

VERSIÓN 10 – EDICIÓN JUNIO 2021  
El contenido de este manual es actualizado continuamente.

# MANUAL DE INVESTIGACIÓN MÉDICA

**CONFIDENCIAL**

 **ORISOD ENZYME®**

Mejora el complejo de enzimas antioxidantes endógenas



SH/RH-2317

**sanki mayor®**  
IN-VIVO INNOVATIONS LTD.

Kanaya Bldg 5F, 4-11-3 Hatchobori  
Chuo-ku, Tokyo 104-0032 JAPAN.  
[www.sanki-mayor.com](http://www.sanki-mayor.com)  
[development@sanki-mayor.com](mailto:development@sanki-mayor.com)

<b>TÍTULO</b>	<b>ORISOD®, Reporte de investigación médica.</b>
<b>PATROCINADOR</b>	SANKI MAYOR – Kanaya Bldg 5F, 4-11-3 Hatchobori, Chuo-Ku, Tokyo, JAPAN.
<b>LABORATORIO</b>	MEDICA TOKYO CO. LTD-20-1, 3 Chome Nishi-Shinjuku-ku Tokyo, JAPAN.
<b>INVESTIGADOR ESPECIALIZADO</b>	Dr. Yuki Ikeda
<b>PRODUCTO</b>	ORISOD®
<b>TECNOLOGÍA</b>	Tecnología de fermentación japonesa
<b>COMPUESTOS</b>	Extracto de hoja de Rosmarinus Officinalis, extracto de fruta y semilla de Olea Europaea L.

# TABLA DE CONTENIDO

ENSAYOS CLÍNICOS Y PRUEBAS .....	5
1. INTRODUCCIÓN .....	6
1.1 La ciencia de Orisod Enzyme® .....	6
1.2 Compuestos .....	7
1.2.1 Fruto y hojas de livo .....	7
1.2.2 Hojas de romero .....	8
1.2.3 Metabolitos generados por fermentación .....	9
2. COMPUESTOS BIOACTIVOS .....	9
2.1 Frutos del olivo y hojas .....	9
2.1.1 Oleuropeína .....	9
2.1.2 Oleaceína .....	10
2.1.3 Tocoferol .....	11
2.1.4 Hidroxitirosol .....	12
2.2 Hojas de romero .....	12
2.2.1 Ácido carnósico y carnosol .....	12
2.2.2 Ácido rosmarínico .....	14
2.2.3 Contenido flavanoide .....	15
3. MECANISMOS DE ACCIÓN .....	15
3.1 Efecto antioxidante .....	15
3.2 Enzimas aldh y producción de energía en mitocondria .....	17
3.3 Detoxificación del hígado .....	18
3.4 Biogénesis mitocondrial: activación de nrf2 .....	20
3.5 Metabolitos de aminoácidos .....	22
3.5.1 L-Glutamina .....	22
3.5.2 Serina .....	24
3.5.3 Metionina .....	25
3.6 Antimelanoma .....	25
3.6.1 Orisod mata específicamente las células cancerosas .....	26
3.6.2 Orisod restringe la generación de energía mitocondrial en las células cancerosas .....	26
3.7 Antidiabético .....	26
3.8 Antiinflamación .....	26
3.9 Colitis ulcerosa .....	27
3.10 Neuroprotección .....	27
3.11 Microbiota intestinal .....	28
3.12 Expresión mirna .....	28
3.13 Protección de los telómeros .....	29
4. ADS®: ADVANCED DELIVERY SYSTEM (SISTEMA DE LIBERACIÓN CONTROLADO) .....	30
4.1 Entrega controlada de compuestos bioactivos .....	31
4.2 Localización de ads® en el sistema celular .....	32

5. ENSAYOS CLÍNICOS .....	34
5.1 Capacidad antioxidante .....	34
5.1.1 Evaluar la actividad antioxidante de Orisod Enzyme® (prueba tbars) .....	34
5.1.2 Orisod Enzyme®, complejo potenciador de Enzimas antioxidantes endógenas .....	36
5.2 Fibroblastos y queratinocitos .....	41
5.2.1 Fibroblastos y queratonocitos por toxicidad De superóxido .....	41
5.2.2 Efectos de Orisod Enzyme® en la viabilidad de Fibroblastos y queratinocitos .....	43
5.3 Detección de daño en el adn .....	44
5.4 Evaluar la eficacia de Orisod Enzyme® en la reducción del daño del ADN .....	44
5.5 Acción antiinflamatoria .....	48
5.5.1 Actividad antiinflamatoria de los suplementos de ORISOD® durante el ejercicio crónico .....	48
6. CONCLUSIONES .....	52

# ENSAYOS Y PRUEBAS CLÍNICAS

## LABORATORIOS MÉDICA TOKIO

20-1, 3 Chome Nishi-Shinjuku Shinjuku-ku, Tokyo, JAPAN.

Director: Dr. Taro Hirata

## LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN ALIMENTARIA DE JAPÓN

52-1 Motoyoyogi-cho Shibuya-ku

Tokyo 151-0062 JAPAN.

## INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR

Universidad Miguel Hernández,

03202 Elche (Alicante) Spain.

## CERN - CENTRO DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN EN NUTRICIÓN

Centre Hospitalier de Bretagne Sud BP2233 56322 Lorient Cedex France.

Gestionado por: Dr. Bernard Schmitt

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 LA CIENCIA DE ORISOD ENZYME®

**ORISOD Enzyme®** es un ingrediente fermentado formulado para mejorar el estado antioxidante del cuerpo y prevenir enfermedades relacionadas con el envejecimiento. Su fórmula combina una mezcla de bioactivos de dos plantas mediterráneas comestibles: olivo y romero.

El complejo se fermenta utilizando una tecnología ecológica basada en fermentos vegetales. Esta fermentación ofrece un bioactivo altamente efectivo en comparación con el extracto crudo.

### **Dieta mediterránea**

El interés en los beneficios para la salud de la dieta mediterránea ha aumentado enormemente, debido a su vínculo con una mayor longevidad y una menor tasa de enfermedad cardiovascular, cáncer y diabetes tipo 2.

El proyecto Orisod fue desarrollado al considerar tres factores importantes:

- **Seguridad**

La seguridad del producto es una prioridad y **ORISOD Enzyme®** se desarrolló con los ingredientes hojas de olivo y romero que son 100% de origen vegetal, cultivadas en granjas con estricto control de calidad. Las pruebas farmacéuticas se realizan para que todos nuestros productos elijan la eficacia óptima y tengan siempre la seguridad bajo control.

- **Biodisponibilidad**

La biodisponibilidad es un paso clave para garantizar la eficacia de los compuestos bioactivos. A veces, los bioactivos se absorben poco del intestino, se metabolizan mucho o se eliminan rápidamente. **ORISOD Enzyme®** utiliza la tecnología ADS (Advanced Delivery System) Sistema de Liberación controlado, que ayuda a entregar los activos al objetivo investigado. Los ingredientes se conducen directamente al sitio donde son realmente efectivos en el cuerpo: el interior de las células y las mitocondrias.

- **Eficacia**

Los extractos **ORISOD Enzyme®** se mezclan de una manera innovadora que mantiene la estabilidad y ofrece mejores resultados a largo plazo.

El complejo rico en metabolitos, obtenido después del proceso de fermentación, mejora la eficacia de las enzimas endógenas a nivel celular (SOD, Catalasa y GPx) y reduce la peroxidación lipídica, apoya la energía cerebral y la detoxificación del hígado.

## 1.2 COMPUESTOS

La eficacia del producto en el efecto deseado se centra en los ingredientes activos de la fórmula:

Ingredientes	Sustancias activas
Extracto del fruto del olivo	Oleuropeína Oleaceína Tocoferoles Hidroxitirosol
Extracto de hojas de romero	Ácido carnósico y carnosol Ácido rosmarinico

*Características del ingrediente alimentario ORISOD Enzyme®.*

### 1.2.1 FRUTO Y HOJAS DE OLIVO

La aceituna (*Olea europaea*) contiene varios compuestos potencialmente bioactivos que pueden tener varias propiedades benéficas para la salud. Los fenoles principales son los secoiridoides como la oleuropeína y la demetiloleuropeína, los glucósidos fenólicos como el ligstrosido y los derivados del ácido hidroxicinámico como el verbascosido. Durante los procesos de trituración y malaxado, la oleuropeína y la demetiloleuropeína son hidrolizadas por  $\beta$ -glucosidasas endógenas a 3,4-DHPEA-EDA y 3,4-DHPEA-EA. Los estudios demostraron que, durante el triturado y la malaxación en el sistema de extracción a escala industrial, solo el 0.3% -1.5% de los fenoles disponibles en la fruta se transfirieron al aceite, mientras que el resto terminó en desechos. Estas sustancias recién formadas son los secoiridoides más abundantes en el aceite de oliva. Por su parte, otro estudio a escala de laboratorio encontró que el 0,53% de los componentes de ácido fenólico terminaron en el aceite de oliva.

Los extractos de agua de la aceituna contienen mayores cantidades de compuestos fenólicos, como ácido clorogénico, ácido homovanílico, ácido gálico, hidroxitirosol, quercetina y ácido siríngico.

Los estudios han demostrado que estos componentes ejercen una gama de propiedades antioxidantes, antihipertensivas, antiinflamatorias, hipoglucemiantes e hipocolesterolémicas.

El contenido de ácido fenólico de la aceituna es muy amplio, su extracto acuoso se compone de varias moléculas fenólicas, como el ácido cafeoilincínico, ácido gálico, ácido clorogénico, ácido homovanílico, hidroxitirosol, quercetina, ácido sirínico, ácido ferúlico, rutina y oleosido.

## 1.2.2 HOJAS DE ROMERO

El romero (*Rosmarinus officinalis*, Lamiaceae) es una hierba tipo arbusto que crece en forma silvestre en la cuenca mediterránea. Hoy en día, esta planta se cultiva en todo el mundo debido a sus diversos usos como una especia culinaria doméstica común para dar sabor. Los extractos de romero se han utilizado ampliamente como conservadores en la industria alimentaria debido a su alta actividad antioxidante inherente, además el romero se ha utilizado como hierba medicinal durante siglos, debido a actividades importantes contra muchas enfermedades. Las propiedades biológicas de esta planta, se han atribuido como hepatoprotectora, antimicrobiana, antitrombótica, diurética, antidiabética, antiinflamatoria, antioxidante y anticancerígena. Sus componentes aislados muestran efectos inhibitorios sobre el crecimiento de las células cancerosas de mama, hígado, próstata, pulmón y leucemia.

Estas potentes actividades biológicas se han atribuido a la presencia de muchos compuestos bioactivos en su composición. Las principales familias encontradas en el romero son los diterpenos fenólicos que incluyen: ácido carnósico, carnosol o rosmanol; flavonoides tales como genkwanina, cirsimaritina u homoplantaginina; y triterpenos como el ácido ursólico.

Un tipo de compuesto presente en esta matriz que actualmente recibe mucha atención son los diterpenos fenólicos debido a una variedad de propiedades promotoras de la salud, como las propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias, neuroprotectoras, antioxidantes y anticancerígenas. En particular, el ácido carnósico y el carnosol son dos de los principales compuestos antioxidantes presentes en esta hierba, de los que se ha informado que tienen amplias propiedades anticancerígenas en varios modelos de líneas celulares.

Otro grupo de metabolitos prometedores de plantas secundarias que se encuentran en el romero son los triterpenos, que presentan una marcada bioactividad, especialmente para tratar el cáncer mediante varios modos de acción, entre otras funciones. En la última década, muchos estudios han demostrado otros efectos que justifican esta expectativa. En este sentido, deben destacarse compuestos como los ácidos oleanólico, betulínico y ursólico, que son triterpenoides pentacíclicos con propiedades anticancerígenas, antihiperlipémicas, hepatoprotectoras y antiinflamatorias.

Los compuestos bioactivos como los flavonoides, los diterpenos fenólicos y los triterpenos de origen vegetal se han extraído tradicionalmente mediante una extracción convencional sólido-líquido (LES). Sin embargo, esta técnica de extracción presenta varias desventajas, principalmente porque es un proceso arduo que requiere mucho tiempo, requiere un alto consumo de solventes y, en algunos casos, proporciona una baja recuperación.

Por esa razón, en los últimos años, están surgiendo nuevos métodos de extracción prometedores que introducen alguna forma de energía adicional para facilitar la transferencia de solutos de la muestra al solvente en un proceso más rápido.

Por lo tanto, el romero representa una fuente excepcionalmente rica de diferentes compuestos bioactivos. Entre estos, el ácido carnósico (CA) (un compuesto de diterpeno fenólico) y el carnosol son los constituyentes antioxidantes más potentes (aproximadamente el 90% de la actividad antioxidante).

Los niveles más altos de flavonoides y triterpenoides son otros compuestos como carnosol, rosmaridifenol, rosmadial, ácido rosmarínico y ácido carnósico; así como antioxidantes naturales para la conservación de alimentos.

### 1.2.3 GLICINA

Para aumentar la eficacia y la biodisponibilidad, nuestros científicos han desarrollado un sistema de fermentación que produce metabolitos emitidos por las aceitunas y las hojas de romero. Los metabolitos, obtenidos después del proceso de fermentación, mejoran la eficacia de las enzimas antioxidantes endógenas en el cuerpo. Son la primera línea del sistema de defensa intracelular antirradicales contra la producción de radicales libres.

El complejo contiene cientos de varios metabolitos y oligoelementos. Los principales aminoácidos presentes son:

La **L-glutamina**, uno de los 20 aminoácidos en el cuerpo que está codificado por el código genético estándar, es el aminoácido más abundante en el cuerpo.

La **serina**, un aminoácido derivado del aminoácido glicina, sale en forma de L-serina y serina, y es importante para la buena salud general, tanto física como mental.

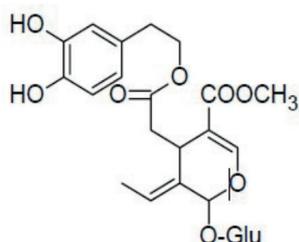
La **metionina**, un aminoácido a base de proteínas que ayuda con la función metabólica, descompone las grasas y es la principal fuente de azufre en el cuerpo.

## 2. COMPUESTOS BIOACTIVOS

### 2.1 FRUTOS DEL OLIVO Y HOJAS

#### 2.1.1 OLEUROPEINA

La oleuropeína es el principal componente fenólico del olivo (*Olea europaea*) y está presente en las diferentes partes del olivo: frutos, hojas y corteza. Es el polifenol más abundante y el éster del ácido elenoico con 3,4'-dihidroxifeniletanol (hidroxitirosol). Este metabolito secundario es responsable del característico sabor amargo y picante del aceite de oliva.



#### Estructura química de la oleuropeína

Fórmula molecular:  $C_{25}H_{32}O_{13}$

Peso molecular: 540.51 g/mol

Número de registro CAS: 32619-42-4

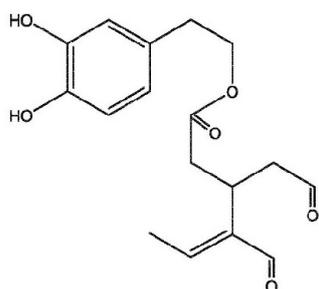
La oleuropeína está representada por la estructura química de la izquierda

La oleuropeína tiene potentes efectos antibacterianos y antivirales, ha demostrado ser útil en casos de infecciones por hongos y levaduras, herpes, fatiga crónica, alergias, psoriasis y muchos otros patógenos. Además, se ha demostrado que reduce el azúcar en la sangre, normaliza las arritmias, inhibe la oxidación de LDL (el colesterol malo) y relaja las paredes arteriales, lo que ayuda a reducir la presión arterial. Otros beneficios son que aumenta la energía y ayuda a aumentar la respuesta inmune del cuerpo.

## 2.1.2 OLEACEÍNA

Se ha demostrado que la oleaceína (forma dialdehídica del ácido descarboximetil elenólico unido al hidroxitirosol; 3,4-DHPEA- EDA), posee actividad antioxidante y antiinflamatoria. Un compuesto biológicamente activo como el secoiridoide es la oleaceína, derivada estructuralmente de un glucósido oleuropeína, que es un compuesto predominante de la aceituna (*Olea europaea* L). Sus cambios estructurales se ven fuertemente afectados por las condiciones de extracción utilizadas durante el procesamiento, como la trituración de la aceituna y malaxación del aceite de oliva. La oleaceína inhibe la actividad de las enzimas involucradas en la hipertensión, como la enzima convertidora de angiotensina (ACE) y la peptidasa neutra (NEP). La mayor parte del enfoque está en los efectos biológicos vinculados a la actividad antioxidante.

La oleaceína previene el daño del ADN inducido por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en monocitos. También inhibe la producción de ROS y reduce la liberación de mieloperoxidasa por los neutrófilos humanos que constituyen los mediadores proinflamatorios del reservorio que extienden el daño tisular en la patogénesis de la aterosclerosis. Además, la oleaceína previene el aumento de la expresión de CD 11b/18 en los neutrófilos de la superficie e inhibe la expresión de moléculas de adhesión en la superficie de los neutrófilos, así como también inhibe la expresión de moléculas de adhesión de VCAM-1, ICAM-1 y selectina, por lo tanto, disminuye la adhesión de monocitos a HUVEC.



### Estructura química de la oleaceina

Fórmula molecular: C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub>

Peso molecular: 320.339 g/mol

Número de registro CAS: 149183-75-5

La oleaceína está representada por la estructura química de la izquierda.

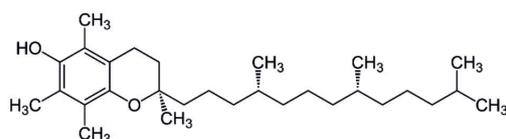
También se observó que la oleaceina protege las células progenitoras endoteliales (EPC) contra los efectos patogénicos de la angiotensina II (Ang II) mediante el aumento de la expresión de HO-1 y restablece la capacidad de EPC de la neovascularización y la angiogénesis.

La oleaceina aumenta la actividad antiinflamatoria de los complejos de hemoglobina con haptoglobina 1-1 y 2-2, y podría desempeñar un papel potencial en la prevención de enfermedades inflamatorias relacionadas con la aterosclerosis.

## 2.1.3 TOCOFEROL

Los productos del olivo son elementos esenciales de la dieta mediterránea. La aceituna está altamente enriquecida en antioxidantes como la vitamina E, carotenoides y compuestos fenólicos, los cuales proporcionan varios beneficios para la salud y reducen el riesgo de enfermedades crónicas. A pesar de su tamaño de fruta relativamente pequeño, "Koroneiki" representa aproximadamente el 60% del área total de cultivo de aceitunas en Grecia debido a su alto rendimiento de aceite de oliva de alta calidad.

Las fases de desarrollo del olivo en el árbol se pueden distinguir en cinco etapas interrelacionadas. La primera se refiere a la floración, fertilización y fructificación. Durante esta fase, se produce una rápida división celular temprana, lo que mejora el desarrollo embrionario. La segunda etapa se refiere al crecimiento de la semilla, que incluye una división celular intensa, lo que resulta en el desarrollo del endocarpio (semilla/hoyo) y en el ligero crecimiento del mesocarpio (carne). El endurecimiento de la semilla / hoyo ocurre durante la tercera etapa, mientras que, durante la cuarta etapa, el mesocarpio se desarrolla y las células de carne preexistentes se expanden y se acumula aceite. La maduración es la quinta etapa, cuando la fruta cambia de color verde oscuro a verde claro/púrpura y se inicia el proceso de ablandamiento.



### Estructura química del $\alpha$ -tocopherol

Fórmula molecular:  $C_{29}H_{50}O_2$

Peso molecular: 430.71 g/mol

Número de registro CAS: 10191-41-0

El alfa-tocoferol está representado por la estructura química de la izquierda.

Los tococromanos se componen de ocho formas que se dividen en dos grupos con cuatro formas cada uno, a saber,  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - y  $\delta$ -tocoferoles y tocotrienoles, respectivamente.

Las frutas de olivo han aumentado las cantidades de todos los tocoferoles y  $\gamma$ -tocotrienol hasta 22 WAF (comienzo del cambio de color) en comparación con los WAF posteriores, correlacionando con el perfil de expresión de VTE5 que podría proponerse como un gen marcador para los análisis de vitamina E. El alfatocoferol predominante es el tococromanol, similar a otras especies de plantas. La investigación adicional sobre las actividades de la enzima biosintética de la vitamina E y la abundancia de proteínas, podría proporcionar evidencia bioquímica valiosa hacia el mapeo completo de la ruta biosintética de esta vitamina en el fruto del olivo.

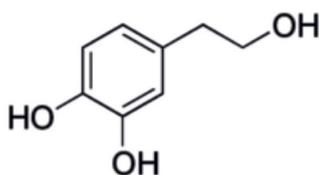
Los tocoferoles y los tocotrienoles son bien conocidos como compuestos bioactivos lipofílicos. Se ha informado que los tocotrienoles ejercen un efecto protector contra el cáncer, la diabetes y las enfermedades cardiovasculares y neurológicas. Además, los tococromanos se consideran poderosos antioxidantes naturales, más potentes que los tocoferoles debido a la presencia de dobles enlaces conjugados en la cadena lateral hidrofóbica. La evidencia adicional también respalda que los tocotrienoles ya que son antioxidantes, mantienen el sistema cardiovascular y protegen contra el cáncer y otras enfermedades. La literatura existente muestra que el  $\alpha$ -tocoferol es el más

abundante en el fruto del olivo, alcanzando una concentración máxima de ~89% del contenido total de tocoferol dependiendo del cultivo y la etapa de desarrollo, mientras que otros tocoferoles en cultivares de olivo alcanzan una concentración máxima ~ 14% para el  $\beta$ -tocoferol, ~ 42% para  $\gamma$ -tocoferol y ~26% para  $\delta$ -tocoferol. Los tococromanos se sintetizan solo por organismos fotosintéticos y son potentes antioxidantes con un efecto eliminador directo sobre las especies celulares de oxígeno reactivo.

## 2.1.4 HIDROXITIROSOL

El hidroxitirosol (3, 4-dihidroxifeniletanol; DOPET) es un fitoquímico con propiedades antioxidantes, es responsable, junto con otros compuestos fenólicos como la oleuropeína, del sabor amargo de la aceituna.

### Estructura química hidroxitirosol



Fórmula molecular:  $C_8H_{10}O_3$

Peso molecular: 154.16 g/mol

Número de registro CAS: 10597-60-1

El hidroxitirosol está representado por la estructura química de la izquierda.

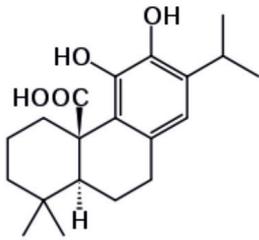
El hidroxitirosol tiene una serie de beneficios para la salud en los seres humanos, que son la lucha contra los radicales libres dañinos gracias a su acción como potente inhibidor de la oxidación inducida por metales de la lipoproteína de baja densidad. La oxidación independiente del metal también es significativamente retardada por el hidroxitirosol. Las actividades antioxidantes del hidroxitirosol son más eficaces que BHT o vitamina E, aún más mediante el uso de radicales libres estables como DPPH. Además disminuye el riesgo de cáncer, diabetes y ralentiza el proceso de envejecimiento.

También actúa reduciendo el riesgo de cáncer, de diabetes y ralentizando el proceso de envejecimiento. Además, actúa como antibacteriano y puede fortalecer el sistema inmune. El perfil de seguridad del hidroxitirosol parece ser excelente ya que no se han demostrado efectos adversos incluso a dosis muy altas.

## 2.2 HOJAS DE ROMERO

### 2.2.1 ÁCIDO CARNÓSICO Y CARNOSOL

El extracto de hojas de romero es muy abundante en los componentes bioactivos, el ácido carnósico produce aproximadamente 4-10% de bioactivos en el romero. También contienen varios compuestos que han demostrado presentar funciones antioxidantes.



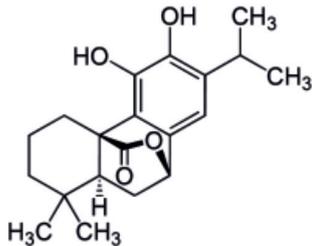
#### Estructura química del ácido carnósico

Fórmula molecular:  $C_{20}H_{28}O_4$

Peso molecular: 332.42 g/mol

Número de registro CAS: 3650-09-7

El ácido carnósico está representado por la estructura química de la izquierda.



#### Estructura química del carnosol

Fórmula molecular:  $C_{20}H_{26}O_4$

Peso molecular: 330.42 g/mol

Número de registro CAS: 5957-80-2

El carnosol está representado por la estructura química de la izquierda.

Estos compuestos pertenecen principalmente a las clases de ácidos fenólicos, flavonoides, diterpenoides y triterpenos. Los principales componentes antioxidantes de los extractos son los diterpenos fenólicos carnosol y ácido carnósico. El ácido carnósico es un diterpeno fenólico con una fórmula  $C_{20}H_{28}O_4$ , pertenece a la clase más grande de más de 50,000 metabolitos secundarios de plantas denominados terpenoides, también conocidos como isoprenoides o terpenos. Debido a que el ácido carnósico contiene un grupo fenólico, a menudo se clasifica entre los polifenoles. Su distribución celular, vía biosintética, propiedades de solubilidad y funciones, difieren sustancialmente de la mayoría de las clases polifenólicas y se parecen bastante a los terpenoides como los tocoferoles y los carotenoides.

A pesar del gran interés que esta molécula ha recibido para aplicaciones industriales, sorprendentemente se han realizado pocos estudios sobre su biología. El ácido carnósico se distribuye principalmente en las partes aéreas, una pista sobre su papel propuesto en el tejido de las hojas, sépalos y pétalos de las plantas de romero.

Las condiciones ambientales también tienen un gran impacto en la abundancia de ácido carnósico. Sus concentraciones disminuyeron a altas temperaturas y bajas tasas de precipitación en paralelo con la caída del contenido relativo de agua (RWC) en la planta. Se demostró que la disponibilidad de nutrientes influye significativamente en la abundancia de ácido carnósico. Por su parte, el estrés salino generado por los altos niveles de  $Na^+$ , redujo el contenido de ácido carnósico en las hojas, mientras que la adición de  $K^+$  y  $Ca^{2+}$  condujo a la acumulación de hojas de ácido carnósico.

Se ha demostrado que los extractos de romero, ricos en ácido carnósico, tienen actividad antimicrobiana, la estructura lipofílica del ácido carnósico y de compuestos similares les permite insertarse en la membrana bacteriana, donde sus grupos donantes de enlaces de hidrógeno interactúan con grupos fosforilados de membrana. El ácido carnósico actúa como un modulador del flujo de bromuro de etidio que es responsable de la permeabilidad de la membrana.

El ácido carnósico y el carnosol son moléculas antioxidantes clave presentes en el romero. Las propiedades antioxidantes del ácido carnósico se han traducido en actividad fotoprotectora contra la oxidación de los rayos UVA en los fibroblastos dérmicos humanos, lo que indica su posible uso para la aplicación dérmica. Con base a la actividad antioxidante, el ácido carnósico y el carnosol son activos en la reducción del citocromo C y en la proyección de la proteína  $\alpha$ 1-antiproteínasa contra la inactivación. Se asignaron propiedades anticancerígenas al ácido carnósico y exhibe propiedades quimioprotectoras, antiproliferativas, antiangiogénicas y antitumorales.

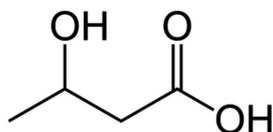
El ácido carnósico exhibe características antiinflamatorias en suplementos para la salud y en cosméticos, ya que suprime las interleucinas, bloquea la liberación de óxido nítrico y la vía Src del protooncogen de la proteína tirosina quinasa. También se informó que los extractos de plantas que contienen ácido carnósico tienen propiedades antiadipogénicas que permiten la pérdida de peso, y demostraron ser eficientes en el tratamiento de la hiperglucemia. El ácido carnósico es un potente antienvjecimiento, previene la alteración oxidativa de los lípidos de la superficie de la piel mediante el mecanismo de biofilaxis. El cuidado de la salud bucal es otra aplicación cosmética, estudios in vitro han demostrado que protege eficazmente contra los microorganismos cariogénicos típicos.

Las actividades mencionadas anteriormente, fueron validadas por varios estudios in vivo. La biodisponibilidad del ácido carnósico fue demostrada por Doolaege et al. y Jordán et al. Los investigadores de Thyese informaron que el ácido carnósico se asimiló en el tejido muscular y permaneció en el sistema circulatorio durante varias horas.

## 2.2.2 ÁCIDO ROSMARÍNICO

El ácido rosmarínico es un ácido carboxílico antioxidante fenol natural y un compuesto fundamental de *Rosmarinus officinalis*. Químicamente, el ácido rosmarínico es un éster de ácido cafeico con ácido 3,4-dihidroxifenil láctico.

### Estructura química del ácido rosmarínico



Fórmula molecular:  $C_{18}H_{16}O_8$

Peso molecular: 360.31 g/mol

Número de registro CAS: 20283-92-5

El ácido rosmarínico está representado por la estructura química de la izquierda.

La biosíntesis del ácido rosmarínico comienza con los aminoácidos l-fenilalanina y l-tirosina. Las ocho enzimas involucradas en la biosíntesis son conocidas, caracterizadas y se han aislado los ADNc de varios de los genes involucrados.

El ácido rosmarínico tiene una serie de actividades biológicas interesantes: antimicrobianas, antiinflamatorias y antioxidantes. Las propiedades antiinflamatorias se basan en la inhibición de la lipoxigenasa y las ciclooxigenasas, y en la interferencia con la expresión de citocinas inflamatorias. Éste ácido rosmarínico también tiene propiedades antioxidantes y puede actuar como eliminador de radicales libres en los sistemas biológicos.

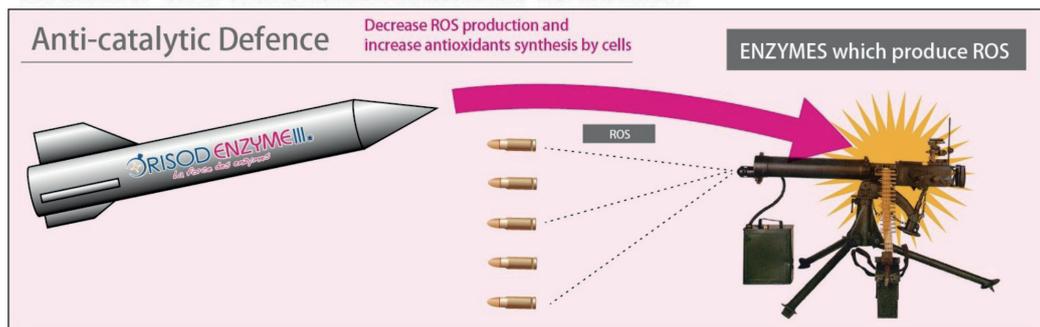
## 2.2.3 CONTENIDO FLAVANOIDE

El contenido de flavonoides de las hojas de romero es abundante y altamente benéfico. Veinticuatro flavonoides, pertenecientes a tres subclases de flavonoides (flavonas, flavonoles y flavanones), fueron identificados provisionalmente. Sus flavonas fueron el grupo principal de flavonoides en el extracto de romero, con 17 compuestos identificados. Nueve de estos eran formas conjugadas (principalmente glicosiladas) de luteolina, apigenina (8 y 25), hispidulina y un dihidroxi-dimetoxifluona. También se detectó un gran número de agliconas de flavona con diferentes patrones de hidroxilación y/o metilación.

# 3. MECANISMOS DE ACCIÓN

En lugar de los antioxidantes clásicos como las vitaminas, los mecanismos de **ORISOD Enzyme®** consisten en mejorar las enzimas endógenas, que son más efectivas y más rápidas para aumentar el estado de los antioxidantes corporales.

### ORISOD ENZYME Mechanism of action



### CLASSIC ANTIOXIDANTS



©sankimayer TOKYO

## 3.1 EFECTO ANTIOXIDANTE

Uno de los beneficios para la salud más reconocido por los científicos sobre la aceituna y el romero es el efecto antioxidante. La aceituna tiene propiedades antioxidantes asociadas con oleuropeína, hidroxitirosol y extractos de *Olea europaea* (que contiene 19% de oleuropeína, 1,8% de glucósidos flavonoides y 3,4-dihidroxifenilésteres). El romero tiene propiedades antioxidantes asociadas con el ácido carnósico y el carnosol. Estas moléculas bioactivas, especialmente los compuestos fenólicos, modulan el estado Redox de la célula y ayudan a las células a combatir el estrés oxidativo inducido por varios mediadores inflamatorios.

## Radicales libres y ROS

Un radical libre es un átomo, molécula o compuesto altamente inestable debido a su estructura atómica o molecular. Como resultado, los radicales libres son muy reactivos, ya que intentan emparejarse con otras moléculas, átomos o incluso electrones individuales para crear un compuesto estable. Para lograr un estado más estable, los radicales libres pueden "robar" un átomo de hidrógeno de otra molécula, unirse a otra molécula o interactuar de varias maneras con otros radicales libres.

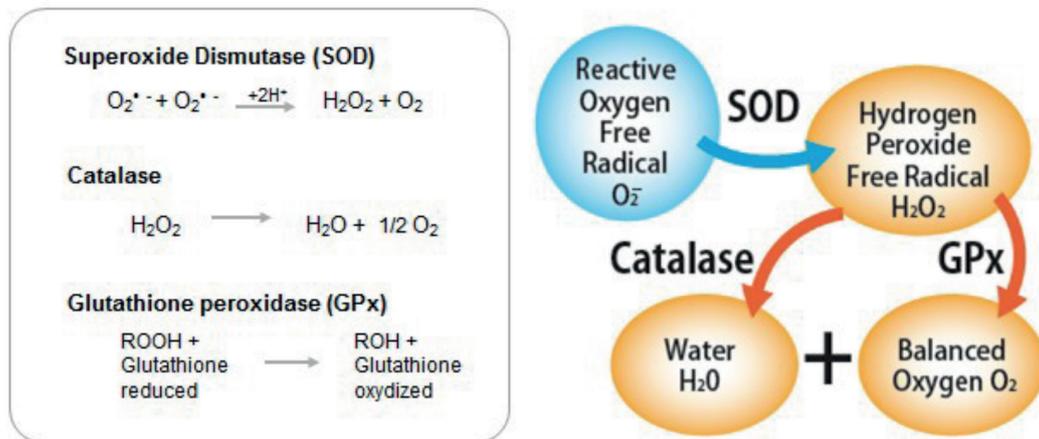
Un elemento químico frecuentemente involucrado en la formación de radicales libres es el oxígeno. El oxígeno molecular ( $O_2$ ) es esencial para la función celular porque desempeña un papel fundamental en una serie de reacciones bioquímicas que ocurren en la cadena respiratoria, que es responsable de la mayor parte de la producción de Trifosfato de Adenosina (ATP), el cual proporciona la energía necesaria para una multitud de reacciones y funciones celulares.

El oxígeno molecular puede aceptar un total de cuatro electrones, uno a la vez, y el número correspondiente de protones para generar dos moléculas de agua. Durante este proceso, se forman sucesivamente diferentes radicales de oxígeno como productos intermedios, incluido el superóxido ( $O_2^-$ ); peróxido ( $O_2$ ), que normalmente existe en las células como peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ); y el radical hidroxilo ( $OH$ ). El superóxido, el peróxido y el radical hidroxilo se consideran los ROS principales y han provocado importantes investigaciones sobre el papel de los radicales libres en la biología y la medicina. Sin embargo, debido a que son inestables y reaccionan rápidamente con electrones y protones adicionales, la mayoría de estos ROS se convierten en agua antes de que puedan dañar las células. Se ha estimado que solo alrededor del 2 al 3% del  $O_2$  consumido por la cadena respiratoria se convierte en ROS, sin embargo, los efectos tóxicos del oxígeno en los sistemas biológicos, como la descomposición de los lípidos, la inactivación de las enzimas, la introducción de cambios en el ADN, la destrucción de las membranas celulares y las células, son atribuibles a la reducción de  $O_2$  a ROS.

## Estrés oxidativo

Debido a que los ROS se forman naturalmente durante muchos procesos metabólicos, las células han desarrollado varios mecanismos de protección para prevenir la formación de ROS o para desintoxicar el ROS. Estos mecanismos emplean moléculas llamadas antioxidantes. Bajo ciertas condiciones, se aumenta la producción de ROS y/o se reduce el nivel o la actividad de los antioxidantes. El estado resultante que se caracteriza por una alteración en el equilibrio entre la producción de ROS, y la eliminación y reparación de las moléculas complejas dañadas, como proteínas o ADN, se llama estrés oxidativo.

En los humanos, el estrés oxidativo está involucrado en muchas enfermedades, como la aterosclerosis, la enfermedad de Parkinson, la insuficiencia cardíaca, el infarto de miocardio, la enfermedad de Alzheimer y el síndrome de fatiga crónica, pero el estrés oxidativo a corto plazo también puede ser importante en la prevención del envejecimiento mediante la inducción de un proceso llamado mitohormesis. Las Especies Reactivas de Oxígeno pueden ser beneficiosas, ya que son utilizadas por el sistema inmune como una forma de atacar y matar a los patógenos.



*Antioxidante para combatir el estrés oxidativo.*

Se necesitan cantidades adecuadas de antioxidantes para combatir los radicales libres dañinos y el estrés oxidativo.

**ORISOD Enzyme®** mejora la actividad de dos enzimas antioxidantes endógenas principales: SOD y GPx, y mejora la defensa antioxidante. Además, **ORISOD Enzyme®** disminuye significativamente el nivel de peroxidación lipídica y los niveles de oxLDL, lo que también muestra una menor formación de radicales libres. **ORISOD Enzyme®** suministra el radical libre con reemplazo para los electrones faltantes

## 3.2 ENZIMAS ALDH Y PRODUCCIÓN DE ENERGÍA EN MITOCONDRIA

Las aldehído deshidrogenasas (ALDH) son enzimas importantes que eliminan los aldehídos tóxicos al catalizar su oxidación a ácidos no reactivos. ALDH2 se expresa abundantemente en el hígado y pulmones, y también está presente en órganos que requieren una alta capacidad mitocondrial para la generación oxidativa de ATP, como el corazón y el cerebro.

### **Detoxicación de alcohol por la enzima ALDH2**

ALDH2 es mejor conocido por su capacidad como enzima desintoxicante de acetaldehído, un intermediario del metabolismo del etanol.

Cuando consumes alcohol, tu cuerpo lo detoxifica y luego extrae calorías de él. Es un proceso complejo que involucra muchas enzimas diferentes y múltiples órganos, aunque la mayor parte del proceso tiene lugar en el hígado. Primero, una enzima llamada alcohol deshidrogenasa convierte el alcohol en otro químico llamado acetaldehído; otra enzima, ingeniosamente llamada acetaldehído deshidrogenasa, convierte el acetaldehído en acetato. Y una tercera enzima convierte eso en grasa, dióxido de carbono y agua. Las calorías sintetizadas, a partir del alcohol, generalmente se almacenan como grasa, por ejemplo, la cerveza incrementa el volumen del vientre.

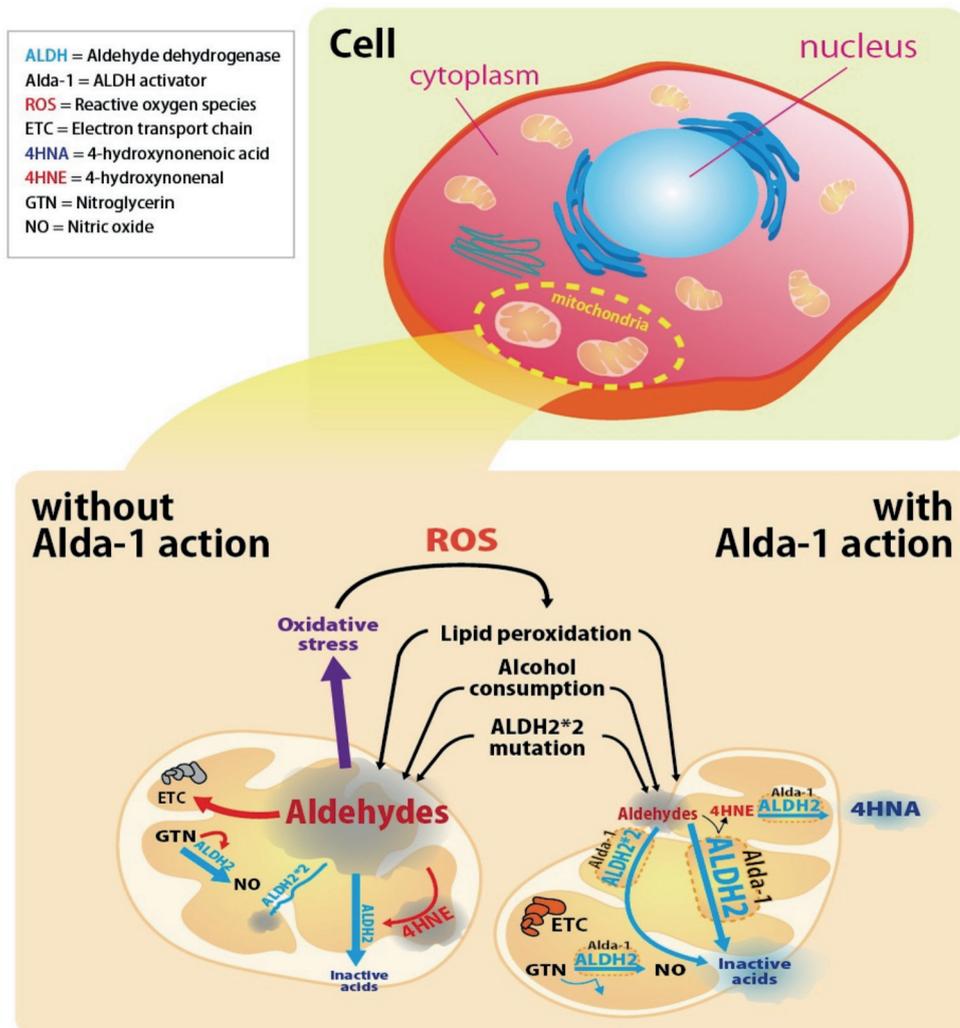
La actividad de ALDH2 se reduce por el estrés oxidativo, **ORISOD Enzyme®** previene el mal funcionamiento de éste y aumenta la detoxificación de aldehídos.

### 3.3 DETOXIFICACIÓN DEL HÍGADO

La detoxificación interna es un proceso continuo que nuestros cuerpos realizan a diario. Nuestros procesos metabólicos continuamente encuentran y eliminan una variedad de toxinas y venenos.

El hígado es la glándula más grande del cuerpo y es un órgano importante que realiza muchas funciones necesarias para la supervivencia; descompone los nutrientes y acumula tejido corporal. También actúa como un sitio de almacenamiento de vitaminas y minerales, es vital cuando se trata de procesos metabólicos y cómo afecta a otros órganos y al cuerpo, incluidos los niveles de concentración hormonal y la eliminación de toxinas.

#### ALDH2 reduces aldehydic toxicity in mitochondria



## Papel del hígado en la detoxificación del cuerpo

El hígado es uno de los cuatro órganos principales que eliminan las toxinas del cuerpo, los otros tres órganos involucrados son los riñones, el tracto intestinal y la piel.

El hígado detoxifica sustancias nocivas ya sea que provengan de fuentes internas como la quema de azúcares, grasas, proteínas o de fuentes externas como medicamentos, medicamento potenciadores de hormonas, aditivos alimentarios, conservantes, colorantes, edulcorantes, potenciadores del sabor, productos químicos utilizados en la agricultura, alcoholes, compuestos orgánicos volátiles, humos, contaminación del aire y muchos otros factores.

Muchas de las toxinas que ingresan al cuerpo son liposolubles, lo que significa que se disuelven solo en soluciones grasas u oleosas y no en agua. Todos deben viajar por el cuerpo y el primer paso en el proceso de desintoxicación que encontrarán es el hígado.

## Mecanismos de detoxificación

El proceso de detoxificación comienza en el hígado. Su función es convertir las toxinas liposolubles en sustancias solubles en agua que se pueden excretar del cuerpo. El proceso enzimático para deshacerse de las toxinas ocurre en dos fases:

**Fase 1 - Oxidación:** convierte los químicos tóxicos en químicos menos dañinos a través de reacciones de oxidación, reducción e hidrólisis. Durante este proceso, se producen radicales libres y, si hay demasiados, pueden dañar las células del hígado. La fase 1 de detoxificación involucra un grupo de 50 a 100 enzimas colectivamente llamadas citocromo P450. Los polifenoles de la aceituna de ORISOD Enzyme® ayudan al hígado a eliminar toxinas durante la primera fase.

**Fase 2 - Conjugación:** las células hepáticas agregan otra sustancia como cisteína, glicina o una molécula de azufre a un químico tóxico para que sea menos dañino. Como resultado, hace que la toxina sea soluble en agua para que luego se excrete del cuerpo a través de fluidos acuosos como la bilis o la orina.

Hay seis vías de desintoxicación de fase 2:

1. Conjugación de glutatión
2. Conjugación de aminoácidos
3. Sulfation
4. Acetilación
5. Glucuronidación

Estas moléculas de conjugación se unen con enzimas específicas para catalizar el proceso de reacción. El hígado puede convertir drogas, hormonas y otras diversas toxinas en sustancias que son secretadas por el cuerpo.

La clave en el proceso de detoxificación del hígado es mantener la actividad de la Fase I y la Fase II en equilibrio. Dado que la Fase I a menudo implica oxidación, necesitamos suministrar a nuestro cuerpo suficientes antioxidantes para evitar que

nuestro hígado se sobreexponga al estrés oxidativo. Entre más esté expuesto el cuerpo a toxinas, más produce radicales libres que aumentan el riesgo de daño oxidativo.

El hidroxitirosol, contenido en las hojas de olivo de **ORISOD Enzyme®**, deja a Nrf2 activo (regulador genético clave) y aumenta directamente la actividad de las enzimas de fase II.

## Detoxification mechanisms in the liver



*La enzima L-glutatión mejora la eliminación de toxinas*

L-Glutatión es una enzima soluble en agua involucrada en los mecanismos de detoxificación y es un antioxidante que el cuerpo produce a partir de los aminoácidos básicos del árbol (L- glutamina, L-cisteína y glicina) que se encuentran en nuestras fuentes de dieta.

L-Glutatión está involucrado con reacciones de conjugación a través de la enzima glutatión transferasa. Los metales pesados como el mercurio se eliminan del cuerpo mediante conjugación con glutatión. El aumento de la producción de metabolitos radicales libres durante las reacciones de fase I: puede dar como resultado niveles agotados y conjugación de glutatión en la desintoxicación de fase II.

Acción en la Fase I: sin defensas adecuadas de radicales libres, cada vez que el hígado neutraliza una toxina, se daña. Glutatión es el antioxidante más importante para neutralizar los radicales libres intermedios durante la fase de detoxificación I.

Acción en la Fase II: el L-Glutatión también es necesario para los procesos clave de detoxificación de esta fase, el agotamiento detiene la fase II, que depende del glutatión.

## 3.4 BIOGÉNESIS MITOCONDRIAL: ACTIVACIÓN DE NRF2

Las mitocondrias son los centros de poder de la célula, proporcionan la energía que una célula necesita para moverse, dividirse, producir productos secretores y contraerse.

## Disfunción mitocondrial

La disfunción mitocondrial desempeña un papel central en una amplia gama de trastornos relacionados con la edad y diversas formas de cáncer, así como en la diabetes tipo 2.

La evidencia creciente muestra que el metabolismo mitocondrial y la síntesis de ATP disminuyen en concierto con una reducción de los factores clave que regulan la biogénesis mitocondrial en pacientes con resistencia a la insulina, diabetes tipo 2 y obesidad.



*Mitocondria sana*

*Mitocondria dañada*

Los factores clave que regulan este proceso incluyen el receptor activado por proliferador de peroxisomas (PPAR), coactivador 1 alfa (PPARGC1 $\alpha$ ) y los factores respiratorios nucleares (Nrfs).

## Hidroxitirosol y activación de Nrf2

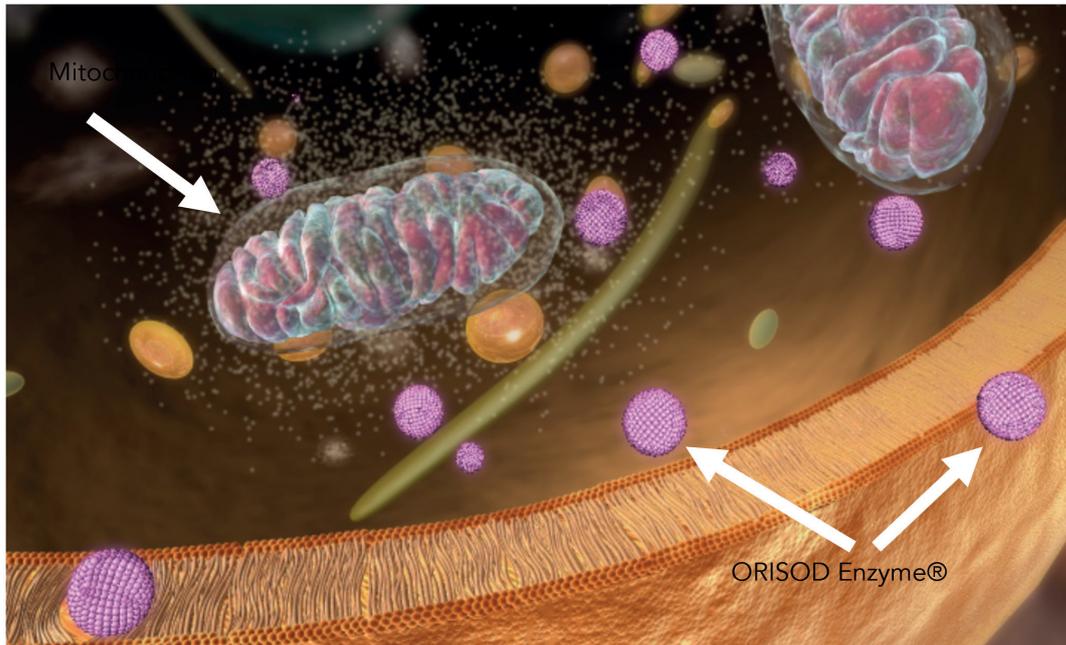
La dieta mediterránea se ha asociado con una menor incidencia de ciertos tipos de cáncer y de enfermedades cardiovasculares, que es la complicación más común y grave de la diabetes.

El aceite de oliva es la principal fuente de grasas en la dieta mediterránea, y el hidroxitirosol, un componente polifenólico del aceite de oliva virgen extra se considera uno de los determinantes más potentes de su eficacia.

El hidroxitirosol aumenta significativamente la activación de Nrf2, un regulador genético clave (o factor de transcripción) que protege las células y los tejidos del estrés oxidativo mediante la activación de antioxidantes protectores y enzimas detoxificantes.

El hidroxitirosol activa dos proteínas importantes implicadas en la translocación de Nrf2 (factor relacionado con el eritroide 2p45), la proteína quinasa B y las quinasas reguladas extracelulares.

Nrf2 se considera un poderoso regulador de las defensas antioxidantes y celulares, es un activador crítico requerido para la expresión genética de genes clave relacionados con las defensas celulares, para equilibrar el estrés oxidativo y para la desintoxicación enzimática.



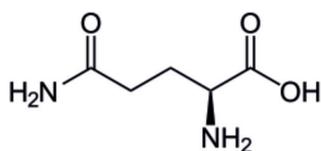
*ORISOD Enzyme® cruza la membrana celular para llegar a las mitocondrias.*

## 3.5 METABOLITOS DE AMINOÁCIDOS

### 3.5.1 L-GLUTAMINA

La L-glutamina es uno de los 20 aminoácidos en el cuerpo que está codificado por el código genético estándar. Los aminoácidos son los componentes básicos de las proteínas en el cuerpo. La L-glutamina es el aminoácido más abundante en el organismo. El sesenta por ciento de nuestra glutamina se encuentra en nuestro músculo esquelético y el resto se encuentra en el tejido pulmonar, hepático, cerebral y estomacal.

#### Estructura química glutamina



Fórmula molecular:  $C_5H_{10}N_2O_3$

Peso molecular: 146.14 g mol<sup>-1</sup>

Número de registro CAS: 56-85-9

Otros nombres: Ácido 2-amino-4-carbamoilbutanoico; (levo) glutamida; L-glutamina.

La glutamina está representada por la estructura química de la izquierda.

En tiempos de estrés o aumento de la demanda metabólica, la glutamina es una fuente de energía especialmente importante para el tracto de salud gastrointestinal. También es compatible con la salud muscular y la función del sistema inmunológico.

## **La glutamina mejora el funcionamiento cerebral**

La L-glutamina es el aminoácido libre más abundante en el cerebro, desempeña un papel crítico en el mantenimiento sináptico y la plasticidad. También estimula el estado de alerta mental, mejora la inteligencia, normaliza el equilibrio físico y detoxifica el amoníaco del cerebro.

Debido a su capacidad para cruzar la barrera hematoencefálica, la L-glutamina es una forma maravillosa de proporcionar ácido glutámico al cerebro.

La glutamina, el glutamato y el GABA son todos neurotransmisores, lo que significa que son mensajeros químicos en el cerebro sin los cuales el cerebro no podría funcionar. GABA es un neurotransmisor calmante, el glutamato es un neurotransmisor estimulante, mientras que la glutamina es un modulador de la actividad inhibitoria y excitadora de los otros dos.

La glutamina está altamente concentrada en el cerebro, siendo 10-15 veces más concentrada en el líquido cefalorraquídeo que en la sangre. Es un combustible importante para el cerebro y puede proporcionar la energía adecuada en ausencia de glucosa (el otro combustible principal del cerebro). Por esta razón, es útil con el enfoque, la concentración, la memoria, el rendimiento intelectual, el estado de alerta, la atención, la mejora del estado de ánimo, la eliminación de la niebla y la nubosidad del cerebro. Es uno de los primeros nutrientes que se prescriben cuando alguno de estos síntomas está presente.

La investigación sugiere que la glutamina protege las células cerebrales en situaciones de disminución del suministro de oxígeno y ayuda en el cerebro a detoxificar el amoníaco.

## **Salud gastrointestinal**

En el intestino, la glutamina mantiene una integridad saludable del tracto intestinal y mejora el revestimiento protector de la mucosa. Esto ayuda a garantizar la utilización y absorción adecuadas de nutrientes al tiempo que limita la cantidad de toxinas que pasan a través de la barrera intestinal.

La L-glutamina es necesaria para la formación de glutatión y éste es vital para la detoxificación del hígado.

## **Apoyo muscular y recuperación**

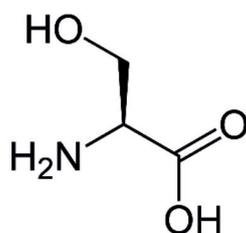
La L-glutamina proporciona un apoyo potencial para la función muscular y la reposición de glucógeno después del ejercicio, además, sus efectos sobre la función inmune pueden apoyar la recuperación y la resistencia después del ejercicio.

## **Efecto antioxidante de L-glutatión**

L-glutatión es una enzima soluble en agua que contiene azufre, se absorbe principalmente en el hígado, ocurre naturalmente en el cuerpo como una combinación de los aminoácidos L-glicina y L-glutamina. Dado que se sabe que estos tres aminoácidos tienen propiedades antioxidantes protectoras, se triplicó la potencia antioxidante de L-glutatión más los beneficios adicionales que puede obtener de cada uno de los tres aminoácidos.

## 3.5.2 SERINA

La **serina** es un aminoácido no esencial derivado del aminoácido glicina, se sintetiza en el cuerpo, sale en forma de L-serina y D-serina, y es importante para la buena salud general, tanto física como mental.



### Estructura química serina

Fórmula molecular: C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>3</sub>

Peso molecular: 105.09 g mol<sup>-1</sup>

Número de registro CAS: 302-84-1

Otros nombres: Ácido 2-amino-3-hidroxiopropanoico

La serina está representada por la estructura química de la izquierda.

Desempeña funciones en la síntesis de proteínas, ácidos grasos, portadores de códigos genéticos (ADN y ARN) y la acumulación de músculo. La serina es un componente en el cerebro y en las cubiertas protectoras de los nervios. Por lo tanto, la serina es un aminoácido importante para el buen funcionamiento del cerebro y el sistema nervioso central.

Los beneficios adicionales para la salud de la serina se obtienen indirectamente a través de su efecto sobre otros bioquímicos. Por ejemplo, la serina es un precursor para la producción de aminoácidos como la glicina, la cisteína y el triptófano. Se sabe que el triptófano, necesario para la síntesis de serotonina y el funcionamiento de los neurotransmisores, ayuda a aliviar el estrés, la ansiedad y la depresión.

### Beneficios para la salud del cerebro

Las proteínas utilizadas para formar el cerebro, así como las vainas protectoras de mielina que cubren los nervios, contienen serina. Sin ella, las vainas de mielina podrían deshilacharse y volverse menos eficientes en la entrega de mensajes entre el cerebro y las terminaciones nerviosas del cuerpo, esencialmente cortocircuitando la función mental.

La serina también es necesaria para producir triptófano, un aminoácido que se usa para producir serotonina, un químico cerebral que determina el estado de ánimo. La escasez de serotonina y triptófano se ha relacionado con la depresión, el insomnio, la confusión y la ansiedad. La investigación sugiere que los niveles bajos de serina pueden contribuir al síndrome de fatiga crónica (SFC) y la fibromialgia (FM).

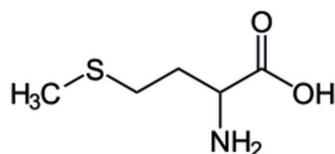
La serina ayuda a producir inmunoglobulinas y anticuerpos para un sistema inmunitario fuerte, y también ayuda a la absorción de creatina, una sustancia hecha de aminoácidos que ayuda a construir y mantener todos los músculos del cuerpo, incluido el corazón.

### 3.5.3 METIONINA

La **metionina** es un aminoácido a base de proteínas que ayuda con la función metabólica, descompone las grasas y es la principal fuente de azufre en el cuerpo.

---

#### Estructura química metionina



Fórmula molecular:  $C_5H_{11}NO_2S$

Peso molecular: 149.21 g mol<sup>-1</sup>

Número de registro CAS: 59-51-8

Otros nombres: ácido 2-amino-4- (metiltio) butanoico

La metionina está representada por la estructura química de la izquierda.

---

La metionina ayuda a descomponer las grasas y evita la acumulación de ellas en las arterias, además de promover el sistema digestivo y eliminar los metales pesados del cuerpo. Puede convertirse en cisteína, que es un precursor de la glutiona, fundamental para detoxificación del hígado. El cuerpo humano no produce naturalmente metionina, por lo tanto, debe ingerirse en alimentos, a través de un suplemento como **ORISOD Enzyme®**.

#### Residuos de metionina como antioxidante antigénico

La metionina, como la cisteína, funciona como antioxidante y componente clave de un sistema para la regulación del metabolismo celular.

La metionina se oxida fácilmente con el sulfóxido de metionina por muchas especies reactivas. La oxidación de las metioninas expuestas a la superficie sirve para proteger otros residuos funcionalmente esenciales del daño oxidativo. Las reductasas de sulfóxido de metionina tienen el potencial de reducir el residuo de vuelta a la metionina, aumentando la eficiencia de eliminación del sistema.

La modificación covalente reversible de aminoácidos en proteínas, proporciona la base mecanicista para la mayoría de los sistemas de regulación celular. La interconversión de metionina y sulfóxido de metionina puede funcionar para regular la actividad biológica de las proteínas, mediante la alteración de la eficiencia catalítica y la modulación de la hidrofobicidad de la superficie de la proteína.

## 3.6 ANTIMELANOMA

El melanoma es la forma más peligrosa de cáncer de piel, estos crecimientos cancerosos se desarrollan cuando el ADN no reparado desencadena mutaciones (defectos genéticos) que hacen que las células de la piel se multipliquen rápidamente y formen tumores malignos. Estos tumores se originan en los melanocitos productores de pigmento en la capa basal de la epidermis. Los melanomas a menudo se parecen a lunares, de hecho, algunos se desarrollan a partir de éstos. La mayoría de los melanomas son negros o marrones, pero también pueden ser del color de la piel, rosa, rojo, morado, azul o blanco. El melanoma

es causado principalmente por una exposición intensa y ocasional a los rayos UV (que con frecuencia conduce a quemaduras solares), especialmente en aquellas personas que están genéticamente predispuestas a la enfermedad.

### 3.6.1 ORISOD MATA ESPECÍFICAMENTE LAS CÉLULAS CANCEROSAS

Varios componentes del olivo (*Olea europaea*) se han utilizado tradicionalmente en el tratamiento del cáncer. El potencial anticancerígeno de los polifenoles secos de la fruta de olivo, representa el efecto neto de las interacciones multinivel entre los diferentes compuestos biológicamente activos de los polifenoles, las células cancerosas y la terapia convencional. Estudios indican que los polifenoles de la aceituna y el romero poseen actividades antioxidantes, antiinflamatorias, citostáticas, citotóxicas y anticancerígenas, ya que generan un fuerte potencial antimelanoma.

### 3.6.2 ORISOD RESTRINGE LA GENERACIÓN DE ENERGÍA MITOCONDRIAL EN LAS CÉLULAS CANCEROSAS

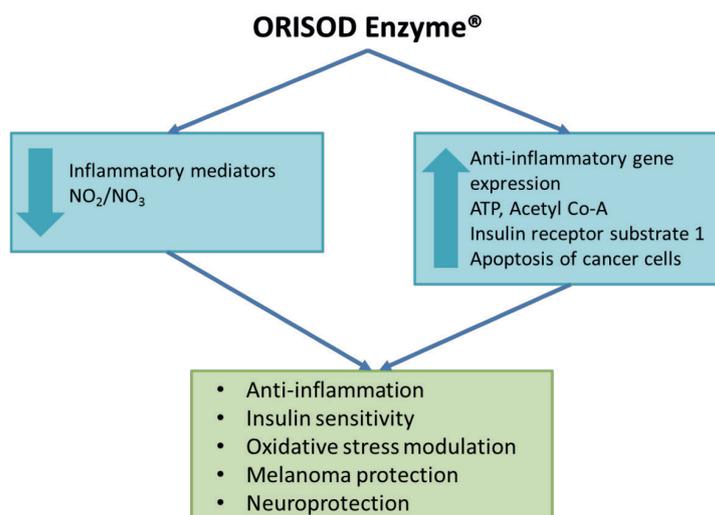
La administración de ORISOD a las células sanas y cancerosas tiene un efecto diferencial. ORISOD en células afectadas disminuye significativamente la replicación del ADN mitocondrial, en comparación con las células sanas, notablemente redujo la proliferación de células cancerosas de melanoma.

## 3.7 ANTIDIABÉTICO

La diabetes tipo 2, caracterizada por hiperglucemia e hiperlipidemia, es una enfermedad metabólica resultante de defectos tanto en la secreción como en la resistencia a la insulina. Recientemente, la fruta de olivo ha sido reportada como un agente antiinflamatorio, antioxidante y antidiabético. Los polifenoles de la aceituna pueden mejorar la resistencia a la insulina y la inflamación. La administración de polifenoles de la aceituna en dosis más altas, redujo significativamente los niveles de glucosa en sangre, colesterol total en suero y triglicéridos. Los polifenoles de la aceituna aumentaron significativamente la expresión del sustrato 1 del receptor de insulina.

## 3.8 ANTIINFLAMACIÓN

El extracto de la fruta de olivo y las hojas de romero son ingredientes clave de ORISOD, mientras que los polifenoles de la aceituna disminuyen significativamente las moléculas proinflamatorias que causan las reacciones inflamatorias como las expresiones de ARNm de factor de necrosis tumoral  $\alpha$ , IL-6 e IL-1 $\beta$  en el tejido adiposo del epidídimo, el romero atenúa las activaciones de las MAPK y NF- $\kappa$ B, por lo tanto, previene la generación de citocinas proinflamatorias e inhibe la generación de especies reactivas de oxígeno y prostaglandinas al suprimir las expresiones inducibles de óxido nítrico sintasa (iNOS) y ciclooxigenasa-2 (COX 2).



## 3.9 COLITIS ULCEROSA

La colitis ulcerosa es una enfermedad crónica del intestino grueso, también conocido como colon, en la cual, el revestimiento del colon se inflama y desarrolla pequeñas úlceras abiertas, o úlceras, que producen pus y mucosidad. La combinación de inflamación y ulceración puede causar molestias abdominales y vaciado frecuente del colon.

Los polifenoles de la aceituna atenúan la inflamación intestinal crónica provocada por el ácido acético, dependiente de la dosis. Los polifenoles reducen significativamente la gravedad de las lesiones ulcerativas y mejoran las puntuaciones macroscópicas y microscópicas. Estas observaciones fueron acompañadas por una reducción significativa en las cantidades elevadas de marcadores TNF- $\alpha$  e interleucina-2.

## 3.10 NEUROPROTECCIÓN

La neuroprotección se refiere a la preservación relativa de la estructura y/o función neuronal. En el caso del proceso neurodegenerativo en curso, la preservación relativa de la integridad neuronal implica una reducción en la tasa de pérdida neuronal a lo largo del tiempo. Es una opción de tratamiento ampliamente explorada para muchos trastornos del sistema nervioso central (SNC) que incluyen enfermedades neurodegenerativas, derrames cerebrales, traumatismo cerebral, lesión de la médula espinal y manejo agudo del consumo de neurotoxinas (sobredosis de metanfetamina). La neuroprotección tiene como objetivo prevenir o retrasar la progresión de la enfermedad y las lesiones secundarias al disminuir la pérdida de neuronas.

Los polifenoles de romero mejoraron los déficits cognitivos en la lesión cerebral traumática leve repetitiva (rmTBI) y sus mecanismos potenciales. Los polifenoles de romero ayudan a mejorar los déficits cognitivos, y sugirieron que sus mecanismos podrían estar mediados por actividades antioxidantes y antiinflamatorias. El tratamiento con polifenoles de romero previene la formación de niveles reactivos de oxígeno, citocinas proinflamatorias y aumenta la actividad enzimática antioxidante. Por lo tanto, los polifenoles de romero pueden ser un tratamiento potencial para mejorar los déficits cognitivos en pacientes con rmTBI.

## 3.11 MICROBIOTA INTESTINAL

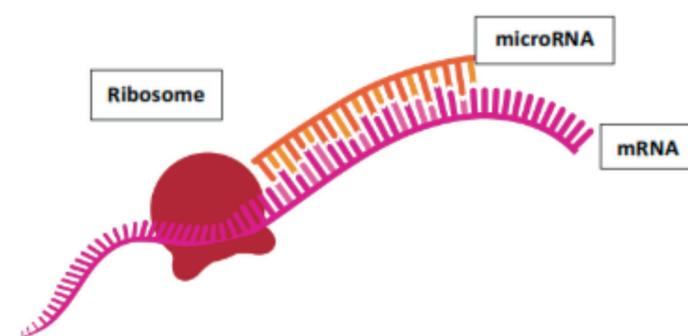
Los compuestos fenólicos de las frutas oleaginosas influyen en la población microbiana intestinal y la producción metabólica. ORISOD, que contiene compuestos fenólicos de oliva, aumenta la proporción de bacterias recubiertas de inmunoglobulina A, lo que sugiere una estimulación de la inmunidad de la mucosa a nivel intestinal.

El compuesto fenólico enriquecido con polifenoles de aceituna, disminuye el LDL en sangre en humanos hipercolesterolémicos. Este efecto cardioprotector podría estar mediado por los aumentos en las poblaciones de bifidobacterias junto con aumentos en los metabolitos microbianos de la PC con actividades antioxidantes.

## 3.12 EXPRESIÓN MIRNA

Se informó que el romero (*Rosmarinus officinalis* L.) y muchos de sus componentes poseen propiedades quimiopreventivas en el cáncer de piel y de mama.

Se ha propuesto que varios componentes del romero, como el ácido carnósico, el carnosol, el ácido ursólico, así como algunos de sus componentes de aceites esenciales, son responsables de los efectos anticancerígenos del romero.



Los microARN (miARN) son ARN cortos (20-24 nucleótidos) no codificantes que están involucrados en la regulación postranscripcional de la expresión génica en organismos multicelulares al afectar tanto la estabilidad como la traducción de los ARNm.

El miR-15b es un biomarcador potencial para el cáncer y se encuentra regulado en el cáncer de colon. Los polifenoles de romero ricos en diterpenos, ácido carnósico y carnosol, disminuyen los niveles plasmáticos de miR15b en el cáncer.

El papel del microARN en la oncogénesis del cáncer se puede explicar de diferentes maneras dependiendo del objetivo al que se unen y la concentración en la que se producen en la célula.

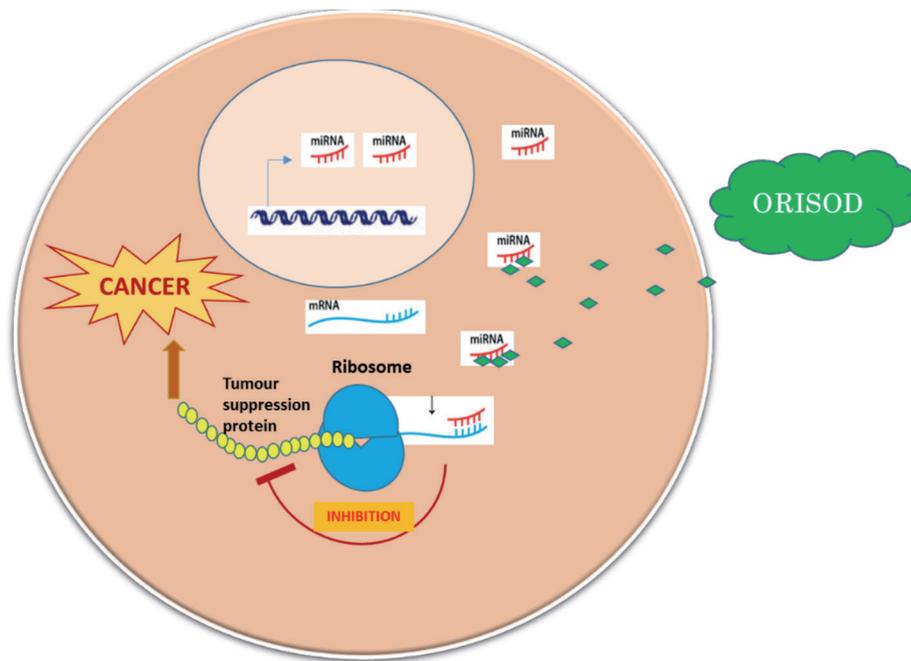


Figura: Orisod Enzyme modula la expresión del gen microRNA (miR-15b).

a) En los tejidos normales, la transcripción, el procesamiento y la unión adecuados de microARN (miARN) a secuencias complementarias en el ARNm objetivo, da como resultado la represión de la expresión del gen objetivo a través de un bloqueo en la traducción de proteínas. El resultado general son tasas normales de crecimiento celular, proliferación, diferenciación y muerte celular.

b) La amplificación o sobreexpresión de un miRNA, que tiene un papel oncogénico, también daría como resultado la formación de tumores. En esta situación, el aumento de las cantidades de un miARN se une al ARNm, lo que elimina la expresión de una proteína del gen supresor de tumores diana de miARN y conduce a la progresión del cáncer.

ORISOD regula a la baja el miRNA en la célula y evita que se una al ARNm, lo que se traduce en proteína del gen supresor tumoral, de ahí que ORISOD proteja contra la aparición de cáncer.

### 3.13 PROTECCIÓN DE LOS TELÓMEROS

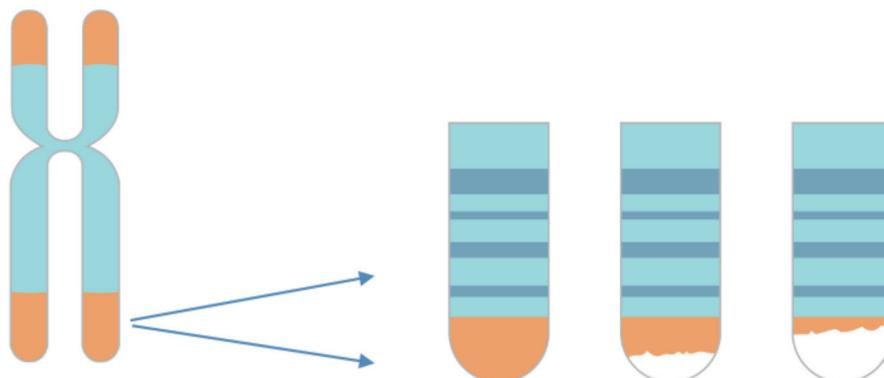
La oleuropeína es un compuesto glicólico fenólico que se encuentra en las hojas de olivo. Sus actividades farmacológicas incluyen actividades antioxidantes, antiinflamatorias, antiaterogénicas, anticancerígenas, antimicrobianas, antivirales, hipolipídicas e hipoglucémicas.

Se sabe que la oleuropeína aumenta la actividad de la telomerasa, esta enzima protege la estructura de los telómeros mientras se divide la célula.

Los telómeros son la parte final del cromosoma y consisten en una sola molécula de ADN asociada con una variedad de proteínas.

Los telómeros son cruciales para la vida de la célula, evitan que los extremos de los diversos cromosomas en la célula se unan accidentalmente entre sí.

La telomerasa es una enzima que agrega secuencias repetidas de telómeros al extremo 3' de las cadenas de ADN. Al alargar esta cadena, la telomerasa repara el telómero y protege el ADN de daños.



*Figura: Los telómeros al final de los cromosomas se acortan después de la división celular reparada, esto tiene un efecto importante en la viabilidad de la célula.*

## IMPORTANCIA DEL TELÓMERO

Los telómeros juegan un papel central en el envejecimiento y las enfermedades relacionadas con la edad.

La inflamación crónica y las especies reactivas de oxígeno inducen disfunción de los telómeros y aceleran el envejecimiento.

La larga duración de telómero disminuye el riesgo de diabetes.

El estrés oxidativo y la hiperglucemia acortan la longitud de los telómeros mediante la glicación del ADN.

Los telómeros de longitud corta se detectan en muchos tipos de cáncer.

## 4. ADS®: ADVANCED DELIVERY SYSTEM (SISTEMA DE LIBERACIÓN CONTROLADO)

La biodisponibilidad es un factor muy importante para permitir que los bioactivos crucen las células de doble membrana y actúen a nivel celular. Un portador verde nos permitió crear un complejo con la capacidad de cruzar barreras hidrofílicas e hidrofóbicas.

## 4.1 ENTREGA CONTROLADA DE COMPUESTOS BIOACTIVOS

Formular un ingrediente activo es importante, pero entregar los activos al objetivo investigado tiene la misma importancia; de lo contrario, los ingredientes son inútiles para el cuerpo.

La idea principal de la protección es crear un operador para los activos para que no estén en contacto con el entorno externo hasta la fase de lanzamiento. El caparazón actuará como un recipiente y navegará a los lugares investigados en el cuerpo.

Desarrollamos y creamos ADS®: Sistema de liberación avanzado para un suministro dirigido y controlado de compuestos bioactivos.

### **Antecedentes**

Los ingredientes activos se administran en el cuerpo, atraviesan varias membranas y llegan a los puntos de acción. El movimiento de los ingredientes activos depende de la eficiencia de la cantidad del ingrediente y el tiempo, que es la biodisponibilidad.

Desde 1995, nuestros cinéticos comenzaron la investigación en la planta de fenogreco.

### **¿Por qué fenogreco?**

La investigación principal se centró en la actividad antidiabética de la alholva. Al tratar de comprender el mecanismo de acción de esta planta, nuestros investigadores notaron que la alholva tiene la particularidad de presentar un sistema excepcional de entrega de moléculas.

Se han analizado las propiedades de la alholva y nuestro equipo científico descubrió que la planta tiene la capacidad de facilitar y guiar la circulación de activos para actuar en puntos definidos de la piel y las células.

Gracias a este descubrimiento, decidimos usar receptores similares de fenogreco para administrar los ingredientes activos y creamos una encapsulación de portadores.

Creado por el amino fosfolípido, el portador ADS® permite un suministro controlado e innovador de activos activos. ADS® protege la actividad de los ingredientes y permite su entrega en zonas nunca alcanzadas con el ingrediente clásico.

Ventajas:

- Efecto rápido y visible del tratamiento (tanto cosméticos como nutracéuticos).
- Poca cantidad del ingrediente es suficiente, ya que no hay desperdicio.
- No es necesario consumir una gran cantidad de activos para sentir los resultados, lo que reduce los efectos secundarios del adelantamiento de activos.
- Reducción del tamaño de los productos finales (cápsulas).
- 100% seguro, sin ingredientes de origen animal, solo de origen vegetal natural.

## 4.2 LOCALIZACIÓN DE ADS® EN EL SISTEMA CELULAR

Localización intracelular de **ADS®** por microscopía de fluorescencia utilizando sondas lipofílicas en las mitocondrias.

### Etiquetado de ADS® con una sonda lipofílica fluorescente

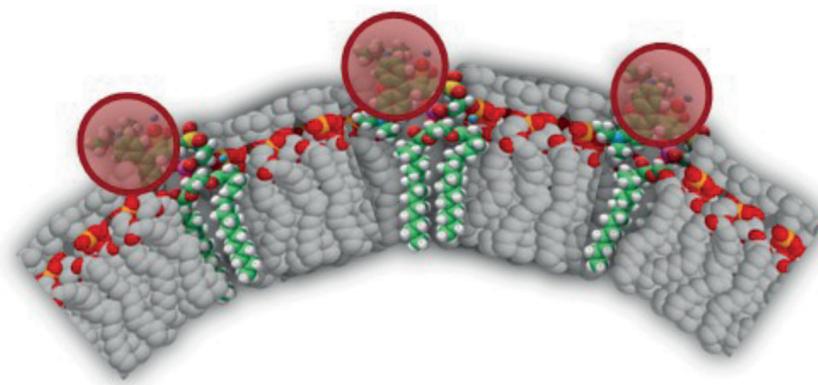
*Etiquetado del transportista ADS®*



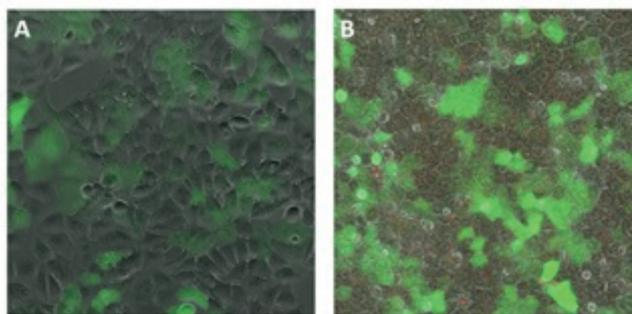
*Separación de ADS® etiquetado de sonda libre*



*Separación de ADS® etiquetado de sonda libre*

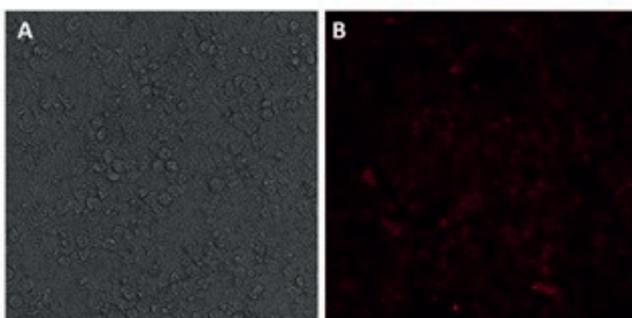


Incubación de células humanas con ADS® marcado (microscopía de fluorescencia)



A - Células MCF-7 no marcadas (las células verdes expresan GFP, proteína fluorescente verde)  
 B - Células MCF-7 incubadas con ADS® marcado (el etiquetado rojo es ORISOD Enzyme®)

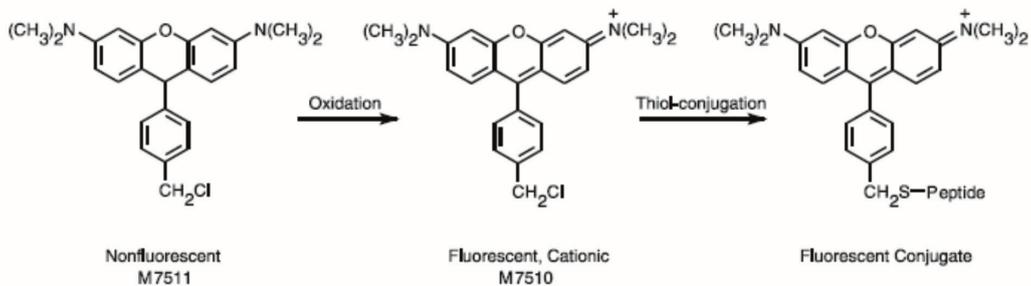
Incubación de células humanas con ADS® marcado (microscopía de fluorescencia)



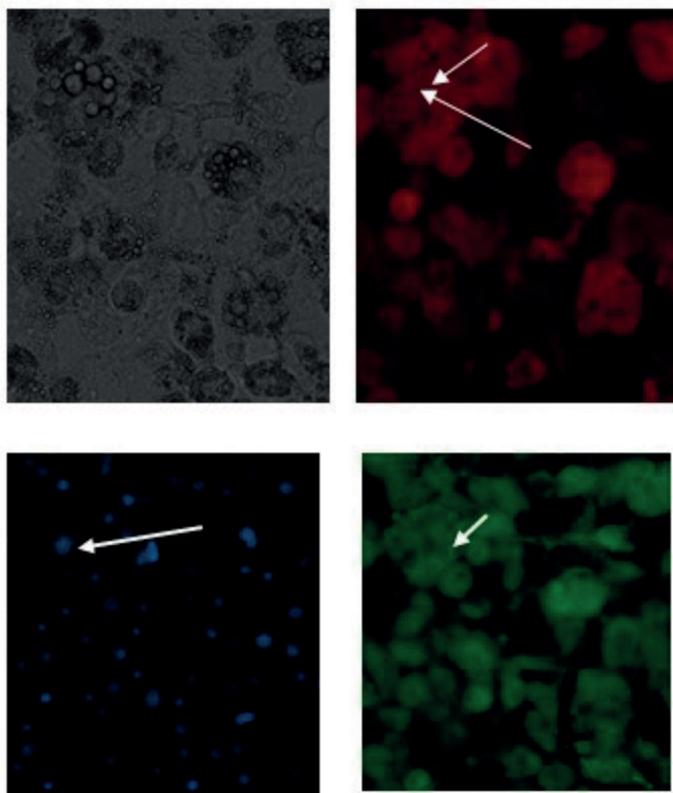
A- Células MCF-7 no marcadas observadas por microscopía de contraste de fase  
 B- Células MCF-7 incubadas con ADS® marcado observado por microscopía de fluorescencia (el etiquetado rojo es ADS®)

### Colocalización de ADS® y mitocondrias en adipocitos

La sonda MitoTracker Green FM se acumula preferentemente en las mitocondrias independientemente del potencial de membrana mitocondrial (InvitroGen).



## Co-tinción de fosfolípidos ADS® y mitocondrias de adipocitos



*Rojo: Fosfolípidos (ADS®) /Verde: Marcador mitocondrial verde/ Azul: Tinte de Hoesch (núcleos)*

# 5. ENSAYOS CLÍNICOS

## 5.1 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

### 5.1.1 EVALUAR LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE ORISOD ENZYME® (PRUEBA TBARS)

#### **LABORATORIO**

MEDICA TOKYO, estudio dirigido por Dr. Taro Hirata.

#### **OBJETIVO**

Evaluar la actividad antioxidante de ORISOD ENZYME® (Prueba TBARS).

#### **INTRODUCCIÓN**

Se han publicado muchos artículos que informan sobre el efecto neuroprotector y la protección vascular de frutas y verduras, relacionados con la dieta mediterránea, respaldando la hipótesis de que los compuestos antioxidantes y antiinflamatorios de la dieta podrían ejercer directamente un efecto neuroprotector.

Durante los últimos años, la evidencia emergente ha sugerido que los flavonoides en la dieta, los cuales se producen naturalmente en plantas y alimentos, pueden ejercer efectos beneficiosos sobre el sistema nervioso central debido a su eficacia en la protección de las neuronas contra el estrés oxidativo inducido lesión, suprimiendo la neuroinflamación y mejorando el control del factor de riesgo cardiovascular.

El olivo (*Olea europaea*) y el romero (*Rosemary officinalis*) son especies vegetales ricas en compuestos fenólicos que tienen una fuerte actividad antioxidante, y también han sido parte de la dieta mediterránea durante siglos. El hidroxitirosol y la oleuropeína de las aceitunas se han demostrado como potentes eliminadores de radicales. Además, el ácido carnósico y el rosmarínico del romero contribuyen a la bioactividad de **ORISOD Enzyme®**.

### Eficacia probada de **ORISOD Enzyme®** contra el daño oxidativo

La capacidad antioxidante de **ORISOD Enzyme®** se evaluó a través de su capacidad para disminuir el nivel de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), derivadas de la peroxidación lipídica de los liposomas EYPC inducidos por AAPH.

Existe una fuerte correlación entre las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) como marcador de la peroxidación lipídica y los productos que reflejan el daño oxidativo del ADN.

**ORISOD Enzyme®** tuvo un efecto importante en la prevención de la peroxidación lipídica mediante el ensayo TBARS de una manera dependiente de la dosis.

### Capacidad antioxidante de **ORISOD®** - prueba TBARS

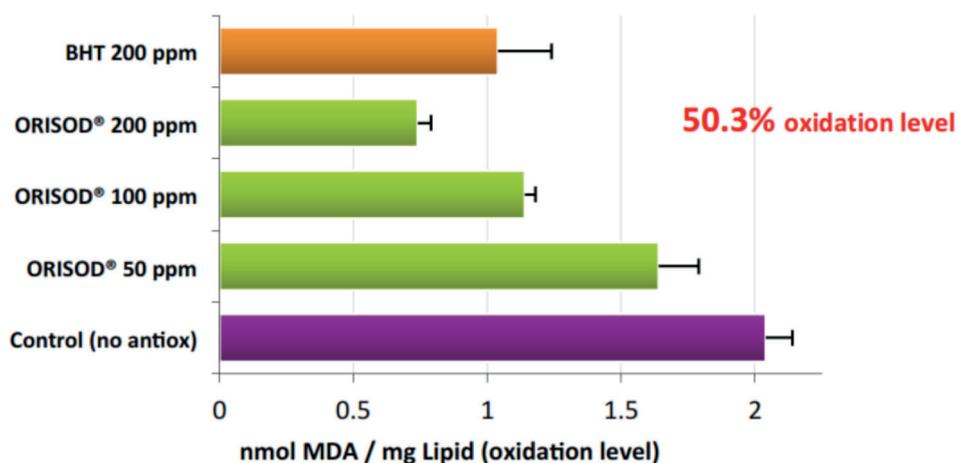


Figura1. Capacidad antioxidante de **ORISOD®** (50, 100 y 200 ppm), en comparación con BHT (200 ppm), para prevenir la peroxidación lipídica medida por el ensayo TBARS en liposomas EYPC. El nivel de oxidación se expresó como nmol malondialdehído/mg de fosfolípido, medido por fluorescencia y ensayo de determinación de fósforo respectivamente, en comparación con un control en ausencia de antioxidantes. Cada barra representa la media de tres experimentos independientes realizados por triplicado.

Se utilizaron varias concentraciones de **ORISOD Enzyme®** mediante este ensayo, 50 ppm, 100 ppm y 200 ppm obteniendo niveles de oxidación lipídica de 81.23%, 58.10% y 37.67%, respectivamente.

ORISOD Enzyme® también mostró una mayor capacidad antioxidante que BHT (hidroxitolueno butilado), que produjo un 50.3% de oxidación cuando se usa a una concentración idéntica, es decir, 200 ppm.

BHT es un poderoso agente antioxidante sintético utilizado como conservante en muchos alimentos que contienen grasas y aceites comestibles.

## 5.1.2 ORISOD ENZYME®, COMPLEJO POTENCIADOR DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES ENDÓGENAS

### TÍTULO DEL ENSAYO CLÍNICO

ORISOD Enzyme®, potenciador complejo de enzimas antioxidantes endógenas.

### TIPO DE ESTUDIO

Un ensayo clínico aleatorizado doble ciego que compara **ORISOD Enzyme®** contra placebo.

### LABORATORIO

MEDICA TOKYO Co.LTD - 20-1, 3 Chome Nishi-Shinjuku, Shinjuku-ku Tokyo, JAPAN.

Director: Dr. Taro Hirata

### INFORMACIÓN DEL PRODUCTO

Nombre del producto: **ORISOD Enzyme®**

Apariencia: Polvo

Color: Pardusca

Sabor: Característico

### OBJETIVOS DEL ESTUDIO

El objetivo es verificar que la actividad de las enzimas endógenas (SOD y GPx) sea mejorada por **ORISOD Enzyme®**. La peroxidación lipídica y la reducción de la oxidación de LDL también se controlaron.

### VARIABLES EVALUADAS

Se han monitorizado las enzimas endógenas (SOD y GPx), así como la peroxidación lipídica y la oxidación de LDL.

### NÚMERO TOTAL DE PACIENTES

30 sujetos (hombres y mujeres) de 35 y 55 años participaron en un ensayo doble ciego controlado con placebo que probó la eficacia del suplemento oral **ORISOD Enzyme®**.

### DURACIÓN DEL TRATAMIENTO Y DOSIFICACIÓN

Ingestión del suplemento **ORISOD Enzyme®** y placebo durante 90 días de tratamiento con una dosis de 500 mg/día (cada tableta contiene 200 mg de ingredientes activos y 300 mg de excipiente).

## INTRODUCCIÓN

ORISOD Enzyme® es un bioactivo fermentado formulado para mejorar el estado antioxidante del cuerpo y prevenir enfermedades relacionadas con el envejecimiento. Su fórmula combina una mezcla de bioactivos de dos plantas mediterráneas: el olivo y romero. El complejo se fermenta utilizando una tecnología de fermentación verde basada en fermentos vegetales.

Se sabe que la aceituna (*Olea europaea*) y el romero (*Rosemary officinalis*) son ricos en compuestos fenólicos. Las propiedades antioxidantes de las hojas de olivo se asocian con oleuropeína, hidroxitirosol y polifenoles de *Olea europaea* (que contiene 19% de oleuropeína, 1,8% de glucósidos flavonoides y 3,4-dihidroxifenilésteres). El romero tiene propiedades antioxidantes asociadas con el ácido carnósico y el carnosol.

Este estudio demuestra que la ingestión de ORISOD Enzyme® aumenta la eficacia de las enzimas endógenas a nivel celular (SOD, Catalasa y Gpx) y reduce la peroxidación lipídica, apoya la energía cerebral y la desintoxicación del hígado.

## PROTOCOLO

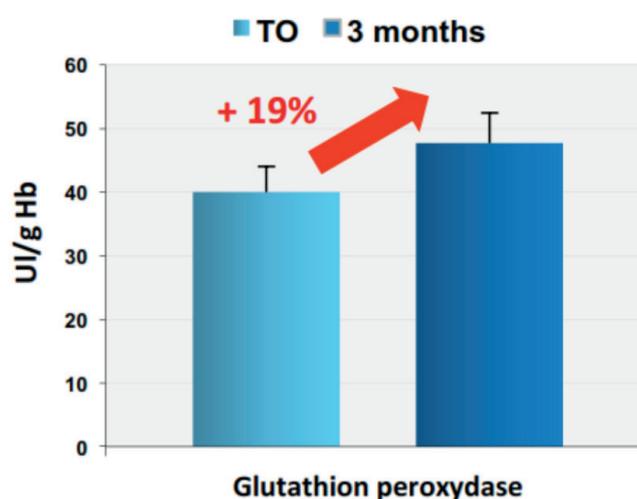
Se analizaron varios marcadores biológicos del estrés oxidativo para medir la actividad antioxidante de ORISOD Enzyme®. 30 sujetos (hombres y mujeres) de 35 y 55 años participaron en este ensayo doble ciego controlado con placebo. Ingerieron el suplemento ORISOD Enzyme® y placebo durante 90 días de tratamiento.

## RESULTADOS

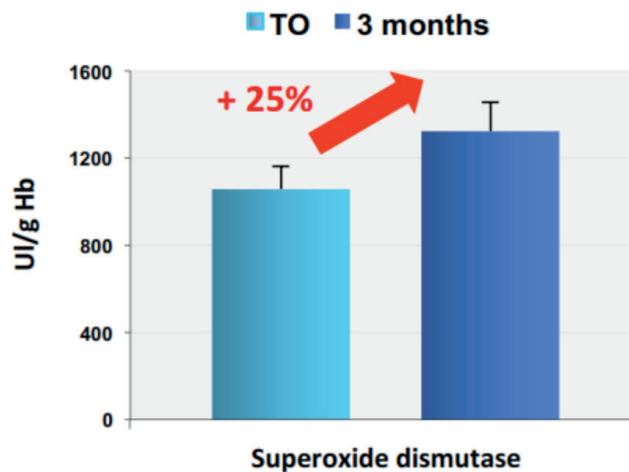
Aumento de dos enzimas endógenas principales SOD y CAT.

La actividad de dos enzimas antioxidantes endógenas principales: SOD (superóxido dismutasa) y GPx (glutación peroxidasa) aumentó significativamente después de tres meses. La enzima SOD aumentó en un 25%, mientras que la enzima GPx aumentó en un 19%.

*Incremento de Glutación Peroxidasa GPx*



### Incremento de Glutación Peroxidasa GPx



### Mecanismo de acción

Un radical libre es un átomo, molécula o compuesto que es altamente inestable debido a su estructura atómica o molecular (distribución de electrones dentro de la molécula). Un elemento químico frecuentemente involucrado en la formación de radicales libres es el oxígeno. El oxígeno molecular puede aceptar un total de cuatro electrones, uno a la vez, y el número correspondiente de protones para generar dos moléculas de agua.

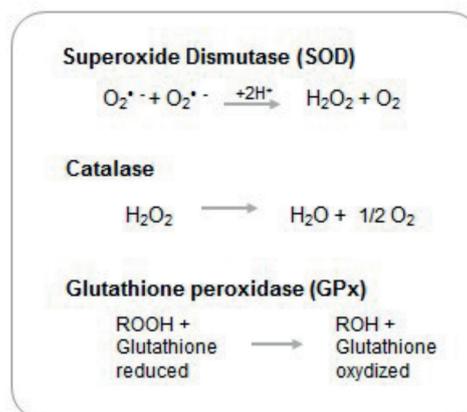
Durante este proceso, se forman sucesivamente diferentes radicales de oxígeno como productos intermedios, incluido el superóxido ( $O_2^-$ ); peróxido ( $O_2$ ), que normalmente existe en las células como peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ); y el radical hidroxilo ( $OH$ ). El superóxido, el peróxido y el radical hidroxilo, son inestables y reaccionan rápidamente con electrones y protones adicionales, la mayoría de estos ROS se convierten en agua antes de que puedan dañar las células. Sin embargo, los efectos tóxicos del oxígeno en los sistemas biológicos, como la descomposición (oxidación) de los lípidos, la inactivación de las enzimas, la introducción de cambios (mutaciones) en el ADN, y la destrucción de las membranas celulares y, en última instancia, las células, son atribuibles a la reducción de  $O_2$  a ROS.

Debido a que los ROS se forman naturalmente durante muchos procesos metabólicos, las células han desarrollado varios mecanismos de protección para prevenir la formación de éstos o para desintoxicarlos, estos mecanismos emplean moléculas llamadas antioxidantes. Bajo ciertas condiciones, se aumenta la producción de ROS y/o se reduce el nivel o la actividad de los antioxidantes. El estado resultante se denomina estrés oxidativo y se caracteriza por una alteración en el equilibrio entre la producción de ROS y la eliminación y reparación de las moléculas complejas dañadas (proteínas o ADN).

En los humanos, el estrés oxidativo está involucrado en muchas enfermedades, como la aterosclerosis, insuficiencia cardíaca, infarto de miocardio, síndrome de fatiga crónica, cáncer, etc.

## ORISOD Enzyme® modo de acción único

En lugar de los antioxidantes clásicos como las vitaminas, los mecanismos de ORISOD Enzyme® consisten en mejorar las enzimas endógenas SOD y GPx, lo cual resulta más eficaz y más rápido para mejorar el estado de los antioxidantes corporales.



La defensa antioxidante es activada por las enzimas SOD que reducen la producción de ROS, no solo luchan contra las ROS ya creadas. La enzima superóxido dismutasa (SOD) cataliza la dismutación del superóxido en oxígeno y peróxido de hidrógeno. Como tal, es una defensa antioxidante importante en todas las células expuestas al oxígeno.

En lugar de los antioxidantes clásicos como las vitaminas, los mecanismos ORISOD Enzyme® consisten en mejorar las enzimas endógenas SOD y GPx, que son más efectivas y más rápidas para mejorar el estado de los antioxidantes corporales.

La defensa antioxidante es activada por las enzimas SOD que reducen la producción de ROS, no solo luchan contra las ROS ya creadas. La enzima superóxido dismutasa (SOD) cataliza la dismutación del superóxido en oxígeno y peróxido de hidrógeno. Como tal, es una defensa antioxidante importante en todas las células expuestas al oxígeno.

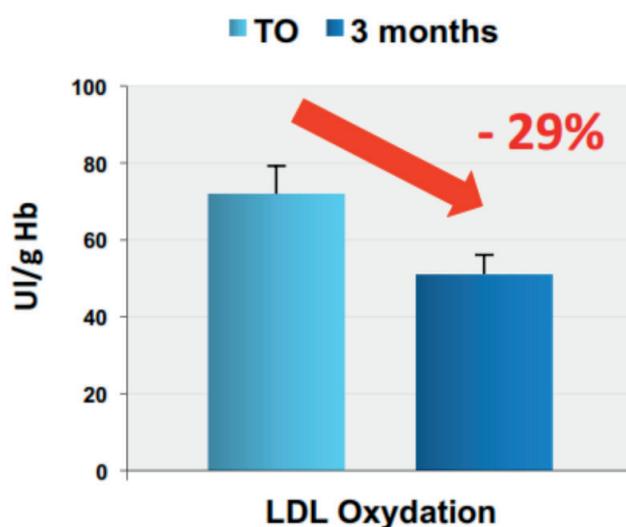
La glutatión peroxidasa (GPx) proporciona un mecanismo para la desintoxicación de los peróxidos en las células vivas. Esta reacción juega un papel crucial en la protección de las células del daño causado por los radicales libres, que se forman por la descomposición del peróxido.

## Reducción de la oxidación de LDL

La oxidación de LDL ocurre cuando las partículas de colesterol LDL en el cuerpo reaccionan con los radicales libres. El LDL oxidado se vuelve más reactivo con los tejidos circundantes, lo que puede producir daño tisular.

Cuando el LDL se oxida, va directamente dentro del revestimiento interno de la arteria en el cuerpo. Una vez ahí, fomenta la acumulación de células inflamatorias, como los macrófagos, en el sitio del vaso y promueve su adhesión al área dañada.

### Reducción de la Oxidación de LDL



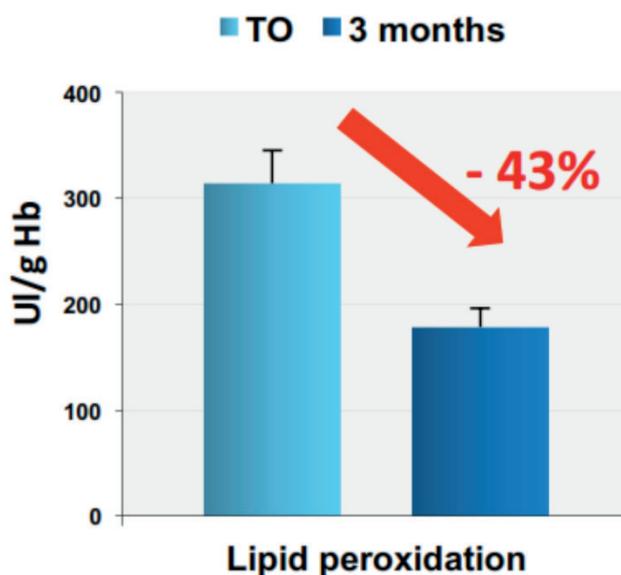
El tratamiento con Orisod Enzyme® exhibió una disminución significativa de los niveles de oxLDL (-29%), protegiendo las células y los vasos sanguíneos contra la inflamación.

### Reducción de la peroxidación lipídica

La peroxidación de lípidos es el proceso, por el cual, los radicales libres "roban" electrones de los lípidos en las membranas celulares, lo que resulta en daño celular y una mayor producción de radicales libres.

Los resultados muestran que el suplemento **ORISOD Enzyme®** redujo la peroxidación lipídica en un 43%, disminuyendo también el nivel del estrés oxidativo.

### Reducción de la peroxidación lipídica



## Conclusiones

Los resultados de este estudio muestran que la ingestión de **ORISOD Enzyme®** estimula la actividad de las enzimas antioxidantes en las células y las protege contra los riesgos derivados del estrés oxidativo: enfermedades cardiovasculares, diabetes, etc.

La actividad de las enzimas antioxidantes endógenas SOD y GPx, aumentó significativamente después de tres meses de ingesta: la SOD incrementó en un 25% y GPx un 19%. Estos resultados se confirman por la disminución significativa de los niveles de peroxidación lipídica (-43%) y oxLDL (-29%).

**ORISOD Enzyme®** es una nueva generación de antioxidantes destinados a reducir la oxidación y restaurar el sistema antioxidante natural del cuerpo. La tecnología de fermentación permite producir un complejo rico en metabolitos, que apoyan de forma sinérgica las enzimas antioxidantes del cuerpo. Cuando las defensas naturales del cuerpo se debilitan: edad, exposición al sol, estrés, malos hábitos alimenticios, etc., **ORISOD Enzyme®** ayuda a reforzar el sistema inmunológico, restaurar el metabolismo y proporcionar energía suficiente al cuerpo.

## 5.2 FIBROBLASTOS Y QUERATINOCITOS

### 5.2.1 FIBROBLASTOS Y QUERATONOCITOS POR TOXICIDAD DE SUPERÓXIDO

#### PROPOSITO DEL ESTUDIO

Estudiamos si **ORISOD Enzyme®** puede proteger contra los radicales libres generados por el sistema de hipoxantina-xantina oxidasa in vitro.

#### MÉTODO

Día 1

Inoculación de placas de 12 pocillos con 60,000 células por pocillo, en medio de cultivo MEM (fibroblastos) o en DMEM (queratinocitos) enriquecidos con suero de ternera fetal al 10%.

Día 3

Tratamiento con el sistema hipoxantina-xantina oxidasa, con o sin **ORISOD Enzyme®**, Hipoxantina: 160 µg/ml, Xantina oxidasa:

- Fibroblastos: 4 mU/ml
- Queratinocitos: 2 mU/ml

El producto de prueba se diluyó a 20 unidades en la solución de hipoxantina.

- Tiempo de contacto: 120 minutos a 37 °C en una atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub>.
- Las placas se enjuagaron con tampón HBSS (solución salina equilibrada de Hanks).
- Incubación con una solución de rojo neutro (50 µg/ml) durante 3 horas a 37 °C.

- Desarrollo de color con ácido acético/etanol absoluto/agua (1/49/50).
- Lectura a 540 nm.

## RESULTADOS

Los resultados se expresan como un porcentaje de actividad antirradical:

$$\% \text{ Activity} = \frac{A - B}{A} \times 100$$

$$\text{With A: Control toxicity} = \frac{A \text{ non-treated control} - A \text{ treated control}}{A \text{ non-treated control}}$$

$$\text{With B: Toxicity test} = \frac{A \text{ non-treated} - A \text{ treated test}}{A \text{ non-treated test}}$$

Con 0,5%, **ORISOD Enzyme®** protege las células de la toxicidad de los radicales libres, estos efectos protectores se confirman a una concentración más alta. En comparación con SOD de bovino (SIGMA) Francia, **ORISOD Enzyme®** es un antioxidante más poderoso que SOD.

Estos resultados se enumeran en la tabla a continuación.

	% de Actividad	
	Queratinocitos	Fibroblastos
ORISOD Enzyme® (0.5 %)	95%	100%
ORISOD Enzyme® (1 %)	97%	100%
SOD Bovino (20 U)	85%	100%

## 5.2.2 EFECTOS DE ORISOD ENZYME® EN LA VIABILIDAD DE FIBROBLASTOS Y QUERATINOCITOS

### PROPÓSITO DEL ESTUDIO

Estudiamos si **ORISOD Enzyme®** es citotóxico en dos modelos, utilizando queratinocitos NCTC.

Los **queratinocitos NCTC** se cultivaron en placas de 96 pocillos (inoculación por 20,000 células por pocillo) en medio DMEM que contenía 10% de suero de ternera fetal. Se realizó cultivo durante 24 horas en presencia de cantidades crecientes de **ORISOD Enzyme®**.

El medio fue reemplazado a 0,5 mg/ml.

La viabilidad celular se determinó leyendo a 540 nm con un lector de placas (IEMS, Labsystem), usando Fibroblastos Humano.

Las células se cultivaron como anteriormente en medio MEM que contiene M.T.T. a 0,5 mg/ml.

La viabilidad celular se determinó leyendo la placa a 540 nm con un lector.

<b>RESULTADOS viabilidad celular (%)</b>		
<b>ORISOD Enzyme®</b>	<b>Queratinocitos</b>	<b>Fibroblastos</b>
0.5 %	100 %	100 %
1 %	97 %	100 %
3 %	96 %	99 %
10 %	87 %	84 %

Después de 24 horas de contacto con **ORISOD Enzyme®**, no se observó citotoxicidad.

## 5.3 DETECCIÓN DE DAÑO EN EL ADN

## 5.4 EVALUAR LA EFICACIA DE ORISOD ENZYME® EN LA REDUCCIÓN DEL DAÑO DEL ADN

### PROPÓSITO DEL ESTUDIO

El propósito de esta investigación es evaluar la eficacia antioxidante de **ORISOD Enzyme®** en el plásmido de ADN. El 3D TEST (DNA Damage Detection) es un sistema de detección de microplacas rápido y sensible adaptado para detectar los efectos protectores de las muestras.

### PRESENTACIÓN GENERAL

La PRUEBA 3D permite la detección de agentes genotóxicos en la etapa temprana del daño del proceso: mutación y carcinogénesis. Su principio es la detección de daños mediante un sistema de reparación sin células reconstituido in vitro del proceso de reparación de daños en el ADN.

Los agentes genotóxicos pueden ser exógenos (irradiación UV, radiaciones ionizantes, sustancias químicas, etc.) o de origen endógeno (radicales libres producidos por el metabolismo celular). El ADN es el objetivo final de los agentes genotóxicos naturales o sintetizados.

Las consecuencias biológicas del daño del ADN en las células normales de mamíferos son los puntos que operan en la fase G2 de la mitosis de entrada del bloqueo del ciclo celular, posteriormente se permiten el proceso de reparación o la muerte celular programada (apoptosis).

Gran parte de la comprensión actual de los agentes genotóxicos, indujeron daño y reparación del ADN, para mostrar que los mamíferos tienen defectos en los sistemas de reparación del ADN, lo que podría contribuir a la inestabilidad genética y al cáncer.

### Generación de Especies Reactivas de Oxígeno

La formación de radicales hidroxilo se genera por escisión homolítica de peróxido de hidrógeno ( $^1\text{O}_2$ ) y es producido por fotoactivación de azul de metileno.

Estos ROS son electrófilos potentes que tienen una vida media muy corta (alrededor de  $10^{-9}$  segundos). Sin embargo, reaccionan muy rápidamente con bases de ADN e inducen diversos daños oxidativos, como modificaciones o pérdida de bases. Las alteraciones de las bases inducidas por ROS son reconocidas y eliminadas principalmente por la vía de reparación de la escisión de la base (BER).

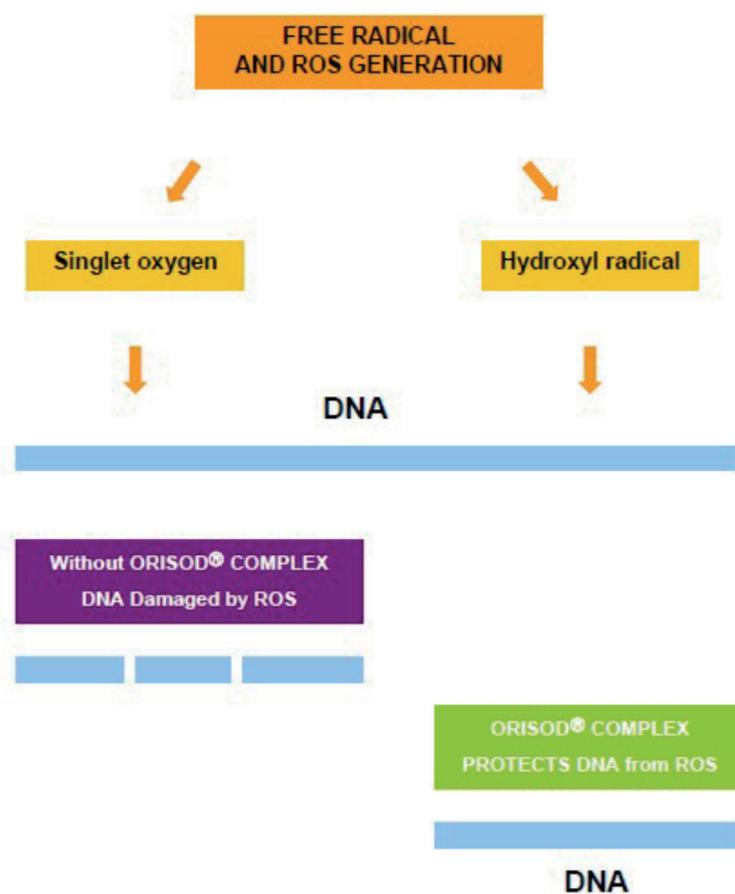
### Generación de ROS por escisión homolítica de peróxido de hidrógeno

El peróxido de hidrógeno se diluye a 10 mM con agua ultrapura (calidad MilliQ de Millipore). Esta solución oxidante se mezcla con el mismo volumen de diferentes diluciones de muestra, y se agregan 50  $\mu\text{l}$  de la mezcla en los pocillos que contienen el ADN plasmídico absorbido. Los pozos se irradian luego durante 1 minuto y 30 segundos bajo una lámpara UVB (312 nm) que corresponde a una cantidad de 700 julios/ $\text{m}^2$ .

### Generación de ROS por fotoactivación de azul de metileno

Se prepara una solución de azul de metileno a 4 ng/ml en agua ultrapura (calidad MilliQ de Millipore). Esta solución de azul de metileno se mezcla con un volumen igual de diferentes diluciones de muestra y se añaden 50 µl de la mezcla en los pocillos que contienen el ADN plasmídico absorbido. Los pozos se irradian con luz visible durante 20 minutos bajo dos lámparas de 100 vatios, separadas por 30 cm.

### PROTECTIVE EFFECTS OF ORISOD® COMPLEX



### MÉTODO DE PRUEBA 3D EN ADN DE PLÁSMIDO

#### Diluciones de muestras de prueba

La solución madre de las muestras de prueba se ajusta a una concentración de 100 mg/ml en etanol puro. Luego se preparan diluciones en serie de muestras dos veces más concentradas en 40% de etanol con agua ultrapura para obtener las concentraciones requeridas después de la adición de un volumen de solución de peróxido de hidrógeno o solución de azul de metileno.

La silimarina se usa como control para la caracterización antioxidante.

## RESULTADOS: EVALUACIÓN DE EFECTOS PROTECTORES SOBRE EL ADN

Según los mecanismos de acción antioxidante y el principio general de su detección mediante PRUEBA 3D, cualquier compuesto que exhibe un efecto antioxidante en respuesta al daño oxidativo inducido por ROS ( $^1\text{OH}^\circ$ ,  $\text{O}_2$ ) debería conducir a una inhibición dependiente de la dosis de la formación de daño oxidativo en el ADN bajo acciones oxidativas.

Los efectos protectores de la muestra de prueba sobre el ADN se expresan como el porcentaje de inhibición de la señal de reparación en presencia de ROS a través de su ADN de protección contra el daño oxidativo. El valor del 0% corresponde a la señal de reparación del ADN dañado por el oxidante solo.

El porcentaje de inhibición en presencia de ROS se calcula como la disminución relativa del efecto oxidativo perjudicial resultante de la exposición a oxidantes. ( $\text{OH}^\circ$  o  $^1\text{O}_2$ , i.e.)

$$\frac{[\text{RLU oxidant}] - [\text{RLU (oxidant + sample)}]}{[\text{RLU oxidant}]} \times 100$$

- Una protección real contra el daño oxidativo.
- Una disminución en la actividad de reparación en el ADN dañado debido a una interacción directa entre la molécula a analizar y el ADN o los micropocillos tratados.
- La aparición simultánea de estos dos fenómenos.

### Efectos protectores contra el oxígeno singlete en el ADN plasmídico

Los valores de esta tabla se han calculado a partir de valores en RLU.

	Dilución / concentración	% de protección con presencia de EOR ( $^1\text{O}_2$ )	% de inhibición no específica	% de protección específica	Concentración que da el 50% de la actividad protectora
ORISOD® suplemento alimenticio	10 %	64 %	2 %	62 %	1.23%
	1 %	49 %	5 %	49 %	
	0.1 %	33 %	3 %	30 %	
ORISOD® Cosmético	10 %	99 %	30 %	69 %	0.65%
	1 %	85 %	33 %	52 %	
	0.10 %	51%	12 %	39 %	
Silimarina	1mg/ml	81 %	2 %	79 %	0.04 mg/ml
	0.1 mg/ml	68 %	5 %	63 %	
	0.01mg/ml	29 %	0 %	29 %	

Tabla 1: Actividad antioxidante detectada por 3D TEST in vitro en ADN plasmídico.

La actividad antioxidante se mide como el porcentaje de protección específica contra el daño oxidativo del ADN y la concentración que proporciona una actividad protectora del 50%. Los valores dados en esta tabla se han calculado a partir de la señal de reparación detectada como RLU.

La silimarina, utilizada como referencia, tiene una buena capacidad antioxidante. Este producto previene el daño oxidativo inducido por la exposición al oxígeno singlete.

Se detecta una buena eficacia antioxidante con 3D TEST. Como se muestra en la tabla 1, la concentración del producto que produce un 50% de inhibición de la formación de daño en el ADN está entre 0,65% y 1,23%.

### Efectos protectores contra el radical hidroxilo

Los valores de esta tabla se han calculado a partir de valores en RLU.

	Dilución / centración	% de protección con presencia de EOR ( $^1O_2$ )	% de inhibición no específica	% de protección específica	Concentración que da el 50% de la actividad protectora
ORISOD® suplemento alimenticio	10 %	78 %	1 %	79 %	0.45 %
	1 %	65 %	5 %	60 %	
	0.1 %	43 %	4 %	39 %	
ORISOD® Cosmético	10 %	95 %	17 %	78 %	0.18 %
	1 %	76 %	11 %	65 %	
	0.10 %	47 %	2 %	45 %	
Silimarina	1mg/ml	77 %	7 %	70 %	0.046 mg/ml
	0.1 mg/ml	63 %	4 %	59 %	
	0.01mg/ml	40 %	8 %	32 %	

Tabla 2: Actividad antirradicales libres de ORISOD Enzyme® y antioxidante de referencia probado por 3D TEST en ADN plasmídico.

Los valores se calcularon a partir de la señal de reparación detectada como RLU. Se encuentra que la silimarina tiene una capacidad antirradical significativa, es un buen eliminador de ROS.

Se determina a ORISOD Enzyme® como eliminador de radicales, tiene un efecto protector sobre el ADN contra los radicales libres. La concentración de la muestra que produce un 50% de inhibición de la formación de daño en el ADN es de 0.18% para ORISOD Enzyme®.

### CONCLUSIONES

En este estudio, investigamos los efectos antioxidantes de ORISOD Enzyme®, por medio de 3D test in vitro. El uso de la prueba 3D en el ADN plasmídico tuvo como objetivo evaluar los posibles efectos protectores de ORISOD Enzyme® contra la oxidación del ADN inducida por la exposición a ROS.

Se observó una actividad protectora de muestras en el ADN contra la formación de daño oxidativo en el ADN plasmídico por especies reactivas de oxígeno. La actividad antioxidante de las muestras contra la eficacia de eliminación de radicales libres OH° se resume en la tabla 3.

	% de protección en presencia de OH°	% de protección en presencia de <sup>1</sup> O <sub>2</sub>
ORISOD Enzyme® Cosméticos	0.18%	0.65%
ORISOD Enzyme® Suplemento alimenticio	0.45%	1.23%

Tabla 3

Se observan fuertes actividades de eliminación de ROS in vitro para **ORISOD Enzyme®**, tanto para suplementos cosméticos como para alimentos. La actividad captadora de **ORISOD Enzyme®** para cosméticos tiene el mismo nivel que los polifenoles probados con la "PRUEBA 3D": miricetina o ácido elálgico.

## 5.5 FIBROBLASTOS Y QUERATINOCITOS

### 5.5.1 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS SUPLEMENTOS DE ORISOD® DURANTE EL EJERCICIO CRÓNICO

#### TÍTULO DEL ESTUDIO CLÍNICO

Actividad antiinflamatoria de los suplementos de **ORISOD®** durante el ejercicio crónico.

#### TIPO DE ESTUDIO

Procedimiento aleatorizado y doble ciego, controlado con placebo que compara **ORISOD®** y placebo.

#### LABORATORIO

INNOVATION LABO

Kanaya Bldg 5F, 4-11-3 Hatchobori Chuo-ku, Tokyo 104-0032 JAPAN.

Director: Dr. Ikeda Yuki

#### INFORMACIÓN DEL PRODUCTO

Nombre del producto: **ORISOD®**

Apariencia: Polvo

Color: Verde pálido

Sabor: Característico

## **OBJETIVO DEL ESTUDIO**

El objetivo de este estudio es determinar la eficacia de **ORISOD®** en el perfil de citoquinas.

## **VARIABLES EVALUADAS**

Los niveles de citoquinas inflamatorias se determinaron en muestras de sangre recolectadas respectivamente en el día 0 y en el día 30.

## **NÚMERO TOTAL DE PACIENTES**

20 sujetos varones sanos (alrededor de 20 años), 10 sujetos en el grupo **ORISOD®** y 10 sujetos en el grupo placebo.

## **DURACIÓN DEL TRATAMIENTO Y DOSIFICACIÓN**

Ingesta de 500 mg/día de suplemento **ORISOD®** y placebo durante un período de 30 días (2 tabletas de 250 mg, una antes del almuerzo y otra antes de la cena). Se especificó que cada tableta contenía 100 mg. de principios activos y 150 mg de excipiente para una cantidad total diaria de 200 mg de ingrediente.

## **INTRODUCCIÓN**

El ejercicio puede tener efectos positivos y negativos en la inflamación: la actividad moderada puede mejorar la función inmune, mientras que el ejercicio excesivo e intenso puede afectarla.

La actividad física intensa aumenta el consumo de oxígeno y activa la formación de ROS, lo que conduce a una respuesta inmune de fase aguda similar a la infección, que incluye signos de inflamación y liberación de citoquinas.

El objetivo de este estudio fue determinar la eficacia de **ORISOD®** para minimizar las acciones de los radicales libres resultantes del ejercicio y disminuir los marcadores inflamatorios.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

El estudio se realizó en 20 hombres jóvenes atléticos sanos durante 30 días. Los criterios de exclusión incluían enfermedades crónicas como hipertensión, diabetes, enfermedades cardiovasculares, alcoholismo, drogodependencia y otros hábitos alimentarios anormales o poco saludables. La dieta y la rutina de ejercicios fueron monitoreadas con reuniones semanales. Se pidió a los sujetos que evitaran la ingesta de cualquier otro suplemento durante la duración del ensayo.

Los 20 participantes fueron asignados, 10 en el grupo **ORISOD®** y 10 en grupo placebo. Los voluntarios tomaron 250 mg de **ORISOD®** en el desayuno y 250 mg en la cena (500 mg/día), el mismo caso fue con el placebo, todo esto en un lapso de 30 días.

Para asegurar la homogeneidad de los voluntarios, se realizó una selección estricta basada en características físicas similares.

Tabla 1 - Características físicas de 20 participantes en D0.

Parámetros	Grupo Placebo	Grupo ORISOD®
Edad	21.6	22.1
Estatura	178	181
Peso	73	78
IMC	22	24

Durante el estudio, los sujetos realizaron sesiones de carrera de una hora y media (aproximadamente 15 kilómetros), tres veces por semana durante 30 días. Las muestras de sangre se recogieron entre las 9 y las 11 de la mañana, todos los días. Así mismo, se tomaron muestras de sangre después de cualquier actividad física.

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se realizó utilizando el Paquete Estadístico para Ciencias Sociales (SPSS). Los resultados se expresaron como la media y los errores estándar de la media (media  $\pm$  SEM). Todos los datos fueron probados para normalidad.

### RESULTADOS

#### Niveles de citocinas IL-6 y TNF-a

Los resultados obtenidos en el presente estudio derivan de experimentos de estimulación de sangre completa, que es un sistema que se informa que está más cerca de las condiciones in vivo.

Como se muestra en la Figura 1, IL-6 disminuyó en ambos grupos, además, se observó una disminución más significativa para el grupo **ORISOD®** que para el grupo placebo cuando se compararon los valores finales de los dos grupos (-58% **ORISOD®** vs -22 % PLB).

Con respecto a la concentración de TNF-a (Figura 2), se observó una disminución significativa del nivel de esta citocina en el grupo **ORISOD®** (-54%). El grupo placebo solo exhibió una disminución débil (-14%).

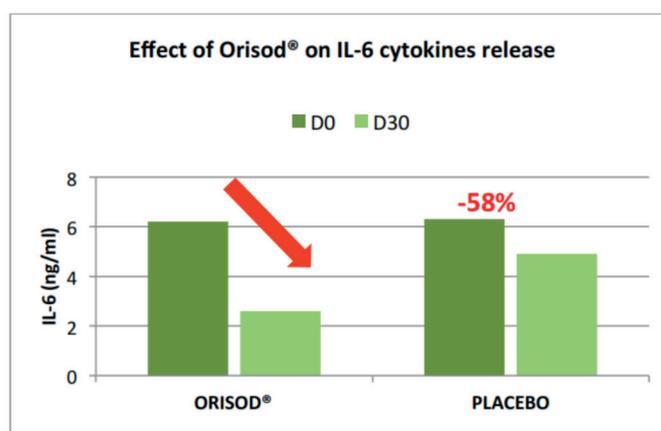


Figura 1: Efectos de la suplementación con Orisod sobre la liberación de citocinas IL-6.

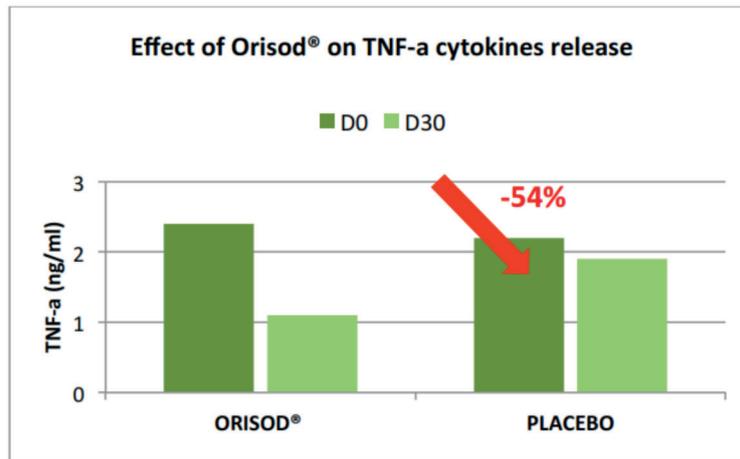


Figura 2: Efectos de la suplementación con Orisod sobre la liberación de citocinas TNF-a.

## DISCUSIÓN

En el presente estudio se examinó el efecto de **ORISOD®**, formulado con plantas naturales mediterráneas de olivo y romero, sobre los niveles de citocinas.

El ejercicio físico induce cambios agudos inmunológicos en el nivel de citocinas. Se observa un aumento en los niveles de IL-6, que parece derivar del músculo esquelético, así como un aumento en los niveles de TNF-a después de ejercicios intensos.

Además se observó una disminución significativa de los niveles de citocinas IL-6 y TNF-a después de 30 días. Estas disminuciones fueron claramente influenciadas por la suplementación con **ORISOD®**, ya que el grupo placebo no mostró ninguna diferencia.

## CONCLUSIÓN

En resumen, la ingesta de **ORISOD®** durante 30 días por hombres jóvenes sanos sometidos a un entrenamiento físico intenso regular, indujo una disminución de los niveles de citocinas IL-6 y TNF-a. Los antioxidantes **ORISOD®**, contenidos en los polifenoles de la aceituna y el romero, han demostrado un efecto protector contra el daño oxidativo, lo que resulta en la disminución de los signos de inflamación.

## 6. CONCLUSIONES

**ORISOD Enzyme®** es una nueva generación de antioxidantes formulada para respaldar el sistema antioxidante natural del cuerpo y mejorar su regeneración, incluyendo los daños relacionados con la edad. El olivo y el romero, cultivados en tierras mediterráneas en el sur de Francia, se utilizan para activar los procesos de autocuración de las células que existen naturalmente en el organismo vivo.

El proceso de fermentación único detrás de **ORISOD Enzyme®** permite producir un complejo rico en metabolitos que apoyan de manera sinérgica el metabolismo corporal al mejorar la digestibilidad de los polifenoles, mantener la estabilidad y ofrecer mejores resultados a largo plazo.

En lugar de los antioxidantes clásicos, como las vitaminas, los mecanismos de **ORISOD Enzyme®**, mejoraron las enzimas endógenas, la primera línea de defensa intracelular.

Este enfoque es más efectivo y más rápido para mejorar la salud de las células que el antioxidante clásico.

**ORISOD Enzyme®** apoya la desintoxicación del hígado al eliminar las toxinas que pueden provenir de factores internos o externos como la contaminación, el estrés, el tabaquismo o el alcohol. También ayuda a restaurar la biogénesis mitocondrial para la generación celular y la producción de energía.

Los resultados de los ensayos clínicos realizados con **ORISOD Enzyme®**, arrojaron datos significativos:

- **ORISOD Enzyme®** exhibió una mayor capacidad antioxidante que BHT (un poderoso antioxidante sintético) cuando se usa a una concentración idéntica durante el ensayo TBARS (- 33% en el nivel de oxidación).
- **ORISOD Enzyme®** mejora la actividad de dos enzimas antioxidantes endógenas principales: Superóxido Dismutasa SOD (+ 25%) y Glutathion Peroxidasa GPx (+ 19%).
- El tratamiento también exhibió disminuciones significativas de la peroxidación lipídica (-43%) y la oxidación de LDL (-29%), después de tres meses.
- Los antioxidantes contenidos en la fruta de olivo y los polifenoles de romero han demostrado un efecto protector contra el daño oxidativo, lo que resulta en la reducción de los signos de inflamación: disminución de los niveles de citocinas IL-6 (-58%) y niveles de citocinas TNF-a (-54%).
- **ORISOD Enzyme®** es una nueva generación de antioxidantes que actúan en modo de velocidad para reducir la oxidación y restaurar el sistema antioxidante natural del cuerpo, proporcionando la mejor eficacia en enfermedades crónicas