

Fitoterapijski potencijal crnog papra (*Piper nigrum* L.)

Weltinger, Snježana

Professional thesis / Završni specijalistički

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:851565>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-28**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

Snježana Weltinger

FITOTERAPIJSKI POTENCIJAL CRNOG PAPRA

(*Piper nigrum* L.)

Specijalistički rad

Zagreb, 2022.

Poslijediplomski specijalistički studij: Fitofarmacija s dijetoterapijom

Mentor rada: doc.dr.sc. Maja Bival Štefan

Specijalistički rad obranjen je dana 08.srpnja 2022. na Zavodu za farmakognoziju, pred povjerenstvom u sastavu:

1. prof. dr. sc. Sanda Vladimir-Knežević
2. doc.dr.sc. Maja Bival Štefan
3. prof. dr. sc. Zdenka Kalođera, prof. emerita

Rad ima 59 listova.

Predgovor

Ovaj specijalistički rad izrađen je pod stručnim vodstvom doc.dr.sc. Maje Bival Štefan na Zavodu za farmakognoziju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Zahvaljujem se mentorici doc.dr.sc.Maji Bival Štefan na stručnim savjetima, strpljenju i uloženom vremenu i prof.dr.sc.Sandi Vladimir - Knežević na susretljivosti i pomoći tijekom izrade ovog diplomskog rada.

Hvala obitelji, posebno suprugu Nenadu na bezuvjetnoj podršci tijekom svih ovih godina.

Ovaj rad posvećujem sinu Janu kao poticaj za daljnje uspješno studiranje.

SAŽETAK

Fitoterapijski potencijal crnog papra (*Piper nigrum* L.)

Cilj istraživanja

Cilj ovog specijalističkog rada je pregled podataka dosadašnjih znanstvenih istraživanja o crnom papru (*Piper nigrum* L.).

Materijali i metode

Istraživanja u okviru ovoga specijalističkog rada su teorijskog karaktera, a uključuju pregled dostupne literature o dosadašnjim nekliničkim i kliničkim istraživanjima crnog papra. U pretraživanju su korištene dostupne elektronske bibliografske baze podataka Current Contents, ScienceDirect, Scopus, PubMed i Medline.

Rezultati

Usitnjeni plod crnog papra je širom svijeta poznat kao začim, a ima i višestoljetnu tradiciju medicinske primjene. Fitokemijskim istraživanjima ustanovljeno je da sadrži fitosterole, triterpene, fenolne spojeve, značajne koncentracije flavonoida (katehina, miricetina i kvercetina), karotenoida (luteina i β -karotena) minerala (kalij, kalcij, magnezij i fosfor) i vitamina C. Crni papar je snažan antioksidans te ima dokazano protupalno, imunomodulacijsko, antitumorsko, citotoksično, antimikrobno i analgetsko djelovanje. Farmakološki učinak zabilježen je kod liječenja astme, prehlade i kašlja, hipertenzije, pretilosti, bolesti probavnih organa, živčanog sustava i štitnjače. Dosadašnja klinička istraživanja ploda crnog papra ograničena su na povećanje terapijskog učinka lijekova i hranjivih tvari jer djeluje kao pojačivač njihove bioraspoloživosti.

Zaključci

Fitoterapijski potencijal crnog papra treba potvrditi daljnjim studijama jer dosadašnja klinička istraživanja ne pružaju dovoljnu razinu dokaza o terapijskoj učinkovitosti crnog papra.

SUMMARY

Phytotherapeutic potential of black pepper (*Piper nigrum* L.)

Objectives

The aim of this specialist paper is to review the data of previous scientific research on black pepper (*Piper nigrum* L.).

Materials and methods

The research within this specialist paper is of a theoretical nature, and includes a review of the available literature on previous non-clinical and clinical research on black pepper. Available electronic bibliographic databases Current Contents, ScienceDirect, Scopus, PubMed and Medline were used in the search.

Results

Chopped black pepper is known worldwide as a spice, and has a centuries-old tradition of medical use. Phytochemical studies have shown that it contains phytosterols, triterpenes, phenolic compounds, significant concentrations of flavonoids (catechins, myricetin and quercetin), carotenoids (lutein and β -carotene) minerals (potassium, calcium, magnesium and phosphorus) and vitamin C. Black pepper is a strong antioxidant and has proven anti-inflammatory, immunomodulatory, antitumor, cytotoxic, antimicrobial and analgesic effects. Pharmacological effect has been reported in the treatment of asthma, colds and coughs, hypertension, obesity, diseases of the digestive organs, nervous system and thyroid gland. Previous clinical trials of black pepper fruit have been limited to increasing the therapeutic effect of drugs and nutrients because it acts as an enhancer of their bioavailability.

Conclusions

The phytotherapeutic potential of black pepper should be confirmed by further studies because previous clinical studies do not provide a sufficient level of evidence on the therapeutic efficacy of black pepper.

| | |
|---|----|
| 1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA | 1 |
| 1.1. Botanički podaci o vrsti <i>Piper nigrum</i> L..... | 2 |
| 1.2. Nutritivni sastav ploda crnog papra..... | 5 |
| 1.3. Bioaktivne sastavnice ploda crnog papra | 5 |
| 1.3.1. Alkaloidi | 5 |
| 1.3.2. Eterično ulje | 7 |
| 1.3.3. Polifenolni spojevi | 9 |
| 1.3.4. Karotenoidi | 9 |
| 1.4. Tradicionalna primjena crnog papra | 10 |
| 2. CILJ ISTRAŽIVANJA | 13 |
| 3. MATERIJALI I METODE - SUSTAVNI PREGLED SAZNJANA O TEMI... | 14 |
| 3.1. Neklinička istraživanja crnog papra | 15 |
| 3.1.1. Antioksidacijski učinak | 15 |
| 3.1.2. Antitumorski učinak..... | 18 |
| 3.1.3. Protuupalni učinak | 20 |
| 3.1.4. Analgetski učinak..... | 23 |
| 3.1.5. Antimikrobni učinak..... | 24 |
| 3.1.6. Hipolipemički učinak | 25 |
| 3.2. Klinička istraživanja crnog papra | 26 |
| 3.3. Piperin kao pojačivač raspoloživosti lijekova | 27 |
| 3.3.1. Mehanizmi djelovanja piperina na metabolizam lijekova | 28 |
| 3.3.2. Utjecaj piperina na odabrane lijekove | 30 |
| 3.3.2.1. Piperin i fenitoin | 30 |
| 3.3.2.2. Piperin s propranololom i teofilinom | 31 |
| 3.3.2.3. Piperin s rifampicinom | 31 |
| 3.3.2.4. Piperin s nevirapinom | 32 |
| 3.3.2.5. Piperin s diklofenak natrijem i pentazocinom..... | 33 |
| 3.3.3. Utjecaj piperina na bioraspoloživost vitamina, minerala, aminokiselina i biljnih ljekovitih spojeva | 34 |
| 3.3.4. Sigurnosni profil piperina | 38 |
| 4. RASPRAVA | 39 |
| 5. ZAKLJUČCI | 42 |
| 6. LITERATURA | 44 |
| 7. ŽIVOTOPIS | 51 |

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA

Piper nigrum L. (crni papar) iz porodice Piperaceae, kralj začina poznat širom svijeta ima višestoljetnu tradiciju medicinske primjene. U ljekovite svrhe se mogu koristiti različiti dijelovi biljke, iako je kroz povijest najkorištenija kuhana i sušena nezrela bobica ploda crnog papra (1).

U plodu crnog papra dokazano je više od 80 sastavnica čiji su različiti biološki učinci predmet brojnih pretkliničkih istraživanja. Plod sadrži fitosterole, triterpene, fenolne spojeve, značajne koncentracije flavonoida (katehina, miricetina i kvercetina), karotenoida (luteina i β -karotena), minerala (kalij, kalcij, magnezij i fosfor) i vitamina C (2). Najveći terapijski potencijal pripisuje se glavnom alkaloidu piperinu čija se farmakološka svojstva kontinuirano ispituju kod izrade novih ljekovitih formulacija (2, 3).

Plod crnog papra se tradicionalno koristio kao sastavnica ayurvedske smjese „Trikatu“ kod liječenja vrućice, astme, prehlade, kašlja te mnogobrojnih bolesti probavnog i mokraćnog sustava (4, 5).

Današnja *in vitro* i *in vivo* istraživanja potvrđuju da je piperin snažan antioksidans koji ima protuupalno, imunomodulacijsko, antitumorsko, citotoksično i analgetsko djelovanje. Farmakološki učinak piperina zabilježen je kod astme, prehlade i kašlja, hipertenzije, pretilosti, bolesti probavnih organa i štitnjače, a potvrđeno je njegovo antibakterijsko, fungicidno i insekticidno djelovanje (1). Djeluje pozitivno na kognitivnu aktivnost i pomaže kod konvulzija i depresije. Klinička ispitivanja potvrđuju da piperin povećava terapijske učinke lijekova i apsorpciju hranjivih tvari jer djeluje na povećanje njihove bioraspoloživosti (3). Stoga je cilj ovog rada prikupiti i sistematično prikazati

podatke o bioaktivnim sastavnicama, suvremenoj primjeni te farmakološkim učincima crnog papra.

1.1. Botanički podaci o vrsti *Piper nigrum* L.

Papar je plod biljnih vrsta iz reda paprolike (*Piperales*) koje mogu rasti kao grmlje, lijjane, maleno drveće ili zeljasto bilje (slika 1 i slika 2). Dolaze kao samostojeće biljke, penjačice ili su pričvršćene i rastu na drugim živim biljkama kao epifiti. Plod je sočan nepucavac, jednosjemena bobica koja se rasprostranjuje endozoohorno (6). Crni papar je kao jedini začim bio poznat i kultiviran u Indiji 2000 godina prije Krista te se tijekom četiri tisućljeća proširio prvo na zapad, a danas je „kralj začina“ koji ima 38 kultiviranih varijeteta poznat širom svijeta (7).

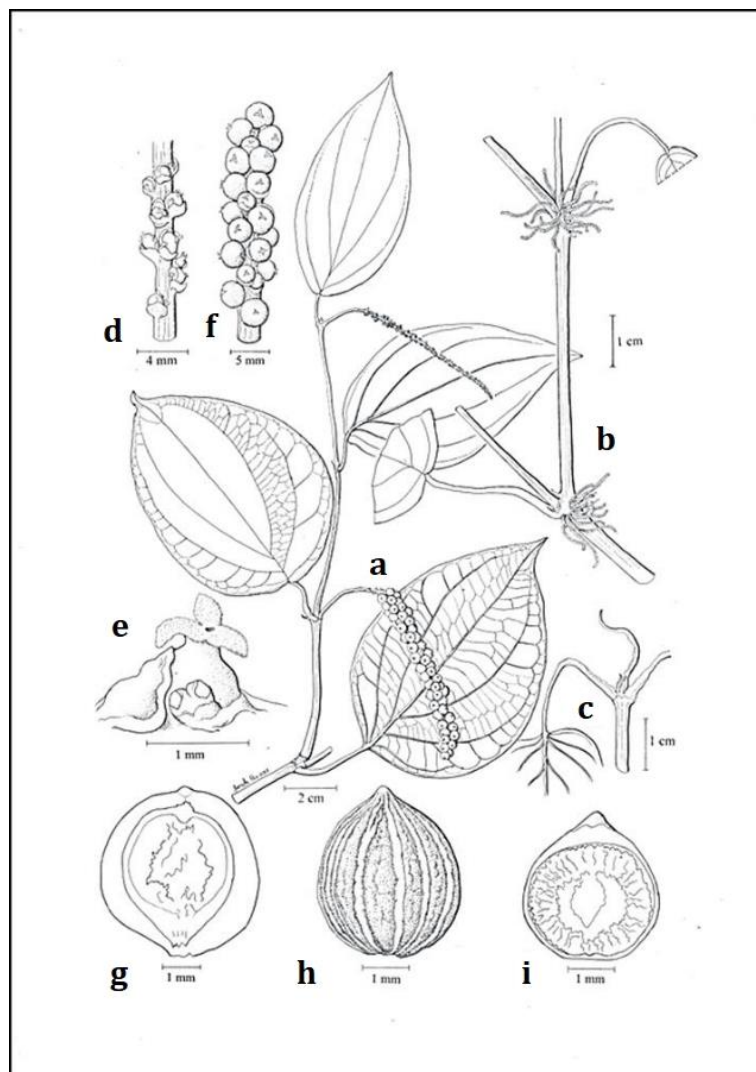
Biljka raste i uzgaja se u tropskim i suptropskim krajevima s vlažnom i toplom klimom (8). Papar se najviše kultivira u jugoistočnoj Aziji i Južnoj Americi, Indija i Indonezija danas proizvode 50 % ukupnih svjetskih količina papra (8), dok u Hrvatskoj nema autohtonih predstavnika porodice Piperaceae (6).

Najpoznatija vrsta papra je crni papar (*Piper nigrum* L.) s velikim i debelim listovima te sitnim bijelim cvjetovima koji rastu na stabljici nasuprot lišću i stvaraju grozdove gusto nanizanih bobica koje sazrijevanjem od zelenih postaju crvene.

Biljka *Piper nigrum* L. ovisno o stupnju zrelosti zrna i obrade prilikom berbe daje četiri vrste papra koje se zbog specifičnih okusa koriste u izradi različitih jela (9).

Da bi se dobile crne bobice najjačeg okusa, ručno se bere zeleni plod koji se potom suši na suncu dok ne poprimi smeđe-crnu boju. Pikantni zeleni papar nezreli je plod koji se ispire i brzo suši, a takav postupak sprječava fermentaciju i čuva boju zrna. Bijeli papar nastaje tako što se ubrane bobice ostave tjedan dana namočene u vodi dok se ne odvoji ljuska i ukloni drvenasti i tamni endokarp, a postupak se ponavlja do zadovoljavajuće čistoće koja definira kvalitetu i čini ga skupljim na tržištu.

Zbog odstranjivanja ljuske, bijeli papar je znatno slabije jačine okusa i ustajalog mirisa. Najrjeđe i najteže za nabaviti je zrelo zrno papra specifične narančasto-crvene boje, kod kojeg je postupak tretiranja zrna jednak kao i kod zelenog, a aroma slična crnom papru. Usitnjeni plodovi crnog papra su zahvaljujući pikantnosti piperina jedan od najpoznatijih začina u kulinarstvu i čine oko 35% ukupne svjetske trgovine začinima (9).



Slika 1. Botanički crtež uzgojenog crnog papra; (a) bočne grane prekrivene lišćem; (b) čvorovi na stabiljci na mjestima grananja; (c) vrh izbojka; (d) rani stadij razvoja ploda; (e) pojedinačni cvijet; (f) klas sa zrelim bobicama; (g) poprečni presjek svježeg ploda; (h) vanjska površina papra s odstranjenim perikarpom; (i) poprečni presjek sjemenke (7)



Slika 2. *Piper nigrum* L.; A –penjačica s viticama, B- zelene bobice, C –crne, bijele i zelene bobice, D- procesirane bobice
(<https://powo.science.kew.org/>)

1.2. Nutritivni sastav ploda crnog papra

U 100 grama ploda crnog papra (energetska vrijednost 400 Kcal) najzastupljeniji su ugljikohidrati (66.5 g), slijede masti (10.2 g) i proteini (10 g) u približno jednakim omjerima i voda (8 g) (10).

Najzastupljeniji minerali u 100 g ploda crnog papra su kalij (1200 mg), kalcij (400 mg), magnezij (235,8-249,8 mg) i fosfor (160 mg), a željezo, natrij i cink dokazani su u nižim koncentracijama (10, 11).

Vitamin C (27.46–32.53 mg) je najzastupljeniji vitamin, dok su B1, B2 i B3 vitamini dokazani u neznatnoj količini (11). Plod crnog papra također sadrži mononezasićene (0,789 mg) i polinezasićene masne kiseline (0,616 mg) te fitosterole (55 mg) (12).

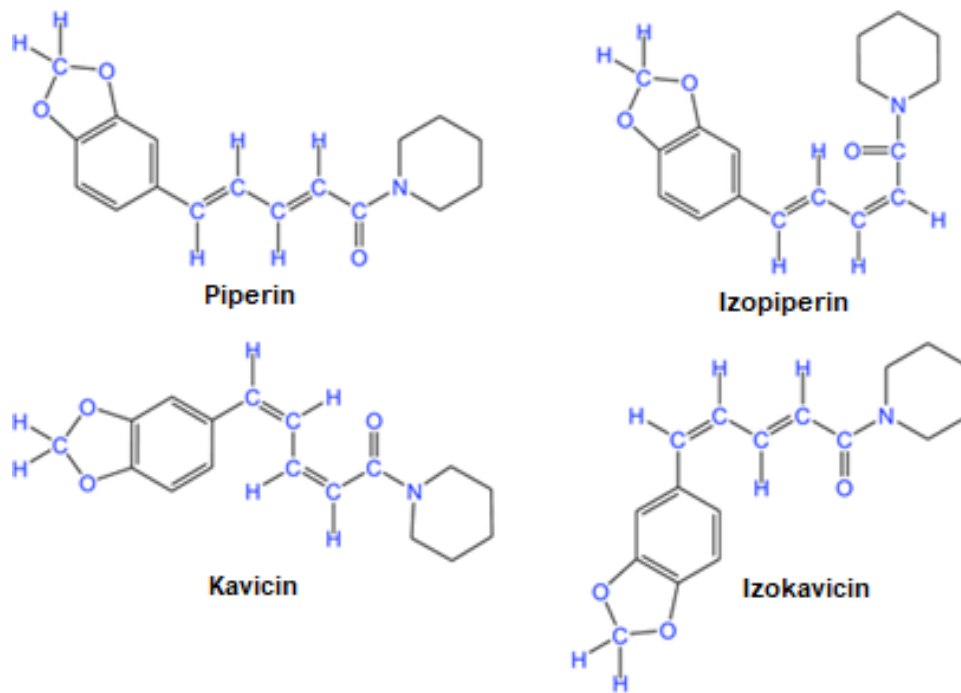
1.3. Bioaktivne sastavnice ploda crnog papra

1.3.1. Alkaloidi

Prema Europskoj farmakopeji, plod crnog papra (*Piperis fructus*) kvantificira se na udjele piperina (najmanje 3 %) (13).

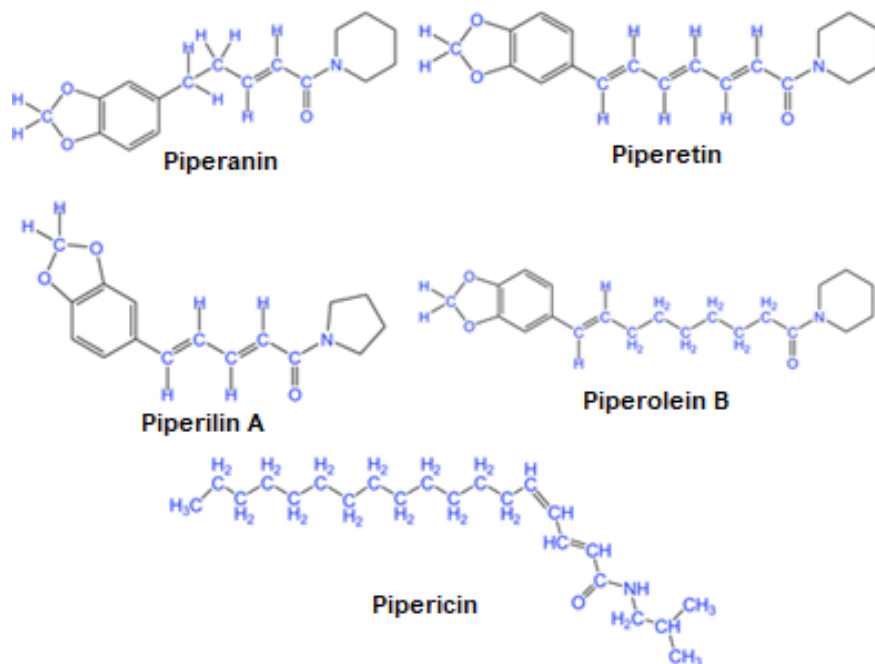
1-Piperoilpiperidin (piperin) postoji u 4 izomerne strukture: piperin (trans-trans izomer), izopiperin (cis-trans izomer), kavicin (cis-cis izomer) i izokavicin (trans-cis izomer) (slika 3). U usporedbi s ostalim izomerima, piperin čini 98 % ukupnih alkaloida u crnom papru (14).

Sadržaj piperina u biljkama iz porodice Piperaceae varira od 2 % do 7,4 %, ali postoje podaci da sadržaj piperina u plodovima *P. nigrum* može biti i do 9 %, *P. longum* do 4 % i do 4,5 % u plodu *P. retrofractum*.



Slika 3. Struktura piperina i njegovih izomera (14)

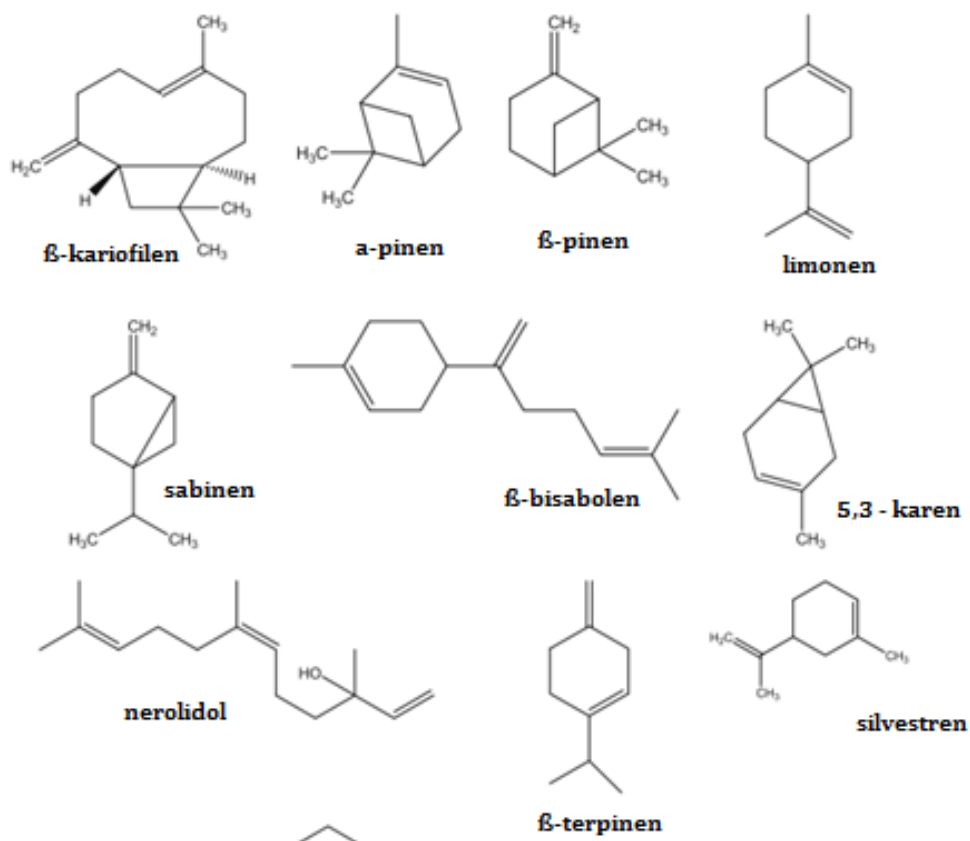
Sadržaj piperina (glavnog sastojka oleorezine papra) se koristi kao mjera ukupne oporosti crnog papra i dominira u određivanju oštre note začina. Novija istraživanja dokazuju prisutnost drugih alkaloida (piperanin, piperetin, piperilin A, piperolein B i pipericin) koji ne utječu na okus papra (slika 4). Važno je napomenuti da je u novijim znanstvenim istraživanjima piperin najčešće ispitivana biološki aktivna sastavnica crnog papra na kojem su provedene mnogobrojne nekliničke *in vitro* i *in vivo* studije te kliničke studije.



Slika 4. Kemijska struktura analoga piperina (14)

1.3.2. Eterično ulje

Plod crnog papra vrednuje se i prema sadržaju eteričnog ulja koji prema Europskoj farmakopeji iznosi najmanje 25 mL/kg suhe droge (13). Prema literaturnim podacima udio eteričnog ulja u plodovima papra iznosi 1-3% a zabilježeni su i slučajevi u kojima doseže 9%. Eterično ulje crnog papra je bezbojna do žućkasto-zelena tekućina, ljutog okusa i specifičnog mirisa. Najzastupljenije skupine spojeva su monoterpeni i seskviterpeni dok oksigeniranih monoterpena i seskviterpena ima znatno manje. Ustanovljeno je da eterično ulje izolirano iz plodova crnog papra sadrži više od 80 različitih sastavnica, od kojih su najzastupljeniji β -kariofilen, limonen, α - i β -pinen, mircen, α -felandren, α i γ -terpinen i linalol (14, 15). Slika 5 prikazuje neke od sastavnica eteričnog ulja crnog papra.



Slika 5. Kemijske strukture sastavnica eteričnog ulja crnog papra (16)

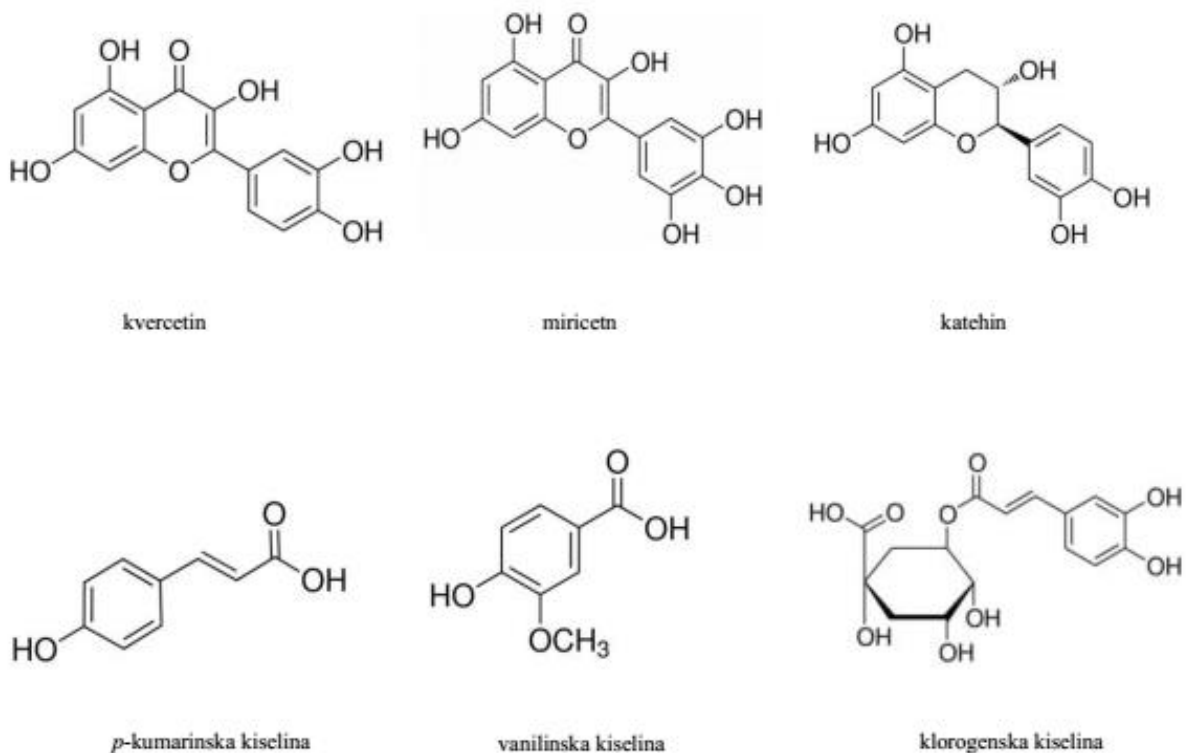
Udio pojedinih sastavnica eteričnog ulja ploda crnog papra može znatno varirati u ovisnosti o vanjskim čimbenicima, što su potvrdili Menon i sur. (2011) ispitujući udio sastavnica u tri različita kultivara crnog papra u periodu od tri godine (17).

Tablica 1. Istraživanje sastava esencijalnih ulja iz različitih kultiviranih sorti papra kroz tri sezone (17)

| Sastavnica | Vellanamban | Sreekara | Kutching |
|---------------------|-------------|-------------|-------------|
| sabinen | 3,9–18,8 % | / | 6,7–13,3 % |
| β -pinen | 3,9–10,9 % | 0–11,2 % | / |
| limonen | 8,3–19,8 % | 20,1–22,1 % | 14,5–17,5 % |
| β -kariofilen | 28,4–32,9 % | 16,8–23,1 % | 20,8–39,1 % |
| α -pinen | / | / | 2,3–5,4 % |

1.3.3. Polifenolni spojevi

U plodu papra se nalaze i polifenolni spojevi među kojima i flavonoidi kvercetin i miricetin, te katehin (16). Narendra i sur. (2017) zabilježili su prisustvo *p*-kumarinske, vanilinske i klorogenske kiseline (18). Na slici 6 prikazane su odabrane polifenolne sastavnice crnog papra.



Slika 6. Polifenolne sastavnice crnog papra

(<https://www.sigmaaldrich.com>)

1.3.4. Karotenoidi

Ashokkumar i suradnici (2020) su u plodu crnog papra dokazali prisustvo β -karotena i β -kriptoksantena (16) dok su Aruna i Baskaran (2010) dokazali i neoksantin, violksantin, lutein i zeaksantin (19).

1.4. Tradicionalna primjena crnog papra

Liječenje ljekovitim biljem postoji i razvija se kroz povijest usporedno s razvojem ljudske civilizacije. Moderna tehnologija omogućila je da se, osim na tradicionalnim empirijskim spoznajama, na temelju kemijskih i farmakoloških studija znanstveno definira biološka aktivnost i kemijski sastav različitih biljnih spojeva. Istraživanja pokazuju da su biljni lijekovi u prošlosti korišteni kao dijelovi komplementarne ili alternativne terapije, a posljednjih dvadeset godina dolazi do značajnog porasta njihovog korištenja i u razvijenim zemljama.

U današnjoj farmakoterapiji postoji oko 50 % lijekova prirodnog porijekla, a 25 % modernih farmakopeja opisuje ljekovite tvari biljnog porijekla. Povećani interes za njihovim korištenjem proizlazi iz percepcije korisnika da su sigurniji i učinkovitiji u liječenju određenih bolesti u odnosu na konvencionalne sintetske lijekove te, naravno, jeftiniji.

Najstarija pronađena zrna papra datiraju iz 1213. godine prije Krista, gdje su bili dio pogrebne ceremonije mumificiranja te su pronađeni u nosnicama egipatskog faraona Ramzesa II. Teofrast u knjizi „Sistematika bilja“ navodi da papar u Europu dolazi tek s osvajanjima Aleksandra Makedonskog, a Plinije Stariji u knjizi „Poznavanje prirode“ spominje bobice vrijedne poput zlata jer su se zrna papra koristila kao sredstvo plaćanja (20).

Zbog visoke cijene, monopola na proizvodnju u Indiji i prijevoza morskim putevima u Europu u prošlosti je crni papar uzrokovao trgovačke začinske ratove.

Bose, priznati autor „Pharmacographia indica“, 1929. godine prvi je objavio da se dodatkom dugog indijskog papra (*Piper longum* L.) u lišće vasake (*Adhatoda vasica* Nees) povećava njen antiastmatski učinak. Piperin se u ljekovitim pripravcima koristio u razdoblju između 7. stoljeća prije Krista i 6. stoljeća poslije Krista kao glavna

sastavnica ayurvedske smjese "Trikatu" koja je sadržavala crni (*Piper nigrum* L.), indijski dugi papar (*Piper longum* L.) i đumbir (*Zingiber officinale* Rosc.) u jednakim omjerima. U dokumentu „Ayurvedic Material Medica“ (datira iz 6. st. prije Krista) Trikatu se spominje kao često korištena baza u koju su se dodavale sastavnice tadašnjih terapijskih receptura (4, 5).

C. K. Atal, ravnatelj Indijskog instituta, je proučavajući „Handbook of Domestic Medicine and Common Ayurvedic Remedies“ (izdanje iz 1998.) zaključio da 210 formulacija od ukupno 370 pregledanih ayurvedskih formulacija sadrži Trikatu ili neki od sastojaka Trikatu (21).

Otkrio je da Trikatu ima važnu ulogu u povećanju bioraspoloživosti lijekova i nutrijenata pri peroralnoj primjeni jer ubrzava apsorpciju iz gastrointestinalnog trakta i/ili štiti lijek od metaboliziranja i oksidacije u prvom prolasku kroz jetru (4, 5).

Trikatu se koristio za liječenje vrućice, astme, prehlade i kašlja, dijabetesa, pretilosti, anoreksije, bolesti probavnog i respiratornog sustava te normalizaciju funkcije mokraćnog sustava. Trikatu smjesa ima hepatoprotektivni, antioksidativni, analgetički, protuupalni, antibakterijski, antifungalni, adaptogeni, imunomodulatorski i antitumorski farmakološki učinak.

U tablici 2. navedena je tradicionalna primjena piperina, kao glavne sastavnice crnog papra, te učinci piperina koji su predmet novijih istraživanja.

Tablica 2. Usporedba tradicionalne upotrebe piperina i rezultata novijih istraživanja

(22, 23)

| Tradicionalna primjena | Novija istraživanja na staničnom nivou | Novija istraživanja na životinjama | Novija istraživanja na dobrovoljcima |
|---|---|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> ▪ Reuma ▪ Prehlada ▪ Mišićna bol ▪ Gripa ▪ Diuretik ▪ Spazmolitik ▪ Potiče salivaciju ▪ Poboljšava apetit ▪ Karminativ ▪ Migrena ▪ Dijabetes ▪ Dispepsija ▪ Loša probava ▪ Grlobolja ▪ Analgetik ▪ Antipiretik ▪ Kašalj ▪ Antiseptik | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Imunomodulatorska aktivnost ▪ Redukcija titra protutijela u serumu ▪ Povećanje biorasploživosti lijekova ▪ Antioksidacijsko djelovanje ▪ Inibicija rasta metastaza u plućima ▪ Usporavanje lipidne peroksidacije ▪ Povećanje broja leukocita ▪ Smanjenje imunološkog odgovora na alergiju ▪ Povećanje aktivnosti enzima | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Antimetastatik ▪ Aktivacija enzimatskih reakcija ▪ Antibakterijsko djelovanje ▪ Povećanje plodnosti ▪ Djelovanje na biotransformaciju lijekova ▪ Digestiv ▪ Protuulkusno djelovanje ▪ Antiameboidno i fungicidno djelovanje ▪ Antifibrozni učinak ▪ Antioksidans ▪ Antidijaroik | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Povećanje biorasploživosti lijekova ▪ Povećanje apsorpcije hranjivih tvari ▪ Antikancerogeno djelovanje ▪ Antibakterijsko i protuupalno djelovanje ▪ Smanjenje oksidativnog stresa kod dijeta bogatih mastima ▪ Poticanje metabolizma lipida ▪ Utjecaj na hiperlipidemijske parametre ▪ Antiasmatično djelovanje |

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Danas su na tržištu dostupni mnogi fitopreparati koji sadrže crni papar. Mnogi od njih preporučuju se pacijentima za različite tegobe bez znanstvenih dokaza o navedenom učinku. Cilj ovog specijalističkog rada je dati pregled dosadašnjih znanstvenih spoznaja o fitokemijskih sastavu i biološkim učincima crnog papra (*Piper nigrum* L.) kako bi se prema znanstveno utemeljenim dokazima mogli donijeti relevantni zaključci o fitoterapijskom potencijalu ove biljne vrste i njezinih bioaktivnih sastavnica.

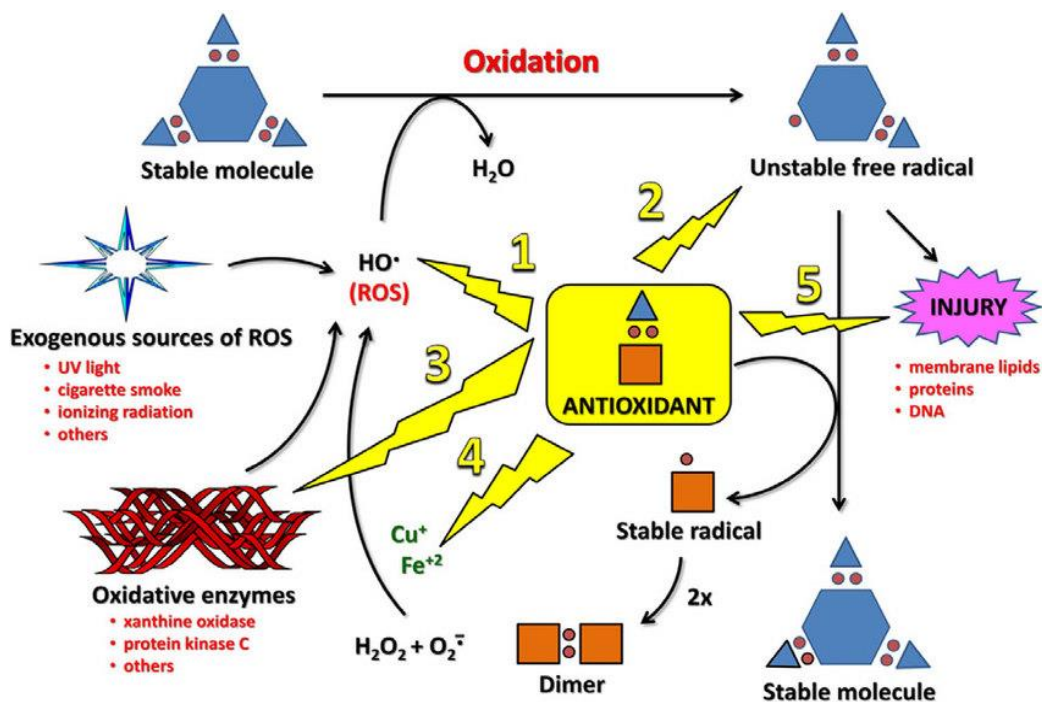
3. MATERIJALI I METODE - SUSTAVNI PREGLED SAZNANJA O TEMI

Istraživanja u okviru ovoga specijalističkog rada su teorijskog karaktera, a uključuju pregled dostupne literature o dosadašnjim znanstvenim spoznajama o nekliničkim i kliničkim istraživanjima crnog papra i piperina kao njegove najčešće ispitivane biološki aktivne sastavnice. U pretraživanju su korištene dostupne elektronske bibliografske baze podataka kao što su Current Contents, ScienceDirect, Scopus, PubMed i MedLine. Prikupljeni podaci su proučeni i sistematično prikazani, a obuhvaćaju fitokemijske podatke o crnom papru te odabrana relevantna neklinička i klinička istraživanja s posebnim naglaskom na piperin kao najvažniju sastavnicu ploda crnog papra

3.1. Neklinička istraživanja crnog papra

3.1.1. Antioksidacijski učinak

Oksidacijski stres u organizmu nastaje narušavanjem ravnoteže između stvaranja slobodnih radikala i obrambenog djelovanja antioksidansa (slika 7). Slobodni radikali napadaju biološke molekule, mogu oštetiti stanične funkcije, dovesti do smrti stanica i progresije različitih bolesti. Stoga je antioksidacijski potencijal biljaka predmet mnogih istraživanja koja imaju za cilj otkrivanje novih, prirodnih antioksidansa koji nisu toksični za organizam i ekološki su prihvatljivi.



Slika 7. Shematski prikaz glavnih antioksidacijskih mehanizama (1) Hvatanje slobodnih radikala, (2) Doniranje H•, (3) Inhibicija oksidacijskih enzima, (4) Keliranje prijelaznih metala, (5) Popravak oštećenih staničnih dijelova (24)

In vitro studije dokazuju da piperin može inhibirati slobodne radikale i imati zaštitnu ulogu u prevenciji oštećenja stanica uslijed oksidacijskog stresa. Piperin ima antioksidacijsko djelovanje jer pomaže u održavanju koncentracije najvažnijih

antioksidacijskih enzima superoksid dismutaze, katalaze, glutation-peroksidaze i glutation-S-transferaze (25).

Istraživanjem u kojem su analizirani uzorci listova i plodova vrsta *Piper nigrum* i *Piper longum* dokazano je antioksidacijsko djelovanje crnog papra zbog prisutnih flavonoida i fenolnih sastavnica. Antioksidacijski potencijal plodova crnog papra potvrđen je određivanjem ukupnog antioksidacijskog potencijala, sposobnosti redukcije metalnih iona i inhibicijom lipidne peroksidacije. Plod papra pokazao se posebno učinkovit kao inhibitor lipidne peroksidaze pri čemu je dosegnuo postotak inhibicije od 77,77% (26).

Istraživanja potvrđuju da piperin smanjuje *in vitro* i *in vivo* peroksidaciju lipida u stanicama jetre i sprečava smanjenje koncentracije glutationa koji eliminira ksenobiotike iz stanica u procesu glukuronidacije (27).

Piperin kao moćan hvatač slobodnih radikala smanjuje oštećenja jetre inducirane acetaminofenom kod miševa (28).

Antioksidacijski potencijal metanolnog ekstrakta crnog papra s visokim udjelom piperina (0,917 mg piperina/1 mg ekstrakta) proučavan je *in vivo* u modelu štakora koji su u hipokampusu imali plakove amiloid-beta (A β) peptida karakterističnih za Alzheimerovu bolest. Nakon trodnevne oralno aplicirane doze od 50 i 100 mg/kg procijenjena je antioksidacijska učinkovitost u hipokampusu mjerenjem aktivnosti superoksid dismutaze, katalaze i glutation peroksidaze te određivanjem ukupnih razina glutationa (glavni antioksidans u organizmu), malondialdehida (marker oštećenja lipida oksidativnim stresom) i proteinskih karbonila (marker oksidativnog oštećenja proteina). Zaključeno je da ekstrakt crnog papra ublažava oštećenje prostornog pamćenja izazvanog stvaranjem plakova amiloid-beta peptida jer smanjuje oksidacijski stres u hipokampusu štakora (29).

Antioksidacijski potencijal papra proučavan je na animalnom modelu kod hrčaka kojima je aterogena prehrana dopunjena sa tri vrste papra (*Piper guineense* Schum. i Thonn, *Piper nigrum* L. i *Piper umbellatum* L.) kroz 21 dan. Aterogena prehrana povećava razinu lipida u plazmi, uzrokuje oksidacijski stres i potiče aterosklerozu. U odnosu na skupinu kod koje je unošenje samo aterogene hrane uzrokovalo povećanje vrijednosti lipida, kod skupine kojoj je u aterogenu hranu dodavan papar dokazana je značajna inhibicija negativnog učinka prehrane bogate životinjskim masnoćama na lipidni profil. Ekstrakti raznih vrsta papra pokazali su antioksidacijski učinak u srčanom, jetrenom i bubrežnom tkivu koje je izloženo oksidacijskom stresu kao posljedici aterogene prehrane (30).

Gülçin (2009) je ispitao antioksidacijski potencijal vodenog i etanolnog ekstrakta crnog papra koristeći metode određivanja ukupnog antioksidacijskog potencijala, hvatanja DPPH radikala, hvatanja superoksid anion radikala, hvatanja vodikovog peroksida, redukcijskog potencijala te sposobnosti keliranja metalnih iona. Oba ekstrakta pokazala su iznimno dobar dobar učinak inhibirajući peroksidaciju linole kiseline. Pri koncentraciji od 75 mg/mL postotak inhibicije peroksidacije za vodeni i etanolni ekstrakt crnog papra iznosio je 95,5% i 93,3% što je odgovaralo učinku standardnih antioksidansa butil-hidoksianisola (BHA) i butil-hidroksitoluena (BHT), dok je značajno nadmašilo učinak α -tokoferola (31).

Eterično ulje crnog papra (22,24% β -kariofilena, 16,88% limonena, 13,01% sabinena) kao i acetonski ekstrakt crnog papra (33,53% piperina i 12,07 piperoleina B) pokazali su bolju antioksidacijsku učinkovitost na uzorku lanenog ulja u odnosu na BHA i BHT (32).

3.1.2. Antitumorski učinak

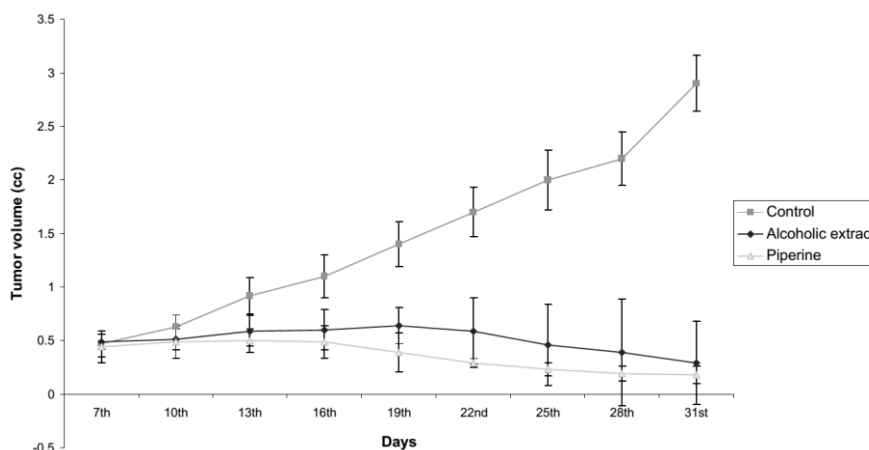
Kloroformski i petroleterski ekstrakti korijena crnog papra pokazali su citotoksični učinak *in vitro* na HL-60 stanicama humane mijeloične leukemije (IC_{50} = 9,8 i 11,2 $\mu\text{g/mL}$). Metanolni ekstrakti ploda crnog papra citotoksično je djelovao na MCF-7 i MDA-MB-231 stanične linije raka dojke dok je diklormetanski ekstrakt imao jači učinak na MDA-MB-468 staničnu liniju. Za etanolni ekstrakt ploda crnog papra također je potvrđeno citotoksično djelovanje na stanične linije kolorektalnog raka (HT-29, HCT-116 i HCT-15), pri čemu su postignute IC_{50} vrijednosti od 7,4; 3,4 i 1.9 $\mu\text{g/mL}$. Osim za ekstrakte crnog papra, antitumorski učinak potvrđen je i za izolirane sastavnice kusunokinin, piperlonguminin, pelitorin i piperin (33).

Citotoksični učinak etanolnog ekstrakta crnog papra ispitan je na HCT-116, HCT-15 i HT-29 staničnoj liniji humanog kolorektalnog karcinoma. Inhibicija staničnog rasta ovisila je o primijenjenoj vrsti ekstrakta, a maksimalnu učinkovitost pokazao je 50% etanolni ekstrakt crnog papra koji je ujedno imao najviši udio fenolnih spojeva (34).

Iako je potvrđeno da ekstrakt crnog papra posjeduje antitumorski učinak brojnija su istraživanja koja su ispitivala antitumorski učinak piperina kao najvažnije sastavnice ploda crnog papra.

Istraživanjima u *in vivo* modelu je utvrđeno da alkoholni ekstrakt plodova crnog papra u koncentraciji od 500 $\mu\text{g/mL}$ djeluje citotoksično na tumorske stanice nakupljene u trbušnoj šupljini miševa s Daltonovim limfomom (DLA) dok citotoksična koncentracija ekstrakta iznosi 250 $\mu\text{g/mL}$ kod miševa s Ehrlichovim ascitesnim tumorom (EAC). Utvrđeno je da je piperin citotoksičan za stanice DLA i EAC tumora kod miševa u koncentraciji od 250 $\mu\text{g/mL}$. Alkoholni ekstrakt crnog papra u dozi od 10 mg/dan i piperina u dozi 1,14 mg/dan kod miševa može inhibirati razvoj tumora (slika

8) koji su inducirani DLA stanicama i povećati preživljavanje štakora s Ehrlichovim ascitesnim karcinomom sa 37,3 na 58,8%. Antitumorsko djelovanje crnog papra i piperina moguće je objasniti njihovim dokazanim imunomodulacijskim svojstvima pri čemu mogu potaknuti stanični i humoralni imunološki odgovor (35).



Slika 8. Prikaz učinka ekstrakta crnog papra i piperina na smanjenje tumorske mase kod Swiss albino miševa s DLA tumorom (35)

Učinak piperina na inhibiciju rasta metastaza u plućima izazvanih stanicama melanoma B16F-10 proučavan je na miševima C57BL/6. Nakon primjene piperina je značajno smanjena koncentracija hidroksiprolina, uronske kiseline i heksozamina u metastaziranim plućima. Piperin usporava rast metastaza u plućima miševa uzrokovanih stanicama melanoma B16F-10 što je rezultiralo produženim preživljavanjem životinja tretiranih piperinom u odnosu na netretiranu skupinu (36).

Rak prostate, kao najučestaliji solidni tumor kod muškaraca, uzrokuje veliki broj smrtnih slučajeva godišnje. U sklopu istraživanja Samyikutty i suradnika ispitan je učinak piperina na staničnim linijama androgen ovisnog i androgen neovisnog karcinoma prostate. Piperin je inhibirao proliferaciju staničnih linija karcinoma prostate LNCaP, PC-3, 22RV1 i DU-145 u ovisnosti o primijenjenoj dozi. Piperin je također inducirao apoptozu u LNCaP staničnoj liniji hormonski ovisnog karcinoma prostate te

prekinuo ekspresiju androgenog receptora. Zabilježeno je i značajno smanjenje prostata specifičnog antigena u navedenoj staničnoj liniji (37).

Osim što je potvrđeno antitumorsko djelovanje piperina potvrđen je i njegov učinak na povećanje antitumorske aktivnosti docetaksela. Paralelnom primjenom piperidina i docetaksela došlo je do piperinom uzrokovane inhibicije CYP3A4 enzima što je rezultiralo povećanjem površine ispod krivulje, poluživota docetaksela kao i njegove maksimalne koncentracije u plazmi. Sinergističkom primjenom piperina i docetaksela došlo je do boljeg antitumorskog učinka docetaksela na animalnom modelu raka prostate (38).

Piperin inhibira proliferaciju stanica osteosarkoma uzrokujući zaustavljanje staničnog ciklusa u G2/M fazi što je povezano sa smanjenom ekspresijom ciklina B1 i povećanom fosforilacijom kinaze ovisne o ciklinu B1 koja sudjeluje u kontroli staničnog ciklusa. Zaključeno je da piperin može inducirati oštećenja DNK i apoptozu tumorskih stanica kod osteosarkoma (39).

Piperin može povećati učinkovitost faktora tumorske nekroze kod apoptoze stanica raka dojke. Trostruko negativni karcinom dojke (TNBC) najagresivniji je tip raka dojke koji dobro reagira na terapije temeljene TRAIL-u (*eng. tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand*). Piperin je dokazan kao moćan adjuvans kod liječenja TNBC *in vitro* i *in vivo* kod modela miševa jer povećava učinkovitosti terapija temeljenih na TRAIL-u, inhibicijom antiapoptotičkog proteina survinina (40).

3.1.3. Protuupalni učinak

Mnogobrojne vrste porodice Piperaceae pokazale su protuupalni učinak inhibirajući u *in vitro* modelima sintezu prostaglandina i leukotriena. Heksanski ekstrakt crnog papra u koncentraciji 26 µg/mL postigao je 60%-tnu inhibiciju ciklooksigenaze-1

dok je postotak inhibicije za 5-lipoksigenazu iznosio 10% pri testiranoj koncentraciji od 10 µg/mL (41).

Protuupalni učinak piperina, heksanskog i etanolnog ekstrakta plodova crnog papra određivan je kod štakora metodom mjerenja edema šape uzrokovanog injekcijom karagenana pri čemu su štakori tretirani različitim dozama ekstrakta i piperina. Volumen nastalog edema zadan je kao mjera protuupalnog učinka prije injektiranja te 30, 60 i 120 minuta nakon injektiranja karagenana. Piperin je u dozama od 10 i 15 mg/kg pokazao protuupalni učinak (smanjenje edema) nakon 30 minuta i sa ukupnim trajanjem od 60 minuta, dok su heksanski i etanolni ekstrakt sličan efekt postigli pri dozi od 10 mg/kg u trajanju od 120 min. Rezultati sugeriraju da piperin i ekstrakti dobiveni iz plodova crnog papra imaju značajno protuupalno djelovanje zbog inhibitornog djelovanja na ciklooksigenazu i sprječavanja oslobađanja prostaglandina (42).

Protuupalni učinak crnog papra uglavnom se povezuje s piperinom za kojeg je ovaj učinak dokazan na mnogim *in vitro* i *in vivo* modelima. Na animalnom modelu artritisa dokazan je suprimirajući učinak piperina na interleukin-6 (IL-6), matriks metaloproteinazu 13, aktivirajući protein-1 i prostaglandin E2 u dozi od 20 i 100 mg/kg. Posljedično su i simptomi artritisa također bili značajno smanjeni (43).

Protuupalni učinak piperina proučavan je i na *in vivo* modelu kod ženki miševa sa endometritisom koji je izazvan patogenom bakterijom *Staphylococcus aureus*. Piperin je otopljen u 5 mL tris puferirane fiziološke otopine (TBS) u koncentracijama koje odgovaraju 25, 50 i 100 mg/kg, na temelju težine miševa. Nakon 24 h od infekcije *S. aureus* u maternici, otopina piperina injicirana je intraperitonealno tri puta svakih 6 h. Neravnoteža u proizvodnji upalnih citokina poput interleukina-6, faktora tumorske nekroze- α (TNF- α), interleukina-1 (IL-1) i protuupalnog interleukina-10 (IL-10)

doprinosi imunološkoj disfunkciji i nastanku upale tkiva i oštećenje organa. Piperin učinkovito smanjuje prekomjernu ekspresiju TNF- α , IL-1 β i IL-6 i pospješuje ekspresiju protuupalnog IL-10 u miševa, a djelovanje je proporcionalno dozi injektiranog piperina. *S. aureus* uzrokuje prekomjernu ekspresiju toll-like receptora TLR-2 i TLR-4 koji također igra važnu ulogu u procesu upale izazvane *S. aureusom*. Stimulacija TLR-2 i TLR-4 može dovesti do proizvodnje različitih citokina i potiče upalnu reakciju koja se može inhibirati pomoću piperina koji smanjuje ekspresiju TLR-2 i TLR-4. Dobiveni rezultati pokazuju da piperin može biti potencijalni protuupalni lijek kod endometritisa i kod drugih bolesti uzrokovanih *S. aureus* (44).

Astma je upalna bolest uzrokovana nepravilnim imunskim reakcijama na sluznici dišnih putova, sa simptomima upale dišnih puteva praćene povećanim stvaranjem sluzi zbog hiperplazije vrčastih stanica i povećanja debljine stijenke dišnih putova koji nastaju zbog povećane aktivnosti Th2 stanica. Th2 stanice (podvrsta T-limfocita) posreduju u imunskom odgovoru proizvodeći citokine poput IL-4, IL-5 i IL-13 koji su odgovorni za snažnu upalnu reakciju. Antiasmatski učinak piperina ispitan je na animalnom modelu pri čemu su korišteni Balb/c miševi kod kojih je astma uzrokovana inhalacijom ovalbumina. Piperin u koncentraciji od 4,5 i 2,25 mg/kg apliciran je miševima 5 puta tjedno u periodu od 8 tjedana nakon čega su analizirane bronhoalveolarna tekućina, stanice pluća i serum. Rezultati su pokazali da je piperin smanjio upalne parametre u animalnom modelu astme, a učinak je uzrokovan supresijom Th2 citokina (IL-4, IL-5, IL-13), supresijom imunoglobulina E te povećanom ekspresijom TGF- β 1 (transforming growth factor) gena u plućima (45).

3.1.4. Analgetski učinak

Analgetski učinak piperina, heksanskog i etanolnog ekstrakta plodova crnog papra određivan je pomoću testa potapanja repa, testa vruće ploče i testa grčenja mišića kod štakora. Test potapanja repa kod miševa potvrdio je značajnu analgetsku aktivnost piperina u dozi od 5 mg/kg, etanolnog ekstrakta u dozi od 15 mg/kg nakon 120 min i heksanskog ekstrakta u dozi od 10 mg/kg nakon 60 minuta u odnosu na kontrolnu grupu i standard (diklofenak natrij). U testu vruće ploče kod štakora je utvrđeno najveće analgetsko djelovanje piperina pri nižim dozama (5 i 10 mg/kg) nakon 120 min, a kod ekstrakata je utvrđena vrlo niska analgetska aktivnost pri svim koncentracijama u odnosu na kontrolnu grupu i standard (acetilsalicilna kiselina). Međutim, u testu pritiska šape maksimalni analgetski učinak piperina postignut je u dozi od 15 mg/kg, heksanskog ekstrakta u dozi od 5 mg/kg i etanolnog ekstrakta u dozi od 10 mg/kg u jednakom vremenu od 60 minuta. Rezultati sugeriraju da piperin i ekstrakti dobiveni iz plodova crnog papra imaju značajni analgetski učinak (42).

Kod albino miševa proučavana je periferna analgetska aktivnost nakon oralne primjene diklofenaka (5 mg/kg), ekstrakta *P. nigrum* (10 mg/kg) i njihove kombinacije (5 + 10 mg/kg) dok je za ispitivanje centralne analgetske aktivnosti korišten pentazocin (5mg/kg) umjesto diklofenaka. Kod samostalne primjene piperin ne pokazuje značajnu analgetsku aktivnost. Diklofenak natrij smanjuje abdominalne grčeve uzrokovane octenom kiselinom za 54,90 % u odnosu na kontrolnu skupinu, dok kombinacija diklofenaka i piperina smanjuje bol za 78,43 % u odnosu na kontrolnu skupinu. Ekstrakt papra u kombinaciji s pentazocinom pokazuje značajno bolji antinociceptivni učinak u odnosu na sam pentazocin, stoga rezultati sugeriraju da ekstrakt papra značajno povećava analgetsku aktivnost natrijevog diklofenaka i pentazocina (46).

3.1.5. Antimikrobni učinak

Antimikrobni učinak eteričnog ulja kao i fenolnih sastavnica crnog papra te piperina na gram-pozitivne i gram-negativne bakterije dokazan je u mnogim studijama. Dokazan je antibakterijski učinak piperina na *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* i *Escherichia coli* te antifungalni učinak na *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Alternaria alternata* i *Fusarium oxysporum*. Fenolne sastavnice dobivene iz sjemenki svježeg crnog papra mogu inhibirati rast bakterija iz roda *Bacillus*, *E. coli*, *S. aureus*, i *Staphylococcus faecalis*. Eterično ulje crnog papra pokazalo je jako dobar antibakterijski učinak na *E.coli* karakterističnu za mesne pripravke pri čemu je postignuta minimalna inhibitorna koncentracija (MIC) bila 1 $\mu\text{L/mL}$. Obzirom na niske koncentracije u kojima inhibira rast *E. coli* eterično ulje crnog papra ima veliki potencijal za primjenu kao prirodni antibiotik u mesnoj industriji. Značajno antibakterijsko djelovanje eteričnog ulja crnog papra dokazano je za *E.coli*, *B. subtilis* i *S. aureus*. Difuzijskom metodom ispitani su i razni ekstrakti ploda crnog papra pri čemu je etanolni ekstrakt postigao najveću zonu inhibicije rasta *E. coli* od 36 mm i *S. aureus* od 38 mm dok metanolni ekstrakt na navedene bakterije nije djelovao (1, 2, 47).

Antifungalni učinak različitih ekstrakata ploda crnog papra (etanolni, metanolni, acetonski, petroleterski diklormeanski i vodeni) ispitan je difuzijskom i dilucijskom metodom na devet *Candida* sojeva uz ketokonazol kao pozitivnu kontrolu. Petroleterski ekstrakt uopće nije pokazao antifungalni učinak dok se kao najučinkovitiji pokazao diklormetanski ekstrakt pri čemu su zone inhibicije iznosile od 11.3 mm do 20.3 mm. Diklormetanski ekstrakt postigao je i najnižu MIC od 12,5 mg/mL (48).

Dosadašnja antimikrobna ispitivanja crnog papra provedena su pretežno difuzijskom metodom, te bi za preciznije rezultate trebalo provesti više istraživanja dilucijskom metodom kojom dobivamo točne vrijednosti MIC-a.

U vrijeme trenutne pandemije sve su poželjnija istraživanja prirodnih bioaktivnih sastavnica s antivirusnim svojstvima. *In vitro* ispitivanja smjese ekstrakta kurkume i crnog papra ukazala su na njegovo antiviralno djelovanje na SARS-CoV-2 virus. Osim virucidnog djelovanja, testirana smjesa ekstrakata pokazala je sposobnost inhibicije nuklearne translokacije faktora NF- κ B p50, smirujući na taj način citokinsku oluju uzrokovanu SARS-CoV-2 virusom. Iako su rezultati istraživanja ohrabrujući učinak je potrebno potvrditi u *in vivo* i kliničkim studijama (49).

3.1.6. Hipolipemični učinak

Plod crnog papra ispitan je na štakorima koji su bili na režimu prehrane bogate mastima. Životinje su bile podijeljene u tri skupine; prva skupina je primala 250 mg/kg tjelesne težine, druga skupina je primala 500 mg/kg dok je u trećoj skupini primijenjen piperin u dozi od 20mg/kg dnevno. Rezultati su pokazali da je došlo do značajnog smanjenja razina ukupnog kolesterola, slobodnih masnih kiselina, fosfolipida i triglicerida u svim tretiranim skupinama u usporedbi s kontrolnom skupinom. Štoviše suplementacija crnim paprom i piperinom povisila je koncentraciju lipoproteina visoke gustoće (HDL), a smanjila koncentracije lipoproteina niske gustoće (LDL). Na osnovu ovih rezultata može se zaključiti da bi redoviti dnevni unos crnog papra ili piperina mogao smanjiti rizik od ateroskleroze zahvaljujući svom hipolipemičnom učinku (50).

Sličan učinak crnog papra potvrdili su Yang i suradnici (2019) ispitujući djelovanje crnog papra na lipoproteine u serumu, parametre povezane s antioksidacijskim kapacitetom, dnevni rast, te unos hrane kod tovljenih svinja. Životinje težine 30 kg su bile podijeljene u dvije skupine, ispitivana skupina je uz standardnu prehranu dobivala crni papar u dozi od 3 g po kilogramu hrane sve dok životinje nisu dosegly težinu od 100 kg. Rezultati su pokazali značajan porast razine HDL-a i vitamina C u serumu, došlo je do poboljšanja dnevnog unosa hrane te do smanjenja

dnevnog prirasta težine životinja. Na temelju dobivenih rezultata crni papar može se koristiti kao prirodni dodatak prehrani životinja u svrhu očuvanja njihovog zdravlja te bi se pozitivan učinak na metabolizam lipida mogao očekivati i kod ljudi zbog čega su potrebne dodatne studije (51).

Antihiperlipemični učinak piperonala, sastavnice crnog papra, kao i njegov učinak na debljanje ispitan je na modelu pretilih štakora pri čemu je pretilost bila uzrokovana prehranom bogatom mastima. Štakori su bili podijeljeni u četiri skupine, skupinu koja je primala samo hranu bogatu mastima te tri skupine koje su uz navedenu prehranu dobivali 20, 30 ili 40 mg/kg tjelesne težine piperonala kroz 42 dana. Piperonal je značajno smanjio prirast težine uzrokovane prehranom bogatom mastima te je uzrokovao modulaciju gena ključnih za metabolizam lipida pri čemu je najbolji učinak zapažen kod doze od 40 mg/kg (52).

3.2. Klinička istraživanja crnog papra

Dosadašnje dostupne kliničke studije uglavnom su ograničene na ispitivanje učinaka crnog papra kao jedne od sastavnica višekomponentnih biljnih pripravaka. Provedena je klinička studija na 60 pacijenata s kroničnim osteoartritisom u području koljena. Ispitivana skupina je dva puta dnevno tijekom četiri tjedna primala ekstrakt kurkume, đumbira i crnog papra koji je sadržavao 300 mg kurkumina, 7,5 mg gingerola i 3,75 mg piperina. Pacijenti u kontrolnoj skupini primali su naproksen (250 mg) dva puta dnevno. Rezultati studije pokazali su statistički značajno smanjenje razine prostaglandina E₂ u obje skupine, bez značajnih razlika između skupina, čime je dokazan protuupalni učinak testiranog ekstrakta jednak učinku referentnog lijeka (53).

Randomizirana klinička studija na 24 pacijenta provedena je 2020. godine u svrhu ispitivanja učinkovitosti *Immutonic* kapsula na simptome gripe. *Immutonic* kapsule sadrže šest biljnih vrsta među kojima je i crni papar, a sve su vrste poznate

po svom protuupalnom i antimikrobnom učinku. Dobrovoljci su uzimali kapsule tri puta na dan kroz period od tjedan dana te su ispunjavali upitnik. Zaključak studije govori u prilog smanjenju simptoma gripe kod pacijenata koji su uzimali kapsule uz značajno poboljšanje apetita i općeg stanja organizma (54).

Na mrežnoj stranici www.clinicaltrials.gov/ct2/home navedene su registrirane kliničke studije koje uključuju crni papar ali nažalost ne postoje objavljeni rezultati. Većina kliničkih studija ispituje piperin kao klinički najvažniju sastavnicu crnog papra.

3.3 Piperin kao pojačivač bioraspoloživosti lijekova

Piperin posjeduje različite biološke aktivnosti, ali kao pomoćna tvar može utjecati na apsorpciju, bioraspoloživost i učinkovitost djelatne tvari lijeka (55).

Piperin je najpoznatiji i najistraživaniji prirodni pojačivač bioraspoloživosti koji povećava apsorpciju lijekova iz gastrointestinalnog trakta utjecajem na membransku propusnost na mjestu apsorpcije i inhibiranjem aktivnosti enzima koji metaboliziraju lijekove (CYP3A4, UDP-glukuronoziltransferaze, UDP-glukoza-dehidrogenaze i dr.). Mnogobrojna istraživanja potvrđuju da piperin pomoću navedenih mehanizama povećava bioraspoloživost mnogih lijekova kao što su amoksisicilin, ampicilin, cefotaksim, fenitoin, karbamazepin, ciprofloksacin, norfloksacin, metronidazol, oksitetraciklin, nimesulid, pentobarbiton, nevirapin i dr. (56).

Povećanje bioraspoloživosti ima terapijsku važnost, jer se zbog veće koncentracije lijeka u plazmi djelovanje postiže sa smanjenom dozom lijeka, a na taj način skraćuje liječenje te smanjuje rizik od otpornosti na lijek i nuspojave lijeka (57, 58). Pojačivači bioraspoloživosti donose revolucionarni pomak u terapiji različitih bolesti jer u malim dozama mogu poboljšati apsorpciju različitih peroralnih lijekova i nutrijenata (vitamina, minerala, aminokiselina).

3.3.1 Mehanizmi djelovanja piperina na metabolizam lijekova

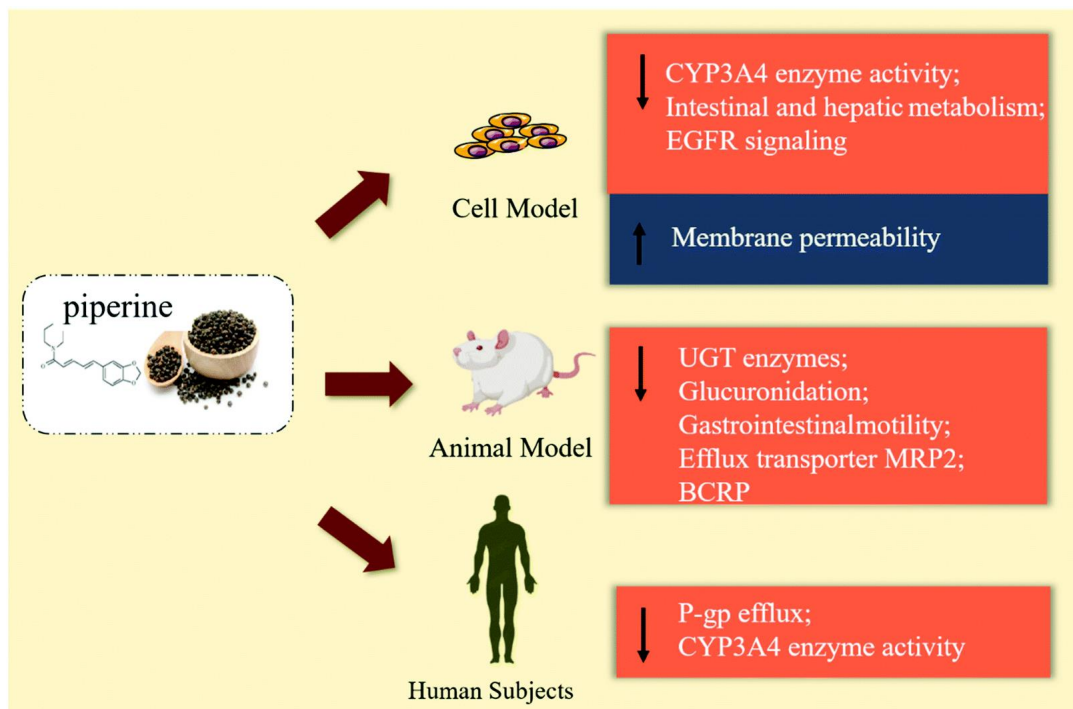
Poboljšanje biorasploživosti pomoću piperina može se postići djelovanjem na metabolizam lijeka ili poticanjem apsorpcije lijekova iz probavnog sustava, Djelovanje piperina na metabolizam lijekova uključuje inhibiciju P-glikoproteina (P-gp), važnog transportnog proteina stanične membrane koji sprječava učinkovit ulazak lijeka u sistemsku cirkulaciju. P-glikoproteinska efluks pumpa sudjeluje u odstranjivanju ksenobiotika, ali izbacuje i lijekove iz organizma. P-gp je izražen na membrani enterocita i hepatocita te pridonosi smanjenju biorasploživosti velikog broja strukturno različitih lijekova koje aktivno transportira izvan stanice. Inhibitori P-gp smanjuju transport aktivnog lijeka kroz luminalnu membranu i sprječavaju povratak lijekova apsorbiranih u citoplazmu enterocita natrag u lumen crijeva (5, 59).

Piperin inhibira djelovanje P-gp staničnih efluks pumpi koje izbacuju lijek iz stanica te sprječavaju njegovu akumulaciju u dostatnoj dozi na ciljnom mjestu djelovanja. Piperin usporava proces eliminacije lijeka iz bubrega sprječavanjem glomerularne filtracije i aktivne tubularne sekrecije, lijek se duže zadržava u tijelu čime se omogućuje potpunija apsorpcija. Inhibicija P-gp pumpi produžuje vrijeme potrebno da bubrezi potpuno očiste krvnu plazmu od lijekova (bubrežni klirens) i olakšava pasivnu tubularnu reapsorpciju. Na žučni klirens utječe i inhibiranje enzima UDP-glukuronil transferaze koji konjugira i inaktivira lijek (59).

Drugi nespecifični mehanizam djelovanja piperina na metabolizam lijekova temelji se na supresiji enzima i izoenzima iz skupine citokroma P-450 (CYP) koji djeluju u prvoj fazi metabolizma lijekova. Metabolizam varfarina, antidepresiva, antiepileptičkih lijekova i statina često uključuje enzime citokroma P450, stoga piperin inhibicijskim djelovanjem sprječavaju inaktivaciju i eliminaciju (60). Mehanizmi djelovanja prikazani su na slici 9.

Superporodica citokroma P450 predstavlja najvažnije enzime u fazi I metabolizma lijekova, koji sudjeluju u oksidacijskim reakcijama brojnih endogenih spojeva i ksenobiotika, uključujući više od 90 % lijekova u primjeni. Više od 90 % oksidacijskih reakcija događa se putem enzima CYP1A2, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1 i 3A4. Svi enzimi CYP su podložni inhibiciji, a varijabilnosti u njihovom sadržaju i aktivnosti mogu imati značajan utjecaj u odgovoru organizma na primijenjeni lijek (5).

Piperin inhibira CYP3A4, protein koji uklanja mnoge lijekove u metabolizmu prvog prolaza, što ukazuje da bi piperin mogao utjecati na koncentraciju CYP3A4 supstrata u plazmi kod ljudi, posebice ako se ti lijekovi daju oralno (61).

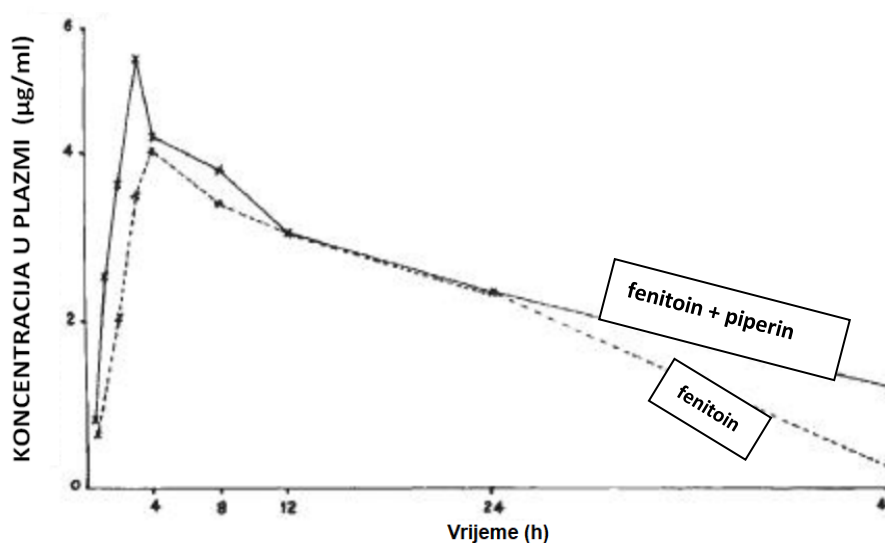


Slika 9. Mehanizmi djelovanja piperina kao pojačivača biorasploživosti lijekova (62)

3.3.2. Utjecaj piperina na odabrane lijekove

3.3.2.1. Piperin i fenitoin

Učinak piperina na farmakokinetiku fenitoina proučavan je na dobrovoljcima koji su uzimali 300 mg fenitoina samostalno ili uz dodatak 20 mg piperina. Rezultati prikazani u grafu ovisnosti koncentracije u plazmi o vremenu pokazali su da kombinacija s piperinom povećava apsorpciju i maksimalnu koncentraciju u plazmi te produžuje poluvrijeme eliminacije u odnosu na sam fenitoin. Zaključeno je da dodani piperin (20 mg) mijenja farmakokinetičke parametre fenitoina jer povećava njegovu bioraspoloživost (63, 64).



Slika 10. Učinak piperina na koncentraciju fenitoina u plazmi (63)

Utjecaj hrane koja sadrži piperin na promjenu farmakokinetike fenitoina dokazan je u istraživanju u kojem su dobrovoljci uzeli 300 mg fenitoina pola sata nakon doručka koji uključuje juhu (*melahu rasam*) bez ili sa dodanim crnim paprom. Dobiveni rezultati sugeriraju da je piperin povećao apsorpciju i područje ispod krivulje odnosa koncentracije o vremenu od 0 do 48 sati te skratio vrijeme potrebno za postizanje maksimalne koncentracije u plazmi i produžio vrijeme eliminacije fenitoina (slika 10). Dodani piperin utječe na nagli porast razine fenitoina tijekom faze apsorpcije zbog

utjecaja na inhibiciju metabolizma prvog prolaza ili pojačane i ubrzane crijevne apsorpcije koja rezultira povećanjem bioraspoloživosti lijeka (65).

3.3.2.2. Piperin s propranololom i teofilinom

Proučavani su učinci piperina na bioraspoloživost i farmakokinetiku propranolola i teofilina. Dobrovoljci su uzimali jednu dozu dnevno propranolola (40 mg) ili teofilina (150 mg) oralno, samostalno ili u kombinaciji s piperinom (20 mg) kroz 7 dana. Kraće vrijeme potrebno za postizanje maksimalne koncentracije u plazmi, viša vrijednost postignute vršne koncentracije u plazmi, veće područje ispod krivulje odnosa koncentracija - vrijeme i duže poluvrijeme eliminacije dokazani su kod ispitanika koji su primili piperin koji je poboljšao sistemsku dostupnost oralnog propranolola i teofilina. Propranolol i teofilin se moraju primjenjivati duže vrijeme, a njihovo kratko terapijsko djelovanje zahtijeva često doziranje. Na temelju sadašnjih rezultata piperin u kombinaciji s tim lijekovima mogao bi utjecati na održavanje terapijskog djelovanja u rasponu od najmanje 12 sati (66).

3.3.2.3. Piperin s rifampicinom

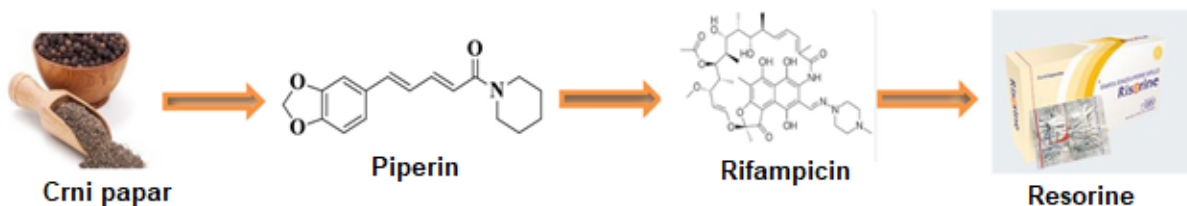
Usporedbom kinetičkih parametara nakon uzimanja formulacije A (rifampicin 450 mg, izoniazid 300 mg i pirazinamid 1500 mg) i formulacije B (rifampicin 450 mg, izoniazid 300 mg, pirazinamid 1500 mg i piperin 20 mg) vidljiv je značajan učinak piperina na povećavanje bioraspoloživosti antituberkuloznih lijekova kod dobrovoljaca (67, 68).

Risorine je formulacija koju je razvio indijski Institut za integrativnu medicinu (Jammu), a u Indiji je plasiran na tržište u studenome 2009. godine (slika 11). Sadrži rifampicin (200 mg), izoniazid (300 mg) i piperin (10 mg). Utvrđeno je da je bioekvivalentan s komercijalno dostupnim pripravcima rifampicina koji sadrže 450 mg

rifampicina jer se zbog piperina učinkovitije apsorbira i ostaje dostupan u sistemsnoj cirkulaciji duže vrijeme (69).

Provedena je randomizirana klinička studija utjecaja piperina na metabolizam rifampicina na 216 pacijenata. Rifampicin je antibiotik koji se koristi za liječenje tuberkuloze, a zbog dugotrajne primjene dovodi do smanjene bioraspoloživosti i povećane hepatotoksičnosti. U studiji su ispitana svojstva Risorina, formulacije koja uz 300 mg rifampicina i 200 mg izoniazida sadržavala i 10 mg piperina. U skupini koja je primala Risorine stopa izlječenja je bila viša nego u skupini koja je primala konvencionalnu terapiju pri čemu je razina jetrenih enzima koji upućuju na hepatotoksičnost također bila niža.

Kod pacijenata koji su primali Risorin zabilježena je viša razina rifampicina u krvi (70).



Slika 11. Piperin od izolacije iz bobica crnog papra do lijeka
(Izvor: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2590098620300142>)

3.3.2.4. Piperin s nevirapinom

Utjecaj piperina na farmakokinetiku nevirapina proučavan je kod dobrovoljaca koji su dobili nevirapin (200 mg) u kombinaciji s piperinom (20 mg) ili nevirapin s placebo. Uzorci krvi prilikom farmakokinetičke analize pokazuju da su srednje vrijednosti maksimalne koncentracije u plazmi, područja ispod krivulje odnosa koncentracije u vremenu i posljednje mjerljive koncentracije nevirapina povećane za prosječno 120 %, 167 % i 146 % kada se istodobno primjenjivao s piperinom. Za

potvrđivanje dobivenih rezultata potrebna su daljnja detaljna ispitivanja na velikom broju pacijenata koji imaju različite režime doziranja kako bi se utvrdile moguće kliničke prednosti korištenja piperina u povećanju bioraspoloživosti lijekova za liječenje HIV infekcije (71).

3.3.2.5. Piperin s diklofenak natrijem i pentazocinom

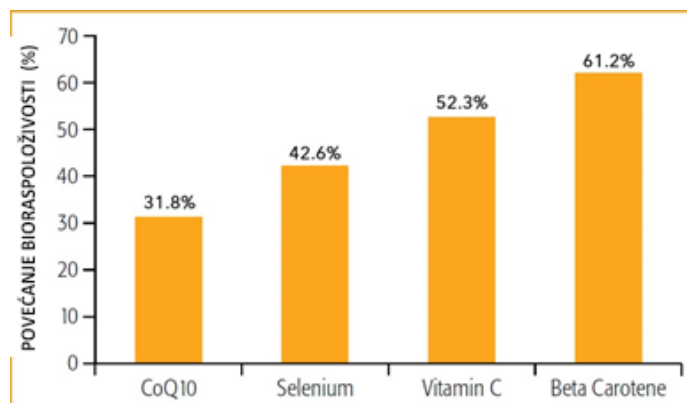
Farmakokinetika diklofenak natrija u kombinaciji s piperinom ispitana je kod dobrovoljaca kojima je davan biljni lijek koji sadrži piperin (PIP) (20 mg). Uzorci krvi prikupljeni su nakon doziranja diklofenak natrija u unaprijed određenim vremenskim intervalima i analizirani HPLC-om. Liječenje s PIP-om značajno povećava maksimalnu koncentracijom (slika 12) diklofenak natrija u plazmi (2,24–3,68 µg/mL), površinu ispod krivulje (7,09–11,81 µg.h/mL), produžava vrijeme poluživota eliminacije (1,23–1,65 h) te značajno smanjuje konstantu brzine eliminacije i prividni oralni klirens diklofenak natrija u odnosu na kontrolnu skupinu. Rezultati sugeriraju da se promijenjena farmakokinetika diklofenak natrija može pripisati inhibiciji enzima CYP2C9 piperinom što ukazuje na klinički značajnu interakciju diklofenaka i piperina. Kombinirana terapija može predstavljati novi pristup liječenju u kojem će niža doza lijeka smanjiti nuspojave u gastrointestinalnom sustavu koje nastaju nakon uzimanja samog diklofenak natrija u većim dozama (72).



Slika 12. Utjecaj piperina na maksimalnu koncentraciju diklofenaka u plazmi (72)

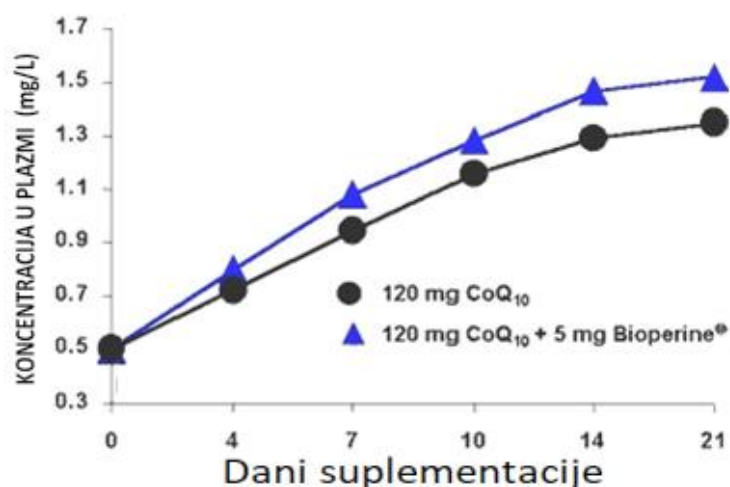
3.3.3. Utjecaj piperina na bioraspoloživost vitamina, minerala, aminokiselina i biljnih ljekovitih spojeva

BioPerine® je patentirani ekstrakt dobiven od plodova crnog papra standardiziran na minimalno 95 % piperina koji se koristi kao pojačivač bioraspoloživosti različitih hranjivih tvari više od dva desetljeća. BioPerine® tvrtke Sabinsa Corporation dobio je status pripravka sigurnog za primjenu (GRAS) nakon sveobuhvatnog pregleda podataka o sigurnosti. BioPerine® je jedini izvor piperina s kliničkim studijama u kojima se kombinirao s vitaminima (A, B1, B2, B3, B6, B9, B12 i vitaminom C), antioksidansima (likopen, lutein, zeaksantin), mineralima (Fe, Zn, V, Se, Cr, K, Mn, Cu, Ca, Mg), aminokiselinama (lizin, izoleucin, valin, triptofan, fenilalanin i metionin), koenzimom Q10 i raznim biljnim ekstraktima (najistraženiji je kurkumin). Dobiveni rezultati (slika 13) dokazuju značajno povećanje bioraspoloživosti navedenih nutrijenata jer dodani piperin pojačava apsorpciju hranjivih tvari od 30 % do 60 % (73).



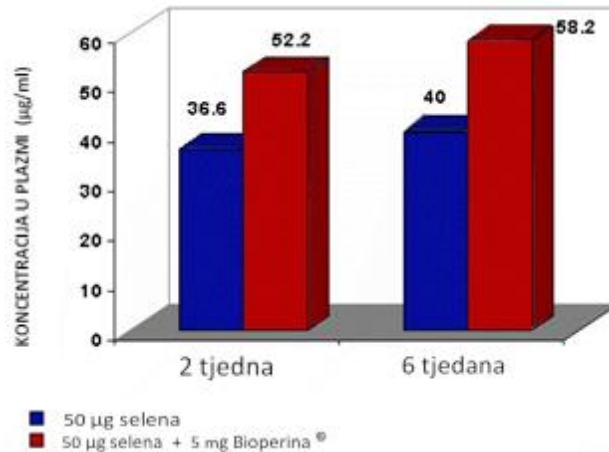
Slika 13. Učinak piperina na povećanje bioraspoloživosti koenzima Q10, selena, vitamina C i β -karotena (73)

Učinak BioPerine® na bioraspoloživost koenzima Q10 ispitivan je kod zdravih, odraslih muškaraca koji su tijekom 14 i 21 dana suplementacije podijeljeni u skupine koje uzimaju dnevnu dozu koenzima Q10 od 90 mg (14 dana), 120 mg (21 dan) s placeboom ili u kombinaciji s 5 mg piperina. Rezultati nakon 14-dnevnog ispitivanja ne pokazuju značajne razlike u koncentracije koenzima Q10 u plazmi između skupina. Kod dobrovoljaca koji su uzimali 120 mg koenzima Q10 s piperinom tijekom 21 dana (slika 14) došlo je do povećanja bioraspoloživosti od 31,8 u odnosu na suplementaciju samim koenzimom Q10 (74).



Slika 14. Učinak piperina na povećanje bioraspoloživosti koenzima Q10 (74)

Kod dobrovoljaca koji su uzimali selen u kombinaciji s BioPerinom® dokazana je najveća bioraspoloživost selena nakon šestotjedne suplementacije (slika 15).

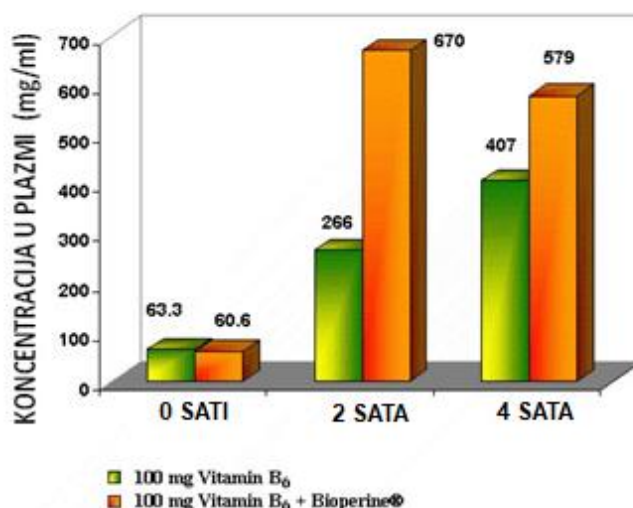


Slika 15 . Efekt BioPerina na koncentraciju selena u serumu dobrovoljaca tijekom razdoblja od 2 tjedna i 6 tjedana (<https://seleniumselect.com/selenium-select/selenium-select-bioavailability-enhancement-with-bioperine/>)

Učinak BioPerina® na bioraspoloživost β-karotena ispitan je kod zdravih, odraslih muškaraca s vrijednostima serumskih β-karotena <20 µg/dL. Tijekom 14-dnevnog razdoblja suplementacije uzimali su dnevnu dozu β-karotena (15 mg) s placeboom ili kombinaciju β-karotena s 5 mg piperina.

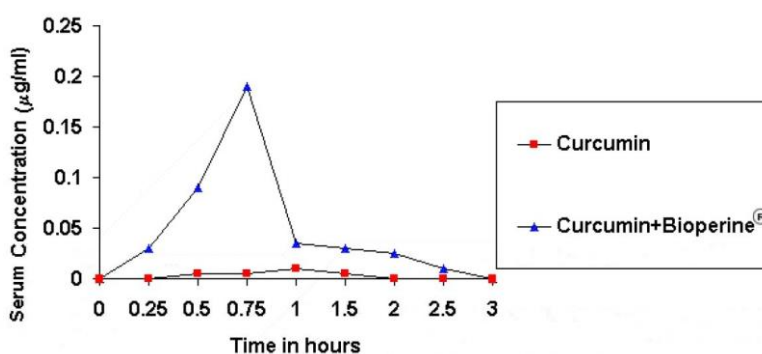
Rezultati pokazuju da se dodatkom piperina značajno povećava koncentracija β-karotena u serumu ($49,8 \pm 9,6$ µg/dL) u usporedbi sa samim β-karotenom ($30,9 \pm 5,4$ µg/dL). Piperin povećava bioraspoloživost β-karotena za 60 % (75).

Kod dobrovoljaca koji su uzimali vitamin B6 u kombinaciji s BioPerinom® dokazana je najveća bioraspoloživost B6 nakon 2 sata od suplementacije (slika 16).



Slika 16. Učinak BioPerina® (50 mg) na koncentraciju B6 u serumu tijekom istraživanja na dobrovoljcima (<https://bioperine.com/index.php/researchhighlight>)

Kurkumin (iz *Curcuma longa* L.) ima brojna dokazana ljekovita svojstva koja se ne mogu iskoristiti zbog njegove slabe biorasploživosti. Istraživanja na životinjama i ljudima dokazala su da dodani piperin inhibira glukuronidaciju kurkumina u jetri i crijevima čime se postiže veća koncentracija kurkumina u sistemskej cirkulaciji. Piperin usporava metaboliziranje kurkumina i povećava njegovu intestinalnu apsorpciju jer djeluje na dinamiku lipidnih membrana i konformaciju enzima u crijevima. Istraživanje ukazuje na značajno povećanje maksimalne koncentracije kurkumina u serumu (slika 17) nakon istovremenog unošenja kurkumina u dozi 2 g/kg i piperina u dozi od 20 mg/g već u prvom satu nakon uzimanja (76).



Slika 17. Utjecaj BioPerina® (20 mg/g) na biorasploživost kurkumina (76)

3.3.4. Sigurnosni profil piperina

Kod prosječne zdrave odrasle osobe, plod crnog papra je učinkovit i siguran u širokom rasponu doza kao začin u svakodnevnoj prehrani. Crni papar sadrži otprilike 5-9 % piperina te ga je Uprava za hranu i lijekove (FDA) navela kao biljku sigurnu za primjenu (GRAS – Generally Recognized As Safe) kao začin. Prosječna preporučena dnevna doza piperina za oralnu primjenu kod zdrave osobe iznosi oko 5 mg. Učinkovita dnevna doza piperina, kao nadomjestka prehrani u svrhu povećanja bioraspoloživosti nutrijenata, kreće se u rasponu od 0,0004 do 0,15 mg/kg tjelesne mase. Kod peroralnih lijekova dnevna doza piperina iznosi od 15 mg do najviše 20 mg u podijeljenim dozama (po osobi) što odgovara vrijednostima značajno manjim od letalne doze piperina kod 50 % životinja (LD_{50}), kako je utvrđeno u raznim eksperimentima na glodavcima (77).

Otkriveno je da LD_{50} intragastrično primijenjenog piperina iznosi 330 mg/kg tjelesne mase kod miševa i 514 mg/kg tjelesne mase kod štakora. Većina životinja kojima je dana letalna doza umrla je od paralize disanja u roku 3–17 min. U studijama subakutne toksičnosti, štakori su uginuli u roku 1–3 dana nakon tretmana zbog histopatoloških promjena (hemoragična nekroza i edemi u probavnom traktu, mokraćnom mjehuru i nadbubrežnim žlijezdama). U testovima subakutne toksičnosti za piperin u dozi od 100 mg/kg utvrđeno je da nije toksičan (78).

Rezultati procjene akutne toksičnosti ukazuju da *P. nigrum* u dozi od 15 mg/kg ne utječe na smrtnost jedinki, međutim intraperitonealno unošenje većih doza (75, 50 i 25 mg/kg) uzrokuje 100%-tnu smrtnost kod miševa. Kod doze od 75 mg/kg sve tretirane životinje ugibaju za 24 sata, a kod 25 mg/kg i 50 mg/kg za 48 sati. Oralna primjena piperina, te heksanskog i etanolnog ekstrakta crnog papra ima izvrstan sigurnosni profil jer nema letalnog učinka na miševe (42).

4. RASPRAVA

Višestoljetna tradicija medicinske primjene sušene nezrele bobice ploda crnog papra koji se uzgaja u jugoistočnoj Aziji i Južnoj Americi u ljekovite svrhe potvrđuje se brojnim znanstvenim istraživanjima. Plod crnog papra kvantificira se na udjele piperina (najmanje 3 %) i eteričnog ulja (najmanje 25 mL/kg). Od 80 izoliranih sastavnica, upravo se najveći terapijski potencijal pripisuje glavnom alkaloidu piperinu. Animalne studije su pokazale da crni papar ima antioksidacijsko djelovanje jer prisutni flavonoidi imaju povoljan učinak na najvažnije antioksidacijske enzime superoksid dismutazu, katalazu, glutation-peroksidazu i glutation-S-transferazu. Hepatoprotektivno djelovanje potvrđeno je *in vitro* istraživanjima koji ukazuju na smanjenu peroksidaciju lipida u jetri i sprečavanje smanjenja koncentracije glutationa koji eliminira ksenobiotike iz stanica u procesu glukuronidacije. Ekstrakti raznih vrsta papra mogu imati antioksidacijsku zaštitnu ulogu u srčanom, jetrenom i bubrežnom tkivu koje je izloženo oksidacijskom stresu kao posljedici aterogene prehrane. U 50 % etanolnim ekstraktima plodova crnog papra je zabilježen najveći postotak ukupnih fenola, a posljedično i najveći inhibični efekt na stanice tumora. Alkoholni ekstrakt plodova crnog papra djeluje citotoksično na tumorske stanice, inhibira razvoj i progresiju tumora i angiogenezu, može povećati ukupni broj leukocita i stanica koštane srži. Zbog dokazanih imunomodulacijskih svojstava plod crnog papra može potaknuti stanični i humoralni imunološki odgovor. *In vivo* i *in vitro* istraživanja ukazuju na protuupalno djelovanje ploda crnog papra koje se temelji na inhibiciji sinteze različitih enzima čiji višak u organizmu pokreće cijelu kaskadu opasnih upalnih reakcija. *In vivo* testovima potvrđeno je da ekstrakti dobiveni iz plodova crnog papra pomoću otapala heksana i etanola imaju značajni analgetski učinak. Antimikrobni učinak eteričnog ulja kao i fenolnih sastavnica crnog papra na gram-pozitivne i gram-negativne bakterije dokazan je u mnogim studijama. *In vitro* ispitivanja smjese ekstrakta kurkume i crnog papra ukazala su na njegovo antiviralno

djelovanje na SARS-CoV-2 virus. Osim virucidnog djelovanja, testirana smjesa ekstrakata pokazala je sposobnost inhibicije nuklearne translokacije faktora NF- κ B p50, smirujući na taj način citokinsku oluju uzrokovanu SARS-CoV-2 virusom. Iako su rezultati istraživanja ohrabrujući učinak je potrebno potvrditi u *in vivo* i kliničkim studijama.

Plod crnog papra kao pomoćna tvar može utjecati na apsorpciju, bioraspoloživost i učinkovitost djelatne tvari lijeka. Mnogobrojna istraživanja potvrđuju da povećava bioraspoloživost mnogih lijekova kao što su amoksisilin, ampicilin, cefotaksim, fenitoin, karbamazepin, ciprofloksacin, norfloksacin, metronidazol, oksitetraciklin, nimesulid, pentobarbiton, nevirapin i dr.

Dosadašnje dostupne kliničke studije potvrđuju terapijski potencijal crnog papra, no uglavnom su ograničene na ispitivanje učinaka crnog papra kao jedne od sastavnica složenih biljnih pripravaka.

BioPerine® je jedini izvor piperina s kliničkim studijama koje potvrđuju utjecaj dodanog ploda crnog papra na povećanje bioraspoloživosti vitamina (A, B6 i C), minerala (Se) i koenzima Q10 zbog porasta njihove apsorpcije za 30 % do 60 %. Istraživanja na životinjama i ljudima dokazala su da BioPerine® inhibira glukuronidaciju kurkumina u jetri i crijevima stoga utječe na značajno povećanje maksimalne koncentracije kurkumina u serumu nakon istovremenog unošenja kurkumina i piperina u dozi od 20 mg/g već u prvom satu nakon uzimanja.

Crni papar sadrži otprilike 5-9 % piperina te ga je Uprava za hranu i lijekove (FDA) navela kao biljku sigurnu za primjenu (GRAS – Generally Recognized As Safe) kada se koristi kao začin u svakodnevnoj prehrani. Konzumiranje piperina u visokim koncentracijama može biti toksično za središnji živčani i reproduktivni sustav pa su

potrebna daljnja klinička ispitivanja koja će uz biološke učinke utvrđivati i sigurnosni profil piperina.

5. ZAKLJUČCI

Piper nigrum L. (crni papar) je biljna vrsta iz porodice Piperaceae podrijetlom iz južne Indije, a danas se najviše uzgaja u tropskim i suptropskim krajevima jugoistočne Azije i Južne Amerike. U praksi se koriste plodovi crnog papra koji se dobivaju sušenjem nezrelih plodova. Sadrže alkaloidne od kojih je najvažniji piperin (1-piperoinpiperidin), odgovoran za opor i pikantan okus, te eterično ulje koje doprinosi aromi. Najveći terapijski potencijal pripisuje se glavnom alkaloidu piperinu, a od ostalih alkaloida dokazani su piperetin, piperanin, piperilin A, piperolein b i pipericin. U eteričnom ulju izoliranom iz plodova crnog papra najzastupljeniji su α - i β -pinen, mircen, α -felandren, limonen i linalol. Plod crnog papra sadrži i manje količine fenolnih kiselina i flavonoida.

Crni papar se tradicionalno koristi kao sastavnica ayurvedske smjese „Trikatu“ (crni papar - *Piper nigrum* L., indijski dugi papar - *Piper longum* L. i đumbir - *Zingiber officinale* Rosc.) za liječenje vrućice, astme, prehlade, kašlja, bolesti probavnog sustava te normalizaciju funkcije urinarnog sustava. Ustanovljeno je da „Trikatu“ ima hepatoprotektivni, antioksidativni, analgetički, protuupalni, antibakterijski, antifungalni, adaptogeni, imunomodulacijski i antitumorski učinak te smanjuje rizik od ateroskleroze.

Provedena *in vitro* i *in vivo* znanstvena istraživanja ukazala su na antioksidacijsko, antitumorsko, imunomodulacijsko, antimutageno i protuupalno djelovanje te na antipiretska, analgetska, antibakterijska, fungicidna, hepatoprotektivna, neuroprotektivna, antihipertenzivna i antiastmatična svojstva crnog papra. Povoljan farmakološki učinak piperina zabilježen je kod astme, prehlade i kašlja, hipertenzije, pretilosti, bolesti probavnih organa, živčanog sustava i štitnjače.

Plod crnog papra ima važnu ulogu u povećanju bioraspoloživosti lijekova i nutrijenata pri peroralnoj primjeni jer ubrzava apsorpciju iz gastrointestinalnog trakta i/ili štiti lijek od metaboliziranja i oksidacije u prvom prolasku kroz jetru.

Zbog malobrojnih kliničkih studija potrebna su daljnja istraživanja o terapijskoj učinkovitosti ploda crnog papra koja će pojasniti mehanizme djelovanja bioaktivnih sastavnica, posebice kod utvrđivanja antitumorskog i antioksidacijskog djelovanja u liječenju bolesti modernog doba.

6. LITERATURA

1. Abdallah EM, Abdalla WE. Black pepper fruit (*Piper nigrum* L.) as antibacterial agent: A mini-review. J Bacteriol Mycol 2018;6:141-45.
2. Ashokkumar K, Murugan M, Dhanya MK, Pandian A, Warkentin TD. Phytochemistry and therapeutic potential of black pepper [*Piper nigrum* (L.)] essential oil and piperine: a review. Clin Phytosci 2021; doi: 10.1186/s40816-021-00292-2
3. Damanhour ZA, Ahmad A. A review on therapeutic potential of *Piper nigrum* L. (black pepper): the king of spices. Med Aromat Plants 2014; doi: 10.4172/2167-0412.1000161
4. Oladimeji FA, Adegbola AJ, Onyeji CO. Appraisal of bioenhancers in improving oral bioavailability: applications to herbal medicinal products. J Pharm Res Int 2018;24:1-23.
5. Kang MJ, Cho JY, Shim BH, Kim DK, Lee J. Bioavailability enhancing activities of natural compounds from medicinal plants. J Med Plants Res 2009;3:1204-1211.
6. Nikolić T. Sistemska botanika. Alfa; 2013, str. 380-383.
7. Chen YS, Tawan CS. Botany, diversity and distribution of black pepper (*Piper nigrum* L.) cultivars in Malaysia. BJRST 2020;10:10-23.
8. Ravindran PN, Babu KN, Sasikumar B, Krishnamurthy KS. Botany and crop improvement of black pepper-fruit set, fruit development and fruit maturity. U: Ravindran PN, ur. Black pepper (*Piper nigrum*). India: Hardwood Academy Publishers: 2000, str.87.
9. Kolovrat M. Zajedno u rodu, a bitno različiti papar. Tehnologija; 2007, str.177-180.
10. Ravindran PN, Kalluparackal JA. Black pepper. U: Peter KV. ur. Handbook of herbs and spices. Woodhead Publishing Limited, 2001;62-92.
11. Nwofia GE, Kelechukwu C, Blessing K. Nutritional composition of some *Piper nigrum* (L.) accessions from Nigeria. Int J Med Aromat Plants 2013;3:247-254.
12. Lim TK. Edible medicinal and non-medicinal plants: fruits. Springer; 2012, str. 322-323.
13. European Medicines Agency. Available at: <https://www.ema.europa.eu>. Accessed October 1, 2021.

14. Gorgani I, 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;16:124-140.
15. Milenković AN, Stanojević LJP. Black pepper - chemical composition and biological activities. *Advan Technol* 2021;10:40-50.
16. Ashokkumar K, Pandian A, Murugan M i sur. Profiling bioactive flavonoids and carotenoids in select south Indian spices and nuts. *Nat Prod Res* 2020;34:1306-1310.
17. Menon N, Padmakumari KP. Studies on essential oil composition of cultivars of black pepper (*Piper nigrum* L.). *J Essent Oil Res* 2011;17:153-155.
18. Narendra Babu K, Hemalatha R, Satyanarayana U i sur. Phytochemicals, polyphenols, prebiotic effect of *Ocimum sanctum*, *Zingiber officinale*, *Piper nigrum* extracts. *J Herb Med* 2018;13:42-51.
19. Aruna G, Baskaran V. Comparative study on the levels of carotenoids lutein, zeaxanthin and β -carotene, in Indian spices of nutritional and medicinal importance. *Food Chem* 2010;123:404-409.
20. Fitzgerald S. Ramses II, Egyptian Pharaoh, Warrior, and Builder. *Compass Point Books*; 2008, str.88-90.
21. Johri RK, Thusu, N, Khajuria A. Zutshi U. Piperine-mediated changes in the permeability of rat intestinal epithelial cells. The status of γ -glutamyl transpeptidase activity, uptake of amino acids and lipid peroxidation. *Biochem Pharmacol* 1992;43:1401-1407.
22. Srinivasan K. Black pepper and its pungent principle-piperine: a review of diverse physiological effects. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2007;47:735-48.
23. Meghwal M, Goswami TK. *Piper nigrum* and piperine: an update. *Phytother Res* 2013;27:1121-30.
24. Silva E, Batista N. Ferulic acid and naturally occurring compounds bearing a feruloyl moiety: A review on their structures, occurrence and potential health benefits. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 2017;16:580-616.
25. 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;9:105-110.
26. Xavier J, Thomas S. Antioxidant activities of leaves and fruits of *Piper nigrum* and *Piper longum*. *Asian J Plant Sci* 2020;19:127-132.

27. Koul IB, Kapil A. Evaluation of the liver protective potential of piperine, an active principle of black and long peppers. *Planta Med* 1993;59:413-417.
28. Sabina EP, Harris AD, Jackline SD, Rasool MK. Piperine, an active ingredient of black pepper attenuates acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Asian Pac J Trop Med* 2010;3:971-976.
29. Hritcu L, Noumedem JA, Cioanca O, Hancianu M, Kuete V, Mihasan M. Methanolic extract of *Piper nigrum* fruits improves memory impairment by decreasing brain oxidative stress in amyloid beta(1-42) rat model of Alzheimer's disease. *Cell Mol Neurobiol* 2014;34:437-449.
30. Agbor G, Vinson J, Sortino J, Johnson R. Antioxidant and anti-atherogenic activities of three Piper species on atherogenic diet fed hamsters. *Exp Toxicol Pathol* 2010;64:387-391.
31. Gülçin I. The antioxidant and radical scavenging activities of black pepper (*Piper nigrum*) seeds. *Int J Food Sci Nutr* 2005;56:491-499.
32. Singh G, Marimuthu P, Catalan C, deLampasona MP. Chemical, antioxidant and antifungal activities of volatile oil of black pepper and its acetone extract. *J Sci Food Agric* 2004;84:1878-1884.
33. Takooree H, Aumeeruddy MZ, Rengasamy KRR, Venugopala KN, Jeewon R, Zengin G. A systematic review on black pepper (*Piper nigrum* L.): from folk uses to pharmacological applications. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2019;59:210-243.
34. Prashant A, Rangaswamy C, Yadav AK, Reddy V, Sowmya MN, Madhunapantula S. In vitro anticancer activity of ethanolic extracts of *Piper nigrum* against colorectal carcinoma cell lines. *Int J App Basic Med Res* 2017;7:67-72.
35. Sunila ES, Kuttan G. Immunomodulatory and antitumor activity of *Piper longum* Linn. and piperine. *J Ethnopharmacol* 2004;90:339-346.
36. Pradeep CR, Kuttan G. Effect of piperine on the inhibition of lung metastasis induced B16F-10 melanoma cells in mice. *Clin Exp Metastasis* 2002;19:703-708.
37. Samykutty A, Vittal Shetty A, Dakshinamoorthy G i sur. Piperine, a bioactive component of pepper spice exerts therapeutic effects on androgen dependent and androgen independent prostate cancer cells. *PLoS One* 2013;8:e65889.

38. Makhov P, Golovine K, Canter D i sur. Co-Administration of piperine and docetaxel results in improved anti-tumor efficacy via inhibition of CYP3A4 activity. *Prostate* 2012;72:661-667.
39. Zhang J, Zhu X, Li H i sur. Piperine inhibits proliferation of human osteosarcoma cells via G₂/M phase arrest and metastasis by suppressing MMP-2/-9 expression. *Int Immunopharmacol* 2015;24:50-58.
40. Abdelhamed S, Yokoyama S, Refaat A i sur.. Piperine enhances the efficacy of TRAIL-based therapy for triple-negative breast cancer cells. *Anticancer Res* 2014;34:1893-1899.
41. Stöhr JR, Xiao PG, Bauer R. Constituents of chinese piper species and their inhibitory activity on prostaglandin and leukotriene biosynthesis in vitro. *J Ethnopharmacol* 2001;75:133-139.
42. Tasleem F, Azhara I, Nawazish S i sur. Analgesic and anti-inflammatory activities of *Piper nigrum* L. *Asian Pac J Trop Med* 2014;7:461-468.
43. Bang JS, Oh DH, Choi HM i sur. Anti-inflammatory and antiarthritic effects of piperine in human interleukin 1beta-stimulated fibroblast-like synoviocytes and in rat arthritis models. *Arthritis Res Ther* 2009;11:1-9.
44. Zhai WJ, Zhang ZB, Xu NN i sur. 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; doi: 10.1115/2016/8597208
45. Kim SH, Lee YC. Piperine inhibits eosinophil infiltration and airway hyperresponsiveness by suppressing T cell activity and Th2 cytokine production in the ovalbumin-induced asthma model. *J Pharm Pharmacol* 2009;61:353-359.
46. Pooja S, Agrawal RP, Nyati P, Savita V, Phadnis P. Analgesic activity of *Piper nigrum* extract per se and its interaction with diclofenac sodium and pentazocine in albino mice. *Inter J Pharmacol* 2007; doi:10.5580/2878
47. Zhang J, Ye KP, Zhang X, Pan DD, Sun YY, Cao JX. Antibacterial activity and mechanism of action of black pepper essential oil on meat-borne *Escherichia coli*. *Front Microbiol* 2016;7:2094.
48. Aneja KR; Surain P; Aneja A; Sharma C. Anticandidal potential of *Piper nigrum* and *Piper longum* fruit extracts against selected oral and vaginal candida pathogens. *AARJSH*, 2013;1,266-280.

49. Roshdy WH, Rashed HA, Kandeil A i sur. EGYVIR: An immunomodulatory herbal extract with potent antiviral activity against SARS-CoV-2. PLoS One 2020; doi:10.1371/journal.pone.0241739.
50. Vijayakumar RS, Surya D, Senthilkumar R, Nalini N. Hypolipidemic effect of black pepper (*Piper nigrum* Linn.) in rats fed high fat diet. J Clin Biochem Nutr 2002;32:31-42.
51. Yang Y, Kanev D, Nedeva R i sur.. Black pepper dietary supplementation increases high-density lipoprotein (HDL) levels in pigs. Current Research in Biotechnology 2019;1:28-33.
52. Meriga M, Parim B, Chunduri VR i sur.. Antiobesity potential of piperonal: promising modulation of body composition, lipid profiles and obesogenic marker expression in HFD-induced obese rats. Nutr Metab 2017;14:1-14.
53. Heidari-Beni M, Moravejolahkami AR, Gorgian P, Askari G, Tarrahi MJ, Bahreini-Esfahani N. Herbal formulation "turmeric extract, black pepper, and ginger" versus naproxen for chronic knee osteoarthritis: A randomized, double-blind, controlled clinical trial. Phytother Res 2020;34:2067-2073.
54. Alkadi HO, Mohamed HK, Taha HK. Clinical study of the effects of Immutonic capsule in human volunteers with flu symptoms. Arch Pulmonol Respir Care 2020;6:54-57.
55. Brahmankar DB, Jaiswal S. Biopharmaceutics and Pharmacokinetics: A treatise. VallabhPrakashan;1995, str. 24-26.
56. Acharya SG, Momin AH and Gajjar AV. Review of piperine as a bioEnhancer. Am J Pharm Tech Res 2012;2:32-44.
57. Tatiraju DV, Bagade VB, Karambelkar PJ, Jadhav VM, Kadam V. Natural bioenhancers: An overview. J Pharmacogn Phytochem. 2013;2:55-60.
58. Dudhatra GB, Mody SK, Awale MM i sur. A comprehensive review on pharmacotherapeutics of herbal bioenhancers. Sci World J 2012; doi: 10.1100/2012/637953.
59. Chivte VK, Tiwari SV, Pratima A, Nikalge G. Bioenhancers: A brief review. Adv J Pharm Life sci Res 2017;5:1-18.
60. Javed S, Ahsan W, Kohli K. The concept of bioenhancers in bioavailability enhancement of drugs – A patent review. J Sci Lett 2016;1:143-65.

61. Bhardwaj RK, Glaeser H, Becquemont L, Klotz U, Gupta SK, Fromm MF. Piperine, a major constituent of black pepper, inhibits human P-glycoprotein and CYP3A4. *J Pharmacol Exp Ther* 2002;302:645-650.
62. Zhang W, Zheng Q, Song M i sur. A review on the bioavailability, bio-efficacies and novel delivery systems for piperine. *Food Funct* 2021;12:8867-8881.
63. Bano G, Amla V, Raina RK, Zutshi U, Chopra CL. The effect of piperine on pharmacokinetics of phenytoin in healthy volunteers. *Planta Medica* 1987;53:568-569.
64. Pattanaik S, Hota D, Prabhakar S, Kharbanda P, Pandhi P. Effect of piperine on the steady-state pharmacokinetics of phenytoin in patients with epilepsy. *Phytother Res* 2006;20:683-686.
65. Velpandian T, Jasuja R, Bhardwaj RK, Jaiswal J, Gupta SK. Piperine in food: interference in the pharmacokinetics of phenytoin. *Eur J Drug Metab and Pharmacokinet* 2001;26:241-247.
66. Bano JG, Raina RK, Zutshi U, Bedi KL, Johri RK, Sharma SC. Effect of piperine on bioavailability and pharmacokinetics of propranolol and theophylline in healthy volunteers. *Eur J Clin Pharmacol* 1991;41:615-617.
67. Kapil RS, Zutshi U, Bedi KL. Process of preparation of pharmaceutical composition with enhanced activity for treatment of tuberculosis and leprosy. 1995; U. S. Patent US005439891A.
68. Kapil RS, Zutshi U, Bedi KL. Pharmaceutical compositions containing piperine and an antituberculosis or antileprosy drug. 2002; EUR Patent EP0650728B1.
69. Chawla PC. Risorine: a novel CSIR drug curtails TB treatment. *CSIR News*. 2010;60:52-14.
70. Patel N, Jagannath K, Vora A, Patel M, Patel A. A randomized, controlled, phase III clinical trial to evaluate the efficacy and tolerability of Risorine with conventional rifampicin in the treatment of newly diagnosed pulmonary tuberculosis patients. *J Assoc. Physicians India* 2017;65:48-54.
71. Kasibhatta R, Naidu MUR. Influence of piperine on the pharmacokinetics of nevirapine under fasting conditions: a randomised, crossover, placebo-controlled study. *Drugs RD* 2007;8:383-391.
72. Bedada SK, Boga PK, Kotakonda HK. Study on influence of piperine treatment on the pharmacokinetics of diclofenac in healthy volunteers. *Xenobiotica* 2017;47:127-132.

73. Majeed M, Badmaev V, Prakash L. Bioperine: Nature's own thermonutrient and natural bioavailability enhancer. Nutriscience Publishers Incorporated;1999, str.8114-8121.
74. Badmaev V, Majeed M, Prakash L. Piperine derived from black pepper increases the plasma levels of coenzyme Q10 following oral supplementation. J Nutr Biochem 2000;11:109-113.
75. Badmaev V, Majeed M, Norkus EP. Piperine, an alkaloid derived from black pepper increases serum response of beta-carotene during 14-days of oral beta-carotene supplementation. Nutr Res 1999;19:381-388.
76. Shoba G, Joy D, Joseph T, Majeed M, Rajendran R, Srinivas PS. Influence of piperine on the pharmacokinetics of curcumin in animals and human volunteers. Planta Medica 1998; 64(4): 353-356.
77. Majeed M, Badmaev V, Rajendran R. Use of piperine as a bioavailability enhancer. 1998; U. S. Patent 5744161.
78. Piyachaturawat P, Glinsukon T, Toskulkao C. Acute and subacute toxicity of piperine in mice, rats and hamsters. Toxicol Lett 1983; 351-359.