

Piperyna – związek biologicznie czynny

Piperine – a biologically active compound

ALEKSANDRA KRZYSTANEK^{1/}, DOROTA RÓŻAŃSKA^{2/}

^{1/} Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie Dietetyki, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

^{2/} Zakład Dietetyki, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Piperyna, to alkaloid występujący w owocach pieprzu (*Piper nigrum* L. i *Piper longum* L.), odpowiadający za ostry smak przyprawy. Obecnie pieprz to jedna z najpopularniejszych przypraw używana na całym świecie, natomiast w ludowej medycynie Azji był to znany surowiec o właściwościach przeciwlękowych, uspokajających czy nasennych. Obecnie piperyna uznawana jest za biologicznie czynny, prozdrowotny związek, wykazujący szeroki zakres właściwości, głównie antyoksydacyjnych, przeciwnowotworowych, przeciwzapalnych, immunomodulujących, a także zmieniających biodostępność ksenobiotyków. Istnieje wiele badań, przeprowadzonych zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo* na modelach zwierzęcych, wskazujących na potencjał klinicznego zastosowania piperyny. Celem pracy był przegląd piśmiennictwa, dotyczącego biologicznego działania piperyny, które mogłoby mieć zastosowanie w leczeniu czy prewencji różnych jednostek chorobowych.

Słowa kluczowe: piperyna, właściwości antyoksydacyjne, właściwości przeciwzapalne, właściwości przeciwnowotworowe, biodostępność, pieprz

Piperine is an alkaloid found in the fruits of peppers (*Piper nigrum* L. and *Piper longum* L.), responsible for their spicy flavour. Currently, pepper is one of the most popular spices used worldwide, while in Asian folk medicine it has long been known as a raw material with anti-anxiety, sedative or soporific properties. Currently, piperine is recognized as a biologically active, health-promoting compound with a broad range of properties, mainly antioxidant, anti-cancer, anti-inflammatory, immunomodulatory, and also changing the bioavailability of xenobiotics. There have been many studies conducted both *in vitro* and *in vivo* on animal models that indicate the potential for clinical use of piperine. The purpose of this work was to review the literature regarding the biological action of piperine, which could be used in the treatment or prevention of various disease entities.

Key words: piperine, antioxidant properties, anti-inflammatory properties, anticancer properties, bioavailability, pepper

© Probl Hig Epidemiol 2018, 99(3): 225-237

www.phie.pl

Nadesłano: 14.06.2018

Zakwalifikowano do druku: 10.07.2018

Adres do korespondencji / Address for correspondence

dr n. o zdr. Dorota Różańska
Zakład Dietetyki, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich
ul. Parkowa 34, 51-616 Wrocław
tel. 71 337 23 96, e-mail: dorota.rozanska@umed.wroc.pl

Wprowadzenie

Owoce pieprzu czarnego (*Piper nigrum*), to jedna z najpopularniejszych przypraw używanych na całym świecie, zwana 'królową przypraw' [1]. Obecnie głównym zastosowaniem owoców *P. nigrum* jest przyprawianie potraw, natomiast w azjatyckiej medycynie ludowej, był to znany surowiec o właściwościach przeciwzapalnych, przeciwgorączkowych [1, 2], nasennych, przeciwlękowych [3] oraz używany w leczeniu epilepsji [3, 4] czy zatruciach jadem węża [1].

Piperyna, to alkaloid obecny w owocach *Piper nigrum* L. i *Piper longum* L. [5, 6], prawie w całości odpowiadający za charakterystyczny, ostry smak pieprzu [7]. Obecnie piperyna uznawana jest za biologicznie czynny, prozdrowotny związek o wielokierunkowym działaniu, głównie antyoksydacyjnym, przeciwnowotworowym, przeciwzapalnym, immunomodulującym, a także zmieniającym biodostępność leków [5, 6].

Zawartość piperyny w ziarnach pieprzu wynosi od ok. 3 do 8 g/100 g [5, 8]. Inne rośliny, w których stwierdzono obecność piperyny, to liście *Rhododendron fauriei* i *Vicoaindica* (*Asteraceae*), nasiona *Anethumsowa* (*Apiaceae*) i *Fructus piperis* Longi oraz kora *Careya arborea* [6].

Piperyna została po raz pierwszy wyizolowana w 1819 r. przez Duńskiego chemika Hansa Christiana Orsted [1, 7]. Kolejne badania nad właściwościami piperyny miały miejsce dopiero po II wojnie światowej [1], które rozwijane i pogłębiane są do chwili obecnej. Z powodu zaobserwowanych właściwości biologicznych roślin z rodzaju *Piper*, obecnie badane są ich potencjalne zastosowania w medycynie, jako związki biologicznie czynne [2].

Celem pracy jest przegląd dotychczasowego, najnowszego piśmiennictwa dotyczącego biologicznego działania piperyny oraz możliwości jej skutecznego

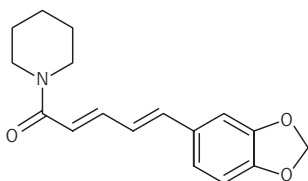
zastosowania w prewencji i leczeniu różnych jednostek chorobowych.

Właściwości, budowa i synteza piperyny

Piperyna (ryc. 1) jest naturalnym alkaloidem, wtórnym metabolitem roślinnym, pochodną piperyny. Jest to żółta, krystaliczna substancja nierozpuszczalna w wodzie, o temperaturze topnienia 128-130°C i ogólnym wzorze chemicznym $C_{17}H_{19}NO_3$ (IUPAC: 1- (5- [1,3-benzodioksol-5-yl]-1-okso-2,4-pentadienylo)). Związek ten posiada cztery formy izomeryczne: piperynę (izomer trans-trans), izopiperynę (izomer cis-trans), chawicynę (izomer cis-cis) oraz izochawicynę (izomer trans-cis) [7]. Masa cząsteczkowa związku wynosi 285,34 D [6]. Piperyna, to bardzo słaba zasada, która rozkłada się pod wpływem kwasowej i zasadowej hydrolizy [7]. Najprawdopodobniej synteza piperydyny rozpoczyna się od dekarboksylacji L-lizyny i powstania kadaweryny (w obecności fosforanu pirydoksalu), która następnie ulega deaminacji i utlenieniu do aminoaldehydu przez oksydazę diaminy. Powstały aminoaldehyd w wyniku reakcji cyklizacji zostaje przemieniony do iminy, Δ^1 -piperydyny, a następnie ulega redukcji do piperydyny [6, 9]. Natomiast w drugim etapie syntezy, w wyniku reakcji piperydyny z piperolo-CoA (którego prekursor powstaje w szlaku kwasu szikimowego [9]) powstaje piperyna [6]. Czystą piperynę można otrzymać poprzez różne metody ekstrakcji z oleożywic z owoców *P. nigrum* lub *P. longum* oraz na drodze chemicznej syntezy, m.in. w wyniku reakcji piperynianu metylu z piperydyną w obecności metanolanu sodu i metanolu [6].

Właściwości antyoksydacyjne piperyny

Reaktywne formy tlenu RFT (*reactive oxygen species* – ROS) powstają w organizmie, jako produkty uboczne prawidłowych procesów metabolicznych związanych z aerobowym metabolizmem. W normalnych warunkach ok. 1-5% tlenu przekształcana jest w RFT. W fizjologicznych stężeniach odgrywają one ważną rolę, jako cząsteczki sygnalizacyjne oraz uczestniczą w ochronie organizmów przed drobnoustrojami. Zaburzenia równowagi pomiędzy powstawaniem RFT a wydajnością systemów antyoksydacyjnych są przyczyną stresu oksydacyjnego, który może prowadzić



Ryc. 1. Piperyna [1]

Fig. 1. Piperine [1]

do trwałych zmian, m.in. w strukturze DNA i białek. Mechanizmy obronne chroniące przed stresem oksydacyjnym, to m.in. białka wiążące jony metali przejściowych, egzo- i endogenne niskocząsteczkowe antyoksydanty oraz enzymatyczne systemy antyoksydacyjne np. katalaza (CAT), dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), peroksydaza glutationowa (GPx) czy transferaza glutationowa (GST) [10]. Spośród składników diety wykazujących właściwości antyoksydacyjne, szczególnie odpowiednie do zastosowania klinicznego wydają się być związki drobnocząsteczkowe [11].

Wśród eksperymentów analizujących właściwości antyoksydacyjne piperyny oraz pieprzu, szczególnie interesujące są efekty uzyskane w badaniu w warunkach *in vivo*, w którym parametry stresu oksydacyjnego oraz ochrony antyoksydacyjnej oceniane były u szczurów, które otrzymywały dietę wysokotłuszczową. Doustna podaż pieprzu w dawce 250 i 500 mg/kg masy ciała (m.c.) oraz piperyny w dawce 20 mg/kg m.c. spowodowała odwrócenie zmian wynikających z diety wysokotłuszczowej, do wartości zbliżonych uzyskanych w grupach kontrolnych (otrzymujących normalną dietę), tj. spadek stężenia substancji reagującej z kwasem tiobarbiturowym (*Thiobarbituric acid reactive substances* – TBARS) i dienów, wzrost stężenia glutationu (GSH) i wzrost aktywności SOD, CAT, GPx oraz GST we wszystkich badanych tkankach zwierząt, tj. wątrobie, sercu, nerkach, jelicie i aorcie [11].

Innym badaniem *in vivo*, oceniających antyoksydacyjne właściwości piperyny był eksperyment, w którym stres oksydacyjny wywoływany był u szczurów przy pomocy cypermetryny, a markery stresu oksydacyjnego oceniane były w mózgach zwierząt, po 28 dniach jednoczesnej, doustnej podaży piperyny (50 mg/kg m.c.) i cypermetryny (25 mg/kg m.c.). Cypermetryna, to popularny insektycyd, używany także do ochrony środków spożywczych, którego jednym z mechanizmów działania jest indukcja RFT oraz stresu oksydacyjnego. Podaż piperyny okazała się odwracać zmiany wywołane podażą cypermetryny, powodując obniżenie stężenia produktów utleniania lipidów (LPO) i aktywności SOD oraz wzrost aktywności CAT i GPx, a także wzrost stężenia GSH [12].

Z kolei w badaniu przeprowadzonym na szczurach, u których nadciśnienie zostało indukowane L-NAME (40 mg/kg m.c.) wykazano, że podaż piperyny (50 mg/kg m.c.) znosi hipertensyjne działanie L-NAME (inhibitor syntazy tlenu azotu). Zwiększona ilość reaktywnych form tlenu w organizmie, które w wyniku interakcji z NO zmniejszają jego biodostępność, może prowadzić do rozwoju nadciśnienia. Podaż piperyny chorym zwierzętom okazała się odwracać spadek stężenia NO (w osoczu i aorcie) i obniżyć ciśnienie, natomiast podaż piperyny zdrowym zwie-

rzętom, nie spowodowała u nich zmiany stężenia NO ani ciśnienia. Piperyna okazała się również obniżać stężenie produktów peroksydacji lipidów TBARS i LOOH (wodoronadtlenek lipidowy) w wątrobie, sercu i osoczu, a także odwracać zmiany indukowane L-NAME, tj. zwiększać aktywność enzymatycznych antyoksydantów (SOD, CAT i GPx) w erytrocytach, wątrobie i sercu oraz zwiększać stężenie nieenzymatycznych antyoksydantów (GSH, wit. A i E) w surowicy, wątrobie oraz sercu chorych zwierząt [13].

Piperyna, oprócz właściwości antyoksydacyjnych, posiada także synergistyczne, antyoksydacyjne działanie z rutyną. Testy przeprowadzone *in vitro* (metodą Robaka i Gryglewskiego) wykazały, iż piperyna posiada aktywność wychwytywania rodników ponadtlenkowych, a w skojarzeniu z rutyną wykazuje efekt synergistyczny. Ponadto, skojarzenie rutyny i piperyny wykazuje identyczny, jak kwas askorbinowy efekt neutralizacji tlenu azotu [14].

Przeciwzapalne właściwości piperyny

W wyniku ekspozycji ukrwionych tkanek na takie czynniki, jak patogeny czy uszkodzenia, dochodzi do uwalniania biologicznie czynnych cząsteczek oraz migracji komórek, czyli procesu zapalenia. Cząsteczki biorące udział w rozwoju stanu zapalnego, to m.in. prostaglandyny, leukotrieny, bradykininy, histamina, czynnik aktywujący płytki krwi czy interleukina-1 (IL-1). Typowe objawy stanu zapalnego, to miejscowe ocieplenie, zaczerwienienie, obrzęk oraz ból podrażnionego miejsca. Jednymi z właściwości farmakologicznych pieprzu wykorzystywanymi w medycynie ludowej było działanie przeciwbólowe, przeciwzapalne i przeciwgorączkowe [2].

Powszechnie używaną klinicznie grupą leków o właściwościach przeciwzapalnych i przeciwbólowych są niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ), których mechanizm działania polega na hamowaniu enzymów cyklooksigenazy-1 (COX-1) i cyklooksigenazy-2 (COX-2), uczestniczących w przemianie kwasu arachidonowego do prostaglandyn. Z powodu efektów ubocznych NLPZ, nasuwa się konieczność ciągłego poszukiwania nowych skutecznych substancji, również pochodzenia roślinnego, wykazujących działanie przeciwbólowe i przeciwzapalne [2]. Od czasu otrzymania pierwszej syntetycznej aspiryny prowadzone są szerokie poszukiwania i badania nad nowymi lekami przeciwzapalnymi, szczególnie wybiórczo hamującymi COX-2. W miarę coraz lepszego poznawania mechanizmu działania NLPZ, badane są również nowe związki pod kątem ich wielokierunkowego działania także na inne elementy mające udział w procesie zapalnym, m.in. ich wpływ na tworzenie takich cytokin prozapalnych jak: czynnik martwicy nowotworu (*tumor necrosis factor* – TNF- α), IL-1 β , IL-6 czy IL-8 [15].

W jednym z badań *in vivo*, potwierdzono potencjał przeciwbólowy i przeciwzapalny piperyny, poprzez jej doustną podaż. Eksperyment przeprowadzono na szczurzym modelu, gdzie przeciwbólowe właściwości piperyny (w dawkach 5, 10 i 15 mg/kg m.c.), a także jej etanolowe i heksanowe roztwory, porównywane były do Diklofenaku, popularnego NLPZ. Uzyskane wyniki badań wskazują, że w zależności od stosowanego testu oceniającego przeciwbólowe działanie piperyny, wykazuje ona pewne przeciwbólowe działanie, jednak jest ono słabsze niż działanie Diklofenaku. Właściwości przeciwzapalne oceniane były natomiast poprzez pomiar opuchlizny indukowanej przez podskórne wstrzyknięcie karagenu w tylną kończynę zwierzęcia, gdzie godzinę przed wywołaniem stanu zapalnego podawana była piperyna lub Diklofenak. Pomiar objętości kończyn 30, 60 i 120 min po wywołaniu opuchlizny wykazał przeciwzapalne działanie piperyny, osiągające największy efekt terapeutyczny po 120 min w dawce 15 mg/kg m.c. oraz po 60 min dawce 10 mg/kg m.c. dla heksanowego i etanolowego roztworu. We wszystkich przypadkach było ono jednak mniejsze niż działanie Diklofenaku [2].

Również w innym badaniu przeprowadzonym *in vivo* na szczurzym modelu, w którym zapalenie stawów u zwierząt indukowane było karagenem, wykazano przeciwbólowe oraz przeciwzapalne właściwości piperyny. Doustna podaż piperyny (100 mg/kg m.c.) wykazała działanie przeciwbólowe (mierzone za pomocą nacisku na łapę, test Randall-Sellitto) silniejsze niż NLPZ – Celekoksytu (100 mg/kg m.c.), a także przeciwzapalne wykazane m.in. w badaniu histopatologicznym stawów zwierząt [16]. Także inne badanie oceniające właściwości przeciwzapalne piperyny (doustnie, w dawkach 2,5; 5 i 10 mg/kg m.c.) na szczurzym modelu, poprzez pomiar opuchlizny indukowanej karagenem, wykazało zmniejszenie opuchlizny o 43,8 i 54,8%, odpowiednio przy podaży 5 i 10 mg piperyny/kg m.c. Ponadto, oceniono także stężenie PGE-2 w płynie wysiękowym z opuchlizny i zaobserwowano zależne od dawki podanej piperyny zmniejszenie stężenia PGE-2, świadczące o jej przeciwzapalnym działaniu [17]. Natomiast eksperyment oceniający właściwości przeciwbólowe piperyny (doustne podanie w dawkach 2,5; 5 i 10 mg/kg m.c.) na mysim modelu przy pomocy testu gorącej płytki, nie wykazał jej istotnych statystycznie właściwości przeciwbólowych [17].

Spośród wielu schorzeń, w których patogenezę zaangażowany jest stan zapalny, jest nefropatia cukrzycowa. W jednym z badań modelowych nefropatia cukrzycowa u szczurów indukowana była streptozotocyną (50 mg/kg m.c.). Analiza homogenatów nerek chorych zwierząt leczonych piperyną (w dawce 30 mg/kg m.c.) wykazała spadek stężenia cząsteczek

prozapalnych TNF- α i IL-1 β odpowiednio o 34 i 30% oraz spadek stężenia aktywnego NF- κ B (*nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*). W badaniu oceniana była także ekspresja TXNIP i NLRP3, ważnych cząsteczek najprawdopodobniej biorących udział w rozwoju nefropatii cukrzycowej. Ich poziom mRNA w grupie leczonej piperyną, obniżył się o 31 i 29%, co według autorów może składać się na przeciwwzapalny mechanizm działania piperyny. Inne nefroprotektoryjne efekty leczenia piperyną wykazane w badaniu, to m.in. spadek stężenia glukozy we krwi o 47%, spadek wydalania białka o 34%, wzrost klirensu kreatyniny czy spadek stężenia dialdehydu malonowego (MDA) i wzrost poziomu SOD w tkankach nerek [18].

Innym schorzeniem, w którym oceniane były przeciwwzapalne właściwości piperyny było zapalenie macicy u myszy, zainfekowanych *Staphylococcus aureus*. Dootrzewnowe podanie piperyny w dawce 25, 50 i 100 mg/kg m.c. chorym myszom, spowodowało zależny od dawki spadek stężenia prozapalnych cytokin i ekspresji ich mRNA, tj.: TNF- α , IL-1 β , IL-6 oraz wzrost stężenia przeciwwzapalnej IL-10 w pobranych tkankach, a także złagodzenie zmian morfologicznych widocznych w badaniu histopatologicznym. W odpowiedzi zapalną indukowaną *S. aureus*, zaangażowane są m.in. receptory TLR-2 i TLR-4, mogące aktywować NF- κ B oraz kinazy MAPK, które zaangażowane są w dalszą indukcję procesu zapalnego. W badanym modelu wykazano również zależny od dawki spadek aktywacji tych cząsteczek, z czego mogą wynikać zaobserwowane przeciwwzapalne właściwości piperyny [19].

Także badania prowadzone *in vitro*, wskazują na przeciwwzapalne działanie piperyny. Eksperyment przeprowadzony na mysich makrofagach RAW 264.7, gdzie odpowiedź immunologiczna komórek indukowana była przy użyciu PMA (13-octan,12-mirystynianu forbolu) wykazała, że inkubacja makrofagów z piperyną (w stężeniach 10, 50 i 100 μ M) 30 min przed podaniem PMA spowodowała spadek ekspresji COX-2, a także spadek stężenia PGE-2 w sposób zależny od dawki. W eksperymencie oceniane były także molekularne mechanizmy obniżenia ekspresji COX-2 przez piperynę, poprzez badanie zmian stężeń czynników transkrypcyjnych COX-2, tj. NF- κ B, C/EBP i AP-1 oraz cząsteczek uczestniczących w sygnalizacji ekspresji genu COX-2. Według badaczy wpływ piperyny na obniżenie syntezy COX-2, wynikał z obniżenia aktywacji kinaz Akt i ERK oraz inhibicji takich czynników, jak NF- κ B, C/EBP i AP-1 [20].

Przeciwwzapalny wpływ piperyny na makrofagi RAW 264.7 oraz wpływ piperyny na aktywność NF- κ B, wykazany został także na innym modelu, w którym odpowiedź immunologiczna mysich makro-

fagów indukowana była lipopolisacharydem (LPS). Dwugodzinna preinkubacja komórek z piperyną (10-100 μ g/ml) przed podaniem LPS, spowodowała zależny od stężenia piperyny spadek stężenia TNF- α , NO i PGE-2, a także spadek ekspresji genów TNF- α , NOS oraz COX-2, co wynikało z inhibicji ich czynnika transkrypcyjnego NF- κ B. W cytozolu NF- κ B występuje w nieaktywnej postaci z powodu związania z inhibitorem I κ B, natomiast do aktywacji i przemieszczenia aktywnego NF- κ B do jądra, dochodzi w wyniku fosforylacji i degradacji inhibitora I κ B. Według autorów w badanym modelu, przeciwwzapalny mechanizm piperyny powodujący zmniejszenie aktywacji czynnika transkrypcyjnego NF- κ B, wynikał z inhibicji degradacji i fosforylacji inhibitora I κ B przez piperynę, co potwierdza zaobserwowany spadek ufosforylowanego białka I κ B oraz spadek aktywnej podjednostki NF- κ B (p65) w jądrach komórkowych makrofagów [21].

Innymi komórkami, na których badany był wpływ piperyny na odpowiedź immunologiczną indukowaną LPS, były mysie komórki mikrogleju BV2. Godzinna preinkubacja komórek mikrogleju z piperyną (25, 50 i 100 μ g/ml) przed ekspozycją LPS, spowodowała spadek stężenia PGE-2, TNF- α , IL-6 i IL-1 β , a także zmniejszenie aktywacji NF- κ B w sposób zależny od dawki. Według autorów badania mechanizm przeciwwzapalnego działania piperyny związany jest z czynnikiem transkrypcyjnym Nrf2, cząsteczką odgrywającą ważną rolę w obronie antyoksydacyjnej komórki. W badaniu wykazano, że inaktywacja Nrf2 poprzez transfekcję siRNA, spowodowała zniesienie przeciwwzapalnych właściwości piperyny, co świadczy o udziale czynnika transkrypcyjnego Nrf2 w mechanizmie przeciwwzapalnym piperyny w badanym modelu [22].

Również badania *in vitro* przeprowadzone na ludzkich komórkach potwierdzają przeciwwzapalne właściwości piperyny. Inkubacja ludzkich synowocytów z piperyną (10, 50 i 100 μ g/ml) pobranych od pacjentów chorych na reumatoidalne zapalenie stawów (RZS), 30 min przed stymulacją komórek IL-1 β , spowodowała spadek stężenia IL-6 i PGE-2 oraz mRNA IL-6 i COX-2. Ponadto inkubacja z piperyną spowodowała także spadek stężenia mRNA kolagenazy MMP13, odgrywającej znaczącą rolę w degradacji macierzy zewnątrzkomórkowej. W celu oceny molekularnego mechanizmu przeciwwzapalnego działania piperyny zbadano również stężenie kinaz I κ B i MAPK, co wykluczyło wpływ piperyny na aktywność NF- κ B, natomiast wykazało nieznaczny wpływ na inhibicję fosforylacji ERK 1/2 oraz inhibicję aktywacji czynnika transkrypcyjnego AP-1 [16]. Podobny eksperyment został także przeprowadzony na chondrocytach pobranych od pacjentów chorych na zwyrodnieniowe zapalenie stawów (ZZS). Preinkubacja komórek z piperyną (10, 50 i 100 μ g/ml), a następnie ich

stymulacja z IL-1 β , spowodowała obniżenie stężenia NO i PGE-2, co wynikało z obniżenia stężenia NOS, COX-2 oraz spadku ekspresji ich genów. Inkubacja komórek z piperyną okazała się mieć wpływ na kluczowe kolagenazy (MMP-3 i MMP-13) biorące udział w degradacji chrząstki, powodując spadek ich stężenia i ekspresji mRNA. Ponadto wykazano, że piperyna wywiera wpływ na spadek fosforylacji i degradacji inhibitora I κ B- α , w podobnym stopniu, jak MG132 (znany inhibitor NF- κ B), co świadczy o dużym potencjale piperyny, jako cząsteczki wpływającej na odpowiedź zapalną ludzkich chondrocytów stymulowanych IL-1 β poprzez wpływ na inhibicje aktywacji NF- κ B [23].

Właściwości przeciwnowotworowe

Komórki nowotworowe, mimo iż zachowują pewne cechy komórek z których się wywodzą, w wyniku kumulacji w materiale genetycznym wielu błędów, tracą zdolność do prawidłowej regulacji proliferacji, co skutkuje powstaniem guza i tworzeniem przerzutów. Główne cechy odróżniające komórki nowotworowe od komórek zdrowych, to m.in. niezależność od zewnętrznych sygnałów, niewrażliwość na inhibitory wzrostu czy ucieczka od apoptozy (zaprogramowanej śmierci komórki) [10]. W jednym z badań oceniono cytotoksyczność i właściwości antymitotyczne piperyny na różnorodnym materiale biologicznym, na podstawie inkubacji jaj krewetki solankowej i jeżowca, mysich erytrocytów oraz czterech różnych linii ludzkich nowotworów (2 linie białaczkowe, rak okrężnicy i skóry) z piperyną. W wyniku inkubacji zaobserwowano zróżnicowany wpływ antymitotyczny i cytotoksyczny na wszystkie badane komórki z wyjątkiem mysich erytrocytów, co wskazuje, że mechanizm działania piperyny nie był związany z wpływem na właściwości błony komórkowej, lecz był odmienny, ponieważ inkubacja erytrocytów nie spowodowała ich hemolizy [24].

Wśród eksperymentów badających właściwości przeciwnowotworowe piperyny, szczególnie interesujące są efekty uzyskane w warunkach *in vivo*, na modelach zwierzęcych. W jednym z badań wpływ doustnej podaży piperyny (50 mg/kg m.c.) na proces nowotworowy, oceniany był u myszy (u których rak płuc indukowany był benzo(a)pirenem) przez pomiar produktów peroksydacji lipidów i aktywność błonowych ATPaz, Na/K, Ca i Mg-zależnych w różnych tkankach zwierząt. Podaż piperyny chorym zwierzętom, okazała się odwracać zmiany aktywności badanych enzymów i zmniejszać stężenie produktów peroksydacji, do wartości zbliżonych, jak u zdrowych zwierząt, co wskazuje na pozytywne, prewencyjne działanie piperyny. Co więcej, wyniki uzyskane w eksperymencie świadczą o braku toksyczności piperyny względem zdrowych zwierząt [25]. Przeprowadzo-

no również badania z indukowanym przez DMBA (7,12-Dimetylobenz(a)antracen) nowotworem płaskonabłonkowym skóry u myszy. Wpływ podaży piperyny (50 mg/kg m.c.) na tydzień przed ekspozycją na kancerogen oraz przez kolejne 25 tygodni (w tej samej dawce trzy razy na tydzień), oceniany był poprzez badanie histopatologiczne, a także pomiar (w różnych tkankach zwierząt) aktywności TBARS, enzymów antyoksydacyjnych SOD, CAT, GSH, GPx oraz I i II fazy detoksykacji. Zaobserwowano, że doustna podaż piperyny wykazywała właściwości chemoprewencyjne, tj. zredukowała wielkość lub opóźniła pojawienie się guza, obniżyła stężenie TBARS, zwiększała aktywność enzymów antyoksydacyjnych i II fazy detoksykacji oraz obniżyła aktywność enzymów I fazy detoksykacji. Co ciekawe, aktywność badanych enzymów nie zmieniła się u zwierząt zdrowych, którym była podawana piperyna, co według badaczy może świadczyć o braku właściwości antyoksydacyjnych piperyny u zdrowych zwierząt [26].

W najnowszym światowym piśmiennictwie, wiele jest również doniesień o antynowotworowym wpływie piperyny na ludzkie linie nowotworowe. Z dotychczas przeprowadzonych badań, szczególnie interesujące są dane dotyczące wpływu piperyny na raka prostaty, jednego z najczęstszych nowotworów złośliwych wśród mężczyzn [27]. Jak wynika z doświadczeń przeprowadzonych na trzech liniach komórkowych ludzkiego raka prostaty (androgenozależnej LNCaP i dwóch liniach androgenoniezależnych DU145 i PC-3), piperyna wykazuje antyproliferacyjne działanie zależne od dawki (40-320 μ M), z czego najbardziej wrażliwa na piperynę była linia androgenozależna. Cykl komórkowy jest ściśle regulowany m.in. przez cykliny i kinazy cyklinozależne (CKD) oraz ich inhibitory (p21 i p27), które regulują przejście komórek z fazy G0/G1 do fazy S. Autorzy badania sugerują, że antyproliferacyjny wpływ piperyny na komórki spowodowany zatrzymaniem wzrostu komórek nowotworowych w G0/G1 fazie cyklu komórkowego, wynika prawdopodobnie z jej wpływu na wzrost ekspresji p21 i p27 (oprócz linii PC-3) oraz obniżenie ekspresji cykliny D1 i A. Zaobserwowano również, iż piperyna wykazuje słaby efekt apoptotyczny, ale wykazano jej wpływ na autofagocytozę w dwóch liniach LNCaP, jak i PC-3. Ponadto zaobserwowano, iż inkubacja linii androgenozależnej LNCaP z piperyną, powoduje zależny od dawki spadek ekspresji receptorów androgenowych [28]. Wpływ piperyny na komórki raka prostaty został wykazany także w innym eksperymencie, gdzie oprócz badań *in vitro*, testowany był wpływ podawania piperyny myszom z wszczepionymi podskórnymi komórkami raka prostaty. Zaobserwowano, iż dootrzewnowa podaż piperyny gryzoniom (100 mg/kg m.c. przez miesiąc) spowodowała zmniejszenie masy i objętości

guza, zarówno w przypadku androgenozależnej (LNCaP), jak i androgenoniezależnej linii komórkowej (PU-145), zmniejszając wzrost odpowiednio o 72 i 41%. W tym samym badaniu, oceniany był również wpływ piperyny w warunkach *in vitro* na cztery linie komórkowe: androgenozależną LNCaP i androgenoniezależne: DU-145, 22RV1 i PC-3. Inkubacja linii komórkowych z piperyną (5-200 μM) wykazała jej antyproliferacyjne, zależne od dawki działanie względem wszystkich linii, z których najczulszą, tak jak w poprzednim badaniu, okazała się linia androgenozależna. Pozostałe rezultaty inkubacji piperyny z badanymi liniami komórkowymi, które najprawdopodobniej mogą skutkować jej właściwościami przeciwnowotworowymi, to: zmniejszenie wydzielania PSA przez linię androgenozależną LNCaP, indukcja apoptozy przez aktywację kaspazy w liniach LNCaP i PC-3, wzrost ekspresji kaspazy-3 i PARP-1 w liniach LNCaP, DU-145 i PC-3, zmniejszenie ekspresji NF- κB i fosforylacji STAT-3 w liniach LNCaP, DU-145 i PC-3, zmniejszenie ekspresji receptorów androgenowych w linii LNCaP oraz zmniejszenie migracji komórek w liniach LNCaP i PC-3 [27]. Innymi komórkami, dla których mechanizm antyproliferacyjny wynikał również z zatrzymania komórek w fazie G0/G1 były mysie limfocyty B. Działanie antyproliferacyjne piperyny (25, 50 i 100 μM) badane było na dwóch grupach komórek (jedna aktywowana była na drodze limfocyto T-niezależnej, a druga na drodze limfocyto T-zależnej). W obu grupach piperyna spowodowała zahamowanie proliferacji komórek zależne od dawki z tym, że w grupie komórek aktywowanej na drodze limfocytozależnej efekt był silniejszy. Co ciekawe, po usunięciu piperyny ze środowiska medium, proliferacja komórek została wznowiona, co świadczy o braku toksyczności piperyny na limfocyty B. W celu wykluczenia antyproliferacyjnego wpływu piperyny na limfocyty B, który mógłby wynikać z obecności receptora TRPV1 (znany receptor dla piperyny), badanie to było przeprowadzone również na limfocytach B pozbawionych receptora TRPV1. Także w przypadku linii bez receptorów TRPV1, wpływ piperyny okazał się być antyproliferacyjny, co wskazuje na mechanizm niezwiązany z receptorami TRPV1. Natomiast analiza cyklu komórkowego badanych limfocytów, również wykazała wzrost odsetka komórek w fazie G0/M1 i odpowiednio spadek odsetka komórek w fazie S i G2/M. Dodatkowo badano także poziom ekspresji cyklin D2 i D3 (ich obecność jest niezbędna do przejścia w kolejne fazy cyklu komórkowego z fazy G0/M), który okazał się obniżony w grupie limfocytów inkubowanych z piperyną, co najprawdopodobniej tłumaczy antyproliferacyjny mechanizm działania piperyny na badane limfocyty. Ponadto inkubacja komórek z piperyną spowodowała spadek ekspresji na ich powierzchni

MHC II, CD40 i CD80 oraz spadek produkcji IL-6, IL-10, IgG2, IgG3 oraz IgM, co świadczy także o zahamowaniu przez piperynę niektórych efektorowych funkcji limfocytów [29].

Kolejnymi liniami komórkowymi, na których badany był wpływ piperyny na komórki w warunkach *in vitro*, były ludzkie linie gruczolakoraka okrężnicy HRT-18. Inkubacja komórek z piperyną spowodowała zależne od dawki (25-150 μM) i czasu, zmniejszenie aktywności metabolicznej komórek, spadek liczby podziałów komórkowych do 3 (w stosunku do grupy kontrolnej, gdzie liczba podziałów wynosiła 5), a także niewielki wzrost odsetka komórek w fazie G0/G1 i spadek odsetka komórek w fazie G2/M oraz indukcję apoptozy prawdopodobnie poprzez wzrost poziomu RFT [30]. Najprawdopodobniej o prooksydacyjnym mechanizmie przeciwnowotworowego działania piperyny świadczą także wyniki badań przeprowadzonych *in vitro* na ludzkiej linii raka wątrobowokomórkowego Hep G2 oraz *in vivo*, na szczurach z indukowanym przy pomocy DEN (dietylenotriamina) rakiem wątroby. W badaniu *in vitro* wykazano, iż piperyna (5-100 μM) wpływała zależnie od dawki, antyproliferacyjnie na komórki Hep G2, a ponadto powodowała wzrost stężenia RFT poprzez spadek aktywności katalazy (oraz spadek stężenia tego białka), wzrost przepuszczalności błony mitochondrialnej oraz wzrost stężenia kaspazy 3 i 9, co prawdopodobnie skutkowało indukcją apoptozy. Ponadto, w badaniu wykazano również brak toksyczności piperyny względem zdrowych komórek wątroby. Również terapia poprzez doustną podaż piperyny szczurom (5 mg/kg m.c.), spowodowała korzystne efekty. W preparatach histopatologicznych wątroby chorych zwierząt leczonych piperyną zaobserwowano cofanie się zmian patologicznych oraz indukcję apoptozy, zaś barwienie immunochemiczne wykazało zmniejszenie ekspresji biomarkera Ki67, co dowodzi o korzystniejszym rokowaniu dla zwierząt leczonych piperyną. Natomiast wyniki badań biochemicznych z surowicy szczurów (AST, ALT, ALP) również dowiodły, iż piperyna nie wykazuje działania hepatotoksycznego u zdrowych zwierząt [31]. Ludzką linią komórkową, na której udowodniono przeciwnowotworowe właściwości piperyny, również z wpływem na blokadę cyklu komórkowego, lecz w fazie G2/M, jest rak płaskonabłonkowy jamy ustnej KB. Ponadto, inkubacja komórek z piperyną (25-300 μM) spowodowała obniżenie żywotności komórek, wzrost produkcji RFT, depolaryzację błony mitochondrialnej, kondensację materiału genetycznego oraz wzrost aktywności kaspazy-3, co prawdopodobnie świadczy o wielokierunkowym działaniu piperyny na badaną linię komórkową [8].

Właściwości zwiększania biodostępności ksenobiotyków

Badaniem przedstawiającym farmakokinetykę piperyny po doustnym podaniu, jest model zwierzęcy, w którym po podaży piperyny szczurom (175 mg/kg m.c.) jej stężenie oceniane było w różnych tkankach po 1, 3, 6, 24, 48, 96 i 192 godz. od podania, a także w moczu i kale, codziennie przez 8 dni po podaniu, przy pomocy wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Z eksperymentu wynika, że absorpcja piperyny wynosiła ok. 96%, gdyż 3,64% piperyny zostało wydalone z kałem (z maksymalnym wydalaniem w dniu przyjęcia związku), zaś w żadnym dniu badania nie była ona obecna w moczu. We wszystkich przebadanych tkankach zwierząt, tj. surowicy, krwi pełnej, wątrobie, nerkach i jelicie, piperyna osiągała maksymalne stężenie po 6 godz., a czas półtrwania wynosił 18,24 godz. Największe stężenie piperyny w surowicy występowało w 1, 3 i 6 godzinie, wynosząc odpowiednio: $6,07 \pm 0,82$; $9,75 \pm 1,07$; $11,06 \pm 0,80$ $\mu\text{g/ml}$, drastycznie spadając w 24 godzinie, zaś całkowity brak piperyny we krwi odnotowano w 192 godzinie od podania związku [32]. Natomiast metabolizm piperyny u szczurów po jej doustnym podaniu (175 mg/kg m.c.) obrazuje inny eksperyment. Metabolity piperyny identyfikowane były w osoczu, kale, moczu i żółci za pomocą ultra-wysokosprawnej chromatografii cieczowej (UHPLC) oraz tandemowej spektrometrii mas (QTOF-MS). Wykazano, że piperyna metabolizowana jest u szczurów do 12 różnych związków obecnych w osoczu, żółci, moczu i kale, z których większość wydalana jest z moczem lub moczem i kałem (tylko dwa spośród związków nie były wydalane wraz z moczem). Według schematu metabolizmu piperyny zaproponowanego przez badaczy, główne przemiany, jakim ulega ona u szczurów to redukcja i demetylacja pierścienia metylenodioksycyklicznego. Wszystkie zidentyfikowane w badaniu metabolity piperyny można podzielić na trzy grupy: metabolity z otwartym pierścieniem metylenodioksycyklicznym (8 związków), metabolity z utlenionym pierścieniem metylenodioksycyklicznym (3 związki) oraz jeden metabolit z rozszczepionym pierścieniem pirydynowym, z czego główne metabolity w postaci których piperyna była wydalana to 3 związki z otwartym pierścieniem metylenodioksycyklicznym. Ponadto spośród wszystkich metabolitów piperyny, 4 sprzęgane były z kwasami, z kwasem glukuronowym (2 związki) i siarkowym (2 związki) [33].

Substancjami pochodzenia naturalnego, których biodostępność może być zwiększana przez piperynę, to polifenole. Skojarzenie 3-galusanu epigallokatechiny (EGCG) z piperyną, zwiększyło C_{max} (maksymalne stężenie substancji w osoczu) i AUC (pole powierzchni pod krzywą, informuje jaka ilość substancji została

wchłonięta) EGCG w surowicy myszy 1,3 razy, co według autorów prawdopodobnie wynika z zahamowania przez piperynę jelitowej glukuronidacji EGCG [34]. W innym badaniu przeprowadzonym na szczurach zaobserwowano, że doustna podaż piperyny (20 mg/kg m.c.) znacznie zwiększała biodostępność także innych związków polifenolowych (obecnych w ekstrakcie z Manneczki lękowatej, *Eleusine coracana*), powodując wzrost AUC polifenoli we krwi szczurów 1,46 razy [35]. Związkiem pochodzenia roślinnego, którego wzrost bioaktywności został potwierdzony przy użyciu piperyny jest także kwas rozmarynowy, którego doustne podanie szczurom (50 mg/kg m.c.), w skojarzeniu z różnymi dawkami piperyny (20, 40, 60 i 80 mg/kg m.c.) spowodowało wzrost AUC i C_{max} , zwiększając jego biodostępność w zależności od dawki odpowiednio o 1,24; 1,32; 2,02 i 2,26 razy. Oprócz farmakokinetyki związku, we krwi zwierząt badane były także stężenia glukuronidów kwasu rozmarynowego. Według autorów, uzyskane dane wskazują na zahamowanie sprzęgania kwasu rozmarynowego z kwasem glukuronowym w obecności piperyny co sugeruje, że piperyna wpływa na metabolizm kwasu rozmarynowego, hamując jego wątrobową i jelitową glukuronidację [36].

Jednym z mechanizmów odpowiedzialnych za zmiany biodostępności substancji w obecności piperyny może być jej hamujący wpływ na aktywność enzymów CYP. Enzymy CYP, to transbłonowe białka występujące w retikulum endoplazmatycznym oraz mitochondriach wielu tkanek, odpowiedzialne za większość reakcji I fazy metabolizmu ksenobiotyków. Zarówno substancje endo-, jak i egzogenne, wykazują zdolność inhibicji i indukcji aktywności enzymów CYP, co w rezultacie prowadzi do zmian farmakokinetycznych leków oraz staje się przedmiotem wielu problemów w farmakoterapii [37]. Tamoksyfen, to antagonist receptorów estrogenowych, wykorzystywany w leczeniu raka piersi. W eksperymencie *in vivo*, prowadzonym na szczurach, wykazano wzrost biodostępności leku, zarówno przy jednorazowym doustnym skojarzeniu Tamoksyfenu (10 mg/kg m.c.) z różnymi dawkami piperyny (10, 25 i 50 mg/kg m.c.) odpowiednio o 2,15; 2,31 i 2,39, jak i przy wcześniejszej 7-dniowej premedykacji piperyną (10 mg/kg m.c.) o 1,9 razy, co według autorów może wynikać z hamującego wpływu piperyny na CYP3A4 [38].

Z kolei w eksperymencie prowadzonym na modelu mysim, efekty podania piperyny z innym lekiem przeciwnowotworowym – Docetakselem, badane były nie tylko poprzez określenie farmakokinetyki leku i aktywności CYP3A4 w wątrobie, lecz także poprzez ocenę zmian guzów nowotworowych, uzyskanych przez wszczepienie myszom ludzkiej linii komórkowej raka prostaty PC-3. Docetaksel, to lek stosowany m.in.

w leczeniu raka prostaty o małej biodostępności, który metabolizowany jest głównie przez CYP3A4. Leczenie poprzez skojarzenie Docetakselu (12,5 mg/kg m.c.) z piperyną (100 mg/kg m.c.), spowodowało nie tylko wzrost biodostępności leku poprzez wzrost AUC o 230%, ale również zmniejszenie guzów nowotworowych u badanych myszy. Ponadto w grupie zwierząt, którym podawana była piperyna, odnotowano także spadek aktywności CYP3A4, co tłumaczy wzrost biodostępności leku i skuteczności leczenia w skojarzeniu z piperyną oraz wykazuje hamujący wpływ piperyny na aktywność CYP3A4 [39].

Bedada i wsp. przeprowadzili badanie w grupie zdrowych wolontariuszy, w którym wykazali zdolność hamowania CYP3A4 przez piperynę u ludzi. Karbamazepina, to lek psychotropowy o wąskim zakresie terapeutycznym, którego głównym metabolitem jest epoksyd karbamazepiny (CBZE). Podaż wolontariuszom piperyny (20 mg) przez 10 dni przed podaniem karbamazepiny (200 mg), spowodowała zwiększenie biodostępności leku, podnosząc C_{max} o 68,7%, AUC o 47,9% i $T_{1/2}$ (biologiczny okres półtrwania leku) o 43,2% oraz obniżając K_{el} (stała szybkości eliminacji) o 23,8% i CL/F o 38,9%. We krwi uczestników zbadane zostało także stężenie CBZE, wykazując zmniejszenie C_{max} i AUC metabolitu leku we krwi, co według badaczy świadczy o zahamowaniu CYP3A4 przez piperynę i tłumaczy wzrost biodostępności podanego leku [40].

Analogiczne badanie z wcześniejszą 10-dniową podażą piperyny przed podaniem leku, zostało przeprowadzone z Diklofenakiem. Wykazano znaczne zwiększenie biodostępności leku przez premedykację piperyną, zwiększając C_{max} o 64,3%, AUC o 66,5% i $T_{1/2}$ leku o 34,1%, równocześnie obniżając K_{el} i CL/F (klirens po doustnym podaniu) odpowiednio o 33,9 i 40,3%, co z kolei tłumaczone jest przez autorów hamowaniem przez piperynę aktywności CYP2C9 [41]. Innym NLPZ, którego biodostępność może być zmieniona przez piperynę jest Ibuprofen. Doustne podanie myszom Ibuprofenu w różnych dawkach (10, 20 i 40 mg/kg m.c.) z piperyną (10 mg/kg m.c.), spowodowało nie tylko podniesienie stężenia leku w osoczu zwierząt, ale także wzrost właściwości przeciwbólowych Ibuprofenu (wykazanych w teście formalinowym i z kwasem octowym) [42].

Obecnie jednym z powodów niepowodzeń w terapiach przeciwnowotworowych jest oporność wielolekowa (MDR) – stan, w którym komórki nowotworowe stają się odporne na działanie leków różnych strukturalnie oraz o różnym mechanizmie działania. Jedną z przyczyn MDR może być refluks leków z komórek, przez glikoproteinę P [43]. Glikoproteina P, to błonowo-cytoplazmatyczne białko transportowe, którego fizjologiczną funkcją jest m.in.

transport szkodliwych ksenobiotyków poza komórkę [44]. Rapamycyna, to antybiotyk, makrolid wykazujący właściwości antynowotworowe, niestety o małej biodostępności. W badaniu farmakokinetycznym *in vitro* na szczurach, porównano wpływ umieszczenia Rapamycyny w nanocząsteczce z PLGA (poli(D,L-laktyd-ko-glikolid)) w stosunku do podania go doustnie w postaci zawiesiny, a także skojarzenie obu postaci leku z piperyną na biodostępność leku. Wykazano, że w obu postaciach podania, piperyna nie wpłynęła na T_{max} (czas, po którym obserwujemy maksymalne stężenie leku w osoczu) leku, natomiast skojarzenie Rapamycyny z piperyną w postaci zawiesiny spowodowały blisko 3-krotne zwiększenie C_{max} leku we krwi szczurów. Ponadto w eksperymencie oprócz badania *in vivo*, wpływ piperyny na biodostępność leku (w postaci zawiesiny i nanocząsteczki) został także zbadany na modelu *in vitro*, za pomocą testu wywiniętego jelita. Zaobserwowano, że skojarzenie piperyny z Rapamycyną w formie nanokapsułki, zwiększyło prawie 5-krotnie wchłanianie leku w jelitach (w stosunku do podania leku w nanokapsułce bez piperyny), co prawdopodobnie wynika z wpływu piperyny na glikoproteinę P [43].

Innym lekiem, którego mechanizm wzrostu biodostępności, może wynikać z wpływu piperyny na glikoproteinę P jest Feksofenadyna, niesteroidowy antagonist receptoru histaminowego H1, stosowany doustnie w alergicznych nieżytach błony śluzowej nosa. W badaniach przeprowadzonych na modelu szczurzym, wpływ piperyny na biodostępność leku badany był przez doustne podanie piperyny (10 i 20 mg/kg m.c.) 30 min przed doustnym podaniem Feksofenadyny (10 mg/kg m.c.). Ponadto rozpatrzono model, w którym piperyna (20 mg/kg m.c.) została podana doustnie 30 min przed dożylnym podaniem leku (5 mg/kg m.c.). Wykazano, że podaż piperyny w próbie z Feksofenadyną podawaną doustnie, nie wpłynęła na T_{max} , C_{max} i $T_{1/2}$, zaś AUC wzrosło do 180% (dawka piperyny 10 mg/kg m.c.) i 190% (dawka piperyny 20 mg/kg m.c.). Tymczasem dożylna podaż piperyny nie wpłynęła na klirens i objętość dystrybucji leku. Według autorów może to wykluczać wpływ innych czynników na wzrost biodostępności badanego leku po doustnym podaniu i potwierdzać wpływ piperyny na glikoproteinę P, co spowodowało zahamowanie komórkowego wypływu Feksofenadyny i wzrost jej absorpcji w jelitach [45]. Do podobnych wniosków doszli również autorzy, którzy badali to zjawisko u zdrowych wolontariuszy. Wpływ piperyny na farmakokinetykę leku badany był przez wcześniejszą, 10-dniową doustną podaż piperyny (20 mg/kg m.c.), a Feksofenadyna została podana 11. dnia. Podaż piperyny spowodowała wzrost C_{max} dla badanego leku o 88%, AUC o 68% i spadek CL/F o 41%, natomiast

nie odnotowano wpływu piperyny na T_{max} , $T_{1/2}$ i CL_R (klirens nerkowy). Autorzy tłumaczą, że znaczny wzrost biodostępności leku wynikał z oddziaływania piperyny na glikoproteinę P [46].

Warto także wspomnieć o możliwości wykorzystywania piperyny do zwiększania biodostępności leków w nanotechnologii. Jedną ze zdobyczy nanotechnologii są nanorurki, węglowe wielowarstwowe struktury (MWCNTs), których połączenie z lekiem pozwala na zwiększenie jego biodostępności w żywym organizmie. W eksperymencie *in vivo* przeprowadzonym na myszach wykazano, że dodatkowe umieszczenie piperyny w strukturze nanorurki spowodowało wzrost biodostępności połączonego z nią Docetakselu, skutkując m.in. wzrostem AUC leku 2,34 razy w porównaniu do zastosowania nanorurki bez piperyny [47].

Oddziaływanie na receptory

Receptory TRPV1 nazywane także receptorami wanilinoïdowymi, to receptory występujące m.in. w obwodowym [48] oraz w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) [4], które w odpowiedzi na takie bodźce, jak niskie pH czy ciepło, wywołują wrażenie bólu [48]. Zaraz po spożyciu piperyny, błędnie uważa się, że jest ona substancją bez smaku, jednak po chwili zauważalny jest jej ostry, 'palący smak', co spowodowane jest oddziaływaniem piperyny na receptory TRPV1 [49]. Endogeni agonści TRPV1, to m.in. anandamid, N-arachidonylodopamina czy niektóre eikozanoidy, natomiast egzogeni agonści TRPV1, to związki posiadające grupę wanilinoïdową, tj. 4-hydrokso-3-metoksybenzylową czy kapsaicyna. Jednym z egzogennych agonistów TRPV1 okazała się być piperyna, co zostało potwierdzone na ludzkiej linii komórkowej HEK293 z ekspresją receptorów TRPV1, za pomocą elektrofizjologicznej techniki patch-clamp (technika stabilizacji skrawka błony). Ponadto w badaniu zauważono, że skuteczność oddziaływania piperyny na receptory TRPV1 jest większa niż kapsaicyny. Fakt występowania receptorów TRPV1 w ludzkich neuronach czuciowych, które są zaangażowane w szlaki bólowe i funkcje układu pokarmowego, stanowi istotny potencjał w wykorzystaniu piperyny w farmakologii [49].

Receptor $GABA_A$, należy do głównych receptorów hamujących w OUN. Zbudowany jest z 5 podjednostek tworzących kanał jonowy dla jonów chlorkowych, który po aktywacji przez endogenny ligand, kwas γ -aminomasłowy, staje się przepuszczalny dla jonów chlorkowych. Działanie farmakologiczne takich leków, jak benzodiazepiny, wynika z ich $GABA$ -ergicznego oddziaływania na receptory $GABA_A$. W badaniu przeprowadzonym na oocytach żaby (*Xenopus laevis*) z ekspresją receptorów $GABA_A$ wykazano, że piperyna wykazuje właściwości allosterycznego modulowania receptorów $GABA_A$. Ponadto testy z Diazepamem i Flumazenilem wykazały,

że piperyna łączy się z receptorem $GABA_A$ w miejscu niezależnym od receptora benzodiazepinowego. Co ciekawe, wyniki wskazujące na to, iż piperyna jest agonistą receptorów $GABA_A$, mogą tłumaczyć zastosowanie używania pieprzu czarnego w medycynie ludowej Azji, jako leku przeciwłękowego i uspokajającego, czy w leczeniu takich schorzeń, jak padaczka i bezsenność [3]. Także inne badania, również przeprowadzone na oocytach żaby *Xenopus laevis* z ekspresją receptorów TRPV1 i $GABA_A$, potwierdzają ich aktywację przez piperynę. W eksperymencie badano także aktywację receptorów przez pochodną piperyny, w której pierścień piperydynowy zamieniono na reszty N,N-diizobutylo-owe. Pochodna piperyny okazała się nie aktywować receptora TRPV1, natomiast wykazywała silniejszą aktywność od piperyny wobec receptorów $GABA_A$. W badaniu oceniano także wpływ piperyny na receptory $GABA_A$, które składały się z różnych podjednostek i zaobserwowano, że podjednostka $\gamma 2S$ nie jest wymagana do modulacji receptora $GABA_A$ przez piperynę [50]. Badacze oceniali także wpływ piperyny i jej pochodnej na zachowania lokomotoryczne i termoregulację w warunkach *in vivo*, po dootrzewnowym podaniu związków. Dodatkowo oceniono także wpływ piperyny na zmiany dawek progowych pentylenotetrazolu (substancja była podawana w ciągłym wlewie do momentu pojawienia się drgawek klonicznych u zwierząt), który poprzez łącznie z receptorem $GABA_A$, wywołuje u zwierząt drgawki. Uzyskane wyniki wskazują, że podaż piperyny zwierzętom, obniżyła ich aktywność lokomotoryczną (ocenianą w teście otwartego pola) oraz zwiększyła dawkę progową pentylenotetrazolu do 48,7 mg/kg m.c. (przy podaży 10 mg piperyny/kg m.c.) w porównaniu do grupy kontrolnej, u której dawka progowa wynosiła 39,4 mg/kg m.c. Ponadto myszom, którym 3 godziny przed mierzaniem temperatury podano piperynę (>10 mg/kg m.c.), wykazano znaczny spadek temperatury ciała, co najprawdopodobniej spowodowane było wpływem piperyny na receptory TRPV1 [50].

W innym badaniu na modelu mysim, analizowano wpływ piperyny (w dawkach 2,5; 5; 10 i 20 mg/kg m.c.) na drgawki wywoływane pilokarpiną. Wykazano, że podanie piperyny 30 min przed pilokarpiną, w sposób zależny od dawki, opóźnia pojawienie się pierwszych drgawek oraz śmierć zwierząt. W celu oceny mechanizmu przeciwdrgawkowego działania badanego związku, przed podaniem piperyny i Pilokarpiny, zwierzętom podano także inne substancje działające na różne receptory, tj. Atropinę, Memantynę, Nimodipinę, Diazepam, Flumazenil oraz zbadano stężenie Dopaminy (i jej pochodnych) oraz TNF- α w mózgu zwierząt. Według autorów, uzyskane przez nich wyniki wskazywały, że przeciwdrgawkowe działanie piperyny wynikało m.in. z jej oddziaływania przeciwzapalnego, antyoksydacyjnego oraz $GABA$ -ergicznego [51].

Także w innym eksperymencie przeprowadzonym *in vivo* na myszach, wykazano antydrżawkowe właściwości piperyny, jednak hipoteza mechanizmu działania piperyny była inna niż w modelu, w którym drgawki wywoływane były Pilokarpiną. W grupie zwierząt, w której napady wywoływane były przy użyciu elektrowstrząsów, podanie 30 min przed zabiegiem piperyny spowodowało spadek pojawiania się drgawek u 40 i 10% zwierząt (odpowiednio przy dawce 40 i 80 mg/kg m.c.). Co ciekawe podaż Diazepamu (2 mg/kg m.c.) ograniczyła pojawienie się drgawek tylko u 10% badanych zwierząt w porównaniu do grupy kontrolnej. Natomiast w drugim modelu, w którym drgawki indukowane były Pentetrazolem (60 mg/kg m.c.), podaż piperyny (40 i 80 mg/kg m.c.) 30 min przed lekiem, również osłabiła nasilenie i opóźniła pojawienie się drgawek u myszy. W celu poznania mechanizmu działania piperyny, przeanalizowano także model, w którym 60 min przed podaniem piperyny (i późniejszym wywoływaniem drgawek), podano dodatkowo zwierzętom Kapsaicynę (1 i 5 mg/kg m.c.). Uzyskane przez badaczy wyniki wskazują, iż wcześniejsze podanie Kapsaicyny, która również wykazuje powinowactwo do receptorów TRPV1, znosi protekcyjne działanie piperyny, co może świadczyć, iż antydrżawkowy mechanizm działania piperyny wynika z jej oddziaływania na receptory TRPV1. Ponadto wykazane antydrżawkowe właściwości piperyny może również tłumaczyć stosowanie pieprzu w tradycyjnej medycynie chińskiej w leczeniu epilepsji [4].

Właściwości neuroprotekcyjne

Obecnie istnieją liczne doniesienia dotyczące oddziaływania piperyny na funkcjonowanie układu nerwowego [4]. Jednym z eksperymentów badających antydepresyjne właściwości piperyny w warunkach *in vivo*, była ocena wpływu podawania piperyny myszom, które wcześniej były poddane łagodnym procedurom stresowym, w postaci zmian socjalnych i środowiskowych (bez bodźców nocyceptywnych). Wpływ dootrzewnowego podawania piperyny (w dawkach 2,5; 5 i 10 mg/kg m.c.), oceniany był poprzez obserwacje zmian w zachowaniu (w teście otwartego pola), zmiany stężenia kortyzolu we krwi oraz ocenę ekspresji BDNF (neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego, jego spadek zaangażowany jest prawdopodobnie w patofizjologię depresji) w hipokampach myszy (w barwieniu immunochemicznych), w porównaniu do grupy, której zamiast piperyny podawany był lek przeciwdepresyjny Fluoksetyna. Otrzymane wyniki, tj. obniżenie stężenia kortyzolu czy zwiększenie ekspresji BDNF wskazują, że podawanie piperyny odwracało zmiany spowodowane stresem, w podobnym stopniu jak podawany antydepresant.

Oprócz działania piperyny na modelu zwierzęcym, badany był także jej wpływ na hodowle neuronów pochodzących z hipokampa zwierząt, które ekspozowane były na kortykosteron. W wyniku inkubacji komórek z piperyną, został odwrócony cytotoksyczny efekt kortykosteronu oraz wzrósł poziom mRNA BDNF, co prawdopodobnie sugeruje neuroprotekcyny efekt piperyny [52].

W świetle wyników innych badań, piperyna okazała się związkami o dużym, neuroprotekcynym potencjale, który może być wykorzystany w walce z chorobą Alzheimera. Choroba Alzheimera, to schorzenie, w którym dochodzi do postępującej i nieodwracalnej utraty pamięci, wynikającej m.in. ze śmierci neuronów, co skutkuje deficytem neuroprzekaźnika acetylocholino. Jedną z obecnych możliwości leczenia są inhibitory acetylocholinoesterazy, które mogą hamować deficyt acetylocholino. W badaniu analizowano wpływ doustnego podawania piperyny (5, 10 i 20 mg/kg m.c.) szczurom, u których farmakologicznie (poprzez dokomorowe podawanie neurotoksyny AF64A) indukowane były zmiany podobne do tych w chorobie Alzheimera. Wykazano, iż podawanie piperyny chorym zwierzętom wpłynęło na poprawienie ich zdolności zapamiętywania (badane poprzez labirynt wodny Morrisa), zwiększyło gęstość neuronów w różnych częściach hipokampa, a także spowodowało spadek aktywności acetylocholinoesterazy oraz peroksydacji lipidów (MDA), w podobnym stopniu, jak w grupie zwierząt, u których zamiast piperyny podawany był Donepezil, lek stosowany w leczeniu choroby Alzheimera [53].

Kolejnym schorzeniem neurologicznym, w którym piperyna może odgrywać znaczącą rolę w prewencji czy łagodzeniu zmian, jest choroba Parkinsona, czyli neurodegeneracyjna choroba wieku starczego, w której dochodzi do utraty neuronów dopaminergicznych. Etiologia tego schorzenia nie jest do końca znana, natomiast znane są niektóre molekularne i biochemiczne mechanizmy, jak stres oksydacyjny, apoptoza czy stany zapalne, które mają miejsce w przebiegu choroby [54]. Wyniki badań przeprowadzane na modelu zwierzęcym, wykazały duży potencjał premedykacji piperyną (14 dni, 10 mg/kg m.c.) w łagodzeniu zmian obserwowanych u szczurów, u których zmiany degeneracyjne, podobne do tych występujących w chorobie Parkinsona, wywoływane były przy pomocy oksydopaminy (6-OHDA). Testy wykonane na materiale pobranym z mózgow zwierząt wykazały szereg zmian wskazujących na antyoksydacyjne, antyapoptotyczne i przeciwzapalne działanie piperyny. W badanym modelu zwierzęcym, podaż piperyny chorym zwierzętom spowodowała zmniejszenie stężenia produktów peroksydacji lipidów (TBARS) i wzrost stężenia glutationu. Ponadto odnotowano

obniżenie aktywności markerów apoptozy, tj. kaspaz 3 i 9, spadek polimerazy POLI(ADP-rybozy) (PARP), spadek stężenia cytochromu c (białko uwalniane z mitochondrium indukuje proces apoptozy) i białka Bax (białko o właściwościach proapoptotycznych), wzrost stężenia białka Bcl-2 (białko o właściwościach antyapoptotycznych) oraz zmniejszenie stężenia cytokin prozapalnych, TNF- α i IL-1 β . Dodatkowo, przed eutanazją zwierzęta badane były także przy pomocy testów behawioralnych, co wykazało, że podaż piperyny chorym zwierzętom spowodowała poprawę ich równowagi i koordynacji ruchowej [54]. Natomiast inny modelowy eksperyment przeprowadzony *in vivo* na szczurach, w którym badane były właściwości odwracania zmian wywoływanych przy pomocy 6-OHDA wykazał, iż skojarzenie kwercetyny z piperyną nasila neuroprotektoryjne działanie kwercetyny. Porównanie rezultatów 7-dniowego, doustnego leczenia kwercetyną (25 i 50 mg/kg m.c.) oraz skojarzenia kwercetyny i piperyny (odpowiednio 25 i 2,5 mg/kg m.c.) po wcześniejszej podaży 6-OHDA wykazało, iż skojarzenie związków wykazuje większe efekty terapeutyczne niż podaż podwójnej dawki kwercetyny, tj. 50 mg/kg m.c. Odnotowane wyniki leczenia zwierząt we wszystkich grupach badanych (z największym efektem w skojarzeniu z piperyną), to spadek TBARS i wzrost stężenia glutationu, neuroprzekazników, GABA oraz zmniejszenie stężenia IL-1 β i TNF- α i glutaminy w prążkowiu mózgow zwierząt. Także w testach oceniających czynności lokomotoryczne i koordynacyjne zwierząt, najlepsze skutki terapeutyczne zostały osiągnięte przy terapii skojarzonej [55].

Wpływ podawania piperyny na późniejsze zmiany molekularne w mózgu, był także badany na mysim modelu *in vivo*, w którym zmiany neurologiczne podobne do tych w chorobie Parkinsona indukowane były MPTP (1-metylo-4-fenyl-1,2,3,6-tetrahydropirydyną). Uzyskane wyniki również wskazują na antyoksydacyjne, przeciwzapalne i antyapoptotyczne działanie piperyny podawanej przed indukcją choroby. W grupie, w której 7 dni przed podaniem MPTP oraz w trakcie podawania MPTP podawana była piperyna (10 mg/kg m.c.), w pobranej od zwierząt tkance nerwowej odnotowano spadek stężenia MDA i wzrost aktywności SOD, spadek stężenia IL-1 β i białka Bax (białko proapoptotyczne) oraz wzrost stężenia białka Bcl-2 (białko antyapoptotyczne). Ponadto, w preparatach histologicznych istoty szarej mózgow myszy, które leczone były piperyną, zaobserwowano większą liczbę komórek dodatnich pod względem hydroksylazy tyrozynowej, która jest markerem dopaminergicznych

neuronów, co również wskazuje na neuroprotektoryjne właściwości piperyny. Także zbadane w doświadczeniu zdolności motoryczne i uczenia się myszy, były lepsze u zwierząt leczonych piperyną [56].

Podsumowanie

Badania przedstawiające różne biologiczne właściwości piperyny wydają się być bardzo obiecujące. Obecnie nie jest znany molekularny mechanizm przeciwzapalnego działania piperyny, niemniej w wielu badaniach zarówno *in vitro* i *in vivo* na modelach zwierzęcych wykazano, iż może być on wielokierunkowy. Szczególnie interesujące właściwości działania piperyny, to jej zdolność do obniżania poziomu COX-2 oraz wpływ na modulowanie aktywności czynnika transkrypcyjnego NF- κ B. Dotychczas zostało opublikowanych wiele badań, w których wykazano przeciwnowotworowe właściwości piperyny. Zmianami obserwowanymi w badaniach, indukowanymi przez piperynę, było m.in. blokowanie proliferacji komórki w fazie G0/G1. Natomiast zastosowanie piperyny w zwiększaniu biodostępności różnych substancji może przyczynić się do zwiększenia efektywności terapii lekami, które wykazują pożądane właściwości farmakologiczne, ale ich biodostępność jest mała lub niewystarczająca. Z powodu wpływu piperyny na biodostępność różnych ksenobiotyków, równie ważne wydaje się być monitorowanie zmian farmakokinetycznych leków o wąskim zakresie terapeutycznym u pacjentów, którzy spożywają duże ilości pieprzu czy przyjmują suplementy diety zawierające piperynę, ze względu na potencjalne zmiany farmakokinetyczne mogące prowadzić do niepożądanych skutków. Badania nad właściwościami neuroprotektoryjnymi piperyny wydają się również konieczne z uwagi na wzrost zachorowalności na choroby wieku starczego oraz brak skutecznych metod walki z tymi schorzeniami. Ponadto wykazane w badaniach powinowactwo piperyny do receptorów TRVP1 i GABA_A, daje przesłanki do jej możliwego zastosowania w farmakologii. Przedstawione informacje o wpływie piperyny na procesy molekularne i biochemiczne stwarzają konieczność ciągłych badań, nie tylko nad właściwościami piperyny, ale także innych naturalnych związków pochodzenia roślinnego oraz ich efektywnym wykorzystywaniem w medycynie.

Źródło finansowania: Praca nie jest finansowana z żadnego źródła.

Konflikt interesów: Autorzy deklarują brak konfliktu interesów

Piśmiennictwo / References

- Szallasi A. Piperine: researchers discover new flavor in an ancient spice. *Trends Pharmacol Sci* 2005, 26(9): 437-439.
- Tasleem F, Azhar I, Ali SN, et al. Analgesic and anti-inflammatory activities of *Piper nigrum* L. *Asian Pac J Trop Med* 2014, 7(S1): S461-S468.
- Zaugg J, Baburin I, Strommer B, et al. HPLC-Based activity profiling: discovery of piperine as a positive gabaa receptor modulator targeting a benzodiazepine-independent binding site. *J Nat Prod* 2010, 73(2): 185-191.
- Chen CY, Li W, Qu KP, Chen CR. Piperine exerts anti-seizure effects via the TRPV1 receptor in mice. *Eur J Pharmacol* 2013, 714(1-3): 288-294.
- Singh A, Duggal S. Piperine – Review of Advances in Pharmacology. *Int J Pharm Sci Nanotechnol* 2009, 2(3): 615-620.
- Chopra B, Dhingra AK, Kapoor RP, Prasad DN. Piperine and its various physicochemical and biological aspects: a review. *Open Chem J* 2016, 3: 75-96.
- Gorgani L, Mohammadi M, Najafpour GD, Nikzad M. Piperine – the bioactive compound of black pepper: from isolation to medicinal formulations. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 2017, 16(1): 124-140.
- Siddiqui S, Ahamad MS, Jafri A, et al. Piperine Triggers apoptosis of human oral squamous carcinoma through cell cycle arrest and mitochondrial oxidative stress. *Nutr Cancer* 2017, 69(5): 791-799.
- Okwute SK, Egharevba HO. Piperine-type amides: review of the chemical and biological characteristics. *Int J Chem* 2013, (5)3: 99-122.
- Ścibior-Bentkowska D, Czczot H. Komórki nowotworowe a stres oksydacyjny. *Postepy Hig Med Dosw* 2009, 63: 58-72.
- Vijayakumar RS, Surya D, Nalini N. Antioxidant efficacy of black pepper (*Piper nigrum* L.) and piperine in rats with high fat diet induced oxidative stress. *Redox Rep* 2004, 9(2): 105-110.
- Sankar P. Antioxidant capacity of piperine on cypermethrin induced brain toxicity in rats. *Int J Sci Environ Technol* 2017, 6(2): 1290-1293.
- Kumar S, Saravana Kumar M, Raja B. Efficacy of piperine, an alkaloidal constituent of pepper on nitric oxide, antioxidants and lipid peroxidation markers in L-NAME induced hypertensive rats. *Int J Res Pharm Sci* 2010, 1(3): 300-307.
- Yadala P, Viswanathswamy AHM. In vitro antioxidant and cytotoxic activity of Rutin and Piperine and their synergistic effect. *Int J Pharm Pharm Sci* 2016, 8(5): 78-82.
- Międzybrodzki R. Kierunki poszukiwań i zastosowanie niesteroidowych leków przeciwzapalnych. *Postepy Hig Med Dosw* 2004, 58: 438-448.
- Bang JS, Oh DH, Choi HM, et al. Anti-inflammatory and antiarthritic effects of piperine in human interleukin 1beta-stimulated fibroblast-like synoviocytes and in rat arthritis models. *Arthritis Res Ther* 2009, 11(2): R49.
- Sudjarwo SA. The potency of piperine as antiinflammatory and analgesic in rats and mice. *Folia Med Indonesia* 2005, 41(3): 190-194.
- Samra YA, Said HS, Elsherbiny NM, et al. Cepharranthine and Piperine ameliorate diabetic nephropathy in rats: role of NF-κB and NLRP3 inflammasome. *Life Sci* 2016, 157: 187-199.
- Zhai WJ, Zhang ZB, Xu NN, et al. Piperine plays an anti-inflammatory role in *Staphylococcus aureus* endometritis by inhibiting activation of NF-κB and MAPK pathways in mice. *Evid Based Complement Alternat Med* 2016, 2016: 8597208.
- Kim HG, Han EH, Jang WS, et al. Piperine inhibits PMA-induced cyclooxygenase-2 expression through downregulating NF-κB, C/EBP and AP-1 signaling pathways in murine macrophages. *Food Chem Toxicol* 2012, 50(7): 2342-2348.
- Ying X, Yu K, Chen X, et al. Piperine inhibits LPS induced expression of inflammatory mediators in RAW 264.7 cells. *Cell Immunol* 2013, 285(1-2): 49-54.
- Wang-Sheng C, Jie A, Jian-Jun L, et al. Piperine attenuates lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammatory responses in BV2 microglia. *Int Immunopharmacol* 2017, 42: 44-48.
- Ying X, Chen X, Cheng S, et al. Piperine inhibits IL-β induced expression of inflammatory mediators in human osteoarthritis chondrocyte. *Int Immunopharmacol* 2013, 17(2): 293-299.
- Bezerra DP, Pessoa C, de Moraes MO, et al. Antiproliferative effects of two amides, piperine and piplartine, from *Piper* species. *Z Naturforsch C* 2005, 60(7-8): 539-543.
- Selvendiran K, Sakthisekaran D. Chemopreventive effect of piperine on modulating lipid peroxidation and membrane bound enzymes in benzo(a)pyrene induced lung carcinogenesis. *Biomed Pharmacother* 2004, 58(4): 264-267.
- Vellaichamy L, Balakrishnan S, Panjamurthy K, et al. Chemopreventive potential of piperine in 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced skin carcinogenesis in Swiss albino mice. *Environ Toxicol Pharmacol* 2009, 28(1): 11-18.
- Samyikutty A, Shetty AV, Dakshinamoorthy G, et al. Piperine, a Bioactive Component of Pepper Spice Exerts Therapeutic Effects on Androgen Dependent and Androgen Independent Prostate Cancer Cells. *PLoS One* 2013, 8(6): e65889.
- Ouyang DY, Zeng LH, Pan H, et al. Piperine inhibits the proliferation of human prostate cancer cells via induction of cell cycle arrest and autophagy. *Food Chem Toxicol* 2013, 60: 424-430.
- Soutar DA, Doucette CD, Liwski RS, Hoskin DW. Piperine, a pungent alkaloid from black pepper, inhibits b lymphocyte activation and effector functions. *Phytother Res* 2017, 31(3): 466-474.
- Yaffe PB, Doucette CD, Walsh M, Hoskin DW. Piperine impairs cell cycle progression and causes reactive oxygen species-dependent apoptosis in rectal cancer cells. *Exp Mol Pathol* 2013, 94(1): 109-114.
- Gunasekaran V, Elangovan K, Niranjali Devaraj S. Targeting hepatocellular carcinoma with piperine by radical-mediated mitochondrial pathway of apoptosis: An in vitro and in vivo study. *Food Chem Toxicol* 2017, 105: 106-118.
- Suresh D, Srinivasan K. Tissue distribution & elimination of capsaicin, piperine & curcumin following oral intake in rats. *Indian J Med Res* 2010, 131: 682-691.
- Gao T, Xue H, Lu L, et al. Characterization of piperine metabolites in rats by ultra-high-performance liquid chromatography with electrospray ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2017, 31(11): 901-910.

34. Lambert JD, Hong J, Kim DH, et al. Piperine enhances the bioavailability of the tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate in mice. *J Nutr* 2004, 134(8): 1948-1952.
35. Hithamani G, Srinivasan K. Bioavailability of finger millet (*Eleusine coracana*) phenolic compounds in rat as influenced by co-administered piperine. *Food Biosci* 2017, 19: 101-109.
36. Yang JH, Mao KJ, Huang P, et al. Effect of piperine on the bioavailability and pharmacokinetics of rosmarinic acid in rat plasma using UPLC-MS/MS. *Xenobiotica* 2018, 48(2): 178-185.
37. Maciejewska M, Bogacz A, Mrozikiewicz PM. Zmiany aktywności wybranych enzymów z rodziny cytochromu P-450 w interakcji leku roślinnego z lekiem syntetycznym. *Herba Pol* 2008, 54(1): 57-67.
38. Suresh PS, Dilip S, Balamuralidhara VG, et al. Effect of Co-administration of Single and Multiple Doses of Piperine on the Pharmacokinetics of Tamoxifen in Rats. *AJMAP* 2017, 3(2): 201-209.
39. Makhov P, Golovine K, Canter D, et al. Co-administration of piperine and docetaxel results in improved anti-tumor efficacy via inhibition of CYP3A4 activity. *Prostate* 2012, 72(6): 661-667.
40. Bedada SK, Appani R, Boga PK. Effect of piperine on the metabolism and pharmacokinetics of carbamazepine in healthy volunteers. *Drug Res (Stuttg)* 2017, 67(1): 46-51.
41. Bedada SK, Boga PK, Kotakonda HK. Study on influence of piperine treatment on the pharmacokinetics of diclofenac in healthy volunteers. *Xenobiotica* 2017, 47(2): 127-132.
42. Venkatesh S, Durga KD, Padmavathi Y, et al. Influence of piperine on ibuprofen induced antinociception and its pharmacokinetics. *Arzneimittelforschung* 2011, 61(9): 506-509.
43. Katiyar SS, Muntimadugu E, Rafeeqi TA, et al. Co-delivery of rapamycin- and piperine-loaded polymeric nanoparticles for breast cancer treatment. *Drug Deliv* 2016, 23(7): 2608-2616.
44. Badowska-Kozakiewicz AM. Zjawisko oporności wielolekowej w nowotworach – rola glikoproteiny P. *Życie Wet* 2011, 86(3): 211-214.
45. Jin MJ, Han HK. Effect of piperine, a major component of black pepper, on the intestinal absorption of fexofenadine and its implication on food-drug interaction. *J Food Sci* 2010, 75(3): H93-H96.
46. Bedada SK, Boga PK. The influence of piperine on the pharmacokinetics of fexofenadine, a P-glycoprotein substrate, in healthy volunteers. *Eur J Clin Pharmacol* 2017, 73(3): 343-349.
47. Raza K, Kumar D, Kiran C, et al. Conjugation of docetaxel with multiwalled carbon nanotubes and codelivery with piperine: implications on pharmacokinetic profile and anticancer activity. *Mol Pharm* 2016, 13(7): 2423-2432.
48. Pieńko T. Kapsaicyna – właściwości, zastosowania i perspektywy. *Biul Wydz Farm WUM* 2013, 2: 11-17.
49. McNamara FN, Randall A, Gunthorpe MJ. Effects of piperine, the pungent component of black pepper, at the human vanilloid receptor (TRPV1). *Br J Pharmacol* 2005, 144(6): 781-790.
50. Khom S, Strommer B, Schöffmann A, et al. GABAA receptor modulation by piperine and a non-TRPV1 activating derivative. *Biochem Pharmacol* 2013, 85(12): 1827-1836.
51. da Cruz GM, Felipe CF, Scorza FA, et al. Piperine decreases pilocarpine-induced convulsions by GABAergic mechanisms. *Pharmacol Biochem Behav* 2013, 104: 144-153.
52. Li S, Wang C, Wang M, et al. Antidepressant like effects of piperine in chronic mild stress treated mice and its possible mechanisms. *Life Sci* 2007, 80(15): 1373-1381.
53. Chonpathompikunlert P, Wattanathorn J, Muchimapura S. Piperine, the main alkaloid of Thai black pepper, protects against neurodegeneration and cognitive impairment in animal model of cognitive deficit like condition of Alzheimer's disease. *Food Chem Toxicol* 2010, 48(3): 798-802.
54. Shrivastava P, Vaibhav K, Tabassum R, et al. Anti-apoptotic and anti-inflammatory effect of Piperine on 6-OHDA induced Parkinson's rat model. *J Nutr Biochem* 2013, 24(4): 680-687.
55. Singh S, Kumar P. Piperine in combination with quercetin halt 6-OHDA induced neurodegeneration in experimental rats: Biochemical and neurochemical evidences. *Neurosci Res* 2018, 133: 38-47.
56. Yang W, Chen YH, Liu H, Qu HD. Neuroprotective effects of piperine on the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced Parkinson's disease mouse model. *Int J Mol Med* 2015, 36(5): 1369-1376.