

MINISTÉRIO DA SAÚDE

MONOGRAFIA DA ESPÉCIE *Allium sativum* (ALHO)

Organização: Ministério da Saúde e Anvisa

Fonte do Recurso: Ação 20K5 (DAF/ SCTIE/ MS)/2013

Brasília

2015

FICHA DE CATALOGAÇÃO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Bulbilhos e planta de *Allium sativum*1
- Figura 2 - Aspectos macroscópicos de *Allium sativum*. A. Planta de alho descrita por Germosén-Robineau (14). B. Alho com detalhes do bulbo, pseudocaule (formado pelas bainhas foliares), e parte aérea (folhas). Barra: 5 cm.....4
- Figura 3 - Estrutura do bulbilho de alho descrita por Vieira (2012) (5). A, aspecto geral do bulbilho inteiro. B, secção transversal do bulbilho indicando detalhes da estrutura interna; fp: folha de proteção; fr: folha de reserva; fb: folha de brotação. C, secção longitudinal do bulbilho indicando a posição do meristema apical (ma) envolto pela bainha da folha de brotação. D, folha de brotação com primórdios desenvolvidos (setas). Barras: A e E = 0,5 cm, B e C= 1 cm.....5
- Figura 4 - Aspectos gerais de bulbos de alho do grupo comum (A) e do grupo nobre (B). Barras: (1 cm).....7
- Figura 5 - Constituintes químicos presentes em *A. sativum*. (1) alliina, (2) alicina, (3) E-ajoeno, (4) Z-ajoeno, (5) 2-vinil-(4H)-1,3-ditiina, (6) 3-venil-(4H)-1,2-ditiina, (7) dissulfeto de dialila e (8) trissulfeto de dialila.12
- Quadro 01- Possíveis interações entre fármacos e produtos à base de alho (*Allium sativum* L.).
 Fonte: Alexandre e colaboradores (2008)
 (1).....45

LISTA DE ABREVIATURAS

CCD	Cromatografia em Camada Fina
CG	Cromatografia com Fase Gasosa
CG-EM	Cromatografia com Fase Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas
CG-FID	Cromatografia com Fase Gasosa com detector de Ionização de Chama
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.
CLAE-UV	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector de Ultravioleta
FB	Farmacopeia Brasileira
FA	Farmacopeia Americana
CIM	Concentração Inibitória Mínima
LPS	Lipopolissacarídeo
TNF- α	Fator de necrose tumoral-alfa
IFN- γ	Interferon-gama
PAM	Pressão arterial média
PAS	Pressão arterial sistólica
PAD	Pressão arterial sistólica
ECA	Enzima conversora de angiotensina
LDL	Low Density Lipoprotein
HDL	High Density Lipoprotein
MDA	Malondialdeído
OMS	Organização Mundial da Saúde
XO	Xantina oxidase
SOD	Superóxido dismutase
GSH-Px	Glutathione peroxidase
CAT	Catalase
INPI	Instituto Nacional da Propriedade Industrial
EPO	European Patent Office
WIPO	World International Property Organization
USPTO	United States Patent and Trademark Office's
JPO	Japan Patent Office

SUMÁRIO

1 IDENTIFICAÇÃO	1
1.1 NOMENCLATURA BOTÂNICA.....	1
1.2 SINONÍMIA BOTÂNICA.....	1
1.3 FAMÍLIA.....	1
1.4 FOTO DA PLANTA.....	1
1.5 NOMENCLATURA POPULAR	2
1.6 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA.....	2
1.7 OUTRAS ESPÉCIES CORRELATAS DO GÊNERO, NATIVAS OU EXÓTICAS ADAPTADAS.....	2
2 INFORMAÇÕES BOTÂNICAS	3
2.1 PARTE UTILIZADA / ÓRGÃO VEGETAL.....	3
2.2 DESCRIÇÃO MACROSCÓPICA DA PARTE DA PLANTA UTILIZADA	3
2.3 DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA DA PARTE DA PLANTA UTILIZADA.....	5
2.3.1 Descrição microscópica	5
2.3.2 Descrição microscópica das impurezas	5
2.3.3 Descrição microscópica do pó	6
2.4 INFORMAÇÕES SOBRE POSSÍVEIS ESPÉCIES VEGETAIS SIMILARES QUE POSSAM SER UTILIZADAS COMO ADULTERANTES	6
3 INFORMAÇÕES DE CONTROLE DE QUALIDADE	8
3.1 ESPÉCIE VEGETAL / DROGA VEGETAL	8
3.1.1 Caracteres organolépticos	8
3.1.2 Requisitos de pureza	8
3.1.2.1 <i>Perfil de contaminantes comuns</i>	8
3.1.2.2 <i>Microbiológico</i>	8
3.1.2.3 <i>Teor de umidade</i>	8
3.1.2.4 <i>Metal pesado</i>	8
3.1.2.5 <i>Resíduos químicos</i>	9
3.1.2.6 <i>Cinzas</i>	9
3.1.3 Granulometria	10
3.1.4 Prospecção fitoquímica	10
3.1.5 Testes físico-químicos	11
3.1.6 Testes de identificação	11
3.1.7 Testes de quantificação	12
3.1.7.1 <i>Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não</i>	12
3.1.8 Outras informações úteis para o controle de qualidade	13
3.2 DERIVADO VEGETAL	14
3.2.1 Descrição	14

3.2.2 Método de obtenção	14
3.2.3 Caracteres organolépticos	14
3.2.4 Requisitos de pureza	14
3.2.4.1 <i>Perfil de contaminantes comuns</i>	14
3.2.4.2 <i>Microbiológico</i>	14
3.2.4.3 <i>Teor de umidade</i>	14
3.2.4.4 <i>Metal pesado</i>	15
3.2.4.5 <i>Resíduos químicos</i>	15
3.2.5 Testes físico-químicos	15
3.2.6 Prospecção fitoquímica	15
3.2.7 Testes de identificação	15
3.2.8 Testes de quantificação	16
3.2.8.1 <i>Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não</i>	16
3.3 PRODUTO FINAL	18
3.3.1 Forma farmacêutica	18
3.3.2 Testes específicos por forma farmacêutica	18
3.3.3 Requisitos de pureza	18
3.3.4 Resíduos químicos	18
3.3.5 Prospecção fitoquímica	18
3.3.6 Testes de identificação	18
3.3.7 Testes de quantificação	19
3.3.7.1 <i>Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não</i>	19
4 INFORMAÇÕES DE SEGURANÇA E EFICÁCIA	20
4.1 USOS POPULARES / TRADICIONAIS.....	20
4.2 PRESENÇA NA NOTIFICAÇÃO DE DROGAS VEGETAIS.....	20
4.3 ESTUDOS NÃO-CLÍNICOS.....	20
4.3.1 Estudos toxicológicos	20
4.3.1.1 <i>Toxicidade aguda</i>	20
4.3.1.2 <i>Toxicidade subcrônica</i>	21
4.3.1.3 <i>Toxicidade crônica</i>	21
4.3.1.4 <i>Genotoxicidade</i>	21
4.3.1.5 <i>Sensibilização dérmica</i>	22
4.3.1.6 <i>Irritação cutânea</i>	22
4.3.1.7 <i>Irritação ocular</i>	23
4.3.2 Estudos farmacológicos	23
4.3.2.1 <i>Ensaio in vitro</i>	23
4.3.2.1.1 <i>Atividade antimicrobiana</i>	23
4.3.2.1.2 <i>Atividade antioxidante</i>	24
4.3.2.1.3 <i>Atividade antiplaquetária</i>	25
4.3.2.1.4 <i>Atividade imuno-estimulante</i>	25
4.3.2.1.5 <i>Atividade anti-inflamatória</i>	25
4.3.2.2 <i>Ensaio in vivo</i>	26
4.3.2.2.1 <i>Atividade hipolipidêmica</i>	26

4.3.2.2.2 Atividade antitrombótica.....	27
4.3.2.2.3 Atividade cardiovascular.....	28
4.3.2.2.4 Atividade anti-hipertensiva.....	28
4.3.2.3 Ensaios <i>ex vivo</i>	30
4.4 ESTUDOS CLÍNICOS.....	30
4.4.1 Fase I.....	30
4.4.1.1 Atividade hipolipidêmica.....	30
4.4.1.2 Atividade antioxidante.....	32
4.4.2 Fase II.....	33
4.4.2.1 Atividade hipolipidêmica.....	33
4.4.2.2 Atividade anti-hipertensiva	36
4.4.3 Fase III.....	37
4.4.3.1 Atividade hipolipidêmica.....	37
4.4.3.2 Atividade antitrombótica.....	38
4.4.3.3 Atividade anti-hipertensiva.....	38
4.4.4 Fase IV.....	39
4.4.5 Estudos observacionais.....	39
4.5 RESUMO DAS AÇÕES E INDICAÇÕES POR DERIVADO DE DROGA	
ESTUDADO.....	40
4.5.1 Vias de Administração.....	40
4.5.2 Dose Diária.....	41
4.5.3 Posologia (Dose e Intervalo).....	41
4.5.4 Período de Utilização.....	42
4.5.5 Contra Indicações.....	42
4.5.6 Grupos de Risco.....	42
4.5.7 Precauções de Uso.....	42
4.5.8 Efeitos Adversos Relacionados.....	42
4.5.9 Interações Medicamentosas.....	43
4.5.9.1 Descritas.....	43
4.5.9.2 Potenciais.....	43
4.5.10 Informações de Superdosagem.....	44
4.5.10.1 Descrição do quadro clínico.....	44
4.5.10.2 Ações a serem tomadas.....	44
5 INFORMAÇÕES GERAIS.....	45
5.1 FORMAS FARMACÊUTICAS /FORMULAÇÕES DESCRITAS NA LITERATURA..	45
5.2 PRODUTOS REGISTRADOS NA ANVISA E OUTRAS AGÊNCIAS	
REGULADORAS.....	45
5.3 EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO.....	45
5.4 ROTULAGEM.....	45
5.5 MONOGRAFIAS EM COMPÊNDIOS OFICIAIS E NÃO OFICIAIS.....	45
5.6 PATENTES SOLICITADAS PARA A ESPÉCIE VEGETAL.....	46
REFERÊNCIAS.....	49

1 IDENTIFICAÇÃO

1.1 NOMENCLATURA BOTÂNICA

Allium sativum L.(2-5).

1.2 SINONÍMIA BOTÂNICA

Allium ophioscorodon Link, *Allium pekinense* Prokh., *Porrum ophioscorodon* (Link) Rchb., *Porrum sativum* (2-5).

1.3 FAMÍLIA

Amaryllidaceae (2-5).

1.4 FOTO DA PLANTA



Figura 1- Bulbilhos e planta de *Allium sativum*. Fonte: Vieira (2012) (6).

1.5 NOMENCLATURA POPULAR

Alho (7). Nome em espanhol: Ajo (2). Nome em inglês: Garlic (2, 5).

1.6 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

É uma espécie não endêmica do Brasil e de origem Asiática, porém cultivada por todo o mundo (8, 9). Sua distribuição geográfica abrange China, Canadá, Estados Unidos, México, Honduras, Costa Rica, Colômbia e Equador (2). É distribuída também no Mediterrâneo, na Europa Centro-Oriental e na região que engloba a Índia, Vietnã, Mianmar (Birmânia) e Malásia (10).

No Brasil, os estados de Goiás, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Minas Gerais e Bahia são os principais produtores e juntos respondem por 94% da produção brasileira (11).

1.7 OUTRAS ESPÉCIES CORRELATAS DO GÊNERO, NATIVAS OU EXÓTICAS ADAPTADAS.

A espécie *Allium longicuspis* é considerada por alguns autores como sendo a mesma espécie que *Allium sativum* (12).

2 INFORMAÇÕES BOTÂNICAS

2.1 PARTE UTILIZADA / ÓRGÃO VEGETAL

Bulbilhos (13).

2.2 DESCRIÇÃO MACROSCÓPICA DA PARTE DA PLANTA UTILIZADA

Segundo descrição da Farmacopeia Brasileira (FB) (14), o bulbo é subgloboso, composto por 6 a 20 bulbilhos (dentes-de-alho), de diferentes tamanhos, reunidos sob um involúcro comum de várias folhas protetoras escamosas, esbranquiçadas ou rosadas, inteiras e membranáceas, que se destacam facilmente. Os bulbilhos estão inseridos em um pequeno caule, discoide, achatado, que apresenta em sua porção mediana superior um prolongamento que corresponde ao escapo. Da face inferior do caule partem numerosas raízes adventícias fibrosas, amarelo-esbranquiçadas (Figura 2). O bulbilho tem coloração esbranquiçada, rósea ou violácea, é ovoide, comprimido lateralmente, ligeiramente arqueado, assimétrico, com três a quatro lados, com a face externa convexa, as faces laterais planas e a face interna plano-côncava; a porção inferior mostra a cicatriz de sua inserção no caule. Cada bulbilho é envolvido por um prófalo escarioso e protetor, que circunda um catáfilo de reserva (raro dois), carnoso e suculento. O prófalo escarioso é liso, contínuo, cartilaginoso, brilhante, e mais ou menos resistente. O catáfilo carnoso corresponde à droga, que quando seccionado transversalmente mostra em sua região mediana uma porção amarelada a amarelo-esverdeada, correspondente aos primórdios das folhas aéreas, conduplicados longitudinalmente. Em secção longitudinal, observa-se que estes primórdios preenchem a porção mais interna do bulbilho, no sentido basal-apical.

Há outras descrições na literatura científica: planta perene, bulbos eretos, 30-60 cm de altura, cheiro forte quando esmagados. A porção subterrânea contém um bulbo com numerosas raízes fibrosas, o bulbo origina acima do solo numerosas folhas estreitas e curvadas (15).

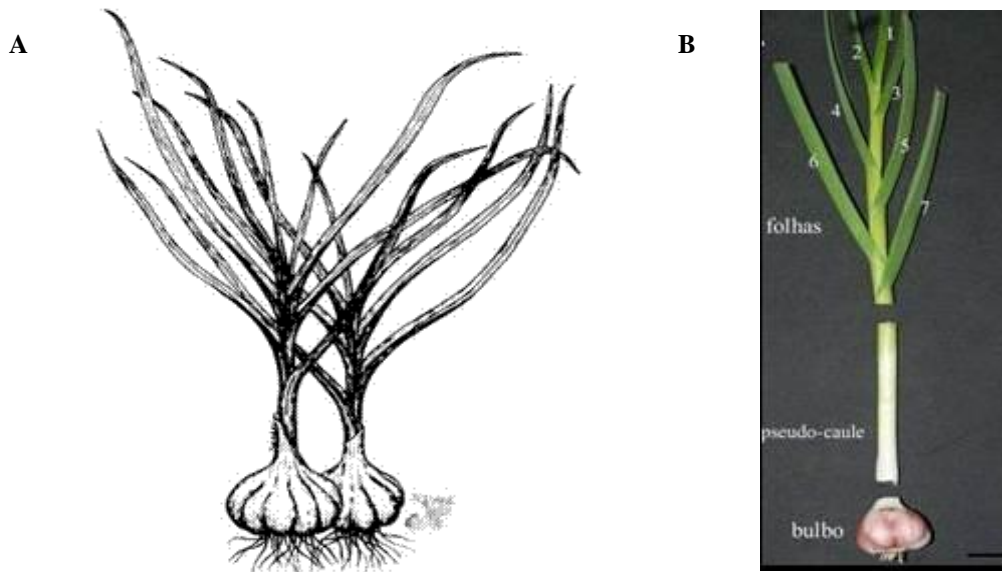


Figura 2- Aspectos macroscópicos de *Allium sativum*. . Planta inteira de alho descrita por Germosén-Robineau (16). B. Alho com detalhes do bulbo, pseudocaule (formado pelas bainhas foliares), e parte aérea (folhas). Barra: 5 cm. Fonte: Vieira (2012) (6).

Essa descrição pode ser complementada pelos dados disponíveis no trabalho de Vieira (2012) (6), um bulbilho formado a partir de uma gema axilar dormente, contém um meristema apical, rodeado por três folhas modificadas - uma fina folha periférica de proteção, uma folha de armazenamento (ou de reserva), e uma folha de brotação. A folha de proteção do bulbilho apresenta uma superfície dura lignificada, sendo uma barreira à penetração de pragas e doenças, e abrange a folha de reserva que constitui a maior porção do bulbilho. Ela consiste quase que inteiramente de bainha, é tubular em forma, e envolve o desenvolvimento da folhagem da planta. A folha de brotação consiste de uma bainha que rodeia completamente os primórdios funcionais que envolvem o meristema apical, sendo caracterizada por tecidos extremamente vacuolizados que isolam fisiologicamente o meristema (Figuras 3B e 3D).

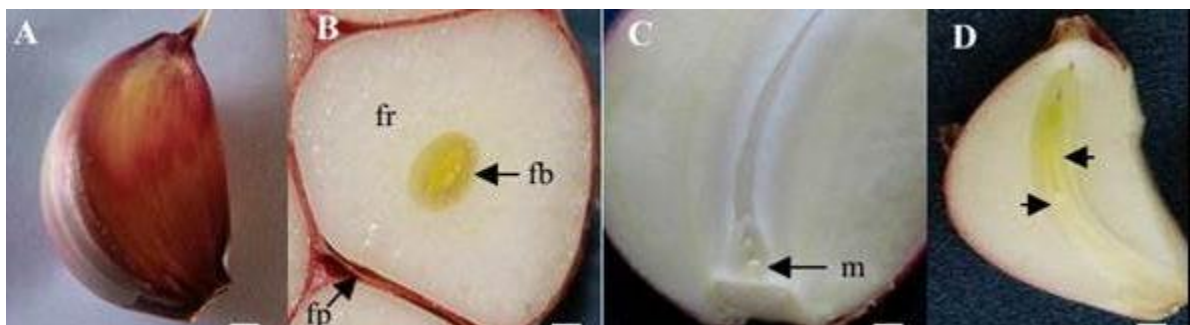


Figura 3 - Estrutura do bulbilho de alho descrita por Vieira (2012) (6). A, aspecto geral do bulbilho inteiro. B, secção transversal do bulbilho indicando detalhes da estrutura interna; fp: folha de proteção; fr: folha de reserva; fb: folha de brotação. C, secção longitudinal do bulbilho indicando a posição do meristema apical (ma) envolto pela bainha da folha de brotação. D, folha de brotação com primórdios desenvolvidos (setas). Barras: A e D = 0,5 cm, B e C= 1 cm. Fonte: Vieira (2012) (6).

2.3 DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA DA PARTE DA PLANTA UTILIZADA

2.3.1 Descrição microscópica

Segundo descrição da FB (14), o catáfilo de reserva, em vista frontal, exibe células retangulares ou quadrangulares, de paredes sinuosas. Em algumas células, as paredes anticlinais mostram um deslocamento da parede primária, com espessamento da lamela média, de coloração acastanhada. Os núcleos são evidentes. Raramente ocorrem estômatos. Em secção transversal, observa-se uma cutícula fina. A epiderme voltada para a face abaxial ou epiderme externa é uniestratificada e formada por células retangulares a quadrangulares de paredes finas, exceto a periclinal externa que é mais espessa. O parênquima fundamental é mucilaginoso e constituído por grandes células incolores, arredondadas, de paredes finas, com núcleos visíveis, muitas delas com conteúdo granuloso. Neste tecido ocorrem numerosos feixes vasculares dispostos irregularmente, frequentemente anastomosados e laticíferos, que acompanham estas estruturas vasculares. Os laticíferos também ocorrem isoladamente. Os feixes vasculares são colaterais e pouco desenvolvidos, apresentando uma ou duas bainhas parenquimáticas de células com conteúdo amarelo-claro, quando observadas sem a utilização de corante. Os laticíferos não são facilmente identificáveis quando utilizado corante, por serem pequenos, confundindo-se com as células parenquimáticas. A epiderme voltada para a face adaxial ou epiderme interna do catafilo de reserva consiste de uma única camada de células quadrangulares, muito menores do que as da camada epidérmica externa, com cutícula fina e lisa, delimitando a região dos primórdios foliares. Em vista longitudinal, os elementos traqueais têm espessamento de parede helicoidal ou anelado. As células da bainha parenquimática e alguns laticíferos acompanham a anastomose dos feixes vasculares. Os laticíferos são formados por células elípticas curtas, dispostas em série, com conteúdo granuloso pardo a castanho escuro, quando submetidos a corante. Não ocorrem grãos de amido.

2.3.2 Descrição microscópica das impurezas

O prófalo escarioso, se presente como impureza, em vista frontal, mostra epiderme com células alongadas, paralelas entre si, com exceção da porção terminal de algumas células, que se estreitam. As paredes celulares da epiderme da face abaxial ou externa são mais espessas e as pontuações mais evidentes do que as da epiderme da face adaxial. Em secção transversal, na face abaxial ou externa, ocorre uma cutícula fina e lisa, seguida de epiderme uniestratificada,

formada por células esclerificadas, retangulares a quadrangulares, de paredes muito espessas, com conspícuas pontuações. Estas células apresentam-se acastanhadas, com ou sem emprego de corante, sendo comuns cristais prismáticos de oxalato de cálcio de diferentes formas. Abaixo desta, ocorre uma ou duas camadas de células hialinas, achatadas tangencialmente, de paredes espessas e não esclerificadas, com grande quantidade de cristais. O parênquima, desprovido de cloroplastídeos, é formado por células elípticas no sentido tangencial, de paredes finas, com amplos espaços intercelulares e ausência de cristais. Feixes vasculares pequenos, do tipo colateral, distribuem-se neste parênquima. Células parenquimáticas achatadas tangencialmente, de paredes espessas, de menores dimensões do que aquelas voltadas para a face abaxial, contendo muitos cristais, ocorrem junto à epiderme voltada para a face adaxial ou interna. Esta última é formada por células esclerificadas, menores do que as da face abaxial e com as mesmas características desta (14).

2.3.3 Descrição microscópica do pó

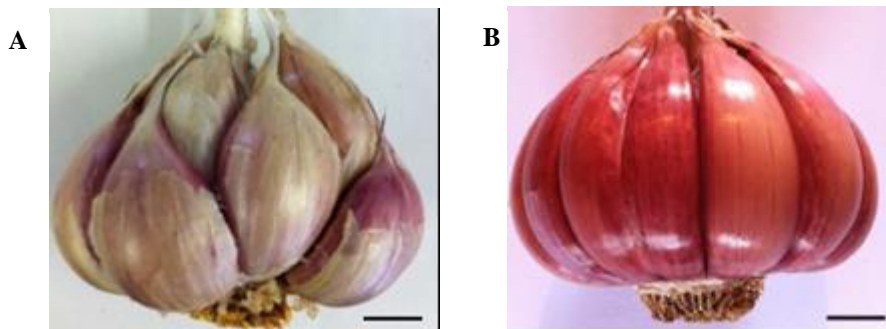
O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração amarelo-esbranquiçada a rosado-esbranquiçada; porções da epiderme do catáfilo de reserva; numerosos fragmentos com grandes células de parênquima de paredes finas e conteúdo granuloso; laticíferos; elementos traqueais lignificados, com espessamento de parede helicoidal ou anelado; elementos traqueais acompanhados de células de parênquima de paredes finas; como impurezas, porções da epiderme dos prófilos escariosos em vista frontal, porções da epiderme dos prófilos em secção transversal; traqueídes; cristais prismáticos de diferentes formas (14, 15).

2.4 INFORMAÇÕES SOBRE POSSÍVEIS ESPÉCIES VEGETAIS SIMILARES QUE POSSAM SER UTILIZADAS COMO ADULTERANTES

As espécies *Allium schoenoprasum* L. (alho-da-terra), *Allium fistulosum* L. (alho-da-terra), *Allium porrum* L. (alho-porro) são também utilizadas, porém em menor escala (17).

Além disso, há uma grande variedade nas características gerais da espécie *Allium sativum* comercializada no Brasil, sendo classificado em dois grupos: “comuns” e “nobres”, quanto ao ciclo de cultivo, que é determinado por múltiplas condições edafoclimáticas e de fotoperíodo, causadas principalmente pelas diferenças de relevo e latitude. O grupo nobre

apresenta bulbos uniformes e coloração roxa intensa dos bulbilhos, portanto, apresenta boa aceitação no mercado consumidor (Figura 4) (6).



**Figura 4- Aspectos gerais de bulbos de alho do grupo comum (A) e do grupo nobre (B). Barras: (1 cm).
Fonte: Vieira (2012) (6).**

3 INFORMAÇÕES DE CONTROLE DE QUALIDADE

3.1 ESPÉCIE VEGETAL / DROGA VEGETAL

3.1.1 Caracteres organolépticos

A droga tem odor aliáceo forte e sabor característico, acre, persistente e irritante (14, 15, 18).

3.1.2 Requisitos de pureza

3.1.2.1 Perfil de contaminantes comuns

Devem ser avaliados os contaminantes macroscópicos, conforme método descrito na FB (19). O limite máximo permitido é de 5% m/m. (14).

3.1.2.2 Microbiológico

O teste deve ser realizado conforme os métodos gerais disponibilizados na FB (19) e os limites permitidos são os descritos no referido compêndio oficial. A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda para preparações de uso interno que não exista *Salmonella spp* e os limites máximos aceitáveis para outros microorganismos são: não mais que 10^5 /g ou mL de bactérias aeróbicas, não mais que 10^4 /g ou mL de fungos, não mais que 10^3 /g ou mL de enterobactérias e bactérias gram-negativas e 0/g ou mL de *Escherichia coli* (15).

3.1.2.3 Teor de umidade

Realizar teste de acordo com os métodos gerais da FB (19). O limite máximo aceito deve ser de 5-7% (14, 15, 18).

Um estudo foi realizado para determinação da umidade em bulbos de *A. sativum* que relatou os valores de umidade de 6,5 % para o alho cru, 6,6% para o alho cozido e 4,8% para o alho frito (20).

3.1.2.4 Metal pesado

O teste deve ser realizado conforme os métodos gerais disponibilizados na FB (19). A OMS (15) recomenda que não exista mais do que 10 mg/ Kg de chumbo e 0,3 mg/ Kg de cádmio na forma final a ser utilizada de *A. sativum*.

3.1.2.5 Resíduos químicos

A legislação brasileira para registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de drogas vegetais prevê a determinação de resíduos de agrotóxicos em matérias-primas vegetais (13). Entretanto, ainda serão discutidas as formas e tempos em que será necessária a avaliação de agrotóxicos e afins.

Na FB não consta método para a determinação de agrotóxicos e seus valores limites, mas podem ser encontrados limites e metodologias específicas para a determinação desses resíduos em *A. sativum* ou “Garlic” de acordo com o descrito na Farmacopeia Americana (FA) (18). Os testes de pesticidas para drogas vegetais descrito na FA envolvem técnicas cromatográficas e alguns limites estabelecidos são: azinfos-metil 1,0 mg/Kg; clorpirifós 0,2 mg/Kg; diclorvos 1,0 mg/Kg, etion 2,0 0 mg/Kg; fonofos 0,05 mg/Kg; parations 0,5 mg/Kg; paration-metil 0,2 mg/Kg; fosalone 0,1 mg/Kg; pirimifós-metil 4,0 mg/Kg.

3.1.2.6 Cinzas

Realizar teste presente na FB (19), conforme seus métodos gerais. O limite máximo aceito deve ser de 5% de cinzas totais (14, 18) e não mais que 1% (18) para cinzas insolúveis em ácido de acordo com a monografia do alho da FA (18) e da FB (14). As metodologias da FB e da FA para os testes de cinzas totais e cinzas insolúveis em ácido são semelhantes. Os testes abaixo foram transcritas da FB (19).

Determinação de cinzas totais. Pesar, exatamente, cerca de 3 g da amostra pulverizada, ou a quantidade especificada na monografia, transferir para cadinho (de silício ou platina) previamente tarado. Distribuir a amostra uniformemente no cadinho e incinerar aumentando, gradativamente, a temperatura até, no máximo, 600 ± 25 °C, até que todo o carvão seja eliminado. Um gradiente de temperatura (30 minutos a 200 °C, 60 minutos a 400 °C e 90

minutos a 600 °C) pode ser utilizado. Resfriar em dessecador e pesar. Nos casos em que o carvão não puder ser eliminado totalmente, resfriar o cadinho e umedecer o resíduo com cerca de 2 mL de água ou solução saturada de nitrato de amônio. Evaporar até secar em banho-maria e, em seguida, sobre chapa quente, e incinerar até peso constante. Calcular a porcentagem de cinzas em relação à droga seca ao ar.

Determinação de cinzas insolúveis em ácido. Ferver o resíduo obtido na determinação de cinzas totais durante 5 minutos com 25 mL de ácido clorídrico a 7% (p/v) em cadinho coberto com vidro de relógio. Lavar o vidro de relógio com 5 mL de água quente, juntando a água de lavagem ao cadinho. Recolher o resíduo, insolúvel em ácido, sobre papel de filtro, isento de cinza, lavando-o com água quente até que o filtrado se mostre neutro. Transferir o papel de filtro contendo o resíduo para o cadinho original, secar sobre chapa quente e incinerar a cerca de 500 °C até peso constante. Calcular a porcentagem de cinzas insolúveis em ácido em relação à droga seca ao ar.

Em um estudo realizado por Queiroz (2010) (20) foi descrito os valores de cinzas totais de 4,2% para o alho fresco, 4,1% para o alho cozido e 3,0% para o alho frito.

3.1.3 Granulometria

A determinação do estado de divisão da droga ou granulometria deve ser determinada de acordo com legislação brasileira conforme as boas práticas de fabricação de insumos farmacêuticos ativos de origem vegetal e também para registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de drogas vegetais (13, 21). Realizar teste presente na FB (2010) (19), conforme seus métodos gerais. Além deste, há metodologia descrita no Guia da OMS (22).

3.1.4 Prospecção fitoquímica

A espécie é rica em substâncias organossulfuradas, flavonoides e terpenoides (20, 23). De acordo com a OMS (15), as análises químicas qualitativas e quantitativas das substâncias organossulfuradas (alliina, alicina, etc.) podem ser realizadas através das técnicas de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e Cromatografia com Fase Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM).

3.1.5 Testes físico-químicos

Os testes para caracterização físico-química de drogas vegetais, como caracterização organoléptica e umidade foram descritos nos itens 3.1.1 e 3.1.2.3. Outros testes como: determinação de resíduo seco, teste de solubilidade, determinação do índice de espuma, determinação do índice de amargor, determinação do índice de intumescência estão descritos na FB (2010) (19), mas não são exigidos pela legislação brasileira para registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de drogas vegetais (13).

3.1.6 Testes de identificação

A monografia de *A. sativum* da FB (2005) (14) utiliza a técnica de Cromatografia em Camada Delgada (CCD) para identificação dos marcadores químicos (alanina, metionina e alicina) de *A. sativum*. Para o teste de identificação será utilizada a técnica de cromatografia em camada delgada, utilizando sílica-gel F254, com espessura de 0,25 mm, como suporte, e a fase superior da mistura de álcool n-butílico, álcool n-propílico, ácido acético glacial e água (3:1:1:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, em forma de banda, 10 µL da solução (1) e da solução (2), recentemente preparadas. Para preparar a solução (1) é necessário cortar o bulbo em pequenos pedaços, extrair 1 g da droga duas vezes com 20 mL da mistura metanol e água (1:1), agitar durante 5 minutos e reunir os extratos. Em seguida, filtrar e concentrar a um volume de 5 mL sob pressão reduzida. Para solução (2) deve-se dissolver 5 mg de alanina em 10 mL de água e diluir para 20 mL com metanol. Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixarsecar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Nebulizar com ninidrina 2 g/L e deixar em estufa entre 100 °C e 105 °C, durante 10 minutos. Observar imediatamente a placa. O cromatograma da solução (1) apresenta uma mancha de coloração violeta a vermelho acastanhado na mesma altura que a obtida com a solução (2) (Rf de aproximadamente 0,5). O cromatograma obtido com a solução (1) apresenta, ainda, mancha de coloração rosada referente a metionina (Rf aproximadamente 0,43) e mancha de coloração violeta- rosada referente a alicina (Rf aproximadamente 0,3).

Os compêndios oficiais, Farmacopeia Americana (18), Farmacopeia Portuguesa (24), Farmacopeia Espanhola (25), Farmacopeia Britânica (26), apresentam o mesmo teste de identificação dos marcadores químicos (alanina, metionina e alicina) de *A. sativum* descrito na FB (14).

3.1.7 Testes de quantificação

3.1.7.1 Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não

A FB (14) descreve que a droga vegetal consiste do bulbo ou seus bulbilhos maduros e dessecados, desprovidos de raízes, caule, folhas normais, folhas protetoras escamosas e prófilos escariosos, contendo, no mínimo, 0,45% de alicina. A determinação do teor de alicina deve ser feito através da análise do material vegetal por CLAE.

Miron e colaboradores (2002) (27) propuseram outro método para determinação de alicina no alho por Espectrofotometria, após a reação da substância cromogênica 4-mercaptopiridina com as ligações disulfido de tiosulfatos $-S(O)-S-$, formando o conjugado disulfido, 4-alilmercaptotipiridina, que não apresenta absorvância.

A alicina é o principal marcador químico de *Allium sativum*, rica em substâncias organosulfuradas, além dos flavonoides e dos terpenoides (20, 23). As substâncias organosulfuradas dos bulbos de alho intactos são os sulfoxidos de cisteína (8 - 19 mg/ g de alho fresco) e as γ -glutamilcisteínas (5 - 16 mg/ g de alho fresco) que somam aproximadamente 95% do total de enxofre nos alhos frescos (28).

Hughes e colaboradores (2006) (29) quantificaram os sulfoxidos de cisteína, principalmente a alliina (28.9 mM), e em menor quantidade a isoalliina (4.7 mM), e as γ -glutamilcisteínas, como a γ -glutamil-S-alilcisteína (64.2 mM) e da γ -glutamil-S-isoalilcisteína (202.4 mM) nos bulbos de alho fresco. Entretanto, o conteúdo de alliina [1] é afetado pelo tratamento usado no processo, o bulbo de alho inteiro (fresco) contém 0,25-1,15% de alliina, enquanto o material cuidadosamente secado com métodos aprazíveis contém 0,7%-1,7% de alliina (30).

Quando o alho é triturado, esmagado ou processado, a enzima alliinase cataliza a conversão dos sulfóxidos de cisteína para tiosulfatos volatéis e reativos (2 a 9 mg/ g em alho fresco picado). A substância tiosulfato de dialila, mais conhecida como alicina [2], é o produto mais abundante dentre os tiosulfatos (70%-80%), como ajoenos (*E*-ajoeno [3], *Z*-ajoeno [4]), vinilditiinas (2-vinil-(4H)-1,3-ditiina [5], 3-venil-(4H)-1,2-ditiina [6]) e sulfetos (dissulfeto de dialila [7], trissulfeto de dialila [8]) (28, 30, 31), ilustradas na Figura 5. Block e colaboradores (1992) (32) descreveram a quantidade de alicina presente no material vegetal fresco em torno de 3,0 mg/ g.

As substâncias fenólicas presentes no alho, como os flavonoides, quercetina (flavonol), apigenina (flavona) e miricetina (flavonol) foram quantificadas por Queiroz (2010) (18) em 12,3 mg/ 100 g de material vegetal fresco para a quercetina e apenas traços de

mirecetina e apigenina (18). Enquanto, Miean e Mohamed (2001) (33) verificaram que o alho apresenta 47 mg/ kg de quercetina, 217 mg/ kg de apigenina e 693 mg/ kg de miricetina.

3.1.8 Outras informações úteis para o controle de qualidade

Armazenar em embalagem fechada, protegida da incidência de luz, local seco e fresco (18). Hughes e colaboradores (2006) (29) avaliaram o efeito da temperatura (4 e 25 °C) de armazenagem no conteúdo de substâncias organossulfuradas de bulbos de alho fresco. Nos bulbos armazenados à 4°C, a concentração de alliina não alterou, mas a isoalliina aumentou e houve decréscimo do sulfóxido de γ -glutamil alilcisteina e do sulfóxido de γ -glutamil isoalilcisteina que possivelmente, contribuiu para o aumento das substâncias voláteis precursoras.

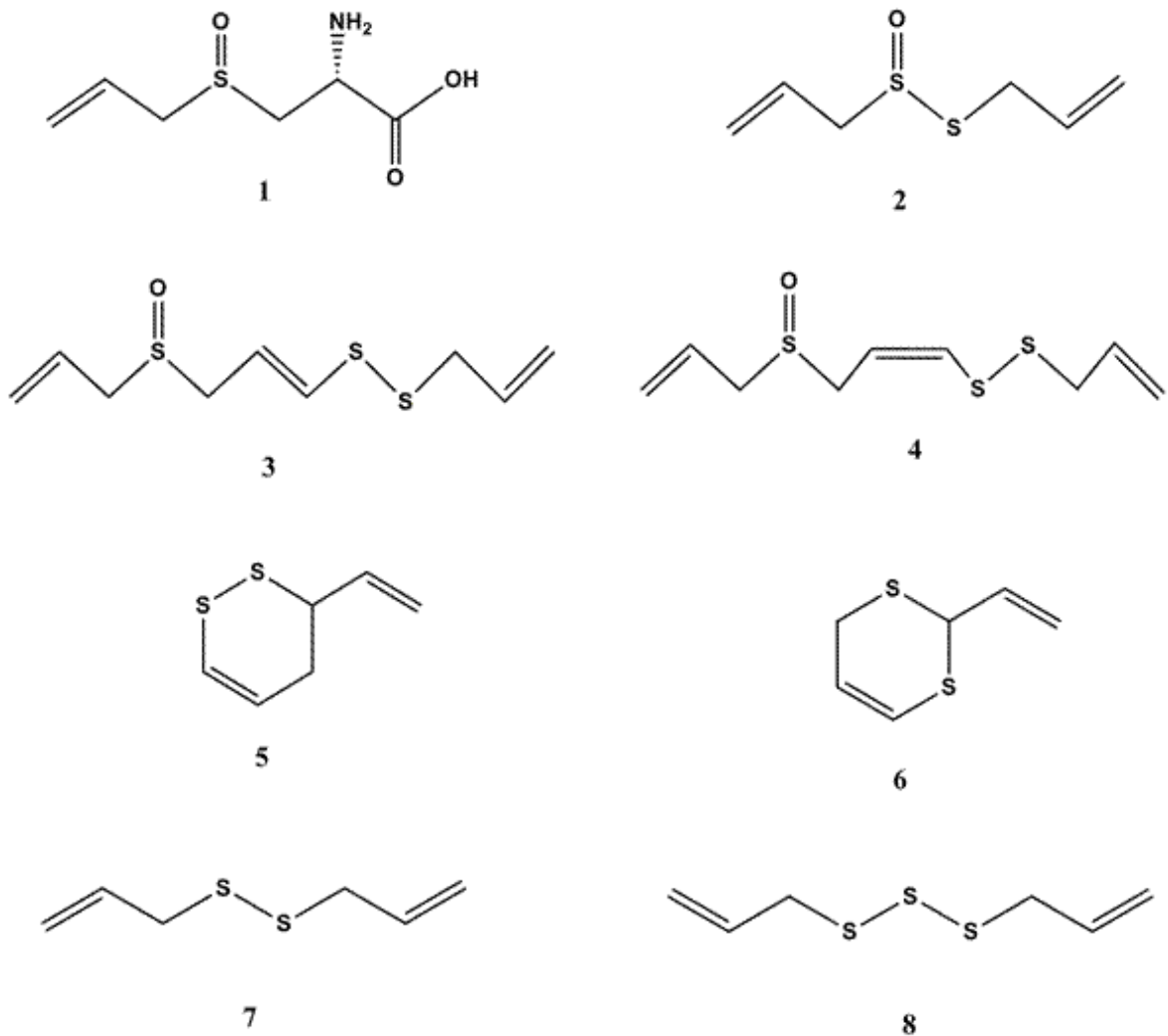


Figura 5 - Constituintes químicos presentes em *A. sativum*. (1) alliina, (2) alicina, (3) *E*-ajoeno, (4) *Z*-ajoeno, (5) 2-vinil-(4H)-1,3-ditiina, (6) 3-venil-(4H)-1,2-ditiina, (7) dissulfeto de dialila e (8) trissulfeto de dialila. Fonte: Schafer (31).

3.2 DERIVADO VEGETAL

3.2.1 *Descrição*

Extrato seco de alho contendo no mínimo 4,0% de allina (18).

Extrato fluido (1:1, razão droga vegetal/solvente) contendo no mínimo 0,05% de allina (18).

3.2.2 *Método de obtenção*

Extração dos bulbilhos de alho fresco com álcool. A relação material vegetal e extrato seco é entre 9,5:1 e 13,5:1, de acordo com a monografia de extrato seco de alho da FA (2012) (18).

3.2.3 *Caracteres organolépticos*

Dado não encontrado nas referências pesquisadas.

3.2.4 *Requisitos de pureza*

3.2.4.1 *Perfil de contaminantes comuns*

Dado não encontrado nas referências pesquisadas.

3.2.4.2 *Microbiológico*

A FA (18) estabelece, na monografia do extrato seco de alho, os valores de limites máximos para a contagem total de bactérias aeróbicas de 10^4 UFC/ g e para a contagem total de fungos e leveduras de 10^3 UFC/ g.

3.2.4.3 *Teor de umidade*

No máximo 5% para extrato seco (18).

3.2.4.4 *Metal pesado*

Limite máximo de 10 ppm para chumbo no extrato seco de alho, conforme o método descrito na FA (18).

3.2.4.5 *Resíduos químicos*

A monografia do extrato seco de alho da FA (18) apresenta como parâmetro de qualidade a análise de resíduos de pesticidas que deve ser realizado conforme seus métodos gerais. A FA (18) utiliza técnicas cromatográficas para identificação e quantificação de pesticidas e alguns limites estabelecidos são: azinfos-metil 1,0 mg/ Kg; clorpirifós 0,2 mg/ Kg; diclorvos 1,0 mg/ Kg, etion 2,0 0 mg/ Kg; fonofos 0,05 mg/ Kg; parations 0,5 mg/ Kg; paration-metil 0,2 mg/ Kg; fosalone 0,1 mg/ Kg; pirimifós-metil 4,0 mg/ Kg.

3.2.5 **Testes físico-químicos**

Outro parâmetro que pode ser utilizado para análise do extrato seco de alho é a determinação quantitativa de álcool, conforme o método da FA (18), que deve apresentar o limite máximo de 0,5%. De acordo com a FA, a quantificação do álcool deve ser realizada através de Cromatografia com Fase Gasosa com detector de Ionização de Chama (CG-FID), utilizando Hélio como gás de arraste, coluna cromatográfica do tipo S3 com diâmetro de 4,0 mm e comprimento de 1,8 m e acetronitrila como padrão interno. As temperaturas utilizadas são: 210 °C para o injetor, 120 °C constante para a coluna e 210 °C para o detector.

3.2.6 **Prospecção fitoquímica**

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

3.2.7 **Testes de identificação**

O teste de identificação dos principais marcadores químicos, presentes no extrato seco de alho, pode ser realizado através da análise do perfil cromatográfico obtido por CCD, de acordo com a técnica descrita na FA (18). Para preparar a solução amostra é necessário misturar uma quantidade de extrato seco correspondente a 5mg de allina com 40 mL de metanol e água (1:1), agitar, centrifugar e retirar o sobrenante que deve ter o volume reduzido para

aproximadamente 5 mL, utilizando evaporador rotatório. A solução padrão, a fase móvel, o volume de aplicação e os demais procedimentos são semelhantes aos utilizados para a droga vegetal descrito no item 3.1.6.

3.2.8 Testes de quantificação

3.2.8.1 Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não

Para o extrato seco de alho, a análise de teor é realizada através da quantificação da allina, após reação de derivatização, seguido de análise por CLAE, contendo, no mínimo, 0,45% de alicina (18). Este método apresenta fase móvel constituída de tampão fosfato 0,045 M, acetonitrila, 1-4 dioxano e tetrahydrofurano (69,9: 25,0: 2,9: 2,2), solução padrão de allina (0,05 mg/ mL, coluna cromatográfica L1 (1,0 mm x 10,0 cm), fluxo 1,0 mL/ min, solução de derivatização contendo o-ftalaldeído, butiltiol e tampão fosfato. Para o preparo da solução amostra, é necessário diluir 0,10 g do extrato seco de alho com solução hemi-hidrocloreto de carboximetoxilamina 0,01M até a concentração final de 0,001g/ mL. Em seguida, adicionar 0,5 mL da solução de derivatização a 0,1mL da solução amostra e permitir a reação durante o mínimo de 2 minutos.

Entretanto, a concentração de substâncias organosulfuradas de derivados do alho varia de acordo com a técnica de extração utilizada (destilação, maceração), tipo de solvente e temperatura, produzindo uma variação de conteúdo (em microgramas por grama da preparação de alho) na faixa de: 20-240 de sulfeto de dialila; 280-900 dissulfeto de dialila; 40-200 de trissulfeto de dialila e 130-480 de *E/Z*-ajoeno (34, 35).

Fehrest Sani e colaboradores (2012) (36) quantificaram algumas classes químicas no extrato seco de alho, obtido através de extração por Soxhlet durante 72 h, utilizando 200 g de bulbilhos secos e 300 mL de metanol 80%. Após a evaporação do solvente, o teor de fenólicos totais foi determinado através do método de Folin-Ciocalteu e a determinação de flavonoides pelo método de análise orgânica de Allen's. Os alcaloides foram determinados pelo método de Henry e os glicosídeos foram quantificados através do método da Comissão Analítica da Sociedade Real de Química. A quantificação dos glicosídeos é realizada através da adição de clorofórmio ao extrato de alho, seguido de agitação em vortex durante 1 h, após filtração, são adicionados piridina e nitroprussiato de sódio ao filtrado e agitação por 10 min. Em seguida, é adicionado 3,0 mL de solução de NaOH 20% para obtenção de coloração amarelo acastanhado. A solução padrão de glicosídeos deve ser preparada na faixa de concentração de 0 a 5 mg/ mL

e submetidas aos mesmos procedimentos de preparação da amostra. As aborbâncias das soluções padrão e amostra são obtidas no espectrofotômetro em 510 nm. O método de Brunner foi utilizado para a determinação das saponinas e o método de Strumeyer Malin para os taninos. Em seguida, os autores obtiveram os seguintes resultados: conteúdo de alcalóides de 3,49%, de glicosídeos de 18,02% e de saponinas de 0,81% e fenólicos totais de 4,27 mg equivalentes em ácido gálico/g em relação ao peso seco do material vegetal.

O extrato oleoso, obtido após a trituração dos bulbos de alho com óleo de soja, foi submetido à extração com acetonitrila e quantificado por CLAE-UV, utilizando uma coluna do tipo C18. O componente majoritário descrito foi o 2-vinil-(4H)-1,3-ditiina (435 $\mu\text{g/g}$), dentre outros característicos como *E/Z*-ajoeno (105 $\mu\text{g/g}$) (37).

Galduróz e colaboradores (2007) (38) analisaram através de Cromatografia Gasosa (CG) o extrato oleoso de alho obtido após a trituração dos bulbos com óleo vegetal, repouso durante 24 h e remoção dos resíduos. Entretanto, os autores não descreveram nenhuma informação sobre as condições cromatográficas, mas relataram as presenças de sulfeto de dialila 1,2%, sulfeto de metil-alila 4,2%, dissulfeto de dialila 21,5%, trissulfeto de metil-alila 8,8%, tetrassulfeto de dialila 5,0%, e 3-vinil-1,2-ditiina 5,3%.

O óleo volátil extraído dos bulbos apresentou o rendimento de 0,1 a 0,36% (26). Lawson e colaboradores (1992) (37) determinaram a composição química do óleo essencial de *A. sativum* e descreveram o dissulfeto de dietila como componente majoritário (1,140 $\mu\text{g/mL}$), dentre outros constituintes principais como sulfetos de dialquila (4.600 $\mu\text{g/g}$). Os autores realizaram a identificação e a quantificação das substâncias organosulfuradas, foram realizadas através de CLAE, utilizando coluna cromatográfica do tipo C18 e fase móvel constituída de metanol e água (1:1) e detecção em 240 nm. Lee e colaboradores (2003) (35) também relataram o dissulfeto de dialila (58%) como componente majoritário do óleo volátil obtido de alho. Esta quantificação foi realizada através de CG-EM, utilizando coluna SPB-5 (60 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm), programação de temperatura do forno de 50 °C (3 min) a 5 °C/min para 240 °C (10 min), temperatura do injetor de 250 °C, o gás de arraste foi o Hélio (fluxo de 1,0 mL/min). Os espectros de massas obtidos foram comparados com aqueles armazenados na biblioteca de espectros de massas NIST (National Institute of Standards and Technology).

O extrato hidroalcolico (etanol 15-20%), obtido por maceração durante o período de 20 meses em temperatura ambiente, foi analisado (39) e identificou-se a S-alil-cisteína como substância organosulfurada solúvel em água majoritária, na concentração de 1,47 g/L.

3.3 PRODUTO FINAL

3.3.1 Forma farmacêutica

Comprimido de liberação prolongada de alho em pó ou extrato seco de alho contendo um mínimo de 90,0% e um máximo de 140% de alliina e o mínimo de 90,0% e o máximo de 140% de alicina das respectivas quantidades declaradas, conforme monografia da FA (18).

Comprimidos de alho com revestimento entérico contendo alicina no valor de 4,9 mg/g e o total de tiosulfatos no valor de 6,7 mg/g (40).

Cápsulas gelatinosas com revestimento entérico, contendo a mistura de alho em pó e extrato oleoso de alho contendo alicina na concentração de 0,36 mg/g a 3,05 mg/g (37).

3.3.2 Testes específicos por forma farmacêutica

Os testes específicos para os comprimidos de liberação controlada contendo alho, de acordo com a monografia presente na FA (18), denominados testes de *performance*, englobam o teste de liberação de alicina, realizado através da determinação da dissolução, após 60 minutos sob aparelhagem específica, e o teste de variação de peso, conforme descrito em métodos gerais do referido compêndio oficial.

3.3.3 Requisitos de pureza

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

3.3.4 Resíduos químicos

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

3.3.5 Prospecção fitoquímica

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

3.3.6 Testes de identificação

Os comprimidos de liberação prolongada contendo alho em pó ou extrato seco de alho podem ser submetidos ao teste de identificação dos principais marcadores químicos de *A.*

sativum, por meio de análise do perfil cromatográfico por CCD ou por CLAE-UV, de acordo com as técnicas descritas na monografia presente na FA (18).

3.3.7 Testes de quantificação

3.3.7.1 Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não

O teor dos comprimidos de liberação prolongada contendo alho em pó ou extrato seco de alho é determinado por meio da quantificação de alliina, após reação de derivatização, seguido de análise por CLAE, contendo no mínimo 90,0% e no máximo 140% de alliina do valor rotulado. O doseamento da alicina pode ser realizado por meio da reação entre a enzima alinase e a alliina, originando a alicina que é quantificada por CLAE-UV, cujo conteúdo deve estar entre 90,0% e 140% da quantidade de alicina declarada (18).

Lawson e colaboradores (1992) (37) avaliaram diferentes comprimidos de alho disponíveis no comércio. Para tal, quantificaram os principais constituintes químicos por meio de CLAE-UV, utilizando uma coluna do tipo C18. Em seguida, observaram uma grande variação de conteúdo destes constituintes, destacando a alicina entre 0,16 a 3,6 mg/ g e outros tiosulfinaos na faixa de 0,03 a 1,26 mg/ g. Neste estudo, foram avaliadas também duas amostras comerciais de cápsulas gelatinosas com revestimento entérico, contendo a mistura de alho em pó e extrato oleoso de alho. As cápsulas apresentaram uma ampla variação de conteúdo, principalmente a alicina, presente em uma amostra na concentração de 0,36 mg/ g e na amostra com valor de 3,05 mg/ g. Em outro estudo, Lawson e Wang (2005) (40) analisaram comprimidos de alho com revestimento entérico por CLAE-UV e relataram o conteúdo de alicina no valor de 4,9 mg/ g e o total de tiosulfinaos no valor de 6,7 m/ g.

4 INFORMAÇÕES DE SEGURANÇA E EFICÁCIA

4.1 USOS POPULARES E/OU TRADICIONAIS

A. sativum é utilizado como adjuvante no tratamento da hiperlipidemia, na prevenção da aterosclerose e no tratamento da hipertensão moderada (8, 15, 41-44). Outros usos, descritos na medicina tradicional, incluem o tratamento de infecções do trato respiratório e diabetes (8, 15, 44-48).

4.2 PRESENÇA EM NORMATIVAS SANITÁRIAS BRASILEIRAS

A espécie *Allium sativum* foi incluída na listagem de drogas vegetais sujeitas à notificação por meio da RDC 10/2010 (49), que foi revogada pela Instrução Normativa número 02, de 13 de Maio de 2014 (50), na qual inclui *A. sativum* na listagem de medicamentos fitoterápicos de registro simplificado, apresentando as seguintes informações:

Nomenclatura botânica: *Allium sativum* L.

Nome popular: Alho.

Parte usada: Bulbo.

Padronização/Marcador: Alicina.

Derivado vegetal: Extratos/ óleo.

Indicações/Ações terapêuticas: Coadjuvante no tratamento da hiperlipidemia e hipertensão arterial leve a moderada, auxiliar na prevenção da aterosclerose.

Dose Diária: 3 a 5 mg de alicina.

Via de Administração: Oral.

Restrição de uso: Venda sem prescrição médica.

4.3 ESTUDOS NÃO-CLÍNICOS

4.3.1 Estudos toxicológicos

4.3.1.1 Toxicidade aguda

Bhanot e Shri (2010) (51) avaliaram a toxicidade aguda oral do extrato seco de alho, obtido por extração de 100 g de bulbilhos seco com metanol 80%, utilizando o aparato do tipo

Soxhlet, durante 72 horas. O estudo utilizou camundongos *Swiss* albino e o parâmetro observado foi morte após 24 horas. Não foi observado morte após 24 horas.

Em outro estudo, Hosseinzadeh e Sadati (2003) (52) determinaram a toxicidade aguda do extrato aquoso (10 g de alho em pó em 100 mL de água destilada) e do extrato metanólico (10 g de alho em pó em 100 mL de metanol 80%), obtidos por maceração durante três dias. Para tal, administraram os extratos, via intraperitoneal, três vezes ao dia, em camundongos *Swiss* albino que foram divididos em grupos de acordo com o tipo de extrato e concentração utilizada, variando de 0,2 g/ kg a 16,9 g/ kg (extrato aquoso) e 1,28 a 12,8 g/ kg (extrato metanólico). Após 48 horas, a dose mais elevada que não induziu nenhuma mortalidade foi considerada como sendo a dose máxima não fatal. Após o período de observação, não foi verificado morte dos animais.

4.3.1.2 Toxicidade subcrônica

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

4.3.1.3 Toxicidade crônica

Dixit e Joshi (1982) (53) administraram em ratos, via oral (gavagem), 50 mg de alho em pó/dia, durante 70 dias. Após 45 dias, foram observadas mudanças degenerativas e após 70 dias, lesões testiculares severas. A dose utilizada no referido estudo foi descrita como equivalente a ingestão diária de 20 g de extrato seco liofilizado de alho em uma pessoa de 60 kg.

Efeitos deletérios foram observados nos tecidos hepático e intestinal de Ratos *Wistar* machos, após o tratamento via oral (gavagem), durante oito semanas, utilizando doses acima de 0,5 g/ kg de extrato metanólico seco de alho, obtido por extração de alho fresco triturado e metanol (proporção de 1:3) em Soxhlet, durante 72 horas (54).

4.3.1.4 Genotoxicidade

Abraham e Kesavan (1984) (55) realizaram o estudo de genotoxicidade através do ensaio de micronúcleos em eritrócitos de camundongos, após 30 horas da administração oral de alho nas concentrações de 2,5; 5,0 e 7,5 g/ kg. No ensaio do micronúcleo não foram observados efeitos mutagênicos significativos nos eritrócitos analisados. Outro estudo foi conduzido por

Shouka e Taneja (2002) (56) com o extrato aquoso de alho, que foi submetido ao ensaio de “aberração cromossômica *in vivo*”, utilizando camundongos. Após cinco dias de administração oral do extrato (25 mg/ kg), os animais foram sacrificados nos tempos: 24 h e 48 h e os tecidos foram analisados quanto ao índice mitótico, incidência de células aberrantes (%), número de aberrações/células, supressão (%) de células aberrantes. O extrato aquoso de alho não induziu aberração cromossomal significativa, confirmando a não mutagenicidade e, portanto, não citotóxico. Mais recentemente, Queiroz (2010) (20) estudou o efeito do alho sobre a quebra e oxidação em bases do DNA das células hepáticas de hamsters. Após cinco semanas de alimentação diária enriquecida com alho (ração contendo 5%), os animais foram sacrificados e o tecido hepático foi analisado para determinação dos danos oxidativos através da análise das hélices de DNA por microscopia de fluorescência. Não foram observados danos estruturais ou funcionais no tecido hepático analisado.

Park e colaboradores (2009) (57) avaliaram o efeito antígenotóxico em leucócitos humanos de três tipos de extrato de alho ("envelhecido", "fresco" e "aquecido"), através de dois métodos de indução de danos ao DNA, utilizando H₂O₂ e HNE (4-hidroxinonenal). Os resultados descritos demonstraram que todos os extratos de alho avaliados apresentaram efeito antígenotóxico nos linfócitos humanos, sendo este efeito intenso e notável na concentração 50 µg/ mL para todos os extratos, em ambos os métodos utilizados de indução de danos ao DNA.

4.3.1.5 Sensibilização dérmica

A avaliação da sensibilidade dérmica ao alho de sete voluntários sadios foi realizada por meio do teste Patch (teste de contato). Para tal, o extrato aquoso e o extrato etanólico de alho (8% e 10%) foram colocados em contato com a pele durante 48 h. Após este período, foi avaliada a presença ou não de sensibilidade dérmica e a respectiva intensidade (forte, fraca e irritante). Todos os voluntários apresentaram sensibilidade dérmica ao extrato etanólico de alho (8% e 10%). Entretanto, o extrato aquoso de alho não provocou sensibilidade dérmica significativa nos voluntários analisados (58).

4.3.1.6 Irritação cutânea

Foi realizado teste epicutâneo com o extrato aquoso e o extrato etanólico de alho (2% e 10%) em animais, que foram divididos em grupos de acordo com o tipo e a concentração do extrato (58). Após a injeção intradérmica dos extratos, durante cinco dias para o extrato aquoso

e três dias para o extrato etanólico, os animais ficaram em repouso durante duas semanas. Em seguida, foram submetidos ao teste epicutâneo, no qual foi avaliada a intensidade de reação da pele e biópsia. Os animais apresentaram alterações típicas de reação alérgica como vesícula subcórnea e vesícula dermal, inflamação e infiltração moderada de linfócitos, demonstrando sensibilidade ao extrato aquoso de alho. Os animais (porco guinea) não apresentaram reação alérgica ao extrato etanólico 2%, mas reagiram com o extrato etanólico 10%.

4.3.1.7 Irritação ocular

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

4.3.2 Estudos farmacológicos

4.3.2.1 Ensaios *in vitro*

4.3.2.1.1 Atividade antimicrobiana

A atividade antifúngica do extrato aquoso dos bulbilhos de alho foi avaliada por meio do método de diluição em ágar (59), frente à *Malassezia furfur* (25 cepas), *Candida albicans* (18 cepas) e *Candida* sp. (12 cepas). A concentração do extrato aquoso utilizada foi na faixa de 0,0019-128 µg/ µL. Os valores da Concentração Inibitória Mínima (CIM) mostraram a susceptibilidade de todos os fungos testados frente ao alho, em diferentes graus, dependendo dos gêneros e das espécies testadas de fungos. Em outro estudo (60), o óleo essencial dos bulbilhos de alho, obtido por hidrodestilação durante 5 horas, apresentou intensa inibição do crescimento de fungos dermatófitos (*Trichophyton rubrum*, *Trichophyton erinacei* e *Trichophyton soudanense*), com CIM de 64 µg/ mL, por meio do método de micro diluição em caldo.

A atividade antimicrobiana do extrato aquoso dos bulbilhos de alho fresco (25, 50, 75, 100 e 200 µL/ mL) foi avaliada frente às espécies bacterianas *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli* (61). O alho apresentou efeito bactericida para ambas as espécies, sendo este efeito proporcional à concentração e ao tempo de tratamento. O estudo relata que os constituintes "dialilo" contribuíram mais para o efeito antimicrobiano do que as substâncias fenólicas de acordo com as análises de Espectroscopia de Raman e mapeamento de Raman em bactérias individuais. A Microscopia Eletrônica de Varredura e Transmissão apresentou danos

na membrana celular coerentes com as observações espectroscópicas (61). Outro estudo (62) determinou a CIM através da técnica de macrodiluição em caldo para o extrato de alho, frente às duas cepas de *Mycobacterium tuberculosis*, suscetível e resistente à isoniazida. O extrato de alho apresentou CIM entre 80 e 160 µg/ mL para a cepa suscetível e entre 100 e 200 µg/ mL para a cepa resistente.

A atividade leishmanicida *in vitro* do extrato metanólico, obtido a partir de 1 kg de bulbilhos de alho/ 3 L de metanol, também foi avaliada (63). Após 48 horas de incubação da *Leishmania donovani* (amastigota e promastigota) na presença do extrato, foi calculada a concentração que provoca 50% de inibição (IC₅₀), utilizando uma curva dose-resposta. O extrato de alho apresentou atividade leishmanicida, com os valores de IC₅₀ de 89 e 67 µg/ mL, frente às formas promastigota e amastigota, respectivamente.

4.3.2.1.2 Atividade antioxidante

O potencial antioxidante dos extratos hidroalcoolicos das folhas e dos bulbilhos de alho, mantidos durante 20 meses ao abrigo de luz em atmosfera de nitrogênio para obtenção de extratos “envelhecidos”, foi descrito por Nencini e colaboradores (2011) (64). A atividade antioxidante *in vitro* foi avaliada através de dois ensaios espectrofotométricos: o teste do 2,2-difenilpicrihidrazila (DPPH) e o teste de redução férrica/potencial antioxidante (FRAP). Os extratos dos bulbos e das folhas (12,5 mg/ mL) apresentaram o percentual de inibição de 11,36% e 66,48% e valores de FRAP de 0,38 e 7,99 (µmol/ g), respectivamente. Estes resultados estão de acordo com aqueles descritos por Zakarova e colaboradores (2014) (65) que também observaram o efeito antioxidante maior para o extrato etanólico das folhas jovens ou brotos de alho, comparado com o bulbilho, utilizando os testes DPPH e ORAC. O efeito do processamento do alho na atividade antioxidante foi avaliado por Queiroz (20). Para tal, foram preparados os extratos de alho frito, fresco e cozido, separadamente, utilizando os seguintes solventes: água, metanol/água e acetona. Em seguida, a atividade antioxidante dos extratos foi avaliada através do método de ORAC. Os resultados apresentados demonstraram que o potencial antioxidante reduziu com o processamento do alho, sendo que a redução foi maior para a fritura.

4.3.2.1.3 Atividade antiplaquetária

Cavagnaro e colaboradores (2007) (66) avaliaram o efeito do processamento do alho na atividade antiplaquetária *in vitro*. Os bulbos de alho triturado e não triturado foram aquecidos

através de diferentes técnicas (forno, cozimento e microondas) e cada preparação foi analisada quanto às concentrações de alicina e piruvato e atividade antiplaquetária. Os resultados sugerem que (i) a alicina e os tiosulfatos são responsáveis pela resposta da atividade antiplaquetária; (ii) o esmagamento do alho antes do cozimento moderado pode reduzir a perda de atividade e (iii) a perda parcial do efeito antitrombótico do alho esmagado e cozido pode ser compensada pelo aumento da quantidade consumida. Em outro estudo realizado por Suboh e colaboradores (2004) (67), foi avaliado o efeito do alho em eritrócitos humanos. No estudo, a degradação de proteínas, a peroxidação lipídica, a deformidade eritrocitária e a fragilidade osmótica dos eritrócitos foram induzidas pela exposição *in vitro* das células ao H₂O₂ durante 60 min/37 °C. O efeito do alho nestes parâmetros foi avaliado através da pré-incubação dos eritrócitos com o extrato aquoso dos bulbos de alho obtido através de decoto de 1g de alho seco em pó/ 10 mL de água. O alho protegeu os eritrócitos da degradação de proteínas, da peroxidação lipídica e preveniu a perda de deformidade e melhorou fragilidade osmótica, causados pela exposição das células ao H₂O₂.

4.3.2.1.4 Atividade imuno-estimulante

Os bulbos de alho apresentam propriedades imuno-estimulantes relacionadas às proteínas imunomodulatórias que foram isoladas e caracterizadas como sendo as lectinas, de acordo com Clement e colaboradores (2010) (68). Neste estudo, foram avaliadas diferentes preparações de alho, obtidas a partir do alho fresco (aquoso, pH ácido, pH neutro), alho em pó e extrato comercial, quanto ao conteúdo de proteínas e atividade hemaglutinante. O extrato aquoso em pH neutro apresentou maior conteúdo de proteína, maior atividade de ligação a proteína e também atividade hemaglutinante. As lectinas do alho demonstraram estabilidade, capacidade de resistir à passagem gastrointestinal e reconhecimento pelo sistema imune após ingestão oral, e, portanto, promovendo a estimulação de anticorpos naturais no soro humano.

4.3.2.1.5 Atividade anti-inflamatória

Outros estudos descrevem a promoção de efeitos anti-inflamatórios pelo alho através da modulação de citocinas no sangue humano (69, 70). Hodge e colaboradores (2002) (69) estimularam as células mononucleares de sangue humano na presença de várias concentrações do extrato de alho. O efeito sobre a produção de citocinas de leucócitos foi determinado *in vitro*, utilizando citometria de fluxo. A produção de interleucinas IL-12 foi inibida na presença de

baixas concentrações do extrato de alho. O nível de IL-10 nos monócitos aumentou significativamente. Enquanto, o fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), IL-1, IL-6, IL-8 de monócitos e interferon-gama (IFN- γ), IL-2, e TNF- α de células T diminuíram significativamente na presença de extrato de alho. Houve um efeito aditivo na atividade inibidora da produção de citocinas por leucócitos pelo fármaco metilprednisolona com alho. Desta forma, o tratamento com extrato de alho pode apresentar efeitos benéficos para inflamação. Em outro estudo, (Keiss 2003) (70), foi demonstrado que o extrato seco dos bulbilhos de alho modula os níveis de citocinas induzidas por Lipopolissacarídeo (LPS) no sangue humano. O sangue de voluntários sadios foi coletado, diluído, adicionado LPS e o extrato em diferentes concentrações. O pré-tratamento com extrato (100 mg/ L) reduziu a produção induzida por LPS de citocinas pró-inflamatórias, interleucina (IL)-1 de 15,7 para 6,2 $\mu\text{g/ L}$ e o fator de necrose tumoral (TNF)- α de 8,8 para 3,9 $\mu\text{g/ L}$, respectivamente, ao passo que a expressão da citocina anti-inflamatória IL-10 não foi alterada. O alho promove um ambiente anti-inflamatório pela modulação de citocinas no sangue humano.

4.3.2.2 *Ensaio in vivo*

4.3.2.2.1 *Atividade hipolipidêmica*

A atividade hipolipidêmica do alho *in vivo* foi descrita por vários estudos (20, 71-74). Augusti e colaboradores (2001) (71, 72), submeteram ratos albinos adultos (*Sprague Dawley Strain*) à dieta hiperlipídica. Os animais foram divididos em grupos, tratado com alho (ração contendo 5% de alho triturado seco), não tratado e controle (dieta balanceada). Após os períodos de tratamento (um mês e dois meses) utilizados, os animais foram sacrificados, o sangue coletado e os tecidos do fígado, coração e rins foram separados para determinação dos parâmetros lipídicos e enzimáticos. A incorporação de 5% de alho na alimentação provocou a diminuição dos parâmetros lipídicos, da peroxidação e das alterações nas atividades enzimáticas. Estes resultados mostram que o alho contém alguns constituintes químicos que neutralizam a aterogenicidade dos óleos utilizados na alimentação. Em outro estudo, foi avaliado o efeito do processamento do alho no perfil lipídico plasmático de hamsters (*Mesocricetus auratus*), após a ingestão oral de ração contendo 5% de alho (cru, cozido e frito), durante cinco semanas. O alho cru e cozido foram eficazes na redução de lipídios no plasma dos hamsters. O potencial antioxidante, avaliado pelo teste ORAC, dos grupos hipercolesterolemizados suplementados com alho cru ou cozido apresentaram valores

superiores em relação ao grupo hipercolesterolemizado não suplementado. Houve aumento da atividade das enzimas antioxidantes (catalase, glutathione peroxidase e superóxido dismutase) para todos os grupos suplementados com alho. Os resultados sugerem que o alho cru e cozido podem ocasionar benefícios à saúde, pois possuem efeito hipolipemiante e apresentaram alto potencial antioxidante (20). Heidarian e colaboradores (2011) (74) avaliaram o efeito da ingestão oral de pellets contendo 4% de alho fresco triturado nos níveis de lipídeos e antioxidantes plasmáticos de ratos *Wistar* machos submetidos à dieta a normal ou hiperlipidêmica. Os animais foram divididos em grupos de acordo com o tipo de alimentação. O alho reduziu significativamente os níveis plasmáticos de colesterol total, triglicerídeos (no plasma e no fígado), LDL, VLDL, malondialdeído e elevou os níveis de antioxidantes nos grupos tratados com alho, comparados ao grupo hiperlipidêmico. O alho apresentou efeitos benéficos ao reduzir os efeitos colaterais da hiperlipidemia. No estudo de Eidi e colaboradores (2006) (73), foi realizada a administração oral de extrato seco dos bulbilhos de alho (100 g/ 300 mL etanol 80% por Soxhlet durante 72 h) em ratos *Wistar* machos normais e diabéticos (induzido por estreptozotocina), nas doses de 0,1; 0,25 e 0,5 g/kg/dia, durante 14 dias. Após o período de tratamento, o sangue foi coletado para as análises laboratoriais. A administração oral do alho diminuiu significativamente a glicemia, o colesterol total, os triglicerídeos, a uréia, o ácido úrico, a creatinina, os níveis de aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase e aumentou o nível de insulina sérica em ratos diabéticos (não observados nos ratos normais). O extrato de alho mostrou-se mais eficaz que o fármaco glibenclamida usado para o tratamento da diabete.

4.3.2.2.2 Atividade antitrombótica

Bordia e colaboradores (1996) avaliaram a capacidade do alho como agente antitrombótico (75) em ratos *Sprague-Dawley* fêmeas. No estudo, foram utilizadas duas formas de preparação do extrato aquoso, com e sem aquecimento do material vegetal fresco. As doses de 50 e 500 mg/ kg corporal foram utilizadas por via oral e intraperitoneal, durante o período de tratamento de quatro semanas. Os animais foram divididos em grupo de acordo com o tipo de extrato, dose utilizada e via de administração. Os níveis plasmáticos de tromboxano-2 (TBX-2) foram avaliados em cada grupo. Os grupos tratados com alho diminuíram os níveis plasmáticos de TBX-2, independente da via de administração, especialmente o extrato aquoso não aquecido (dose 50 mg/ kg) que apresentou 24,7 ng/ mL de TBX-2, comparado ao grupo

não tratado com 65,0 ng/ mL de TBX-2. O aquecimento do alho para preparação do extrato apresentou um efeito pequeno no nível plasmático de TBX-2.

4.3.2.2.3 Atividade cardiovascular

Os efeitos cardiovasculares do alho foram avaliados por Santiago e colaboradores (2009) (76) em ratos *Wistar*. Os animais foram tratados, previamente e após a indução do infarto, com homogeneizado de alho na dose de 125 mg/Kg/dia, durante 21 dias, por via oral (uma semana antes e duas depois do procedimento de infarto). Os resultados demonstraram que *A. sativum* reduziu a área infartada e normalizou os parâmetros hemodinâmicos e estruturais nos ratos infartados. Portanto, houve redução do número de mortes pós-infarto e melhoria no perfil cardiovascular nos animais.

4.3.2.2.4 Atividade anti-hipertensiva

A atividade anti-hipertensiva do alho foi demonstrada por vários estudos (77-83). Gazola e colaboradores (2002) (78) estudaram os efeitos do extrato hidroalcoólico de bulbos de alho sobre a pressão arterial média de ratos anestesiados. O extrato de alho, nas doses de 0,25 mg, 0,5 mg e 1,0 mg, em volume de 0,1 mL, foi administrado na jugular de *Rattus norvegicus* anestesiados e a pressão arterial média (PAM) foi registrada no tempo zero (controle) e 15, 30, 60, 120, 240 e 300 segundos após aplicação dos extratos. O alho promoveu a redução da PAM, nas doses de 0,5 e 1,0 mg, efeito este dose dependente. Estes resultados concordam com aqueles obtidos por Singi e colaboradores (2005) (79), que observaram a diminuição da pressão arterial média de 124 mmHg para 108 mmHg aos 15s, provocada pelo extrato hidroalcoólico dos bulbos de *A. sativum* em *Rattus norvegicus albinus*, após a administração endovenosa de 2,0 mL (0,5 mg/ mL) do extrato seco em solução salina. Em outro estudo, conduzido por Brankovic (2011) (82), também foi observado o efeito hipotensor do extrato hidroalcoólico dos bulbos de alho, em ratos *Wistar* albinos machos, após a administração endovenosa de 0,2-6 mg/ kg, em intervalos de 15 min, totalizando 30 min. Neste estudo, os valores de PAM foram 48,36 e 96,45 (mm Hg) para o grupo tratado com alho e não tratado, respectivamente. Houve diminuição da taxa de batimentos cardíacos por minuto, o grupo tratado com alho e não tratado apresentaram valores de 196 e 293 (batimentos/min), respectivamente. O alho apresentou efeitos hipotensores e bradicárdicos, reversíveis e dose dependente. Em relação ao efeito hipotensor do alho por via oral, Al-Qattan e colaboradores

(1999) (77), avaliaram o efeito de 0,5 ml de extrato aquoso de alho (50 mg/kg corporal) na pressão sanguínea de ratos *Sprague-Dawley*, em dose única e em doses múltiplas, a curto prazo (0,5, 2, 6, 24 e 48 h) e a longo prazo (1 vez/dia durante quatro semanas). A dose única de alho utilizada apresentou efeito anti-hipertensivo máximo 2-6 horas após a administração, cujos valores da pressão sanguínea sistólica foram 117 e 140 (mm Hg) para o grupo tratado com alho e não tratado, respectivamente. O efeito residual desta dose única foi continuado durante e até 24 h. A dose múltipla de alho mostrou-se eficaz em evitar o aumento esperado da pressão sanguínea nos ratos. Quanto ao efeito hipotensivo do alho em ratos hipertensos durante um período maior de tratamento (oito semanas), foi observado por Han e colaboradores (2011) (81), após administração oral do alho em pó, utilizando doses de 30 e 50 mg/kg suspenso em água, 1 vez/dia. A pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD) dos ratos foram medidas a cada duas semanas. O alho diminuiu significativamente a PAS e a PAD dos ratos hipertensos nas duas doses utilizadas. Os valores médios da PAS para o grupo não tratado e os dois grupos tratados (30 e 50 mg/ kg) foram 194,5; 190,9 e 191,1 mmHg, respectivamente, e o valor médio correspondente da PAD foram 169,2; 164,8 e 166,3 mmHg, respectivamente. Este efeito não foi dose dependente, mas foi estatisticamente significativa, exceto a PAD na dose de 50 mg/ Kg nas 4 e 6 semanas, comparado ao controle. Outros estudos avaliaram o efeito do alho nas complicações vasculares da diabetes mellitus (80, 83). O estudo conduzido por Hosseini e colaboradores (2007) (80), avaliou o efeito da administração intraperitoneal (1 vez/ dia) de 100 mg/ kg corporal de extrato aquoso dos bulbos de alho sobre a atividade sérica da enzima conversora de angiotensina (ECA), em ratos diabéticos (induzido por estreptozotocina) e não diabéticos. O nível de glicose sanguínea e a atividade da enzima conversora de angiotensina foram medidas 48 h, quatro e oito semanas após o tratamento. A administração do extrato de alho não teve efeito significativo sobre a glicemia, mas diminuiu significativamente a atividade da ECA. A atividade da ECA foi maior em ratos diabéticos comparados aos não diabéticos, mas em animais diabéticos tratados com extrato de alho, a elevação da atividade da ECA não ocorreu, assim sugerindo o valor do alho como inibidor da ECA para evitar algumas complicações vasculares da diabetes mellitus. Em outro estudo, o efeito do extrato aquoso dos bulbos de alho fresco (contendo 12,8 mg/ mL de alicina) foi avaliado em ratos diabéticos hipertensos, após a administração oral (1 vez/ dia) de 8 mg de alicina/ kg corporal, durante oito semanas, período no qual foi avaliado a pressão arterial e o nível de glicose no sangue a cada semana. Os resultados indicaram que o extrato aquoso de alho rico em alicina é eficaz no tratamento da hipertensão diabética. (83).

4.3.2.3 Ensaaios *ex vivo*

O efeito do alho nas alterações funcionais do sistema cardiovascular foi avaliado através da reatividade vascular da aorta isolada de ratos com diabetes induzida, após o tratamento (via intraperitoneal, dose 100 mg/Kg/dia) com extrato aquoso de alho (100 g alho em pó/ 100 mL de solução salina estéril), durante quatro e oito semanas. As aortas isoladas dos ratos apresentaram respostas contráteis atenuadas após o tratamento com o extrato de alho (84). Em outro estudo, também foi descrito a inibição da contração vascular pelo alho. Para tal, foi investigado o efeito de dois extratos secos, um preparado a partir de bulbilhos de alho fresco (13,5 kg alho/ 25,0 L de metanol) e outro com bulbilhos de alho congelado (13,5 kg alho/ 25,0 L de metanol) e as respectivas respostas na contração dos vasos *in vitro*. Os resultados demonstraram que houve inibição da contração vascular pelo alho de forma dose-dependente (85).

Em outros estudos, foi avaliado o efeito do alho na isquemia cardíaca (86, 87). Bhatti e colaboradores (2008) (86) utilizaram corações isolados de ratos *Wistar albino* para avaliar o efeito do extrato de alho (obtido de 50 g de alho em 1 L de etanol 95%) no pré-condicionamento isquêmico e na reperfusão isquêmica induzida por lesão cardíaca. O estudo demonstrou que o alho apresenta uma proteção cardíaca e também protege o miocárdio contra a reperfusão isquêmica induzida pela lesão cardíaca. Estes resultados foram confirmados pelo trabalho de Sharma e colaboradores (2012)(87), que também descreveram o efeito cardioprotetor do extrato aquoso dos bulbilhos de alho em corações isolados de ratos.

4.4 ESTUDOS CLÍNICOS

4.4.1 Fase I

4.4.1.1 Atividade hipolipidêmica

O efeito do alho no perfil lipídico sanguíneo (colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL e triglicerídeos) foi avaliado por meio de vários estudos (88-91). O óleo essencial de alho foi avaliado em 20 voluntários que administraram via oral o equivalente a 1 g de alho fresco/ Kg corporal, durante três meses. O sangue dos voluntários foi coletado para análise dos níveis de colesterol total, HDL, LDL e triglicerídeos. Os níveis de colesterol total e triglicerídeos, de 14 voluntários dos 20, diminuíram em média de 16% e ambos os parâmetros

retornaram aos níveis originais, após dois meses do término do tratamento com alho. Depois de três meses de tratamento, o nível de HDL aumentou 31% e LDL diminuiu 7,5%. No estudo randomizado, duplo cego e controlado com placebo, realizado por Rotzsch e colaboradores (1992) (89), foi analisado o efeito da administração de 900 mg/ dia de extrato seco de alho na forma de drágeas (contendo 300 mg de extrato seco de alho/ drágea), durante 43 dias, em 46 voluntários sadios. O sangue dos voluntários foi coletado para análise dos parâmetros estudados (níveis de HDL e triglicerídeos). O grupo alho apresentou uma redução significativa ($p < 0,05$) dos níveis de triglicerídeos e aumento nos níveis de HDL, quando comparado ao grupo placebo. Em outro estudo, Munday e colaboradores (1999) (90), analisaram a susceptibilidade do LDL a oxidação, em sete voluntários submetidos à suplementação diária com alho (6,0 g bulbilhos frescos ou 2,4 g de extrato) durante sete dias. As amostras de sangue de cada voluntário em jejum foram coletadas no início e no final do tratamento para determinação da concentração de lipoproteínas do plasma e do perfil de oxidação do LDL. O LDL isolado dos indivíduos tratados com extrato de alho, mas não com alho fresco, foi significativamente ($p < 0,001$) mais resistente à oxidação em comparação com os indivíduos não tratados, apresentando o tempo médio de oxidação do LDL de 138 min, comparado aos 89 min do grupo não tratado. Os autores sugerem que o extrato de alho pode ser útil na prevenção de doença aterosclerótica.

Entretanto, no estudo conduzido por Turner e outros (2004) (91), randomizado, duplo cego e controlado com placebo, o alho não apresentou efeitos biológicos significativos. Neste estudo, os 62 voluntários sadios foram divididos em dois grupos (alho e placebo) que receberam comprimidos de alho (contendo 230 mg de extrato seco/ 5,4 mg de alicina) e placebo, respectivamente, duas vezes ao dia, durante 12 semanas. As amostras de sangue dos voluntários em jejum foram coletadas e analisadas quanto aos seguintes parâmetros: colesterol total, LDL, HDL e triglicerídeos. A pressão arterial e a rigidez arterial também foram avaliadas. Os resultados não apresentaram diferenças significativas entre os grupos para os parâmetros avaliados, exceto a redução de 12% para os níveis de triglicerídeos. Em outro estudo, realizado por Gadkari e Joshi (1991) (92), foi analisado o efeito do alho sobre o nível de colesterol sérico, a atividade fibrinolítica e o tempo de coagulação sanguínea em 50 estudantes que foram divididos em dois grupos, o experimental ($n=30$) e o controle ($n=20$). O grupo experimental recebeu 10 g de alho/ dia, via oral, após o café da manhã, durante dois meses. As amostras de sangue dos participantes em jejum foram avaliadas após dois meses do tratamento. No grupo controle, não houve mudança significativa em nenhum dos parâmetros avaliados. No grupo experimental, verificou-se uma diminuição significativa nos níveis de colesterol e um aumento no tempo de coagulação e atividade fibrinolítica. Assim, os autores sugerem o alho como um

agente útil na prevenção de fenômenos tromboembólicos. Outro trabalho (93), descreve o efeito do alho na elasticidade da aorta. Para tal, um grupo (n=101) contendo adultos saudáveis de ambos os sexos, com idade entre 50 e 80 anos, recebeu 300 mg de extrato seco de alho por dia, durante dois anos e comparado com outro grupo não tratado (n=101). A elasticidade da aorta do grupo tratado e controle foi medida pela velocidade da onda de pulso e elásticos de resistência vascular. Os resultados indicam que a ingestão prolongada de alho em pó ajuda a reduzir a progressiva falta de estabilidade ao longo do tempo que ocorre na parede da aorta.

4.4.1.2 Atividade antioxidante

O efeito antioxidante do alho em seres humanos foi descrito em alguns trabalhos (94, 95). O estudo conduzido por Grune e colaboradores (1996)(94) analisou o efeito do tratamento com comprimidos de alho (900 mg de extrato seco com 1,3% allina ou 0.6% alicina/dia), durante dois meses, em 25 voluntários saudáveis. As amostras de sangue dos voluntários em jejum de 12 horas foram coletadas no início do tratamento, depois de três, seis e nove semanas para análise laboratorial dos níveis séricos de malondialdeído e glutathiona reduzida e oxidada. Houve uma redução de 63% do nível sérico inicial de malondialdeído, após o tratamento com alho. A concentração de eritrócitos humanos circulantes (glutathiona reduzida) aumentou, após o período de tratamento de dois meses com comprimidos de alho, enquanto a concentração de glutathiona oxidada não mostrou alterações significativas durante todo o período estudado. O alho contido na preparação padronizada e estudada apresentou atividade antioxidante em seres humanos. No estudo de Avci e colaboradores (2008) (95), o total de 13 indivíduos (idade média de 71 anos) ingeriu alho na dose diária de 0,1 g/ kg de peso corporal durante um mês. Antes e após este período, as amostras de sangue em jejum foram obtidas para avaliação dos eritrócitos por meio dos seguintes parâmetros: oxidante [malondialdeído (MDA) e xantina oxidase (XO)] e antioxidante [superóxido dismutase (SOD), glutathiona peroxidase (GSH-Px) e catalase (CAT)]. Os níveis de MDA foram reduzidos significativamente, mas a atividade de SOD e GSH-Px de eritrócitos foi elevada significativamente, após o tratamento com alho. A atividade de XO foi reduzida, mas não foi estatisticamente significativa. O colesterol LDL foi reduzido significativamente pós o tratamento com alho. Logo, a ingestão de alho leva a redução significativa dos níveis plasmáticos e eritrocitários de MDA e ao aumento das atividades de algumas enzimas antioxidantes, indicando que o consumo de alho diminui as reações de oxidação.

4.4.2 Fase II

Estudos descrevem o efeito do alho no perfil lipídico sanguíneo (colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL e triglicerídeos) de pacientes hipercolesterolêmicos (96-112). A maioria dos estudos descreve a redução dos níveis lipídicos de pacientes com hipercolesterolemia, após o tratamento com alho (96-107). Entretanto, há estudos que descrevem um efeito não significativo do alho no perfil lipídico de pacientes hipercolesterolêmicos (108-112). A inconsistência dos resultados descritos na literatura científica pode estar correlacionada com a diversidade da composição química das diferentes preparações utilizadas contendo alho. Outros fatores podem também estar correlacionados, como o modo de execução dos ensaios clínicos, tais como: modo de recrutamento dos indivíduos, duração do estudo, controle da dieta, estilo de vida e métodos de análises de lipídeos.

4.4.2.1 Atividade hipolipidêmica

Ernst e colaboradores (96) avaliaram o efeito da ingestão oral de cápsulas contendo 600 mg de extrato seco de alho sobre os níveis lipídicos sanguíneos. Para tal, o total de 20 pacientes com nível alto de colesterol (> 260 mg/ 100 mL) e dieta hipocalórica (800-2500 kcal/dia) foram divididos em dois, controle (n=10) e alho (n=10). Os valores de lipídios no sangue foram medidos antes e depois de duas e quatro semanas de tratamento. A redução média do colesterol foi de cerca de 10% ($p < 0,0001$) no grupo alho. As concentrações de triglicerídeos e LDL diminuíram significativamente ($p < 0,0001$) no grupo alho. O HDL permaneceu constante em ambos os grupos. A viscosidade do plasma apresentou uma queda significativa, apenas quando os pacientes foram tratados com alho.

Um estudo randomizado, duplo cego e controlado por placebo com 64 pacientes, divididos em dois grupos, o alho (n=32) e o placebo (n=32), administrado via oral dois comprimidos comerciais de alho (contendo 200 mg de extrato seco padronizado), duas vezes ao dia, durante 12 semanas demonstrou redução significativa de 3,5% ($p < 0,0395$) da pressão arterial diastólica, de 12% ($p < 0,0001$) da concentração de colesterol plasmática e 3,6% ($p < 0,0001$) da viscosidade do plasma (97). Em outro estudo (99), foi avaliado o efeito da administração oral de duas cápsulas gelatinosas contendo óleo de alho, duas vezes ao dia, em pacientes (n=60) com doença arterial coronariana, que foram divididos em dois grupos, o tratado (n=30) e o placebo (n=30), durante três meses. Após três meses de tratamento, houve

redução de 12,8% ($p<0,01$) do colesterol total, 15,2% ($p<0,01$) dos triglicerídeos e aumento de 22,3% ($p<0,05$) do nível sanguíneo de HDL e 55,1% ($p<0,01$) da atividade fibrinolítica. Não houve efeito sobre os níveis de fibrinogênio e de glicose. O grupo placebo não apresentou alterações significativas nos parâmetros avaliados.

Em outro estudo, Bordia e colaboradores (99) trataram 60 pacientes com doença arterial coronariana, durante três meses com administração oral diária de duas cápsulas contendo óleo de alho, duas vezes ao dia. Os pacientes foram divididos em dois grupos, o grupo alho ($n=30$) e o grupo controle/placebo ($n=30$) e as respectivas amostras de sangue dos pacientes foram coletadas nos intervalos de tempos de 1, 5 e 3 meses para avaliação do perfil lipídico (colesterol total, triglicerídeos; HDL e LDL), fibrinogênio, atividade fibrinolítica e glicose. O grupo alho apresentou redução significativa dos níveis de colesterol total ($p<0,01$) e de triglicerídeos ($p<0,01$) e aumento significativo do HDL-colesterol ($p<0,05$) e da atividade fibrinolítica ($p<0,01$). Entretanto, não houve efeito sobre os níveis de fibrinogênio e de glicose.

No estudo randomizado, duplo cego e controlado por placebo, conduzido por Gardner e colaboradores (2001) (101), foi avaliado o efeito de duas doses (1000 mg/ dia e 500 mg/ dia) de comprimidos comerciais de alho sobre os lipídios plasmáticos, em 51 adultos moderadamente hipercolesterolêmicos, durante 12 semanas. Os pacientes foram divididos em três grupos, placebo ($n=18$), alho "dose completa" ($n=16$) e alho "metade da dose" ($n=17$). As alterações médias absolutas no LDL foram 0,0, 1,4, e -10,1 mg/ dL para os grupos placebo, alho "metade da dose" e alho "dose completa", respectivamente. Desta forma, o grupo alho "metade da dose" apresentou aumento médio de LDL e o grupo "dose completa" diminuiu 6,1% do nível de LDL que não foi estatisticamente significativo em relação aos demais grupos ($p=0,5$). Não foram observadas diferenças significativas para o colesterol total, HDL e triglicerídeos. Entretanto, os comprimidos comerciais de alho, contendo 300 mg extrato seco padronizado de alho (1,3 % alliina equivalente a 0,6% alicina), avaliados por Ashraf e colaboradores (2005) (102, 104), afetaram significativamente os níveis de lipídios plasmáticos dos 70 pacientes submetidos ao estudo randomizado, duplo-cego e controlado por placebo. No referido estudo, os pacientes, com hipercolesterolemia e diabetes do tipo II, foram divididos em dois grupos (alho e placebo) que administraram a dose diária de 600 mg, dividida em dois comprimidos de 300 mg, duas vezes ao dia, durante 12 semanas. Após o período de tratamento, o grupo tratado com alho apresentou a redução de 12,28% do colesterol total e 17,99% do LDL e aumento de 8,81% do HDL e não houve diferença significativa no nível de triglicerídeos em relação ao grupo placebo. Os autores sugerem benefícios possíveis do alho, em curto prazo, na dislipidemia em pacientes com diabetes tipo II.

Outro estudo, randomizado, duplo cego e controlado por placebo, avaliou os comprimidos de alho com revestimento entérico (contendo 220 mg de extrato seco liofilizado de bulbos de alho e 1,09% de alicina) (102). Para tal, os 46 pacientes foram divididos em dois grupos, alho (n=22) e placebo (n=24) que receberam a dose diária de quatro comprimidos, sendo dois comprimidos ingeridos pela manhã e dois à noite junto das refeições, totalizando 9,6 mg de alicina por dia. Após doze semanas de tratamento, o grupo alho apresentou uma redução significativa do colesterol total (-4,2%) e LDL (-6,6%), enquanto o grupo placebo não apresentou alterações significativas. O HDL aumentou significativamente no grupo placebo (9,1%), em comparação ao grupo alho (0,9%), e não foi observada nenhuma diferença significativa no nível de triglicerídeos ou na relação LDL/HDL entre os grupos. Os autores indicam o alho no tratamento de pacientes com hipercolesterolemia leve a moderada quando combinado com uma dieta de baixo teor de gordura. Em relação ao alho *in natura* (bulbilhos frescos), foi descrito por Jabbari e colaboradores (2005) (105) a influência da mastigação ou deglutição dos bulbilhos na alteração do perfil lipídico sanguíneo. No estudo, os 44 pacientes foram randomicamente divididos em dois grupos, alho engolido (n=22) e alho mastigado (n=22) que utilizaram 1 g/ dia durante dois meses. Os resultados apresentados indicam que o alho ingerido não apresentou efeito na redução de lipídios. Mas, o alho mastigado (trituração) reduziu o colesterol, triglicerídeos, malondialdeído e a pressão arterial. Assim, os autores sugerem a hipótese que ao engolir diretamente a alliina não se converter em alicina.

Isaacsohn e colaboradores (108), conduziram um estudo randomizado, duplo cego e controlado por placebo, para avaliar o efeito nos níveis lipídicos da administração oral diária de três comprimidos de alho (300 mg de extrato seco/cada) em 41 pacientes com hipercolesterolemia que foram divididos em dois grupos, o alho (n=29) e o placebo (n=22). Após doze semanas de tratamento, os sangues dos pacientes em jejum foram coletados e analisados quanto aos níveis de colesterol total, triglicerídeos, LDL e LHL. Os autores não observaram alterações significativas ($p < 0.05$) no perfil lipídico dos grupos placebo e alho.

4.4.2.2. Atividade anti-hipertensiva

A atividade anti-hipertensiva do alho foi descrita em vários trabalhos (81, 113-116). A ingestão diária de 0,6 a 1,2 g de extrato alcoólico de alho promoveu a redução de 20 mmHg ou mais na pressão arterial sistólica de 52 pacientes do total de 100, após uma semana do início do tratamento (113). O estudo randomizado, duplo cego e controlado com placebo, conduzido por Sobenin e colaboradores (2009) (114), avaliou o efeito de *A. sativum* na pressão arterial de 84

homens hipertensos, após a ingestão diária de comprimidos comerciais contendo extrato seco de alho, em diferentes doses, durante oito semanas. Os pacientes foram divididos em quatro grupos, de acordo com a dose diária recebida e o tipo de comprimido (revestido ou liberação prolongada), sendo: comprimido de liberação prolongada 600 mg (n=30) e 2400 mg (n=18) e comprimido revestido 900 mg (n=16) e placebo (n=20). O tratamento com comprimido de liberação prolongada, contendo 600 mg de extrato seco de alho, reduziu ambas as pressões sistólica e diastólica em 7,0 mmHg e 3,8 mmHg, respectivamente. O aumento da dosagem para 2400 mg por dia não apresentou qualquer benefício adicional. O tratamento com comprimido revestido de alho de 900 mg resultou na mesma diminuição da pressão arterial sistólica, como observado para o comprimido de liberação prolongada, mas não houve diminuição da pressão arterial diastólica que pode estar correlacionada à ação prolongada que promove a melhor biodisponibilidade dos constituintes do alho. No estudo conduzido por Han e colaboradores (2011) (81), randomizado, duplo cego e controlado por placebo, foi avaliado o efeito da dose diária de duas cápsulas contendo extrato seco de alho (500 mg/ cápsula) em 44 pacientes hipertensos, durante oito semanas. Os pacientes foram divididos em dois grupos alho (n=23) e placebo (n=23) e a pressão arterial (sistólica e diastólica) de cada paciente foi registrada a cada duas semanas. Após duas semanas, o extrato seco de alho em baixou significativamente a pressão arterial sistólica, enquanto a redução significativa na pressão arterial diastólica levou oito semanas. Após oito semanas, o alho reduziu a pressão arterial sistólica em 8,05 mmHg. Dois ensaios clínicos randomizados, duplo cego e controlados com placebo, com comprimido comercial contendo extrato de alho padronizado em teor de S-alilcisteína, foram realizados por Ried e colaboradores (2010, 2013)(115, 116) durante 12 semanas, variando a dose diária, em pacientes com hipertensão não controlada e com uso de antihipertensivo (critérios de inclusão). O primeiro estudo clínico (115) avaliou 50 pacientes divididos em dois grupos, alho (n=25) e placebo (n=25), que receberam quatro comprimidos diariamente, totalizando 960 mg de extrato de alho (2,4 mg de S-alilcisteína). A pressão arterial sistólica e a diastólica foram registradas nos tempos: 0, 4, 8 e 12 semanas. Após o tratamento, os pacientes do grupo alho apresentaram a redução média de 10,2 mmHg comparado ao grupo placebo. O segundo ensaio clínico (116), realizado com 79 pacientes divididos em quatro grupos, alho 240 mg (n=21), alho 480 mg (n=20), alho 960 mg (n=19) e placebo (n=19). Ao longo de 12 semanas, a pressão arterial sistólica foi reduzida em 11,8 mmHg no grupo alho 480 mg, comparado com placebo. O grupo alho 960 mg reduziu a pressão arterial sistólica 7,4 mmHg em oito semanas. O grupo alho 240 mg não apresentou diferença na pressão arterial comparado ao placebo. A tolerabilidade,

conformidade e aceitabilidade da ingestão diária de cápsulas de alho foram elevadas em todos os grupos de alho, em ambos os ensaios clínicos.

4.4.3 Fase III

4.4.3.1 Atividade hipolipidêmica

Kojuri e colaboradores (2007) (117) avaliaram a atividade hipolipidêmica do alho por meio do ensaio clínico randomizado, duplo cego e controlado por placebo, conduzido com 150 pacientes hipercolestêmicos e com doença arterial coronariana (critérios de inclusão). Os pacientes foram submetidos a seis semanas de tratamento, utilizando a dose de 800 mg pela ingestão de um comprimido com revestimento entérico, contendo de 400 mg de extrato seco de alho (1 mg de alicina), duas vezes ao dia. O grupo alho reduziu 12,1% do colesterol total e 17,3% do LDL e aumentou 15,7% do HDL e sem redução significativa no nível de triglicerídeos. O placebo não apresentou alterações significativas. No estudo clínico, randomizado e duplo cego, conduzido por Holzgartner e colaboradores (1992) (118), foi avaliado o efeito da administração diária de drágeas comerciais de alho (900 mg de extrato seco de alho com 1,3% de alicina), durante 12 semanas, em 94 adultos com hiperlipoproteinemia, utilizando bezafibrato como controle positivo. Os pacientes foram divididos em dois grupos, alho (n=47) e bezafibrato (n=47). O alho e o bezafibrato reduziram, respectivamente, os níveis sanguíneos de: i) colesterol total de 281 para 210 mg/ dL e 287 para 208 mg/ dL; ii) LDL de 195 para 130 mg/ dL e 200 para 130 mg/ dL; iii) triglicerídeos de 307 para 207 mg/ dL e 307 para 168 mg/ dL; e aumentaram o HDL de 34 para 48 mg/ dL e 35 para 51 mg/ dL. Em outro estudo, o uso prolongado (12 meses) de comprimidos comerciais de liberação modificada de alho, utilizando a dose diária de 600 mg, foi avaliado realizado por Sobenin e colaboradores (2005) (119), através de ensaio clínico, randomizado, duplo cego e controlado por placebo, com 79 pacientes com alto risco de doença cardíaca coronariana. O tratamento com o alho reduziu o prognóstico de doença cardíaca coronariana em 13,2%, o prognóstico de infarto do miocárdio em 26,1% e os níveis sanguíneos de colesterol e LDL (23 mg/ dL). Os autores indicam o uso do alho para prevenir a aterosclerose.

4.4.3.2 Atividade antitrombótica

O efeito do alho no tratamento da placa aterosclerótica das artérias carótida e femoral foi avaliado por meio de ensaios clínicos randomizados, duplo cegos e controlados por placebo, em pacientes com placas ateroscleróticas avançadas (critério de inclusão), utilizando dose diária de 900 mg de extrato seco de alho na forma de comprimidos ou drágeas comerciais, durante o uso por período prolongado (120, 121). No ensaio clínico conduzido por Kieseletter (1996) (120), durante 18 meses, com 176 pacientes, houve uma tendência para redução do volume das placas no total da população, inicialmente havia 55% dos pacientes com volumes de placas acima de 30 mm² e após os 18 meses de tratamento houve 58% com o volume das placas menor que 30 mm². Enquanto, o ensaio clínico de Koscielny e colaboradores (1999) (121), com 152 pacientes divididos em dois grupos, alho (n=61) e placebo (n=91), foi conduzido durante quatro anos (48 meses). O grupo alho reduziu significativamente o aumento do volume da placa aterosclerótica em 5-18% e o grupo placebo ocorreu um aumento de 15,6%. Foi observado um aumento do volume da placa aterosclerótica com o aumento da idade, entretanto esta dependência diminuiu em 6-13% com o uso do alho durante os quatro anos.

4.4.3.3 Atividade anti-hipertensiva

O efeito anti-hipertensivo do alho foi avaliado em alguns trabalhos (122, 123). O ensaio clínico randomizado, duplo cego e controlado por placebo, conduzido por Ashraf e colaboradores (2013)(123), avaliou o efeito de comprimidos de alho sobre a pressão arterial em pacientes hipertensos. O total de 210 pacientes foi dividido em sete grupos: A, B, C, D, E, F e G. Os grupos A, B, C, D e E que receberam, respectivamente, as doses diárias de alho de 300/mg, 600/mg, 900/mg, 1200/mg 1500/mg e os grupos F e G receberam atenolol e placebo, respectivamente, durante 24 semanas. Os registros da pressão arterial foram feitos nas semanas 0, 12 e 24. Os grupos tratados com alho apresentaram redução significativa da pressão arterial sistólica e diastólica, quando comparado com o atenolol e placebo. A diminuição da pressão sanguínea foi dose e tempo dependente.

4.4.4 Fase IV

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

4.4.5 Estudos observacionais

Qidwai e colaboradores (2000) (124) descreveram o efeito da alimentação contendo alho na pressão arterial humana. Os 101 voluntários responderam ao questionário para estimativa da ingestão mensal de alho e registraram o valor da pressão arterial de cada voluntário. O estudo relata a utilização média de alho como sendo 134 gramas por indivíduo mensalmente e os indivíduos com valor menor para pressão arterial consomem mais alho em suas dietas. Nos estudos observacionais da evidência, denominados meta-análise, foram descritos os efeitos benéficos do alho para tratamento e/ou prevenção de doenças cardiovasculares (125, 126), redução nos níveis de lipídios plasmáticos (127-134) e hipertensão (131, 135-138). Stevinson e colaboradores (2000) (131) compararam os ensaios clínicos publicados até novembro de 1998, de acordo com os seguintes critérios de inclusão i) randomizados; ii) duplo-cego; iii) controlado por placebo; iv) preparações contendo somente alho; v) pessoas com nível médio de colesterol total de pelo menos 200 mg/ dL; vi) descrição do nível de colesterol total após o período de tratamento. Em 13 ensaios incluídos na meta-análise (totalizando 796 pessoas), dose diária entre 600-900 mg/ dia, o alho reduziu nível de colesterol total em 5,8% a mais do que o placebo. Entretanto, seis estudos com maiores "score" de qualidade metodológica revelaram uma diferença não significativa entre os grupos alho e placebo. Os autores descrevem que os estudos disponíveis sugerem que o alho é superior ao placebo na redução dos níveis de colesterol total. No entanto, o tamanho do efeito é modesto, e a robustez do efeito é discutível. Em outro estudo, descrito por McRae (2005) (135), foram comparados os ensaios clínicos publicados antes de 1994 (grupo antigo) e depois de 1994 até 2004 (grupo novo). Os critérios utilizados foram: i) inclusão de estudos realizados utilizando comprimidos contendo alho em pó; ii) exclusão de estudos com crianças e com adultos com o nível sanguíneo de colesterol normal; iii) inclusão de estudos com registro do número de pacientes; da idade ou faixa de idade média, da dose diária; da duração tratamento; dos níveis de colesterol (basal e pós-tratamento) e das pressões arteriais sistólica e diastólica. O total de 18 ensaios clínicos foi analisado, englobando 270 pacientes que foram divididos em dois grupos, o "antigo" (n=168) e o "novo" (n=102) e os valores da dose diária por grupo foram 800 mg e 900 mg, respectivamente. Os seguintes percentuais de redução foram descritos para o grupo "antigo" e "novo", respetivamente: 31,4 % e 3,5 % do colesterol (mg/dL); 11% e 2,0% pressão arterial sistólica (mmHg); 5,8% e 0,9% pressão arterial diastólica (mmHg). O odor do alho foi percebido por 42 (25%) dos pacientes do grupo "antigo" versus 32 (31,4%) do grupo "novo". Em relação aos efeitos colaterais, 10 pacientes dos 193 (5,2%) do grupo "antigo", enquanto 14 dos 133 (10,5%) indivíduos do grupo "novo" foram descritos. Os efeitos colaterais

adversos relatados foram queixas gastrintestinais como náusea, arroto e flatulência que não foram considerados graves. Os ensaios clínicos publicados antes de Jan/1994 apresentaram um desempenho melhor do que os publicados a partir de Jan/1994. Os autores sugerem que a alicina pode ser responsável pelos efeitos anti-hipertensivos dos comprimidos contendo alho em pó.

Simons e colaboradores (2009) (139) realizaram uma revisão bibliográfica sobre a influência da qualidade dos ensaios clínicos no efeito do alho na pressão arterial. Os autores descreveram que o efeito do alho na pressão sanguínea não pode ser estabelecida, devido a falhas metodológicas e poucas informações sobre a medida da pressão sanguínea e, portanto, o uso do alho não pode ser recomendado como tratamento diário para pacientes hipertensos. Recentemente, um estudo (132) de meta-análise com 39 ensaios clínicos descreveu que o alho é eficiente na redução do colesterol total (< 17 mg/ dL) e LDL ($< 9,6$ mg/ dL) em indivíduos com hipercolesterolemia quando utilizado por mais de dois meses. Além disso, há relevância clínica na redução de 8% do colesterol total que está associada a 38% de redução do risco de doenças coronárias a partir dos 50 anos de idade.

4.5 RESUMO DAS AÇÕES E INDICAÇÕES POR DERIVADO DE DROGA ESTUDADO

4.5.1 Vias de Administração

Uso oral ou externo (8, 50, 140).

4.5.2 Dose Diária

A dose diária deve estar entre 2 e 5 mg de alicina (15, 50, 140).

Bulbilhos frescos

Crianças (2-4 anos) - mínimo 0,08 e máximo 2,0 g/ dia (44).

Crianças e Adolescentes (5-9 anos) - mínimo 0,1 e máximo 3,0 g/dia (44).

Adolescentes (10-14 anos) - mínimo 0,2 e máximo 6,0 g/dia (44).

Adolescente e adultos (≥ 14 anos) - mínimo 0,5 e máximo 12,0 g/dia (44).

Pó

0,4 - 1,2 g (15).

Óleo

2 - 5 mg (15).

Extrato seco

300-1000 mg (15).

Comprimido contendo extrato seco

600 - 900 mg (104, 106, 114).

4.5.3 Posologia (Dose e Intervalo)

Bulbilhos frescos

1,2-2g (1 bulbo), uma vez ao dia, de manhã em jejum (12-14 horas) (107).

Comprimido contendo extrato seco

300 mg (01 comprimido), três vezes ao dia durante oito semanas (106, 114) ou duas vezes ao dia, durante 12 semanas (104).

Comprimidos de liberação controlada

300 mg (01 comprimido), duas vezes ao dia, durante 12 semanas (114).

4.5.4 Período de Utilização

Bulbilhos frescos

30 dias (107).

Comprimido contendo extrato seco

Oito semanas (900 mg/ dia) ou 12 semanas (600 mg/ dia) (104, 106, 114).

Comprimidos de liberação controlada

12 semanas (114).

4.5.5 Contra Indicações

Não deve ser utilizado em pacientes com hipertireoidismo, distúrbios da coagulação ou em tratamento com anticoagulantes. Não deve ser usado em pré ou pós-operatórios, devendo ser suspenso por pelo menos 10 dias antes de procedimentos cirúrgicos. Pacientes com gastrite e/ou úlcera gastroduodenal não devem fazer uso do medicamento. Contraindicado a pacientes com histórico de hipersensibilidade e/ou alergia a qualquer um dos componentes da fórmula do fitoterápico (8, 140).

4.5.6 Grupos de Risco

O consumo de alho por mães que amamentam modifica o comportamento do seu bebê durante a amamentação (141-143). Doses de alho superiores às quantidades utilizadas em alimentos não devem ser ingeridas durante a gravidez e aleitamento (144).

4.5.7 Precauções de Uso

Não recomendado o seu uso em pessoas com alergia conhecida ao alho. Nenhuma precaução descrita para uso em gestantes e crianças (15)

4.5.8 Efeitos Adversos Relatados

Esse medicamento pode causar cefaleia, mialgia, fadiga, vertigem (118), sudorese, bem como reações alérgicas e asma (8, 15, 144, 145). O uso deste medicamento pode causar decréscimo do hematócrito e da viscosidade sanguínea, aumentando o risco de sangramentos pós-operatórios (8, 144, 146), bem como hematoma epidural espontâneo (15, 147). Efeitos gastrintestinais, tais como desconforto abdominal, náuseas, vômitos e diarreia também são possíveis (8, 15, 148). Odores corporais característicos de alho podem ocorrer com o uso deste medicamento (140, 144, 148).

4.5.9 Interações Medicamentosas

4.5.9.1 Descritas

O Quadro 01 abaixo mostra as possíveis interações entre fármacos e produtos à base de *Allium sativum* L. (1).

Classe farmacológica	Fármaco	Possíveis efeitos	Referência
Anti-retrovirais inibidores da protease	Saquinavir Ritonavir	aumento e/ou diminuição da biodisponibilidade do fármaco	(149, 150)
Anticoagulantes orais	Varfarina	aumento do risco de hemorragia, sangramentos espontâneos e desordens plaquetárias.	(147, 151-153)
Anti-hipertensivos inibidores da ECA	Lisinopril	aumento do efeito hipotensor do fármaco	(154, 155)
Analgésicos e antitérmicos	Paracetamol	Alterações nos perfis farmacocinéticos do fármaco	(156)
Ansiolíticos e hipnóticos	Alprazolam midazolam Dextrometorfan	Não há alterações	(157-159)
Hipoglicemiantes	Clorpropamida	Hipoglicemia	(160)
Relaxantes musculares	Clorzoxazona	aumento biodisponibilidade do fármaco	(157, 158)

Quadro 01- Possíveis interações entre fármacos e produtos à base de alho (*Allium sativum* L.). Fonte: Alexandre e colaboradores (2008) (1).

4.5.9.2 Potenciais

Esse medicamento não pode ser utilizado em associação com anticoagulantes orais, heparina, agentes trombolíticos, antiagregantes plaquetários e anti-inflamatórios não-esteroidais, por aumentarem o risco de hemorragia (8, 140). Este medicamento, quando associado aos inibidores da protease, pode reduzir as concentrações séricas dessa classe, aumentando o risco de resistência ao antiretroviral e falhas no tratamento (149, 150). Além disso, pode reduzir a efetividade da clorzoxazona por induzir o seu metabolismo (157).

4.5.10 Informações de Superdosagem

4.5.10.1 Descrição do quadro clínico

Hemorragia no pós-operatório (15)

4.5.10.2 Ações a serem tomadas

Em caso de superdosagem, suspender o uso e procurar orientação médica de imediato (140).

5 INFORMAÇÕES GERAIS

5.1 FORMAS FARMACÊUTICAS/FORMULAÇÕES DESCRITAS NA LITERATURA

Cápsulas, comprimidos, glóbulos (8, 114).

5.2 PRODUTOS REGISTRADOS NA ANVISA E OUTRAS AGÊNCIAS REGULADORAS

Há dois medicamentos registrados atualmente na ANVISA que contém *Allium sativum* em associação e são para uso homeopático, produzidos por um só fabricante, nas formas farmacêuticas: comprimidos e glóbulos.

5.3 EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Na Farmacopeia Brasileira, a forma de embalagem e armazenamento é em recipientes bem-fechados, ao abrigo da luz, calor e umidade (14).

5.4 ROTULAGEM

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

5.5 MONOGRAFIAS EM COMPÊNDIOS OFICIAIS E NÃO OFICIAIS

Allium sativum está presente nas seguintes fontes oficiais:

Farmacopeia Brasileira (4ª Edição, Parte II, Fascículo 6) (14).

Farmacopeia Americana (USP 35, NF 30) (18).

Farmacopeia Vegetal Caribenha (16).

Farmacopeia Portuguesa (8ª Edição) (24).

Farmacopeia Espanhola (2ª Edição) (25).

Farmacopeia Britânica (2009, Volume III) (26).

Monografias da OMS (WHO Monographs on Selected Medicinal Plants) (15).

Monografias da Comissão Alemã (German Commission E Monographs) (161)

Health Canada. Drugs & Health Products (44).

5.6 PATENTES SOLICITADAS PARA A ESPÉCIE VEGETAL

A lista de patentes solicitadas para *Allium sativum*, descrita a seguir, foi compilada a partir de uma busca feita (em Setembro de 2014) nos seguintes bancos de dados: a) Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI); b) European Patent Office (EPO); c) World International Property Organization (WIPO); d) United States Patent and Trademark Office's (USPTO); e) Japan Patent Office (JPO).

1. Isabelle T, inventors; Pierre Fabre Dermo-Cosmetique, assignee. Absolutos de bulbos de *Allium sativum* e utilizações a título terapêutico ou cosmético. PI 0213204-4 A2 (162).

2. Odagiu Antonia Cristina Maria Oig, Racz Csaba Pal, Paulette Laura Eugenia, Covrig Ilie, Taut Ioan, Bordea Daniela, inventor; Transvital Cosmetics S R L, assignee. Technology for garlic enrichment with organic selenium, patent RO20120001005 20121213 (163).
3. Marccone Guido DMA, inventor; Marccone Guido, assignee. Waterborne extract derived from a plant bulb rich in sulphur substances containing selenium and glucose and supplemented with copper salts, having properties against tumors, fungi and dermatitis, including autoimmune dermatitis, patent WO2012IB02697 20121213 (164).
4. Darabus Gheorghe Oli, Ilie Marius Stelian, inventor; Univ de Stiinte Agricole Si Medicina Veterinara A Banatului TIMI&, assignee. Antifungal ointment of stablized aqueous extract of *Allium sativum* to be employed in the treatment of dermatomycoses, patent RO20100000654 20100726 (165).
5. Kim Jung In Jsh, Kang Min Jung, inventor; Univ Inje Ind Acad Cooperation, assignee. Composition comprising the sugaring extract of *Allium sativum* L. for lowering blood glucose or preventing and treating diabetes mellitus, patent KR20090017102 20090227 (166).
6. Yazawa Kazuyoshi ST, Fujiwara Chie, inventor; Shonan Inst for Medical & Preventive Science, assignee. Agent for suppressing blood pressure elevation, patent JP20090077462 20090304, JP 2010202630, 2010-202630 (167).
7. Isabelle T, inventor; Innovaderm, Tomatis Isabelle, assignee. *Allium sativum* bulb absolutes and therapeutic or cosmetic uses, patent WO2002FR03618 20021022 (168).
8. Nikolic Vesna Sm, Nikolic Ljubisa, inventor; Nikolic Vesna, Stankovic Mihajlo, Nikolic Ljubisa, assignee. Preparation procedure for garlic powder (*Allium sativum* L..) as a material for producton of phytopreparations with pharmacological effect, patent YU2003P000551 20030708 (169).
9. Isabelle T, inventor; Tomatis Isabelle, Pierre Fabre Dermo-Cosmetique, assignee. Antiadipose topical treatment composition based on garlic bulbs extracts, and cosmetic and therapeutic uses, patent US20010984037 20011026 (170).
10. Cheon Jun Kj, Lee Jungku, Kim Hankyeum, Moon Doogun, inventor; Cheon Jun, Kim Jejong, Lee Jungku, Kim Hankyeum, Moon Doogun, assignee. Method of manufacture of garlic extract for use as a preventive and therapeutic agent for human prostate and bladder cancers, patent US20010971667 20011116 (171).
11. Murthy Pothapragada Suryanaray Rp, inventor; Murthy Pothapragada Suryanarayana, Ratnakar Patti, assignee. Process for preparation of cholesterol lowering compositions from garlic, patent US20020270742 20021011 (172).
12. Yamashita Hiroshi TS, inventor; KOWA CO, assignee. Medicine for prophylaxis of septic shock, patent JP20060239962 20060905, JP 2008063238, 2008-063238 (173).

13. Hiroshi Y, Yukinori A, Sohei T, inventors; Kowa CO, assignee. Drug for preventing and treating fatty liver, patent JP20050065675 20050309, JP 2006248939, 2006-248939 (174).
14. Suri Sanjay SJ, Dhuppad Ulhas, Bhatham A K, inventor; Morepen Lab LTD, Suri Sanjay, Singh J, Dhuppad Ulhas, Bhatham A K, assignee. Method of preparing garlic ointment and garlic ointment composition for topical use in skin infections, patent WO2001IN00098 20010504 (175).
15. Efthymia M, Panagiotis F, inventors; Onaseio Kardiocheirurgiko Ken; Melissari Efthymia; Fatseas Panagiotis, assignee. Powerful anticoagulant and anti-blood-platelet drug for ischaemic cardiopathy a potent anticoagulant and antiplatelet substance for ischaemic cardiovascular disorders, patent GR20000100148 20000425 (176).
16. Kenichiro Kubota, assignee. A method of manufacturing from garlic an injection for tuberculosis, patent GB19250028787 19251114 (177).
17. Rolf D, inventor; CHIMICASA GMBH, assignee. Pharmaceutical preparation for the treatment of lipid metabolism disorders (Hyperlipoproteinemia), patent EP19860116933 19861205 (178).
18. Aye Rolf-Dieter, Mueller Bernd, Thienel Carola, inventor; LICHTWER PHARMA GMBH, assignee. Garlic extracts contg. Alliinase - have improved therapeutic activity for treating hypertension, arteriosclerosis, diarrhoea, intestinal worms etc. patent DE19904012884 19900423 (179).
19. Hiromi F, inventor; Kenko Kazoku, assignee. Prophylactic and/or therapeutic composition for hypertension comprising component of garlic (*Allium sativum* L.), patent JP 2007016026, 2007-016026 (180).
20. Azizkhani, Behnam, inventors; Azizkhani; Behnam, assignee. Herpes treatment, patent 8,778,421 (181).
21. Ott D.M, inventor; Allium Vitalis Incorporated (Berkeley, CA), assignee. Organosulfur prodrugs for the prevention and treatment of infectious diseases, patent 8,222,299 (182).
22. Hermes R, inventor; The United States of America as represented by the United States (Washington, DC), assignee. Antithrombogenic and antibiotic composition and methods of preparation thereof, patent 4,917,921 (183).

REFERÊNCIAS

1. Alexandre RF, Bagatini F, Simões CMO. Potenciais interações entre fármacos e produtos à base de valeriana ou alho. Potential interactions between drugs and valerian or garlic herbal medicines. *Rev bras farmacogn.*455-63.
2. Tropicos. Missouri Botanical Garden [Internet]. 2014 [20 fev. 2014]. Available from: <http://www.tropicos.org/Name/18401720>.
3. IPNI. The International Plant Name Index [Internet]. 2014 [20 fev. 2014]. Available from: <http://www.ipni.org/ipni/plantnamesearchpage.do>.
4. THE PLANT LIST. The Plant List. 2013. Version 1.1. [Internet]. [20 fev. 2014]. Available from: <http://www.theplantlist.org>.
5. MOBOT. Missouri Botanical Garden [Internet]. 2014. [20 fev. 2014]. Available from: <http://www.missouribotanicalgarden.org/plantfinder/plantfindersearch.aspx>.
6. Vieira RL. Aspectos fisiológicos e fitossanitários na micropropagação para a obtenção de alho-semente livres de vírus. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina; 2012.
7. DeCS. Descritores em Ciências da Saúde. [Internet]. 2014. [20 fev. 2014]. Available from: <http://decs.bvs.br>.
8. Gruenwald JB, Thomas. Jaenicke, Christof. PDR for Herbal Medicines. 4th ed. NJ, USA: Thomson Reuters; 2007. 858 p.
9. Pooler MR. Sexual reproduction in garlic (*Allium sativum* L.). Madison, USA.: University of Wisconsin; 1991.
10. Maaß HI, Klaas M. Intraspecific differentiation of garlic (*Allium sativum* L.) by isozyme and RAPD markers. *Theor Appl Genet.* 1995;91(1):89-97.
11. BRASIL. Ministério da Agricultura PeA. Circular Técnica 118: Recomendações técnicas para o manejo integrado de pragas da cultura do alho. In: Hortaliças E, editor. Brasília, DF2013. p. 12.
12. Etoh T SPW. Diversity, fertility and seed production of garlic. In: Rabinowitch HD CL, editor. *Allium Crop Science: Recent Advances*: CABI; 2002. p. 515.
13. ANVISA. RDC 26 de 13 de maio de 2014. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. Brasília, DF2014.
14. ANVISA. RDC 313 de 23 de outubro de 2005. Aprova o Fascículo 6 da Parte II da 4ª Edição da Farmacopéia Brasileira. 4 ed. Brasília, DF2005.
15. World. Health Organization. Monographs on selected medicinal plants. *Bulbus Allii Sativi*. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 1999. 22 p.
16. GERMOSÉN-ROBINEAU L. Pharmacopée végétale caribéenne. Monographies. *Allium sativum*. Tramil/Enda; 2005.
17. Lorenzi HM, FJA. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum; 2002.

18. USP. United States Pharmacopeia and National Formulary (USP 35-NF 30). Rockville, MD: United States Pharmacopeial Convention 2012.
19. ANVISA. RDC 49 de 23 de novembro de 2010. Aprova a Farmacopeia Brasileira, 5ª edição e dá outras providências. 5 ed. Brasília, DF2010.
20. Queiroz YSd. Efeito do processamento do alho (*Allium sativum* L.) sobre os seus compostos bioativos e potencialantioxidante in vitro e in vivo. São Paulo, SP: Universidade de São Paulo; 2010.
21. ANVISA. RDC 14 de 14 de março de 2013. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Insumos Farmacêuticos Ativos de Origem Vegetal. Brasília, DF2013.
22. WHO. Quality Control Methods for Herbal Materials. Genebra: Organização Mundial da Saúde; 2011.
23. Lanzotti V. The analysis of onion and garlic. J Chromatogr A. 2006;1112(1-2):3-22.
24. Saúde Md. FARMACOPEIA PORTUGUESA VIII. Lisboa: Infarmed; 2005.
25. Consumo MdSy. REAL FARMACOPEA ESPAÑOLA. 2 ed. Madrid2002.
26. Pharmacopoeia B. British Pharmacopoeia. Garlic Powder ed2009.
27. Miron T, Shin I, Feigenblat G, Weiner L, Mirelman D, Wilchek M, et al. A spectrophotometric assay for allicin, alliin, and alliinase (alliin lyase) with a chromogenic thiol: reaction of 4-mercaptopyridine with thiosulfinates. Anal Biochem. 2002;307(1):76-83.
28. Holub BA, K. Davis, J-P, Nagpurkar, A. Peschell, J. Organosulfur compounds from garlic. Functional Foods. 2. Washington: CRC Press; 2002. p. 213-79.
29. Hughes J, Collin HA, Tregova A, Tomsett AB, Cosstick R, Jones MG. Effect of low storage temperature on some of the flavour precursors in garlic (*Allium sativum*). Plant Foods Hum Nutr. 2006;61(2):81-5.
30. Carvalho JCT. Fitoterápicos Anti-inflamatórios. Aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas. 1 ed. Ribeirão Preto, SP: Tecmedd; 2004.
31. Schäfer G, Kaschula CH. The immunomodulation and anti-inflammatory effects of garlic organosulfur compounds in cancer chemoprevention. Anticancer Agents Med Chem. 2014;14(2):233-40.
32. Block E, Naganathan S, Putman D, Zhao SH. Allium chemistry: HPLC analysis of thiosulfinates from onion, garlic, wild garlic (ramsoms), leek, scallion, shallot, elephant (great-headed) garlic, chive, and Chinese chive. Uniquely high allyl to methyl ratios in some garlic samples. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 1992;40(12):2418-30.
33. Miean KH, Mohamed S. Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropical plants. J Agric Food Chem. 2001;49(6):3106-12.
34. Naznin MT, Akagawa M, Okukawa K, Maeda T, Morita N. Characterization of E- and Z-ajoene obtained from different varieties of garlics. Food Chemistry. 2008;106(3):1113-9.
35. Lee SN, Kim NS, Lee DS. Comparative study of extraction techniques for determination of garlic flavor components by gas chromatography-mass spectrometry. Anal Bioanal Chem. 2003;377(4):749-56.

36. Fehresti Sani M, Montasser Kouhsari S, Moradabadi L. Effects of Three Medicinal Plants Extracts in Experimental Diabetes: Antioxidant Enzymes Activities and Plasma Lipids Profiles in Comparison with Metformin. *Iran J Pharm Res.* 2012;11(3):897-903.
37. Lawson LD, Ransom DK, Hughes BG. Inhibition of whole blood platelet-aggregation by compounds in garlic clove extracts and commercial garlic products. *Thromb Res.* 1992;65(2):141-56.
38. Galduróz JC, Antunes HK, Santos RF. Gender- and age-related variations in blood viscosity in normal volunteers: a study of the effects of extract of *Allium sativum* and *Ginkgo biloba*. *Phytomedicine.* 2007;14(7-8):447-51.
39. Takasu J, Uykimfang R, Sunga M, Amagase H, Niihara Y. Aged garlic extract therapy for sickle cell anemia patients. *BMC Blood Disord.* 2002;2(1):3.
40. Lawson LD, Wang ZJ. Allicin and allicin-derived garlic compounds increase breath acetone through allyl methyl sulfide: use in measuring allicin bioavailability. *J Agric Food Chem.* 2005;53(6):1974-83.
41. Guarrera PM, Savo V. Perceived health properties of wild and cultivated food plants in local and popular traditions of Italy: A review. *J Ethnopharmacol.* 2013;146(3):659-80.
42. Almeida Â, Suyenaga ES. Ação farmacológica do alho (*Allium sativum* L.) e da cebola (*Allium cepa* L.) sobre o sistema cardiovascular: revisão
- Pharmacological effect of garlic (*Allium sativum* L.) and onion (*Allium cepa* L.) on the cardiovascular system: review. *Nutrire Rev Soc Bras Aliment Nutr.*34(1):185-97.
43. García Gómez LJ, Sánchez Muniz F. Revisión: efectos cardiovasculares del ajo (*allium sativum*)
- Review: cardiovascular effect of garlic (*allium sativum*). *Arch latinoam nutr.*50(3):219-29.
44. Health Canada. Drugs & Health Products. Natural Health Products Ingredients Database. Garlic. [29 set. 2014]. [Internet]. 2008. Available from: http://webprod.hc-sc.gc.ca/nhpid-bdipsn/atReq.do?atid=garlic_ail&lang=eng.
45. Ali-Shtayeh MS, Jamous RM, Salameh NM. Complementary and alternative medicine (CAM) use among hypertensive patients in Palestine. *Complement Ther Clin Pract.* 2013;19(4):256-63.
46. Mootoosamy A, Fawzi Mahomoodally M. Ethnomedicinal application of native remedies used against diabetes and related complications in Mauritius. *J Ethnopharmacol.* 2014;151(1):413-44.
47. Rizvi SI, Mishra N. Traditional Indian medicines used for the management of diabetes mellitus. *J Diabetes Res.* 2013;2013:712092.
48. Ziyayat A, Legssyer A, Mekhfi H, Dassouli A, Serhrouchni M, Benjelloun W. Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco. *J Ethnopharmacol.* 1997;58(1):45-54.
49. ANVISA. RDC 10, DE 9 DE MARÇO DE 2010 Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais. Brasília, DF.2010.
50. ANVISA. Instrução Normativa 2, de 13 de maio de 2014. Publica a "Lista de medicamentos fitoterápicos de registro simplificado" e a "Lista de produtos tradicionais fitoterápicos de registro simplificado". Brasília, DF.2014.

51. Bhanot A, Shri R. A comparative profile of methanol extracts of *Allium cepa* and *Allium sativum* in diabetic neuropathy in mice. *Pharmacognosy Res.* 2010;2(6):374-84.
52. Hosseinzadeh H, Sadati N. The protective effect of *Allium sativum* L. clove aqueous and methanolic extracts against hypoxia-induced lethality in mice. *Phytother Res.* 2003;17(3):279-81.
53. Dixit VP, Joshi S. Effects of chronic administration of garlic (*Allium sativum* Linn) on testicular function. *Indian J Exp Biol.* 1982;20(7):534-6.
54. Raju TN, Kanth VR, Lavanya K. Effect of methanolic extract of *Allium sativum* (AS) in delaying cataract in STZ-induced diabetic rats. *J Ocul Biol Dis Infor.* 2008;1(1):46-54.
55. Abraham SK, Kesavan PC. Genotoxicity of garlic, turmeric and asafoetida in mice. *Mutat Res.* 1984;136(1):85-8.
56. Shukla Y, Taneja P. Antimutagenic effects of garlic extract on chromosomal aberrations. *Cancer Lett.* 2002;176(1):31-6.
57. Park JH, Park YK, Park E. Antioxidative and antigenotoxic effects of garlic (*Allium sativum* L.) prepared by different processing methods. *Plant Foods Hum Nutr.* 2009;64(4):244-9.
58. Papageorgiou C, Corbet JP, Menezes-Brandao F, Pecegueiro M, Benezra C. Allergic contact dermatitis to garlic (*Allium sativum* L.). Identification of the allergens: the role of mono-, di-, and trisulfides present in garlic. A comparative study in man and animal (guinea-pig). *Arch Dermatol Res.* 1983;275(4):229-34.
59. Shams-Ghahfarokhi M, Shokoohamiri MR, Amirrajab N, Moghadasi B, Ghajari A, Zeini F, et al. In vitro antifungal activities of *Allium cepa*, *Allium sativum* and ketoconazole against some pathogenic yeasts and dermatophytes. *Fitoterapia.* 2006;77(4):321-3.
60. Pyun MS, Shin S. Antifungal effects of the volatile oils from *Allium* plants against *Trichophyton* species and synergism of the oils with ketoconazole. *Phytomedicine.* 2006;13(6):394-400.
61. Lu X, Rasco BA, Kang DH, Jabal JM, Aston DE, Konkel ME. Infrared and Raman spectroscopic studies of the antimicrobial effects of garlic concentrates and diallyl constituents on foodborne pathogens. *Anal Chem.* 2011;83(11):4137-46.
62. Ratnakar P, Murthy PS. Purification and mechanism of action of antitubercular principle from garlic (*Allium sativum*) active against isoniazid susceptible and resistant *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Indian Journal of Clinical Biochemistry.* 1995;10(1):34-8.
63. Sharma U, Velpandian T, Sharma P, Singh S. Evaluation of anti-leishmanial activity of selected Indian plants known to have antimicrobial properties. *Parasitol Res.* 2009;105(5):1287-93.
64. Nencini C, Menchiari A, Franchi GG, Micheli L. In vitro antioxidant activity of aged extracts of some Italian *Allium* species. *Plant Foods Hum Nutr.* 2011;66(1):11-6.
65. Zakarova A, Seo JY, Kim HY, Kim JH, Shin JH, Cho KM, et al. Garlic sprouting is associated with increased antioxidant activity and concomitant changes in the metabolite profile. *J Agric Food Chem.* 2014;62(8):1875-80.
66. Cavagnaro PF, Camargo A, Galmarini CR, Simon PW. Effect of cooking on garlic (*Allium sativum* L.) antiplatelet activity and thiosulfinates content. *J Agric Food Chem.* 2007;55(4):1280-8.

67. Suboh SM, Bילו YY, Aburjai TA. Protective effects of selected medicinal plants against protein degradation, lipid peroxidation and deformability loss of oxidatively stressed human erythrocytes. *Phytother Res.* 2004;18(4):280-4.
68. Clement F, Venkatesh YP. Dietary garlic (*Allium sativum*) lectins, ASA I and ASA II, are highly stable and immunogenic. *Int Immunopharmacol.* 2010;10(10):1161-9.
69. Hodge G, Hodge S, Han P. *Allium sativum* (garlic) suppresses leukocyte inflammatory cytokine production in vitro: potential therapeutic use in the treatment of inflammatory bowel disease. *Cytometry.* 2002;48(4):209-15.
70. Keiss HP, Dirsch VM, Hartung T, Haffner T, Trueman L, Auger J, et al. Garlic (*Allium sativum* L.) modulates cytokine expression in lipopolysaccharide-activated human blood thereby inhibiting NF-kappaB activity. *J Nutr.* 2003;133(7):2171-5.
71. Augusti KT, Arathy SL, Asha R, Ramakrishnan J, Zaira J, Lekha V, et al. A comparative study on the beneficial effects of garlic (*Allium sativum* Linn), amla (*Emblica Officinalis* Gaertn) and onion (*Allium cepa* Linn) on the hyperlipidemia induced by butter fat and beef fat in rats. *Indian J Exp Biol.* 2001;39(8):760-6.
72. Augusti KT, Narayanan A, Pillai LS, Ebrahim RS, Sivadasan R, Sindhu KR, et al. Beneficial effects of garlic (*Allium sativum* Linn) on rats fed with diets containing cholesterol and either of the oil seeds, coconuts or groundnuts. *Indian J Exp Biol.* 2001;39(7):660-7.
73. Eidi A, Eidi M, Esmaeili E. Antidiabetic effect of garlic (*Allium sativum* L.) in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine.* 2006;13(9-10):624-9.
74. Heidarian E, Jafari-Dehkordi E, Seidkhani-Nahal A. Effect of garlic on liver phosphatidate phosphohydrolase and plasma lipid levels in hyperlipidemic rats. *Food Chem Toxicol.* 2011;49(5):1110-4.
75. Bordia T, Mohammed N, Thomson M, Ali M. An evaluation of garlic and onion as antithrombotic agents. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 1996;54(3):183-6.
76. Santiago MB, Nascimento AM, Couto WCS, Oliveira Neto WN, Lessa FCR, Franquini JVM, et al. Efeito da administração do *Allium sativum* sobre as alterações cardiovasculares de ratos Wistar com infarto do miocárdio Effects of consumption of *Allium sativum* on the cardiovascular abnormalities observed in Wistar rats following cardiac infarction. *Rev ciênc farm b sica apl.*30(1).
77. Al-Qattan KK, Alnaqeeb MA, Ali M. The antihypertensive effect of garlic (*Allium sativum*) in the rat two-kidney--one-clip Goldblatt model. *J Ethnopharmacol.* 1999;66(2):217-22.
78. Gazola R, Singi G, Resende R. Efeitos do extrato hidroalcoólico de *Allium sativum* (alho) sobre a pressão arterial média em ratos anestesiados Effects of *Allium sativum* (garlic) hidroalcoholic extract on mean arterial blood pressure in anesthetized rats. *Lecta-USF.*20(2):167-9.
79. Singi G, Damasceno DD, Andréa ED, Silva GA. Efeitos agudos dos extratos hidroalcoólicos do alho (*Allium sativum* L.) e do capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) sobre a pressão arterial média de ratos anestesiados Acute effects of *Allium sativum* L. and *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf hidroalcoholic extracts on arterial blood pressure of anesthetized rats. *Rev bras farmacogn.*94-7.
80. Hosseini M, Shafiee SM, Baluchnejadmojarad T. Garlic extract reduces serum angiotensin converting enzyme (ACE) activity in nondiabetic and streptozotocin-diabetic rats. *Pathophysiology.* 2007;14(2):109-12.

81. Han C, Liu J, Lin Y. Antihypertensive activities of processed garlic on spontaneously hypertensive rats and hypertensive humans. *Botanical studies* [Internet]. 2011; 52(3):[277-83 pp.]. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/o/cochrane/clcentral/articles/659/CN-00868659/frame.html>.
82. Brankovic S, Radenkovic M, Kitic D, Veljkovic S, Ivetic V, Pavlovic D, et al. Comparison of the hypotensive and bradycardic activity of ginkgo, garlic, and onion extracts. *Clin Exp Hypertens*. 2011;33(2):95-9.
83. Dubey H, Singh A, Patole AM, Tenpe CR, Ghule BV. Allicin, a SUR2 opener: possible mechanism for the treatment of diabetic hypertension in rats. *Rev bras farmacogn*. 1053-9.
84. Baluchnejadmojarad T, Roghani M. Garlic extract attenuates time-dependent changes in the reactivity of isolated aorta in streptozotocin-diabetic rats. *Life Sci*. 2003;73(18):2281-9.
85. Ganado P, Sanz M, Padilla E, Tejerina T. An in vitro study of different extracts and fractions of *Allium sativum* (garlic): vascular reactivity. *J Pharmacol Sci*. 2004;94(4):434-42.
86. Bhatti R, Singh K, Ishar MP, Singh J. The effect of *Allium sativum* on ischemic preconditioning and ischemia reperfusion induced cardiac injury. *Indian J Pharmacol*. 2008;40(6):261-5.
87. Sharma AK, Munajjam A, Vaishnav B, Sharma R, Sharma A, Kishore K, et al. Involvement of adenosine and standardization of aqueous extract of garlic (*Allium sativum* Linn.) on cardioprotective and cardiodepressant properties in ischemic preconditioning and myocardial ischemia-reperfusion induced cardiac injury. *J Biomed Res*. 2012;26(1):24-36.
88. Bordia AK, Sanadhya SK, Rathore AS, Bhu N. Essential oil of garlic on blood lipids and fibrinolytic activity in patients of coronary artery disease. Part I. *J Assoc Physicians India*. 1978;26(5):327-31.
89. Rotzsch W, Richter V, Rassoul F, Walper A. [Postprandial lipemia under treatment with *Allium sativum*. Controlled double-blind study of subjects with reduced HDL2-cholesterol]. *Arzneimittel-Forschung* [Internet]. 1992; 42(10):[1223-7 pp.]. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/o/cochrane/clcentral/articles/681/CN-00089681/frame.html>.
90. Munday JS, James KA, Fray LM, Kirkwood SW, Thompson KG. Daily supplementation with aged garlic extract, but not raw garlic, protects low density lipoprotein against in vitro oxidation. *Atherosclerosis*. 1999;143(2):399-404.
91. Turner B, Mølgaard C, Marekman P. Effect of garlic (*Allium sativum*) powder tablets on serum lipids, blood pressure and arterial stiffness in normo-lipidaemic volunteers: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Br J Nutr*. 2004;92(4):701-6.
92. Gadkari JV, Joshi VD. Effect of ingestion of raw garlic on serum cholesterol level, clotting time and fibrinolytic activity in normal subjects. *J Postgrad Med*. 1991;37(3):128-31.
93. García Gómez LJ, Sánchez-Muniz FJ. Revisión: Efectos cardiovasculares del ajo (*Allium sativum*). *ALAN*. 219-29.
94. Grune T, Scherat T, Behrend H, Conradi E, Brenke R, Siems W. Influence of *Allium sativum* on oxidative stress status - a clinical investigation. *Phytomedicine*. 1996;2(3):205-7.
95. Avci A, Atli T, Ergüder IB, Varli M, Devrim E, Aras S, et al. Effects of garlic consumption on plasma and erythrocyte antioxidant parameters in elderly subjects. *Gerontology*. 2008;54(3):173-6.

96. Ernst E, Weihmayr T, Matrai A. Garlic and blood lipids. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1985;291(6488):139.
97. Kiesewetter H, Jung F, Jung EM, Blume J, Mrowietz C, Birk A, et al. Effects of garlic coated tablets in peripheral arterial occlusive disease. *Clin Investig*. 1993;71(5):383-6.
98. Adler AJ, Holub BJ. Effect of garlic and fish-oil supplementation on serum lipid and lipoprotein concentrations in hypercholesterolemic men. *Am J Clin Nutr*. 1997;65(2):445-50.
99. Bordia A, Verma SK, Srivastava KC. Effect of garlic (*Allium sativum*) on blood lipids, blood sugar, fibrinogen and fibrinolytic activity in patients with coronary artery disease. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 1998;58(4):257-63.
100. Lash JP, Cardoso LR, Mesler PM, Walczak DA, Pollak R. The effect of garlic on hypercholesterolemia in renal transplant patients. *Transplant Proc*. 1998;30(1):189-91.
101. Gardner CD, Chatterjee LM, Carlson JJ. The effect of a garlic preparation on plasma lipid levels in moderately hypercholesterolemic adults. *Atherosclerosis*. 2001;154(1):213-20.
102. Kannar D, Wattanapenpaiboon N, Savage GS, Wahlqvist ML. Hypocholesterolemic effect of an enteric-coated garlic supplement. *J Am Coll Nutr*. 2001;20(3):225-31.
103. Macchiavello N GA. Estudio experimental terapéutico del ajo (*Allium Sativum L.*), sobre los niveles plasmáticos de colesterol, en adultos con hipercolesterolemia Experimental study of therapeutic garlic (*Allium Sativum L.*) on plasma cholesterol levels in adults with hypercholesterolemia. 21-37.
104. Ashraf R, Aamir K, Shaikh AR, Ahmed T. Effects of garlic on dyslipidemia in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Ayub Med Coll Abbottabad*. 2005;17(3):60-4.
105. Jabbari A, Argani H, Ghorbanihaghjo A, Mahdavi R. Comparison between swallowing and chewing of garlic on levels of serum lipids, cyclosporine, creatinine and lipid peroxidation in renal transplant recipients. *Lipids Health Dis*. 2005;4:11.
106. Nouri M, Pipelzadeh MH, Badiei A. A comparative study on the effectiveness of garlic with clofibrate in the treatment of hyperlipidemia. *Journal of Medical Sciences (Taipei, Taiwan)* [Internet]. 2008; 8(1):[85-9 pp.]. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/o/cochrane/clcentral/articles/263/CN-00708263/frame.html>.
107. Mirunalini S, Krishnaveni M, Ambily V. Effects of raw garlic (*Allium sativum*) on hyperglycemia in patients with type 2 diabetes mellitus. *Pharmacologyonline* [Internet]. 2011; 2:[968-74 pp.]. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/o/cochrane/clcentral/articles/069/CN-00890069/frame.html>.
108. Isaacsohn JL, Moser M, Stein EA, Dudley K, Davey JA, Liskov E, et al. Garlic powder and plasma lipids and lipoproteins: a multicenter, randomized, placebo-controlled trial. *Arch Intern Med*. 1998;158(11):1189-94.
109. McCrindle BW, Helden E, Conner WT. Garlic extract therapy in children with hypercholesterolemia. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 1998;152(11):1089-94.
110. Byrne DJ, Neil HA, Vallance DT, Winder AF. A pilot study of garlic consumption shows no significant effect on markers of oxidation or sub-fraction composition of low-density lipoprotein including lipoprotein(a) after allowance for non-compliance and the placebo effect. *Clin Chim Acta*. 1999;285(1-2):21-33.

111. Peleg A, Hershcovici T, Lipa R, Anbar R, Redler M, Beigel Y. Effect of garlic on lipid profile and psychopathologic parameters in people with mild to moderate hypercholesterolemia. *Isr Med Assoc J.* 2003;5(9):637-40.
112. Doorn M, Espirito SS, Meijer P, Kamerling I, Schoemaker R, Dirsch V, et al. Effect of garlic powder on C-reactive protein and plasma lipids in overweight and smoking subjects. *The American journal of clinical nutrition* [Internet]. 2006; 84(6):[1324-9 pp.]. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/o/cochrane/clcentral/articles/335/CN-00574335/frame.html>.
113. Kendler BS. Garlic (*Allium sativum*) and onion (*Allium cepa*): a review of their relationship to cardiovascular disease. *Prev Med.* 1987;16(5):670-85.
114. Sobenin IA, Andrianova IV, Fomchenkov IV, Gorchakova TV, Orekhov AN. Time-released garlic powder tablets lower systolic and diastolic blood pressure in men with mild and moderate arterial hypertension. *Hypertens Res.* 2009;32(6):433-7.
115. Ried K, Frank OR, Stocks NP. Aged garlic extract lowers blood pressure in patients with treated but uncontrolled hypertension: a randomised controlled trial. *Maturitas.* 2010;67(2):144-50.
116. Ried K, Frank OR, Stocks NP. Aged garlic extract reduces blood pressure in hypertensives: a dose-response trial. *Eur J Clin Nutr.* 2013;67(1):64-70.
117. Kojuri J, Vosoughi AR, Akrami M. Effects of anethum graveolens and garlic on lipid profile in hyperlipidemic patients. *Lipids Health Dis.* 2007;6:5.
118. Holzgartner H, Schmidt U, Kuhn U. Comparison of the efficacy and tolerance of a garlic preparation vs. bezafibrate. *Arzneimittelforschung.* 1992;42(12):1473-7.
119. Sobenin IA, Prianishnikov VV, Kunnova LM, Radinovich EA, Orekhov AN. [Reduction of cardiovascular risk in primary prophylaxy of coronary heart disease]. *Klin Med (Mosk).* 2005;83(4):52-5.
120. Kiesewetter H. Long-term effect of garlic powder tablets on the development of plaque formation in the carotid branches of both femoral arteries - a preliminary report. *European Journal of Clinical Research* [Internet]. 1996; 8:[34-5 pp.]. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/o/cochrane/clcentral/articles/916/CN-00295916/frame.html>.
121. Koscielny J, Klüssendorf D, Latza R, Schmitt R, Radtke H, Siegel G, et al. The antiatherosclerotic effect of *Allium sativum*. *Atherosclerosis.* 1999;144(1):237-49.
122. Shouk R, Abdou A, Shetty K, Sarkar D, Eid AH. Mechanisms underlying the antihypertensive effects of garlic bioactives. *Nutr Res.* 2014;34(2):106-15.
123. Ashraf R, Khan RA, Ashraf I, Qureshi AA. Effects of *Allium sativum* (garlic) on systolic and diastolic blood pressure in patients with essential hypertension. *Pak J Pharm Sci.* 2013;26(5):859-63.
124. Qidwai W, Qureshi R, Hasan SN, Azam SI. Effect of dietary garlic (*Allium Sativum*) on the blood pressure in humans--a pilot study. *J Pak Med Assoc.* 2000;50(6):204-7.
125. Luis DAd, Aller R. Ajo y riesgo cardiovascular Garlic and cardiovascular risk. *An Med Interna (Madrid).* 237-40.
126. Ginter E, Simko V. Garlic (*Allium sativum* L.) and cardiovascular diseases. *Bratisl Lek Listy.* 2010;111(8):452-6.

127. Silagy C, Neil A. Garlic as a lipid lowering agent--a meta-analysis. *Journal of the Royal College of Physicians of London* [Internet]. 1994; 28(1):[39-45 pp.]. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/o/cochrane/clcentral/articles/842/CN-00716842/frame.html>.
128. Pizzio VR, Brasileiro BG, Oliveira TT, Nagem TJ. Plantas com possível atividade hipolipidêmica: uma revisão bibliográfica de livros editados no Brasil entre 1998 e 2008 Plants with possible hypolipidemic activity: a review of books published in Brazil between 1998 and 2008. *Rev bras plantas med.*98-109.
129. Qidwai W, Ashfaq T. Role of garlic usage in cardiovascular disease prevention: an evidence-based approach. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013;2013:125649.
130. Reuter HD. *Allium sativum* and *Allium ursinum*: Part 2 pharmacology and medicinal application. *Phytomedicine.* 1995;2(1):73-91.
131. Stevinson C, Pittler MH, Ernst E. Garlic for treating hypercholesterolemia. A meta-analysis of randomized clinical trials. *Ann Intern Med.* 2000;133(6):420-9.
132. Ried K, Toben C, Fakler P. Effect of garlic on serum lipids: an updated meta-analysis. *Nutr Rev.* 2013;71(5):282-99.
133. Zeng T, Guo FF, Zhang CL, Song FY, Zhao XL, Xie KQ. A meta-analysis of randomized, double-blind, placebo-controlled trials for the effects of garlic on serum lipid profiles. *J Sci Food Agric.* 2012;92(9):1892-902.
134. Alder R, Lookinland S, Berry JA, Williams M. A systematic review of the effectiveness of garlic as an anti-hyperlipidemic agent. *J Am Acad Nurse Pract.* 2003;15(3):120-9.
135. McRae M. A review of studies of garlic (*Allium sativum*) on serum lipids and blood pressure before and after 1994: does the amount of allicin released from garlic powder tablets play a role? *Journal of Chiropractic Medicine.* 2005;4(4):182-90.
136. Reinhart KM, Coleman CI, Teevan C, Vachhani P, White CM. Effects of garlic on blood pressure in patients with and without systolic hypertension: a meta-analysis. *Ann Pharmacother.* 2008;42(12):1766-71.
137. Silagy CA, Neil HA. A meta-analysis of the effect of garlic on blood pressure. *J Hypertens.* 1994;12(4):463-8.
138. Ried K, Frank OR, Stocks NP, Fakler P, Sullivan T. Effect of garlic on blood pressure: a systematic review and meta-analysis. *BMC Cardiovasc Disord.* 2008;8:13.
139. Simons S, Wollersheim H, Thien T. A systematic review on the influence of trial quality on the effect of garlic on blood pressure. *Neth J Med.* 2009;67(6):212-9.
140. ANVISA. *Allium sativum* - Bula Profissional de Saúde. Brasília2014.
141. Mennella JA, Beauchamp GK. The effects of repeated exposure to garlic-flavored milk on the nursing's behavior. *Pediatr Res.* 1993;34(6):805-8.
142. Mennella JA, Johnson A, Beauchamp GK. Garlic ingestion by pregnant women alters the odor of amniotic fluid. *Chem Senses.* 1995;20(2):207-9.
143. Snell SB. Garlic on the baby's breath. *Lancet.* 1973;2(7819):43.

144. Borrelli F, Capasso R, Izzo AA. Garlic (*Allium sativum* L.): adverse effects and drug interactions in humans. *Mol Nutr Food Res*. 2007;51(11):1386-97.
145. Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, Antoniotti PL, Falagiani P. A case of garlic allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 1998;101(3):427-8.
146. Jung EM, Jung F, Mrowietz C, Kiesewetter H, Pindur G, Wenzel E. Influence of garlic powder on cutaneous microcirculation. A randomized placebo-controlled double-blind cross-over study in apparently healthy subjects. *Arzneimittelforschung*. 1991;41(6):626-30.
147. Rose KD, Croissant PD, Parliament CF, Levin MB. Spontaneous spinal epidural hematoma with associated platelet dysfunction from excessive garlic ingestion: a case report. *Neurosurgery*. 1990;26(5):880-2.
148. Berthold HK, Sudhop T, von Bergmann K. Effect of a garlic oil preparation on serum lipoproteins and cholesterol metabolism: a randomized controlled trial. *JAMA*. 1998;279(23):1900-2.
149. Piscitelli SC, Burstein AH, Welden N, Gallicano KD, Falloon J. The effect of garlic supplements on the pharmacokinetics of saquinavir. *Clin Infect Dis*. 2002;34(2):234-8.
150. Gallicano K, Foster B, Choudhri S. Effect of short-term administration of garlic supplements on single-dose ritonavir pharmacokinetics in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol*. 2003;55(2):199-202.
151. Petry JJ. Garlic and postoperative bleeding. *Plastic and reconstructive surgery* [Internet]. 1995; 96(2):[483-4 pp.]. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/o/cochrane/clcentral/articles/132/CN-00652132/frame.html>.
152. German K, Kumar U, Blackford HN. Garlic and the risk of TURP bleeding. *Br J Urol*. 1995;76(4):518.
153. Carden SM, Good WV, Carden PA, Good RM. Garlic and the strabismus surgeon. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2002;30(4):303-4.
154. Das I, Khan NS, Sooranna SR. Potent activation of nitric oxide synthase by garlic: a basis for its therapeutic applications. *Curr Med Res Opin*. 1995;13(5):257-63.
155. Williamson EM. Interactions between herbal and conventional medicines. *Expert Opin Drug Saf*. 2005;4(2):355-78.
156. Gwilt PR, Lear CL, Tempero MA, Birt DD, Grandjean AC, Ruddon RW, et al. The effect of garlic extract on human metabolism of acetaminophen. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1994;3(2):155-60.
157. Gurley BJ, Gardner SF, Hubbard MA, Williams DK, Gentry WB, Cui Y, et al. Cytochrome P450 phenotypic ratios for predicting herb-drug interactions in humans. *Clin Pharmacol Ther*. 2002;72(3):276-87.
158. Gurley BJ, Gardner SF, Hubbard MA, Williams DK, Gentry WB, Cui Y, et al. Clinical assessment of effects of botanical supplementation on cytochrome P450 phenotypes in the elderly: St John's wort, garlic oil, Panax ginseng and Ginkgo biloba. *Drugs Aging*. 2005;22(6):525-39.
159. Markowitz JS, DeVane CL, Chavin KD, Taylor RM, Ruan Y, Donovan JL. Effects of garlic (*Allium sativum* L.) supplementation on cytochrome P450 2D6 and 3A4 activity in healthy volunteers. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* [Internet]. 2003; 74(2):[170-7 pp.]. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/o/cochrane/clcentral/articles/289/CN-00474289/frame.html>.

160. Aslam M, Stockley IH. Interaction between curry ingredient (karela) and drug (chlorpropamide). *Lancet*. 1979;1(8116):607.
161. Commission G. List of German Commission E Monographs (Phytotherapy) - Garlic (*Allii sativi bulbos*). 1988.
162. Tomatis I, inventor; PIERRE FABRE DERMO-COSMETIQUE (FR), assignee. Absolutos de bulbos de *Allium sativum* e utilizações a título terapêutico ou cosmético. patent PI 0213204-4 A2.
163. ODAGIU ANTONIA CRISTINA MARIA OIG, RACZ CSABA PAL, PAULETTE LAURA EUGENIA, COVRIG ILIE, TAUT IOAN, BORDEA DANIELA, inventor; TRANSVITAL COSMETICS S R L, assignee. TECHNOLOGY FOR GARLIC ENRICHMENT WITH ORGANIC SELENIUM patent RO20120001005 20121213
164. MARCONE GUIDO DMA, inventor; MARCONE GUIDO, assignee. WATERBORNE EXTRACT DERIVED FROM A PLANT BULB RICH IN SULPHUR SUBSTANCES CONTAINING SELENIUM AND GLUCOSE AND SUPPLEMENTED WITH COPPER SALTS, HAVING PROPERTIES AGAINST TUMORS, FUNGI AND DERMATITIS, INCLUDING AUTOIMMUNE DERMATITIS patent WO2012IB02697 20121213
165. DARABUS GHEORGHE OLI, ILIE MARIUS STELIAN, inventor; UNIV DE STIINTE AGRICOLE SI MEDICINA VETERINARA A BANATULUI TIMI&, assignee. ANTIFUNGAL OINTMENT OF STABILIZED AQUEOUS EXTRACT OF ALLIUM SATIVUM TO BE EMPLOYED IN THE TREATMENT OF DERMATOMYCOSES patent RO20100000654 20100726
166. KIM JUNG IN JSH, KANG MIN JUNG, inventor; UNIV INJE IND ACAD COOPERATION, assignee. COMPOSITION COMPRISING THE SUGARING EXTRACT OF ALLIUM SATIVUM L. FOR LOWERING BLOOD GLUCOSE OR PREVENTING AND TREATING DIABETES MELLITUS patent KR20090017102 20090227.
167. Yazawa Kazuyoshi ST, Fujiwara Chie, inventor; SHONAN INST FOR MEDICAL & PREVENTIVE SCIENCE, assignee. AGENT FOR SUPPRESSING BLOOD PRESSURE ELEVATION patent JP20090077462 20090304, JP 2010202630, 2010-202630.
168. ISABELLE T, inventor; INNOVADERM, TOMATIS ISABELLE, assignee. ALLIUM SATIVUM BULB ABSOLUTES AND THERAPEUTIC OR COSMETIC USES patent WO2002FR03618 20021022
169. NIKOLIC VESNA SM, NIKOLIC LJUBISA, inventor; NIKOLIC VESNA, STANKOVIC MIHAJLO, NIKOLIC LJUBISA, assignee. PREPARATION PROCEDURE FOR GARLIC POWDER (ALLIUM SATIVUM L.) AS A MATERIAL FOR PRODUCTON OF PHYTOPREPARATIONS WITH PHARMACOLOGICAL EFFECT patent YU2003P000551 20030708
170. ISABELLE T, inventor; TOMATIS ISABELLE, PIERRE FABRE DERMO-COSMETIQUE, assignee. ANTIADIPOSE TOPICAL TREATMENT COMPOSITION BASED ON GARLIC BULBS EXTRACTS, AND COSMETIC AND THERAPEUTIC USES patent US20010984037 20011026
171. CHEON JUN KJ, LEE JUNGKU, KIM HANKYEUM, MOON DOOGUN, inventor; CHEON JUN, KIM JEJONG, LEE JUNGKU, KIM HANKYEUM, MOON DOOGUN, assignee. METHOD OF MANUFACTURE OF GARLIC EXTRACT FOR USE AS A PREVENTIVE AND THERAPEUTIC AGENT FOR HUMAN PROSTATE AND BLADDER CANCERS patent US20010971667 20011116

172. MURTHY POTHAPRAGADA SURYANARAY RP, inventor; MURTHY POTHAPRAGADA SURYANARAYANA, RATNAKAR PATTI, assignee. PROCESS FOR PREPARATION OF CHOLESTEROL LOWERING COMPOSITIONS FROM GARLIC patent US20020270742 20021011.
173. Yamashita Hiroshi TS, inventor; KOWA CO, assignee. MEDICINE FOR PROPHYLAXIS OF SEPTIC SHOCK patent JP20060239962 20060905, JP 2008063238, 2008-063238
174. HIROSHI Y, YUKINORI A, SOHEI T, + IT, inventors; KOWA CO, assignee. DRUG FOR PREVENTING AND TREATING FATTY LIVER patent JP20050065675 20050309, JP 2006248939, 2006-248939.
175. Suri Sanjay SJ, Dhuppad Ulhas, Bhatham A K, inventor; MOREPEN LAB LTD, SURI SANJAY, SINGH J, DHUPPAD ULHAS, BHATHAM A K, assignee. METHOD OF PREPARING GARLIC OINTMENT AND GARLIC OINTMENT COMPOSITION FOR TOPICAL USE IN SKIN INFECTIONS patent WO2001IN00098 20010504.
176. Efthymia M, Panagiotis F, inventors; ONASEIO KARDIOCHEIROURGIKO KEN; MELISSARI EFTHYMIA; FATSEAS PANAGIOTIS +, assignee. POWERFUL ANTICOAGULANT AND ANTI-BLOOD-PLATELET DRUG FOR ISCHAEMIC CARDIOPATHY A POTENT ANTICOAGULANT AND ANTIPLATELET SUBSTANCE FOR ISCHEAMIC CARDIOVASCULAR DISORDES patent GR20000100148 20000425.
177. ; KENICHIRO KUBOTA, assignee. A METHOD OF MANUFACTURING FROM GARLIC AN INJECTION FOR TUBERCULOSIS patent GB19250028787 19251114.
178. ROLF D, inventor; CHIMICASA GMBH, assignee. PHARMACEUTICAL PREPARATION FOR THE TREATMENT OF LIPID METABOLISM DISORDERS (HYPERLIPOPROTEINEMIA) patent EP19860116933 19861205.
179. AYE ROLF-DIETER MB, THIENEL CAROLA, inventor; LICHTWER PHARMA GMBH, assignee. GARLIC EXTRACTS CONTG. ALLIINASE - HAVE IMPROVED THERAPEUTIC ACTIVITY FOR TREATING HYPERTENSION, ARTERIOSCLEROSIS, DIARRHOEA, INTESTINAL WORMS ETC. patent DE19904012884 19900423.
180. HIROMI F, inventor; KENKO KAZOKU, assignee. PROPHYLACTIC AND/OR THERAPEUTIC COMPOSITION FOR HYPERTENSION COMPRISING COMPONENT OF GARLIC (ALLIUM SATIVUM L.) patent JP 2007016026, 2007-016026.
181. Azizkhani, Behnam, inventors; Azizkhani; Behnam, assignee. HERPES TREATMENT patent 8,778,421.
182. Ott D, inventor; Allium Vitalis Incorporated (Berkeley, CA), assignee. ORGANOSULFUR PRODRUGS FOR THE PREVENTION AND TREATMENT OF INFECTIOUS DISEASES patent 8,222,299.
183. Hermes R, inventor; The United States of America as represented by the United States (Washington, DC), assignee. ANTITHROMBOGENIC AND ANTIBIOTIC COMPOSITION AND METHODS OF PREPARATION THEREOF patent 4,917,921.