

## Artigo

**Cubebina: Uma Pequena Molécula com Grande Potencial**

Pissurno, A. P. R.;\* Laurentiz, R. S.\*

*Rev. Virtual Quim.*, 2017, 9 (2), 656-671. Data de publicação na Web: 3 de fevereiro de 2017<http://rvq.sbq.org.br>**Cubebin: A Small Molecule with Great Potential**

**Abstract:** The (-)-cubebin is a lignan dibenzylbutyrolactolic of occurrence in various species of plants, especially in the genus Piper. Although it has been known for over 150 years, the last few decades the biological properties of this molecule has attracted the attention of several research groups. Recent publications obtained from Scopus bases, SciFinder and PubMed database have highlighted the numerous biological activities attributed to cubebin, as trypanocidal activity, schistosomicida, cytotoxicity on cancer lines, vasodilator, antihistaminic, and anti-inflammatory. These studies demonstrate the pharmacological potential of cubebin and its importance as starting material to obtain even more potent derivatives.

**Keywords:** Natural product; erectile dysfunction; cubebin; biological properties.

**Resumo**

A (-)-cubebina é uma lignana dibenzilbutirolactolico de ocorrência em várias espécies de plantas, especialmente no gênero Piper. Embora tenha sido descoberta há mais de 150 anos, nas últimas décadas as propriedades biológicas desta molécula tem atraído a atenção de vários grupos de pesquisa. Publicações recentes obtidos a partir de bases Scopus, SciFinder e banco de dados PubMed colocaram em evidência as inúmeras atividades biológicas atribuídas a cubebina, como as atividade tripanossomicida, esquistossomicida, citotoxicidade contra linhagens de câncer, vasodilatadora, anti-histamínica e anti-inflamatória. Estes estudos demonstram o potencial farmacológico da cubebina e sua importância como material de partida para obtenção de derivados ainda mais potentes.

**Palavras-chave:** Produto natural; disfunção erétil; cubebina; propriedades biológicas.

\* Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Departamento de Física e Química, Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Av. Brasil, 56, 15385-000, Ilha Solteira-SP, Brasil.

✉ \* [rosangela@dfq.feis.unesp.br](mailto:rosangela@dfq.feis.unesp.br); [anapauladarochapissurno@gmail.com](mailto:anapauladarochapissurno@gmail.com)

DOI: [10.21577/1984-6835.20170039](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20170039)

## Cubebina: Uma Pequena Molécula com Grande Potencial

Ana Paula da Rocha Pissurno,\* Rosangela da Silva de Laurentiz\*

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Departamento de Física e Química, Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Av. Brasil, 56, 15385-000, Ilha Solteira-SP, Brasil.

\* [rosangela@dfq.feis.unesp.br](mailto:rosangela@dfq.feis.unesp.br); [anapauladarochapissurno@gmail.com](mailto:anapauladarochapissurno@gmail.com)

*Recebido em 29 de junho de 2016. Aceito para publicação em 2 de fevereiro de 2017*

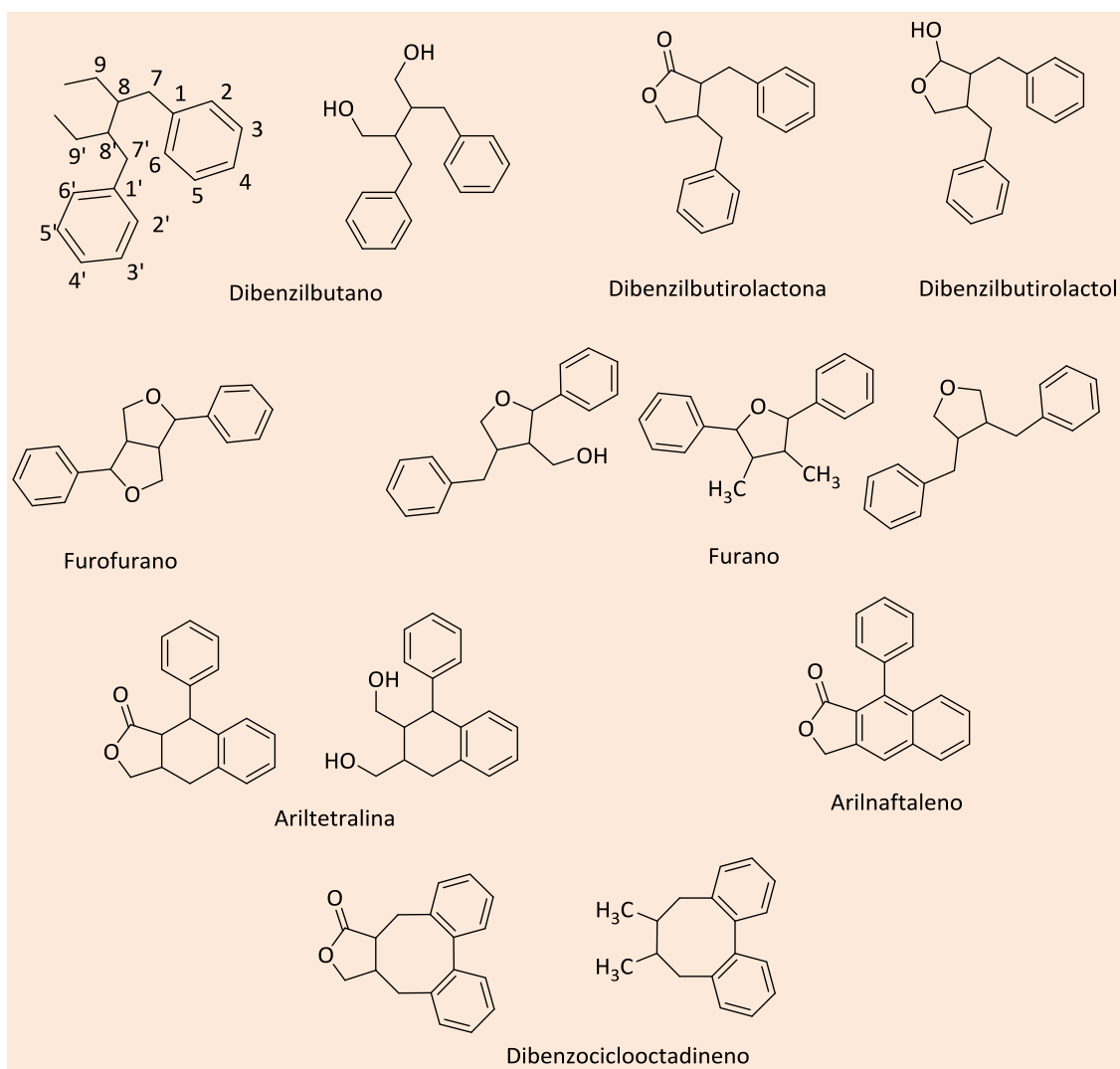
1. Introdução
2. Ocorrência
3. Biossíntese
4. Síntese
5. Funções biológicas da (-)-cubebina nas plantas
6. Atividades biológicas da (-)-cubebina
  - 6.1. Analgésica e anti-inflamatória
  - 6.2. Antimicrobiana
  - 6.3. Estimulação de melanogênese
  - 6.4. Inibição da testosterona 5 $\alpha$ -redutase
  - 6.5. Antihistaminico
  - 6.6. Tripanossomicida
  - 6.7. Vasodilatador
  - 6.8. Citotoxicidade sobre células tumorais
7. Toxicidade
8. Considerações finais

### 1. Introdução

---

As lignanas são metabolitos secundários produzidos pelas plantas e que apresentam uma ampla gama de propriedades biológicas as quais estão intrinsecamente relacionadas com a estereoquímica, o nível de oxidação e natureza dos substituintes nos anéis

aromáticos.<sup>1-5</sup> A condensação de duas unidades fenilpropanoides através do C8 dá origem a uma grande variedade de lignanas, que são classificadas em oito subgrupos (Figura 1) de acordo com o nível de oxidação do esqueleto e padrão de ciclização: furofurano, furano, dibenzilbutano, dibenzilbutirolactona, ariltetralina, arilnaftaleno, dibenzociclooctadieno e dibenzilbutirolactol.<sup>2,5</sup>



**Figura 1.** Classes gerais das lignanas<sup>5</sup>

Entre a grande variedade estrutural das lignanas identificadas em plantas nas últimas décadas, uma grande ênfase foi dada a (-)-cubebina (Figura 2) que se tornou alvo de estudo de vários grupos de pesquisa. As recentes pesquisas com (-)-cubebina tem como foco a descoberta de novas propriedades biológicas dessa lignana e, além disso, a obtenção de derivados semi-

sintéticos, obtidos por modificações estruturais, com a finalidade de potencializar propriedades farmacológicas.<sup>3,6-16</sup> A (-)-cubebina está presente em várias espécies de plantas, tais como *Zanthoxylum narangillo*,<sup>17</sup> *Alistorolochia odoratissima* L.,<sup>18</sup> *Piper nigrum* L., mas em quantidades consideráveis na *Piper cubeba* que é atualmente a principal fonte de extração.<sup>6,19</sup>

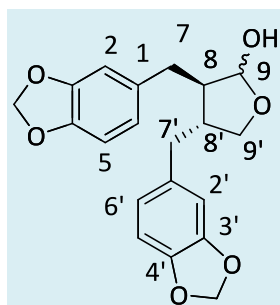


Figura 2. Estrutura da (-)-cubebina

Uma das primeiras atividades biológicas atribuídas à cubebina foi a atividade antialimentar contra alguns tipos de pragas que atacam grãos.<sup>20,21</sup> Assim, a ocorrência dessa lignana pode estar relacionada com o sistema de defesa da planta em sinergia com outros metabolitos.<sup>22</sup> Entre as muitas atividades biológicas desta lignana que serão discutidas neste artigo algumas delas despertam maior interesse por parte dos pesquisadores, devido à importância da descoberta, bem como os estudos pioneiros sobre a atividade antichagásica da cubebina e seus derivados sintéticos,<sup>6,8,16,23</sup> atividade analgésica e antiinflamatória,<sup>3,14,17</sup> atividade esquistossomocida de derivados,<sup>7,24</sup> estimulação na melanogênese,<sup>10</sup> atividade inibitória sobre a enzima redutase 5 $\alpha$ -testosterona,<sup>11</sup> atividade anti-androgênica,<sup>25</sup> atividade vasodilatadora<sup>15,26</sup> e citotoxicidade.<sup>27,28</sup> Apesar da cubebina apresentar muitas atividades biológicas *in vitro* e *in vivo*, bem como outras lignanas, esta molécula chama a atenção devido à sua ocorrência em várias espécies de plantas, facilidade de obtenção de derivados semi-sintéticos e ainda atividades biológicas de extrema importância o que torna a cubebina uma molécula de grande interesse químico e farmacológico. Devido aos efeitos terapêuticos promissores da (-)-cubebina e ao consumo substancial da *P. cubeba*, em alguns países, neste artigo serão apresentadas além das atividades biológicas atribuídas também estudos sobre a segurança do seu consumo.

## 2. Ocorrência

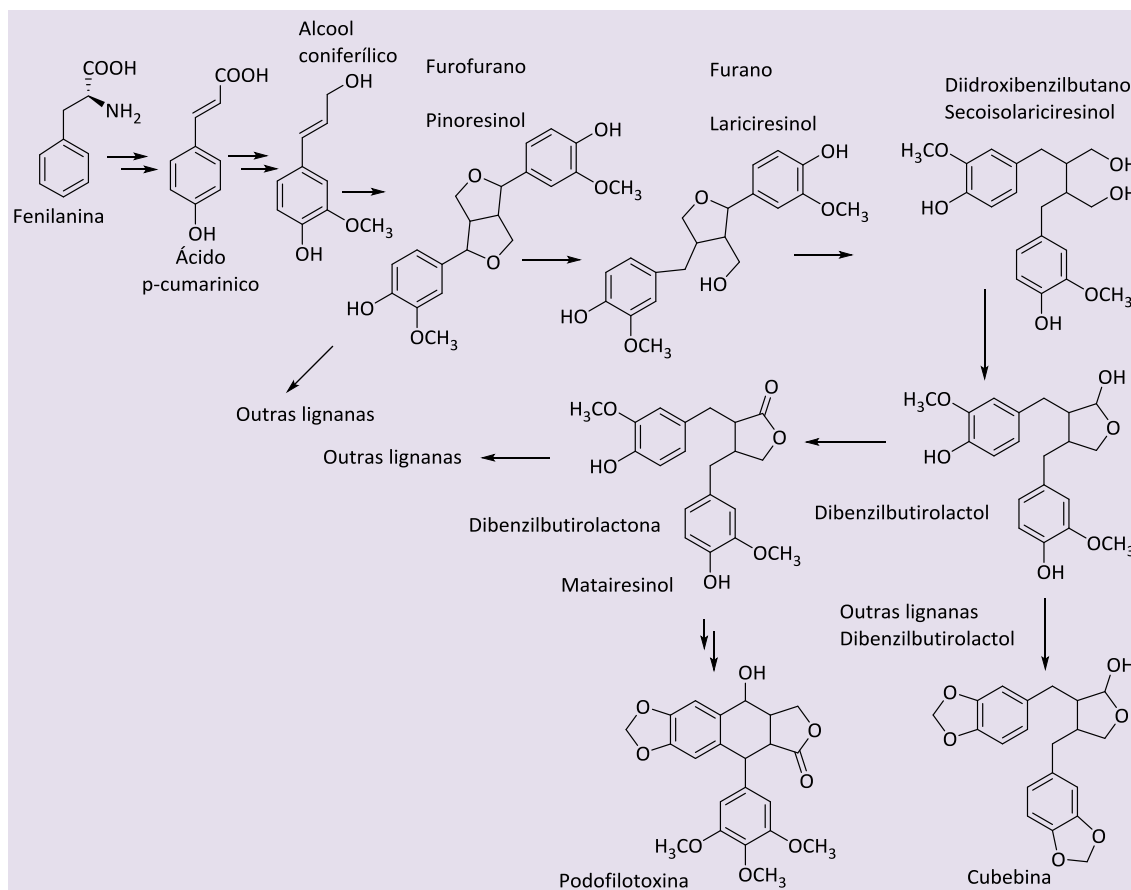
A (-)-cubebina é uma lignana dibenzilbutirolactolica presente no caule, folhas, frutos e raízes de Asteraceae, Acanthaceae, Linaceae, Oleaceae, Pinaceae, Piperaceae e Rutaceae.<sup>2,6,10,17,18,29-32</sup> A (-)-cubebina foi extraída pela primeira vez a partir de *P. cubeba* em 1839 por Eugene Soubeiran como uma substância cristalina que consiste de uma mistura de dois epímeros em C-9 e estereoquímica *trans* com relação a C8 e C8'.<sup>33,34</sup>

## 3. Biossíntese

Em décadas recentes, vários caminhos biossintéticos têm sido propostos para a biossíntese de lignanas contendo oxigênio em C9 e C9'.<sup>5,35,36</sup> A biossíntese destas lignanas é iniciada pela dimerização enantioseletiva a partir de duas unidades de álcool coniferílico com o auxílio de uma proteína líder, fornecendo o pinosinol (furofurano). Este último é reduzido pela pinosinol / lariciresinol redutase através do lariciresinol (furano) produzindo o secoisolariciresinol (dibenzilbutanodiol), que é então oxidado pela secoisolariciresinol desidrogenase produzindo o matairesinol (dibenzilbutirolactona) através de um intermediário dibenzilbutirolactólico.<sup>36</sup> A conversão em álcool coniferílico foi demonstrada em diversas plantas, o que sugere fortemente que esta é a via

biossintética geral para a produção destas lignanas.<sup>37</sup> O intermediário biossintético matairesinol fornece muitas outras lignanas com anéis aromáticos modificados (Esquema 1). Estas modificações, tal como a formação do grupo metilenodioxí nas posições 2 e 3, além da introdução de grupos metoxi na posição 5 tem lugar em outras etapas

biossintéticas. Embora não existam dados na literatura, específicos sobre a biossíntese de (-)-cubebina é possível que a mesma seja obtida a partir de secoisolariciresinol por condensação entre os grupos hidroxí e metoxi nos anéis aromáticos, gerando assim o grupo metilenodioxí.<sup>35</sup>

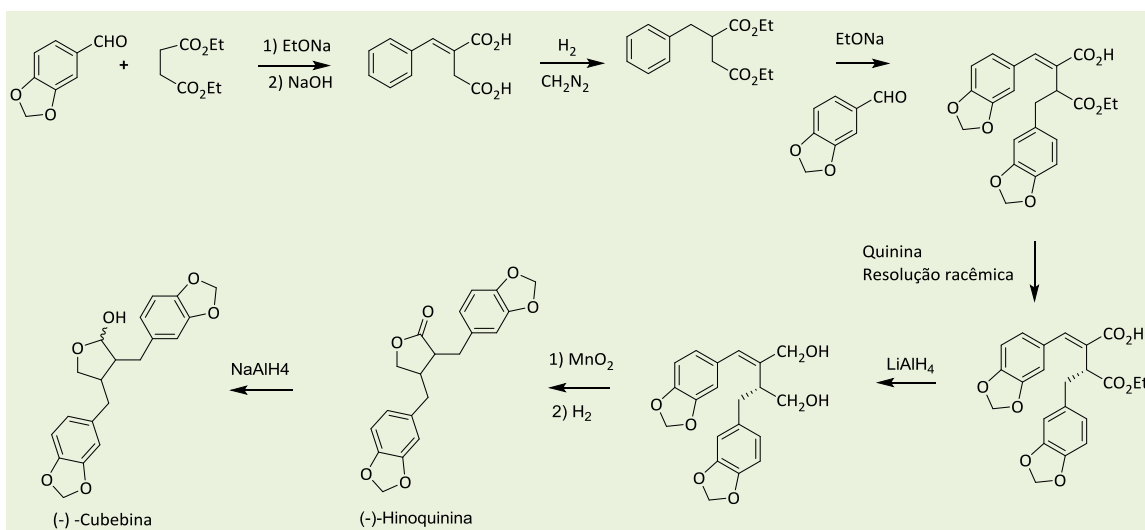


Esquema 1. Vias biossintéticas propostas para lignanas contendo oxigênio em C9 e em C9'

#### 4. Síntese

A (-)-cubebina tem sido geralmente identificada como uma mistura de dois diastereoisômeros 8,8'-trans em C-9,<sup>33,34,38-43</sup> entretanto, a configuração deste centro anomérico, bem como de outras lignanas butirolactólicas permanece obscura. Devido à sua estrutura e suas propriedades biológicas,

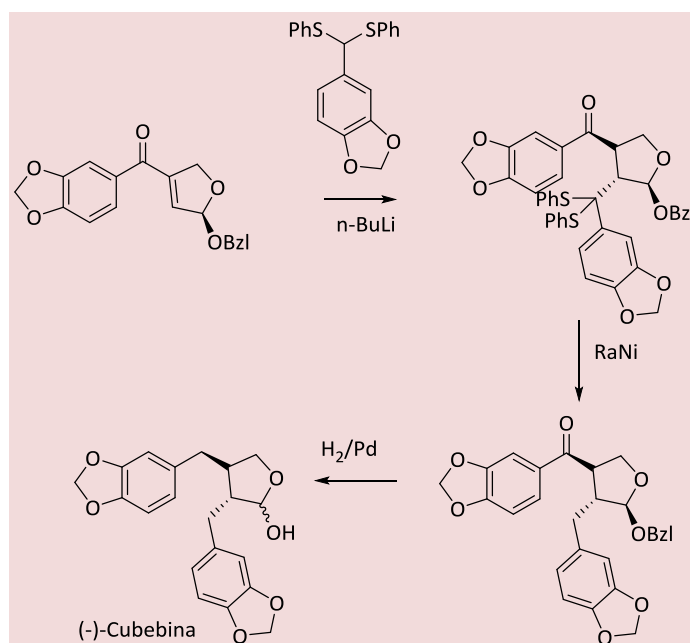
algumas vias sintéticas tem sido propostas para a produção de cubebina e de outras lignanas com estruturas direta ou indiretamente relacionadas.<sup>8,44-48</sup> A (-)-cubebina foi sintetizada pela primeira vez a partir da reação de Stobbe entre piperonal e succinato de metila (Esquema 2). Esta síntese embora simples tem um grande número de passos e um rendimento global menor do que 1%.<sup>49</sup>



Esquema 2. Síntese da (-)-cubebina a partir da reação de Stobbe<sup>49</sup>

Outra via sintética para a preparação da (-)-cubebina foi desenvolvida por Rehnberg et al.,<sup>43</sup> onde a cubebina foi obtida em rendimento global de 8 % a partir dos

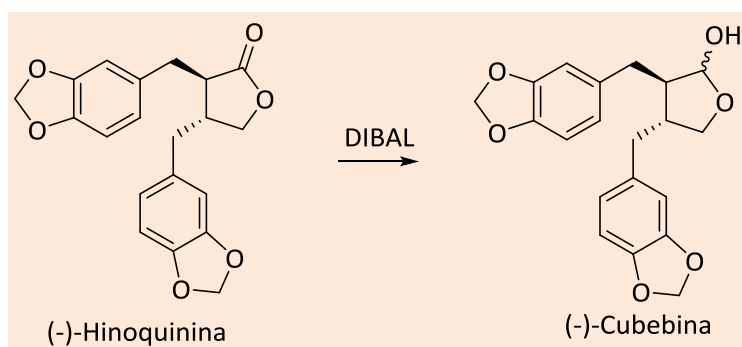
intermediários ditioacetal benzílico e cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada quiral por reação de adição conjugada (Esquema 3).



Esquema 3. Síntese da (-)-cubebina por reação de adição 1,4 do ânion do ditioacetal benzílico à cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada quiral<sup>43</sup>

A (-)-cubebina também pode ser obtida a partir da (-)-hinoquinina por redução da carbonila com hidreto de diisobutilalumínio em rendimentos globais que variam de 3 a

5% dependendo da rota sintética utilizada para a obtenção da hinoquinina.<sup>3,34,44,47,50-52</sup> (Esquema 4).



**Esquema 4.** Síntese da (-)-cubebina por redução da (-)-hinoquinina.<sup>3,51</sup>

Apesar das várias propostas de síntese da (-)-cubebina, grande parte dos estudos sobre as propriedades biológicas utilizam a lignana extraída da *P. cubeba* onde pode ser obtida em até 3% de rendimento a partir das sementes.<sup>19</sup> Portanto, existe a necessidade em se desenvolver novas rotas para a síntese dessa lignana de forma enantiosseletiva em maiores rendimentos que possibilitem o potencial uso comercial dessa substância.

## 5. Funções biológicas da (-)-cubebina nas plantas

As lignanas são metabólitos secundários que desempenham um papel importante na defesa das plantas contra insetos,<sup>22,53-55</sup> embora o modo de ação destes compostos seja desconhecido,<sup>55</sup> eles podem atuar em grande parte como reguladores de alimentação dos insetos, mas em alguns casos, podem também influenciar as funções fisiológicas específicas destes.<sup>56,57</sup> Dentre as lignanas com propriedades inseticidas a (-)-cubebina apresenta atividade antialimentar sobre algumas pragas que atacam grãos,<sup>22,58</sup> sendo mais expressiva a atividade apresentada sobre larvas de *European corn borer* (PC<sub>50</sub> = 74ppm).<sup>20</sup> Apesar de expressiva, o mecanismo pelo qual a (-)-cubebina exerce essa atividade inseticida ainda continua obscuro.

Desde a descoberta da sua atividade inseticida,<sup>20</sup> muitos outros estudos com a (-)-cubebina foram realizados, entretanto, foi

somente na última década que muitos grupos de pesquisa passaram a estudar essa lignana e esses estudos culminaram na descoberta de novas e importantes propriedades biológicas atribuídas à (-)-cubebina e seus derivados sintéticos como veremos a seguir.

## 6. Atividades biológicas da (-)-cubebina

### 6.1. Analgésica e anti-inflamatória

Na determinação da atividade anti-inflamatória em ensaio de edema de pata induzido por carragenina, a (-)-cubebina, extraída da *Zanthoxylum Naranjillo* Criseb, apresentou 53% de inibição do edema. Na avaliação da atividade analgésica usando modelo de contorção abdominal induzida por ácido acético a 0,6%, a (-)-cubebina apresentou resultados de 50% de inibição nas contorções nos animais em comparação com o grupo de controle.<sup>17</sup> Em outro estudo, Silva et al,<sup>3</sup> avaliaram a atividade analgésica e anti-inflamatória da (-)-cubebina e dos derivados obtidos a partir dela (-)-hinoquinina, (-)-6,6'-dinitrohinoquinina, (-)-6,6'-diaminhinoquinina pelos mesmos modelos *in vivo* e obtiveram resultados semelhantes para a (-)-cubebina, entretanto os resultados para os compostos obtidos a partir da (-)-cubebina apresentaram maior potencial analgésico e anti-inflamatório. Esses resultados demonstraram que foi possível potencializar os efeitos da (-)-cubebina por

meio de alterações estruturais principalmente pela oxidação do grupo lactol. Nos ensaios de placa quente a (-)-cubebina e os derivados não mostraram ação sobre o sistema nervoso central indicando que a ação analgésica acontece de forma periférica.

Mukhija,<sup>59</sup> também avaliou o efeito anti-inflamatório da (-)-cubebina, extraída das folhas de *Zanthoxylum naranjillo*, também constatando a redução significativa do edema de pata de rato induzido pela prostaglandina E2, essa ação antinociceptiva pode acontecer pela inibição da síntese das prostaglandinas, assim como as drogas não esteroidais.<sup>60</sup>

## 6.2. Antimicrobiana

A atividade antimicrobiana da (-)-cubebina e extratos da *P. cubeba* foi avaliada em ensaios *in vitro* contra patógenos orais.<sup>7</sup> A (-)-cubebina apresentou atividade bacteriostática em todas as concentrações avaliadas com CIM = 0,28 mM para *Candida albicans*. Acredita-se que seja a (-)-cubebina o componente responsável, presente em todos os extratos, pela atividade contra os microrganismos orais.

Silva et al.,<sup>61</sup> estudaram a atividade antimicrobiana da (-)-cubebina e de seus derivados hinoquinina, *O*-acetil-cubebina, *O*-metil-cubebina, *O*-(N,N- dimetilamina-etil)-cubebina e a 6.6'-dinitrohinoquinina contra *Mycobacterium tuberculosis H37Rv*, *M. kansasii*, e *M. avium*., tendo como padrão a rifampicina. Apesar da (-)-cubebina não apresentar atividade contra as cepas de *Mycobacterium* avaliadas o derivado *O*-metil(-)-cubebina apresentou um CIM = 31,25 µg/mL para *M. avium*.

Em um estudo mais recente Arellanes et.al.,<sup>62</sup> relataram a ação da (-)-cubebina, extraída da *Aristolochia elegans Rhizomes*, contra o *Mycobacterium tuberculosis H37Rv* com CIM de 50 µg/mL concluindo que este composto pode ser utilizado como modelo

para síntese de outros derivados com maior ação antimicrobiana.

## 6.3. Estimulação da melanogênese

Hirata et al.,<sup>10</sup> descobriram que a (-)-cubebina estimula a melanogênese, em células de melanoma B16 de murídeo, de uma maneira dose-dependente sem quaisquer efeitos significativos sobre a proliferação celular. A melanogênese é regulada pela velocidade da tirosinase, que é a enzima limitante da velocidade da biossíntese da melanina. De acordo com esses estudos a atividade da tirosinase foi aumentada em 24-72h após a adição de (-)-cubebina às células B16, em seguida, a quantidade de melanina intracelular foi aumentada em 48-96 h após o tratamento. Os níveis de expressão da tirosinase aumentaram de forma tempo-dependente e os níveis de expressão do mRNA tirosinase também aumentaram após adição de (-)-cubebina. Além disso, a análise de Western blot revelou que (-)-cubebina elevou o nível de fosforilação da proteína quinase p38 (MAPK). O SB203580, um inibidor seletivo de p38 MAPK, bloqueou completamente a expressão induzida pela (-)-cubebina do mRNA tirosinase em células B16. Estes resultados sugerem que o aumento da melanogênese induzido pela (-)-cubebina em células B16 ocorre através do aumento da expressão de tirosinase mediada pela ativação de p38 MAPK.<sup>10</sup>

## 6.4. Inibição da testosterona 5 $\alpha$ -redutase

A enzima testosterona 5 $\alpha$ -redutase atua na conversão da testosterona em diidrotestosterona (DHT), que é a forma ativa de androgênio em células da próstata. O aumento da atividade dessa enzima promove maior quantidade de DHT que pode levar a uma proliferação descontrolada de células prostáticas causando câncer de próstata.<sup>63</sup> Hirata et al.,<sup>11</sup> analisaram a atividade



inibitória da (-)-cubebina sobre a testosterona 5 $\alpha$ -redutase de acordo com o método de Imai (1965). Os resultados foram expressos em porcentagem de inibição da enzima nas concentrações avaliadas e  $CI_{50}$ . A (-)-cubebina apresentou 66.3% de inibição e  $CI_{50} = 0.44$  mM, portanto resultado mais expressivo do que o observado para o controle positivo etiestradiol de 63.3% de inibição e  $CI_{50} = 0.81$  mM.

Em outro estudo Yam et al.,<sup>25</sup> avaliaram os efeitos do extrato da *P. cubeba*, contendo (-)-cubebina como principal constituinte (proporção de 16%), sobre o crescimento de duas linhagens de células da próstata humana que representam dois estágios hormonais diferentes do câncer de próstata, bem como suas propriedades anti-androgênicas. Estes autores foram os primeiros a relatar a capacidade desse extrato em retardar o crescimento andrógeno-dependentes das células de câncer de próstata através de vários mecanismos diferentes. O extrato de *P. cubeba* também foi descrito como sendo capaz de inibir a proliferação dependente de androgênio de células de câncer de próstata humano LNCaP, reduzindo a síntese de DNA e induzindo a apoptose. Apesar da (-)-cubebina ser o principal constituinte do extrato quando ela foi avaliada individualmente os resultados obtidos foram inferiores ao do extrato bruto. Esses dados podem indicar que outros constituintes do extrato em menor proporção podem atuar em sinergismo com a (-)-cubebina. Apesar do extrato da *P. cubeba* ter apresentado resultados promissores a quantidade necessária para se ter uma concentração plasmática de 30  $\mu\text{g/mL}$  (concentração ideal avaliada pelos autores) num paciente de peso médio seria uma dose diária de 4g, considerando 100% de absorção. Desta forma, estudos sobre o uso desse extrato em grande quantidade seriam necessários a fim de verificar possíveis efeitos colaterais.

### 6.5. Antihistamínico

A atividade inibitória da (-)-cubebina na liberação de histamina foi estudada por Hirata et al.<sup>12</sup> Sabe-se que a inibição da liberação de histamina a partir de mastócitos desempenham um papel importante no mecanismo de efeito antialérgico do tipo I contra alergias como DPI (resposta de fase imediata). Por conseguinte, estes autores examinaram *in vitro* a atividade inibidora da (-)-cubebina sobre a liberação de histamina por um ensaio com o composto 48/80 induzindo a liberação de histamina a partir de mastócitos peritoneais de ratos. Cromoglicato de sódio (SCG) foi utilizado como um fármaco de referência. O estudo mostrou que a (-)-cubebina apresenta importante atividade inibitória na liberação de histamina (81%) na concentração de 0,5 mM sendo maior do que a do SCG (13,4%) usado na mesma concentração.

### 6.6. Tripanossomicida

A (-)-cubebina e seus derivados também tem demonstrado resultados promissores em ensaios contra várias formas do *Trypanosoma cruzi*, sendo mais eficientes e menos tóxicos do que os medicamentos utilizados no tratamento.<sup>7,16,23</sup>

Em ensaios tripanossomicidas a (-)-cubebina e seus derivados atuaram como inibidores da atividade da NADH oxidase mitocondrial do complexo I do *T. cruzi*, sendo esta uma constatação da relevância devido ao potencial deste tipo de composto em um contexto farmacológico. Além disso, os resultados indicam potenciais grupos de ligação em Cl-B8, especificamente R89 e S96, cuja interação via ligação de hidrogênio pode opor-se à ligação do NADH ao seu sítio de interação e / ou evitar a sua oxidação.<sup>23</sup>

Esperandim et al.,<sup>16</sup> avaliaram o efeito da (-)-cubebina em concentrações de 20 mg/kg e 50 mg/kg em animais (ratos machos BALB/c) infectados com aproximadamente  $2 \times 10^4$  formas tripomastigotas do clone *T. cruzi* B5 CL Brener. O tratamento oral foi realizado diariamente por 20 dias e constatou-se que

(-)-cubebina na dose de 20 mg/Kg reduziu o número de formas parasitárias circulantes em cerca de 80 % quando comparado com o controle negativo. O tratamento oral com a cubebina foi capaz de aumentar o tempo de vida dos animais infectados com os parasitas, quando comparado aos animais do grupo controle negativo. As animais do controle negativo morreram entre o 23º e 26º dia, enquanto os animais tratados com (-)-cubebina morreram entre o 28º e 32º dia.

### 6.7. Vasodilatador

Em estudos realizados com ratos a (-)-cubebina apresentou efeito vasodilatador e também atuou como um estimulante sexual. Neste estudo os animais foram tratados com diferentes doses de (-)-cubebina e citrato de sildenafil (Viagra®) por via intraperitoneal. O efeito vasodilatador foi observado no intervalo de 35 a 45 minutos após a administração, permanecendo ativo de 120 a 150 minutos para os animais tratados com Viagra e com 20 mg de (-)-cubebina, respectivamente. Houve diferenças entre os animais dos dois grupos, pois o grupo que recebeu Viagra apresentou taquicardia, agitação e tumescência testicular, enquanto com o grupo tratado com a (-)-cubebina não apresentou esses sintomas e a ereção foi mais prolongada. Os animais foram anestesiados e sacrificados para remoção de tecido peniano e confecção de lâminas para análise por fotomicrografias. As fotomicrografias do tecido peniano dos animais dos grupos tratados com Viagra e com a (-)-cubebina mostraram o espaço vascular acentuadamente dilatado e repleto de eritrócitos, enquanto as fotomicrografias dos animais do controle negativo mostraram os espaços vasculares contraídos e com menor quantidade de sangue. A partir destes resultados pode-se observar que o uso da (-)-cubebina revela efeitos positivos similares aos das drogas atualmente empregadas para o tratamento da impotência sexual masculina, particularmente do Viagra®,

porém sem apresentar a taquicardia e a agitação inerentes à mesma. A disfunção erétil masculina ocorre quando a enzima fosfodiesterase (PDE 5) inibe o GMPc que é responsável pelo relaxamento da musculatura lisa nos corpos cavernosos do pênis aumentando o fluxo de sangue levando à ereção, os medicamentos usados atualmente contra a disfunção erétil como o citrato de sildenafil inibem essa enzima, embora ainda não confirmado este também pode ser o mecanismo de ação da (-)-cubebina.<sup>15</sup>

Carvalho et al,<sup>26</sup> também avaliaram o efeito vasodilatador da (-)-cubebina na relaxação da aorta isoladas de ratos utilizando anéis com e sem endotélio, com a intenção de avaliar a influência do mesmo sobre o relaxamento. O grupo com endotélio teve seu relaxamento utilizando acetilcolina e (-)-cubebina, já os anéis sem endotélio foram tratados com nitroprussiato de sódio e (-)-cubebina. A (-)-cubebina apresentou efeito como vaso dilatador mais acentuado em anéis com a presença de endotélio (60,1%), do que sob anéis sem endotélio (34,7%), o que mostra que a (-)-cubebina induz o relaxamento da aorta de ratos independente da presença ou não de endotélio.

### 6.8. Citotoxicidade sobre células tumorais

Investigação da atividade citotóxica *in vitro* com a (-)-cubebina e seus derivados foi realizada sobre seis linhagens de câncer humano, A549 (adenocarcinoma do pulmão humano), KB (carcinoma nasofaríngeo humano), K562 (leucemia mieloide crônica humana), SiHa (carcinoma cervical humano), HCT116 e HT29 (carcinoma do cólon humano) utilizando ensaios de MTT.<sup>64</sup> A (-)-cubebina apresentou atividade contra as linhagens celulares A549, K562 e KB com valores de  $CI_{50}$  inferiores a 9  $\mu$ M, entretanto foi menos eficaz em relação às demais linhagens avaliadas. Derivados contendo anel lactônico e grupo amida mostraram-se mais ativos, sugerindo que essas alterações

estruturais foram eficazes no aumento da atividade. Os resultados, embora preliminares, mostraram que cubebina pode ser um composto promissor para o desenvolvimento de novas drogas contra o câncer.

Em outro estudo, Niwa et al.,<sup>28</sup> avaliaram a ação da cubebina contra células de adenocarcinoma de cólon humano (HT29). Os dados obtidos nestes estudos sugerem que a (-)-cubebina exerce baixa toxicidade em concentrações até 28  $\mu$ M, pois não apresentou citotoxicidade, mutagenicidade, morte celular por apoptose ou crescimento desordenado em células HT29. Na concentração de 280  $\mu$ M, a (-)-cubebina diminui a viabilidade das células em aproximadamente 50% após o tratamento durante 24 h, estes resultados demonstraram cautela na utilização de (-)-cubebina em concentrações mais elevadas.

## 7. Toxicidade

Maistro et al.,<sup>65</sup> realizaram ensaios *in vivo* para avaliar os potenciais efeitos genotóxicos da (-)-cubebina em termos de indução de micronúcleos em medula óssea e danos ao DNA em leucócitos de sangue periférico de ratos Swiss albino. Ensaio realizado para se determinar a toxicidade aguda revelaram que a dose máxima tolerada foi superior a 2000 mg kg<sup>-1</sup>. Os ensaios de micronúcleos e testes cometas, respectivamente, mostraram que (-)-cubebina apresenta efeitos clastogênicos e genotóxicos dose-dependente nas células somáticas investigadas. A (-)-cubebina não causou uma diminuição estatisticamente significativa na razão PCE: NCE nas concentrações testadas (250, 500 e 2000 mg/Kg de peso vivo), não indicando efeitos tóxicos nas células da medula óssea. O estudo sugere, portanto, cautela na ingestão da (-)-cubebina por humanos, especialmente em altas doses.

Niwa et al.,<sup>27</sup> investigaram os efeitos da (-)-cubebina na citotoxicidade, na cinética de proliferação celular, mutagenicidade,

expressão da p38 MAP quinase e da glutathione S-transferase  $\alpha$ 2 (GST $\alpha$ 2) usando PCR em tempo real em células de hepatoma *Rattus norvegicus*. Esses autores encontraram que a (-)-cubebina na concentração de 280 mM foi citotóxica depois de 24, 48 e 72 h de exposição, mas não mutagênica em concentrações de 0,28 mM, 2,8 mM e 28 mM depois de 26 h. Do mesmo modo, a exposição à (-)-cubebina nestas mesmas concentrações por 24, 48, 72 e 96 h não alteraram a cinética da proliferação celular. Células expostas a (-)-cubebina a 28 mM por 24 h não exibiram mudanças na expressão da p38 MAP quinase e GST $\alpha$ 2, indicando que as mudanças celulares não são induzidas por estimulação extracelular e que a (-)-cubebina não é metabolizada por essa via. Estes resultados também sugerem que altas doses de (-)-cubebina devem ser consumidas com cautela devido ao efeito citotóxico observado na concentração mais elevada. No entanto, nas concentrações mais baixas, não foram observados efeitos mutagênicos ou proliferativos, fornecendo uma evidência adicional da segurança de consumo da (-)-cubebina.

## 8. Considerações finais

Lignanas são produtos naturais de grande importância devido às suas propriedades biológicas, sua diversidade estrutural e ocorrência nas plantas. O conhecimento que se tem sobre as propriedades biológicas dessa classe de compostos ainda não representa o potencial que podem desempenhar na descoberta de novas drogas. A (-)-cubebina apresenta além das atividades costumeiramente demonstradas por outras lignanas muitas outras atividades como descrevem todos os trabalhos acima mencionados. Embora este produto natural seja conhecido há mais de 150 anos, só recentemente é que se tornou alvo de estudo de muitos grupos de pesquisa, devido à descoberta de suas inúmeras propriedades biológicas. Estas atividades biológicas podem

fazer da (-)-cubebina um potencial alvo para o desenvolvimento de protótipos de drogas com aplicação no tratamento da doença de Chagas, esquistossomose e disfunção erétil, assim como no caso de podofilotoxina, a partir da qual os derivados etopósideo e tenopósido, atualmente usado na terapia anticâncer, foram produzidos.

Portanto, espera-se que todas essas atividades biológicas atribuídas à cubebina possam motivar seu uso para o desenvolvimento de novos fármacos, de forma direta ou por meio de derivados sintéticos. Entretanto, são necessários estudos que viabilizem a obtenção da cubebina em maior quantidade, seja por cultivo *in vitro* de células de plantas<sup>66</sup> que produzem a cubebina como metabólito ou por sínteses mais efetivas.

Por todo o exposto é possível considerar a (-)-cubebina como uma potencial molécula alvo no desenvolvimento de novas drogas para diversos tratamentos.

### Referências Bibliográficas

- <sup>1</sup> Umezawa, T.; Okunishi, T.; Shimada, M. Stereochemical diversity in lignan biosynthesis. *Wood Research* **1997**, *84*, 62. [Link]
- <sup>2</sup> Umezawa, T. Diversity in lignan biosynthesis. *Phytochemistry Reviews* **2003**, *2*, 371. [CrossRef]
- <sup>3</sup> Silva, R.; Souza, G. H. B.; Silva, A. A.; Souza, V. A.; Pereira, A. C.; Royo, V. A.; Silva, M. L. A.; Donate, P. M.; Araujo, A. L. M. S.; Carvalho, J. C. T.; Bastos, J. K. Synthesis and biological activity evaluation of lignan lactones derived from (-)-cubebin. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2005**, *15*, 1033. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>4</sup> Zhang, J.; Chen, J.; Liang, Z.; Zhao, C. New lignans and their biological activities. *Chemistry & Biodiversity* **2014**, *11*, 1. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>5</sup> Marcotullio, M.C.; Pelosi, A.; Curini, M. Hinokinin, an Emerging Bioactive Lignan. *Molecules* **2014**, *19*, 14862. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>6</sup> Souza, V. A.; Silva, R.; Pereira, A. C.; Royo, V. A.; Saraiva, J.; Montanheiro, M.; Souza, G. H. B.; Silva Filho, A. A.; Grando, M. D.; Donate, P. M.; Bastos, J. K.; Albuquerque, S.; Silva, M. L. A. Trypanocidal activity of (-)-cubebin derivatives against free amastigote forms of *Trypanosoma cruzi*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2005**, *15*, 303. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>7</sup> Silva, M. L. A.; Silva, R.; Rodrigues, V.; Pereira Júnior, O. S.; Da Silva Filho, A. A.; Donate P. M.; Albuquerque, S.; Bastos, J. K. Process to obtain synthetic and semi-synthetic lignan derivatives, their antiparasitic activities and corresponding pharmaceutical formulations, including the therapeutic method using said lignan for the treatment of parasitosis. Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo. **2007**. (WO 2007/009201)
- <sup>8</sup> Silva, M. L. A.; Albuquerque, S.; Souza, B. H. B.; Bastos; Silva, R. Process to obtain dibenzylbutyrolactonic lignans, process to obtain synthetic derivatives from lignans bearing anti-Chagas chemoprophylactic and therapeutical activities. Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo. **2009**. (US 7521569 B2)
- <sup>9</sup> Usia, T.; Watabe, T.; Kadota, S.; Tezuka, Y. Potent CYP3A4 inhibitory constituents of *Piper cubeba*. *Journal of Natural Products* **2005**, *68*, 64. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>10</sup> Hirata, N.; Naruto, S.; Ohguchi, K.; Akao, Y.; Nozawa, Y.; Iinuma, M.; Matsuda, H. Mechanism of the melanogenesis stimulation activity of (-)-cubebin in murine B16 melanoma cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2007**, *15*, 4897. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>11</sup> Hirata, N.; Tokunaga, M.; Naruto, S.; Iinuma, M.; Matsuda, H. Testosterone 5 $\alpha$ -reductase inhibitory active constituents of *Piper nigrum* Leaf. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* **2007**, *30*, 2402. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>12</sup> Hirata, N.; Naruto, S.; Inaba, K.; Itoh, K.; Tokunaga, M.; Iinuma, M.; Matsuda, H.. Histamine release inhibitory activity of *Piper*

- nigrum* Leaf. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* **2008**, *31*, 1973. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>13</sup> Saraiva, J.; Vega, C.; Rolon, M.; Silva, R.; Silva, M. L. A.; Donate, P. M.; Bastos, J.K.; Gomez-Barrio, A.; Albuquerque, S. *In vitro* and *in vivo* activity of lignan lactones derivatives against *Trypanosoma cruzi*. *Parasitology Research* **2007**, *100*, 791. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>14</sup> Yam, J.; Schaab, A.; Kreuter, M.; Drewe, J. *Piper cubeba* Demonstrates Anti-Estrogenic and Anti-Inflammatory Properties. *Planta Medica* **2008**, *74*, 142. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>15</sup> Albuquerque, S.; Bastos, J. K.; Calefi, P. S.; Ciuffi, K. J.; Cunha, W. R.; Laurentiz, R. S.; Lucarini, R.; Nassar, E. J.; Silva Filho, A. A.; Silva, M. L. A. Cubebina, lignana dibenzilbutirolactólica, seus derivados semi-sintéticos e sintéticos, bem como outras lignanas e neolignanas como agente vasodilatador na terapia da disfunção erétil Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo. **2011**. (WO/2011/075801)
- <sup>16</sup> Esperandim, V. R.; da Silva, D. F.; Rezende, K. C.; Cunha, W. R.; Saraiva, J.; Bastos, J. K.; de Albuquerque, S. Evaluation of the *in vivo* therapeutic properties of (-)-cubebin and (-)-hinokinin against *Trypanosoma cruzi*. *Experimental Parasitology* **2013**, *133*, 442. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>17</sup> Bastos, J. K.; Carvalho, J. C. T.; Souza, G. H. B.; Pedrazzi, A. H. P.; Sarti, S. J. Anti-inflammatory activity of cubebin, a lignan from the leaves of *Zanthoxylum Naranjillo* Griseb. *Journal of Ethnopharmacology* **2001**, *75*, 279. [[PubMed](#)]
- <sup>18</sup> Colmenárez, J. B.; Usbillaga, A.; Khouri, N.; Delgado, G. D. Cubebin, a lignan isolated from *Aristolochia odoratissima* L. *Acta Crystallographica Section E* **2007**, *63*, 2046. [[Link](#)]
- <sup>19</sup> Elfahmi, R. K.; Batterman, S.; Bos, R.; Kayser, O.; Woerdenbag, H. J.; Quax, W. J. Lignan profile of *Piper cubeba*, an Indonesian medicinal plant. *Biochemical Systematics and Ecology* **2007**, *35*, 397. [[CrossRef](#)]
- <sup>20</sup> Bernard, C. B.; Arnason, J. T.; Philogène, B. J. R.; Lam, J.; Waddell, T. Effect of lignans and other secondary metabolites of the asteraceae on the mono-oxygenase activity of the european corn borer. *Phytochemistry* **1989**, *28*, 1373. [[CrossRef](#)]
- <sup>21</sup> Bernard, C. B.; Krishanmurthy, H. G.; Chauret, D.; Durst, T.; Philogène, B. J.; Sánchez-Vindas, P.; Hasbun, C.; Poveda, L.; San Román, L.; Arnason, J.T. Insecticidal defenses of *Piperaceae* from the Neotropics. *Journal of Chemical Ecology* **1995**, *21*, 801. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>22</sup> Harmatha, J.; Nawrot, J. Insect feeding deterrent activity of lignans and related phenylpropanoids with a methylenedioxyphenyl (piperonyl) structure moiety. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **2002**, *104*, 51. [[CrossRef](#)]
- <sup>23</sup> Saraiva, J.; Siqueira, C. M.; Silva, C. H. T. P.; Silva, V. B.; Tudella, V. G.; Silva, R.; Silva, M. L. A.; Dorta, D. J.; Bastos, J. K.; Uyemura, A. S.; Albuquerque, S.; Curti, C. Cubebin and derivatives as inhibitors of mitochondrial complex I. Proposed interaction with subunit B8. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* **2009**, *24*, 599. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>24</sup> Silva, M. L. A.; Cicarelli, R. M.; Pauletti, P. M.; Luz, P. P.; Rezende, K. C.; Januário, A. H.; da Silva, R.; Pereira, A. C.; Bastos, J. K.; de Albuquerque, S.; Magalhães, L. G.; Cunha W. R. *Trypanosoma cruzi*: evaluation of (-)-cubebin derivatives activity in the messenger RNAs processing. *Parasitology Research* **2011**, *109*, 445. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>25</sup> Yam, J.; Kreuter, M.; Drewe, J. *Piper cubeba* targets multiple aspects of the androgen-signalling pathway. a potential phytotherapy against prostate cancer growth? *Planta Medica* **2008**, *74*, 33. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>26</sup> Carvalho, M. T. M.; Rezende, K. C. S.; Evora, P. R. B.; Bastos, J. K.; Cunha, W. R.; Silva, M. L. A.; Celloto, A. C. The Lignan (-)-cubebin Inhibits Vascular Contraction and Induces Relaxation Via Nitric Oxide Activation in Isolated Rat Aorta. *Phytotherapy Research* **2013**, *27*, 1784. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>27</sup> Niwa, A. M.; Marcarini, J. C.; Sartori, D.; Maistro, E. L.; Mantovani, M. S. Effects of (-)-cubebin (*Piper cubeba*) on cytotoxicity, mutagenicity and expression of p38 MAP kinase and GSTa2 in a hepatoma cell line. *Journal of Food Composition and Analysis* **2013**, *30*, 1. [[CrossRef](#)]



- <sup>28</sup> Niwa, A. M.; de Paula, N. A.; Vesenick, D. C.; Sartori, D.; Maistro, E. L.; Ribeiro, L. R.; Mantovani, M.S. Evaluation of lignan (–)-cubebin extracted from *Piper cubeba* on human colon adenocarcinoma cells (HT29). *Journal of Toxicology and Environmental Health* **2016**, *79*, 92. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>29</sup> Danelutte, A. P.; Costantin, M. B.; Delgado, G. E.; Braz-Filho, R.; Kato, M. J. Divergence of Secondary Metabolism in Cell Suspension Cultures and Differentiated Plants of *Piper cernuum* and *Piper crassinervium*. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2005**, *16*, 1425. [CrossRef]
- <sup>30</sup> Pascoli, I. C.; Nascimento, I. R.; Lopes, L. M. X. Configurational Analysis of Cubebins and Bicubebin from *Aristolochia lagesiana* and *Aristolochia pubescens*. *Phytochemistry* **2006**, *67*, 735. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>31</sup> Messiano, G. B.; Vieira, L.; Machado, M. B.; Lopes, L. M. X.; Bortoli, S. A.; Schpecto, J. Z. Evaluation of Insecticidal Activity of Diterpenes and Lignans from *Aristolochia malmeana* against *Anticarsia gemmatalis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2008**, *56*, 2655. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>32</sup> Pacheco, G. A.; Silva, T. M.; Manfrini, R. M.; Sallum, W. S. T.; Duarte, L. P.; Veloso, D. P.; Alcântara, A. F. C. Estudo Químico e Atividade Antibacteriana do Caule de *Aristolochia Esperanzae* Kuntze (*Aristolochiaceae*). *Química Nova* **2010**, *33*, 1649. [CrossRef]
- <sup>33</sup> Badheka, L. P.; Prabhu, B. R.; Mulchandani, N. B. Lignans of *Piper cubeba*. *Phytochemistry* **1987**, *26*, 2033. [CrossRef]
- <sup>34</sup> Ward, R. S. Asymmetric synthesis of lignans. *Tetrahedron* **1990**, *46*, 5029. [CrossRef]
- <sup>35</sup> Canel, C.; Moraes, R. M.; Dayan, F. E.; Ferreira, D. Podophyllotoxin. *Phytochemistry* **2000**, *54*, 115. [PubMed]
- <sup>36</sup> Suzuki, S.; Umezawa, T. Biosynthesis of lignans and norlignans. *Journal of Wood Science* **2007**, *53*, 273. [CrossRef]
- <sup>37</sup> Croteau, R.; Kutchan, T. M.; Lewis, N. G. *Natural Products (Secondary Metabolites)*. In: Buchanan, B.B.; Grisse, W.; Jones, R.L. (eds) *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. Courier Companies, 2000, cap. 24.
- <sup>38</sup> Koul, S. K.; Taneja, S. C.; Dhar, K. L.; Atal, C. K. Lignans of *Piper clusii*. *Phytochemistry* **1983**, *22*, 999. [CrossRef]
- <sup>39</sup> Koul, S. K.; Taneja, S. C.; Pushpangadan, P.; Dhar, K. L. Lignans of *Piper trichostachyon*. *Phytochemistry* **1988**, *27*, 1479. [CrossRef]
- <sup>40</sup> Blumenthal, E. E. A.; Silva, M. S.; Yoshida, M. Lignoids, flavonoids and polyketides of *Virola surinamensis*. *Phytochemistry* **1997**, *46*, 745. [CrossRef]
- <sup>41</sup> Wei-Ming, C.; Mayer, R.; Rücker, G. Orientierung der Hydroxyl-Gruppe des (-)-Cubebins und seines Epimeren Orientation of the Hydroxyl Group of (-)-Cubebin and its Epimer. *Archiv der Pharmazie* **1987**, *320*, 374. [CrossRef]
- <sup>42</sup> Rehnberg, N.; Magnusson, G. Total synthesis of the lignans (-) and (+)-burseran, (-)-cubebin, and (-)-hinokinin by diastereoselective conjugate addition of benzyl anions to 2-(R)- and (S)-benzyloxy-2,5-dihydro-4-(3,4-methylenedioxybenzoyl)furan. *Tetrahedron Letters* **1988**, *29*, 3599. [CrossRef]
- <sup>43</sup> Rehnberg, N.; Magnusson, G. General conjugate-addition method for the synthesis of enantiomerically (-)-dehydroxycubebin, (-)-trichostin, (-)-cubebin, (-)-5"-methoxyhinokinin and (-)-hinokinin. *The Journal of Organic Chemistry* **1990**, *55*, 4340. [CrossRef]
- <sup>44</sup> Bode, J. W.; Doyle, M. P.; Protopopova, M. N.; Zhou, Q. L. Intramolecular regioselective insertion into unactivated prochiral carbon-hydrogen bonds with diazoacetates of primary alcohol catalyzed by chiral dirhodium (II) carboxamidates. Highly enantioselective total synthesis of natural lignan lactones. *The Journal of Organic Chemistry* **1996**, *61*, 9146. [CrossRef]
- <sup>45</sup> Chênever, R.; Ziarani, G. M.; Caron, D.; Dasser, M. Chemoenzymatic enantioselective synthesis of (-)-enterolactone. *Canadian Journal of Chemistry* **1999**, *77*, 223. [CrossRef]
- <sup>46</sup> Xia, Y-M.; Liang, Q-R.; Wang, X-L.; Cao, X-P.; Pan, X-F. Total synthesis of (-)-kaerophyllin (-)-hinokinin and (±)-isohinokinin. *Chinese*

- Journal of Chemistry* **2003**, *21*, 1540. [CrossRef]
- <sup>47</sup> Fischer, J.; Reynolds, J. A.; Sharp, L. A.; Sherburn, M. S. Radical carboxylation approach to lignans. Total synthesis of (-)-arctigenin, (-)-matairesinol, and related natural products. *Organic Letters* **2004**, *6*, 1345. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>48</sup> Uhle, E. S. B.; Sairre, M. I.; Donate, P. M.; Frederico, D. Enantioselective hydrogenation of 4-(hydroxymethyl)-furan-2(5H)-one derivatives. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical* **2006**, *259*, 103. [CrossRef]
- <sup>49</sup> Batterbee, J. E.; Burden, R. S.; Crombie, L.; Whiting, D. A. Chemistry and synthesis of the lignan (-)-cubebin. *Journal of the Chemical Society C: Organic* **1969**, *19*, 2470. [CrossRef]
- <sup>50</sup> Sibi, M. P.; Liu, P.; Ji, J.; Hajra, S.; Chen, J. Free-radical-mediated conjugate additions. Enantioselective synthesis of butyrolactone natural products: (-)-enterolactone, (-)-arctigenin, (-)-isoarctigenin, (-)-nephrosteranic acid, and (-)-rocellaric acid. *The Journal of Organic Chemistry* **2002**, *67*, 1738. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>51</sup> Enders, D.; Milovanovic, M. Asymmetric Synthesis of (+)-Hinokinin, (+)-Dihydrocubebin and Cubebin Dimethyl Ether, a New Lignan from *Phyllanthus niruri*. *Z. Naturforsch* **2007**, *62b*, 117. [Link]
- <sup>52</sup> Sellars, J. D.; Steel, P. G. Advances in the Synthesis of Aryltetralin Lignan Lactones. *European Journal of Organic Chemistry* **2007**, *23*, 3815. [CrossRef]
- <sup>53</sup> Gottlieb, O. R. Lignóides de plantas amazônicas: investigações biológicas e químicas. *Acta Amazonica* **1988**, *18*, 333. [CrossRef]
- <sup>54</sup> Nascimento, I. R.; Murata, A. T.; Bortoli, S. A.; Lopes, L. M. X. Insecticidal activity of chemical constituents from *Aristolochia pubescens* against *Anticarsia gemmatalis* larvae. *Pest Management Science* **2004**, *60*, 413. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>55</sup> Harmatha, J.; Dinan, L. Biological activities of lignans and stilbenoids associated with plant-insect chemical interactions. *Phytochemistry Reviews* **2003**, *2*, 321. [CrossRef]
- <sup>56</sup> Garcia, E. S.; Cabral, M. M. O.; Schaub, G. A.; Gottlieb, O. R.; Azambuja, P. Effects of lignoids on a hematophagous bug *Rhodnius prolixus*: feeding, ecdysis and diuresis. *Phytochemistry* **2000**, *55*, 611. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>57</sup> Garcia, E. S.; Azambuja, P. Lignoids in insects: chemical probes for the study of ecdysis, excretion and *Trypanosoma cruzi*-triatomine interactions. *Toxicon* **2004**, *44*, 431. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>58</sup> Harmatha, J.; Nawrot, J. Comparison of the Feeding Deterrent Activity of some Sesquiterpene Lactones and a Lignan Lactone towards Selected Insect Storage Pests. *Biochemical Systematics and Ecology* **1984**, *12*, 95. [CrossRef]
- <sup>59</sup> Mukhija, M.; Sundriyal, A. Phytoconstituents responsible for anti-inflammatory activity. *Journal of Natural Pharmaceuticals* **2013**, *4*, 1. [Link]
- <sup>60</sup> Kummer, C. L.; Coelho, T. C. R. B. Cyclooxygenase-2 Inhibitors Nonsteroid Anti-Inflammatory Drugs: Current Issues. *Revista Brasileira de Anestesiologia* **2002**, *52*, 498. [CrossRef]
- <sup>61</sup> Silva, M. L. A.; Martins, C. H. G.; Lucarini, R.; Sato, D. N.; Pavan, F. R.; Freitas, N. H. A.; Andrade, L. N.; Pereira, A. C.; Bianco, T. N. C.; Vinholis, A. H. C.; Cunha, W. R.; Bastos, J. K.; Silva, R.; Filho, A. A. S. Antimycobacterial Activity of Natural and Semi-Synthetic Lignans. *Z. Naturforsch* **2009**, *64*, 779. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>62</sup> Arellanes, A. J.; Diaz, R. L.; Meckes, M.; Tapia, A.; Salinas, G. M. M.; Herrera, J. L.; Mulia, L. Y. Antiprotozoal and Antimycobacterial Activities of Pure Compounds from *Aristolochia elegans* Rhizomes. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* **2012**, *2012*, 593403. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>63</sup> Li, J.; Ding, Z.; Wang, Z.; FangLu, J.; Maity, S. N.; Navone, N. M.; Logothetis, C. J.; Mills, G. B.; Kim, J. Androgen Regulation of 5 $\alpha$ -Reductase Isoenzymes in Prostate Cancer: Implications for Prostate Cancer Prevention. *PLoS One* **2011**, *6*, 1. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>64</sup> Rajalekshmi, D. S.; Kabeer, F. A.; Madhusoodhanan, A. R.; Bahulayan, A. K.; Prathapan, R.; Prakasan, N.; Varughese, S.; Nair, M. S. Anticancer activity studies of cubebin isolated from *Piper cubeba* and its

synthetic derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2016**, *26*, 1767. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

<sup>65</sup> Maistro, E. L.; Natel, A. V. M.; Souza, G. H. B.; Perazzo, F. F. Genotoxic effects of (-)-cubebin in somatic cells of mice. *Journal of Applied Toxicology* **2010**, *31*, 185. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

<sup>66</sup> Chattopadhyay, S.; Srivastava, A. K.; Bhojwani, S. S.; Bisaria, V. S. Production of podophyllotoxin by plant cell cultures of *Podophyllum hexandrum* in bioreactor. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **2002**, *93*, 215. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]