

Données sur l'utilisation du magnolol dans un modèle expérimental d'asthme bronchique compliqué par une lésion pulmonaire aiguë

Diana Cezarina Petrescu

Département des sciences morpho-fonctionnelles II, Faculté de médecine
Université de Médecine et Pharmacie
"Grigore T. Popa"
Iași, Roumanie
diana.petrescu@umfiasi.ro

Andrei Gheorghe Vicovan

Département des sciences morpho-fonctionnelles II, Faculté de médecine
Université de Médecine et Pharmacie
"Grigore T. Popa"
Iași, Roumanie
andrei-gheorghe.vicovan@umfiasi.ro

Aurelia Crețu

Département des sciences morpho-fonctionnelles II, Faculté de médecine
Université de Médecine et Pharmacie
"Grigore T. Popa"
Iași, Roumanie
aurelia.cretu@umfiasi.ro

Daniela Constantinescu

Département des sciences morpho-fonctionnelles I-Immunologie, Faculté de médecine
Université de Médecine et Pharmacie
"Grigore T. Popa"
Iași, Roumanie
d.constantinescu@umfiasi.ro

Carmen Solcan

Département IX-Discipline d'histologie, d'embryologie et de biologie moléculaire
Faculté de Médecine Vétérinaire,
Université des sciences de la vie "Ion Ionescu de la Brad",
Iași, Roumanie
carmensolcan@yahoo.com

Cristina Mihaela Ghiciuc

Département des sciences morpho-fonctionnelles II, Faculté de médecine
Université de Médecine et Pharmacie
"Grigore T. Popa"
Iași, Roumanie
cristina.ghiciuc@umfiasi.ro

Résumé— L'asthme bronchique sévère est une pathologie respiratoire associée à un risque d'évolution vers une lésion pulmonaire aiguë (LPA), une situation clinique qui nécessite une optimisation de la stratégie thérapeutique. Le magnolol (MAGN), un composé polyphénolique extrait de *Magnolia officinalis*, présente un profil pharmacodynamique complexe avec des effets bénéfiques à la fois sur l'asthme bronchique et sur les lésions pulmonaires aiguës. L'objectif de cette étude était d'évaluer les effets de MAGN sur l'équilibre des cytokines dans un modèle expérimental d'asthme allergique sensibilisé à l'ovalbumine (OVA) superposé à une lésion pulmonaire aiguë induite par le lipopolysaccharide (LPS). Trois groupes de souris BALB/c OVA+LPS ont reçu dexaméthasone (DEXA, 1 mg/kg) ou magnolol (MAGN-D1, 50 mg/kg, ou MAGN-D2, 100 mg/kg). Des échantillons de liquide de lavage broncho-alvéolaire (LBA) et de tissu pulmonaire ont été prélevés pour déterminer les niveaux de cytokines. Les résultats ont révélé que MAGN diminuait de manière significative les concentrations de TNF- α , IL-6 et IL-17/IL-17A, MAGN-D2 étant plus efficace pour réduire les niveaux de ces cytokines. Les résultats de l'étude doivent être interprétés en tenant compte de la complexité du modèle expérimental et de la nécessité de poursuivre les recherches sur les mécanismes d'action par lesquels les différentes doses de MAGN exercent leur effet anti-inflammatoire et immunomodulateur dans l'asthme sévère exacerbé par une lésion pulmonaire aiguë.

Mots-clés— magnolol, asthme, lésions pulmonaires aiguës, cytokines

I. INTRODUCTION

Les données actuelles indiquent que l'asthme sévère est associé à un risque accru de pneumonie, reconnue comme la principale cause de lésions pulmonaires aiguës. L'asthme sévère représente un défi considérable en pratique clinique, contribuant significativement à la morbidité et à la mortalité globales associées à cette pathologie [1]. L'asthme bronchique est une maladie respiratoire chronique caractérisée par une inflammation persistante des voies respiratoires et un remodelage structurel. Sa prévalence est particulièrement élevée, les estimations suggérant qu'environ 334 millions de personnes dans le monde sont touchées par l'asthme [2]. Par conséquent, l'asthme est une affection pathologique qui augmente la probabilité d'évolution vers une lésion pulmonaire aiguë [3,4].

La lésion pulmonaire aiguë (LPA) est caractérisée par des lésions apoptotiques induites par une réponse inflammatoire intense affectant l'endothélium alvéolaire et les cellules épithéliales, entraînant une altération de la barrière alvéolo-capillaire et, dans les cas extrêmes, une insuffisance respiratoire aiguë et un syndrome de détresse respiratoire aiguë [5,6]. Ainsi, en ce qui concerne l'approche thérapeutique de cette pathologie, les options thérapeutiques actuelles sont limitées et influencées par le degré de gravité associé à la lésion pulmonaire aiguë [6]. Malgré la complexité des interventions thérapeutiques appliquées dans la stratégie thérapeutique de cette maladie, les taux de mortalité et de morbidité restent considérablement élevés [7].

Le contexte actuel concernant ces pathologies respiratoires souligne l'impérieuse nécessité de développer des stratégies thérapeutiques optimales permettant un meilleur contrôle de l'évolution clinique des patients et une réduction de la mortalité au sein de la population générale [8,9,10,11].

L'activité biologique et pharmacologique du magnolol (MAGN), un composé polyphénolique isolé de *Magnolia officinalis*, a fait l'objet de nombreuses recherches. Ces études ont mis en évidence le profil multifonctionnel du magnolol, caractérisé par des effets pharmacodynamiques tels que des propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes [12,13], antitumoral [14,15], cardioprotecteur [16,17], neuroprotecteur [18], anxiolytique, sédatif, hypnotique [19], antidépresseur [20], effet régulateur sur le métabolisme lipidique et glucidique [21,22] et antibactérien [23]. Des études portent également sur le rôle protecteur du magnolol, en fonction de la dose, dans l'asthme ou les lésions pulmonaires aiguës [24,25]. Par conséquent, dans notre étude, nous avons cherché à évaluer les effets du magnolol dans l'asthme allergique sensibilisé à l'ovalbumine (OVA) exacerbé par une LPA induite par le lipopolysaccharide (LPS) en analysant la réponse cytokinique, car le rôle du magnolol dans ce modèle expérimental n'a pas encore été évalué.

II. MATÉRIAUX ET MÉTHODES

A. Animaux, considérations éthiques et conception de la recherche expérimentale

Le modèle expérimental d'asthme bronchique sévère exacerbé par une lésion pulmonaire aiguë a été obtenu chez 24 souris femelles BALB/c, achetées auprès de l'Institut

Cantacuzino de Bucarest. Le Comité d'éthique de la recherche de l'Université de Médecine et de Pharmacie "Grigore T. Popa" de Iași a évalué le protocole de recherche et a donné son accord pour la réalisation de l'étude. L'étude expérimentale a été menée dans les locaux du Centre Avancé de Recherche et de Développement en Médecine Expérimentale (CEMEX), conformément à la Directive Européenne 2010/63/UE et à la Législation Roumaine (loi n° 43/2014) relatives à la protection des animaux utilisés à des fins de recherche scientifique. Les animaux ont été répartis en 4 groupes (n = 6 dans chaque groupe) comme suit : groupe OVA+LPS (groupe contrôle positif de la maladie), qui a reçu des inhalations de solution d'OVA après une sensibilisation intrapéritonéale à l'OVA et des instillations intratrachéales de LPS ; groupe OVA+LPS+DEXA (groupe contrôle positif du traitement), qui a reçu des inhalations de solution d'OVA après une sensibilisation intrapéritonéale à l'OVA, des instillations intratrachéales de LPS et un traitement à la dexaméthasone (1 mg/kg, par voie intrapéritonéale) ; groupe OVA+LPS+MAGN-D1 qui a été exposé à l'inhalation de solution d'OVA après une sensibilisation intrapéritonéale à l'OVA, une instillation intratrachéale de LPS et un prétraitement/traitement au MAGN-D1 (50 mg/kg par gavage) ; groupe OVA+LPS+MAGN-D2 exposé à l'inhalation d'une solution d'OVA après sensibilisation intrapéritonéale avec de l'OVA, instillation intratrachéale de LPS et prétraitement/traitement avec MAGN-D2 (100 mg/kg par gavage).

B. Protocole de sensibilisation à l'ovalbumine

Les souris des groupes OVA+LPS, OVA+LPS+DEXA, OVA+LPS+MAGN-D1 et OVA+LPS+MAGN-D2 ont reçu une injection intrapéritonéale d'une solution d'OVA/hydroxyde d'aluminium dans un volume total de 0,2 ml par souris, aux jours 0 et 7, suivie d'une provocation à l'OVA pendant 25 minutes dans une chambre d'inhalation par aérosolisation de 10 ml d'OVA à 1 % diluée dans du PBS [26], aux jours 14, 15, 16 et 17.

C. Induction d'un modèle expérimental d'asthme bronchique allergique avec lésions pulmonaires aiguës (LPA) et administration du traitement

Les jours 15 et 18, une heure après l'aérosolisation d'OVA, les souris ont reçu, sous anesthésie générale par injection intrapéritonéale de kétamine (80 mg/kg) et de xylazine (10 mg/kg), une administration intratrachéale de LPS, qui a été réalisée selon le modèle développé par Ehrentraut et al. [27]. Le magnolol a été administré quotidiennement par gavage à la dose de 50 mg/kg (groupe OVA+LPS+MAGN-D1) ou de 100 mg/kg (groupe OVA+LPS+MAGN-D2), du jour 0 (premier jour d'exposition à l'OVA) jusqu'au jour 18, comme décrit par Huang [24] et Lin [28].

D. Analyse des cytokines dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire

Vingt-quatre heures après la dernière provocation à l'OVA, le liquide de lavage broncho-alvéolaire (LBA) a été recueilli sous anesthésie générale induite par la kétamine et la xylazine. Pour ce faire, une incision trachéale a été réalisée, la trachée a été exposée puis canulée. Le prélèvement du BALF a consisté en trois cycles successifs d'instillation-aspiration de 0,5 ml de PBS tiède (37 °C) à travers la canule trachéale, pour un volume total de 1,5 ml. Le liquide recueilli a été maintenu sur glace jusqu'à sa centrifugation à 250 × g pendant 5 min à 4 °C. Les

surnageants ont ensuite été recueillis, transférés dans des tubes Eppendorf, centrifugés à 10 000 × g pendant 15 min à 4 °C, aliquotés en fractions de 150 µl dans d'autres tubes, puis conservés à -80 °C jusqu'au dosage des cytokines. Le kit LXSAMSM-08 Luminex Mouse Premixed Multi-Analyte (R&D Systems, États-Unis) a été utilisé pour quantifier l'IFN-γ, l'IL-4, l'IL-5, l'IL-6, l'IL-13, l'IL-17/IL-17A, le TNF-α et le VEGF dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire.

E. Analyse des cytokines dans l'homogénat de tissu pulmonaire

Le poumon droit a été prélevé et pesé, puis transféré dans 200 µl de tampon de lyse NP-40 (Thermo Fisher Scientific, UK) contenant un cocktail d'inhibiteurs de protéases (Promega, États-Unis). Après 15 minutes sur glace, un broyage manuel a été effectué à l'aide d'un broyeur de tissus Wheaton Tenbroeck de 1 ml (également sur glace). L'homogénat pulmonaire obtenu a été centrifugé à 10 000 g pendant 15 minutes à 4 °C, puis des aliquotes de 60 µl du surnageant ont été conservées à -80 °C jusqu'à leur analyse. La quantification des cytokines dans l'homogénat pulmonaire a été réalisée à l'aide du kit LXSAMSM-08 Luminex Mouse Premixed Multi-Analyte pour l'IFN-γ, l'IL-5, l'IL-6, l'IL-13, l'IL-17/IL-17A, le TNF-α et le VEGF (R&D Systems, États-Unis) et de la plateforme Gen-555 Probe Luminex 100/200 xMAP (Austin, Texas, États-Unis).

F. Analyse statistique

Les données obtenues sont exprimées sous forme de moyenne ± erreur standard (ES). Les graphiques sont présentés sous forme de diagrammes à barres. Les différences statistiquement significatives entre les groupes ont été évaluées par des tests paramétriques - analyse de variance à un facteur (ANOVA) suivie du test de Holm-Sidak pour les comparaisons multiples ou par des tests non paramétriques (test de Kruskal-Wallis sur les rangs), à l'aide du logiciel SPSS. Une valeur de p < 0,05 a été considérée comme statistiquement significative.

III. RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les concentrations des cytokines suivantes ont été évaluées : le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF-α), l'interféron gamma (IFN-γ) impliqués dans la réponse Th1 ; les interleukines IL-4, IL-5, IL-6 et IL-13 impliquées dans la réponse Th2; IL-17/IL-17A impliquée dans la réponse Th17 ; ainsi que le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF), dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire et l'homogénat tissulaire pulmonaire.

Le MAGN-D1 ainsi que le MAGN-D2 ont entraîné une diminution des taux de TNF-α dans le BALF, diminution observée par rapport au groupe OVA+LPS (p < 0,05) et également par rapport au groupe OVA+LPS+DEXA (p < 0,05), où une augmentation du taux de TNF-α avait été enregistrée. Le niveau d'IFN-γ dans le BALF s'est révélé augmenté sous l'effet du MAGN-D1 par rapport au groupe OVA+LPS+DEXA (p < 0,05), sans différence statistiquement significative entre les groupes traités par MAGN et le groupe OVA+LPS.

Concernant les cytokines impliquées dans la réponse Th2, les résultats de l'analyse du LBA ont montré que le MAGN-D1 et le MAGN-D2 n'ont pas induit de modifications significatives des taux d'IL-4 et d'IL-5 par rapport au groupe OVA+LPS ; des différences statistiquement significatives ont cependant été observées par rapport au groupe

OVA+LPS+DEXA ($p < 0,05$). Le MAGN-D2 a entraîné une augmentation de la concentration d'IL-13 par rapport au groupe OVA+LPS ($p < 0,05$). MAGN-D1 et MAGN-D2 influencent la réponse immunitaire Th17 en diminuant les taux d'IL-17/IL-17A par rapport à OVA+LPS ($p < 0,05$), à la fois dans le LBA et au niveau tissulaire.

L'administration de MAGN-D2 a entraîné une diminution significative des taux de TNF- α dans l'homogénat tissulaire, comparativement au groupe OVA+LPS ($p < 0,05$). L'administration de MAGN (MAGN-D1 et MAGN-D2) a induit une augmentation des taux d'IL-4 et d'IL-5 dans l'homogénat tissulaire, par rapport au groupe OVA+LPS ($p < 0,05$). Le MAGN-D1 a entraîné une élévation du taux d'IL-13 par rapport au groupe OVA+LPS ($p < 0,05$).

Le modèle expérimental proposé dans cette étude représente un modèle murin complexe de lésion pulmonaire aiguë induite par le LPS chez des souris BALB/c, sur fond d'inflammation pulmonaire allergique suite à la sensibilisation et à la provocation avec l'OVA. L'objectif spécifique de cette étude a été d'évaluer comparativement les effets anti-inflammatoires et immunomodulateurs induits par le magnolol administré à deux doses différentes, 50 mg/kg (D1) et 100 mg/kg (D2), dans cette forme de lésion pulmonaire aiguë à haut degré de sévérité. Les études expérimentales *in vivo* et *in vitro* existantes rapportent que l'effet anti-inflammatoire du magnolol est dose-dépendant [29], élément essentiel dans la conception de la méthodologie de travail concernant l'efficacité du magnolol dans le modèle expérimental proposé.

Les données actuelles indiquent que la provocation par l'OVA dans un modèle OVA/LPS favorise l'exacerbation de l'inflammation induite par le LPS. Ce processus est médié par les éosinophiles de type CD101+, qui promeuvent l'inflammation neutrophilique et, finalement, la lésion pulmonaire aiguë [30]. Il est établi que le lipopolysaccharide (LPS) entraîne l'activation de la voie de signalisation intracellulaire TLR4 par agonisme du récepteur TLR4. Ce mécanisme déclenche une réponse inflammatoire à caractère neutrophilique, contrôlée par une réponse immunitaire de type Th1 [31].

Un modèle expérimental d'asthme allergique murin induit par l'OVA met en évidence les effets du magnolol sur les réponses immunitaires Th1/Th2/Th17. Ainsi, le traitement par magnolol a modulé la balance cytokinique en augmentant le niveau d'IFN- γ et en diminuant ceux d'IL-4, d'IL-5, d'IL-13, d'IL-6 et d'IL-17A. Il convient de préciser que la dose la plus élevée de MAGN utilisée (50 mg/kg) a été la plus efficace pour moduler les concentrations des cytokines [24].

La présente étude a montré que le traitement par magnolol diminuait les taux de TNF- α dans le LBA par rapport au groupe positif de maladie, la dose de 100 mg/kg entraînant une réduction plus significative de ces taux. Il convient de noter que l'administration intratrachéale de LPS s'accompagne, outre une infiltration neutrophilique importante, d'une libération de cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF- α et l'IL-6 [32,33]. L'analyse de la concentration de TNF- α dans l'homogénat tissulaire a révélé que le MAGN-D2 influençait la diminution des taux de TNF- α induite par le modèle expérimental. Ce résultat est confirmé par les données de la littérature, notamment deux modèles de lésion pulmonaire aiguë (LPA) induite par le LPS chez la souris, qui présentent une diminution des taux de TNF- α , d'IL-6 et d'IL-1 β dans le

liquide de lavage broncho-alvéolaire après traitement par magnolol. Le mécanisme par lequel le magnolol exerce son effet protecteur dans la LPA et réduit l'inflammation est également proposé ; son activité serait médiée par une augmentation de l'activité et de l'expression du PPAR- γ [25,34].

Les résultats de l'étude soulignent l'efficacité du MAGN pour diminuer la concentration d'IL-6 dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire et dans l'homogénat tissulaire. L'analyse des cytokines dans l'homogénat tissulaire a montré que le MAGN-D2 était plus efficace que le MAGN-D1 pour réduire la concentration d'IL-6. Le rôle de l'IL-6 dans la lésion pulmonaire aiguë est lié à l'induction de la réponse inflammatoire par la promotion du recrutement des neutrophiles et la libération de cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF- α et l'IL-1 β , constituant un facteur de mauvais pronostic chez les patients atteints de syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA) [35,36]. Les résultats de l'étude révèlent également l'efficacité du MAGN-D1 et du MAGN-D2 pour diminuer la concentration d'IL-17/IL-17A par rapport au groupe OVA+LPS. L'IL-17 est une cytokine pro-inflammatoire impliquée dans la pathogenèse de la LPA et est considérée comme une cible pharmacologique dans cette pathologie [37].

IV. CONCLUSIONS

Cette étude *in vivo* rapporte les résultats comparatifs des effets du magnolol administré à différentes doses dans un modèle complexe d'asthme bronchique sévère exacerbé par une lésion pulmonaire aiguë (LPA). Concernant son influence sur la réponse immunitaire, les résultats montrent une diminution du TNF- α , de l'IL-6 et du rapport IL-17/IL-17A sous l'action du magnolol. Il est à noter que le MAGN-D2 induit une diminution plus importante de la concentration de ces cytokines que le MAGN-D1. Ces résultats doivent être interprétés en tenant compte de la complexité du modèle expérimental et nécessitent des recherches complémentaires afin d'élucider les mécanismes d'action par lesquels les différentes doses de magnolol exercent leur effet anti-inflammatoire et immunomodulateur dans l'asthme sévère exacerbé par une LPA.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le Centre Avancé de Recherche et de Développement en Médecine Expérimentale (CEMEX) de l'Université de Médecine et de Pharmacie "Grigore T. Popa" de Iași (Roumanie) pour la mise à disposition de ses infrastructures. Les auteurs adressent également leurs remerciements au Dr vétérinaire Andrei Szilagyi, ainsi qu'aux techniciennes de laboratoire Elena Budeanu et Silvia Negru, pour leur assistance lors des manipulations expérimentales réalisées sur les souris.

RÉFÉRENCES

- [1] Al Heialy S, Ramakrishnan RK, Hamid Q. Recent advances in the immunopathogenesis of severe asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2022; 149(2): 455-465.
- [2] Ma W, Jin Q, Guo H et al. Metformin Ameliorates Inflammation and Airway Remodeling of Experimental Allergic Asthma in Mice by Restoring AMPK α Activity. *Front Pharmac*. 2022; 13: 780148.
- [3] Zaidi SR, Blakey JD. Why are people with asthma susceptible to pneumonia? A review of factors related to upper airway bacteria. *Respirology*. 2019; 24(5): 423-30.
- [4] Long ME, Mallampalli RK, Horowitz JC. Pathogenesis of pneumonia and acute lung injury. *Clin Sci (Lond)*. 2022; 136: 747- 769.

- [5] Wang Y, Wang Y, Ma J et al. YuPingFengSan ameliorates LPS-induced acute lung injury and gut barrier dysfunction in mice. *J Ethnopharmacol*. 2023; 312: 116452.
- [6] Huang Q, Ren Y, Yuan P et al. Targeting the AMPK/Nrf2 Pathway: A Novel Therapeutic Approach for Acute Lung Injury. *J Inflamm Res*. 2024; 17: 4683-4700.
- [7] LaMoia TE, Shulman GI. Cellular and Molecular Mechanisms of Metformin Action. *Endocr Rev*. 2021; 42(1): 77-96.
- [8] Chung KF. New treatments for severe treatment-resistant asthma: targeting the right patient. *Lancet Respir Med*. 2013; 1(8): 639-652.
- [9] Kalchiem-Dekel O, Yao X, Levine SJ. Meeting the Challenge of Identifying New Treatments for Type 2-Low Neutrophilic Asthma. *Chest*. 2020; 157(1): 26-33.
- [10] Calzetta L, Aiello M, Frizzelli A et al. Investigational Treatments in Phase I and II Clinical Trials: A Systematic Review in Asthma. *Biomedicines*. 2022; 10(9): 2330.
- [11] Cui E, Lv L, Chen W et al. Mesenchymal stem/stromal cell-based cell-free therapy for the treatment of acute lung injury. *J Cell Biochem*. 2023; 124(9): 1241-1248.
- [12] Parray HA, Lone J, Park JP et al. Magnolol promotes thermogenesis and attenuates oxidative stress in 3T3-L1 adipocytes. *Nutrition*. 2018; 50: 82-90.
- [13] Liu CM, Chen SH, Liao YW et al. Magnolol ameliorates the accumulation of reactive oxidative stress and inflammation in diabetic periodontitis. *J Formos Med Assoc*. 2021; 120(7): 1452-1458.
- [14] Shen J, Ma H, Zhang T et al. Magnolol Inhibits the Growth of Non-Small Cell Lung Cancer via Inhibiting Microtubule Polymerization. *Cell Physiol Biochem*. 2017; 42(5): 1789- 1801.
- [15] Wang YD, Sun XJ, Yang WJ et al. Magnolol exerts anticancer activity in hepatocellular carcinoma cells through regulating endoplasmic reticulum stress-mediated apoptotic signaling. *Onco Targets Ther*. 2018; 11: 5219-5226.
- [16] Karki R, Ho OM, Kim DW. Magnolol attenuates neointima formation by inducing cell cycle arrest via inhibition of ERK1/2 and NF-kappaB activation in vascular smooth muscle cells. *Biochim Biophys Acta*. 2013; 1830(3): 2619-2628.
- [17] Liang X, Xing W, He J et al. Magnolol administration in normotensive young spontaneously hypertensive rats postpones the development of hypertension: role of increased PPAR gamma, reduced TRB3 and resultant alleviative vascular insulin resistance. *PLoS One*. 2015; 10(3): e0120366.
- [18] Kim DJ, Kim YS. Magnolol protects against trimethyltin-induced neuronal damage and glial activation in vitro and in vivo. *Neurotoxicology*. 2016; 53: 173-185.
- [19] Alexeev M, Grosenbaugh DK, Mott DD et al. The natural products magnolol and honokiol are positive allosteric modulators of both synaptic and extra-synaptic GABA(A) receptors. *Neuropharmacology*. 2012; 62: 2507-2514.
- [20] Cheng J, Dong S, Yi L et al. Magnolol abrogates chronic mild stress-induced depressive-like behaviors by inhibiting neuroinflammation and oxidative stress in the prefrontal cortex of mice. *Int Immunopharmacol*. 2018; 59: 61-67.
- [21] Wang JJ, Zhao R, Liang JC, Chen Y. The antidiabetic and hepatoprotective effects of magnolol on diabetic rats induced by high-fat diet and streptozotocin. *Yao Xue Xue Bao*. 2014; 49(4): 476-481.
- [22] Chang CK, Lin XR, Lin YL et al. Magnolol-mediated regulation of plasma triglyceride through affecting lipoprotein lipase activity in apolipoprotein A5 knock-in mice. *PLoS One*. 2018; 13(2): e0192740.
- [23] Kim SY, Kim J, Jeong SI et al. Antimicrobial Effects and Resistant Regulation of Magnolol and Honokiol on Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Biomed Res Int*. 2015; 2015: 283630.
- [24] Huang Q, Han L, Lv R, Ling L. Magnolol exerts anti-asthmatic effects by regulating Janus kinase-signal transduction and activation of transcription and Notch signaling pathways and modulating Th1/Th2/Th17 cytokines in ovalbumin-sensitized asthmatic mice. *Korean J Physiol Pharmacol*. 2019; 23(4): 251-261.
- [25] Yunhe F, Bo L, Xiaosheng F et al. The effect of magnolol on the Toll-like receptor 4/nuclear factor kappaB signaling pathway in lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice. *Eur J Pharmacol*. 2012; 689(1-3): 255-261.
- [26] Debeuf N, Haspeslagh E, Van Helden M et al. Mouse Models of Asthma. *Curr Protoc Mouse Bio*. 2016; 6(2): 169-184.
- [27] Ehrentraut H, Weisheit CK, Frede S, Hilbert T. Inducing Acute Lung Injury in Mice by Direct Intratracheal Lipopolysaccharide Instillation. *J Vis Exp*. 2019; 149.
- [28] Lin Y, Li Y, Zeng Y et al. Pharmacology, Toxicity, Bioavailability, and Formulation of Magnolol: An Update. *Front Pharmacol*. 2021; 12: 632767.
- [29] Chen H, Fu W, Chen H et al. Magnolol attenuates the inflammation and enhances phagocytosis through the activation of MAPK, NF-kB signal pathways in vitro and in vivo. *Mol Immunol*. 2019; 105: 96-106.
- [30] Zhu C, Weng QY, Zhou LR et al. Homeostatic and early-recruited CD101- eosinophils suppress endotoxin-induced acute lung injury. *Eur Respir J*. 2020; 56(5): 1902354.
- [31] Thakur VR, Khuman V, Beladiya JV et al. An experimental model of asthma in rats using ovalbumin and lipopolysaccharide allergens. *Heliyon*. 2019; 5(11): e02864.
- [32] Grommes J, Soehnlein O. Contribution of neutrophils to acute lung injury. *Mol Med*. 2011; 17(3-4): 293-307.
- [33] Goodman RB, Pugin J, Lee JS, Matthay MA. Cytokine-mediated inflammation in acute lung injury. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2003; 14: 523-535.
- [34] Lin MH, Chen MC, Chen TH et al. Magnolol ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats through PPAR-gamma-dependent inhibition of NF-kB activation. *Int Immunopharmacol*. 2015; 28(1): 270-278.
- [35] Voiriot G, Razazi K, Amsellem V et al. Interleukin-6 displays lung anti-inflammatory properties and exerts protective hemodynamic effects in a double-hit murine acute lung injury. *Respir Res*. 2017; 18(1): 64.
- [36] Chen IC, Wang SC, Chen YT et al. Corylin Ameliorates LPS-Induced Acute Lung Injury via Suppressing the MAPKs and IL-6/STAT3 Signaling Pathways. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2021; 14(10): 1046.
- [37] Ding Q, Liu GQ, Zeng YY et al. Role of IL-17 in LPS-induced acute lung injury: an in vivo study. *Oncotarget*. 2017; 8(55): 93704-93711.