



# UNIVERSITÀ DI PISA

Dipartimento di Farmacia

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN  
FARMACIA

TESI DI LAUREA

**DALLA TAVOLA ALLA FARMACIA: PROPRIETÀ  
FARMACOLOGICHE DELL' OLEA EUROPAEA E  
DELL'OLIO EXTRAVERGINE DI OLIVA**

Relatore:  
Prof.ssa M.C. Breschi

Candidata:  
Bonturi Renèe

Anno Accademico 2014- 2015

# INDICE

1. INTRODUZIONE.....	4
2. DESCRIZIONE BOTANICA.....	6
3. USI TRADIZIONALI.....	8
4. PROCESSO DI ESTRAZIONE DELL' OLIO DI OLIVA.....	10
5. COSTITUENTI CHIMICI DELLE FOGLIE DI ULIVO.....	12
6. COSTITUENTI CHIMICI DELL' OLIO DI OLIVA.....	15
7. EFFETTI FARMACOLOGICI.....	18
7.1. EFFETTI FARMACOLOGICI DEI POLIFENOLI.....	18
7.1.1. EFFETTI CARDIOVASCOLARI.....	18
7.1.2. CARDIOTOSSICITÀ DA ANTRACICLINE.....	19
7.1.3. ATTIVITÀ ANTIOSSIDANTE.....	20
7.1.4. EFFETTO IPOGLICEMICO.....	25
7.2. EFFETTI FARMACOLOGICI DEI TRITERPENI.....	27
7.2.1. DISLIPIDEMIE.....	27
7.2.1.1. RUOLO DELL' ACIDO OLEANOLICO.....	28
7.2.1.2. RUOLO DELL' ACIDO MASLINICO.....	29
7.2.1.3. RUOLO DELL' UVAOLO E ERITRODIOLO.....	29
7.2.2. CANCRO.....	31
7.2.2.1. RUOLO DELL' ACIDO OLEANOLICO.....	33
7.2.2.2. RUOLO DELL' ACIDO MASLINICO.....	33
7.2.2.3. RUOLO DELL' UVAOLO E ERITRODIOLO.....	34
7.2.3. L' INFIAMMAZIONE, LO STRESS OSSIDATIVO, E IL DANNO OSSIDATIVO AL DNA.....	35
7.2.3.1. RUOLO DELL' ACIDO MASLINICO.....	36
7.2.3.2. RUOLO DELL' ACIDO OLEANOLICO.....	36
7.3. EFFETTI FARMACOLOGICI DELL' OLEOCANTALE (OC).....	38
7.3.1. ATTIVITÀ ANTINFIAMMATORIA.....	39
7.3.2. EFFETTI CHEMIOTERAPICI E CHEMIOPREVENTIVI DI OC...	41
7.3.3. EFFETTO NEUROPROTETTIVO DELL' OC CONTRO LA MALATTIA DI ALZHEIMER.....	42
8. STUDI DI BIODISPONIBILITA'.....	44

9. INTERAZIONI FARMACOLOGICHE.....	45
10. REAZIONI ALLERGICHE.....	45
11. PRODOTTI IN COMMERCIO A BASE DI OLEA EUROPAEA.....	46
12. CONCLUSIONI.....	48
13. GLOSSARIO ABBREVIAZIONI.....	50
14. SITOGRAFIA.....	54
15. BIBLIOGRAFIA.....	55

# INTRODUZIONE

Recentemente è emerso che la dieta Mediterranea è correlata alla diminuzione dell'incidenza di mortalità cardiovascolare, delle malattie cognitive legate all'età, e del cancro al seno o al colon. Questa dieta prevede l'assunzione di pane, cereali, riso, pasta, frutta, verdura e olio extravergine d'oliva come principale fonte di grassi.

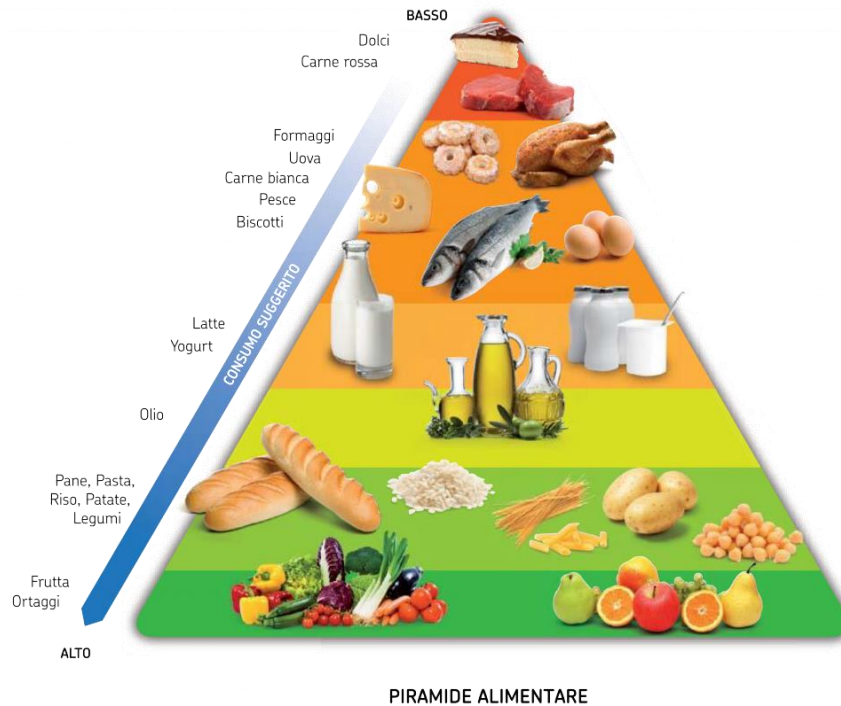


Fig.1 : Piramide alimentare della dieta mediterranea<sup>a</sup>

Per questo motivo numerose ricerche si sono focalizzate sullo studio dei costituenti chimici dell'olio extravergine d'oliva e dei suoi potenziali effetti farmacologici, nonché su quelli dell'Olea europaea, per comprendere le ragioni delle proprietà benefiche della dieta mediterranea.

È stato dimostrato che i principali componenti dell'olio extravergine d'oliva e dell'Olea europaea sono i composti fenolici, di cui i principali sono l'oleocantale, l'oleuropeina, il verbascoside e l'idrossitirosolo, e i composti triterpenici, che comprendono l'acido maslinico, l'acido oleanolico, l'uvaolo e l'eritrodiolo.

Studi clinici hanno osservato che questi composti hanno importanti attività biologiche, come antiossidanti, antinfiammatori, antitrombotici, antitumorali, cardioprotettivi e antidiabetici.

Di particolare interesse è l'effetto neuroprotettivo dell'oleocantale verso patologie neurodegenerative come la malattia di Alzheimer (AD).

Di seguito sono riportati vari studi clinici riguardo queste principali attività farmacologiche dell'olio extravergine d'oliva.

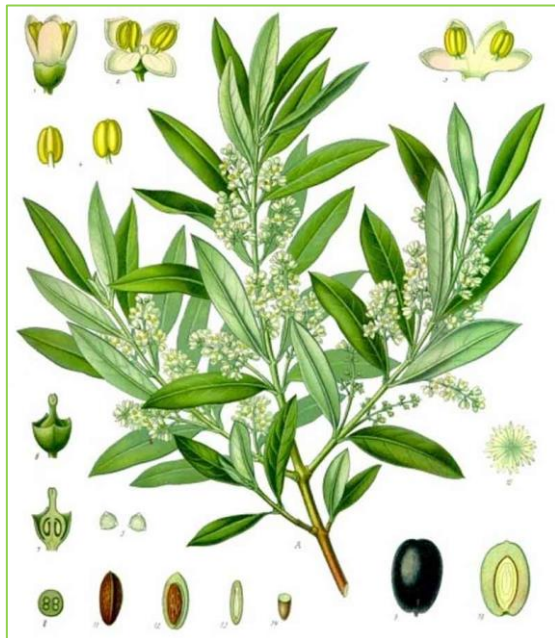
## DESCRIZIONE BOTANICA

L' ulivo <sup>b</sup> (*Olea europaea*) è un arbusto sempreverde appartenente alla famiglia delle Oleaceae originario dell'Asia Minore. È una specie tipicamente termofila ed eliofila, predilige ambienti e climi secchi, aridi e asciutti ed è sensibile alle basse temperature; vegeta nei terreni sciolti, grossolani o poco profondi, con rocciosità affioranti e può essere coltivato anche in prossimità dei litorali. È molto diffusa e coltivata in tutte le regioni del Mediterraneo.

È un albero sempreverde, molto longevo, e raggiunge un'altezza di 10-15 metri.

Le radici sono prevalentemente di tipo fittonante nei primi 3 anni di età, poi si trasformano quasi completamente in radici di tipo avventizio, garantendo alla pianta vigoria anche su terreni rocciosi e formando un apparato radicale alquanto esteso e molto superficiale.

Il tronco <sup>c</sup> inizialmente è cilindrico ed eretto, diviene con l'età largamente espanso alla base, irregolare, sinuoso e nodoso, spesso cavo; con rami assurgenti e ramuli angolosi, talora spinescenti nelle forme selvatiche, con chioma densa, molto espansa grigio-argentea.



La corteccia è grigio-verde e liscia fino al decimo anno circa, poi nodosa, scabra con solchi profondi e screpolata in placchette quadrangolari. La ceppaia forma strutture globose, da cui ogni anno sono emessi numerosi polloni basali.

Le foglie si formano sul ramo dalla primavera all'autunno e restano vitali fino a due anni di età; sono opposte, persistenti, coriacee, verdi cupe superiormente, biancastre-argentee inferiormente per la presenza di peli squamiformi, lanceolate, ovali oblunghe, a margine intero leggermente revoluti.

All'ascella di ogni foglia si trova una gemma, che potrà dare luogo a un'infiorescenza (se era gemma a fiore) o ad un germoglio (se era gemma a legno). Molte gemme a legno possono rimanere ferme e svilupparsi anche dopo vari anni, come per esempio in seguito a grossi tagli di potatura.

I fiori sono ermafroditi possiedono cioè uniti gli organi maschili (due stami) e quello femminile (pistillo); sono molto piccoli (3-5 mm) e la corolla è costituita da quattro petali

biancastri saldati fra di loro alla base; il pistillo è tozzo, breve, provvisto di uno stimma ampio piumato, ricco di papille e quindi molto adatto a trattenere facilmente il polline.

I fiori non sono singoli ma riuniti in una infiorescenza, simile ad un piccolo grappolo, chiamata "mignola". Le mignole si sviluppano dalle gemme a fiore che si formano all'ascella delle foglie e cominciano a svilupparsi (fase di "mignolatura"), in seguito avviene la fioritura vera e propria (apertura dei fiori) tra la fine di aprile e giugno.

I frutti (olive) sono drupe ovoidali, hanno colore che varia dal verde al giallo al viola al nero violaceo, con mesocarpo oleoso e nocciolo affusolato legnoso e rugoso. Pesano da 2 a 20 grammi; maturano a partire da ottobre e contemporaneamente al viraggio del colore si svolge la maturazione o "inoliazione" durante la quale nella polpa diminuisce il contenuto in acqua, zucchero e acidi e aumenta quello in olio.

## USI TRADIZIONALI

L' ulivo <sup>d</sup> (*Olea europaea*) è una pianta coltivata dall' uomo fin dai tempi più remoti per le sue innumerevoli proprietà, inoltre nelle antiche tradizioni rappresentava un simbolo di pace, di saggezza, di sapienza, di gloria e di prosperità, e veniva considerato un dono degli Dei.

Nelle feste e nei giochi in onore di Atena, il vincitore veniva incoronato con una ghirlanda di ulivo, lo stesso premio che veniva attribuito a Roma ai poeti e letterati durante la solennità della festa Quinquatrus in onore di Minerva (l'Atena romana). I significati simbolici attribuiti all'ulivo sono veramente tanti, è considerato principalmente il simbolo della pace e delle risoluzioni pacifiche; per esempio l'invio di un ramoscello di ulivo al nemico in guerra, era da intendersi come una offerta di pace.

La mitologia greca <sup>e</sup> attribuisce la creazione di questo albero ad Atena, dea della Sapienza; la leggenda narra che in una competizione con il dio Poseidone per diventare la divinità protettrice di Atene, la dea fece sorgere una pianta di ulivo da una roccia per donarla agli ateniesi, mentre Poseidone fece comparire dalla foresta un nuovo animale: il cavallo. Gli ateniesi scelsero l'ulivo, perché il cavallo rappresentava la guerra mentre la nuova pianta avrebbe garantito loro olio, legname e luce e quindi abbondanza e pace.

Anticamente, veniva usato anche come medicamento, come combustibile e nei riti religiosi.

Attualmente <sup>f</sup> l'olio di oliva è usato in campo alimentare ed è un elemento basilare della dieta mediterranea, in quanto fonte principale di lipidi.

Può essere adoperato a crudo in insalate, salse o condimenti, oppure per la cottura e frittura di alcuni alimenti, ma anche nella preparazione di alcuni dolci, poiché sostituisce la margarina.



Oltre all'uso alimentare, l'olio di oliva raffinato viene usato come solvente per preparazioni iniettabili, mentre le foglie di ulivo come infuso o decotto.

Fin dall'antichità ha assunto un ruolo anche nella cosmetica <sup>g</sup>; i fenici lo chiamarono “oro liquido”, gli egizi lo usavano per ammorbidire la pelle e per rendere lucidi i capelli, mentre gli atleti greci lo adoperavano per massaggi e frizioni.

Nella dermocosmesi moderna l'olio extravergine d'oliva viene usato per la cura esterna della pelle in saponi, bagno schiuma, maschere e prodotti detergenti a base di olio d'oliva, ad azione idratante, emolliente ed anti-infiammatoria, indicati per pelli secche o



sensibili, dermatiti irritative e allergiche da contatto e per la detersione della pelle dei neonati. In commercio l'olio di oliva si trova anche in prodotti per i capelli, in quanto crea una guaina che li protegge da smog e agenti atmosferici, contrasta la debolezza e la caduta dei capelli nutrendo in profondità il bulbo pilifero .

## PROCESSO DI ESTRAZIONE DELL' OLIO DI OLIVA

L' estrazione dell' olio dalle olive <sup>h</sup> è un processo che comprende due fasi fondamentali: la macinazione della polpa e la successiva separazione della frazione oleosa dagli altri componenti solidi e liquidi.

Il metodo d' estrazione dell' olio extravergine di oliva è rappresentato da processi di natura esclusivamente meccanica e impiega esclusivamente l'urto, la pressione, la centrifugazione, la decantazione, la filtrazione, la tensione superficiale, il trattamento meccanico delle emulsioni il riscaldamento a temperature moderatamente alte al fine di incrementare la resa in olio.

La normativa e gli standard di qualità impongono l'impiego esclusivo di metodi meccanici anche se esistono altre tecniche prevedono l'uso di metodi fisici e chimici.

Le linee di lavorazione nell'estrazione meccanica differiscono per i metodi usati nelle singole fasi, pertanto esistono tipologie d'impianto differenti.

Questi differiscono tra loro in caratteristiche tecniche, capacità di lavoro, livello di meccanizzazione, organizzazione del lavoro, resa qualitativa e quantitativa, e costi di produzione.

Quasi tutti gli impianti prevedono la successione di cinque fasi fondamentali: le operazioni preliminari, la molitura, la gramolatura, l' estrazione del mosto d'olio e la separazione dell'olio d'oliva.

Le operazioni preliminari servono a preparare le olive alla lavorazione, e comprendono la pesatura, lo stoccaggio, e la lavatura delle olive.

La molitura consiste nella prima fase di estrazione vera e propria: le olive sono sottoposte ad azioni meccaniche che provocano la rottura della parete cellulare e delle membrane con la conseguente fuoriuscita dei succhi cellulari e dell'olio. Il prodotto ottenuto da questa fase nella maggior parte degli impianti è la pasta d'olio, una massa semifluida composta da una frazione solida (frammenti di noccioli, bucce e polpa) e una liquida (emulsione di acqua e olio). I sistemi utilizzati sono di due tipi: la molitura classica attraverso la molazza, strumento tradizionalmente usato, e la frangitura tramite l'uso di frangitore a martelli, che è lo strumento utilizzato nei moderni impianti a ciclo continuo.

La gramolatura, o gramolazione, è un'operazione che segue la frangitura ed ha lo scopo di rompere l'emulsione fra acqua e olio e far confluire le micelle d'olio in gocce più grandi che tendono a separarsi spontaneamente dall'acqua. Si effettua in macchine dette gramole o gramolatrici.

Poi segue l'estrazione dell'olio, che consiste nella separazione del mosto d'olio dalla sansa, la frazione solida costituita dai frammenti di nocciolo, dalle bucce e da frammenti di polpa.

L'estrazione è attuata con sistemi alternativi che sfruttano diversi principi meccanici e sono: estrazione per pressione, mediante una pressa idraulica, estrazione per centrifugazione, con l'uso di centrifughe a decanter, oppure estrazione in sinolea, detto anche percolamento o filtrazione selettiva.

Il mosto d'olio ottenuto dall'estrazione contiene sempre una quantità residua d'acqua che viene separata, per effetto della differente densità dei due liquidi, attraverso la decantazione o la centrifugazione.

L'olio appena separato viene conservato in vasi d'acciaio, a contatto con un'atmosfera d'azoto per prevenire le ossidazioni.

Invece l'olio destinato subito alla commercializzazione è sottoposto a filtrazione mediante filtri prima del confezionamento.

## COSTITUENTI CHIMICI DELLE FOGLIE DI ULIVO

La composizione chimica delle foglie di ulivo è influenzata da alcune condizioni, quali l'origine, la proporzione dei rami rispetto all'albero, le condizioni di conservazione e il contenuto di umidità. Inoltre la varietà dell' ulivo, le condizioni climatiche influenzano il contenuto di carboidrati e azoto presenti nelle foglie di ulivo <sup>1,2,3,4</sup>.

Nelle foglie di ulivo ci sono cinque gruppi di composti fenolici:

- secoiridoidi (oleuropeina, oleacina e verbascoside chiamati genericamente oleuropeosidi)
- flavoni (luteolin-7-glucoside, apigenin-7-glucoside, diosmetin-7-glucoside, luteolina e diosmetina )
- flavonoli (rutina)
- flavan-3-oli (catechina)
- fenoli sostituiti (tirosolo, idrossitirosolo, vanillina, acido vanillico e acido caffeico).

Il composto più abbondante è l'oleuropeina, seguita dall' idrossitirosolo, dai flavon-7 glucosidi di luteolina e apigenina e dal verbascoside. (Fig. 2).

L' idrossitirosolo è un precursore dell' oleuropeina, invece il verbascoside è un glucoside coniugato con l' idrossitirosolo e l' acido caffeico.

Il contenuto totale di polifenoli (2,058 mg in 100 g) e flavonoidi (858 mg in 100 g) nelle foglie di ulivo è equiparabile a quello nella buccia dell'uva rossa <sup>5</sup>.

L' oleuropeina è il principale secoiridoide presente nell'ulivo, ed è un composto dal gusto amaro con una potente azione antiossidante e proprietà anti-infiammatorie.

E' stato scoperto nel 1908 da Bourquelot e Vintilesco, è un estere eterosidico dell'acido elenolico e del diidrossifeniletanolo <sup>6</sup>.

L' idrossitirosolo (3,4-diidrossifenil etanolo) è il principale prodotto di degradazione dell' oleuropeina.

L' oleuropeina è presente in quantità elevate nelle olive non trattate e nelle foglie, mentre l'idrossitirosolo è più abbondante nelle olive lavorate e nell' olio d'oliva.

La riduzione della concentrazione di oleuropeina e l' aumento della concentrazione di idrossitirosolo si può verificare a causa di reazioni chimiche e enzimatiche che avvengono durante la maturazione dei frutti o nella lavorazione delle olive per la produzione di olio <sup>7</sup>.

Phenolic Compound	Chemical Formula
Oleuropein	
Hydroxytyrosol	
Verbascoside	
Apigenin-7-glucoside	
Luteolin-7-glucoside	

Fig. 2 : struttura chimica dei principali composti fenolici presenti nell'estratto delle foglie di ulivo. Benavente-Garcia et al. (2000)<sup>6</sup>.

La ricerca della composizione fenolica delle foglie è stata oggetto di molti studi<sup>8,9,10,11,12,13,14</sup>; attraverso l'analisi di estratti acquosi di foglie di ulivo, sono stati identificati sette composti fenolici: acido caffeico, verbascoside, oleuropeina, luteolina 7-O-glucoside, rutina, apigenina 7-O-glucoside, e luteolina 4'-O-glucoside.

Pereira et al.<sup>15</sup> hanno trovato una quantità maggiore di composti fenolici nell'estratto acquoso di foglie di ulivo, rispetto all'estratto idrometanolico; i flavonoidi sono i principali composti dell'estratto idrometanolico, mentre l'oleuropeina costituisce il 73% dell'estratto acquoso. L'acido caffeico è presente in concentrazione minore, circa l'1% del contenuto totale dei composti fenolici. Sono ancora insufficienti i dati relativi alla

composizione quantitativa di altri composti fenolici, quali la rutina, la luteolina 7-O-glucoside, la luteolina 7-O-rutinoside, la luteolina 4-O-glucoside, l'apigenina 7-O-glucoside, e l'apigenina 7-O-rutinoside<sup>9</sup>.

Le informazioni sulla biodisponibilità dei polifenoli delle foglie di ulivo, come l'oleuropeina, l'idrossitirosolo e il tirosolo, sono attualmente scarse, tuttavia, è noto che l'oleuropeina è poco assorbita a causa della sua configurazione di grande dimensione e planare.

È stato ipotizzato che l'oleuropeina essendo un glucoside, potrebbe essere capace di legarsi ad un trasportatore di glucosio, come il SGLT1 (trasportatore del glucosio sodio-dipendente) presente nelle cellule epiteliali dell'intestino tenue, e consentire così il suo ingresso all'interno delle cellule. Contrariamente Hollman et al.<sup>10</sup> hanno osservato che l'assorbimento della quercetina glicoside, un composto polifenolico simile all'oleuropeina, coinvolge i trasportatori attivi dello zucchero.

## COSTITUENTI CHIMICI DELL' OLIO DI OLIVA

La composizione chimica dell'olio extravergine d'oliva è influenzata dalla varietà dell'ulivo, dal grado di maturazione del frutto, dal clima, dal periodo e dal metodo di raccolta.

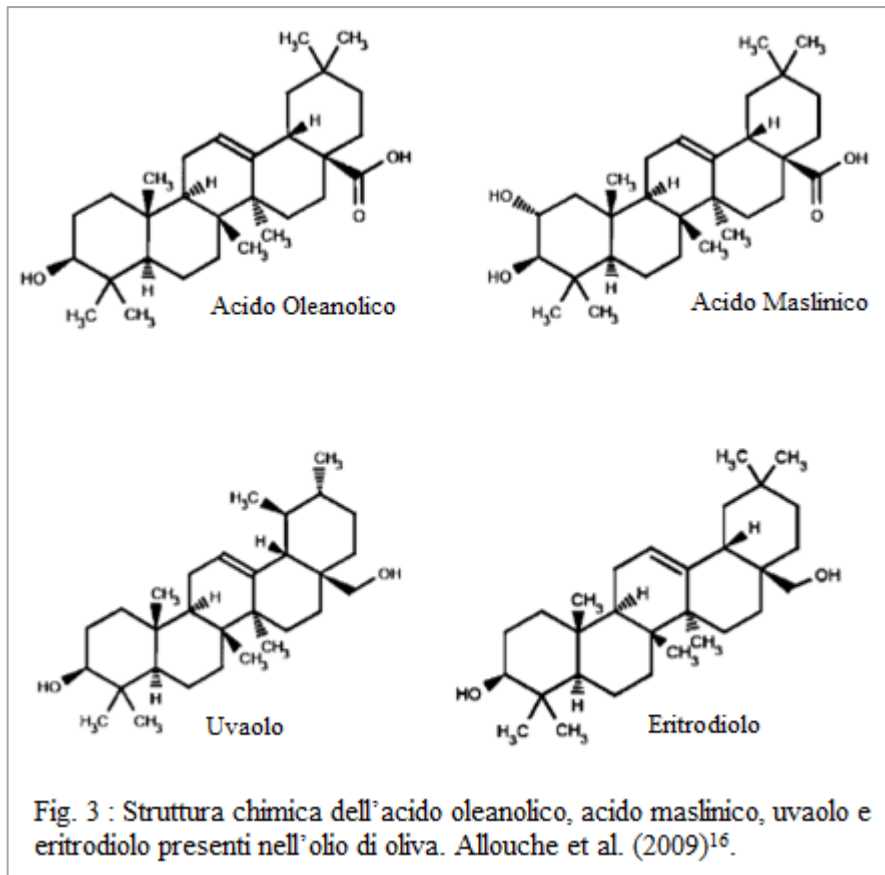
L'olio di oliva extravergine è costituito per il 98-99% da una miscela di trigliceridi detta anche frazione saponificabile, e per il rimanente 1-2% da un insieme di composti minori che rappresentano la frazione insaponificabile e corrispondono a più di 230 sostanze chimiche appartenenti a diverse classi come alcoli terpenici e alifatici, steroli, idrocarburi, carotenoidi, clorofille, vitamine, composti volatili, tocoferoli, e sostanze fenoliche.

Gli alcoli triterpenici e altri triterpeni pentaciclici che fanno parte della frazione insaponificabile dell'olio extravergine di oliva, insieme formano la classe dei triterpeni, e i principali sono l'acido oleanolico, l'acido maslinico, l' uvaolo e l' eritrodiolo<sup>16</sup>.

I due acidi triterpenici pentaciclici (acido oleanolico e acido maslinico) e i due dialcoli (uvaolo e eritrodiolo) si differenziano per il gruppo funzionale in C-17.

L' acido maslinico ha due gruppi idrossilici vicinali nelle posizioni C-2 e C-3, oltre al radicale carbossilico.

Invece l' uvaolo e l' eritrodiolo possiedono due gruppi ossidrilici in posizioni distanti e differiscono per la posizione del gruppo metilico (Fig. 3).



Questi triterpeni si trovano nell'olio extravergine d'oliva, nella buccia delle olive e nelle foglie di ulivo <sup>16</sup>.

Il maggior contenuto di triterpeni è stato rilevato nella varietà "Picual".

Invece nelle olive nere naturali, non trattate con NaOH (che rimuove l'amarezza dalle olive), è stata individuata una concentrazione superiore a 2000 mg / kg.

La foglia contiene grandi quantità di acido oleanolico, acido maslinico e uvaolo in quantità decrescenti.

Il contenuto di triterpenoidi cambia durante il processo di ontogenesi della foglia <sup>17</sup>.

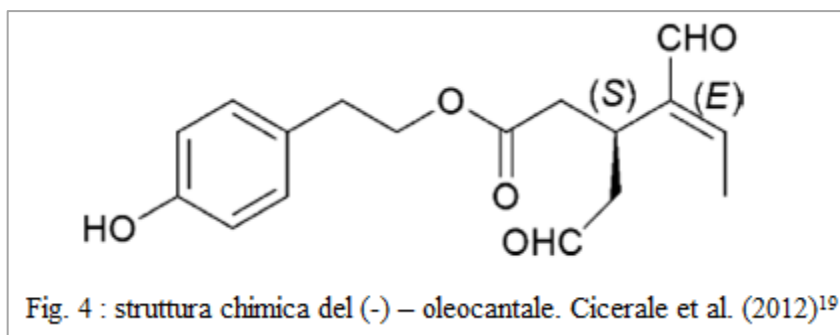
Allouche et al<sup>16</sup> hanno concluso che l'elevata variabilità osservata nella composizione triterpenica dell'olio extravergine d'oliva è dovuta a fattori genetici.

Altri ricercatori<sup>18</sup>, invece, affermano che la concentrazione di acidi triterpenici pentaciclici idrossilici dipende dalla qualità dell'olio di oliva.

Infine, è stato osservato che la concentrazione dei triterpeni varia a seconda del tipo di coltivazione e manipolazione dell'olio d'oliva; infatti, è stato rilevato che concentrazioni più elevate di triterpeni sono presenti nell'olio di sansa di oliva rispetto all'olio extravergine di oliva <sup>18</sup>.



Tra i costituenti dell' olio d'oliva è presente anche (-) – oleocantale, un composto fenolico secoiridoide, che è la forma dialdeidica del (-) - deacetossi ligstroside aglicone ed è responsabile del sapore amaro dell' olio extravergine di oliva; la sua struttura chimica è correlata a quella dei glicosidi secoiridoidi, il ligstroside e l' oleuropeina (Fig. 4)



# EFFETTI FARMACOLOGICI

## EFFETTI FARMACOLOGICI DEI POLIFENOLI

Tra i polifenoli presenti nelle foglie di ulivo, il principale è l'oleuropeina, che ha molteplici azioni, in particolare ha un ruolo importante nella prevenzione delle malattie cardiache in quanto protegge la membrana dall'ossidazione lipidica<sup>20,8</sup>, influenza la dilatazione coronarica dei vasi sanguigni<sup>11</sup>, esercita un'azione antiaritmica<sup>20</sup>, migliora il metabolismo lipidico<sup>1</sup>, protegge gli enzimi<sup>8,15,20,21</sup>, impedisce la morte cellulare nei pazienti oncologici correlata allo stato ipertensivo<sup>20</sup>.

Anche l'idrossitirosolo<sup>20</sup>, un derivato dell'oleuropeina, ha queste proprietà ed inoltre possiede attività protettive verso l'aterosclerosi e previene la neuropatia diabetica<sup>21</sup>.

## EFFETTI CARDIOVASCOLARI

Il largo uso dell'olio d'oliva nella dieta mediterranea è stato associato ad una ridotta incidenza di malattie cardiache.

I composti fenolici oleuropeina e oleacina, presenti nelle foglie di ulivo e nell'olio d'oliva, sono i responsabili degli effetti cardiovascolari; queste sono sostanze antiossidanti che contrastano gli effetti del metabolismo ossidativo indotto dai radicali liberi, e di conseguenza ritardano l'aterosclerosi<sup>11</sup>.



Somova et al.<sup>20</sup>, hanno condotto uno studio sugli effetti antipertensivi, diuretici, antiaterosclerotici, antiossidanti, e ipoglicemizzanti dell'acido oleanico, dell'acido ursolico e degli estratti delle foglie di ulivo, su un modello di ratto DSS (Dahl salt-sensitive), insulino-resistente con ipertensione.

I ratti DSS non trattati hanno sviluppato spontaneamente l'ipertensione con aumento della frequenza cardiaca; inoltre hanno mostrato un aumento di glucosio nel sangue ed una predisposizione a sviluppare l'aterosclerosi precoce con un incremento del colesterolo totale, accompagnato da un elevato numero di lipoproteine a bassa densità (LDL) e di trigliceridi.

Questi parametri biochimici sono tornati a valori normali dopo un trattamento di sei settimane con l'acido oleanolico, l'acido ursolico e con gli estratti delle foglie di ulivo.

Tutti i campioni hanno mostrato una potente attività ipoglicemica, anti-iperlipidemica (antiaterosclerotica), e antiossidante.

In uno studio condotto da Pignatelli et al.<sup>22</sup>, l'oleuropeina e l'idrossitirosolo hanno inibito il processo infiammatorio dei neutrofili umani attivati da PMA (forbolo 12-miristato 13-acetato), che induce una intensa reazione infiammatoria definita processo di "esplosione respiratoria" dei neutrofili umani in modo dose-dipendente; questo effetto è causato dalla loro capacità di questi composti polifenolici di eliminare l'acqua ossigenata, che viene prodotta dal metabolismo dell'acido arachidonico e provoca l'aggregazione piastrinica.

Secondo questo studio fatto da Pignatelli et al.<sup>22</sup> l'effetto di questi composti polifenolici sarebbe di inibire l'aggregazione piastrinica; al contrario Singh et al.<sup>11</sup>, hanno dimostrato l'effetto sull'attività piastrinica nell'uomo delle foglie di ulivo, quindi saranno necessari studi in vivo per chiarire l'effetto sull'aggregazione piastrinica.

## CARDIOTOSSICITÀ DA ANTRACICLINE

L'oleuropeina ha attività antitumorale<sup>23</sup> e non provoca tossicità.

La doxorubicina è un antibiotico antineoplastico della famiglia delle antracicline, dotato di un ampio spettro antitumorale.

Il suo uso clinico è però limitato a causa dei suoi effetti collaterali cardiotossici, che portano all'insufficienza cardiaca congestizia<sup>24</sup>.

L'effetto dell'oleuropeina sulla cardiotossicità indotta dal trattamento acuto con doxorubicina è stato studiato nei ratti.

Andreadou et al.<sup>24</sup> hanno scoperto che tutti i gruppi trattati con l'oleuropeina avevano una bassa vacuolizzazione citoplasmatica nei cardiomiociti rispetto al gruppo trattato con doxorubicina, e ciò ha dimostrato che l'oleuropeina ha un'azione protettiva contro la cardiotossicità indotta dalla doxorubicina; questo effetto è dato dalla capacità dell'oleuropeina di inibire i prodotti della perossidazione lipidica, limitando lo stress ossidativo, e dalla capacità di ridurre le specie reattive dell'ossigeno nei cardiomiociti.

Per questo motivo, l'oleuropeina potrebbe essere usata nei casi di cardiotossicità acuta indotta da doxorubicina.

## ATTIVITÀ ANTIOSSIDANTE

I radicali liberi <sup>1</sup> sono molecole o atomi particolarmente reattivi che hanno almeno un elettrone spaiato nel loro orbitale più esterno.

Questo li rende altamente instabili, per cui cercano di tornare all'equilibrio sottraendo all'atomo vicino l'elettrone necessario per pareggiare la propria carica elettromagnetica.

Questo meccanismo dà origine a nuove molecole instabili, innescando una reazione a catena che, se non viene arrestata in tempo, finisce col danneggiare le strutture cellulari.

La produzione di radicali liberi è un evento fisiologico e si verifica normalmente nelle reazioni biochimiche cellulari, soprattutto in quelle che utilizzano ossigeno per produrre energia.

Ci sono diverse fonti di produzione dei radicali liberi <sup>25</sup> e sono: membrana cellulare, reticolo endoplasmatico, mitocondri, perossisomi e frazione citoplasmatica solubile (fig.5).

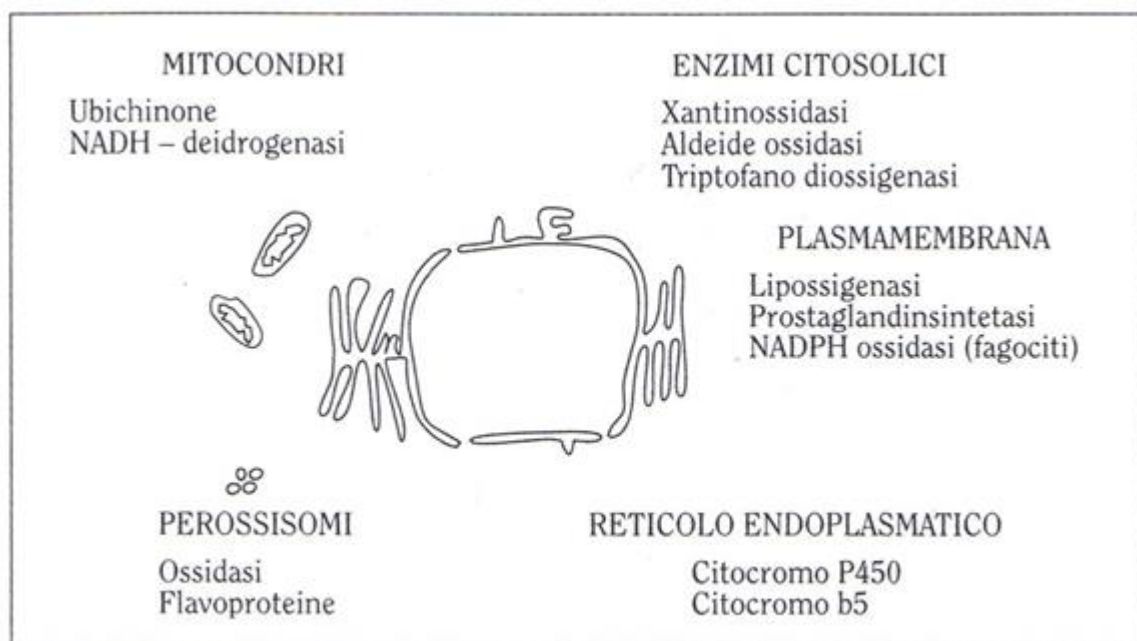


Fig. 5 : Siti cellulari di produzione di specie reattive radicaliche. Bompiani e Galluzzo (1990)<sup>25</sup>.

Un meccanismo coinvolto nella formazione dei radicali liberi è il metabolismo dell'acido arachidonico, che avviene ad opera degli enzimi lipossigenasi e prostaglandin-sintetasi.

Inoltre a livello del reticolo endoplasmatico avviene la trasformazione metabolica di tutta una varietà di xenobiotici. Con lo scopo generico di rendere più idrosolubili e quindi più eliminabili tali composti, si può in effetti avere per donazione di un singolo elettrone " l'attivazione radicalica " di sostanze di per sé non in grado di esercitare effetto tossico.

Esempi di questo tipo sono l'attivazione microsomiale di numerosi alogenocalcani (quali il tetracloruro di carbonio, il triclorobromometano, l'1,2-dibromoetano) e ancora del paracetamolo e di alcuni chemioterapici quali l'isoniazide e l'adriamicina (Fig. 6). A livello del reticolo endoplasmatico liscio agiscono i citocromi b5 e P450 e le rispettive reductasi contenenti gruppi flavinici e rappresentano importanti siti di produzione di specie reattive dell'ossigeno; queste molecole infatti una volta ridotte, vanno incontro a reazioni di autoossidazione, causando la generazione dell'anione superossido ( $O_2^-$ ) e dell'acqua ossigenata.

Un'altra importante fonte cellulare di specie reattive radicaliche è localizzata nei mitocondri a livello della membrana interna. Ubichinone e NADH-deidrogenasi sono tra i componenti più facilmente autoossidabili della catena di trasporto elettronico. In condizioni di bassa tensione di ossigeno e conseguentemente di elevato stato ridotto dei componenti della catena respiratoria, è dimostrabile il verificarsi di un'aumentata produzione di intermedi ridotti dell'ossigeno ( $O_2^-$ ,  $H_2O_2$  e radicale idrossile OH.).

L'incremento della tensione di ossigeno intracellulare può rappresentare una condizione che favorisce l'aumento della produzione radicalica. In effetti, numerose sono le ossidasi nella cellula; esse forniscono  $H_2O_2$  direttamente (ossidasi dei perossisomi) oppure tramite la produzione di  $O_2^-$ . Un esempio importante di quest'ultima classe di enzimi è fornito dalla xantinossidasi verosimilmente coinvolta nella generazione di radicali liberi che accompagna la riperfusione di un tessuto precedentemente sottoposto a ipossia di grado e durata vari. Condizioni d'ischemia-riperfusione si verificano nello shock circolatorio, nell'infarto miocardico o in corso di sostituzioni valvolari, by-pass vascolari, trapianti di organo.

La sintesi dei radicali può essere alterata nei mitocondri con l'invecchiamento specialmente a livello della citocromossidasi, l'enzima che evita la formazione degli intermedi ridotti dell'ossigeno.

Altre condizioni e altre sostanze che possono incrementare la produzione radicalica nella cellula o negli spazi extracellulari, sono illustrate in Fig.6.

## **SPECIE REATTIVE RADICALICHE**

### *Aumentata generazione intracellulare*

variazioni di tensione di O<sub>2</sub>

- ischemia-riperfusion
- shock
- trapianti

xenobiotici

- alogenoalcani
- chemioterapici
- cancerogeni
- etanolo, paracetamolo ...

anemia emolitica da farmaci

carenza vitamine A, E

invecchiamento

### *Aumentata generazione extracellulare*

stati infiammatori acuti

- infezioni
- ustioni

stati infiammatori cronici

- artrite reumatoide
- colite ulcerativa
- vasculiti

disordini immunitari

- patologia da immunocomplessi

Fig. 6 : Fattori che aumentano la produzione di specie reattive radicaliche. Bompiani e Galluzzo, 1990 <sup>25</sup>.

Nell' organismo umano è presente un sistema di difesa con attività antiradicalica e antiossidante: azione antiradicalica, in quanto previene la formazione o la cattura e rimuove le molecole radicaliche; azione antiossidante perché limita o inibisce le reazioni ossidative già in corso.

Per contrastare i radicali liberi esistono enzimi endogeni con funzione antiradicalica: l'enzima superossido dismutasi, presente nei mitocondri e nel citosol di tutti i tessuti, impedisce l'accumulo di radicale superossido; l'enzima catalasi, impedisce la formazione di radicale idrossile evitando l'accumulo di acqua ossigenata; l'enzima glutazione transferasi lega vari composti tossici impedendone l'attivazione a radicali liberi; sostanze che chelano

i metalli di transizione riducendo così la demolizione di perossidi e l'entità dei processi di ossidoriduzione. Altri composti con funzione antiossidante sono: le glutatione perossidasi selenio dipendente e indipendente, che intervengono nella detossificazione degli idroperossidi organici; le vitamine C, E, in grado di cedere facilmente un elettrone a radicali ossidanti; il beta-carotene, precursore della vitamina A, particolarmente efficace nel disattivare l'ossigeno nello stato eccitato di singoletto; sostanze di origine vegetale quali i flavonoidi, anch'essi in grado di neutralizzare radicali ossidanti <sup>1</sup>.

Uno sbilanciamento del rapporto tra fattori ossidanti endogeni ed esogeni e fattori antiossidanti, come un aumento della produzione di specie reattive, un'eccessiva esposizione a sostanze ossidanti esterne, o la mancanza di meccanismi antiossidanti di difesa, causano gravi danni alle biomolecole (DNA, lipidi, proteine).

Questi danni sono associati ad un aumento del rischio di malattie cardiovascolari, di tumori e altre malattie croniche.

Vi è un crescente interesse verso gli antiossidanti naturali, come i componenti bioattivi degli alimenti.

E' stato dimostrato che i composti fenolici estratti dall'olio extravergine d'oliva hanno attività antiossidante, e possono impedire il danno ossidativo, inoltre la loro assunzione attraverso la dieta riduce il rischio di malattie croniche <sup>12</sup>.

Gli effetti protettivi di diete ricche di frutta e verdura contro le malattie cardiovascolari e alcuni tipi di cancro sono stati attribuiti in parte a sostanze antiossidanti <sup>6</sup>.

Alcuni ricercatori hanno studiato <sup>11</sup> i fenoli vegetali come antiossidanti; hanno riconosciuto la loro potenzialità terapeutica e quindi hanno cercato di ottenere in alcune piante un aumento del contenuto di composti fenolici e la produzione di derivati meno idrofili che permettessero un miglioramento delle caratteristiche farmacologiche.

Sulla base di questi primi risultati, hanno messo in evidenza nuovi effetti terapeutici e hanno chiarito le relazioni struttura- attività .

L' oleuropeina è il principale costituente della famiglia dei secoiridoidi dell' ulivo, ed è stato dimostrato che è un potente antiossidante dotato di proprietà anti-infiammatorie.

Benavente-Garcia et al. <sup>6</sup> hanno esaminato i principali composti fenolici contenuti negli estratti delle foglie di ulivo per determinare la diversa attività antiossidante di ognuno di questi.

Questo studio ha rivelato che i vari fenoli dell' ulivo hanno una sinergia d'azione nella loro attività anti-radicalica.

Benavente-Garcia et al. <sup>6</sup>, hanno inoltre affermato che i flavonoli, i flavan-3-oli, e i flavoni con strutture catecoliche sono i composti fenolici più efficaci contro i radicali cationici, e questa attività aumenta in base al numero di gruppi idrossilici liberi presenti nella struttura dei flavonoidi.

Inoltre i flavonoidi, gli oleuropeosidi e i fenoli sostituiti hanno mostrato in miscela un comportamento sinergico, come visto in precedenza nell'estratto delle foglie di ulivo dove c'è un elevato contenuto di oleuropeina e polifenoli.

La prevenzione della formazione dei radicali liberi è un'attività svolta dall' oleuropeina, per la sua capacità di chelare ioni metallici, quali il rame e il ferro, che catalizzano le reazioni di formazione di radicali liberi <sup>20</sup>, e per la capacità di inibire alcuni enzimi infiammatori, come le lipossigenasi, senza influenzare la via delle ciclossigenasi <sup>14</sup>.

Inoltre, è stato scoperto <sup>14</sup> che l' idrossitirosolo, l' oleuropeina, l' acido caffeico, e il tirosolo, sono capaci di prevenire la formazione di specie reattive dell' ossigeno da parte di leucociti intatti, senza mostrare tossicità.

L' oleuropeina e il suo metabolita idrossitirosolo hanno entrambi il gruppo catecolico, e questo rappresenta un requisito strutturale fondamentale per la loro azione antiossidante; è stato dimostrato <sup>26</sup> che entrambi eliminano l'anione superossido, e sono inibitori del processo di "esplosione respiratoria" dei neutrofilo umani e dei radicali comunque formati. Inoltre rimuovono i radicali ossidrilici <sup>27</sup>, anche se l' oleuropeina svolge una maggiore attività <sup>28</sup>.

Buyukbalci et al <sup>29</sup> hanno determinato l' effetto antiossidante del tè preparato con foglie di ulivo, e in particolare la sua attività contro i radicali dell' acqua ossigenata.

L' attività antiossidante dell' oleuropeina è stata analizzata attraverso studi in vivo, e uno di questi <sup>30</sup>, ha esaminato gli effetti dell' oleuropeina sullo stress ossidativo e sugli antiossidanti enzimatici e non enzimatici, nei conigli affetti da diabete indotto dall'allossana.

In uno studio di Bouazizi et al. <sup>31</sup>, è stato scoperto che l' aggiunta di olio di oliva raffinato e di olio di sansa con foglie di ulivo o con il loro estratto idrolizzato, conferisce una notevole resistenza al deterioramento ossidativo, che è dovuto al contenuto fenolico presente nelle foglie e nell' estratto.



## EFFETTO IPOGLICEMICO

Le foglie di ulivo sono note per essere un tradizionale rimedio naturale ad azione antidiabetica e antipertensiva <sup>32</sup> ; sono state utilizzate anche come piante medicinali per il trattamento dell' iperglicemia diabetica, dell'ipertensione, e delle malattie infettive.

L'effetto ipoglicemico dell' oleuropeina nel diabete avviene grazie a due meccanismi, che sono la capacità di influenzare il rilascio dell' insulina indotto dal glucosio, e di aumentare l' assorbimento periferico di glucosio <sup>30</sup> .

Inoltre, una parte dell'effetto dell'oleuropeina sul diabete e sulle sue complicanze è dovuto alle sue proprietà antiossidanti <sup>21</sup> .

Al-Azzawie e Alhamdani <sup>30</sup> hanno studiato gli effetti ipoglicemici e antiossidanti dell' oleuropeina nei conigli affetti da diabete indotto dall'allossana.

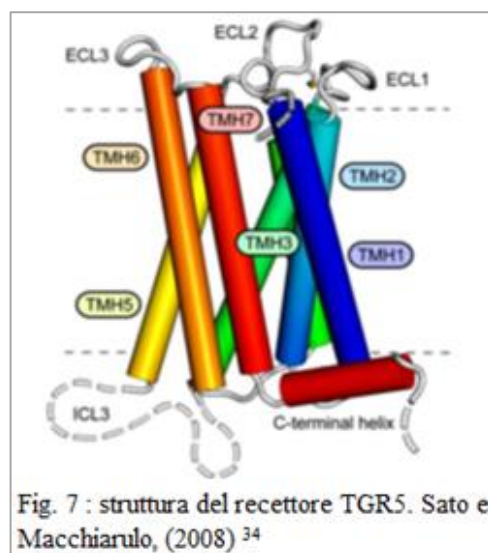
I risultati hanno dimostrato che l' oleuropeina inibisce l' iperglicemia e lo stress ossidativo indotto da diabete, quindi può essere usata nella prevenzione delle complicanze diabetiche associate allo stress ossidativo.

Komaki et al. <sup>33</sup> hanno valutato l'effetto dell' estratto delle foglie di ulivo sulla glicemia post-prandiale in ratti diabetici.

I risultati hanno rivelato che sia la luteolina che l'acido oleanolico hanno un effetto inibitorio sull' aumento della glicemia postprandiale in ratti diabetici.

Inoltre hanno studiato l'effetto delle foglie di ulivo nell'uomo, in particolare i valori glicemici dopo l'assunzione del riso cotto; alla fine dell'esperimento, è stato osservato che l' oleuropeina ha accelerato l'assorbimento di glucosio da parte delle cellule.

L' oleuropeina è un agonista del TGR5, un recettore accoppiato alla proteina G che viene attivato dagli acidi biliari e fa da intermedio in vari meccanismi fisiologici e cellulari (Fig. 7 e Fig. 8). Il TGR5 è stato riconosciuto come il primo recettore cellulare di superficie attivato da acidi biliari, e ha la funzione di mediare alcune delle funzioni endocrine degli acidi biliari. Gli acidi biliari rappresentano importanti molecole di segnalazione nel metabolismo <sup>21</sup> .



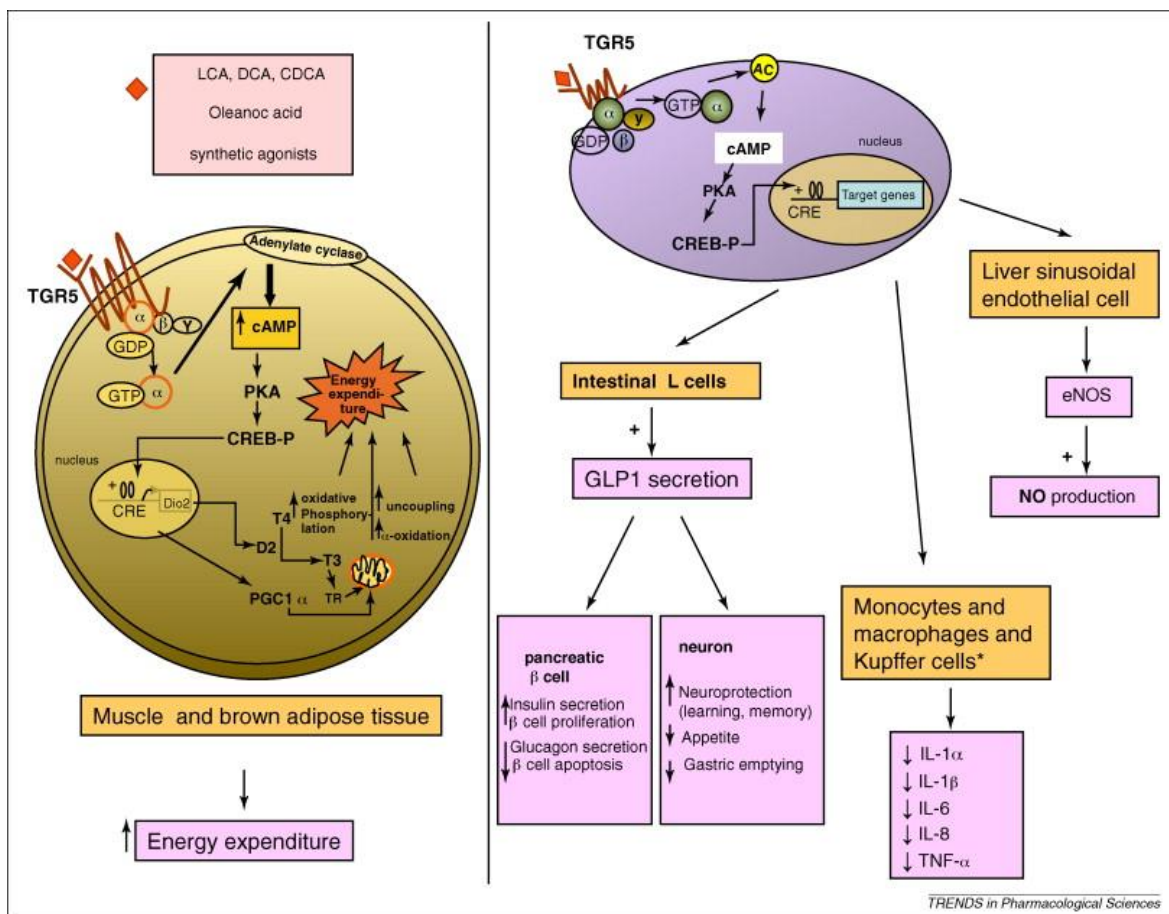


Fig.8: Effetti mediati dai recettori TGR5 nelle cellule del sistema immunitario, intestinali, epatiche e nei tessuti metabolici <sup>11</sup>

Sato et al. <sup>21</sup> hanno esaminato l'attività ipoglicemica di un agonista del recettore TGR5 isolato da foglie di ulivo; essi hanno dimostrato che aumentare le spese energetiche attraverso l'attivazione della funzione mitocondriale, impedisce lo sviluppo di obesità e la resistenza all'insulina nei topi nutriti con una dieta ad alto contenuto di grassi <sup>21</sup>.

Il recettore TGR5 rallenta l'aumento di peso causato da alti livelli di grassi e ha una elevata attività ipoglicemizzante, che è responsabile dell'effetto antidiabetico delle foglie di ulivo. Sato et al. <sup>21</sup> hanno inoltre osservato che l'acido oleanolico abbassa la glicemia e i livelli di insulina nei topi nutriti con una dieta ricca di grassi, portando ad un aumento della tolleranza al glucosio.

I risultati del loro studio dimostrano che l'oleuropeina e l'acido oleanolico sono coinvolti nell'effetto antidiabetico delle foglie di ulivo e inoltre hanno un potenziale ruolo come agonisti del recettore TGR5, migliorando alcuni disturbi metabolici.

## EFFETTI FARMACOLOGICI DEI TRITERPENI

Negli ultimi anni, c'è stato un elevato interesse riguardo le attività dei triterpeni contenuti nell'olio extravergine di oliva e in letteratura sono riportati numerosi studi <sup>35,36,37,38,39,40</sup> che descrivono le attività antitumorali, anti-infiammatorie, antiossidanti, epatoprotettrici e cardioprotettive. Di seguito sono riportate le diverse bioattività di questi composti contro varie malattie e le loro future applicazioni.

### DISLIPIDEMIE

Alcuni dei fattori di rischio delle malattie cardiovascolari sono l'età, il sesso, e fattori genetici. Questi non sono modificabili, ma ci sono altri fattori di rischio che possono essere modificati. Tra i fattori di rischio modificabili ci sono i livelli di lipoproteine ad alta densità (HDL), i livelli di lipoproteine a bassa densità (LDL), il colesterolo totale, l'obesità, il fumo, i livelli circolanti di LDL ossidate, l'ipertensione, la disfunzione endoteliale, e lo stress ossidativo.

Attualmente, un elevato numero di attacchi cardiaci potrebbero essere prevenuti da questi fattori modificabili, che sono influenzati dalla dieta <sup>41</sup>. Infatti, l'alimentazione è responsabile dell'aterosclerosi, una malattia ossidativa, infiammatoria, e trombotica caratterizzata dalla deposizione di lipidi all'interno della parete arteriosa di quasi tutti i distretti vascolari, che precede la formazione dell'ateroma <sup>42</sup>.

La relazione tra alti livelli di LDL ossidate e l'aumentato rischio di malattie cardiovascolari <sup>43,44</sup> e l'insorgenza precoce dell'aterosclerosi è già stato esaminato <sup>45</sup>.

Diversi studi hanno analizzato il collegamento tra alcuni alimenti e il processo di ossidazione delle LDL <sup>46</sup>, e sembra che la dieta e le malattie cardiovascolari siano fortemente legate tra loro.

Infatti, attualmente, la dieta è considerata un fattore importante nella prevenzione delle malattie cardiovascolari <sup>47</sup>.

In questo modo, i triterpeni contenuti nell'olio d'oliva svolgono un ruolo chiave nella riduzione dell'ossidazione delle LDL e quindi nel decremento dell'incidenza di malattie cardiovascolari.

L'ossidazione delle LDL è coinvolta nelle fasi iniziali della malattia, mentre la trombosi agisce negli stadi finali, rappresentando una delle conseguenze cliniche fatali di questa patologia <sup>48</sup>.

Oltre a prevenire l'ossidazione delle LDL, questi composti sono stati riconosciuti come antiaterogenici, a causa del ruolo che i dioli triterpenici, l'uvaolo e l'eritrodiolo, rivestono nella prevenzione della generazione della trombina indotta dalle LDL in vitro <sup>35</sup>.

## RUOLO DELL' ACIDO OLEANOLICO

L'acido oleanolico svolge un'azione protettiva contro l'ossidazione delle LDL con un'efficacia simile a quella del Mastice di CHIOS, una gomma estratta dalla resina naturale del Pistacia lentiscus che è noto essere un fattore protettivo molto efficace contro l'ossidazione delle LDL <sup>49,50</sup>.

Per questa caratteristica, l'acido oleanolico esercita dei potenti effetti antiaterogenici indipendenti dai livelli di lipidi plasmatici <sup>51</sup>.

Studi precedenti descrivono la sua azione nella prevenzione dell'ipertensione e dell'iperlipidemia nei ratti DSS con ipertensione genetica.

L'acido oleanolico previene lo sviluppo dell'ipertensione attraverso la sua potente attività diuretica, natriuretica e saluretica, attraverso il suo effetto diretto sul cuore, e i suoi effetti anti-iperlipidemici, antiossidanti e ipoglicemici sui ratti DSS <sup>52</sup>.

Altri ricercatori <sup>53</sup> spiegano l'azione dell'acido oleanolico nell'inibizione della progressione della fibrosi e nella riduzione della pressione portale in un modello di ratto con ipertensione portale indotta da CCl<sub>4</sub>; tali effetti sono correlati all'aumento dell'espressione della eNOS e all'aumento del livello di ossido nitrico (NO) nel fegato.

Quindi si può concludere che l'acido oleanolico previene l'ipertensione attraverso l'azione antiossidante e il rilascio di NO <sup>54</sup>.

Anche Rodríguez-Rodríguez et al. <sup>55</sup> ha notato che l'acido oleanolico insieme all'eritrodiolo è in grado di promuovere la vasodilatazione in vitro.

Questo effetto sembra essere mediato principalmente dalla produzione endoteliale di NO. Successivamente, questo effetto ulteriormente studiato <sup>56</sup>, ha dimostrato che l'acido oleanolico attiva il rilascio di NO endotelio-dipendente e diminuisce il calcio delle cellule muscolari lisce.

Ulteriori studi hanno dimostrato che questo rilascio di NO dall'endotelio provocato dall'acido oleanolico è indipendente dal calcio delle cellule endoteliali e coinvolge una via di segnalazione mediata dalla fosforilazione di Akt-Ser (473) seguita dalla fosforilazione di eNOS-Ser (1177) e dipendente dalla fosfatidilinositolo-3-chinasi.

Complessivamente l'acido oleanolico è coinvolto<sup>57</sup> nella protezione dall'aterosclerosi, ha effetti anti-iperlipidemici, e diminuisce i livelli dell'espressione epatica dei geni lipogenici e di vari geni correlati all'attività del citocromo P450.

### RUOLO DELL' ACIDO MASLINICO

L'acido maslinico inibisce fortemente l'ossidazione delle LDL in vitro<sup>35</sup>. Tuttavia, l'acido maslinico ha mostrato sia effetti pro che anti-trombotici a seconda della concentrazione usata. È perciò necessario prestare attenzione alla concentrazione impiegata. Un'altra attività cardioprotettiva descritta<sup>58</sup> per l'acido maslinico è il suo effetto sull'infarto al miocardio indotto da isoproterenolo nei Ratti Wistar; questo infatti riduce gli effetti dell'isoproterenolo sul peso corporeo, sul peso del cuore, sui lipidi, sulle lipoproteine, sulla perossidazione lipidica, sugli enzimi cardiaci marker e sulle paraoxonasi. Sembra che gli effetti cardioprotettivi dell'acido maslinico influenzino più di una via di segnalazione.

Di conseguenza, l'acido maslinico può agire sia all'inizio e nelle fasi finali dell'aterosclerosi. Infatti, è stato reso noto<sup>57</sup> che questo composto è coinvolto nella protezione dall'aterosclerosi, per i suoi effetti antiossidanti e ipoglicemici, riducendo la resistenza all'insulina in un modello di topo con diabete di tipo 2. Tuttavia, sono necessari ulteriori studi per valutare l'esatto meccanismo di azione di questi composti nella prevenzione dell'aterosclerosi.

### RUOLO DELL' UVAOLO E ERITRODILOLO

Le azioni dell'eritrodiole e dell'uvaolo sono state studiate nella riduzione dell'ipertrofia cardiaca e nel rimodellamento del ventricolo sinistro indotto da angiotensina II nei topi, attraverso la riduzione dell'area di fibrosi miocitica.

Sembra<sup>59</sup> che questi modulino la crescita e la sopravvivenza dei miofibroblasti cardiaci, ed entrambi inibiscano la proliferazione indotta dall'angiotensina II in modo PPAR- $\gamma$ -dipendente, mentre a dosi elevate attivano percorsi di morte cellulare programmata che dipendono dalle JNK e PPAR- $\gamma$ .

Ci sono diversi studi<sup>60,61,62</sup> sull'olio di sansa d'oliva, che ha un alto contenuto di triterpeni, e sul miglioramento che provoca sulla funzione endoteliale, per cui si può concludere che questi composti potrebbero avere un ruolo attivo nella prevenzione cardiovascolare.

I triterpeni dell' olio extravergine di oliva potrebbero avere un interessante potenziale terapeutico come farmaci cardiovascolari, e inoltre potrebbero svolgere, attraverso la dieta, un ruolo nella prevenzione di diversi tipi di disturbi cardiovascolari.

È necessario comunque uno studio più approfondito per individuare il meccanismo d'azione, le eventuali interazioni, la dose più efficace e il periodo di trattamento.

## CANCRO

Molteplici studi evidenziano diversi aspetti delle funzioni che i triterpeni svolgono nel cancro. Finora, è chiaro<sup>63</sup> che i triterpeni influenzano la oncogenesi e i fattori chiave per il suo sviluppo, come l'angiogenesi. Oltre a questo, sono stati osservati da vari studi<sup>36,64,65,66,67,68,69,70</sup> le attività antitumorali dei triterpeni in diversi tumori come il carcinoma epatocellulare, il cancro della pelle, il cancro del colon, il cancro del polmone, il cancro al seno, il cancro al pancreas e la leucemia mieloide. Gli effetti antiangiogenici degli acidi oleanolico e maslinico sono stati studiati su linee cellulari di cancro del fegato umano<sup>43</sup>; questi hanno ridotto in modo dose dipendente l'invasione delle cellule e la migrazione, hanno diminuito le specie reattive dell'ossigeno (ROS) e i livelli di NO, e l'espressione del fattore di crescita vascolare endoteliale (VEGF).

Ciascun triterpene esercita azioni diverse nei diversi tipi di cancro studiati (Tabella Fig. 9) per cui gli studi<sup>71,72,73</sup> si sono concentrati sulla sintesi di nuove molecole derivate dai triterpeni ad attività antitumorale.

Cancer	Triterpene	Action	Doses	Assay
	Oleanolic acid	Invasion and migration decrease, ROS decrease, NO decrease, VEGF expression decrease	2 - 4 $\mu$ M	<i>In vitro</i> (human liver cancer cells)
		Antitumoral activity	10 - 100 $\mu$ M	<i>In vitro</i> (skin, hepatocellular, colon, lung, breast, pancreatic cancer cell lines and myelogenous leukemia)
		Apoptosis induction by mitochondrial pathway	12,5 – 200 $\mu$ M	<i>In vitro</i> (hepatocellular carcinoma and human pancreatic cancer cell line)
		Cell cycle arrest	0 - 50 $\mu$ g/ml	<i>In vitro</i> (hepatocellular carcinoma and human pancreatic cancer cell line)
		Inhibit proliferation and colony formation. Apoptosis by mTOR signaling	12.5 – 100 $\mu$ M	<i>In vitro</i> (osteosarcoma cells)
		Apoptosis by p53, Bax, Bcl-2 and caspase-3	2, 4 or 8 $\mu$ M	<i>In vitro</i> (melanoma, colon and liver cancer cells)

Cancer	Triterpene	Action	Doses	Assay
	Maslinic acid	Invasion and migration decrease, ROS decrease, NO decrease, VEGF expression decrease	2 - 4 $\mu$ M	<i>In vitro</i> (human liver cancer cells)
		Antitumoral	0 -100 $\mu$ M	<i>In vitro</i> (skin, hepatocellular, colon, lung, breast, pancreatic cancer cell lines and myelogenous leukemia)
		Chemopreventive	3.75 – 30 $\mu$ M 100 mg/kg/day	<i>In vitro</i> (colorectal cancer)& <i>In vivo</i> (6 weeks of treatment)
		Suppression of COX-2 expression, NF $\kappa$ B and AP-1 inhibition	Unknown	<i>In vitro</i> (Raji cells)
		Antimetastatic activity	0-25 $\mu$ M	<i>In vitro</i> (DU145 human prostate cancer cell line)
		Apoptosis induction through caspase 3	0 -100 $\mu$ M	<i>In vitro</i> (different cancer cell lines)
		Suppression of NF $\kappa$ B	0 – 50 $\mu$ M	<i>In vitro</i> (pancreatic cancer cell line)
	Uvaol	Pro-apoptotic potential through JNK activation	0 -100 $\mu$ M	<i>In vitro</i> (breast cancer cell, astrocytoma cells)
		Pro-apoptotic associated to ROS	0 -100 $\mu$ M	<i>In vitro</i> ( human breast cancer cells,
		Antitumoral	0 -100 $\mu$ M	<i>In vitro</i> (murine and human cancer cell lines)
Inhibition of proliferation		0 – 300 $\mu$ M	<i>In vitro</i> (gastric cancer cell line)	
Erythrodiol	Pro- apoptotic potential	0 - 100 $\mu$ M	<i>In vitro</i> (breast cancer cells, colon cancer cells astrocytoma cells)	
	Antitumoral	0 -100 $\mu$ M	<i>In vitro</i> (murine and human cancer cell lines)	
	Antiproliferative	0 – 150 $\mu$ M	<i>in vitro</i> (colon cancer cells)	

Fig.9: Attività farmacologiche sul cancro dei principali triterpeni presenti nelle olive, nelle foglie di ulivo e nell'olio extravergine d'oliva. Petronelli et al, 2009<sup>71</sup>.



## RUOLO DELL' ACIDO OLEANOLICO

Il meccanismo d' azione dell' acido oleanolico è stato studiato in diversi tipi di cellule tumorali. Nel carcinoma epatocellulare<sup>65,74</sup>, l' acido oleanolico ha manifestato effetti inibitori attraverso l' induzione dell' apoptosi e l'arresto del ciclo cellulare.

L'apoptosi è stata indotta attraverso la via mitocondriale, e questa potrebbe essere causata dalla formazione di ROS attraverso l' ossidazione mitocondriale degli acidi grassi. Wei et al.<sup>75</sup> hanno anche spiegato l' arresto del ciclo cellulare e l'induzione dell' apoptosi in una linea cellulare umana di cancro pancreatico (Panc-28) mediante la permeabilità della membrana lisosomiale e la depolarizzazione mitocondriale mediata dai ROS .

L' apoptosi è stata indotta dall' acido oleanolico in diverse linee di cellule tumorali, compreso quelle resistenti ai farmaci, come il cancro al seno, ai polmoni e al colon.

Questo acido attiva la caspasi-3, diminuisce l'espressione del gene antiapoptotico Bcl-2, e aumenta l' espressione della proteina pro-apoptotica Bax.

Inoltre l'acido oleanolico diminuisce il fattore di crescita vascolare endoteliale VEGF e diminuisce lo sviluppo del melanoma indotto dalle metastasi polmonari del modello di melanoma B16F10 in vivo<sup>36,68,69,76,77,78,79</sup> .

Nelle cellule dell' osteosarcoma, l' acido oleanolico inibisce la proliferazione e la formazione di colonie, induce l'arresto del ciclo cellulare in fase G1, e promuove l'apoptosi, attraverso la via di segnale mTOR, un regolatore centrale della crescita cellulare, della proliferazione, della sopravvivenza, e del metabolismo<sup>80</sup> .

## RUOLO DELL' ACIDO MASLINICO

Recenti studi riportano il potenziale chemiopreventivo dell' acido maslinico nel cancro del colon-retto in vitro<sup>67</sup> e in vivo<sup>81</sup> .

Questo composto non è stato studiato a fondo come l'acido oleanolico nel cancro, ma c'è un aumentato interesse verso le azioni preventive che sembra possedere.

Hsum et al.<sup>82</sup> hanno studiato l' azione chemiopreventiva che l'acido maslinico ha mostrato nelle cellule Raji, che sono una linea cellulare umana di origine ematopoietica; esso sopprime l' espressione della COX-2 e inibisce le attività di legame di NF-kB e AP-1.

Un aspetto dello sviluppo del cancro è la capacità di creare metastasi.

Molti autori <sup>83</sup> hanno recentemente studiato l'attività antimetastatica dell'acido maslinico nelle cellule tumorali umane del cancro alla prostata DU145 e la sua mediazione attraverso il fattore trascrizionale HIF-1 (fattore inducibile dall'ipossia).

In queste cellule tumorali, l'acido maslinico agisce inibendo uPAR, caderina- E, VEGF, e l'espressione della metalloproteasi di matrice (MMP) e riduce drasticamente i livelli di HIF-1 $\alpha$ .

Di conseguenza, l'acido maslinico inibisce la migrazione, l'invasione, e l'adesione delle cellule tumorali della prostata DU145. Come l'acido oleanolico, questo acido induce l'apoptosi in specifiche linee cellulari tumorali <sup>84,85,86,87,88</sup>.

In alcune di queste, l'acido maslinico promuove l'apoptosi mediante un meccanismo simile a quello dell'acido oleanolico: un meccanismo JNK-p53-dipendente, la via apoptotica mitocondriale, l'aumento dell'espressione di Bid e Bax, la repressione di Bcl-2, il rilascio del citocromo c, e l'aumento dell'espressione della caspasi-9, -3, e -7.

Un'altra potenziale attività antitumorale dell'acido maslinico è il potenziamento dell'attività antitumorale del TNF- $\alpha$  attraverso la soppressione dell'azione di NF-kB e l'espressione genica a valle, oltre che l'attivazione della via apoptotica caspasi-dipendente <sup>68</sup>.

## RUOLO DELL'UVAOLO E ERITRODIOLO

Nel 1976 fu scoperto che l'uvaolo aveva effetti di inibizione tumorale <sup>89</sup>, insieme all'acido ursolico e all'acido betulinico.

Nel 1994 Es-Saady et al. <sup>90</sup> osservarono che l'uvaolo, l'acido ursolico e l'acido oleanolico inibivano la proliferazione di una linea cellulare di leucemia.

Nel 1988 furono scoperti gli effetti dell'eritrodiole sulla formazione del tumore della pelle nei topi <sup>91</sup>.

Sono stati condotti numerosi studi <sup>36,92,93,94,95</sup> sugli effetti antitumorali dell'uvaolo e dell'eritrodiole nelle linee cellulari tumorali nell'uomo e nei topi.

L'effetto più notevole di entrambi i composti è il loro potenziale proapoptotico, che esercitano con due vie diverse: insieme ai ROS e attraverso l'attivazione delle JNK (c-Jun chinasi N-terminale).

## L' INFIAMMAZIONE, LO STRESS OSSIDATIVO, E IL DANNO OSSIDATIVO AL DNA

I triterpeni dell' olio di oliva extravergine sono stati recentemente studiati per la modulazione che esercitano nella risposta infiammatoria.

La maggior parte degli studi si concentrano sul ruolo che potrebbero svolgere i triterpeni contro certe malattie, il loro ruolo apoptotico nelle cellule tumorali, o l'azione protettiva nell' alterazione vascolare, ma l' azione principale di questi composti è il loro effetto antiossidante (Fig.10).

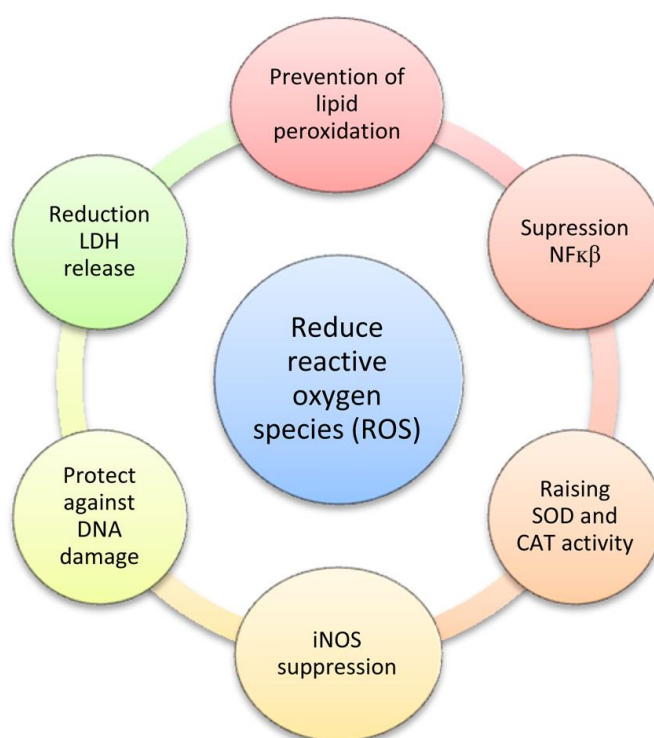


Fig.10: Meccanismi antiossidanti dei triterpeni presenti nelle olive, nelle foglie di ulivo e nell'olio extravergine di oliva. Allouche et Al, 2011<sup>36</sup>.

Il ruolo antiossidante della frazione triterpenica dell'olio extravergine di oliva è stato accertato, anche se l'attività di eliminazione dei radicali liberi è quasi assente nell'acido oleanolico, nell'uvaolo, e nell'eritrodiole.

Solo l'acido maslinico ha manifestato una debole attività antiradicalica, inoltre elimina i radicali perossilici<sup>35</sup>.

## RUOLO DELL' ACIDO MASLINICO

E' stato osservato che l'acido maslinico protegge gli epatociti dalla perossidazione lipidica nei ratti dai radicali idrossilici; alcuni ricercatori <sup>96</sup> hanno studiato il possibile meccanismo d'azione sul modello di ratto nutrito per 3 settimane con oli ad alto contenuto di acido oleico (olio di girasole, olio di oliva e olio di sansa d' oliva) contenente diverse concentrazioni degli antiossidanti  $\alpha$ -tocoferolo, eritrodiole e acido oleanolico.

I risultati mostrano che l'acido oleanolico e l'eritrodiole proteggono dalla perossidazione lipidica microsomiale nei ratti nutriti con olio di sansa.

## RUOLO DELL' ACIDO OLEANOLICO

L' acido oleanolico ha proprietà anti-infiammatorie sia in vivo <sup>97,98,99</sup> che in vitro <sup>100,101</sup> .

Questo composto agisce come antinfiammatorio, inibendo l'attivazione del fattore nucleare -kB (NF-kB) e la produzione del fattore di necrosi tumorale- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) nelle cellule endoteliali umane della vena ombelicale (HUVEC) <sup>102</sup> .

L' attivazione dei geni NF-kB-dipendente da parte del TNF- $\alpha$  richiede che la cellula sia in uno stato redox ossidato, se la cellula non è in un appropriato equilibrio redox non avviene la risposta da parte del TNF- $\alpha$  ; c'è quindi una relazione tra la formazione di ROS e l' attivazione della via NF-kB.

Lo stress ossidativo e l'infiammazione sono strettamente correlati, non solo a causa della via NF-kB, ma anche a causa di altri segnali come i ROS e le specie reattive dell' azoto (RNS) prodotte dai macrofagi e da altre cellule immunitarie.

Con questo segnale, i macrofagi attivano altre cellule immunitarie che, con loro, mediano l'infiammazione per riportare lo stato di omeostasi.

Quindi, qualsiasi composto che agisce direttamente o indirettamente nello stress ossidativo agisce anche nell'infiammazione e, in tal modo, riduce l'insorgenza di varie malattie.

L'acido oleanolico è stato uno dei triterpeni più studiati <sup>103</sup> nell' infiammazione e nello stress ossidativo; è infatti un efficace inibitore della ciclo-ossigenasi (COX) e della 5-lipossigenasi (5-LOX), entrambi coinvolti nel metabolismo dell' acido arachidonico; gli effetti antinfiammatori sono dovuti all' inibizione della COX-2 e alla riduzione di varie citochine pro-infiammatorie come IL-6, IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ .

In uno studio <sup>104,105</sup> eseguito nelle cellule PC12 con lesioni indotte da stimoli infiammatori, l'acido oleanolico contrasta lo stress ossidativo attraverso la riduzione dell'apoptosi e del rilascio di lattato deidrogenasi (LDH).

L'acido oleanolico risparmia il GSH, aumenta l'attività di SOD e catalasi e riduce il rilascio di IL-6 e TNF- $\alpha$ .

Un altro effetto antiossidante dell'acido oleanolico è stato studiato da Tsai et al.<sup>106</sup> eseguito sul cervello di un murino, in cui ha diminuito in modo dose-dipendente i ROS e le proteine coinvolte nello stress ossidativo, mostrando effetti neuroprotettivi in vivo.

L'espressione della COX-2 e dell'ossido nitrico sintasi inducibile (iNOS) vengono soppressi dall'acido maslinico a livello dell'mRNA e a livello proteico; inoltre l'acido maslinico inibisce la traslocazione di NF-kB al nucleo in modo concentrazione dipendente in colture di astrociti corticali <sup>107</sup>.

L'acido maslinico inoltre inibisce significativamente l'aumentata produzione di NO indotta dai lipopolisaccaridi (LPS).

In conclusione i quattro triterpeni (acido oleanolico, acido maslinico, uvaolo e eritrodiole) contenuti nell'olio d'oliva proteggono dal danno al DNA indotto da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, per cui potrebbero essere usati per prevenire varie malattie legate allo stress ossidativo, come malattie cardiovascolari <sup>108</sup>, il cancro <sup>109</sup> e il morbo di Parkinson <sup>110</sup> e di Alzheimer <sup>111</sup>.

Tuttavia sono necessari altri studi sul meccanismo d'azione di questi triterpeni.

## EFFETTI FARMACOLOGICI DELL' OLEOCANTALE

Questo composto, identificato da Beauchamp et al. <sup>112</sup>, è il responsabile della caratteristica sensazione di bruciore alla gola dell'olio d'oliva ed è stato chiamato oleocantale (OC) (oleo- per oliva, canth- per bruciore, e - al per aldeide).

L' OC è stato riconosciuto come un antinfiammatorio naturale, infatti ha delle proprietà simili all' ibuprofene, anche se non ha la struttura classica dei FANS: entrambi producono una sensazione d' irritazione nella gola e inibiscono il sistema enzimatico della cascata inibitoria.

Questa sensazione di pizzicore è mediata dall' attivazione del recettore canale cationico "transient receptor potential" sottofamiglia A membro 1 (TRPA1) nella regione orofaringea.

Smith et al. <sup>113,114</sup> hanno eseguito la prima sintesi totale dell' OC e di altri analoghi, e hanno determinato la configurazione del composto attivo.

Lo stesso gruppo ha sintetizzato una serie di derivati funzionali con la formula generale illustrata in Fig. 11b :

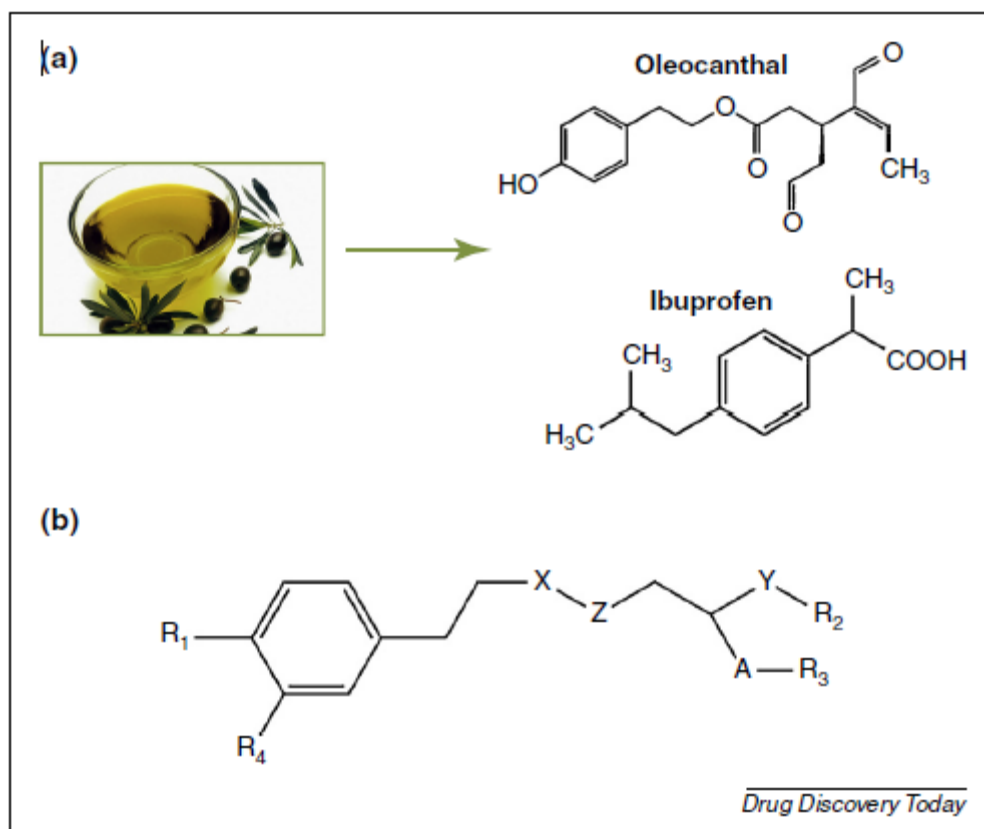


Fig.11: a) Struttura dell'oleocantale (OC) paragonata a quella dell'ibuprofene, b) struttura chimica generale del farmacoforo oleocantale. Smith et al, 2007 <sup>113</sup>.

Recentemente <sup>115</sup> è stata esaminata l'attività anti-infiammatoria di OC e dei suoi derivati, sull'espressione dell'ossido nitrico sintasi (NOS) di tipo II nei condrociti.

Inoltre, le attività anti-infiammatorie dell'OC sono state confermate in uno studio <sup>116</sup> che ha dimostrato che questo composto inibisce altri fattori pro-infiammatori, come la proteina dei macrofagi-infiammatori MIP-1 $\alpha$  e l'interleuchina IL-6 nei macrofagi e nei condrociti.

Oltre alle proprietà anti-infiammatorie, l'OC esercita una potente attività antimieloma <sup>117</sup> in vitro, inibendo l'espressione e la secrezione di MIP-1 $\alpha$  nelle cellule di mieloma multiplo umano (MM).

Questo composto è anche in grado di alterare la struttura oligomerica e la funzione neurotossica della  $\beta$ -amiloide, contrastando così gli effetti debilitanti dell'Alzheimer (AD) <sup>118</sup>.

## ATTIVITÀ ANTINFIAMMATORIA

Quarant'anni fa <sup>119</sup>, fu scoperto che il sapore amaro di certi composti era correlato alla loro attività farmacologica.

Visto l'effetto irritante provocato sia dall'OC che dall'ibuprofene, fu condotto uno studio per vedere se l'OC imitava l'effetto farmacologico dell'ibuprofene, un potente modulatore dell'infiammazione e analgesico.

Risultò che l'OC (entrambi gli enantiomeri), così come l'ibuprofene, inibiva la COX-1 e COX-2 (non la LOX) in vitro in modo dose dipendente.

In virtù di questa attività, fu ipotizzato che il consumo a lungo termine di OC potesse proteggere da alcune malattie.

Considerando di assumere 50 g di olio di oliva extravergine al giorno, corrispondente a 200  $\mu$ g per ml di OC, di cui il 60-90% è assorbito, ciò corrisponde a un'assunzione di 9 mg al giorno di OC.

Questa dose è relativamente bassa, corrisponde circa al 10% della dose analgesica raccomandata di ibuprofene per gli adulti, ma va considerato che gli antinfiammatori sono efficaci anche a basse dosi: ad esempio dosi basse di aspirina conferiscono benefici cardiovascolari <sup>120</sup>.

L'ibuprofene è associato a una riduzione del rischio di sviluppo di alcuni tipi di cancro, di aggregazione piastrinica nel sangue, e di formazione del peptide  $\beta$ -42-amiloide in un modello di Alzheimer.

Quindi una dieta mediterranea ricca in olio d'oliva può apportare effetti benefici sulla salute simili a quelli dei FANS.

Sono stati analizzati anche gli effetti di OC e dei suoi derivati sulla formazione di NO indotta dai lipopolisaccaridi (LPS) nei condrociti.

NO è un mediatore gassoso della risposta infiammatoria coinvolto in molte malattie infiammatorie degenerative <sup>121</sup>.

È stato dimostrato che OC e i suoi derivati provocano la downregulation della produzione dei nitriti e dell'espressione dell'enzima ossido nitrico sintasi inducibile (iNOS) nei condrociti stimolati da LPS (lipopolisaccaridi).

Recentemente è stato scoperto che l'OC inibisce i mediatori dell'infiammazione IL-6 e MIP-1 $\alpha$  nei condrociti murini e nei macrofagi stimolati da LPS.

I ricercatori hanno scoperto che l'azione antinfiammatoria dell'OC nei macrofagi è collegata all'inibizione della produzione di NO, attraverso la downregulation di iNOS, e riduce le citochine proinfiammatorie IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ .

Questi mediatori infiammatori hanno ruoli importanti nelle malattie infiammatorie degenerative delle articolazioni, come l'osteoartrite e l'artrite reumatoide.

L'azione dell'OC è quindi duplice: inibisce l'infiammazione locale nelle cartilagini e inibisce la cascata infiammatoria nelle cellule sinoviali.

Alla luce di queste proprietà, l'OC potrebbe essere un interessante agente terapeutico per il trattamento delle malattie articolari degenerative.



## EFFETTI CHEMIOTERAPICI E CHEMIOPREVENTIVI DI OC

Molti studi recenti hanno dimostrato che il consumo di EVOO (extra virgin olive oil) riduce il rischio di vari tipi di cancro, incluso quello alla prostata, polmone, laringe, ovaio, mammella, e colon.

Khanal et al.<sup>122</sup> hanno studiato il ruolo di OC nelle cellule HT-29 di cancro al colon e hanno suggerito un meccanismo d'azione di attività antitumorale di OC.

Hanno riferito che l'OC era in grado di inibire l'attività della proteina attivatrice AP-1, che è un fattore di trascrizione che controlla la differenziazione cellulare, la proliferazione e l'apoptosi; inoltre l'OC induce l'apoptosi nelle cellule tumorali del colon, attivando la proteina chinasi attivata da AMP (AMPK) e inibendo l'espressione della COX-2.

Un recente studio<sup>123</sup> ha osservato che l'OC inibisce la fosforilazione della chinasi c-Met in vitro (un recettore protooncogeno), suggerendo un possibile ruolo dell'OC nel controllo delle neoplasie dipendenti da c-Met.

Un altro interessante studio condotto da Margarucci et al.<sup>124</sup> ha rivelato gli effetti di OC sulla proteina di shock termico (Hsp) -90, un chaperone con un ruolo chiave in diverse malattie umane, in particolare cancro e neurodegenerazione.

L'OC ha un potente effetto di inibizione della Hsp-90 nelle cellule U937 (cellule monocitiche di linfoma).

Il ruolo di OC è stato studiato<sup>117</sup> nelle cellule neoplastiche del mieloma multiplo (MM) che causa distruzione ossea attivando gli osteoclasti del midollo osseo.

L'OC inibisce l'espressione e la secrezione del MIP 1 $\alpha$ , un fattore che ha un ruolo importante nell'eziologia del mieloma multiplo.

Inoltre, è stato anche dimostrato che l'OC inibisce la proliferazione cellulare del mieloma multiplo inducendo l'attivazione di meccanismi apoptotici e attraverso la downregulation delle vie di trasduzione del segnale (ERK) -1/2 e AKT.

Studi<sup>125</sup> più recenti confermano gli effetti antitumorali del trattamento con OC nel cancro al seno, in cui l'OC riduce l'attività della chinasi c-Met, la crescita cellulare, la migrazione e l'invasione delle cellule tumorali in un modello di topo.

## EFFETTO NEUROPROTETTIVO DELL'OC CONTRO LA MALATTIA DI ALZHEIMER

L'alto consumo dell'olio extravergine d'oliva (EVOO) è stato associato con un ridotto rischio di patologie neurodegenerative, come la malattia di Alzheimer (AD), una malattia neurodegenerativa caratterizzata dall'accumulo di proteine  $\beta$ -amiloide ( $A\beta$ ) e tau nel cervello.

Questo effetto è stato attribuito all'OC, anche se il meccanismo neuroprotettivo non è stato ancora compreso.

Sono stati proposti diversi meccanismi che descrivono la capacità dell'OC di ridurre l'incidenza di AD:

- Uno dei possibili meccanismi è la capacità dell'OC di aumentare la clearance dell' $A\beta$  dal cervello mediante l'upregulation di P-gp e di LRP1 (low density lipoprotein receptor-related protein), che sono le principali proteine di trasporto di  $A\beta$  nella barriera emato-encefalica (BEE). I livelli di queste due proteine diminuiscono progressivamente durante l'invecchiamento e ciò determina un difetto della clearance e il conseguente accumulo di  $A\beta$  nel cervello.

È stato condotto un esperimento in vitro <sup>126</sup> sulle cellule endoteliali cerebrali di topi trattati con EVOO ricco di OC ed è stata osservata l'attività e l'espressione di LRP1 e di P-gp; questo trattamento ha provocato l'upregulation di LRP1 e di P-gp e ciò ha aumentato la clearance di  $A\beta_{40}$  e dell'indice di efflusso cerebrale (BEI) dal 62 % a 80 %. Il trattamento con OC ha provocato anche l'upregulation degli enzimi degradanti dell' $A\beta$  e ciò favorisce la clearance dell' $A\beta$ .

- Li et al. <sup>127</sup> hanno giustificato la riduzione dell'incidenza dell'Alzheimer da parte dell'OC con un meccanismo che riguarda l'inibizione della formazione dei grovigli neurofibrillari, un punto chiave nella patogenesi dell'AD, attraverso l'azione sui microtubuli associati alle proteine tau, che sono coinvolte nell'assemblaggio dei microtubuli e nella stabilità dei neuroni.
- Un altro studio eseguito da Monti et al. <sup>128</sup>, ha evidenziato che il meccanismo con il quale l'OC inibisce la fibrillazione di tau in vitro avviene attraverso un'interazione chimica covalente irreversibile con il frammento fibrillogenico K18 della proteina tau. Ciò avviene attraverso la formazione di una base di Schiff tra il gruppo 3-ammino dei residui di lisina delle proteine tau e i gruppi carbonilici di OC, in un rapporto stechiometrico 1: 1. (Fig. 12)

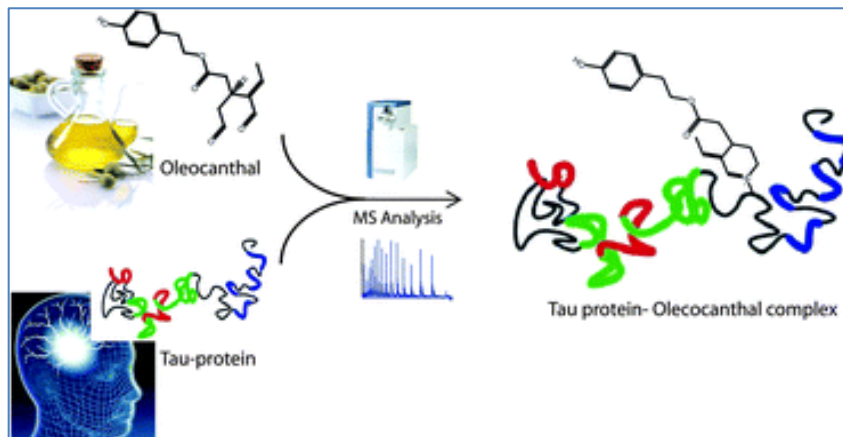


Fig. 12: formazione del legame covalente tra il frammento fibrillogenico K18 della proteina tau e l' OC, che inibisce la fibrillazione di tau °.

- È stato notato inoltre che l' OC riduce la formazione di placche A $\beta$  nel cervello.
- Pitt et al. <sup>129</sup> hanno dimostrato che l' OC può interagire con le proteine A $\beta$ , alterando lo stato di oligomerizzazione degli oligomeri A $\beta$  e proteggendo i neuroni dagli effetti sinapto-patologici associati all' aggregazione di A $\beta$  e alla formazione della placca.

## STUDI DI BIODISPONIBILITA'

La biodisponibilità è la proporzione di un composto assunto con un alimento o una formulazione farmaceutica che viene assorbito ed è disponibile per svolgere attività biologiche. La biodisponibilità di un composto può essere valutata quantitativamente come:

1. Escrezione totale del composto e dei suoi prodotti di trasformazione nelle urine raccolte per un periodo sufficientemente lungo, e riferendo tale esecuzione alla quantità assunta.
2. Determinazione delle concentrazioni nel plasma prelevato ripetutamente a tempi ravvicinati e calcolo della biodisponibilità in rapporto alle variazioni delle concentrazioni plasmatiche nel tempo (area sotto la curva rispetto al tempo). Quest' ultimo approccio è difficilmente applicabile.

Uno studio clinico <sup>P</sup> ha reclutato un gruppo di volontari sani per valutare la biodisponibilità dei polifenoli dell' ulivo e per correlarla alla loro efficacia antiossidante. Essi dovevano consumare 20 olive e nelle 4 ore successive subivano prelievi di sangue per valutare i livelli plasmatici dei polifenoli in essi contenuti e lo stato antiossidante plasmatico. Si è visto che i polifenoli venivano ben assorbiti, presentandosi nel plasma come coniugati con l' acido glicuronico e raggiungendo il picco plasmatico massimo (C<sub>max</sub>) dopo circa 90 minuti. L' escrezione di queste sostanze avveniva entro 4 ore. Lo stato antiossidante plasmatico di questi soggetti aumentava in modo significativo.

Lo studio indica che i polifenoli presenti nell' ulivo sono ben assorbiti e che aumentano lo stato antiossidante plasmatico di volontari sani.

Uno studio <sup>Q</sup> appena completato dall' Istituto Nazionale Carapelli, somministrando a soggetti sani quantità costanti di olio di oliva con un contenuto diverso di fenoli totali e valutandone l' escrezione urinaria, ha dimostrato in modo inequivocabile che tali composti sono assorbiti in modo dose dipendente. Inoltre una buona proporzione di tali composti è escreta come prodotti di trasformazione metabolica, indicando che tali composti entrano in siti cellulari (fegato) interagendo con sistemi enzimatici.

La somministrazione su soggetti sani di campioni di olio contenenti quantità crescenti di idrossitirosole e oleuropeina aglicone (catecoli), è correlata a una decrescente escrezione a livello urinario di isoprostani (8-iso-PGF<sub>2</sub>), biomarker in vivo della perossidazione lipidica e quindi dello stress ossidativo cellulare. Inoltre è stato dimostrato che la riduzione

dell' escrezione urinaria degli isoprostani è statisticamente correlata con una maggiore escrezione a livello urinario di idrossitirosolo e di un suo metabolita l' alcol omovanillico, evidenziando che l' attività antiossidante dell' idrossitirosolo comporta il suo ingresso a livello cellulare e la sua trasformazione metabolica.

## INTERAZIONI FARMACOLOGICHE

Le interazioni farmacologiche con gli estratti delle foglie di ulivo non sono ancora ben chiare.

Attualmente è noto <sup>r</sup> però che per via delle loro proprietà ipotensive ed antiaggreganti, gli estratti ottenuti dalle foglie di ulivo possono potenziare l' effetto farmacologico degli antipertensivi, in particolare di quelli ad azione vasodilatatoria; inoltre possono aumentare l' effetto degli antiaggreganti del sangue come il warfarin.

Un possibile effetto additivo può essere riscontrato anche nei pazienti sottoposti all' assunzione concomitante di farmaci antidiabetici in quanto gli estratti ottenuti dalle foglie di ulivo hanno proprietà ipoglicemizzanti.

## REAZIONI ALLERGICHE

L' ulivo può provocare reazioni allergiche <sup>p</sup> cutanee anche generalizzate, di tipo essenzialmente orticarioide, talora accompagnate da rinite allergica e da asma allergica. Questi fenomeni sono IgE mediati, e l' allergia è crociata con quella delle altre Oleaceae. In pazienti allergici a questa pianta, sono stati ritrovati elevati livelli di anticorpi classe IgG4, in particolare in quelli con sintomi di tipo respiratorio.

È consigliabile quindi evitare l'assunzione di olive e derivati, in caso di ipersensibilità accertata.

Per quanto riguarda la tossicità dell' ulivo, nella letteratura scientifica ad oggi non sono presenti dati relativi a reazioni tossiche.

## PRODOTTI IN COMMERCIO A BASE DI OLEA EUROPAEA

In commercio si trovano numerosi integratori a base di *Olea europaea*, anche associata ad altre sostanze naturali, per la prevenzione del rischio di malattie cardiovascolari in quanto sono in grado di favorire la regolare funzionalità cardiovascolare, il metabolismo di lipidi (trigliceridi e colesterolo) e carboidrati, il mantenimento della normale circolazione del sangue e la regolarità della pressione, e possiedono una spiccata azione antiossidante.

Alcuni esempi di integratori in commercio sono:



**No-Press<sup>s</sup>** è un integratore alimentare a base di Ulivo (*Olea europaea* L.) foglie e.s. titolato al 20% in oleuropeina, e Ibisco che favoriscono la regolarità della pressione arteriosa. Con Coenzima Q10 e Vitamina D3. Assumere una compressa al mattino, durante la colazione, e una compressa la sera, prima di andare a dormire.



**Tokaber® Plus<sup>t</sup>** è un integratore a base di estratto di foglie di *Olea europaea* L., essiccato di succo di Bergamotto italiano, Colina e Zinco. L'estratto di foglie di **Olea europaea** (Ulivo), grazie soprattutto al contenuto in polifenoli, favorisce il metabolismo di lipidi (trigliceridi e colesterolo) e carboidrati.

La Colina contribuisce al normale metabolismo dei lipidi ed al mantenimento della normale funzione epatica.

Lo zinco contribuisce al normale metabolismo dei carboidrati, degli acidi grassi e a proteggere le cellule dallo stress ossidativo.

Si consiglia l'assunzione di 1 o 2 compresse al giorno preferibilmente 10-20 minuti prima dei pasti principali.



**Triglicol 600<sup>u</sup>** è un integratore alimentare a base di Berberi, Cardo mariano e Ulivo. La presenza di Berberi indiano favorisce la regolare funzionalità cardiovascolare. L'Ulivo aiuta il metabolismo dei trigliceridi. Assumere 1 compressa al giorno.



**BERGAMET<sup>v</sup>** Integratore alimentare a base di succo di Bergamotto, Olea europaea (estratto secco titolato in oleuropeina) e Vitamina C. L'Olea europaea contribuisce al metabolismo dei carboidrati e dei lipidi, favorisce il mantenimento della normale circolazione del sangue e la regolarità della pressione arteriosa. La Vitamina C contribuisce al normale metabolismo energetico e alla protezione delle cellule dallo stress ossidativo. L'Olea europaea svolge una spiccata azione antiossidante. Assunzione 2 compresse al dì.

Oltre ad associazioni, in commercio si trovano anche macerati glicerici:



### **Macerato Glicerico Di Olea europaea<sup>z</sup>.**

Modalità d'uso: 150 gocce al giorno (oppure 50 gocce 3 volte al giorno) da diluire in 15 ml d'acqua.

## CONCLUSIONI



È stato osservato che nelle popolazioni che seguono la dieta mediterranea, che ha come principale fonte di grassi l'olio extravergine d'oliva, c'è stata una riduzione dell'incidenza di mortalità cardiovascolare, di malattie neurodegenerative e di alcuni tipi di cancro.

In questo periodo in cui l'attenzione è rivolta soprattutto all'isolamento e alla ricerca di nuovi composti di origine naturale con attività biologiche ed effetti vantaggiosi per la salute, e alla luce delle potenziali proprietà dell'olio d'oliva, i ricercatori si sono concentrati sullo studio dell'olio d'oliva e dell'*Olea europaea* (foglie e olive).

Nelle foglie di ulivo, *Olea europaea*, ci sono cinque gruppi di composti fenolici (secoiridoidi, flavoni, flavonoli, flavan-3-oli, fenoli sostituiti) tra cui i più abbondanti sono l'oleuropeina, l'idrossitirosolo, la luteolina e l'apigenina, e il verbascoside.

Di questi, l'oleuropeina e l'oleacina, in quanto sostanze antiossidanti, sono responsabili di numerosi effetti protettivi a livello cardiovascolare e di altri effetti come quelli antipertensivi, anti-aterosclerotici, anti-iperlipidemicici, inoltre hanno anche affetti ipoglicemicici.

L'olio extravergine di oliva è costituito da una frazione saponificabile e da una frazione insaponificabile, quest'ultima è composta essenzialmente da triterpeni e sostanze fenoliche. Tra i triterpeni troviamo l'acido oleanolico, l'acido maslinico, l'uvaolo e l'eritrodiolo; mentre l'oleocantale (OC) rappresenta il principale composto fenolico secoiridoide ed è il responsabile del sapore amaro dell'olio extravergine di oliva.

I quattro triterpeni hanno attività anti-iperlipidemiche, antitumorali, antiossidanti, anti-infiammatorie; l'OC è stato riconosciuto come un antinfiammatorio naturale, infatti ha delle proprietà simili all'ibuprofene, benchè non abbia la struttura classica dei FANS, inibisce infatti la COX-1 e COX-2.

È stato calcolato che chi segue la dieta mediterranea assume giornalmente 9 mg di OC, quantità pari al 10% della dose analgesica raccomandata di ibuprofene per gli adulti, e ciò è stato associato ad una riduzione del rischio di sviluppo di alcuni tipi di cancro, di



aggregazione piastrinica nel sangue, e di formazione del peptide  $\beta$ -42-amiloide in un modello di Alzheimer.

Di particolare interesse è stato osservato l'effetto neuroprotettivo dell' OC contro la malattia di Alzheimer, che provoca l'inibizione della fibrillazione di tau e l'aumento della clearance dell'  $A\beta$  dal cervello mediante l'upregulation di P-gp e di LRP1, che sono le principali proteine di trasporto di  $A\beta$  nella BEE.

L'oleocantale potrebbe rappresentare una svolta nella cura dell' AD, tuttavia sono necessari ulteriori studi per approfondire i meccanismi d'azione, e studi in vivo per capire le dosi necessarie ed eventuali tossicità.

Anche i composti presenti nelle foglie di ulivo e nell'olio extravergine d'oliva potrebbero essere dei potenziali farmaci per la prevenzione e il trattamento di numerose patologie a carico del sistema cardiovascolare, per gli effetti ipoglicemizzanti, e per la lotta al cancro.

Per quanto riguarda le interazioni farmacologiche, gli estratti delle foglie di ulivo e l'olio d'oliva aumentano gli effetti di farmaci antipertensivi, di farmaci antiaggreganti piastrinici come il warfarin e quelli di farmaci antidiabetici, per le loro proprietà ipoglicemizzanti.

Sono stati riportati alcuni casi di reazioni allergiche cutanee anche generalizzate, di tipo orticarioide, talora accompagnate da rinite allergica e da asma allergica. È consigliabile quindi evitare l'assunzione di olive e derivati, in caso di ipersensibilità accertata.

Per quanto riguarda le tossicità, nella letteratura scientifica ad oggi non sono presenti dati relativi a reazioni tossiche all' *Olea europaea*.

In commercio sono già presenti numerosi integratori a base di *Olea europaea*, associata ad altre sostanze naturali, in grado di favorire la regolare funzionalità cardiovascolare, il metabolismo di lipidi (trigliceridi e colesterolo) e carboidrati, il mantenimento della normale circolazione del sangue e la regolarità della pressione, con una spiccata azione antiossidante.



# GLOSSARIO ABBREVIAZIONI

AD: morbo di Alzheimer

AKT: proteina chinasi

Akt-Ser (473): anticorpo

$\beta$ -42-amiloide: peptide

AMPK: proteina chinasi attivata da AMP

AP-1 (activator protein 1): fattore di trascrizione

A $\beta$ : peptide  $\beta$ -amiloide

B16F10: modello di melanoma

Bax: proteina pro-apoptica

Bcl-2: gene antiapoptotico

BEE: barriera emato-encefalica

BEI: indice di efflusso cerebrale

Bid: proteina pro-apoptica

Biomarker: sostanza o caratteristica molecolare che può essere utilizzata come indicatore in un organismo vivente

caspiasi-3: proteasi coinvolta nell'apoptosi

caspiasi-9, -3, e -7: proteasi

catalasi: enzima

chinasi c-Met: recettore protooncogeno

C<sub>max</sub> (picco di concentrazione massima): rappresenta la massima concentrazione plasmatica raggiunta dopo la somministrazione del farmaco

c-Met: proteina

COX (ciclossigenasi): enzima

COX-1 (ciclossigenasi 1): enzima costitutivo presente nei processi infiammatori

COX-2 (ciclossigenasi 2): enzima inducibile presente nei processi infiammatori

DSS (Dahl salt-sensitive): modello di ratto insulino-resistente con ipertensione

DU145: cellule tumorali umane del cancro alla prostata

eNOS: enzima ossido nitrico sintasi endoteliale

eNOS-Ser (1177): anticorpo

(ERK) -1/2 (Extracellular signal-regulated kinases): proteina chinasi

EVOO (Extra-virgin olive oil): olio extra- vergine d'oliva

FANS: farmaci anti-infiammatori non steroidei

fosfatidilinositolo -3-chinasi: PI 3-chinasi o PI3K sono una famiglia di enzimi coinvolti in alcuni meccanismi cellulari

G1: una fase del ciclo cellulare

GSH: glutatione

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: acqua ossigenata

HDL (High Density Lipoprotein); lipoproteine ad alta densità

HIF-1 (Hypoxia-Inducible Factor-1): fattore di trascrizione funzionale solo in condizioni di ipossia

HIF-1 $\alpha$  (Hypoxia-inducible Factor 1 $\alpha$ ): fattore trascrizionale funzionale solo in condizioni di ipossia

(Hsp) -90: proteina di shock termico

HT-29: linea cellulare di cancro al colon

HUVEC (Human Umbilical Vein Endothelial Cells): cellule endoteliali umane della vena ombelicale

IgE (immunoglobuline E): un tipo di anticorpi

IL-1 $\beta$  (interleuchina-1 beta): citochina pro-infiammatoria

IL-6 (interleuchina 6) : citochina pro-infiammatoria

iNOS : enzima ossido nitrico sintasi inducibile

JNK (c-Jun N-terminal kinase): via delle c-Jun chinasi N-terminali

K18: frammento fibrillogenico della proteina tau

LDH: lattato deidrogenasi

LDL ( Low Density Lipoprotein): lipoproteine a bassa densità

5-LOX (5-lipossigenasi): enzima

LPS: lipopolisaccaridi

LRP1 (low density lipoprotein receptor-related protein): recettore

Mastiche di CHIOS: gomma estratta dalla resina naturale del Lentisco (*Pistacia lentiscus*), che è un arbusto sempreverde

MIP -1 $\alpha$  (Macrophage Inflammatory Protein 1 $\alpha$ ): proteina infiammatoria dei macrofagi

MM: cellule di mieloma multiplo umane

MMP: metalloproteasi della matrice

mTOR (mammalian target of rapamycin): proteina chinasi

NADH-deidrogenasi: enzima che catalizza il trasferimento di elettroni e di protoni dal NADH all'ubichinone

NF- $\kappa$ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells): fattore di trascrizione

NO: ossido nitrico

NOS: enzima ossido nitrico sintasi

O<sub>2</sub><sup>-</sup> : anione superossido

OC: oleocantale

OH: radicale idrossile

Panc-28: linea cellulare umana di cancro pancreatico

PC12 (cellule di feocromocitoma di ratto): linea cellulare

P-gp (P-glicoproteina): glicoproteina di membrana

PMA: forbolo 12-miristato 13-acetato

PPAR- $\gamma$  (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma): recettore nucleare

RNS: specie reattive dell'azoto

ROS: specie reattive dell'ossigeno

SGLT1: trasportatore del glucosio sodio-dipendente

SOD (superossido dismutasi): enzima

tau: proteina

TGR5: recettore accoppiato alla proteina G attivato dagli acidi biliari

TNF- $\alpha$ : fattore di necrosi tumorale

TRPA1 (Transient receptor potential cation channel, subfamily A, member 1): recettore

U937 ( human leukemic monocyte lymphoma cell line): cellule monocitiche di linfoma

uPAR (Urokinase receptor): recettore dell' urochinasi

VEGF (vascular endothelial growth factor): fattore di crescita vascolare endoteliale

# SITOGRAFIA

- a: <http://www.laurafilonzi.it/>
- b: <http://greenlandonlus.altervista.org/php5/Contebuti/olivo.pdf>
- c: [http://www.actaplantarum.org/floraitaliae/mod\\_viewtopic.php?t=32942](http://www.actaplantarum.org/floraitaliae/mod_viewtopic.php?t=32942)
- d: <http://www.demetra.org/index.php/i-miti-gli-eroi-e-le-leggende-del-passato/57-mitologia/140-l-olivo-tra-storia-e-mitologia>
- e: [http://www.abcoliodoliva.com/Origini\\_Leggende.html](http://www.abcoliodoliva.com/Origini_Leggende.html)
- f: <http://olivagoldinvestments.com/it/usi-dellolio/>
- g: [http://www.abcoliodoliva.com/olio\\_bellezza.html](http://www.abcoliodoliva.com/olio_bellezza.html)
- h: [https://it.wikipedia.org/wiki/Estrazione\\_dell%27olio\\_d%27oliva](https://it.wikipedia.org/wiki/Estrazione_dell%27olio_d%27oliva)
- i: <http://www.my-personaltrainer.it/salute/radicali-liberi.html>
- l: [http://www.treccani.it/enciclopedia/radicali-liberi\\_\(Enciclopedia-Italiana\)/](http://www.treccani.it/enciclopedia/radicali-liberi_(Enciclopedia-Italiana)/)
- m: [http://openi.nlm.nih.gov/detailedresult.php?img=2928275\\_pone.0012403.g002&req=4](http://openi.nlm.nih.gov/detailedresult.php?img=2928275_pone.0012403.g002&req=4)
- n: <http://www.cell.com/cms/attachment/601305/4738488/gr1.jpg>
- o: <http://blogs.rsc.org/fo/2011/07/>
- p: <http://www.cristalfarma.it/it/la-fitoterapia/enciclopedia-naturale/olivo.html>
- q: [http://www.usrpiemonte.it/salute/Lists/Annunci/Attachments/36/Progetto%20didattico\\_Carapelli.pdf](http://www.usrpiemonte.it/salute/Lists/Annunci/Attachments/36/Progetto%20didattico_Carapelli.pdf)
- r: <http://www.about-olive-leaf-extract.com/olive-leaf-side-effects.html>
- s: <http://www.specchiasol.it/it/prodotto/colesterolo-e-trigliceridi/no-press>
- t: [http://www.polifarma.it/index.php?option=com\\_content&view=article&id=470%3Atokaber-plus&catid=7%3Aprodotti&Itemid=179&lang=it](http://www.polifarma.it/index.php?option=com_content&view=article&id=470%3Atokaber-plus&catid=7%3Aprodotti&Itemid=179&lang=it)
- u: <http://www.farmaciacappellini.it/prodotti/vendita-integratori-naturali-erboristeria-online/integratori-per-il-colesterolo/triglicol600>
- v: <http://www.princeps.it/prodotto.php?c=32&sc=31:30:34&p=42:45:52:47:41:4d:45:54>
- z: <http://www.farmaciadeantoni.it/prodotti/vendita-integratori-naturali-erboristeria-online/integratori-per-il-colesterolo/olea-europea>

# BIBLIOGRAFIA

1. Molina-Alcaide E., Yáñez-Ruiz D. R. *Potential use of olive by-products in ruminant feeding: a review.* (2008) *Anim Feed Sci Technol.*; 147: 247–264.
2. Delgado-Pertinez M., Gomez-Cabrera A., Garrido A. *Predicting the nutritive value of the olive leaf (Olea europaea): digestibility and chemical composition and in vitro studies.* (2000) *Anim Feed Sci Technol.*; 87: 187–201.
3. Martin-Garcia A. I., Moumen A., Yáñez Ruiz D. R., Molina-Alcaide E. *Chemical composition and nutrients availability for goats and sheep of two-stage olive cake and olive leaves.* (2003) *Anim Feed Sci Technol.*; 107: 61–74.
4. Martin-Garcia A. I., Molina-Alcaide E. *Effect of different drying procedures on the nutritive value of olive (Olea europaea var. europaea) leaves for ruminants.* (2008) *Anim Feed Sci Technol.*; 142: 317–329.
5. Makris D., Boskoub G., Andrikopoulos N. K. *Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts.* (2007) *J Food Compost Anal.*; 20: 125–132.
6. Benavente-Garcia J., Castillo J., Lorente A., Ortuno A., Del Rio J. A. *Antioxidant activity of phenolics extracted from Olea europaea L. leaves.* (2000) *Food Chem.*; 68: 457–462.
7. Tan H. W., Tuck K. L., Stupans I., Hayball P.J. *Simultaneous determination of oleuropein and hydroxytyrosol in rat plasma using liquid chromatography with fluorescence detection.* (2003) *J Chromatogr.*; 785: 187–191.
8. Ferreira I. C. F. R., Barros L., Soares M. E., Bastos M. L., Pereira J. A. *Antioxidant activity and phenolic contents of Olea europaea L. leaves sprayed with different copper formulations.* (2007) *Food Chem.*; 103: 188–195.
9. Liakopoulos G., Stavrianakou S., Karabourniotis G. *Trichome layers versus dehaired lamina of Olea europaea leaves: differences in flavonoid distribution, UV-absorbing capacity, and wax yield.* (2006) *Environ Exp Bot.*; 55: 294–304.
10. Hollman P. C., De Vries J. H., Van Leeuwen S. D., Mengelers M. J., Katan M. B. *Absorption of dietary quercetin glycosides and quercetin in healthy ileostomy volunteers.* (1995) *Am J Clin Nutr.*; 62: 1276–1282.
11. Singh I., Mok M., Christensen A. M., Turner A. H., Hawley J. A. *The effects of polyphenols in olive leaves on platelet function.* (2008) *Nutr Metab Cardiovasc Dis.*; 18: 127–132.
12. Dimitrios B. *Sources of natural phenolic antioxidants.* (2006) *Trends Food Sci Technol.*; 17: 505–512.

13. Andrikopoulos N. K., Kaliora A. C., Assimopoulou A. N., Papageorgiou V. P. Inhibitory activity of minor polyphenolic and nonpolyphenolic constituents of olive oil against *in vitro* low-density lipoprotein oxidation. (2002) *J Med Food.*; 5: 1–7.
14. Visioli F., Poli A., Galli C. Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. (2002) *Med Res Rev.*; 22: 65–75.
15. Pereira A. P., Ferreira I. C. F. R., Marcelino F., et al. Phenolic compounds and antimicrobial activity of olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) leaves. (2007) *Molecules.*; 12: 1153–1162.
16. Allouche Y., Jimenez A., Uceda M., Aguilera M. P., Gaforio J. J., Beltran G. Triterpenic content and chemometric analysis of virgin olive oils from forty olive cultivars. (2009) *J. Agric. Food Chem.*; 57: 3604–3610.
17. Guinda Á., Rada M., Delgado T., Gutierrez-Adanez P., Castellano J. M. Pentacyclic triterpenoids from olive fruit and leaf. (2010) *J. Agric. Food Chem.*; 58: 9685–9691.
18. Perez-Camino M. C., Cert A. Quantitative determination of hydroxy pentacyclic triterpene acids in vegetable oils. (1999) *J. Agric. Food Chem.*; 47: 1558–1562.
19. Cicerale S., Lucas L. J., Keast R. S. J. Oleocanthal: A Naturally Occurring Anti-Inflammatory Agent in Virgin Olive Oil. In *Olive Oil - Constituents, Quality, Health Properties and Bioconversions* (2012) Dimitrios, B., Ed., InTech, Rijeka, Croatia, pp 357–374.
20. Somova L. I., Shode F. O., Ramnanan P., Nadar A. Antihypertensive, antiatherosclerotic and antioxidant activity of triterpenoids isolated from *Olea europaea*, subspecies *Africana* leaves. (2003) *J Ethnopharmacol.*; 84: 299–305.
21. Sato H., Genet C., Strehle A., et al. Anti-hyperglycemic activity of a TGR5 agonist isolated from *Olea europaea*. (2007) *Biochem Biophys Res Commun*; 362: 793–798.
22. Pignatelli P., Pulcinelli F. M., Lenti L., Gazzaniga P. P., Visioli F. Hydrogen peroxide is involved in collagen-induced platelet activation. (1998) *Blood.*; 91: 484–490.
23. Hamdi H. K., Castellon R. Oleuropein, a non-toxic olive iridoid, is an antitumor agent and cytoskeleton disruptor. (2005) *Biochem Biophys Res Commun.*; 334: 769–778.
24. Andreadou I., Sigala F., Iliodromitis E. K., et al. Acute doxorubicin cardiotoxicity is successfully treated with the phytochemical oleuropein through suppression of oxidative and nitrosative stress. (2007) *J Mol Cell Cardiol.*; 42: 549–558.
25. Bompiani G. D., Galluzzo A. *Radicali liberi in fisiologia e patologia.* (1990) Ed. Minerva Medica, Torino
26. Chimi H., Cillard J., Cillard P., Rahmani M. Peroxyl and hydroxyl radical scavenging activity of some natural phenolic antioxidants. (1991) *J Am Oil Chem Soc.*; 68: 307–312.
27. De La Puerta R., Ruiz Gutierrez V., Hout J. R. Inhibition of leukocyte 5-lipoxygenase by phenolics from virgin olive oil. (1999) *Biochem Pharmacol.*; 57: 445–449.



28. Gordon M. H., Paiva-Martins F., Almeida M. Antioxidant activity of hydroxytyrosol acetate compared with that of other olive oil polyphenols. (2001) *J Agric Food Chem.*; 49: 2480–2485.
29. Buyukbalci A., El S. N. Determination of in vitro antidiabetic effects, antioxidant activities and phenol contents of some herbal teas. (2008) *Plant Foods Hum Nutr.*;63:27–33.
30. Al-Azzawie H. F., Alhamdani M. S. Hypoglycemic and antioxidant effect of oleuropein in alloxan-diabetic rabbits. (2006) *Life Sci.*; 78: 1371–1377.
31. Bouaziz M., Fki I., Jemai H., Ayadi M., Sayadi S. Effect of storage on refined and husk olive oils composition: Stabilization by addition of natural antioxidants from Chemlali olive leaves. (2008) *Food Chem.*; 108: 253–262.
32. Pereira J. A., Pereira A. P. G., Ferreira I. C. F. R., et al. Table olives from Portugal: phenolic compounds, antioxidant potential and antimicrobial activity. (2006) *J Agric Food Chem.*; 54: 8425– 8431
33. Komaki E., Yamaguchi S., Maru I., et al. Identification of anti-amylase components from olive leaf extracts. (2003) *Food Sci Technol Res.*; 9: 35–39.
34. Sato H., Macchiarulo A., Thomas C., Gioiello A., Une M., Hofmann A., Saladin R., Schoonjans K., Pellicciari R., Auwerx J. Novel Potent and Selective Bile Acid Derivatives as TGR5 Agonists: Biological Screening, Structure-Activity Relationships, and Molecular Modeling Studies. (2008) *J. Med. Chem.*; 51: 1831–1841
35. Allouche Y., Beltran G., Gaforio J. J., Uceda M., Mesa M. D. Antioxidant and antiatherogenic activities of pentacyclic triterpenic diols and acids. (2010) *Food Chem. Toxicol.*; 48: 2885–2890.
36. Allouche Y., Warleta F., Campos M., Sanchez-Quesada C., Uceda M., Beltran G., Gaforio, J. J. Antioxidant, antiproliferative, and pro-apoptotic capacities of pentacyclic triterpenes found in the skin of olives on MCF-7 human breast cancer cells and their effects on DNA damage. (2011) *J. Agric. Food Chem.*; 59: 121–130.
37. Moreno J. J. Effect of olive oil minor components on oxidative stress and arachidonic acid mobilization and metabolism by macrophages RAW 264.7. (2003) *Free Radical Biol. Med.*; 35: 1073–1081.
38. Brunelleschi S., Bardelli C., Amoruso A., Gunella G., Ieri F., Romani A., Malorni W., Franconi F. Minor polar compounds extravirgin olive oil extract (MPC-OOE) inhibits NF-kappa B translocation in human monocyte/macrophages. (2007) *Pharmacol. Res.*; 56: 542–549.
39. Giner-Larza E. M., Manez S., Recio M. C., Giner R. M., Prieto J. M., Cerda-Nicolas M., Rios J. L. Oleanonic acid, a 3-oxotriterpene from Pistacia, inhibits leukotriene synthesis and has anti-inflammatory activity. (2001) *Eur. J. Pharmacol.*; 428: 137–143.
40. Martin R., Ibeas E., Carvalho-Tavares J., Hernandez M., Ruiz- Gutierrez V., Nieto M. L. Natural triterpenic diols promote apoptosis in astrocytoma cells through ROS-mediated mitochondrial depolarization and JNK activation. (2009) *PLoS One*; 4, e5975.

41. De Caterina R., Zampolli A., Del Turco S., Madonna R., Massaro M. Nutritional mechanisms that influence cardiovascular disease. (2006) *Am. J. Clin. Nutr.*; 83: 421S–426S.
42. Badimon J. J., Ibanez B., Cimmino G. Genesis and dynamics of atherosclerotic lesions: implications for early detection. (2009) *Cerebrovasc. Dis.*; 27 (Suppl. 1): 38–47.
43. Holvoet P., Harris T. B., Tracy R. P., Verhamme P., Newman A. B., Rubin S. M., Simonsick E. M., Colbert L. H., Kritchevsky S. B. Association of high coronary heart disease risk status with circulating oxidized LDL in the well-functioning elderly: findings from the Health, Aging, and Body Composition study. (2003) *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*; 23: 1444–1448.
44. Meisinger C., Baumert J., Khuseyinova N., Loewel H., Koenig W. Plasma oxidized low-density lipoprotein, a strong predictor for acute coronary heart disease events in apparently healthy, middle-aged men from the general population. (2005) *Circulation*; 112: 651–657.
45. Matsuura E., Hughes G. R., Khamashta M. A. Oxidation of LDL and its clinical implication. (2008) *Autoimmun. Rev.*; 7: 558–566.
46. Lapointe A., Couillard C., Lemieux S. Effects of dietary factors on oxidation of low-density lipoprotein particles. (2006) *J. Nutr. Biochem.*; 17: 645–658.
47. Ferdowsian H. R., Barnard N. D. Effects of plant-based diets on plasma lipids. (2009) *Am. J. Cardiol.*; 104: 947–956.
48. Lusis A. J. Atherosclerosis. (2000) *Nature*; 407: 233–241.
49. Andrikopoulos N. K.; Kaliora, A. C.; Assimopoulou, A. N.; Papageorgiou, V. P. Biological activity of some naturally occurring resins, gums and pigments against in vitro LDL oxidation. (2003) *Phytother. Res.*; 17: 501–507.
50. Andrikopoulos, N. K., Kaliora A. C., Assimopoulou A. N., Papageorgiou V. P. Inhibitory activity of minor polyphenolic and nonpolyphenolic constituents of olive oil against in vitro low-density lipoprotein oxidation. (2002) *J. Med. Food*; 5: 1–7.
51. Buus N. H., Hansson N. C., Rodriguez-Rodriguez R., Stankevicius E., Andersen M. R., Simonsen U. Antiatherogenic effects of oleanolic acid in apolipoprotein E knockout mice. (2011) *Eur. J. Pharmacol.*; 670: 519–526.
52. Somova L. O., Nadar A., Rammanan P., Shode F. O. Cardiovascular, antihyperlipidemic and antioxidant effects of oleanolic and ursolic acids in experimental hypertension. (2003) *Phytomedicine*; 10: 115–121.
53. Liu C. H., Huang X. T., Li Y. Y., Zheng X., Li N., Mi S. Q., Wang N. S. The anti-portal hypertension effect of oleanolic acid in CCl<sub>4</sub>-induced cirrhosis rats. (2012) *Zhong Yao Cai*; 35: 930–935.
54. Bachhav S. S., Patil S. D., Bhutada M. S., Surana S. J. Oleanolic acid prevents glucocorticoid-induced hypertension in rats. (2011) *Phytother. Res.*; 25: 1435–1439.

55. Rodriguez-Rodriguez R., Herrera M. D., Perona J. S., Ruiz-Gutierrez V. Potential vasorelaxant effects of oleanolic acid and erythrodiol, two triterpenoids contained in 'orujo' olive oil, on rat aorta. (2004) *Br. J. Nutr.*; 92: 635–642.
56. Rodriguez-Rodriguez R., Stankevicius E., Herrera M. D., Ostergaard L., Andersen M. R., Ruiz-Gutierrez V., Simonsen U. Oleanolic acid induces relaxation and calcium-independent release of endothelium-derived nitric oxide. (2008) *Br. J. Pharmacol.*; 155: 535–546.
57. Lou-Bonafonte J. M., Arnal C., Navarro M. A., Osada J. Efficacy of bioactive compounds from extra virgin olive oil to modulate atherosclerosis development. (2012) *Mol. Nutr. Food Res.*; 56: 1043–1057.
58. Hussain Shaik A., Rasool S. N., Abdul Kareem M., Krushna G. S., Akhtar P. M., Devi K. L. Maslinic acid protects against isoproterenol-induced cardiotoxicity in albino Wistar rats. (2012) *J. Med. Food*; 15: 741–746.
59. Martin R., Miana M., Jurado-Lopez R., Martinez-Martinez E., Gomez-Hurtado N., Delgado C., Bartolome M. V., San Roman J. A., Cordova C., Lahera V., Nieto M. L., Cachofeiro V. Triterpenes block profibrotic effects of angiotensin II and protect from cardiac hypertrophy. (2012) *PLoS One*; 7: e41545.
60. Rodriguez-Rodriguez R., Herrera M. D., De Sotomayor M. A., Ruiz-Gutierrez V. Effects of pomace olive oil-enriched diets on endothelial function of small mesenteric arteries from spontaneously hypertensive rats. (2009) *Br. J. Nutr.*; 102: 1435–1444.
61. Rodriguez-Rodriguez R., Herrera M. D., De Sotomayor M. A., Ruiz-Gutierrez V. Pomace olive oil improves endothelial function in spontaneously hypertensive rats by increasing endothelial nitric oxide synthase expression. (2007) *Am. J. Hypertens.*; 20: 728–734.
62. Rodriguez-Rodriguez R., Perona J. S., Herrera M. D., Ruiz-Gutierrez V. Triterpenic compounds from "orujo" olive oil elicit vasorelaxation in aorta from spontaneously hypertensive rats. (2006) *J. Agric. Food Chem.*; 54: 2096–2102.
63. Lin C. C., Huang C. Y., Mong M. C., Chan C. Y., Yin M. C. Antiangiogenic potential of three triterpenic acids in human liver cancer cells. (2011) *J. Agric. Food Chem.*; 59: 755–762.
64. Juan M. E., Wenzel U., Ruiz-Gutierrez V., Daniel H., Planas J. M. Olive fruit extracts inhibit proliferation and induce apoptosis in HT-29 human colon cancer cells. (2006) *J. Nutr.*; 136: 2553–2557.
65. Wang X., Bai H., Zhang X., Liu J., Cao P., Liao N., Zhang W., Wang Z., Hai C. Inhibitory effect of oleanolic acid on hepatocellular carcinoma via ERK-p53-mediated cell cycle arrest and mitochondrial dependent apoptosis. (2013) *Carcinogenesis*; 34: 1323–1330.
66. George V. C., Kumar D. R., Suresh P. K., Kumar R. A. Apoptosis-induced cell death due to oleanolic acid in HaCaT keratinocyte cells – a proof-of-principle approach for chemopreventive drug development. (2012) *Asian Pac. J. Cancer Prev.*; 13: 2015–2020.

67. Rufino-Palomares E. E., Reyes-Zurita F. J., Garcia-Salguero L., Mokhtari K., Medina P. P., Lupianez J. A., Peragon J. Maslinic acid, a triterpenic anti-tumoural agent, interferes with cytoskeleton protein expression in HT29 human colon-cancer cells. (2013) *J. Proteomics*; 83C: 15–25.
68. Lúcio K. A., Da Graça Rocha G., Monção-Ribeiro L. C., Fernandes J., Takiya C. M., Gattass C. R. Oleanolic acid initiates apoptosis in non-small cell lung cancer cell lines and reduces metastasis of a B16F10 melanoma model in vivo. (2011) *PLoS One*; 6: e28596.
69. Shan J. Z., Xuan Y. Y., Ruan S. Q., Sun M. Proliferation inhibiting and apoptosis-inducing effects of ursolic acid and oleanolic acid on multi-drug resistance cancer cells in vitro. (2011) *Chin. J. Integr. Med.*; 17: 607–611.
70. Li C., Yang Z., Zhai C., Qiu W., Li D., Yi Z., Wang L., Tang J., Qian M., Luo J., Liu M. Maslinic acid potentiates the anti-tumor activity of tumor necrosis factor alpha by inhibiting NF-kappaB signaling pathway. (2010) *Mol. Cancer*; 9: 73.
71. Petronelli A., Pannitteri G., Testa U. Triterpenoids as new promising anticancer drugs. (2009) *Anticancer Drugs*; 20: 880–892.
72. Sogno I., Vannini N., Lorusso G., Cammarota R., Noonan D. M., Generoso L., Sporn M. B., Albini A. Anti-angiogenic activity of a novel class of chemopreventive compounds: oleanic acid terpenoids. (2009) *Recent Results Cancer Res.*; 181: 209–212.
73. Leal A. S., Wang R., Salvador J. A., Jing Y. Synthesis of novel heterocyclic oleanolic acid derivatives with improved antiproliferative activity in solid tumor cells. (2013) *Org. Biomol. Chem.*; 11: 1726–1738.
74. Shyu M. H., Kao T. C., Yen G. C. Oleanolic acid and ursolic acid induce apoptosis in HuH7 human hepatocellular carcinoma cells through a mitochondrial-dependent pathway and downregulation of XIAP. (2010) *J. Agric. Food Chem.*; 58: 6110–6118.
75. Wei J., Liu M., Liu H., Wang H., Wang F., Zhang Y., Han L., Lin X. Oleanolic acid arrests cell cycle and induces apoptosis via ROS mediated mitochondrial depolarization and lysosomal membrane permeabilization in human pancreatic cancer cells. (2013) *J. Appl. Toxicol.*; 33: 756–765.
76. Pratheeshkumar P., Kuttan G. Oleanolic acid induces apoptosis by modulating p53, Bax, Bcl-2 and caspase-3 gene expression and regulates the activation of transcription factors and cytokine profile in B16F. (2011) *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.*; 30: 21–31.
77. Feng L., Au-Yeung W., Xu Y. H., Wang S. S., Zhu Q., Xiang P. Oleanolic acid from *Prunella vulgaris* L. induces SPC-A-1 cell line apoptosis via regulation of Bax, Bad and Bcl-2 expression. (2011) *Asian Pac. J. Cancer Prev.*; 12: 403–408.
78. Juan M. E., Planas J. M., Ruiz-Gutierrez V., Daniel H., Wenzel U. Antiproliferative and apoptosis-inducing effects of maslinic and oleanolic acids, two pentacyclic triterpenes from olives, on HT-29 colon cancer cells. (2008) *Br. J. Nutr.*; 100: 36–43.
79. Yan S. L., Huang C. Y., Wu S. T., Yin M. C. Oleanolic acid and ursolic acid induce apoptosis in four human liver cancer cell lines. (2010) *Toxicol. In Vitro*; 24: 842–848.

80. Zhou R., Zhang Z., Zhao L., Jia C., Xu S., Mai Q., Lu M., Huang M., Wang L., Wang X., Jin D., Bai X. Inhibition of mTOR signaling by oleanolic acid contributes to its anti-tumor activity in osteosarcoma cells. (2011) *J. Orthop. Res.*; 29: 846–852.
81. Sanchez-Tena S., Reyes-Zurita F. J., Diaz-Moralli S., Vinardell M. P., Reed M., Garcia-Garcia F., Dopazo J., Lupianez J. A., Gunther U., Cascante M. Maslinic acid-enriched diet decreases intestinal tumorigenesis in *Apc(Min/+)* mice through transcriptomic and metabolomic reprogramming. (2013) *PLoS One*; 8: e59392.
82. Hsum Y. W., Yew W. T., Hong P. L., Soo K. K., Hoon L. S., Chieng Y. C., Mooi L. Y. Cancer chemopreventive activity of maslinic acid: suppression of COX-2 expression and inhibition of NF-kappaB and AP-1 activation in Raji cells. (2011) *Planta Med.*; 77: 152–157.
83. Park S. Y., Nho C. W., Kwon D. Y., Kang Y. H., Lee K. W., Park J. H. Maslinic acid inhibits the metastatic capacity of DU145 human prostate cancer cells: possible mediation via hypoxia-inducible factor-1alpha signalling. (2013) *Br. J. Nutr.*; 109: 210–222.
84. Parra A., Rivas F., Martin-Fonseca S., Garcia-Granados A., Martinez A. Maslinic acid derivatives induce significant apoptosis in b16f10 murine melanoma cells. (2011) *Eur. J. Med. Chem.*; 46: 5991–6001.
85. Reyes-Zurita F. J., Pachon-Pena G., Lizarraga D., Rufino-Palomares E. E., Cascante M., Lupianez J. A. The natural triterpene maslinic acid induces apoptosis in HT29 colon cancer cells by a JNKp53- dependent mechanism. (2011) *BMC Cancer*; 11: 154.
86. Wu D. M., Zhao D., Li D. Z., Xu D. Y., Chu W. F., Wang X. F. Maslinic acid induces apoptosis in salivary gland adenoid cystic carcinoma cells by Ca<sup>2+</sup>-evoked p38 signaling pathway. (2011) *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.*; 383: 321–330.
87. Reyes-Zurita F. J., Rufino-Palomares E. E., Lupianez J. A., Cascante M. Maslinic acid, a natural triterpene from *Olea europaea* L., induces apoptosis in HT29 human colon-cancer cells via the mitochondrial apoptotic pathway. (2009) *Cancer Lett.*; 273: 44–54.
88. Juan M. E., Planas J. M., Ruiz-Gutierrez V., Daniel H., Wenzel U. Antiproliferative and apoptosis-inducing effects of maslinic and oleanolic acids, two pentacyclic triterpenes from olives, on HT-29 colon cancer cells. (2008) *Br. J. Nutr.*; 100: 36–43.
89. Trumbull E. R., Bianchi E., Eckert D. J., Wiedhopf R. M., Cole J. R. Tumor inhibitory agents from *Vauquelinia corymbosa* (Rosaceae). (1976) *J. Pharm. Sci.*; 65: 1407–1408.
90. Es-Saady D., Najid A., Simon A., Denizot Y., Chulia A. J., Delage C. Effects of ursolic acid and its analogues on soybean 15-lipoxygenase activity and the proliferation rate of a human gastric tumour cell line. (1994) *Mediators Inflamm.*; 3: 181–184.
91. Nishino H., Nishino A., Takayasu J., Hasegawa T., Iwashima A., Hirabayashi K., Iwata S., Shibata S. Inhibition of the tumorpromoting action of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate by some oleanane-type triterpenoid compounds. (1988) *Cancer Res.*; 48: 5210–5215.
92. Min B. S., Kim Y. H., Lee S. M., Jung H. J., Lee J. S., Na M. K., Lee C. O., Lee J. P., Bae K. Cytotoxic triterpenes from *Crataegus pinnatifida*. (2000) *Arch. Pharm. Res.*; 23: 155–158.

93. Martin R., Ibeas E., Carvalho-Tavares J., Hernandez M., Ruiz-Gutierrez V., Nieto M. L. Natural triterpenic diols promote apoptosis in astrocytoma cells through ROS-mediated mitochondrial depolarization and JNK activation. (2009) *PLoS One*; 4: e5975.
94. Martins A., Vasas A., Schelz Z., Viveiros M., Molnar J., Hohmann J., Amaral L. Constituents of *Carpobrotus edulis* inhibit Pglycoprotein of MDR1-transfected mouse lymphoma cells. (2010) *Anticancer Res.*; 30: 829–835.
95. Chen H. L., Lin K. W., Huang A. M., Tu H. Y., Wei B. L., Hour T. C., Yen M. H., Pu Y. S., Lin C. N. Terpenoids induce cell cycle arrest and apoptosis from the stems of *Celastrus kusanoi* associated with reactive oxygen species. (2010) *J. Agric. Food Chem.*; 58: 3808–3812.
96. Perona J. S., Arcemis C., Ruiz-Gutierrez V., Catala A. Effect of dietary high-oleic-acid oils that are rich in antioxidants on microsomal lipid peroxidation in rats. (2005) *J. Agric. Food Chem.*; 53: 730–735.
97. Singh G. B., Singh S., Bani S., Gupta B. D., Banerjee S. K. Antiinflammatory activity of oleanolic acid in rats and mice. (1992) *J. Pharm. Pharmacol.*; 44: 456–458.
98. Kapil A., Sharma S. Effect of oleanolic acid on complement in adjuvant- and carrageenan-induced inflammation in rats. (1995) *J. Pharm. Pharmacol.*; 47: 585–587.
99. Manez S., Recio M. C., Giner R. M., Rios J. L. Effect of selected triterpenoids on chronic dermal inflammation. (1997) *Eur. J. Pharmacol.*; 334: 103–105.
100. Suh S. J., Jin U. H., Kim K. W., Son J. K., Lee S. H., Son K. H., Chang H. W., Lee Y. C., Kim C. H. Triterpenoid saponin, oleanolic acid 3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-arabinopyranoside (OA) from *Aralia elata* inhibits LPS-induced nitric oxide production by down-regulated NF- $\kappa$ B in raw 264.7 cells. (2007) *Arch. Biochem. Biophys.*; 467: 227–233.
101. Marquez-Martin A., Puerta R. D. L., Fernandez-Arche A., Ruiz-Gutierrez V., Yaqoob P. Modulation of cytokine secretion by pentacyclic triterpenes from olive pomace oil in human mononuclear cells. (2006) *Cytokine*; 36: 211–217.
102. Yang E. J., Lee W., Ku S. K., Song K. S., Bae J. S. Antiinflammatory activities of oleanolic acid on HMGB1 activated HUVECs. (2012) *Food Chem. Toxicol.*; 50: 1288–1294.
103. Diaz A. M., Abad M. J., Fernandez L., Recuero C., Villaescusa L., Silvan A. M., Bermejo P. In vitro anti-inflammatory activity of iridoids and triterpenoid compounds isolated from *Phillyrea latifolia* L. (2000) *Biol. Pharm. Bull.*; 23: 1307–1313.
104. Tsai S. J., Yin M. C. Antioxidative and anti-inflammatory protection of oleanolic acid and ursolic acid in PC12 cells. (2008) *J. Food Sci.*; 73: H174–H178.
105. Rong Z. T., Gong X. J., Sun H. B., Li Y. M., Ji H. Protective effects of oleanolic acid on cerebral ischemic damage in vivo and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced injury in vitro. (2011) *Pharm. Biol.*; 49: 78–85.
106. Tsai S. J., Yin M. C. Anti-oxidative, anti-glycative and antiapoptotic effects of oleanolic acid in brain of mice treated by D-galactose. (2012) *Eur. J. Pharmacol.*; 689: 81–88.

107. Huang L., Guan T., Qian Y., Huang M., Tang X., Li Y., Sun H. Anti-inflammatory effects of maslinic acid, a natural triterpene, in cultured cortical astrocytes via suppression of nuclear factor-kappa B. (2011) *Eur. J. Pharmacol.*; 672: 169–174.
108. Hoeschen R. J. Oxidative stress and cardiovascular disease. (1997) *Can. J. Cardiol.*; 13: 1021–1025.
109. Halliwell B. Oxidative stress and cancer: have we moved forward? (2007) *Biochem. J.*; 401: 1–11.
110. Hwang O. Role of oxidative stress in Parkinson's disease. (2013) *Exp. Neurobiol.*; 22: 11–17.
111. Markesbery W. R. Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. (1997) *Free Radical Biol. Med.*; 23: 134–147.
112. Beauchamp G.K., et al. Phytochemistry: ibuprofen-like activity in extra-virgin olive oil. (2005) *Nature*; 437: 45–46
- 113 Smith A. B., et al. Synthesis and assignment of absolute configuration of (-)-oleocanthal: a potent, naturally occurring non-steroidal anti-inflammatory and anti-oxidant agent derived from extra virgin olive oils. (2005) *Org. Lett.*; 7: 5075–5078
114. Smith A. B., et al. Syntheses of (-)-oleocanthal, a natural NSAID found in extra virgin olive oil, the (-)-deacetoxy-oleuropein aglycone, and related analogues. (2007) *J. Org. Chem.*; 72: 6891–6900
115. Iacono A., et al. Effect of oleocanthal and its derivatives on inflammatory response induced by lipopolysaccharide in a murine chondrocyte cell line. (2010) *Arthritis Rheum.*; 62: 1675–1682
116. Scotece M., et al. Further evidence for the anti-inflammatory activity of oleocanthal: inhibition of MIP-1alpha and IL-6 in J774 macrophages and in ATDC5 chondrocytes. (2012) *Life Sci.*; 91: 1229–1235
117. Scotece M., et al. Oleocanthal inhibits proliferation and MIP-1alpha expression in human multiple myeloma cells. (2013) *Curr. Med. Chem.*; 20: 2467–2475
118. Pitt J., et al. Alzheimer's-associated Abeta oligomers show altered structure, immunoreactivity and synaptotoxicity with low doses of oleocanthal. (2009) *Toxicol. Appl. Pharmacol.*; 240: 189–197
119. Fischer R., Griffen F., Archer R. C., Zinsmeister S. C., Jastram P. S. (1965) *Nature*; 207: 1049–1053.
120. Hennekens C. H. (2002) *J. Man. Care*; 8 (suppl.): 691–700
121. Abramson S.B. Nitric oxide in inflammation and pain associated with osteoarthritis. (2008) *Arthritis Res. Ther.*; 10 (Suppl. 2): S2
122. Khanal P., et al. p-HPEA-EDA, a phenolic compound of virgin olive oil, activates AMP-activated protein kinase to inhibit carcinogenesis. (2011) *Carcinogenesis*; 32: 545–553

123. Elnagar A.Y., et al. (-)-Oleocanthal as a c-Met inhibitor for the control of metastatic breast and prostate cancers. (2011) *Planta Med.*; 77: 1013–1019
124. Margarucci L., et al. Chemical proteomics-driven discovery of oleocanthal as an Hsp90 inhibitor. (2013) *Chem. Commun.*; 49: 5844–5846
125. Akl M.R., et al. Olive phenolics as c-Met inhibitors: (-)-oleocanthal attenuates cell proliferation, invasiveness, and tumor growth in breast cancer models. (2014) *PLOS ONE*; 9: e97622
126. Silverberg G. D., Messier A. A., Miller M. C., Machan J. T., Majmudar S. S., Stopa E. G., Donahue J. E., Johanson C. E. Amyloid efflux transporter expression at the blood-brain barrier declines in normal aging. (2010) *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*; 69: 1034–1043.
127. Li W., Sperry J. B., Crowe A., Trojanowski J. Q., Smith A. B., Lee V. M. Inhibition of tau fibrillization by oleocanthal via reaction with the amino groups of tau. (2009) *J. Neurochem.*; 110: 1339–1351.
128. Monti M. C., Margarucci L., Tosco A., Riccio R., Casapullo A. New insights on the interaction mechanism between tau protein and oleocanthal, an extra-virgin olive-oil bioactive component. (2011) *Food Funct.*; 2: 423–428.
129. Pitt J., Roth W., Lacor P., Smith A. B., Blankenship M., Velasco P., De Felice F., Breslin P., Klein W. L. Alzheimer's-associated Abeta oligomers show altered structure, immunoreactivity and synaptotoxicity with low doses of oleocanthal. (2009) *Toxicol. Appl. Pharmacol.*; 240: 189–197.