

La ingesta del complejo antioxidante BELAGE® incrementa la actividad de dos principales enzimas endógenas antioxidantes, SOD y GPx: mejorando el estatus antioxidante del cuerpo.

PROTOCOLO DEL ESTUDIO: OR-797- 10-RF

INVESTIGADORES PRINCIPALES:

**Dr. Stéphane GARVON
Dr. Caroline THIENAU
Dr. Claude VANNE**

**Laboratorios PROBIOX, Bélgica
Campus Universitaire du Sart Tilman
Avenue de l'hôpital - Tour Giga B34 - 3^e Etage
4000 LIEJA - Bélgica**

PATROCINADOR: NINAPHARM

FECHA DEL REPORTE FINAL: JULIO 8, 2010

CONFIDENCIAL

Este estudio fue desarrollado de acuerdo con la declaración de Helsinki y el requisito de Buenas Prácticas Clínicas.

TABLA DEL CONTENIDO

	Páginas
Introducción	3
Capacidad antioxidante de BELAGE®	4
BELAGE® contra el daño oxidativo	8
Prueba clínica de BELAGE®	10
Tolerancia e impresiones	14
Conclusión	15
Referencias	16

Introducción

El olivo (*Olea europaea*) y el romero (*Rosemary officinalis*) son especies vegetales ricas en compuestos fenólicos que llevan consigo una fuerte actividad antioxidativa y también han formado parte de la dieta Mediterránea durante siglos.

BELAGE® contiene extractos de olivo y romero cuyo contenido de antioxidantes presente en la dieta humana, entre otros factores, ha estado relacionado a la prevención de enfermedades de la arteria coronaria y de la arterioesclerosis.

Adicionalmente, el hidroxitirosol y la oleuropeina proveniente de los olivos, ha demostrado ser un potente disolvente y dispersante de los radicales libres.

Este estudio publica los resultados de una prueba clínica con **BELAGE®**, ingerido oralmente, que prueba los poderosos atributos antioxidantes de este extracto.

Los siguientes párrafos muestran que la capacidad de un tratamiento de 30 días con un suplemento de **BELAGE®** estimula las enzimas antioxidantes que juegan un papel crucial en proteger las células de estar siendo dañadas por los radicales libres.

Las enzimas antioxidantes, como el superóxido dismutasa y el glutatión peroxidasa catalizan las reacciones de enfriamiento rápido de los radicales libres, previniendo el estrés oxidativo.

Este estudio prueba que **BELAGE®** incrementa la actividad de dos enzimas endógenas antioxidantes principales, SOD y GPx, mejorando las defensas antioxidantes.

Abundando, el mismo tratamiento resultó en una reducción significativa de los niveles de la peroxidación de los lípidos y de la oxLDL: que también mostró menos formación de radicales libres.

Palabras Clave: Olivo (*Olea europaea*) - Romero (*Rosemary officinalis*) - BELAGE® - Compuestos fenólicos - Acción antioxidante - Enzimas endógenas antioxidantes - Bioactividad oral - Propiedades anti-inflamatorias e inmunomodulatoria - Destructor de los radicales libres - Efecto anti envejecimiento protector cardiovascular - Superóxido dismutasa (SOD) - Origen de las especies vegetales - Prueba clínica - Estudios *in vivo* - Dieta Mediterránea

1. Capacidad antioxidante de BELAGE®

La producción excesiva de radicales libres, tales como el radical aniónico superóxido, el radical hidroxilo y el radical alquilohiperoxilo, induce daños oxidativos en las células.

Se supone que el daño está asociado con el síndrome metabólico, el envejecimiento, el cáncer, la arterioesclerosis y otras enfermedades relacionadas con el estilo de vida.

En contraste, los antioxidantes, como destructores de los radicales libres e inhibidores de la peroxidación de los lípidos, asumen un papel importante en el juego de la prevención de tales enfermedades.

Así pues, los antioxidantes son actualmente el tópico más atractivo para la investigación debido a su papel en la salud humana.

Se han publicado muchos artículos que han reportado el efecto neuroprotector y la protección vascular de frutas y vegetales, conectadas a la dieta Mediterránea: apoyando la hipótesis de que los compuestos antioxidantes y anti-inflamatorios incluidos en la dieta diaria pudieran ejercer directamente un efecto neuroprotector.

Durante los últimos años pasados, ha salido a la luz evidencia que sugiere que los flavonoides de la dieta diaria (que representan un amplio rango de compuestos polifenólicos) que están presentes naturalmente en plantas y alimentos podrían ejercer efectos benéficos sobre el sistema nervioso central debido a su eficacia para proteger las neuronas contra lesiones inducidas por el estrés oxidativo suprimiendo la neuroinflamación y mejorando el control de factores de riesgo cardiovascular.

El olivo (*Olea europaea*) y el romero (*Rosemary officinalis*) son especies vegetales ricas en compuestos fenólicos que presentan una fuerte actividad antioxidativa y también han sido una parte de la dieta Mediterránea durante siglos.

El hidroxitirosol y la oleuropeina proveniente de los olivos han venido mostrándose como potentes eliminadores y destructores de radicales libres.

En adición, su presencia en la dieta humana, entre otros factores, ha estado relacionada con la prevención de enfermedades de la arteria coronaria y de la arterioesclerosis.

Existen muchos reportes que identifican los compuestos que son principalmente responsables de las propiedades antioxidantes de los extractos de romero tanto en fracciones lipofílicas como hidrofílicas.

La actividad antioxidante de estos extractos es debida primordialmente al contenido de diterpenos abietano fenólicos (ácido carnósico y los productos secundarios y sus derivados como el carnosol, el rosmadial, el rosmanol, los isómeros de rosmanol y el metil carnosato).

Mucho más aún, la ocurrencia de otros compuestos fenólicos tales como los ácidos flavonoides y fenólicos, especialmente el ácido rosmarínico, también contribuyen a la bioactividad de **BELAGE®**.

El **Romero** (*Rosmarinus officinalis L.*) es una planta muy importante tanto medicinal como aromáticamente, que pertenece a la familia de las *Lamiaceae* y ha sido cultivada desde tiempos inmemoriales.

Los antropólogos y los arqueólogos han encontrado evidencia de que las hierbas de romero fueron usadas por sus virtudes medicinales, culinarias y cosméticas en el antiguo Egipto, en Mesopotamia, en China y en la India.

Su amplísimo uso como una hierba culinaria así como los estudios experimentales han probado que es segura e inocua.

Las hojas del *Rosmarinus officinalis* poseen una variedad de agentes bioactivos, incluyendo antioxidantes anti-tumorales y anti-inflamatorios.

Los constituyentes relevantes principales están compuestos de vastas cantidades de compuestos polifenólicos, incluyendo ácido carnósico, carnosol, ácido rosmarínico, ácido ursólico, etc.

Entre estos, el ácido carnósico (CA) (un compuesto diterpeno fenólico) y el carnosol son los constituyentes antioxidantes de mayor potencia (alrededor del 90% de la actividad antioxidante).

Posadas y otros investigadores (12) también mostraron que al suplementar la dieta de ratas Viejas con un extracto de romero con 20% CA, se produjo una reducción de la actividad de la enzima antioxidante, la peroxidación de los lípidos y los niveles ROS que fue significativa para la actividad catalasa en el corazón y el cerebro, NOS en el corazón y en los niveles LPO y ROS en diferentes tejidos del cerebro.

Aún más, el CA tiene actividad antimicrobiana, puede inhibir la absorción de lípidos en animales y también reduce la ganancia de peso corporal en animales y es un supresor y retardador de los radicales libres, debido a su esqueleto fenólico.

Igualmente, la modulación del estrés oxidativo por el *Rosmarinus officinalis* ha sido demostrada en ratas a las que se les indujo cirrosis en el hígado mediante el uso de CCl₄.

El **olivo** (*Olea europaea L.*) ha sido ampliamente utilizado en remedios tradicionales en países Europeos y Mediterráneos tales como Grecia, España, Italia, Francia.

Ha sido usado en la dieta humana como extracto y como polvo pues contiene muchos compuestos potencialmente bioactivos que pueden tener propiedades antioxidantes, antihipertensivas, antiaterogénicas, anti-inflamatorias, hipoglucémicas e hipocolesterolémicas.

Los olivos del tipo *Olea europaea* son ricos en biofenoles producidos por esa planta, tales como la oleuropeína, la verbascosida, la ligstrosida, el tirosol y el hidroxitirosol.

Uno de estos compuestos potencialmente bioactivos es la oleuropeina secoiridoide (OLE), que puede constituir hasta el 6-9% de la materia seca en las hojas.

Este compuesto es una glucosida secoiridoide fenólica con una sustitución hidroxiaromática.

Algunos de estos biofenoles han mostrado una gran variedad de actividades biológicas tales como propiedades antioxidantes o antimicrobianas.

En 2007, algunos investigadores en Australia que estudiaban la capacidad antioxidante de 55 hierbas medicinales, frutas y vegetales encontraron que el extracto del olivo presentó la más alta actividad para la dispersión y destrucción de los radicales libres - más del doble que la actividad de la *Camellia sinensis* (te verde).

Las propiedades antioxidantes de los polifenoles del olivo han sido extensivamente estudiadas y sus efectos han sido descritos en numerosas revistas.

Se han llevado a cabo muchos experimentos *in vitro* y en animales para demostrar la actividad antioxidante de los extractos de olivo y sus principales compuestos activos, la oleuropeina y el hidroxitirosol.

Se ha demostrado que la oleuropeina hace decrecer la oxidación de la lipoproteína de baja densidad (LDL por sus siglas en inglés) tanto *in vitro* como en conejos.

En células epiteliales de ratas estimuladas con citocinas, un extracto concentrado de polifenol redujo la concentración de nitritos y la producción de radicales libre.

Unos conejos a los que se les indujo diabetes mostraron una disminución de los indicadores del estrés oxidativo cuando fueron tratados con oleuropeina.

La biodisponibilidad de los polifenoles del olivo también ha venido estudiándose en seres humanos y correlacionándose a su eficacia antioxidante.

Los resultados de este estudio indicaron que los polifenoles del olivo poseen buena biodisponibilidad, que concuerda bien con su eficacia antioxidante.

La revisión de los estudios de la intervención humana mostraron que los polifenoles del olivo hicieron decrecer los niveles de la LDL oxidada en el plasma y que afecto positivamente varios bioindicadores del daño oxidativo.

Los efectos antioxidantes de los polifenoles del olivo sobre la oxidación de la lipoproteína de baja densidad (LDL) fueron observados después de una ingesta en la dieta diaria de alrededor de 10 mg por día.

La evidencia global proveniente de ensayos *in vitro* y de estudios llevados a cabo sobre animales y seres humanos, apoyan el efecto antioxidante de los polifenoles del olivo.

En adición, el olivo y la oleuropeina han sido relacionados con la prevención de enfermedades de la arteria coronaria y de la arterioesclerosis a través de su habilidad de inhibir la formación de agregados de plaquetas, de modular el metabolismo del ácido araquidónico, de inhibir la peroxidación de la LDL y de la reducción del colesterol en la sangre.

Estas respuestas a la suplementación del extracto de olivo son consistentes con las respuestas farmacológicas reportadas tanto para la oleuropeina como para su principio metabolito colónico, el hidroxitirosol.

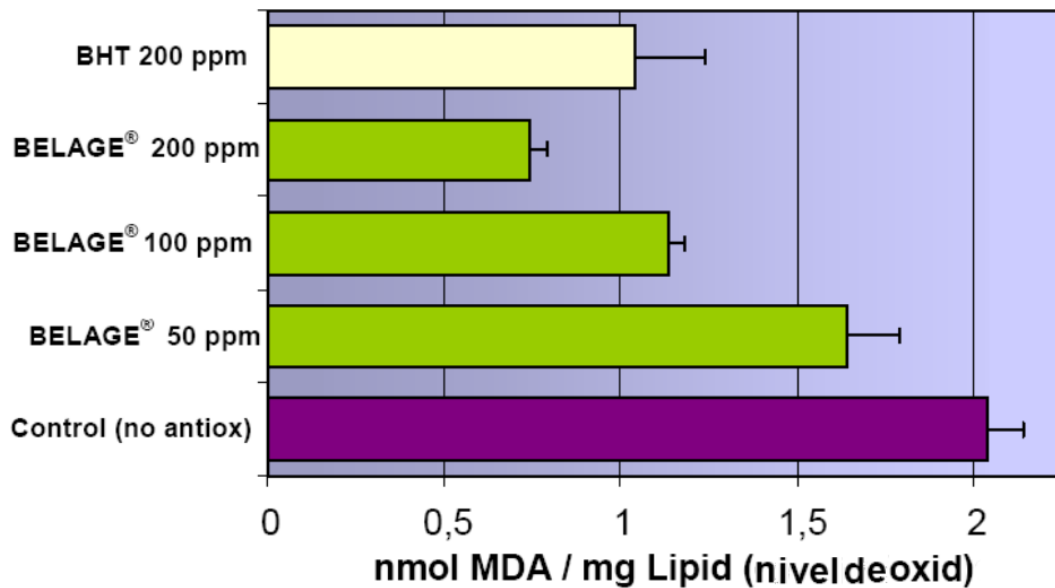
Las respuestas que parecen más encaminadas a indicar una cardioprotección incluyen los efectos anti-inflamatorios, la inhibición de los agregados de plaquetas y la producción de tromboxano, así como la protección contra lesiones oxidativas del miocardio inducidas por isquemia y reperfusión.

2. Prueba Clínica: eficacia comprobada de BELAGE® contra el daño oxidativo

La capacidad antioxidante de **BELAGE®** fue evaluada a través de su capacidad para reducir el nivel de las sustancias tiobarbitúricas ácido-reactivas (TBARS) derivado de la peroxidación de los lípidos de liposomas EYPC inducidos por AAPH.

Hay una fuerte correlación entre las sustancias tiobarbitúricas ácido-reactivas (TBARS) como indicadores de la peroxidación de los lípidos y otros productos que reflejan un daño oxidativo al ADN.

BELAGE® tiene un efecto significativo sobre la prevención de la peroxidación de los lípidos medida por el análisis de las TBARS en una manera que depende de la dosis.



Varias concentraciones de **BELAGE®** fueron probadas mediante este ensayo, 50 ppm, 100 ppm y 200 ppm obteniendo niveles de oxidación de los lípidos de 81.23%, 58.10% y 37.67% respectivamente.

BELAGE® también exhibió una capacidad antioxidante más alta que la del BHT (hidroxitolueno butilado), que arrojó una oxidación del 50.3% cuando fue usado a una concentración idéntica, esto es, 200 ppm.

El BHT es un poderoso agente antioxidante sintético usado como preservativo en muchos alimentos que contienen grasas y en aceites y grasas comestibles.

La capacidad antioxidante de **BELAGE®** (50, 100 and 200 ppm) fue comparada con la del BHT (200 ppm) para prevenir la peroxidación de lípidos medida por análisis de las TBARS en liposomas EYPC.

El nivel de oxidación se expresó como nmoles de malondialdehído (MDA) / mg de fosfolípido, medido mediante fluorescencia y por ensayos de determinación de Fósforo, respectivamente, comparado con una muestra de control en ausencia de antioxidantes.

Cada barra representa la media de tres experimentos independientes llevados a cabo por triplicado.

Las barras de error son las desviaciones estándar.

3. BELAGE® Eficacia en la prevención del estrés oxidativo, la formación de radicales libres

Estudio clínico en seres humanos

Varios bio-indicadores del estrés oxidativo fueron analizados para hacer objetivos los efectos de **BELAGE®**.

Análisis realizado por los Laboratorios PROBIOX

PROBIOX SA
Campus Sart Tilman
Tour GIGA B34
B-4000 Lieja
Bélgica

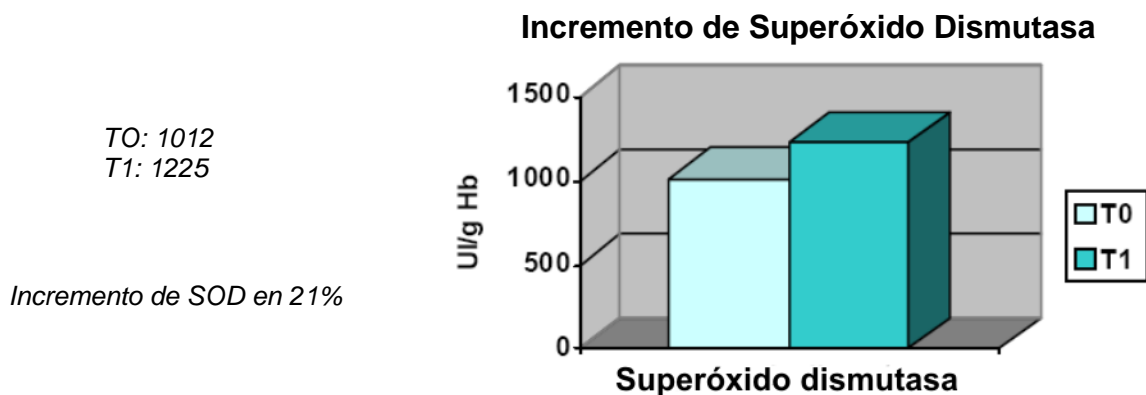
Protocolo

30 sujetos (Hombres y Mujeres)
1 Tableta de BELAGE® 250 mg por día
2 veces de evaluación:
T0: Evaluación en Abril de 2010
T1: Evaluación en Mayo de 2010

PARAMETROS PROBADOS: SOD, GPx, peroxidación de lípidos y oxidación de LDL

(1) Incremento del superóxido dismutasa

Los resultados prueban que **BELAGE®** mejoraron las defensas antioxidantes al activar la molécula de SOD y por lo tanto preserva la función de la enzima y las propiedades biológicas del SOD después de una administración oral, el SOD se incrementó significativamente ($p < 0.05$).



La poderosa enzima antioxidante natural, el superóxido dismutasa (SOD) actúa en la misma fuente de la reacción en cadena dando por resultado tipos reactivos de oxígeno y por lo tanto constituye el primero y uno de los principales eslabones del proceso de defensa contra los radicales libres.

Superóxido Dismutasa (SOD): Un eslabón esencial en la lucha contra los Radicales Libres:

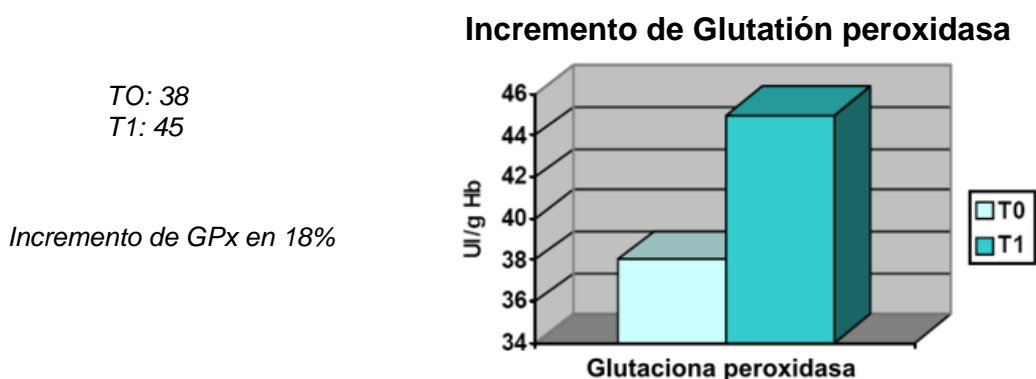
Es bien sabido que el ión superóxido (O_2^-) es el punto de inicio en la cadena de producción de los radicales libres.

En esta etapa temprana, el superóxido dismutasa desactiva el ión superóxido transformándolo en peróxido de hidrógeno (H_2O_2).

Este último es rápidamente catabolizado por la catalasa y las peroxidasas para formar dióxígeno (O_2) y agua (H_2O).

Diferentes estudios han confirmado que la producción de H_2O_2 bajo la acción del SOD es el factor detonante de los mecanismos naturales de defensa antioxidante.

El SOD por lo tanto, es la enzima clave en la defensa natural contra los radicales libres.



(2) Incremento del glutación peroxidasa

El resultado muestra que **BELAGE®** estimula la actividad de la enzima glutación peroxidasa, reduciendo la formación de los radicales libres.

El glutación peroxidasa proporciona un mecanismo para la destoxificación de los peróxidos en las células vivas.

Esta reacción juega un papel crucial en la protección de las células del daño causado por los radicales libres que son formados por la descomposición del peróxido.

Los componentes lípidos de la célula son especialmente susceptibles a las reacciones con los radicales libres, resultando en la peroxidación de los lípidos.

Las enzimas GPx reducen los peróxidos a alcoholes usando el glutación y previniendo de esa manera la formación de los radicales libres.

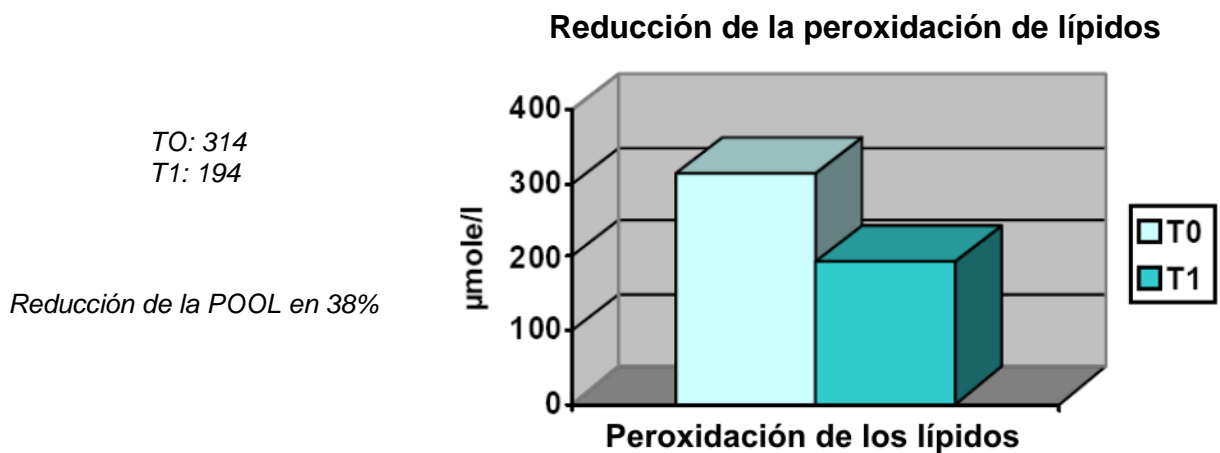
Las enzimas GPx catalizarán la reducción del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y una amplia variedad de peróxidos orgánicos ($R-OOH$) a los correspondientes alcoholes estables ($R-OH$) y agua usando el glutación celular como el reactivo reductor.

La GPx celular está presente en todos los tejidos; sin embargo, varias enfermedades pueden influenciar su nivel.

El glutatión peroxidasa existe en dos formas, la dependiente del selenio y la independiente de este elemento.

El anterior GSH-Px realiza tanto la destoxificación de H_2O_2 y convierte los hidroperóxidos lípidos a alcoholes no tóxicos, mientras que la enzima Se-independiente es responsable solamente de la metabolización de los peróxidos lípidos.

Un pequeño incremento en la actividad del GSH-Px puede compensar completamente la ausencia total de catalasa en los fibroblastos de pacientes deficientes en catalasa (Shindo y Hashimoto 1995).



(3) Reducción de la peroxidación de los lípidos

Los componentes lípidos de la célula son especialmente susceptibles a las reacciones con los radicales libres, dando como resultado una peroxidación de los lípidos.

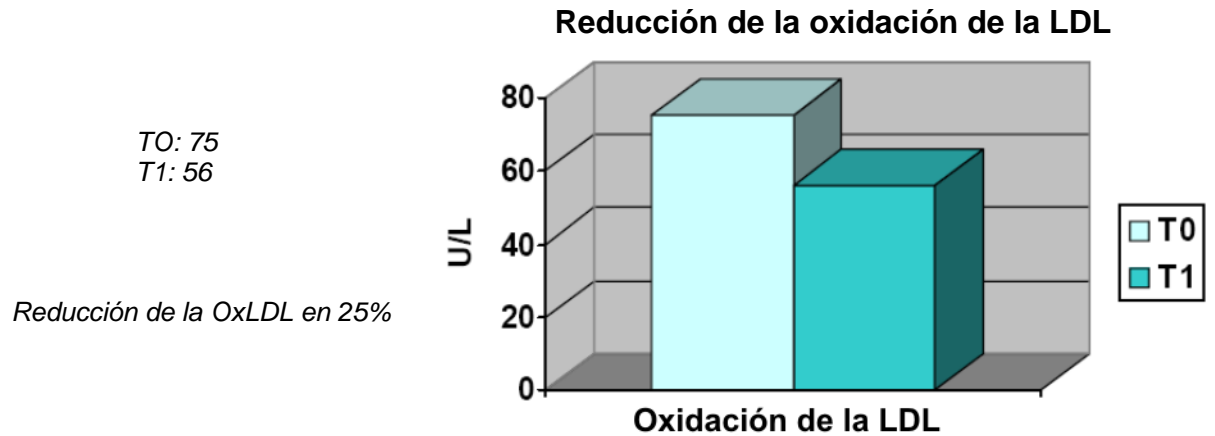
Las enzimas GPx reducen los peróxidos a alcoholes usando el glutatión previniendo así la formación de los radicales libres.

Los resultados muestran que el **BELAGE®** tomado oralmente redujo la peroxidación de los lípidos, reduciendo la formación de los radicales libres, reduciendo también el nivel del estrés oxidativo.

Ya que los ácidos grasos poli insaturados son un blanco fácil para los oxidantes y dado que el proceso de la peroxidación de los lípidos es, una vez iniciado, un proceso en cadena auto sustentable de formación de radicales libres, la acumulación de los productos de la peroxidación de los lípidos proporciona el indicador bioquímico más común para medir el estrés oxidativo.

Las enzimas GPx reducen los peróxidos a alcoholes usando glutatión previniendo la formación de los radicales libres.

(4) Reducción de la oxidación de la LDL



La capacidad del tratamiento de 30 días con el suplemento de la dieta diaria conteniendo extractos de Romero y Olivo para estimular la activación/expresión de las enzimas anti-oxidantes y para proteger contra el estrés oxidativo también fue determinada.

La actividad de las dos principales enzimas endógenas antioxidantes, SOD y GPx, fue incrementada significativamente en 21% y 18%, respectivamente, después de un mes de tratamiento diario.

Abundando más, el mismo tratamiento dio como resultado una significativa reducción de un 38% y 25% en los niveles de POOL y OxLDL.

Poniendo todo junto, estos datos apoyan el hecho de que un tratamiento de 30 días con **BELAGE®** puede proporcionar protección contra el estrés oxidativo y estimular los procesos celulares antioxidantes.

Reduciendo las formas oxidadas de los lípidos, el antioxidante proveniente de **BELAGE®** incrementa su velocidad metabólica.

4. Tolerancia e impresión

La tasa a la que se discontinuó el uso del producto debido a reacciones adversas fue de 0%.

A todos los sujetos se les pidió que reportaran a los investigadores cualquier molestia, efecto nocivo o reacción adversa.

Durante los 30 días del estudio no fueron notados ningunos efectos secundarios.

Se reportó que el suplemento fue muy sencillo de usar por la gran mayoría de los sujetos y entre el grupo de prueba se esparció un sentimiento más positivo respecto a la energía y la salud en general.

5. Conclusiones

Los resultados muestran que la ingesta de un suplemento de **BELAGE®** incrementa el estatus antioxidante de las enzimas endógenas, incluyendo el **superóxido dismutasa (SOD)** y el **glutati6n peroxidasa (GPx)**.

La GPx se sintetiza en el cuerpo a partir de amino ácidos tales como la **glicina**, la **cisteina** y el **glutamato** y está enfocado particularmente al radical per6xido de hidrógeno.

La producci6n de la GPx declina con la edad, pero esto puede ser limitado o aún ser revertido con un incremento en el consumo de frutas y vegetales o mediante la ingesta de un suplemento de **BELAGE®**.

La capacidad de un tratamiento de 30 días con el único suplemento de **BELAGE®** estimula la activaci6n de las enzimas antioxidantes y protege contra el estrés oxidativo.

La actividad de dos de las principales enzimas endógenas antioxidantes: SOD y GPx se incrementó significativamente, el SOD aumentó en 21% y la GPx se activó 18% más respectivamente, después de un mes de tratamiento diario.

Abundando más, el mismo tratamiento dio como resultado también una reducci6n significativa de un 38% de la POOL y una reducci6n del 25% en los niveles de la oxLDL.

El estrés oxidativo debido a la generaci6n de radicales libres resultante de un metabolismo normal, es usualmente mantenida a un nivel bajo por el sistema antioxidante.

Sin embargo en algunas condiciones el balance oxidante/antioxidante puede ser perturbado incrementando la generaci6n de especies con oxígeno reactivo y/o haciendo decrecer la habilidad end6gena para contrarrestarlo.

Los tejidos cerebrales son altamente sensitivos al estrés oxidativo porque tienen una alta demanda de oxígeno y tiene una relativa debilidad en sus sistemas antioxidantes.

Más aún, el cerebro contiene también altos niveles de ácidos grasos poli insaturados, lo que lo hace más vulnerable a las lesiones oxidativas. Dependiendo en la bio molécula atacada por las especies de oxígeno reactivo, el estrés oxidativo puede promover la peroxidaci6n de los ácidos proteínicos y nucléicos así como de los lípidos.

Hay muchas razones para afirmar que a largo plazo, el estrés oxidativo es el principal responsable de la declinaci6n de las funciones cognitivas que a menudo se observan al envejecer.

Como resultado, **BELAGE®** es un ingrediente único, especialmente apropiado para la lucha contra la sobrecarga con radicales libres, en particular cuando las propias defensas naturales del cuerpo están débiles: sujetos envejecidos (refuerzo del estado general), exposici6n al sol (prevenci6n de alergias), fumar, estrés, ejercicio físico intenso...

Puede prevenir ciertos desórdenes cr6nicos que involucran al estrés oxidativo o hacen más lenta su evoluci6n, mejorando por tanto las condiciones de vida del paciente.

Referencias

- 1) Anadon, A. y otros, *Acute oral safety study of rosemary extracts in rats*, J Food Prot, 2008, **71**(4): p. 790-5.
- 2) Aruoma, O. I. y otros, *An evaluation of the antioxidant and antiviral action of extracts of rosemary and Provençal herbs*, Food Chem Toxicol, 1996, **34**(5): p. 449-56.
- 3) Ramirez, P. y otros, *Separation of rosemary antioxidant compounds by supercritical fluid chromatography on coated packed capillary columns.*, J Chromatogr A, 2004, **1057**(1-2): p. 241-5.
- 4) Singletary, K., MacDonald, C., and Wallig, M., *Inhibition by rosemary and carnosol of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) - induced rat mammary tumorigenesis and in vivo DMBA-DNA adduct formation.*, Cancer Lett, 1996, **104**(1): p. 43-8.
- 5) Al-Sereiti, M. R., Abu-Amer K. M., and Sen, P., *Pharmacology of rosemary (Rosmarinus officinalis Linn.) and its therapeutic potentials.*, Indian J Exp Biol, 1999, **37**(2): p. 124-30.
- 6) Chan, M. M., Ho, C. T., and Huang, H. I., *Effects of three dietary phytochemicals from tea, rosemary and turmeric on inflammation-induced nitrite production*, Cancer Lett, 1995, **96**(1): p. 23-9.
- 7) Altinier, G. y otros, *Characterization of topical antiinflammatory compounds in Rosmarinus officinalis L*, J Agric Food Chem, 2007, **55**(5): p. 1718-23.
- 8) Ramirez, P., Garcia-Risco, M. R., Santoyo, S., Seronans, F. J., Ibañez, E., Reglero, G., *Isolation of functional ingredients from rosemary by preparative supercritical fluid (Prep-SFC)*, J Pharm. Biomed. Anal., 2006, **41**: p.1606-1613.
- 9) Senorans, F. J. y otros, *Liquid chromatographic-mass spectrometric analysis of supercritical-fluid extracts of rosemary plants*, J Chromatogr A, 2000, **870**(1-2): p. 491-9.
- 10) Richeimer, S. L. y otros, *Antioxidant activity of lipid-soluble phenolic diterpenes from rosemary*, J Am Oil Chem Soc, 1996, **73**(4): p. 507-514.
- 11) Masuda, T., Inaba, Y., and Takeda, Y., *Antioxidant mechanism of carnosic acid: structural identification of two oxidation products*, J Agric Food Chem, 2001, **49**(11): p. 5560-5.
- 12) Posadas, S. J. y otros, *Protective effect of supercritical fluid rosemary extract, Rosmarinus officinalis, on antioxidants of major organs of aged rats*, Exp Gerontol, 2009, **44**(6-7): p. 383-9.
- 13) Del Campo, J., Amiot, M. J. and Nguyen, C., *Antimicrobial effect of rosemary extracts*, J Food Prot, 2000, **63**(10): p. 1359-68.
- 14) Oluwatuyi, M., Kaatz, G. W. and Gibbons, S., *Antibacterial and resistance modifying activity of Rosmarinus officinalis*, Phytochemistry, 2004, **65**(24): p. 3249-54.
- 15) Ninomiya, K. y otros, *Carnosic acid, a new class of lipid absorption inhibitor from sage*, Bioorg Med Chem Lett, 2004, **14**(8): p. 1943-6.
- 16) del Baño, M. J. y otros, *Phenolic diterpenes, flavones, and rosmarinic acid distribution during the development of leaves, flowers, stems, and roots of Rosmarinus officinalis. Antioxidant activity*, J Agric Food Chem, 2003, **51**(15): p. 4247-53.
- 17) Masuda, T. y otros, *Recovery mechanism of the antioxidant activity from carnosic acid quinone, an oxidized sage and rosemary antioxidant*, J Agric Food Chem, 2002, **50**(21): p. 5863-9.
- 18) Gutierrez, R. y otros, *Oxidative estrés modulation by Rosmarinus officinalis in CCl4-induced liver cirrhosis*, Phytother Res, 2010, **24**(4): p. 595-601.

- 19) Takahashi, T. y otros, *Carnosic acid and carnosol inhibit adipocyte differentiation in mouse 3T3-L1 cells through induction of phase2 enzymes and activation of glutathione metabolism*, Biochem Biophys Res Commun, 2009, **382**(3): p. 549-54.
- 20) Benavente-García, O. y otros, *Antioxidant activity of phenolics extracted from Olea europaea L.*, Food Chemistry, 2000, **68**: p. 457-462.
- 21) Aziz, N. H. y otros, *Comparative antibacterial and antifungal effects of some phenolic compounds*, Microbios, 1998, **93**(374): p. 43-54.
- 22) Bisignano, G. y otros, *On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol*, J Pharm Pharmacol, 1999, **51**: p. 971-4.
- 23) Tripoli, E. y otros, *The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health*, Nutr Res Rev, 2005, **18**(1): p. 98-112.
- 24) Visioli, F., Poli, A., and Gall, C., *Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil*, Med Res Rev, 2002, **22**(1): p. 65-75.
- 25) Benavente-Garcia, O., Castillo, J., Lorente, J., Ortuño, A., Del Rio, J. A., *Antioxidant activity of phenolics extracted from Olea europaea L.*, Food Chem., 2000, **68**: p. 457-462.
- 26) Saija, A., Uccella, N., *Olive biophenols: functional effects on human wellbeing*, TIFS 2001, **11**: p. 357-363.
- 27) Visioli, F., Bellomo, G., and Galli, C., *Free radical-scavenging properties of olive oil polyphenols*, Biochem Biophys Res Commun, 1998, **247**(1): p. 60-4.
- 28) Saija, A. y otros, *"In vitro" evaluation of the antioxidant activity and biomembrane interaction of the plant phenols oleuropein and hydroxytyrosol*, Int J Pharm, 1998, **166**: p. 123-33.
- 29) Gordon, M. H., Paiva-Martins, F., and Almeida, M., *Antioxidant activity of hydroxytyrosol acetate compared with that of other olive oil polyphenols*, J Agric Food Chem, 2001, **49**(5): p. 2480-5.
- 30) Briante, R. y otros, *Antioxidant activity of the main bioactive derivatives from oleuropein hydrolysis by hyperthermophilic beta-glycosidase*, J Agric Food Chem, 2001, **49**(7): p. 3198-203.
- 31) Saija, A. and Uccella, N., *Olive biophenols: functional effects on human wellbeing*, TIFS, 2001, **11**: p. 357-363.
- 32) Paiva-Martins, F., Gordon, M. H., and Gameiro, P., *Activity and location of olive oil phenolic antioxidants in liposomes*, Chem Phys Lipids, 2003, **124**(1): p. 23-36.
- 33) Visioli, F. y otros, *Low density lipoprotein oxidation is inhibited in vitro by olive oil constituents*, Atherosclerosis, 1995, **117**(1): p. 25-32.
- 34) Visioli, F. and Galli, C., *Biological properties of olive oil phytochemicals*, Crit Rev Food Sci Nutr, 2002, **42**(3): p. 209-21.
- 35) Zaslaver, M., Offer, S., Kerem, Z., Stark, A.H., Weller, J. I., Eliraz, A. et al., *Natural compounds derived from foods modulate nitric oxide production and oxidative status in epithelial lung cells*, J Agric. Food Chem., 2005, **53**: p. 9934-9.
- 36) Kountouri A, M., Kaliora A. C., Andrikopoulos N. K. , *Bioavailability of the phenolic compounds of the fruits (drupes) of Olea europaea (olives): impact on plasma antioxidant status in humans*, Phytomedicine, 2007, **14**(10): p. 659-667.

- 37) Raederstorff, D., *Antioxidant activity of olive polyphenols in humans: a review*, Int J Vitam Nutr Res, 2009, **79**(3): p. 152-65.
- 38) Carluccio, M. A. y otros, *Olive oil and red wine antioxidant polyphenols inhibit endothelial activation: antiatherogenic properties of Mediterranean diet phytochemicals*, Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2003, **23**(4): p. 622-9.
- 39) Kohyama, N. y otros, *Inhibition of arachidonate lipoxygenase activities by 2-(3,4-dihydroxyphenyl) ethanol, a phenolic compound from olives*, Biosci Biotechnol Biochem, 1997, **61**(2): p. 347-50.
- 40) Andreadou, I. y otros, *The olive constituent oleuropein exhibits anti-ischemic, antioxidative, and hypolipidemic effects in anesthetized rabbits*, J Nutr, 2006, **136**(8): p. 2213-9.
- 41) Khayyal, M. T. y otros, *Blood pressure lowering effect of an olive leaf extract (Olea europaea) in L-NAME induced hypertension in rats*, Arzneimittelforschung, 2002, **52**(11): p. 797-802.
- 42) Lasserre, B. y otros, *Effects on rats of aqueous extracts of plants used in folk medicine as antihypertensive agents*, Naturwissenschaften, 1983, **70**(2): p. 95-6.
- 43) Soler-Rivas C., Wichers H. J., *Oleuropein and related compounds*, J Sci Food Agric, 2000, **80**: p. 1013-23.
- 44) Corona, G. y otros, *The fate of olive oil polyphenols in the gastrointestinal tract: implications of gastric and colonic microflora-dependent biotransformation*, Free Radic Res, 2006, **40**(6): p. 647-58.
- 45) Manna, C. y otros, *Oleuropein prevents oxidative myocardial injury induced by ischemia and reperfusion*, J Nutr Biochem, 2004, **15**(8): p. 461-6.
- 46) Pieroni A., Pieters, L. y otros, *In vitro anticomplementary activity of flavonoids from olive (Olea europaea L.) leaves*, Pharmazie, 1996, **51**: p. 765-768.
- 47) Petroni, A., Salami, M. y otros, *Inhibition of platelet aggregation and eicosanoid production by phenolic components of olive oil*, Thromb Res, 1995, **78**(151-160).
- 48) Briante, R., Patumi, M., Terenziani, S., Bismuto, E., Febbraio, F., and Nucci, R., *Olea europaea L. leaf extract and derivatives: antioxidant properties*, J Agric Food Chem Toxicol, 2002, **50**: p. 4934-4940.
- 49) Petkov, V. and Manolov, P., *Pharmacological analysis of the iridoid oleuropein*.