

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO

CORSO DI LAUREA IN SCIENZE FARMACEUTICHE APPLICATE

TESI DI LAUREA

**L'utilizzo di estratto invecchiato di aglio (*Allium sativum* L.)
nella prevenzione delle malattie neurodegenerative**

RELATORE: CHIAR.MA PROF.SSA PIOVAN ANNA

LAUREANDO: MAZZETTO ALESSANDRO

ANNO ACCADEMICO: 2021-2022

*Ad A. B., una vampiretta
che non fu l'aglio ad allontanare,
ma la crudeltà di un mondo
che non si ferma mai.*

Sommario

1. Introduzione	4
2. L'aglio nella storia e nella tradizione	5
2.1. Medicina tradizionale europea	5
2.1.1. Antico Egitto	5
2.1.2. Antica Grecia	5
2.1.3. Antica Roma	5
2.2. Ayurveda.....	6
3. Aspetti botanici e morfologici	7
4. Fitochimica	9
4.1. Profilo nutrizionale	9
4.1.1. Valori nutrizionali	9
4.1.2. Minerali.....	9
4.1.3. Vitamine.....	9
4.2. Composti organici dello zolfo.....	10
4.2.1. Allicina e derivati liposolubili.....	11
4.2.2. Composti idrosolubili.....	12
4.2.3. Attività antiossidante.....	12
5. Estratto invecchiato di aglio	14
5.1. Composizione.....	14
5.2. Utilizzi.....	16
6. Malattie neurodegenerative	17
6.1. Classificazione	17
6.1.1. Amiloidosi.....	17
6.1.2. Tauopatie.....	17
6.1.3. Sinucleinopatie.....	18
6.1.4. Proteinopatie TDP-43	18
6.2. Il ruolo delle risposte immunitarie	18
6.3. Il ruolo dello stress ossidativo.....	19
6.4. Gli effetti neuroprotettivi dell'aglio e dei suoi derivati	19
6.4.1. Allicina.....	19
6.4.2. Estratto invecchiato di aglio.....	20
7. Conclusioni	22
Bibliografia	23

1. Introduzione

L'aglio (*Allium sativum* L.) è un alimento molto diffuso a livello mondiale. Secondo i dati Eurostat¹, nell'ultimo decennio la superficie di terreno all'interno dell'Unione Europea destinata alla produzione di aglio ha conosciuto un consistente aumento, fino ad arrivare a quasi 50.000 ettari nel 2021 (Tabella 1), per un totale di 467.850 tonnellate raccolte. Il primo Paese europeo per produzione di aglio è la Spagna, che ricopre quasi il 60% della superficie totale. L'Italia si trova attualmente al quarto posto.

Tabella 1. Superficie utilizzata per la produzione di aglio, espressa in migliaia di ettari, dei cinque principali produttori europei nel periodo 2013-2021 (dati Eurostat).

Territorio	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021
Unione Europea	35,74	37,68	37,19	41,75	44,21	46,93	46,32	46,54	49,81
Spagna	20,20	20,96	20,00	24,32	26,63	28,43	27,35	27,94	29,83
Romania	5,98	6,13	6,32	5,89	5,65	5,88	5,76	5,26	5,31
Francia	2,67	2,60	2,57	2,86	2,81	2,84	3,74	3,23	4,11
Italia	3,13	3,18	3,04	3,30	3,47	3,57	3,41	3,29	3,41
Polonia	0,00	1,10*	1,20*	1,24*	1,39*	1,45*	1,40*	1,40	2,00

*dati stimati

La parola *aglio*, derivata dal latino *allium*, troverebbe la sua origine nella lingua accadica, in cui il termine *gidlu* era utilizzato per indicare le trecce di aglio o di cipolla (Kroonen 2012). Il corrispettivo inglese *garlic* deriva invece dall'unione dei due termini anglosassoni *gar* ("spada") e *leac* ("porro"), in riferimento alla forma degli spicchi².

L'aglio è una pianta conosciuta e utilizzata da millenni, e il suo uso è attestato pressoché in tutte le civiltà (Rivlin 2001). La grande diffusione di questa pianta è certamente dovuta alle sue peculiari qualità organolettiche, che derivano dai numerosi composti organici solforati contenuti all'interno del bulbo (Block 1992). Oltre al suo ampio utilizzo in cucina, è però noto anche il suo impiego come erba medicinale: già il *Codex Ebers* egizio, risalente al XVI secolo a. C., ne descrive l'uso come trattamento per diversi disturbi (Von Klein 1905, Aboelsoud 2009). Recentemente, diversi studi hanno dimostrato le proprietà antiossidanti, ipolipemizzanti, ipotensive, antitrombotiche e antimicrobiche dei composti solforati dell'aglio (Lawson 1998, Bongiorno *et al.* 2008, Tsai *et al.* 2012), giustificando il suo utilizzo per molti dei trattamenti conosciuti dalla medicina tradizionale.

Al giorno d'oggi sono disponibili diverse formulazioni per l'assunzione di aglio o suoi derivati a scopo salutistico. La presente tesi ha lo scopo di indagare i potenziali effetti preventivi dell'estratto invecchiato di aglio nei riguardi di malattie neurodegenerative come il morbo di Alzheimer, avvalendosi degli studi scientifici disponibili e reperibili attraverso diversi motori di ricerca (Google Scholar, PubMed).

A questo scopo, si ritiene utile tracciare innanzitutto un panorama storico dei numerosi utilizzi che l'aglio ha avuto nel corso della sua lunga storia. Dopodiché saranno esaminati gli aspetti botanici e morfologici di questa pianta e le principali differenze tra le diverse varietà conosciute. Saranno presi in considerazione i più importanti composti fitochimici contenuti nell'aglio in relazione con le loro proprietà fisico-chimiche e farmacologiche. Particolare attenzione sarà rivolta alle proprietà antiossidanti e antinfiammatorie dei composti dell'aglio, in quanto direttamente legate alla protezione delle cellule neuronali che è il *focus* di questa tesi. Sarà fornita una panoramica generale su quelle che sono le malattie neurodegenerative più comuni e più studiate, e sul ruolo che lo stress ossidativo e le risposte immunitarie svolgono nella loro patogenesi e nella loro progressione.

¹ I dati sulla produzione di aglio sono consultabili nel sito internet della Commissione Europea, all'indirizzo https://ec.europa.eu/eurostat/databrowser/view/APRO_CPSH1__custom_3209958/default/table?lang=en

² L'etimologia della parola inglese è reperibile nel sito internet "Online Etymology Dictionary" all'indirizzo <https://www.etymonline.com/word/garlic>.

2. L'aglio nella storia e nella tradizione

Nel corso della Storia, testimonianze dell'impiego di aglio per scopi alimentari e terapeutici si ritrovano in quasi tutte le civiltà. È interessante notare che gli utilizzi di questa pianta come erba medicinale sono pressoché gli stessi anche in civiltà che non sono mai entrate in contatto tra loro, o che lo hanno fatto solo in minima parte (Rivlin 2001).

Di seguito è proposta una breve descrizione dei vari utilizzi dell'aglio nella medicina tradizionale e nel folklore, allo scopo di evidenziarne i tratti comuni e confrontarli con i risultati messi in evidenza dalla ricerca scientifica.

2.1. Medicina tradizionale europea

2.1.1. Antico Egitto

Il *Codex Ebers* o *Papiro Ebers*, datato all'anno 1550 a. C. (Von Klein 1905), è uno dei più antichi trattati di medicina finora rinvenuti. Stando alla traduzione inglese del documento, pubblicata da Cyril P. Bryan nel 1930, l'aglio è suggerito per il trattamento di diversi disturbi e malattie: gli enoliti erano usati per lavaggi locali nella regolazione del ciclo mestruale; lavaggi con aglio erano consigliati per prevenire le infezioni vaginali; questa pianta compare in una complessa miscela utilizzata per il corretto funzionamento del cuore; un impasto a base di aglio era usato per il trattamento locale di ascessi e rigonfiamenti. L'uso forse più curioso di questa pianta riportato nel Papiro Ebers consisteva nel porre delle teste di aglio all'entrata di una tana di serpente per evitare che uscisse fuori.

Questi numerosi utilizzi dell'aglio nella medicina tradizionale dell'antico Egitto testimoniano l'importanza che questa pianta rivestiva già in un'epoca così remota, soprattutto per la sua azione antimicrobica che, come sarà riportato più avanti in questa tesi, è stata ampiamente confermata dagli studi scientifici moderni.

2.1.2. Antica Grecia

Come riportato da Rivlin (2001), in Grecia l'aglio era associato con la forza e le prestazioni fisiche. Faceva parte della dieta dei militari ed era dato da mangiare agli atleti che dovevano partecipare alle Olimpiadi.

L'aglio era un alimento basilare nell'antica Grecia. Totelin (2015) riporta che le sue proprietà organolettiche erano ben conosciute e apprezzate, e sono riportate anche in numerose opere comiche dell'epoca, con riferimento al suo effetto sull'alito di chi ne consuma gli spicchi. Stando a quanto riportato dallo storico Filocoro, vissuto nel terzo secolo a. C., questa proprietà era sfruttata dalle donne che partecipavano alle Sciroforie, feste che si svolgevano nell'antica Atene all'inizio dell'estate e alle quali erano ammesse soltanto le donne sposate, per tenere lontani i loro mariti e astenersi così dall'attività sessuale.

Secondo gli scritti di Ippocrate (V-IV secolo a. C.), l'aglio era utilizzato dalle donne anche come test di fertilità: si poneva una testa di aglio a livello vaginale per un giorno, e poi si verificava se l'alito della donna avesse assunto l'odore dell'aglio: se ciò accadeva, significava che la donna poteva rimanere incinta; altrimenti, era considerata infertile. L'aglio poteva essere utilizzato anche come rimedio per rimuovere gli impedimenti alla fertilità femminile, assumendolo assieme al succo di silfio (un'antica pianta, oggi estinta e di difficile identificazione, probabilmente appartenente al genere *Ferula* delle Apiaceae) sotto forma di ovulo vaginale.

2.1.3. Antica Roma

Rivlin (2001) descrive per gli antichi romani pressoché gli stessi usi che ne facevano i greci: l'aglio era consumato da militari e marinai come un aiuto per affrontare grandi fatiche fisiche.

Plinio il Vecchio, uno scrittore naturalista vissuto tra il 23 e il 79 d. C. e autore della famosa enciclopedia *Naturalis Historia*, lo consigliava per tenere lontani serpenti e scorpioni, e come rimedio per i morsi degli animali selvatici, sia mangiato che come applicazione topica. Egli riporta una sessantina di usi di questa pianta, tra i quali: in combinazione con la centaurea, per gli edemi; insieme ad un fico, oppure insieme a vino e coriandolo, per facilitare l'evacuazione; bollito o mischiato con il latte, per l'asma; sempre mescolato nel vino, per l'itterizia (Plinio fa risalire questo uso a Parassagora); pestato e mischiato in acqua e aceto, come gargarismi per gli ascessi tonsillari; sempre pestato e mischiato in aceto, contro il mal di denti; bollito nel latte oppure pestato insieme al formaggio morbido, per il catarro³.

2.2. Ayurveda

Nella medicina tradizionale indiana, l'aglio (chiamato *lashuna*) è un alimento molto utilizzato ed è menzionato dagli scritti più autorevoli.

Kashyapa, uno dei saggi vedici venerati nell'induismo, nel testo a lui attribuito, "Kashyapa Samhita", riporta che l'aglio aumenta la longevità, protegge il corpo dalle malattie, migliora la memoria, purifica tutti i canali corporei, ritarda i processi di invecchiamento, previene le malattie sessualmente trasmissibili nelle donne, mantiene la loro bellezza, è afrodisiaco, nei maschi aumenta la forza, l'intelligenza e cura l'eiaculazione precoce (Chandla 2017).

Nel Chakara Samhita, scritto nell'VIII secolo a. C., l'aglio viene indicato come rimedio per il mal di testa, la rinorrea, l'emicrania, l'epilessia e l'anosmia. Preparato insieme al latte è indicato come trattamento dei dolori addominali accompagnati da flatulenza, della sciatica, delle febbri intermittenti, dei problemi cardiaci e degli ascessi. In un altro testo fondamentale della medicina tradizionale induista, il Sushruta Samhita (datato intorno al VI secolo a. C.), un preparato di aglio e ghi⁴ è consigliato per il trattamento della sindrome dell'intestino irritabile, delle emorroidi, delle difficoltà respiratorie, della febbre, della tosse, dell'epilessia e degli stati caratterizzati come "follia" (Goswami 2020).

Acarya Vagbhata, un autore vissuto nell'VIII secolo d. C., lo considera nel complesso come un "rinvigorente del corpo", e lo definisce "molto penetrante, caldo in potenza, pungente nel gusto, buono per il cuore e per il capelli, afrodisiaco, oleoso", "migliora il gusto e la digestione, aiuta l'unione delle fratture, dà forza, cura le malattie della pelle, i gonfiori addominali, le emorroidi, il catarro e altri stati di malessere (Chandla 2017).

³ Caio Plinio Secondo, *Naturalis Historia*, libro XX, capitolo XXIII.

La traduzione in inglese è disponibile nel sito <http://www.perseus.tufts.edu/hopper>.

⁴ Il ghi (o ghee) è un burro chiarificato privato dell'acqua e della componente proteica, utilizzato nella cucina indiana.

3. Aspetti botanici e morfologici

Mann (1952) fornisce una buona descrizione morfologica di *A. sativum*. Le foglie sono lineari e lanceolate, disposte su due file su lati opposti dello stelo, e presentano una guaina alla base. Tale guaina va a costituire gli strati esterni del bulbo, al di sotto dei quali si trovano, protetti da ulteriori guaine sottili e secche, i germogli adibiti all'immagazzinamento delle sostanze nutritive, comunemente chiamati *spicchi* dell'aglio.

La Figura 1 fornisce una rappresentazione della pianta di aglio e delle sue parti, tratta dal lavoro di G. A. Evrendilek all'interno del libro "Nutritional Composition and Antioxidant Properties of Fruits and Vegetables" del 2020 edito da Amit K. Jaiswal.

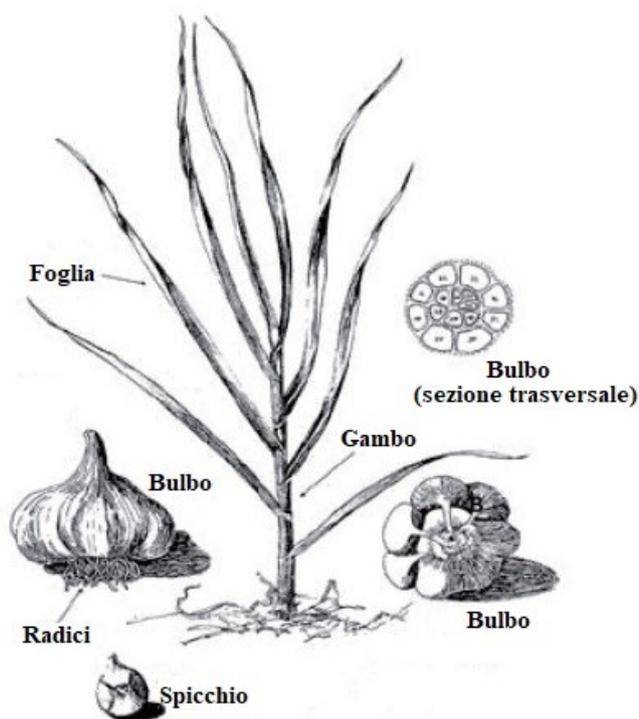


Figura 1. Rappresentazione di una pianta di *Allium sativum* L. di tipo *softneck* e delle sue parti più importanti dal punto di vista morfologico (Evrendilek 2020).

La fioritura può avvenire o meno, a seconda della varietà coltivata. Ad esempio, l'infiorescenza è sempre presente nella varietà *ophioscorodon*, mentre è presente solo in rari casi nelle varietà *sativum* e *pekinense*. Le varietà che vanno incontro a fioritura, con lo sviluppo di uno scapo fiorale, sono dette *hardneck*, mentre le varietà nelle quali lo sviluppo dell'infiorescenza non avviene sono dette *softneck*. Alcune varietà inoltre possono presentare una fioritura incompleta, in cui lo scapo fiorale inizia a svilupparsi, ma la sua crescita si arresta e i fiori non si sviluppano. Dove presenti, le infiorescenze sono costituite da ombrelle contenenti un numero di fiori generalmente compreso tra centocinquanta e duecento, ognuno dei quali è composto da sei petali di colore rosa o porpora, sei antere e tre ovari. Una caratteristica dell'aglio è la crescita di piccoli bulbi a livello dell'infiorescenza, i quali si alternano ai fiori e possono essere più o meno grandi a seconda della tipologia di aglio utilizzata (Takagi 1990, Simon and Jenderek 2010).

I fiori dell'aglio coltivato sono quasi sempre sterili, a causa delle frequenti malformazioni degli stessi o del mancato sviluppo dei gametofiti maschili e femminili (Etoh 1984). Per questo motivo, l'aglio è una pianta che viene propagata esclusivamente per via vegetativa attraverso la semina degli spicchi, nonostante in passato siano stati condotti diversi studi per ripristinarne e favorirne la riproduzione sessuata, a partire da alcuni esemplari fertili rinvenuti in Asia centrale.

La presenza di individui fertili in Asia centrale avvalorava l'ipotesi che proprio questa zona geografica (compresa tra il Kazakistan e la Cina occidentale) sia stata il punto di origine dell'aglio, dal quale poi esso è stato esportato in tutto il mondo grazie alle migrazioni dei popoli nomadi di cacciatori-raccoglitori. Proprio in questi territori cresce spontaneo *A. longicuspis*, il quale è considerato l'antenato selvatico dell'aglio oggi coltivato. Uno studio condotto nel 1997 da Al-Zahim *et al.*, in cui diversi esemplari appartenenti alle due varietà principali di aglio (var. *ophioscorodon* e var. *sativum*) sono stati analizzati attraverso la tecnica RAPD⁵, ha evidenziato una grande affinità genetica tra *A.*

⁵ L'analisi RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) è una tecnica di analisi del genoma che utilizza delle sequenze genetiche casuali, costituite da dieci nucleotidi, come *primer* per amplificare segmenti di DNA attraverso la PCR (Polymerase Chain Reaction) (Penner *et al.* 1993).

longicuspis e *A. sativum* var. *ophioscorodon*, suggerendo l'ipotesi che i due *taxa* appartengano in realtà ad una stessa specie e non, come è ancora ritenuto, a due specie separate.

L'appartenenza tassonomica di *Allium sativum* è stata molto discussa: classificato in passato come appartenente alle Liliaceae e in seguito alle Amaryllidaceae, prevalentemente sulla base dei suoi caratteri morfologici, è ad oggi incluso nella famiglia delle Alliaceae (Simon and Janderek 2010). Questa grande famiglia di monocotiledoni comprende tredici generi e circa seicento specie, tra cui anche *A. cepa* (cipolla), *A. schoenoprasum* (erba cipollina), *A. ampeloprasum* (porro). Le specie appartenenti alle Alliaceae sono acauli, bienni o perenni, geofite, caratterizzate spesso da un odore tipico. Il fusto è spesso rigonfiato e forma alla base un bulbo o un rizoma. Le foglie, come già visto per *A. sativum* nello specifico, sono lineari, filiformi, lanceolate oppure, più raramente, ovate; le venature sono parallele (Rahn 1998).

4. Fitochimica

4.1. Profilo nutrizionale

È impossibile stabilire l'esatto contenuto di nutrienti e micronutrienti di una pianta come l'aglio. La vastità dell'area geografica interessata dalla sua coltivazione, e il grande numero di genotipi che nella storia sono stati sviluppati naturalmente e selettivamente, rendono ogni *cultivar* unica in termini di valori nutrizionali e ogni valutazione quantitativa delle sostanze contenute approssimativa. La zona geografica e il tipo di suolo di coltivazione influenzano in modo significativo il contenuto di macro- e micronutrienti (Chekki *et al.* 2014), tanto che tracciare un profilo nutrizionale di *Allium sativum* ha senso solo specificando il genotipo analizzato.

4.1.1. Valori nutrizionali

L'analisi di 14 diversi genotipi di aglio greco ha dato i seguenti risultati: il contenuto proteico varia da $4,62 \pm 0,06$ a $7,45 \pm 0,18$ g/100g; i carboidrati vanno da $23,13 \pm 2,19$ a $36,03 \pm 6,05$ g/100g; i grassi, di cui l'aglio non è particolarmente ricco, vanno da $0,12 \pm 0,01$ a $0,37 \pm 0,01$ g/100g (Petropoulos *et al.* 2018). Fenwick e Hanley (1985) riportano per l'aglio valori simili: proteine 6,2g/100g, grassi 0,2g/100g, carboidrati 30,8g/100g.

Tra i carboidrati, che costituiscono circa l'80% del peso secco dell'aglio, il più abbondante è il fruttano, un polisaccaride idrosolubile costituito da unità di fruttosio e un terminale di glucosio. Vi sono poi i monosaccaridi glucosio e fruttosio, il disaccaride saccarosio e altri polisaccaridi quali galattano, galatturonano, xiloglucano e pectina (Kodera *et al.* 2019).

4.1.2. Minerali

I minerali maggiormente presenti nell'aglio sono potassio, fosforo, magnesio, sodio e calcio; è da rilevare anche la presenza di ferro, zinco e alluminio (Divya *et al.* 2017). Ad ogni modo, come mostrato in Tabella 2, gli studi presi in esame differiscono sensibilmente sulle quantità di minerali contenuti nell'aglio, ed è quindi pressoché impossibile indicare concentrazioni che siano generalmente valide. È probabile che il contenuto di minerali vari in base alla tipologia di aglio e alla zona geografica in cui viene coltivato (Chekki *et al.* 2014).

Tabella 2. Concentrazione di alcuni minerali contenuti in un bulbo di *Allium sativum* L., espressi in parti per milione, secondo tre diversi studi (A = Haciseferoğullari *et al.* 2005; B = Khalid *et al.* 2014; Devi and Brar 2018).

Minerale	Conc. A (ppm)	Conc. B (ppm)	Conc. C (ppm)
Potassio (K)	$21.378,84 \pm 395,39$	$506,6 \pm 12,0$	$5.300 \pm 7,5$
Fosforo (P)	$6.009,37 \pm 54,744$	$98,6 \pm 5,5$	$1.336,4 \pm 2,7$
Magnesio (Mg)	$1.056,15 \pm 25,618$	$26,3 \pm 2,5$	$327,2 \pm 2,7$
Sodio (Na)	$532,78 \pm 77,902$	$40,6 \pm 3,2$	$29,4 \pm 2,7$
Calcio (Ca)	$363,61 \pm 0,020$	$243,3 \pm 19,5$	$166,3 \pm 2,6$
Ferro (Fe)	$52,91 \pm 2,874$	$39,3 \pm 2,1$	$17,0 \pm 0,1$
Zinco (Zn)	$27,42 \pm 1,329$	$5,3 \pm 0,1$	$9,3 \pm 0,3$
Manganese (Mn)	$12,41 \pm 0,205$	$0,1 \pm 0,01$	$36,3 \pm 2,5$

4.1.3. Vitamine

L'aglio non è una pianta particolarmente ricca di vitamine: quella più abbondante è l'acido ascorbico (15mg/100g), mentre sono state rilevate tracce di acido nicotinico (0,5mg/100g), tiamina (0,25mg/100g) e riboflavina (0,08mg/100g) (Fenwick and Hanley 1985).

4.2. Composti organici dello zolfo

L'aglio, come altre specie del genere *Allium*, contiene numerosi composti dello zolfo. Tra questi composti si trovano alcuni amminoacidi solforati non proteinoageni: l'alliina (S-allilcisteina solfossido), l'isoalliina (S-1-propenilcisteina solfossido) e la metiina (S-metilcisteina solfossido). Di questi tre composti, l'alliina è quello maggiormente presente in *Allium sativum* (Fritsch and Keusgen 2006).

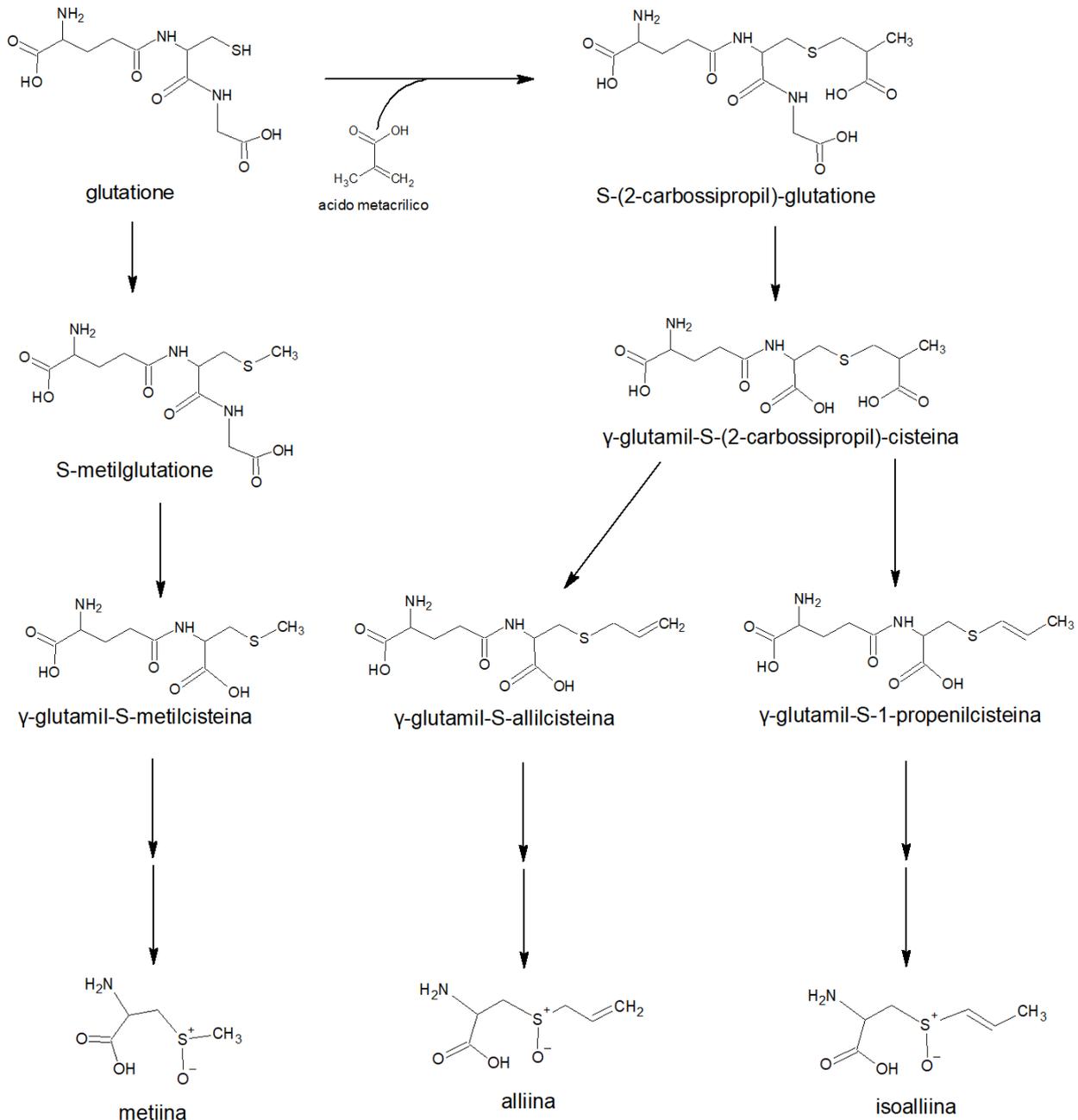


Figura 2. Percorso biosintetico semplificato per la produzione di metiina, alliina e isoalliina in *Allium sativum* L. partendo dal glutatione (Lancaster and Shaw 1989, Yoshimoto and Saito 2019).

Lancaster e Shaw (1989) hanno dimostrato che il residuo cisteinico di questi tre solfossidi deriva dalla trasformazione del glutatione, secondo i percorsi biosintetici illustrati in Figura 2. Il gruppo allile presente nell'alliina e nella isoalliina sarebbe invece sintetizzato a partire dalla valina, attraverso l'acido metacrilico (Yoshimoto and Saito 2019).

4.2.1. Allicina e derivati liposolubili

Non è l'alliina a conferire all'aglio il suo odore e il suo sapore tipicamente pungenti, ma piuttosto il prodotto della sua trasformazione enzimatica: l'allicina. Quando infatti il bulbo dell'aglio viene tagliato, pestato o tritato, l'alliina presente negli spicchi viene a contatto con l'enzima alliinasi (o alliina liasi) contenuto nei vacuoli delle cellule, che catalizza la reazione di idrolisi dell'alliina in deidroalanina e acido allilsolfenico; due unità di acido allilsolfenico condensano spontaneamente a formare una molecola di diallil tiosulfonato, detto anche, per l'appunto, allicina (Lawson and Hughes 1992, Borlinghaus *et al.* 2014).

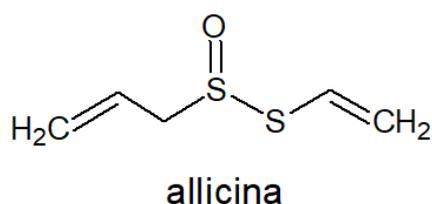


Figura 2. Formula molecolare dell'allicina.

L'allicina è stata isolata per la prima volta da Cavallito e Bailey nel 1944, i quali la descrivono come “un olio incolore, solubile in acqua approssimativamente al 2,5% e relativamente instabile”. Hanno anche dimostrato la sua attività batteriostatica nei confronti di batteri Gram-positivi e Gram-negativi. L'azione antimicrobica di questo composto è stata poi determinata in numerosi studi successivi, che hanno confermato l'uso tradizionale dell'aglio per trattare le ferite e gli stati infettivi (Bongiorno *et al.* 2008, Marchese *et al.* 2016).

L'allicina è una molecola estremamente reattiva nei confronti dei gruppi tiolici, come quelli del glutatione o della cisteina (Rabinkov *et al.* 1998, Borlinghaus *et al.* 2014). I processi biologici coinvolti nell'attività antimicrobica dell'allicina potrebbero essere legati in parte proprio all'interazione con diversi enzimi contenenti gruppi tiolici, come la cisteina-proteasi e l'alcol-deidrogenasi; inoltre, è stato dimostrato che l'allicina interferisce con la sintesi dell'RNA, dei lipidi e dell'acetil-coenzima A nei batteri (Rahman 2007).

La stabilità dell'allicina dipende molto dalla temperatura: come dimostrato da Fujisawa *et al.* (2008), l'emivita di un estratto acquoso di allicina alla concentrazione di 2mg/ml a 4°C è di 346 giorni; a 15°C l'emivita dell'estratto si riduce a 32 giorni, fino ad arrivare a 9 giorni ad una temperatura di 23°C e a poco più di un giorno se la temperatura viene portata a 37°C. Uno studio condotto da Wang *et al.* nel 2015 su soluzioni acquose di allicina a concentrazioni molto inferiori, ha mostrato che a temperatura ambiente (25°C), l'emivita di una soluzione a 3mg/L è di circa 11 giorni, per passare a 16 giorni per concentrazioni più elevate (6mg/L e 9mg/L). Questo suggerisce che la stabilità di una soluzione di allicina è influenzata anche dalla sua concentrazione.

Anche il pH dell'ambiente determina la stabilità dell'allicina: il pH ottimale per la conservazione di una soluzione acquosa è 5-6. A valori superiori e inferiori l'emivita della soluzione inizia a diminuire sensibilmente, fino ad arrivare a meno di un giorno per valori di pH superiori a 9 e inferiori a 2 (Wang *et al.* 2015).

Dalla trasformazione dell'allicina si formano altri composti solforati, principalmente ajoene, vinilditiine (2-VD), solfuro di diallile (DAS), disolfuro di diallile (DADS) e trisolfuro di diallile (DATS) (Block *et al.* 1986, Iberl *et al.* 1990). Allicina, ajoene e in misura minore gli altri composti solforati dell'aglio si sono rivelati attivi nell'inibizione della crescita non solo di batteri Gram-positivi e Gram-negativi, ma anche di molti funghi, tra cui diverse specie di *Candida*, *Torulopsis*, *Trichosporon*, *Rhodotorula*, *Aspergillus*, *Cryptococcus* (Harris *et al.* 2001), e alcuni virus, tra i quali si citano Adenovirus (AdV-3 e AdV-41), Coronavirus (CoV e SARS-CoV), virus dell'influenza A (IAV tipo H9N2 e H1N1) e influenza B (IBV), virus dell'*herpes simplex* (HSV-1 e HSV-2), virus dell'epatite A (HAV), virus dell'immunodeficienza umano (HIV-1) (Rouf *et al.* 2020).

4.2.2. Composti idrosolubili

Oltre ai composti liposolubili già esaminati, l'aglio contiene anche alcuni composti solforati idrosolubili: i più importanti sono S-allilcisteina (SAC), S-metilcisteina (SMC) e S-allilmercaptocisteina (SAMC), la cui struttura chimica è rappresentata in Figura 4 (Bhatwalkar *et al.* 2021).

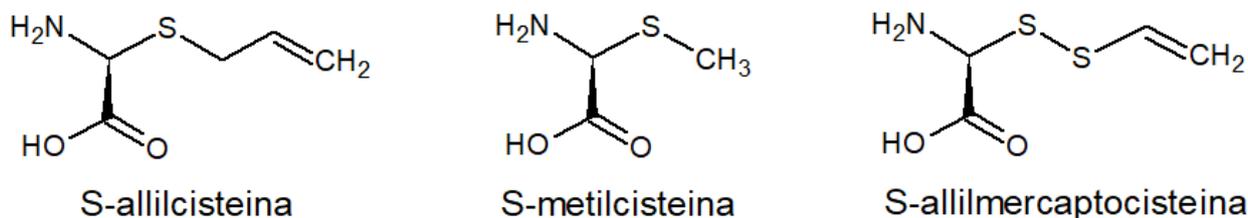


Figura 4. Formule molecolari di S-allilcisteina, S-metilcisteina e S-allilmercaptocisteina.

La SAC è un composto che si solubilizza facilmente nelle soluzioni acquose. È relativamente stabile al calore (non sono state rilevate decomposizioni significative in seguito all'esposizione dei cristalli alla temperatura di 105° per 24h, a parte una leggera transizione verso un colore giallastro sulla superficie) e ai raggi UV. È un composto molto stabile in condizioni di pH alterate, anche se l'immagazzinamento in condizioni di forte acidità o basicità dà luogo alla formazione di diversi prodotti di decomposizione. Nonostante questo, le osservazioni sulla sua stabilità suggeriscono che la S-allilcisteina venga assorbita bene dall'organismo e che non subisca trasformazioni a livello gastrico. Una volta assorbita, l'emivita della S-allilcisteina nell'organismo è stata stimata in oltre 10h, e il tempo di escrezione è di circa 30h (Kodera *et al.* 2002).

Gli studi *in vivo* animali sulla biodisponibilità della S-allilcisteina per via orale riportano un ottimo assorbimento della sostanza a livello gastrointestinale e nessuna trasformazione a livello epatico, anche a dosi molto piccole come 5mg per chilogrammo di peso corporeo. L'assorbimento rapido ed efficiente è dovuto al fatto che la SAC è idrosolubile ed è assorbita nell'intestino tramite i trasportatori degli amminoacidi, e per lo stesso motivo questa sostanza mostra un alto riassorbimento renale. La maggior parte della sostanza viene poi escreta nelle urine sotto forma dei suoi metaboliti N-acetilati e sulfossidi (Nagae *et al.* 1994, Amano *et al.* 2015, 2016).

4.2.3. Attività antiossidante

Diversi studi *in vivo* hanno mostrato che molti degli effetti terapeutici attribuiti ad un'attività antiossidante dell'aglio, sono in realtà dovuti proprio all'elevata reattività dell'allicina, che, come visto in precedenza, tende ad ossidare i gruppi tiolici di glutatione e cisteina, formando rispettivamente S-allilmercaptoglutatione (GSSA) e S-allilmercaptocisteina (SAMC). Questi composti possono effettivamente svolgere delle azioni antiossidanti sull'organismo, ad esempio prevenendo la perossidazione lipidica e proteggendo dall'azione delle specie reattive dell'ossigeno (Banerjee *et al.* 2003).

Uno studio *in vitro* (Okada *et al.* 2005) ha dimostrato come l'allicina (insieme agli altri tiosulfinati contenuti nell'aglio) abbia un'attività di inibizione dose-dipendente nei confronti dell'ossidazione del metil-linoleato da parte del 2,2'-azobis(2,4-dimetilvaleronitrile) (AMVN), indicando un ruolo importante dell'allicina contro la perossidazione dei lipidi. In uno studio del 2017, Locatelli *et al.* hanno dimostrato come, anche una volta sottoposto a trattamenti con calore tipicamente domestici (ad esempio, bollito o soffritto), l'aglio mantenga le sue attività antiossidanti: in particolare, oltre all'attività di *scavenging* dell'allicina nei confronti di diversi radicali liberi come 2,2-difenil-1-picrilidrazile (DPPH), anche i suoi prodotti di trasformazione, ajoene e vinilditiene, hanno mostrato una buona azione antiossidante e un'attività riducente nei confronti del ferro.

L'alliina è attiva contro lo ione superossido ($O_2^{\cdot-}$). Alliina, allil-cisteina e disolfuro di diallile reagiscono con il radicale idrossile ($\cdot OH$) e sono perciò considerabili dei buoni *scavenger* nei confronti di questa specie radicale. Solo il disolfuro di diallile però è attivo contro la perossidazione delle membrane microsomiali, probabilmente perché, essendo liposolubile, è l'unico di questi tre composti capace di legarsi efficacemente ai lipidi delle membrane e proteggerli dall'azione dei radicali (Chung 2006).

Anche la S-allilcisteina, che si trova principalmente negli estratti acquosi di aglio, è stata studiata per la sua attività antiossidante: Colín-González *et al.* (2012) riportano che questo composto agisce da *scavenger* nei confronti di numerose specie reattive dell'ossigeno come l'anione superossido ($O_2^{\cdot-}$), il perossido di idrogeno (H_2O_2), il radicale idrossile ($\cdot OH$). Anche la S-allilmercaptocisteina è attiva nello *scavenging* degli anioni superossido e dell'idrossile. La capacità di questi composti di neutralizzare i radicali liberi sarebbe data dalla presenza nella loro struttura del gruppo tiolo, che, agendo da nucleofilo, è in grado di donare protoni alle specie elettrofile neutralizzandole (Colín-González *et al.* 2012).

La Tabella 3 riassume l'attività dei principali composti organici dello zolfo contenuti nell'aglio nei confronti di diversi radicali liberi e composti ossidanti.

Tabella 3. Attività antiossidante dei principali composti organici solforati presenti in *Allium sativum* L. nei confronti di anione superossido ($O_2^{\cdot-}$), radicale idrossile ($\cdot OH$), 2,2'-azobis(2,4-dimetilvaleronitrile) (AMVN), 2,2-difenil-1-picrilidrazile (DPPH), perossidazione delle membrane microsomiali. (Imai *et al.* 1994, Ide *et al.* 1996, Chung 2006, Locatelli *et al.* 2017)

Composto	$O_2^{\cdot-}$	$\cdot OH$	AMVN	DPPH	Fe^{3+}	Perox. membrane
Alliina	+	+				-
Allicina	+ *	-	+	+	+	-
Allil-cisteina	-	+				-
DADS	-	+				+
SAC	+	+		+		+
SAMC	+	+		+		+
Ajoene					+	
2-VD					+	

+ attività rilevata; - attività non rilevata.

*L'attività dell'allicina nei confronti dell'anione superossido non deriva dalla sua capacità di *scavenging* nei confronti di questo radicale, ma dall'inibizione degli enzimi che portano alla sua formazione.

5. Estratto invecchiato di aglio

L'estratto invecchiato di aglio (in inglese: *aged garlic extract*, spesso abbreviato con AGE) è una particolare preparazione in cui gli spicchi interi di aglio vengono posti a macerare in una soluzione idroalcolica al 20% per un tempo che va dai 10 ai 20 mesi; l'estratto viene poi filtrato e concentrato a basse temperature, e può essere commercializzato sia in polvere che come estratto idroalcolico (Imai *et al.* 1994, Ray *et al.* 2011, Colín-González *et al.* 2012, Sripanidkulchai 2020). In questo lungo periodo di tempo, i composti lipofili responsabili del forte aroma – in primo luogo l'allicina – vengono trasformati in altri composti organoletticamente inerti e idrofili, come la S-allilcisteina; alla fine della macerazione, l'allicina non è più presente nel prodotto in quantità rilevabili (Kasuga *et al.* 2001).

La perdita dell'odore pungente dovuto all'allicina è sicuramente un grande vantaggio di questo tipo di estratto, il quale potrà quindi essere consumato senza problemi anche da chi normalmente non ama il sapore dell'aglio. Il suo aroma viene descritto invece come “stagionato”, “acido”, “caramelloso”, “metallico” (Abe *et al.* 2020).

5.1. Composizione

Kodera *et al.* (2019) riportano le S-alch(en)ilcisteine tra i principali componenti dell'estratto invecchiato di aglio: esse sono, nello specifico, la S-allilcisteina (SAC); il suo stereoisomero, S-1-propenilcisteina (S1PC); la S-metilcisteina (SMC); la S-allilmercaptocisteina (SAMC). Questi composti, presenti in basse concentrazioni nell'aglio fresco, si formano durante il processo di invecchiamento per idrolisi delle γ -glutammil-S-alch(en)ilcisteine (rispettivamente GSAC, GS1PC, GSMC, GSAMC), le quali vengono accumulate naturalmente nell'aglio come depositi di zolfo. Recentemente sono stati isolati dall'estratto invecchiato di aglio anche tre tripeptidi formati da un residuo di S-alch(en)ilcisteina e due residui di acido glutammico. Sono presenti in minori quantità anche composti idrofobici come solfuro di diallile (DAS), disolfuro di diallile (DADS) e trisolfuro di diallile (DATS).

Sono stati identificati anche numerosi composti di Amadori che derivano dalla condensazione di residui amminoacidici con molecole di carboidrati (reazioni di Maillard). In particolare, Fru-SAC, Fru-GSAC, Fru-GS1PC e Fru-Arg, che iniziano a formarsi a partire dal quarto mese di invecchiamento a causa della decomposizione del fruttano, dal quale deriva il glucosio che viene coinvolto nelle reazioni di Maillard.

Viene riportata inoltre la presenza di alcol coniferilico e suoi derivati, e un composto fenolico chiamato allixina, che è la prima fitoalessina⁶ identificata nell'aglio e viene probabilmente prodotta nelle prime fasi del processo di invecchiamento.

Abe *et al.* in due studi condotti nel 2020 e nel 2021 hanno isolato e identificato alcuni composti volatili responsabili dell'aroma dell'estratto invecchiato di aglio. Questi includono: allil-metilsolfuro, 2-metossifenolo, 4,5-dimetil-3-idrossi-2(5H)-furanone, eugenolo, etilbutanoato, 2,4-dimetil-1,3-ditiolano, 2,5-dimetil-1,4-ditiano e 2,6-dimetil-1,4-ditiano.

Uno schema riassuntivo dei principali composti presenti nell'estratto invecchiato di aglio è riportato in Figura 5.

⁶ Le fitoalessine sono composti sintetizzati dalle piante in seguito ad attacchi di patogeni o a stress chimico-fisici e ambientali.

AGE

Amminoacidi

S-allilcisteina (SAC)
S-1-propenilcisteina (S1PC)
S-metilcisteina (SMC)
S-allilmercaptocisteina (SAMC)

Dipeptidi

γ -glutammina-S-allilcisteina (GSAC)
 γ -glutammina-S-1-propenilcisteina (GS1PC)
 γ -glutammina-S-metilcisteina (GSMC)
 γ -glutammina-S-allilmercaptocisteina (GSAMC)

Tripeptidi

γ -glutammina- γ -glutammina-S-allilcisteina (GGSAC)
 γ -glutammina- γ -glutammina-S-1-propenilcisteina (GGS1PC)
 γ -glutammina- γ -glutammina-S-metilcisteina (GGSMC)

Solfuri

Diallilsolfuro (DAS)
Diallildisolfuro (DADS)
Dialliltrisolfuro (DATS)

Composti di Amadori

N- α -(1-deossi-D-fruttos-1-il)-S-allilcisteina (Fru-SAC)
N- α -(1-deossi-D-fruttos-1-il)-S- γ -glutammina-S-allilcisteina (Fru-GSAC)
N- α -(1-deossi-D-fruttos-1-il)-S- γ -glutammina-S-1-propenilcisteina (Fru-GS1PC)
N- α -(1-deossi-D-fruttos-1-il)-L-arginina (Fru-Arg)

Composti fenolici

Alcol coniferilico
Alcol diidro-deidrodiconiferilico (DDDC)
Alcol deidrodiconiferilico (DDC)
3-idrossi-5-metossi-6-metil-2-n-pentil-4H-piran-4-one (allixina)

Carboidrati

Glucosio (Glc)
Fruttosio (Fru)
Fruttano
Pectine

Ditiolani e ditiani

2,4-dimetil-1,3-ditiolano
2,5-dimetil-1,4-ditiano
2,6-dimetil-1,4-ditiano

Altri composti

Allil-metilsolfuro
2-metossifenolo
4,5-dimetil-3-idrossi-2(5H)-furanone
eugenolo
etilbutanoato

Figura 5. Schema riassuntivo dei principali composti contenuti nell'estratto invecchiato di aglio (AGE)

5.2. Utilizzi

L'estratto invecchiato di aglio è una preparazione molto utilizzata in ambito fitoterapico, dato l'ampio spettro delle sue proprietà convalidate dalla letteratura scientifica e dalla sua facilità di assunzione. Molti degli effetti benefici di questa preparazione sono dovuti alle proprietà antiossidanti dei suoi costituenti, in primo luogo le S-alch(en)ilcisteine e la fruttosil-arginina (Fru-Arg) che si origina a partire dal quarto mese di invecchiamento (Ide *et al.* 1999, Ryu *et al.* 2001).

L'aumento del metabolismo o gli stati infiammatori comportano una produzione anomala di specie reattive dell'ossigeno (ROS), le quali vanno a danneggiare i tessuti e possono portare allo sviluppo di stati patologici. Ad esempio, la disfunzione endoteliale, una condizione che può precedere l'insorgere dell'aterosclerosi, si sviluppa in seguito ad una sovrapproduzione di ROS. È stato dimostrato che il trattamento con estratto invecchiato di aglio migliora in modo significativo la disfunzione endoteliale. Secondo quanto riportato da Tsuneyoshi (2019), la SAC e la S1PC potrebbero modulare l'espressione di enzimi antiossidanti fondamentali nel mantenimento dell'omeostasi vascolare, ma il meccanismo di questa azione non è ancora del tutto chiaro.

In uno studio in doppio cieco condotto da Wlosinska *et al.* nel 2020, sono stati studiati gli effetti di una dieta integrata con estratto invecchiato di aglio (2400mg/d) su un totale di 104 individui ad alto rischio di calcificazione coronarica, per una durata di un anno. Nonostante, a fine studio, tutti i pazienti abbiano mostrato un aumento nella scala di punteggio adibita alla valutazione della progressione della malattia, gli individui trattati con l'estratto hanno riportato una minore progressione dei sintomi, assieme ad una diminuzione dei livelli di interleuchina-6 (una citochina adibita alle risposte infiammatorie), ad una ridotta pressione diastolica e un minor livello di glucosio nel sangue.

Un'altra proprietà molto studiata dell'estratto invecchiato di aglio è l'attività immunomodulante. Nel 2016, 120 persone sono state coinvolte in uno studio per indagare gli effetti dell'estratto integrato nella dieta quotidiana (2,56g/d) sull'immunità innata e sulla resistenza ai virus dell'influenza e del raffreddore. Al termine dello studio, anche se entrambi i gruppi (quello di controllo e quello trattato con AGE) hanno riportato di avere contratto malattie stagionali, i sintomi del gruppo trattato erano significativamente minori, e la proliferazione dei linfociti $\gamma\delta$ -T e le cellule *natural killer* era stata favorita (Percival 2016). Kyo *et al.* (1998, 2001) riportano che l'estratto invecchiato di aglio ha significativamente ridotto la risposta allergica mediata da immunoglobulina (Ig)E nei topi, ha aumentato la proliferazione delle cellule *natural killer* e l'attività della milza, e ha protetto dalla perdita delle funzioni immunitarie i topi sottoposti a stress psicologico.

6. Malattie neurodegenerative

Le malattie neurodegenerative comprendono un ampio insieme di condizioni cliniche caratterizzate dalla perdita progressiva di determinate popolazioni di neuroni. Sebbene la patogenesi delle malattie neurodegenerative sia un argomento non strettamente legato al campo di studi della fitoterapia, è stato ritenuto utile proporre una breve panoramica di quelle che sono le principali malattie neurodegenerative conosciute e studiate ad oggi, per poter indagare il ruolo che lo stress ossidativo e le risposte immunitarie, che sono i due obiettivi potenziali del trattamento fitoterapico esaminato in questa tesi, rivestono nella loro insorgenza e nella loro progressione.

6.1. Classificazione

Le malattie neurodegenerative sono causate dall'accumulo di specifiche proteine con proprietà conformazionali anomale all'interno dei tessuti del cervello. Un metodo di classificazione di queste malattie è infatti basato sulla identificazione delle proteine che presentano queste trasformazioni; secondo questa classificazione, le principali malattie neurodegenerative rientrano in quattro categorie: amiloidosi, tauopatie, sinucleinopatie e proteinopatie TDP-43 (Dugger and Dickson 2017).

6.1.1. Amiloidosi

L'amiloidosi è una condizione clinica in cui sono individuabili, sia nel citoplasma che nello spazio extra-cellulare, depositi di proteine amiloidi costituite da 40 o 42 amminoacidi e caratterizzate da una struttura secondaria a foglietto- β (sono perciò dette amiloidi β -peptidi o β A). Le amiloidosi possono essere sistemiche o circoscritte ad uno specifico tessuto; nel caso delle amiloidosi correlate alle malattie neurodegenerative, gli aggregati si depositano a livello citoplasmico nei neuroni e nelle cellule della glia.

Gli amiloidi β -peptidi vengono prodotti in seguito alla fosforilazione del loro precursore, una proteina transmembrana che si trova a livello delle sinapsi, denominata APP (*amyloid precursor protein*). La produzione di β A è generalmente regolata dal nostro organismo attraverso meccanismi di trasporto mediati da proteine come la LRP-1 (*low-density lipoprotein receptor-related protein 1*), che eliminano l'accumulo di amiloidi nel cervello trasportandoli nel sangue. In particolari condizioni, ad esempio una ridotta espressione della proteina LRP-1, il metabolismo dei β A viene alterato e ciò risulta in un deposito di questi peptidi all'interno dei tessuti del cervello, andando ad interferire con il rilascio e la ricezione di diversi neurotrasmettitori tra cui l'acetilcolina, che riveste un ruolo importante nel mantenimento della coscienza e nella memoria, e sfociando nella manifestazione clinica nota come malattia o morbo di Alzheimer (Ma *et al.* 2022).

6.1.2. Tauopatie

Se l'accumulo di β A è una condizione necessaria per lo sviluppo del morbo di Alzheimer, esso non è una condizione sufficiente: patologie a livello di un'altra categoria di proteine, le proteine tau, vengono riscontrate in tutti i pazienti diagnosticati (Lane *et al.* 2018). Le proteine tau sono proteine che si trovano a livello del citoscheletro e rivestono un ruolo fondamentale nella regolazione dei processi di polimerizzazione dei microtubuli (Weingarten *et al.* 1975). L'iperfosforilazione e l'iperglicazione di queste proteine, e la conseguente formazione di loro aggregati filamentosi a livello intracellulare (*neurofibrillary tangles*, NFT) sono una concausa di molte malattie neurodegenerative tra cui anche la malattia di Alzheimer (Pîrşcoveanu *et al.* 2017).

Dugger e Dickson (2017) riportano tra le tauopatie, oltre al morbo di Alzheimer, anche: l'encefalopatia cronica traumatica, che è particolarmente frequente tra le persone che praticano sport da contatto e insorge come conseguenza dei numerosi traumi alla testa riportati nel tempo; la paralisi sopranucleare progressiva, che si presenta con alcuni sintomi caratteristici, come rigidità muscolare, paralisi degli occhi, parkinsonismo e cadute improvvise all'indietro; la degenerazione cortico-basale, che porta ad una progressiva afasia e aprassia; la malattia di Pick, con sintomi simili a quelli della

degenerazione cortico-basale. Tutte queste malattie degenerative hanno come causa principale l'accumulo anomalo di fibre di proteine tau iperfosforilate.

6.1.3. Sinucleinopatie

La malattia più comune correlata all'accumulo anomalo di α -sinucleina all'interno di neuroni e cellule della glia è la malattia di Parkinson, i cui sintomi sono tremori, movimenti rallentati, instabilità, cadute improvvise e rigidità muscolare. Questo accumulo è dovuto a mutazioni genetiche che codificano l'espressione di una α -sinucleina modificata che tende ad aggregarsi e depositarsi nel citoplasma. Gli aggregati di α -sinucleina nella malattia di Parkinson si trovano a livello dei neuroni dopaminergici della *substantia nigra*, e sono organizzati in inclusioni chiamate corpi di Lewy. La perdita di neuroni dopaminergici e quindi la ridotta funzionalità della dopamina, porta allo sviluppo delle disfunzioni motorie che costituiscono i sintomi della malattia (Beitz 2014).

Il morbo di Parkinson può presentarsi associato a demenza, oppure può esservi demenza dovuta all'accumulo dei corpi di Lewy, ma senza i sintomi del parkinsonismo. I corpi di Lewy sono inoltre presenti in altre malattie del neurosviluppo e del neurometabolismo, come ad esempio la distrofia neuroassonale infantile, la malattia di Niemann-Pick di tipo C1 e la malattia di Krabbe (Koga *et al.* 2021).

6.1.4. Proteinopatie TDP-43

La *trans-active response element DNA-binding protein-43*, abbreviata in TDP-43, è una proteina coinvolta nel funzionamento del DNA e dell'RNA e nel processo di trascrizione. Si trova normalmente all'interno del nucleo, ma nei casi patologici, in cui la sua espressione è alterata, può essere riversata nel citoplasma, formando aggregati anomali e legandosi a diverse membrane cellulari, tra cui quelle dei mitocondri. Le principali malattie legate ad una proteinopatia TDP-43 sono la sclerosi laterale amiotrofica e la demenza frontotemporale (Lucini and Braun 2021).

6.2. Il ruolo delle risposte immunitarie

È noto che l'accumulo di amiloidi β -peptidi stimola le cellule immunitarie della microglia, con la conseguente attivazione dei percorsi antinfiammatori attraverso segnali come l'interleuchina-1 β , l'interleuchina-6 e il fattore di necrosi tumorale α . Molte di queste molecole si trovano nel cervello di persone decedute a causa di malattie neurodegenerative come il morbo di Alzheimer. Questo suggerisce che l'attivazione di questi percorsi giochi un ruolo fondamentale nella neurotossicità del β A (Subhramanyam *et al.* 2019).

La secrezione extracellulare di proteine tau iperfosforilate promuove l'attivazione della microglia, con il conseguente rilascio di molecole pro-infiammatorie come la IL-1 β o il TNF α . Queste molecole, agendo sugli enzimi regolatori della trasformazione delle proteine tau, inducono a loro volta una maggiore fosforilazione e si innesca così un processo di danneggiamento cellulare che si autoalimenta; vanno inoltre a interferire con l'attività degli astrociti, i quali iniziano a produrre fattori neurotossici che aumentano la perdita neuronale (Laurent *et al.* 2018).

Anche nella malattia di Parkinson, l'attivazione dei processi infiammatori sembra essere responsabile in parte degli effetti deleteri della malattia. I depositi di α -sinucleina stimolano le cellule della microglia e inducono la produzione di citochine, provocando a lungo andare la morte dei neuroni dopaminergici della *substantia nigra*; la morte cellulare stimola ulteriormente le cellule immunitarie, dando vita a un circolo vizioso. In numerosi studi animali, il trattamento con antinfiammatori non steroidei ha mostrato risultati positivi nel ridurre i sintomi della malattia, anche se in altri studi clinici non si è osservato nessun miglioramento (Badanjak *et al.* 2021).

Per quanto riguarda la malattia di Huntington⁷, non è ancora del tutto chiaro se i processi neuroinfiammatori partecipino alla patogenesi della malattia, o una risposta dell'organismo ad essa, ma in ogni caso è evidente il coinvolgimento della microglia e degli astrociti nella morte neuronale (Möller 2010, Papalgama *et al.* 2019).

6.3. Il ruolo dello stress ossidativo

Chen e Zhong (2014) e Saleem *et al.* (2020) riportano un numero consistente di *marker* biologici dello stress ossidativo che sono stati identificati nel sangue e nel cervello dei pazienti con morbo di Alzheimer, e nei modelli animali utilizzati per gli studi. Lo stress ossidativo degli acidi nucleici porta alla formazione di 8-idrossi-deossiguanosina (8-OHdG) e 8-idrossiguanosina (8-OHG); la perossidazione dei lipidi genera composti come F2-isoprostani (F2-IsoPs), malondialdeide (MDA) 4-idrossi-nonenale (4-HNE) e acroleina; la 3-nitrotirosina (Tyr-NO₂) viene prodotta in seguito a un danno ossidativo delle proteine; i danni ossidativi ai carboidrati generano i cosiddetti prodotti di glicazione avanzata.

I composti responsabili dello stress ossidativo delle strutture cellulari sono le specie reattive dell'ossigeno (ROS), le quali vengono maggiormente prodotte a livello dei mitocondri, e sono considerate la principale causa dell'invecchiamento. La disfunzione mitocondriale, che è alla base di una produzione eccessiva e incontrollata di ROS, gioca un ruolo importante nella patogenesi del morbo di Alzheimer. (Lin and Beal 2006). Wang *et al.* (2007) evidenziano che proprio i mitocondri sono uno dei siti di accumulo dei β -amiloidi, i quali, interferendo con l'attività di molti enzimi mitocondriali come la piruvato-deidrogenasi, la NADPH-ossidasi e la xantina-ossidasi, favoriscono la produzione di ROS e il danneggiamento neuronale.

Oltre al morbo di Alzheimer, lo stress ossidativo riveste un ruolo fondamentale nello sviluppo e nella progressione di altre malattie neurodegenerative, come il morbo di Parkinson, la sclerosi laterale amiotrofica e la malattia di Huntington (Teleanu *et al.* 2022). L'espressione di huntingtina mutata⁸ negli astrociti inibisce la produzione di acido ascorbico e stimola la produzione di sostanze pro-ossidanti, innescando lo stress ossidativo (Palpagama *et al.* 2019).

6.4. Gli effetti neuroprotettivi dell'aglio e dei suoi derivati

Recenti studi hanno investigato l'efficacia di *Allium sativum* e dei composti da esso derivati nella protezione delle cellule nervose e nella prevenzione delle malattie neurodegenerative, focalizzandosi soprattutto sull'azione antiossidante e antinfiammatoria dei composti solforati.

6.4.1. Allicina

Tedeschi *et al.* (2022) riportano vari studi *in vitro* e *in vivo* su modelli animali in cui l'allicina si è dimostrata efficace nel contrastare la sintomatologia e la progressione del morbo di Alzheimer. In particolare, questo composto è attivo nel ridurre la produzione di β -amiloidi in topi con mutazioni nei geni delle proteine APP e PS1, aumentando le loro funzioni cognitive e diminuendo i livelli di stress ossidativo tramite l'attivazione dei sistemi enzimatici antiossidanti. Inoltre, l'allicina riduce l'attivazione dei percorsi pro-infiammatori che contribuiscono alla degenerazione e al danneggiamento dei neuroni.

La somministrazione di allicina ha ridotto significativamente la degenerazione di una coltura di cellule di ratto PC12 trattate con 6-idrossidopamina (6-OHDA), che induce la morte dei neuroni dopaminergici ed è usata per studiare la malattia di Parkinson. Si è osservato che l'azione protettiva

⁷ La malattia di Huntington è una malattia neurodegenerativa di origine genetica che si manifesta con diversi sintomi tra cui movimenti bruschi e involontari della muscolatura degli arti e del volto (còrea), disturbi dell'umore, rigidità muscolare, cadute, problemi nella comunicazione.

⁸ L'huntingtina mutata è la proteina responsabile dello sviluppo della malattia di Huntington. Negli individui interessati dalla malattia, tale proteina si presenta modificata con un numero anomalo di residui glutamminici.

dell'allicina è dovuta principalmente alle sue proprietà antiossidanti (Liu *et al.* 2015). Lv *et al.* (2017) hanno indagato la capacità dell'allicina di proteggere le cellule PC12 dallo stress ossidativo provocato dal trattamento con perossido di idrogeno (H₂O₂), dimostrando che l'allicina attenua l'inibizione della proliferazione cellulare in modo dose-dipendente.

Tutte le ricerche sull'allicina prese in esame riguardano studi condotti *in vitro*, oppure studi su animali in cui l'allicina veniva somministrata per via parenterale. Questo tipo di somministrazione esula dalla competenza erboristica ed è stata riportata solo per fornire un quadro generale dello stato dell'arte delle ricerche riguardanti l'attività neuroprotettiva dell'allicina. Inoltre, le problematiche legate alla scarsa stabilità e biodisponibilità dell'allicina discusse nel capitolo precedente, nonché agli effetti indesiderati che un'assunzione eccessiva di allicina può generare nell'organismo, rendono difficile affermare l'efficacia di questa sostanza in trattamenti erboristici assunti regolarmente per via orale.

6.4.2. Estratto invecchiato di aglio

Un interesse particolare è stato rivolto, negli anni recenti, allo studio degli effetti neuroprotettivi dell'estratto invecchiato di aglio e del suo principale componente attivo, la S-allilcisteina (SAC), in virtù delle sue proprietà antiossidanti già esaminate nel capitolo 4 e della sua elevata stabilità e biodisponibilità.

In diversi studi *in vitro* condotti su colture di cellule ippocampali, è stato rilevato che la S-allilcisteina riduce significativamente il livello di ROS con una conseguente azione protettiva nei confronti delle strutture cellulari più coinvolte nei processi di stress ossidativo, come il reticolo endoplasmatico (Sripanidkulchai 2020). Il trattamento con SAC si è dimostrato utile nel ridurre la morte cellulare in colture di cellule ippocampali trattate con β -amiloidi e acido ibotenico (Ito *et al.* 2003). In uno studio condotto nel 2002 da Peng *et al.* il pretrattamento di una coltura cellulare PC12 sia con estratto invecchiato di aglio che con S-allilcisteina isolata, ha inibito la produzione di specie reattive dell'ossigeno e l'attivazione dei processi apoptotici indotti da β -amiloidi, e ha stimolato l'attività di enzimi antiossidanti come la superossido dismutasi (SOD), la catalasi (CAT) e la glutatione perossidasi (GPX).

In uno studio del 2011, Rojas *et al.* hanno indagato le proprietà neuroprotettive della S-allilcisteina nei confronti dell'azione neurotossica dello ione 1-metil-4-fenilpiridinio (MPP⁺), che è noto per causare la morte dei neuroni dopaminergici del fascio nigrostriatale, ed è usato per studiare gli agenti neuroprotettivi contro il morbo di Parkinson. I risultati hanno mostrato che la SAC, iniettata per via intraperitoneale nei topi, protegge dalla riduzione dei livelli di dopamina e migliora l'attività locomotoria degli animali trattati con MPP⁺. Inoltre, la SAC blocca la sovrapproduzione di ROS e la perossidazione lipidica, supportando l'ipotesi che parte dell'azione neuroprotettiva della SAC sia dovuta alle sue proprietà antiossidanti.

Ma i potenziali effetti benefici della S-allilcisteina sulla progressione delle amiloidosi non riguardano unicamente le sue proprietà antiossidanti: Gupta e Rao (2007) hanno infatti dimostrato come la SAC sia in grado di legarsi alle proteine β -amiloidi bloccandone la formazione di placche. Ciò potrebbe essere spiegato dall'interazione della catena idrofobica dell'allile (CH₂=CH-CH₂-) con le catene idrofobiche del β -amiloide; questo legame andrebbe a produrre una modificazione conformazionale nel peptide A β in modo che questo, ripiegandosi, non possa formare le fibre lineari che formano i depositi.

A differenza degli studi riportati per l'allicina, per quanto riguarda gli effetti dell'estratto invecchiato di aglio e della S-allilcisteina la letteratura scientifica è ricca di studi animali in cui le sostanze in esame sono introdotte nell'organismo per via orale, che è la via di somministrazione auspicabile, per motivi di praticità e di *compliance*, per un eventuale trattamento di prevenzione sugli esseri umani. Ad esempio, in uno studio del 2012 (Manikandaselvi *et al.*) la SAC somministrata per via orale ha mostrato un'azione neuroprotettiva in un gruppo di topi albini trattati con aloperidolo, un farmaco antipsicotico che aumenta il metabolismo della dopamina e che può indurre il morbo di Parkinson

come effetto secondario. Anche in questo caso, l'azione protettiva viene espletata principalmente con l'attività antiossidante di *scavenging* del perossido di idrogeno e del radicale ossidrilico e una conseguente riduzione della perossidazione lipidica, nonché con l'aumento dell'attività di enzimi antiossidanti.

La somministrazione di S-allilcisteina in topi trattati con D-galattosio ha inibito l'espressione di APP e dell'enzima che catalizza la sua trasformazione in A β ; ha inoltre significativamente diminuito la produzione di ROS e la carbonilazione delle proteine, e ha ripristinato la funzionalità degli enzimi glutatione perossidasi, superossido dismutasi e catalasi (Tsai *et al.* 2011).

Il pretrattamento per via orale (tre volte al giorno per 65 giorni) con estratto invecchiato di aglio a concentrazioni di 250 e 500 mg/kg si è mostrato efficace nel proteggere la memoria e le funzioni cognitive di una serie di ratti, una volta che a questi veniva provocato un danno neuronale tramite iniezioni di A β . Inoltre, una volta sezionati, i ratti che avevano subito il pretrattamento con l'estratto hanno mostrato una minor perdita di attività dei sistemi glutammatergico e GABAergico nell'ippocampo; il pretrattamento ha inoltre protetto le cellule ippocampali dalla perdita di attività colinergica causata dai ROS in seguito al deposito di A β (Thorajak *et al.* 2017). Nell'ambito di un altro studio, il pretrattamento con estratto invecchiato di aglio si è dimostrato efficace nel migliorare la memoria a breve termine, ma non quella a lungo termine dei ratti trattati con β -amiloide; investigando poi l'attività antinfiammatoria, si è rilevata una inibizione nell'attivazione delle cellule della microglia deputate alla risposta immunitaria a livello di corteccia cerebrale e ippocampo, le quali verrebbero normalmente stimolate in presenza di placche di β -amiloide (Nillert *et al.* 2017).

La somministrazione all'interno della dieta di estratto invecchiato di aglio e di S-allilcisteina isolata su topi transgenici Tg2576 (caratterizzati dall'espressione della APP mutante che porta allo sviluppo della malattia di Alzheimer) ha ridotto anche l'aggregazione di proteine tau fosforilate e la formazione di NFT (Chauhan 2006).

Oltre alla S-allilcisteina, l'estratto invecchiato di aglio contiene altre molecole che potrebbero rivelarsi utili nella protezione delle cellule neuronali. Zhou *et al.* (2014) hanno studiato *in vitro* l'attività immunomodulante di uno dei composti di Amadori contenuti nell'AGE (Fru-Arg), e hanno dimostrato come questo composto sia capace di attenuare le risposte infiammatorie delle cellule microgliali di topo dopo l'esposizione a lipopolisaccaridi che ne stimolavano l'attivazione.

7. Conclusioni

L'aglio (*Allium sativum*) è una pianta conosciuta e utilizzata da millenni, sia come spezia in cucina che per le sue proprietà terapeutiche. Alcuni degli usi che le civiltà antiche facevano di questa pianta, soprattutto per quanto riguarda la sua attività antimicrobica, antinfiammatoria e antiossidante, sono stati in parte confermati e giustificati dalla letteratura scientifica dell'ultimo secolo. Altri utilizzi sono rimasti nella tradizione anche se non sono mai stati supportati da studi scientifici.

In particolare, le proprietà antiossidanti e antinfiammatorie dei composti solforati dell'aglio, che sono ben documentate e dimostrate, potrebbero rivelarsi utili nella prevenzione di alcune malattie neurodegenerative e nell'alleviamento dei loro sintomi. Molte di queste malattie hanno infatti sintomi che sono in parte riconducibili allo stress ossidativo neuronale e all'eccessiva attivazione delle cellule della microglia, che sono deputate alla protezione dei neuroni e alle risposte immunitarie.

Nonostante le basi teoriche siano promettenti, non sono stati reperiti sufficienti studi che riguardano il trattamento di stati neuropatologici con estratti di aglio, ad eccezione della malattia di Alzheimer e della malattia di Parkinson. Queste due patologie, probabilmente perché sono le due più comuni forme di malattie neurodegenerative, hanno ricevuto un'attenzione anche per quanto riguarda il trattamento fitoterapico, e, in particolare, il trattamento con gli estratti di aglio. Poco si può discutere dunque sull'efficacia preventiva dell'aglio sulla maggior parte delle malattie esaminate nel capitolo 5.

Per quanto riguarda la malattia di Alzheimer, la ricerca sembra molto promettente. Numerosi studi animali sono stati effettuati sul pretrattamento con estratto invecchiato di aglio, il quale contiene composti solforati idrosolubili come la S-allilcisteina, più facilmente assorbibili e con una biodisponibilità più alta rispetto a quelli liposolubili come l'allicina. In tutti gli studi esaminati, il pretrattamento ha avuto effetti positivi sulle capacità cognitive quali la memoria e l'orientamento spaziale e sulla funzionalità neuronale.

La S-allilcisteina agisce da antiossidante neutralizzando le specie reattive dell'ossigeno e stimolando l'attività di enzimi antiossidanti. Ha un'azione antinfiammatoria inibendo la produzione di citochine da parte della microglia e proteggendo perciò le cellule neuronali dall'azione immunitaria. Si lega alle catene idrofobe del β -amiloide impedendo la formazione delle placche e inibisce l'aggregazione degli intrecci fibrillari di proteine tau iperfosforilate (NFT).

Non sono comunque disponibili ad oggi studi clinici effettuati su esseri umani, e questo non permette di attestare con certezza l'efficacia neuroprotettiva dell'estratto invecchiato di aglio. Eventuali test su esseri umani sarebbero comunque molto difficili da realizzare, dato che, trattandosi di una terapia di prevenzione, occorrerebbe seguire i pazienti per un periodo molto lungo di tempo (sarebbe necessario iniziare la terapia prima dell'insorgenza dei primi sintomi) e bisognerebbe tenere conto di molte variabili come lo stile di vita individuale e la dieta.

Ringraziamenti

Ringrazio tutta la mia famiglia, e in particolar modo mia madre, per avermi sempre spronato a non mollare e a non darmi per vinto nel mio percorso accademico, consapevole che sarei riuscito ad arrivare alla fine, e mio nonno, che ormai non può più leggere questo lavoro e celebrare con me questo importante traguardo.

Ringrazio il mio paese, Arquà Polesine, perché grazie alla sua tradizione rurale nella coltivazione dell'aglio bianco polesano DOP mi ha ispirato la stesura di questa tesi.

Bibliografia

Abe K., Yoki H., Myoda T. (2020). Characterization of key aroma compounds in aged garlic extract. *Food Chemistry*, 312:126081.

Abe K., Myoda T., Nojima S. (2021). Identification and Characterization of sulfur heterocyclic compounds that contribute to the acidic odor of aged garlic extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(3):1020–1026.

Aboelsoud N. H. (2009). Herbal medicine in ancient Egypt. *Journal of Medicinal Plant Research*, 4(2):82–86.

Al-Zahim M., Newbury H. J., Ford-Lloyd B. V. (1997). Classification of genetic variation in garlic (*Allium sativum* L.) revealed by RAPD. *HortScience*, 32(6):1102–1104.

Amano H., Kazamori D., Itoh K., Kodera Y. (2015). Metabolism, excretion, and pharmacokinetics of S-allylcysteine in rats and dogs. *Drug Metabolism & Disposition*, 43(5):749–755.

Amano H., Kazamori D., Itoh K. (2016). Pharmacokinetics of S-allyl-L-cysteine in rats is characterized by high oral absorption and extensive renal reabsorption. *The Journal of Nutrition*, 146(2):456S–459S.

Badanjak K., Fixemer S., Smajić S., Skupin A., Grünewald A. (2021). The contribution of microglia to neuroinflammation in Parkinson's disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9):4676.

Banerjee S. K., Mukherjee P. K., Maulik S. K. (2003). Garlic as an antioxidant: the good, the bad and the ugly. *Phytotherapy Research: an International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 17(2):97–106.

Beitz J. M. (2014). Parkinson's disease: a review. *Frontiers in Bioscience-Scholar*, 6(1):65–74.

Bhatwalkar S. B., Mondal R., Krishna S. B. N., Adam J. K., Govender P., Anupam R. (2021). Antibacterial properties of organosulfur compounds of garlic (*Allium sativum*). *Frontiers in Microbiology*, 12:613077.

Block E., Ahmad S., Catalfamo J. L., Jain M. K., Apitz-Castro R. (1986). The chemistry of alkyl thiosulfinate esters. 9. Antithrombotic organosulfur compounds from garlic: structural, mechanistic, and synthetic studies. *Journal of the American Chemical Society*, 108(22):7045–7055.

Block E. (1992). The organosulfur chemistry of the genus *Allium* – Implications for the Organic Chemistry of Sulfur. *Angewandte Chemie International Edition*, 31(9):1135–1178.

Bongiorno P. B., Fratellone P. M., Logiudice P. (2008). Potential health benefits of garlic (*Allium sativum*): a narrative review. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 5(1).

Borlinghaus J., Albrecht F., Gruhlke M. C., Nwachukwu I. D., Slusarenko A. J. (2014). Allicin: chemistry and biological properties. *Molecules*, 19(8):12591–12618.

Bryan C. P. (1930). *Ancient Egyptian medicine. The Papyrus Ebers*. Ares Publishers Inc.

Cavallito C. J., Bailey J. H. (1944). Allicin, the antibacterial principle of *Allium sativum*. I. Isolation, physical properties and antibacterial action. *Journal of the American Chemical Society*, 66(11):1950–1951.

- Chandla A. (2017). *Lashuna*: an ancient herb and common Indian spice of great value for females. *International Journal of Ayurveda*, 2(4):1–3.
- Chauhan N. B. (2006). Effect of aged garlic extract on APP processing and tau phosphorylation in Alzheimer's transgenic model Tg2576. *Journal of Ethno-pharmacology*, 108(3):385–394.
- Chekki R. Z., Snoussi A., Hamrouni I., Bouzouita N. (2014). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activity of Tunisian garlic (*Allium sativum*) essential oil and ethanol extract. *Mediterranean Journal of Chemistry*, 3(4):947–956.
- Chen Z., Zhong C. (2014). Oxidative stress in Alzheimer's disease. *Neuroscience bulletin*, 30(2):271–281.
- Chung L. Y. (2006). The antioxidant properties of garlic compounds: allyl cysteine, alliin, allicin, and allyl disulfide. *Journal of Medicinal Food*, 9(2):205–213.
- Colín-González A. L., Santana R. A., Silva-Islas C. A., Chánez-Cárdenas M. E., Santamaría A., Maldonado P. D. (2012). The antioxidant mechanisms underlying the Aged Garlic Extract and S-allylcysteine-induced protection. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012.
- Devi P. V., Brar D. J. K. (2018). Comparison of proximate composition and mineral concentration of *Allium ampeloprasum* (elephant garlic) and *Allium sativum* (garlic). *Chemical Science Review and Letters*, 7:362–367.
- Dugger B. N., Dickson D. W. (2017). Pathology of neurodegenerative diseases. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 9(7).
- Etoh T. (1985). Studies on the sterility in garlic, *Allium sativum* L. *Memoirs of the Faculty of Agriculture, Kagoshima University*, 21:77–132.
- Evrendilek G. A. (2020). Garlic. In *Nutritional Composition and Antioxidant Properties of Fruits and Vegetables*, 89–105. Academic Press.
- Fritsch R. M., Keugsen M. (2006). Occurrence and taxonomic significance of cysteine sulphoxides in the genus *Allium* (Alliaceae). *Phytochemistry*, 67:1127–1135.
- Fujisawa H., Suma K., Origuchi K., Seki T., Ariga T. (2008). Thermostability of allicin determined by chemical and biological assays. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 72(11):2877–2883.
- Goswami D. K. (2020). Garlic (*Allium sativum* – *Lashuna*): a potent useful drug. *International Journal of Ayurveda*, 5(9):14–18.
- Gupta V. B., Rao K. S. J. (2007). Anti-amyloidogenic activity of S-allyl-L-cysteine and its activity to destabilize Alzheimer's β -amyloid fibrils *in vitro*. *Neuroscience Letters*, 429 :75–80.
- Hacıseferoğulları H., Özcan M., Demir F., Çalışır S. (2005). Some nutritional and technological properties of garlic (*Allium sativum* L.). *Journal of Food Engineering*, 68(4):463–469.
- Harris J. C., Cottrell S. L., Plummer S., Lloyd D. (2001). Antimicrobial properties of *Allium sativum* (garlic). *Applied microbiology and biotechnology*, 57(3):282–286.
- Iberl B., Winkler G., Knobloch K. (1990). Products of allicin transformation: ajoenes and dithiins, characterization and their determination by HPLC. *Planta Medica*, 56(2):202–211.
- Ide N., Matsuura H., Itakura Y. (1996). Scavenging effect of aged garlic extract and its constituents on active oxygen species. *Phytotherapy Research*, 10(4):340–341.
- Ide N., Lau B. H., Ryu K., Matsuura H., Itakura Y. (1999). Antioxidant effects of fructosyl arginine, a Maillard reaction product in aged garlic extract. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 10(6):372–376.
- Imai J., Ide N., Nagae S., Moriguchi T., Matsuura H., Itakura Y. (1993). Antioxidant and radical scavenging effects of aged garlic extract and its constituents. *Planta Medica*, 60:417–420.
- Ito Y., Ito M., Takagi N., Saito H., Ishige K. (2003). Neurotoxicity induced by amyloid β -peptide and ibotenic acid in organotypic hippocampal cells cultures: protection by S-allyl-L-cysteine, a garlic compound. *Brain Research*, 985:98–107.

- Kasuga S., Uda N., Kyo E., Ushijima M., Morihara N., Itakura Y. (2001). Pharmacologic activities of aged garlic extract in comparison with other garlic preparations. *The Journal of Nutrition*, 131(3):1080S–1084S.
- Khalid N., Ahmed I., Latif M. S. Z., Rafique T., Fawad S. A. (2014). Comparison of antimicrobial activity, phytochemical profile and minerals composition of garlic (*Allium sativum*) and *Allium tuberosum*. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 57(3):311–317.
- Kodera Y., Suzuki A., Imada O., Kasuga S., Sumioka I., Kanezawa A., Taru N., Fujikawa M., Nagae S., Masamoto K., Maeshige K., Ono K. (2002). Physical, chemical and biological properties of S-allylcysteine, an amino acid derived from garlic. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50:622–632.
- Kodera Y., Kurita M., Nakamoto M., Matsutomo T. (2019). Chemistry of aged garlic extract: Diversity of constituents in aged garlic extract and their production mechanisms via the combination of chemical and enzymatic reactions (Review). *Experimental and Therapeutic Medicine*, 19(2):1574–1584.
- Koga S., Sekiya H., Kondru N., Ross O. A., Dickson D. W. (2021). Neuropathology and molecular diagnosis of synucleinopathies. *Molecular Neurodegeneration*, 16(1):1–24.
- Kroonen G. J. (2012). On the etymology of Greek 'aglis' and 'gegls' (garlic), an Akkadian loanword in Pre-Greek. *The Journal of Indo-European Studies*, 40(3–4).
- Kyo E., Uda N., Suzuki A., Kakimoto M., Ushijima M., Kasuga S., Itakura Y. (1998). Immunomodulation and antitumor activity of aged garlic extract. *Phytomedicine*, 5(4):259–267.
- Kyo E., Uda N., Kasuga S., Itakura Y. (2001). Immunomodulatory effects of aged garlic extract. *The Journal of Nutrition*, 131(3s):1075S–1079S.
- Lancaster J. E., Shaw M. L. (1989). γ -Glutamyl peptides in the biosynthesis of S-alk(en)yl-l-cysteine sulfoxides (flavour precursors) in *Allium*. *Phytochemistry*, 28(2):455–460.
- Lane C. A., Hardy J., Schott J. M. (2018). *European Journal of Neurology*, 25:59–70.
- Laurent C., Buée L., Blum D. (2018). Tau and neuroinflammation: what impact for Alzheimer's disease and tauopathies? *Biomedical Journal*, 41(1):21–33.
- Lawson L. D., Hughes B. G. (1992). Characterization of the formation of allicin and other thiosulfinates from garlic. *Planta Medica*, 58(4):345–350.
- Lawson L. D. (1998). Garlic: a review of its medicinal effects and indicated active compounds. *Blood*, 179(62).
- Lin M. T., Beal M. F. (2006). Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Nature*, 443(7113):787–795.
- Liu H., Mao P., Wang J., Wang T., Xie C. (2015). Allicin protects PC12 cells against 6-OHDA-induced oxidative stress and mitochondria dysfunction via regulating mitochondria dynamics. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 36:966–979.
- Locatelli D. A., Nazareno M. A., Fusari C. M., Camargo A. B. (2017). Cooked garlic and antioxidant activity: correlation with organosulfur compound composition. *Food Chemistry*, 220:219–224.
- Lv R., Du L., Lu C., Wu J., Ding M., Wang C., Mao N., Shi Z. (2017). Allicin protects against H₂O₂-induced apoptosis of PC12 cells via the mitochondrial pathway. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 14(3):2053–2059.
- Ma C., Hong F., Yang S. (2022). Amyloidosis in Alzheimer's disease: pathogeny, etiology, and related therapeutic directions. *Molecules*, 27(4):1210.
- Manikandaselvi S., Mahalakshmi R., Thinagarbabu R., Angumeenal A. R. (2012). Neuroprotective activity of S-allylcysteine on haloperidol-induced Parkinson's disease in albino mice. *International Journal of PharmTech Research*, 4(2):669–675.
- Mann L. (1952). Anatomy of the garlic bulb and factors affecting bulb development. *Hilgardia*, 21(8):195–251.

- Marchese A., Barbieri R., Sanches-Silva A., Daglia M., Nabavi S. F., Jafari N. J., Izadi M., Ajami M., Nabavi S. M. (2016). Antifungal and antibacterial activities of allicin: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 52:49–56.
- Möller T. (2010). Neuroinflammation in Huntington's disease. *Journal of Neural Transmission*, 117(8):1001–1008.
- Nagae S., Ushijima M., Hatono S., Imai J., Kasuga S., Matsuura H., Itakura Y., Higashi Y. (1994). Pharmacokinetics of the garlic compound S-allylcysteine. *Planta Medica*, 60(3):214–217.
- Nillert N., Pannangrong W., Welbat J. U., Chaijanonkhanarak W., Sripanidkulchai K., Sripanidkulchai B. (2017). Neuroprotective effects of aged garlic extract on cognitive dysfunction and neuroinflammation induced by β -amyloid in rats. *Nutrients*, 9(1):24.
- Okada Y., Tanaka K., Fujita I., Sato E., Okajima H. (2005). Antioxidant activity of thiosulfinates derived from garlic. *Redox Report*, 10(2):96–102.
- Palpagama T. H., Waldvogel H. J., Faull R. L. M., Kwakowsky A. (2019). The role of microglia and astrocytes in Huntington's disease. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 12:258.
- Peng Q., Buz'Zard A. R., Lau B. H. S. (2002). Neuroprotective effects of garlic compounds in amyloid- β -induced apoptosis in vitro. *Medical Science Monitor*, 8(8):BR328–337.
- Percival S. S. (2016). Aged garlic extract modifies human immunity. *The Journal of Nutrition*, 146(2):433S–436S.
- Pirșcoveanu D. F. V., Pirici I., Tudorică V., Bălșeanu T., Albu V., Bondari S., Bumbea A., Pirșcoveanu M. (2017). Tau protein in neurodegenerative diseases – a review. *Romanian Journal of Morphology and Embriology*, 58(4):1141–1150.
- Rabinkov A., Miron T., Konstantinovski L., Wilchek M., Mirelman D., Weiner L. (1998). The mode of action of allicine: trapping of radicals and interaction with thiol containing proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects*, 1379(2):233–244.
- Rahman M. S. (2007). Allicin and other functional active components in garlic: health benefits and bioavailability. *International Journal of Food Properties*, 10(2):245–268.
- Rahn K. (1998). Alliaceae. In *Flowering Plants: Monocotyledons*, 70–78. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Ray B., Cauhan N. B., Lahiri D. K. (2011). The “aged garlic extract” (AGE) and one of its active ingredients S-allylcysteine (SAC) as potential preventive and therapeutic agents for Alzheimer's disease (AD). *Current Medicinal Chemistry*, 18:3306–3313.
- Rivlin R. S. (2001). Historical perspective on the use of garlic. *The Journal of Nutrition*, 131(3):951S–954S.
- Rojas P., Serrano-García N., Medina-Campos O. N., Pedraza-Chaverri J., Maldonado P. D., Ruiz-Sánchez E. (2011). S-allylcysteine, a garlic compound, protects against oxidative stress in 1-methyl-4-phenylpyridinium-induced parkinsonism in mice. *Journal of National Biochemistry*, 22:937–944.
- Rouf R., Uddin S. J., Sarker D. K., Islam M. T., Ali E. S., Shilpi J. A., Nahar L., Tiralongo E., Sarker S. D. (2020). Antiviral properties of garlic (*Allium sativum*) and its organosulfur compounds: a systematic update of pre-clinical and clinical data. *Trends in Food Science & Technology*, 104:219–234.
- Ryu K., Ide N., Matsuura H., Itakura Y. (2001). N-alpha-(1-deoxy-D-fructo-1-yl)-L-arginine, an antioxidant compound identified in aged garlic extract. *The Journal of Nutrition*, 131(3s):972S–976S.
- Saleem U., Sabir S., Niazi S. G., Naeem M., Ahmad B. (2020). Role of oxidative stress and antioxidant defense biomarkers in neurodegenerative diseases. *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression*, 30(4):311–322.
- Simon P. W., Jenderek M. M. (2010). Flowering, seed production, and the genesis of garlic breeding. *Plant breeding reviews*, 23:211–244.
- Sripanidkulchai B. (2020). Benefits of aged garlic extract on Alzheimer's disease: possible mechanisms of action (Review). *Experimental and Therapeutic Medicine*, 19:1560–1564.

- Staba E. J., Lash L., Staba J. E. (2001). A commentary on the effects of garlic extracts and formulations on product composition. *The Journal of Nutrition*, 131(3):1118S–1119S.
- Subhramanyam C. S., Wang C., Hu Q., Dheen T. (2019). Microglia-mediated neuroinflammation in neurodegenerative diseases. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 94:112–120.
- Takagi H. (1990). Garlic (*Allium sativum* L.). In *Onion and allied crops Volume III: Biochemistry, Food Science, and Minor Crops*. CRC press.
- Teleanu D. M., Niculescu A., Longu I. I., Radu C. I., Vladăcenco O., Roza E., Costăchescu B., Grumezescu A. M., Teleanu R. I. (2022). An overview of oxidative stress, neuroinflammation, and neurodegenerative diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(11):5938.
- Thorajak P., Pannangrong W., Welbat J. U., Chaijaroonkhanarak W., Sripanidkulchai K., Sripanidkulchai B. (2017). Effects of aged garlic extract on cholinergic, glutamatergic and GABAergic systems with regard to cognitive impairment in A β -induced rats. *Nutrients*, 9(7):686.
- Totelin L. (2015). When foods become remedies in ancient Greece: the curious case of garlic and other substances. *Journal of Ethnopharmacology*, 167:30–37.
- Tsai S., Chiu C. P., Yang H., Yin M. (2011). S-allyl cysteine, S-ethyl cysteine, and S-propyl cysteine alleviate β -amyloid, glycation, and oxidative injury in brain of mice treated with D-galactose. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(11):6319–6326.
- Tsai C. W., Chen H. W., Sheen L. Y., Lii, C. K. (2012). Garlic: health benefits and actions. *BioMedicine*, 2(1):17–29.
- Tsuneyoshi T. (2019). BACH1 mediates the antioxidant properties of aged garlic extract (Review). *Experimental and Therapeutic Medicine*, 19(2):1500–1503.
- Von Klein C. H. (1905). The medical features of the Papyrus Ebers. *Journal of the American Medical Association*, 45(26):1928–1935.
- Wang X., Su B., Perry G., Smith M. A., Zhu X. (2007). Insights into β -amyloid-induced mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 43:1569–1573.
- Weingarten M. D., Lockwood A. H., Hwo S., Kirschner M. W. (1975). A protein factor essential for microtubule assembly. *Proceeding of the National Academy of Sciences*, 72(5):1858–1862.
- Wlosinska M., Nilsson H. C., Hlebowicz J., Hauggaard A., Kjellin M., Fakhro M., Lindstedt S. (2020). The effect of aged garlic extract on the atherosclerotic process – a randomized double-blind placebo-controlled trial. *BMC Complementary Medicine an Therapy*, 20(1):132.
- Yoshimoto N., Saito K. (2019). S-Alk(en)ylcysteine sulfoxides in the genus *Allium*: proposed biosynthesis, chemical conversion, and bioactivities. *Journal of Experimental Botany*, 70(16):4123–4137.
- Zhou H., Qu Z., Mossine V. V., Nkholise D. L., Li J., Chen Z., Cheng J., Greenlief C. M., Mawhinney T. P., Brown P. N., Fritsche K. L., Hannink M., Lubahn D. B., Sun G. Y., Gu Z. (2014). Proteomic analysis of the effects of aged garlic extract and its FruArg component on lipopolysaccharide-induced neuroinflammatory response in microglial cells. *PLoS One*, 9(11):e113531.