

اثر اسید رزمارینیک بر کاهش اکسیداسیون LDL در محیط برون تنی

*دکتر حسن احمدوند^۱(Ph.D) - دکتر علی خسرویگی^۲(Ph.D) - لایلا نعمتی^۳(M.Sc) - دکتر رضا حاج حسینی^۴(Ph.D)

*نویسنده مسئول: خرم آباد، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی

پست الکترونیک: hassan_a46@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۹۰/۱۰/۷ تاریخ پذیرش: ۹۱/۲/۱۶

چکیده

مقدمه: اکسیداسیون چربی‌ها از جمله LDL نقش مهمی در ایجاد آترواسکلروز دارد. مواد اکسیدان موجود در مواد غذایی با اکسیداسیون LDL منجر به ایجاد و پیشرفت آترواسکلروز می‌شود و مواد آنتی‌اکسیدان در جیره غذایی مانند ویتامین E و اسید رزمارینیک می‌تواند با مهار اکسیداسیون LDL از ایجاد و پیشرفت آترواسکلروز جلوگیری کند.

هدف: بررسی اثر اسید رزمارینیک بر اکسیداسیون LDL سرم ناشی از سولفات مس به صورت برون تنی (In vitro).

مواد و روش‌ها: از افراد سالم بعد از یک شب ناشتایی نمونه خون تهیه شد و LDL سرم جدا شده در گروه‌های کنترل، اکسید شده با مس و اسید رزمارینیک با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار مطالعه شد. برای بررسی اکسیداسیون LDL مقدار دی‌انهای کونجوگه و MDA (مالون دی‌آلدئید) تشکیل شده اندازه‌گیری شد و آثار غلظت‌های مختلف اسید رزمارینیک بر مهار اکسیداسیون LDL سرم بررسی شد.

نتایج: نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که اسید رزمارینیک باعث کاهش اکسیداسیون LDL سرم می‌شود، بطوری که میزان MDA (مالون دی‌آلدئید) تشکیل شده براساس غلظت اسید رزمارینیک به ترتیب ۳۱/۸، ۳۶/۷ و ۵۰/۳ درصد کاهش یافت. اثر مهار اسید رزمارینیک بر اکسیداسیون LDL متناسب با غلظت است (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار).

نتیجه‌گیری: نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که اسید رزمارینیک با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار به‌طور معنی‌داری باعث جلوگیری از اکسیداسیون LDL می‌شود و با بررسی‌های بیشتر این ترکیب ممکن است آثار مشابهی در درون تنی (In Vivo) داشته‌باشد.

کلید واژه‌ها: اسید رزمارینیک/اکسیدان‌ها/کلسترول، ال دی ال

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دوره بیست‌ویکم شماره ۸۳، صفحات: ۶-۱

مقدمه

در جلوگیری از بیماری قلب و عروق گزارش شده‌است (۱۱). پیش از این مطالعه‌ای در زمینه اثر مستقیم اسید رزمارینیک بر کاهش اکسیداسیون LDL سرم در محیط برون تنی انجام نشده‌بود. با توجه به شواهد تئوری استرس اکسیداتیو یکی از مهم‌ترین عوامل در ایجاد بعضی از بیماری‌ها از جمله آترواسکلروز، دیابت، سرطان، آلزایمر و غیره است (۶). در نتیجه می‌توان از موادی که به هر نحو در مهار استرس اکسیداتیو مؤثر باشند استفاده کرد. هدف این مطالعه بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی اسید رزمارینیک در اکسیداسیون LDL ناشی از سولفات بود.

مواد و روش‌ها

مواد: دی‌سدیم ایتیلن‌دی‌آمین تتراسات (Na₂EDTA)، پتاسیم برمید، سدیم کلرید، اسید رزمارینیک، دی‌سدیم هیدروژن

اکسیداسیون LDL نقش مهمی در ایجاد آترواسکلروز دارد. استفاده مواد اکسیدان در مواد غذایی باعث اکسیداسیون LDL شده و این باعث ایجاد و پیشرفت آترواسکلروز می‌شود (۱). وقتی LDL اکسید می‌شود، تمایل آن به گیرنده‌اش کاهش می‌یابد. جمع شدن LDL اکسیده در ماکروفاژها منجر به پیدایش سلول‌های کف‌آلود و تشکیل شدن آترواسکلروز می‌شود (۲ و ۳). با استفاده از مواد آنتی‌اکسیدان مانند ویتامین E و اسید رزمارینیک می‌توان از اکسیداسیون LDL جلوگیری و در نتیجه باعث جلوگیری از ایجاد آترواسکلروز شد (۷-۴).

اسید رزمارینیک استرئوایسومرهای ۳،۴-دی‌هیدروکسی فنیل اسیدلاکتیک است (۸ و ۹). مطالعات متعددی خواص آنتی‌اکسیدانی اسید رزمارینیک را گزارش کرده‌اند (۱۰). آثار مفید آن در درمان آترواسکلروز در حیوانات نیز گزارش شده‌است. در مطالعات دیگر اثرهای درمانی اسید رزمارینیک

اندازه‌گیری TBARS تشکیل شده: براساس روش Burge و Aust محصول پایانی پراکسیداسیون لیپید که TBARS است اندازه‌گیری شد. بعد از اضافه کردن سولفات مس و اسید رزمارینیک به نمونه‌های LDL برای مدت ۵ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد و در پایان با اضافه کردن EDTA با غلظت پایانی ۲ میلی‌مولار واکنش اکسیداسیون متوقف شد. برای اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپید ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه و ۱/۵ میلی لیتر تیوباربیتوریک اسید ۰/۶ درصد و یک میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید ۱۰ درصد اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای جوش قرار داده شد و بعد از سرد شدن ۱۵ دقیقه در دور ۱۰۰۰ سانتریفیوژ شد و جذب محلول‌های رویی در ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری شد و مقدار جذب‌های بدست آمده با استفاده از روش اسپکتروفتومتری مرئی و ضریب مولی ۱۵۶۰۰۰ بر مول-سانتی‌متر محاسبه و به عنوان MDA تشکیل شده بر حسب $\text{nm/mg} - \text{LDL} - \text{protein}$ گزارش شد (۱۴ و ۱۵).

آنالیز آماری: نتایج بدست آمده بصورت میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان شد. معنی‌دار بودن نتایج از نظر آماری و اختلاف بین گروه‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۳ و آزمون من ویتنی ارزیابی شد.

نتایج

بعد از اضافه کردن مس و غلظت‌های مورد نظر اسید رزمارینیک به نمونه‌ها و خواندن جذب نمونه‌ها به‌طور پیوسته هر ده دقیقه یکبار، منحنی کیتیک اکسیداسیون LDL رسم شد و مقدار دی‌ان‌های کونجوگه، TBARS‌های تشکیل شده اندازه‌گیری شد. نتایج بدست آمده نشان داد که اسید رزمارینیک بطور معنی‌داری اکسیداسیون LDL را در محیط برون تنی کاهش می‌دهد ($P < 0.05$). اثر اسید رزمارینیک بر مهار اکسیداسیون LDL با غلظت اسید رزمارینیک متناسب است (این وابستگی با غلظت خطی است).

برای بررسی کیتیک اکسیداسیون LDL، جذب‌های بدست آمده در ۲۳۴ نانومتر بر حسب زمان رسم شد که در نمودار ۱ نشان داده شده است.

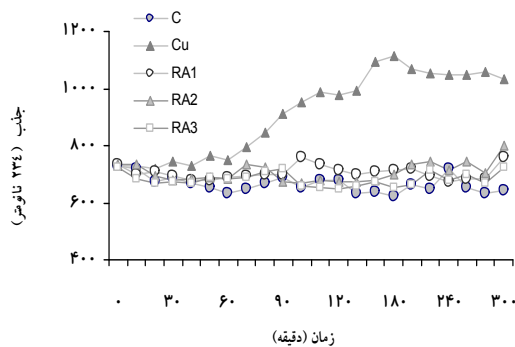
در نمودار مذکور ۳ قسمت مجزا دیده می‌شود: فاز تأخیری

فسفات (Na_2HPO_4) از شرکت سیگما خریداری شد.

نمونه‌گیری خون: نمونه‌های خون از افراد سالم بعد از یک شب ناشتایی گرفته شد. سرم آنها با استفاده از سانتریفیوژ (دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه) جدا شد و برای جلوگیری از اکسیداسیون نمونه‌های سرم به آنها سدیم آزید با غلظت نهایی (۰/۰۶٪ وزنی-حجمی) اضافه شد.

جداسازی LDL: سرم در مرکز تحقیقات قلب و عروق دانشگاه علوم پزشکی اصفهان با روش ناپیوسته شیب غلظتی با استفاده از اولتراسانتریفیوژ جدا شد. چگالی سرم با اضافه کردن برمید پتاسیم (۰/۳۶۵ گرم بر میلی‌لیتر) به ۱/۲۱ گرم بر میلی‌لیتر رسانده به لوله‌های سانتریفیوژ ۳/۵ میلی‌لیتر سدیم کلرید (۰/۱۵۴ مول بر لیتر) و ۱/۵ میلی لیتر از سرمهای غلیظ شده اضافه شد و توسط اولتراسانتریفیوژ بکمن L7-55 با دور rpm ۴۰۰۰۰ به مدت ۲/۵ ساعت در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. بعد از سانتریفیوژ یک لایه زردرنگ که LDL است جدا شد. LDL جدا شده به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در بافر PBS (بافر فسفات سالین) اکسیژن‌زدا شده حاوی سدیم آزید ۰/۰۱٪ و EDTA ۰/۰۱٪ دیالیز شد و در زمان دیالیز سه بار بافر تعویض شد (۴).

اکسیداسیون LDL: بعد از جداسازی LDL غلظت پروتئین آن با استفاده از روش برادفورد اندازه‌گیری شد (۱۲) و برای بررسی اکسیداسیون LDL با PBS ۱۰ میلی‌مولار و $\text{pH} = 7.4$ به ۱۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر رسید. بدنبال آن کنترل حاوی LDL و نمونه حاوی سولفات مس ۱۰ میکرومولار فاقد اسید رزمارینیک و نمونه‌های حاوی سولفات مس ۱۰ میکرومولار و اسید رزمارینیک با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار تهیه و معادل حجم اسید رزمارینیک استفاده شده حلال به نمونه کنترل و مس اضافه شد. تغییرات اکسیداتیو LDL با اندازه‌گیری جذب ماورای بنفش محلول در ۲۳۴ نانومتر هر ده دقیقه یکبار به مدت ۵ ساعت انجام شد (۱۳). برای ارزیابی کیتیک اکسیداسیون LDL منحنی جذب، جذب‌های بدست آمده بر حسب زمان نمونه‌ها رسم شد و با استفاده از منحنی رسم شده زمان تأخیری (Lag time) و غلظت پایانی دی‌ان‌های کونجوگه بعد از ۵ ساعت بدست آمد (با استفاده از ضریب خاموشی مولی ۲۹۵۰۰ لیتر بر مول بر سانتی متر).

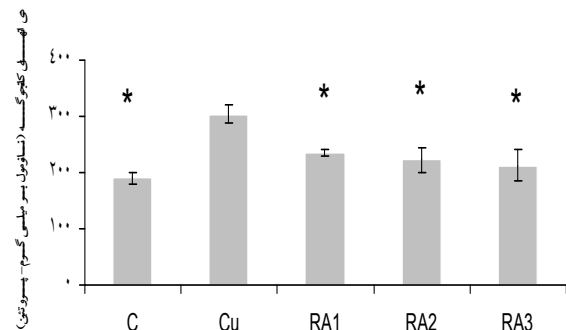


نمودار ۳: مقایسه اثر اسید رزمارینیک بر مهار تشکیل MDA ناشی از اکسیداسیون LDL. هر نقطه از میانگین بدست آمده از ۳ آزمایش است. C: n-LDL؛ Cu: n-LDL؛ Copper + n-LDL؛ RA1: n-LDL؛ اسید رزمارینیک با غلظت 50 μM ؛ RA2: n-LDL + اسید رزمارینیک با غلظت 100 μM ؛ RA3: n-LDL + اسید رزمارینیک با غلظت 200 μM . علامت* نشان‌دهنده آن است که نسبت به مس معنی‌دار است ($P < 0.05$). علامت** نشان‌دهنده آن است که نسبت به RA1 (n-LDL + اسید رزمارینیک با غلظت 50 μM) معنی‌دار است ($P < 0.05$).

تغییرات اکسیداتیو LDL از طریق اندازه‌گیری جذب ماورای بنفش محلول در ۲۳۴ نانومتر بعد از ۵ ساعت بدست آمد و براساس آن غلظت پایانی دی‌ان‌های کونجوگه (با استفاده از ضریب خاموشی مولی (۲۹۵۰۰) لیتر بر مول بر سانتی‌متر) بدست آمد. نتایج بدست آمده در نمودار ۲ نشان داده شده‌است. براساس نتایج بدست آمده اثر اسید رزمارینیک معنی‌دار است. همچنین با استفاده از منحنی کینتیک، زمان تاخیری (Lag time) بدست آمد. البته منحنی بدست آمده فقط در مورد نمونه LDL حاوی مس سه فازی است و در بقیه موارد (کنترل و غلظت‌های مختلف رزمارینیک اسید سه فازی نیست). نتایج بدست آمده در نمودار ۱ نشان داده شده‌است.

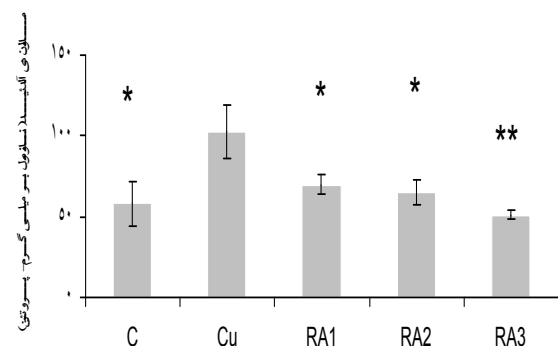
برای بررسی TBARS تشکیل شده، مطابق با روش توضیح داده شده، جذب نمونه‌ها در ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری شد و مقدار جذب‌های بدست آمده با استفاده از ضریب مولی به عنوان MDA تشکیل شده بر حسب $\text{nM/mg} - \text{LDL} - \text{protein}$ بدست آمد. نتایج بدست آمده در نمودار ۳ نشان داده شده‌است، براساس نتایج بدست آمده اثر غلظت‌های مختلف اسید رزمارینیک در کاهش MDA تشکیل شده نسبت به نمونه‌های سولفات مس فاقد اسید رزمارینیک معنی‌دار است.

(Lag phase)، فاز توسعه (propagation phase) که شدت اکسیداسیون LDL در این فاز افزایش می‌یابد و فاز خاتمه (decomposition) که اتمام اکسیداسیون LDL است.



گروه‌های آزمایش

نمودار ۱: کینتیک اثر اسید رزمارینیک بر مهار اکسیداسیون LDL در محلول PBS ۱۰ میلی‌مولار، $\text{pH} = 7.4$ در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد برای مدت ۵ ساعت. هر نقطه میانگین بدست آمده از ۳ آزمایش است. C: n-LDL؛ Cu: n-LDL؛ Copper + n-LDL؛ RA1: n-LDL + اسید رزمارینیک با غلظت 50 μM ؛ RA2: n-LDL + اسید رزمارینیک با غلظت 100 μM ؛ RA3: n-LDL + اسید رزمارینیک با غلظت 200 μM .



گروه‌های آزمایش

نمودار ۲: مقایسه اثر اسید رزمارینیک بر مهار تشکیل دی‌ان کونجوگه ناشی از اکسیداسیون LDL. هر نقطه از میانگین بدست آمده از ۳ آزمایش است. C: n-LDL؛ Cu: n-LDL؛ Copper + n-LDL؛ RA1: n-LDL؛ اسید رزمارینیک با غلظت 50 μM ؛ RA2: n-LDL + اسید رزمارینیک با غلظت 100 μM ؛ RA3: n-LDL + اسید رزمارینیک با غلظت 200 μM . علامت* نشان‌دهنده آن است که نسبت به مس معنی‌دار است ($P < 0.05$). علامت** نشان‌دهنده آن است که نسبت به RA1 (n-LDL + اسید رزمارینیک با غلظت 50 μM) معنی‌دار است ($P < 0.05$).

بحث و نتیجه گیری

اسید در بیماری‌های قلبی نشان داده شده است (۱۱). اسید رزمارینیک آثار ضد ویروسی، ضد باکتریایی، ضد التهابی و آثار آنتی اکسیدانی دارد (۸، ۱۷ و ۱۸). عصاره‌های گیاهانی مانند رزماری که محتوی اسید رزمارینیک است دارای ظرفیت آنتی اکسیدانی بالایی است و به عنوان نگهدارنده در غذاها استفاده می‌شود (۱۹ و ۲۰). نتایج حاصل از مطالعه ما با نتیجه حاصل از مطالعات دیگران که نشان‌دهنده نقش آنتی اکسیدانی رزمارینیک اسید است مطابقت دارد.

نتایج نشان داد که اسید رزمارینیک بطور مؤثری باعث مهار اکسیداسیون LDL می‌شود. هر چند که مکانیسم دقیق اثر اسید رزمارینیک بر مهار اکسیداسیون LDL مشخص نیست ولی اثر مهاری اسید رزمارینیک بر اکسیداسیون LDL ممکن است ناشی از اثر آن در حذف رادیکال‌های آزاد یا در رسوب و شلاته گردن یون‌های مس که به عنوان عوامل اکسیدان هستند، باشد. همچنانکه لارنجین‌ها و همکارانش (Laranjinha, et al) مکانیسم احتمالی عصاره‌های گیاهی و آنتی اکسیدان‌ها بر مهار اکسیداسیون LDL را بصورت زیر پیشنهاد کردند: ۱- حذف گونه‌های مختلف رادیکال‌های آزاد، ۲- تعامل با رادیکال پروکسی در سطح LDL، ۳- خاتمه پراکسیداسیون لیپید از طریق حذف رادیکال‌های لیپیدی، ۴- بازیابی و فعال کردن چرخه دوباره آنتی اکسیدان‌های داخلی مانند ویتامین E و آلفا توکوفرول (۲۱).

باتوجه به نتایج حاصل از این تحقیق می‌توان مطالعات بیشتری در راستای بررسی نقش آنتی اکسیدانی و مطالعات مشابهی در درون تنی انجام داد و همچنین مطالعاتی را برای بررسی اثر آن در بیماران قلبی- عروقی و دیابتی پی‌ریزی نمود، به نحوی که بتوان با استفاده از آن به درمان راحت‌تر یا بهبود الگوی زندگی بیماران قلبی- عروقی و دیابتی دست یافت.

بر اساس نتایج بدست آمده در این مطالعه اسید رزمارینیک بطور مؤثری باعث مهار اکسیداسیون LDL می‌شود. اکسیداسیون LDL در دیواره عروق عامل اصلی پیدایش و توسعه آترواسکلروز است (۲). بر اساس مطالعات انجام شده در افراد مبتلا به آترواسکلروز، مقادیر کمتری مواد آنتی اکسیدان (نسبت به افراد سالم) وجود دارد (۳). مس از طریق واکنش فنتون و هابرویس باعث ایجاد رادیکال‌های آزاد می‌شود و احتمالاً از این طریق باعث اکسید شدن LDL می‌شود و بدنبال آن میزان لیپید پراکسیدها و دی‌ان‌های کونجوگه افزایش می‌یابد و میزان آنتی اکسیدان‌های موجود در ساختمان LDL مانند ویتامین E و آلفا توکوفرول بدلیل تعامل با رادیکال‌های آزاد بوجود آمده توسط مس کاهش می‌یابد (۱۶). بر اساس نتایج بدست آمده در این مطالعه اسید رزمارینیک بطور معنی‌دار باعث کاهش دی‌ان‌های کونجوگه و TBARS می‌شود. اثر اسید رزمارینیک در کاهش دی‌ان‌های کونجوگه و متناسب با غلظت اسید رزمارینیک است. اثر اسید رزمارینیک در کاهش TBARS بطور معنی داری متناسب با غلظت اسید رزمارینیک است که با توجه به نتایج بدست آمده اثر اسید رزمارینیک در کاهش TBARS در غلظت ۲۰۰ میکرومولار نسبت به ۵۰ میکرومولار معنی دار است. همچنین زمان تأخیری (Lag time) تحت اثر اسید رزمارینیک بطور فزاینده‌ای افزایش یافت بطوری که منحنی کینتیک نمونه LDL که فقط حاوی مس است یک منحنی سه فازی است ولی نمونه‌های LDL حاوی اسید رزمارینیک مشابه کنترل بوده و منحنی سه فازی نیست و در اکسیداسیون LDL وقفه ایجاد شده است.

بر اساس نتایج بدست آمده اسید رزمارینیک یک آنتی اکسیدان قوی است، همچنین در مطالعات دیگر نقش محافظتی رزمارینیک

منابع

1. Willcox BJ, Curb JD, Rodriguez BL. Antioxidants in Cardiovascular Health and Disease: Key Lessons from Epidemiologic Studies. Am J Cardiol 2008; 101 (10A): 75D- 86D.
2. Lobbes MB, Lutgens E, Heeneman S, Cleutjens KB, Kooi ME, Van Engelshoven JM, Daemen MJ,

- Nelemans PJ. Is There More Than C-Reactive Protein and Fibrinogen? The Prognostic Value of Soluble CD40 Ligand, Interleukin-6 and Oxidized Low-Density Lipoprotein with Respect To Coronary and Cerebral Vascular Disease. Atherosclerosis 2006; 187(1):18-25.

3. Steinberg D. Low Density Lipoprotein Oxidation and Its Pathobiological Significance. *J Biol Chem* 1997; 272(34):20963-6.
4. Ani M, Moshtaghi AA, Ahmadvand H. Comparative Effects of Copper, Iron, Vanadium and Titanium on Low Density Lipoprotein Oxidation In vitro. *Iran Biomed J* 2007;11(2):113-118.
5. Ahmadvand H, Khosrobeigi A, Bagheri S, Haji Hosseini R, Ghazanfari F and Nemati M. Comparison Of Inhibitory Effects of Satureja Khuzistanica Oil Extract, Vitamin E and Coenzyme Q10 On LDL Oxidation In vitro. *Yafteh* 2008; 11(4): 25-31.
6. Leopold JA, Loscalzo J. Oxidative Risk for Atherothrombotic Cardiovascular Disease. *Free Radic Biol Med* 2009; 15; 47(12):1673-706.
7. Yekini I, Hammoudi F, Martin-Nizard F, Yous S, Lebegue N, Berthelot P, Carato P. Antioxidant Activity of Benzoxazolinonic And Benzothiazolinonic Derivatives in The LDL Oxidation Model. *Bioorg Med Chem* 2009; 15; 17(22):7823-30.
8. Petersen M, Simmonds M S J. Molecules of Interest. Rosmarinic Acid. *Phytochemistry* 2003; 62: 121–125.
9. Sánchez-Campillo M, Gabaldon J A, Castillo J, Benavente-García O, Del Baño M J, Alcaraz M, Vicente V, Alvarez N, Lozano J A. Rosmarinic Acid, A Photo-Protective Agent Against UV And Other Ionizing Radiations. *Food and Chemical Toxicology* 2009; 47(2): 386-392.
10. Cao H, Cheng W, Li C, Pan X, Xie X, Li T. DFT Study on the Antioxidant Activity of Rosmarinic Acid. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM* 2005; 719(1-3): 177-183.
11. Huang S, Zheng R. Rosmarinic Acid Inhibits Angiogenesis And Its Mechanism Of Action In vitro. *Cancer Letters* 2006; 239(2): 271-280.
12. Bradford MM. A Rapid and Sensitive Method for The Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing The Principle of Protein-Dye Binding. *Anal Biochem* 1976; 7; 72:248-54.
13. Navder KP, Baraona E, Leo MA, Lieber CS. Oxidation of LDL in Baboons Is Increased by Alcohol and Attenuated by Polyenylphosphatidylcholine. *J Lipid Res* 1999; 40(6):983-7.
14. Seven A, Civelek S, Inci E, Inci F, Korkut N, Burçak G. Evaluation of Oxidative Stress Parameters in Blood of Patients With Laryngeal Carcinoma. *Clin Biochem* 1999; 32(5):369-73.
15. Sheu JY, Chen PH, Tseng WC, Chen CY, Tsai LY, Huang YL. Spectrophotometric Determination of A Thiobarbituric Acid-Reactive Substance in Human Hair. *Anal Sci* 2003; 19(6):957-60.
16. Itabe H. Oxidative Modification of LDL: its Pathological Role in Atherosclerosis. *Clin Rev Allergy Immunol* 2009; 37(1):4-11.
17. Osakabe N, Yasuda A, Natsume M, Yoshikawa T. Rosmarinic Acid Inhibits Epidermal Inflammatory Responses: Anticarcinogenic Effect Of Perilla Frutescens Extract In The Murine Two-Stage Skin Model . *Carcinogenesis* 2004; 25(4): 549—557.
18. Jung Lee H, Cho H, Park E, Kim S, Lee S, Kim C, Kyung Kim D, Kim Sand Sung Chun H. Rosmarinic Acid Protects Human Dopaminergic Neuronal Cells Against Hydrogen Peroxide-Induced Apoptosis. *Toxicology* 2008; 250(2-3): 109-115.
19. Tepe B. Antioxidant Potentials And Rosmarinic Acid Levels of The Methanolic Extracts of Salvia Virgata (Jacq), Salvia Staminea (Montbret & Aucher Ex Benth) and Salvia Verbenaca (L.) from Turkey. *Bioresource Technology* 2008; 99: 1584–1588.
20. Erkan N, Ayranci G, Ayranci E. Antioxidant Activities of Rosemary (Rosmarinus Officinalis L.) Extract, Blackseed (Nigella Sativa L.) Essential Oil, Carnosic Acid, Rosmarinic Acid and Sesamol. *Food Chemistry* 2008; 110: 76–82.
21. Laranjinha JA, Almeida LM, Madeira VM. Reactivity of Dietary Phenolic Acids with Peroxyl Radicals: Antioxidant Activity upon Low Density Lipoprotein Peroxidation. *Biochem Pharmacol* 1994; 3; 48(3):487-94.

Inhibitory Effects of Rosmarinic Acid on LDL Oxidation In vitro

*Ahmadvand H.(Ph.D)^{1,2}- Khosrowbeygi A.(Ph.D)²- Nemati L.(M.Sc)²- Haj hosseini R.(Ph.D)³

*Corresponding Address: Razi Herbal Medicine Research Center, Lorestan University of Medical Sciences,
Khoramabad, IRAN

Email: hassan_a46@yahoo.com

Received: 28/Dec/2011 Accepted: 5/May/2012

Abstract

Introduction: Oxidation of low-density lipoprotein (LDL) has been strongly implicated in the pathogenesis of atherosclerosis. The use of antioxidant compounds in dietary food stuffs including vitamin E and rosmarinic acid may lead to the inhibition of production of oxidized LDL and may decrease both the development and the progression of atherosclerosis.

Objective: The present work investigated the effects of Rosmarinic Acid (RA) on LDL oxidation induced-CuSO₄ quantitatively in vitro.

Materials and Methods: Fasting blood samples from normal people after an overnight fasting were collected and then LDL was isolated. LDL was incubated without CuSO₄ as control and incubated with CuSO₄ and several concentrations of RA (50, 100 and 200 μ M); and measured the formation of conjugated dienes and Malondialdehyde (MDA). Inhibition of this Cu-induced oxidation was studied in the presence of several concentrations of RA (50, 100 and 200 μ M).

Results: It was demonstrated that RA is able to decrease CuSO₄-induced LDL oxidation. Rosmarinic acid showed a decrease in the formation of (MDA). Rates of 31.8%, 36.7% and 50.3% were seen at concentrations ranging from 50, 100 and 200 μ M, respectively, against oxidation in vitro. The inhibitory effects of the RA on LDL oxidation were dose-dependent at concentrations ranging from 50 to 200 μ M.

Conclusion: This study showed that RA at concentrations (50, 100 and 200 μ M) prevented the oxidation of LDL in vitro and it may suggest that they have the similar effect in vivo.

Key words: Cholesterol LDL/ Oxidants/ Rosmarinic Acid

Journal of Guilan University of Medical Sciences, No: 83, Pages: 1-6

1. Razi Herbal Medicine Research Center, Lorestan University of Medical Sciences, Khoramabad, IRAN

2. Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Lorestan University of Medical Sciences, Khoramabad, IRAN

3. Department of Biochemistry, Central Organization of Tehran Payame nour University, Tehran, IRAN