clorofilla-a, β -carotene e xantofille, tra le quali la mixoxantofilla caratteristica dei cianobatteri. Sulla superficie dei tilacoidi vi sono piccoli granuli detti ficobilisomi che contengono due pigmenti, caratterizzati da quattro anelli pirrolici a catena aperta: la C-ficocianina, generalmente più abbondante, e la C-ficoeritrina. Il materiale di riserva di tali organismi viene chiamato amido delle Cianofite ed è costituito da piccoli granuli, disposti tra i tilacoidi e visibili solo al microscopio elettronico. Altre riserve, sono i granuli di volutina e i granuli di cianoficina (polimeri dell'acido β -idrossibutirrico). Il DNA dei cianobatteri manca di istoni; si presenta chiuso ad anello ed è localizzato al centro della cellula dove possono esserci anche dei plasmidi (Maugini et al., 2014, pag. 293-297). *Arthrospira platensis* (Nordstedt) Gomont è un cianobatterio filamentoso ed è riconoscibile dalla principale caratteristica morfologica del genere: la disposizione dei tricomi cilindrici multicellulari a elica sinistra, aperta per tutta la lunghezza. Alcuni studi hanno osservato che l'ultrastruttura può cambiare dalla forma elicoidale alla deformazione rettilinea; l'innesco e il meccanismo per questo cambio di morfologia sono ancora sconosciuti, ma è stato anche proposto che la morfologia cellulare sia influenzata da condizioni ambientali come disponibilità di nutrienti, luce, temperatura e salinità. L'alga viene comunemente denominata spirulina. Questa denominazione è il nome commerciale dei Cianobatteri appartenenti al genere *Arthrospira* con il quale viene anche indicata *Arthrospira maxima*. Da questi organismi si ricavano alimenti e integratori alimentari. *Arthrospira* e *Spirulina* sono però due generi diversi, molto simili dal punto di vista morfologico, ma filogeneticamente distanti tra loro. L'uso scorretto del nome commerciale spirulina è sempre stato fonte di confusione e causa di frequenti incomprensioni, anche in ambito scientifico. Ciononostante, questo nome è ancora comunemente utilizzato. *Arthrospira* si differenzia da *Spirulina* per la presenza di corpi cilindrici e acido gamma-linolenico, che sono presenti solo in specie *Arthrospira*. In particolare, la presenza di quest'ultimo potrebbe essere un prezioso indicatore per l'identificazione dei prodotti a base di *Arthrospira*. Il consumo di spirulina come alimento è attualmente poco diffuso e prevalentemente limitato ad alcuni gruppi di popolazioni africane (laghi salmastri di Ciad, Kenya ed Etiopia) e messicane (lago Texcoco). Attualmente in Europa, l'alga viene prevalentemente utilizzata come integratore alimentare. L'alto valore nutritivo di *Arthrospira* è in parte dovuto al fatto che le pareti mucoproteiche sono facilmente digeribili (Maugini et al., 2014, pag. 297). La spirulina ha un alto contenuto proteico tra cui leucina, isoleucina e valina, con piccole quantità di metionina, cistina e lisina (60-70% del peso secco) La spirulina inoltre contiene ergotioneina, vitamine, minerali (tra cui ferro, calcio,

magnesio, zinco, manganese, fosforo e potassio), acidi grassi (acido γ -linolenico con il 36% dei PUFA totali, acido linoleico 36% del totale, acido palmitico, acido oleico), polisaccaridi, glicolipidi, solfolipidi, enzimi (superossido dismutasi) e vari pigmenti (ElFar et al., 2022). La maggior parte dei benefici per la salute, dati dalla microalga, sono legati proprio al contenuto dei pigmenti bioattivi, tra i quali carotenoidi (4000 mg/kg), con predominanza di β -carotene (Trotta et al., 2022), clorofille, feofitine e ficobiliproteine (Dalla Costa et al., 2022). I carotenoidi ampiamente utilizzati come coloranti naturali, sono composti noti, in particolare, dal punto di vista nutrizionale, perché precursori della vitamina A o retinolo. Tra questi, in particolare, il β -carotene (Fig.28) è il principale precursore della vitamina A. Dal punto di vista fitochimico, i carotenoidi, sono isoprenoidi biosintetizzati da tutti gli organismi fotosintetici, da alcuni procarioti e funghi non fotosintetici, ed è stato recentemente dimostrato che alcuni animali (ad esempio, gli afidi) producono carotenoidi *de novo*. Dei 600 carotenoidi di origine naturale che sono stati caratterizzati però, meno del 10% funge da precursore della vitamina A. Tuttavia, anche le molecole che non possono essere convertite in vitamina A mostrano azioni biologiche che promuovono la salute. Inoltre, qualsiasi composto derivato dalla scissione dei carotenoidi viene definito apocarotenoide⁵ e contiene gruppi metilici centrali C (20) e C (20'). Gli apocarotenoidi derivanti dalla scissione ossidativa dei carotenoidi dietetici stanno attirando crescente attenzione per la loro capacità di promuovere la salute attraverso la modulazione dei percorsi di segnalazione cellulare (Meléndez-Martínez 2019). Le ficobiliproteine costituiscono il 20% del contenuto proteico totale di spirulina ed includono C-ficocianina (pigmento di colore blu), alloficocianina (di colore azzurro) e ficoeritrina (pigmento rosso) (Fig. 29). La C-ficocianina in particolare, è formata dalle subunità polipeptidiche α e β e dalla ficocianobilina (4,7% della massa molare della C-ficocianina), un cromoforo tetrapirrolico lineare legato covalentemente alla C-ficocianina che induce la raccolta della luce nelle alghe verdi-azzurre come in spirulina (Trotta et al., 2022). Le ficobiliproteine hanno dimostrato di possedere attività farmacologiche, tra cui attività antiossidanti, antibatteriche, anticancro, antinfiammatorie e immunomodulatrici. La C-ficocianina è anche considerata una nuova proteina ipocolesterolemizzante. La spirulina, inoltre, contiene alti livelli di composti fenolici, che contribuiscono all'attività antiossidante di carotenoidi e ficobiliproteine. La microalga è ricca

⁵ L'Unione Internazionale di Chimica Pura e Applicata o IUPAC definisce gli apocarotenoidi come "carotenoidi in cui lo scheletro di carbonio è stato accorciato dalla rimozione di frammenti da un'estremità o da entrambe le estremità". IUPAC, Chimica delle applicazioni pure, 1983.

di clorofille dalla cui degradazione, attraverso il processo di feofitizzazione, che avviene durante l'essiccazione, si formano le feofitine. Alle clorofille e alle feofitine è sempre stato attribuito un ruolo fondamentale nei processi fisiologici degli organismi fotosintetici. Alcuni studi, tuttavia, hanno indagato le loro potenziali attività salutistiche e farmacologiche ed è stato dimostrato che questi composti possiedono attività antiossidante, antimutagena e anticancerogena (Dalla Costa et al., 2022). La spirulina è inoltre una fonte alternativa, sicura ed accessibile di ergotioneina, un derivato della tiourea, costituita da un atomo di zolfo legato da un doppio legame all'anello imidazolico dell'istidina. L'ergotioneina è un antiossidante molto stabile, che gli esseri umani e altri vertebrati non possono sintetizzare da soli, ma deve essere assorbito dal cibo in cui è distribuito in modo molto irregolare. I cianobatteri possono produrre alti livelli di ergotioneina e la spirulina ne è una fonte nuova, sicura, accessibile. Alcuni studi ritengono che questa molecola possa essere un fattore importante, se non il fattore critico, per gli effetti antiossidanti di spirulina (Pfeiffer et al., 2011).

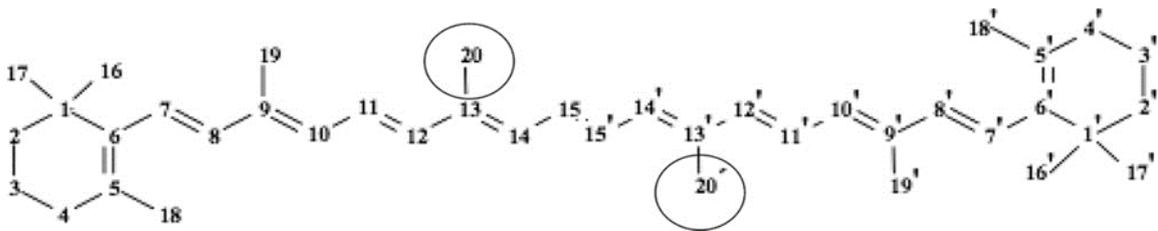


Fig. 28. Struttura chimica del β -carotene. In evidenza i due gruppi metilici centrali (Meléndez-Martínez 2019).

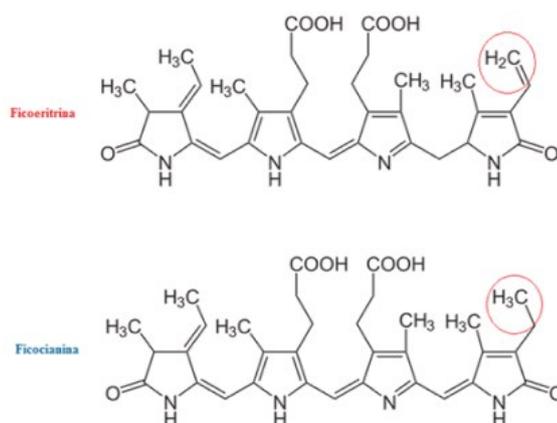


Fig. 29. Formula di struttura di ficoeritrina e ficocianina.

5.1.2 Attività e meccanismi d'azione di *Arthrospira platensis* (Nordstedt) Gomont

Numerosi sono gli studi riportati in letteratura che confermano l'attività benefica di spirulina. Di seguito vengono riportati alcuni lavori di ricerca che indicano spirulina come valido strumento di prevenzione dell'AD, con azione su più cause e fattori scatenanti della patologia. Grazie alla sua composizione, spirulina infatti esercita attività anti-neuroinfiammatorie, con azione diretta anche sulla microglia, modula la funzionalità mitocondriale, inibisce la formazione di placche A β , l'iperfosforilazione della proteina Tau, chela il ferro e interviene positivamente nell'omeostasi del glucosio. I carotenoidi presenti nella microalga, inibiscono, a livello cerebrale, la perossidazione lipidica, riducono il danno ossidativo, eliminando i ROS, e contrastano la neuroinfiammazione (Dalla Costa et al., 2022). In un recente studio *in vitro* sono stati esaminati gli effetti del pre- e post-trattamento di un estratto acetico di spirulina, sull'attivazione microgliale indotta da LPS. Il pre- e il post-trattamento precoce con concentrazioni non citotossiche di estratto ha inibito il rilascio di IL-1 β e TNF- α e la sovraespressione di specie reattive dell'azoto, indotta da LPS, ha bloccato la traslocazione nucleare indotta da LPS della subunità p65 di NF- κ B, ha aumentato l'espressione genica e proteica di Nrf2, nonché l'espressione genica dell'enzima eme ossigenasi-1. Lo studio risulta di particolare interesse poiché ha evidenziato che l'estratto di spirulina, non solo ha avuto un effetto anti-neuroinfiammatorio, ma è stato in grado di ridurre il rilascio di citochine proinfiammatorie e l'espressione di marcatori infiammatori quando somministrato alle cellule, precocemente dopo l'insulto infiammatorio. L'effetto anti-neuroinfiammatorio, infatti, è stato rilevato nelle fasi iniziali della neuroinfiammazione, quando le citochine proinfiammatorie venivano rilasciate nel mezzo, ma la loro quantità non raggiungeva i livelli massimi. Inoltre, l'effetto inibitorio è stato osservato solo dopo il trattamento della microglia con un'alta concentrazione di estratto (100 μ g/ml) ed è progressivamente diminuito nel tempo, in seguito all'aumento di citochine proinfiammatorie. Questi risultati indicano chiaramente l'esistenza di un legame tra la tempistica dell'intervento e l'entità dell'effetto di spirulina, sull'attivazione della microglia, suggerendo che la microalga, oltre a essere una valida opzione preventiva, potrebbe trovare potenziale applicazione nella cura, in fase iniziale, delle malattie infiammatorie del SNC (Piovan et al., 2021). Altri studi *in vitro* e *in vivo* hanno confermato che la spirulina modula l'attivazione di citochine chiave, tra cui IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α e IFN- γ . Le proprietà antiossidanti e di rimozione dei radicali liberi della spirulina possono essere attribuite

al suo contenuto di ficocianina. Quando somministrata *in vivo*, per via orale o parenterale, la C-fiocianina viene degradata per proteolisi in ficocianobilina o peptidi legati alla ficocianobilina, che probabilmente sono responsabili delle azioni farmacologiche riportate per questa biliproteina. La ficocianobilina sarebbe in grado di inibire la NADPH ossidasi; la struttura della ficocianobilina è infatti simile a quella della bilirubina, che è un inibitore altamente specifico della NADPH ossidasi. Oltre alla ficocianina, l'alloficocianina ha una forte attività antiossidante, dimostrandosi più efficace della ficocianina nell'eliminare i radicali perossidi, mentre la ficocianina è più efficace nell'eliminare i radicali idrossili.

In uno studio *in vitro* è stata studiata l'azione dell'estratto proteico di spirulina e, in particolare, della ficocianina, sullo stress ossidativo causato dal ferro nelle cellule Sh-SY5Y. Sia l'estratto proteico di spirulina che la ficocianina hanno dimostrato di preservare l'attività degli enzimi antiossidanti grazie all'attività *scavenger* dei radicali liberi e alla capacità di chelare il ferro, aumentando la vitalità cellulare dei neuroni (Trotta et al., 2022). Analogamente uno studio giapponese condotto *in vitro*, su cellule PC12, ha dimostrato che la spirulina protegge le cellule dalla tossicità indotta dal ferro (Wu et al., 2016). In un altro studio del 2021, condotto *in vitro*, un estratto di spirulina, arricchito con selenio, ha inibito la neurotossicità indotta da deprivazione di ossigeno e glucosio, e l'apoptosi dei neuroni ippocampali primari. È stato dimostrato che il composto sopprime il danno al DNA arrestando l'accumulo di ROS nei neuroni e migliorando la disfunzione mitocondriale, tramite il bilanciamento dell'espressione delle proteine apoptotiche Bcl-2 (Trotta et al., 2022). L'assunzione orale di C-fiocianina ha ridotto, inoltre, l'attivazione della microglia e degli astrociti causata dall'acido kainico nei ratti. Gli autori hanno evidenziato che la ficobilicianina, quando rilasciata da C-fiocianina *in vivo*, può attraversare la barriera ematoencefalica ed esercitare effetti antiossidanti nell'ippocampo, sopprimendo la produzione di ROS, prodotti dall'attivazione della microglia. La possibilità che i componenti attivi di spirulina siano in grado di attraversare la barriera ematoencefalica e svolgere la loro funzione nel cervello è supportata da prove sperimentali *in vivo* (Trotta et al., 2022).

Come già evidenziato in precedenza, spirulina è anche una fonte di ergotioneina, molecola dalle notevoli proprietà antiossidanti, che non spiega la sua azione come difesa primaria contro lo stress ossidativo, ma agisce come un tampone antiossidante secondario, ogni volta che l'omeostasi redox è perturbata e/o quando gli antiossidanti primari sono esauriti dall'esposizione cronica allo stress ossidativo. Alcuni studi *in vitro* ed *in vivo* hanno dimostrato che la molecola

ha la capacità di accumularsi nel cervello, anche se, sono necessari ulteriori approfondimenti per stabilire la sua esatta distribuzione, la posizione cellulare nel cervello umano, nel sistema nervoso periferico e nel liquido cerebrospinale. L'interesse per la molecola e la sua specifica attività è però in aumento. Infatti, recenti studi suggeriscono che l'ergotioneina possa proteggere il cervello dai danni ossidativi, dalla neuroinfiammazione intervenendo direttamente contro la disfunzione mitocondriale, l'accumulo di A β e promuovere persino la neurogenesi.

La disregolazione del glucosio, dovuta in parte al danno ossidativo degli enzimi chiave e alla disfunzione dei mitocondri, è una componente importante dell'AD. L'ergotioneina ha ripristinato la vitalità cellulare dopo citotossicità indotta da iperglicemia, nelle cellule di feocromocitoma di ratto, riducendo la formazione di ROS, carbonili proteici e prodotti finali della glicazione avanzata e inibendo l'attivazione di NF- κ B. L'attività è stata anche osservata in seguito alla somministrazione di ergotioneina a cellule endoteliali del cervello umano, in condizioni iperglicemiche. La somministrazione di d-galattosio nei topi ha innescato deficit di apprendimento e memoria, contrastata efficacemente dalla somministrazione di ergotioneina, che ha anche ridotto l'accumulo di A β nell'ippocampo e la perossidazione lipidica nel cervello. I topi a cui è stata somministrata ergotioneina per 14 giorni, a dosi superiori a 20 mg/kg, hanno dimostrato un aumento dose-dipendente di sostanza nell'ippocampo, con un miglioramento della memoria e della capacità di apprendimento e un aumento delle spine neuronali nel giro dentato. Nei neuroni ippocampali primari coltivati, la somministrazione di ergotioneina ha aumentato l'espressione di β III-tubulina, sinapsina I e neurotrofine 3 e 5, suggerendo che la molecola promuove la maturazione dei neuroni ippocampali, aumentando la formazione di neuriti e sinapsi. Inoltre, in un modello murino di depressione, la somministrazione orale di ergotioneina ha mostrato effetti simili agli antidepressivi, migliorando l'attività della milza ed incrementando il peso corporeo. Allo stesso modo, in un modello di ratto con disturbo depressivo maggiore, con anomalie del sonno e comportamenti depressivi di evitamento sociale, la somministrazione orale di ergotioneina, per 7 giorni ha migliorato questi effetti. Gli autori hanno attribuito gli effetti benefici dell'ergotioneina sul sonno e sulla depressione a una possibile riduzione dell'infiammazione attorno al tronco encefalico e al sistema nervoso periferico associato alla gestione dello stress ossidativo intracerebrale e al possibile coinvolgimento dell'ergotioneina nella neurogenesi (Cheah, Halliwell, 2021).

L'assunzione orale di spirulina inoltre rimanda inevitabilmente l'attenzione alla sua composizione fitochimica ed alla conversione dei carotenoidi in vitamina A ed analoghi. Uno

studio del 2011 ha valutato l'attività di carotenoidi e retinoidi in relazione all'insorgenza dell'AD. È stato evidenziato che esiste un potenziale collegamento tra la disponibilità di acido retinoico nel cervello e l'AD ad esordio tardivo. L'attività dell'enzima retinaldeide deidrogenasi, che produce acido retinoico, è aumentata nell'ippocampo e nella corteccia parietale dei cervelli affetti da AD. Sebbene la distribuzione dell'acido retinoico nel SNC umano maturo non sia completamente compresa, è stata evidenziata nel cervello dei malati di AD una ridotta concentrazione di acido retinoico ed un'alterazione del suo trasporto. Grazie a numerosi studi *in vitro*, è stato inoltre evidenziato che il retinolo svolge un ruolo nella formazione delle placche A β . Il retinolo è coinvolto nel differenziamento delle cellule del neuroblastoma, che regolano gli enzimi presenilina 1 e 2, noti per il loro ruolo nella generazione di A β dalla proteina precursore di A β .

Un interessante studio *in vivo* ha valutato l'attività di spirulina sul microbiota intestinale. La disbiosi intestinale sembra svolgere un ruolo nella progressione dell'AD, determinando infiammazione sistemica e neuroinfiammazione. Gli autori hanno osservato che la microalga modifica la composizione del microbiota intestinale nei topi, riducendo il *Bifidobacterium animalis* e aumentando il *Clostridium irregulare*. La spirulina, pertanto, può essere utile anche per migliorare la salute modificando la composizione del microbiota intestinale e promuovendo una crescita batterica benefica (Finamore et al., 2017).

Infine, uno studio randomizzato in doppio cieco condotto su 60 pazienti con AD ha valutato gli effetti dell'assunzione di spirulina sulla funzione cognitiva e sullo stato metabolico. I pazienti sono stati assegnati in modo casuale a ricevere 500 mg/giorno di spirulina o un placebo, due volte al giorno per 12 settimane. Il punteggio del *Mini-Mental State Examination* è stato registrato in tutti i pazienti prima e dopo l'assunzione di spirulina. Sono inoltre stati effettuati esami ematici all'inizio e dopo il periodo di somministrazione per determinare i livelli di alcuni marcatori metabolici. Rispetto al placebo, l'assunzione di spirulina ha determinato un miglioramento significativo nei test. Inoltre, l'assunzione di spirulina ha ridotto la proteina C-reattiva, la glicemia a digiuno, l'insulina e la resistenza all'insulina e aumentato la sensibilità all'insulina, rispetto al placebo (Tamtaji et al., 2023).

5.1.3 Tossicità ed interazione farmacologica di *Arthrospira platensis* (Nordstedt) Gomont

Arthrospira platensis (Nordstedt) Gomont è considerata un alimento sicuro. Nell'Unione Europea la microalga è classificata come alimento ed è normata dal regolamento (UE) n. 178/2002. Spirulina può infatti essere presente, come additivo colorante, in caramelle, gomme da masticare, gelati, yogurt e molti altri prodotti alimentari. Anche il *Dietary Supplements Information Expert Committee* della *United States Pharmacopeial Convention* ha concesso alla spirulina la "Classe A", dopo accurate indagini su casi clinici, l'analisi di dati tossicologici sugli animali e la raccolta di resoconti di eventi avversi, dichiarandola sicura per il consumo umano se coltivata in condizioni controllate (Finamore et al., 2017).

Alcuni cianobatteri possono produrre tossine come microcistine, nodularine, saxitossine, anatosina e altri composti bioattivi. Ad esempio, l'anatosina A non è prodotta dal genere *Spirulina*, ma alcune specie del genere *Arthrospira*, tra le quali non è segnalata *Arthrospira platensis*, sono potenziali produttori di questo alcaloide neurotossico. L'anatosina A è un potenziale agonista del recettore dell'acetilcolina e può causare paralisi, spasmi muscolari e insufficienza respiratoria. Studi *in vivo* nei topi hanno individuato un valore LD50, quantificato in 200–250 µg/kg di anatosina A. Anche se *Arthrospira platensis* non produce cianotossine, non è infrequente purtroppo, la contaminazione di integratori di scarsa qualità, con alghe produttrici di composti tossici. La contaminazione da cianotossine è motivo di seria preoccupazione, soprattutto nei ceppi di spirulina coltivati in un ambiente non controllato e non monitorato, come stagni o laghi all'aperto. Monitorare la qualità di spirulina è più facile quando questa viene coltivata in un ambiente controllato, come in fotobioreattori chiusi (Grosshagauer et al., 2020; Dalla Costa et al., 2021).

Il dosaggio di assunzione giornaliera consigliata di spirulina è nell'intervallo di 3-10 g, mentre l'assunzione giornaliera massima non deve superare i 30 g (ElFar et al., 2022). Gli effetti collaterali segnalati, associati al consumo di spirulina sono di lieve entità ed includono insonnia e problemi gastrici con causalità incerta o improbabile. In letteratura sono riportati pochi casi di effetti collaterali gravi, tra cui un caso di rabdomiolisi dopo il consumo di 3 g/giorno per 1 mese; due casi di anafilassi causati dall'assunzione di compresse di spirulina, di cui uno in un maschio di 17 anni con una storia di dermatite atopica, asma, rinite allergica e sintomi di allergia a pomodoro e cetriolo; tre casi di reazione cutanea, mediata da malattie autoimmuni, di cui uno in una donna di 82 anni, mentre gli altri due casi sono stati osservati in soggetti che

consumavano spirulina come ingrediente di nutraceutici multicomponenti. Sono inoltre stati segnalati casi di epatotossicità e di epatite autoimmune in un uomo di 57 anni con pemfigo volgare noto e in una donna di 45 anni con una storia di ipertensione, emicranie croniche e fibromialgia. Inoltre, un caso segnalato di epatotossicità ha coinvolto un uomo giapponese di 52 anni con una storia di ipertensione, iperlipidemia e diabete di tipo 2 che assumeva farmaci (amlodipina besilato, simvastatina e acarbosio) (Finamore et al., 2017).

Anche gli studi tossicologici sugli animali hanno dimostrato la sicurezza di spirulina. In uno studio è stata somministrata una singola dose di spirulina in polvere nei topi fino a 6 g/kg e una dose di estratto acquoso, per via orale, di 5 ml/kg. Dopo 7 giorni dalla somministrazione, spirulina non ha causato alcuna tossicità (ElFar et al., 2022).

Per quanto riguarda l'interazione farmacologica, non è stato ancora chiarito se e in che grado spirulina abbia azione sull'attività dell'enzima citocromo P450 e delle sue isoforme. Uno specifico studio *in vivo*, del 2013, ha valutato gli effetti di spirulina sulle espressioni e sulle attività enzimatiche dei principali isoenzimi del citocromo P450, attraverso la somministrazione orale quotidiana della microalga, per un periodo di 5 settimane continuative. In seguito alla somministrazione si sono verificate significative riduzioni dei livelli di espressione epatica e inibizione delle attività enzimatiche di CYP1A2 e CYP2E1 rispetto ai controlli. Inoltre, è stata osservata una significativa diminuzione nell'attività enzimatica associata al CYP2C6, senza notevoli cambiamenti nei livelli di mRNA. L'assunzione di spirulina ha determinato significativi aumenti nei livelli di mRNA sia di CYP2B1 che di CYP3A1, senza un cambiamento significativo nelle attività enzimatiche. Tuttavia, la spirulina deve essere assunta con cautela nei pazienti in trattamento con substrati degli enzimi del citocromo P450, come farmaci immunosoppressori, antipertensivi e ipolipemizzanti (Savranoglu, Tumer, 2013).

5.2 *Boswellia* spp.

5.2.1 *Boswellia* spp. descrizione botanica e cenni fitochimici

Il genere *Boswellia* appartenente alla famiglia delle Burseraceae comprende circa 25 specie⁶, tradizionalmente utilizzate per il trattamento di malattie infiammatorie croniche, edema cerebrale, sindrome del dolore cronico, malattie gastrointestinali, cancro e per migliorare le capacità cognitive (Rajabian et al., 2020). La famiglia è pantropicale ed è diffusa in India, Arabia, Africa nord-orientale ed America. Tra le specie più utilizzate e maggiormente riportate negli studi scientifici, vengono indicate *Boswellia serrata* Roxb ex Colebr. o salai guggul, diffusa in India e Himalaya occidentale e *Boswellia sacra* Flück (o *Boswellia carterii* Birdwood) (Fig. 30), maggiormente diffusa in Somalia Yemen e Oman (Magini et al., 2014, pag. 504).



Fig. 30. *Boswellia sacra* Flück (o *Boswellia carterii* Birdwood).

Le piante del genere *Boswellia* sono piante arboree o arbustive di medie dimensioni (3-8 m). La corteccia presenta uno strato superficiale papiraceo che si desquama con facilità e può essere facilmente rimosso in sottili strisce pellicolari. Le foglie sono imparipennate, composte con 6-8 paia di foglioline sessili disposte su 2 file ed hanno margine crenato. I fiori sono di piccole

⁶ Le specie includono *B. serrata*, *B. sacra*, *B. frereana* (Somalia), *B. neglecta* (Eritrea), *B. microphylla*, *B. papyrifera* (Etiopia), *B. ogadensis*, *B. pirottae*, *B. rivae* (Etiopia), *B. madagascariensis*, *B. socotrana*, *B. popoviana*, *B. nana*, *B. ameero*, *B. bullata*, *B. dioscoridis*, *B. elongata* e *B. ovalifoliolata*. *B. neglectae* e *B. dalzielii* (Al-Yasiry, Kiczorowska, 2016; Rajabian et al., 2020).

dimensioni, attinomorfi, ermafroditi o unisessuali su piante dioiche, di solito riuniti in infiorescenze racemose. Presentano 4-5 sepali connati alla base, 4-5 petali di colore bianco, generalmente liberi. Gli stami sono su due verticilli dei quali, uno, può essere ridotto o mancante. Il gineceo è 3-5 carpellare, sincarpico, con ovario pluriloculare. Alla base dell'ovario è presente un disco nettario lobato, di colore giallo, nel fiore giovane, poi arancione e infine rosso scuro nel fiore senescente. Il frutto è una drupa obovoide, raramente una capsula, con apice acuto, con 3-5 valve, ognuna delle quali contiene un seme. La droga è costituita dalla gommo-oleoresina che fuoriesce, in seguito ad incisioni praticate sul tronco. Si presenta in forma di lacrime tondeggianti ed irregolari di colore giallo pallido o giallo-rossastro (Fig. 31), con odore caratteristico e sapore amaro. Nella medicina ayurvedica, la droga definita anche olibanum o comunemente incenso, viene tradizionalmente usato in forma di estratto alcolico (Rajabian et al., 2020). La droga è costituita per il 60% da una frazione resinosa di di- e triterpeni (solubile in alcol 65-85%), per il 20-30% da una frazione polisaccaridica, solubile in acqua e per il 5-9% da una frazione volatile di mono e sesquiterpeni (Maugini et al., 2014, pag. 504).



Fig. 31. Foglie, fiori ed oleogommo-resina di *Boswellia serrata*.

Dal punto di vista fitochimico, l'oleogommo-resina di *Boswellia* contiene il 13,1% di monoterpeni, 1% di sesquiterpeni, 42,5% di diterpeni, oltre a composti presenti in minore quantità come duva-3,9,13-trien-1,5alfa-diol-1-acetato (21,4%), acetato di otile (13,4%), o-

metil-anisolo (7,6%). In campioni di estratto di *Boswellia*, inoltre, sono stati identificati 12 tipi di triterpeni pentaciclici (Tabella 1). Di tali composti la più alta attività biologica è data dagli acidi β -boswellico, acetil- β -boswellico, 11-cheto- β -boswellico e acetil-11-cheto- β -boswellico. Questi composti sono responsabili dell'inibizione degli enzimi pro-infiammatori. Tra questi, in particolare, l'acido acetil-11-cheto- β -boswellico è il più attivo inibitore della 5-lipossigenasi, enzima coinvolto nei processi infiammatori.

In uno studio sono stati caratterizzati dal punto di vista fitochimico l'olio essenziale di *Boswellia carterii* Birdwood e l'olio essenziale di *Boswellia serrata* Roxb ex Colebr. In *Boswellia carterii* Birdwood, olio di colore giallo pallido, sono stati identificati numerosi composti, tra i quali α -tujene (1,7%), α -pinene (10,9%), canfene (1,0%), mircene (0,5%), limonene (1,5%), 1,8-cineolo (1,2%), 1-ottanolo (11,9%), linalolo (2,1%), cembrene A (2,1%), cembrene C (0,1%) e acetato di ottile (39,3%), responsabile del forte odore quando l'incenso viene bruciato. L'olio essenziale di *Boswellia serrata*, composto incolore, è risultato essere composto da α -tujene (12%), α -pinene (8%), sabinene (2,2%), β -pinene (0,7%), mircene (3,8%), limonene (1,9%), linalolo (0,9%), metileugenolo (2,1%), cembrene A (0,5%) e cembrenolo (1,9%), come costituenti principali. L'incensolo e l'acetato di incensolo sono biomarcatori specifici per *Boswellia carterii* che presenta ossido di β -cariofillene come composto marcatore significativo. *Boswellia serrata* può essere identificata dalla presenza di serratolo e acido 3-oxo-8,24-dien-tirucalli.

La frazione polisaccaridica di *Boswellia* è composta da proteoglicani e glicoproteine. I componenti principali (32-56%) delle sostanze polimeriche solubili in acqua, delle resine di *Boswellia carterii* e *Boswellia serrata* sono proteine di arabinogalattani. Questi proteoglicani sono composti principalmente da unità di D-galattosio, nelle catene centrali, che sono altamente ramificate tramite le posizioni 3 e 6. Nelle catene laterali sono presenti l'acido glucuronico, l'acido 4-O-metil-glucuronico terminale e arabinosio. La parte proteica è composta dagli amminoacidi idrossiprolina e serina. La principale differenza tra la gomma di *B. carterii* e *B. serrata* è il contenuto più elevato di proteine nella gomma di *B. serrata* (22%) rispetto a quella di *B. carterii* (6%) (Al-Yasiry, Kiczorowska, 2016).

L'incenso ha scarsa biodisponibilità se assunto per via orale, poiché va incontro ad un intenso metabolismo di primo passaggio. Uno studio ha verificato la bassa presenza dei principali acidi boswellici, nel cervello di ratto, otto ore dopo la somministrazione orale alla dose di 240 mg/kg. Dosi maggiori di estratto superano le limitazioni date dalla insufficiente biodisponibilità

(Gomaa et al., 2021). Un gruppo di ricercatori ha dimostrato, in uno studio su volontari maschi sani, che la somministrazione di estratto di *Boswellia serrata* dopo un pasto ricco di grassi, aumenta. La concentrazione plasmatica massima degli acidi boswellici viene incrementata infatti, dopo la somministrazione orale della gommooleoresina con particelle lipidiche solide (Gomaa et al., 2021). Anche la somministrazione sublinguale sembra essere una valida via di assunzione. Dopo 5 minuti dalla somministrazione sublinguale è stato infatti verificato l'attraversamento della barriera ematoencefalica da parte dei composti bioattivi (Gomaa et al., 2021).

Tabella 1: Triterpeni pentaciclici in piante del genere *Boswellia* (Siddiqui et al., 2021).

Costituenti	Percentuale
Acido α -boswellico e acido β -boswellico	10–21%
Acido acetil- α -boswellico e acido acetil- β -boswellico	0,05–6%
Acido acetil-lupeolico e acido lupico	1,10%, 2,61%
Acido acetil-9–11-deidro- α -boswellico e acido 11-deidro- α -boswellico	0,06%, 0,18%
Acido acetil-9–11-deidro- β -boswellico e acido 9,11-deidro- β -boswellico	0,52%, 0,83%
Acido 11-cheto- β -boswellico	2,5–7,5%
Acido acetil-11-cheto- β -boswellico	0,1–4%

5.2.2 Attività e meccanismi d'azione di *Boswellia* spp.

Gli estratti di *Boswellia* sono tradizionalmente utilizzati dalla medicina popolare per curare gli stati infiammatori. Diversi studi riportano che i preparati di *Boswellia* inibiscono la 5-lipossigenasi e prevengono il rilascio di leucotrieni, con effetto antinfiammatorio nelle malattie reumatiche, nella colite ulcerosa, nella sindrome dell'intestino irritabile, nel morbo di Crohn, nella bronchite e nella sinusite. L'inalazione e il consumo di incenso riducono il rischio di asma. Un recente studio, sui meccanismi che sottendono all'attività antinfiammatoria di *Boswellia*, sostiene che gli acidi boswellici non riescano a inibire la formazione di leucotrieni poiché, dati farmacocinetici hanno rilevato concentrazioni molto basse di acidi boswellici nel plasma, dopo

somministrazione orale, in valori ben al di sotto delle concentrazioni efficaci per l'attività biologica. Pertanto, l'inibizione della 5-lipossigenasi sembra essere discutibile. Nello studio sono state determinate concentrazioni plasmatiche 100 volte superiori di acido β -boswellico, rispetto agli altri composti bioattivi. L'acido β -boswellico inibisce la prostaglandina E sintasi-1 microsomiale e la serina proteasi catepsina G. Questi due enzimi potrebbero essere, secondo gli autori, i ragionevoli bersagli molecolari, correlati alle proprietà antinfiammatorie di *Boswellia* (Abdel-Tawab et al., 2021). Oltre all'attività antinfiammatoria, *Boswellia* ha un effetto anticancerogeno, con azione sulla proliferazione delle cellule tumorali, attraverso l'inibizione della caspasi-8, della topoisomerasi I e II-alfa e la stimolazione dell'apoptosi. Gli estratti e gli oli essenziali di incenso vengono utilizzati inoltre come agenti antisettici nei collutori e nel trattamento delle affezioni respiratorie. Molti studi riportano le attività immunomodulatrici, antimicrobiche, antivirali ed anche antidiabetiche di diverse specie di *Boswellia* (Al-Yasiry, Kiczorowska, 2016).

Il diabete di tipo 2 e l'AD sono malattie infiammatorie croniche che condividono alcune caratteristiche comuni, come lo stress ossidativo. La relazione tra diabete di tipo 2 e deterioramento cognitivo è ampiamente dimostrata da numerosi studi, sia negli esseri umani che negli animali. Gli individui che sviluppano il diabete di tipo 2 hanno un aumentato rischio di sviluppare demenza, incluso l'AD. Secondo la maggior parte degli autori, i potenziali effetti terapeutici dell'estratto di *Boswellia* nel diabete di tipo 2, ma anche nel diabete di tipo 1 e nell'AD possono essere attribuiti alla sua attività immunomodulatrice, antinfiammatoria e antiossidante. L'acido β -boswellico in particolare ha mostrato attività inibitoria sia della 5-lipossigenasi, *in vitro* e *in vivo*, ma anche della cicloossigenasi con conseguente riduzione della produzione di citochine infiammatorie, tra cui IL-1, IL-2, IL-6, IFN- γ e TNF- α , della catepsina G e prostaglandina-E sintasi microsomiale-1 (Abdel-Tawab et al., 2021). L'estratto di *Boswellia* agisce in modo importante contro lo stress ossidativo. È stato infatti dimostrato che l'acido β -boswellico ha effetto positivo nella disfunzione cognitiva attraverso l'aumento di fattori antiossidanti e il miglioramento dell'attività dei complessi mitocondriali (Gomaa et al., 2021). Uno studio *in vivo* nel ratto, pubblicato nel 2020, ha valutato l'attività degli acidi boswellici nei complessi mitocondriali nella catena di trasporto degli elettroni. I 50 ratti albini maschi sono stati divisi in cinque gruppi sperimentali: il gruppo di controllo (G1), il gruppo di controllo a cui è stato somministrato acido boswellico (G2), il gruppo della malattia di AD (G3), il gruppo pretrattato con acido boswellico (G4) e il gruppo AD, trattato con acido boswellico (G5). Dopo

la somministrazione di acidi boswellici, alla dose di 250 mg/kg/die per 3 settimane, sono stati determinati i livelli di glucosio nel sangue, i valori di espressione della proteina Tau, diversi parametri neurochimici (e.g., dopamina, acetilcolina), i livelli di L-malondialdeide, l'attività di superossido dismutasi, catalasi, glutatione perossidasi e dei complessi della catena di trasporto degli elettroni mitocondriali. Nel gruppo AD (G3) è stato registrato nell'ippocampo, un aumento del glucosio, dell'espressione della proteina Tau, di MDA e GLUT2 rispetto ai gruppi di controllo (G1 e G2). Questi parametri sono diminuiti dopo pre- (G4) e trattamento (G5) con acido boswellico. I parametri antiossidanti, le attività dei quattro complessi della catena mitocondriale e la loro espressione genica sono diminuiti nell'ippocampo del gruppo AD rispetto ai gruppi di controllo (G1 e G2). Al contrario, i gruppi pre- e trattati con acido boswellico (rispettivamente G4 e G5) hanno mostrato un aumento dei parametri antiossidanti e delle attività dei quattro complessi mitocondriali. Nello studio è stata valutata anche l'attività dell'acetilcolinesterasi e il contenuto dei neurotrasmettitori nell'ippocampo. Nel gruppo dei ratti AD è stato registrato un aumento dell'attività dell'acetilcolinesterasi e una diminuzione dell'acetilcolina. Nei gruppi pre- e trattati invece si è assistito ad un aumento dei valori di acetilcolina rispettivamente di 1,7 e 1,5 volte rispetto ai gruppi con AD. Nello studio è stata dimostrata una diminuzione di 0,6 volte della dopamina nell'ippocampo del gruppo AD, rispetto al gruppo di controllo. È stato dimostrato inoltre che gli acidi boswellici riducono il rilascio di glutammato dai sinaptosomi dell'ippocampo del ratto attraverso l'inibizione dei canali del Ca^{2+} di tipo N e P/Q (Mohamed et al., 2020). Studi *in vivo* su animali e studi clinici hanno confermato inoltre che i componenti bioattivi presenti in *Boswellia*, possono migliorare l'attività cognitiva e proteggere dalla neurodegenerazione con azione non solo antinfiammatoria e antiossidante, ma anche antiamiloidogeniche e antiapoptotica (Rajabian et al., 2020). In uno studio *in vivo* condotto del 2020, sono stati misurati i livelli di A β e la deposizione nel cervello di placche A β nei topi transgenici APP^{swe}/PS1^{dE9}. Il trattamento con acidi boswellici (5 mg/kg, una volta al giorno tramite iniezione intraperitoneale per 3 mesi) ha ridotto notevolmente i livelli di A β 40 solubile e insolubile e A β 42 nella corteccia cerebrale e nell'ippocampo dei topi. Inoltre, è stato evidenziato che i livelli di oligomeri solubili di A β erano drasticamente diminuiti nella corteccia cerebrale e nell'ippocampo dei topi transgenici trattati con *Boswellia*, rispetto al gruppo di controllo transgenico trattato con veicolo (soluzione fisiologica in volume uguale), così come il numero di placche e le proporzioni dell'area occupata dalle placche (Wei et al., 2020).

In diversi studi sperimentali è stata inoltre valutata l'attività di *Boswellia* sul microbiota intestinale. Come già descritto in precedenza, gli acidi boswellici hanno notevoli attività sulla microflora intestinale e sono ampiamente utilizzati per la cura di patologie importanti come il morbo di Crohn o la colite ulcerosa. La modulazione delle anomalie del microbiota intestinale da parte di *Boswellia* può essere un altro meccanismo alla base della sua utilità nel prevenire e ridurre il rischio di AD (Gomaa et al., 2021) (Fig. 32).

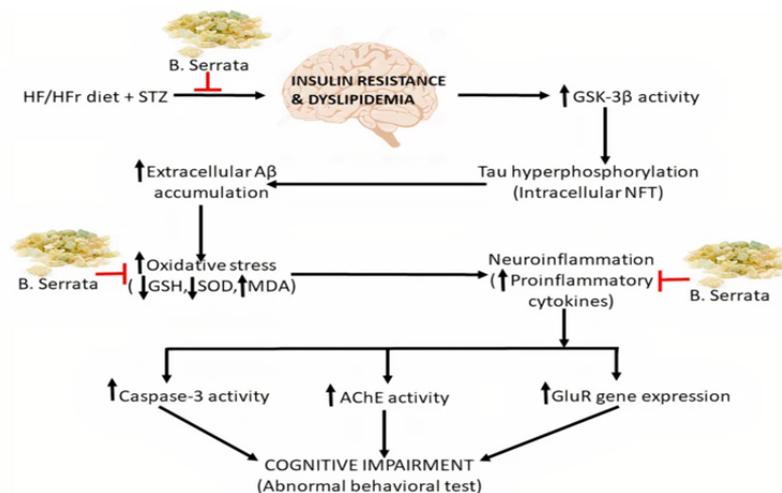


Fig. 32. Effetti di *Boswellia* sulla neurodegenerazione nell'AD (Gomaa et al., 2021).

5.2.3 Tossicità ed interazione farmacologica di *Boswellia* spp.

Rispetto ai farmaci antinfiammatori non steroidei la somministrazione di *Boswellia* è associata a una migliore tollerabilità (Abdel-Tawab et al., 2021). Molti studi preclinici *in vivo* hanno documentato che l'estratto di *Boswellia serrata* o gli acidi boswellici presentano un elevato indice terapeutico e un ampio margine di sicurezza. Dagli studi di tossicità orale e cutanea acuta eseguiti nei ratti Sprague Dawley è emerso che la dose letale mediana di estratto è stata maggiore di 2000 mg/kg. Altri studi di tossicità orale acuta eseguiti nei topi hanno confermato il profilo di sicurezza di *Boswellia* fino ad una dose di 5000 mg/kg. I test di irritazione cutanea e oculare acuta eseguiti nei conigli hanno mostrato che l'estratto non ha provocato irritazione cutanea, mentre è stato leggermente irritante per gli occhi. La somministrazione orale ripetuta per 90 giorni ha dimostrato che i ratti, maschi e femmine, trattati con l'estratto di *Boswellia* non hanno mostrato cambiamenti di peso corporeo, assunzione di cibo, peso degli organi ed

alterazioni degli ormoni tiroidei. Inoltre, l'estratto di *Boswellia* non è mutageno (Dodda et al., 2021). Gli acidi boswellici mostrano un ampio spettro di sicurezza, simile all'estratto di *Boswellia serrata*. La somministrazione orale giornaliera di tre dosi di acidi boswellici, a ratti e scimmie, non ha mostrato anomalie significative nel comportamento generale, nei parametri clinici, ematologici, biochimici e patologici fino alla dose di 2 g/kg somministrati per via orale o intraperitoneale. In uno studio *in vitro*, tuttavia, *Boswellia* ha mostrato epatotossicità data dall'aumento dell'accumulo di lipidi nelle cellule di carcinoma epatocellulare umano HepG2 e segni di tossicità nelle cellule epiteliali intestinali. Inoltre, segni marcati di epatotossicità (aumento fino al 48% delle dimensioni del fegato e steatosi) sono stati evidenziati anche nei topi ed è stata segnalata un'attività pro-ulcerogena nei ratti affetti da ulcere gastriche, ma non nei ratti normali, dovuta agli effetti ipersecretori gastrici derivanti dal trattamento con *Boswellia sacra* (Efferth, Oesch, 2022). La *Boswellia* è spesso inclusa in integratori alimentari multi-ingrediente, alcuni dei quali sono stati implicati nel danno epatico, ma non è stato possibile stabilire un contributo specifico di *Boswellia* al danno. La valutazione clinica degli effetti avversi su 29 pazienti ha rivelato che l'incenso è piuttosto sicuro, sebbene siano stati segnalati anche alcuni effetti collaterali come nausea e reazioni cutanee. In altri studi clinici che hanno utilizzato preparati di *Boswellia serrata* per trattare malattie infiammatorie e immunologiche, sono stati osservati effetti collaterali occasionali o rari come eczema, nausea, aumento del dolore articolare, diarrea, dolore epigastrico, dermatite allergica da contatto, dolore addominale e altri sintomi gastrointestinali, infezioni minori e febbre. Tuttavia, altri studi clinici non hanno riportato effetti collaterali (Efferth, Oesch, 2022). Per quanto riguarda le interazioni farmacologiche, solo uno studio ha riportato l'interazione dell'oleogommoresina con il medicinale anticoagulante warfarin (Milić et al., 2014).

5.2 *Rosmarinus officinalis* L. (*Salvia rosmarinus* Spenn.)

5.3.1 Descrizione botanica e cenni fitochimici

Rosmarinus officinalis L. (Fig. 33) è una pianta arbustiva, cespugliosa, ramificata e sempreverde, appartenente alla famiglia delle Lamiaceae (ex Labiatae). L'arbusto può raggiungere un'altezza di 1-2 m. Presenta foglie sessili, opposte, strette, intere, a bordi fortemente riflessi e di consistenza coriacea. Le foglie sono di colore verde scuro nella pagina superiore e biancastre nella pagina inferiore per la presenza di numerosi peli di rivestimento

ramificati e peli secretori di tipo peltato e capitato. I fiori sono piccoli e azzurri, a volte bianchi o lilla, disposti all'apice dei rami, all'ascella delle foglie. Sono pentameri, ermafroditi, zigomorfi formati da lunghi spicasteri allungati. Il calice è gamosepalo, bilobato nella parte superiore, trilobato in quella inferiore. La corolla è bilabiata e con due stami curvi, rivolti verso l'esterno oltre la corolla. Il gineceo è bicarpellare con ovario supero, quadrilobo a maturità, presenta alla base un disco nettario. Il frutto è un tetrachenio. Il rosmarino è una pianta mediterranea, comunemente coltivata negli orti (Maugini et al., 2014, pag. 546-547).



Fig. 33. *Rosmarinus officinalis* L. Foto Gloria Antonini - Orto botanico di Padova.

L'uso del rosmarino risale al 5000 a.C. La pianta anticamente veniva utilizzata per rinvigorire la memoria, recuperare la parola, regolare il flusso mestruale, stimolare la crescita dei capelli, aiutare la digestione, contrastare la flatulenza e i disturbi del fegato. Le attività biologiche di questa pianta aromatica sono principalmente legate ai suoi costituenti fenolici e volatili. Dal punto fitochimico, il rosmarino contiene infatti composti naturali identificabili come fenoli, terpenoidi e oli essenziali, ma la composizione percentuale dei singoli metaboliti è molto variabile. La provenienza della pianta, il periodo di raccolta, la parte utilizzata e il metodo di estrazione influenzano infatti notevolmente il profilo fitochimico del rosmarino. Ad esempio,

L'olio essenziale proveniente dal Marocco e dalla Tunisia mostra spesso un alto contenuto di 1,8-cineolo (o eucaliptolo), mentre quello proveniente dalla Spagna mostra un basso contenuto di cineolo e contiene un'alta concentrazione di canfora e borneolo; l'olio francese ha un'alta concentrazione di verbenone. L'olio essenziale di rosmarino, ottenuto dalle foglie, mostra una resa di estrazione più elevata durante la fase di fioritura (1,43%), rispetto alla fase vegetativa (1,23%) e le piante raccolte in estate hanno una resa quasi raddoppiata rispetto a quelle raccolte in inverno, evidenziando, inoltre, una variazione della composizione chimica dovuta alla fase fenologica della pianta. Al contrario, α -tocoferolo (31,62 mg/100 g di campione fresco) e γ -tocoferolo (0,36 mg/100 g di campione fresco) sono generalmente presenti in quantità più elevata in inverno. Allo stesso modo, esiste una significativa variazione fitochimica dell'olio essenziale a seconda della parte utilizzata della pianta. Uno studio, che ha analizzato diversi oli essenziali di rosmarino, ha riportato che il composto ottenuto dalle foglie contiene 1,8-cineolo (35,8%) come componente principale, mentre il cariofillene (16,7%) è predominante nell'olio estratto dallo stelo. Nell'olio estratto dai fiori, il composto principale è l'ossido di cariofillene (11,9%). Tuttavia, la parte maggiormente utilizzata per l'estrazione è la foglia. Il metodo di estrazione influenza la composizione dell'olio; infatti, è stato dimostrato che l'estrazione di olio essenziale mediante fluido supercritico (CO₂) aumenta la concentrazione di alcuni composti, come il verbenone (34,16%) e l'acetato di bornile (17,31%) rispetto all'estrazione con metodo tradizionale di idrodissillazione (Borges et al., 2019). Il profilo polifenolico del rosmarino è caratterizzato dalla presenza di acido rosmarinico ed esperidina, come componenti principali. L'acido rosmarinico, che si è dimostrato particolarmente attivo nella prevenzione e terapia dell'AD, è presente anche in *Melissa officinalis* L., *Perilla frutescens* L. e in *Salvia officinalis* L. (Noguchi-Shinohara et al., 2020). In rosmarino sono stati inoltre identificati flavonoidi, quali ispidulina, diosmina, luteolina, apigenina, rutina, quercetina e kaempferolo, genkwanina e isoscutellareina e acidi idrossicinnamici, quali acido caffeico, idrossiidrocaffeoico, ferulico e clorogenico. Tra i costituenti antiossidanti più efficaci della pianta sono stati identificati l'acido carnosico (diterpene) e il carnosolo (diterpene fenolico), accanto all'acido rosmarinico (Fig. 34). L'acido carnosico e il carnosolo sono i composti più abbondanti (~5% del peso secco) e hanno dimostrato di compiere oltre il 90% degli effetti antiossidanti della pianta. Il rosmarino essiccato può contenere circa lo 0,2-1% di carnosolo mentre molti estratti disponibili in commercio possono essere ottimizzati per contenere circa il 10,3% di questo composto.

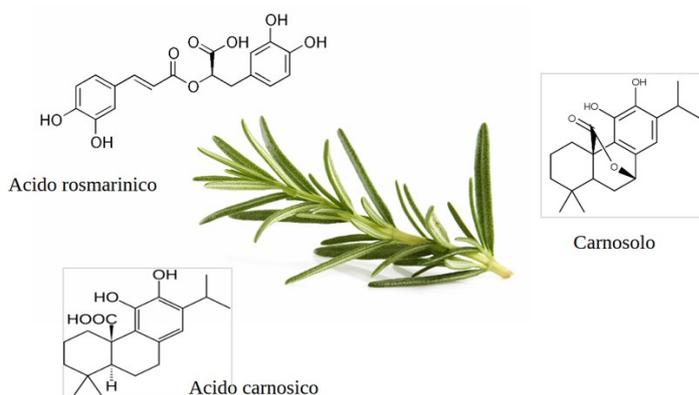


Fig. 34. Composti antiossidanti presenti in *Rosmarinus officinalis* L.

L'estratto contiene inoltre, acido ursolico, acido betulinico (triterpeni) epirosmanolo, rosmanolo, metilcarnosato e isorosmanolo (Ribeiro-Santo et al., 2015; Habtemariam 2016; Nieto et al., 2018). Lo scheletro di base di tutti i diterpeni del rosmarino sembra essere l'acido carnosico isolato per la prima volta da Wenkert et al. nel 1965. L'acido carnosico è il principale costituente del rosmarino (1,5-2,5% delle foglie essiccate), ma non è un composto molto stabile poiché in seguito a ossidazione si forma il diterpene γ -lattone carnosolo. Oltre al carnosolo, è noto anche che l'ossidazione di acido carnosico produce rosmanolo che differisce dal carnosolo perché possiede un gruppo idrossilico libero in posizione C-7. La forma epimerica del rosmanolo con differenza stereochimica in posizione C-7 viene identificata come epirosmanolo. Una struttura alternativa all'epirosmanolo è l'isorosmanolo, in cui l'anello lattone si forma grazie alla posizione idrossilica C-6 invece che C-7. L'ulteriore percorso di diversificazione strutturale nei diterpeni del rosmarino avviene attraverso la metossilazione, come nel derivato 12-metossilico dell'acido carnosico e nell'11,12-dimetossi isorosmanolo (Fig. 35).

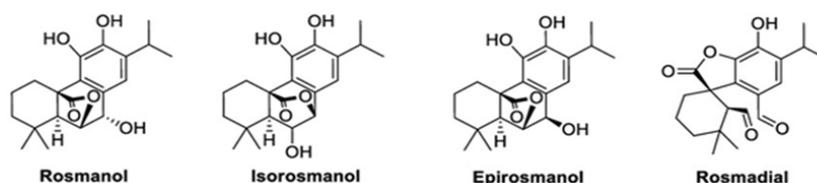


Fig. 35. Composti presenti nell'olio essenziale di *Rosmarinus officinalis* L.

Un altro gruppo di derivati diterpenici del rosmarino sono i chinoni diterpenici o diterpenoidi O-chinoni, di tipo abietano, che presentano un sistema tricyclico di anelli a sei elementi, di cui

uno aromatico. Questi composti sono identificati come rosmachinone A e rosmachinone B, acido roileanonico e rosmanolo. Tutti questi diterpeni possono avere diverse polarità e non si trovano nell'olio essenziale di rosmarino (Habtemariam, 2016). L'olio essenziale è un liquido incolore o giallo pallido con un aroma intenso e speziato; rappresenta generalmente l'1-2,5% del peso totale della pianta. Alcuni componenti chimici caratteristici di questo olio includono 1,8-cineolo, α -pinene, canfora, acetato di bornile, borneolo, canfene, α -terpineolo, limonene, β -pinene, β -cariofillene e mircene.

Si possono distinguere più di 20 varietà o cultivar differenti di *Rosmarinus officinalis* L., identificate sia in base a descrittori morfologici sia in base ai costituenti predominanti degli oli essenziali (Borges et al., 2019). In uno studio che ha analizzato in particolare l'olio essenziale di rosmarino sono stati rilevati circa 150 composti diversi. Tra questi i monoterpeni lineari ossigenati e biciclici, quali 1,8-cineolo, α -pinene, canfene, β -pinene, canfora, borneolo, acetato di bornile, *p*-cimene, β -mircene, limonene, α -terpinene, verbenone, β -terpineolo, linalolo e terpinen-4-olo, sono stati i terpeni più frequentemente segnalati. Molti di questi monoterpeni sono i più rappresentativi dell'olio essenziale, poiché sono spesso presenti e possono essere utilizzati come marcatori biochimici. In un altro studio che ha analizzato 40 diversi campioni di piante selvatiche, è stata quantificata la presenza di idrocarburi monoterpenici che variavano percentualmente dal 20,9% al 65,6% del contenuto dei campioni. Tra questi, le molecole più abbondanti erano α -pinene (11,8-39,8%) e canfene (3,2-12,1%); altri idrocarburi monoterpenici identificati erano limonene, β -pinene, terpinolene e β -mircene. I composti classificati come monoterpeni ossigenati variavano dal 27,7% al 74,3% della composizione. Questi composti erano rappresentati principalmente da 1,8-cineolo (0,1-62,7%) seguito da canfora (2,6-30,5%); anche borneolo, linalolo e verbenone sono stati identificati in quantità significativa. Infine, i sesquiterpeni variavano dallo 0,6% al 7,2% del contenuto e il β -cariofillene era la molecola presente in maggiore quantità; nessun sesquiterpene, da solo, superava l'1%. Il gruppo denominato "altri" rappresentava dallo 0,2% al 2,2% del contenuto totale del campione; nessun composto di questo gruppo superava l'1% e l'ottan-3-one era la molecola più rappresentativa (Borges et al., 2019). Uno studio farmacocinetico ha evidenziato che la biodisponibilità dell'acido carnosico, dopo 6 ore dalla somministrazione endovenosa era del 40,1%. Tracce di acido carnosico sono state trovate in vari organi in forma libera, mentre l'eliminazione nelle feci dopo 24 h dalla somministrazione orale era dell'8,2% (Habtemariam 2016). Un altro studio ha valutato la farmacocinetica del composto dopo assunzione per via orale. I coniugati

glucuronidi sono risultati essere i principali metaboliti rilevati nell'intestino, nel fegato e nel plasma. Altri metaboliti identificati sono stati 12-metil etere e il 5,6,7,10-tetraidro-7-idrossirosmarichinone. Questi metaboliti sono stati rilevati già 25 minuti dopo la somministrazione orale, suggerendo che i diterpeni del rosmarino sono biodisponibili. È inoltre interessante notare che la forma libera dell'acido carnosico, così come i suoi metaboliti, sono stati rilevati nel cervello, suggerendo un possibile effetto a livello del SNC (Habtemariam 2016).

5.3.2 Attività e meccanismi d'azione di *Rosmarinus officinalis* L.

Nella monografia dell'Agenzia europea per i medicinali, le foglie e l'olio di rosmarino vengono indicati, in somministrazione orale, per il sollievo sintomatico della dispepsia e dei lievi disturbi spasmodici del tratto gastrointestinale, mentre in uso esterno, come additivo per il bagno e per il sollievo di piccoli dolori muscolari e articolari e in piccoli disturbi circolatori periferici. Non sono indicati usi ben consolidati per questa pianta (EMA, 2010). La ricerca scientifica sta indagando, con sempre maggior attenzione, le proprietà terapeutiche di *Rosmarinus officinalis* L. e dei diversi tipi di estratti da esso ricavati, ricchi di composti naturali particolarmente benefici. Tra questi spiccano, come già descritto in precedenza, gli acidi rosmarinico, carnosico e il carnosolo. Numerosi studi *in vitro*, *in vivo* e clinici hanno evidenziato le proprietà antinfiammatorie, antiossidanti, antinocicettive, neuroprotettive, antidepressive, calmanti, migliorative della memoria e dell'affaticamento mentale (Ghasemzadeh Rahbardar, Hosseinzadeh, 2020), epatoprotettive, antidiabetiche, antimicrobiche (Nieto et al., 2018), antiulcerogene e antitrombotiche (Habtemariam, 2016) dei composti presenti in rosmarino. Gli estratti di rosmarino (tisana, estratto alcolico, olio essenziale) vengono tradizionalmente utilizzati per favorire i processi di memorizzazione e le attività cognitive. Diversi studi svolti su volontari sani, hanno evidenziato effetti positivi sulle prestazioni cognitive. Uno studio condotto su 28 volontari anziani, ai quali è stata somministrata polvere di rosmarino (750 mg), dose vicina al normale consumo culinario, sono stati riscontrati effetti positivi sulla velocità di memorizzazione e riduzione del tempo impiegato per recuperare efficacemente le informazioni, sia dalla memoria episodica che da quella di lavoro (Ghasemzadeh Rahbardar, Hosseinzadeh 2020).

Nel SNC il rosmarino esplica numerose funzioni (Fig. 36). Studi in diversi modelli animali hanno evidenziato le proprietà ansiolitiche e antidepressive dell'infuso di rosmarino

(Ghasemzadeh Rahbardar, Hosseinzadeh, 2020). L'effetto sul miglioramento della memoria dell'estratto di rosmarino (200 mg/kg) sembra essere collegato all'effetto diretto, soprattutto dell'acido carnosico, sull'attività dell'enzima acetilcolinesterasi (Ghasemzadeh Rahbardar, Hosseinzadeh, 2020). In uno studio *in vitro*, l'acido carnosico ha dimostrato effetti neuroprotettivi, sul danno neuronale indotto da cianuro. Le note proprietà antiossidanti della componente diterpenica presente nell'estratto di rosmarino sono state dimostrate da numerosi studi *in vitro*. I meccanismi antiossidanti dell'acido carnosico e carnosolo dipendono dalla perdita di idrogeno dai loro gruppi idrossilici fenolici con formazione dei derivati chinonici (Ghasemzadeh Rahbardar, Hosseinzadeh, 2020). L'effetto antiossidante del rosmarino è inoltre accentuato dalla presenza dei composti polifenolici che presentano un gruppo catecolico (come ad esempio nell'acido rosmarinico).

I composti polifenolici presenti in rosmarino sono inoltre in grado di chelare i metalli. In particolare, uno studio ha dimostrato che tali composti hanno azione chelante del ferro e di altri metalli redox in relazione alla frazione funzionale ortoidrossilica. Il carnosolo inibisce inoltre, l'ossidazione delle LDL indotta da Cu^{2+} . Altra azione importante svolta dall'estratto di rosmarino sui metalli è l'assorbimento del ferro a livello intestinale.

Per quanto riguarda i meccanismi responsabili dell'insorgenza dell'AD, i diterpeni del rosmarino sembrano esercitare un effetto induttore sull'espressione dell' α -secretasi. L'acido carnosico in particolare ha mostrato una soppressione del 61% della secrezione di $\text{A}\beta_{42}$, su cellule di neuroblastoma umano SH-SY5Y, quando testato alla concentrazione di 30 μM (Ghasemzadeh Rahbardar, Hosseinzadeh, 2020). Risultati simili sono stati dimostrati anche da un altro studio *in vitro* dove la produzione dei peptidi di $\text{A}\beta$ nelle cellule di astrocitoma umano U373MG è stata soppressa dall'acido carnosico (50 μM). Lo studio ha mostrato, analogamente al precedente lavoro, un'inibizione del 55-71% del rilascio di $\text{A}\beta$ (Ghasemzadeh Rahbardar, Hosseinzadeh, 2020).

Uno studio di *docking* molecolare ha cercato di chiarire il potenziale terapeutico di tre principali costituenti dell'estratto di rosmarino (acido rosmarinico, acido carnosico ed acido ursolico). Lo studio è stato condotto con l'intento di verificare l'affinità di legame e l'interazione dei tre composti con le proteine bersaglio di AD, confrontandole con l'attività del farmaco donepezil. I risultati dello studio hanno mostrato una forte affinità di legame dei composti d'interesse con AChE, BACE1 e sinapsina I, II e III. I composti hanno mostrato infatti di possedere energie di legame paragonabili a quelle del donepezil, utilizzato come controllo positivo. In particolare,

tra questi, l'acido rosmarinico ha mostrato interazioni di legame con BACE1, sorprendentemente simili a quelle del donepezil (Mirza et al., 2022).

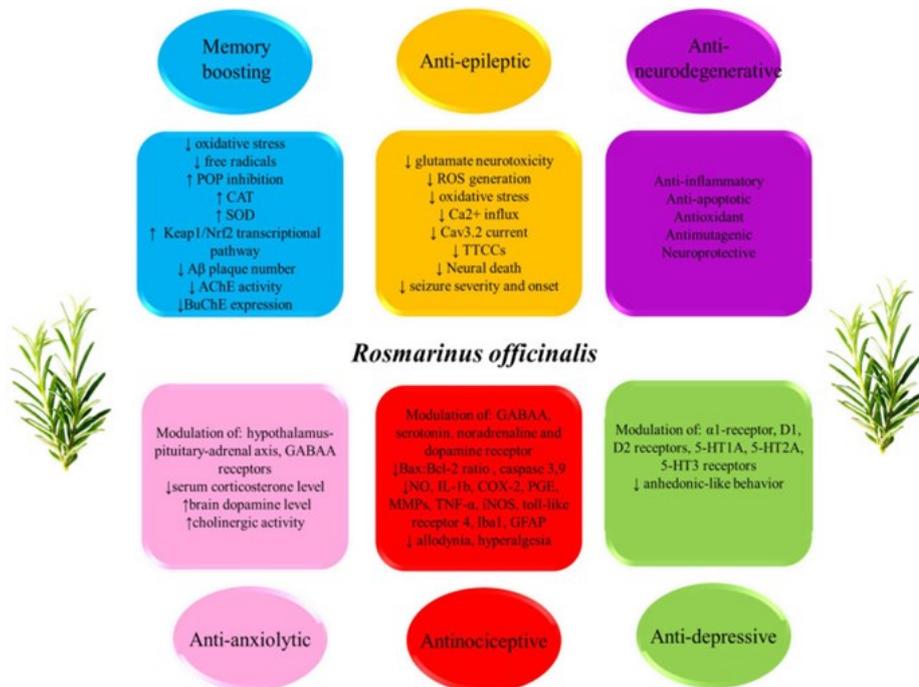


Fig. 36. Proprietà del rosmarino nel SNC (Ghasemzadeh Rahbardar, Hosseinzadeh, 2020).

5.3.3 Tossicità ed interazione farmacologica di *Rosmarinus officinalis* L.

Sono stati condotti numerosi studi *in vitro*, *in vivo* e clinici per valutare la sicurezza del rosmarino e dei suoi costituenti. Il rosmarino è generalmente considerato sicuro per il consumo e l'applicazione topica, anche se, in alcuni individui, sono state segnalate reazioni allergiche e dermatiti (Ghasemzadeh Rahbardar, Hosseinzadeh, 2024). Dal 2008 è classificato come "generalmente sicuro" o GRAS dalla FDA (Ghasemzadeh Rahbardar, Hosseinzadeh, 2020). Sono stati condotti vari studi *in vivo* sulla tossicità acuta e cronica di estratti di rosmarino. Per esempio, ai ratti è stata somministrata una singola dose orale di 2000 mg/kg di due estratti di rosmarino ottenuti con fluidi supercritici. Gli animali sono stati monitorati per un periodo di 15 giorni senza mostrare effetti collaterali o mortalità. Non si sono verificati segni anomali, cambiamenti comportamentali, variazioni del peso corporeo o cambiamenti nel consumo di cibo e acqua. Due settimane dopo la somministrazione dell'estratto di rosmarino, i livelli ematologici e sierici, il peso degli organi e le caratteristiche macroscopiche e istologiche erano

invariati (Anadón et al., 2008). Un altro studio ha valutato la tossicità acuta di acido carnosico somministrato per via orale per un periodo di 30 giorni. La LD50 per i topi, nel test di tossicità acuta, è stata di 7100 mg/kg. Gli esami istopatologici, condotti sui topi sopravvissuti, hanno mostrato alterazioni in cuore, fegato e reni. Lo studio ha valutato anche la tossicità subcronica dell'acido carnosico. La somministrazione continuata per 30 giorni ha ridotto leggermente l'aumento di peso, rispetto al gruppo di controllo. L'esame ematologico ha mostrato che i gruppi ad alto e moderato dosaggio mostravano livelli inferiori di proteine sieriche totali, ma livelli più elevati di aspartato aminotransferasi. L'indagine istopatologica ha rilevato anomalie patologiche minori in cuore, fegato e reni degli animali trattati. In conclusione, questo studio ha evidenziato che la somministrazione orale a breve termine di acido carnosico ha un basso profilo di tossicità (Wang et al. 2012).

La LD50 di un estratto metanolico di foglie di rosmarino, somministrato per via intraperitoneale ai topi, è risultata essere di 4125 mg/kg, mentre quella dell'acido rosmarinico è risultata essere di 561 mg/kg.

È stata valutata anche la potenziale genotossicità dell'acido rosmarinico nel tessuto cerebrale e nel sangue periferico, alle dosi di 2 e 8 mg/kg, dimostrando che il composto non è genotossico (Pereira et al., 2005).

Uno studio ha valutato l'effetto dell'acido carnosico sull'espressione e sull'attività dell'enzima CYP450 e delle sue isoforme. L'acido carnosico ha mostrato effetti inibitori sull'attività degli enzimi CYP2C9 e CYP3A, mentre ha indotto, in modo dose-dipendente, l'espressione e l'attività enzimatica di CYP2B6 e CYP3A. Alla concentrazione più elevata, l'acido carnosico ha infatti aumentato l'attività enzimatica di CYP2B6, superando gli effetti del fenobarbital ed ha migliorato l'attività enzimatica di CYP3A rispetto alla rifampicina. È dunque plausibile supporre che si possano verificare alterazioni del metabolismo dei farmaci substrato di CYP450 e delle sue isoforme (Ghasemzadeh Rahbardar, Hosseinzadeh, 2024).

L'estratto di rosmarino ha inoltre dimostrato un significativo effetto antitrombotico, probabilmente dovuto ad un effetto diretto e inibitorio sulle piastrine (Yamamoto et al., 2005; Ribeiro-Santos et al., 2015). *Rosmarinus officinalis* L. deve pertanto essere assunto con cautela in pazienti che utilizzano farmaci anticoagulanti (Ribeiro-Santos et al., 2015).

CONCLUSIONI

Ad oggi non sono disponibili farmaci per curare le ND, incluso l'AD. I medicinali disponibili, come gli inibitori dell'acetilcolinesterasi e gli antagonisti dei recettori dell'N-metil-D-aspartato, utilizzati nella terapia dell'AD, forniscono solo un sollievo sintomatico e la loro importanza clinica rimane controversa (Ding et al., 2022). I farmaci utilizzati per il trattamento delle ND non sono risolutivi e determinano spesso effetti avversi che possono creare disagio, anche notevole, nei pazienti che li assumono. I farmaci di sintesi hanno attività rivolta verso un bersaglio singolo, a differenza dei fitopreparati, che pur nella loro complessità, agiscono generalmente su più bersagli. Numerosi composti naturali possiedono effetti neuroprotettivi, esercitando attività antiossidanti, antinfiammatorie, antitrombotiche, antiapoptotiche, neurotrofiche. Inoltre, possono inibire l'attività di alcuni enzimi, quali, ad esempio, l'acetilcolinesterasi e le monoamino ossidasi (Sharifi-Rad et al., 2020). La neurodegenerazione è associata a una moltitudine di processi patologici e l'approccio a tale problematica dovrebbe contemplare la multifattorialità delle cause scatenanti, favorendo *in primis* la prevenzione della morte cellulare ed il ripristino della funzione dei neuroni danneggiati (Rahman et al., 2021).

Numerose sono le piante che hanno dimostrato di poter svolgere un ruolo essenziale nella prevenzione e terapia delle ND attraverso l'attivazione di meccanismi cellulari e molecolari, come la soppressione dell'apoptosi, mediata da un aumento dell'espressione di agenti anti-apoptotici e una diminuzione dell'espressione e dell'attività di proteine pro-apoptotiche, l'attenuazione delle risposte infiammatorie e la soppressione dell'espressione e della funzione di citochine proinfiammatorie, nonché il miglioramento dell'attività di molecole antiossidanti mediate dalla superossido dismutasi e dalla catalasi, la modulazione di vie di segnalazione intracellulare con attività regolatrice sulle cascate infiammatorie, sull'apoptosi e sulle vie associate allo stress ossidativo (Farzaei et al., 2018).

Nel presente lavoro, sono state analizzate alcune tra le molte piante utili nella prevenzione e trattamento dell'AD, tra cui, piante con azione sulla formazione di placche A β e NFT come *Bacopa monnieri* (L.) Pennell, *Withania somnifera* (L.) Dunal, *Crocus sativus* L., *Curcuma longa* L., e piante ad azione multifattoriale, quali *Arthrospira platensis* (Nordstedt) Gomont, *Boswellia* spp. e *Rosmarinus officinalis* L.

Sulla base della complessità e non ancora completamente nota eziologia dell'AD, il concetto di un trattamento che abbia bersagli multipli coincide con le caratteristiche dei prodotti naturali. Nonostante sia considerata una strategia sicura, l'uso clinico dei fitoterapici per il trattamento delle ND è ancora raro, a causa della mancanza di studi clinici sufficienti a supportarne l'efficacia. Di conseguenza, prima che i composti naturali possano essere approvati come approcci farmacologici, sono necessari studi futuri per capire in modo più approfondito i meccanismi con cui si manifestano i loro effetti terapeutici e per trovare nuovi sistemi per facilitarne il passaggio attraverso la barriera ematoencefalica.

L'utilizzo di più fitoterapici in combinazione potrebbe svolgere un ruolo significativo nel futuro trattamento clinico delle ND, incluso l'AD. L'uso dei fitoterapici, combinato con la ricerca volta all'individuazione di composti in grado di inibire la neuroinfiammazione, la deposizione di A β e l'iperfosforilazione della proteina Tau, potrebbe fornire una via terapeutica complementare nell'affrontare i problemi associati all'AD.

Bibliografia

Abdel-Tawab M, Werz O, Schubert-Zsilavec M. *Boswellia serrata*: an overall assessment of in vitro, preclinical, pharmacokinetic and clinical data. *Clin Pharmacokinet*. 2011; 50:349-369.

Agenzia europea per i medicinali: monografia comunitaria sulle erbe
<https://www.ema.europa.eu/en/homepage>.

Alavizadeh SH, Hosseinzadeh H. Bioactivity assessment and toxicity of crocin: a comprehensive review. *Food Chem Toxicol*. 2014; 64:65-80.

Al-Yasiry AR, Kiczorowska B. Frankincense-therapeutic properties. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2016; 70:380-391.

Anadón A, Martínez-Larrañaga MR, Martínez MA, Ares I, García-Risco MR, Señoráns FJ, Reglero G. Acute oral safety study of rosemary extracts in rats. *J Food Prot*. 2008; 71:790-795.

Andrade S, Nunes D, Dabur M, Ramalho MJ, Pereira MC, Loureiro JA. Therapeutic Potential of Natural Compounds in Neurodegenerative Diseases: Insights from Clinical Trials. *Pharmaceutics*. 2023; 15:212.

Baluchnejadmojarad T, Mohamadi-Zarch SM, Roghani M. Safranal, an active ingredient of saffron, attenuates cognitive deficits in amyloid β -induced rat model of Alzheimer's disease: underlying mechanisms. *Metab Brain Dis*. 2019; 34:1747-1759.

Bashir A, Nabi M, Tabassum N, Afzal S, Ayoub M. An updated review on phytochemistry and molecular targets of *Withania somnifera* (L.) Dunal (Ashwagandha). *Front Pharmacol*. 2023; 14:1049334.

Benson S, Downey LA, Stough C, Wetherell M, Zangara A, Scholey A. An acute, double-blind, placebo-controlled cross-over study of 320 mg and 640 mg doses of *Bacopa monnieri* (CDRI 08) on multitasking stress reactivity and mood. *Phytother Res*. 2014; 28:551-559.

Bharate SS, Kumar V, Singh G, Singh A, Gupta M, Singh D, Kumar A, Vishwakarma RA, Bharate SB. Preclinical Development of *Crocus sativus*-Based Botanical Lead IIIIM-141 for Alzheimer's Disease: Chemical Standardization, Efficacy, Formulation Development, Pharmacokinetics, and Safety Pharmacology. *ACS Omega*. 2018; 3:9572-9585.

Bisceglia F, Seghetti F, Serra M, Zusso M, Gervasoni S, Verga L, Vistoli G, Lanni C, Catanzaro M, De Lorenzi E, Belluti F. Prenylated Curcumin Analogues as Multipotent Tools To Tackle Alzheimer's Disease. *ACS Chem Neurosci*. 2019; 10:1420-1433. .

Borges RS, Ortiz BLS, Pereira ACM, Keita H, Carvalho JCT. *Rosmarinus officinalis* essential oil: A review of its phytochemistry, anti-inflammatory activity, and mechanisms of action involved. *J Ethnopharmacol*. 2019; 229:29-45.

Butterfield DA, Halliwell B. Oxidative stress, dysfunctional glucose metabolism and Alzheimer disease. *Nat Rev Neurosci*. 2019; 20:148-160.

Calabrese C, Gregory WL, Leo M, Kraemer D, Bone K, Oken B. Effects of a standardized *Bacopa monnieri* extract on cognitive performance, anxiety, and depression in the elderly: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Altern Complement Med*. 2008; 14:707-713.

Camandola S, Plick N, Mattson MP. Impact of Coffee and Cacao Purine Metabolites on Neuroplasticity and Neurodegenerative Disease. *Neurochem Res*. 2019; 44:214-227.

Cardone L, Castronuovo D, Perniola M, Cicco N, Candido V. Saffron (*Crocus sativus* L.), the king of spices: An overview. *Scientia Horticulturae* 2020; 272: 109560.

Pfeiffer C, Bauer T, Surek B, Schömig E, Gründemann D. Cyanobacteria produce high levels of ergothioneine, *Food Chemistry* 2011; 4:1766-1769.

Chaiyana W, Okonogi S. Inhibition of cholinesterase by essential oil from food plant. *Phytomedicine*. 2012; 19:836-839.

Cheah IK, Halliwell B. Ergothioneine, recent developments. *Redox Biol*. 2021; 42:101868.

Cimino C, Maurel OM, Musumeci T, Bonaccorso A, Drago F, Souto EMB, Pignatello R, Carbone C. Essential Oils: Pharmaceutical Applications and Encapsulation Strategies into Lipid-Based Delivery Systems. *Pharmaceutics*. 2021; 13:327.

Cioanca O, Hritcu L, Mihasan M, Trifan A, Hancianu M. Inhalation of coriander volatile oil increased anxiolytic-antidepressant-like behaviors and decreased oxidative status in beta-amyloid (1-42) rat model of Alzheimer's disease. *Physiol Behav*. 2014; 131:68-74.

Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). European Union herbal monograph on *Curcuma longa* L., rhizoma. EMA/HMPC/329755/2017, Final 2018. Available from: www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-monograph/final-european-union-herbalmonograph-curcuma-longa-l-rhizoma-revision-1en.pdf.

Cui D, Chen Y, Ye B, Guo W, Wang D, He J. Natural products for the treatment of neurodegenerative diseases. *Phytomedicine*. 2023; 121:155101.

Dalla Costa V, Filippini R, Zusso M, Caniato R, Piovan A. Monitoring of Spirulina Flakes and Powders from Italian Companies. *Molecules*. 2022; 27:3155.

Das R, Rauf A, Akhter S, Islam MN, Emran TB, Mitra S, Khan IN, Mubarak MS. Role of Withaferin A and Its Derivatives in the Management of Alzheimer's Disease: Recent Trends and Future Perspectives. *Molecules*. 2021; 26:3696.

de A Boleti AP, de O Cardoso PH, F Frihling BE, E Silva PS, de Moraes LFRN, Migliolo L. Adipose tissue, systematic inflammation, and neurodegenerative diseases. *Neural Regen Res*. 2023; 18:38-46.

De Lorenzi E, Franceschini D, Contardi C, Di Martino RMC, Seghetti F, Serra M, Bisceglia F, Pagetta A, Zusso M, Belluti F. Modulation of Amyloid β -Induced Microglia Activation and Neuronal Cell Death by Curcumin and Analogues. *Int J Mol Sci.* 2022; 23:4381.

Dewick PM *Chimica, biosintesi e bioattività delle sostanze naturali* (Piccin 2014) John Wiley and Son; West Sussex, Regno Unito: 2009.

Di Paolo M, Papi L, Gori F, Turillazzi E. Natural Products in Neurodegenerative Diseases: A Great Promise but an Ethical Challenge. *Int J Mol Sci.* 2019; 20:5170.

Ding MR, Qu YJ, Hu B, An HM. Signal pathways in the treatment of Alzheimer's disease with traditional Chinese medicine. *Biomed Pharmacother.* 2022; 152:113208.

Dodda S, Madireddy RK, Alluri VK, Golakoti T, Sengupta K. Safety assessment of a novel water-soluble extract of *Boswellia serrata* gum resin: acute toxicity, 90-day sub-chronic toxicity, Ames' bacterial reverse mutation, and in vivo micronucleus assays. *Toxicol Mech Methods.* 2022; 32:362-372.

D'Onofrio G, Nabavi SM, Sancarlo D, Greco A, Pieretti S. *Crocus Sativus* L. (Saffron) in Alzheimer's Disease Treatment: Bioactive Effects on Cognitive Impairment. *Curr Neuropharmacol.* 2021; 19:1606-1616.

Dubey S, Kallubai M, Subramanyam R. Improving the inhibition of β -amyloid aggregation by withanolide and withanoside derivatives. *Int J Biol Macromol.* 2021; 173:56-65.

Dubey T, Chinnathambi S. Brahmi (*Bacopa monnieri*): An ayurvedic herb against the Alzheimer's disease. *Arch Biochem Biophys.* 2019; 676:108153.

Efferth T, Oesch F. Anti-inflammatory and anti-cancer activities of frankincense: Targets, treatments and toxicities. *Semin Cancer Biol.* 2022; 80:39-57.

El Asbahani A, Miladi K, Badri W, Sala M, Aït Addi EH, Casabianca H, El Mousadik A, Hartmann D, Jilale A, Renaud FN, Elaissari A. Essential oils: from extraction to encapsulation. *Int J Pharm.* 2015; 483:220-43.

El Midaoui A, Ghzaïel I, Vervandier-Fasseur D, Ksila M, Zarrouk A, Nury T, Khallouki F, El Hessni A, Ibrahim SO, Latruffe N, Couture R, Kharoubi O, Brahmi F, Hammami S, Masmoudi-Kouki O, Hammami M, Ghraïri T, Vejux A, Lizard G. Saffron (*Crocus sativus* L.): A Source of Nutrients for Health and for the Treatment of Neuropsychiatric and Age-Related Diseases. *Nutrients.* 2022; 14:597.

ElFar OA, Billa N, Lim HR, Chew KW, Cheah WY, Munawaroh HSH, Balakrishnan D, Show PL. Advances in delivery methods of *Arthrospira platensis* (spirulina) for enhanced therapeutic outcomes. *Bioengineered.* 2022; 13:14681-14718.

Farzaei MH, Shahpiri Z, Mehri MR, Bahramsoltani R, Rezaei M, Raeesdana A, Rahimi R. Medicinal Plants in Neurodegenerative Diseases: Perspective of Traditional Persian Medicine. *Curr Drug Metab.* 2018; 19:429-442.

Fatima U, Roy S, Ahmad S, Al-Keridis LA, Alshammari N, Adnan M, Islam A, Hassan MI. Investigating neuroprotective roles of *Bacopa monnieri* extracts: Mechanistic insights and therapeutic implications. *Biomed Pharmacother.* 2022; 153:113469.

Finamore A, Palmery M, Bensehaila S, Peluso I. Antioxidant, Immunomodulating, and Microbial-Modulating Activities of the Sustainable and Ecofriendly *Spirulina*. *Oxid Med Cell Longev.* 2017; 2017:3247528.

Gahtani RM, Shoaib S, Hani U, Jayachithra R, Alomary MN, Chauhan W, Jahan R, Tufail S, Ansari MA. Combating Parkinson's disease with plant-derived polyphenols: Targeting oxidative stress and neuroinflammation. *Neurochem Int.* 2024; 178:105798.

Ghasemzadeh Rahbardar M, Hosseinzadeh H. Therapeutic effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and its active constituents on nervous system disorders. *Iran J Basic Med Sci.* 2020; 23:1100-1112.

Ghasemzadeh Rahbardar M, Hosseinzadeh H. Toxicity and safety of rosemary (*Rosmarinus officinalis*): a comprehensive review. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2024. doi: 10.1007/s00210-024-03336-9.

Gomaa AA, Farghaly HA, Abdel-Wadood YA, Gomaa GA. Potential therapeutic effects of boswellic acids/*Boswellia serrata* extract in the prevention and therapy of type 2 diabetes and Alzheimer's disease. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2021; 394:2167-2185.

Grosshagauer S, Kraemer K, Somoza V. The True Value of *Spirulina*. *J Agric Food Chem.* 2020; 68:4109-4115.

Gustavsson A, Norton N, Fast T, Frölich L, Georges J, Holzapfel D, Kirabali T, Krolak-Salmon P, Rossini PM, Ferretti MT, Lanman L, Chadha AS, van der Flier WM. Global estimates on the number of persons across the Alzheimer's disease continuum. *Alzheimers Dement.* 2023; 19:658-670.

Habtemariam S. The Therapeutic Potential of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) Diterpenes for Alzheimer's Disease. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2016; 2016:2680409.

Hassanzadeh K, Buccarello L, Dragotto J, Mohammadi A, Corbo M, Feligioni M. Obstacles against the Marketing of Curcumin as a Drug. *Int J Mol Sci.* 2020; 21:6619.

Holcomb LA, Dhanasekaran M, Hitt AR, Young KA, Riggs M, Manyam BV. *Bacopa monniera* extract reduces amyloid levels in PSAPP mice. *J Alzheimers Dis.* 2006; 9:243-251.

https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-monograph/final-community-herbal-monograph-rosmarinus-officinalis-l-aetheroleum_en.pdf.

Ionescu-Tucker A, Cotman CW. Emerging roles of oxidative stress in brain aging and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 2021; 107:86-95.

Istituto Superiore di Sanità- EpiCentro - L'epidemiologia per la sanità pubblica – Malattia di Alzheimer <https://www.epicentro.iss.it/alzheimer/>.

Istituto Superiore di Sanità-EpiCentro - L'epidemiologia per la sanità pubblica - Malattia di Parkinson, 2013 Parkinson <https://www.epicentro.iss.it/parkinson/>.

Jamwal R. Bioavailable curcumin formulations: A review of pharmacokinetic studies in healthy volunteers. *J Integr Med.* 2018; 16:367-374.

Johannsen DL, Ravussin E. The role of mitochondria in health and disease. *Curr Opin Pharmacol.* 2009; 9:780-786.

Kalaivani P, Siva R, Gayathri V, Langade D. Ninety-day repeated dose toxicity of Ashwagandha (*Withania somnifera*) root extract in Wistar rats. *Toxicol Rep.* 2023; 11:189-198.

Kasarla SS, Borse SP, Kumar Y, Sharma N, Dikshit M. *In vitro* effect of *Withania somnifera*, AYUSH-64, and remdesivir on the activity of CYP-450 enzymes: Implications for possible herb-drug interactions in the management of COVID-19. *Front Pharmacol.* 2022; 13:973768.

Khan S, Barve KH, Kumar MS. Recent Advancements in Pathogenesis, Diagnostics and Treatment of Alzheimer's Disease. *Curr Neuropharmacol.* 2020; 18:1106-1125.

Kolaj I, Imindu Liyanage S, Weaver DF. Phenylpropanoids and Alzheimer's disease: A potential therapeutic platform. *Neurochem Int.* 2018; 120:99-111.

Kongkeaw C, Dilokthornsakul P, Thanarangsarit P, Limpeanchob N, Norman Scholfield C. Meta-analysis of randomized controlled trials on cognitive effects of *Bacopa monnieri* extract. *J Ethnopharmacol.* 2014; 151:528-535.

Kooshki L, Zarneshan SN, Fakhri S, Moradi SZ, Echeverria J. The pivotal role of JAK/STAT and IRS/PI3K signaling pathways in neurodegenerative diseases: Mechanistic approaches to polyphenols and alkaloids. *Phytomedicine.* 2023; 112:154686.

Kotha RR, Luthria DL. Curcumin: Biological, Pharmaceutical, Nutraceutical, and Analytical Aspects. *Molecules.* 2019; 24:2930.

Kumar V, Sami N, Kashav T, Islam A, Ahmad F, Hassan MI. Protein aggregation and neurodegenerative diseases: From theory to therapy. *Eur J Med Chem.* 2016; 124:1105-1120.

Lao CD, Ruffin MT 4th, Normolle D, Heath DD, Murray SI, Bailey JM, Boggs ME, Crowell J, Rock CL, Brenner DE. Dose escalation of a curcuminoid formulation. *BMC Complement Altern Med.* 2006; 6:10.

Li J, Jia B, Cheng Y, Song Y, Li Q, Luo C. Targeting Molecular Mediators of Ferroptosis and Oxidative Stress for Neurological Disorders. *Oxid Med Cell Longev.* 2022; 2022:3999083.

Lizama BN, Chu CT. Neuronal autophagy and mitophagy in Parkinson's disease. *Mol Aspects Med.* 2021; 82:100972.

Lobo-Jarne T, Ugalde C. Respiratory chain supercomplexes: Structures, function and biogenesis. *Semin Cell Dev Biol.* 2018; 76:179-190.

Malattie del sistema extrapiramidale <https://www.icsmaugeri.it/patologie/malattie-del-sistema-extrapiramidale>.

Mattar JM, Majchrzak M, Iannucci J, Bartman S, Robinson JK, Grammas P. Sex Differences in Metabolic Indices and Chronic Neuroinflammation in Response to Prolonged High-Fat Diet in ApoE4 Knock-In Mice. *Int J Mol Sci.* 2022; 23:3921.

Maugini E., Maleci Bini L., Mariotti Lippi M., *Botanica Farmaceutica IX edizione* (Piccin 2014).

Meléndez-Martínez AJ. An Overview of Carotenoids, Apocarotenoids, and Vitamin A in Agro-Food, Nutrition, Health, and Disease. *Mol Nutr Food Res.* 2019; 63:e1801045.

Menniti-Ippolito F, Ippoliti I, Pastorelli AA, Altieri I, Scalise F, De Santis B, Debegnach F, Brera C, Pacifici R, Pichini S, Pellegrini M, Rotolo MC, Graziano S, Palazzino G, Multari G, Gallo FR, Neri B, Giannetti L, Russo K, Fedrizzi G, Bonan S, Mazzanti G, Moro PA, Salvi E, Firenzuoli F, Valeri A, Moretti U, Traversa G, Silano M, Stacchini P, Boniglia C. Turmeric (*Curcuma longa* L.) food supplements and hepatotoxicity: an integrated evaluation approach. *Ann Ist Super Sanità.* 2020; 56:462-469. d

Milić N, Milosević N, Golocorbin Kon S, Bozić T, Abenavoli L, Borrelli F. Warfarin interactions with medicinal herbs. *Nat Prod Commun.* 2014; 9:1211-1216.

Mirza FJ, Zahid S, Amber S, Sumera, Jabeen H, Asim N, Ali Shah SA. Multitargeted Molecular Docking and Dynamic Simulation Studies of Bioactive Compounds from *Rosmarinus officinalis* against Alzheimer's Disease. *Molecules.* 2022; 27:7241.

Mohamed TM, Youssef MAM, Bakry AA, El-Keiy MM. Alzheimer's disease improved through the activity of mitochondrial chain complexes and their gene expression in rats by boswellic acid. *Metab Brain Dis.* 2021; 36:255-264.

Morgan A, Stevens J. Does *Bacopa monnieri* improve memory performance in older persons? Results of a randomized, placebo-controlled, double-blind trial. *J Altern Complement Med.* 2010; 16:753-759.

Mukherjee PK, Banerjee S, Biswas S, Das B, Kar A, Katiyar CK. *Withania somnifera* (L.) Dunal - Modern perspectives of an ancient Rasayana from Ayurveda. *J Ethnopharmacol.* 2021; 264:113157.

Nemetchek MD, Stierle AA, Stierle DB, Lurie DI. The Ayurvedic plant *Bacopa monnieri* inhibits inflammatory pathways in the brain. *J Ethnopharmacol.* 2017; 197:92-100.

Ng YP, Or TC, Ip NY. Plant alkaloids as drug leads for Alzheimer's disease. *Neurochem Int.* 2015; 89:260-70.

Nieto G, Ros G, Castillo J. Antioxidant and Antimicrobial Properties of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*, L.): A Review. *Medicines (Basel)*. 2018; 5:98.

Nirvanashetty S, Panda SK, Jackson-Michel S. Safety Evaluation of Oleoresin-Based Turmeric Formulation: Assessment of Genotoxicity and Acute and Subchronic Oral Toxicity. *Biomed Res Int.* 2022; 2022:5281660.

Nixon RA. The role of autophagy in neurodegenerative disease. *Nat Med.* 2013; 19:983-997.

Noguchi-Shinohara M, Ono K, Hamaguchi T, Nagai T, Kobayashi S, Komatsu J, Samuraki-Yokohama M, Iwasa K, Yokoyama K, Nakamura H, Yamada M. Safety and efficacy of *Melissa officinalis* extract containing rosmarinic acid in the prevention of Alzheimer's disease progression. *Sci Rep.* 2020; 10:18627.

Oudhia, Pankaj (2004). "Bramhi (*Bacopa monnieri*)". Società per la Gestione del Partenio (SOPAM). Extract 2017.

Pereira P, Tysca D, Oliveira P, da Silva Brum LF, Picada JN, Ardenghi P. Neurobehavioral and genotoxic aspects of rosmarinic acid. *Pharmacol Res.* 2005; 52:199-203.

Perry NS, Houghton PJ, Sampson J, Theobald AE, Hart S, Lis-Balchin M, Houlst JR, Evans P, Jenner P, Milligan S, Perry EK. In-vitro activity of *S. lavandulaefolia* (Spanish sage) relevant to treatment of Alzheimer's disease. *J Pharm Pharmacol.* 2001; 53:1347-1356.

Piovan A, Battaglia J, Filippini R, Dalla Costa V, Facci L, Argentini C, Pagetta A, Giusti P, Zusso M. Pre- and Early Post-treatment With *Arthrospira platensis* (*Spirulina*) Extract Impedes Lipopolysaccharide-triggered Neuroinflammation in Microglia. *Front Pharmacol.* 2021; 12:724993.

Piovan A, Filippini R, Corbioli G, Costa VD, Giunco EMV, Burbello G, Pagetta A, Giusti P, Zusso M. Carotenoid Extract Derived from *Euglena gracilis* Overcomes Lipopolysaccharide-Induced Neuroinflammation in Microglia: Role of NF- κ B and Nrf2 Signaling Pathways. *Mol Neurobiol.* 2021; 58:3515-3528.

Planchar d MS, Samel MA, Kumar A, Rangachari V. The natural product betulinic acid rapidly promotes amyloid- β fibril formation at the expense of soluble oligomers. *ACS Chem Neurosci.* 2012; 3:900-908.

Prabu PC, Panchapakesan S. Prenatal developmental toxicity evaluation of *Withania somnifera* root extract in Wistar rats. *Drug Chem Toxicol.* 2015; 38:50-56.

Ribeiro-Santos R, Carvalho-Costa D, Cavaleiro C, Costa HS, Albuquerque TG, Castilho MC, Ramos F, Melo NR, Sanches-Silva A. A new vision on an ancient aromatic plant: the rosmarin (*Rosmarinus officinalis* L.). *Trends in Food Science & Technology.* 2015; 45:355-368.

Racz LZ, Racz CP, Pop LC, Tomoaia G, Mocanu A, Barbu I, Sárközi M, Roman I, Avram A, Tomoaia-Cotisel M, Toma VA. Strategies for Improving Bioavailability, Bioactivity, and Physical-Chemical Behavior of Curcumin. *Molecules*. 2022; 27:6854.

Rahman MH, Bajgai J, Fadriqela A, Sharma S, Trinh TT, Akter R, Jeong YJ, Goh SH, Kim CS, Lee KJ. Therapeutic Potential of Natural Products in Treating Neurodegenerative Disorders and Their Future Prospects and Challenges. *Molecules*. 2021; 26:5327.

Rajabian A, Sadeghnia H, Fanoudi S, Hosseini A. Genus *Boswellia* as a new candidate for neurodegenerative disorders. *Iran J Basic Med Sci*. 2020; 23:277-286.

Rostagno AA. Pathogenesis of Alzheimer's Disease. *Int J Mol Sci*. 2022; 24:107.

Savranoglu S, Tumer TB. Inhibitory effects of spirulina platensis on carcinogen-activating cytochrome P450 isozymes and potential for drug interactions. *Int J Toxicol*. 2013; 32:376-384.

Sen D, Rathee S, Pandey V, Jain SK, Patil UK. Comprehensive Insights into Pathophysiology of Alzheimer's Disease: Herbal Approaches for Mitigating Neurodegeneration. *Curr Alzheimer Res*. 2024. doi: 10.2174/0115672050309057240404075003

Sharifi-Rad M, Lankatillake C, Dias DA, Docea AO, Mahomoodally MF, Lobine D, Chazot PL, Kurt B, Tumer TB, Moreira AC, Sharopov F, Martorell M, Martins N, Cho WC, Calina D, Sharifi-Rad J. Impact of Natural Compounds on Neurodegenerative Disorders: From Preclinical to Pharmacotherapeutics. *J Clin Med*. 2020; 9:1061.

Shinde S, Balasubramaniam AK, Mulay V, Saste G, Girme A, Hingorani L. Recent Advancements in Extraction Techniques of Ashwagandha (*Withania somnifera*) with Insights on Phytochemicals, Structural Significance, Pharmacology, and Current Trends in Food Applications. *ACS Omega*. 2023; 8:40982-41003.

Shoba G, Joy D, Joseph T, Majeed M, Rajendran R, Srinivas PS. Influence of piperine on the pharmacokinetics of curcumin in animals and human volunteers. *Planta Med*. 1998; 64:353-356.

Siddiqui A, Shah Z, Jahan RN, Othman I, Kumari Y. Mechanistic role of boswellic acids in Alzheimer's disease: Emphasis on anti-inflammatory properties. *Biomed Pharmacother*. 2021; 144:112250.

Singh A, Singh D, Tiwari N, Mittal P, Siddiqui MH, Mittal N. Exploring the therapeutic potential of rosemary compounds against Alzheimer's disease through GC-MS and molecular docking analysis. *In Silico Pharmacol*. 2024; 12:63.

Singh K, Bhushan B, Chanchal DK, Sharma SK, Rani K, Yadav MK, Porwal P, Kumar S, Sharma A, Virmani T, Kumar G, Noman AA. Emerging Therapeutic Potential of Cannabidiol (CBD) in Neurological Disorders: A Comprehensive Review. *Behav Neurol*. 2023; 2023:8825358.

Singh P, Paramanik V. Neuromodulating roles of estrogen and phytoestrogens in cognitive therapeutics through epigenetic modifications during aging. *Front Aging Neurosci*. 2022; 14:945076.

Siwek M, Woron J, Wrzosek A, Gupalo J, Chrobak AA. Harder, better, faster, stronger? Retrospective chart review of adverse events of interactions between adaptogens and antidepressant drugs. *Front Pharmacol.* 2023; 14:1271776.

Tafti D, Ehsan M, Xixis KL. Multiple Sclerosis. 2024. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024–.

Tamtaji OR, Heidari-Soureshjani R, Asemi Z, Kouchaki E. The effects of spirulina intake on clinical and metabolic parameters in Alzheimer's disease: A randomized, double-blind, controlled trial. *Phytother Res.* 2023; 37:2957-2964.

Tetali SD, Acharya S, Ankari AB, Nanakram V, Raghavendra AS. Metabolomics of *Withania somnifera* (L.) Dunal: Advances and applications. *J Ethnopharmacol.* 2021; 267:113469.

Tewari D, Chander V, Dhyan A, Sahu S, Gupta P, Patni P, Kalick LS, Bishayee A. *Withania somnifera* (L.) Dunal: Phytochemistry, structure-activity relationship, and anticancer potential. *Phytomedicine.* 2022; 98:153949.

Trotta T, Porro C, Cianciulli A, Panaro MA. Beneficial Effects of Spirulina Consumption on Brain Health. *Nutrients.* 2022; 14:676.

van der Lee R, Buljan M, Lang B, Weatheritt RJ, Daughdrill GW, Dunker AK, Fuxreiter M, Gough J, Gsponer J, Jones DT, Kim PM, Kriwacki RW, Oldfield CJ, Pappu RV, Tompa P, Uversky VN, Wright PE, Babu MM. Classification of intrinsically disordered regions and proteins, in *Chemical Reviews*, vol.114.

Walker EA, Pellegrini MV. *Bacopa monnieri*. 2023. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024

Walker FO. Huntington's Disease. *Semin Neurol.* 2007; 27:143-50.

Wang QL, Li H, Li XX, Cui CY, Wang R, Yu NX, Chen LX. Acute and 30-day oral toxicity studies of administered carnosic acid. *Food Chem Toxicol.* 2012; 50:4348-4355. d

Wei C, Fan J, Sun X, Yao J, Guo Y, Zhou B, Shang Y. Acetyl-11-keto- β -boswellic acid ameliorates cognitive deficits and reduces amyloid- β levels in APPswe/PS1dE9 mice through antioxidant and anti-inflammatory pathways. *Free Radic Biol Med.* 2020; 150:96-108.

Witter S, Witter R, Vilu R, Samoson A. Medical Plants and Nutraceuticals for Amyloid- β Fibrillation Inhibition. *J Alzheimers Dis Rep.* 2018; 2:239-252.

Wu, Q., Liu, L., Miron, A. et al. The antioxidant, immunomodulatory, and anti-inflammatory activities of Spirulina: an overview. *Arch Toxicol* 2016; 90:1817-1840.

Yamamoto J, Yamada K, Naemura A, Yamashita T, Arai R. Testing various herbs for antithrombotic effect. *Nutrition.* 2005; 21:580-587.

Zhang R, Zeng M, Zhang X, Zheng Y, Lv N, Wang L, Gan J, Li Y, Jiang X, Yang L. Therapeutic Candidates for Alzheimer's Disease: Saponins. *Int J Mol Sci.* 2023; 24:10505.

Zusso M, Mercanti G, Belluti F, Di Martino RMC, Pagetta A, Marinelli C, Brun P, Ragazzi E, Lo R, Stifani S, Giusti P, Moro S. Phenolic 1,3-diketones attenuate lipopolysaccharide-induced inflammatory response by an alternative magnesium-mediated mechanism. *Br J Pharmacol.* 2017; 174:1090-1103.