

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO
LAUREA TRIENNALE IN SCIENZE FARMACEUTICHE APPLICATE

TESI DI LAUREA

LA FARMACIA DEL VILLAGGIO

Relatore: Prof. Stefano Bona

Laureanda: Milena Pierina Zenti

ANNO ACCADEMICO 2022/2023

Indice

LA FARMACIA DEL VILLAGGIO	3
1. ABSTRACT	3
2. INTRODUZIONE	5
3. LA PIANTA	7
3.1 Classificazione	7
3.2 Caratteristiche.	9
3.3 Distribuzione geografica.....	11
4. USI DEL NEEM NELLA MEDICINA TRADIZIONALE.	12
4.1 Neem in Siddha	12
4.2 Neem nella civiltà della valle dell'Indo.....	13
4.3 Neem nella medicina Ayurvedica.	14
5. STUDI FITOCHIMICI E COSTITUENTI CHIMICI BIOLOGICAMENTE ATTIVI.....	16
6. BENEFICI PER LA SALUTE DERIVATI DAGLI ESTRATTI DI <i>A. indica</i>	19
6.1 Attività antiossidante	19
6.2 Attività antinfiammatoria	21
6.3 Attività antitumorale.....	22
6.4 Attività neuroprotettive	23
6.5 Attività antidiabetica.....	25
6.6 Neem agente anti-HIV.....	26
6.7 Attività antivirale contro SARS-COV-2	28
6.8 Attività contraccettiva.....	29
6.9 Applicazioni dermocosmetiche	31
6.9.2 Attività antiossidante.	32
6.9.3 Attività di inibizione della melanogenesi.....	33
6.10 Attività bio-pesticida.	34
7. TOSSICITÀ.....	39
8. UTILIZZAZIONI.	41
CONCLUSIONI.....	42
Bibliografia	43

LA FARMACIA DEL VILLAGGIO

1. ABSTRACT

Azadirachta indica (A. Juss) 1830, è stato universalmente riconosciuto come “un albero delle meraviglie” per i suoi diversi impieghi. Gli usi terapeutici multidirezionali del Neem sono noti in India sin dai tempi vedici. Oltre alla sua efficacia terapeutica, il Neem ha già stabilito il suo potenziale come fonte di insetticidi, pesticidi e prodotti chimici per l'agricoltura presenti in natura. [1]

In questa tesi vengono discusse l'origine e la storia dell'utilizzo di questa pianta, dai tempi dei Siddhar ai giorni nostri; si occupa inoltre dei fitochimici attivi delle varie parti di *A. Indica*. Inoltre, vengono prese in considerazione le evidenze scientifiche che sostengono l'uso tradizionale, gli usi sicuri ed economicamente più vantaggiosi di diverse parti del Neem nel trattamento di varie malattie e in agricoltura, per quanto riguarda i benefici della salute, come: attività antiossidante, antinfiammatoria, antitumorale, neuroprotettiva, antidiabetica, come agente anti-HIV, antivirale contro SARS-COV-2, attività contraccettiva, le applicazioni dermocosmetiche, l'attività bio-pesticida. Viene analizzata la tossicità di *A. indica*. Sono menzionati anche gli usi commerciali, insieme alle rispettive utilizzazioni. Le informazioni sono state raccolte da database elettronici come PubMed, ScienceDirect, Google Scholar e dal web.

Ho scelto questo titolo per la tesi perché mi ha colpito la possibilità che offre questa pianta di guarire molte malattie senza l'uso di farmaci di sintesi proposti dalle case farmaceutiche. Ho visto questa pianta messa a dimora nel campo di un'amica, Romina, ed è stata lei a mostrarmela per la prima volta e per questo la ringrazio perché in quel momento ho avuto l'ispirazione. Questo mi ha portato a pensare, che proponendo questo argomento, avrei avuto la possibilità di far conoscere questa pianta ad altre persone, con la speranza di poterla coltivare ed utilizzare anche nelle nostre regioni. Romina ha già iniziato, le sue piante hanno ora due anni, ci vorrà tempo per vederle fruttificare e capire la composizione fitochimica del loro olio, rispetto all'olio dei semi coltivato in India ma è pur sempre l'inizio di un nuovo progetto.

Un ringraziamento dal profondo del cuore:

*a Dio che con il suo immenso amore ci ha dato il potere del libero arbitrio,
alla mia anima che si è dibattuta affinché compissi questa scelta,
a mio marito che mi ha supportato e sopportato in questi anni,
ai miei figli che mi hanno spronato e incoraggiato nei momenti di difficoltà,
a tutti i professori conosciuti in questo percorso, che si sono profusi nell'insegnamento e nella divulgazione delle loro conoscenze,
al mio relatore che si è reso disponibile ad accogliere la mia proposta,
a Giulia compagna di viaggio in questa avventura, con la quale ho condiviso gioie e fatiche,
a tutti i compagni dei vari corsi, che si sono prodigati ad aiutarmi e sostenermi,
a Romina che mi ha ispirato nello scrivere questa tesi,
a Giorgia che mi ha aiutato ad esprimermi nella stesura di questo lavoro.
A tutti gli amici che non ho nominato personalmente, che mi hanno incoraggiato e sostenuto,
a tutti voi: grazie, grazie, grazie.*

2. INTRODUZIONE

Sin dagli albori della civiltà umana l'uomo è dipeso dalle benedizioni di Madre Natura, che gli fornisce gli elementi essenziali per la sua sopravvivenza come cibo, vestiti, riparo e medicine. Le piante medicinali sembrano essere parte integrante della lotta della società umana contro un'ampia gamma di malattie. Da millenni le proprietà benefiche dell'albero del Neem (*A. indica*) sono state riconosciute in India, ed è forse la pianta tradizionale più utile del Paese. L'attenzione mondiale e la realizzazione dei benefici a lungo termine che il Neem promette, sia in agricoltura che in sanità, hanno portato a un aumento dell'interesse commerciale [1]. *A. indica* è una delle piante medicinali più importanti mai trovate nella storia dell'umanità. L'uso di *A. indica* che va dalla preistoria al contemporaneo è stato dichiarato "Albero del ventesimo secolo" dalle Nazioni Unite. [2]

A causa delle sue attività miracolose, il Neem è stato anche nominato Farmacia del Villaggio, Farmacia della natura, guarisce tutto e panacea di tutte le malattie. I Veda chiamavano il Neem, "sarva roga nivarini" che significa "colui che cura tutti i disturbi e le malattie". Questo albero è considerato di origine divina, secondo la mitologia indiana, l'amrita (ambrosia o l'elisir dell'immortalità) veniva portata in paradiso e alcune gocce di essa caddero sull'albero di Neem. Un'altra storia racconta del tempo in cui il Sole si rifugiò nell'Albero di Neem per sfuggire ai terribili poteri dei demoni. Piantare tre o più alberi di Neem durante la propria vita era considerato un biglietto sicuro per il paradiso. La parola NEEM deriva dal sanscrito Nimba che significa "donatore di buona salute", arishtha (che allevia, guarisce le malattie). È stato anche conosciuto come Ravisambha– effetti simili ai raggi del sole nel fornire salute.

Quasi ogni parte dell'albero di Neem, vale a dire radici, foglie, fiori, semi, tronco e rami, ha molteplici usi. Il Neem non è solo un'ottima fonte di pesticidi, ma fornisce anche un buon foraggio, combustibile e legname. Questo rende l'albero di Neem un albero potenzialmente molto redditizio.

L'alburno dell'albero di Neem è bianco grigiastro, mentre il durame è bruno-rossastro. il legno è aromatico; non è molto brillante, ma si sega facilmente. Stagiona bene se segato ancora bagnato. Può essere lavorato sia a mano che a macchina, ma non tiene bene lo smalto.

Il legno è resistente anche in condizioni di esposizione prolungata. Inoltre, è resistente alle termiti. La corteccia di Neem contiene tannini che vengono utilizzati nella concia, nella tintura, etc.

L'uso del Neem per la cura dei denti è una antica pratica nel sud dell'India. Anche il migliore spazzolino da denti e il migliore dentifricio non possono sostituire i rami teneri del Neem. Questi rami contengono fibre fini che puliscono il dente mentre i suoi estratti antibiotici vengono rilasciati costantemente durante la spazzolatura, prevenendo così la carie e le malattie parodontali.

Le foglie di Neem possiedono eccellenti proprietà medicinali. Oltre alla sua utilità nella gestione dei parassiti e controllo delle malattie possono anche essere somministrate al bestiame se mescolate con altri foraggi. Le foglie di Neem sono utilizzate in alcune parti dell'India come fertilizzante nelle risaie, soprattutto nel sud degli Stati indiani. In alcuni paesi, le foglie di Neem vengono utilizzate come paccame nei campi di tabacco e pomodori. Possono essere usate molto efficacemente per uccidere le erbacce spargendole sulle radici delle piante per trattenere l'umidità; possono anche essere utilizzate, per proteggere dagli insetti i vestiti di lana e seta immagazzinati

La torta al Neem, che si ottiene durante la lavorazione dell'olio di Neem, è il residuo ottenuto dopo aver estratto l'olio dai chicchi del seme è versatile e ha molti usi. Può essere utilizzata come mangime per il bestiame, fertilizzante e pesticida naturale. Non solo fornisce azoto organico, ma inibisce anche il processo di nitrificazione, se miscelato con urea, prima dell'applicazione nei campi. Tale uso del Neem, urea rivestita in proporzione 90:10 può far risparmiare fino al 30% del fabbisogno totale di azoto chimico di raccolti che altrimenti andrebbero sprecati. Ciò si traduce in una riduzione dei costi della produzione in agricoltura. La torta di Neem è ampiamente usata in India come fertilizzante per canna da zucchero, verdura e altri raccolti da reddito.

I frutti di Neem sono amari, purganti, antiemorroidali e antielmintici (vermifughi) in natura.

I fiori si usano in condizioni viziate di pitta (riequilibrio del calore corporeo) e kapha (formazione della tosse). Sono astringenti, antielmintici e non tossici.

I semi sono anch'essi descritti come antielmintici, antileprotici (curano o prevengono la lebbra) e antiveleni. I semi, insieme alle foglie e alla torta secca di Neem, sono un principio attivo antizanzara.

L'olio di Neem, derivato dalla frantumazione dei semi, è un potente vermifugo ed è di sapore amaro. Ha un ampio spettro d'azione ed è di natura altamente medicinale [3].

3.LA PIANTA

3.1 Classificazione

Nomenclatura binomiale:*Azadirachta indica*(A. Juss) 1830,

popolarmente noto come Neem indiano (albero di margosa) o lillà indiano.

Sinonimi: [4]

= *Antelaea azadirachta*(L.) Adelb.; *Blumea* 6: 315 (1948), nome non accettato a livello internazionale

= *Antelaea canescens* Cels ex Heynh.; *Alph. Aufz. Gew.*: 38 (1846)

= *Antelaea javanica*Gaertn.; *Fruct. Sem. Pl.* 1: 277 (1788)

=*Azadirachta indica subsp. vartakii* Kothari, Londhe & N.P.Singh; *Bull. Bot. Surv. India* 39: 181 (1997 publ. 2001)

= *Azadirachta indica var. minor* Valetton; *Hochr., Pl. Bogor. Exs.*: 66 (1904)

= *Azedarach deleteria* Medik.; *Malv.* 115 (1787)

= *Azedarach fraxinifolia* Moench; *Suppl. Meth. (Moench)* 58 (1802)

= *Melia azadirachta* L.; *Sp. Pl.* 385 (1753)

= *Melia fraxinifolia* Salisb.; *Prodr. Stirp. Chap. Allerton* 317 (1796)

= *Melia hasskarlii* K.Koch; *Hort. Dendrol.*: 72 (1853)

= *Melia indica* (A.Juss.) Brandis; *Forest Fl. N. W. India* 67 (1874)

= *Melia japonica* Hassk.; *Cat. Hort. Bot. Bogor. Alt.*: 219 (1844), nom. illeg.

= *Melia parviflora* Moon; *Cat. Pl. Ceylon*: 35 (1824)

= *Melia pinnata*Stokes; *Bot. Mat. Med.* 2: 482 (1812)

La Tassonomia filogenetica dell'albero di Neem è la seguente: [5]

Dominio: Eukaryota

Regno: Plantae

Divisione: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Sottoclasse: Rosidae

Ordine: Sapindales

Famiglia: Meliaceae

Genere: Azadirachta

Specie: indica

Il nome latinizzato del Neem – Azadirachta indica – deriva dal persiano:

Azad = Libero, dirakht = Albero, i – Hind = di origine indiana

che letteralmente significa: **L'albero libero dell'India**. [6]

Data la sua ampia diffusione, il Neem può contare molti nomi comuni in diverse lingue. Alcuni di essi testimoniano l'uso terapeutico della pianta. Altri svelano come è stata introdotta la pianta in un dato contesto:

- Inglese: Neem, Indian lilac
- Francese: azadirachta d'Inde, margousier, azadirac, azadir
- Portoghese: margosa (Goa)
- Spagnolo: margosa, nim
- Tedesco: Niembaum
- Hindi: Neem, nimb
- Birmano: tamar, tamarkha
- Urdu: nim, Neem
- Punjabi: Neem
- Tamil: vembu, veppan
- Sanscrito: nimba, nimbou, arishtha Sindi: nimmi
- Singalese: kohomba
- Farsi: azad darakht i-Hindi , nib
- Malese: veppa
- Singapore: kohumba, nimba
- Indonesiana: mindi
- Nigeria: dongoyaro
- Swahili: mwarubaini
- Ghana: "king". [6].

3.2 Caratteristiche.

Il Neem è un albero a crescita rapida che solitamente raggiunge un'altezza di 15-20 m, e in condizioni molto favorevoli, anche 30-35 m. Di norma è un albero sempreverde, ma in circostanze estreme, come lunghi periodi di siccità, può perdere quasi tutte le sue foglie. I rami si espandono ampiamente. La chioma abbastanza densa è tondeggiante od ovale e può raggiungere un diametro di 15-20 m negli esemplari vecchi autoportanti.

Il tronco è relativamente corto, dritto e può raggiungere una circonferenza di 1,5-3,5 m. La corteccia è dura, fessurata o squamosa e va dal grigio biancastro al bruno-rossastro, quando è esposta all'aria. L'alburno è bianco-grigiastro e il durame rossastro. L'apparato radicale è costituito da un forte fittone e da radici laterali ben sviluppate. La radice della superficie laterale può raggiungere oltre 18 m. Il Neem è categorizzato come specie vegetale altamente dipendenti da VAM La micorriza vescicolo-arbuscolare (VAM) è associata alle radichette.

Le foglie sono impari, pennate, lunghe 20-30 cm e le foglioline di colore verde medio-scuro, che arrivano fino a 31, sono lunghe circa 3-8 cm. La foglia terminale è spesso mancante. I piccioli sono corti. La forma delle foglioline mature è più o meno asimmetrica. Gli ibridi naturali tra *A. indica* e *A. siamensis*, trovati in Thailandia nei luoghi dove le due specie crescono insieme, hanno una posizione intermedia per quanto riguarda la forma e la consistenza delle foglioline.

I fiori bianchi, profumati, sono disposti in pannocchie ascellari, normalmente più o meno pendenti, lunghe fino a 25 cm. Le infiorescenze, che si ramificano fino al terzo grado, portano circa 150 e occasionalmente fino a 250 fiori. Un singolo fiore è lungo 5-6 mm e largo 8-11 mm. I cinque petali sono lunghi 5-5,5 mm e larghi 2 mm. Fiori bisessuali proterandrici. I fiori maschili esistono sullo stesso individuo (poligamo). L'ovario è triloculare.

I frutti glabri sono drupe olivastre di forma variabile da allungata a quasi tondeggiante e a maturità misurano 1,4-2,8 x 1,0-1,5 cm. Sono verdi quando sono giovani e dal verde giallastro al giallo, raramente rossastri quando sono maturi. La buccia del frutto (esocarpo) è sottile e la polpa agrodolce (mesocarpo) è bianco-giallastra e molto fibrosa. Il mesocarpo ha uno spessore di 0,3-0,5 cm. Il guscio duro bianco (endocarpo) del seme racchiude uno, raramente due e molto raramente tre chicchi di semi allungati con testa marrone. [6].

Un albero di Neem normalmente inizia a fruttificare dopo 3-5anni. In circa dieci anni diventa pienamente produttivo. Dal decimo anno in poi può produrre fino a 50 Kg di frutti all'anno. [7]

Il Neem cresce in pianura e nelle zone fino a 1850 m di altitudine, è coltivato dal livello del mare fino a 1500 m di altitudine, nelle zone tropicali e subtropicali più secche (aride) dell'Asia, dell'Africa, delle Americhe, dell'Australia e delle isole del Pacifico meridionale. Il Neem è tollerante alla maggior parte dei tipi di terreno compresi suoli asciutti, sassosi, poco profondi, croste lateritiche, sabbie e argille altamente liscivate. L'albero di Neem è noto per la sua resistenza alla siccità; normalmente prospera in aree con condizioni da sub-aride a sub-umide, con precipitazioni annue comprese tra 400 e 1200 mm. Può crescere nelle regioni con una piovosità annua inferiore a 400 mm, ma in tali casi dipende in gran parte dalla falda. Il Neem può crescere in molti tipi di terreno diversi, ma prospera in suoli drenati profondi e sabbiosi (pH 6,2-7,0). È un tipico albero tropicale/subtropicale e resiste a temperature medie annue comprese tra 21 e 32 °C. Può tollerare temperature da alte a molto alte. Al contrario non tollera temperature inferiori a 4 °C, che possono causare la perdita di foglie e morte. [3]

3.3 Distribuzione geografica.

L'esatta regione di origine di *A. indica* non è nota. Alcuni autori suggeriscono che potrebbe essere il Myanmar (ex Birmania) e/o in parti dell'India meridionale, come il Karnataka. Altri considerano gran parte del sud-est e del sud Asia, dall'Indonesia all'Iran, come centro di origine, ma la grande variabilità nella forma del suo fogliame e altre caratteristiche morfologiche in Myanmar supporta l'ipotesi che l'albero di Neem potrebbe aver avuto origine in questo territorio. Al giorno d'oggi è ampiamente diffuso, per introduzione dagli immigrati indiani, principalmente nelle zone tropicali e subtropicali più secche (aride) dell'Asia, dell'Africa, delle Americhe, dell'Australia e delle isole del Pacifico meridionale. Nel Pacifico meridionale il Neem si trova nelle Isole Fiji, specialmente nelle parti occidentali dell'isola di Viti Levu. Fu introdotto nel diciannovesimo secolo da maestranze portate dall'India a lavorare nei campi di canna da zucchero delle Fiji. In Australia è stato introdotto per la prima volta circa 60-70 anni fa. In Indonesia, il Neem esiste principalmente nelle basse parti settentrionali e orientali di Giava e nelle isole più a est (Bali, Lombok, Sumbawa). Nelle Filippine è stato introdotto negli anni ottanta del secolo scorso e piantato sulla maggior parte delle isole maggiori, utilizzando semi provenienti da India, Africa (Togo) e Indonesia (Giava), ma a causa di numerosi tifoni e una malattia fungina, la sua crescita è ostacolata sull'isola di Luzon e sulle Visayas, al contrario prospera a Mindanao, dove i tifoni normalmente non si verificano. In Cina, *A. indica* è stata piantata sull'isola subtropicale di Hainan e nella Cina meridionale. In Nepal gli alberi di Neem si trovano nelle zone basse meridionali (regione di Terai). In Sri Lanka è diffuso nelle parti settentrionali più secche dell'isola. In Iran, gli alberi di Neem crescono lungo la costa fino al Chat el Arab in Iraq, nella penisola arabica. In Qatar e ad Abu Dhabi il Neem è stato piantato sotto irrigazione utilizzando acqua di mare desalinizzata lungo viali e parchi. Una grande piantagione, composta da circa 50.000 alberi fu messa a dimora nelle pianure di Arafat vicino alla Mecca per fornire ombra ai pellegrini musulmani che si radunano lì ogni anno per i riti "Hajj". [6]

4. USI DEL NEEM NELLA MEDICINA TRADIZIONALE.

L'Organizzazione Mondiale della Sanità stima che l'80% della popolazione che vive nei paesi in via di sviluppo fa affidamento esclusivamente sulla medicina tradizionale per l'assistenza sanitaria di base. Più della metà della popolazione mondiale si affida ancora interamente alle piante per i medicinali e le piante forniscono i principi attivi della maggior parte dei prodotti medici tradizionali.

4.1 Neem in Siddha

Si ritiene che la medicina Siddha (dal 10.000 a.C. al 4.000 a.C.), praticata nel sud dell'India, sia il sistema medicinale più antico. Il sistema di medicina Siddha è prevalente negli Stati meridionali dell'India, dello Sri Lanka, della Malesia e di Singapore (Figura 1). Tipicamente i siddhar erano santi, dottori, alchimisti e mistici allo stesso tempo. Hanno scritto le loro scoperte, sotto forma di poesie in lingua tamil, su foglie di palma che vengono raccolte e conservate in quello che oggi è noto come manoscritto di foglie di palma. Il manoscritto di foglie di palma è uno dei più antichi mezzi di scrittura in India, specialmente nel sud dell'India. La maggior parte dei manoscritti medici tamil conservati presso l'Istituto di studi asiatici riflette l'antico sistema di medicina. Questo sistema spiega i metodi per ottenere medicinali da erbe, radici, foglie, fiori, cortecce e frutti. Le proporzioni degli ingredienti così come le preparazioni sono spiegate in dettaglio. Secondo la letteratura tamil, il Neem è stata la prima pianta medicinale a trovare posto nel sistema Siddha. Il Neem è stato utilizzato per disturbi come il vaiolo e le malattie infettive ed è anche stato considerato dotato di poteri per allontanare gli spiriti maligni. Un manoscritto di foglie di palma di trecentocinquanta anni conservato nella biblioteca del Centro per la medicina tradizionale e la ricerca (CTMR) di Chennai, in India, rivela gli usi terapeutici del Neem e ne descrive l'utilità per i seguenti scopi: il fiore per la prevenzione e il trattamento dei disturbi biliari; la foglia per le ulcere; e la corteccia per i disturbi del SNC, paralisi e disturbi psichiatrici. Questo particolare manoscritto di foglie di palma era chiamato Agathiyar Gunavagadam. Originariamente Agathiyar Gunavagadam, che fu scritto dal grande Siddhar Agathiyar nel VI secolo a.C., fu portato di generazione in generazione dai siddhar. [2]



Figura 1: Cartina geografica dei principali luoghi dove veniva praticata la medicina Siddha.

4.2 Neem nella civiltà della valle dell'Indo

La prima indicazione registrata, che si stava usando il Neem nel trattamento medico, è di circa 4500 anni fa. Questo era il punto culminante della cultura indiana Harappa, una delle grandi civiltà del mondo antico. Nel 1922, gli archeologi britannici iniziarono a scavare nei siti di Harappa e Mohenjo-Daro, (Figura 2) scoprirono i resti di città dimenticate da tempo. Essi trovarono prove sull'uso di *A. indica* su un teschio sottoposto a chirurgia cranica e vasi di terracotta, che contenevano erbe medicinali. Queste scoperte suggeriscono che *A. indica* era già utilizzata nei processi sia chirurgici che fitochimici nelle civiltà più antiche e sviluppate del mondo. [2].



Figura 2: siti di Harappa e Mohenjo-Daro

4.3 Neem nella medicina Ayurvedica.

Varie parti dell'albero del Neem sono state utilizzate come medicina tradizionale ayurvedica in India. L'olio di Neem e gli estratti di corteccia e foglie sono stati utilizzati terapeutamente come medicina popolare nel trattamento e nel controllo di lebbra, elmintiasi intestinale, disturbi respiratori, costipazione, morbilità del sangue, reumatismi, infezioni biliari, prurito, ulcere cutanee e molti altri insieme a un promotore di salute generale. [8]Alcune applicazioni medicinali di varie parti del Neem sono riassunte nella seguente Tabella1: [6, pp. 518-525]

Tabella 1. Alcuni usi medicinali del Neem menzionati nell'Ayurveda.

PARTE	USI MEDICINALI
Foglia	lebbra, problemi agli occhi, vermi intestinali, anoressia, biliosi, ulcere cutanee
Fiore	soppressione della bile, eliminazione di vermi intestinali e catarro
Rametto	allevia tosse, asma, emorroidi, spermatorrea, disturbi urinari ostinati, diabete
Corteccia	analgesico, antipiretico
Frutta	allevia emorroidi, vermi intestinali, disturbi urinari, problemi agli occhi, diabete, ferite e lebbra
Gomma	efficace contro le malattie della pelle come tigna, scabbia, ferite e ulcere
Polpa di semi	lebbra e vermi intestinali
Olio	lebbra e vermi intestinali
radice, corteccia, foglia, fiore e frutto insieme	morbilità del sangue, affezioni biliari, prurito, ulcera cutanea, sensazione di bruciore e lebbra

5. STUDI FITOCHIMICI E COSTITUENTI CHIMICI BIOLOGICAMENTE

ATTIVI

A. indica, ha attirato l'attenzione mondiale negli ultimi anni, grazie alla sua vasta gamma di proprietà medicinali. Il Neem è stato ampiamente utilizzato nella medicina Ayurvedica, Unani e Omeopatica ed è diventato una stella polare della medicina moderna. Il Neem è considerato un "magazzino" di diversi fitochimici.

Dal rapporto sull'isolamento del nimbin e nimbinina dall'olio di semi del Neem di Siddique nel 1942, [9], oltre 400 composti fitochimici sono stati identificati all'interno dell'albero del Neem, alcuni dei fitochimici più abbondanti (ad esempio, azadiractina, gedunin e nimbolide) sono già stati definiti come potenziali farmaci con una vasta gamma di attività biologiche [10] [11]. Questi fitochimici sono chimicamente diversi e strutturalmente complessi (Fig.3)

I composti sono stati suddivisi in due classi principali: isoprenoidi e non isoprenoidi. Da un lato, gli isoprenoidi includono diterpenoidi e triterpenoidi che comprendono protomeliacine, limonoidi, azadirone e suoi derivati; gedunin e suoi derivati; composti di tipo vilasinina; e C-seco-meliacine come nimbinina, salannina e azadiractina. D'altro lato, i non isoprenoidi sono costituiti da proteine (amminoacidi) e carboidrati (polisaccaridi), composti solforati, polifenoli come flavonoidi e loro glicosidi, diidrocalcone, cumarina e tannini inclusi composti alifatici, solo per citarne alcuni [11].

I composti che sono stati studiati più a fondo per le loro proprietà antimicrobiche individuali finora sono i limonoidi [12]. I limonoidi sono triterpeni altamente ossigenati, costituiti da quattro anelli a sei membri (A, B, C o D) e un anello furanico e sono quindi chiamati tetranortriterpenoidi. La parola limonoide deriva dalla limonina, un composto amaro isolato per la prima volta dagli agrumi nel 1841. I limonoidi si trovano ampiamente nelle foglie, nella corteccia, nei frutti, nei semi o nei chicchi della famiglia delle Meliaceae e delle Rutaceae. Si possono suddividere in quelli con sistema ad anello integro ed altri in cui uno dei quattro anelli è aperto. La struttura dei limonoidi gli conferisce un sapore amaro [13]. I limonoidi ottenuti dalla pianta di Neem rappresentano la maggior parte delle sostanze fitochimiche. Gli esempi di limonoidi ottenuti dal Neem sono deoxygedunin, gedunin, azadirone, azadiradione, epoxyazadiradione, nimbinina e salannina. [13]. La stessa nimbinina è un composto inattivo, ma può essere trasformata in salannina a causa della reazione enzimatica. Ulteriori modifiche

enzimatiche e ossidazione portano alla formazione di azadiractina. L'azadiractina è il composto più attivo del Neem, che è tossico per gli insetti. L'amarezza del Neem è dovuta principalmente all'accumulo di limonoidi. La presenza di limonoidi nelle meliaceae è chiamata meliacina. [14]

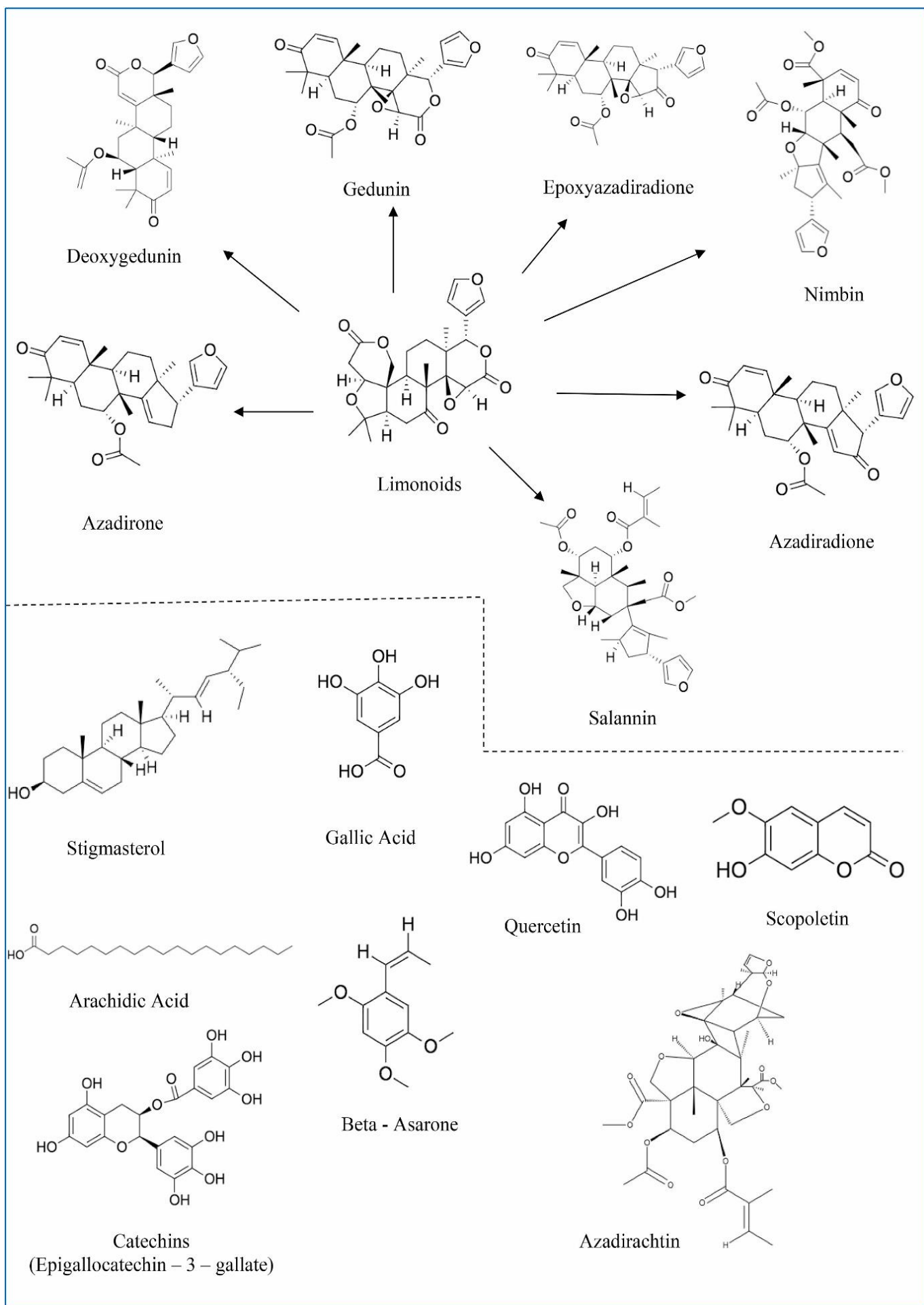


Figura 3: Struttura molecolare dei comuni fitochimici del Neem.

6. BENEFICI PER LA SALUTE DERIVATI DAGLI ESTRATTI DI *A. indica*.

6.1 Attività antiossidante

I radicali liberi o le specie reattive dell'ossigeno (ROS) sono una delle principali fonti di infiammazione, poiché agiscono su molte molecole biologiche, esercitando danni, sottraendo elettroni per entrare in uno stato stabile, scatenando nella cellula uno stato di stress ossidativo [15]. Pertanto, è necessario fornire composti adeguati (denominati antiossidanti) per stabilizzare o neutralizzare questi radicali, per prevenire o bloccare un'esacerbazione dello stress ossidativo, che può portare a molte malattie. Queste molecole antiossidanti integreranno il lavoro delle difese antiossidanti naturali del corpo: superossido dismutasi (SOD), catalasi (CAT), glutatione perossidasi (GPX), glutatione (GSH), ossido nitrico diossigenasi (NOD). [16].

Per fornire al corpo tali composti, un modo semplice è integrarli nella dieta, somministrando estratti naturali, come quelli derivati dal Neem; in forme come tè e oli, sembrano essere un modo semplice ed economico per introdurre antiossidanti. [15]. Sebbene continuo molti dibattiti e ricerche sull'efficacia e la sicurezza degli estratti, possiamo ancora considerare sicure alcune preparazioni, come quelle tipicamente utilizzate nel folklore medicinale, anche se queste preparazioni sono artigianali e i potenziali benefici variano da preparazione a preparazione; ricordando che, non dobbiamo ignorare che alcuni composti naturali possono ulteriormente alterare alcuni stati patologici. [17].

Le proprietà antiossidanti degli estratti di Neem sono attribuite alla presenza di polifenoli [18]; quindi, il contenuto polifenolico totale è importante per mantenere l'attività antiossidante di diverse parti della pianta di Neem. Il contenuto fenolico del Neem può variare in base alla posizione geografica e ad altri fattori abiotici. [19]. Pubblicati nel tempo, possiamo vedere una serie diversificata di studi sul Neem volti a testare l'effetto antiossidante e/o a testare il potenziamento delle difese naturali dell'organismo.

Uno studio basato sull'analisi HPLC ha rivelato che l'olio di Neem contiene composti fenolici come idrossi-tirosolo, tirosolo, acido vanillico, acido caffeico, vanillina, acido p-cumarico, vitamina D, vitamina E, acido ferulico, luteolina, pinresinolo, aglicone oleuropeina e ligstroside aglicone [20]. È stato anche riferito che l'essiccazione delle foglie di Neem favorisce il mantenimento delle attività dei composti polifenolici [21]. Tuttavia, il contenuto di

polifenoli totali e l'attività di scavenging dei radicali dell'estratto di foglie sono proporzionalmente legati alle proprietà antiradicaliche e antimicrobiche. Uno studio ha mostrato le somiglianze tra le foglie di *A. indica* e altri conservanti sintetici sull'ossidazione dei lipidi nelle polpette di manzo crude refrigerate [22].

Un altro studio rileva che l'estratto metanolico delle foglie di *A. indica* può eliminare i radicali liberi. I risultati dell'attività di scavenging sono rappresentati come equivalenti ai loro valori concentrazione inibente 50%(IC50): l'ossido nitrico (6,38 mg/ml), l'1,1-difenil-2-picryl idrazile (DPPH) (6,65 mg/ml), il superossido (9,21 mg/ml) e l'idrossile radicali (4,35 mg/ml) [23].

Uno studio utilizza foglie e metanolo per estrarre potenziali composti dal Neem. In tale studio, hanno testato questo estratto sui ratti, come pretrattamento, per 7 giorni a 100-200 mg/kg, confrontando questo estratto con animali non trattati e trattati con vitamina C (un noto antiossidante), in un modello di induzione danno da riperfusione ischemica intestinale (IIRI).I ratti IIRI hanno ridotto l'espressione della chinasi regolata extracellulare (ERK1/2), mentre il gruppo dell'estratto ha ridotto diversi marcatori di infiammazione come la mieloperossidasi nel siero. Allo stesso modo, per non-IIRI, i livelli di ossido nitrico sono rimasti a un livello costante (controllo 0,036 μ mole/l, estratto 0,034 μ mole/l e vitamina C 0,042 μ mole/l), ma sono diminuiti per IIRI (0,025 μ mole/l). Inoltre, il gruppo estratto ha aumentato i livelli di GSH con conseguente recupero della glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G6PD), quindi questi studiosi hanno concluso che l'estratto aiuta a rafforzare le difese naturali del corpo. [24].

È stato anche osservato che l'uso di estratto etanolic di foglie di Neem stabilizza l'olio di palma durante la conservazione riducendo la perossidazione. I composti bioattivi delle foglie di Neem possiedono una significativa attività antiossidante, poiché i valori di inibizione IC50 (%) risultano essere $12,5400 \pm 0,0173$ contro uno standard 82.5333 ± 0.0611 e $43,8233 \pm 0,0251$ contro uno standard 61.0633 ± 0.0404 per DPPH e β -carotene linoleico, rispettivamente. [25]

L'attività scavenging è stata studiata anche con l'estratto etanolic di radici di Neem. In questo studio, l'estratto etanolic della radice di Neem ha mostrato una notevole capacità di eliminare il DPPH e lo ione ferroso libero contro l'acido L-ascorbico e l'idrossianisolo butilato(BHA) come controllo positivo. [26]La gomma di Neem è un essudato dell'albero, per la sua elevata attività antiossidante, la gomma di Neem può essere utilizzata

come agente emulsionante nell'industria alimentare, cosmetica e farmaceutica [27]. L'olio ottenuto da *A. indica* ha l'enorme potenzialità di migliorare l'efficacia dei farmaci antiossidanti disponibili in commercio. È stato riferito che l'incapsulamento e la bioemulsione con olio di *A. indica* migliorano l'attività antiossidante del Ceftriaxone, farmaco antibiotico [28].

Altri studi hanno dimostrato che gli yogurt arricchiti con Neem hanno un contenuto fenolico totale più elevato, fino al 20% in più rispetto allo yogurt tradizionale. Questa elevata capacità di arricchimento si è rivelata preziosa, poiché quando il laboratorio ha testato lo yogurt arricchito con Neem aveva la capacità di inibire DPPH di 53,1 µgGAE/ml (giorno 28) rispetto a 35,9 µg GAE/ml come osservato sullo yogurt bianco. Inoltre, hanno testato la massima inibizione di molecole chiave nel diabete e nell'ipertensione: α-amilasi (47,5%), α-glucoside (15,2%) e l'enzima di conversione dell'angiotensina(48,4%). Per tutto quanto sopra, il gruppo di ricerca biomolecolare delle Facoltà di scienze dell'Università della Malesia ha concluso che lo yogurt arricchito con Neem rappresenta un ragionevole coadiuvante per aumentare le naturali proprietà depurative all'interno del corpo. [29].

6.2 Attività antinfiammatoria

Una proprietà importante riscontrata negli estratti di Neem è la loro capacità di agire come agenti antinfiammatori [30]. Ora, il principale composto bioattivo trovato nel Neem è il limonoide. Il limonoide è un furanolattone, noto per le sue proprietà inibitorie nella produzione di mediatori infiammatori, è noto anche come anestetizzante del dolore, in quanto stimola l'attivazione delle vie endogene degli oppioidi. [30]. Soares *et al.*, hanno dimostrato che il limonoide estratto dal Neem può inibire l'edema e la crescita del tessuto fibrovascolare quando testato su zampe di ratto danneggiate e hanno concluso che questo era più efficace a un dosaggio di 120 mg/kg, mostrando un particolare effetto inibitorio sulle principali molecole infiammatorie come il fattore di necrosi tumorale alfa (TNF-α) e le interleuchine. [30].

Nel tempo, diversi altri studi hanno approfondito il meccanismo dell'attività antinfiammatoria dei limonoidi [31].

Un altro composto interessante, con effetti antinfiammatori è l'eossi-azadiradione. Questo composto mostra un potenziale citotossico in varie patologie fungendo da modulatore del fattore inibitorio della migrazione dei macrofagi; inibendo la sua attività tautomerica e la capacità di fattore nucleare $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$) di traslocare, impedendo il rilascio di

citochine proinfiammatorie come IL-1 α , IL-1 β , IL-6 e TNF- α [32]. Nel corpo, l'infiammazione porta all'attivazione della via cicloossigenasi, e l'inibizione delle cicloossigenasi 1 e 2 (COX1, COX2) da parte del Neem è stato un argomento ampiamente studiato [33].

Anche l'estratto di corteccia di Neem è in grado di ridurre il dolore e l'infiammazione. Inoltre, lo studio in questione ha dimostrato la riduzione della sostanza P, un neuropeptide proinfiammatorio, nell'infiammazione indotta da lipopolisaccaridi nelle cellule di neuroblastoma utilizzando appunto l'estratto di corteccia di Neem [34].

6.3 Attività antitumorale

Il cancro al seno è uno dei tumori invasivi più comunemente diagnosticati tra le donne di tutto il mondo. Tra i diversi sottotipi, il carcinoma mammario triplo negativo (TNBC) è altamente aggressivo e chemioresistente. Il trattamento delle pazienti con TNBC è stato impegnativo a causa dell'eterogeneità e della mancanza di bersagli molecolari ben definiti. Kumar D. et al. hanno utilizzato nel loro studio epoxyazadiradione (EPA) per valutare la vitalità cellulare, il potenziale mitocondriale, il livello di ROS, la migrazione cellulare, l'apoptosi e l'espressione proteica nei modelli di coltura cellulare delle cellule di carcinoma mammario TNBC MDA-MB-231 e ricettore degli estrogeni ER + MCF-7. Il meccanismo molecolare è stato esaminato in due diversi tipi di cellule tumorali al seno in risposta all'EPA; hanno anche analizzato l'effetto dell'EPA sulla crescita del tumore al seno utilizzando un modello di topo in vivo. In questo studio, Kumar et al. hanno studiato per la prima volta dieci principali limonoidi isolati da *A. indica*, tra cui:

- 1) Epoxyazadiradione;
- 2) Azadiradione;
- 3) 17 β -idrossiazadiradione;
- 4) Gedunin;
- 5) Nimbin;
- 6) 6-deacetilnimbina;
- 7) Salannin;
- 8) 3-deacetilsalannina;
- 9) Azadiractina A;
- 10) Azadiractina B.

Per esaminare il loro effetto anticancro, questi importanti limonoidi di Neem sono stati testati in cellule di cancro al seno MDA-MB-231 e MCF-7, nei loro dati Kumar et al. hanno

mostrato l'ampia variazione nella loro potenza. È stato osservato che i limonoidi con scheletri ad anello intatto (di base) presentano un elevato effetto citotossico rispetto a C-Seco. I limonoidi di base studiati, condividono caratteristiche strutturali comuni negli anelli A, B e C. La loro diversità strutturale appare dalla variazione dell'anello a D. L'epossiazadiradione contiene chetone ad anello D a cinque membri (C-16) con 14,15 β -epossido e ha mostrato la più alta citotossicità tra tutti i limonoidi quando testato nelle cellule MDA-MB-231 e MCF. Tra tutti i limonoidi testati per i loro effetti citotossici, EPA è stato ulteriormente selezionato per il suo meccanismo molecolare e l'effetto antitumorale utilizzando modelli in vitro e in vivo. L'EPA mostra la più potente attività antitumorale sia nelle cellule di carcinoma mammario TNBC che ER+.L'EPA induce l'apoptosi e inibisce il potenziale mitocondriale mediato dalla via di segnalazione fosfatidilinositolo-3-chinasi PI3K/Akt, la vitalità cellulare, la migrazione e l'angiogenesi. Inoltre, inibisce l'espressione di geni pro-angiogenici e pro-metastatici come Cox2, OPN, VEGF e MMP-9 in queste cellule. Inoltre, epoxyzadiradione attenua l'attivazione AP-1 mediata da PI3K/Akt.

I dati in vivo hanno rivelato che l'epossiazadiradione sopprime la crescita del tumore al seno e l'angiogenesi nel modello di topo NOD/SCID (immunodeficienza combinata diabetica/grave non obesa) ortotopico. La loro conclusione è stata che, l'EPA inibisce la depolarizzazione mitocondriale dipendente da PI3K/Akt, induce l'apoptosi e attenua la migrazione cellulare, l'angiogenesi e la crescita del tumore al seno, suggerendo che questo composto può agire come un potente agente terapeutico per la gestione del cancro al seno [35].

6.4 Attività neuroprotettive

Diversi fattori sono associati alla patogenesi dei disturbi neurologici. Tuttavia, sta diventando sempre più evidente che la deregolazione della rete infiammatoria e lo squilibrio ossidativo insieme alla disfunzione mitocondriale e all'accumulo di proteine aggregate anomale svolgono un ruolo importante nella neurodegenerazione nei suddetti disturbi neurologici.

Negli ultimi anni, molte molecole del Neem si sono dimostrati utili contro vari disturbi neurologici come il morbo di Alzheimer (AD) e il morbo di Parkinson, disturbi dell'umore, lesioni da ripercussione ischemica. Le sostanze fitochimiche del Neem sono principalmente mediate dalle loro attività antiossidanti, antinfiammatorie e anti-apoptotiche insieme alla loro capacità di modulare le vie di segnalazione. Tuttavia, sono ancora necessari studi

approfonditi per comprendere appieno i meccanismi molecolari coinvolti negli effetti neuroprotettivi delle sostanze fitochimiche del Neem [36].

Sulla base delle prove presenti in letteratura, il Neem sembra avere un potenziale effetto benefico in vari disturbi neurologici. Il limonoide, deossigedunina (DG) o 14, 15-deossigedunina è un tetranortriterpenoide ha effetti antidepressivi e anti-Parkinson che coinvolgono la segnalazione della tropomiosina chinasi B (TrkB) e della sua segnalazione a valle [37]. È stato anche dimostrato che l'attivazione del recettore TrkB mediata da DG previene l'emergenza post-ischemica di convulsioni neonatali refrattarie nei topi [38]. Pertanto, la DG può agire come un promettente composto guida per esercitare potenti effetti neuroprotettivi, antidepressivi e di potenziamento cognitivo mediati da TrkB [37]. Questo rende DG un potenziale agente terapeutico per il trattamento di disturbi neurologici. Il limonoide gedunin, un triterpenoide pentaciclico, attiva la proteina HSF-1, che si presenta come monomero inattivo nel citoplasma, induce Hsp70 e ha dimostrato di possedere proprietà neuroprotettive nel modello sperimentale della malattia di Huntington (MH), una malattia neurodegenerativa mortale con un'espansione anomala delle ripetizioni CAG nell'*huntingtin* gene. Gedunin agisce anche come inibitore naturale della proteina da shock termico 90 (Hsp90) prevenendo così l'aggregazione della proteina mutante dell'*huntingtin* (mHTT). La mHTT forma aggregati anomali e inclusioni intranucleari in neuroni specifici, con conseguente morte cellulare.

Studi *in vitro* e *in vivo* hanno mostrato la degradazione degli aggregati mHTT da parte della gedunina in modo dipendente dalla dose e dal tempo. Le cellule Neuro2a incubate con 5, 10 e 20 $\mu\text{mol/L}$ di gedunin per 8, 16 e 24 ore hanno rivelato che il trattamento prolungato (16 e 24 ore) con alte dosi di gedunin (20 $\mu\text{mol/L}$) mostrava la massima degradazione della proteina mHTT [39]. Inoltre, la gedunina inibisce l'attivazione microgliale indotta da A β 1-42 oligomerica attraverso la modulazione della segnalazione Nrf2-NF- κ B nella malattia di Alzheimer (AD), una malattia neurodegenerativa e la principale causa di demenza nelle popolazioni anziane di tutto il mondo. La deposizione di aggregati proteici tossici come l'amiloide-beta (A β) è un segno distintivo dell'AD e vi è una crescente consapevolezza che un fattore chiave della patogenesi dell'AD è la cascata neuroinfiammatoria innescata e sostenuta da queste proteine [40]. L'azione neuroprotettiva dell'epoxyazadiradione (EPA) è stata studiata nell'AD. L'effetto di diversi limonoidi come gedunin, EPA, azadirone e azadiradione sull'aggregazione tau e sulla disintegrazione degli aggregati tau (fibrille) è stato studiato in-

silico. È stato osservato che i limonoidi di base interagiscono con le regioni esapeptidiche delle proteine tau aggregate. La principale funzione della proteina Tau è quella di stabilizzare i microtubuli ed è distribuita prevalentemente negli assoni. Lo stato patologico è conseguenza di insulti cellulari come attività anormale di chinasi e proteasi, altre modificazioni post-traduzionali (PTM) come fosforilazione, acetilazione, glicazione, metilazione etc. e stress ossidativo. In condizioni patologiche, Tau perde la sua affinità per i microtubuli e si autoassembla in grovigli neurofibrillari (NFT). Ciò porta al disassemblaggio dei microtubuli e alla perdita di integrità assonale che alla fine causano la morte neuronale. Gli studi *in vitro* hanno confermato che i limonoidi prevengono efficacemente l'aggregazione tau e destabilizzano le fibrille tau maturate. Queste molecole hanno persino salvato la morte cellulare. Nelle cellule HEK293T, i limonoidi di base sono risultati non tossici e hanno anche attivato la proteina fattore di trascrizione shock termico 1 (HSF-1) esercitando un effetto neuroprotettivo. Tra tutti i limonoidi di base, l'EPA è risultata essere la molecola neuroprotettiva più potente che mostra la massima disintegrazione delle fibrille tau (63,5%) e l'attivazione della proteina HSF-1 [41]. I risultati suggeriscono che l'EPA potrebbe essere una terapia efficace per le malattie neurodegenerative che coinvolgono tau. Come l'EPA, anche l'azadirone mostra la sua natura neuroprotettiva inibendo l'aggregazione tau e la disintegrazione degli aggregati tau *in vitro*. L'azadirone è anche non tossico per le cellule HEK293T e attiva la proteina HSF-1 promuovendo così la disintegrazione degli aggregati tau e salvando la morte cellulare [41].

6.5 Attività antidiabetica

Tra i vari metodi e le farmacoterapie in fase di sviluppo, l'uso degli estratti di Neem è cresciuto costantemente di interesse. Diversi studi condotti su modelli di ratto diabetico indotto hanno rivelato il ripristino dell'enzima glucosio-6-fosfato-deidrogenasi (G-6-PD) quando trattato con estratti di Neem. Il G-6-PD è il principale produttore di nicotinammide adenina dinucleotide fosfato (NADPH), che provvede a fornire gli equivalenti riducenti per le reazioni biosintetiche e per le ossidoriduzioni coinvolte nella protezione dalla tossicità delle specie reattive dell'ossigeno (ROS). Qualsiasi cambiamento del G-6-PD altererà i livelli di NADPH e quindi avrà un impatto sull'intero sistema antiossidante e renderà i tessuti molto vulnerabile al danno ossidativo. Inoltre, il G-6-PD è l'enzima limitante della velocità della via del pentoso fosfato,

che aiuta a mantenere il normale livello di glucosio nel sangue. Nello specifico, lo studio di Shailey e Basirha mostrato le proprietà ipoglicemicizzanti e antiossidanti di *A. indica*, la quale ha portato a una riduzione della produzione di radicali liberi e della formazione di perossidi lipidici ripristinando gli enzimi antiossidanti. Come rilevato dai parametri studiati, sia l'estratto di foglie che l'estratto di corteccia sono risultati efficaci nel controllare lo stress ossidativo indotto dall'iperglicemia e stabilizzare i parametri fisiologici e il sistema di difesa antiossidante; hanno confermato che entrambi avevano un'omeostasi del glucosio simile rispetto all'uso standard di insulina o controllo. Quindi, questi estratti mostrano un enorme potenziale come farmacoterapia alternativa [16].

Inoltre, gli estratti arricchiti con epossidi-azadiradione purificati dal seme di Neem hanno dimostrato un effetto senza precedenti sul glucosio nei modelli di ratto diabetico: un calo di quasi il 37% nel giro di poche ore. Uno studio a lungo termine ideato da Patil et al., ha mostrato gli effetti su un periodo di 15 giorni, dove hanno potuto concludere che gli estratti di Neem a 800 mg/kg potrebbero modulare i livelli di zucchero nel sangue. I loro modelli testati avevano livelli di glucosio superiori al 50% che potevano ridursi con il mantenimento di 300 mg/dl durante questo periodo. Comparativamente, altri ricercatori hanno ottenuto risultati simili utilizzando estratti a base di cloroformio [42].

6.6 Neem agente anti-HIV

L'HIV/AIDS viene gestito assumendo terapie antiretrovirali (ART), che vengono utilizzate in varie combinazioni comunemente note come terapia retrovirale altamente attiva (HAART). Il trattamento con HAART promuove una diminuzione sostenuta della carica virale e il ripristino della risposta immunitaria, nonché una riduzione della morbilità e della mortalità per infezione da HIV [43]. Dal 2019, l'assunzione di ART è sistematica nei pazienti affetti da HIV/AIDS, indipendentemente dallo stato clinico e dal livello di CD4+.

L'espansione dell'accesso al trattamento ha portato a diversi problemi come l'indisponibilità di antiretrovirali, difficoltà nel monitoraggio di laboratorio e un aumento del tasso di fallimento del trattamento [44]. Pertanto, è necessario scoprire nuovi agenti anti-HIV per integrare l'attuale arsenale di farmaci anti-HIV e fornire opzioni terapeutiche per popolazioni con risorse limitate o accesso a chemioterapie attualmente efficaci. I prodotti

naturali di origine vegetale continuano a fungere da serbatoio per la scoperta di nuovi farmaci, compresi gli agenti anti-HIV [44].

Studi clinici hanno dimostrato che l'estratto di foglie del Neem inibisce l'invasione dei linfociti umani da parte dell'HIV-1 e provoca un significativo miglioramento del numero di cellule CD4+ in un piccolo numero di pazienti con HIV/AIDS [45]. In Camerun, nel 2019, la popolazione adulta afflitta dall'HIV è stata del 3,6%:5,0% tra le donne e 2,3% tra gli uomini, corrispondente a circa 540.000 adulti. Probabilmente per questo motivo nella regione del Camerun settentrionale, due piante medicinali, *A. indica* e *Senna siamea*, sono ampiamente utilizzate nella comunità per il trattamento dell'HIV/AIDS. Le loro virtù terapeutiche sono fortemente citate con diverse attività ed effetti ad esse attribuiti [44]. Considerando il consumo popolare del decotto di queste due piante nella regione del Nord Camerun e il valore medicinale tradizionale accreditato, le loro reali proprietà sono state valutate per confermarne l'uso.

Lo studio di Hamadama et al. mira non solo a valutare il potenziale antiretrovirale del decotto delle due piante, ma anche a valutare questo potenziale antiretrovirale quando il decotto è accoppiato con HAART. Per questo studio sono stati reclutati un totale di 297 partecipanti di età compresa tra 18 e 52 anni e sieropositivi, divisi in 3 gruppi: uno che assumeva solo il decotto (gruppo 1), un altro che assumeva solo la terapia antiretrovirale (ART) (gruppo 2) e infine uno che assumeva il decotto e antiretrovirale (gruppo 3). Durante i 6 mesi, tutti i partecipanti dei gruppi interessati hanno consumato giornalmente (mattina e sera) 250 ml di *A. indica* e *S. siamea* decotto. I livelli di CD4+ e CD8+ sono stati misurati mediante citometria a flusso. La tossicità epatica e renale e lo stress ossidativo sono stati valutati spettrofotometricamente misurando i parametri ALT, AST, ALP, BUN, CREAT, SOD, CAT e GSH. Si è notato un aumento del livello di CD4+ dei tre gruppi con valori molto più pronunciati nel gruppo trattato con ART + decotto, da 328 ± 106 a 752 ± 140 . Il gruppo due presentava non solo segni biologici di tossicità epatica e renale ma anche significativi lo stress ossidativo. Nessun segno di tossicità è stato rilevato negli altri gruppi. Lo studio conclude che un decotto di *A. indica* e *S. siamea* stimola la produzione di CD4+ e non è tossico; al contrario, ridurrebbe la tossicità causata dall'assunzione di ART [44]. D'altro canto, Kamagaté et al. riportano in una recensione che *S. siamea* presenta attività antimicrobiche, antimalariche, antidiabetiche, antitumorali, ipotensive, diuretiche, antiossidanti, lassative, antinfiammatorie, analgesiche, antipiretiche, ansiolitiche, antidepressive e sedative [46].

La letteratura è ricca di osservazioni in merito ad *A. indica* e alle sue proprietà antiretrovirali, ma l'effetto immunostimolante del decotto di *A. indica* e *S. siamea* studiato da Hamadama et al. è molto maggiore. Questa differenza potrebbe essere spiegata dal fatto che questo decotto è la miscela delle due piante. Una con un'attività antiretrovirale-HIV già dimostrata (*A. indica*) e l'altra (*S. siamea*) con una buona attività antiossidante e, probabilmente, anche un'attività antiretrovirale-HIV che però non è mai stata valutata prima. Uno dei meccanismi più probabili è che i principi attivi nelle piante potrebbero inibire la formazione del sincizio legandosi alla proteina virale gp120, bloccando l'interazione gp120-CD4+, quindi non solo inibendo il legame dell'HIV alle cellule CD4+ ma anche prevenendo la formazione del sincizio (fusione di due o più cellule tra loro, con la formazione di una sola cellula multinucleata) indotta dall'HIV [45].

6.7 Attività antivirale contro SARS-COV-2

La biosintesi delle nanoparticelle (NP) è un metodo ecologico utilizzato per produrre NP; è facile ed economico con un impatto minimo sull'ambiente. Inoltre, i vari polifenoli e proteine contenuti nelle piante agiscono come agenti riducenti che rendono il processo di biosintesi meno tossico rispetto ai composti metallici che possono essere pericolosi [47]. Di conseguenza, a causa del suo aspetto ecologico, la sintesi verde di nanoparticelle da piante naturali ha attirato l'attenzione nelle applicazioni farmaceutiche.

Per quanto riguarda SARS-CoV-2, la maggior parte degli studi che evidenziano l'effetto antivirale degli estratti vegetali di Neem su questo patogeno sono studi di docking molecolare, tecnica computazionale che permette lo studio dell'interazione tra due molecole; tecnica che viene utilizzata, in particolare, per studiare l'interazione delle proteine con altre molecole di interesse biomedico, quali acidi nucleici, farmaci e altre proteine. [48]. Gli estratti di corteccia di Neem hanno dimostrato attività antivirali e immunomodulatorie contro il virus Herpes Simplex di tipo 1 e SARS-CoV-2 [49]. Inoltre, uno studio che ha valutato l'effetto inibitorio di 160 fitocomposti, ha dimostrato che l'azadiractina era altamente efficace contro SARS-CoV-2 attraverso l'inibizione rispettivamente delle proteine Mpro, PLpro e RdRp, tre bersagli terapeutici specifici. [50]. Inoltre, la somministrazione intranasale e orale in vivo di nimbina e dei suoi isomeri estratti dalla corteccia di Neem ha dimostrato risposte inibitorie nei confronti di m-CoV-RSA59 e SARS-CoV-2 inibendo l'espressione e la diffusione virale [51].

Un altro studio di Baildya et al. esamina l'attività inibitoria di 19 composti dell'estratto di Neem testati contro 7 farmaci anti-COVID standard per l'azione sul PLpro di quest'ultimo. L'attività viene analizzata dallo studio di docking molecolare insieme alla simulazione della dinamica molecolare. Tutte le 19 molecole di Neem mostrano un migliore aggancio, risultati ADME (Assorbimento, Distribuzione, Metabolismo, Escrezione) rispetto ai farmaci standard; mostrando un discreto livello di attività inibitoria contro PLpro di SARS-CoV-2. Tra questi, la desacetilgedunina (DCG) trovata nei semi di Neem ha mostrato la più alta affinità di legame verso PLpro. Inoltre, gli studi di simulazione della dinamica molecolare (MD) supportati da analisi standard (ad es. Deviazione quadratica media e fluttuazione (RMSD, RMSF), raggio di rotazione, superficie accessibile dal solvente (SASA)) hanno mostrato un grande impatto sulla struttura di PLpro da parte di DCG [52]. In sintesi, queste proprietà rendono gli estratti di Neem candidati idonei e agenti di capping per la biosintesi di NP che possono essere utilizzati come antivirali o formulazioni antimicrobiche contro agenti patogeni infettivi come SARS-CoV-2.

Questa area di ricerca deve ancora essere completamente esplorata. Le proprietà di questa pianta medicinale sono notevoli e forniscono una migliore prospettiva per il futuro in termini di controllo dei patogeni infettivi. [48].

6.8 Attività contraccettiva.

Con il crescente tasso di effetti avversi causati dall'uso di contraccettivi chimici, sono incoraggiati studi incentrati su un'alternativa più sicura e affidabile. La letteratura fornisce prove dell'uso di *A. indica* come contraccettivo di comprovata sicurezza ed efficacia in ogni fase del ciclo riproduttivo. L'attività contraccettiva di *A. indica* sottolinea l'efficacia della pianta per inibire la gravidanza o l'impianto per essere specifici con un processo in cui la massa fecondata di cellule si attacca alla parete dell'endometrio dell'utero. La fase pre-coitale e la fase iniziale delle fasi post-coitali sono prese di mira dagli agenti contraccettivi convenzionali. Nel caso di *A. indica*, l'attività contraccettiva viene valutata sia nella fase pre-coitale che nella fase iniziale delle fasi post-coitali.

In uno studio pionieristico di Upadhyay et al. l'applicazione intrauterina di *A. indica* olio (100 µl) ha provocato l'infertilità delle femmine di ratto. Gli animali sono rimasti sterili per un periodo variabile da 105 a 184 giorni. Nonostante diversi accoppiamenti con spermatozoi

positivi, la gravidanza non è stata osservata. Tuttavia, l'effetto è stato reversibile quando gli animali trattati con olio di *A. indica* hanno partorito cuccioli dopo cinque mesi dall'interruzione del trattamento. L'esame post-coitale della cavità uterina degli animali trattati nel corno uterino destro non ha mostrato crescita e impianto fetale, mentre il corno sinistro trattato con olio di arachidi ha mostrato crescita e impianto fetale. L'esame istologico ha rivelato l'attività fagocitotica dei macrofagi e dei neutrofilii su *A. indica* olio, attraverso il quale l'epitelio uterino è stato normalizzato a causa dell'infiltrazione dei leucociti e della successiva interferenza nell'impianto. Si ritiene che la risposta immunitaria cellulare suscitata svolga un ruolo importante nell'attività antifertilità/contraccettiva. Essendo le sostanze solubili dei macrofagi e dei linfociti spermicida, si ritiene che il trattamento influisca anche sugli spermatozoi attraverso l'immunoprecipitazione. [53]. Deshpande et al. hanno studiato l'attività antifertilità delle foglie di *A. indica* nei topi maschi. L'estratto acquoso appena preparato di foglie verdi frantumate di *A. indica* è stato somministrato per via orale ai topi ogni giorno per 1 mese per studiarne l'effetto sulla funzione riproduttiva maschile. È stato osservato che i topi di controllo mostravano un tasso di fertilità del 100%.

In *A. indica* a animali trattati, l'effetto antifertilità è stato dell'80%. Lo studio ha rivelato che dopo 45 giorni di sospensione del trattamento, la percentuale di gravidanze era del 100%. Pertanto, le foglie di *A. indica* hanno mostrato un'attività antifertilità maschile reversibile [54]. La frazione volatile e odorosa dell'olio di Neem codificata come NIM-76 ottenuta mediante distillazione a vapore è stata studiata per attività spermicida *in vitro*. I dati hanno mostrato che la concentrazione minima che ha inibito la motilità degli spermatozoi era di 0,25 mg/ml per il ratto e di 25 mg/ml per gli spermatozoi umani. L'effetto del farmaco sulla motilità degli spermatozoi è risultato essere dose-dipendente. L'attività di questo farmaco non è stata alterata in presenza di muco vaginale o cervicale. L'applicazione intravaginale di NIM-76 nei conigli non ha mostrato irritazione della mucosa vaginale [55]. Lo studio di Khillare e Shrivastava è stato condotto per valutare l'effettiva concentrazione di estratto acquoso di foglie vecchie e tenere di *A. indica* sufficiente ad immobilizzare e uccidere il 100% di spermatozoi umani entro 20 s. Il test Sander-Cramer è stato utilizzato per studiare l'attività spermicida dell'estratto di foglie di Neem. Nelle condizioni di prova, le concentrazioni spermicide minime efficaci per gli estratti di foglie vecchie e tenere erano rispettivamente di $2,91 \pm 0,669$ mg/milione di spermatozoi e $2,75 \pm 0,754$ mg/milione di spermatozoi.

È stato anche studiato l'effetto degli estratti sulla morfologia e sulla vitalità dello sperma e non è stato osservato alcun cambiamento nella morfologia della testa, del tronco e della coda e non è stato osservato alcuno sperma vitale. Gli estratti delle foglie sono risultati essere solubili in acqua e carboidrati in natura. È stato anche studiato l'effetto di diverse concentrazioni di estratti sulla motilità percentuale dello sperma. Con un aumento della concentrazione, c'è una diminuzione lineare della motilità percentuale, che diventa zero alla dose di 3 mg entro 20 s. [56].

Fino ad allora, l'estratto di semi di Neem o l'olio o i componenti dell'olio furono studiati come contraccettivo efficace di natura idrofobica. L'estratto di foglie di Neem, che invece è di natura idrofila, si mescola immediatamente con acqua e fluidi corporei e uccide lo sperma entro 20 secondi; con il suo uso, può essere sviluppato un contraccettivo vaginale più potente. [56]. È stata sviluppata una crema polierbale Praneem, da Garg et al., come crema vaginale, con formulazione spermicida contenente Praneem, un estratto purificato di semi secchi di *A. indica* (25%) estratto di pericarpo di *Sapindus specie* (0.05%) e chinino cloridrato (0.34%), che ha conferito alla crema un'azione spermicida e proprietà antimicrobiche ed è stato riscontrato che a questa concentrazione si ottiene l'immobilizzazione del 100% dello sperma entro 20 s. Gli ingredienti citati sono stati incorporati in una crema base idrosolubile e stabilizzati con l'aggiunta di componenti antiossidanti e conservanti. Quindi, è stato eseguito un test in vivo con applicazione intravaginale sia nei conigli che nelle scimmie. Infine, tale crema è stata testata e considerata priva sia di sensibilizzazione che di irritazione con il test Draize utilizzando un test cumulativo di sensibilità cutanea della durata di 21 giorni su volontari. [57].

6.9 Applicazioni dermocosmetiche

Studi con estratti metanolici di foglie di *A. indica* hanno inibito l'azione del *Bacillus*, mentre gli oli di semi, corteccia e foglie potrebbero inibire la crescita e/o la vitalità dei batteri Gram-negativi e Gram-positivi. Tra i batteri Gram-positivi, sono segnalati i ceppi di *M. Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*, che si trovano comunemente sulla superficie della pelle. Inoltre, il β -sitosterolo è riconosciuto per il suo ampio spettro nel trattamento delle malattie della pelle [58].

Oltre ai composti sopra menzionati, nimbolide e nimbidin sono stati trovati in *A. indica*, che ha mostrato attività antibatterica contro le seguenti specie: *Staphylococcus*

coagulase, *S. aureus*, *Staphylococcus sp.* e *Serratia*. Inoltre, varie concentrazioni di un estratto acquoso di foglie di Neem hanno inibito la crescita di *Bacteroides intermedius*, *B. gingivalis*, *Streptococcus viridans* e *S. salivarius in vitro*. [59]. Il nimbidin isolato dalla corteccia ha mostrato attività antimicotica; la gedunin ha attività antimicotica e la deossigedunin ha una moderata azione antibatterica, entrambe isolate dall'olio di semi di Neem. [58].

Gli studi hanno dimostrato che la classe tetranortriterpenoide e alcuni altri fitocomposti, come azadiradione, 6-deacetylnimbin, salannin, nimbin ed epoxyazadiradione, erano i principali composti antimicotici di *A. indica*. Tuttavia, i triterpenoidi dell'olio di Neem nella sua forma pura (separatamente) non hanno mostrato praticamente alcuna attività antifungina, mentre l'effetto combinato è stato dimostrato contro i tre funghi testati, il che potrebbe essere indicativo di tali composti con effetti additivi o sinergici [60]. In uno studio più recente è stato sviluppato un gel polierbale con estratti etanoliche delle seguenti specie: *A. indica*, *Piper betle*, *Adhatoda vasica*, *Pongamia pinnata* e *Ocimum tenuiflorum* per valutare la sua azione antimicrobica. Inoltre, sono stati testati il contenuto di droga, l'aspetto fisico, la viscosità, il pH, la spalmabilità, la capacità di lavaggio e l'irritazione cutanea. Per fare ciò, venti volontari sani sono stati sottoposti al patch test, che è stato applicato all'avambraccio di ciascun partecipante per rilevare le possibili reazioni alle formulazioni A, B, C (con estratti etanoliche allo 0,1, 0,3 e 0,5%, rispettivamente) e al controllo dopo 48 ore. Si è concluso che la combinazione di estratti etanoliche non ha dimostrato alcuna reazione avversa grave e, pertanto, sono considerati sicuri in tali condizioni. Inoltre, la concentrazione più efficace testata è stata dello 0,5% [61].

L'olio di Neem biologico è stato usato per trattare altri disturbi della pelle, come acne, psoriasi, eczema, micosi e verruche. In effetti, la medicina indiana Siddha utilizza l'olio e le foglie di Neem fin dall'antichità per curare le malattie della pelle, principalmente la psoriasi [2].

6.9.2 Attività antiossidante.

È noto che i ROS e i radicali liberi sono coinvolti nel cancro, nei danni al DNA e persino nell'invecchiamento e l'aggiunta di antiossidanti nei dermocosmetici può minimizzare questi effetti. Pertanto, alcuni estratti che contenevano flavonoidi con noti effetti antiossidanti e altri estratti derivati dai fiori e dalle foglie giovani di *A. indica* hanno mostrato un forte potenziale antiossidante. [58].

L'applicazione topica dell'estratto etanolic di foglie di *A. indica* è stata testata su topi glabri esposti a irradiazione UVB per prevenire la formazione di rughe. Per realizzare questo studio sono state utilizzate foglie secche di Neem (10 g), che sono state polverizzate ed estratte tre volte con 1 L di etanolo al 50% in 24 ore a temperatura ambiente. Quindi, l'estratto è stato analizzato mediante cromatografia liquida, utilizzando metanolo come fase mobile. Inoltre, nell'estratto di foglie essiccate è stata trovata una quantità significativa di rutina, che mostra un'elevata capacità di eliminare i radicali liberi, che indica l'attività antiossidante. Infine, è stato riscontrato che i topi esposti all'irradiazione UVB e sottoposti al trattamento con l'estratto di foglie di *A. indica* presentavano una minore formazione di rughe rispetto agli altri gruppi, indicando un possibile effetto anti-invecchiamento degli estratti di *A. indica* [62]. In uno studio *in vivo* l'olio di Neem è stato utilizzato in una crema emolliente per valutarne l'effetto fotoprotettivo, la caratterizzazione reologica, la tossicità e l'effetto sulla naturale salute della flora cutanea. I volontari sono stati utilizzati come donatori della flora batterica della loro pelle, strofinandola con tamponi sterili e cresciuti su agar con sostanze nutritive e incubati per 24 ore a 37 °C. Di conseguenza, la caratterizzazione reologica era simile a quella delle creme commerciali. Tale formulazione di Neem non presentava citotossicità nelle linee cellulari 3T3, così come nessun danno alla flora cutanea naturale. Inoltre, quando a questa crema è stato aggiunto il biossido di titanio, filtro solare fisico, ha mostrato una maggiore attività fotoprotettiva rispetto al prodotto commerciale [63].

6.9.3 Attività di inibizione della melanogenesi.

Il percorso biosintetico chiamato melanogenesi è responsabile della produzione di melanina nella pelle umana e nei capelli. Il processo di produzione della melanina parte dalla tirosina aa, che attraverso alcuni enzimi, diventa diidrossifenilalanina (DOPA) e DOPA in forma di chinone. A questo punto può prendere due strade: una dà vita a eumelanina, un gruppo di pigmenti che determinano il colore marrone/bruno o nero, l'altra a feomelanina, un gruppo di pigmenti che determinano il colore rosso e arancione/giallastro. In forma di precursore di chinone singolo monomero è una specie molto reattiva, se assorbe la radiazione UVA può ossidarsi, trasferire la sua energia al nucleo della cellula e provocare un danno al DNA o provocare un rischio di cancro. Inoltre, una forma di condizione di iperpigmentazione denominata melasma, tipico della donna di età compresa tra i 20 e i 30 anni è stata spesso segnalata come di colorito variabile dal giallo ocra al nero, localizzata al volto, imputabile a

una stimolazione ormonale per patologie dell'apparato genitale, per la gravidanza, o per l'uso di contraccettivi e a una stimolazione da raggi ultravioletti.

Pertanto, vi è una crescente domanda di dermocosmetici per ridurre l'iperpigmentazione cutanea, ad esempio quelli contenenti inibitori della melanogenesi. Un'indagine dettagliata di due specie di piante di Meliaceae vale a dire *A. indica* (AI) e *A. indica* var. *siamensis* (AIS), ha isolato e classificato 81 limonoidi, 11 flavonoidi e 1 diterpenoide [64]. Molti dei composti AI e AIS hanno rivelato attività inibitoria della melanogenesi in B16 4A5 (cellule di melanoma di topo) stimulate con o senza l'ormone stimolante gli α -melanociti (α -MSH) [65]. Tra i composti AI e AIS, alcuni di essi (4 limonoidi di tipo azadiradione, 5 limonoidi di tipo nimbin e 2 limonoidi di tipo salannin) hanno mostrato una notevole inibizione della melanogenesi (contenuto in melanina 9,5-30,4% a 25 μ g/mL) con nessuna o quasi nessuna tossicità per le cellule, perché la vitalità cellulare era del 79,1-108,1% e i loro rapporti tra attività e citotossicità (rapporto A/C) erano nell'intervallo di 0,10-0,38 a quella concentrazione. Questi composti risultano essere inibitori della melanogenesi più potenti dell'arbutina di riferimento (4-idrossifenil β -D-glucopiranoside); 85,2% di contenuto di melanina; 100,1% di viabilità cellulare; e A/C-ratio 0,85, utilizzato come depigmentazione alternativa nello sbiancamento della pelle per il settore cosmetico. [65].

6.10 Attività bio-pesticida.

Le Nazioni Unite prevedono, che la popolazione mondiale dovrebbe raggiungere i 9,7 miliardi entro il 2050, questa evoluzione è il fattore principale che farà aumentare la domanda di produzione alimentare, che ci si aspetta continui a crescere del 25-70% nel 2050. [66]. Nel contesto delle grandi perdite di raccolto, i pesticidi continueranno a svolgere un ruolo chiave nella pratica di gestione dei parassiti, in assenza di alternative pratiche ed efficienti. In effetti, il risultato positivo dell'uso dei pesticidi rimane vitale per evitare la fame e l'insicurezza alimentare e soddisfare la domanda delle generazioni attuali e future soprattutto nei paesi in via di sviluppo [67]. Tuttavia, l'uso incauto di pesticidi senza aderire alle norme di sicurezza e alle pratiche raccomandate ha posto seri rischi per la salute degli esseri umani, di altri organismi viventi e dell'ambiente, dall'esposizione dei lavoratori agricoli e dal rilascio di sostanze chimiche nell'aria e nell'acqua, alle merci contenenti residui di pesticidi [68]. Di

conseguenza, è stato notato un risoluto riemergere dell'interesse nell'uso di pesticidi naturali, noti come biopesticidi.

I biopesticidi sono materiali naturali derivati da animali, piante e batteri, nonché alcuni minerali, utilizzati per il controllo dei parassiti. Se i biopesticidi stanno guadagnando popolarità, come alternative a ridotto impatto ambientale, ai pesticidi sintetici convenzionali, nel 2015 il mercato dei biopesticidi era piccolo (5%) rispetto al mercato mondiale dei pesticidi. Tuttavia, questo segmento del settore sta registrando una rapida crescita negli ultimi anni con un tasso di crescita annuo composto dell'8,64% e si prevede che supererà quello dei pesticidi chimici.

Il principale vantaggio dei biopesticidi è quello di essere intrinsecamente meno tossici dei pesticidi convenzionali, offrendo un'azione più mirata contro parassiti specifici. Inoltre, i biopesticidi sono spesso efficaci in quantità molto ridotte e si decompongono rapidamente, con conseguente minore esposizione ed evitando in gran parte i problemi di inquinamento causati dai pesticidi convenzionali (FAO). Quando vengono utilizzati come componente dei programmi di gestione integrata dei parassiti (IPM), i biopesticidi possono integrare i pesticidi convenzionali e ridurre notevolmente il loro uso e offrire raccolti potenzialmente più elevati [68]. Le piante, la fonte più comune di biopesticidi, producono una grande varietà di metaboliti secondari potenzialmente applicabili nei programmi IPM.

Una crescente attenzione è stata data all'albero di Neem, come il più importante biopesticida. Estratti acquosi di semi di Neem in polvere sono stati usati come insetticida in India per circa 2000 anni, per il controllo degli insetti nocivi. L'albero di Neem, infatti, è in grado di impedire l'alimentazione di oltre 200 specie di insetti. Fu per questo motivo che Butterworth e Morgan cercarono le sostanze responsabili di questo effetto. Nel 1968 riferirono dell'isolamento di un composto dai semi di Neem, che inibisce completamente l'alimentazione della locusta del deserto *Schistocerca gregaria* a concentrazioni di 1 ng per centimetro quadrato. Questo composto è stato chiamato azadiractina. L'azadiractina ha una struttura molecolare complessa e la sua struttura corretta fu determinata nel 1985 da Kraus ed al., per essere confermata all'inizio del 1986 da Ley e collaboratori mediante analisi ai raggi X. [69]. L'azadiractina è un tetranortriterpenoide complesso, altamente ossidato, con 16 centri di carbonio chirali, derivato dalla via dell'acido mevalonico nell'albero del Neem.

Negli ultimi 30 anni e in seguito all'isolamento dell'azadiractina, l'uso di insetticidi a base di Neem è aumentato. Attualmente, l'azadiractina è uno dei principali biopesticidi

commercializzati, venduta sotto varie formulazioni (olio di Neem, Neem-Azal, BioNeem, ecc.), e rimane il pesticida botanico di maggior successo nell'uso agricolo in tutto il mondo. L'azadiractina A è considerata il principale costituente e le formulazioni commerciali di azadiractina, disponibili sul mercato mondiale per il controllo degli insetti in agricoltura biologica, contengono una quantità dichiarata di azadiractina A.; tuttavia, i suoi meccanismi d'azione sono ancora poco chiari e restano da chiarire soprattutto in relazione alle attività neurofisiologiche e alle possibili attività a lungo termine [70]. L'uso dei derivati di *A. indica* come biopesticida presenta notevoli vantaggi: facile disponibilità, biodegradabilità, bassa tossicità nei confronti di non bersagli come impollinatori e vertebrati, azione sistematica, bassi livelli di persistenza nell'ambiente e capacità di controllare un'ampia gamma di insetti/parassiti compresi *Siphonaptera* e *Thysanoptera*. [58].

L'azadiractina è strutturalmente simile agli ormoni degli insetti noti come "ecdysones" che sono responsabili della metamorfosi negli insetti. Il comportamento alimentare negli insetti dipende dagli input neurali ricevuti dai sensori chimici degli insetti, ad esempio i recettori del gusto nell'apparato boccale, nei tarsi e nella cavità orale. Questi sensori integrano un "codice sensoriale" che viene inviato al sistema nervoso centrale. La manifestazione dell'antifeedanza da parte dell'azadiractina avviene attraverso la stimolazione di cellule deterrenti in questi chemocettori e bloccando la stimolazione alimentare negli insetti attivando le cellule del recettore dello "zucchero" [71]. Oltre all'antifeedanza, l'iniezione di azadiractina porta anche ad effetti fisiologici nell'intestino medio dell'insetto, che provoca una riduzione dell'efficienza digestiva post-ingestiva. Questa riduzione di efficienza è nota come antifeedanza "secondaria" ed è dovuta a disturbi del sistema ormonale e fisiologico. Questi disturbi includono l'ostacolo nel movimento del cibo attraverso l'intestino medio dell'insetto e l'inibizione nella produzione di enzimi digestivi [71].

L'azadiractina interferisce con la crescita e il processo di muta degli insetti. La sua ingestione porta a mute anomale, riduzione della crescita e aumento della mortalità. L'azadiractina interferisce con la sintesi di un ormone "ecdisteroide", responsabile della muta negli insetti. Indirettamente, l'azadiractina colpisce il sistema neurosecretorio negli insetti bloccando il rilascio di ormoni peptidici morfogenetici come gli ormoni protoracicotropi che controllano le ghiandole protoraciche e le allatostatine, che a loro volta controllano i corpi allata (responsabili della secrezione degli ormoni giovanili). Gli ormoni della muta delle ghiandole protoraciche sono responsabili del controllo della formazione di nuove cuticole e

svolgono un ruolo centrale nell'ecdisi. La formazione degli stadi giovanili durante ogni muta è controllata dall'ormone giovanile dei corpi allata. L'interruzione di questi eventi da parte dell'azadiractina porta a vari difetti di sterilità e muta. Inoltre, l'assorbimento cellulare di azadiractina inibisce sia la divisione cellulare che la sintesi proteica, causando così necrosi cellulare dell'intestino medio e paralisi flaccida dei muscoli [72].

È interessante notare che l'olio di Neem non è tossico per mammiferi, uccelli e pesci e presenta minori possibilità di resistenza, grazie alla sua modalità di azione multipla sugli insetti. Molte formulazioni di olio di semi di Neem mostrano attività antifeedant, ovicida, larvicida, regolatrice della crescita degli insetti e repellente contro i parassiti degli insetti. La proprietà larvicida dell'olio di Neem contro le zanzare è stata a lungo studiata. Le zanzare sono responsabili di causare gravi malattie umane, che hanno portato a milioni di morti all'anno, tra cui malaria, dengue e chikungunya.

Di conseguenza, gli insetticidi di origine botanica stanno guadagnando sempre più interesse, poiché presentano una moltitudine di componenti che riducono al minimo la possibilità di resistenza agli insetticidi sintetici nelle zanzare. Uno di questi studi ha esaminato il potenziale dell'olio di Neem come alternativa ecologica per il controllo della malaria. Le formulazioni di olio di Neem a diverse concentrazioni sono state valutate contro le zanzare *Aedes*, *Anopheles* e *Culex*. Un'applicazione della formulazione al tasso di 140 mg *a.i.* /m² in diversi siti di riproduzione in condizioni naturali di campo hanno fornito una riduzione del 98,1% delle larve di *Anopheles*, una riduzione del 95,5% in *Culex* e una riduzione del 95,1% di *Aedes* il giorno 1, e successivamente entro il giorno 7, è stato osservato un controllo larvale del 100%. L'attività antiecdisteroidale osservata era dovuta alla presenza di azadiractina nell'olio di Neem che uccide le larve attraverso un effetto di inibizione della crescita. Anche se le formulazioni di olio di Neem utilizzate erano più costose dei larvicidi sintetici, l'olio di Neem era più efficace per prevenire la resistenza dei parassiti [73]. L'efficacia dell'olio di Neem è stata valutata in uno studio contro *Sarcoptes scabievar. cuniculi*, che sono ectoparassiti con elevata possibilità di causare infezioni zoonotiche. L'attività acaricida è stata osservata essere del 100% dopo 4,5 ore di esposizione a quattro frazioni di olio di Neem ottenute mediante estrazione con cloroformio [73]. La torta di semi di Neem, che si ottiene durante la lavorazione dell'olio di Neem, è il residuo ottenuto dopo aver estratto l'olio dai chicchi del seme e può essere utilizzata come biopesticida oltre che come biofertilizzante, in quanto fornisce nutrimento alla pianta. La torta di semi produce concime naturale di alta qualità, poiché i

composti della torta di Neem aumentano il contenuto di azoto e fosforo nel suolo, aumentando in questo modo anche la fertilità del suolo stesso. I granuli di semi in polvere sono quindi usati come ammendanti per migliorare la qualità del suolo e favorire la crescita delle piante [74].

La foglia di Neem aumenta la durata di conservazione del grano mungbean fornendo efficacia protettiva contro *Callosobruchus chinensis*, (scarabeo cinese) una specie di insetto coleottero della famiglia Chrysomelidae, parassita dei semi dei legumi. Una dose di foglie di Neem di 1,5 mg/100 g di semi presenta una significativa diminuzione del numero di uova deposte e aumenta la mortalità negli adulti del 62%, suggerendo il suo potenziale come antirepellente bioattivo durante la conservazione di cereali/semi post-raccolta [75]. Tuttavia, a causa della sua instabilità alla luce ultravioletta è fondamentale sviluppare una strategia nuova ed efficace per sostituire i pesticidi tossici sintetizzati chimicamente. Ciò può essere ottenuto utilizzando la conoscenza passata dei fitocomponenti del Neem con attività pesticida, integrandola con le attuali strategie innovative per sviluppare uno strumento di gestione dei parassiti unico ed efficace. L'unione di nanoscienze che incorporano nanocapsule organiche per fornire un duplice vantaggio di consegna controllata degli ingredienti funzionali e di vettori biodegradabili e non tossici può agire come un punto di svolta dell'agricoltura moderna. In linea con questo, le nanoparticelle inorganiche, a causa delle loro piccole dimensioni e facilità nelle modifiche superficiali può anche sostenere le future pratiche agricole sostenibili. [76].

7. TOSSICITÀ

Sebbene varie parti del Neem abbiano un ampio uso nei sistemi di medicina tradizionale, la misurazione della tossicità dei suoi composti naturali è fondamentale prima della sua applicazione come farmaco terapeutico.

Studi basati su modelli animali hanno confermato che, a determinati dosaggi, il Neem è sicuro, ma d'altra parte, il Neem e i suoi composti possono mostrare effetti tossici/avversi. Anche la sicurezza del Neem come pesticida e dei suoi derivati rappresenta una questione importante ed è stata esaminata da Boeke et al. Di tutti i prodotti a base di Neem descritti e valutati nel loro studio: il composto puro azadiractina, i materiali non lavorati, gli estratti acquosi e l'olio di semi sono i più sicuri da usare come insetticida per proteggere i semi di consumo immagazzinati per il consumo umano (stimato sicuro dosi giornaliere rispettivamente di 15, 0,26 e 0,3 mg/kg di peso corporeo, 2µl/kg di peso corporeo/giorno). D'altra parte, gli estratti non acquosi risultano essere relativamente tossici (dosi giornaliere sicure stimate di 12,5 µg/kg peso corporeo). Poiché il profilo tossicologico e la composizione dei diversi prodotti e frazioni sono sconosciuti, è difficile trarre conclusioni sui principi tossici alla base dei dati sulla tossicità. Si suggerisce che altri composti oltre all'azadiractina siano responsabili dell'effetto tossico per gli estratti non acquosi. Per l'estratto non acquoso, la dose giornaliera sicura stimata si basa solo sul livello senza effetti avversi ottenuto dagli estratti di acetone. Pertanto, è necessaria un'ulteriore analisi dei componenti tossici per arrivare a conclusioni più definite e affidabili sull'assunzione sicura di preparati ed estratti. Inoltre, le concentrazioni di aflatossine nel Neem non sono adeguatamente controllate, rappresentando un ulteriore fattore di rischio.

I dati della letteratura e dell'esperienza umana suggeriscono, che le modalità di applicazione più praticabili per gli agricoltori con scarse risorse nei paesi tropicali sono anche le più consigliabili dal punto di vista del rischio per la salute. Per quanto riguarda i possibili effetti avversi i più critici sono i disturbi della riproduzione, anche se questi sono spesso reversibili. Boeke e colleghi consigliano di non scoraggiare, se applicati con cura, l'uso di prodotti a base di Neem particolarmente non trattati e acquosi [77].

Nel loro studio, Braga et al. mirano a fornire un'analisi all'avanguardia sulla tossicità in vivo di *A. indica*, concentrandosi sulla valutazione della sicurezza negli animali acquatici e nei

mammiferi. Per gli organismi acquatici, gli estratti di Neem hanno presentato la tossicità più bassa, mentre i pesticidi o derivati del Neem hanno presentato una tossicità da moderata ad alta. Tuttavia, questi estratti sono stati testati solo in termini di tossicità acuta, quindi in futuro dovranno essere eseguiti studi cronici.

Sebbene siano stati menzionati solo pochi studi sugli animali acquatici, possono affermare che l'applicazione di pesticidi commerciali di Neem dovrebbe essere maneggiata con cura e che i prodotti acquosi a base di Neem dovrebbero essere incoraggiati. A causa delle sue proprietà farmacologiche, dovrebbe essere valutata la sicurezza degli estratti di *A. indica* e/o dei composti isolati, in particolare utilizzando modelli di mammiferi. Gli screening della tossicità acuta e subacuta delle piante medicinali sono un modo rapido per valutarne il profilo tossicologico, fornendo una panoramica sugli aspetti di sicurezza/dannosi dei composti da valutare.

Lo studio di Braga et al. ha esaminato un gran numero di studi sulla tossicità del Neem nei mammiferi. In termini di tossicità acuta, la modalità di somministrazione ha avuto un impatto importante. Gli estratti/sottoprodotti di Neem sono atossici o meno tossici se somministrati per via orale. Gli animali hanno rivelato tossicità acuta solo se trattati con iniezione intramuscolare o per via intraperitoneale. Per quanto riguarda la tossicità subacuta e subcronica, la tossicità degli estratti/sottoprodotti di Neem è dose-dipendente: concentrazioni più elevate si sono rivelate più tossiche indipendentemente dalla modalità di somministrazione.

Attualmente sono disponibili poche informazioni sui profili farmacocinetici (assorbimento, distribuzione, metabolismo ed escrezione (ADME)) dei composti del Neem. Tuttavia, gli studi di farmacocinetica sono importanti come base per determinare la tossicità ed eseguire valutazione del rischio, poiché possono fornire dati sulle concentrazioni negli organi e nelle cellule bersaglio, sull'assorbimento nel sangue e sulla distribuzione nell'organismo. Ciò rappresenta un'importante area futura di ricerca, che dovrebbe ottenere dati ADME disponibili prima dei test di tossicità. È anche importante tenere presente che, quando si eseguono test *in vivo* con animali, la strategia dovrebbe prendere in considerazione le 3 R: refine, replace and reduce (perfezionare, sostituire e ridurre): utilizzare il minor numero possibile di animali e perfezionare i metodi per ridurre al minimo la sofferenza che comporta. Quando possibile, prendere in considerazione la sostituzione degli studi *in vivo* con studi *in vitro* in colture cellulari.

Nel caso particolare di *A. indica*, ci sono solo pochi studi che valutano i suoi effetti di tossicità *in vitro* utilizzando cellule normali. Ciò rappresenta una buona opportunità per i ricercatori, poiché è necessario condurre ulteriori studi. In conclusione, gli estratti di Neem presentano una tossicità acuta nulla o molto bassa sui mammiferi. La tossicità subacuta e subcronica su questi animali può essere eliminata se vengono utilizzate dosi inferiori.

Pertanto, per queste caratteristiche di sicurezza e per le loro ben note proprietà farmacologiche, l'albero di Neem e i suoi composti/estratti presentano un'elevata importanza commerciale e possono essere considerati seri candidati a nuove terapie con farmaci naturali. [78].

8. UTILIZZAZIONI.

L'olio di Neem puro è ricco di acidi grassi e gliceridi. Insieme alle sue proprietà di guarigione ha un eccellente potere emolliente naturale che lo rende ideale come base per le formulazioni per la cura della pelle. Il Neem offre un'alternativa sicura per coloro che stanno cercando di evitare l'uso di ingredienti sintetici che sono potenzialmente pericolosi.

L'olio di Neem può essere utilizzato come olio da massaggio in combinazione con altri oli essenziali; agisce come curativo naturale verso diversi disordini della pelle come eczemi, eruzioni cutanee, acne, dermatiti, prurito, tigna, herpes, secchezza della pelle, bruciate e abrasioni, inoltre costituisce una fantastica cura per la psoriasi se applicato direttamente sulla pelle colpita. L'olio di Neem oltre ad avere eccellenti proprietà emollienti, contiene anche molti composti con proprietà medicinali e insetticide. È utilizzato come materiale di base in preparazioni commerciali di diversi prodotti, come shampoo, dentifrici, saponi, cosmetici, repellenti per zanzare, creme e lozioni, prodotti per animali domestici come shampoo o spray antiparassitari.

L'olio di Neem può essere aggiunto allo shampoo regolare per controllare prurito del cuoio capelluto e forfora.

Per gli animali domestici, l'olio di Neem può essere aggiunto allo shampoo specifico per uccidere zecche e pulci e può essere nebulizzato in tutti gli ambienti frequentati dagli animali. Questo è estremamente più sicuro dei prodotti commerciali e di altri trattamenti come il malathion, che è tossico per l'animale sia quando assorbito dalla pelle sia se viene leccato dall'animale [79]

CONCLUSIONI

L'albero di Neem sembra essere una "pianta onnipotente". È una pianta medicinale versatile e la fonte unica di un vasto numero di sostanze fitochimiche con diversi scheletri chimici. Il lavoro sull'attività biologica e sulle plausibili applicazioni medicinali di questi composti è ancora insufficiente e sono necessarie ulteriori indagini approfondite per sfruttare le loro utilità terapeutiche contro varie malattie.

Attualmente esiste una ricerca globale di prodotti vegetali non tossici, sicuri e altamente efficaci con uso medicinale tradizionale; quindi, per la prevenzione e il trattamento di varie malattie, dovrebbe essere perseguito lo sviluppo di farmaci moderni dal Neem. Inoltre, diverse parti del Neem e dei suoi estratti si sono rivelate pesticidi, insetticidi, parassitocidi e prodotti chimici per l'agricoltura sicuri, economici ed ecologici. I materiali a base di Neem sono compatibili con la gestione integrata dei parassiti (IPM); i prodotti a base di Neem non persistono nell'ambiente e vengono degradati dai raggi ultravioletti e dalle piogge. Negli ultimi anni, c'è stata una crescente tendenza e consapevolezza nella ricerca sul Neem. In effetti, è giunto il momento di fare buon uso della conoscenza secolare del Neem attraverso approcci e tecniche scientifiche moderne, in modo che un dono così unico di Madre Natura possa essere utilizzato in misura maggiore. Non c'è dubbio che l'albero di Neem sarebbe sfruttabile commercialmente con grande utilizzo e questo richiede sempre più formulazioni commerciali.

L'albero di Neem può essere considerato una "pianta industriale" e promuove molte piccole industrie in India e in altri paesi del mondo. Per questo motivo, sono necessarie ulteriori ricerche e sviluppi approfonditi sul Neem e sui suoi prodotti. Dalla discussione di cui sopra, è quindi evidente che, a causa delle sue proprietà e applicazioni uniche in varie aree di bisogno sociale, questo "albero divino" richiede un'attenzione e un interesse speciali da parte della comunità mondiale. Un'indagine scientifica più sistematica sul Neem diretta verso i più ampi interessi della società sarebbe in definitiva una benedizione per l'umanità.

Bibliografia

- [1] «<https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/cbic.200300749>,» [Online].
- [2] Venugopalan Santhosh Kumar e Visweswaran Navaratnam, «Neem (*Azadirachta indica*): dalla preistoria agli usi medicinali contemporanei per l'umanità,» *Asiatico Pac J Trop Biomedico*, pp. 505-514, luglio 3(7) 2013.
- [3] Debjit Bhowmik, Chiranjib1, Jitender Yadav, K. K. Tripathi, K. P. Sampath Kumar, «Herbal Remedies of *Azadirachta indica* and its Medicinal Application,» *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* , pp. 62-72, 2 (1) 2010.
- [4] «<https://www.worldplants.de/world-plants-complete-list/complete-plant-list/?name=Azadirachta-indica#plantUid-234407>,» [Online].
- [5] «https://www.actaplantarum.org/flora/flora_info.php?id=200103&pid=297835,» [Online].
- [6] A. Y. Ketkar , CM Ketkar, «Source of Unique Natural Products for Integrated Pest Management, Medicine, Industry and Other Purposes,» in *The Neem Tree*, VCH, Weinheim, Germany, H. Schmitterer, 1995, pp. pp. 2 - 6.
- [7] A.Raj, «Beneficial and Harmful Effects of *Azadirachta Indica*: A Review,» *Indian Journal of Research*, n. 4(3), pp. 6-7, 2015.
- [8] Dr., Goutam Brahmachari, «Neem: una pianta onnipotente: una retrospettiva,» *ChemBioChem*, pp. 408-421, 01 aprile 2004 Volume 5, Numero 4.
- [9] Salimuzzaman Siddiqui, Bina S. Siddiqui, Shaheen Faizi, and Tariq Mahmood, «TETRACYCLIC TRITERPENOIDS AND THEIR DERIVATIVES FROM AZADIRACHTA INDICA,» *Journal of Natural Products*, pp. 30-43, Vol 51 Jen- Feb 1988.
- [10] Siddavaram Nagini, Ramesh Nivetha, Manikandan Palrasu, E Rajakishore Mishra, «Nimbolide, un neem limonoide, è un promettente candidato per l'arsenale di farmaci antitumorali,» *J. Med. Chim.* 2021 , 64 , 7 , 3560–3577, 19 marzo 2021.
- [11] Ravindra N. Kharwar , Vijay K. Sharma , Ashish Mishra , Jitendra Kumar , Dheeraj K. Singh # , Satish K. Verma , Surendra K. Gond , Anuj Kumar , Nutan Kaushik , Bharadwaj Revuru , Souvik Kusari, «Sfruttare i tesori fitoterapici dell'antica pianta medicinale *Azadirachta indica* (Neem) e dei microrganismi endofiti associati,» *Planta Medica*, pp. 906-940, 2020 86(13/14).
- [12] Marina R. Wylie e D. Scott Merrell , «Il potenziale antimicrobico dell'albero di Neem *Azadirachta indica*,» *Front Pharmacol.*, 30 maggio 2022; 13: 891535.
- [13] Roy A., Saraf S., « Limonoidi: panoramica dei triterpeni bioattivi significativi distribuiti nel regno delle piante,» *Biol. Farm. Toro.* 29 (2), 191-201. 10.1248/bpb.29.191, 2006.
- [14] Subendu Sarkar , 1 Rajender Pal Singh , 2 e Gorachand Bhattacharya , «Esplorare il ruolo di *Azadirachta indica* (neem) e dei suoi composti attivi nella regolazione delle vie biologiche: un aggiornamento sull'approccio molecolare,» *3 Biotecnologie*, p. PMID: PMC7981372 PMID: 33927969, aprile 11(4) 2021.

- [15] M. Alzohairy, «Ruolo terapeutico dell'azadirachta indica (Neem) e dei suoi componenti attivi nella prevenzione e nel trattamento delle malattie,» *Medicina complementare e alternativa basata sull'evidenza* , ID articolo 7382506 2016.
- [16] Sweta Shaileye Seemi Farhat Basir, «Rafforzamento della difesa antiossidante da parte di Azadirachta indica nei tessuti di ratto diabetico allossanico,» *J Ayurveda Integra Med.*, pp. 130-135 , luglio- settembre 3(3) 2012.
- [17] José Francisco Islas a,Ezeiza Acosta b,Zuca G-Buentello a,Juan Luis Delgado-Gallegos a,María Guadalupe Moreno-Treviño c,Bruno Escalante c,Jorge E. Moreno-Cuevas , «Una panoramica del Neem (Azadirachta indica) e del suo potenziale impatto sulla salute,» *Elsevier Journal of Functional Foods*, pp. volume 74, 104171, novembre 2020.
- [18] Zainab Saif Saleh Al-Hashemi,Mohammed Amzad Hossain, «Attività biologiche di diversi estratti grezzi di foglie di neem utilizzati localmente nella medicina ayurvedica,» *Pacific Science Review A* , pp. 128-131, LUGLIO 2016.
- [19] A.K. Ghimeray CJin BK Ghimire DH Cho, «Attività antiossidante e stima quantitativa di azadiractina e nimbina in Azadirachta Indica A. Juss coltivata ai piedi del Nepal,» *Giornale africano di biotecnologia*, VOL 8 N.13 2009.
- [20] Benjamin Gosse, Adima A. Amissa, Félix Anoh Adjé,Florence Bobélé Niamké, «Analisi dei componenti dell'olio di Neem (Azadirachta indica) mediante diverse tecniche cromatografiche,» *Giornale di cromatografia liquida e tecnologie correlate*, pp. 2225-2233, volume 28 n.14 2005.
- [21] SNF Sejali e MS Anuar, «Effetto dei metodi di essiccazione sul contenuto fenolico della polvere di foglie di Neem (Azadirachta indica).,» *Giornale di erbe, spezie e piante medicinali* , pp. 119-131, volume 17, numero 2 2011.
- [22] Manel Ouerfelli ,Giuliana Villasante ,Leila Bettaieb Ben Kaâb eMaria Pilar Almajano,, «Effetto del Neem (Azadirachta indica L.) sull'ossidazione lipidica nelle polpette di manzo crude refrigerate,» *Antiossidanti* , p. 305, 8 (8) 2019.
- [23] Akash S Mali , Mahesh B Thorat , Dhairyasheel M. Ghadge , Kumodini A. Nikam , Shraddha Sawant , Farida Shaikh , Nayana Vhatkar , Swapnja Shinde , Kavyashree Gonghade , Munaf A. Tamboli, «Attività antinocicettiva e antiossidante dell'estratto metanolico di foglie di Azadirachta Indica (Neem),» *bioRxiv*, luglio 2019.
- [24] TO Omóbòwálé , AA Oyagbemi , OA Adejumobi , EV Orherhe , AS Amid , AA Adedapo , ... , MA Yakubu, «Il precondizionamento con Azadirachta indica migliora la disfunzione cardiorenale attraverso la riduzione dello stress ossidativo e la segnalazione della proteina chinasi regolata dal segnale extracellulare,» *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine* , pp. 209-217, 7 (4) 2016 .
- [25] Enenche Daniel Elaigwu, Ogo Agbor Ogo, Esienanwan Esien Efiong and Obochi Godwin Oche, «Effects of Ethanolic Leaf Extracts of Neem (Azadirachta indica),» *Research Journal of Phytochemistry*, 10 2019.
- [26] Md. Delowar Hossain , Md. Shahid Sarwar , Syed Masudur Rahman Dewan , Md. Shohel Hossain , AFM Shahid-Ud-Daula , Mohammad Safiqul Islam , «Indagine sul contenuto fenolico totale e sulle attività antiossidanti delle radici di Azadirachta indica,» *Avicenna J Phytomed*, pp. 97-102, marzo-aprile 4(2) 2014.
- [27] Malviya, Rishabha ; Sharma, Pramod K .; DubeySusheel K., «Caratterizzazione degli essudati gengivali di Neem (Azadirachita indica) utilizzando strumenti analitici e

- approcci farmaceutici,» *Current Nutrition & Food Science*, pp. 588-599, Volume 15 Numero 6 2019.
- [28] Ameta RK, Sangani CB, Pansuriya B, Mali M, Kataria P, Patel M and Kawad M, «DTAB Catalysed Azadirachta indica Oil/Water Bio-Emulsion for Enhancing the Antioxidant Efficacy of Ceftriaxone,» *Journal of In Silico & In Vitro Pharmacology*, vol 3 N.3:22 2017.
- [29] AB Shori , AS Baba, «Attività antiossidante e inibizione degli enzimi chiave legati al diabete di tipo 2 e all'ipertensione da Azadirachta indica-yogurt,» *Journal of Saudi Chemical Society* , pp. 295-301, 17(3) 2013.
- [30] Darly G. Soares, Adriana M. Godin, Raquel R. Menezes, Rafaela D. Nogueira, Ana Mercy S. Brito, e altri, «Attività antinfiammatorie e antinocicettive dell'azadiractina nei topi,» *Planta Medica* , 80 (8–9), pp. 630-636, 2014.
- [31] Jian Chen , Xiaona Fan , Jianhua Zhu , Liyan Song , Zhiwei Li , Fei Lin, Rongmin Yu , Hanhong Xu, Jiachen Zi , «Limonoidi da semi di Azadirachta indica A. Juss. e la loro attività citotossica,» *Acta Pharmaceutica Sinica B*, pp. 639-644, Volume 8 numero 4 luglio 2018.
- [32] G. Shilpa , J. Renjitha , R. Saranga , FK Sajin , MS Nair , B. Joy , ... , S. Priya, «L'eossiazadiradione purificato dal seme di Azadirachta indica ha indotto l'apoptosi mitocondriale e l'inibizione della traslocazione nucleare di NFκB nelle cellule tumorali cervicali umane,» *Ricerca sulla fitoterapia* , pp. 1892-1902, 31 (12) 2017.
- [33] Takao Someya , Katsura Sano, Kotaro Hara , Yoshimasa Sagane , Toshihiro Watanabe, RGS Wijesekara , «Espressione genica dei fibroblasti e dei cheratinociti in seguito all'esposizione agli estratti della pianta di neem (Azadirachta indica),» *Dati in breve*, pp. 982-92, 16 2018 .
- [34] Meghana Reddy, Lakshmi Thangavelu , Anitha Roy, «Substance P Inhibitory Activity of Azadirachta Indica Bark,» *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research*, Vol. 8 issue 1 Apr. - Jun 2018.
- [35] Dhiraj Kumar , Saikat Halder , Mahadeo Gorain , Santosh Kumar , Fayaj A. Mulani , Amit S. Yadav , Lucio Miele , Hirekodathakallu V. Thulasiram & Gopal C. Kundu, «L'eossiazadiradione sopprime la crescita del tumore al seno attraverso la depolarizzazione mitocondriale e l'apoptosi dipendente dalla caspasi prendendo di mira la via PI3K/Akt,» *BMC Cancro*, 52 2018.
- [36] Rajat Sandhir, Mehak Khurana, Nitin Kumar Singhal, «Potenziali benefici delle sostanze fitochimiche di Azadirachta indica contro i disturbi neurologici,» *Internazionale di Neurochimica*, p. Tomo 146, giugno 2021.
- [37] SW Jang , X. Liu , CB Chan , SA France , I. Sayeed , W. Tang , X. Lin , G. Xiao , R. Andero , Q. Chang , KJ Ressler , K. Ye, «Deossigedunina, un prodotto naturale con una potente attività neurotrofica nei topi,» *PLoS One* , p. 1152, 2010.
- [38] Pavel A. Kipnis , Brennan J. Sullivan , Brandon M. Carter , e Shilpa D. Kadam , «Gli agonisti di TrkB prevengono l'insorgenza postischemica di convulsioni neonatali refrattarie nei topi,» *JCI Vision.*, 18 giugno 2020.
- [39] Weiqi Yang , Jinmo Xie , Qiang Qiang , Li Li , Xiang Lin , Yiqing Ren , Wenlei Ren , Qiong Liu , Guomin Zhou , Wenshi Wei , Hexige Saiyin & Lixiang Ma, «La gedunina degrada gli aggregati della proteina mutante dell'huntingtina e le inclusioni intranucleari

attraverso la via proteasomica nei neuroni e nei fibroblasti di pazienti con malattia di Huntington,» *Bollettino di neuroscienze* , pp. 1024-1034, 35 2019.

- [40] Sara Tom ,Anand Rane ,Aditya S.Katewa ,Manish Chamoli ,Rae R.Matsumoto ,Julie K.Andersen &Shankar J.Chinta, «Gedunin inibisce l'attivazione della microglia indotta da A β 1–42 oligomerica tramite la modulazione della segnalazione Nrf2-NF- κ B,» *Neurobiologia molecolare* , pp. 7851-7862, 56 2019.
- [41] NV Gorantla , R. Das , H. Chidambaram , T. Dubey , FA Mulani , HV Thulasiram , S. Chinnathambi, «Il limonoide di base modula la proteostasi mediata da chaperone e dissolve le fibrille Tau,» *Rapporti Scientifici*, pp. 1 - 19, 10 2020.
- [42] P. Patil , S. Patil , A. Mane , S. Verma, «Attività antidiabetica dell'estratto alcolico di corteccia di radice di neem (Azadirachta Indica).,» *Giornale nazionale di fisiologia, farmacia e farmacologia* , pp. 134-138, 3 (2) 2013.
- [43] Williams AA, Sitole LJ, Meyer D., et al, «Lo stress ossidativo associato a HIV/HAART è rilevabile dalla metabonomia.,» *Omica Molecolare*, pp. 2202-2217, 2017.
- [44] Oumarou Goni Hamadama , 1 Mbah Ntepe Leonel Javeres , Nyunaï Nyemb , Medou Mba Fabrice , e Pettang Tomen Manuela Elsa, «Effetto del decotto di Azadirachta indica e Senna siamea sui livelli di CD4+ e CD8+, profilo tossicologico e antiossidante nelle persone positive all'HIV/AIDS,» *Journal of toxicology*, 23 giugno 2021.
- [45] Mbah AU, Udeinya IJ, Shu EN, et al, «L'estratto di foglie di neem frazionato è sicuro e aumenta i livelli di cellule CD4+ nei pazienti affetti da HIV/AIDS,» *Giornale americano di Therapeutics .*, pp. 369-374, 2007, 14.
- [46] Mamadou Kamagaté, Camille Koffi*, N'goran Mathieu Kouamé, Aminata Akoubet,, «Profili etnobotanici, fitochimici, farmacologici e tossicologici della cassia siamea lam,» *Il giornale di fitofarmacologia .*, pp. 57-76, 2014; 3 (1).
- [47] Sudip Mukherjee , Debabrata Chowdhury , Rajesh Kotcherlakota , Sujata Patra , Vinothkumar B , Manika Pal Bhadra , Bojja Sreedhar , e Chitta Ranjan Patra, «Potenziale applicazione teranostica di nanoparticelle d'argento biosintetizzate (sistema 4 in 1),» *Teranostica.*, pp. 316-335, 4 (3) 2014.
- [48] Frank Eric Tatsing Foka , Nanabi Manamela , Steven Maluta Mufamadi , e Hazel Tumelo Mufhandu, «Potenziale di Azadirachta indica come agente di copertura per nanoparticelle antivirali contro SARS-CoV-2,» *Biomed Research International*, 15 settembre 2022.
- [49] Ogidigo JO, Iwuchukwu IA, Ibeji CU, Okpalefe O., Soliman, «Fito naturale, composti come possibili inibitori non covalenti contro la proteasi SARS-CoV2: approccio computazionale,» *Giornale di struttura e dinamica biomolecolare*, pp. 2284-2301, volume 40 2022.
- [50] Mithun Rudrapal ,Neelutpal Gogoi ,Dipak Chetia ,Johra Khan ,Saeed Banwas, Bader Alshehri ,Mohammed A. Alaidarous ,Umesh D. Laddha , Shubham J. Khairnar,Sanjay G.Walode, «Riutilizzo di composti bioattivi derivati dalla fitomedicina con promettente potenziale anti-SARS-CoV-2: docking molecolare, simulazione MD e studi di somiglianza con farmaci/ADMET,» *Rivista saudita di scienze biologiche*, pp. 2432-2446, 4 aprile 2022.

- [51] Sarkar L., Oko L., Gupta S., et al., «Azadirachta indica_ L'estratto di corteccia di A. Juss e i suoi isomeri di Nimbin limitano l'infezione e la replicazione del β -coronavirus.,» *Virologia* ., pp. 13-28, 569 2022.
- [52] Baildya N., Khan AA, Ghosh NN, Dutta T., Chattopadhyay AP, «Screening di potenziali farmaci da estratti di Azadirachta indica (Neem) per SARS-CoV-2: una panoramica degli studi di docking molecolare e di simulazione MD,» *Giornale di struttura molecolare*, p. tomo 1227, 5 marzo 2021.
- [53] SN Upadhyay , C. Kaushic , GP Talwar, «Effetti antifertilità dell'olio di neem (Azadirachta indica) mediante singola somministrazione intrauterina: un nuovo metodo contraccettivo,» *Proceedings of the Royal society B*, pp. 175-179, 1990.
- [54] Deshpande VY, Mendulkar KN, Sadre N L, «Attività antifertilità maschile di Azadirachta Indica nei topi.,» *Journal of Postgraduate Medicine*, pp. 167 -170, volume 26 numero 3 1980.
- [55] SS Riar,C. Devakumar ,G. Ilavazhagan,J. Bardan,A. K. Kain,P. Tommaso,R. Singh,B. Singh, «Frazione volatile dell'olio di neem come spermicida,» *Contraccezione*, pp. 479 - 487, volume 42 numero 4 ottobre 1990.
- [56] B Khillare ,TG Shrivastava, «Attività spermicida dell'estratto di foglie di Azadirachta indica (neem),» *Contraccezione*, pp. 225 -229, 3 Volume 68 settembre 2003.
- [57] S Garg,V Taluja,SN Upadhyay,GP Talwar, «Studi sull'efficacia contraccettiva della crema polierbale Praneem,» *Contraccezione volume 48*, pp. 591 -596, 6 dicembre 1993.
- [58] Kausik Biswas, Ishita Chattopadhyay, Ranajit K. Banerjee and Uday Bandyopadhyay, «Biological activities and medicinal pro neem (Azadirachta indica),» *Current Science*, p. VOL. 82 N. 11, 10 June 2002 .
- [59] André Rolim Baby, Thamires Batello Freire, Gabriela de Argollo Marchesi et al., «Azadirachta indica (Neem) come potenziale attivo naturale per prodotti dermocosmetici e topici: una rassegna narrativa,» *Cosmetici* , 9 (3), 58 2022.
- [60] TR Govindachari ,G.Suresh ,Geetha Gopalakrishnan ,Balaganesan Banumathy &San Masilamani, «Identificazione di composti antifungini dall'olio di semi di Azadirachta Indica,» *Fitoparassiti volume 26*, giugno 1998.
- [61] BHINGE, Somnath D.; BHUTKAR, Mangesh A.; RANDIVE, Dheeraj S.; WADKAR, Ganesh H.; KAMBLE, Sanjeeva Y.; KALEL, Pooja D.; KADAM, Sneha S., «Formulazione e valutazione di gel polierba contenente estratti di Azadirachta indica, Adhatoda vasica, Piper betle, Ocimum tenuiflorum e Pongamia pinnata.,» *Giornale di ricerca in farmacia.*, pp. 44-54, vol. 23 Numero 1 2019.
- [62] Ong, HTT; Hwang, E.; SEO, SA; Parco, B.; Sole, ZW; Zhang, M.; Shin, YK; Yi, TH, «L'applicazione topica di foglie di Neem previene la formazione di rughe nei topi glabri esposti ai raggi UVB,» *Giornale di fotochimica e fotobiologia B: Biologia*, pp. 161-170, Tomo 169 aprile 2017.
- [63] Kaushita banerjee, N. Thiagarajan e Padma Thiagarajan, «Ottimizzazione della formulazione, caratterizzazione reologica e studi di idoneità della crema emolliente Azadirachta indica A. Juss a base di poliglucosidi come base dermica per l'applicazione della protezione solare,» *Pubblicazione Scientifica dell'Associazione Farmaceutica Indiana*, pp. 914-922, 17 settembre 2017.

- [64] Akihisa, T.; Zhang, J.; Manosroi, A.; Kikuchi, T.; Manosroi, J.; Abe, M. , «Limonoidi e altri metaboliti secondari di *Azadirachta indica* (Neem) e *Azadirachta indica* var. *siamensis* (Siamese Neem) e le loro bioattività. In studi di chimica dei prodotti naturali,» *Studi in Chimica dei Prodotti Naturali*, pp. 29-65, Volume 68 2021.
- [65] Akihisa, T.; Takahashi, A.; Kikuchi, T.; Takagi, M.; Watanabe, K.; Fukatsu, M.; Fujita, Y.; Banno, N.; Tokuda, H.; Yasukawa, K, «Gli effetti inibitori della melanogenesi, antinfiammatori e chemiopreventivi dei limonoidi nell'estratto di n-esano di *Azadirachta indica* A. Juss. (Neem) Semi.,» *Journal of Oleo Science*, pp. 53-59, 60, (2) 2011.
- [66] Samira Kilani-Morakchi ,Houda Morakchi-Goudjil eKarim Sifi, «Insetticida a base di azadiractina: panoramica, valutazione dei rischi e direzioni future,» *Davanti Agron*, p. Volume 3, 20 luglio 2021.
- [67] J Deravel, F Krier, P Jacques , «Biopesticidi, integratori e alternative ai fitofarmaci chimici,» *Biotechnologie, agronomia, Soc Environ*, pp. 220 -232, 18 (2) 2014.
- [68] Christos A. Damalas, Spyridon D.Koutroubas, «Stato attuale e recenti sviluppi nell'uso dei biopesticidi,» *Agricoltura* , p. 8 (1) 13, 2018.
- [69] J. Jauch, «Sintesi totale di azadiractina: finalmente completata dopo 22 anni,» *Angewandte Chemie International Edition*, pp. volume 47 numero 1 34-37, dicembre 13 2007.
- [70] Nadia Aribi , Béatrice Denis , Samira Kilani-Morakchi e Dominique Joly, «Azadiractina, un pesticida naturale dai molteplici effetti,» *Med. Sci* , pp. volume 36, numero 1, gennaio 2020.
- [71] Suman Chaudhar ,Rupinder K. Kanwar ,Alka Sehgal ,David M.Cahill ,Colin J. Barrow ,Rakesh Sehgal eJagat R. Kanwar , «Progressi sui biopesticidi a base di *Azadirachta indica* nella sostituzione dei pesticidi tossici sintetici,» *Davanti. Plant Sci.*, volume 8, 08 maggio 2017.
- [72] A.Jennifer Mordue Luntz ,Alasdair J. Nisbet ,Munira Nasiruddin &Elaine Walker , «Soglie differenziali di azadiractina per la deterrenza alimentare e la tossicità nelle locuste e in un afide,» *Atti del 9° Simposio Internazionale sulle Relazioni Insetto-Pianta. Serie Entomologica vol. 53 Springer*, 1996.
- [73] Virendra K. Dua ,Akhilesh C Pandey ,Kamaraju Raghavendra ,Ashish Gupta ,Trilochan Sharma &Aditya P Dash , «Attività larvicida della formulazione di olio di neem (*Azadirachta indica*) contro le zanzare,» *Malar J* 8 , 124 , 2009.
- [74] S Lokanadhan , P Muthukrishnan, «Prodotti Neem e loro applicazioni agricole,» *Journal of Biopesticides*, 5 , pp. 72-76, 2012.
- [75] K. Ahmad, M Adnan , MA Khan , Z Hussain., «La polvere di foglie di neem bioattiva migliora la durata di conservazione dei chicchi di fagioli mungbean immagazzinati e estende la protezione dal coleottero del polso,» *Pakistan Journal of Weed Sci. Res.*, 21(1), pp. 71 -81, 2015.
- [76] RM Joany , P Shanthi, ACC Marye Jeyasundari, J., «Sintesi di nanoparticelle d'argento utilizzando l'estratto di neem,» *Int. J. Nano. Corr. Sci. Engg.*, 2, pp. 1-6, 2015.
- [77] Sara J Boeke ,Marelle G Boersma, Gerrit M Alink ,Joop JA van Loon, Arnold van Huis, Marcel Dicke A,Ivonne MCM Rietjens , «Valutazione della sicurezza dei pesticidi

derivati dal neem (*Azadirachta indica*),» *Giornale di etnofarmacologia Volume 94, Numero 1*, pp. 25-41, settembre 2004.

[78] Teresa M.Braga¹,*ORCID,Lidia Rocha¹ORCID,Tz Yan Chung¹,Rita F. Oliveira,Claudia Pinho, Ana I. Oliveira, ORCID,Gioacchino Morgado, e Agostino Cruz, «*Azadirachta indica* A. Juss. Tossicità in vivo: una revisione aggiornata,» *Molecole 2021* , 26 (2), 6 gennaio 2021.

[79] «Nature Neem,» [Online]. Available: <https://natureneem.com/it>.