

# Neolignany – honokiol i 4-O-metylhonokiol, jako potencjalne związki przeciwdziałające powikłaniom cukrzycy – aktualny stan wiedzy

Katarzyna Szalabska-Rapała<sup>1</sup>, Weronika Borymska<sup>2</sup>, Ilona Kaczmarczyk-Żebrowska<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Zakład Farmakognozji i Fitochemii, Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Szkoła Doktorska Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach, dyscyplina nauk farmaceutycznych, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Polska

<sup>2</sup>Katedra i Zakład Farmakognozji i Fitochemii, Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Polska

Farmacja Polska, ISSN 0014-8261 (print); ISSN 2544-8552 (on-line)

## Adres do korespondencji

Katarzyna Szalabska-Rapała,  
Katedra i Zakład Farmakognozji i Fitochemii,  
Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu,  
Szkoła Doktorska Śląskiego Uniwersytetu  
Medycznego w Katowicach, dyscyplina  
nauk farmaceutycznych, Śląski Uniwersytet  
Medyczny w Katowicach, ul. Jagiellońska 4,  
41-200 Sosnowiec, Polska;  
e-mail: d200886@365.sum.edu.pl

## Źródła finansowania

Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach  
w ramach umowy PCN-2-039/N/1/F

## Konflikt interesów

Nie istnieje konflikt interesów.

Otrzymano: 2022.11.03

Zaakceptowano: 2022.12.22


Opublikowano on-line: 2022.12.29

## DOI

10.32383/farmpol/158472


## ORCID

Katarzyna Szalabska-Rapała

–  0000-0001-5240-7396

Weronika Borymska –  0000-0002-3013-7564

Ilona Kaczmarczyk-Żebrowska

–  0000-0002-3137-1694

## Copyright

© Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne

To jest artykuł o otwartym dostępie,

na licencji CC BY NC 

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

## Neolignans – honokiol and 4-O-methylhonokiol – as potential compounds counteracting diabetic complications – current state of knowledge

Diabetes mellitus is a chronic metabolic disease. It is characterized by hyperglycemia, which means an increased glucose level in the serum. This disease can be a result of insufficient insulin production by the pancreatic  $\beta$  cells, lack of tissue response to the action of this hormone, or both these states occurring together. In the course of diabetes, a disturbed metabolism of carbohydrates, proteins, and lipids is observed. These disorders are often accompanied by chronic oxidative stress.

Treatment of type 2 diabetes is based on the use of synthetic oral antidiabetic drugs. These drugs provide good glycemic control in the diabetics' body and improve their quality of life, however, they are not without side effects. Therefore, a comprehensive approach to the patient and additional implementation of compounds allowing reduction of the negative effects of oxidative stress and limiting the occurrence of diabetic complications in the process of their treatment seems promising. The scientific world is particularly interested in plants with antioxidant properties.

Honokiol is a polyphenolic compound from the neolignans group that can be found in the bark of various magnolia species. Both honokiol and 4-O-methylhonokiol are known for their pro-health properties and multidirectional action on the body, including the glycemic control and restoration of proper lipid metabolism. Therefore, this review focuses on arranging the available scientific literature, covering the issues of the influence of neolignans: honokiol and 4-O-methylhonokiol on the health of a patient suffering from type 2 diabetes and its complications. Data collected

in this manuscript shows the beneficial effect of these compounds on the organs most exposed to diabetic complications – including the pancreas, heart muscle, or kidneys, as well as the prevention of excessive obesity in the context of affecting the white adipose tissue. After an in-depth analysis of many scientific articles, it can be deduced that these compounds may be promising agents supporting conventional therapies with antidiabetic drugs in the treatment of type 2 diabetes and its accompanying diseases.

**Keywords:** diabetes, diabetic complications, honokiol, antidiabetic properties, 4-*O*-methylhonokiol.

© Farm Pol, 2022, 78 (10): 551–564

## Wprowadzenie

Cukrzyca typu 2 to globalny problem i poważne obciążenie systemu opieki zdrowotnej. Dotyczy on nie tylko skutecznego diagnozowania osób chorych, wdrożenia efektywnego leczenia,

ale również poniesienia olbrzymich wydatków przez sektor zdrowia publicznego. W porównaniu z przeciętnymi wydatkami przeznaczonymi na opiekę zdrowotną, pacjent diabetologiczny wymaga około trzy razy wyższych nakładów finansowych na swoje leczenie. Co więcej, w przypadku wystąpienia powikłań cukrzycowych, koszt leczenia może wzrosnąć nawet kilkukrotnie. Cukrzyca może mieć wpływ na zdolność funkcjonowania i pogorszenie się jakości życia chorujących na nią osób, a także przyczynić się do ich przedwczesnej śmierci [1]. Dane epidemiologiczne publikowane na przestrzeni lat wskazują na tendencję wzrostową w odniesieniu do liczby przypadków tej choroby. Międzynarodowa Federacja Diabetologiczna opublikowała raport, z którego wynika, że w roku 2019 cukrzyca była przyczyną śmierci 4,2 miliona osób, a przeszło 463 miliony żyło z tą chorobą. Dodatkowo prognozy zakładają, że liczba osób cierpiących na cukrzycę może wzrosnąć globalnie do 700 milionów do roku 2045. Warto również zwrócić uwagę

### Wykaz skrótów

- 2-NBDG (ang. (2R,3R,4S,5R)-3,4,5,6-tetrahydroxy-2-[(7-nitro-2,1,3-benzoxadiazol-4-yl)amino]hexanal) – fluorescencyjny analog glukozy, wykorzystywany do monitorowania wychwytu glukozy w żywych komórkach wrażliwych na insulinę
- 3-NT (ang. 3-nitrotyrosine) – 3-nitrotyrozyna
- 4-HNE (ang. 4-hydroxynonenal) – 4-hydroksynonenal
- ALT (ang. alanine transaminase) – aminotransferaza alaninowa
- ARE (ang. antioxidant response element) – element odpowiedzi antyoksydacyjnej
- ATP (ang. adenosine triphosphate) – adenozyno-5'-trifosforan
- BCRP (ang. breast cancer resistance protein) – białko oporności raka piersi
- CAT (ang. catalase) – katalaza
- CD36 = FAT (ang. cluster of differentiation 36 = fatty acid translocase) – glikoproteina płytkowa 4 = translokaza kwasów tłuszczowych
- CPT1B (carnitine palmitoyltransferase 1B) – palmitoilotransferaza karnityny 1B
- CYP (ang. cytochrome P450) – cytochrom P450
- ERK 1/2 (ang. extracellular signal-regulated kinase 1/2) – kinaza regulowana zewnątrzkomórkowo 1/2
- GSK-3β (ang. glycogen synthase kinase-3β) – kinaza syntazy glikogenu-3β
- HbA1c (ang. glycated hemoglobin A1c) – hemoglobina glikowana A1c
- HFD (ang. high fat diet) – dieta wysokotłuszczowa
- HO-1 (ang. heme oxygenase-1) – oksigenaza hemowa-1
- HOMA-IR (ang. homeostatic model assesment – insulin resistance) – wskaźnik insulinooporności
- ICAM-1 (ang. intercellular adhesion molecule-1) – międzykomórkowa molekula adhezyjna-1

- IL (ang. interleukin) – interleukina
- IPGTT (ang. intraperitoneal glucose tolerance test) – dootrzewnowy test tolerancji glukozy
- MDA (ang. malondialdehyde) – malonyldialdehyd
- Mn-SOD (ang. manganese superoxide dismutase) – dysmutaza ponadtlenkowa manganowa
- mRNA (ang. messenger ribonucleic acid) – matrycowy kwas rybonukleinowy
- MRP4 (ang. multidrug resistance-associated protein 4) – białko oporności wielolekowej 4
- NF-κB (ang. phospho-nuclear factor kappa-lightchain-enhancer of activated B cells) – jądrowy czynnik transkrypcyjny kappa B
- Nrf2 (ang. nuclear factor erythroid 2-related factor 2) – jądrowy czynnik transkrypcyjny Nrf2
- OATs (ang. organic anion transporters) – transportery anionów organicznych
- OGTT (ang. oral glucose tolerance test) – doustny test obciążenia glukozą
- PGC-1 (ang. peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1) – koaktywator 1 receptora γ aktywowanego przez proliferatory peroksysomów
- PPAR (ang. peroxisome proliferator-activated receptor) – receptor aktywowany proliferatorami peroksysomów
- ROS (ang. reactive oxygen species) – reaktywne formy tlenu
- SGLT2 inhibitory (ang. sodium-glucose co-transporter-2 inhibitors) – inhibitory kotransportera glukozowo-sodowego 2
- SIRT (ang. sirtuin) – sirtuina
- STZ (ang. streptozotocin) – streptozotocyna
- TNF-α (ang. tumor necrosis factor α) – czynnik martwicy nowotworów α

na fakt, że prawdopodobnie obecna liczba chorych jest zaniżona – szacuje się, że 1 na 3 osoby z cukrzycą nie jest świadoma swojego stanu [2]. Niestety, obciążenie ryzykiem wystąpienia cukrzycy znacząco wzrasta zwłaszcza w rejonach świata, które są dobrze rozwinięte – należy do nich m.in. Europa Zachodnia, która już teraz musi mierzyć się z opieką i leczeniem ogromnej liczby pacjentów cukrzycowych [1].

U osób z cukrzycą typu 2 obserwuje się 15% większe ryzyko zgonu z jakiegokolwiek przyczyny w porównaniu z osobami bez cukrzycy, ale z chorobami układu krążenia. Znamionym dla tego zestawienia jest fakt, że to powikłania układu krążenia są najczęstszą przyczyną zachorowalności i śmiertelności związanej z cukrzycą typu 2. Istnieje silna korelacja pomiędzy cukrzycą typu 2 a zwiększonym ryzykiem zgonu w wyniku choroby niedokrwiennej serca, udaru niedokrwienego mózgu czy chorób związanych z naczyniami krwionośnymi [2]. Alarmującym wydaje się również fakt, że ponad 1/3 zgonów związanych z cukrzycą dotyczy osób poniżej 60. roku życia [1]. Cukrzyca typu 2 dotyka około 90% całej populacji diabetyków [3]. Jest to choroba bezpośrednio powiązana ze stylem życia danej osoby – niezdrowa dieta czy siedzący tryb życia to ryzyko wystąpienia wyższego wskaźnika BMI, zwiększonego stężenia glukozy we krwi czy insulinooporności. Typ 2 cukrzycy dotyka też częściej osoby dorosłe [1, 3]. W przebiegu tej choroby można zaobserwować połączenie wadliwego wydzielania insuliny z komórek  $\beta$  wysp trzustki, tkankową oporność na insulinę i niewystarczającą kompensacyjną odpowiedź sekrecyjną. W efekcie prowadzi to do rozwoju przewlekłej choroby metabolicznej, charakteryzującej się stanem hiperglikemii oraz licznymi powikłaniami ze strony układu sercowo-naczyniowego, moczowego, nerwowego, zwiększonym ryzykiem retinopatii czy zaburzeń funkcji seksualnych [2].

### Farmakologiczne leczenie cukrzycy

Udowodniono, że cukrzyca typu 2 występuje częściej u osób prowadzących niehigieniczny styl życia – brak aktywności fizycznej, spożywanie nadmiernej ilości pokarmu słabej jakości czy też regularne palenie papierosów i spożywanie alkoholu. Te czynniki mogą być poddane modyfikacji – chęć zmiany stylu życia i wdrożenie skutecznych działań naprawczych u części pacjentów skutkuje pozytywnym odzewem ze strony organizmu – zmniejsza się ryzyko zachorowania, opóźniony zostaje postęp choroby oraz poprawia się ogólna jakość życia osób chorujących. Farmakologiczne leczenie cukrzycy typu 2 jest trudne

– w większości skupia się na utrzymywaniu odpowiedniego stężenia glukozy we krwi, ale również na utrzymaniu odpowiedniej masy ciała i zapobieganiu bądź łagodzeniu zmian mikro- i makro-naczyniowych w organizmie. Wśród najczęściej stosowanych leków pozwalających utrzymać odpowiedni poziom glikemii w organizmie w kontekście cukrzycy typu 2 są leki z grup: biguanidów, pochodnych sulfonilomocznika, pochodnych tiazolidynodionu, inhibitorów  $\alpha$ -glukozydazy, leków inkretynowych, inhibitorów kotransportera glukozowo-sodowego 2 (SGLT2), glinidów, a w cięższych przypadkach – sama insulina bądź jej analogi [2–4].

### Związki pochodzenia roślinnego w terapii cukrzycy

Terapia cukrzycy jest skomplikowana i powinna odbywać się na wielu poziomach – obejmować zarówno zmianę stylu życia osoby, która na nią choruje, uwzględnić konieczność włączenia wspomagającej suplementacji i, co najbardziej istotne, dobrać „skrojoną na miarę” farmakoterapię, która w sposób najbardziej efektywny zabezpieczy pacjenta przed poważnymi konsekwencjami choroby. Kompleksowe podejście do osoby chorej jest kluczowe – zwłaszcza że nefarmakologiczny aspekt jej terapii pozwala złagodzić skalę powikłań wynikających z cukrzycy. Pożądane w stosowaniu są substancje, które, będąc składnikiem codziennej diety diabetyków, mogłyby jednocześnie wspierać poprawę niektórych parametrów cukrzycowych. Manifestacja cukrzycy typu 2 w zauważalny sposób powiązana jest z brakiem odpowiedniej diety i aktywności fizycznej. Biorąc pod uwagę, że chorobie tej często towarzyszy stres oksydacyjny, wyborem jest włączenie do diety naturalnych, roślinnych antyoksydantów. Jako zmiatacze wolnych rodników mogą się one przyczynić do zmniejszenia niekorzystnych efektów spowodowanych przez przewlekłe utrzymujący się w organizmie stan zapalny i doprowadzić do uregulowania różnych szlaków metabolicznych w organizmie. Część roślinnych antyoksydantów ma również udowodniony wpływ na obniżenie stężenia glukozy we krwi czy też pozytywne oddziaływanie na utrzymanie prawidłowej masy ciała. Nie bez znaczenia pozostaje również rola we wspieraniu zasiedlania jelit przez korzystną mikrobiotę [2, 5, 6]. Wśród surowców roślinnych, które charakteryzują się udowodnionym działaniem hipoglikemicznym czy też wspierającym prawidłowy metabolizm węglowodanów i lipidów w organizmie można wymienić m.in. liść morwy białej (*Mori albae folium*), korę cynamonowca cejlońskiego (*Cinnamomi cortex*), liść pokrzywy

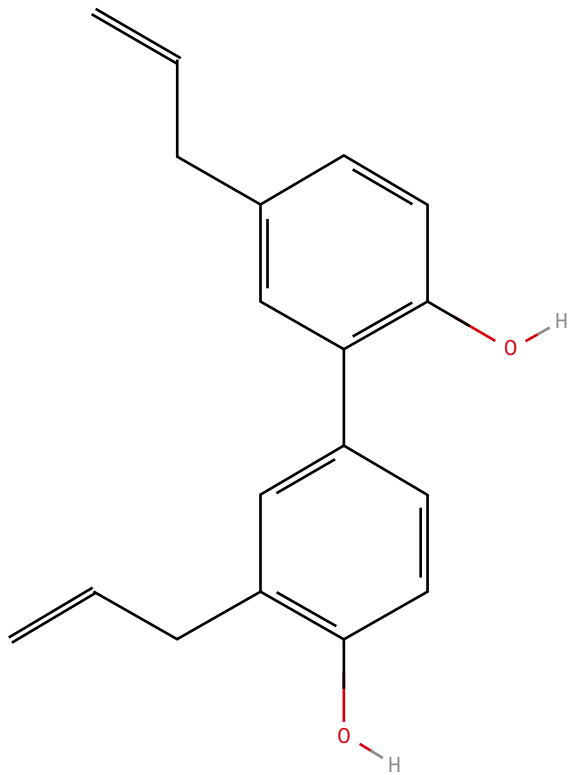
(*Urticae folium*), liść gurmaru (*Gymnema sylvestris folium*), korę magnolii lekarskiej (*Magnolia officinalis cortex*), nasienie kozieradki pospolitej (*Trigonellae foenugraeci semen*), naowocnię fasoli zwyczajnej (*Phaseoli pericarpium*) czy też cebulę czosnku pospolitego (*Alli sativi bulbus*). Pozyskiwane są one odpowiednio z roślin: morwy białej (*Morus alba* L.), cynamonowca cejlońskiego (*Cinnamomum verum* J.Presl), pokrzywy zwyczajnej (*Urtica dioica* L.) i pokrzywy żegawki (*Urtica urens* L.), gurmaru (*Gymnema sylvestre* R. Br.), magnolii lekarskiej (*Magnolia officinalis* Rehder & E.H.Wilson), kozieradki pospolitej (*Trigonella foenum-graecum* L.), fasoli zwyczajnej (*Phaseolus vulgaris* L.) oraz czosnku pospolitego (*Allium sativum* L.) [6–8].

Na uwagę zasługuje również substancja czynna inulina, która wpływa na zmniejszenie łaknienia, jest źródłem rozpuszczalnego błonnika pokarmowego i stanowi pożywkę dla bifidobakterii, wspierając utrzymanie właściwej flory jelitowej. Źródłem inuliny są m.in. bulwa słonecznika bulwiastego (*Helianthi tuberosi tuber*), korzeń cykorii podróżnika (*Cichorii radix*) oraz korzeń mniszka lekarskiego (*Taraxaci officinalis radix*), które pozyskiwane są odpowiednio z roślin: słonecznika bulwiastego (*Helianthus tuberosus* L.), cykorii podróżnik (*Cichorium intybus* L.) oraz mniszka lekarskiego (*Taraxacum officinale* F.H. Wigg.) [7, 9]. Poszukiwanie nowych surowców roślinnych o potencjalnym działaniu przeciwcukrzycowym i próba wyizolowania z nich związków o działaniu hipoglikemicznym, zmniejszającym insulinooporność czy też normalizującym stężenie lipidów w organizmie, jest niezwykle cenna. Wyizolowane związki pochodzenia roślinnego mogą stanowić podstawę do projektowania nowych grup leków przeciwcukrzycowych. Warto pamiętać, że metformina – doustny lek przeciwcukrzycowy, stosowany podstawowo w terapii cukrzycy typu 2 – została zsyntetyzowana w oparciu o związki guanidynowe występujące naturalnie w ziele rutwicy lekarskiej (*Galegae herba*), pozyskanym z rutwicy lekarskiej (*Galega officinalis* L.) [10].

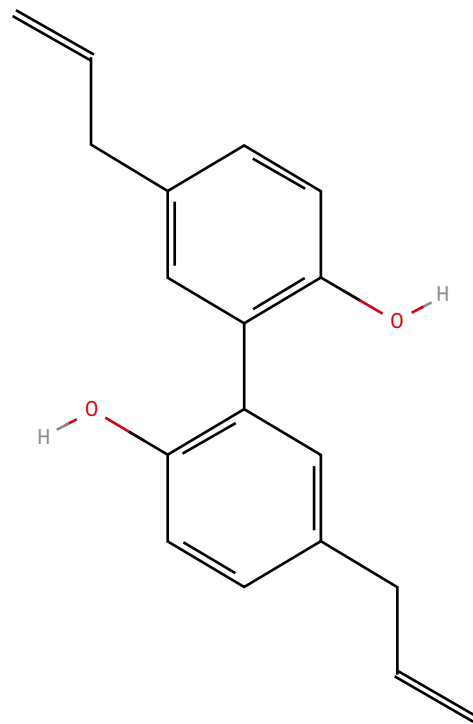
### **Kora magnolii jako źródło substancji czynnych**

Wśród roślinnych antyoksydantów dobrze udokumentowane działanie przeciwcukrzycowe i antyoksydacyjne posiadają lignany roślinne, wśród których można wyróżnić grupę neolignanów. Stanowią one obiekt badań w kontekście substancji normalizujących glikemię oraz zapobiegających negatywnym skutkom stresu oksydacyjnego w organizmie. Obiecującym wydaje

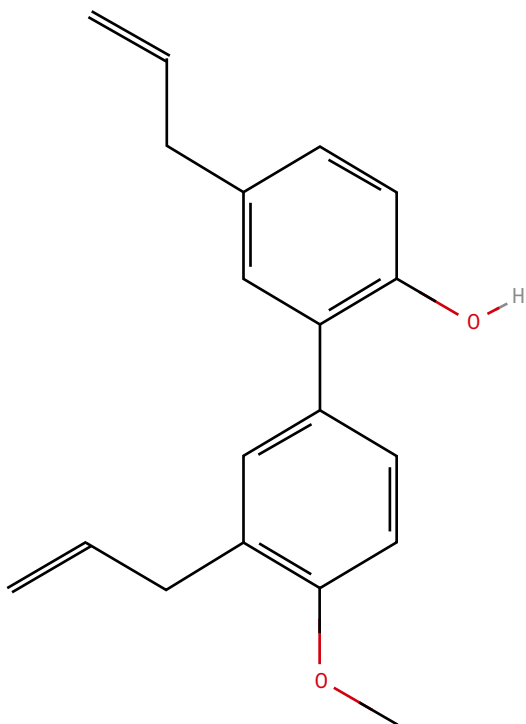
się włączenie ich do codziennej diety jako prewencji przed wystąpieniem stanu cukrzycowego bądź też polepszenia kondycji chorego organizmu w kontekście powikłań cukrzycowych. *M. officinalis* oraz *M. obovata* Thunb. od lat stosowane są w tradycyjnej medycynie chińskiej jako remedia na stany lękowe, zaburzenia nastroju, zaburzenia żołądkowo-jelitowe czy też stany alergiczne. Magnolie występują głównie w rejonie południowo-wschodniej Azji. W okresie od kwietnia do czerwca z ich gałęzi i korzeni pozyskiwana jest kora, która stanowi główny surowiec zielarski. Zawarte są w niej liczne substancje biologicznie czynne, w tym neolignany, glikozydy fenolowe, alkaloidy, glikozydy fenyletanolowe, steroidy czy też olejek eteryczny [11–13]. Kora magnolii stosowana jest zazwyczaj w formie odwaru w dawkach od 3 g do 10 g. Można ją również znaleźć w postaci receptur opartych o tradycyjną medycynę chińską, w suplementach diety (z zalecanym dziennym spożyciem na poziomie 200–800 mg) czy też w naturalnych produktach kosmetycznych. Spotykane jest również doustne oraz miejscowe wykorzystanie pączków kwiatowych magnolii, jednakże ich wskazanie ograniczone jest wyłącznie do zwalczania objawów przekrwienia zatok oraz bólów zatok i głowy [13]. Do najbardziej wartościowych i najlepiej przebadanych związków czynnych, zawartych w korze magnolii należą polifenolowe związki z grupy neolignanów: honokiol (**rycina 1**), magnolol (**rycina 2**), 4-*O*-metylohonokiol (**rycina 3**) oraz obowatol (**rycina 4**). W największej ilości w ekstraktach z kory magnolii obecne są honokiol i jego izomer strukturalny – magnolol, w mniejszej – 4-*O*-metylohonokiol oraz obowatol. Honokiol i 4-*O*-metylohonokiol uznawane są za związki o działaniu przeciwutleniającym, przeciwzapalnym, przeciwcukrzycowym, przeciwpłytkowym, wspomagającym zwalczanie negatywnych skutków otyłości, nefroprotekcijnym, neuroprotekcijnym, kardioprotekcijnym, hepatoprotekcijnym, przeciwłękowym czy też przeciwalergicznym. Tak szerokie spektrum ich potencjalnego wykorzystania tłumaczy duże zainteresowanie tymi związkami w świecie naukowym [12–25]. Magnolol został już dokładnie opisany w pracy przeglądowej w kontekście zapobiegania cukrzycy typu 2 i prewencji jej powikłań [15], natomiast w przypadku honokiolu dostępne są prace przeglądowe dotyczące jego wielokierunkowego zastosowania terapeutycznego – zarówno jako związku antyoksydacyjnego, przeciwcukrzycowego, przeciwnowotworowego, przeciwzapalnego, przeciwdrobnoustrojowego, neuroprotekcijnego, kardioprotekcijnego, hepatoprotekcijnego, nefroprotekcijnego, jak



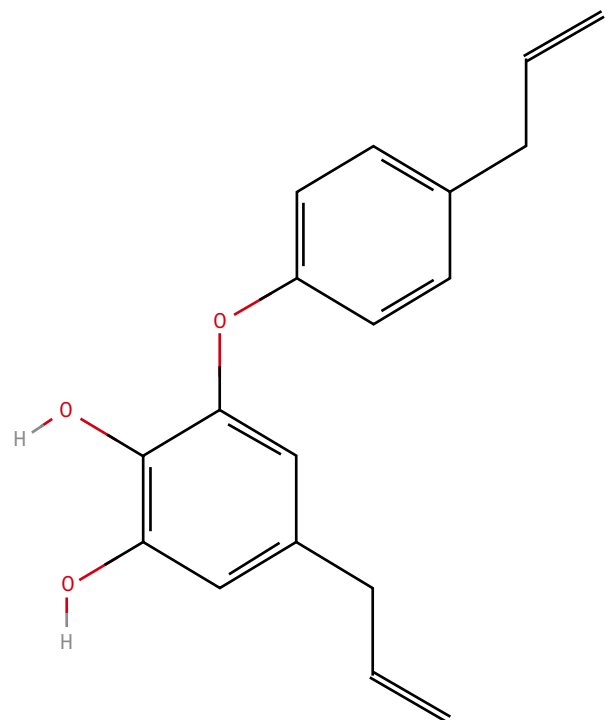
**Rycina 1.** Wzór strukturalny neolignanu honokiolu [26].  
**Figure 1.** Structural formula of neolignan honokiol [26].



**Rycina 2.** Wzór strukturalny neolignanu magnololu [27].  
**Figure 2.** Structural formula of neolignan magnolol [27].



**Rycina 3.** Wzór strukturalny neolignanu 4-*O*-metylohonokiolu [28].  
**Figure 3.** Structural formula of neolignan 4-*O*-methylhonokiol [28].



**Rycina 4.** Wzór strukturalny neolignanu obovatolu [29].  
**Figure 4.** Structural formula of neolignan obovatol [29].

i wspierającego prawidłowe funkcje rozrodcze [16, 17]. W pracach tych problematyka zastosowania honokiolu w przebiegu cukrzycy i jej powikłań została jednak przedstawiona w sposób ograniczony. Na koniec warto wspomnieć, że stosowanie ekstraktu z kory magnolii wydaje się względnie bezpieczne. Ewentualnym działaniem toksycznym mogącym wystąpić po długotrwałym stosowaniu wysokich dawek ekstraktu z kory magnolii jest nefrotoksyczność [13].

### **Cukrzyca typu 2 i jej najczęstsze powikłania**

Przewlekłe utrzymujący się stan hiperglikemii może prowadzić do rozwoju szeregu chorób o podłożu mikro- i makronaczyniowym, co zwiększa ryzyko chorób układu krążenia, promuje wystąpienie niewydolności nerek, chorób neurodegeneracyjnych czy niekorzystnych zmian w obrębie gałki ocznej. Tradycyjnie do powikłań cukrzycy o charakterze makronaczyniowym zalicza się choroby sercowo-naczyniowe (w tym chorobę wieńcową, chorobę naczyń obwodowych, choroby naczyń mózgowych), natomiast do mikronaczyniowych – nefropatię (obejmującą albuminurię i upośledzony współczynnik filtracji kłębuszkowej), retinopatię czy neuropatię. Dodatkowo u osób z cukrzycą typu 2 obserwuje się często zwiększone ryzyko zaburzeń układu mięśniowo-szkieletowego, rozwój tzw. stopy cukrzycowej, zaburzenia funkcjonowania wątroby i układu pokarmowego, zaburzenia funkcji poznawczych czy zwiększoną zapadalność na infekcje. Istnieje też zwiększone ryzyko zachorowania na choroby współistniejące, takie jak niealkoholowe stłuszczenie wątroby, obturacyjny bezdech senny czy depresja [3, 5].

### **Cel pracy**

Celem pracy było przybliżenie możliwości wykorzystania honokiolu oraz 4-*O*-metylohonokiolu w profilaktyce i terapii cukrzycy typu 2, zapobieganiu otyłości, jak i niwelowaniu skutków powikłań cukrzycowych.

### **Metodyka**

Aby szczegółowo opisać zastosowanie honokiolu i 4-*O*-metylohonokiolu w terapii cukrzycy typu 2 i jej powikłań, przeszukane zostały bazy naukowe: Google Scholar, PubMed, Embase i Cochrane. Jako słowa kluczowe niezbędne do prawidłowego przygotowania artykułu przyjęto następujące przykłady i ich kombinacje, również w języku angielskim: honokiol,

4-*O*-metylohonokiol, magnolia, *M. officinalis*, cukrzyca typu 2, hiperglikemia, otyłość, stres oksydacyjny, insulinooporność, glukoza, profil lipidowy, powikłania cukrzycowe. Większość artykułów cytowanych w niniejszym artykule dotyczy cukrzycy typu 2 i jej powikłań. Jeżeli w danym badaniu naukowym wykorzystano model zwierzęcy cukrzycy typu 1, to zostało to wyraźnie zaznaczone.

### **Honokiol – zapobieganie otyłości, profilaktyka, terapia cukrzycy typu 2 i jej powikłań**

Tkanka tłuszczowa, jako narząd metaboliczny i endokryny, odgrywa zasadniczą rolę w homeostazie energetycznej organizmu. Zespół metaboliczny powiązany jest z otyłością i można w nim często zaobserwować wystąpienie dysfunkcyjnych, powiększonych adipocytów. Należy podkreślić, że jedynie małe adipocyty są w stanie uwalniać adiponektynę, która usprawnia proces wykorzystania glukozy przez organizm, wpływa na metabolizm kwasów tłuszczowych i pośrednio na wrażliwość organizmu na insulinę. W warunkach *in vitro* 10  $\mu$ M honokiol wpłynął na wzmocnienie różnicowania się preadipocytów 3T3-L1 w adipocyty, a w obecności insuliny zwiększył akumulację lipidów oraz fosforylację białka kinazy regulowanej zewnątrzkomórkowo 1 i 2 (ERK1/2) oraz kinazy białkowej B w preadipocytach. W trakcie różnicowania się preadipocytów, honokiol zwiększył ilość matrycowego RNA (mRNA) dla agonistów receptorów aktywowanych proliferatorami peroksosomów (PPAR)  $\alpha$ 2 i ekspresję genów docelowych dla PPAR $\alpha$ 2 (w tym białka wiążącego kwasy tłuszczowe, adiponektyny oraz transportera glukozy typu 4). Uzyskane wyniki sugerują, że honokiol jest czynnikiem promującym różnicowanie się adipocytów poprzez zwiększenie poziomu mRNA dla PPAR $\alpha$ 2 i wzmocnienie szlaków sygnałowych dla insuliny [30].

W innym badaniu wykazano, że honokiol wpłynął, zależnie od zastosowanego stężenia, na indukcję wychwytu 2-NBDG w mysich preadipocytach 3T3-F442A oraz ludzkich podskórnych adipocytach. 2-NBDG to fluorescencyjny analog glukozy, który wykorzystywany jest do monitorowania wychwytu glukozy w żywych komórkach wrażliwych na insulinę. W adipocytach wrażliwych na insulinę największą skutecznością wykazała się dawka 30  $\mu$ M honokiolu, która zwiększyła wychwyty 2-NBDG o 50% w mysich adipocytach i o 40% w ludzkich adipocytach. Natomiast w adipocytach, które nie wykazywały wrażliwości na insulinę honokiol, zwiększył wychwyty tego związku o 80% w porównaniu z rosiglitazonem.

Co więcej, neolignan ten wykazywał silniejsze działanie niż stosowany równolegle etanolowy wyciąg z *M. dealbata* Zucc. Honokiol prawdopodobnie wpłynął na stymulację wychwyty glukozy we wrażliwych i niewrażliwych na insulinę mysich i ludzkich adipocytach poprzez wykorzystanie szlaku sygnałowego insuliny [18].

Przewlekłe utrzymujący się stan hiperglikemii może prowadzić do wystąpienia glukotoksyczności i przyczynić się do uszkodzenia hepatocytów w przebiegu cukrzycy typu 2 oraz towarzyszących jej powikłań metabolicznych. W modelu *in vitro* powikłań cukrzycowych, w którym glukotoksyczność w ludzkich komórkach wątroby HepG2 spowodowana została ich ekspozycją na glukozaminę, honokiol okazał się związkami, który kompleksowo wspierał prawidłowy metabolizm węglowodanów. Włączenie honokiolu do hodowli komórkowej w stężeniu 6,25  $\mu\text{M}$  istotnie zwiększyło zużycie glukozy, wychwyty 2-NBDG i translokację transportera glukozy typu 2 do błony plazmatycznej w komórkach HepG2, traktowanych glukozaminą. W kontekście stresu oksydacyjnego wywołanego glukotoksycznością, honokiol spowolnił gromadzenie się reaktywnych form tlenu (ROS) i utratę potencjału błony mitochondrialnej w komórkach. Honokiol wpłynął na złagodzenie zaburzeń metabolizmu glukozy i ograniczenie skutków stresu oksydacyjnego w komórkach, w których zaobserwowano glukotoksyczność. Prawdopodobne korzystne działanie tego związku wynika z aktywacji kinazy aktywowanej 5'AMP (AMPK) poprzez interakcję z resztami aminokwasowymi w centrum aktywnym AMPK [11].

Agoniści PPAR $\gamma$  wykorzystywani są klinicznie do przeciwdziałania negatywnym skutkom hiperglikemii. Obecny na rynku farmaceutycznym pioglitazon, będący pochodną tiazolidynionu, wykazuje pełny agonizm względem PPAR $\gamma$ . Jego stosowanie może powodować wystąpienie skutków ubocznych, takich jak przyrost masy ciała, złamania kości, nadkażenia górnych dróg oddechowych czy zaburzenia czucia. Ze względu na ryzyko wystąpienia działań niepożądanych, wciąż poszukiwane są inne związki wykazujące potencjalny agonizm względem PPAR $\gamma$ . Obiecującym kandydatem wydaje się honokiol – uznawany za ligand mający zdolność do połączenia się z PPAR $\gamma$  w formie dimeru i oddziaływania na niego jako częściowy agonista. W badaniu na preadipocytach 3T3-L1 i mysich embrionalnych fibroblastach, w porównaniu z pioglitazonem, honokiol wpłynął na stymulację podstawowego wychwyty glukozy, jednakże nie był w stanie indukować adipogenezy. U myszy KKAY (reprezentujących model otyłości i cukrzycy typu 2, ze spontanicznym rozwojem

hiperglikemii, hiperinsulinemii, nietolerancji glukozy i otyłości) przebywających na diecie wysokotłuszczowej (HFD), doustne podawanie honokiolu w dawce 100 mg/kg masy ciała przez 35 dni zapobiegło wystąpieniu stanu hiperglikemii. Udowodniono w tym badaniu, że w doustnym teście tolerancji glukozy (OGTT) zastosowanie honokiolu zmniejszyło pole powierzchni pod krzywą oraz zmniejszyło stężenie insuliny we krwi, a także zahamowało przyrost masy ciała w porównaniu ze zwierzętami nietraktowanymi tym neolignanem. Co więcej, honokiol wpłynął na poprawę tolerancji glukozy oraz stężenia insuliny u traktowanych nim zwierząt. Korzystne działanie honokiolu w tym eksperymencie poprzez ograniczenie rozwoju hiperglikemii i przyrostu masy ciała może zostać powiązane z jego zdolnością do częściowego agonizmu PPAR $\gamma$  [31].

Myszy C57BL/KsJ-*db/db* charakteryzują się niedoborem leptyny i rozwojem fenotypu przypominającego cukrzycę typu 2, w tym, z wystąpieniem takich cech, jak hiperfagia, otyłość, hiperinsulinemia, insulinooporność czy niealkoholowe stłuszczenie wątroby. Zwierzęta te zostały użyte do przeprowadzenia eksperymentu, w którym przez 5 tygodni otrzymywały odpowiednio zwykłą paszę, paszę z dodatkiem 0,01% wag. pioglitazonu lub paszę z dodatkiem 0,02% wag. honokiolu. Zastosowanie paszy z pioglitazonem wpłynęło korzystnie na zmniejszenie spożycia pokarmu u myszy, zmniejszenie stężenia glukozy na czczo we krwi i hemoglobiny glikowanej A1c (HbA1c) we krwi, jednakże zaobserwowano u nich również zwiększenie masy ciała, masy tkanki tłuszczowej i osoczonego stężenia leptyny. U myszy przebywających na normalnej paszy, ale z dodatkiem honokiolu doszło do znacznego zmniejszenia masy tkanki tłuszczowej, stężenia insuliny w osoczu, stężenia HbA1c we krwi, zmniejszenia poziomu wskaźnika insulinooporności (HOMA-IR) oraz poprawy tolerancji glukozy, bez istotnego wpływu na ilość przyjmowanego pokarmu, masę ciała lub stężenia leptyny w ich krwi. Działanie przeciwcukrzycowe i zmniejszające stopień otyłości może wynikać z hamowania aktywności enzymów glukoneogennych i zmniejszenia ilości ich mRNA w wątrobie, przy jednoczesnym hamowaniu aktywności enzymów lipogennych w tkance tłuszczowej przez honokiol. W przeciwieństwie do pioglitazonu, honokiol nie wpłynął na parametry związane z dyslipidemią, ale ograniczył stłuszczenie wątroby poprzez hamowanie aktywności lipogennych enzymów wątrobowych. Działanie przeciwzapalne obu związków było porównywalne. Badania te wskazują na ochronne działanie honokiolu w cukrzycy typu 2 poprzez poprawę insulinooporności, metabolizmu lipidów i glukozy oraz ograniczenie stanu zapalnego [32].

Mikrobiota jelitowa odgrywa ważną rolę w progresji otyłości i związanych z nią innych chorób metabolicznych. Warto zauważyć, że prawidłowo wykształcona mikroflora jelitowa odpowiada za utrzymanie odporności w obrębie błon śluzowych, rozwój tkanek limfoidalnych w jelicie czy też za wykształcenie adaptacyjnej odpowiedzi immunologicznej na patogeny. Otyłe myszy C57BL/6 przebywające na HFD, które przez 8 tygodni otrzymywały honokiol w dawce odpowiednio 200, 400 lub 800 mg/kg wykazywały w następstwie korzystne zmiany w organizmie. U myszy traktowanych wysokimi dawkami honokiolu doszło m.in. do obniżenia masy ciała i masy tkanki tłuszczowej, zmniejszenia średnicy adipocytów, ograniczenia insulinooporności, obniżenia stężenia lipidów we krwi oraz cytokin prozapalnych w surowicy. Dodatkowo honokiol wpłynął na ograniczenie występowania zaburzeń jelitowych u myszy przebywających na HFD poprzez promowanie zasiedlenia jelit prawidłową mikroflorą bakteryjną – zwiększeniem rozwoju mikroorganizmów z rodzaju *Akkermansia* i *Bacteroides* i ograniczeniem *Oscillospira*. Biorąc powyższe pod uwagę można uznać honokiol za związek, który istotnie przyczynia się do zapobiegania otyłości wynikającej z nieprawidłowej diety oraz chorób współistniejących poprzez regulację mikroflory jelitowej [33].

Cukrzyca wpływa na zwiększenie aktywności wielu izoform cytochromu P450 (CYP), w tym CYP1A2, CYP2E1, CYP4A czy CYP2C, oraz na zmianę ekspresji licznych genów i aktywność białek w wątrobie i nerkach, w tym transporterów anionów organicznych (OATs) oraz transporterów kationów organicznych, jak i białka oporności wielolekowej 4 (MRP4) czy białka oporności raka piersi (BCRP). Zmiany te zaobserwowane zostały w modelu cukrzycy typu 2 wywołanym u szczurów za pomocą HFD i pojedynczego dootrzewnowego podania streptozotocyny (STZ) w dawce 30 mg/kg. Honokiol podawany doustnie przez 8 tygodni w dawce 100 mg/kg znacząco zahamował aktywność wątrobowych izoform cytochromu P450 – CYP2E1, CYP4A, CYP3A oraz CYP1A2. Dodatkowo zaobserwowano zmniejszenie ilości mRNA dla nerkowego BCRP i MRP4 oraz zwiększenie ilości wątrobowego mRNA dla niektórych OATs. Dawki 25 i 50 mg/kg honokiolu nie wpłynęły istotnie na badane parametry. Unormowanie aktywności CYP i aktywności transporterów wątrobowych i nerkowych przez honokiol w dawce 100 mg/kg jest o tyle istotne, że cukrzyca wpływając na te parametry, powoduje zaburzenia normalnego transportu i metabolizmu wielu leków, a co za tym idzie, wpływa na ich skuteczność terapeutyczną [34].

Aby ocenić zmiany metaboliczne w mięśniu sercowym (a dokładniej w mitochondriach) myszy cukrzycowych C57BL/6 po podaniu honokiolu, zastosowano model, w którym zwierzęta z hiperglikemią podzielono na dwie grupy: myszy, u których dwutygodniowe podawanie honokiolu poprzedzone było dwutygodniowym okresem hiperglikemii oraz myszy, u których dwutygodniowe podawanie honokiolu poprzedzone było dziesięcioletniowym okresem hiperglikemii. W obu przypadkach, honokiol stosowano w dawce 0,24 mg/kg, a cukrzyca typu 2 została wywołana przez podanie STZ i nikotynamidu, odpowiednio w dawkach 100 mg/kg oraz 120 mg/kg. Po osiągnięciu odpowiednich punktów czasowych w poszczególnych grupach, zwierzęta zostały uśmiercone, mięsień sercowy został pobrany, a następnie wyizolowano z niego mitochondria. Podanie honokiolu u myszy, u których okres hiperglikemii trwał dwa tygodnie, spowodowało istotne zmniejszenie stężenia białek proliferatora peroksyzomów aktywowanego koaktywatorem receptora gamma 1 (PGC-1)  $\alpha/\beta$  i PPAR $\alpha$  w mięśniu sercowym, a u myszy, u których okres hiperglikemii trwał dziesięć tygodni, istotne zmniejszenie stężenia sirtuiny (SIRT) 3 oraz zwiększenie aktywności czynnika transkrypcyjnego Nrf2, manganowej izoformy dysmutazy ponadtlenkowej (MnSOD-2) i peroksydazy glutationowej w mięśniu sercowym. Również u myszy, u których podawanie honokiolu poprzedzone było dwu- lub dziesięcioletniowym okresem hiperglikemii, odnotowano istotne zmniejszenie stężenia białka CD36 (znanego również jako glikoproteina płytkowa 4 lub translokaza kwasów tłuszczowych), zmniejszenie aktywności formy ufosforylowanej i nieufosforylowanej białka AMPK  $\alpha$  oraz zmniejszenie poziomu mitochondrialnych acetylowanych białek w mięśniu sercowym. Zmiany te mogą świadczyć o korzystnym wpływie honokiolu na stan sercowych mitochondriów u cukrzycowych myszy, zwłaszcza w kontekście regulacji oddychania mitochondrialnego kompleksu I, w którym pośredniczą kwasy tłuszczowe i ekspresję czynników odpowiedzialnych za odpowiedź oksydacyjną. Dodatkowo promowanie oddychania mitochondrialnego, w którym pośredniczą węglowodany zamiast kwasów tłuszczowych, może korzystnie wpłynąć na złagodzenie uszkodzeń mięśnia sercowego związanych z progresją cukrzycy, dzięki ograniczeniu obciążenia oksydacyjnego, wynikającego z wysokiego stężenia utlenionych kwasów tłuszczowych. Jest to możliwe dzięki poprawie wrażliwości cukrzycowego mięśnia sercowego na insulinę, a przez to lepszemu wykorzystaniu węglowodanów w oddychaniu mitochondrialnym. Warto nadmienić, że honokiol uważany jest powszechnie za aktywatora



SIRT3, która licznie obecna jest między innymi w mitochondriach. W przytoczonym powyżej badaniu zmniejszenie stężenia SIRT3 powiązane było jednocześnie z zaobserwowaniem zmniejszenia stężenia acetylowanego białka w sercowych mitochondriach. Prawdopodobnie może świadczyć to o zdolności honokiolu do regulacji aktywności SIRT3 niezależnie od jej stężenia, dzięki czemu możliwym było oznaczenie w powyższej pracy zwiększonej deacetylacji białek mitochondrialnych [19].

W cukrzycy typu 2 często pojawiającymi się powikłaniami są zaburzenia układu sercowo-naczyniowego, a dysfunkcja energetyczna mięśnia sercowego jest niezależnym predyktorem śmiertelności [35]. Zaburzenia kurczliwości mięśnia sercowego poprzedzone są często obniżonym stężeniem sercowego adenozy-5'-trifosforanu (ATP) i fosfokreatyny. W przebiegu cukrzycy typu 2 obserwuje się często dysfunkcję produkcji energii mitochondrialnej, która objawia się poprzez zmniejszenie syntezy ATP i częstości oddechów, a także zwiększenie acetylacji białek mitochondrialnych. W badaniu szczurów z cukrzycą typu 2, którą wywołano za pomocą HFD i pojedynczej dootrzewnowej iniekcji STZ w dawce 25 mg/kg, podanie honokiolu w dawce 0,4 mg/kg przez ostatnie 10 dni trwania eksperymentu spowodowało odwrócenie hiperacetylacji białek mitochondrialnych i przywrócenie mitochondrialnego tempa oddychania do poziomu kontrolnego. Dodatkowo odnotowano zwiększoną aktywność dehydrogenazy glutaminowej i zwiększone stężenie ATP oraz fosfokreatyny w tkance mięśnia sercowego zwierząt. Pozytywny wpływ honokiolu na mięsień sercowy został w tym badaniu wyjaśniony poprzez fakt, że związek ten uważany jest za aktywatora mitochondrialnej deacetylazy SIRT3, co przełożyło się na unormowanie energetyki w obrębie mitochondriów i mięśnia sercowego [35].

Nie tylko cukrzyca typu 2, ale też typu 1 wywiera negatywny wpływ na układ sercowo-naczyniowy. Również w tym przypadku zmiany cukrzycowe mogą prowadzić do uszkodzenia mięśnia sercowego w wyniku niedokrwienia. W badaniach na modelu zwierzęcym z eksperymentalnie wywołaną cukrzycą typu 1, honokiol okazał się skutecznym środkiem kardioprotekcyjnym dzięki swoim właściwościom antyoksydacyjnym. Prawdopodobnie wynika to z faktu, że łagodzi on uszkodzenia w obrębie mięśnia sercowego poprzez wpływ na szlak sygnałowy SIRT1-Nrf2, zwłaszcza aktywację sygnalizacji SIRT1 i zwiększenie translokacji jądrowego Nrf2, jak również poprzez zwiększenie sygnalizacji antyoksydacyjnej i osłabienie

sygnalizacji proapoptotycznej. W badaniu tym cukrzyca u szczurów została wywołana przez trzykrotne dootrzewnowe podanie STZ w dawce 60 mg/kg, a niedokrwienie mięśnia sercowego osiągnięto operacyjnie za pomocą tymczasowego podwiązania tętnicy wieńcowej. Szczury cukrzycowe charakteryzowały się zwiększonym stężeniem glukozy zmierzonej na czczo oraz po posiłku, którym towarzyszyło wyraźne upośledzenie jej tolerancji, odzwierciedlające się w teście OGTT i dootrzewnowym teście tolerancji glukozy (IPGTT). Zaobserwowano dodatkowo upośledzenie czynności serca, zwiększone stężenie białek związanych z apoptozą, nadmierną produkcję ROS oraz zmniejszenie stężenia i aktywności SIRT1. Honokiol podawany był szczurom cukrzycowym doustnie w dawce 5 mg/kg przez tydzień przed wykonaniem operacji oraz raz poprzez dootrzewnową iniekcję na 10 minut przed wywołaniem reperfuzji. Wśród obserwowanych korzystnych zmian po podaniu honokiolu u szczurów cukrzycowych i po urazie mięśnia sercowego odnotowano poprawę czynności serca po wystąpieniu stanu niedokrwienia, zmniejszenie rozmiaru zawału, jak również zmniejszenie wytwarzania ROS i zmniejszenie apoptozy w mięśniu sercowym. Potwierdzeniem tego stanu było również zmniejszenie stężenia kinazy kreatynowej i dehydrogenazy mleczanowej w surowicy krwi, zwiększenie aktywności SOD, zmniejszenie stężenia malonyldialdehydu (MDA), zwiększenie aktywności oksygenazy hemowej-1 (HO-1), NAD(P)H oksydoreduktazy chinonu 1 i SIRT1 oraz translokacji Nrf2 w tkance mięśnia sercowego. Biorąc powyższe pod uwagę, można podejrzewać, że honokiol wywiera działanie zmniejszające uszkodzenia wynikające z niedokrwienia mięśnia sercowego poprzez łagodzenie skutków uszkodzeń oksydacyjnych i nadmiernej apoptozy za pośrednictwem szlaku sygnałowego SIRT1-Nrf2 u szczurów z eksperymentalnie wywołaną cukrzycą typu 1 [36].

Cukrzyca i utrzymujący się w organizmie permanentny stan hiperglikemii predestynują do wystąpienia udaru cieplnego, zwłaszcza przy wysokich temperaturach otoczenia. Modelem zwierzęcym, który dobrze oddaje to zjawisko są szczury, u których cukrzycę wywołano przez pojedynczą iniekcję STZ w dawce 30 mg/mL/kg, a sam udar cieplny – poprzez zwiększenie temperatury otoczenia do 43°C przez 60 minut. Zwierzęta wykazywały objawy nadmiernej hipertermii, zapalenia mózgowia, niedokrwienia, dysfunkcji, uszkodzeń i niewydolności wielonarządowej. Premedykacja honokiolem w dawkach 0,5, 1,5 lub 5 mg/mL/kg na godzinę przed planowanym wywołaniem udaru cieplnego wywarła

ochronny wpływ na organizm szczurów cukrzycowych. U zwierząt, które otrzymały honokiol zaobserwowano osłabienie stanu hipertermii, zmniejszenie niedociśnienia, niedokrwienia podwzgórza, niedotlenienia i apoptozy neuronów. Dodatkowo doszło do obniżenia osoczowego indeksu toksycznych rodników utleniających oraz ograniczenia dysfunkcji wątroby i nerek (ustabilizowania stężenia kreatyniny i azotu mocznikowego we krwi, aminotransferazy alaninowej (ALT), aminotransferazy asparaginianowej i fosfatazy alkalicznej w surowicy krwi). Kolejnym istotnym działaniem honokiolu było obniżenie poziomu osoczowych cząsteczek ogólnoustrojowej odpowiedzi zapalnej (w tym czynnika martwicy nowotworów  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukiny (IL) 1 $\beta$  i 6, międzykomórkowej molekuly adhezyjnej-1 (ICAM-1), mieloperoksydazy i E-selektyny), zwiększenie osoczowego stężenia przeciwzapalnych cytokin oraz zmniejszenie wskaźnika naciekania neutrofilii wielojądrowych w surowicy. Czterokrotnie zwiększył się czas przeżycia szczurów cukrzycowych otrzymujących honokiol w porównaniu ze szczurami z cukrzycą, które go nie otrzymały. Ochronne działanie honokiolu na organizm szczurów z cukrzycą i udarem cieplnym może być związane ze zmniejszeniem stanu zapalnego i dysfunkcji wielonarządowej wywołanej stresem oksydacyjnym [37].

Myszy szczepu BTBR *ob/ob* to szczep charakteryzujący się niedoborem leptyny, u którego rozwija się cukrzyca typu 2 o ciężkim przebiegu, w którym stwierdza się hipercholesterolemię, podwyższone stężenie trójglicerydów (TG), insulinooporność, a także zmiany wskazujące na nefropatię cukrzycową. U myszy tych zaobserwowano zmniejszenie poziomu mRNA dla SIRT3 w nerkach, co może być związane z upośledzeniem jej aktywności deacetylującej względem MnSOD-2, a także ze zwiększoną produkcją ROS w organizmie. Warto zauważyć, że SIRT3 posiada zdolność do deacetylowania różnych białek, w tym między innymi MnSOD-2, dzięki czemu wywiera zauważalny wpływ na regulację stresu oksydacyjnego w organizmie. Selektywna aktywacja SIRT3 poprzez podanie honokiolu w dawce 10 mg/kg przez 6 tygodni spowodowała u otyłych myszy z cukrzycą typu 2 złagodzenie albuminurii i zniwelowanie uszkodzeń w obrębie kłębuszków nerkowych oraz redukcję stresu oksydacyjnego. Działanie lecznicze honokiolu wiązało się z poprawą dysfunkcji i zmniejszeniem utraty ilości podocytów. Dodatkowo honokiol ograniczył kłębuszkowe rozszerzenie naczyń włosowatych i wpłynął na poprawę kondycji mitochondriów w kłębuszkach nerkowych poprzez aktywację MnSOD-2 i przywrócenie prawidłowej

aktywności PGC-1 $\alpha$ . Szlak molekularny SIRT3-MnSOD-2 w sposób realny wywiera wpływ na stres oksydacyjny w organizmie, a honokiol może być modulatorem tego szlaku. Prawdopodobnie wpływ honokiolu na aktywność SIRT3 może przyczynić się do poprawienia parametrów organizmu przy występującej równocześnie nefropatii [38].

Zespół obturacyjnego bezdechu sennego i spłycenia oddechu jest związany z nietolerancją glukozy, insulinoopornością i cukrzycą typu 2. Występujące w nim stany okresowego niedotlenienia mogą uszkadzać komórki  $\beta$  trzustki, co dodatkowo sprzyja rozwojowi cukrzycy poprzez narastający w organizmie stres oksydacyjny. Aby zbadać wpływ honokiolu na uszkodzenia oksydacyjne w obrębie komórek  $\beta$  trzustki, posłużono się modelem badawczym *in vitro* i *in vivo*. Badanie *in vitro* objęło komórki INS-1 (komórki  $\beta$  trzustki szczura) narażone na działanie wysokiego stężenia glukozy (25 mM) i naprzemiennych cykli normoksji (21% tlenu) i okresowej hipoksji (1% tlenu), odpowiednio po 5 i 10 minut. Część z tych komórek potraktowana została dodatkowo dawką 50  $\mu$ M honokiolu, odpowiednio przez 24, 48 lub 72 godziny, z lub bez wywołania okresowej hipoksji. Honokiol wpłynął na zmniejszenie stresu oksydacyjnego, cytotoxycywności i apoptozy w komórkach INS-1, które wystawione były na wysokie stężenia glukozy lub jednoczesne wysokie stężenia glukozy i okresowe niedotlenienie. Poprawie uległy m.in. takie parametry jak: wyciek dehydrogenazy mleczanowej, produkcja ROS, aktywność SOD czy stężenie MDA. Aby odtworzyć model cukrzycy typu 2 w warunkach *in vivo*, użyto szczurów, u których zastosowano HFD oraz dootrzewnową iniekcję STZ w dawce 35 mg/kg. U części zwierząt odtworzono dodatkowo warunki okresowej hipoksji, tj. ekspozycję przez 8 godzin na cykle 80 sekundowej hipoksji i 160 sekundowej normoksji. Zarówno w grupie szczurów cukrzycowych, jak i szczurów cukrzycowych narażonych na okresową hipoksję wyodrębniono osobniki, które otrzymywały doustnie przez 8 tygodni honokiol w dawce 200 mg/kg. Okresowe niedotlenienie wpłynęło na pogłębienie dysfunkcji trzustki, zwiększyło stężenie glukozy i glukagonu we krwi na czczo, wartość HOMA-IR i stres oksydacyjny u szczurów z cukrzycą. U szczurów cukrzycowych honokiol wpłynął na zmniejszenie stężenia glukozy i glukagonu we krwi na czczo oraz zwiększenie stężenia insuliny na czczo, natomiast u szczurów cukrzycowych wystawionych dodatkowo na działanie okresowej hipoksji na zmniejszenie stężenia glukozy i glukagonu we krwi na czczo, zwiększenie stężenia insuliny na

czczo, zmniejszenie wartości HOMA-IR, zwiększenie aktywności SOD i zmniejszenie stężenia MDA. Dodatkowo honokiol, zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo*, wpłynął na aktywację szlaku Nrf2/ARE (elementów odpowiedzi antyoksydacyjnej) i zmniejszył patologiczne zmiany zachodzące w obrębie trzustki. Ochronne działanie honokiolu na komórki  $\beta$  trzustki szczurów z cukrzycą, poddanych okresowemu niedotlenieniu może wynikać zarówno z jego działania jako zmiataacza ROS, aktywacji szlaku Nrf2/ARE, łagodzenia skutków stresu oksydacyjnego czy poprawy funkcjonalności komórek trzustki [39].

#### **4-O-metylohonokiol – profilaktyka i terapia cukrzycy typu 2 oraz jej powikłań**

Najnowsze badania dotyczące związków pochodzenia roślinnego opierają się na projektowaniu badań odzwierciedlających zarówno ich krótko-, jak i długofalowy wpływ na organizm. Jest to o tyle cenne, że w życiu codziennym preparaty takie jak suplementy diety czy niektóre leki dostępne bez recepty przyjmowane są tylko przez ściśle określony czas, po którym wymagane jest odstawienie takiego preparatu. Pożądanym jest, aby po okresie wysycenia organizmu określonym związkiem pochodzenia roślinnego i jego odstawieniu nadal móc obserwować jego długofalowe korzystne działanie w organizmie. Symulacją dobrze odzwierciedlającą ten stan rzeczy jest model badawczy, w którym grupa zwierząt otrzymuje przez określony czas dany związek, np. pochodzenia roślinnego, po czym część grupy zostaje uśmiercona, a część pozostawiona dalej w badaniu, przy czym nie otrzymuje już wskazanej substancji i dopiero po określonym czasie również zostaje uśmiercona. Na otrzymanym materiale zwierzęcym zarówno z pierwszej, jak i z drugiej części badania, przeprowadzone są odpowiednie oznaczenia, dzięki którym można ukazać wpływ zarówno krótkotrwałego podawania danego związku, jak i jego długotrwały skutek, nawet po zaprzestaniu jego przyjmowania.

Wpływ 4-O-metylohonokiolu na cukrzycową kardiomiopatię został przedstawiony w eksperymencie, którego struktura została zaprojektowana w taki sposób, aby zobrazować jego krótko- jak i długofalowe działanie. Cukrzyca typu 2 została wywołana przez zastosowanie HFD oraz pojedynczego podania STZ w dawce 100 mg/kg myszom C57BL/6J. Następnie zwierzęta z cukrzycą otrzymywały 4-O-metylohonokiol w dawce 1 mg/kg przez trzy miesiące. Po

tym czasie część zwierząt została uśmiercona, a część pozostawiona przy życiu przez kolejne trzy miesiące eksperymentu jedynie na HFD. Po tym czasie również te myszy zostały uśmiercone. U zwierząt z cukrzycą typu 2 rozwinęła się hiper-glikemia. Zaobserwowano również zwiększenie poziomu niektórych markerów świadczących o postępującym włóknieniu mięśnia sercowego (zwiększone odkładanie się kolagenu, zwiększenie stężenia białek fibronektyny i lamininy) oraz zwiększenie stężenia markerów świadczących o stanie zapalnym serca (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , ICAM). O wystąpieniu stresu oksydacyjnego w mięśniu sercowym dowodziło zwiększenie poziomu 4-hydroksynonenalu (4-HNE) i MDA, a o upośledzeniu metabolizmu lipidów oraz wystąpieniu insulinooporności zmniejszenie fosforylacji kinazy syntazy glikogenu-3 $\beta$  (GSK-3 $\beta$ ), zmniejszenie aktywności palmitoilotransferazy karnityny 1B (CPT1B) oraz zwiększenie stężenia SIRT1, PPAR $\alpha$  i CD36 w mięśniu sercowym. Trzymiesięczne podanie 4-O-metylohonokiolu spowodowało u cukrzycowych myszy istotne zwiększenie fosforylacji GSK-3 $\beta$  i zwiększenie aktywności CPT1B w kardiomiocytach, a u myszy cukrzycowych otrzymujących 4-O-metylohonokiol przez trzy miesiące i następnie pozostawionych na HFD przez kolejne trzy miesiące, już bez podawania 4-O-metylohonokiolu, istotne zmniejszenie stężenia glukozy we krwi, zmniejszenie stężenia białek fibronektyny i lamininy w mięśniu sercowym, zmniejszenia stężenia sercowych TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  i ICAM, zmniejszenie poziomu 4-HNE i MDA, zwiększenie stężenia SIRT1 oraz PPAR $\alpha$ , jak również aktywację AMPK $\alpha$  w obrębie kardiomiocytów. Oba tryby podawania 4-O-metylohonokiolu spowodowały zmniejszenie akumulacji lipidów oraz odkładania się kolagenu w mięśniu sercowym myszy. Prawdopodobnie 4-O-metylohonokiol zapobiega niekorzystnym skutkom kardiomiopatii cukrzycowej poprzez zależną od kinazy aktywowanej 5'AMP poprawę metabolizmu lipidów [20].

Podobny schemat eksperymentu został wybrany, aby przedstawić wpływ 4-O-metylohonokiolu na nefropatię cukrzycową. Myszy C57BL/6J z cukrzycą typu 2 wywołaną HFD i pojedynczym podaniem STZ w dawce 100 mg/kg otrzymywały 4-O-metylohonokiol w dawce 1 mg/kg przez trzy miesiące. Po tym czasie część zwierząt została uśmiercona, a część pozostała dalej w badaniu – nie otrzymywała już ona jednak 4-O-metylohonokiolu, a jedynie HFD. Po kolejnych trzech miesiącach grupa ta również została uśmiercona. Cukrzyca typu 2 spowodowała u zwierząt pojawienie się białkomoczu. Nastąpiła również akumulacja lipidów w nerkach

oraz rozwinął się stres oksydacyjny i liczne reakcje zapalne, co w konsekwencji doprowadziło do zwłóknienia nerek. Obserwowano również wzrost kłębuszków i kanalików nerkowych, pogrubienie kłębuszkowej błony podstawnej oraz jej liczne nieprawidłowości. Dodatkowo myszy cukrzycowe charakteryzowały się podwyższonym stężeniem glukozy na czczo we krwi, podwyższonym stężeniem albumin w moczu, mierzonych w 24-godzinny przedziale czasowym, zwiększonym odkładaniem kolagenu w tkance nerek, zwiększeniem stężenia białka fibronektyny i lamininy oraz poziomu mRNA dla lamininy w tkance nerek. Również parametry związane ze stresem oksydacyjnym uległy pogorszeniu, co znalazło odzwierciedlenie w podwyższonym stężeniu białka 3-nitrotyrozyny (3-NT) i obniżonym stężeniu białka Nrf2 oraz zmniejszonej aktywności enzymów antyoksydacyjnych MnSOD-2 i katalazy (CAT). W nerkach myszy cukrzycowych zaobserwowano również zwiększenie ilości mRNA dla IL-1 $\beta$ , zwiększenie aktywności ufosforylowanego białka czynnika transkrypcyjnego NF- $\kappa$ B oraz TNF- $\alpha$ , jak i pogorszenie się metabolizmu lipidów charakteryzujące się zmniejszeniem aktywności CPT-1B czy PGC-1 $\alpha$ . Podanie 4-O-metylohonokiolu cukrzycowym myszom przez trzy miesiące spowodowało istotne zwiększenie aktywności MnSOD-2 i CAT, zwiększenie ekspresji PGC-1 $\alpha$ , a także aktywację fosforylacji AMPK $\alpha$  w tkance nerek, a u myszy cukrzycowych otrzymujących 4-O-metylohonokiol przez trzy miesiące i następnie pozostawionych na HFD przez kolejne trzy miesiące, już bez podawania 4-O-metylohonokiolu, istotne zmniejszenie odkładania się kolagenu w tkance nerek, zmniejszenie poziomu mRNA dla lamininy i jej białka, zmniejszenie stężenia białka 3-NT, ufosforylowanego NF- $\kappa$ B i TNF- $\alpha$  oraz ilości mRNA dla IL-1 $\beta$  w tkance nerek. Oba sposoby podawania 4-O-metylohonokiolu wpłynęły na zwiększenie stężenia białka CPT-1B w tkance nerek. Działanie ochronne 4-O-metylohonokiolu jest związane prawdopodobnie z poprawą metabolizmu lipidów poprzez zwiększenie procesu utleniania kwasów tłuszczowych za pośrednictwem szlaku AMPK/PGC-1 $\alpha$ /CPT1B oraz zmniejszeniem negatywnych skutków stresu oksydacyjnego przy udziale szlaku Nrf2/SOD. Podanie 4-O-metylohonokiolu myszom cukrzycowym nie wpłynęło w sposób istotny na poprawę stężenia glukozy na czczo we krwi i stężenia albumin w moczu, mierzonych w 24-godzinny przedziale czasowym, oraz na stężenie białka fibronektyny w tkance nerek, jednakże warto odnotować, że ich stężenie lub ekspresja uległy nieznacznemu zmniejszeniu [21].

W celu sprawdzenia wpływu 4-O-metylohonokiolu na otyłość i ogólnoustrojową insulinoporność otyłe myszy C57BL/6J przebywające na HFD otrzymywały przez 24 tygodnie etanolowy roztwór 4-O-metylohonokiolu, odpowiednio w dawce 0,5 mg/kg lub 1 mg/kg. U myszy przebywających wyłącznie na HFD stwierdzono nagromadzenie białej tkanki tłuszczowej w organizmie, powiększenie adipocytów i nacieki z makrofagów oraz obraz kliniczny sugerujący stłuszczenie wątroby i insulinoporność. W przeciwieństwie do nich, myszy, które otrzymały 4-O-metylohonokiol odpowiednio w dawce 0,5 mg/kg lub 1 mg/kg wykazywały poprawę niektórych parametrów związanych z otyłością. Obie dawki 4-O-metylohonokiolu spowodowały istotne zmniejszenie stężenia osoczowych TG, cholesterolu i ALT oraz stężenia wątrobowych TG, jak i stosunku masy wątroby do długości kości piszczelowej. Podanie 4-O-metylohonokiolu nie spowodowało zmniejszenia stężenia glukozy na czczo, jednakże wpłynęło na zmniejszenie stężenia insuliny w osoczu głodzonych myszy oraz obniżenie wskaźnika HOMA-IR. Dodatkowo, w teście IPGTT pole powierzchni pod krzywą było zmniejszone u myszy traktowanych niskimi dawkami 4-O-metylohonokiolu. Ogólny obraz pozwala sądzić, że 4-O-metylohonokiol wpłynął na poprawę parametrów związanych z insulinopornością oraz hiperinsulinemią [22].

Podobny eksperyment dotyczący otyłości, ale zaprojektowany w kontekście obciążenia układu sercowo-naczyniowego, został również przeprowadzony na otyłych myszach C57BL/6J przebywających na HFD i otrzymujących przez 24 tygodnie 4-O-metylohonokiol, odpowiednio w dawce 0,5 mg/kg lub 1 mg/kg. Brak interwencji u myszy HFD przyczynił się do wystąpienia u nich przerostu mięśnia sercowego i nadmiernej akumulacji lipidów w tym narządzie oraz pogorszenia parametrów świadczących o wystąpieniu stresu oksydacyjnego, jak i insulinoporności. Zwierzęta przebywające na HFD, którym podano 4-O-metylohonokiol, odpowiednio w dawce 0,5 mg/kg lub 1 mg/kg, charakteryzowały się zmniejszeniem objawów wskazujących na upośledzenie sygnalizacji insuliny i wystąpienie stresu oksydacyjnego w mięśniu sercowym. Obie dawki 4-O-metylohonokiolu spowodowały zmniejszenie stężenia substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym i 3-NT w mięśniu sercowym, zwiększenie poziomu mRNA dla HO-1, zmniejszenie stężenia białka CD36 i zwiększenie aktywności PGC-1 $\alpha$ , zwiększenie fosforylacji Nrf2, jak i aktywności Akt2 i heksokinazy II w mięśniu sercowym,

natomiast wyższa dawka 4-*O*-metylohonokiolu dodatkowo zmniejszyła jeszcze stężenie TNF- $\alpha$  w mięśniu sercowym. Ponadto odnotowano, że 4-*O*-metylohonokiol spowodował zmniejszenie masy serca i stosunku masy tego narządu do długości kości piszczelowej. Wyniki te mogą świadczyć o zapobieganiu przez 4-*O*-metylohonokiol upośledzeniu sygnalizacji insuliny w mięśniu sercowym poprzez oddziaływanie na sygnalizację Nrf2 i Akt2 oraz osłabieniu akumulacji lipidów i lipotoksyczności związanej z białkiem CD36 [40].

## Podsumowanie

W niniejszym opracowaniu przedstawiono aktualny stan wiedzy na temat honokiolu oraz 4-*O*-metylohonokiolu na przebieg cukrzycy typu 2 i jej powikłań w oparciu o badania *in vivo* przeprowadzone na zwierzętach oraz badania *in vitro*. Liczne doniesienia naukowe, które zostały zebrane w tej pracy potwierdzają, że neolignany roślinne, do których należą honokiol i 4-*O*-metylohonokiol, to cząsteczki, które swoim wielokierunkowym działaniem pozytywnie wpływają na polepszenie niektórych parametrów związanych z przebiegiem cukrzycy typu 2 oraz jej licznymi powikłaniami. Pomocnicze działanie honokiolu i 4-*O*-metylohonokiolu w terapii przeciwcukrzycowej znajduje odzwierciedlenie m.in. w poprawie tolerancji insuliny, normalizacji homeostazy glukozy, zapobieganiu negatywnym skutkom stresu oksydacyjnego czy też zapobieganiu otyłości. Działanie to może znaleźć zastosowanie we wspomaganiu organizmu obciążonego powikłaniami cukrzycowymi, w tym: kardiomiopatią i niedokrwieniem mięśnia sercowego, udarem cieplnym, zespołem obturacyjnego bezdechu sennego, nefropatią czy też zaburzoną mikrobiotą jelitową. Podsumowując, honokiol i 4-*O*-metylohonokiol wykazują obiecujące efekty w profilaktyce i leczeniu cukrzycy typu 2 oraz towarzyszących jej powikłań. Zebrane w niniejszym artykule dane mogą stanowić podstawę do rozważenia słuszności wdrożenia suplementacji honokiolu bądź 4-*O*-metylohonokiolu do podstawowej terapii przeciwcukrzycowej, jako jej wsparcie i uzupełnienie, oraz dodatkową ochronę przed wystąpieniem ciężkich powikłań okołocukrzycowych.

## Piśmiennictwo

1. Khan MAB, Hashim MJ, King JK, Govender RD, Halla M, Al Kaabi J. Epidemiology of type 2 diabetes – global burden of disease and forecasted trends. *J Epidemiol Glob Health*. 2020; 10(1): 107–111. doi: 10.2991/jeqh.k.191028.001.
2. Galicia-Garcia U, Benito-Vicente A, Jebari S, et al. Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(17): 6275. doi: 10.3390/ijms21176275.
3. Zheng Y, Ley SH, Hu FB. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nat Rev Endocrinol*. 2018; 14(2): 88–98. doi: 10.1038/nrendo.2017.151.
4. Marín-Peñalver JJ, Martín-Timón I, Sevillano-Collantes C, del Cañizo-Gómez FJ. Update on the treatment of type 2 diabetes mellitus. *World J Diabetes*. 2016; 7(17): 354–395. doi: 10.4239/wjd.v7.i17.354.
5. Unuofin JO, Lebelo SL. Antioxidant effects and mechanisms of medicinal plants and their bioactive compounds for the prevention and treatment of type 2 diabetes: an updated review. *Oxid Med Cell Longev*. 2020; 2020: 1356893. doi: 10.1155/2020/1356893.
6. Lankatillake C, Huynh T, Dias DA. Understanding glycaemic control and current approaches for screening antidiabetic natural products from evidence-based medicinal plants. *Plant Methods*. 2019; 15(1): 105. doi: 10.1186/s13007-019-0487-8.
7. Salehi B, Ata A, Kumar NVA, et al. Antidiabetic potential of medicinal plants and their active components. *Biomolecules*. 2019; 9(10): 551. doi: 10.3390/biom9100551.
8. Ansari P, Akther S, Hannan JMA, Seidel V, Nujat NJ, Abdel-Wahab YHA. Pharmacologically active phytochemicals isolated from traditional antidiabetic plants and their therapeutic role for the management of diabetes mellitus. *Molecules* 2022; 27(13): 4278. doi: 10.3390/molecules27134278.
9. Shoaib M, Shehzad A, Omar M, et al. Inulin: properties, health benefits and food applications. *Carbohydr Polym*. 2016; 147: 444–454. doi: 10.1016/j.carbpol.2016.04.020.
10. Bailey CJ. Metformin: historical overview. *Diabetologia* 2017; 60(9): 1566–1576. doi: 10.1007/s00125-017-4318-z.
11. Liu H, Luo W, Liu J, et al. The glucotoxicity protecting effect of honokiol in human hepatocytes via directly activating AMPK. *Front Nutr*. 2022; 9: 1043009. doi: 10.3389/fnut.2022.1043009.
12. Luo H, Wu H, Yu X, et al. A review of the phytochemistry and pharmacological activities of *Magnolia officinalis cortex*. *J Ethnopharmacol*. 2019; 236: 412–442. doi: 10.1016/j.jep.2019.02.041.
13. Poivre M, Duez P. Biological activity and toxicity of the Chinese herb *Magnolia officinalis* Rehder & E. Wilson (Houpo) and its constituents. *J Zhejiang Univ – Sci B*. 2017; 18(3): 194–214. doi: 10.1631/jzus.B1600299.
14. Chan EWC, Wong SK, Chan HT. A short review on the chemistry, pharmacological properties and patents of obovatol and obovatol (neolignans) from *Magnolia obovata*. *Nat Prod Sci*. 2021; 27(3): 141–150. doi: 10.20307/nps.2021.27.3.141.
15. Szałabska-Rapala K, Borymska W, Kaczmarczyk-Sedlak I. Effectiveness of magnolol, a lignan from magnolia bark, in diabetes, its complications and comorbidities – a review. *Int J Mol Sci*. 2021; 22(18): 10050. doi: 10.3390/ijms221810050.
16. Rauf A, Olatunde A, Imran M, et al. Honokiol: a review of its pharmacological potential and therapeutic insights. *Phytomedicine* 2021; 90: 153647. doi: 10.1016/j.phymed.2021.153647.
17. Chen C, Zhang Q-W, Ye Y, Lin L-G. Honokiol: a naturally occurring lignan with pleiotropic bioactivities. *Chin J Nat Med*. 2021; 19(7): 481–490. doi: 10.1016/S1875-5364(21)60047-X.
18. Alonso-Castro AJ, Zapata-Bustos R, Domínguez F, García-Carrancá A, Salazar-Olivo LA. *Magnolia dealbata* Zucc and its active principles honokiol and magnolol stimulate glucose uptake in murine and human adipocytes using the insulin-signaling pathway. *Phytomedicine* 2011; 18(11): 926–933. doi: 10.1016/j.phymed.2011.02.015.
19. Jayakumari NR, Rajendran RS, Sivasailam A, et al. Honokiol regulates mitochondrial substrate utilization and cellular fatty acid metabolism in diabetic mice heart. *Eur J Pharmacol*. 2021; 896: 173918. doi: 10.1016/j.ejphar.2021.173918.
20. Zheng Z, Ma T, Guo H, et al. 4-*O*-methylhonokiol protects against diabetic cardiomyopathy in type 2 diabetic mice by activation of AMPK-mediated cardiac lipid metabolism improvement. *J Cell Mol Med*. 2019; 23(8): 5771–5781. doi: 10.1111/jcmm.14493.
21. Ma T, Zheng Z, Guo H, et al. 4-*O*-methylhonokiol ameliorates type 2 diabetes-induced nephropathy in mice likely by activation of AMPK-mediated fatty acid oxidation and Nrf2-mediated anti-oxidative stress. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2019; 370: 93–105. doi: 10.1016/j.taap.2019.03.007.
22. Zhang Z, Chen J, Jiang X, et al. The *Magnolia* bioactive constituent 4-*O*-methylhonokiol protects against high-fat diet-induced obesity and systemic insulin resistance in mice. *Oxid Med Cell Longev*. 2014; 2014: 965954. doi: 10.1155/2014/965954.
23. Ong CP, Lee WL, Tang YQ, Yap WH. Honokiol: A review of its anticancer potential and mechanisms. *Cancers (Basel)* 2020; 12(1): 48. doi: 10.3390/cancers12010048.

24. Chan EWC. 4-O-Methylhonokiol: a lesser-known neolignan from *Magnolia* species with diverse and promising pharmacological properties. *J Appl Pharm Sci.* 2022; 12(6): 023–029. doi: 10.7324/JAPS.2022.120603.
25. Zhao X, Li F, Sun W, et al. Extracts of *Magnolia* species-induced prevention of diabetic complications: a brief review. *Int J Mol Sci.* 2016; 17(10): 1629. doi: 10.3390/ijms17101629.
26. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 72303, Honokiol. Available online: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Honokiol#section=2D-Structure&fullscreen=true> (Accessed Oct. 21, 2022).
27. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 72300, Magnolol. Available online: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Magnolol#section=2D-Structure&fullscreen=true> (Accessed Oct. 21, 2022).
28. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 155160, 4-O-Methylhonokiol. Available online: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4-O-Methylhonokiol#section=2D-Structure&fullscreen=true> (Accessed Oct. 21, 2022).
29. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 100771, Obovatol. Available online: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Obovatol#section=2D-Structure&fullscreen=true> (Accessed Oct. 21, 2022).
30. Choi S-S, Cha B-Y, Iida K, et al. Honokiol enhances adipocyte differentiation by potentiating insulin signaling in 3T3-L1 preadipocytes. *J Nat Med.* 2011; 65(3–4):424–430. doi: 10.1007/s11418-011-0512-3.
31. Atanasov AG, Wang JN, Gu SP, et al. Honokiol: a non-adipogenic PPAR $\gamma$  agonist from nature. *Biochim Biophys Acta.* 2013; 1830(10): 4813–4819. doi: 10.1016/j.bbagen.2013.06.021.
32. Kim Y-J, Jung UJ. Honokiol improves insulin resistance, hepatic steatosis, and inflammation in type 2 diabetic db/db mice. *Int J Mol Sci.* 2019; 20(9): 2303. doi: 10.3390/ijms20092303.
33. Ding Y, Song Z, Li H, et al. Honokiol ameliorates high-fat-diet-induced obesity of different sexes of mice by modulating the composition of the gut microbiota. *Front Immunol.* 2019; 10: 2800. doi: 10.3389/fimmu.2019.02800.
34. Wang J, Zhai T, Chen Y. Effects of honokiol on CYP450 activity and transporter mRNA expression in type 2 diabetic rats. *Int J Mol Sci.* 2018; 19(3): 815. doi: 10.3390/ijms19030815.
35. Kerr M, Miller JJ, Thapa D, et al. Rescue of myocardial energetic dysfunction in diabetes through the correction of mitochondrial hyperacetylation by honokiol. *JCI Insight.* 2020; 5(17): e140326. doi: 10.1172/jci.insight.140326.
36. Zhang B, Zhai M, Li B, et al. Honokiol ameliorates myocardial ischemia/reperfusion injury in type 1 diabetic rats by reducing oxidative stress and apoptosis through activating the SIRT1–Nrf2 signaling pathway. *Oxid Med Cell Longev.* 2018; 2018: 3159801. doi: 10.1155/2018/3159801.
37. Hsu C-C, Chen L-F, Lin M-T, Tian Y-F. Honokiol protected against heatstroke-induced oxidative stress and inflammation in diabetic rats. *Int J Endocrinol.* 2014; 2014: 134575. doi: 10.1155/2014/134575.
38. Locatelli M, Zoja C, Zanchi C, et al. Manipulating Sirtuin 3 pathway ameliorates renal damage in experimental diabetes. *Sci Rep.* 2020; 10(1): 8418. doi: 10.1038/s41598-020-65423-0.
39. Li C, Ni C, Yang M, et al. Honokiol protects pancreatic  $\beta$  cell against high glucose and intermittent hypoxia-induced injury by activating Nrf2–ARE pathway *in vitro* and *in vivo*. *Biomed Pharmacother.* 2018; 97: 1229–1237. doi: 10.1016/j.biopha.2017.11.063.
40. Zhang Z, Chen J, Zhou S, et al. *Magnolia* bioactive constituent 4-O-methylhonokiol prevents the impairment of cardiac insulin signaling and the cardiac pathogenesis in high-fat diet-induced obese mice. *Int J Biol Sci.* 2015; 11(8): 879–891. doi: 10.7150/ijbs.12101.