

## Rosmarinic Acid Protects against Lipopolysaccharide Induced Acute Lung Injury in Rats

Li JIANG <sup>1</sup> #, Tao ZHANG <sup>2</sup> #, Fangtao YAN <sup>3</sup>, Jian SHEN <sup>3</sup> \* & Souravh BAIS <sup>4</sup>

<sup>1</sup> Department of Intensive Care Unit, The Third People's Hospital of Chengdu, Chengdu City, Sichuan Province, 610031, China

<sup>2</sup> Department of Emergency, The People's Hospital of Dazu Chongqing, Chongqing, China

<sup>3</sup> Department of Pulmonary and Critical Care Medicine, Chengdu Institute of Respiratory Health, The Third People's Hospital of Chengdu, Chengdu City, Sichuan Province, 610031, China

<sup>4</sup> Institute of Pharmaceutical Sciences SAGE University Indore

**SUMMARY.** Lipopolysaccharide (LPS)-induced endotoxemia triggers the secretion of proinflammatory cytokines and can cause acute lung injury (ALI). The high mobility group box 1 (HMGB1) protein plays an important role as a late mediator of sepsis and ALI. Rosmarinic acid is an acetyl cholinesterase inhibitor that inhibits the expression of HMGB1. This study evaluated the effects of rosmarinic acid by measuring levels of inflammatory mediators and observing histopathological features associated with LPS induced ALI. Sixty 8–10 week old male Sprague-Dawley rats (200–240 g) were randomized into three groups as follows: control group, LPS group (7.5 mg/kg LPS), and LPS+ rosmarinic acid group (5 mg/kg rosmarinic acid before LPS administration). Histopathological examination of lung specimens obtained 12 h after LPS administration was performed to analyse changes in wet-to-dry (W/D) weight ratio, myeloperoxidase (MPO) activity, and HMGB1 expression level. Additionally, plasma concentrations of tumour necrosis factor- $\alpha$ , interleukin-6, and HMGB1 were measured using an enzyme-linked immunosorbent assay at 0 (baseline), 3, 6, 9, and 12 h after LPS administration. Mortality in the three groups was recorded at 72 h. LPS-induced ALI was characterized by distortion of pulmonary architecture and elevation of MPO activity, W/D weight ratio, and levels of pro-inflammatory cytokines, including tumour necrosis factor- $\alpha$ , interleukin-6, and HMGB1. Pre-treatment with RA significantly reduced the LPS-induced lung pathological changes, W/D weight ratio, levels of pro-inflammatory cytokines and MPO activity (ANOVA). Moreover, rosmarinic acid treatment significantly decreased the mortality rate (ANOVA). In conclusion, we demonstrated that rosmarinic acid exerted a protective effect on LPS-induced ALI in rats.

**RESUMEN.** La endotoxemia inducida por lipopolisacáridos (LPS) desencadena la secreción de citoquinas proinflamatorias y puede causar lesión pulmonar aguda (ALI). La proteína de la caja 1 del grupo de alta movilidad (HMGB1) juega un papel importante como mediador tardío de la sepsis y la ALI. El ácido rosmarínico es un inhibidor de la acetilcolinesterasa que inhibe la expresión de HMGB1. Este estudio evaluó los efectos del ácido rosmarínico midiendo los niveles de mediadores inflamatorios y observando las características histopatológicas asociadas con la LPA inducida por LPS. Sesenta ratas macho Sprague-Dawley de 8 a 10 semanas de edad (200 a 240 g) se aleatorizaron en tres grupos de la siguiente manera: grupo de control, grupo de LPS (7,5 mg/kg de LPS) y grupo de ácido rosmarínico LPS+ (5 mg/kg de ácido rosmarínico). antes de la administración de LPS). Se realizó un examen histopatológico de muestras de pulmón obtenidas 12 h después de la administración de LPS para analizar los cambios en la relación de peso húmedo a seco (W/D), la actividad de mieloperoxidasa (MPO) y el nivel de expresión de HMGB1. Además, las concentraciones plasmáticas de factor de necrosis tumoral- $\alpha$ , interleucina-6 y HMGB1 se midieron mediante un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas a las 0 (línea de base), 3, 6, 9 y 12 h después de la administración de LPS. La mortalidad en los tres grupos se registró a las 72 h. La ALI inducida por LPS se caracterizó por la distorsión de la arquitectura pulmonar y la elevación de la actividad de la MPO, la proporción de peso W/D y los niveles de citoquinas proinflamatorias, incluido el factor de necrosis tumoral- $\alpha$ , la interleucina-6 y HMGB1. El pretratamiento con AR redujo significativamente los cambios patológicos pulmonares inducidos por LPS, la relación ponderal W/D, los niveles de citoquinas proinflamatorias y la actividad MPO (ANOVA). Además, el tratamiento con ácido rosmarínico disminuyó significativamente la tasa de mortalidad (ANOVA). En conclusión, demostramos que el ácido rosmarínico ejerce un efecto protector sobre la ALI inducida por LPS en ratas.

**KEY WORDS:** acute lung injury, HMGB1, lipopolysaccharide, rosmarinic acid.

# Li Jiang and Tao Zhang are co-first authors, they contributed equally to this work

\* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: shenjian9752@sina.com