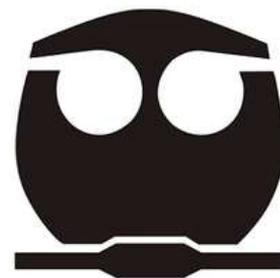




**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO**



**FACULTAD DE QUÍMICA**

**EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS ANTICANCERÍGENOS DE  
LOS COMPONENTES Y BIODERIVADOS DEL AJO**

**Trabajo Monográfico de Actualización**

Que Para Obtener el Título de

**QUÍMICA DE ALIMENTOS**

**PRESENTA**

Ivia Kalinova Jelezova

**DIRECTOR DE TESIS**

Dr. José Pedraza Chaverri

**Ciudad Universitaria, Cd. Mx. 2022**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** PEDRAZA CHAVERRI JOSE

**VOCAL:** DIAZ RUIZ GLORIA

**SECRETARIO:** DIMITROVA DINKOVA TZVETANKA

**1er. SUPLENTE:** RAMIREZ CAHERO HIRAM FERNANDO

**2do. SUPLENTE:** MUÑOZ CLARES ADELAIDA

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**Laboratorio 315, Edificio F, 2° Piso, Facultad de Química, Exterior S/N,  
Coyoacán, Cd. Universitaria, C.P. 04510, Ciudad de México.**

**ASESOR DEL TEMA:** Dr. José Pedraza Chaverri

**SUSTENTE:** Ivia Kalinova Jelezova

## Contenidos

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS .....	5
LISTA DE ABREVIATURAS.....	7
RESUMEN.....	10
OBJETIVO GENERAL .....	11
OBJETIVOS PARTICULARES.....	11
1. AJO.....	12
1.1 Vegetales de la familia <i>Allium</i> .....	12
1.2 Ajo ( <i>Allium sativum</i> ).....	14
1.3 Ajo y el cáncer .....	15
2. CONSTITUYENTES DEL AJO.....	18
2.1 Compuestos bioactivos del ajo .....	18
2.1.1 Compuestos azufrados .....	21
2.1.2 Compuestos no azufrados .....	24
2.2 Consumo y métodos de extracción de los compuestos bioactivos del ajo .....	26
2.2.1 Ajo cocido .....	28
2.2.2 Ajo en polvo .....	28
2.2.3 Aceite esencial de ajo .....	28
2.2.4 Ajo negro (BG) .....	28
2.2.5 Extracto de ajo envejecido (AGE) .....	29
3. AJO COMO ALIMENTO QUIMIOPREVENTIVO .....	31
3.1 Propiedades anticancerígenas .....	31
3.2 Mecanismos anticáncer de los compuestos bioactivos del ajo.....	32
3.2.1 Acciones antiproliferativas.....	34
3.2.2 Acciones antioxidantes.....	34
3.2.3 Acciones inhibitoras de mutagénesis .....	34
3.2.4 Acciones de detención del ciclo celular .....	35
3.2.5 Acciones pro-apoptóticas .....	35
3.2.6 Acciones preventivas del estrés oxidativo .....	36
3.2.7 Acciones de inhibición de crecimiento tumoral .....	36
3.3 Efectividad sobre diferentes tejidos .....	37
3.3.1 Cáncer pulmonar.....	39
3.3.2 Cáncer de esófago.....	40
3.3.3 Cáncer de piel.....	40
3.3.4 Cáncer de mama.....	41
3.3.5 Cáncer de hígado.....	41

3.3.6 Cáncer de tiroides .....	42
3.3.7 Osteosarcoma.....	42
3.3.8 Cáncer colorrectal .....	43
3.3.9 Cáncer de próstata.....	43
3.3.10 Cáncer de colon.....	44
3.3.11 Leucemia .....	44
4. USO DEL AJO EN EL TRATAMIENTO CONTRA EL CÁNCER.....	46
4.1 Propiedades del uso del ajo como tratamiento contra el cáncer .....	46
4.2 Perspectivas del uso del ajo contra el cáncer .....	47
4.3 Desarrollo de medicamentos y suplementos .....	48
5. CONCLUSIONES .....	48
6. BIBLIOGRAFÍA .....	49

## ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

### Figuras.

<i>Figura 1.</i> Vegetales del género <i>Allium</i> y sus constituyentes; compuestos organosulfurados (OSCs) .....	12
<i>Figura 2.</i> Estructuras químicas de compuestos organosulfurados (OSCs) derivados del ajo.....	14
<i>Figura 3.</i> Contenido de compuestos bioactivos y compuestos organosulfurados (OSCs) al procesar ajo crudo .....	16
<i>Figura 4a.</i> Gráfico de respuesta fluorescente del marcador 7-azida-4-metilcumarina (AzMC) en presencia de ácido sulfhídrico (H <sub>2</sub> S) contra tiempo en condiciones de normoxia .....	23
<i>Figura 4b.</i> Gráfico de respuesta fluorescente del marcador 7-azida-4-metilcumarina (AzMC) en presencia de ácido sulfhídrico (H <sub>2</sub> S) contra tiempo en condiciones de hipoxia .....	23
<i>Figura 5.</i> Flavonoides que se encuentran en mayor cantidad en el ajo .....	25
<i>Figura 6.</i> Diagrama de obtención de distintos compuestos azufrados a partir del ajo.....	27
<i>Figura 7.</i> Diagramas de distintas rutas antiproliferativas, antioxidantes, de inhibición de mutagénesis, de detención del ciclo celular, de apoptosis, de prevención de estrés oxidativo e inhibición de crecimiento tumoral efectuadas por OSCs.....	33
<i>Figura 8.</i> Diagrama de acciones anticancerígenas promovidas por compuestos organosulfurados (OSCs) encontrados en el ajo .....	37

## **Tablas.**

<i>Tabla 1.</i> Tabla de efectos en el contenido de OSCs y compuestos bioactivos no OSCs en el ajo de procedimientos pre-cosecha y post-cosecha .....	19
<i>Tabla 2.</i> Ejemplos de diferentes presentaciones de ajo y su contenido de compuestos azufrados .....	29
<i>Tabla 3.</i> Mecanismos y blancos de OSCs en diferentes tipos de cáncer .....	38
<i>Tabla 4.</i> Vías de OSCs por medio de la variación de proteínas presentes en la proliferación y propagación de cáncer .....	44

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>Abreviatura</b>	<b>Significado</b>
<b>γ-H2AX</b>	Variante de histona de la familia H2A fosforilada
<b>ADN</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>AGE</b>	Extracto de ajo envejecido
<b>AKT</b>	Proteína cinasa B
<b>AMS</b>	Alil metil sulfuro
<b>AMT</b>	Alil metil trisulfuro
<b>Atg7</b>	Proteína relacionada a la autofagia 7
<b>AzMC</b>	7-azida-4-metilcumarina
<b>Bax</b>	Bcl-2 homóloga 4
<b>Bcl-2</b>	Proteína de linfoma de células B2
<b>Beclin-1</b>	Proteína de mamíferos ortóloga a gen 6 relacionado a la autofagia
<b>BG</b>	Ajo negro
<b>BP</b>	Benzo[a]pireno
<b>CAT</b>	Catalasa
<b>Cdc25C</b>	Fosfatasa inductora de la fase M
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dióxido de carbono
<b>COX</b>	Prostaglandina-endoperóxido sintasa
<b>CSC</b>	Células madre cancerosas
<b>DADS</b>	Dialil disulfuro
<b>DAS</b>	Dialil sulfuro
<b>DATS</b>	Dialil trisulfuro
<b>DMBA</b>	7,12-dimetilbenz[a]antraceno
<b>DMLLE</b>	Microextracción dispersa líquido-líquido
<b>FOXM1</b>	Forkhead M1

<b>GPx</b>	Glutación peroxidasa
<b>GR</b>	Glutación reductasa
<b>GRP78</b>	Proteína de fijación de inmunoglobulina
<b>GSH</b>	Glutación
<b>GST</b>	Glutation-S-transferasa
<b>H2AX</b>	Histona de la familia H2A
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peróxido de hidrógeno
<b>HPLC-UV</b>	Cromatografía de líquidos de alta eficiencia con detector de espectro ultravioleta
<b>H<sub>2</sub>S</b>	Ácido sulfhídrico
<b>IL-6</b>	Interleucina 6
<b>IL-10</b>	Interleucina 10
<b>JNK</b>	c-Jun NH <sub>2</sub> -terminal cinasa
<b>LOX</b>	Lipoxigenasa
<b>MAPK</b>	Proteína cinasa activada por mitógenos p38
<b>mTOR</b>	Proteína cinasa diana de rapamicina de mamíferos
<b>miARN</b>	Micro ARN
<b>miARN-134</b>	Micro ARN 134
<b>NF-κB</b>	Factor nuclear kappa B
<b>NO</b>	monóxido de nitrógeno
<b>O<sub>2</sub></b>	Oxígeno
<b>OSCs</b>	Compuestos organosulfurados
<b>p-AMPK</b>	fosfo-proteína cinasa activada por monofosfato de adenosina
<b>PI3K</b>	Fosfoinositol 3-cinasa
<b>PKM2</b>	Piruvato cinasa M2
<b>POD</b>	Peroxidasa
<b>QR</b>	Quinona reductasa

<b>ARN</b>	Ácido ribonucleico
<b>ROS</b>	Especies reactivas de oxígeno
<b>SAC</b>	S-alil-cisteína
<b>SAMC</b>	S-alil-mercapto-cisteína
<b>SOD</b>	Superóxido dismutasa
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Factor de necrosis tumoral alfa
<b>TSC2</b>	Complejo de esclerosis tuberosa 2
<b>ZnSO<sub>4</sub></b>	Sulfato de zinc

## RESUMEN

La familia de vegetales *Allium* está conformada por la cebolla, los cebollines, los echalotes, el poro y el ajo, por mencionar algunos de los miembros más destacados de esta familia. Los vegetales *Allium* han sido empleados no sólo como especias o productos culinarios, sino que han sido empleados en muchas civilizaciones por sus propiedades benéficas para la salud. Estas propiedades están relacionadas con el alto contenido de compuestos organosulfurados (OSCs), los cuales se encuentran presentes en todos los vegetales *Allium* pero especialmente en el ajo.

El ajo ha sido ampliamente usado debido a sus propiedades benéficas al tratar enfermedades cardiovasculares, infecciones e incluso cáncer. El ajo está constituido por una gran cantidad de biocompuestos, tanto OSCs como no OSCs, de los cuales la aliína, flavonoides, polifenoles, saponinas y polisacáridos son los que destacan.

Los biocompuestos OSCs y no OSCs del ajo han demostrado tener propiedades antiinflamatorias, antipiréticas, antimicrobianas, vermífugas, etc. La aplicación del ajo como alimento coadyuvante en el tratamiento del cáncer se ve limitado debido a la cantidad de biocompuestos disponibles.

Los compuestos OSCs derivados de la degradación de la aliína son principalmente compuestos alil sulfurados (dialil sulfuro (DAS), dialil disulfuro (DADS), dialil trisulfuro (DATS)) y compuestos solubles en agua (S-alil-cisteína (SAC) y S-alil-mercaptocisteína (SAMC)), los cuales han presentado actividades anticancerígenas. Aunque no se conoce la manera directa en la cual estos compuestos presentan sus propiedades benéficas, se sabe que se descomponen en ácido sulfhídrico (H<sub>2</sub>S) el cual juega un papel muy importante en el desarrollo y prevención contra el cáncer.

El ajo, así como sus constituyentes individuales, han sido suministrados en múltiples líneas de cáncer mostrando efectos antiproliferativos, preventivos y de tratamiento disminuyendo la población de células cancerígenas. Este conjunto de acciones resultan en efectos quimiopreventivos en líneas celulares de cáncer pulmonar, esófago, piel, mama, hígado, tiroides, osteosarcoma, colorrectal, próstata, colon y leucemia.

Al realizar la búsqueda de información sobre los efectos anticancerígenos del ajo se encontró que, pese a tener evidentes efectos positivos en el tratamiento contra el cáncer e incluso efectos benéficos en células sanas, el uso del ajo y sus

constituyentes en tratamientos médicos queda limitado a la realización de estudios clínicos en humanos representativos.

### **OBJETIVO GENERAL**

Obtener información bibliográfica, con la ayuda de motores de búsqueda científica, de las propiedades anticancerígenas de los componentes del ajo.

### **OBJETIVOS PARTICULARES**

A partir de la información obtenida, entender los mecanismos por los cuales los compuestos bioactivos del ajo presentan propiedades anticancerígenas.

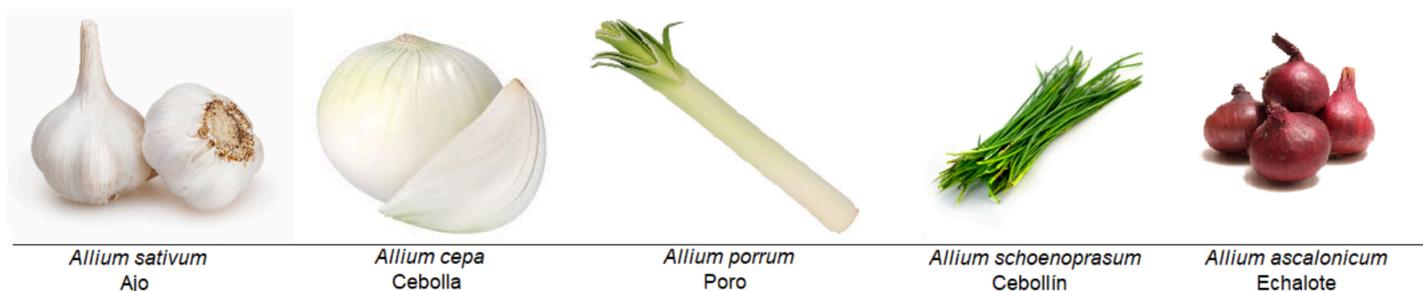
En base a los biocompuestos y mecanismos encontrados, se pueden vislumbrar los avances más actuales en la aplicación de compuestos bioactivos, así como de distintas presentaciones de ajo, en el tratamiento contra el cáncer.

# 1. AJO

## 1.1 Vegetales de la familia *Allium*

La familia de vegetales *Allium* está conformada por más de 500 especies, de las cuales destacan las especies *Allium cepa* (cebolla), *Allium sativum* (ajo), *Allium porrum* (poro), *Allium schoenoprasum* (cebollín) y *Allium ascalonicum* (echalote) por ser las más consumidas; el estudio de esta familia de vegetales se ha hecho notar y se ha ido acrecentando en los últimos años debido a que se ha encontrado que, en menor o mayor forma, el consumo de estos vegetales puede tener un efecto positivo en el tratamiento contra el cáncer.

Todos los vegetales *Allium* están constituidos por especies orgánicas que contienen al menos un átomo de azufre, por lo que estos son denominados compuestos organosulfurados (OSCs); estos compuestos son las especies químicas a las cuales se les atribuye su sabor y olor característico así como sus propiedades quimiopreventivas en el tratamiento contra el cáncer, además de contener en su composición un amplio rango de biocompuestos que pueden impulsar o incrementar estas propiedades quimiopreventivas y benéficas a la salud (Ernst, 1997; Bianchini y Vainio, 2001; Sengupta, 2004) (**Figura 1**).



<ul style="list-style-type: none"> <li>-Usado como especia desde tiempos inmemoriales.</li> <li>-Importante constituyente de la medicina china.</li> <li>-Constituido por OSCs, los cuales son los compuestos especulados de los cuales obtiene sus propiedades quimiopreventivas.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Originaria de Eurasia y actualmente cultivada en todo el mundo.</li> <li>-Ha sido consumida por sus propiedades medicinales, así como alimentarias.</li> <li>-Constituida por OSCs y flavonoides.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Vegetal de sabor terroso y fragancia ligera en comparación a sus congéneres.</li> <li>-Al ser de la familia <i>Allium</i> contiene OSCs al igual que el ajo y la cebolla pero en cantidades menores.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Es una verdura fragante con un sabor ligero a cebolla.</li> <li>-Es muy popular en Europa central y del oeste.</li> <li>-De composición semejante a sus congéneres el ajo y la cebolla.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Su sabor es mucho menos pungente que sus congéneres.</li> <li>-Además de la composición general de los vegetales <i>Allium</i>, se ha encontrado que contiene grandes cantidades de fitoquímicos.</li> </ul>
---	--	---	--	--

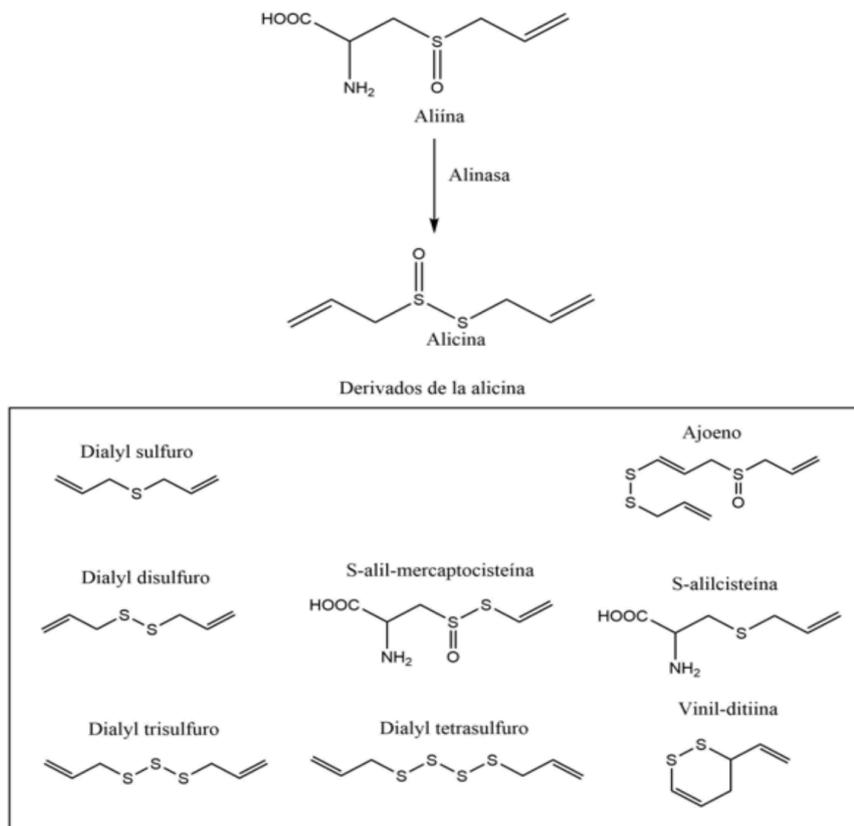
-Sus metabolitos generan compuestos alil sulfurados, los cuales se especula tienen mayor actividad preventiva contra el cáncer.	-A diferencia del ajo, no genera compuestos alil sulfurados pero la presencia de quercetina es la principal responsable de sus efectos benéficos.	-En su composición se han encontrado cinco flavonoides glicosídicos.	-En su composición se ha encontrado vitamina A y C.	
---	---	--	---	--

**Figura 1.** Vegetales del género *Allium* y sus constituyentes; compuestos organosulfurados (OSCs). (Sengupta, 2004).

De los cinco vegetales de la familia *Allium* ya mencionados, el ajo y la cebolla han sido aquellos que han destacado sobre el resto de los pertenecientes a la misma familia.

La cebolla tiene efectos positivos en el tratamiento contra el cáncer debido a que, en su composición, contiene OSCs tales como sulfóxidos de alk(en)ilcisteína, sulfóxido de S-propenilcisteína, sulfóxido de S-metilcisteína y flavonoides tales como la quercetina. Estos compuestos han demostrado tener efectos positivos, al administrar aceite de cebolla en estudios *in vivo*, como fueron efectos antimutagénicos, antioxidantes y antiinflamatorios. La aplicación de constituyentes individuales, tales como la quercetina, de forma intraperitoneal demostró tener efectos antitumorales en tumores ascíticos y abdominales. Así mismo, en estudios *in vitro* se observó la activación de enzimas antioxidativas (Sengupta *et al.*, 2004).

El ajo, debido a que es el vegetal del género *Allium* que más OSCs contiene y produce en su metabolización (**Figura 2**), es el vegetal de mayor interés en la lista de los cinco mencionados anteriormente; el ajo ha sido utilizado ampliamente por sus antecedentes como agente vermífugo, antiséptico, agente antimicrobiano, antipirético y analgésico.



**Figura 2.** Estructuras químicas de compuestos organosulfurados (OSCs) derivados del ajo. Modificado de (García y Sánchez-Muniz, 2000).

Así como la cebolla, múltiples OSCs derivados de la metabolización del ajo se especula son agentes quimiopreventivos en múltiples tipos de cáncer debido a su acción en diferentes etapas de la carcinogénesis (iniciación, propagación y proliferación) así como por la acción por distintas vías de prevención y antiproliferación (Ernst, 1997; Bianchini y Vainio 2001; Sengupta, 2004).

Debido a que los OSCs derivados de la metabolización del ajo son aquellos que han presentado la mayor cantidad de efectos benéficos así como actividades preventivas en un amplio rango de etapas de la carcinogénesis, la recopilación de información bibliográfica sobre los beneficios de los OSCs así como biocompuestos no OSCs obtenidos de vegetales del género *Allium* planteada en este trabajo se centrará en el ajo.

## 1.2 Ajo (*Allium sativum*)

El ajo es una planta de nombre científico *Allium sativum* (*all*: ardiente o caliente, *sativum*: cultivado), la cual es originaria de Asia central y se encuentra entre las plantas cultivadas más antiguas del mundo. Más que un potente ingrediente culinario, el ajo se ha adoptado por siglos en la terapia y prevención de una amplia gama de

enfermedades, incluidas las enfermedades cardíacas, las infecciones y el cáncer en muchas civilizaciones como Egipto, Grecia, Roma, China e India. Los vegetales del género *Allium* contienen una gran variedad de compuestos bioactivos tales como flavonoides, oligosacáridos, arginina y selenio. La reputación del ajo como alimento y suplemento para la salud se basa principalmente en la presencia de compuestos de azufre reactivos, los cuales representan aproximadamente el 1% de su peso seco, de los cuales, el que se encuentra en mayor cantidad es la aliína (García y Sánchez-Muniz, 2000; Czepukojc *et al.*, 2014; Nicastro *et al.*, 2015). Varios estudios epidemiológicos sugieren que el consumo de ajo reduce el riesgo de ciertos tipos de cáncer, incluidos los del tracto gastrointestinal (Dorant *et al.*, 1993; Steinmetz *et al.*, 1994).

### **1.3 Ajo y el cáncer**

Desde hace mucho tiempo, la humanidad ha conocido los beneficios medicinales del ajo debido al extenso uso que se le ha dado en diferentes culturas. En tiempos recientes se ha propuesto estudiar, bajo criterio científico, cuál es su mecanismo de acción (García y Sánchez-Muniz, 2000). Para poder estudiar más a fondo sus propiedades, primero se aislaron los compuestos presentes en el ajo. Al aislar estos compuestos se observó que una gran cantidad de ellos son compuestos alil sulfurados, todos derivados de la aliína. La formación de estos compuestos alil sulfurados y especies solubles en agua se debe al procesamiento del ajo el cual, al ser cortado, masticado o triturado, produce una enzima que transforma esta materia prima en compuestos hidrosolubles y liposolubles; la enzima encargada de este proceso se llama alinasa (**Figura 3**).



**Figura 3.** Contenido de compuestos bioactivos y compuestos organosulfurados (OSCs) al procesar ajo crudo (Nicastro *et al.*, 2015).

Los estudios en animales han proporcionado evidencia convincente de que el ajo y sus OSCs inhiben la carcinogénesis a través de una serie de eventos que incluyen la inducción de la apoptosis, la inhibición de la proliferación celular, la eliminación de especies reactivas de oxígeno (ROS) aumentando las actividades de enzimas como la glutatión S-transferasa (GST) y reduciendo el tamaño del tumor (Farhat *et al.*, 2021).

Si bien queda por determinar qué constituyente o constituyentes dentro de los vegetales *Allium* son los responsables de las propiedades anticancerígenas propuestas así como sus mecanismos de acción, existe una gran cantidad de evidencia que sugiere que los OSCs están involucrados en diferentes etapas de la carcinogénesis. A pesar de tener conocimiento sobre las especies azufradas que son obtenidas al metabolizar el ajo y su papel anticancerígeno, no se tienen en claro de qué forma interactúan en las distintas etapas de iniciación, proliferación y propagación de células tumorales (Ernst, 1997; Bianchini y Vainio, 2001; Herman-Antosiewicz *et al.*, 2004; Jones *et al.*, 2004; Sengupta, 2004). Los OSCs modulan la actividad de varias enzimas metabolizantes que activan carcinógenos por medio del citocromo P450s o desintoxican por medio de enzimas GST's e inhiben la formación

de aductos de ácido desoxirribonucleico (ADN) en varios tejidos blanco. Se ha descrito actividad antiproliferativa en varias líneas de células tumorales, posiblemente mediada por la inducción de apoptosis y alteraciones del ciclo celular (Melino *et al.*, 2010; Omar y Al-Wabel, 2010). Estudiar y recopilar información del uso medicinal del ajo como alimento con propiedades quimiopreventivas es de importancia para conocer los efectos dentro del cuerpo así como las vías de acción en la célula. De comprender el mecanismo de prevención así como las sustancias involucradas, ayudaría a desarrollar un tratamiento preventivo para personas susceptibles a padecer cáncer. Por ejemplo, al entender el mecanismo del efecto observado en promoción de apoptosis, los OSCs pudieran ser empleados en el tratamiento contra el cáncer ya que funcionaría como un medicamento auxiliar (De Greef *et al.*, 2021). Conocer los beneficios del ajo en la salud puede ayudar a prevenir y tratar el cáncer, se obtiene un tratamiento alternativo el cual puede implementarse en la dieta de la población. Además de sus usos como agente preventivo del cáncer, se documentan sus propiedades medicinales en general, impulsando su consumo para el beneficio de la salud de quien lo ingiere (De Greef *et al.*, 2021).

Se ha demostrado que estos compuestos, al ser probados *in vitro* e *in vivo*, presentan propiedades inhibitoras de muchos procesos de la carcinogénesis. Muchos de los miembros de la familia *Allium* contienen compuestos azufrados, pero el ajo es el que se destaca al tener la mayor cantidad comparado a cualquier otro vegetal (Dorant *et al.*, 1993; Ernst, 1997; Bianchini y Vainio, 2001; Jones *et al.*, 2004; Sengupta, 2004). Aunque en la mayoría de los estudios se ha descrito el consumo de ajo en su forma cruda, también se ha determinado cómo afecta a sus propiedades su consumo en forma cocida y en forma de ajo negro (Locatelli *et al.*, 2015; Kimura *et al.*, 2017). En estos estudios se observó que, aunque algunos compuestos decrecieron en concentración, cocinar y envejecer el ajo ayudan a aumentar la cantidad de polisulfuros y antioxidantes contenidos en el ajo. Al tener más presentaciones de ajo para consumo, conservando sus propiedades medicinales, ayudaría a facilitar su integración a una dieta diaria.

La principal interrogante a resolver en el uso del ajo como coadyuvante en el tratamiento contra el cáncer, así como su uso como agente preventivo es si los estudios realizados hasta la fecha permiten extrapolar los resultados obtenidos con animales e *in vitro* a tratamientos dirigidos a humanos. Por ejemplo, en múltiples estudios, las cantidades empleadas en animales, al ser extrapoladas a las cantidades

necesarias para poder tener efectos antitumorales así como antiproliferativos en humanos, resultan en consumos irreales de ajo así como de constituyentes individuales. Por otra parte, al no conocer la farmacocinética de los constituyentes y su metabolización, se plantea un problema de adaptación de tratamientos efectivos; al ser los estudios poco selectivos, es necesario crear protocolos que eliminen todo tipo de sesgo por omisión de información, así como la toma de criterios más estrictos al no recaer sólo en la memoria de los sujetos estudiados para obtener información relevante así como excluir la posible influencia de otros alimentos con efectos benéficos como frutas y vegetales de otras familias (Ernst, 1997; Bianchini y Vainio, 2001; Herman-Antosiewicz *et al.*, 2004; Sengupta, 2004). Para poder obtener datos objetivos libres de sesgo es necesario plantear un estudio en el que el seguimiento de casos sea intencionado y puntual, en donde se asegure que el único alimento que pueda presentar propiedades anticancerígenas consumido sea el ajo y se lleve un control estricto de la alimentación de los pacientes a fin de obtener resultados verídicos.

## **2. CONSTITUYENTES DEL AJO**

### **2.1 Compuestos bioactivos del ajo**

Como ya se ha mencionado, el ajo es rico en una gran variedad de compuestos a los cuales se les atribuyen propiedades antiinflamatorias, antipiréticas, antimicrobianas, vermífugas, etc. Además de los compuestos OSCs son aquellos a los que se les atribuyen las propiedades quimiopreventivas, el ajo contiene flavonoides, vitaminas B y C, antioxidantes y minerales, los cuales en conjunto otorgan todas las propiedades benéficas al ajo (Martins *et al.*, 2016).

Para poder implementar al ajo en una dieta benéfica para la salud es indispensable saber escoger la presentación de ajo a consumir, ya que debido a su origen y forma de procesamiento, puede variar la cantidad de compuestos bioactivos que este contiene.

El contenido de OSCs así como de biomoléculas no OSCs varían de la región del mundo que provienen ya que varía su genotipo, lo cual determina la cantidad de sulfóxido de alil-cisteína y de fenoles así como de su composición química total. Se ha observado que, dependiendo de la región de origen de cultivo, el contenido de OSCs puede variar al aumentar o disminuir la cantidad de aliína presente en los dientes de ajo. Esto plantea un problema en la recomendación y uso del ajo como

alimento coadyuvante a enfermedades debido a que, dependiendo de la región del mundo en la que se viva, será la cantidad de OSCs que el ajo fresco tendrá y los efectos benéficos que podrá otorgar. Más allá del contenido intrínseco de OSCs que contienen las variantes regionales del ajo, se es posible aumentar el contenido de estos compuestos bioactivos al cuidar la forma de cultivo, cosecha y procesamiento del ajo; si se posponen las fechas de cultivo, se aumenta la cantidad de nitrógeno y azufre en el abonado, se almacena y trata el ajo a temperaturas de 5°C y pH que oscilen de 4 a 4.8, se limita su almacenaje a 8 semanas máximo y se controla la atmósfera en la que se encuentra, es posible propiciar un aumento en los OSCs y la cantidad de compuestos bioactivos OSCs de cualquier variante regional (Martins *et al.*, 2016). Así mismo, su procesamiento determina la cantidad de compuestos presentes en este, la disminución o aumento de OSCs, la pérdida de flavonoides o su ganancia (**Tabla 1**), etc. Aunado a esto, se ha observado que el cultivar o procesar el ajo de manera intensiva, convencional u orgánicamente no afecta en el contenido de OSCs y compuestos bioactivos (Martins *et al.*, 2016; Martínez-Casas *et al.*, 2017).

**Tabla 1.** Tabla de efectos en el contenido de OSCs y compuestos bioactivos no OSCs en el ajo de procedimientos pre-cosecha y post-cosecha (Martins *et al.*, 2016).

	<i>Etapa de cultivo y procesamiento</i>	<i>Efectos en el contenido de compuestos bioactivos</i>
<b>Pre-cosecha</b>	<i>Genotipo</i>	-Al ser propagado asexualmente, es fácil conservar la composición química entre generaciones de cultivos. -Dependiendo la región, el contenido de aliína y fenoles totales, así como de flavonoides y vitamina C, cambia dependiendo la región y tipo de ajo.
	<i>Condiciones de crecimiento</i>	-Dependiendo la zona de cultivo, el contenido de OSCs, polisacáridos y ácidos contenidos en el ajo puede variar. -Gracias a la interacción entre el genotipo y las condiciones de crecimiento, el análisis de la composición del ajo puede ayudar a determinar el lugar de origen del ajo así como su lugar de cultivo.
	<i>Irrigación</i>	-A pesar de que no se tiene registro de cambios en la composición química, una disminución del 40% en el contenido de agua en el suelo de cultivo demostró un cambio en los antioxidantes contenidos en el ajo y una disminución en la actividad de enzimas antioxidantes tales como CAT, GR, GST, POD y SOD.

	<i>Fertilización</i>	<p>-Se ha observado que, al abonar los cultivos de ajo con azufre en forma de ZnSO<sub>4</sub> o vermicomposta, el contenido de aliína se incrementa.</p> <p>-También se ha observado que ayuda con el incremento de polisacáridos y polifenoles.</p>
	<i>Otros factores</i>	<p>-La aliína es sintetizada en las hojas del ajo para posteriormente migrar al bulbo. Para poder obtener la mayor cantidad de aliína posible se recomienda cosechar tiempo después de su fecha esperada y cultivar en épocas tardías como Diciembre.</p>
<b>Post-cosecha</b>	<i>Procesado</i>	<p>-Debido al procesamiento llevado a cabo (macerado, extracción, blanqueado, envejecimiento, preparación de aceites etc.) es posible obtener uno u otro OSC en la preparación de ajo escogida.</p> <p>-Los OSCs contenidos en el ajo son más sensibles a los tratamientos de procesamiento debido a que se derivan de la aliína, la cual es muy inestable. Para poder obtener uno u otro compuesto es necesario saber el proceso correcto para evitar su descomposición.</p>
	<i>Almacenado</i>	<p>-Después de su cosecha es importante mantener los productos derivados del ajo en condiciones óptimas para no perder sus propiedades benéficas así como organolépticas.</p>
	<i>Tiempo</i>	<p>-A pesar de tener un tiempo máximo recomendado de 8 semanas de almacenaje, se ha demostrado que el contenido de polifenoles y antioxidantes aumenta con respecto al tiempo de almacenaje.</p> <p>-El problema de almacenar el ajo más de 8 meses es que puede desarrollar coloraciones poco agradables, por lo que el tiempo de procesado debe ser lo más pronto posible a la cosecha.</p> <p>-Dependiendo de las características deseadas, el almacenaje puede durar más o menos tiempo del tiempo recomendado.</p>
	<i>Temperatura</i>	<p>-El almacenaje debe realizarse a temperaturas bajas, recomendablemente 5°C.</p> <p>-A estas temperaturas se favorece la formación de aliína, isoaliína y metiína.</p>
	<i>pH</i>	<p>-El pH de almacenamiento así como de cultivo es muy importante debido a que la alinasa, la enzima encargada de degradar la aliína a toda la variedad de OSCs del ajo, sólo está activa en rangos de 4 a 4.8.</p> <p>-Dependiendo la forma de cultivo y procesamiento de ajo fresco se puede afectar la cantidad de compuestos bioactivos disponibles ya que, al obtener un pH muy alcalino (por arriba de 4.8) o muy ácido (por debajo de 4) se disminuye la cantidad de OSCs disponibles.</p>
	<i>Atmósfera modificada</i>	<p>-Al realizar estudios comparativos de almacenaje, se encontró que las condiciones óptimas de atmósfera para el almacenaje de ajo eran cuando la atmósfera está compuesta por 5-15% CO<sub>2</sub> y 1-3% de O<sub>2</sub>.</p>

	Curado	<p>-El curado es un proceso térmico el cual ha presentado efectos positivos en la calidad de frutos sin afectar la acidez o el índice de color de estos.</p> <p>-Es una técnica de procesamiento el cual, puede ayudar a mejorar las propiedades organolépticas del ajo y puede contribuir a extender su tiempo de almacenaje.</p> <p>-A pesar de que aún no se cuenta con evidencia suficiente para realizar una recomendación de uso, se ha observado que el curar ajo puede fomentar la formación de OSCs específicos así como la descomposición de otros.</p>
--	--------	---

\*Compuestos organosulfurados (OSCs), catalasa (CAT), glutatión reductasa (GR), glutatión S-transferasa (GST), peroxidasa (POD), superóxido dismutasa (SOD), sulfato de zinc (ZnSO<sub>4</sub>), potencial de hidrógeno (pH), dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) y oxígeno (O<sub>2</sub>).

Aumentar la cantidad de los compuestos bioactivos del ajo presentes en el mismo contribuiría a aumentar la cantidad disponible por consumo, disminuyendo las cantidades irreales propuestas en estudios al extrapolarse a humanos; el aumentar el contenido de compuestos bioactivos en el ajo favorecería al aumento de OSCs que son capaces de sobrevivir a las vías de descomposición metabólicas aumentando así su biodisponibilidad (Ramirez *et al.*, 2017).

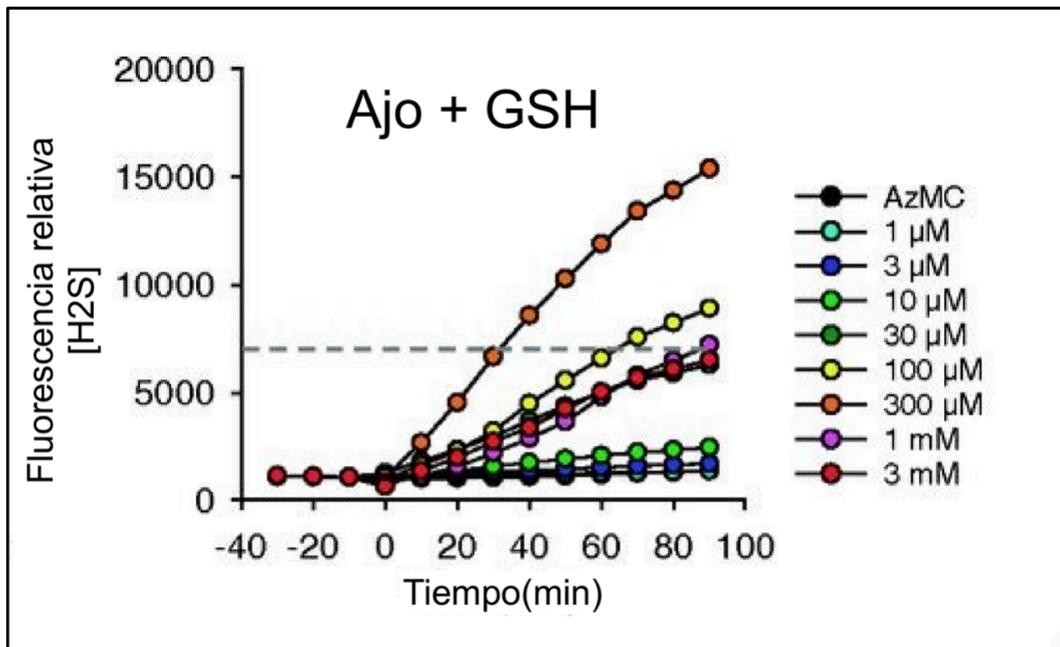
Además de los métodos ya mencionados de cultivo del ajo, la cantidad de OSCs puede ser incrementada debido a la intervención biotecnológica. En cultivos de tejido así como en protocolos de transferencia de genes se ha observado el aumento de alicina en el ajo comparado con una muestra de ajo sin modificar (Bhagyalakshmi *et al.* 2005). Aunque las propuestas biotecnológicas mejorarían los procesos de obtención de OSCs y biomoléculas no OSCs, no han sido exploradas por completo en el cultivo del ajo.

### 2.1.1 Compuestos azufrados

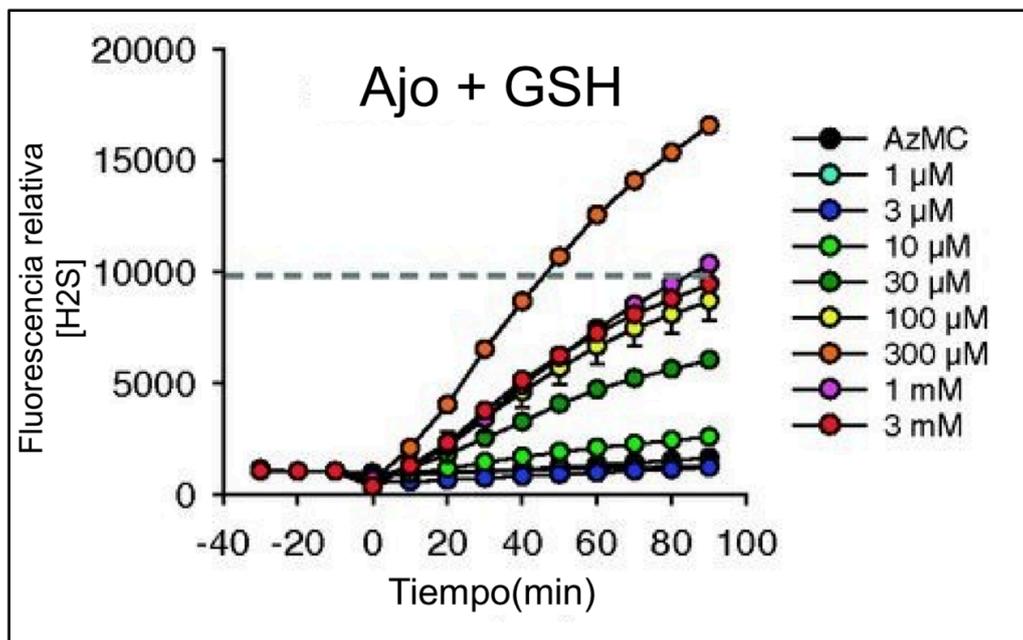
El ajo entero fresco (crudo) es rico en  $\gamma$ -glutamyl-S-allyl-L-cisteínas que, cuando se hidroliza y oxida, producen aliína. La aliína es un derivado inestable del aminoácido sulfuroso cisteína y es un compuesto inodoro presente de forma natural en el ajo (Amagase *et al.*, 2001). Al masticar y triturar el ajo crudo entero, la enzima alinasa se libera de las vacuolas y entra en contacto con la aliína y la transforma en alicina, que es inestable y se descompone en (a) ditiinas, (b) ajoenos, (c) sulfuros alilo incluyendo sulfuro de dialilo (DAS), disulfuro de dialilo (DADS), y trisulfuro de dialilo (DATS); estos OSCs, son los principales responsables de la actividad biológica del ajo.

La enzima alinasa es activa en el intervalo de pH 4-4.8, pero se inhibe a valores de pH ácidos por debajo de 3.5, lo que sugiere una inhibición debido a la acidez del estómago. Además, se ha encontrado que, dependiendo de la forma de cultivo del ajo, será la cantidad de aliína almacenada en las vacuolas del ajo por lo que, para aumentar la cantidad de OSCs producidos al triturar, masticar o cortar ajo es necesario tener un control desde la cosecha del ajo (Freeman y Kodera, 1995; Trio *et al.*, 2014; Martins *et al.*, 2016). Los OSCs que contiene el ajo, derivados de la alicina, juegan un papel muy importante en la formación de ácido sulfhídrico (H<sub>2</sub>S). Estos interactúan con una gran cantidad de enzimas, las cuales inhiben o activan carcinógenos (Szabo, 2007). Aunque el mecanismo de acción aún no es claro, se sabe que gracias a la interacción de polisulfuros (DAS, DADS, DATS y tetrasulfuro de dialilo), compuestos azufrados solubles en agua (S-alil-cisteína (SAC) y S-alil-mercapto-cisteína (SAMC)) y vinil-ditiínas con enzimas de degradación se obtiene H<sub>2</sub>S. El H<sub>2</sub>S se genera de manera natural en la célula y juega un papel crucial en la carcinogénesis como han indicado estudios *in vitro* e *in vivo* (DeLeon *et al.*, 2016). Se ha observado que la carcinogénesis se favorece por una muy baja producción de H<sub>2</sub>S. Aunque, en pequeñas cantidades presentan actividad citotóxica (Hellmich y Szabo, 2015), los polisulfuros y el H<sub>2</sub>S tienen propiedades citoprotectoras al aumentar su cantidad presente en la célula.

Se ha observado que estos compuestos son capaces de generar H<sub>2</sub>S dentro de la célula gracias a estudios en los que, en condiciones de normoxia e hipoxia, se encontró afinidad a la molécula de glutatión (GSH). La interacción entre los OSCs y el GSH (**Figura 4a y 4b**), reveló un aumento de H<sub>2</sub>S al ya generado dentro de la célula en ausencia de OSCs (DeLeon *et al.*, 2016).



**Figura 4a.** Gráfico de respuesta fluorescente del marcador 7-azida-4-metilcumarina (AzMC) en presencia de ácido sulfhídrico ( $H_2S$ ) contra tiempo en condiciones de normoxia. Se observa el aumento de concentración de  $H_2S$  con respecto al tiempo al variar la cantidad de aceite de ajo en presencia de glutatión (GSH) (Modificado de DeLeon *et al.*, 2016).



**Figura 4b.** Gráfico de respuesta fluorescente del marcador 7-azida-4-metilcumarina (AzMC) en presencia de ácido sulfhídrico ( $H_2S$ ) contra tiempo en condiciones de hipoxia. Se observa el aumento de concentración de  $H_2S$  con respecto al tiempo al variar la cantidad de aceite de ajo en presencia de glutatión (GSH) (Modificado de DeLeon *et al.*, 2016).

En investigaciones enfocadas en estudiar el mecanismo de proliferación en cáncer han encontrado que el  $H_2S$  juega un papel muy importante debido a que, en pequeñas

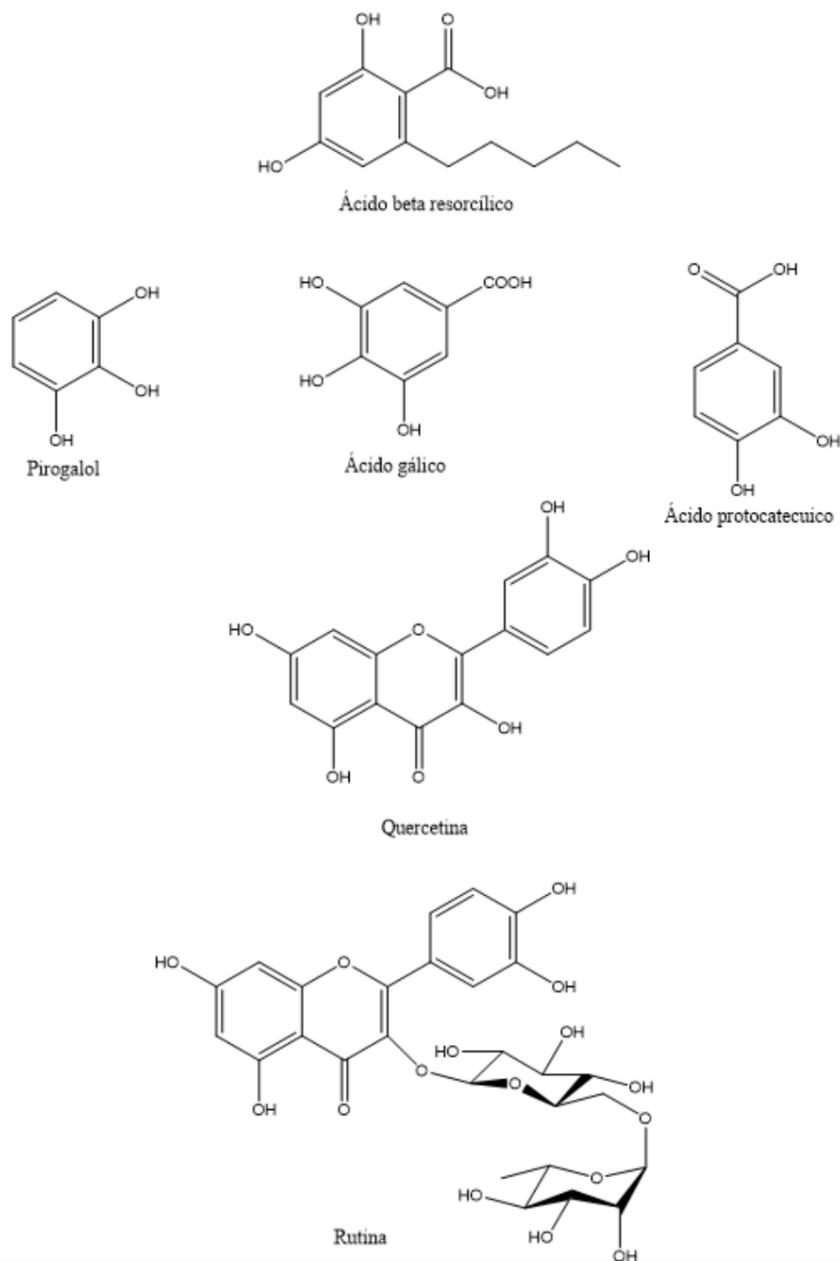
cantidades, promueve la formación de células cancerígenas, mientras que un alto nivel de H<sub>2</sub>S inhibe su formación (Hellmich y Szabo, 2015).

Al saber que los compuestos OSCs son aquellos que presentan la mayor actividad quimiopreventiva, es necesario también saber cuál es su grado de metabolización al entrar en el sistema digestivo y su posterior distribución en el cuerpo por medio del sistema circulatorio. En dos estudios se realizaron las comparativas del consumo de ajo crudo contra ajo cocido (Ramirez *et al.*, 2017), en donde se encontró que el ajo cocido contiene menor cantidad de OSCs disponibles, por lo cual al ingresar al torrente sanguíneo, donde puede reaccionar con las proteínas y los eritrocitos, y al sistema digestivo disminuye la cantidad de OSCs disponibles. La comparación entre el consumo de ajo crudo contra el consumo de ajo negro (BG) (Moreno-Ortega *et al.*, 2020) indicó que, al procesar al ajo para obtener BG, el contenido de OSCs disminuye en pequeñas cantidades, pero estos compuestos se vuelven más estables pudiendo así mejorar la biodisponibilidad posterior al paso por el tracto digestivo.

### **2.1.2 Compuestos no azufrados**

A pesar de que los compuestos OSCs han sido aquellos que han llamado la atención en cuanto a su investigación, el ajo contiene más compuestos bioactivos que pueden fungir como agentes antioxidantes; estos compuestos son principalmente saponinas, compuestos fenólicos y polisacáridos.

En cuanto a saponinas, variantes del ajo con color (ajo morado) contienen 40 veces más saponinas que la variante más común del ajo, el ajo blanco: desgalactotigonina-ramnosa, proto desgalactotigonina, proto desgalactotigonina-ramnosa, voghiosida D1, sativosida B1-ramnosa y sativosida R1 son algunos ejemplos (Shang *et al.*, 2019). Además de saponinas, el ajo contiene más de 20 polifenoles (en mayor cantidad que la mayoría de los vegetales comunes) de los cuales el de mayor cantidad es el ácido  $\beta$ -resorcílico, seguido del pirogalol, ácido gálico, rutina, ácido protocatecuico así como quercetina, etc (**Figura 5**); también contiene polisacáridos de los cuales su composición reportada es de 85% fructosa, 14% glucosa y 1% galactosa (Shang *et al.*, 2019).



**Figura 5.** Flavonoides que se encuentran en mayor cantidad en el ajo (Shang *et al.*, 2019).

En un estudio se buscó confirmar los efectos protectores contra el estrés oxidativo que otorgaban las saponinas del ajo en mioblastos de ratón C2C12 (Kang *et al.*, 2016). En este estudio, se encontró que las saponinas contenidas en el ajo crudo fungen como trampas de ROS intracelulares así como previenen el daño al ADN causado por el peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Así mismo, otro estudio ha revelado que los polisacáridos del ajo tiene propiedades inmunomoduladoras al intervenir con funciones de macrófagos RAW264.7; los polisacáridos intervinieron en la promoción de la fagocitosis, la liberación de monóxido de nitrógeno (NO) y la expresión de

muchas citocinas relacionadas a la respuesta inmune como las interleucinas (IL)-6, IL-10, factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e interferón gamma (Li *et al.*, 2017).

En conjunto, tanto los compuestos OSCs como los no OSCs del ajo brindan beneficios a la salud al tener propiedades anticancerígenas, protectoras del sistema cardiovascular, protección renal, actividad antimicrobiana y antiinflamatoria (Shang *et al.*, 2019).

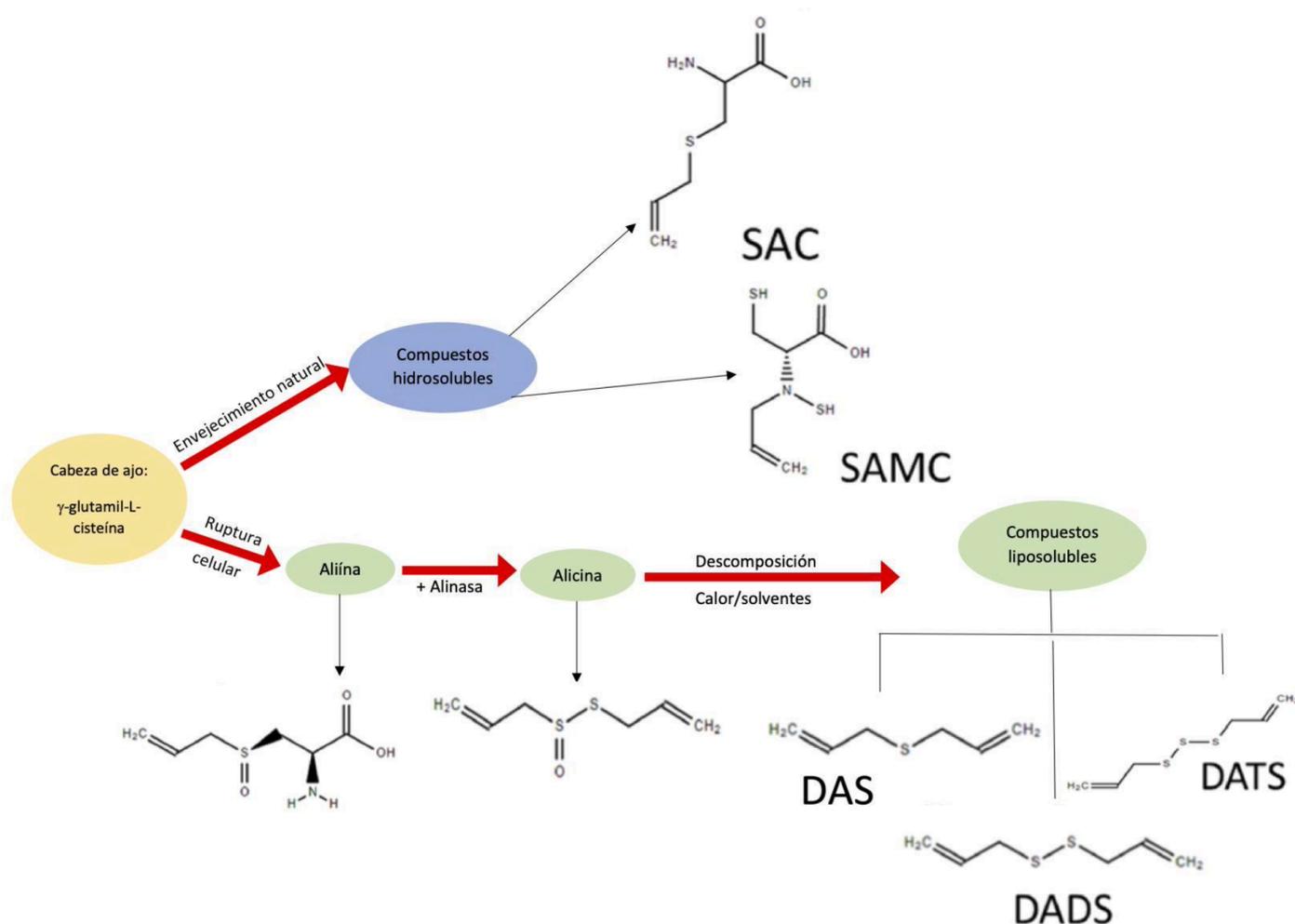
Similar a los compuestos OSCs, los compuestos no OSCs bioactivos se ven influenciados por el método de cultivo y cosecha. A diferencia de los compuestos OSCs, los polisacáridos, saponinas, flavonoides y polifenoles no varían dependiendo de la región que se obtienen pero sí se ven influenciados por los fertilizantes y suplementos administrados durante el cultivo (Martins *et al.*, 2016). De igual forma se ha encontrado que, al procesar el ajo para obtener BG, la cantidad de flavonoides y polifenoles aumenta con pocos casos de disminución, lo cual podría suponer una estrategia de concentración de compuestos bioactivos no OSCs presentes en el consumo del ajo (Martínez-Casas *et al.*, 2017). Planear el procesamiento como metodología para incrementar los compuestos bioactivos puede significar un aumento en eficacia y biodisponibilidad; en un estudio analítico se procesó ajo crudo y BG en un medio gástrico simulado donde se encontró que, a pesar de que los compuestos OSCs presentaron gran estabilidad en este medio, los compuestos no OSCs presentaron una metabolización más rápida impidiendo su paso al tracto gastrointestinal para su posterior absorción (Moreno-Ortega *et al.*, 2020). El plantear una estrategia de uso como coadyuvante en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares y cáncer de distintos tipos requerirá plantear la forma correcta de administración así como de obtención de compuestos bioactivos ya sean OSCs o no OSCs.

## **2.2 Consumo y métodos de extracción de los compuestos bioactivos del ajo**

Más allá de las diferencias intrínsecas en el contenido de compuestos, también se ha demostrado que, dependiendo de qué solución de extracción se utilice (agua, alcohol, hexano, etc.), hay variabilidad en los compuestos activos que se extraen en solución (**Figura 6**) (El-Hamidi y El-Shami, 2015).

En un estudio se encontró que el extracto acuoso de ajo tenía mayor actividad antioxidante que el extracto acuoso de cebolla mientras que el extracto de metanol de la cebolla tenía mayor actividad antioxidante que el extracto de metanol del ajo

(Yin y Cheng, 1998). La diferencia en los resultados se atribuyó a los diferentes compuestos, incluyendo vitaminas, flavonoides, ácidos fenólicos y compuestos de azufre, que pueden estar presentes en un extracto de agua en comparación con un extracto de alcohol (Nuutila *et al.*, 2003). En otro estudio que comparó el ajo frito, el ajo picado con y sin sal y el ajo mezclado se encontró que el ajo frito tiene la mayor actividad antioxidante (Queiroz *et al.*, 2009). Sin embargo, su diferencia puede haber sido atribuible al aceite de soja que se utilizó para cocinar el ajo, el cual también contiene antioxidantes.



**Figura 6.** Diagrama de obtención de distintos compuestos azufrados a partir del ajo. Modificado de (Farhat *et al.*, 2021). \*S-alil-cisteína (SAC), S-alil-mercapto-cisteína (SAMC), dialil sulfuro (DAS), dialil disulfuro (DADS) y dialil trisulfuro (DATS).

Los estudios han empleado diferentes métodos de suministro de ajo al medir sus efectos en la salud, lo que dificulta su comparación. Los múltiples tratamientos de procesamiento y los métodos de extracción de diferentes formas de ajo demuestran que las composiciones químicas pueden alterarse y, por tanto, afectar a las

propiedades anticancerígenas de los productos de ajo, lo que explica algunas de las variaciones encontradas entre los estudios epidemiológicos (Nuutila *et al.*, 2003).

### **2.2.1 Ajo cocido**

Los procesos de cocción pueden cambiar la composición química del ajo e influir en la concentración y biodisponibilidad de los compuestos presentes (Locatelli *et al.*, 2015). El ajo cocido (tratado térmicamente) no puede contener alicina porque la alinasa se inactiva por el calor; el ajo cocido produce pequeñas cantidades de DAS, DADS y DATS. Para poder aprovechar los compuestos azufrados al cocinar el ajo, se recomienda triturar primero el ajo y dejarlo reposar durante 10 minutos antes de cocinarlo, permitiendo que la alinasa produzca alicina (**Tabla 2**) (Song y Milner, 2001).

### **2.2.2 Ajo en polvo**

El ajo en polvo se utiliza como agente saborizante; se sabe que contiene los mismos ingredientes que el ajo crudo, pero en diferentes proporciones (Amagase *et al.*, 2001). Para producir el ajo en polvo, el ajo crudo se corta o se tritura, se deshidrata, y luego se pulveriza. La aliína es el principal compuesto bioactivo tanto en el ajo crudo como en el ajo en polvo; sin embargo, el proceso de deshidratación da lugar a que se retenga como máximo el 1% de la aliína durante el proceso de fabricación (Lawson *et al.*, 1992). El ajo secado a altas temperaturas puede inactivar la enzima alinasa, de tal manera que la aliína no puede convertirse en alicina (**Tabla 2**) (Borek, 2001).

### **2.2.3 Aceite esencial de ajo**

El aceite esencial de ajo contiene compuestos solubles en aceite tales como aliína, ajoeno, DAS, DADS, vinilditiínas y otros OSCs pero no alicina o compuestos solubles en agua (Borek, 2001). El aceite de ajo macerado, desarrollado como condimento saborizante para cocinar, utiliza mezclas comprimidas de dientes de ajo crudos enteros molidos en aceite vegetal (Iciek *et al.*, 2009).

### **2.2.4 Ajo negro (BG)**

El BG es un producto recientemente disponible en los mercados de Asia y Estados Unidos; el ajo entero se fermenta a alta temperatura y humedad (70°C y 90%) (Lee *et al.*, 2009). La aliína se convierte en compuestos estables incluyendo SAC, un compuesto hidrosoluble con potentes efectos antioxidantes. En comparación con el ajo crudo, el BG no tiene un fuerte olor acre y en su lugar tiene un sabor más dulce (Kimura *et al.*, 2017). La fermentación del ajo, la cual puede ser llevada a cabo por

levaduras (tales como *Saccharomyces cerevisiae*) y bacterias (tal como *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*), puede ser responsable de la mayor actividad antioxidante del ajo negro al promover la formación de flavonoides (Jung *et al.*, 2011). El extracto de ajo se obtiene con un disolvente como agua o alcohol para generar una solución concentrada.

### 2.2.5 Extracto de ajo envejecido (AGE)

El extracto de ajo envejecido (AGE) contiene principalmente compuestos de ajo solubles en agua y muy pocos compuestos solubles en aceite; el AGE es el resultado de una extracción prolongada de ajo fresco, la cual puede tardar hasta 20 meses antes de que esté listo. El largo proceso de preparación permite que el ajo se convierta en compuestos de azufre menos olorosos, incluidos principalmente compuestos de azufre solubles en agua como SAC y SAMC (Borek, 2001). El SAC formado a partir de extracciones acuosas se ha detectado en plasma, hígado y riñón en experimentos con animales después de la ingestión y podría servir como marcadores potenciales de cumplimiento en estudios clínicos de ajo envejecido (Nagae *et al.*, 1994). En la (Tabla 2), se describen los compuestos activos del ajo en las diferentes presentaciones disponibles para consumo de ajo.

**Tabla 2.** Ejemplos de diferentes presentaciones de ajo y su contenido de compuestos azufrados (Farhat *et al.*, 2021).

Forma de ajo	Compuestos activos en productos de ajo*
Ajo crudo	Alicina y $\gamma$ -glutamyl-S-alil cisteína
Ajo en polvo	Aliína y una pequeña cantidad de compuestos de azufre solubles en aceite
Aceite esencial de ajo	Compuestos de azufre solubles en aceite (DAS, DADS)
Extracto de ajo envejecido (AGE)	Principalmente compuestos solubles en agua (SAC, SAMC o saponinas), pequeña cantidad de compuestos solubles en aceite

Suplemento de Kyolic® (AGE)	Compuestos solubles principalmente en agua, ( $\gamma$ -glutamyl-S-alil cisteína, SAC)
Suplemento de Garlicina® (Ajo en polvo)	Alíina, alicina y otros tiosulfatos de alilo

\*S-alil cisteína (SAC), S-allyl mercapto cisteína (SAMC), sulfuro de dialilo (DAS), disulfuro de dialilo (DADS), extracto de ajo envejecido (AGE).

El conocer los componentes bioactivos presentes en cada preparación de ajo comercial resulta de vital importancia al realizar tratamientos ya sea coadyuvantes o directos con preparaciones de ajo. Los extractos de constituyentes individuales o la síntesis de OSCs específicos puede ser la solución más factible en cuanto a desarrollo de tratamientos se trata, pero el conocer los constituyentes presentes en ajo crudo, ajo en polvo, etc, plantearía una implementación de consumo específica para una afección definida. Pocos estudios se han llevado a cabo en donde se plantee la detección analítica de una variedad de biocompuestos en diferentes presentaciones y preparaciones de ajo; Ramirez *et al.*, 2017 reportó el desarrollo de una metodología por medio de la separación de un método acoplado entre microextracción dispersa líquido-líquido (DMLLE) y un cromatógrafo de líquidos de alta eficiencia con detector de UV (HPLC-UV) en la cual, al analizar muestras de ajo frito y ajo hervido, se encontró que debido a diferentes medios de cocción y temperatura aplicada la cantidad de OSCs varía siendo el ajo frito aquel con la mayor cantidad de compuestos alil sulfurados (DAS y DADS) y el ajo hervido el que mayormente contenía alicina, ajoeno y 2-vinilditiínas. Basado en el método desarrollado en el primer estudio. Ramirez *et al.*, 2020 desarrolló una nueva metodología en la cual no sólo se analizaron OSCs dentro de ajo crudo liofilizado, ajo frito liofilizado, BG y una preparación de ajo líquido, sino también la cantidad de flavonoides y polisacáridos contenidos en ellos. Se encontró en este último estudio que la cantidad de compuestos bioactivos varía enormemente de una preparación a otra, destacando que el ajo crudo contiene la mayor cantidad de compuestos bioactivos en general, el ajo cocido conserva una gran cantidad de flavonoides destacando el aumento de DAS contenido y el BG, el cual mostró tener un aumento de antioxidantes tales como el kaempferol y una disminución de DAS.

Al desarrollar un nuevo producto comercial de ajo o algún preparativo dirigido a un tratamiento específico deberá implementar métodos de cuantificación de

componentes bioactivos a fin de garantizar que los compuestos OSCs y no OSCs se encuentren en una cantidad suficiente para obtener los beneficios de estos.

### **3. AJO COMO ALIMENTO QUIMIOPREVENTIVO**

#### **3.1 Propiedades anticancerígenas**

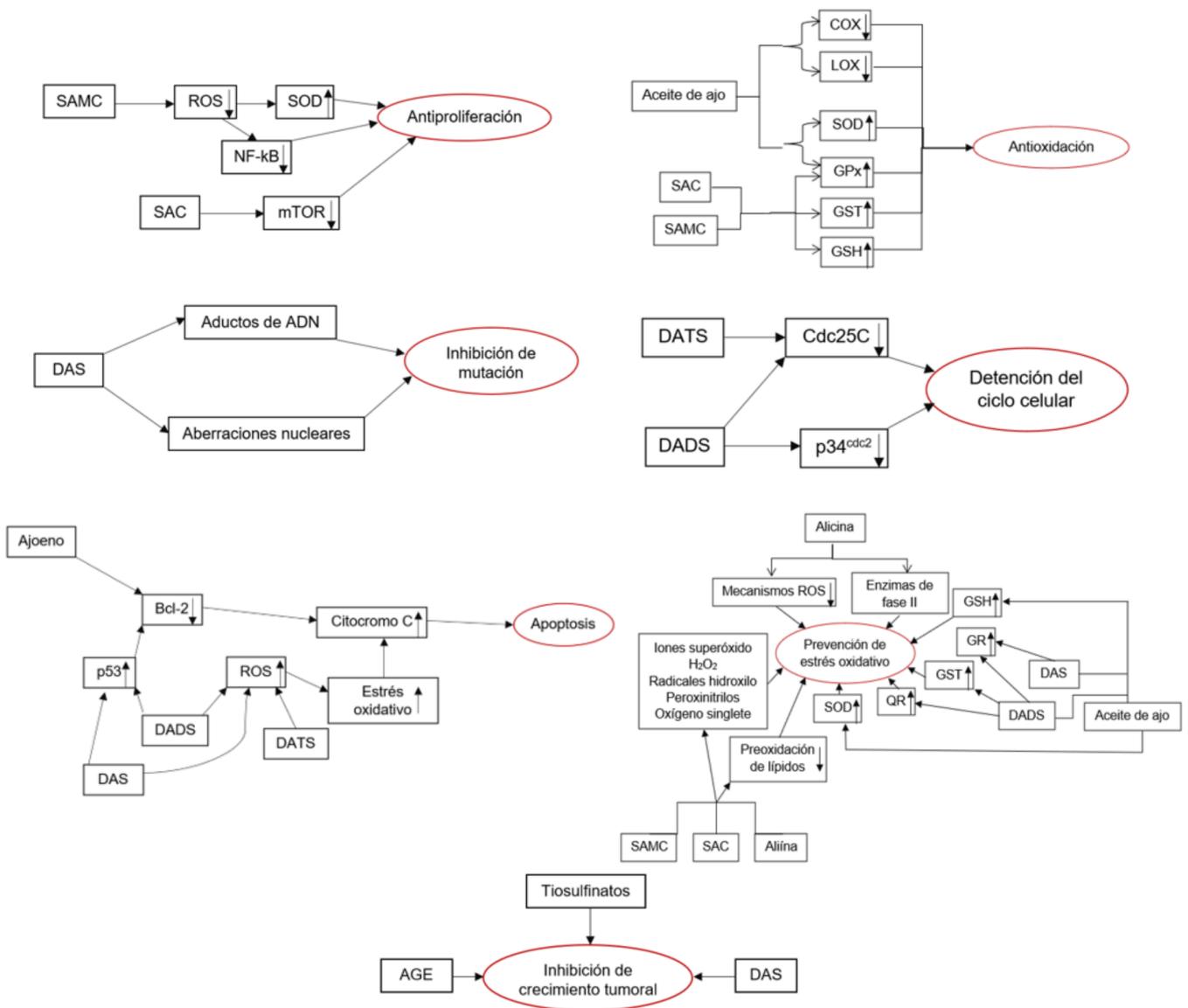
El ajo contiene muchos compuestos bioactivos como la alicina, aliína, ajoeno, DAS, DADS, DATS, SAC y SAMC entre otros; el efecto logrado con cada OSC depende del tejido a tratar y la etapa de administración de los constituyentes del ajo, así como alguna preparación administrada por vía oral. De los OSCs mencionados, la alicina exhibió un efecto quimiopreventivo así como un efecto inhibidor de desarrollo de células cancerígenas en modelos humanos de fibrosis de submucosa oral, cáncer de esófago, cáncer de colon, cáncer gástrico y bolsas bucales y en modelos animales de cáncer hepatocelular, así como inhibición en múltiples etapas de su reproducción. Además de esto, se observó que dentro de la célula cancerígena se favorece la apoptosis gracias a que daña la estructura microtubular de la misma (Pandurangi, 2015; Mandal *et al.*, 2019). El DATS inhibió el crecimiento celular mediante el aumento de los niveles intracelulares de ROS dañando el ADN; se indujo estrés en el retículo endoplásmico, así como apoptosis mediada por mitocondrias en células de melanoma A375 humano y carcinoma de células basales (Wang *et al.*, 2012). Mediante la estimulación de la producción de peróxido, la activación de caspasa-3 y de caspasa-8, el ajoeno (metabolito secundario del ajo) indujo apoptosis en células leucémicas humanas (Tsubura *et al.*, 2011; Pandurangi, 2015).

La actividad antitumoral del ajo se ha demostrado en múltiples estudios *in vitro* e *in vivo*. Por ejemplo, en extractos de ajo enriquecidos en derivados de sulfuro de alilo, ejercen daño al ADN y muerte celular en células cancerosas (Capasso, 2013). El ajo previno el crecimiento del cáncer de pulmón en un modelo animal de ratón (Capasso, 2013), cáncer de vejiga en un modelo animal de ratón (Lau *et al.*, 1986), cáncer de esófago en un modelo animal de rata (Wargovich *et al.*, 1988), cáncer de piel en un modelo animal de ratón (Nishino *et al.*, 1989), cáncer de glándula mamaria en un modelo animal de rata (Amagase y Milner, 1993), cáncer de próstata en pacientes en China (Hsing *et al.*, 2002), cáncer de hígado en pacientes de cáncer de hígado inoperable (Hideki *et al.*, 2006), y cáncer de colon en la línea celular HCT-15 (Knowles y Milner, 2003).

El estudio del uso del ajo como alimento coadyuvante en el tratamiento contra el cáncer ha arrojado evidencia de que la interacción de moléculas bioactivas OSCs y no OSCs con células transformadas de cáncer de distintos tejidos y líneas es más compleja de lo que parece. Distintas acciones anticancerígenas, las cuales son antiproliferativas, antioxidantes, inhibidoras de mutagénesis, de detención del ciclo celular, apoptóticas, de prevención del estrés oxidativo y de inhibición del crecimiento tumoral, pueden ser presentadas por compuestos OSCs hidrosolubles (SAC y SAMC), liposolubles (DAS, DADS y DATS principalmente) así como polifenoles, flavonoides o polisacáridos; de esta misma forma ciertos compuestos pueden no tener un efecto apreciable en un tipo de tejido específico, por lo que las propiedades y mecanismos anticáncer presentados por biocompuestos OSCs como no OSCs son característicos de cada tratamiento y estudio (Thomson y Ali, 2003; Farhat *et al.*, 2021). A nivel molecular, los OSCs derivados del ajo tienen actividad anticancerígena al dirigirse a varias cinasas involucradas en la biología del cáncer a través de promover el crecimiento celular, la proliferación, la diferenciación, la migración y la supervivencia. Por medio de la regulación de la proteína cinasa activada por mitógenos p38 (MAPK) (Wang *et al.*, 2012) y c-Jun NH<sub>2</sub>-terminal cinasa (JNK) (Xiao *et al.*, 2003; Kelkel *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2012), los OSCs favorecen la apoptosis, así como un efecto antitumoral.

### **3.2 Mecanismos anticáncer de los compuestos bioactivos del ajo**

Como se ha mencionado con anterioridad, los compuestos OSCs presentan una diversa cantidad de efectos quimiopreventivos presentados en distintas etapas de la carcinogénesis. A pesar de tener rutas de acción representativas, es difícil homogeneizar estas acciones en una ruta claramente definida debido a que cada OSC presenta efectos preventivos y anticancerígenos en distintas etapas de la carcinogénesis (**Figura 7**).



**Figura 7.** Diagramas de distintas rutas antiproliferativas, antioxidantes, de inhibición de mutagénesis, de detención del ciclo celular, de apoptosis, de prevención de estrés oxidativo e inhibición de crecimiento tumoral efectuadas por OSCs. dialil sulfuro (DAS), dialil disulfuro (DADS), dialil trisulfuro (DATS), S-alil-cisteína (SAC), S-alil-mercapto-cisteína (SAMC), prostaglandina-endoperóxido sintasa (COX), lipoxigenasa (LOX), especies reactivas de oxígeno (ROS), superóxido dismutasa (SOD), factor nuclear kappa B (NF-κB), proteína cinasa diana de rapamicina de mamíferos (mTOR), glutatión peroxidasa (GPx), glutatión-S-transferasa (GST), glutatión (GSH), fosfatasa inductora de la fase M (Cdc25C), Proteína de linfoma de células B2 (Bcl-2), glutatión reductasa (GR), quinona reductasa (QR), peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), extracto de ajo envejecido (AGE) y ácido desoxirribonucleico (ADN).

### **3.2.1 Acciones antiproliferativas**

De los compuestos encontrados en el ajo, se encontró que aquellos OSCs liposolubles (DAS, DADS y DATS) tienen mejores propiedades antiproliferativa comparados con los compuestos OSCs hidrosolubles (SAC y SAMC) (Farhat *et al.*, 2021).

Se ha encontrado que DATS decreta la proliferación de cáncer de colon y cáncer de mama, DATS, al igual que DAS y DADS, tuvieron efectos antiproliferativos en tumores de mama canino; DADS presentó propiedades antiproliferativas en células tumorales de cáncer de pulmón de la línea A549 (Farhat *et al.*, 2021).

Por otro lado, SAMC tuvo efectos antiproliferativos en células A549 al reducir la generación de ROS elevando la actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD) e inhibiendo al factor nuclear kappa B (NF-κB); SAC, empleado en la misma línea celular A549 de cáncer pulmonar, redujo la actividad de la proteína cinasa diana de rapamicina de mamíferos (mTOR) la cual se relaciona con la multiplicación y supervivencia de la células (Farhat *et al.*, 2021).

### **3.2.2 Acciones antioxidantes**

El aceite de ajo, rico en OSCs liposolubles, presentó actividades antioxidantes al estimular la actividad de enzimas tales como SOD y glutatión peroxidasa (GPx) así como inhibir la actividad de la prostaglandina-endoperóxido sintasa (COX) y lipoxigenasa (LOX). De igual forma, los compuestos SAC y SAMC son aquellos que presentaron la mayor cantidad de actividad antioxidante al atrapar radicales libres, siendo estos dos compuestos encontrados en preparaciones de AGE. En un estudio llevado a cabo en hámsters, un extracto acuoso de ajo demostró tener actividad antioxidante en carcinoma bucal; en este estudio se observó que los efectos antioxidantes se presentaron al incrementar la cantidad de GSH, GPx y GST disminuyendo la peroxidación de lípidos, además de presentar una reducción en la incidencia de neoplasmas (Thomson y Ali, 2003).

### **3.2.3 Acciones inhibitoras de mutagénesis**

El constituyente DAS ha presentado acciones antimutagénicas inducidas por la aflatoxina B<sub>1</sub> en donde, probado en ADN de becerro, disminuyeron los aductos de ADN formados; la ingesta oral de DAS ha disminuido las aberraciones nucleares causadas por N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidina en mucosa glandular gástrica; en colonos de rata F344, el tratamiento con DAS redujo la formación de aductos de ADN

en casi un 30%. Debido a los efectos presentados al emplear DAS como tratamiento, el ajo podría ofrecer beneficios antimutagénicos previniendo el daño al ADN y carcinogénesis potencial (Farhat *et al.*, 2021).

### **3.2.4 Acciones de detención del ciclo celular**

La detención del ciclo celular es una característica presentada por una amplia cantidad de OSCs. La detención del ciclo celular por parte de biocompuestos OSCs está dada en la etapa G<sub>2</sub>/M, aquella que se encuentra en medio del segundo ordenamiento celular y la segregación de cromosomas (Herman-Antosiewicz y Singh, 2004). DADS ha mostrado tener propiedades supresoras de la cinasa p34<sup>cdc2</sup>, una cinasa dependiente de ciclinas las cuales juegan un rol muy importante en la progresión de la etapa G<sub>2</sub> a M en células HCT-15 y HT-29 derivadas de cáncer de colon humano; de igual forma, dosis no tóxicas de ajoeno indujeron la detención del ciclo celular en la etapa G<sub>2</sub>/M de células PtK2, además de ocasionar, de manera dependiente a la dosis, una inhibición del ensamblaje de tubulina; el tratamiento de células de cáncer de colon humano SW-480 y HT-29 con SAMC mostró una interacción con los grupos sulfhidrilo de la tubulina, por lo que llevó a la despolimerización de esta; DAS, DADS y DATS fueron probados en células PC-3 de cáncer de próstata humano, donde se encontró que DADS y DATS inhibieron la actividad de la fosfatasa inductora de la fase M (Cdc25C) (Herman-Antosiewicz y Singh, 2004; Farhat *et al.*, 2021).

### **3.2.5 Acciones pro-apoptóticas**

La apoptosis o suicidio celular regulado, es un proceso activado de distintas formas por múltiples OSCs, lo cual dificulta la definición de un sólo mecanismo de acción. A pesar de estas diferencias de iniciación, muchos de ellos llevan a cabo acciones pro-apoptóticas por medio de vías mitocondriales (Herman-Antosiewicz y Singh, 2004). El ajoeno, al tratar células HL-60 produjo una disminución de la proteína de linfoma de células B2 (Bcl-2) generando la liberación del citocromo c, un precursor de la apoptosis; de igual forma DAS y DADS mostraron tener actividad apoptótica al incrementar la cantidad de proteína p53 en células de cáncer de pulmón H460 y H1299, la cual está asociada con la producción de proteínas proapoptóticas de la familia Bcl-2; DADS, al tratar células de neuroblastoma SH-SY5Y, se encontró la activación de la apoptosis por la vía mitocondrial bajo estrés por ROS; al activar la vía mitocondrial de apoptosis por medio de la producción de ROS, DAS, DADS y DATS

favorecieron la muerte celular de células de adenocarcinoma de pulmón en células A549 (Thomson y Ali, 2003; Herman-Antosiewicz y Singh, 2004; Farhat *et al.*, 2021). Como estos, existen muchos ejemplos de cómo, mediante la interacción de OSCs con proteínas inductoras de la apoptosis, la proliferación celular se ve disminuida afectando sólo a aquellas células enfermas.

### **3.2.6 Acciones preventivas del estrés oxidativo**

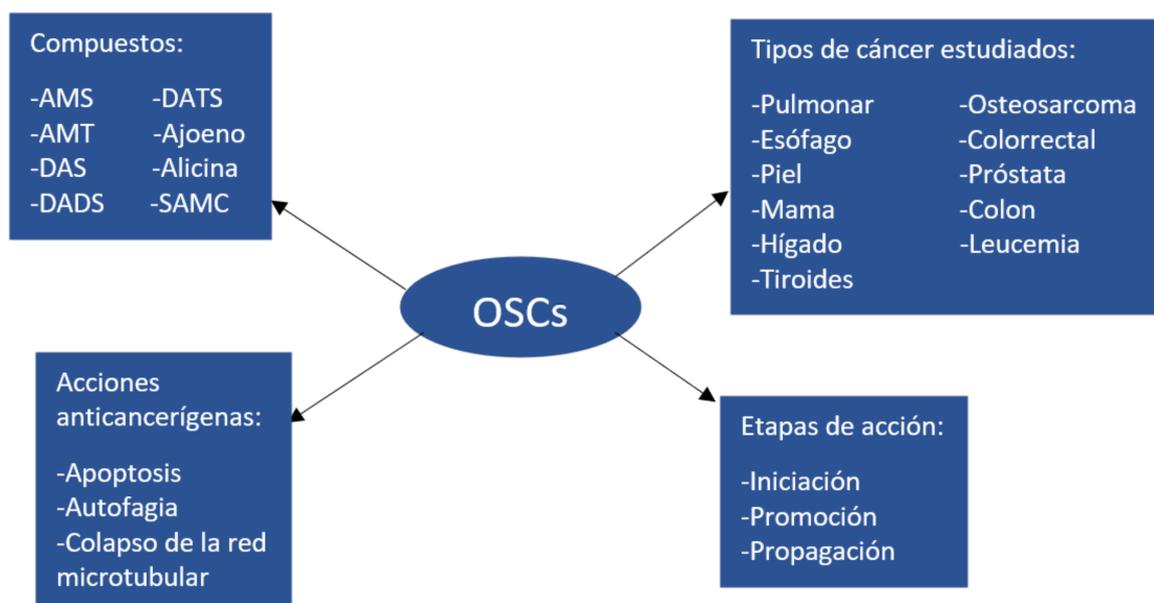
El empleo de ajo y sus constituyentes disminuye remarcadamente la presencia de ROS y aumenta la actividad de enzimas desintoxicantes y responsables de la actividad antioxidante *in vivo*. La alicina mostró efectos moduladores en enzimas de fase II además de disminuir los mecanismos iniciados por ROS; DAS y DADS han mostrado tener efectos activadores en enzimas metabolizantes de fase I y II; DADS logró aumentar la actividad en tejido de enzimas como la quinona reductasa (QR) y GST en el tracto digestivo de ratas; de igual forma DAS y DADS mostraron mejorar la actividad de GR hepático, el aceite de ajo mejoró la actividad de SOD y, conjuntamente, el aceite de ajo, DADS y DAS aumentaron la cantidad de GSH en células rojas sanguíneas. Así mismo, componentes hidrosolubles del ajo como lo son SAC, SAMC y aliína, mostraron propiedades antioxidantes al atrapar iones superóxido, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, radicales hidroxilo, peroxinitritos, oxígeno singlete e inhibir la peroxidación de lípidos (Farhat *et al.*, 2021).

### **3.2.7 Acciones de inhibición de crecimiento tumoral**

Al incubar células de sarcoma 180 y células de linfoma de Murphy-Sturm, los compuestos tiosulfatos derivados del ajo demostraron disminuir el desarrollo de tumores; en otro estudio, la administración de AGE de forma subcutánea y oral se observó una incidencia reducida a la generación de tumores, una reducción de tamaño de tumores y una disminución de mortalidad; en un estudio de inducción química de tumores, DAS demostró disminuir tanto el tamaño como la cantidad de tumores exhibidos en ratas e incluso, en ratas tratadas previamente a la inducción de tumores, se encontró que ciertos grupos no mostraron generación de tumores en lo absoluto; DAS, en otro estudio en cáncer de colon, demostró tener efectos antitumorales reduciendo la incidencia en ratones C57BL/6J en un 74% y redujo la frecuencia de adenocarcinoma colorrectal (Thomson y Ali, 2003; Farhat *et al.*, 2021).

### 3.3 Efectividad sobre diferentes tejidos

El ajo ha sido planteado como un superalimento capaz de prevenir y tratar distintos tipos de cáncer. A pesar de que los mecanismos de acción de cada OSC no han sido determinados, se han realizado una amplia cantidad de estudios en distintos modelos *in vivo* e *in vitro* de cáncer para conocer la efectividad quimiopreventiva de estos compuestos. En muchos casos se ha observado una gran efectividad al combatir la iniciación, proliferación y propagación de cánceres tales como cáncer de esófago, pulmonar, y colorrectal, entre otros, teniendo especial efectividad en cánceres relacionados al sistema gástrico en líneas celulares de cáncer humano y modelos animales en ratones (Zhang *et al.*, 2020) (**Figura 8**).



**Figura 8.** Diagrama de acciones anticancerígenas promovidas por compuestos organosulfurados (OSCs) encontrados en el ajo, tipos de cáncer en los que se han realizado estudios *in vivo* e *in vitro*, etapas de la carcinogénesis en las cuales han presentado propiedades quimiopreventivas y derivados de descomposición de la aliína: alil-metil sulfuro (AMS), alil-metil trisulfuro (AMT), dialil sulfuro (DAS), dialil disulfuro (DADS), dialil trisulfuro (DATS), ajoeno, alicina y S-alilmercapto cisteína (SAMC). Modificado de (Zhang *et al.*, 2020).

A continuación, se muestra un listado de OSCs y sus efectos en diferentes tipos de cáncer (**Tabla 3**), así como las variaciones proteicas que inducen efectos quimiopreventivos en las células (**Tabla 4**).

**Tabla 3.** Mecanismos y blancos de OSCs en diferentes tipos de cáncer (Zhang *et al.*, 2020).

Tipo de cáncer	Modelo	Etapas de carcinogénesis	Acción anticáncer	Compuesto o bioactivo	Blanco
Pulmón	Ratón	Iniciación	Desintoxicación	AMS, DATS y DADS	GST
	Ratón y líneas celulares de cáncer humano	Progresión	Apoptosis	DATS	Bax
Esófago	Ratón	Iniciación	Desintoxicación	AMT	GST
Piel	Líneas celulares de cáncer humano	Promoción	Daño del ADN	DATS	$\gamma$ -H2AX
	Ratón	Progresión	Antiproliferación	Ajoeno	TNF- $\alpha$
	Ratón	Progresión	Apoptosis	DAS	gen p21
Mama	Líneas celulares de cáncer humano	Promoción	Plegamiento proteico	Ajoeno	GRP78
Hígado	Líneas celulares de cáncer humano	Progresión	Autofagia	Alicina	gen p53
Tiroides	Líneas celulares de cáncer humano	Progresión	Antiproliferación	DAS	Bcl-2
Osteosarcoma	Ratón y líneas celulares de cáncer humano	Progresión	Antiproliferación	DADS	miR-134

Colorrectal	Líneas celulares de cáncer humano	Progresión	Antiproliferación	DATS	Wnt/ $\beta$ -catenina
Próstata	Ratón	Progresión	Apoptosis	SAC	Caspasa-3
Colon	Ratón y líneas celulares de cáncer humano	Progresión	Apoptosis	SAMC	JNK
Leucemia	Líneas celulares de cáncer humano	Progresión	Apoptosis	DADS	PKM2

\*Compuestos organosulfurados (OSCs), alil-metil sulfuro (AMS), trisulfuro de dialilo (DATS), disulfuro de dialilo (DADS), sulfuro de dialilo (DAS), glutatión S-transferasa (GST), alil-metil trisulfuro (AMT), S-alilmercapto cisteína (SAMC), S-alil-cisteína (SAC), variante de histona de la familia H2A (H2AX) fosforilada ( $\gamma$ -H2AX), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), proteína de fijación de inmunoglobulina (GRP78), proteína de linfoma de células B2 (Bcl-2), Bcl-2 homóloga 4 (Bax), micro residuo de ácido ribonucleico (ARN) (miARN) 134 (miR-134), c-Jun NH<sub>2</sub>-terminal cinasa (JNK), piruvato cinasa M2 (PKM2), ácido desoxirribonucleico (ADN).

### 3.3.1 Cáncer pulmonar

En un estudio realizado con ratones (Sparnins *et al.*, 1988), se descubrió que distintos compuestos azufrados provenientes del ajo tienen actividades anticancerígenas al promover la actividad de la enzima GST. En este estudio se realizaron pruebas en las que se comparó la efectividad anticancerígena al tener como iniciador de la carcinogénesis al benzo[a]pireno (BP). Se encontró que el efecto anticancerígeno tanto en pulmones como en esófago depende de la simetría de los compuestos al comparar el uso de DATS y DADS o de alil-metil sulfuro (AMS), así como de la cantidad de átomos de azufre en la cadena (mono, di y tri azufrados) y de si existía la presencia de grupos alilo. En general se encontró que las especies DATS, AMS y alil-metiltrisulfuro (AMT) promovieron una mayor actividad de GST previniendo la carcinogénesis pulmonar.

En otro estudio (Li *et al.*, 2012), se administró DATS *in vitro* e *in vivo* en una línea celular humana de cáncer de pulmón y en un modelo de ratones, respectivamente. En este estudio se observó que DATS promueve la muerte en células cancerosas de

pulmón debido a que promueve el aumento de la Bcl-2 homóloga 4 (Bax), una proteína iniciadora de la apoptosis. Al realizar el análisis se encontró que empleando células control de pulmón no enfermas el DATS no tenía ningún efecto inductor de apoptosis, sin embargo, en células enfermas inducía apoptosis de forma dependiente al tiempo y la concentración administrada. Debido a que el mecanismo quimiopreventivo de DATS aún no es claro, no se sabe cuál es el criterio de selección que induce la muerte apoptótica sólo en células enfermas.

### **3.3.2 Cáncer de esófago**

En un experimento realizado en ratones (Sparnins *et al.*, 1996), se estudió el efecto del consumo de AMT sintético en la activación de la enzima GST y su efecto quimiopreventivo contra el cáncer de esófago. En este estudio se administraron dosis de 3.0  $\mu\text{mol}$  y 15  $\mu\text{mol}$  las cuales demostraron activar a la enzima GST la cual inhibió la aparición de tumores promovidos por BP.

### **3.3.3 Cáncer de piel**

Se realizaron pruebas de viabilidad celular sobre una línea celular humana de células cancerígenas de piel (Wang *et al.*, 2010). En este estudio se hicieron comparativos entre DAS, DADS y DATS. La comparativa se hizo para saber si el número de átomos de azufre ligados tenía alguna relación con la efectividad quimiopreventiva de estos compuestos y se encontró que el DATS es el compuesto de mejor eficacia el cual es independiente de la cantidad y del tiempo. En estas líneas celulares se encontró la presencia de la variante de histona de la familia H2A (H2AX) fosforilada ( $\gamma$ -H2AX), la cual indica un daño del ADN. Gracias a este daño presentado, las células de cáncer dejaban de ser viables ya que el ciclo celular se detenía en la etapa G2/M, la cual es un punto de chequeo del ADN de la célula; al no pasar este filtro de daño en el ADN, el ciclo celular se detiene y la célula muere. Al realizar los experimentos de detección de proteínas también se descubrió que este daño en ADN sólo se llevaba a cabo en células con cáncer sin afectar a células sanas. Una ruta alternativa al daño por ADN sugiere que DATS favorece la apoptosis al inducir la entrada de iones  $\text{Ca}^{2+}$ , lo cual activa a proteínas caspasas, iniciadoras de la apoptosis.

En otro estudio se buscaba ver el efecto del ajoeno *in vitro* e *in vivo* en células cancerígenas de ratón tanto en piel como en pulmones (Taylor *et al.*, 2006); se contaba con células ya enfermas en las cuales se observó el efecto quimiopreventivo al suministrar ajoeno en distintas dosis. Al incubar células y tratar a ratones enfermos

se observó que, al ya contar con cáncer, el ajoeno ayudó a disminuir el tamaño de los tumores así como inhibir la fijación de nuevas células promotoras de cáncer en los pulmones. Este efecto minimizador de tumores se atribuye a la producción de TNF- $\alpha$ . En un último estudio, se utilizó DAS para observar sus propiedades quimiopreventivas en células cuya formación de cáncer fue inducida (Arora *et al.*, 2006). Este estudio buscaba enfermar células de la piel de ratones para promover la aparición de cáncer empleando 7,12-dimetilbenz[a]antraceno (DMBA), de esta forma se estimularía una respuesta de un gen de la familia *ras*, p21/*ras*, el cual está implicado en el crecimiento desmedido y descontrolado de las células. Al promover la formación de células enfermas, se observó que DAS detiene el avance de la expresión de las proteínas p21/*ras* e impide la fijación en la membrana de células sanas, lo cual se asocia de manera especulativa con el decaimiento en la proliferación de las células enfermas.

#### **3.3.4 Cáncer de mama**

En un estudio se planteó observar el efecto quimiopreventivo del ajoeno en células de cáncer de mama y el efecto sobre sus propiedades anticáncer al marcar moléculas con fluoróforos para observar su camino dentro de la célula (Kaschula *et al.*, 2016). Se observó que el ajoeno marcado con dos fluoróforos mantenía la actividad quimiopreventiva, lo cual planteó un nuevo método de seguimiento en estudios de los efectos del ajoeno (y en general de OSCs). Al dar seguimiento al ajoeno dentro de la molécula se encontró que esta se fija al retículo endoplásmico interfiriendo con el plegamiento proteico que ahí se lleva a cabo; al fijarse e impedir el plegamiento promueve la acumulación de cadenas no plegadas, lo cual desencadena una respuesta por parte de la proteína de fijación de inmunoglobulina (GRP78), lo cual induce estrés en el retículo endoplásmico lo que a su vez genera una cadena de señalizaciones que desemboca en la activación de caspasas. Al activarse las caspasas se promueve la muerte celular por apoptosis.

#### **3.3.5 Cáncer de hígado**

En un estudio se propuso encontrar el mecanismo de acción de la alicina en células de cáncer humanas (Chu *et al.*, 2012). Se descubrió que el blanco de la alicina es la proteína p53, la cual está implicada en múltiples mecanismos de prevención de cáncer: esta proteína es responsable de mantener la reproducción celular dentro de los parámetros que permitan obtener células sanas, de presentar una mutación o fallo esta proteína induce la generación de cáncer. Al tratar células de cáncer Hep G2 de

manera *in vitro* se observó que la alicina activa los mecanismos autofágicos de la célula, generando una acción en cascada de la proteína relacionada a la autofagia 7 (Atg7)/proteína de mamíferos ortóloga a gen 6 relacionado a la autofagia (Beclin-1)/complejo de esclerosis tuberosa 2 (TSC2)/fosfo-proteína cinasa activada por monofosfato de adenosina (p-AMPK), al contrario de otros OSCs, los cuales están asociados con la inhibición de la ruta de señalización fosfoinositol 3-cinasa (PI3K)/proteína cinasa B (AKT)/mTOR para la promoción de la apoptosis. Este estudio arrojó datos claros y concisos del efecto de la alicina como agente quimiopreventivo sugiriendo su uso a futuro como fármaco o suplemento alimenticio, sin embargo, estos datos no fueron suficientes para definir el mecanismo en el que la alicina activa la vía autofágica de las células enfermas.

### **3.3.6 Cáncer de tiroides**

En un estudio se observaron los efectos quimiopreventivos del DAS en líneas celulares de cáncer humano de tiroides (Shin *et al.*, 2010). El cáncer de tiroides es uno de los tipos de cáncer con mayor índice de mortalidad en el mundo, por lo que desarrollar estrategias de tratamiento es una necesidad latente. En este estudio se observó el efecto de la alicina en una línea celular de cáncer de tiroides. Se encontró que la alicina inhibe a la proteína Bcl-2, la cual está asociada con la prevención de la apoptosis, y favorece la expresión de la proteína Bax, la cual desencadena la muerte por apoptosis al inducir la liberación de citocromo c por parte de la mitocondria.

### **3.3.7 Osteosarcoma**

En este estudio se observó el efecto del DADS en la regulación en la progresión del osteosarcoma (Li *et al.*, 2018). El estudio se centró en el efecto en la regulación de la proteína de caja forkhead M1 (FOXM1), la cual se ha encontrado que tiene un papel vital en la promoción y progresión del osteosarcoma cuando presenta un mal funcionamiento. Para poder inhibir el funcionamiento de FOXM1 se planteó elevar la cantidad de micro residuos de ácido ribonucleico (ARN) (miARN), específicamente el residuo miR-134; gracias a un estudio con luciferasa se encontró que miR-134 inhibe el funcionamiento de FOXM1 obstaculizando la promoción del osteosarcoma. Al suministrar DADS a células enfermas *in vitro* e *in vivo* se encontró que DADS promueve un aumento de miR-134, lo cual disminuye el tamaño de tumores, así como la viabilidad de nuevas células. El estudio confirma el efecto farmacológico de DADS

en el osteosarcoma aunque invita a revisar sus efectos en la producción de más especies de miARN.

### **3.3.8 Cáncer colorrectal**

En un estudio se propuso estudiar el efecto quimiopreventivo del DATS en células madre cancerosas (CSC) colorrectales *in vitro* (Zhang *et al.*, 2018). El objetivo de este estudio fue encontrar la causa de la disminución en la propagación y tamaño tumoral del cáncer colorrectal promovido por CSC colorrectales a causa de la administración de DATS en diferentes concentraciones. Se encontró que la presencia de DATS inhibe la producción de  $\beta$ -catenina. Al suprimir la producción de  $\beta$ -catenina se interfiere con la vía de señalización Wnt/ $\beta$ -catenina, la cual tiene un papel importante en la proliferación y desarrollo de tumores. A pesar de encontrar resultados positivos en el uso de DATS como tratamiento antitumoral en líneas CSC colorrectales que promueven el cáncer colorrectal, aún no queda claro la forma de supresión de  $\beta$ -catenina por parte de DATS, su efecto en la vía de señalización Wnt/ $\beta$ -catenina así como su desempeño en estudios *in vivo*.

### **3.3.9 Cáncer de próstata**

Se propuso estudiar los efectos quimiopreventivos del SAC en un estudio *in vivo* en ratones (Chu *et al.*, 2007). El estudio consistió en análisis en busca de evidencia de una promoción de apoptosis causada por la activación de caspasa-3 en células de cáncer de próstata, así como evidencia de un efecto antitumoral por la reactivación de E-cadherina, una proteína relacionada con la metástasis. La inducción de cáncer fue llevada a cabo por xenoinjerto de CWR22R, por lo que ratones calvos BALB/c fueron empleados al poder aceptar este tipo de injertos con facilidad. Al administrar SAC en ratones calvos se encontró, por medio de un rastreo de antígeno prostático específico, que promueve la formación de caspasa-3 e inhibe la presencia de Bcl-2, las cuales son proteínas que promueven y evitan la apoptosis respectivamente.

Junto a estos resultados, los cuales demuestran la capacidad antiproliferativa causada por muerte celular, se encontró que la SAC activa a la proteína E-cadherina en células enfermas. Al activar a esta proteína se favorece la no adhesión de células enfermas a células sanas, disminuyendo la ocurrencia de metástasis. También se realizaron estudios de la toxicidad de la administración de SAC por medio de análisis en los hígados de los ratones empleados; se reafirmó la seguridad de emplear estos compuestos, aunque el estudio no arrojó información relevante para usos en humanos

por lo que se sugiere cautela al emplear SAC como tratamiento contra el cáncer de próstata.

### 3.3.10 Cáncer de colon

Se planteó en un estudio el uso de SAMC como agente quimiopreventivo en líneas humanas de cáncer de colon *in vitro* e *in vivo* (Xiao *et al.*, 2003). Se observó que el SAMC interfiere con la estructura celular al romper la estructura de microtúbulos.

La ruptura de microtúbulos se debe a la formación de puentes disulfuro con residuos tiol dentro de la macroestructura que mantiene la forma de la célula; al intervenir en el ensamblaje de microtúbulos se genera una despolimerización que detiene a las células en fase mitótica y posteriormente provocando la apoptosis. También, al promover la ruptura de microtúbulos, activa la vía de señalización JNK, la cual promueve la muerte celular por apoptosis. Al realizar pruebas *in vivo* se encontró que al consumir ajo y, por lo tanto, consumir alicina, ésta se descompone en el intestino en SAMC, por lo que este OSC es biodisponible al ser ingerido como SAMC directamente o por la ingesta de ajo.

### 3.3.11 Leucemia

En un estudio se planteó el uso de DADS como promovedor de apoptosis en células enfermas con leucemia (Luo *et al.*, 2015). El estudio buscó los efectos preventivos de DADS en células cancerosas al fijar como blanco a la piruvato cinasa M2 (PKM2), una proteína ligada a la producción de energía en células cancerígenas.

Se encontró que, al adicionar DADS a muestras *in vitro*, disminuye la concentración de PKM2 en el núcleo, favoreciendo la actividad de caspasa-3, Bax y la disminución de Bcl-2. Aunque el mecanismo de interacción entre DADS y la disminución de PKM2 nuclear aún no es claro, se sabe que esta regulación genera apoptosis reduciendo el crecimiento y la proliferación celular.

**Tabla 4.** Vías de OSCs por medio de la variación de proteínas presentes en la proliferación y propagación de cáncer.

Efectos anticáncer	OSCs	Aumenta	Disminuye	Consecuencia celular	Referencia
Desintoxicación	AMS, DATS y DADS	Actividad de GST	Inducción de neoplasia por BP	Disminución de carcinógenos generados por BP	Sparnins <i>et al.</i> , 1988

	AMT			previniendo la neoplasia	Sparnins <i>et al.</i> , 1996
Autofagia	Alicina	Actividad de vías autofágicas	Actividad de vías apoptóticas	Muerte celular sólo de células enfermas	Chu <i>et al.</i> , 2012
Daño del ADN	DATS	Presencia de $\gamma$ -H2AX	Población de células enfermas	Muerte celular por detención del ciclo celular en la etapa G2/M	Wang <i>et al.</i> , 2010
Plegamiento proteico	Ajoeno	Cantidad de proteínas sin plegar	Estabilidad celular	Se activa la proteína GRP78 induciendo la apoptosis	Kaschula <i>et al.</i> , 2016
Apoptosis	DATS	Presencia de Bax	Presencia de Bcl-2	Inducción de la muerte celular selectiva al sólo afectar a células enfermas	Li <i>et al.</i> , 2012
	DAS	N/A	Presencia del gen p21/ras	Disminuye la carcinogénesis así como la propagación a células sanas	Arora <i>et al.</i> , 2006
	SAMC	Formación de puentes disulfuro	Estabilidad de estructura microtubular	Debido a la activación de la vía JNK por la desestabilización estructural, se promueve la muerte celular	Xiao <i>et al.</i> , 2003
	DADS	Presencia de Caspasa-3 y Bax	Presencia PKM2 nuclear	Promueve la muerte celular al activar vías apoptóticas	Luo <i>et al.</i> , 2015
	SAC	Presencia de Caspasa-3	Presencia de Bcl-2	Promueve la muerte celular además de la reactivación de E-cadherina, evitando la propagación de cáncer	Chu <i>et al.</i> , 2007
Antiproliferación	Ajoeno	Presencia de TNF- $\alpha$	Tamaño de tumores	Los tumores presentes en ratones ya enfermos disminuyeron su tamaño	Taylor <i>et al.</i> , 2006

	DAS	Presencia de Bax	Presencia de Bcl-2	Promueve la muerte selectiva de células enfermas	Shin <i>et al.</i> , 2010
	DADS	Presencia de miR-134	Actividad de proteína FOXM1	Minimiza el tamaño de tumores así como previene la promoción de osteosarcoma	Li <i>et al.</i> , 2018
	DATS	N/A	Presencia de $\beta$ -catenina	Disminuye la actividad de la vía Wnt/ $\beta$ -catenina lo cual inhibe la proliferación y desarrollo de tumores	Zhang <i>et al.</i> , 2018

\*Compuestos organosulfurados (OSCs), alil-metil sulfuro (AMS), trisulfuro de dialilo (DATS), disulfuro de dialilo (DADS), sulfuro de dialilo (DAS), glutatión S-transferasa (GST), benzo[a]pireno (BP), ácido desoxirribonucleico (ADN), variante de histona de la familia H2A (H2AX) fosforilada ( $\gamma$ -H2AX), alil-metil trisulfuro (AMT), S-alilmercapto cisteína (SAMC), S-alil-cisteína (SAC), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), proteína de fijación de inmunoglobulina (GRP78), proteína de linfoma de células B2 (Bcl-2), Bcl-2 homóloga 4 (Bax), micro residuo de ARN (miARN) 134 (miR-134), proteína de caja forkhead M1 (FOXM1), c-Jun NH<sub>2</sub>-terminal cinasa (JNK), piruvato cinasa M2 (PKM2).

#### 4. USO DEL AJO EN EL TRATAMIENTO CONTRA EL CÁNCER

##### 4.1 Propiedades del uso del ajo como tratamiento contra el cáncer

Para poder emplear a los OSCs directamente obtenidos del ajo es necesario saber su biodisponibilidad. Por biodisponibilidad se entiende la velocidad de absorción de un principio activo y su llegada al lugar de acción. Muy pocos estudios significativos se han realizado empleando al ajo como un suplemento o tratamiento contra el cáncer debido a que las vías de administración, así como los protocolos de estudio difieren de un estudio a otro. Se ha encontrado que la alicina se descompone al ingerir ajo crudo debido a la metabolización de esta en el cuerpo, lo cual la descompone en distintos OSCs liposolubles e hidrosolubles. De los compuestos liposolubles se ha encontrado que los múltiples compuestos alil sulfurados (DAS, DADS y DATS) sufren una metabolización que los descomponen en compuestos que al igual tienen propiedades quimiopreventivas, pero de los cuales se desconoce su vía de acción y distribución en el cuerpo. En cuanto a los compuestos hidrosolubles se ha encontrado que la alicina es altamente reactiva con el aminoácido cisteína, lo cual la transforma

en SAC y SAMC. Teniendo en cuenta estas transformaciones y estudios de biodisponibilidad realizados se ha encontrado que los compuestos SAMC, SAC y aliína son aquellos que prevalecen en mayor cantidad en el organismo y que, en consecuencia, pueden llevar a cabo acciones anticancerígenas y antioxidantes en el cuerpo humano (Zhang *et al.*, 2020; De Greef *et al.*, 2021). El aumento de la biodisponibilidad dependerá de la vía de administración de los compuestos OSCs ya que, según su origen y su método de extracción, variará la cantidad de compuestos liposolubles e hidrosolubles que se comen via oral.

#### **4.2 Perspectivas del uso del ajo contra el cáncer**

A pesar de contar con estudios que presentan resultados positivos con respecto al uso del ajo y OSCs contra el cáncer, aún no se ha logrado desarrollar una estrategia concreta de implementación como medicamento en alguna de sus presentaciones.

La controversia en el uso del ajo como un alimento que pueda ayudar a tratar y prevenir el cáncer radica en el desconocimiento del mecanismo de acción de los OSCs en el organismo. Se especula que la liberación de H<sub>2</sub>S en el organismo es el principal responsable de la actividad anticancerígena de los OSCs, sin embargo, aún se deben realizar estudios de la toxicidad generada por el H<sub>2</sub>S debido a que sus propiedades benéficas o tóxicas dependen de su concentración en el organismo (Yagdi *et al.*, 2016). Por otra parte, existe un estudio sobre el uso del aceite de ajo como agente preventivo en daño hepático y daño renal en tratamientos con cisplatino, el cual hace evidente la eficacia de una de las presentaciones de ajo como suplemento auxiliar contra el cáncer de manera clínica (Abdel-Daim *et al.*, 2020).

Así mismo, como se han hecho estudios sobre el consumo de ajo o aceite de ajo, se han planteado estudios donde el consumo de OSCs sintéticos o aislados puede ser benéfico por sí mismo. El uso de componentes tales como alicina en tratamiento de enfermedades neurológicas y cardíacas (Marón *et al.*, 2020), el uso de SAMC como agente anticancerígeno en una amplia gama de padecimientos oncológicos (Lv *et al.*, 2019) y el uso de DADS en diferentes padecimientos como tratamiento debido a sus propiedades antiinflamatorias, anticancerígenas y antioxidantes (He *et al.*, 2021) marcan los beneficios de emplear OSCs de manera aislada.

Teniendo conocimiento sobre los efectos del ajo crudo, así como distintas preparaciones y OSCs sintéticos, el porvenir del uso del ajo y sus compuestos como medicamentos recae en la realización de estudios enfocada en humanos.

### **4.3 Desarrollo de medicamentos y suplementos**

El desarrollo de medicamentos basados en ajo aún se ve impedido debido a que los estudios realizados *in vivo* no han sido en humanos. El monitoreo de la correlación entre la disminución a padecer cáncer y el consumo de ajo se ha hecho de manera tan dispar en los diferentes estudios que estandarizar una formulación efectiva como tratamiento o suplemento aún no es posible.

Los estudios presentados en esta recopilación de información se han realizado mayoritariamente empleando variantes sintéticas de OSCs más que emplear el consumo de ajo crudo debido a que se realizaron en modelos de líneas celulares tanto de animales como de humanos, por lo que los resultados positivos plantean el uso de OSCs particulares más que el consumo directo de ajo crudo.

## **5. CONCLUSIONES**

Al recopilar información relacionada al ajo y sus propiedades quimiopreventivas se encontró que los OSCs son las moléculas responsables de los efectos positivos en el tratamiento contra el cáncer. Los compuestos solubles en agua, SAMC, SAC y aliína, son aquellos que pueden ser encontrados en el organismo al consumir ajo crudo o AGE, por lo cual no sufren descomposición metabólica y pueden llevar a cabo funciones benéficas; para poder obtener los beneficios de compuestos liposolubles es necesario plantear la administración de constituyentes individuales en la zona afectada al cáncer, como se ha realizado en múltiples estudios animales *in vivo*. A pesar de tener múltiples presentaciones de consumo de ajo, muchos estudios prefieren usar OSCs aislados de aceite de ajo o sintéticos. El uso de compuestos alil-sulfurados (ajoeno, DAS, DADS, DATS, AMS y AMT) así como compuestos solubles en agua (SAMC, SAC y aliína) de forma individual ha dado buenos resultados en el tratamiento de una amplia gama de tipos de cáncer, por lo que esto puede indicar que el desarrollo de medicamentos y tratamientos empleando compuestos azufrados sea dirigido al uso de OSCs individuales más que al consumo de ajo crudo.

A pesar de contar con una gran cantidad de estudios en desarrollo y vías de acción de OSCs, los mecanismos de acción aún no son completamente entendidos; múltiples vías accionadas por OSCs específicos, así como la presencia de compuestos no OSCs benéficos plantean vías de acción variadas dependiendo la presentación de ajo consumida o el constituyente administrado. Sin embargo, esto no demerita el hecho de que múltiples vías proapoptóticas, de detención de ciclo celular, antioxidantes y

antitumorales han sido encontradas al emplear OSCs en estudios tanto *in vitro* como *in vivo* por lo que la actividad anticancerígena en múltiples etapas de la carcinogénesis queda evidenciada sin citotoxicidad aparente en células sanas.

Así mismo, no se cuentan con suficientes estudios realizados de manera clínica que permitan desarrollar estrategias de tratamiento empleando alguna presentación de ajo o OSCs particulares por lo que su uso como tratamiento o medicamento está condicionado a la realización de más estudios clínicos representativos.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

Abdel-Daim, M.M., Abdel-Rahman, H.G., Dessouki, A.A., El-Far, A.H., Khodeer, D.M., Bin-Jumah, M., Alhader, M.S., Alkahtani, S., Aleya, L., 2020. Impact of garlic (*Allium sativum*) oil on cisplatin-induced hepatorenal biochemical and histopathological alterations in rats. *Science of the Total Environment*, 710, 136338.

Arora, A., Kalra, N., Shukla, Y., 2006. Regulation of p21/ras protein expression by diallyl sulfide in DMBA induced neoplastic changes in mouse skin. *Cancer Letters*, 242(1), 28-36.

Amagase, H. y Milner, J.A., 1993. Impact of various sources of garlic and their constituents on 7,12-dimethylbenz[a]anthracene binding to mammary cell DNA. *Carcinogenesis*, 14(8), 1627-1631.

Amagase, H., Petesch, B.L., Matsuura, H., Kasuga, S., Itakura, Y., 2001. Intake of garlic and its bioactive components. *Journal of Nutrition*, 131(3), 955S-962S.

Bianchini, F., Vainio, H., 2001. Allium vegetables and organosulfur compounds: do they help prevent cancer? *Environ Health Perspect*, 109(9), 893-902.

Bhagyalakshmi, N., Thimmaraju, R., Venkatachalam, L., Chidambara Murthy, K.N., y Sreedhar, R. V., 2005. Nutraceutical applications of garlic and the intervention of biotechnology. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(7), 607-21.

Borek, C., 2001. Antioxidant health effects of aged garlic extract. *Journal of Nutrition*, 131(3), 1010S-1015S.

Capasso, A., 2013. Antioxidant action and therapeutic efficacy of *Allium sativum* L. *Molecules*, 18(1), 690-700.

Chu, Q., Lee, D.T.W., Tsao, S.W., Wang, X., Wong, Y.C., 2007. S-allylcysteine, a water-soluble garlic derivative, suppresses the growth of a human androgen-independent prostate cancer xenograft, CWR22R, under in vivo conditions. *British Journal of Urology International*, 99(4), 925-932.

Chu, Y.L., Ho, C.T., Chung, J.G., Rajasekaran, R., Sheen, L.Y., 2012. Allicin induces p53-mediated autophagy in Hep G2 human liver cancer cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(34), 8363-8371.

Czepukojc, B., Baltés, A.K., Cerella, C., 2014. Synthetic polysulfane derivatives induce cell cycle arrest and apoptotic cell death in human hematopoietic cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*, 64, 249-257.

De Greef, D., Barton, E.M., Sandberg, E.M., Croley, C.M., Puramol, J., Wong, T.L., Das, N., Bishayee, A., 2021. Anticancer potential of garlic and its bioactive constituents: A systematic and comprehensive review. *Seminars in Cancer Biology*, 73, 219-264.

DeLeon, E.R., Gao, Y., Huang, E., Olson, K.R., 2016. Garlic oil polysulfides: H<sub>2</sub>S- and O<sub>2</sub>-independent prooxidants in buffer and antioxidants in cells. *American Journal of Physiology*, 310(11), R1212-R1225.

Dorant, E., Van den Brandt, P.A., Goldbohm, R.A., Hermus, R.J., Sturmans, F., 1993. Garlic and its significance for the prevention of cancer in humans: a critical review. *British Journal of Cancer*, 67(3), 424-429.

El-Hamidi, M. y El-Shami, S.M., 2015. Scavenging Activity of Different Garlic Extracts and Garlic Powder and their Antioxidant Effect on Heated Sunflower Oil. *American Journal of Food Technology*, 10(4), 135-146.

Ernst, E., 1997. Can Allium vegetables prevent cancer? *Phytomedicine*, 4(1), 79-83.

Farhat, Z., Hershberger, P.A., Freudenheim, J.L., Mammen, M.J., Hageman-Blair, R., Aga, D.S., Mu, L., 2021. Types of garlic and their anticancer and antioxidant activity: a review of the epidemiologic and experimental evidence. *European Journal of Nutrition*, 60(7), 3585-3609.

Freeman, F. y Koderá, Y., 1995. Garlic chemistry: stability of S-(2-propenyl)-2-propene-1-sulfonic thioate (allicin) in blood, solvents, and simulated physiological fluids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(9), 2332-2338.

García, J. y Sánchez-Muniz, F., 2000. Revisión: efectos cardiovasculares del ajo (*Allium sativum*). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 50(3), 219-229.

He, H., Ma, Y., Huang, H., Huang, C., Chen, Z., Chen, D., Gu, Y., Wang, X., Chen, J., 2021. A comprehensive understanding about the pharmacological effect of diallyl disulfide other than its anti-carcinogenic activities. *European Journal of Pharmacology*, 893, 173803.

Hellmich, M.R. y Szabo, C., 2015. Hydrogen Sulfide and Cancer. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 230, 233-241.

Herman-Antosiewicz, A., y Singh, S.V., 2004. Signal transduction pathways leading to cell cycle arrest and apoptosis induction in cancer cells by *Allium* vegetable-derived organosulfur compounds: a review. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 555(1-2), 121-131.

Hideki, I., Tomoko, S., Toru, O., Takaichiro, S., Kojiro, S., Hoyoku, N., Sanae, F., Kanehisa, M., 2006. Aged Garlic Extract Prevents a Decline of NK Cell Number and Activity in Patients with Advanced Cancer. *Journal of Nutrition*, 136(3), 816S-820S.

Hsing, A.W., Chokkalingam, A.P., Gao, Y.T., Madigan, M.P., Deng, J., Gridley, G., Fraumeni, J.F. Jr., 2002. *Allium* vegetables and risk of prostate cancer: a population-based study. *Journal of the National Cancer Institute*, 94(21), 1648-1651.

Iciek, M., Kwiecień, I., Włodek, L., 2009. Biological properties of garlic and garlic-derived organosulfur compounds. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 50(3), 247-265.

Jones, M.G., Hughes, J., Tregova, A., Milner, J., Tomsett, A.B., Collin, H.A., 2004. Biosynthesis of the flavour precursors of onion and garlic. *Journal of Experimental Botany*, 55(404), 1903-1918.

Jung, Y-M., Lee, S-H., Lee, D-S., You, M-J., Chung, I.K., Cheon, W.H., Kwon, Y-S., Lee, Y-J., Ku, S-K., 2011. Fermented garlic protects diabetic, obese mice when fed a high-fat diet by antioxidant effects. *Nutrition Research*, 31(5), 387-396.

Kang, J.S., Kim, S.O., Kim, G.Y., Hwang, H.J., Kim, B.W., Chang, Y.C., Kim, W.J., Kim, C.M., Yoo, Y.H., Choi, Y.H., 2016. An exploration of the antioxidant effects of garlic saponins in mouse-derived C2C12 myoblasts. *International Journal of Molecular Medicine*, 37(1), 149-156.

Kaschula, C.H., Hunter, R., Cotton, J., Tuveri, R., Ngarande, E., Dzobo, K., Schäfer, G., Siyo, V., Lang, D., Kusza, D.A., Davies, B., Katz, A.A., Parker, M.I., 2016. The garlic compound ajoene targets protein folding in the endoplasmic reticulum of cancer cells. *Molecular Carcinogenesis*, 55(8), 1213-1228.

Kelkel, M., Cerella, C., Mack, F., Schneider, T., Jacob, C., Schumacher, M., Dicato, M., Diederich, M., 2012. ROS-independent JNK activation and multisite phosphorylation of Bcl-2 link diallyl tetrasulfide-induced mitotic arrest to apoptosis. *Carcinogenesis*, 33(11), 2162-2171.

Kimura, S., Tung, Y-C., Pan, M-H., Su, N-W., Lai, Y-J., Cheng, K-C., 2017. Black garlic: a critical review of its production, bioactivity, and application. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(1), 62-70.

Knowles, L.M. y Milner, J.A., 2003. Diallyl disulfide induces ERK phosphorylation and alters gene expression profiles in human colon tumor cells. *Journal of Nutrition*, 133(9), 2901-2906.

Lau, B.H., Woolley, J.L., Marsh, C.L., Barker, G.R., Koobs, D.H., Torrey, R.R., 1986. Superiority of intralesional immunotherapy with *Corynebacterium parvum* and *Allium sativum* in control of murine transitional cell carcinoma. *Journal of Urology*, 137(2), 701-705.

Lawson, L.D., Ransom, D.K., Hughes, B.G., 1992. Inhibition of whole blood platelet-aggregation by compounds in garlic clove extracts and commercial garlic products. *Thrombosis Research*, 65(2), 141-156.

- Lee, Y-M., Gweon, O-C., Seo, Y-J., Im, J., Kang, M-J., Kim, M-J., Kim, J-I., 2009. Antioxidant effect of garlic and aged black garlic in animal model of type 2 diabetes mellitus. *Nutrition Research and Practice*, 3(2), 156-161.
- Li, M., Yan, Y.X., Yu, Q.T., Deng, Y., Wu, D.T., Wang, Y., Ge, Y.Z., Li, S.P., Zhao, J., 2017. Comparison of Immunomodulatory Effects of Fresh Garlic and Black Garlic Polysaccharides on RAW 264.7 Macrophages. *Journal of Food Science*, 82(3), 765-771.
- Li, W., Tian, H., Li, L., Li, S., Yue, W., Chen, Z., Qi, L., Hu, W., Zhu, Y., Hao, B., Gao, C., Si, L., Gao, F., 2012. Diallyl trisulfide induces apoptosis and inhibits proliferation of A549 cells *in vitro* and *in vivo*. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 44(7), 577-583.
- Li, Y., Wang, Z., Li, J., Sang, X., 2018. Diallyl disulfide suppresses FOXM1-mediated proliferation and invasion in osteosarcoma by upregulating miR-134. *Journal of Cellular Biochemistry*, 120(5), 7286-7296.
- Locatelli, D.A., Altamirano, J.C., González, R.E., Camargo, A.B., 2015. Home-cooked garlic remains a healthy food. *Journal of Functional Foods*, 16, 1-8.
- Luo, N., Zhao, L.C., Shi, Q.Q., Feng, Z.Q., Chen, D.L., Li, J., 2015. Induction of Apoptosis in Human Leukemic Cell Lines by Diallyl Disulfide via Modulation of EGFR/ERK/PKM2 Signaling Pathways. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 16(8), 3509-3515.
- Lv, Y., So, K.F., Wong, N.K., Xiao, J., 2019. Anti-cancer activities of S-allylmercaptocysteine from aged garlic. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 17(1), 43-49.
- Mandal, S.K., Das, A., Dey, S., Sahoo, U., Bose, S., Bose, A., Dhiman, N., Madan, S., Ramadan, M.A.M., 2019. Bioactivities of Allicin and Related Organosulfur Compounds from Garlic: Overview of the Literature Since 2010. *Egyptian Journal of Chemistry*, 62(1), 1-11.
- Martínez-Casas, L., Lage-Yusty, M., López-Hernández, J., 2017. Changes in the aromatic profile, sugars, and bioactive compounds when purple garlic is transformed into black garlic. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(49), 10804-10811.

Martins, N., Petropoulos, S., Ferreira, I.C.F.R., 2016. Chemical composition and bioactive compounds of garlic (*allium sativum* L.) as affected by pre- and post-harvest conditions: A review. *Food Chemistry*, 211, 41-50.

Marón, F.J., Camargo, A.B., Manucha, W., 2020. Allicin pharmacology: Common molecular mechanisms against neuroinflammation and cardiovascular diseases. *Life Sciences*, 249, 117513.

Melino, S., Sabelli, R., Paci, M., 2010. Allyl sulfur compounds and cellular detoxification system: effects and perspectives in cancer therapy. *Amino Acids*, 41(1), 103-112.

Moreno-Ortega, A., Pereira-Caro, G., Ordóñez, J.L., Moreno-Rojas, R., Ortíz-Somovilla, V., Moreno-Rojas, J.M., 2020. Bioaccessibility of Bioactive Compounds of 'Fresh Garlic' and 'Black Garlic' through In Vitro Gastrointestinal Digestion. *Foods*, 9(11), 1582.

Nagae, S., Ushijima, M., Hatono, S., Imai, J., Kasuga, S., Matsuura, H., Itakura, Y., Higashi, Y., 1994. Pharmacokinetics of the garlic compound S-allylcysteine. *Planta Medica*, 60(03), 214-217.

Nicastro, H.L., Ross, S.A., Milner, J.A., 2015. Garlic and onions: their cancer prevention properties. *Cancer Prevention Research*, 8(3), 181-189.

Nishino, H., Iwashim, A., Itakura, Y., Matsuura, H., Fuwa, T., 1989. Antitumor-promoting activity of garlic extracts. *Oncology*, 46(4), 277-280.

Nuutila, A.M., Puuponen-Pimiä, T., Aarni, M., Oksman-Caldentey, K.M., 2003. Comparison of antioxidant activities of onion and garlic extracts by inhibition of lipid peroxidation and radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 81(4), 485-493.

Omar, S. y Al-Wabel, N., 2010. Organosulfur compounds and possible mechanism of garlic in cancer. *Saudi Pharmaceutical Journal : SPJ : The Official Publication of the Saudi Pharmaceutical Society*, 18(1), 51-58.

Pandrangi, A., 2015. Cancer chemoprevention by garlic: A review. *Hereditary Genetics*, 4(2), 1-7.

Powolny, A., Singh, S.V., 2008. Multitargeted prevention and therapy of cancer by diallyl trisulfide and related Allium vegetable-derived organosulfur compounds. *Cancer Letters*, 269(2), 305-314.

Queiroz, Y.S., Ishimoto, E.Y., Bastos, D.H.M., Sampaio, G.R., Torres, E.A.F.S., 2009. Garlic (*Allium sativum* L.) and ready-to eat garlic products: in vitro antioxidant activity. *Food Chemistry*, 115(1), 371-374.

Ramirez, D.A., Altamirano, J.C., y Camargo, A.B., 2021. Multi-Phytochemical Determination Of Polar And Non-Polar Garlic Bioactive Compounds In Different Food And Nutraceutical Preparations. *Food Chemistry*, 337, 127648.

Ramirez, D.A., Locatelli, D.A., Torres-Palazzolo, C., Altamirano, J.C., Camargo, A.B., 2017. Development of garlic bioactive compounds analytical methodology based on liquid phase microextraction using response surface design. Implications for dual analysis: Cooked and biological fluids samples. *Food Chemistry*, 215, 493-500.

Sengupta, A., Ghosh, S., Bhattacharjee, S., 2004. Allium vegetables in cancer prevention: an overview. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 5(3), 237-245.

Shang, A., Cao, S.Y., Xu, X.Y., Gan, R.Y., Tang, G.Y., Corke, H., Mavumengwana, V., Li, H.B., 2019. Bioactive Compounds and Biological Functions of Garlic (*Allium sativum* L.). *Foods*, 8(7), 246.

Shin, H.A., Cha, Y.Y., Park, M.S., Kim, J.M., Lim, Y.C., 2010. Diallyl sulfide induces growth inhibition and apoptosis of anaplastic thyroid cancer cells by mitochondrial signaling pathway. *Oral Oncology*, 46(4), e15-e18.

Song, K. y Milner, J.A., 2001. The influence of heating on the anticancer properties of garlic. *Journal of Nutrition*, 131(3), 1054S-1057S.

Spornins, V.L., Barany, G., Wattenberg, L.W., 1988. Effects of organosulfur compounds from garlic and onions on benzo[ a ]pyrene-induced neoplasia and glutathione S-transferase activity in the mouse. *Carcinogenesis*, 9(1), 131-134.

Spornins, V.L., Mott, A.W., Barany, G., Wattenberg, L.W., 1996. Effects of allyl methyl trisulfide on glutathione S-transferase activity and BP-induced neoplasia in the mouse. *Nutrition and Cancer*, 8(3), 211-215.

Steinmetz, K.A., Kushi, L.H., Bostick, R.M., Folsome, A.R., Potter, J.D., 1994. Vegetables, fruit and colon cancer in the Iowa Women's Health Study. *American Journal of Epidemiology*, 139(1), 1-15.

Szabo, C., 2007. Hydrogen sulphide and its therapeutic potential. *Nature Reviews Drug Discovery*, 6(11), 917-935.

Taylor, P., Noriega, R., Farah, C., Abad, M., Arsenak, M., Apitz, R., 2006. Ajoene inhibits both primary tumor growth and metastasis of B16/BL6 melanoma cells in C57BL/6 mice. *Cancer Letters*, 239(2), 298-304.

Thomson, M., y Ali, M., 2003. Garlic [*allium sativum*]: A review of its potential use as an anti-cancer agent. *Current Cancer Drug Targets*, 3(1), 67-81.

Trio, P.Z., You, S., He, X., He, J., Sakao, K., Hou, D-X., 2014. Chemo-preventive functions and molecular mechanisms of garlic organosulfur compounds. *Food Function*, 5(5), 833-844.

Tsubura, A., Lai, Y.C., Kuwata, M., Uehara, N., Yoshizawa, K., 2011. Anticancer effects of garlic and garlic-derived compounds for breast cancer control. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 11(3), 249-253.

Wang, H.C., Pao, J., Lin, S.Y., Sheen, L.Y., 2012. Molecular mechanisms of garlic-derived allyl sulfides in the inhibition of skin cancer progression. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1271(1), 44-52.

Wang, H.C., Yang, J.H., Hsieh, S.C., Sheen, L.Y., 2010. Allyl Sulfides Inhibit Cell Growth of Skin Cancer Cells through Induction of DNA Damage Mediated G2/M Arrest and Apoptosis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(11), 7096-7103.

Wargovich, M., Woods, C., Eng, V.W., Stephens, L.C., Gray, K., 1988. Chemoprevention of N-nitrosomethyl-benzylamine induced esophageal cancer in rats

by the naturally occurring thioether, diallyl sulfide. *Cancer Research*, 48(23), 6872-6875.

Xiao, D., Pinto, J.T., Soh, J.W., Deguchi, A., Gundersen, G.G., Palazzo, A.F., Shirin, H., Weinstein, I.B., 2003. Induction of apoptosis by the garlic derived compound S-allylmercaptocysteine (SAMC) is associated with microtubule depolymerization and c-Jun NH(2)-terminal kinase 1 activation. *Cancer Research*, 63(20), 6825-6837.

Yagdi, E., Cerella, C., Dicato, M., Diederich, M., 2016. Garlic-derived natural polysulfanes as hydrogen sulfide donors: Friend or foe? *Food and Chemical Toxicology*, 95, 219-233.

Yin, M. y Cheng, W., 1998. Antioxidant activity of several Allium members. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 4097-4101.

Zhang, Q., Li, X.T., Chen, Y., Chen, J.Q., Zhu, J.Y., Meng, Y., Wang, X.Q., Li, Y., Geng, S.S., Xie, C.F., Wu, J.S., Zhong, C.Z., Han, H.Y., 2018. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling mediates the suppressive effects of diallyl trisulfide on colorectal cancer stem cells. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 81(6), 969-977.

Zhang, Y., Liu, X., Ruan, J., Zhuang, X., Zhang, X., Li, Z., 2020. Phytochemicals of garlic: Promising candidates for cancer therapy. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 123, 109730.