



Doğal Bir Antimikrobiyel: Oleuropein

Gökçen Yıldız^{*1}, Vildan Uylaşer¹

¹Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Bursa
^{*}e-posta: gokceny@uludag.edu.tr; Tel: 0224 294 15 09, Fax: 0224 294 14 02

Geliş Tarihi: 31.08.2010, Kabul Tarihi: 09.09.2010

Özet: Zeytin ağacının temel fenolik bileşiği olan oleuropein, zeytin meyvelerinin karakteristik acı tadından sorumludur. Zeytinin yenilebilir özellik kazanması için mutlaka ortamdaki uzaklaştırılması gerekir. Elenolik asit ve hidroksitriosolün heterozidik esteri olan oleuropein, insan sağlığı üzerinde birçok yararlı etkiye sahiptir. Birçok araştırmacı tarafından antimikrobiyel özelliğe sahip olduğu ispat edilmiş olan bu bileşik alternatif gıda katkısı olarak da kullanılabilir. Bu derlemede, oleuropeinin kimyasal yapısı ve antimikrobiyel etkisine ilişkin yapılan çalışmalardan söz edilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Zeytin, oleuropein, antimikrobiyel etki, fenolik bileşik.

A Natural Antimicrobial: Oleuropein

Abstract: Oleuropein is the main phenolic compound of olive tree and is responsible for the characteristic bitterness of olive fruits. Olive fruits can only be consumed after brining which removes bitterness by leaching out oleuropein and other polyphenols. Oleuropein is a heterosidic ester of elenolic acid and hydroxytyrosol and possesses beneficial effects on human health. Many researchers have demonstrated this compound has antimicrobial property, so that it might be used as an alternative food additive. In this review, the studies about chemical structure and antimicrobial activity of oleuropein are mentioned.

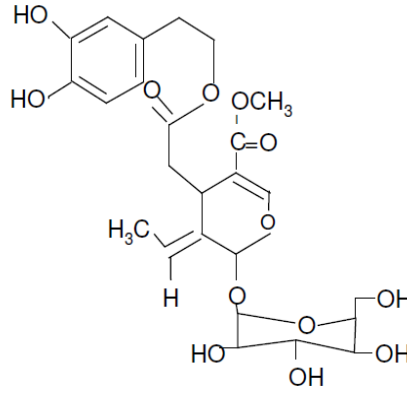
Key Words: Olive, oleuropein, antimicrobial effect, phenolic compound.

Giriş

Zeytin ağacı önemli biyolojik özelliklere sahip fenolik maddelerce zengin olup, bu fenolik bileşenlerin başlıcası oleuropeindir (Malik ve Bradford, 2006; Japon-Lujan ve ark., 2006; Bouaziz ve ark., 2008). İlk kez 1908 yılında Bourquelot ve Vintilesco tarafından keşfedilen bu bileşiğin yapısı ancak 1960 yılında tanımlanabilmiştir (Panizzi ve ark., 1960). Buna göre oleuropein, elenolik asit ve hidroksitriosolün heterozidik esteridir (Şekil 1).

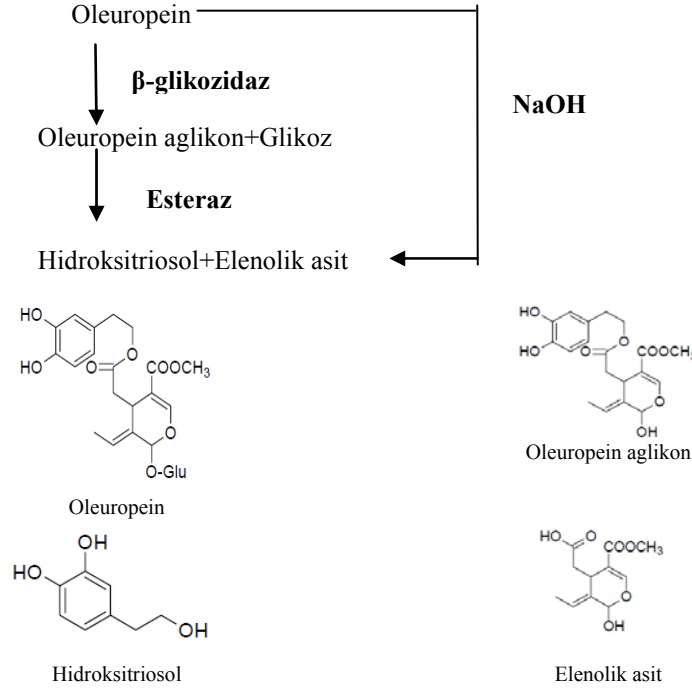
Oleuropein, zeytin meyvesinin ilk dönemlerinde meyvede daha fazla bulunan, olgunlaşmanın ilerlemesi ile zamanla metabolize olarak miktarı azalan ve meyveye acılık veren bir maddedir (Amiot ve ark., 1989; Esti ve ark., 1998; Ryan ve ark., 1999; Sanchez ve ark., 2007).

Olgunlaşmamış zeytinlerde oleuropein, meyve ağırlığının yaklaşık %2'sini oluşturmaktadır. Meyve olgunluğa eriştiği zaman, oleuropein içeriği azalır. Zeytin meyvesinin oleuropein içeriği, genç meyvedeki kuru maddenin %14'üne erişebilmektedir. Küçük meyve kültürleri, yüksek oleuropein içeriği ile karakterize edilirken, büyük meyve kültürleri genellikle, oleuropeinin az miktarlarını içermekte olduğu bildirilmektedir (Tokuşoğlu, 2010).



Şekil 1. Oleuropeinin kimyasal yapı formülü (Winkelhausen ve ark., 2005).

Zeytinin hasattan hemen sonra tüketilebilir nitelikte olamamasından sorumlu olan bu glikozit suda çözünme özelliğine sahiptir. Klasik salamura yöntemi, alkali uygulaması, enzimatik yöntem ya da mikroorganizmalarla hidrolize edilerek zeytinden uzaklaştırılabilmektedir (Fleming ve ark., 1973; Brenes ve ark., 1995; Marsillo ve Lanza, 1998; Brenes ve DeCastro, 1998). Enzimatik hidroliz yönteminde oleuropein β -glikozidaz enzim aktivitesiyle glikoz ve oleuropein aglikona parçalanmakta, daha sonra esteraz enziminin etkisiyle hidroksitriosol ve elenolik asit oluşmaktadır (Şekil 2) (Marsillo ve Lanza, 1998).



Şekil 2: Oleuropeinin β-glikozidaz enzimi ile hidrolizi

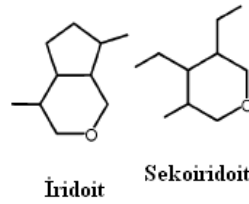
Zeytin ağacının tamamında bulunan oleuropein zeytinde, dolayısıyla posasında, yağında ve zeytinyağı üretimi sırasında ortaya çıkan atıklarda (alperujo) da bulunmakla birlikte, bu bileşiğin doğada bilinen en önemli kaynağı zeytinciliğin yan ürünü olan zeytin yaprağıdır (60-90 mg/g (kuru ağırlık)) (Soler-Rivas ve ark., 2000; Gikas ve ark., 2007). Yapılan çalışmalarda zeytinyağında oleuropein içeriğinin %0.005 ile 2 arasında değişiklik gösterdiği, alperujoda %0.87 ve zeytin yaprağında ise %1-14 arasında olduğu belirlenmiştir (Priego-Capote ve ark., 2004; Beauchamp ve ark., 2005).

Yüzyıllarca yaşayabilme özelliğine sahip olan zeytin ağacının ürünleri sağlığa yararlı etkileri ile uzun zamandır bilinen gıda maddeleri arasındadır (Soler-Rivas ve ark., 2000). Bu ürünlerin yapılarında bulundukları oleuropeinin antioksidan, antimikrobiyel, antienflamatuvar, antiaterojenik, antikarsinojenik, antiviral aktiviteler dahil olmak üzere çok sayıda farmakolojik özelliğe sahip olduğu birçok araştırmacı tarafından ortaya konmuştur (Visioli ve ark., 1998; Owen ve ark., 2000; Visioli ve ark., 2002; Carluccio, 2003; Micol ve ark., 2005; Tripoli ve ark., 2005; Sanchez ve ark., 2007; Gikas ve ark., 2007). Yapılan çalışmalar, yüksek miktarda oleuropein içeren zeytin yapraklarından elde edilen fenolik fraksiyonun, lipoprotein oksidasyonunu önlediği ve bu nedenle besin takviyesi olarak önemli rol oynadığını göstermektedir (Visioli ve ark., 1995; Tuck ve Hayball, 2002). Ayrıca oleuropeinin ana biyoaktif metaboliti hidroksitriosolün, doğal olarak elde edilen güçlü bir antioksidan olduğu, diğer yapısal alt birimi elenolik asitin ise güçlü antiviral etki gösterdiği bildirilmektedir (Fleming ve Etchells, 1967; Renis, 1975; Saija ve ark., 1998;

Visioli ve ark., 1998). Bundan başka oleuropeinin alzheimer hastalığının etyolojik faktörü $A\beta$ amiloid peptid ile non-kovalent kompleks oluşturduğu ileri sürülmektedir (Bazoti ve ark., 2006; Gikas ve ark., 2007).

Oleuropeinin Kimyası ve Biyosentezi

Oleuropein, *Oleaceae*, *Gentianaceae* ve *Cornaleae* familyalarında yüksek miktarda bulunan sekoiridoit grubu bir bileşiktir. Sekoiridoitler, siklopentanopiran halkasına sahip acı lezzetli monoterpen lakton olan iridoitlerin, siklopentan halkasının parçalanması ile oluşmaktadır (Şekil 3).



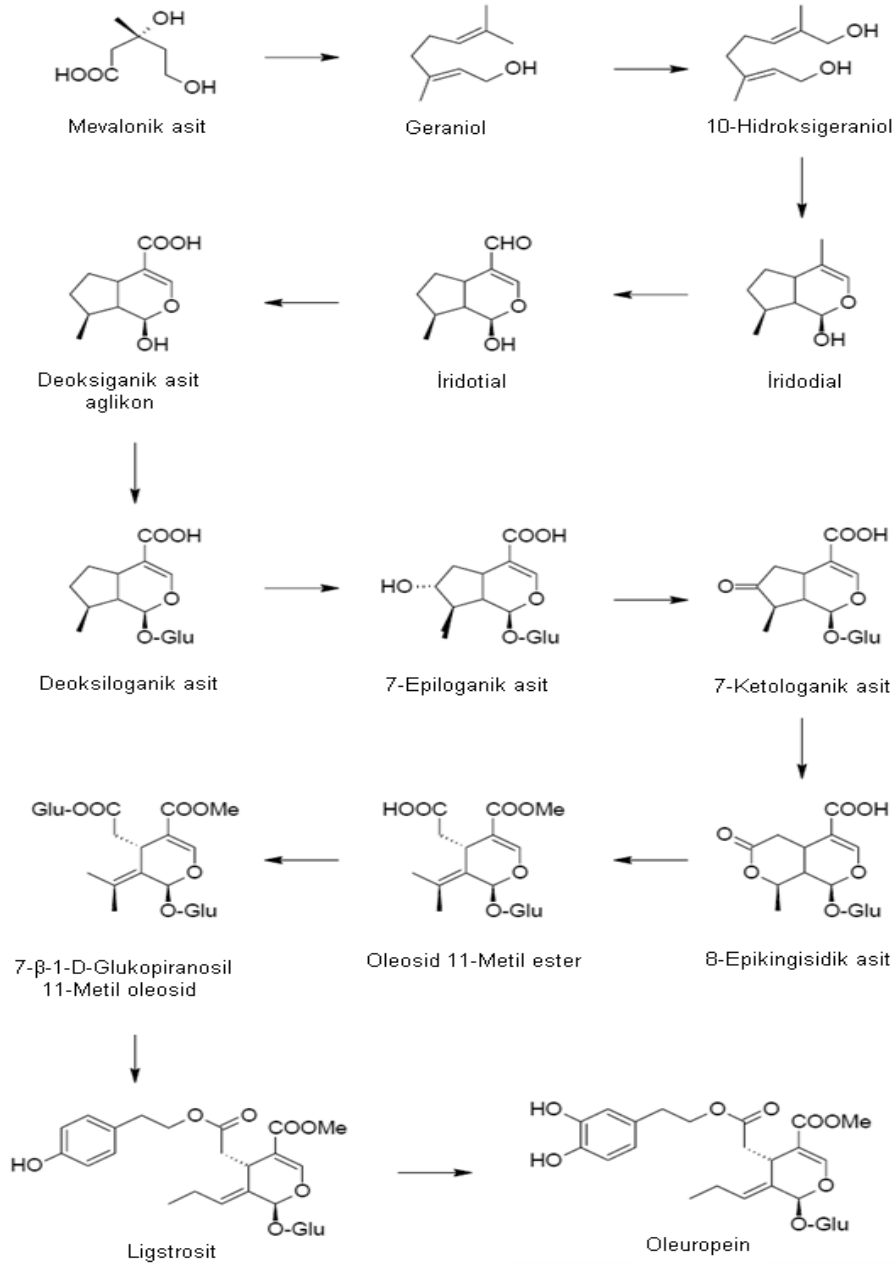
Şekil 3: İridoit ve sekoiridotin kimyasal yapısı

Oleaceae familyasındaki sekoiridoitler ekzosiklik 8,9-olefinik bağ tarafından karakterize edilen, elenolik asit ve glikoz kalıntısının kombinasyonu oleosid türevleridir. *Oleaceae* sekoiridoit glikozitlerine özgü oleosid iskeletine sahip olan oleuropein, üç yapısal alt birimden oluşmakta olup bunlar; hidroksitriosol diğer bir deyişle 4-(2-hidroksietil) benzen-1,2 diol olarak adlandırılan bir polifenol ile sekoiridoit elenolik asit ve glikoz molekülüdür (Şekil 1) (Soler-Rivas ve ark., 2000; Gikas ve ark., 2007). İşlem görmemiş zeytin meyvesi ve yaprağındaki oleuropein konsantrasyonu, zeytin meyvesinin olgunlaşması ya da işlem görmesi (yağ üretimi gibi) sırasında, gerçekleşen bir takım kimyasal ve enzimatik reaksiyonlar sonucu azalırken, oleuropeinin başlıca parçalanma ürünü hidroksitriosol konsantrasyonunda artış meydana gelmektedir. Zeytin meyvesinin olgunlaşması; oleuropein birikiminin meydana geldiği gelişme fazı, klorofil ve oleuropeinin azalma gösterdiği yeşil olgunlaşma fazı ve oleuropein azalmasının devam ettiği, antosiyaninlerin belirlediği siyah olgunlaşma fazı olmak üzere üç evrede gerçekleşmektedir. Olgunlaşmanın ilk evrelerinde oldukça yüksek olan oleuropein miktarı meyve kuru ağırlığının %14'ne kadar ulaşmaktadır (Amiot ve ark., 1986; Amiot ve ark., 1989). Yeşil olgunlaşma fazının başlangıcında oleuropein miktarındaki azalma ile birlikte, oleuropeinin glikozidik türevleri elenolik asit glikoziti ve demetiloleuropein oluşumu söz konusudur. Demetiloleuropein birikimi, siyah zeytinin ana bileşeni olana kadar devam etmektedir (Bianco ve ark., 1993). Bu iki bileşik, esteraz enziminin aktivitesiyle oluşmaktadır. Esteraz aktivitesi olgunlaşmanın birinci fazında artış göstermekte, siyah olgunlaşma evresinde ise maksimum düzeye çıkmaktadır. Oleuropeindeki düşüşle eş zamanlı olarak genç zeytinlerde daha az bulunan ligstrosit gibi diğer oleosid miktarlarında da düşüş meydana gelirken, bazı flavonoidler ve verbaskozit gibi diğer fenolik bileşiklerde artış meydana gelmektedir. Verbaskozit, zeytin meyvesinin başlıca hidroksisinnamik asit türevidir. Bu fenolik bileşik genç zeytinlerde olgunlaşmanın başlangıcında ligstrosit ve cornosite oranla daha az

miktarda bulunmaktadır. Yeşil zeytinler normal boyutuna ulaştığında ise ligstrosit ve cornosit kaybolurken, halleridon oluşumu gözlemlenmektedir (Amiot ve ark., 1989; Bianco ve ark., 1993). Zeytin meyvesinde oleuropeinin sadece glikozidik türevleri birikmesine karşın yapraklarda dihidroksitrisol ve oleuropeinin glikozidik olmayan türevleri de tespit edilmiştir (Amiot ve ark., 1989; Amiot ve ark., 1990). *Oleaceae* familyasındaki oleuropeinin biyosentezi, mevalonik asit üzerinden gerçekleşmektedir (Damtoft ve ark., 1992). Karbon iskeletini oluşturan mevalonik asitin bir dizi reaksiyonu sonucu; geraniol, 10-hidroksigeraniol ya da stereo izomeri 10-hidroksinerol ve iridodial oluşmaktadır. Bu bileşikler loganinin prekürsörü olarak bilinmektedir. Sırasıyla deoksiloganik asit, 7-epiloganik asit ve 7-ketologanik asit oluşumundan sonra, gerçekleşen bir dizi dönüşüm sonucu oleuropeinin direk prekürsörü olan ligstrosit meydana gelmektedir. Deoksiloganik asit ve 7-ketologanik asit arasındaki gerçekleşen dönüşümlerin bitki türüne ve yılın belli zamanlarına göre değişiklik gösterdiği belirtilmektedir (Damtoft ve ark., 1995). *Oleaceae* familyasındaki oleuropeinin, Damtoft ve ark. (1992) tarafından öngörülen biyosentez yolu Şekil 4.'de gösterilmiştir.

Oleuropeinin Antimikrobiyel Etkisi

Mikrobiyel gelişmeyi kontrol altına almak amacıyla kullanılan katkı maddeleri antimikrobiyel olarak adlandırılmaktadır. Ancak son yıllarda, bu amaçla kullanılan sentetik kökenli maddelerin insan vücudunda istenmeyen ve beklenmedik yan etkiler oluşturmasının yanı sıra mikroorganizmaların bunlara karşı direnç kazanması alternatif olarak doğal antimikrobiyel maddelerin arayışına neden olmuştur (Sanchez ve ark., 2007). Doğal antimikrobiyel maddeler arasında gösterilen oleuropeinin, mikroorganizmaların gelişme hızını geciktirdiği ve inhibe ettiği bildirilmektedir (Sousa ve ark., 2006; Sanchez ve ark., 2007; Sudjana ve ark., 2009; Lee ve Lee, 2010). Bu konuda yapılan birçok çalışmada fenolik glikozit oleuropein ve parçalanma ürünlerinin *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Lactobacillus plantarum*, *Moraxella catarrhalis*, *Pseudomonas fragi*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus carnosus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio alginolyticus* ve küfler üzerinde inhibe edici etkisinin olduğu ifade edilmektedir (Juven ve Heniz, 1970; Tassou ve Nychas, 1995; Aziz ve ark. 1998; Bisignano ve ark., 1999; Furneri ve ark., 2002).



Şekil 4. *Oleaceae* familyasına ait bitkilerde oleuropeinin biyosentezi.

Etki mekanizması henüz tam olarak aydınlatılmamış olmakla beraber fenolik bileşiklerin, proteinleri denatüre etme yeteneğine sahip olduğu ve hücre zarı geçirgenliğini olumsuz etkilediği belirtilmektedir. Genel olarak yüzey aktif ajanlar olarak sınıflandırılan bu bileşikler antimikrobiyel aktivitelerini, hücre membranlarına zarar vererek ya da hücre peptidoglikanlarını parçalayarak; protein, inorganik fosfat, glutamat veya potasyum gibi sitoplazma bileşenlerinin sızmasına neden olarak gerçekleştirmektedirler (Juven ve ark., 1972; Furneri ve ark., 2002; Sousa ve ark., 2006). Fenolik bileşiklerin düşük konsantrasyonları enerji üretiminde görev alan enzimlerin aktivitesini etkilerken, yüksek konsantrasyonları proteinleri çöktürmektedir (Juven ve ark., 1972; Denyer ve Stewart, 1998).

Oleuropeinin *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* üzerine etkisinin incelendiği çalışmalarda, toksik etkinin Gr (+) bakteriler üzerinde Gr (-) bakterilere göre daha fazla olduğu bildirilmiştir. Bu etkinin bakterilerin hücre yapılarındaki farklılıklardan kaynaklandığı belirtilmektedir (Furneri ve ark., 2002; Pereira ve ark., 2006; Sanchez ve ark., 2007).

Fleming ve Etchells (1967), dondurulmuş yeşil zeytinden elde ettikleri etil asetat ekstraktının, laktik asit bakterilerini inhibe ettiğini tespit etmişlerdir. Araştırmacılar bu ekstraktan elde edilen ve oleuropeinin parçalanma ürünü olan aglikonun, laktik asit bakterileri üzerine oleuropeinden daha fazla inhibitör etkiye sahip olduğunu saptamışlardır.

Alkali ile muamele edilmiş, 121°C'de 15 dakika sıcaklık uygulanmış ve hiç bir işlem uygulanmamış %0.4 oleuropein içeren çözeltilerin *Lactobacillus plantarum*'a karşı bakterisit etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada sıcaklık uygulanan çözeltinin, herhangi bir işlem uygulanmayan çözeltiye göre daha güçlü bakterisit etki gösterdiği, alkali ile muamele edilen çözeltinin ise hemen hemen etkisiz olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak araştırmacılar zeytinlerin alkali ile muamele edilmesinin, hem zeytinin acılığının giderilmesinde hem de yeterli fermentasyon ürünü oluşumunda olumlu etkisinin olacağını ifade etmektedirler (Ruiz-Barba ve ark., 1991).

Araştırmacılar *Mycoplasma pneumoniae*, *M. pirum*, *M. hominis* ve *M. fermentans*'a karşı oleuropeinin etkisini *in-vitro* olarak incelemiş ve oleuropeinin bu mikroorganizmalar üzerinde etkili olduğunu saptamışlardır. Oleuropeinin bu etkisinin, yapısında bulunan *orto*-difenol grubundan kaynaklanabileceği ileri sürülmektedir (Furneri ve ark., 2002).

Winkelhausen ve ark. (2005) zeytinyağı eldesi sırasında zeytin meyvelerinin ezilmesi ve preslenmesi sonucu kalan artığın etanol ekstresinden elde edilen fenolik bileşiklerin %0.1 ve %0.2 oranlarında kullanıldığında *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea* ve *Fusarium culmorum* küflerinin gelişmesinin inhibe edildiğini belirtmişlerdir.

Zeytin meyvesinin bileşiminde yer alan fenolik bileşiklerin etil asetat ile ekstrakte edildiği diğer bir çalışmada, ekstrakttaki fenolik bileşiklerin *Bacillus cereus* T sporlarının çimlenmesini ve gelişmesini engellediği, saflaştırılmış olarak kullanılan oleuropeinin de benzer etkiyi gösterdiği tespit edilmiştir (Tassou ve ark., 1991).

ABD'de oleuropeinin mononükleoz herpes, hepatit viruslarına, rotavirüsler, bovin viruslarına, köpeklerde parvovirüsler ve kedilerde lösemi viruslarına karşı antiviral aktivite gösterdiği kanıtlanmıştır (Fredrickson, 2000). Ayrıca yapılan çalışmalarda, zeytin yaprağının sulu ekstraktından elde edilen fenolik bileşiklerin Anti-HIV özellik gösterdiği bildirilmiş olup, oleuropein ve parçalanma ürünü hidrokstriosolun ayrı ayrı ve birlikte

kullanımı ile hücre içinde ve hücre dışında virüsün hücreye girişi ve hücreye entegrasyonunun engellendiği tespit edilmiştir (Lee-Huang ve ark., 2003; Bao ve ark. 2007; Lee-Huang ve ark., 2007a; Lee-Huang ve ark., 2007b).

Zeytin yaprağından elde edilen fenolik bileşiklerin tümünün birlikte gösterdiği antimikrobiyel etki alanının, saf haldeki oleuropeinden daha geniş olduğu belirlenmiştir. Lee ve Lee (2010) zeytin yaprağının etanol ekstraktından elde ettikleri fenolik bileşikler ile ticari oleuropeinin antimikrobiyel etkisini inceledikleri çalışmalarında, oleuropeinin *Salmonella enteritidis*'e karşı güçlü bir inhibe edici etkiye sahip olduğunu ve zeytin yaprağından elde ettikleri fenolik karışımın (oleuropein, rutin, vanilin ve kaffeik asit) sinerjistik etki göstererek *Salmonella enteritidis*'e ek olarak *Bacillus cereus*'a karşı da antimikrobiyel etki gösterdiğini saptamışlardır.

Yapılan başka bir çalışmada toz haline getirilmiş zeytin yapraklarının sulu ekstraktında bulunan fenolik bileşikler, HPLC/DAD kullanarak analiz edilmiş ve antimikrobiyel özellikleri incelenmiştir. Elde edilen ekstraktın farklı konsantrasyonlarının mikroorganizmalar üzerindeki inhibe edici etkisi sırasıyla *Bacillus cereus* ~ *Candida albicans* > *Escherichia coli* > *Staphylococcus aureus* > *Cryptococcus neoformans* ~ *Klebsiella pneumoniae* ~ *Pseudomonas aeruginosa* > *Bacillus subtilis* olarak bulunmuştur (Pereira ve ark., 2007).

Sonuç

Dünyada zeytin ağacı sayısı bakımından en zengin ülkelerden biri olan Türkiye için zeytincilik sektörü, hem tarım hem de sanayi açısından büyük önem taşımaktadır. Akdeniz beslenme tarzında öne çıkan, yüksek fenolik madde içeriğine sahip zeytin ve ürünleri insan sağlığı açısından oldukça önemli bir yere sahiptir. Bu denli değerli bir ürün olan zeytinden yeni faydalanma yollarının geliştirilmesine yönelik yapılan çalışmalarda zeytin yaprağı, zengin fenolik içeriği ile önem kazanmakta olup, tıp, ilaç ve kozmetik alanında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Gıda sanayinde ise kullanım alanları ile ilgili çalışmaların devam ettiği son yıllarda, zeytin yapraklarından elde edilen çay tüketimine sunulmuştur.

Zeytin ağacının tamamında, özellikle de zeytin yapraklarında daha fazla bulunan oleuropein bileşiği, hastalıklar ve zararlılara karşı koruyucu etkisi ile zeytin ağacının dayanıklılığında oldukça önemli bir yere sahiptir. Mikroorganizmalara karşı inhibe edici etkiye sahip bu bileşik, zeytin meyvesinin olgunlaşmasıyla birlikte hidrolize olarak miktarı azalırken, zeytinin yenilebilir özellik kazanması amacıyla ise uzaklaştırılmaktadır. Doğal katkı maddesi olarak kullanımı amacıyla, yan ürün olan zeytin yapraklarının değerlendirilme imkanına sahip olması, bu durumun ülke ekonomisine sağlayacağı katkılar açısından da önemlidir.

Kaynaklar

- Amiot, M.J., A. Fleuriet and J.J. Macheix. 1986. Importance and evolution of phenolic Compounds in olive during growth and maturation. J. Agric. Food Chem. 34:823-826.
- Amiot, M.J., A. Fleuriet and J.J. Macheix. 1989. Accumulation of oleuropein derivatives during olive maturation. Phytochem. 28:67-69.

- Amiot, M.J., M. Tacchini, A. Fleuriet and J.J. Macheix. 1990. The technological debittering process of olives: characterization of fruits before and during alkaline treatment. *Sci. Aliments*. 10:619-632.
- Aziz, N.H., S.F. Farag, L.A. Mousa and M.A. Abo-Zaid. 1998. Comparative antibacterial and antifungal effects of some phenolic compounds. *Microbios*. 93:43-54.
- Bao, J., D.W. Zhang, J.Z. Zhang, P.L. Huang and S. Lee-Huang. 2007. Computational study of bindings of olive leaf extract (OLE) to HIV-1 fusion protein gp41. *F.E.B.S. Lett*. 581:2737-2742.
- Bazoti, F.N., J. Bergquist, K.E. Markides and A. Tsarbopoulos., 2006. Noncovalent interaction between amyloid- β -peptide (1-40) and oleuropein studied by electrospray ionization mass spectrometry. *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.* 17:568-75.
- Beauchamp, G.K., R.S. J. Keast, D.L.J. Morel, J. Pika, Q. Han, C. Lee, A.B. Smith and P.A.S. Breslin. 2005. Ibuprofen-like activity in extra-virgin olive oil. *Nature*. 437(7055):45-46.
- Bianco, A., R. Lo Scalzo and M.L. Scarpati. 1993. Isolation of cornoside from *Olea europaea* and its transformation into halleridone. *Phytochem*. 32:455-457.
- Bisignano, G., A. Tomaino, R. Lo Cascio, G. Crisafi, N. Uccella, and A. Saija. 1999. On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. *J. Pharm. Pharmacol.* 51:971-974.
- Bouaziz, M., H. Hammami, Z. Bouallagui, H. Jemai and S. Sayadi. 2008. Production of antioxidants from olive processing by-products. *EJEAFChe*. 7(8):3231-3236.
- Brenes, M., L. Rejano, P. Garcia, A.H. Sánchez and A. Garrido. 1995. Biochemical changes in phenolic compounds during Spanish-style green olive processing. *J. Agric. Food Chem.* 43:2702-2706.
- Brenes, M. and A. DeCastro. 1998. Transformation of oleuropein and its hydrolysis products during Spanish-style green olive processing. *J. Sci. Food Agric.* 77:353-358.
- Carluccio, M.A., L. Siculella, M.A. Ancora, M. Massaro, E. Scoditti, C. Storelli, F. Visioli, A. Distanto and R. DeCaterina. 2003. Olive oil and red wine antioxidant polyphenols inhibit endothelial activation: antiatherogenic properties of mediterranean diet phytochemicals. *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol.* 23:622-629.
- Damtoft, S., H. Franzyk and S.R. Jensen. 1992. Excelsioside, a secoiridoid glucoside from *Fraxinus excelsior*. *Phytochem*. 31:4197-4201.
- Damtoft, S., H. Franzyk and S.R. Jensen. 1995. Biosynthesis of iridoids in *Syringa* and *Fraxinus*: carbocyclic iridoid precursors. *Phytochem*. 40:785-792.
- Denyer, S.P. and G.S.A.B. Stewart. 1998. Mechanisms of action of disinfectants. *Int. Biodet. Biodeg.* 41:261-248.
- Esti, M., L. Cinquanta and E. La Notte. 1998. Phenolic compounds in different olive varieties. *J. Agric. Food Chem.* 46:32-35.
- Fleming, H.P. and J.L. Etchells. 1967. Occurrence of an inhibitor of lactic acid bacteria in green olives. *Appl. Micro.* 15(5):1178-1184.

- Fleming, H.P., W.M.J.R. Walter and Etchells J.L. 1973. Antimicrobial properties of oleuropein and products of its hydrolysis from green olives. *Appl. Micro.* 26(5):777–782.
- Fredrickson, W.R. 2000. Method and composition for antiviral therapy with olive leaves. U.S. patent. 6(117): 844.
- Furneri, P.M., A. Marino, A. Saija, N. Uccella and G. Bisignano. 2002. *In vitro* antimycoplasmal activity of oleuropein. *Int. J. Antimicrob. Age.* 20:293-296.
- Gikas, E., F.N. Bazoti and A. Tzarbopoulos. 2007. Conformation of Oleuropein, the major bioactive compound of *Olea europaea*. *J. Mol. Struct.: Theochem.* 821:125-132.
- Japon-Lujan, R., J. Luque-Rodríguez and M. Luque de Castro. 2006. Dynamic ultrasound-assisted extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. *J. Chromatogr. A.* 1108:76–82.
- Juven, B. and Y. Henis. 1970. Studies on antimicrobial activity of olive phenolic compounds. *J. Appl. Bact.* 33:721-32.
- Juven, B., Y. Henis, and B. Jacoby. 1972. Studies of the antimicrobial action of oleuropein. *J. Appl. Bact.* 35:559-567.
- Lee, O.H. and B.Y. Lee. 2010. Antioxidant and antimicrobial activities of individual and combined phenolics in *Olea europaea* leaf extract. *Bioresour. Technol.* 101(10):3751-3754.
- Lee-Huang, S., L. Zhang, P.L. Huang, Y.T. Chang and P.L. Huang. 2003. Anti-HIV activity of olive leaf extract (OLE) and modulation of host cell gene expression by HIV-1 infection and OLE treatment. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 307(4):1029-1037.
- Lee-Huang, S., P.L. Huang, D. Zhang, J.W. Lee, J. Bao, Y. Sun, Y.T. Chang, J. Zhang and P.L. Huang. 2007a. Discovery of small-molecule HIV-1 fusion and integrase inhibitors oleuropein and hydroxytyrosol: Part I. fusion [corrected] inhibition. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 354(4):872-878.
- Lee-Huang, S., P.L. Huang, D. Zhang, J.W. Lee, J. Bao, Y. Sun, Y.T. Chang, J. Zhang and P.L. Huang. 2007b. Discovery of small-molecule HIV-1 fusion and integrase inhibitors oleuropein and hydroxytyrosol. Part II. Integrase inhibition. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 354: 879–884.
- Malik, N.S.A. and J.M. Bradford. 2006. Changes in oleuropein levels during differentiation and development of floral buds in ‘Arbequina’ olives. *Scientia Hort.* 110:274-278.
- Marsillo, V. and B. Lanza. 1998. Characterisation of an oleuropein degrading strain of *Lactobacillus plantarum*. Combined effects of compounds present in olive fermenting brines (phenols, glucose and NaCl) on bacterial activity. *J. Sci. Food Agric.* 76:520-524.
- Micol, V., N. Caturla, L. Perez-Fons, V. Mas, L. Perez and A. Estepa. 2005. The olive leaf extract exhibits antiviral activity against viral haemorrhagic septicaemia rhabdovirus (VHSV). *Antivir. Res.* 66:129–136.

- Owen, R.W., A. Giacosa, W.E. Hull, R. Haubner, G. Würtele, B. Spiegelhalder and H. Bartsch. 2000. Olive oil consumption and health: the possible role of antioxidants. *Lancet. Oncol.* 21:107–112.
- Panizzi, L., M.L. Scarpati and G. Oriente. 1960. Chemical structure of oleuropein, bitter glucoside of olive with hypotensive activity. *Gazz. Chim. Ital.* 90:1449-1485.
- Pereira, J.A., A.P.G. Pereira, I.C.F.R. Ferreira, P. Valentao, P.B. Andrade, R. Seabra, L. Estevinho and A. Bento. 2006. Table olives from Portugal: phenolic compounds, antioxidant potential, and antimicrobial activity. *J. Agric. Food Chem.* 54:8425–8431.
- Pereira, A.P., I.C.R.F. Ferreira, F. Marcelino, F. Valentao, P.B. Andrade, R. Seabra, L. Estevinho, A. Bento and J.A. Pereira. 2007. Phenolic Compounds and Antimicrobial Activity of Olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) Leaves. *Molecules.* 12(5):1153-1162.
- Priego-Capote, F., R.J. Jimenez and M.D. Leaque de Castro. 2004. Fast separation and determination of phenolic compounds by capillary electrophoresis-diode array detection: Application to the characterization of alperujo after ultrasound assisted extraction. *J. Chromatogr. A.* 1045 (1-2):239-246.
- Renis, H.E. 1975. Inactivation of myxoviruses by calcium elenolate. *Antimicrob. Agents Chemother.* 8:194–199.
- Ruiz-Barba, J.L., A. Garrida-Fernandez, and R. Jimenez-Diaz 1991. Bactericidal action of oleuropein extracted from green olives against *Lactobacillus plantarum*. *Lett. Appl. Micro.* 12:65-68.
- Ryan, D., K. Robards and S. Lavee. 1999. Changes in phenolic content of olive during maturation. *Int. J. Food Sci. Technol.* 34:265–274.
- Saija, A., D. Trombetta, A. Tomaino, R. Lo Cascio, P. Princi, N.F. Uccella Bonina and F. Castelli. 1998. In-vitro evaluation of the antioxidant activity and biomembrane interaction of the plant phenols oleuropein and hydroxytyrosol. *Int. J. Pharm.* 166:123-133.
- Sanchez, J.C., M.A. Alsina, M.K. Herrlein and C. Mestres. 2007. *Interaction between the antibacterial compound, oleuropein, and model membranes.* *Colloid Polym. Sci.* 285:1351–1360.
- Soler-Rivas, C., J.C. Espin and H.J. Wichers. 2000. Oleuropein and related compounds. *J. Sci. Food Agric.* 80:1013-1023.
- Sousa, A., I.C. Ferreira, R., Calhelha, P.B. Andrade, P. Valentao, R. Seabra, L. Estevinho, A. Bento and J.A. Pereira. 2006. Phenolics and antimicrobial activity of traditional stoned table olives 'alcaparra'. *Bioorg. Med. Chem.* 14:8533-8538.
- Sudjana, A.N., C. D'Orazio, V. Ryan, N. Rasool, J. Ng, N. Islam, T.V. and K.A. Hammer. 2009. Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract. *Int. J. Antimicrob. Age.* 33(5):461-463.
- Tassou, C.C., G.J.E. Nychas and R.G. Board. 1991. Effects of phenolic compounds and oleuropein on the germination of *Bacillus cereus* T spores. *Biotechnol. Appl. Biochem.* 13(2):231-237.

- Tassou, C.C. and G.J. Nychas. 1995. Inhibition of *Salmonella enteritidis* by oleuropein in broth and in a model food system. *Lett. Appl. Microbiol.* 20:120-124.
- Tokuşoğlu Ö. 2010. Özel Meyve Zeytin: Kimyası, Kalite ve Teknolojisi. Seher Matbaacılık.Yayın No: 006-1B; Sidas Medya Ltd. Şti., Fevzipaşa Bulvarı Çelik İş Merkezi-İzmir. 350 s.
- Tripoli, E., M. Giammanco, G. Tabacchi, D. Di Majo, S. Giammanco and M. La Guardia. 2005. The phenolic composition of olive oil: structure, biological activity, and beneficial effects on human health. *Nutr. Res. Rev.* 18:98–112.
- Tuck, K.L. and P.J. Hayball. 2002. Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects. *J. Nut. Biochem.* 13:636-644.
- Visioli, F., G. Bellomo, G. Montedoro and C. Galli. 1995. Low density lipoprotein oxidation is inhibited in vitro by olive oil constituents. *Atherosclerosis.* 117(1):25-32.
- Visioli, F., S. Bellosta, and C. Galli. 1998. Oleuropein, the bitter principles of olives, enhances nitric oxide production by mouse macrophages. *Life Sci.* 62:541–546.
- Visioli, F., A. Poli and C. Galli, 2002. Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *Med. Res. Rev.* 22:65–75.
- Winkelhausen, E. R. Pospiech and G. Laufenberg. 2005. Antifungal activity of phenolic compounds extracted from dried olive pomace. *Bull. Chem. Techn. Macedonia.* 24(1):41-46.