

Review: Analisis Studi *In Silico* Chrisophanol, Phiscion, Hesperidin dan Curcumin sebagai Kandidat Obat Potensial Kanker HEPG2 Jalur MAPKs

FITRI LIANINGSIH^{1*}, SHABRINA SYIFA GHAISSANI¹, AWIK P.D. NURHAYATI¹

¹Program Studi Pascasarjana Biologi, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Analisis Data,
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Jl. Teknik Kimia Surabaya, Indonesia. 60111
*email: fitrilianingsih63@gmail.com

ABSTRACT

Liver cancer is one of the fastest growing types of cancer in the world. One of the pathways that play a role in liver cancer is MAPKs. Several candidate compounds from natural sources are needed for a more effective and low toxicity treatment of liver cancer. The purpose of this study was to determine the potential of chrisophanol, phiscion, hesperidin and curcumin compounds *in silico* as inhibitors of the MAPKs pathway, to determine the role of each compound in inhibiting the MAPKs pathway in liver cancer and amino acid interactions between the compound and the MAPKs pathway. The method used is virtual screening using the FlexX score in the LeadIT software. The results showed that the chrisophanol, phiscion, hesperidin and curcumin compounds had the potential to act as inhibitors of the MAPKs pathway in liver cancer through the apoptotic pathway. The amino acid residue that plays a role in each component is methionine which functions as a cell regulator.

Keywords: HEPG2; *in silico*; MAPKs; natural compounds

INTISARI

Kanker hepar merupakan salah satu jenis kanker dengan pertumbuhan tercepat di dunia. Salah satu jalur yang berperan dalam kanker hepar adalah MAPKs. Beberapa kandidat senyawa dari bahan alam dibutuhkan untuk pengobatan kanker hepar yang lebih efektif dan rendah toksisitas. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi senyawa chrisophanol, phiscion, hesperidin dan curcumin secara *in silico* sebagai inhibitor jalur MAPKs, untuk mengetahui peran masing-masing senyawa dalam menghambat jalur MAPKs pada kanker hepar dan interaksi asam amino antara senyawa dan jalur MAPKs. Metode yang dilakukan adalah *screening virtual* menggunakan FlexX score pada *software* LeadIT. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa chrisophanol, phiscion, hesperidin dan curcumin berpotensi sebagai inhibitor jalur MAPKs pada kanker hepar melalui jalur apoptosis. Residu asam amino yang berperan pada masing-masing komponen adalah metionin yang berfungsi sebagai regulator sel.

Kata kunci: bahan alam; HEPG2; *in silico*; MAPKs

PENDAHULUAN

Hepar merupakan organ tubuh yang berperan dalam membantu pengeluaran racun dan melakukan reaksi kimia dalam tubuh. Fungsi hepar antara lain sebagai tempat berlangsungnya siklus urea, pengaturan spesifik metabolisme lipid serta formasi bilirubin yang berkaitan dengan produksi asam empedu. Kelainan pada hepar dapat menghambat fungsi normal tubuh. Kerusakan sel-sel hepar dapat disebabkan berbagai faktor, baik faktor internal maupun faktor eksternal seperti toksisitas obat, infeksi virus, dan paparan berbagai senyawa kimia yang toksik (Almazroo, *et al.*, 2017). Kegagalan fungsi hati dapat menyebabkan penyakit serius bahkan kematian (Blach *et al.*, 2017). Salah satu penyakit tersebut adalah kanker hepar. Kanker

hepar merupakan salah satu jenis kanker dengan pertumbuhan tercepat di dunia, bahkan di Asia Tenggara lebih tinggi kasusnya dibandingkan perkembangan daerah industri (Kerr, 2004). Penyebab kanker hepar bervariasi dan berkaitan dengan faktor internal seperti keturunan, maupun faktor lingkungan seperti infeksi virus hepatitis B dan C, cemaran aflatoksin, sirosis hati dan konsumsi alkohol (Tsukuma *et al.*, 1993; Mor *et al.*, 1998).

Salah satu jalur yang dapat mempengaruhi kanker hepar adalah jalur MAPKs (*mitogen activated protein kinase*). MAPKs merupakan salah satu jalur stimulus dalam modifikasi eksternal, respon interseluler dan beberapa faktor *post* transkripsi yang dapat menstabilkan inflamasi, diferensiasi sel dan apoptosis. MAPKs dapat dibagi menjadi

beberapa subfamili seperti p38 MAPKs, Jun N-terminal kinases (JNKs), extracellular signal-regulated kinase 1/2 (ERK1/2), dan ERK5. Subfamili pada jalur MAPKs berperan penting dalam proses inflamasi, fibrogenesis dan karsinogenesis pada hepatosit, sehingga dapat dijadikan *treatment* yang efektif dalam menangani kanker hati (Min *et al.*, 2011; Klintman, *et al.*, 2005; Zhao, *et al.*, 2014). JNK dan p38 dapat diaktifkan ketika merespon stres seluler dan sitokin. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa faktor pertumbuhan dapat meningkatkan proliferasi dan ketahanan melalui aktivasi dari jalur MEK1/2-ERK1/2. Selanjutnya ERK1/2 dapat diaktifkan dalam merespon stimulus faktor internal maupun eksternal pada beberapa tipe sel dan berperan dalam jalur transduksi sinyal (Marshall, 1995; McCubrey *et al.*, 2007; Meloche & Pouyssegur, 2007).

Pengobatan kanker umumnya menggunakan kemoterapi yang dapat menyerang sel normal, sehingga mekanisme aksi obat tidak berperan spesifik (William & Andersen, 2006). Penelitian untuk mencari kandidat potensial obat antikanker sangat diperlukan terutama dari bahan alam karena dinilai memiliki toksisitas rendah (Iwamaru *et al.*, 2007). Beberapa bahan alam merupakan derivat dari obat tradisional yang dilaporkan memiliki efek sebagai hepatoprotektif (Jie *et al.*, 1994; Scartezzini *et al.*, 2000; Al-Asmari *et al.*, 2014). Penelitian sebelumnya oleh Yao *et al.* (2012) yang melakukan studi toksisitas dari chrisophanol pada beberapa kanker manusia seperti HepG2 dan tidak ada efek sitotoksitas yang signifikan pada sel HepG2. Penelitian lainnya menunjukkan bahwa chrisophanol dapat menghambat pertumbuhan sel kanker dengan konsentrasi 10, 50 and 100 µg/ml (Pandith *et al.*, 2014).

Phiscion merupakan salah satu bahan alam dari akar *Rhubarb officinale* L. yang digunakan sebagai antiinflamasi, hepatoprotektif, dan agen antimikroba (Agarwal *et al.*, 2000; Zhao *et al.*, 2009; Tamokou *et al.*, 2009; Ghosh *et al.*, 2010). Phiscion dapat menginduksi apoptosis, menghentikan siklus sel dengan menginduksi apoptosis dan menekan sel kanker metastasis

yang potensial (Almeida AP, 2010; Hong JY *et al.*, 2014; Wijesekara *et al.*, 2014; Chen *et al.*, 2015). Namun, peran phiscion pada hepatokarsinoma belum dapat dijelaskan. Sedangkan hesperidin banyak ditemukan pada tanaman citrus. Komponen bioaktif citrus dapat menginduksi apoptosis pada sel kanker HEPG2 dengan konsentrasi IC10, IC20, and IC50 (Ratana *et al.*, 2015). Pada studi lainnya menemukan bahwa hesperidin dapat menginduksi kematian sel apoptosis dan autofage pada kanker kolon (Saiprasad *et al.*, 2014).

Senyawa curcumin dari akar *Curcuma longa* berperan sebagai antiinflamasi, antikanker, antioksidan dan menyembuhkan luka (Srimal *et al.*, 1973; Kuttan *et al.*, 1985; Satoskar *et al.*, 1986; Sindhu *et al.*, 1998; Sharma *et al.*, 2018). Curcumin secara luas telah digunakan sebagai agen terapi yang dinilai efektif dan aman (Maheshwari *et al.*, 2006; Bahramsoltani *et al.*, 2017). Studi farmakinetik dari curcumin dilaporkan stabil dan solubilitasnya rendah. Studi pada rodentia, ketersediaan curcumin yang rendah menyebabkan penghalang primer pada level plasma dengan efek farmakologis yang bervariasi. Sehingga turunan curcumin dibutuhkan dalam penelitian di bidang biomedis (Araujo *et al.*, 2001; Negi *et al.*, 2008; Zhongfa *et al.*, 2012).

Senyawa bioaktif dari bahan alam umumnya berpotensi sebagai antiinflamasi, antibakteri dan antikanker. Kandidat obat diharapkan menjadi *treatment* yang lebih baik untuk penderita kanker hepar. Perkembangan penelitian bidang bioinformatika memiliki potensi untuk mempermudah proses penemuan obat. Salah satu metode yang digunakan adalah melalui *in silico* (Lyskov *et al.*, 2008). Studi molekuler dapat menjelaskan interaksi antara fitokimia dan target molekul untuk mengembangkan kandidat obat baru. *Virtual screening* dari 60.000 metabolit sekunder dari bahan alam dilaporkan memiliki aktivitas inhibitor yang memungkinkan dari jalur MAPKs (Elgazar *et al.*, 2018). Studi ini mempelajari tentang metabolit sekunder dari bahan alam yaitu curcumin dari *Curcuma longa* L. *rhizomes*, hesperidin dari *Citrus sinensis* L.,

chrysophanol dan phiscion dari akar *Rhubarb officinale* L. Komponen bahan alam dapat berinteraksi dengan MAPKs melalui *docking* molekuler. Metode *docking* molekuler dapat membantu mengetahui ikatan molekuler yang stabil dengan energi minimum pada target jalur MAPKs dan senyawa curcumin, hesperidin, chrisopanол dan phiscion. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi komponen senyawa curcumin, hesperidin, chrisopanол dan phiscion terhadap jalur MAPKs pada kanker hepar. Penelitian ini penting dilakukan sebagai salah satu metode untuk mendesain obat yang sesuai dengan pasien kanker hepar dan berpotensi menambah informasi terkait manfaat beberapa komponen bahan alam.

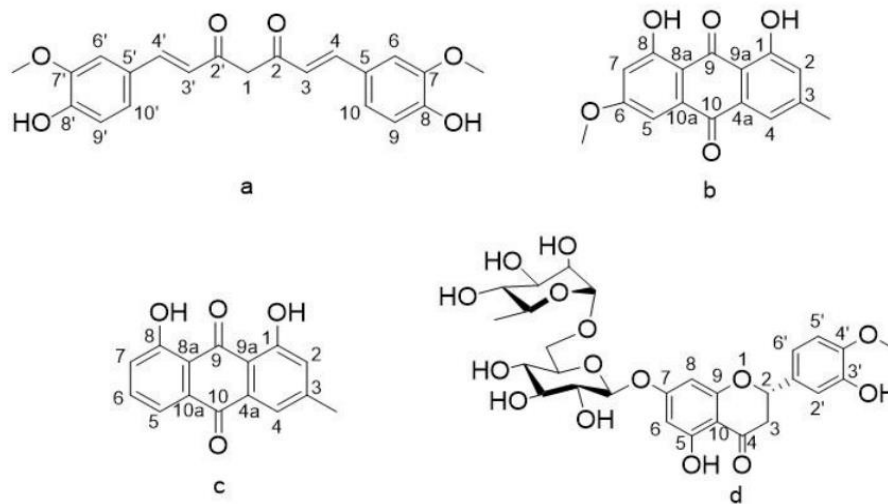
METODE PENELITIAN

Uji *in silico* dilakukan dengan menggunakan subfamili dari jalur MAPKs (*Mitogen activated protein kinases*) antara lain p38, ERK2, JNK1 dan MK-3. Struktur 3D diperoleh dari protein data bank (www.pdb.org) menggunakan kode PDB (p38 α : 2QD9; ERK2:

5NHF; JNK1: 1UKI; MK-3: 3SHE). Struktur 3D dari komponen kandidat obat diperoleh dari Zinc Database (<http://zinc.docking.org>) dengan format mol2. Interaksi antara ligan dan residu asam amino pada sisi aktif dilakukan menggunakan LeadIT software (<https://www.biosolveit.de/LeadIT/>). Komponen kandidat obat pada sisi aktif *docking* molekuler dilakukan dengan modul FlexX di software LeadIT. Afinitas energi terendah dipilih untuk mengetahui kandidat obat paling poten. Selanjutnya studi analisis jalur MAPKs pada kanker hepar dilakukan untuk mengetahui mekanisme aksi dari kandidat obat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil *screening virtual* dari empat komponen bahan alam chrisopanол, phiscion, hesperidin dan curcumin terhadap jalur MAPKs dan interaksi asam amino yang dibutuhkan telah ditemukan. Energi ikatan telah diuji dengan RMSD dan dibandingkan dengan ligan kristalografi.



Gambar 1. Struktur kimia dari senyawa (a) curcumin, (b) phiscion, (c) chrisopanол, dan (d) hesperidin

Senyawa bahan alam curcumin, phiscion, chrisopanол dan hesperidin sebagai kandidat obat dapat dilakukan dengan cepat dan mudah dengan bantuan *docking* molekuler. *Screening virtual* kandidat obat dari bahan alam membantu untuk menemukan molekul baru dan aktivitas dari senyawa yang ditargetkan. Pada review penelitian ini dilaporkan bahwa target

subfamili dari MAPKs berperan dalam *liver injury* dan tumorigenesis. Studi ini dapat menjelaskan bahwa kandidat obat berupa senyawa curcumin, phiscion, chrisopanол dan hesperidin dapat mengurangi ekspresi dari mediator pro inflamasi seperti LPS pada HEPG2.

Tabel 1. Interaksi *docking* dari komponen bahan alam pada sisi ikatan MAPKs (P38 α , ERK2, JNK dan MK3) dibandingkan dengan ligan kristalografi

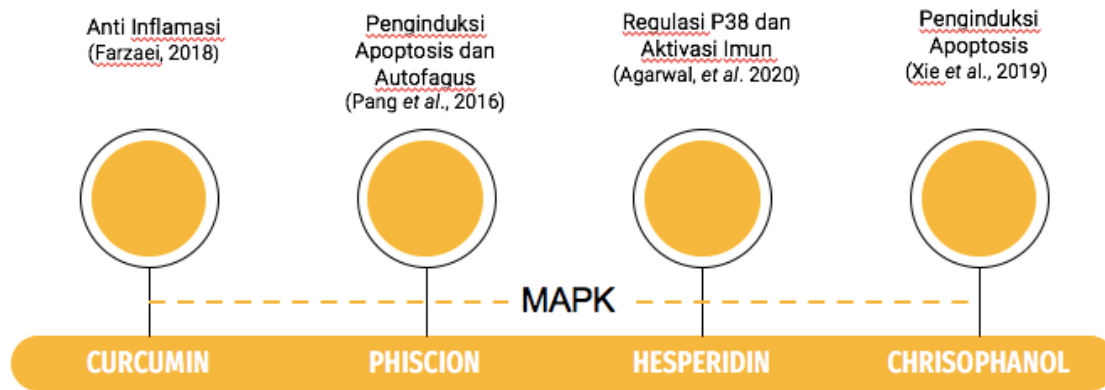
Senyawa	P38 α MAPKS			ERK1/2			JNK1			MK3		
	Skor FlexX	Interaksi Asam Amino	Uji Hyde	Skor FlexX	Interaksi Asam Amino	Uji Hyde	Skor FlexX	Interaksi Asam Amino	Uji Hyde	Skor FlexX	Interaksi Asam Amino	Uji Hyde
Curcumin	-24.639	Gly110	-34/ μ M	-21.8	Met108	-28/ μ M	-17.72	Asn114	-23/ μ M	-24.63	Lys73	-36/ μ M
		Gly033			Gln105			Met111			Met121	
		Met109			Glu33			Lys55			Glu119	
		Thr106			Thr110			Ile32			Glu125	
		Asp168			Lys114							
		Asn155										
Phiscion	-27.99	Gly110	-33/ μ M	-22.6	Met108	-23/ μ M	-24.07	Glu109	-32/ μ M	-27.99	Met121	-24/ μ m
		Met109			Gln105			Met111			Glu119	
		Thr106			Lys54			Ile32			Thr186	
		Ala111										
		His107										
Chrisophanol	-27.65	Gly110	-32/ μ M	-22.5	Gln105	-17/mM	-24.44	Glu109	-30/ μ M	-27.65	Met121	-35/ μ m
		Met109			Asp106			Met111			Glu119	
		Thr106			Met108			Ile32			Leu50	
		Ala111			Lys54			Ala53			Leu173	
		His107			Asp167							
					Tyr36							
Hesperidin	-20.03	Gly110	-38/nM	-21.9	Asp106	-14/mM	-13.12	Glu109	-24/ μ M	-20.03	Glu125	-22/ μ m
		Met109			Met108			Met111			Cys120	
		Thr106			Lys114			Ile32			Met121	
		Asp168			Asp111			Set34			Asp187	
		Ser154			Tyr36			Lys55			Glu170	
					Glu33						Lys73	
					Asn15							
					Gln105							
(Co-crystalyzed ligand)	-30.7	Gly110	-41/nM	-39	Lys54	-45/nM	-29	Ile32	-39/nM	-43.17	Met121	-18/ μ m
		Met109			Asp167			Met111			Cys120	
		Thr106			Met108			Glu109			Glu170	
		Ala157			Thr110			Val158			Glu125	
					Tyr36			Leu168			Leu52	
					Gly34			Ala53				
					Ile56			Val40				

Hasil analisa *docking* pada penghambatan p38 MAPKS membutuhkan interaksi dengan Met-109, Gly-110 dan spesifik melalui ikatan hidrogen pada asam amino Thr-106, Lys-53, Leu-75, Ala-157, Leu-86, Leu-104, Leu-167 dan Val-105. Ikatan JNK1 membutuhkan interaksi dengan (Met-111 dan Glu-109) namun tidak spesifik meningkatkan ikatan hidrogen yang terdiri atas Ile-32, Val-40, Ala-53, Ile-86, Met-108, Leu-110, Val-158, dan Leu-168. Ikatan pada sisi aktif ERK1/2 membutuhkan interaksi dengan Gln-105 dan Met-108 serta selektif melalui ikatan pada Tyr-36, Ile-56 dan Gly-34. Efek penghambatan dari MK-3 dapat diketahui melalui ikatan pada asam amino antara lain: Asp-187, Lys-73, Met-121, Glu-122, Leu-50 dan Val-58, namun interaksi akan lebih spesifik pada Glu-84, His-88, Glu-125 and Glu-170.

Curcumin memiliki aktivitas farmakologi yang luas dengan kemampuan berinteraksi dengan beberapa target terapi. Hasil *docking*

molekuler dapat memprediksi kemampuan curcumin dalam menghambat fosforilasi pada p38 alpha melalui interaksi asam amino Met-109, Gly-110 dan His-107, sebagai residu asam amino yang dibutuhkan dalam menghambat aktivitas dari enzim pada MAPKS. Curcumin mampu berikatan pada sisi aktif ERK1/2 melalui interaksi residu Met 108. Curcumin dapat berinteraksi dengan JNK1 melalui MET-111 namun tidak pada Glu-109, yang membutuhkan lebih banyak kinase. Asam amino seperti Glu-119, Lys-73, Met-121 dan Thr-186 dapat berikatan pada sisi aktif dari MK-3.

Studi *docking* molekuler dapat menjelaskan bahwa curcumin dapat berikatan dengan p38 dan MK-3 daripada MAPKS lainnya sesuai dengan studi sebelumnya bahwa akseptor ikatan, satu hidrogen donor ikatan hidrogen dan dua cincin aromatic adalah ciri umum dari penghambatan p38 MAP kinase (Lee, 2017).



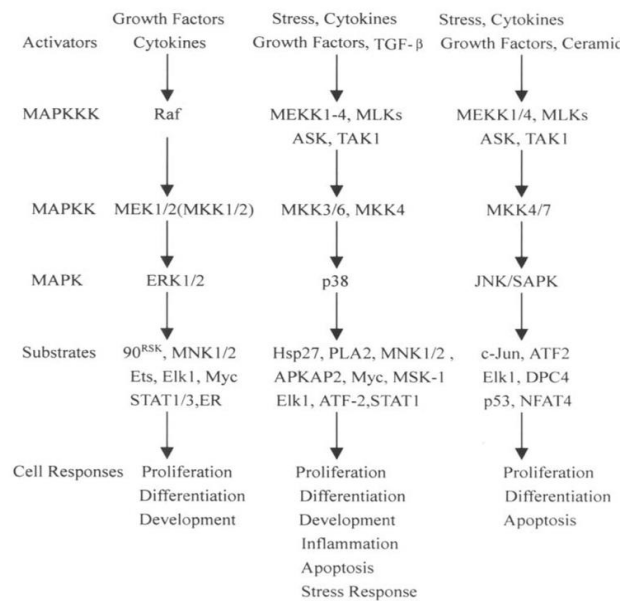
Gambar 2. Analisa hasil *docking* dan jalur MAPKs hesperidin dan chrisopanol, phiscion dan curcumin pada jalur inflamasi

Hasil analisa *docking* yang dilakukan, penghambatan seluruh jalur MAPKS (p38, JNK1, ERK1/2, dan MF-3) membutuhkan interaksi dengan asam amino metionin. Residu asam amino metionin yang berinteraksi dengan jalur MAPKS berfungsi sebagai regulator pada sel dan berikatan dengan residu aromatik yang berperan dalam stabilitas protein (Lim *et al.*, 2019). Golongan anthraquinone seperti chrisophanol and phiscion menunjukkan kemampuan untuk dapat berikatan secara efektif dengan enzim MAPKs. Phiscion memiliki efek sebagai penginduksi apoptosis jalur intrinsik dan ekstrinsik dengan mekanisme aktivasi jalur caspase-8 dan caspase-9 (Pan *et al.*, 2016). Namun belum ada studi tentang kemampuan antraquinones dalam menghambat MK-3. Sehingga golongan anthraquinone dapat dikembangkan untuk kandidat potensial dalam menghambat MAPKS.

Hesperidin termasuk senyawa yang memiliki aktivitas farmakologi. Hesperidin

dapat berikatan secara efektif melalui sisi aktif ATP pada MAPKS. Hesperidin dilaporkan memiliki efek antiinflamasi pada beberapa studi sebelumnya (Dong, 2014). Pada studi *in silico*, interaksi hesperidin pada MAPKS dapat diketahui. Hesperidin dapat berinteraksi dengan ASP-168, Gly-110 and Met-109 melalui ikatan hidrogen. Molekul yang berinteraksi dengan residu Ala-157 dan Thr-106 berperan sebagai inhibitor p38 alpha daripada MAPKs lainnya (Dong, 2014).

Jalur MAPKS dapat diaktifkan melalui beberapa aktivator seperti faktor pertumbuhan sitokin dan stres. Jenis MAPKS pada ERK1/2 dapat memberikan respon sel berupa proliferasi, diferensiasi dan perkembangan. P38 dapat memberikan respon sel berupa proliferasi, diferensiasi, perkembangan, inflamasi, apoptosis dan respon stres. JNK dapat merespon proliferasi, diferensiasi dan apoptosis pada sel (Zhang & Hui, 2002).



Gambar 3. Jalur MAPKs dan respon sel (Zhang & Hui, 2002).

KESIMPULAN

Beberapa penelitian mengenai senyawa bahan alam telah menunjukkan mekanisme sebagai agen antiinflamasi. Hasil review penelitian menunjukkan bahwa bahan alam curcumin, hesperidin, phiscion dan chrisophanol mampu berinteraksi dengan target molekuler yang terlibat dalam proses peradangan. Beberapa target molekul dari senyawa ini memberikan potensi besar sebagai agen terapi untuk kondisi inflamasi dan meningkatkan apoptosis pada kanker HEPG2. Uji lanjutan secara *in vitro* dibutuhkan untuk mengetahui efektivitas senyawa yang diuji.

DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal SK, Singh SS, Verma S and Kumar S. 2000. Antifungal activity of anthraquinone derivatives from *Rheum emodi*. *Journal of Ethnopharmacol.* vol 72: 43-46. doi: 10.1016/s03788741(00)00195-1.
- Al-Asmari AK, Al-Elaiwi AM, Athar MT, Tariq M, Al Eid A, and Al-Asmary SM. 2014. A review of hepatoprotective plants used in Saudi traditional medicine. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* vol 2014: 1-22. doi: 10.1155/2014/890842.
- Almeida APDT, Singburadom N, Lima R, Vasconcelos MH, and Pinto M. 2010. The in vitro anticancer activity of the crude extract of the sponge-associated fungus *Eurotium cristatum* and its secondary metabolites. *Journal of Natural Pharmaceuticals.* vol 1(1): 25-29. doi: 10.20546/ijcrar.2017.504.011.
- Araujo CAC and Leon LL. 2001. Biological activities of *Curcuma longa* L. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.* vol 96(5): 723-728. doi: 10.1590/S0074-02762001000500026.
- Bahramsoltani R, Rahimi R, Farzaei MH. 2017. Pharmacokinetic interactions of curcuminoids with conventional drugs: A review. *Journal of Ethnopharmacol.* vol 209: 1-2. doi: 10.1016/j.jep.2017.07.022.
- The Polaris Observatory HCV Collaborators. 2017. Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: A modelling study. *Lancet Gastroenterology & Hepatology.* vol 2: 161-176. doi: 10.1016/S2468-1253(16)30181-9.
- Chen X, Gao H, Han Y, Ye J, Xie J and Wang C. 2015. Phiscion induces mitochondria-driven apoptosis in colorectal cancer cells via downregulating EMMRIN. *European Journal of Pharmacology.* vol 764: 124-133. doi: 10.1016/j.ejphar.2015.07.008.
- Dong W, Wei X, Zhang F, Hao J, Huang F, Zhang C, and Liang W. A dual character of flavonoids in influenza A virus replication and spread through modulating cell-autonomous immunity by MAPKS signaling pathways. *Science Report.* vol 4(7237): 1-12. doi: 10.1038/srep07237.
- Elgazar AA, Selim NM, Abdel-Hamid NM, El-Magd MA, El Hefnawy HM. 2018. Isolates from *Alpinia officinarum* Hance attenuate LPS-induced inflammation in HepG2: Evidence from in silico and in vitro studies. *Phytotherapy. Research.* vol 32(7): 1273-1288. doi: 10.1002/ptr.6056.
- Ghosh S, Das Sarma M, Patra A and Hazra B. 2010. Anti-inflammatory and anticancer compounds isolated from *Ventilago madraspatana* Gaertn., *Rubia cordifolia* Linn. and *Lantana camara* Linn. *Journal of Pharmacy and Pharmacology.* vol

- 62(9): 1158- 1166. doi: 10.1111/j.2042-7158.2010.01151.x.
- Hong JY, Chung HJ, Bae SY, Trung TN, Bae K and Lee SK. 2014. Induction of cell cycle arrest and apoptosis by phiscion, an anthraquinone isolated from rhubarb (rhizomes of *Rheum tanguticum*), in MDA-MB-231 human breast cancer cells. *Journal Cancer Prevention*. vol 19(4): 273-278. doi: 10.15430/JCP.2014.19.4.273.
- McCubrey JA, Steelman LS, Chappell WH, Abrams SL, Wong EWT, Chang F, Lehmann B, Terrian DM, Milella M, Tafuri A, Stivala F, Libra M, Basecke J, Evangelisti C, Martelli AM, and Franklin RA. 2007. Roles of the Raf/MEK/ERK pathway in cell growth, malignant transformation and drug resistance. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*. vol. 1773(8): 1263–1284. doi: 10.1016/j.bbamcr.2006.10.001.
- Jie L, Yaping L, and Klaassen CD. 1994. The effect of Chinese hepatoprotective medicines on experimental liver injury in mice. *Journal of Ethnopharmacol*. vol 42(3): 183–191. doi: 10.1016/0378-8741(94)90084-1.
- Kerr M. 2004. Liver cancer fastest growing cancer in US. <http://www.nlm.nih.gov>. Diakses pada 2 september 2020.
- Klintman D, Li X, Santen S, Schramm R, Jeppsson B, and Thorlacius H. 2005. P38 mitogen-activated protein kinase-dependent chemokine production, leukocyte recruitment, and hepatocellular apoptosis in endotoxemic liver injury. *Annals of Surgery*. vol 242(6): 830–839. doi: 10.1097/01.sla.0000189132.86878.f7.
- Kuttan R, Bhanumathy P, Nirmala K, and George M. 1985. Potential anticancer activity of turmeric (*Curcuma longa*). *Cancer Letters*. vol 29(2): 97–202. doi: 10.1016/0304-3835(85)90159-4.
- Lee JK and Nam-Jung K. 2017. Recent advances in the inhibition of p38 MAPKs as a potential strategy for the treatment of Alzheimer's disease. *Molecules*. vol 22(8): 1-23. doi: 10.3390/molecules22081287.
- Lim JM, Geumsoo K, and Rodney LL. 2019. Methionine in proteins: It's not just for protein initiation anymore *Neurochemical Research*. vol 44(1): 247–257. doi:10.1007/s11064-017-2460-0.
- Marshall MS. 1995. Ras target proteins in eukaryotic cells. *The FASEB Journal*. vol. 9(13): 1311–1318. doi: 10.1096/fasebj.9.13.7557021.
- Maheshwari RK, Singh AK, Gaddipati J, and Srimal RC. 2006. Multiple biological activities of curcumin: A short review. *Life Science*. 78(18): 2081–2087. doi: 10.1016/j.lfs.2005.12.007.
- Min L, He B, and Hui L. Mitogen-activated protein kinases in hepatocellular carcinoma development. *Seminars in Cancer Biology*. vol 21(1): 10–20. doi: 10.1016/j.semcancer.2010.10.011.
- Farzaei MH, Zobeiri M, Parvizi F, El-Senduny F, Marmouzi I, Coy-Barrera E, Naseri R, Nabavi SM, Rahimi R, and Abdollahi M. 2018. Curcumin in liver diseases: a systematic review of the cellular mechanisms of oxidative stress and clinical perspective. *Nutrients*. vol 10(7): 1-28. doi: 10.3390/nu10070855.
- Negi AS, Kumar JK, Luqman S, Shanker K, Gupta MM, and Khanuja SPS. 2008. Recent advances in plant hepatoprotectives: a chemical and biological profile of some important leads. *Medical Research Reviews*. vol 28(5): 746–772. doi: 10.1002/med.20115.
- Pandith SA, Hussain A, Bhat WW, Dhar N, Qazi AK, Rana S, Razdan S, Wani TA, Shah MA, Bedi YS, Hamis A, and Lattoo SK. Evaluation of anthraquinones from Himalayan rhubarb (*Rheum emodi* Wall. ex Meissn.) as antiproliferative agents. *South African Journal Botany*. vol 95: 1–8. doi: 10.1016/j.sajb.2014.07.012.
- Pang M, Yang Z, Zhang X, Liu Z, Fan J, and Zhang H. Phiscion, a naturally occurring anthraquinone derivative, induces apoptosis and autophagy in human nasopharyngeal carcinoma. *Acta Pharmacologica Sinica*. vol 37(12): 1623–1640. doi: 10.1038/aps.2016.98.
- Banjerdpongchai R, Wudtiwai B, Khaw-on P, Rachakhom W, Duangni N, and Kongtawelert P. 2016. Hesperidin from *Citrus* seed induces human hepatocellular carcinoma HepG2 cell apoptosis via both mitochondrial and death receptor pathways. *Tumor Biology*. vol 37(1): 227–237. doi: 10.1007/s13277-015-3774-7.
- Meloche S and Pouyssegur J. 2007. The ERK1/2 mitogen-activated protein kinase pathway as a master regulator of the G1- to S-phase transition. *Oncogene*. vol. 26: 3227–3239. doi: 10.1038/sj.onc.1210414.
- Saiprasad G, Chitra P, Manikandan R, and Sudhandiran G. 2014. Hesperidin induces apoptosis and triggers autophagic markers through inhibition of Aurora-A mediated phosphoinositide-3-kinase/Akt/mammalian target of rapamycin and glycogen synthase kinase-3 beta signalling cascades in experimental colon carcinogenesis. *European Journal of Cancer*. vol 50(14): 2489–507. doi: 10.1016/j.ejca.2014.06.013.
- Satoskar R, Shah S, and Shenoy S. 1986. Evaluation of anti-inflammatory property of curcumin (diferuloyl methane) in patients with postoperative inflammation. *International Journal of Clinical Pharmacology, Therapy, and Toxicology*. vol 24(12): 651–654.
- Scartezzini P and Speroni E. 2000. Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. *Journal of Ethnopharmacol*. vol 71(1-2): 23–43. doi: 10.1016/s0378-8741(00)00213-0.
- Sharma O. 2018. Antioxidant activity of curcumin and related compounds. *Biochemical Pharmacology*. vol 25(15): 1811–1812. doi: 10.1016/0006-2952(76)90421-4.

- Sidhu GS, Singh AK, Thaloor D, Banaudha KK, Patnaik GK, Srimal RC, and Maheshwari RK. 1998. Enhancement of wound healing by curcumin in animals. *Wound Repair and Regeneration*. vol 6(2): 167-177. doi: 10.1046/j.1524-475x.1998.60211.x.
- Srimal R and Dhawan B. 1973. Pharmacology of diferuloyl methane (curcumin), a non-steroidal anti-inflammatory agent. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. vol 25(6): 447-452. doi: 10.1111/j.2042-7158.1973.tb09131.x.
- Tamokou JDD, Tala MF, Wabo HK, Kuate JR and Tane P. 2009. Antimicrobial activities of methanol extract and compounds from stem bark of *Vismia rubescens*. *Journal of Ethnopharmacology*. vol 124(3): 571-575. doi: 10.1016/j.jep.2009.04.062.
- Tsukuma H, Hiyama T, Tanaka S, Nakao M, Yabuuchi T, Kitamura T, Nakanishi K, Fujimoto I, Inoue A, Yamazaki H, and Kawashima T. 1993. Risk factors for hepatocellular carcinoma among patients with chronic liver disease. *The New England Journal of Medicine*. 328(25): 1797-1801. doi: 10.1186/1477-7819-3-27.
- Wijesekara I, Zhang C, Van Ta Q, Vo TS, Li YX and Kim SK. 2014. Phisiclon from marine-derived fungus *Microsporium* sp. induces apoptosis in human cervical carcinoma HeLa cells. *Microbiological Research*. vol 169(4): 255-261. doi: 10.1016/j.micres.2013.09.001.
- Pan X, Wang H, Tong D, Wang C, Sun L, Zhao C, Li Y, Zhu L, and Wu D. 2016. Phisiclon induces apoptosis in hepatocellular carcinoma by modulating miR-370. *American Journal of Cancer Research*. vol 6(12): 2919-2931.
- Yao Y, Zhang YW, Sun LG, Liu B, Bao YL, Lin H, Zhang Y, Zheng LH, Sun Y, Yi CL, Wu Y, Wang GN, and Li YX. 2012. Juglanthraquinone C, a novel natural compound derived from *Juglans mandshurica* Maxim, induces S phase arrest and apoptosis in HepG2 cells. *Apoptosis*. vol 17: 832-841. doi: 10.1007/s10495-012-0722-5.
- Zhang W and Lu H. 2002. MAPKs signal pathways in the regulation of cell proliferation in mammalian cells. *Cell Research*. vol 12(1): 9-18. doi.org/10.1155/2019/8138017.
- Zhao YL, Wang JB, Zhou GD, Shan LM and Xiao XH. 2009. Investigations of free anthraquinones from rhubarb against alpha-naphthylisothiocyanate-induced cholestatic liver injury in rats. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*. vol 104(6): 463-469. doi: 10.1111/j.1742-7843.2009.00389.x.
- Zhao Y, Ma X, Wang J, He X, Hu Y, Zhang P, Wang R, Li R, Gong M, and Luo S. 2014. Curcumin protects against CCl4-induced liver fibrosis in rats by inhibiting HIF-1 α through an ERK-dependent pathway. *Molecules*. vol 19(11): 18767-18780. doi: 10.3390/molecules191118767.
- Zhongfa L, Chiu M, Wang J, Chen W, Yen W, Fan-Havard P, Yee LD, and Chan KK. 2012. Enhancement of curcumin oral absorption and pharmacokinetics of curcuminoids and curcumin metabolites in mice. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. vol 69(3): 679-689. doi: 10.1007/s00280-011-1749-y.