T.C.
ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

KARABİBERDEN (*Piper nigrum* L.) PİPERİNİN SAFLAŞTIRILMASI, TÜREVLENDİRİLMESİ VE ELDE EDİLEN TÜREVLERİN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Tuba Nur SUYURDU

Danışman: Prof. Dr. Ekrem KÖKSAL

TEZ JÜRİ ÜYELERİ
Prof. Dr. Ekrem KÖKSAL
Doç. Dr. Ahmet ALTAY
Doç. Dr. Hüseyin AKŞİT
Prof. Dr. Ömer İrfan KÜFREVİOĞLU
Prof. Dr. Şükrü BEYDEMİR

DOKTORA TEZİ
ERZİNCAN, 2025

© 2025[Tuba Nur SUYURDU]. Tüm hakları saklıdır.

ÖZET

KARABİBERDEN (*Piper nigrum* L.) PİPERİNİN SAFLAŞTIRILMASI, TÜREVLENDİRİLMESİ VE ELDE EDİLEN TÜREVLERİN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Tuba Nur SUYURDU

Doktora Tezi, Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Ekrem KÖKSAL
2025, 78 sayfa

Bu tez çalışmasında, karabiber *(Piper nigrum* L.*)* bitkisinden elde edilen doğal bir alkaloit olan piperin bileşiği saflaştırılmış; ardından yapısında çeşitli kimyasal modifikasyonlar gerçekleştirilerek sekiz yeni türev sentezlenmiştir. Çalışmanın temel amacı, piperinin türevleri üzerinden biyolojik aktivitenin artırılabilirliğini değerlendirmek ve orijinal molekül ile bu türevlerin enzim inhibitör, antioksidan, antikanser ve antifungal etkilerini karşılaştırmalı olarak ortaya koymaktır. AChE testi sonucunda ise piperin (1) (IC_{50} = 43.45 μM), referans inhibitör takrin'den (IC_{50} = 54.65 μM) daha güçlü inhibisyon göstermiştir. Etil esteri (3b) molekülü (IC_{50} = 63.64 μM) α-glikozidaz inhibisyonunda referans ilaç akarboz (62.43 μM) ile benzer etki göstermiştir. En güçlü DPPH aktivitesi (IC_{50} = 113,69 μg/mL) piperik asit (2) molekülünde gözlenmiş olup, indirgeme testinde ise en yüksek kapasite izopentil esteri (3e) molekülünde (27.78 μM Trolox eşdeğer) tespit edilmiştir. Antiproliferatif aktivite A549 (Akciğer kanseri) hücre hattında piperik asit en yüksek sitotoksik etkiyi (IC_{50} = 29.65 μM) göstermiştir. Türevlerin antifungal etkileri ise *Botrytis cinerea* üzerinde agar difüzyon yöntemiyle değerlendirilmiştir. Bileşik 4, 50 μL'de %60 çimlenme ve 89 μm çim tüpü ile spor gelişimini en etkin şekilde baskılayan uygulama olmuştur. Diğer bazı türevler de doza bağlı olarak belirgin antifungal aktivite göstermiştir. Elde edilen bulgular, piperinin yapısının uygun kimyasal modifikasyonlarla çok yönlü biyolojik etkinliğe kavuşturulabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Piperin, izolasyon, piperin türevleri, antikolinesteraz, antidiyabet, antioksidan, antiproliferatif, antifungal

ABSTRACT

PURIFICATION, DERIVATIZATION OF PIPERINE FROM BLACK PEPPER (*Piper nigrum* L.) AND DETERMINATION OF THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF THE DERIVATIVES OBTAINED

Tuba Nur SUYURDU

Doctoral Thesis, Erzincan Binali Yıldırım University, Institute of Science and Technology,
Department of Chemistry
Advisor: Prof. Dr. Ekrem KÖKSAL
2025, 78 pages

In this thesis, piperine, a natural alkaloid obtained from the black pepper plant (*Piper nigrum* L.), was purified; then, eight new derivatives were synthesized by various chemical modifications to its structure. The main objective of the study was to evaluate the possibility of increasing the biological activity of piperine derivatives and to comparatively reveal the enzyme inhibitory, antioxidant, anticancer and antifungal activities of these derivatives with the original molecule. In the AChE assay, piperine (1) (IC_{50} = 43.45 µM) showed stronger inhibition than the reference inhibitor tacrine (IC_{50} = 54.65 µM). The ethyl ester (3b) molecule (IC_{50} = 63.64 µM) showed similar activity to the reference drug acarbose (62.43 µM) in inhibiting α-glucosidase. The strongest DPPH activity (IC_{50} = 113.69 µg/mL) was observed in the piperic acid (2) molecule, and the highest capacity in the reduction test was determined in the isopentyl ester (3e) molecule (27.78 µM Trolox equivalent). Antiproliferative activity: Piperic acid showed the highest cytotoxic effect (IC_{50} = 29.65 µM) in the A549 cell line. The antifungal effects of the derivatives were evaluated on *Botrytis cinerea* by the agar diffusion method. Compound 4 was the application that most effectively suppressed spore development with 60% germination in 50 µL and 89 µm germ tube. The findings show that the structure of piperine can be achieved with versatile biological activities through appropriate chemical modifications.

Keywords: Piperine, isolation, piperine derivatives, anticholinesterase, antidiabetic, antioxidant, antiproliferative, antifungal

TEŞEKKÜR

Karabiberden (*Piper nigrum* L.) Piperinin Saflaştırılması, Türevlendirilmesi ve Elde Edilen Türevlerin Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi isimli bu çalışma YÖK 100/2000 doktora projesi "Doğal ve Bitkisel Ürünler/ Kozmetik Ürünler" tarafından sağlanan destek ile Sayın Prof. Dr. Ekrem KÖKSAL danışmanlığında Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne doktora tezi olarak sunulmuştur.

Çalışmamda bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen, çalışmanın her aşamasında her türlü yardım ve desteğini gördüğüm Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Ekrem KÖKSAL hocama derin minnet ve şükranlarımı sunarım.

Çalışma süresince YÖK 100/2000 Doğal ve Bitkisel Ürünler/Kozmetik Ürünler kapsamında burs desteği sağlayan Yüksek Öğretim Kurulu'na, FDK-2024-974 nolu proje kapsamında doktora çalışmalarıma destek sağlayan Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne, yaptığım çalışmalarda bilgisini ve deneyimlerini paylaşan değerli hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Cemalettin ALP'e, antifungal aktivite testlerinde yardımcı olan, her türlü desteğini ve yardımını esirgemeyen Hakkâri Üniversitesi Çölemerik Meslek Yüksek Okulu Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü Bitki Koruma Programında Sayın Doç. Dr. Sinem KARAKUŞ hocama, tez izleme komitemde yer alarak değerli yorum ve önerileriyle araştırmamın şekillenmesine katkı sağlayan saygıdeğer Doç. Dr. Ahmet ALTAY ve Doç. Dr. Hüseyin AKŞİT hocalarıma, hiçbir zaman desteğini esirgemeyen değerli arkadaşım Dr. Sevgi ALTIN'a, tez çalışmalarım için her türlü imkânı sağlayan Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Temel Bilimler Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürü Sayın Doç. Dr. Kemal Volkan ÖZDOKUR hocama ve kıymetli ekibine, eğitim hayatım süresince başarıyla ilerlememde en büyük paya sahip olan, haklarını asla ödeyemeyeceğimi bildiğim, annem Filiz KÖKTEPE'ye, babam Erdoğan KÖKTEPE'ye, kardeşlerim Yunus Emre ve Emircan KÖKTEPE'ye, maddi manevi tüm güçlüklere karşı her zaman yanımda olan, zorlu geçen süreçlerde desteğini hiçbir zaman esirgemeyen hayat arkadaşım Salih Emre SUYURDU'na ve biricik oğlum Hamza'ya en içtenlikle saygı, şükran ve teşekkürlerimi sunarım.

Tuba Nur SUYURDU

Haziran, 2025

İÇİNDEKİLER

ÖZET i
ABSTRACT ii
TEŞEKKÜR iii
İÇİNDEKİLER iv
TABLOLAR DİZİNİ vii
ŞEKİLLER DİZİNİ viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ x
1. GİRİŞ 1
1.2. Tezin Amacı 1
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE VE İLGİLİ ÇALIŞMALAR 7
2.1. Karabiber (*Piper nigrum* L.) 7
2.1.1. Karabiberin (*Piper nigrum* L.) tanımı ve önemi 7
2.1.2. Karabiberin (*Piper nigrum* L.) fiziksel ve kimyasal özellikleri 8
2.1.3. Karabiberin (*Piper nigrum* L.) aroması 8
2.2. Piperin 9
2.2.1. Kimyasal yapısı ve özellikleri 9
2.2.2. Piperin elde etme yöntemleri 11
2.2.2.1. İyonik sıvı (IL) bazlı ultrasonikasyon destekli ekstraksiyon 11
2.2.2.2. Karabiberin buzlu asetik asitle maserasyonu 11
2.2.2.3. Ekstraksiyon ve aktiviteye dayalı izolasyon 11
2.2.2.4. Soxhlet ve modifiye soxhlet ekstraksiyonları 11
2.2.2.5. Etanol kullanılarak ekstraksiyon 12
2.2.2.7. Mikrodalga destekli piperin ekstraksiyonu 12
2.2.2.8. Piperinin naviglio ekstraktörü kullanılarak ekstraksiyonu 12
2.2.2.9. İyonik sıvı (IL) ekstraksiyon yöntemi ile piperinin misel ekstraksiyonu 12
2.2.2.10. Mikrodalga geri distilasyon ekstraksiyonu 12
2.2.2.12. Süperkritik akışkan ekstraksiyon tekniği (SFE) 13
2.2.3. Piperin ve türevleri 13
2.3. Literatür Taraması 20
3. YÖNTEM 31
3.1. İzolasyon 31
3.1.1. Piperinin [(2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-on] izolasyonu 31
3.2. Türevlendirme 32

3.2.1. Piperinin ve piperik asitin türevleri....32
3.2.1.1. Piperik Asit [(2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoik asit] sentezi ...32
3.2.1.2. Piperik asit esterlerinin sentezi 32
3.2.1.3. [(2E,4E)-5-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-on] sentezi 33
3.2.1.4. [4-((1E,3E)-5-okso-5-(piperidin-1-il)penta-1,3-dien-1-il)-1,2-fenilen diasetat] sentezi 33
3.3. Biyolojik Aktiviteler 34
3.3.1. Antikolinesteraz aktivite 34
3.3.2. Antidiyabetik aktivite....34
3.3.3. Antioksidan aktivite 34
3.3.3.1. DPPH· giderme metodu 34
3.3.3.2. Fe^{3+} indirgeme metodu 35
3.3.4. Antiproliferatif aktivite 35
3.3.4.1. Dondurulmuş hücrelerin çözdürülmesi ve hücrelerin açılması 35
3.3.4.2. Hücrelerin pasajlanması....36
3.3.4.3. Hücrelerin sayımı....36
3.3.4.4. Kimyasalların uygulanması 37
3.3.4.5. MTT testi 37
3.3.5. Antifungal aktivite 37
4. BULGULAR....40
4.1. Piperin ve Türevlerinin Yapı Tayini 40
4.1.1. Piperinin [(2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-on] izolasyonu 40
4.1.2. Piperik Asit [(2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoik asit] sentezi 40
4.1.3. Metil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat sentezi 41
4.1.4. Etil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat sentezi 42
4.1.5. İzopropil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat sentezi 43
4.1.6. Bütil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat sentezi 44
4.1.7. İzopentil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat sentezi....45
4.1.8. (2E,4E)-5-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-on sentezi 46
4.1.9. 4-((1E,3E)-5-okso-5-(piperidin-1-il)penta-1,3-dien-1-il)-1,2-fenilen diasetat sentezi ...46
4.2. Piperin ve Türevlerinin Biyolojik Aktiviteleri....47
4.2.1. Antikolinesteraz aktivite 47
4.2.2. Antidiyabetik aktivite....49
4.2.3. Antioksidan aktivite 50
4.2.4. Antiproliferatif aktivite 53
4.2.5. Antifungal aktivite 55
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 59

KAYNAKÇA.....66
EKLER.....79

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. Piperin ve türev bileşiklerinin antikolinesteraz enzimleri için IC_{50} değerleri (µM)...48
Tablo 2. Piperin ve türev bileşiklerinin *α*-glikozidaz enzimi için IC_{50} değerleri (µM) 50
Tablo 3. Piperin ve türev bileşiklerinin $DPPH^{\cdot}$ giderme IC_{50} değerleri (µg/mL).....51
Tablo 4. Piperin ve türev bileşiklerinin Fe^{+3} indirgeme Trolox, BHT, *α*-Tokoferol eşdeğerleri (µM) 52
Tablo 5. Piperin ve türev bileşiklerinin akciğer kanser hücre hattı (A549) üzerindeki IC_{50} değerleri 54
Tablo 6. Piperin ve türev bileşiklerinin *Botrytis cinerea*'nın miselyal gelişimi (MEO) (%) üzerine etkisi 56
Tablo 7. Piperin ve türev bileşiklerinin *Botrytis cinerea* sporlarının çim tüpü uzunluğu (µm) ve spor çimlenme oranı (%) üzerine etkisi 57
Tablo 7. (Devamı) Piperin ve türev bileşiklerinin *Botrytis cinerea* sporlarının çim tüpü uzunluğu (µm) ve spor çimlenme oranı (%) üzerine etkisi 58

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Salisin molekülüne ait yapı....1
Şekil 2. Vinkristin molekülüne ait yapı....2
Şekil 3. Allisin ve diallil disülfür molekülüne ait yapı....2
Şekil 4. Selagibenzofenon A molekülüne ait yapı....3
Şekil 5. Kamptotesin molekülüne ait yapı....3
Şekil 6. Artemisinin molekülüne ait yapı....4
Şekil 7. Karabiber (*Piper nigrum* L.) ağacı ve meyvesi....7
Şekil 8. Piperinin (1) kimyasal yapısı....10
Şekil 9. Piperin ve LC−MS ile tanımlanabilir metabolitlerin elektrokimyasal oksidasyonu. ..13
Şekil 10. Piperinden sentezlenen bazı moleküller....14
Şekil 11. Piperinden tasarlanan 28 türeve ait moleküller....15
Şekil 12. Piperik asit esterlerinin yapısı....15
Şekil 13. Piperinin, piperik asidin (PA), 4-etilpiperik asidin (EPA) ve α-, β- ve γ-amino asitli amidlerinin, 59-76 kimyasal yapısı....16
Şekil 14. Piperinden elde edilen bileşiklerinin sentezi....17
Şekil 15. Piperinden elde edilen türev bileşikleri....17
Şekil 16. Piperinden elde edilen türevler....18
Şekil 17. Piperin türevleri....19
Şekil 18. Piperinden sentezlenen türevlerinin yapısı....20
Şekil 19. HeLa hücrelerinde antiproliferatif etki gösteren bileşik....21
Şekil 20. *h*DHODH inhibitör özellik gösteren bileşik....21
Şekil 21. *Staphylococcus aureus*'a karşı inhibitör özellik gösteren bileşik....22
Şekil 22. γ-aminobütirik asit reseptörleri üzerinde etkili olan bileşik....22
Şekil 23. *h*MAO-A inhibitör etki gösteren bileşik....24
Şekil 24. Fungisidal aktivitesi değerlendirilen bileşik....24
Şekil 25. Yaprak biti öldürücü aktivite gösteren bileşik....25
Şekil 26. Biyoyükseltici etki gösteren bileşik....25
Şekil 27. *A. citricola*'ya karşı yaprak biti öldürücü aktivite gösteren bileşikler....26
Şekil 28. Sitotoksisite ve tümör aktiviteleri değerlendirilen bileşik....26
Şekil 29. Antioksidan ve AChE, BChE aktiviteleri değerlendirilen bileşikler....27
Şekil 30. Piperinin [(2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-on] İzolasyon Basamakları....31

Şekil 31. Piperin türevlerinin sentez yolu 32
Şekil 32. [(2E,4E)-5-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-on] Sentezi.....33
Şekil 33. [4-((1E,3E)-5-okso-5-(piperidin-1-il)penta-1,3-dien-1-il)-1,2-fenilen diasetat] Sentezi 33
Şekil 34. (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-on Molekülü 40
Şekil 35. (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoik asit Molekülü 41
Şekil 36. Metil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat Molekülü.....42
Şekil 37. Etil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat Molekülü 43
Şekil 38. İzopropil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat Molekülü.....43
Şekil 39. Bütil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat Molekülü 44
Şekil 40. İzopentil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat Molekülü 45
Şekil 41. (2E,4E)-5-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-on Molekülü 46
Şekil 42. 4-((1E,3E)-5-okso-5-(piperidin-1-il)penta-1,3-dien-1-il)-1,2-fenilen diasetat Molekülü 47
Şekil 43. Piperin ve türev bileşiklerinin akciğer kanser hücre hattı (A549) üzerindeki inhibisyon etkisi 54
Şekil 44. Piperin ve türev bileşiklerinin misel büyümesi üzerinde etkisi 58
Şekil 45. İzole edilen ve sentezlenen bileşiklerin kimyasal yapıları 60

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	Yüzde
mM	Milimolar
µL	Mikrolitre
U	Unit
pH	Potansiyel Hidrojen
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
CH_2Cl_2	Diklormetan
KOH	Potasyum Hidroksit
MeOH	Metanol
H_2SO_4	Sülfürik Asit
BBr_3	Bor Tribromür
XTT	2,3-Bis-(2- Methoxy-4-Nitro-5-Sulfophenyl)-2H-Tetrazolium-5-Carboxanilide)]
AIDS/HIV	Edinilmiş Bağışıklık Yetersizliği Sendromu/ İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü
ESA	Avrupa Baharat Birliği
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
HCC	Hepatosit Karsinomu
IL	İyonik Sıvı
UPLC	Ultra Performans Sıvı Kromatografisi
UAE	Ultrason Destekli Ekstraksiyon
SFE	Süperkritik Akışkan Ekstraksiyon
CP-EDM	Hesaplamalı Tahmini ve Metabolitlerin Elektrokimyasal Tespiti
LC−MS	Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometrisi
EPA	Etilpiperik Asidin
PDA	Patates Dekstroz Agar
MDA-MB-231	MD Anderson- Metastatik Meme- 231
HCT-116	Hematokrit – 116
NCI-H226	Akciğer Kanseri Ksenograft Modeli
*h*DHODH	Dihidroorotat Dehidrogenaz

EPI	Ekzokrin Pankreas Yetmezliği
MİK	Minimal İnhibitör Konsantrasyonu
OGT	Oral Glukoz Tolerans Testi
STZ	Streptozotosin
MAO	Monoamin Oksidaz
MAO-B	Monoamin Oksidaz-B
BBB	Kan - Beyin Bariyeri
PAMPA	Paralel Yapay Membran Geçirgenliği Testi
BSA	Sığır Serum Albümini
HTS	Yüksek Verimli Tarama
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
ADMET	Emilim-Dağıtım-Metabolizma-Ekspresyon-Toksisite
DA	Dienamid
QSAR	Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi
MTT	Difeniltetrazolium Bromür
AChE	Asetilkolinesteraz
BChE	Butirilkolinesteraz
BSS	Biyolojik Sıvı Sistemleri
LOP	Loperamıde
TNBC	Üçlü Negatif Meme Kanseri
DOX	Doksorubisin
PI3K/Akt/Mtor	Fosfoinozitid 3 Kinaz (PI3K)/Akt/Memeli Rapamisin Hedefi Yolu
FE-SEM	Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskobu
TGA	Termogravimetrik Analiz
XRD	X-Işını Kırınım Yöntemi
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
NAFLD	Alkol Dışı Yağlı Karaciğer Hastalığı
NP	Nano Piperin
Cyp	Sitokrom P450
ALT	Alanin Aminotransferaz
ALP	Alkalen Fosfataz
AST	Aspartat Aminotransferaz
GSH	Glutatyon
LPO	Lipit Peroksidasyonu

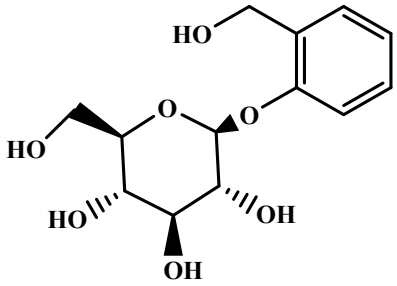
SOD	Süperoksit Dismutaz
ABTS	2,2’-Azino-Bis(3-Etilbenzotiazolin-6-Sülfonik Asit)
DPPH	1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil Radikali
MDA	Malondialdehit
AAPH	2,2-Azobis(2-Aminopropan) Dihidroklorür
PTGS2	Prostaglandin-Endoperoksit Sentaz 2
HeLa	Rahim Ağzı Kanseri
CaSki	Servikal Karsinom
SiHa	Serviks Kanseri Hücre Hattı
HaCaT	İnsan Keratinosit Hücre Hattı
DMSO	Dimetil sülfoksit
DTNB	5,5’-Dithiobis(2-Nitro Benzoik Asit)
IC_{50}	%50 İnhibisyon Konsantrasyonu
UV/Vis	Ultraviyole-Görünür Spektroskopi

1. GİRİŞ

1.2. Tezin Amacı

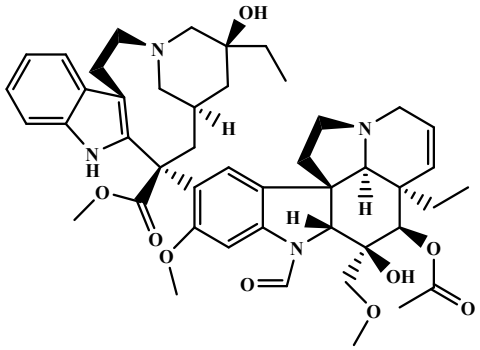
Yaşam süresinin uzaması, halkın bilinçlenmesi, sağlıklı beslenme gibi nedenler insanları bir dost gibi gördükleri doğaya yani bitkilere, bitkisel ürünlere, her geçen gün biraz daha yöneltmektedir (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011). Anadolu'da da eskiden beri insanların Lokman hekim ve aktarlar aracılığında tedavi amacıyla bitkilere başvurduğu bilinmektedir (Doğan, 2023). Bitkiler, hayvanlar, mikroorganizmalar ve deniz türleri de dahil olmak üzere canlı organizmalar tarafından üretilen organik bileşiklere doğal ürünler denilmektedir (Bharate ve Lindsley, 2024). Doğal ürünler arasında en önemli konumda yer alan bu bitkiler içerdikleri ikincil metabolitler, fenolik bileşikler, alkaloid ve steroid yapıları sayesinde biyolojik aktiviteleri bulunmaktadır (Orçan vd., 2023).

Bazı basit ama önemli doğal ürünlerin yapıları ve bunların biyolojik aktivitelerine bakıldığında ilk olarak söğüt ağacı kabuğundaki fenolik bileşenler örnek verilebilir. Söğüt kabuğundaki aktif madde salisin (Şekil 1), vücutta salisilik asite dönüştürülmektedir. Asetilsalisilik asit daha çok aspirin olarak bilinmektedir (Dönmez ve Salman, 2021).



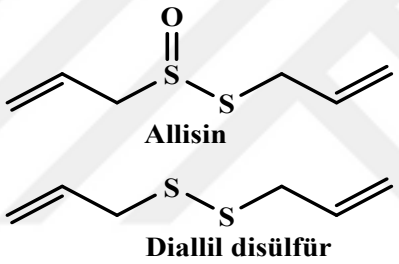
Şekil 1. Salisin molekülüne ait yapı

Doğal kaynaklardan elde edilen diğer değerli ilaç ise vinkristin (Şekil 2), tıbbi tedavi amacıyla kullanılan ve Madagaskar'a özgü *Catharanthus roseus* (Cezayir menekşesi) bitkisinden elde edilen bir alkaloiddir. Bu bileşik, bitkinin yaprakları ve gövdesinde bulunmaktadır. Vinkristin, özellikle lösemi ve lenfoma gibi kanser türlerinin tedavisinde hücre bölünmesini inhibe ederek antikanser etkisini göstermektedir (Altan ve Duru, 2017).



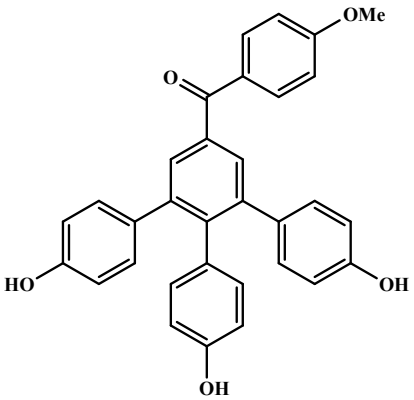
Şekil 2. Vinkristin molekülüne ait yapı

Hem mutfakta hem de tıbbi amaçlar için uzun süredir kullanılan sarımsak, diğer bir doğal üründür. *Allium sativum* olarak bilinen sarımsak, soğanın Allium cinsindeki bir türüdür. Sarımsak yüksek konsantrasyonda kükürt içeren maddeler bulundurmaktadır. Sarımsak da bulunan allisin (Şekil 3) kararsızdır ve hızlı bir şekilde diallil disülfür (Şekil 3) gibi bir dizi başka kükürt içeren bileşiğe dönüşebilir (Ceylan ve Tiris, 2023; Polat ve Coşkun, 2021).



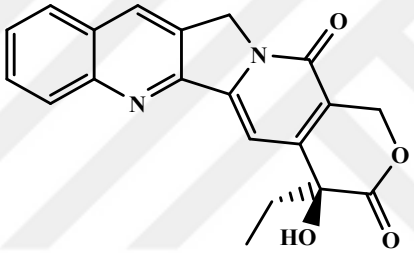
Şekil 3. Allisin ve diallil disülfür molekülüne ait yapı

Selagibenzofenon A (Şekil 4), *Selaginella* cinsinden elde edilmiştir. Doğal olarak oluşan bir arillenmiş benzofenondur. Yapılan çalışmada sağlıklı hücreler üzerinde minimum etkiye sahipken prostat kanseri hücrelerinin büyümesini ve göçünü seçici olarak engellediğini ve ayrıca topoizomerazlar üzerinde ikili inhibitör etki sergilediği belirtilmiştir (Dönmez vd., 2024).



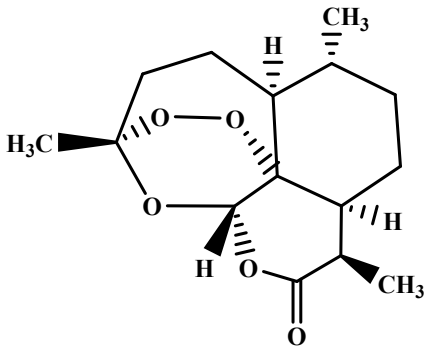
Şekil 4. Selagibenzofenon A molekülüne ait yapı

Güçlü antikanser etkili monoterpen indol alkaloit olan kamptotesin (Şekil 5) ilk olarak 1957 yılında Monroe E. Wall tarafından *Camptotheca acuminata*'nın gövdesinden elde edilmiştir (Bharate ve Lindsley, 2024).



Şekil 5. Kamptotesin molekülüne ait yapı

Güçlü antimalaryal aktivite gösteren başka bir biyoaktif bileşik artemisinindir (Şekil 6). *Artemisia annua* yapraklarından izole edilen artemisinin seskiterpendir. Dünya Sağlık Örgütü'nün Temel İlaçlar Listesi'nde yer alan bu bileşik Mayıs 2020'de Amerika Birleşik Devletleri'nde tıbbi kullanım için onaylanmıştır.



Şekil 6. Artemisinin molekülüne ait yapı

Bitkiler hastalıklardan korunma ve tedavi amaçlı kullanıldığında tıbbi bitkiler, koku ve tat veren gıda sanayisinde, kozmetik-parfümeride kullanılan bitkiler ise aromatik bitkiler olarak adlandırılmaktadır. Tıbbi ve aromatik bitkiler, bulaşıcı hastalıklar, kanser ve AIDS/HIV gibi ciddi hastalıkların tedavisinde önemli bir rol oynamaktadır. ABD Ulusal Kanser Enstitüsü, kanser ve AIDS/HIV tedavisi için yeni ilaçları ve etkin bitki bileşenlerin keşfi amacıyla çeşitli araştırma programları yürütmektedir (Inoue ve Cracker, 2014; İşbilir vd., 2023).

Doğal ürünler, ilaç keşfi ve geliştirilmesinde tarihsel olarak önemli bir yer tutmuş olsa da son yıllarda birçok ilaç şirketi bu alandaki çalışmalarını önemli ölçüde azaltmıştır. Bunun başlıca nedeni, doğal ürünlerin büyük ölçekli üretiminin son derece pahalı olması ve genellikle karmaşık yapılarının olmasıdır. Örneğin, penisilin ve morfin gibi ilaçlar, yalnızca doğal kaynaklardan elde edilebilen ve bu sebeple üretim süreçlerinin zaman alıcı, pahalı ve sürdürülebilirlik açısından sınırlı olabilen bileşiklere örnek teşkil etmektedir. Doğal kaynaklardan elde edilen ilaçların seri üretiminin zor olduğu göz önünde bulundurulduğunda, sentetik biyobenzerlerin geliştirilmesi önemli bir alternatif olarak öne çıkmaktadır (Bonam vd., 2021).

Doğal bileşiklerin belirli özelliklerinin taklit edilmesi, daha çeşitli ürünlerin üretilmesine ve potansiyel olarak yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine olanak tanıyabilir (Feher ve Schmidt, 2003; Grigalunas vd., 2022). Tamamen ‘sentetik’ yapılar yerine, doğal ürün iskelelerine dayalı ‘biyoorganik’ yapıların sentezi genellikle daha verimli ve sürdürülebilir yollara yol açmaktadır (Young vd., 2022; Zeng vd., 2024). Yenilikçi iskelet yapıları, doğal ürünlerin biyolojik etkinliğini korurken görülmemiş biyolojik aktivite de verebilir ve bilinen biyosentetik yollarla sentezlenemeyen yapılar da ortaya koyabilir (Grigalunas vd., 2022). Bu

bağlamda, literatür incelendiğinde, doğal kaynaklarda bulunan bileşiklerin türevlerinin genellikle daha yüksek biyolojik aktivite gösterdiği öne sürülmektedir.

Kamptotesin, Geleneksel Çin tıbbında kullanılan Çin'e özgü *Camptotheca acuminata* (Mutlu ağaç) ağaç kabuğundan izole edilmiştir. 1966 yılında kanser önleyici ilaçlar için doğal ürünlerin sistematik taranması sırasında keşfedilmiştir (Efferth vd., 2007). Meme, yumurtalık, kolon, akciğer ve mide kanserlerine karşı ön klinik çalışmalarda antikanser aktivitesi olduğunu göstermiştir. Ancak, düşük çözünürlüğe sahip olduğu için kamptotesinin yarı sentetik türevleri topotekan ve irinotekan sentezlenmiş ve ilaç olarak onaylanmıştır (Wang vd., 2019; Kurtan vd., 2014).

Antimitotik ilaç olan vinkristin ise lösemi ve lenfomaların tedavisinde kullanılmaktadır. Kataranthin ve vindolin vinkristin türevleridir (Zhu vd., 2015). İlginçtir ki, katharanthin ve vindolin, mitotik durmayı (mitoz bölünme sırasında bir problem algıladığında hücre döngüsü kontrol noktaları devreye girmektedir ve hücre mitozda durmasıdır) yalnızca vinkristinden birkaç kat daha yüksek konsantrasyonlarda gerçekleştirmektedir (Prakash ve Timasheff, 1991).

Yohimbine, Afrika ağacı *Pausinystalia johimbe*'nin kabuğundan elde edilen bir indol alkaloididir ve yapılan çalışmada yohimbine merkezli amino ester analoğunun sentezi gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen ester analoglarının yohimbine'den 6 kat daha yüksek bir seçicilik indeksinin olduğu bu da periferik inflamatuar bozukluklarını tedavi etme potansiyelinin daha iyi olduğu belirtilmiştir (Chayka vd., 2024).

Schwarzinicin A, *Ficus schwarzii* ağacından izole edilen alkaloid, sıçanların izole aortunda önemli vazorelaksan etkiler göstermektedir. Yapılan çalışmada 57 analog sentezi gerçekleştirilmiş ve analog 33'ün 40 kat artırılmış vazorelaksan aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir (Lee vd., 2024).

Akuammisin, *Picralima nitida*'dan ekstrakte edilen bir pirolo[2,3- d]karbazol alkaloididir. Kappa opioid reseptörüne agonist olarak etki etmektedir. Yapılan bir çalışmada araştırma grubu bir dizi akuammisin türev sentezi gerçekleştirilmiş ve furan-3-il türevinin önemli derecede etkili olduğu belirtilmiştir (Hennessy vd., 2024).

Bu doğrultuda mevcut çalışmanın amacı, karabiberden (*Piper nigrum* L.) piperin izolasyonu yapılması ve literatürde daha önce rapor edilmemiş piperin iskelelerine dayalı yeni kimyasal bileşiklerin sentezinin gerçekleştirilmesidir. Ayrıca, bu türevlerin antifungal, antiproliferatif, antioksidan, anti-diyabetik, anti-alzheimer aktivitelerinin değerlendirilmesidir.

2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE VE İLGİLİ ÇALIŞMALAR

2.1. Karabiber (*Piper nigrum* L.)

2.1.1. Karabiberin (*Piper nigrum* L.) tanımı ve önemi

Dünya genelinde en yaygın kullanılan baharatlardan biri olan karabiber (*Piper nigrum* L.), Piperaceae familyasına ait Hindistan kökenli bir bitkidir (Altundağ ve Samav, 2024; Garg, 2023). Karabiber (*Piper nigrum* L.), çok yıllık, tırmanıcı ve sarılıcı bir bitkidir. Kalın saplara sahip olan bitki, 6-7 metreye kadar boylanabilir ve büyük, oval şekilli yapraklar taşımaktadır. Karabiber (*Piper nigrum* L.) bitkisi, salkım şeklinde düzenlenmiş küçük, beyaz çiçekleri vardır. Her salkımında genellikle 20 ila 30 arasında meyve bulundurmaktadır (Karankı, 2013). Bu meyveler ise tam olgunlaşmadan önce toplanıp kurutularak karabiber taneleri (*Piper nigrum* L.) (Şekil 7) elde edilir (Çilak, 2018). 4-6 mm çaplı, buruşuk yüzeyli, siyahımsı renge sahip olan karabiber taneleri (*Piper nigrum* L.) yakıcı tada ve keskin kokuya sahiptir. Karabiber (*Piper nigrum* L.) ülkemizde en çok tüketilen baharat çeşidi olmasına rağmen ülkemizde yetiştirilmesi iklim şartlarından dolayı mümkün değildir (Çoban ve Patır, 2010).

Şekil 7. Karabiber (*Piper nigrum* L.) ağacı ve meyvesi
(https://www.gbif.org/species/3075433)

Karabiber (*Piper nigrum* L.) eski çağlardan beri önemli bir yere sahiptir. Orta çağda altın ve gümüşle kıyaslanan karabiber (*Piper nigrum* L.) 15. yy'de ise İngiltere'de kira bedeli olarak kabul edilmiş önemli bir baharat çeşididir. Baharat olarak hem geleneksel mutfak uygulamalarında hem de endüstriyel gıda üretiminde geniş bir kullanım yelpazesine sahiptir. Özellikle et ve fırıncılık ürünleri, yumurta bazlı tarifler, çorbalar, içecekler (alkollü ve alkolsüz), çeşni karışımları, şekerlemeler, çeşitli soslar, sebze yemekleri, zeytinyağlı ve etli

dolmalar ile turşu ve salata gibi ürünlerin lezzetlendirilmesinde etkin rol oynamaktadır. (Çilak, 2018).

Karabiber (*Piper nigrum* L.), terapötik faydaları açısından uzun zamandır birçok Asya ülkesinde astım, hazımsızlık, romatoid artrit, ağrı ve solunum yolu enfeksiyonlarını tedavisi için kullanımı mevcuttur (Christian vd., 2023; Işkın vd., 2024; Ghosh vd., 2020). Vazgeçer vd. (2005) tarafından et ve et ürünleri üzerinde yapılan bir çalışmada karabiberin antimikrobiyal ve antioksidan etkisi sayesinde et ve et ürünlerinin kalitesinin arttığı, depolama süresinin uzadığı ve böylece ekonomik kayıpların azaldığı belirtilmiştir. Gürsoy ve Gürsoy (2004) tarafından yapılan bir çalışmada diş çürümesi ve dişeti kanamasında karabiberin halk arasında kullanıldığı belirtilmiştir.

2.1.2. Karabiberin (*Piper nigrum* L.) fiziksel ve kimyasal özellikleri

Kaliteli bir tane karabiberde (*Piper nigrum* L.) bulunması gereken fiziksel ve kimyasal özellikleri ülkemizde Türk Gıda Kodeksi Baharat Tebliği'nin Avrupa'da ise Avrupa Baharat Birliği (ESA)'nin belirlediği kriterler geçerlidir. Türk Gıda Kodeksi Baharat Tebliği (Tebliğ No:2013/12)'nde belirtilen kriterlere göre öğütülmemiş tane karabiberin (*Piper nigrum* L.) fiziksel ve kimyasal özellikleri: Yabancı madde en çok %1, toplam kül en çok %8, rutubet en çok %12, asitte çözünmeyen kül en çok %1, selüloz en çok %18, uçucu olmayan eter ekstraktı en az %6, uçucu yağ en az 2 mL/100 g, az gelişmiş ve cılız tane en çok %4, hafif tane en çok %10 şeklindedir (Anonim 2013). ESA'ya göre öğütülmemiş tane karabiberde (*Piper nigrum* L.) asitte çözünmeyen kül en çok %1,5, kül en çok %7; rutubet en çok %12 ve uçucu yağ en az 2 mL/100 g olmalıdır (Çilak, 2018).

2.1.3. Karabiberin (*Piper nigrum* L.) aroması

Karabiber tanesinden yaklaşık %2-5 arasında uçucu yağ elde edilmektedir (Özdemir, 2013). Buna ek olarak koku ve aromaya katkıda bulunan karabiberin (*Piper nigrum* L.) kabuk katmanı pinen, sabinen, limonen, karyofilen ve linalool gibi kimyasalları içermektedir. Uçucu yağların yaklaşık %90'ı bu kimyasalları içermektedir (Ceylan, 1987; Tajodini vd., 2015). Karabiberin (*Piper nigrum* L.) uçucu yağında bulunan esas monoterpen hidrokarbonlar; α-pinene, β-pinene, limonen ve sabinendir. Karabiber (*Piper nigrum* L.) uçucu yağında bulunan oksijenli terpen hidrokarbonların başında β-karyofillen gelmektedir ve karabiber (*Piper*

nigrum L.) yağında bulunan major seskiterpen hidrokarbondur (Özdemir, 2013). Meyvenin kabuğu ayrıldıktan sonra içerisinde bulunan beyaz biberde bu aromatik bileşenler eksiktir.

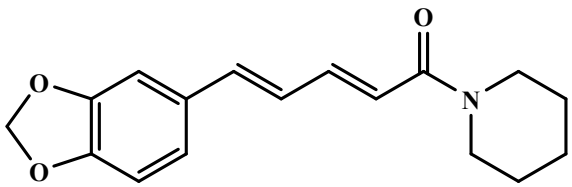
Tane karabiber (*Piper nigrum* L.) hava almayan tenekede yıllarca saklanabilmektedir, ama toz halinde ömrü kısadır ve zamanla uçucu yağ kaybı sebebiyle lezzetini ve kokusunu kaybedebilir. İlaveten karabiber (*Piper nigrum* L.), ışık varlığında piperinin neredeyse tamamen tatsız olan izochavisine dönüşmesi yoluyla bir miktar aroma kaybı olmaktadır. Bu sebeplerden dolayı aromasını koruması için karabiberin tane olarak satışa sunulması ve kullanımdan hemen önce öğütülerek kullanılması tavsiye edilmektedir (Dorman ve Deans, 2000; Atasever ve Atasever, 2007).

Keskin kokusuyla bilinen baharatların kralı olarak adlandırılan karabiber (*Piper nigrum* L.) çeşitli farmakolojik özelliklerinden sorumlu olan önemli bir alkaloid grubundaki piperini içermektedir (Işkın vd., 2024; Saleem vd., 2022). Karabiberde bulunan diğer başlıca alkaloidler ise chavicine, piperidin ve piperetindir. Karabiberin (*Piper nigrum* L.) ana biyoaktif bileşeni olan piperin, bu bitkiye özgü karakteristik özelliklerin ortaya çıkmasında belirleyici bir rol üstlenmektedir (Srinivasan, 2007; Wattanathorn vd., 2008; Singh ve Duggal, 2009; Moghadamnia vd., 2010; Han, 2011; Butt vd., 2013).

2.2. Piperin

2.2.1. Kimyasal yapısı ve özellikleri

Piperin **(1)**, ilk olarak 1820 yılında Danimarkalı kimyacı Hans Christian Orstedt tarafından izole edilmiştir (Srinivasan, 2007). Piperin ([1-[5-[1, 3 benzodioksol-5-yl]-1-okso-2, 4, pentadienil piperidin) kimyasal formülüne sahip $C_{17}H_{19}NO_3$ olan bir alkoloiddir (Quijia ve Chorilli 2020). Piperinin bağıl molekül kütlesi 285.33 g mol^{-1}'dir ve %71.55 karbon, %16.82 oksijen, %6.71 hidrojen ve %4.91 azot içerdiği belirtilmiştir (Srinivasan, 2007). Erime noktası 128-130°C olan suda çözünmeyen sarı kristal bir maddedir. Piperidin ($C_5H_{11}N$) bazı durumlarda zayıf baz gibi davranabilmektedir. Buna karşın, hidrolizin asidik ürünü 4 izomerik şekli bulunmaktadır. Piperin stereoizomerleri haricindeki çok acı olmayan 3 izomerden dolayı tatsızdır (Srinivasan, 2007; Alexander vd., 2014). Piperin **(1)** ışığa karşı oldukça hassas olduğu için çözeltisi direkt ışığa maruz kalmamalıdır. Piperin **(1)**, cis-Piperin ve piperidin gibi yardımcı bileşenleri karabiberin acılık özelliğinden sorumlu olduğu belirtilmiştir (Şekil 8).



Şekil 8. Piperinin **(1)** kimyasal yapısı

Karabiber taneleri *(Piper nigrum* L.*)* %5-7 oranında piperin **(1)** içermektedir (Srinivasan, 2007; Alexander vd., 2014). Hindistan'ın büyük bir bölümünde ilaç olarak kullanılan karabiber *(Piper nigrum* L.*)* bitkisinin antibakteriyel, antiapoptotik, antifungal, antidepresan, antimutajenik, antiinflamatuar, anti-metastatik aktivite, antitümör, antioksidatif, antitiroid ve böcek öldürücü aktivitesi bulunmaktadır. Larvasidal aktivite, aralıklı ateş, diyabet kaynaklı oksidatif strese karşı koruma, analjezik aktiviteleri de bulunmaktadır (Paarakh vd., 2015). Piperinden kaynaklı bu biyolojik aktivitelere ilaveten terapötik açıdan çok sayıda besin ve ilacın biyolojik etkilerini de artırmaktadır. Çeşitli mekanizmalarla absorpsiyonu teşvik ederek besinlerin ve ilaçların biyolojik kullanılabilirliğini artırabilmektedir. Piperin **(1)**, ilaç metabolizmasında kritik bir rol oynayan sitokrom CYP 3A'yı (CYP3A) etkisiz hale getirebilmektedir (Haq vd., 2021). Piperin, serbest radikalleri inhibe ederek in vitro çalışmalarda oksidatif hasara karşı koruma sağlamaktadır. En önemli özelliği ise karaciğerde enzimatik ilaç reaksiyonları üzerindeki inhibe edici etkisinin olmasıdır. Merkezi sinir sistemi antidepresanı olarak da tanımlanmaktadır (Srinivasan, 2007).

Piperin **(1)**, düşük dozlarda antioksidan aktivite gösterirken; daha yüksek dozlarda ise birçok kanser hücrelerinin hayatta kalmasını veya ölümünü desteklemedeki rolleri sebebiyle önem arz eden reaktif oksijen türlerini (ROS) uyarmaktadır. ROS' un neden olduğu oksidatif stres, iyi bilinen bir apoptoz indükleyicidir. Bu nedenle, piperinin pro-oksidan aktivitesi, birçok kanser türünde apoptozu indükleme kabiliyetine katkıda bulunmaktadır (Turrini vd., 2020). Piperinin hücre döngüsünü G1 kontrol noktasında durdurup, apoptozu tetikleyerek kolon kanseri hücre hatlarının büyümesini engellediği belirtilmiştir (Bolat vd., 2020). Karaciğer kanseri hücreleri için toksik olan piperin konsantrasyonları, normal hepatositler için toksik özelliğe sahip değildir. Piperin, katalaz enziminin aktivitesini inhibe ederek peroksit kaynaklı, mitokondri aracılı apoptozun uyarılmasını sağlamakta ve reseptör tirozin kinazı ve insan hepatosit karsinomu (HCC) ilerlemesini inhibe edebilmektedir (Anwanwan vd., 2020).

2.2.2. Piperin elde etme yöntemleri

2.2.2.1. İyonik sıvı (IL) bazlı ultrasonikasyon destekli ekstraksiyon

Cao vd. (2009) ve Sun vd. (2013) tarafından yapılan çalışmada karabiberden piperin elde etmek için bir ultrasonik su banyosu kullanarak bir ekstraksiyon yöntemi geliştirmişlerdir. Bu yöntemde, kuru karabiber tozu (*Piper nigrum* L.*)*, farklı iyonik sıvılar (IL) içeren çözelti ile karıştırılmıştır. Karışım ultrasonik işlemden geçirilip oda sıcaklığında soğutulduktan sonra buchner hunisiyle süzülüp, filtreden geçirilmiştir. Son olarak, bu çözelti Ultra Performans Sıvı Kromatografisi (UPLC) analizine tabi tutularak piperin kristalleri elde edilmiştir.

2.2.2.2. Karabiberin buzlu asetik asitle maserasyonu

Shingate vd. (2013) ve Kanaki vd. (2008), tarafından yapılan bir çalışmada piperin ekstraksiyonu ve izolasyonu için farklı bir yöntem kullanılmıştır. Karabiber taneleri (*Piper nigrum* L.*)* öğütülerek toz haline getirilmiş ve buzlu asetik asit ile soğuk maserasyon yöntemiyle bekletilmiştir. Bu işlem 4-5 kez tekrarlanmıştır. Elde edilen ekstraktlar süzülerek birleştirilmiş, ardından saf su ile seyreltilmiştir. Bu çözelti, kloroform ile ekstrakte edilmiştir. Kristallendirme işlemi ile iğne şeklinde piperin kristalleri elde edilmiştir.

2.2.2.3. Ekstraksiyon ve aktiviteye dayalı izolasyon

Raman vd. (2002) tarafından yapılan bir çalışmada *Piper* cinsine bağlı bir bitki türü olan uzun biber olarak bilinen *Piper longum* L. meyvelerini toz haline getirdikten sonra etanol ile ekstrakt işlemini gerçekleştirmişlerdir. Bu etanolik özüt su içinde süspanse edilmiş ve sıvı-sıvı ekstraksiyona tabi tutulmuş. Daha sonra kolon kromatografisine tabi tutulduktan sonra kristallendirme işlemi yapılmıştır.

2.2.2.4. Soxhlet ve modifiye soxhlet ekstraksiyonları

Subramanian vd. (2016), Hamrapurkar vd. (2011), Kolhe vd. (2011) tarafından yapılan çalışmada çift baypaslı soxhlet aparatı kullanarak ekstraksiyon işlemi yapılmıştır. Ekstraksiyona 22-24 saat boyunca devam edilmiştir. Su banyosunda ekstrakte edilen bileşiğin verimi hesaplanmıştır.

2.2.2.5. Etanol kullanılarak ekstraksiyon

Sreevidya vd. (2003) çalıştığı yöntemde, toz karabiber etanol ile 2-3 saat boyunca Soxhlet cihazı kullanılarak ekstrakte edilmiştir. Daha sonra süzülen ekstrakt su banyosunda konsantre edilmiştir. Süzüntüye potasyum hidroksit çözeltisi ilave edilerek bir gece bekletilmiştir. Ve piperin elde edilmiştir.

2.2.2.7. Mikrodalga destekli piperin ekstraksiyonu

Mengal ve Mompon (2006) tarafından piperin izolasyonu iki farklı mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Bu tekniklerin her ikisi de bir mikrodalga sentezleyici kullanılarak yapılmıştır. Karabiber (*Piper nigrum* L.*)* tohumları önce hava ile kurutulmuş ve ardından yüksek hızlı bir karıştırıcı kullanılarak toz haline getirilerek eleklerden geçirilmiştir. Daha sonra, bu toz malzeme farklı partilere bölünmüştür. Çözücü olarak petrol eteri kullanılmıştır. İki farklı mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemindeki temel fark birinde azot gazının kullanılmasıdır.

2.2.2.8. Piperinin naviglio ekstraktörü kullanılarak ekstraksiyonu

Gigliarelli vd. (2017) ve Naviglio (2003), ekstraktör adlı bir cihaz kullanarak biber meyvelerinden piperin ekstraksiyonunun işlenmesi için yeni bir teknik ortaya koymuşlardır. Burada, kaynatma, maserasyon, katı-sıvı ekstraksiyonu ve katı-sıvı dinamik ekstraksiyon olmak üzere dört ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır.

2.2.2.9. İyonik sıvı (IL) ekstraksiyon yöntemi ile piperinin misel ekstraksiyonu

Karabiber (*Piper nigrum* L.*)* süspansiyonu sulu bir çözeltide hazırlanarak ve 3 saat çalkalama işlemi gerçekleştirilmiştir. İyonik sıvı çözeltisi kullanılarak seyreltilmiştir. Seyreltilmiş çözelti HPLC kullanılarak analiz edilmiştir (Han ve Row, 2010; Poole ve Poole, 2010; Yang vd., 2012).

2.2.2.10. Mikrodalga geri distilasyon ekstraksiyonu

Olalere ve arkadaşları tarafından ev tipi mikrodalga kullanarak piperin ekstraksiyonunu gerçekleştirilmiştir. Karabiber (*Piper nigrum* L.*)* tozu damıtılmış suyla nemlendirilmiş.

Nemlendirilen ve homojenleştirilen karışım, Taguchi deney dizisine göre belirlenen koşullar altında mikrodalga uygulamasına tabi tutulmuştur. Daha sonra üstteki çözelti, spektroskopik kantifikasyon için mikrofiltre kullanılarak filtrelenmiştir. Karabiber ve beyazbiber için optimum koşullar altında ekstraksiyon tekniği kullanılarak piperin elde edilmiştir.

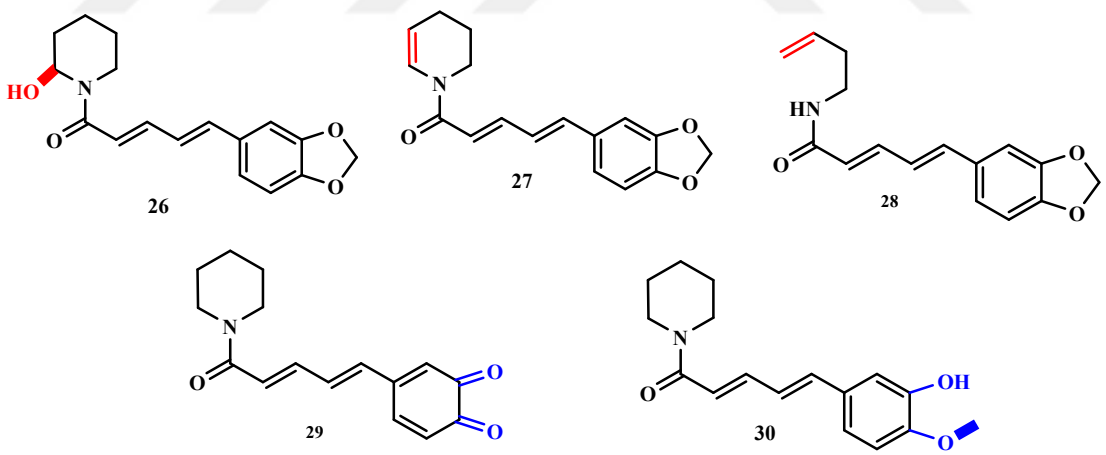
2.2.2.12. Süperkritik akışkan ekstraksiyon tekniği (SFE)

SFE, çeşitli doğal kaynaklardan aktif bileşenlerin çıkarılması ve izolasyonu için kullanılan popüler teknik haline gelmiştir. SFE kullanılarak piperinin çıkarılmasında sıcaklık ve basıncın sabit tutulmasının önemli rolü vardır (Khaw vd., 2017; Mukhopadhyay, 2000).

2.2.3. Piperin ve türevleri

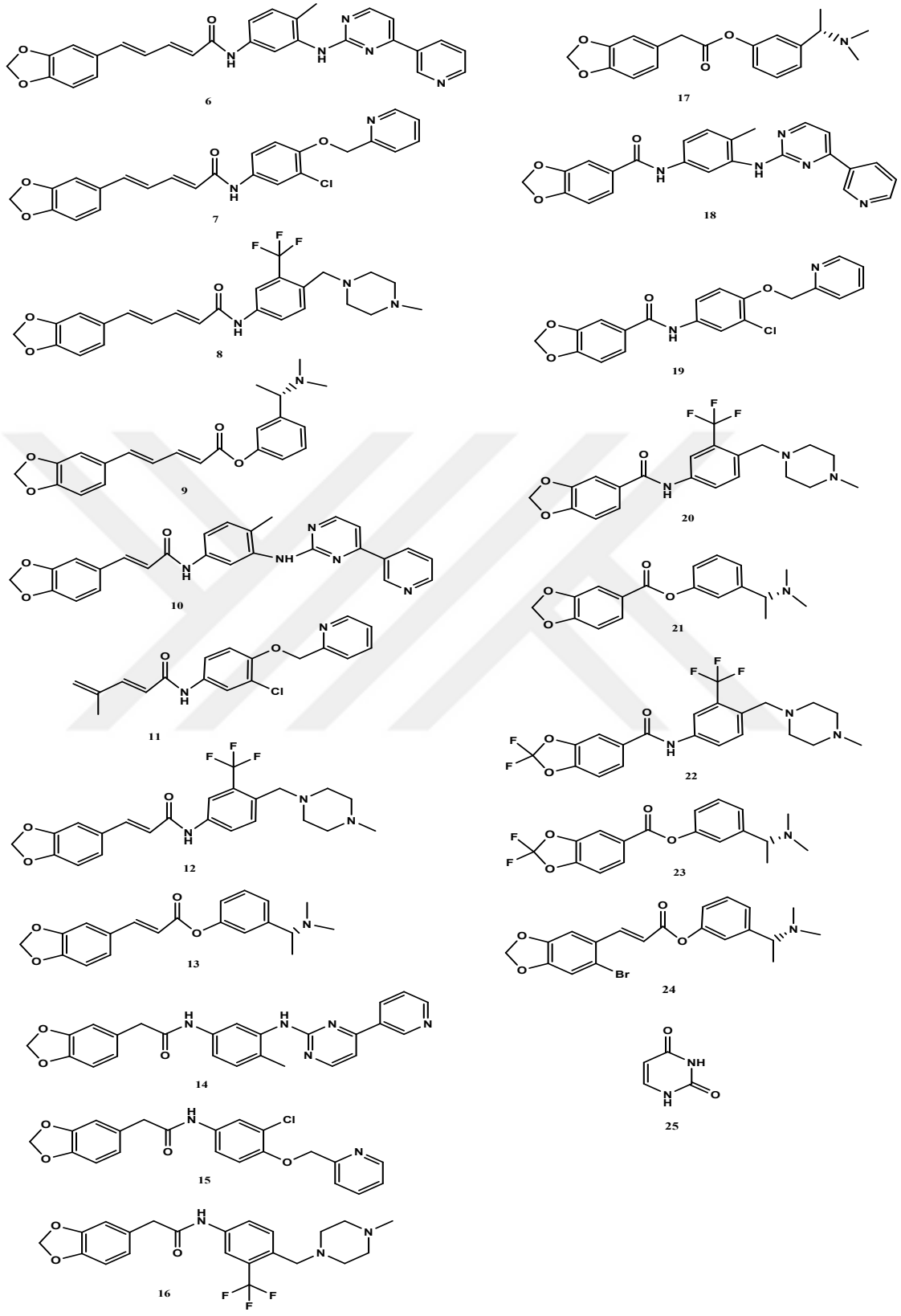
Bu bölümde, piperinden sentezlenmiş türevleri üzerine yapılan akademik çalışmalar kapsamlı bir şekilde incelenmiş ve mevcut bilimsel bilgi birikimi ortaya konulmuştur.

Asra vd. (2024) tarafından yapılan bir çalışmada piperin ve türevleri Hesaplamalı Tahmini ve Metabolitlerin Elektrokimyasal Tespiti (CP-EDM) ile tanınmıştır (Şekil 9).



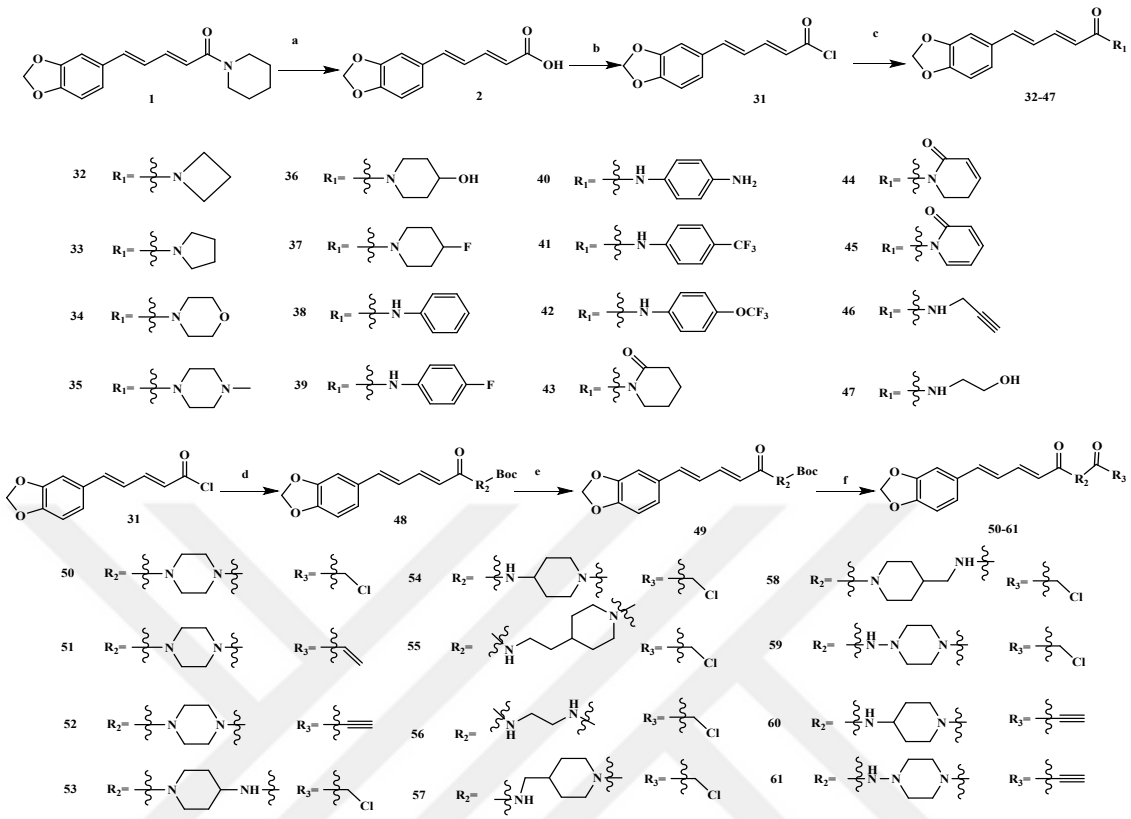
Şekil 9. Piperin ve LC−MS ile tanımlanabilir metabolitlerin elektrokimyasal oksidasyonu. Anahtar: Kırmızı, Shono tipi oksidasyon reaksiyonlarını, mavi ise Oxa-Shono tipi oksidasyon reaksiyonlarını gösterir (Asra vd., 2024).

Wang vd. (2024) tarafından bir dizi piperin türevi sentezlenmiştir (Şekil 10).



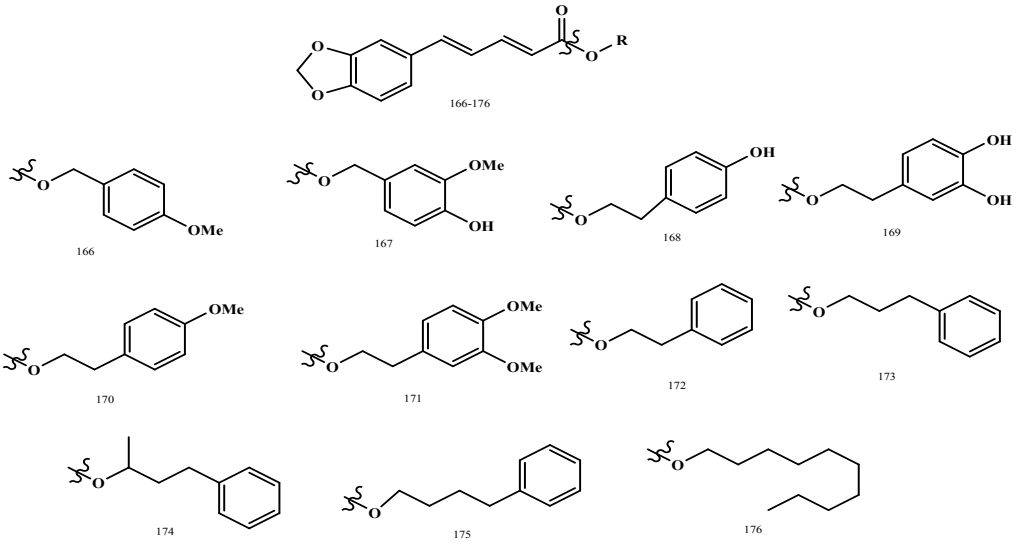
Şekil 10. Piperinden sentezlenen bazı moleküller (Wang vd., 2024)

Zhang vd. (2024) tarafından yapılan bir çalışmada 28 piperin türevi tasarlanmış ve sentezlenmiştir (Şekil 11).



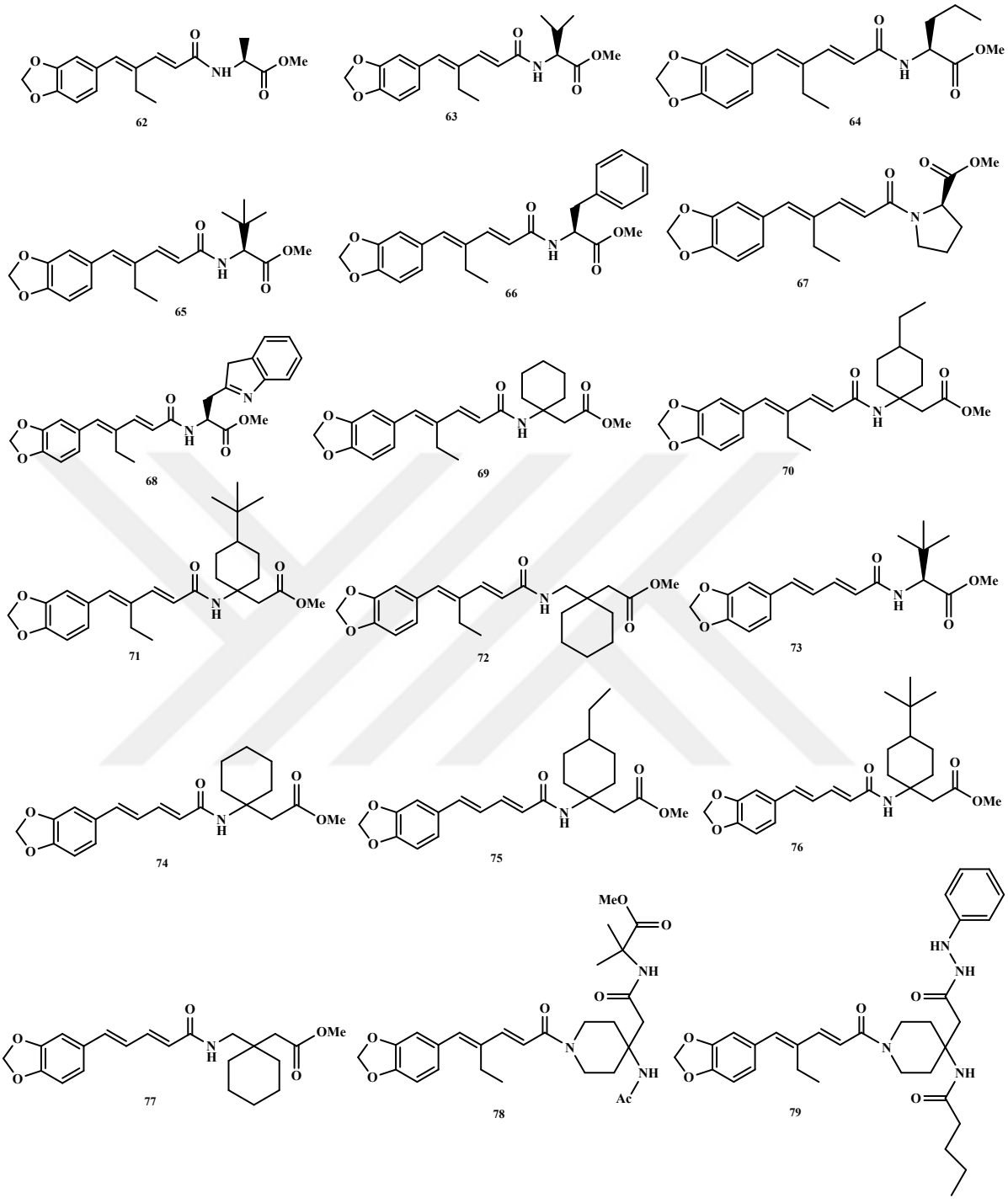
Şekil 11. Piperinden tasarlanan 28 türeve ait moleküller (Zhang vd., 2024)

Sakagami vd. (2017) tarafından sentezlenen piperik asit esterlerinin kimyasal yapıları Şekil 12'de verilmiştir.



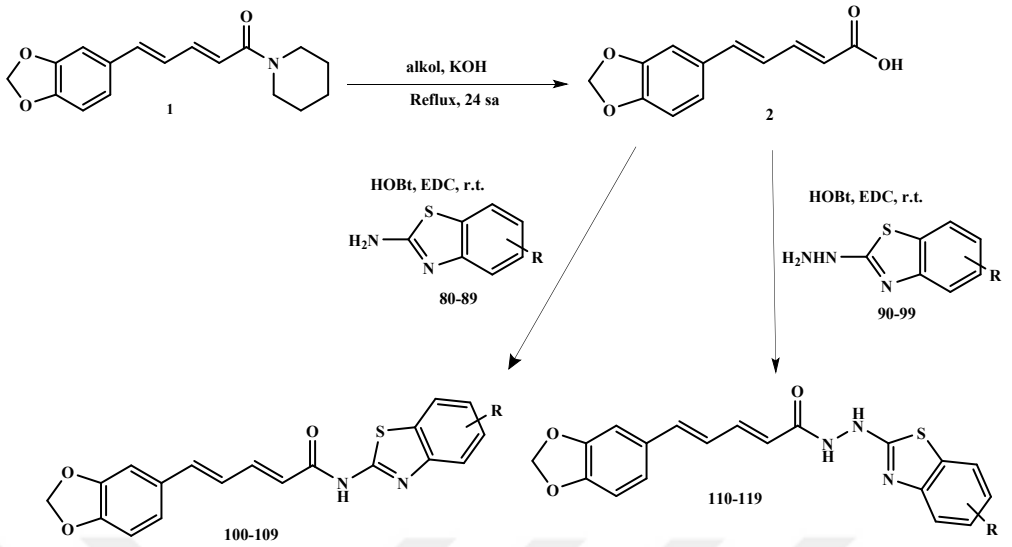
Şekil 12. Piperik asit esterlerinin yapısı (Sakagami vd., 2017)

Wani vd. (2016) tarafından sentezlenen 18 piperin türevi Şekil 13'de verilmiştir.



Şekil 13. Piperinin, piperik asidin (PA), 4-etilpiperik asidin (EPA) ve *α*-, *β*- ve *γ*-amino asitli amidlerinin, 59-76 kimyasal yapısı (Wani vd., 2016)

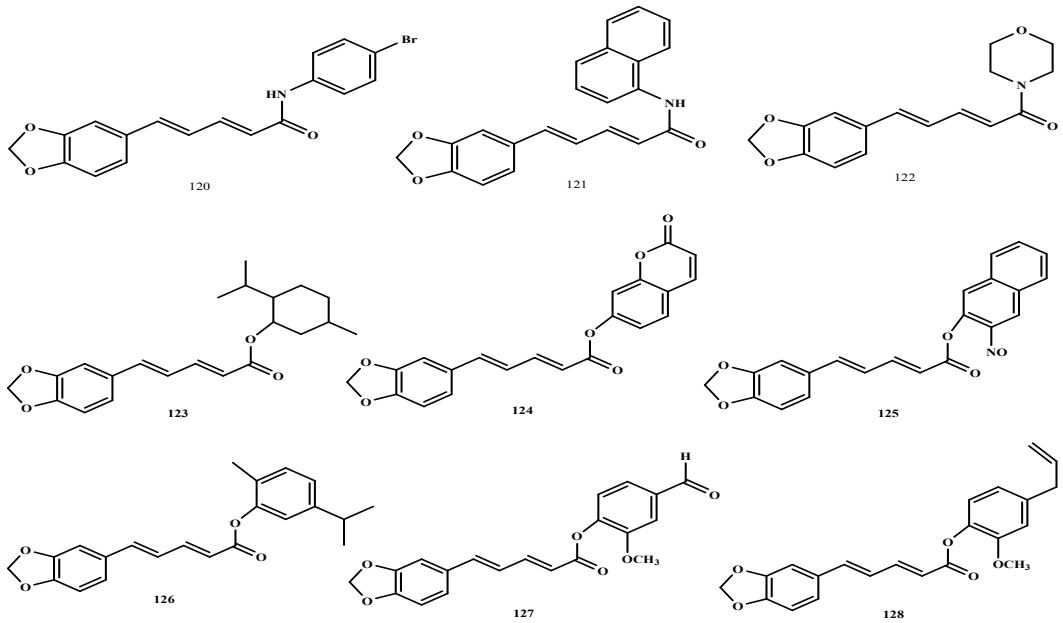
Kharbanda vd. (2016) tarafından sentezlenen piperin türevleri Şekil 14'de verilmiştir.



Bileşik	R	Bileşik	R
80,90,100,110	4-Cl	85,95,105,115	4-OCH_3
81,91,101,111	5-Cl	86,96,106,116	6- OCH_3
82,92,102,112	6-Cl	87,97,107,117	6- OCH_2CH_3
83,93,103,113	6-Br	88,98,108,118	4-CH_3
84,94,104,114	6-F	89,99,109,119	6-NO_2

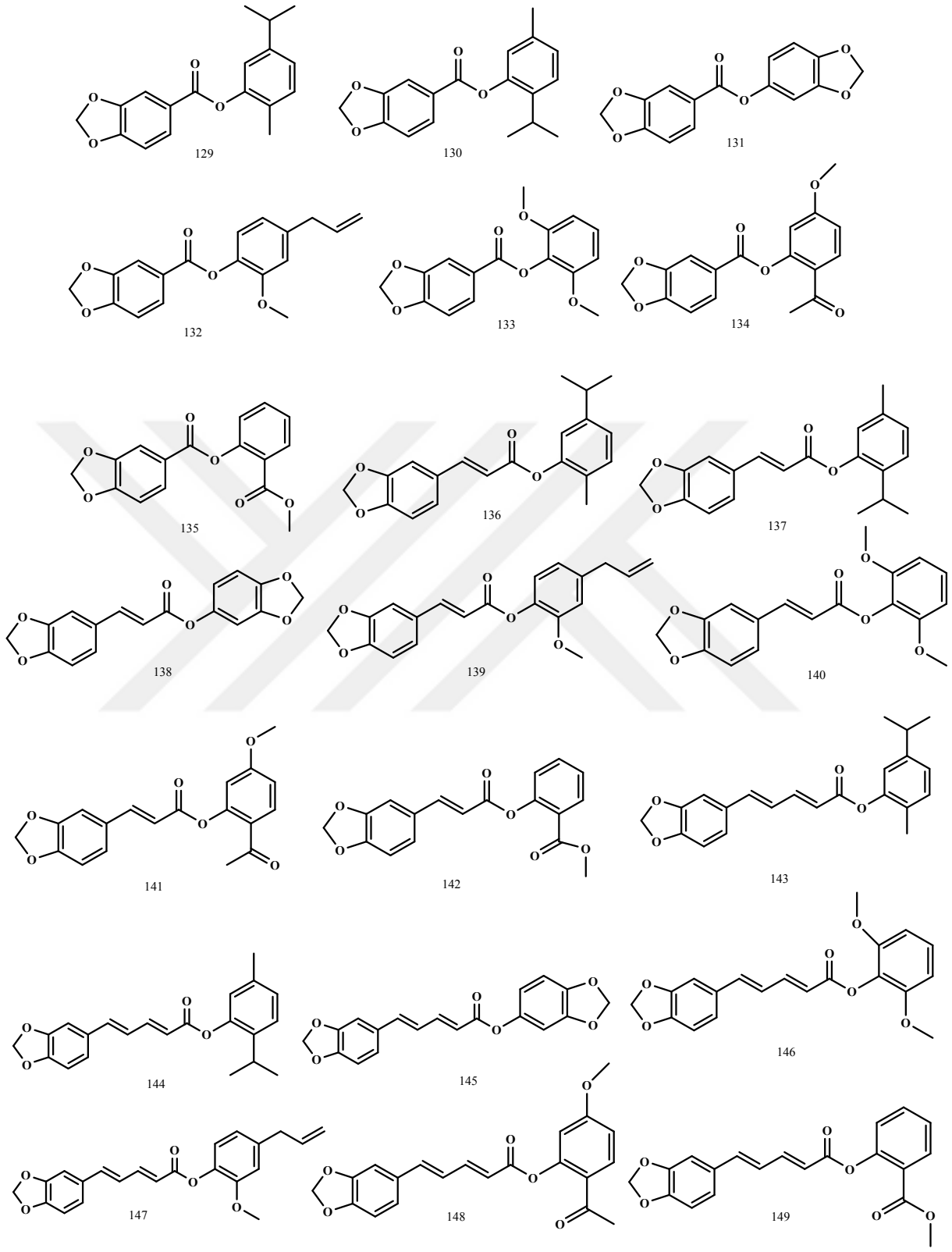
Şekil 14. Piperinden elde edilen bileşiklerinin sentezi (Kharbanda vd., 2016)

Dhiman vd. (2020) tarafından sentezlenen piperin türevleri Şekil 15'de verilmiştir.



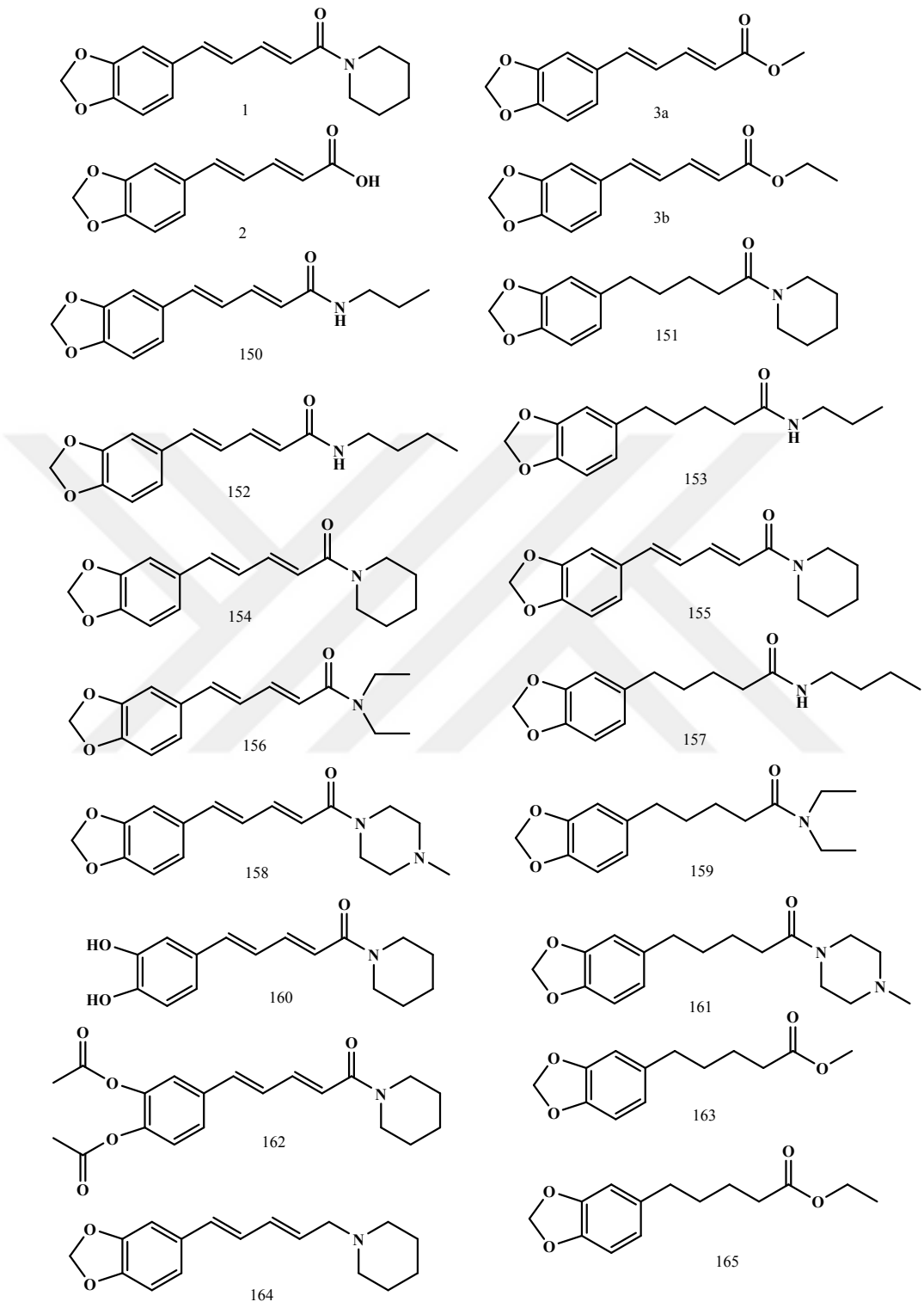
Şekil 15. Piperinden elde edilen türev bileşikleri (Dhiman vd., 2020)

Wang vd. (2020) tarafından sentezlenen piperin türevleri Şekil 16'da verilmiştir.



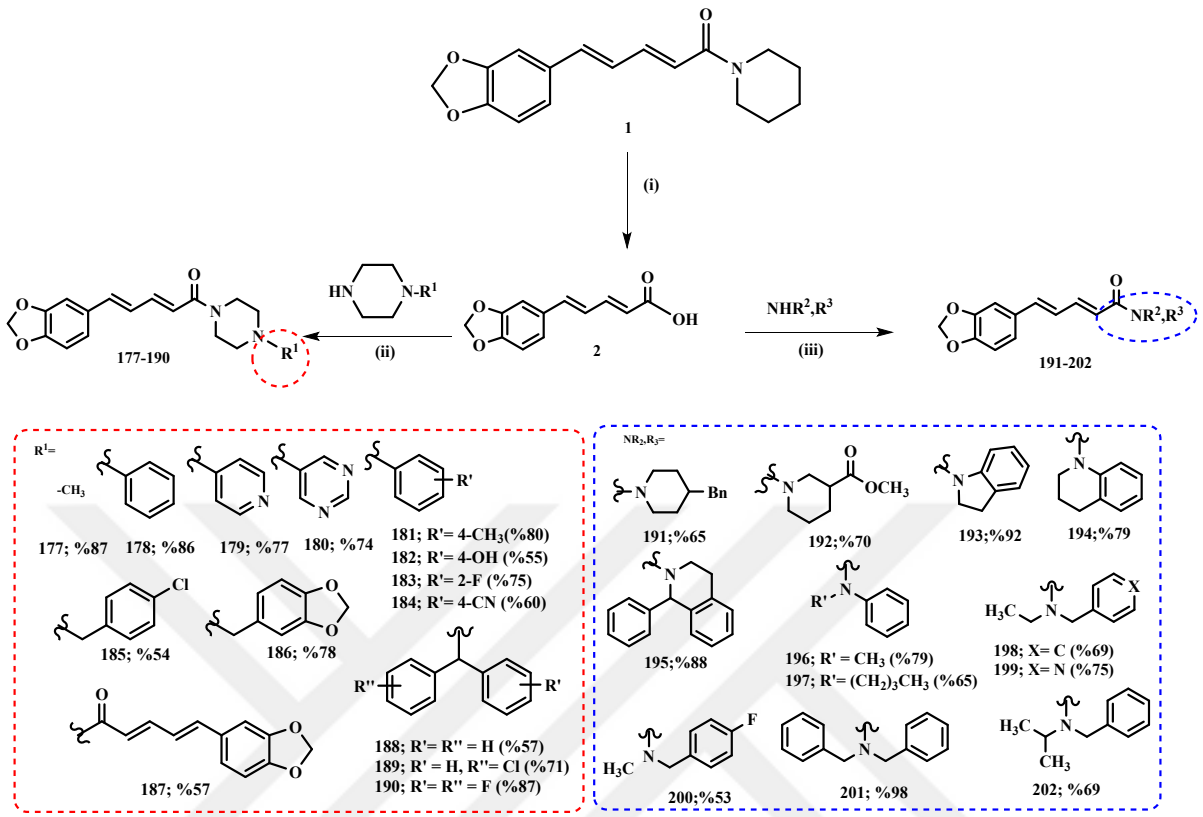
Şekil 16. Piperinden elde edilen türevler (Wang vd., 2020)

Sattarinezhad vd. (2015) tarafından sentezlenen piperin türevlerinin kimyasal yapıları Şekil 17'de verilmiştir.



Şekil 17. Piperin türevleri (Sattarinezhad vd., 2015)

Jaipea vd. (2023) tarafından sentezlenen piperin türevlerinin kimyasal yapıları Şekil 18'de verilmiştir.



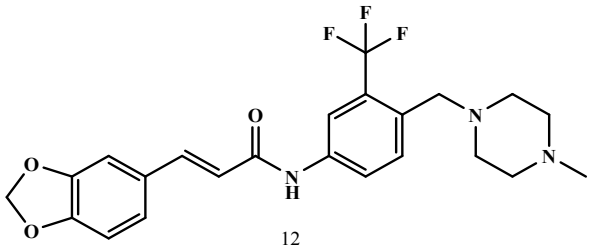
Şekil 18. Piperinden sentezlenen türevlerinin yapısı (Jaipea vd., 2023)

2.3. Literatür Taraması

Piperin ve bu bileşikten türetilen çeşitli yapılar, sahip oldukları farmakolojik potansiyel nedeniyle son zamanlarda birçok biyolojik aktivite yönünden kapsamlı olarak araştırılmıştır. Bu bileşiklerin özellikle antioksidan, antimikrobiyal, antikanser, anti-inflamatuar ve nöroprotektif etkileri üzerine yapılan çalışmalar hem piperinin hem de yapısal modifikasyonlara uğratılmış türevlerinin terapötik potansiyellerini ele almaktadır. Bu bölümde, piperin ve türevlerinin biyolojik aktiviteleri ile ilgili literatürde yer alan bulgular sunulmaktadır.

Wang vd. (2024), tarafından bir dizi piperin türevi tasarlanmış ve sentezlenmiştir. Sentezlenen bu bileşiklerin 293 T insan normal hücrelerine ve HeLa (rahim ağzı kanseri) ile MDA-MB-231 (meme) kanser hücre hatlarına karşı antitümör aktiviteleri MTT testi yoluyla değerlendirilmiştir. Özellikle, bileşik 12 tümör dışı 293 T hücrelerine karşı azaltılmış toksisite

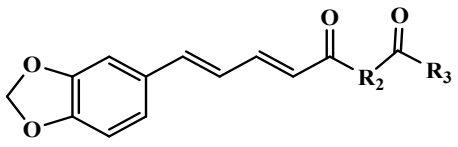
gösterirken MDA-MB-231 ve HeLa hücrelerinde antiproliferatif etkilerini güçlü şekilde arttırdığı rapor edilmiştir. 15 μM konsantrasyonunda bileşik 12 (Şekil 19), HeLa hücre fonksiyonu üzerindeki inhibitör etkisinde hem piperin hem de bileşik 25'in etkisinin üzerinde olduğu belirtilmiştir.



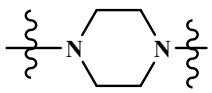
12

Şekil 19. HeLa hücrelerinde antiproliferatif etki gösteren bileşik (Wang vd., 2024)

Zhang vd. (2024), tarafından 28 piperin türevi tasarlanmış ve sentezlenmiştir. Üç insan kanser hücre hattına (HCT-116, NCI-H226 ve MDA-MB-231 karşı sitotoksisiteleri ve insan dihidroorotat dehidrogenaz inhibisyonunun (*h* DHODH) inhibe edici aktiviteleri değerlendirilmiştir. Bu bileşikler arasında, bileşik 52'in en güçlü inhibe edici aktiviteleri (NCI-H226 IC_{50} = 0,95 μM, *h* DHODH IC_{50} = 0,21 μM) gösterdiği rapor edilmiştir. Daha ileri farmakolojik çalışmalar, bileşik 52'in NCI-H226 hücrelerinde ferroptozu indükleyerek antikanser etkilerinin olduğunu ve sitotoksisitesinin ferroptozis inhibitörleri tarafından tersine çevrildiğini belirtmişlerdir. Genel olarak, bileşik 52'in (Şekil 20) geliştirilmesi gereken potansiyel antikanser özelliklerine sahip *h* DHODH inhibitörü olarak belirlenmiştir.



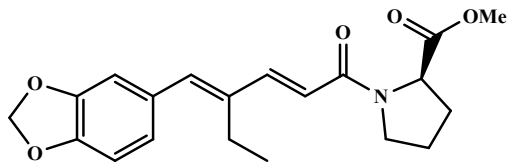
50-61

52 R_2=  R_3=

Şekil 20. *h*DHODH inhibitör özellik gösteren bileşik (Zhang vd., 2024)

Wani vd. (2016), tarafından toplamda on sekiz piperik asit ve 4-etilpiperik asit (EPA) amidi (59-76), *α*-, *β*- ve *γ*-amino asitler ile sentezlenip, karakterize edilmiştir ve siprofloksasine

dirençli *Staphylococcus aureus*'a karşı efflux pompası inhibitör aktiviteleri açısından değerlendirilmiştir. EPI 70'in (Şekil 21)en güçlü olduğu ve siprofloksasinin MİK'ini 16 kat azalttığı bulunmuştur. Etidyum bromür efflux inhibisyonu ve birikim testi bu bileşiklerin NorA inhibitörleri olduğu belirtilmiştir.

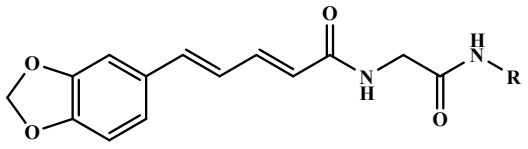


70

Şekil 21. *Staphylococcus aureus*'a karşı inhibitör özellik gösteren bileşik (Wani vd., 2016)

Kharbanda vd. (2016), tarafından yapılan çalışmada karabiberden piperin izole edilip ve piperinden de piperik asit elde edilmiştir. Daha sonra benzotiyazol kısmı içeren yirmi piperin türevinin sentezini gerçekleştirmek için piperik asit öncü olarak kullanılmıştır. Tüm bileşikler OGT testi ile antidiyabetik potansiyelleri açısından değerlendirilmiş ve ardından STZ ile indüklenen diyabetik modelde aktif türevler değerlendirilmiştir. Yirmi yeni piperin analoğundan dokuzunun (98; 107-114) rosiglitazon (standart) ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek antidiyabetik aktivite gösterdiği rapor edilmiştir.

Zhang vd. (2022), tarafından yapılan çalışmada lineer bir bisamid içeren 30 yeni pestisit türevi sentezlenmiş ve *P. Xylostella*'ya karşı böcek öldürücü aktivitelerine bakılmıştır. Biyoaktivite sonuçları, istenen bileşiklerin çoğunun, *P. xylostella*'ya karşı piperin'den daha iyi böcek öldürücü aktivite sergilediği belirtilmiştir. Moleküler doking sonuçlarına bakıldığında bileşik 203'ün (Şekil 22) γ-aminobütirik asit reseptörleri üzerinde etkili olabileceği gösterilmiştir.



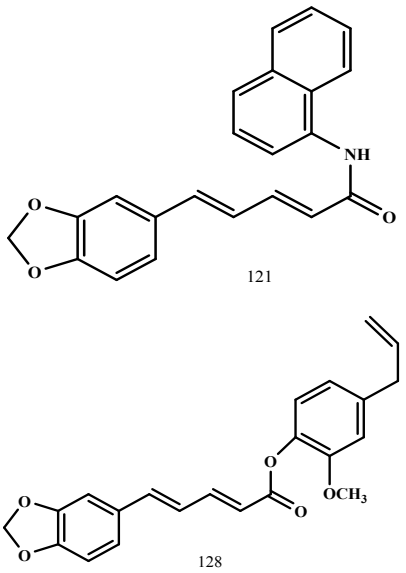
203: R=CH_2CF_3

Şekil 22. *γ*-aminobütirik asit reseptörleri üzerinde etkili olan bileşik (Zhang vd., 2022)

Al-Baghdadi vd. (2012), tarafından yapılan çalışmada piperin ve antiepilepsirin ile ilgili bir dizi bileşik sentezlenmiş, monoamin oksidaz A ve B için aktivite bakılmıştır. Piperinin, monoamin oksidaz (MAO) inhibitör aktivitesi de dahil olmak üzere geniş bir aktivite yelpazesine sahip olduğu belirtilmiştir. Tarama deneyi için z faktörünün her iki deney için de 0,8'den büyük olduğu hesaplanmıştır. Test edilen bileşiklerin monoamin oksidaz-B'ye (MAO-B) karşı seçici olduğu rapor edilmiştir. Kan-beyin bariyeri (BBB) geçirgenliğini tahmin etmek için, bileşiklerin BBB'ye nüfuz etme olasılığının yüksek olduğunu gösteren bir PAMPA deneyi kullanılmıştır. Floresan sığır serum albümini (BSA) yüksek verimli tarama (HTS) bağlanma deneyinde piperin yüksek afinite göstermiştir.

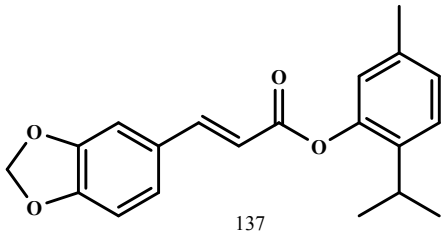
Ferreira vd. (2011), tarafından yapılan çalışmada, piperinin ve türevlerinin *Leishmania amazonensis* üzerindeki leishmanisidal etkisi değerlendirilmiştir. Sonuçların, piperin ve fenilamidin enfekte makrofajlarda amastigotlara ve promastigotlara karşı aktif olduğu belirlenmiştir. Her iki ilaç da mitokondriyal şişmeye, gevşek kinetoplast DNA'sına neden olmuş ve mitokondriyal membran potansiyelinin kaybına yol açmış. Promastigot hücre döngüsüde, piperin ve fenilamid tedavisinden sonra sırasıyla G1 faz hücrelerinde artış ve S faz hücrelerinde azalma ile etkilenmiştir. Promastigotların lipid analizi, piperinin diasilgliserol, trigliserit ve monoasilgliserol içeriklerini azalttığını, fenilamidin ise yalnızca diasilgliserol seviyelerini azalttığını göstermiştir. Sonuç olarak, piperinin ve fenilamid analoğunun kutanöz leishmaniasis tedavisi için ilaç geliştirmeye aday olduğunu belirtmektedir.

Dhiman vd. (2020), tarafından yapılan çalışmada bir dizi piperin türevi sentezlenmiştir ve bunların monoamin oksidaz A ve B testi ile serbest radikal temizleme aktivitesi değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin, MAO' nun aktif bölgesi içinde silico teknikleri kullanılarak analiz edilmiştir ve ADMET özellikleri hesaplanmıştır. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, 121 ve 128 gibi bazı bileşiklerin (Şekil 23) en umut verici *h*MAO-A inhibitörleri olarak ilginç terapötik potansiyeli göstermişlerdir. Çalışmanın sonucunda, piperin ile ilişkili türevlerin önemli MAO inhibitörleri ve antioksidan özelliğe sahip olduğu rapor edilmiştir.



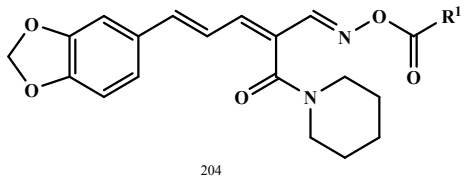
Şekil 23. *h*MAO-A inhibitör etki gösteren bileşik (Dhiman vd., 2020)

Wang vd. (2020), tarafından yapılan çalışma da piperinden türetilen yüksek potansiyelli fungisitler bulmak için, bir dizi piperin yönlendirmeli uçucu yağ türevi tasarlanmış ve sentezlenmiştir. Tüm moleküllerin yapıları, ^{1}H NMR, ^{13}C NMR ile yapıları aydınlatılmıştır. Hedef bileşikler, *Rhizoctonia solani*, *Phomopsis adianticola*, *Fusarium graminearum*, *Alternaria tenuis*, *Gloeosporium theae- sinensis* ve *Phytophthora capsici* dahil olmak üzere altı bitki patojeni mantar türüne karşı potansiyel fungisidal aktivitesi değerlendirilmiştir. Hedef bileşiklerden bazıları, ana piperine kıyasla test edilen mantarlara karşı orta ve geniş spektrumlu aktivite göstermiştir. Daha ileri çalışmalar, bazı farklı bileşik konsantrasyonlarının, ticari karbendazim ile karşılaştırıldığında *Phytophthora capsici* ve *Alternaria tenuis* karşı önemli inhibitör aktiviteye sahip olduğunu ve bu bileşiğin özellikle önemli derecede mantar öldürücü aktivite sergilediği belirtilmiştir (Şekil 24).



Şekil 24. Fungisidal aktivitesi değerlendirilen bileşik (Wang vd., 2020)

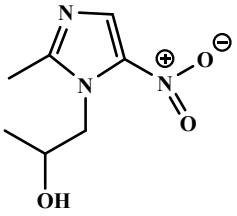
Lv vd. (2023), tarafından yapılan çalışmada, oksim ester iskeleleri içeren bir dizi yeni piperin türevleri sentezlenmiş, pestisit ajanları olarak stereoselektif ve regioselektif olarak hazırlanmıştır. *Aphis citricola*'ya karşı, bileşik 204 (Şekil 25) piperinden 6,1 kat daha güçlü yaprak biti öldürücü aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Dahası, taramalı elektron mikroskobu ile yapılan toksikoloji çalışmasında, piperin türevlerinin akarisit aktivitesinin *T. cinnabarinus*'un kütikül tabakasının tepe noktasındaki hasarla ilişkili olabileceği öne sürülmüştür.



204

Şekil 25. Yaprak biti öldürücü aktivite gösteren bileşik (Lv vd., 2023)

Auti vd. (2018), tarafından yapılan çalışmada piperin türevi sentezlenmiş ve biyoyükseltici etkisi incelenmiş, bu etki piperin ile kıyaslanmıştır. Sentezlenen piperin türevinin, Wistar sıçanlarında piperine göre seknidazolün (205) biyoyararlanımını önemli ölçüde artırdığı gözlemlenmiştir. N,N-dialil-5-(benzo)(1,3)diyoksol 5-yl)penta-2,4-dienamid (DA) türevi, seknidazolün biyoyararlanımında 1,49 kat artış gösterdiği belirtilmiştir (Şekil 26).

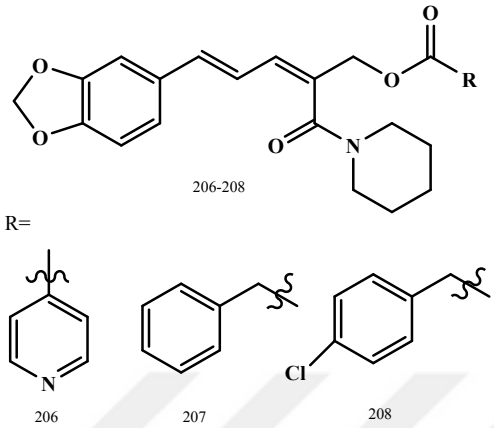


205

Şekil 26. Biyoyükseltici etki gösteren bileşik (Auti vd., 2018)

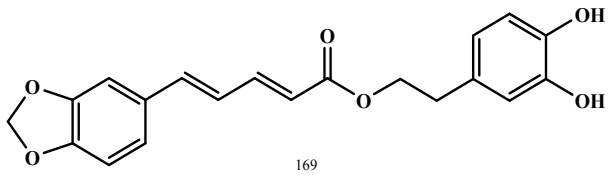
Liv vd. (2022), tarafından yapılan çalışmada piperin öncü bileşik olarak kullanılarak, farklı aromatik halkalarla yapısal modifikasyon yoluyla bir dizi yeni ester türevleri sentezlenmiştir. Biyolojik aktivite çalışmaları, üç farklı tarım ürününü tehdit eden zararlı organizmalara karşı yürütülmüştür: *Tetranychus cinnabarinus* Boisduval (Acari: Tetranychidae), *Aphis citricola* Van der Goot (Homoptera: Aphididae) ve *Eriosoma lanigerum* Hausmann (Hemiptera: Aphididae). Bazı bileşikler belirgin düzeyde akarisidal ve yaprak biti öldürücü aktiviteler göstermiştir. *T. cinnabarinus*'a karşı, bileşik 206 ve 207, piperinden 47,6 ve 45,4

kat daha belirgin akarisidal aktivite göstermiştir. Ek olarak, bileşik 208 (piperinden 10 kat daha yüksek) *A. citricola*'ya karşı en güçlü yaprak biti öldürücü aktivite sergilemiştir. Bu çalışmanın, piperin ve türevlerinin gelecekte bitkisel pestisit olarak yüksek katma değerli uygulamalarının önünüde açacağı belirtilmiştir (Şekil 27).



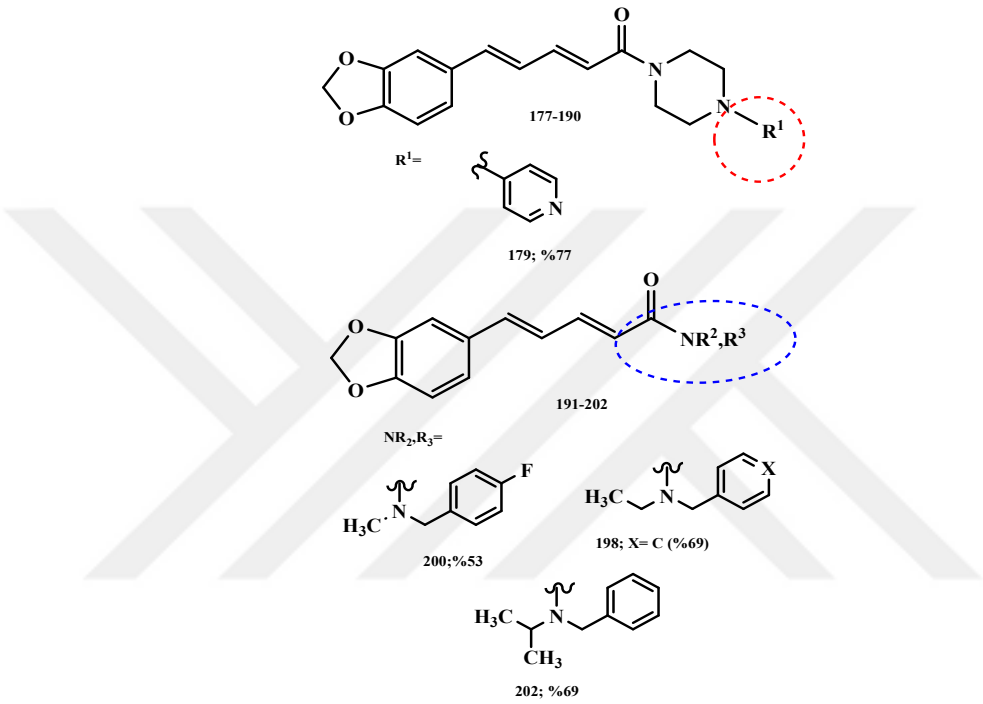
Şekil 27. *A. citricola*'ya karşı yaprak biti öldürücü aktivite gösteren bileşikler (Liv vd., 2022)

Sakagami vd. (2017), tarafından yapılan çalışmada, on bir piperik asit esteri kantitatif yapı-aktivite ilişkisi (QSAR) analizi ile belirlenmiş ve sitotoksisite, tümör aktiviteleri değerlendirilmiştir. Dört insan oral skuamöz hücreli karsinom hücre hattına ve üç oral normal mezenkimal hücreye karşı sitotoksisite, 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromür (MTT) yöntemi ile belirlenmiştir. Sonuç olarak fenilmetil ester ve beş feniletil ester, hidroksil ve metoksi gruplarının tanıtılmasıyla önemli ölçüde değiştirilen nispeten daha yüksek sitotoksisite ve tümör özgüllüğü göstermiştir. (2E,4E)-5-(3,4-metilendioksifenil)-2,4-pentadienoik asit 2-(3,4-dihidroksifenil)etil ester (169) (Şekil 28) en yüksek değerlere sahip olan bileşik olarak belirlenmiştir.



Şekil 28. Sitotoksisite ve tümör aktiviteleri değerlendirilen bileşik (Sakagami vd., 2017)

Jaipea vd. (2023), tarafından yapılan çalışmada piperin amid türevleri sentezlenmiştir. Sentezlenen tüm bileşikler, özellikle antioksidan özellikleri ve AChE , BChE aktivitelerinin inhibisyonunu in vitro olarak test edilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin çoğu iyi antioksidan davranış gösterdiği ve ayrıca AChE ve BChE aktivitelerinin güçlü inhibisyona sahip olduğu belirtilmiştir. Bunlar arasında *p*-piridil piperazin 179, en güçlü AChE inhibitörü iken piperin amid türevleri 198, 202 ve 200 ise galantamin'den daha iyi BChE inhibitör aktivitelerine sahip olduğu rapor edilmiştir (Şekil 29).



Şekil 29. Antioksidan ve AChE, BChE aktiviteleri değerlendirilen bileşikler (Jaipea vd., 2023)

Afroz vd. (2024), tarafından yapılan çalışmada piperinin hint yağı kaynaklı ishalli civcivlerde doza bağlı bir şekilde anti-ishal etkisine bakılmıştır. *İn vivo* inceleme, piperinin doza bağlı olarak latentliği önemli ölçüde artırdığını ve hayvanlarda ishal salgılarında bir azalma olduğu belirlenmiştir. Dahası piperin, standart ilaçlar BSS ve LOP ile birleştirildiğinde daha güçlü bir anti-ishal etkisi göstermiştir.

El-Zahaby vd. (2024) tarafından yapılan çalışmada, kenar aktivatörü olarak limonen ve biyoaktif jelleştirici madde olarak hiyaluronik asit, cilt kanserini kontrol altında tutmak için piperin yüklü limozomlar ve hiyalüronik asit formüle etmek amacıyla çalışılmıştır. Piperin yüklü hyaluronik asit limozomları, umut verici bir nanotaşıyıcı sistem ve

bu ölümcül hastalığı yenmede yeni bir umut getiren cilt kanserinin kontrol altına alınmasında ileri bir adım olarak kabul edilmektedir.

Hakeem vd. (2024), tarafından yapılan çalışmada *Piper nigrum'*dan izole edilen bir amid alkaloidi olan piperinin, MDA-MB-231 hücre hattında in vitro ve karsinom solid tümör hayvan modelinde *in vivo* TNBC hücrelerinin doksorubisine (DOX) duyarlılığını artırmadaki potansiyel etkisini araştırmayı hedeflemiştir. Sonuçlar, MDA-MB-231 hücrelerinde DOX ve piperin arasında sinerjik bir etkileşim olduğu rapor edilmiştir. Genel olarak, bu sonuçlar piperinin in vitro ve in vivo olarak DOX'a karşı direnci azaltmada, muhtemelen PI3K/Akt/mTOR yoluna müdahale ederek potansiyel bir rolü olduğunu ortaya koyuyor.

Daneshmand vd. (2024), tarafından yapılan çalışmada piperin yüklü zein nanofiberlerinin *Staphylococcus epidermidis* biyofilmi üzerindeki antibakteriyel potansiyeline bakılmıştır. Nanofiberler, farklı piperin konsantrasyonları elektrospinning tekniği ile hazırlanmıştır. Nanofiberlerin morfolojisi, termal kararlılığı, kristalinitesi ve fonksiyonel grupları sırasıyla FE-SEM, TGA, XRD ve FT-IR ile karakterize edilmiştir. Sonuçlar, nanofiberlerin düzgün ve boncuksuz morfolojiye sahip olduğunu ve nanofiberlerin çapının piperin konsantrasyonundaki artışla arttığı rapor edilmiştir. Piperin, zein nanofiberlerinin kristalin yapısını korumuş ve termal kararlılığını iyileştirmiştir. FT-IR spektrumları ile nanofiberlerde zein ve piperin arasında kimyasal etkileşim olmadığı ifade edilmiştir. Nanofiberler, konsantrasyona bağlı bir şekilde *Staphylococcus epidermidis* biyofilmine karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği belirtilmiştir. %10 piperin içeren nanofiberler, gentamisinle karşılaştırılabilir şekilde en yüksek antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu rapor edilmiştir.

Nouri-Vaskeh vd. (2024), tarafından yapılan çalışmada, karabiberin biyoaktif bileşeni olan piperinin, NAFLD ve erken sirozlu hastalarda 12 haftalık bir süre boyunca piperin tüketiminin etkisini plasebo (herhangi bir farmakolojik etkisi olmayan maddeler) tüketimine kıyaslayarak araştırılmıştır. Hepatik enzimleri ve glikozu önemli ölçüde azalttığı ve dislipidemiyi hafiflettiği rapor edilmiştir.

Hussain vd. (2023), tarafından yapılan çalışmada, nano-piperinin (NP) Cyp toksisitesine karşı hepatoprotektif ve antioksidan aktiviteleri değerlendirilmiştir. Cyp hayvanlara 15 gün boyunca oral yoldan uygulanmıştır. Toksisitenin göstergeleri olan serum biyobelirteçlerinde (ALT, ALP, AST, toplam protein ve albümin) ve anormal oksidatif stres indekslerinde

(glutatyon (GSH), lipit peroksidasyonu (LPO), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz) artış tespit edilmiştir. Cyp tedavisinden sonra, sitokinlerin, kaspaz ifadesinin ve hücre şeklinin bozulmasını gösteren histolojik analizin yukarı doğru düzenlendiği gözlemlenmiştir. Tüm histopatolojik değişiklikler normal düzeylere yani kıyaslanabilir değerlere düşürülmüştür. Ortaya çıkan sonuçlarda, NP'nin sıçanların karaciğerlerini hepatoprotektif aktiviteler yoluyla Cyp kaynaklı karaciğer hasarına karşı koruyabilen güçlü anti-inflamatuar ve antioksidan aktiviteler gösterdiği rapor edilmiştir.

Qin vd. (2020), tarafından yapılan çalışmada, piperin türevlerinin antioksidan aktivitelerini belirlemek amacıyla ABTS ve DPPH serbest radikal temizleme metotlarından yararlanılmıştır. Piperin türevlerinin oksidatif olarak hasar görmüş eritrositlerin hemoliz hızı ve hemoglobin oksidasyon hızı üzerindeki etkisini araştırmak için bir AAPH oksidatif stres eritrosit modeli oluşturulmuştur. Bu AAPH modeli aynı zamanda piperin türevlerinin malondialdehit (MDA) içeriği ve antioksidan enzim aktivitesi üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla da faydalanılmıştır. Elde edilen sonuçlarda piperin türevlerinin yüksek seviyede serbest radikalleri temizleme özelliğinin yüksek olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca piperin türevlerinin AAPH kaynaklı eritrosit lizisini engelleme konusunda AAPH oksidatif olarak zarar görmüş eritrositleri koruduğu, hemoglobin oksidasyonunun ise ana bileşikle kıyaslandığında daha yüksek olduğu belirtilmiştir.

Alsareii vd. (2023), tarafından yapılan çalışmada, piperin hidrojel formülasyonunun yara iyileştirme potansiyeli araştırılmıştır. Hidrojeller, çapraz bağlı ağ matrislerinde yer alan terapötik ajanların düzenli bir şekilde tedarik edilmesini sağladıkları yara yatağındaki depo sistemine olan ihtiyacı karşılamaktadırlar. Bu çalışmada ise aloe vera jelleriyle karıştırılmış piperin içeren hidrojeller hazırlanmıştır ve yayılabilirlik, reolojik davranış, ekstrüde edilebilirlik ve yüzde (%) içerik tekdüzeliği açısından değerlendirilmiştir. Ek olarak, yara iyileştirme potansiyeli eksizyon yara iyileştirme modeli kullanılarak çalışılmıştır. Histopatolojik incelemenin ve in vivo çalışmanın sonuçları, piperinli ve piperinsiz biyoaktif hidrojeller kıyaslandığında, piperin içeren hidrojeller yaraların erken ve içsel olarak iyileştiğini belirtilmiştir.

Alves vd. (2022), tarafından yapılan çalışmada, *Piper nigrum*'dan piperin farklı metotlarla saflaştırılıp antimikrobiyal aktivitesi ve sitotoksisitesi belirlenmiştir. Mikrobiyolojik analizlerde, maserasyon yoluyla elde edilen özütün *Salmonella* türleri yüksek seviyede inhibe

ettiği rapor edilmiştir. Soxhlet türevi bir numuneden elde edilen özütün ise, *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı inhibitör aktivitesi gözlemlenmiştir. Piperin, birçok mikroorganizmaya karşı muazzam inhibisyon etkisi göstermiştir; inaktivite sadece *P. aeruginosa*'ya karşı gözlemlenmiştir. *Piper nigrum* L. tohumlarından analiz edilen özütler ve piperin, tümör ve tümör dışı hücre hatlarına karşı sitotoksik aktivitesi rapor edilmiştir.

Alshehri vd. (2023), tarafından yapılan çalışmada, yüksek enerjili ultrasonikasyon yaklaşımı kullanılarak Cremophore EL (sürfaktan), oleik asit (yağ) ve Tween 80 (ko-sürfaktan) kullanılarak piperin nanoemülsiyonları hazırlanmıştır ve antibakteriyel, sitotoksisite çalışmaları yapılmıştır. Sonuç olarak piperin nanoemülsiyonlarının, saf piperinden daha iyi antibakteriyel ve sitotoksisite sonuçları sergilediği rapor edilmiştir.

Lu vd. (2023), tarafından yapılan çalışmada, piperinin sedef hastalığındaki rolü araştırılmıştır ve M5 kaynaklı psoriatik cilt lezyonlarının iyileştiği rapor edilmiştir.

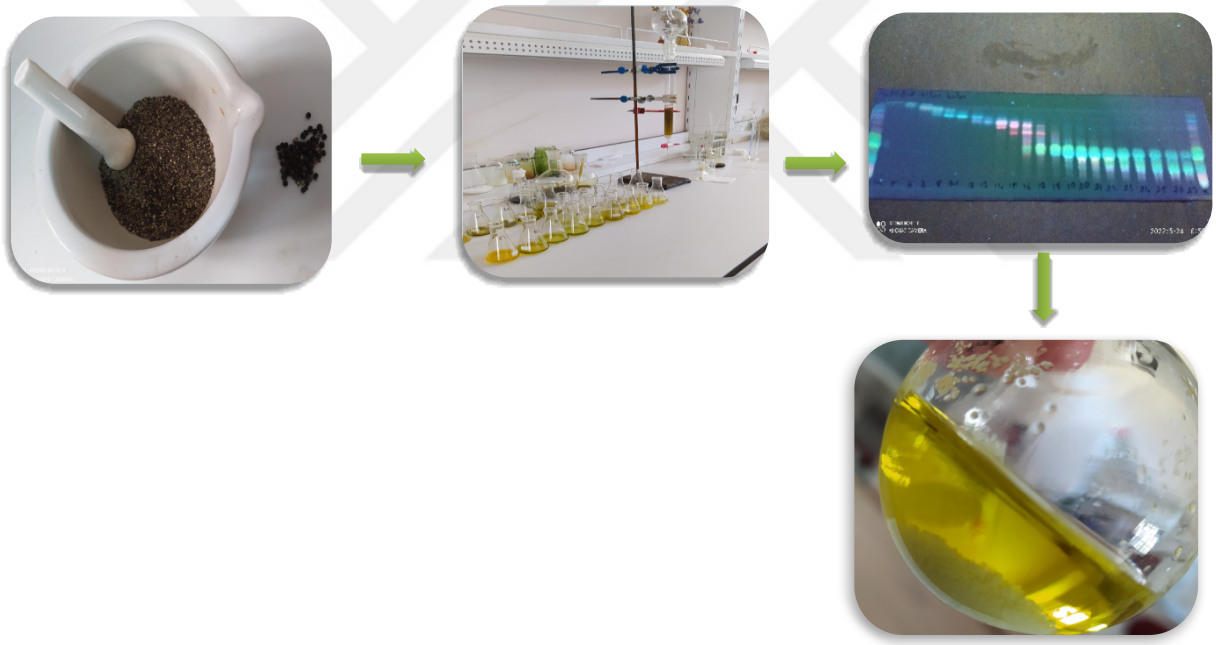
Cardoso vd. (2023), tarafından yapılan çalışmada, piperinin servikal kanser üzerindeki antitümör etkisinin araştırılması ve bu etkinin siklooksijenaz 2 (PTGS2) yoluyla modüle edilip edilmediği, servikal kanser (HeLa, CaSki, SiHa) ve tümör dışı (HaCaT) hücre hatlarının in vitro olarak çalışılması hedeflenmiştir. Sonuç olarak, piperinin G1/G0 ve G2/M fazlarında hücre döngüsü durmasıyla canlılık, proliferasyon ve göç gibi neoplaztik evrimle ilişkili in vitro parametrelerin azaldığı ve takiben apoptozis indüksiyonunu sağladığı rapor edilmiştir.

3. YÖNTEM

3.1. İzolasyon

3.1.1. Piperinin [(2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-on] izolasyonu

Taze çekilmiş 1 kg karabiber üzerine 5 L diklormetan eklendi ve karışım oda sıcaklığında 24 saat süreyle bekletildi. Ardından karışım süzüldü ve süzüntü buharlaştırılarak çözücü uzaklaştırıldı (Şekil 30). Elde edilen ham ekstrakttan piperin, etilasetat-heksan karışımı kullanılarak silika jel kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. Saflaştırılan piperin, etilasetat-heksan karışımından kristallendirilerek elde edildi. Piperin (1) molekülünün ^{1}H-NMR spektrumu EK-(1)'de verilmiştir.



Şekil 30. Piperinin [(2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-on] İzolasyon Basamakları

3.2. Türevlendirme

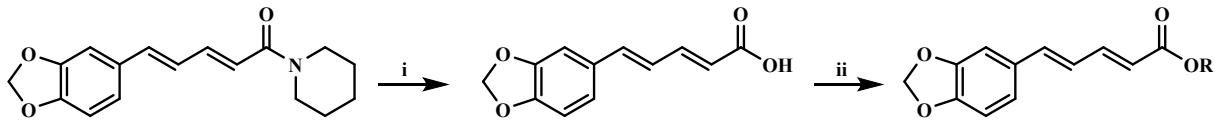
3.2.1. Piperinin ve piperik asitin türevleri

3.2.1.1. Piperik Asit [(2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoik asit] sentezi

3 g (10,5 mmol) piperin çözeltisi, metanol içinde çözüldü ve üzerine 7 g (125 mmol) potasyum hidroksit eklendi. Karışım manyetik karıştırıcı ile 72 saat refluks altında karıştırıldı. Reaksiyon sonunda karışım vakum altında buharlaştırılarak çözücü uzaklaştırıldı ve reaksiyon karışımı seyreltilmiş HCl ile nötralize edildi. Oluşan katı süzülerek toplandı ve etanol ile kristalize edildi. Piperik asit, 1.95 g (8.95 mmol) olarak %85 verimle elde edildi. Piperik asit (2) molekülünün ^{1}H-NMR spektrumu EK- (2)'de verilmiştir.

3.2.1.2. Piperik asit esterlerinin sentezi

0,44 g (2 mmol) piperik asit 20 mL farklı alkoller içinde çözülerek üzerine 1 mL derişik sülfürik asit eklendi. Karışım manyetik karıştırıcı ile 3–6 saat süreyle refluks altında karıştırıldı. Reaksiyon sonunda çözücü vakum altında uzaklaştırıldı. Elde edilen katı, 20 mL diklorometan içinde çözülerek çözeltinin üzerine seyreltilmiş karbonik asit çözeltisi eklenerek yıkama yapıldı. Ayrılan organik faz, sodyum sülfat ile kurutuldu ve çözücü uzaklaştırıldı. Ham ürün, etilasetat-heksan karışımı kullanılarak silika jel kolonunda saflaştırıldı. Verimler, reaksiyon süreleri ve çözücüler Şekil 31'de verilmiştir. Piperik asit ester moleküllerinin ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR spektrumları EK- (3-12)'de verilmiştir.



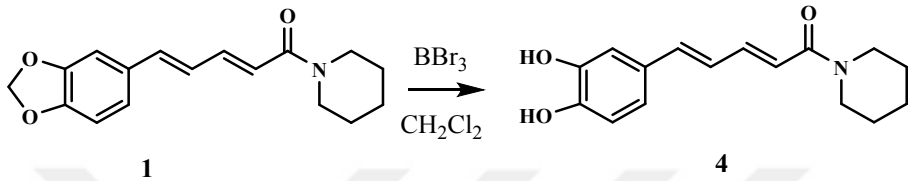
1 **2**

3a,b,c,d,e
3a R= -CH_3, 3h., %58
3b R= -C_2H_5, 6h., %57
3c R= -C_3H_7, 6h, %49
3d R= -C_4H_9, 6h, %32
3e R= -C_5H_{11}, 6h, %95

Şekil 31. Piperin türevlerinin sentez yolu: (i) KOH/MeOH, refluks, 72 saat
(ii) H_2SO_4/ Alkol, refluks, 3–6 saat

3.2.1.3. [(2E,4E)-5-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-on] sentezi

2.85 g (9,98 mmol) piperin tartılıp 30 mL diklormetan eklendi. Manyetik karıştırıcı üzerinde 1 mL BBr_3 eklendi ve oda şartlarında reaksiyon kuruldu. 48 saatin ardından reaksiyon karışımı ayırma hunisine alınıp sodyum karbonat ilave edildi. Çalkanan karışımdan organik kısım ayrıldı ve organik faz Na_2SO_4 ile kurutuldu (Şekil 32). Çözücü evaporasyonla uzaklaştırıldı. Molekülünün ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR spektrumları EK- (13-14)'de verilmiştir.

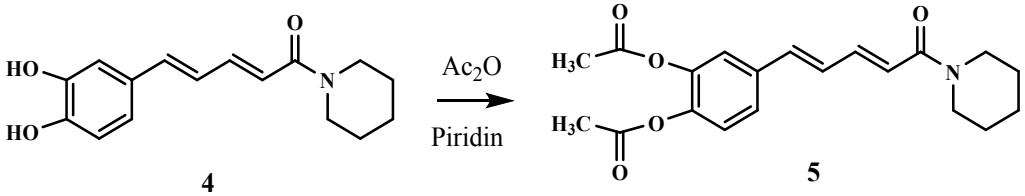


1 4

Şekil 32. [(2E,4E)-5-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-on] Sentezi

3.2.1.4. [4-((1E,3E)-5-okso-5-(piperidin-1-il)penta-1,3-dien-1-il)-1,2-fenilen diasetat] sentezi

500 mg (1,83 mmol) (2E,4E)-5-(3,4-dihydroxyphenyl)-1-(piperidin-1-yl)penta-2,4-dien-1-one tartılıp üzerine sırasıyla 5 mL piridin ve 5 mL asetik anhidrit eklendi. Oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı üzerinde reaksiyon 72 saatte gerçekleşti. Elde edilen reaksiyon karışımı ayırma hunisine alınarak buz ilavesinden sonra seyreltik hidroklorik asit çözeltisi ilave edildi. Bu karışımdan organik kısım ayrılarak su kısmı etil asetat ile yıkandı. Elde edilen organik fazlar birleştirildi ve seyreltik karbonat çözeltisi ile yıkandı. Daha sonra organik kısım Na_2SO_4 ile kurutuldu. Evaporasyonla çözücü uzaklaştırıldı. Reaksiyon karışımı silika-jel kolonda etil asetat-hekzan çözücü karışımında yürütülerek saflaştırıldı. 415 mg olarak tartılan madde %63 verim ile elde edildi (Şekil 33). Molekülünün ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR spektrumları EK- (15-16)'da verilmiştir.



4 5

Şekil 33. [4-((1E,3E)-5-okso-5-(piperidin-1-il)penta-1,3-dien-1-il)-1,2-fenilen diasetat] Sentezi

3.3. Biyolojik Aktiviteler

3.3.1. Antikolinesteraz aktivite

Piperin ve piperik asit türevlerinin antikolinesteraz aktiviteleri Ellman yöntemi kullanılarak belirlendi (Ellman vd., 1961). Numunelerin her birinden 1 mg alınarak 1 mL DMSO ile çözüldü ve ana stok hazırlanmış oldu. Daha sonra numunelerin her biri için 1 mM konsantrasyonları deiyonize su ile seyreltilerek hazırlandı. Kolinesteraz inhibitör aktivitesini belirlemek için sırasıyla 20-140 µL inhibitör numunesi, 760 µL tampon (0,1 M, pH 7,8: AChE ve BChE testi için sodyum fosfat tamponu), 100 µL DTNB (10 mM), 40 µL enzim (AChE testi için 0,385 U/mL ve BChE testi için 0,880 U/mL) ve 100 µL asetiltiyokolin iyodür/bütiriltiyokolin iyodür (10 mM) eklendi. Substratın eklenmesiyle reaksiyon başlatıldı. Reaksiyonun başlamasından sonraki 3 dakika içinde 412 nm'de spektrofotometre üzerinden absorbansı ölçüldü. Referans olarak takrin kullanıldı. Elde edilen sonuçlardan konsantrasyona karşı aktivite (%) grafikleri çizilerek IC_{50} değerleri hesaplandı (Gülçin vd., 2016).

3.3.2. Antidiyabetik aktivite

Tao ve arkadaşlarının (2013) yapmış oldukları prosedürlere göre α-glikozidaz enzim aktivitesi çalışıldı. *p*-nitrofenil-α-D-glukopiranosid substrat olarak kullanıldı. İzole edilen ve sentezlenen bileşiklerin farklı konsantrasyonları hazırlandı. Küvete sırasıyla 730 µL saf su, fosfat tamponu (pH: 6.9, 0,1 M) 200 µL, 50 µL *p*-NPG, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan maddelerden 20 µL eklendi ve son olarak 20 µL enzim (α-glikozidaz testi için 11,1 U/mL) ilave edilerek spektrofotometrik olarak 405 nm'de absorbansları okundu. % aktivite-konsantrasyon grafikleri hazırlanarak IC_{50} (µM) değerleri hesaplandı.

3.3.3. Antioksidan aktivite

3.3.3.1. DPPH· giderme metodu

Blois metoduna (Blois, 1958) göre DPPH· giderme aktivitesi ölçüldü. DPPH (1,1-difenil-2-pikril hidrazil) serbest radikalinin 1 mM'lık çözeltisi hazırlandı. DPPH radikali çözeltisinin absorbansı 1,000±0,25 nm'ye ayarlandı. Denemeler için 1 mM konsantrasyonlarda maddelerin ve standartların stok çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan stok çözeltilerin farklı

konsantrasyonları hazırlanarak son hacimleri 1250 µL olacak şekilde etanol ve DPPH· çözeltisi ilave edildi. Karışım vortekslenerek oda sıcaklığında ve karanlıkta 30 dk inkübe edildi. İnkübasyonun ardından 517 nm'de etanolden oluşan köre karşı absorbansları ölçüldü. Absorbans değerlerinden yararlanılarak IC_{50} (µM) değerleri hesaplandı. Sonuçlar α-tokoferol, BHT, trolox ile karşılaştırmalı olarak verildi (Tablo 3).

3.3.3.2. Fe^{3+} indirgeme metodu

Oyaizu'nun (1986) metodundan modifiye edilerek maddelerin Fe^{3+} indirgeme gücü ölçüldü (Gülçin, 2009). Maddelerden 1 mM konsantrasyonlarda stok çözeltiler hazırlandı. Test tüplerine hazırlanan bu stok çözeltilerden hazırlanarak son hacimleri 500 µL olacak şekilde saf su eklendi. Reaksiyon ortamına toplam hacim 4500 µL olacak şekilde daha sonra 1250 µL fosfat tamponu (0.2 M, pH 6,6), 1250 µL %1'lik potasyum ferrik siyanür [$K_3Fe(CN)_6$], 1250 µL %10' luk trikloroasetik asit, 250 µL %1'lik $FeCl_3$ eklendi. Absorbansı 700 nm'de okundu.

3.3.4. Antiproliferatif aktivite

Piperin ve türevlerinin antiproliferatif aktivitesine yönelik testler Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Uygulama ve Araştırma Merkezi Hücre Kültür laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.3.4.1. Dondurulmuş hücrelerin çözdürülmesi ve hücrelerin açılması

Dondurularak saklanan A549 (Akciğer kanseri) hücresi çalışmaya başlamadan önce -80 ^oC' lik soğutucudan çıkarılarak su banyosunda sıcaklığı 37 ^oC' ye getirildi. Tamamen çözündükten sonra hücre vialleri alkol ile silindikten sonra hava akışlı kabin içerisinde işleme alındı. Çözdürülen hücreler içerisine 7 mL besiyeri eklenen T75'lere (A549 için RPMI) ilave edildi. T75'lerin üzerine hücrenin adı, besiyeri, açılma tarihi ve dondurulduğu tarihteki pasaj sayısı not alındı. İnvert mikroskop ile hücrelerin morfolojilerini kontrol ettikten sonra hücrelerin büyümesi için 72 saat boyunca 37 ^oC' de %5 CO_2 içeren inkübatörde inkübasyona tabi tutuldu.

3.3.4.2. Hücrelerin pasajlanması

İnkübatörden alınan hücreler, T75'lerin tüm yüzeyi kapladığı için kültürü bölündü. T75'lerde bulunan besiyerleri atıldı ve hücrelerin 3 mL PBS (Dulbecco's Phosphate Buffered Saline) tamponu ile yıkaması gerçekleştirildi. Atılan tamponun ardından hücre kültür ortamına 3 mL tripsin/EDTA ekleyip 15 dakika inkübasyona tabi tutuldu.

Daha sonra kültüre 3 mL (A549 için RPMI) ilavesi yapıldı. T75'deki tüm kültürü falkon tüplere aktardıktan sonra 5 dk 4500 rpm'de santrifüj işlemi uygulandı. Santrifüj sonunda süpernatant atılarak kalan hücre peleti üzerine 1:2 oranında pasajlanmak üzere 2 mL besiyeri ilave edildi.

Her bir hücre grubu için iki ayrı T75 alınarak 1'er mL homojenizasyonu sağlanan hücreden eklenerek üzerine 7 mL besiyeri ilavesinin ardından pasajlanan her bir kültür kabının üzerine o pasaj sayısı, günün tarihi ve hücre adı yazılarak görüntüleme cihazında hücrelerin morfolojisinin kontrolü yapıldı. Ardından hücrelerin yeterli büyümeye ulaşması için 48 saat süreyle 37 ^{o}C'de %5 CO_2 içeren inkübatörde inkübasyona yerleştirildi.

3.3.4.3. Hücrelerin sayımı

Hücrelerin besiyerleri atığa atıldıktan sonra hücreler 3 mL PBS tamponu ile yıkandı ve daha sonra bu tampon da atığa atıldı. Ardından A549 kültür ortamına 2 mL tripsin/EDTA eklenip 15 dakika inkübasyona tabi tutuldu. Sonra kültüre ilave edilen tripsin/EDTA 'nın üzerine (A549 için RPMI) ilave edildi. T75'deki tüm kültürü falkon tüplere aktardıktan sonra 5 dk 4500 rpm'de santrifüj işlemi uygulandı. Santrifüj sonunda süpernatant atıldı. Kalan hücre peleti üzerine 1 mL besiyeri eklenerek (A549 için RPMI) pipetleme ile hücreler çözdürüldü ve üzerine 9 mL daha besiyeri eklemesi yapıldı. Ependorf tüplere 50'şer µL MCF-7 veA549 hücrelerinden eklenerek üzerlerine trypan blue boyası ilave edildi. Trypan blue boyası ile canlı hücrelerin miktarları belirlenecektir.

Hücre sayım işlemi tamamlandıktan sonra, sayılan hücre sayısı kullanılarak süspansiyonun mililitre başına hücre konsantrasyonu hesaplandı.

$C = n \times 10^4$

C= Hücre konsantrasyonu (hücre/mL), n= Sayılan hücre sayısı

Sayımı yapılıp konsantrasyonu hesaplanan hücrelerden 200 µL alınarak 96 well plate ekim işlemi gerçekleştirildi. %5 CO_2 içeren inkübatörde 24 saat 37 ^oC'de inkübasyona tabi tutuldu.

3.3.4.4. Kimyasalların uygulanması

Hücrelerin ekili olduğu kuyucuklarda bulunan besiyerleri pipetle çekilerek atığa atıldı. Bu kuyucuklara farklı konsantrasyonlarda (5-100 µM) hazırlanmış olan piperin ve türevlerinden 200 µL eklenerek %5 CO_2 içeren inkübatörde 37 ^oC' de 24 saat süreyle inkübasyona tabi tutuldu.

3.3.4.5. MTT testi

Kimyasalların uygulamasının ardından kuyucuklarda bulunan ilaçlar pipetle çekilerek atıldı. Kanser hücre hatları ile aktiviteleri test edilecek bileşiklere MTT [3-(4,5–dimetil-tiazol-2 il)-2,5-difenil tetrazolium bromid] test prosedürü uygulandı. Ardından 5 saat süreyle 37 ^oC' de %5 CO_2 içeren inkübatörde inkübasyona bırakıldı. Çözücü (DMSO) ile muamele edilmiş hücrelerin optik dansitesi %100 olarak değerlendirildi. Çalışma sonucunda elde edilen veriler % hücre inhibisyonu olarak hesaplaması yapıldı. Buna göre hücre proliferasyonundaki azalma % inhibisyon [1-(A test maddesi / A çözücü kontrol) ×100 eşitlik kullanılarak belirlendi. Her bir bileşiğin artan konsantrasyonları (5; 10; 25; 50; 75 ve 100 µM) hücreler üzerinde MTT yöntemi ile test edildi ve çalışma sonrasında elde edilen absorbans değerlerinden logaritmik eğri çizildi. Bu eğri üzerinden logaritmik fonksiyon kullanılarak numunelerin IC_{50} konsantrasyonları hesaplandı.

3.3.5. Antifungal aktivite

Bu çalışmada antifungal aktivitenin belirlenmesi amacıyla kullanılan *Botrytis cinerea* izolatı, Hakkâri Üniversitesi Çölemerik Meslek Yüksek Okulu Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü Bitki Koruma Programında Doç. Dr. Sinem Karakuş'tan temin edilmiştir. Elde edilen fungal izolatlar, patates dekstroz agar (PDA) besiyerinde çoğaltılmış ve ardından +4°C sıcaklığa ayarlanmış buzdolabında, silika jel ile birlikte, çalışma süresince saklanmıştır (Karakuş,

2016). *B. cinerea* miselyum gelişimi üzerindeki etkileri belirlemek üzere, 1, 2, 3a, 3b, 3c, 3d, 3e, 4 ve 5 örneklerinden saf çözeltiler hazırlanmış ve bu çözeltiler PDA ortamı içeren petri kaplarına 20 µL hacminde, farklı konsantrasyonlarda (50, 200, 600, 900 ve 1200 µL) uygulanmıştır. Konsantrasyonlar, literatürde yer alan benzer çalışmalar ve gerçekleştirilen ön denemelerin sonuçları göz önünde bulundurularak seçilmiştir. Çözelti içermeyen PDA ortamları ise negatif kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir. Hazırlanan petri kapları oda sıcaklığında bir gün bekletildikten sonra, PDA ortamında daha önce geliştirilen ve 7–10 günlük yaşta olan fungus kültürlerinden alınan diskler petri kaplarının merkezine inoküle edilmiştir. Sonrasında petri kapları 25°C sıcaklıktaki inkübatörde beklemeye alınmıştır. Miselyum gelişimi, inkübasyonun ikinci gününden itibaren her gün gözlemlenmiş ve çap ölçümleri yapılmıştır. Ölçümler, miselyum çapının birbirine dik iki farklı doğrultuda alınarak gerçekleştirilmiştir (Karakuş ve ark., 2021). Tüm uygulamalar üç tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Elde edilen veriler doğrultusunda, 1, 2, 3a, 3b, 3c, 3d, 3e, 4 ve 5 çözeltilerinin miselyum gelişimini engelleme oranları aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır (Deans ve Svoboda, 1990):

E= ((K – M) / K) x 100 formülüne göre hesaplanmıştır (Deans and Svoboda 1990).

Burada: E= Engelleme (%); K= Kontrol petrisindeki misel çapı (mm); M= Uygulama yapılan petrideki misel çapı (mm)

Çalışmada, 1, 2, 3a, 3b, 3c, 3d, 3e, 4 ve 5 numaralı bileşiklerin *B. cinerea*'nın spor çimlenmesi ve çim tüpü uzunluğu üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla 50, 200, 600, 900 ve 1200 µL hacimlerinde çözeltiler hazırlanmıştır. Fungal spor süspansiyonu hazırlamak amacıyla, PDA ortamında 7–10 gün süreyle geliştirilen *B. cinerea* kültürlerinin yüzeyine içerisinde Tween-20 bulunan 5 mL steril saf su damlatılmış ve steril cam çubuk yardımıyla yüzey kazınarak sporların süspansiyona geçmesi sağlanmıştır. Elde edilen bu süspansiyon, miselyal parçalardan arındırmak amacıyla üç kat steril gazlı bezden süzülmüştür. Önceden hazırlanmış farklı özüt konsantrasyonlarını içeren petri kaplarına, bu süspansiyondan 10 µL hacminde spor süspansiyonu ilave edilmiştir. Ardından tüm örnekler 25°C sıcaklıkta, karanlık koşullarda inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 24. saatinin sonunda, spor çimlenmesi ve çim tüpü oluşumu mikroskobik olarak değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmede, her bir uygulama için mikrometreli objektif kullanılarak 40X büyütmede üç farklı görüntü alanı

taranmış; her tekerrürde toplam 100 spor sayılmıştır. Sporların çimlenmiş sayılabilmesi için, oluşan çim tüpü uzunluğunun spor uzunluğunun en az yarısı kadar olması esas alınmıştır.

Çim tüpü uzunluğunun ölçümünde, her bir tekrar için rastgele seçilen 30 çimlenmiş sporun çim tüpü uzunlukları ölçülmüş ve bu değerlerin ortalaması hesaplanmıştır. Spor çimlenme oranı ise aşağıdaki formüle göre belirlenmiştir (Yelboğa ve Karakuş, 2023):

% çimlenme = [a/(a+b)] x 100

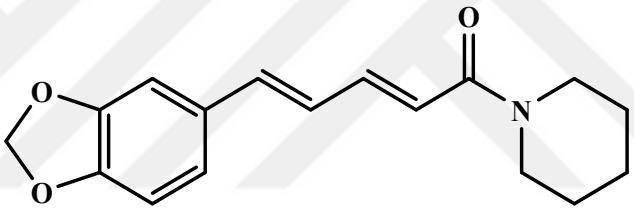
Burada, a: çimlenmiş spor sayısı, b: çimlenmemiş spor sayısını ifade etmektedir.

4. BULGULAR

4.1. Piperin ve Türevlerinin Yapı Tayini

4.1.1. Piperinin [(2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-on] izolasyonu

Piperin, karabiberin (*Piper nigrum* L.) ana alkaloid bileşiğidir ve bitkinin keskin tadından sorumludur. Piperin (Şekil 34)yapısal olarak, piperidin halkasına bağlı konjugelenmiş bir sistem içeren amid türevi bir bileşiktir. Doğal kaynaklı olan bu bileşik, farmakolojik etkileri nedeniyle son yıllarda birçok kimyasal ve biyolojik çalışmanın odak noktasıdır. Bu çalışmada, piperin karabiberden izole edilmiş, yapısal olarak karakterize edilmiş, ^{1}H-NMR spektrumları literatür ile karşılaştırılmış ve elde edilen saf bileşiğin biyolojik aktiviteleri değerlendirilmiştir.



1

Şekil 34. (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-on Molekülü

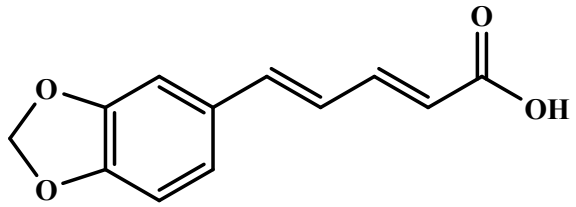
(2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-on molekülüne ait ^{1}H-NMR spektrum değerleri (Ek-1),

^{1}H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, ppm): δ= 7.41 (ddd, 1H, *J*=14.65,7.89, 2.40 Hz), 6.98 (d, 1H, *J*=1.73 Hz), 6.89 (dd, 1H, *J*= 8.05, 1.73 Hz), 6.76 (m, 3H), 6.44 (d, 1H, *J*= 14.65 Hz), 5.97 (s, 2H), 3.59 (s, 4H), 1.62 (m, 6H).

4.1.2. Piperik Asit [(2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoik asit] sentezi

Piperik asit, piperin molekülünün hidrolizi sonucu elde edilir ve yapısal özellikleri itibarıyla birçok türevleme reaksiyonuna uygun bir kimyasal platform sunmaktadır. Molekül, benzo[1,3]dioksol halkası ile birleşik konjuge çift bağ sistemi ve karboksilik asit

fonksiyonelliği sayesinde hem elektronik hem de sterik olarak modifikasyona açıktır. Bu nedenle, piperik asit (Şekil 35); esterifikasyon, amidasyon, redüksiyon ve diğer fonksiyonel gruplandırma reaksiyonları için başlangıç maddesi olarak sıkça tercih edilmektedir. Özellikle biyolojik olarak aktif bileşiklerin tasarımı ve sentezinde, piperik asit, doğrudan veya türevlenmiş formlarıyla önemli bir yapı taşı olarak değerlendirilmektedir.



2

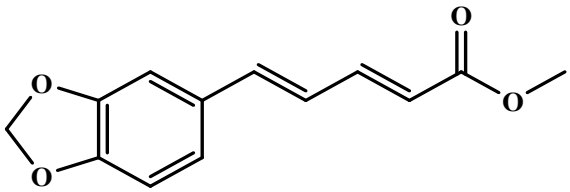
Şekil 35. (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoik asit Molekülü

(2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoik asit molekülüne ait ^{1}H-NMR spektrum değerleri (Ek-2),

^{1}H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, ppm): δ= 7.53 (dd, 1H, *J*=15.28,10.94 Hz), 7.03 (d, 1H, *J*=1.70 Hz), 6.96 (dd, 1H, *J*=8.08, 1.70), 6.83 (m, 3H), 6.02 (s, 2H), 5.97 (d, 1H, *J*=15.28 Hz).

4.1.3. Metil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat sentezi

Metil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat, piperik asidin metil ester türevidir (Şekil 36). Aromatik halkaya bağlı 1,3-benzodioksol grubu sayesinde hem elektron çekici hem de aromatik karakterli bir yapı sunar. Ester fonksiyonu nedeniyle nükleofilik reaksiyonlara ve çapraz bağlama (cross-coupling) süreçlerine uygundur. Ayrıca, bu yapı, konjuge sistemin sağladığı planarlık nedeniyle UV/Vis özellikleri açısından da dikkat çekicidir. Sentetik organik kimyada ve farmasötik araştırmalarda, özellikle biyolojik olarak aktif bileşiklerin geliştirilmesinde kullanılmaktadır. Yapı analizleri ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR spektroskopileri ile başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir.



3a

Şekil 36. Metil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat Molekülü

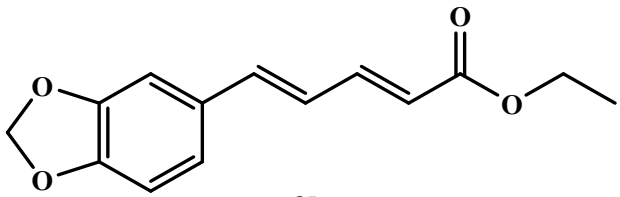
Metil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat molekülüne ait ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR spektrumları (Ek-3, Ek-4),

^{1}H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, ppm): δ=7.44 (ddd, 1H, *J*=15.29,10.73,1,06), 7.02 (d, 1H, *J*=1.46 Hz), 6.94 (dd, 1H, *J*=8.07,1.46 Hz), 6.79 (m, 3H), 6.01 (s, 2H), 5.97 (dd, 1H, *J*=15.29, 0,98 Hz), 3.79 (s, 3H).

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$, ppm): δ=167.6, 148.6, 148.3, 145.0, 140.3, 130.5, 124.5, 122.9, 119.9, 108.5, 105.9, 101.4, 51.5.

4.1.4. Etil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat sentezi

Etil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat, piperik asidin etanol ile esterifikasyonu sonucu elde edilen bir türev ester yapısına sahiptir (Şekil 37). Molekül, 1,3-benzodioksol halkasına bağlı konjuge çift bağ sistemi sayesinde hem yapısal stabilite hem de elektronik delokalizasyon sunmaktadır. Bu özellikler, bileşiğin UV/Vis ve NMR gibi spektroskopik tekniklerle kolaylıkla tanımlanabilmesini sağlamaktadır. Ester grubunun varlığı, bileşiğin nükleofilik reaktiflere açık olmasını sağlamaktadır ve bu yönüyle yeni bileşik sentezleri için uygun bir kimyasal platform oluşturmaktadır. Ayrıca, lipofilik karakterinin artması nedeniyle etil ester türevleri biyolojik sistemlerde daha iyi geçirgenlik gösterebilir. Yapı analizleri ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR spektroskopileri ile başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir.



3b

Şekil 37. Etil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat Molekülü

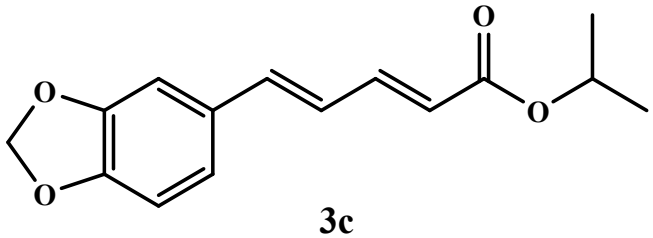
Etil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat molekülüne ait ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR spektrumları (Ek-5, Ek-6),

^{1}H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, ppm): δ=7.44 (dd, 1H, *J*=15.27,10.76 Hz), 7.02 (d, 1H, *J*=1.73 Hz), 6.94 (dd, 1H, *J*=8.07, 1.73 Hz), 6.77 (m, 3H), 6.01 (s, 2H), 5.96 (d,1H, *J*=15.27 Hz), 4.24 (q, 2H, *J*=7.12 Hz), 1.33 (t, 3H, *J*=7.12 Hz).

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$, ppm): δ= 167.8, 148.5, 148.3, 147.7, 140.1, 130.6, 124.6, 122.9, 120.5, 108.5, 105.9, 101.4, 60.3, 14.3.

4.1.5. İzopropil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat sentezi

İzopropil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat, piperik asidin izopropanol ile esterleştirilmesi sonucu elde edilen bir piperik asit türevidir (Şekil 38). Molekül, elektron açısından zengin benzo[1,3]dioksol aromatik halkası ile karakterize edilir. Ester grubunun izopropil formda olması, bileşiğe daha fazla hidrofobik karakter kazandırmaktadır. Yapı analizleri ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR spektroskopileri ile başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, lipofilikliğinin artmış olması, bazı biyolojik aktivite testlerinde daha yüksek etki potansiyeline ulaşmasını sağlayabilir.



3c

Şekil 38. İzopropil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat Molekülü

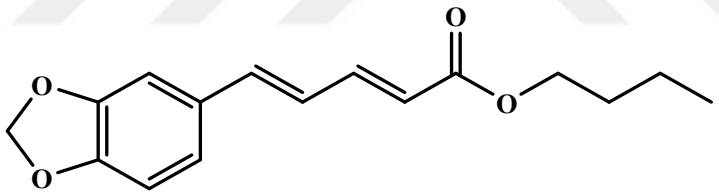
İzopropil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat molekülüne ait ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR spektrumları (Ek-7, Ek-8),

^{1}H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, ppm): δ= 7.41 (dd, 1H, *J*=15.16, 10.75 Hz), 7.01 (d,1H, *J*=1.70 Hz), 6.93 (dd, 1H, *J*=8.05, 1.70 Hz), 6.77 (m, 3H), 6.00 (s, 2H), 5.94 (d, 1H, *J*=15.16 Hz), 5.12 (hept, 1H, *J*=6.20 Hz), 1.31 (d, 6H, *J*=6.20 Hz).

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$, ppm): δ= 166.7, 148.5, 148.3, 144.5, 139.9, 130.6, 124.6, 122.89, 121.0, 108.5, 105.9, 101.4, 67.5, 21.9.

4.1.6. Bütil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat sentezi

Bütil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat, piperik asidin bütil alkol ile esterleştirilmesiyle elde edilen bir türevdir (Şekil 39). Molekül, aromatik benzo[1,3]dioksol halkası sayesinde konjuge elektron sistemine sahiptir. Konjuge çift bağlar ve ester fonksiyonu, molekülün çeşitli kimyasal modifikasyonlara açık olduğunu gösterir. Spektral analizler (^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR) ile molekülün yapısal doğruluğu doğrulanmıştır.



3d

Şekil 39. Bütil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat Molekülü

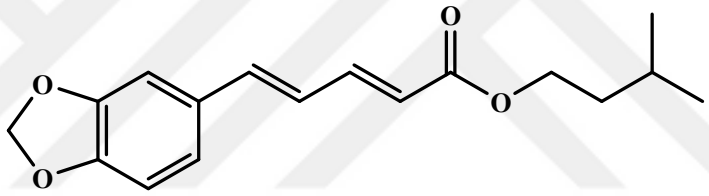
Bütil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat molekülüne ait ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR spektrumları (Ek-9, Ek-10),

^{1}H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, ppm): δ= 7.43 (dd, 1H, *J*=15.23, 10.79 Hz), 7.01 (d, 1H, *J*=1.73 Hz), 6.93 (dd, 1H, *J*=8.05, 1.73 Hz), 6.78 (m, 3H), 6.00 (s, 2H), 5.96 (d, 1H, *J*=15.23 Hz), 4.19 (t, 2H, *J*=6.66 Hz), 1.68 (dq, 2H, *J*=8.38, 6.66 Hz), 1.44 (m, 2H), 0.98 (t, 3H, *J*=7.36 Hz).

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$, ppm): δ= 167.3, 148.5, 148.3, 144.7, 140.1, 130.6, 124.6, 122.9, 120.5, 108.5, 105.9, 101.4, 64.2, 30.8, 19.2, 13.8.

4.1.7. İzopentil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat sentezi

İzopentil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat, piperik asidin izopentil alkol ile esterleştirilmesi sonucu sentezlenen bir türevdir (Şekil 40). Molekül, benzo[1,3]dioksol aromatik halkasına sahip olup, yapıdaki ester grubu, molekülün kimyasal reaktivitesini ve biyolojik özelliklerini önemli ölçüde etkileyebilir. İzopentil ester grubunun daha uzun ve dallanmış alkil yapısı, molekülün lipofilik karakterini artırarak biyolojik membran geçirgenliğini iyileştirebilir ve böylece biyolojik aktivitelerde artışa neden olabilir. Bu özellikleriyle, izopentil ester türevleri, farmasötik kimyada ve biyolojik açıdan aktif molekül geliştirmede umut vaat eden ara ürünler arasında yer almaktadır. Molekülün yapısı ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR spektroskopileri kullanılarak doğrulanmıştır.



3e

Şekil 40. İzopentil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat Molekülü

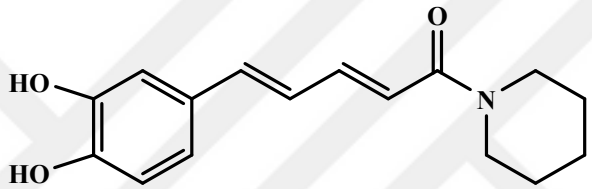
İzopentil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat molekülüne ait ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR spektrumları (Ek-11, Ek-12),

^{1}H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, ppm): δ= 7.41 (ddd, 1H, *J*=15.16, 10.65, 1.81 Hz), 6.99 (s, 1H), 6.91 (dd, 1H, *J*=7.95, 1.81 Hz), 6.77 (m, 3H), 5.98 (s, 2H), 5.95 (d, 1H, *J*=15.16 Hz), 4.21 (t, 2H, *J*=6.90 Hz), 1.75 (m, 2H), 1.59 (q, 1H, *J*=6.75 Hz), 0.96 (d, 6H, *J*=6.75 Hz).

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$, ppm): δ=167.3, 148.5, 148.3, 144.7, 140.1, 130.6, 124.5, 122.9, 120.5, 108.5, 105.9, 101.4, 63.0, 37.4, 25.1, 22.5.

4.1.8. (2E,4E)-5-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-on sentezi

(2E,4E)-5-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-on, piperin türevleri arasında yer alan, hem piperidin halkası hem de 3,4-dihidroksifenil (katekol) grubunu içeren önemli bir bileşiktir (Şekil 41). Molekül, konjuge çift bağlar içeren penta-2,4-dien-1-on iskeletine bağlıdır ve bu yapı, elektron delokalizasyonu ile molekülün kimyasal stabilitesine ve biyolojik aktivitesine katkı sağlamaktadır. 3,4-Dihidroksifenil grubu, moleküle güçlü antioksidan özellikler kazandırabilir; katekol yapısı serbest radikal süpürme kapasitesini artırarak biyolojik etkinlikte önemli rol oynar. Piperidin halkası ise molekülün biyoyararlanımını ve hedeflere bağlanma özelliklerini iyileştirebilir. Yapısal karakterizasyonu ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR spektrometrisi tekniği ile desteklenmiştir.



4

Şekil 41. (2E,4E)-5-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-on Molekülü

(2E,4E)-5-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-on molekülüne ait ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR spektrumları (Ek-13, Ek-14),

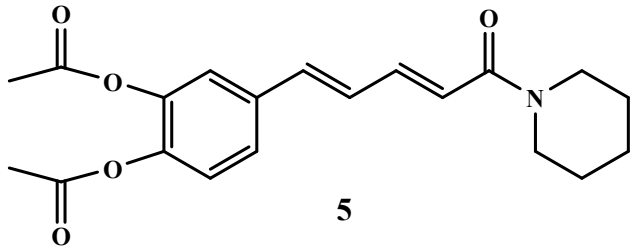
^{1}H -NMR (400 MHz, CD_3OD, ppm): δ= 7.38 (ddd, 1H, *J*=14.78, 8.13, 2.11 Hz), 7.02 (d, 1H, *J*=2.07 Hz), 6.90 (dd, 1H, *J*=8.23, 2.07 Hz), 6.86 (m, 2H), 6.77 (d, 1H, *J*=8.23 Hz), 6.60 (d, 1H, *J*=14.78 Hz), 3.67 (m, 4H), 1.68 (m, 6H).

^{13}C-NMR (100 MHz, CD_3OD, ppm): δ= 166.7, 146.9 (2C), 145.3, 141.2, 128.4, 123.5, 120.3, 116.5, 115.1, 113.2, 48.5, 23.9 (2C).

4.1.9. 4-((1E,3E)-5-okso-5-(piperidin-1-il)penta-1,3-dien-1-il)-1,2-fenilen diasetat sentezi

4-((1E,3E)-5-okso-5-(piperidin-1-il)penta-1,3-dien-1-il)-1,2-fenilen diasetat, piperidin halkası ve 1,2-fenilen diasetat grubunu içeren konjuge α,β,γ,δ-dienoik keton yapısına sahip bir piperin türevidir (Şekil 42). Molekül, konjuge çift bağlar ve keton fonksiyonu ile birlikte fenilen

halkasının iki asetat ester grubuna bağlı olması nedeniyle hem elektronik hem de sterik açıdan özgün özellikler taşımaktadır. Diasetat esterlerinin varlığı, bileşiğin lipofilikliğini artırırken aynı zamanda kimyasal stabilite ve biyoyararlanım özelliklerine olumlu katkılar sağlar. Yapısal karakterizasyonu ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR spektrometrisi ile doğrulanmıştır.



5

Şekil 42. 4-((1E,3E)-5-okso-5-(piperidin-1-il)penta-1,3-dien-1-il)-1,2-fenilen diasetat Molekülü

4-((1E,3E)-5-okso-5-(piperidin-1-il)penta-1,3-dien-1-il)-1,2-fenilen diasetat molekülüne ait ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR spektrumları (Ek-15, Ek-16),

^{1}H -NMR (400 MHz, DMSO-d_6, ppm): δ= 7.45 (d, 1H, *J*=1.53 Hz), 7.26 (m, 2H), 7.11 (m, 1H), 6.92 (m, 2H), 6.79 (m, 1H), 3.53 (s, 4H), 2.30 (s, 3H), 2.29 (s, 3H), 1.57 (m, 6H).

^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d_6, ppm): δ=170.8, 168.7, 164.5, 142.8, 142.4, 141.5, 136.3, 135.7, 128.9, 125.5, 124.5, 123.0, 121.9, 60.2, 24.6, 20.8, 20.8, 14.6.

4.2. Piperin ve Türevlerinin Biyolojik Aktiviteleri

4.2.1. Antikolinesteraz aktivite

Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklarda asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BChE) enzimleri önemlidir. Antikolinesterazlar, AChE ve BChE enzimlerini inhibe ederek sinaptik aralıkta asetilkolin düzeylerinin artmasını sağlamaktadırlar (Talesa, 2001). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda ise doğal bileşikler olan flavonoidler, terpenoidler ve alkaloidler gibi fitokimyasalların AChE ve BChE enzimleri üzerinde inhibe edici etkiler gösterdiği belirtilmiştir (Orhan vd., 2004). Bu doğrultuda, bitkisel kaynaklı antikolinesteraz ajanlar, daha düşük yan etki profilleriyle bilişsel işlevlerin desteklenmesinde umut vadetmektedir. Bu tez çalışmasında ise karabiberden izole edilen piperin ve piperinden

sentezlenen moleküllerin antikolinesteraz enzim inhibisyonu çalışmaları yapılarak anti-Alzheimer aktiviteleri rapor edilmiştir.

Enzim inhibisyon analizlerinde ölçülen absorbans değerleri, % aktiviteye çevrilmiş ve bu doğrultuda % aktiviteye karşılık gelen konsantrasyon grafiksel olarak sunulmuştur. Grafikler EK- (17-27)' de verilmiştir. Elde edilen grafik denklemleri temel alınarak IC_{50} ve R^2 değerleri nicel olarak belirlenmiştir. Sonuçlar Tablo 1' de verilmiştir.

Tablo 1. Piperin ve türev bileşiklerinin antikolinesteraz enzimleri için IC_{50} değerleri (μM)

	IC_{50} (μM±SD)			
İnhibitör	**AChE**	**R^2**	**BChE**	**R^2**
1	43,45±0,16	0,9653	-	-
2	52,03±0,62	0,9892	-	-
3a	53,35±0,67	0,9656	-	-
3b	54,52±0,11	0,9744	-	-
3c	48,53±0,20	0,9864	-	-
3d	46,98±0,10	0,9922	-	-
3e	76,60±0,12	0,9748	-	-
4	61,76±0,19	0,9712	-	-
5	80,73±0,28	0,978	-	-
Takrin	54,65±0,39	0,9844	66,5±0,25	0,9945

(-) ile gösterilenlerde herhangi bir inhibisyon gözlemlenmemiştir.

Yapılan çalışmalar sonucunca AChE enzimi için standart madde olan takrine (54,65 μM) kıyasla bileşik 1 (43,45 μM), 3c (48,53 μM) ve 3d (46,98 μM), Takrin'den daha güçlü inhibitörlerdir, çünkü daha düşük IC_{50} değerlerine sahiplerdir. 2, 3a, 3b bileşikleri ise Takrin'e oldukça yakın değerlere sahiptirler. 3e, 4, 5 bileşikleri ise Takrin'e kıyasla daha zayıf inhibitör etkiye sahiptirler.

Yapılan çalışmada piperin ve türevi olan bileşiklerin BChE enzimi üzerinde inhibisyon etkisi gözlemlenmemiştir. Piperin ve türevlerinin AChE üzerinde önemli derecede inhibisyon gösterirken BChE üzerinde etkisinin olmayışı son derece önemli bir sonuçtur. Piperin'in asetilkolinesteraz (AChE) enzimini belirgin şekilde inhibe ederken bütirilkolinesteraz (BChE) üzerinde etkisiz kalması, bu bileşiğin enzime özgü bağlanma etkileşimlerinden kaynaklanması

ile açıklanabilir. Piperin molekülü düzlemsel bir yapıya sahip olup aromatik π-elektron sistemleri içerir. AChE'nin aktif bölgesi, derin ve dar bir boğaz olup, Trp84, Tyr130, Phe330 ve Phe331 gibi aromatik amino asit kalıntıları ile çevrilidir. Bu aromatik yapı, piperin ile enzim arasında kuvvetli π–π stacking ve hidrofobik etkileşimlere zemin hazırlayabilir. Bu tür etkileşimler, ligandın aktif bölgeye yüksek afiniteli ve spesifik bir şekilde bağlanmasını sağlar. Buna karşılık, BChE'nin aktif bölgesi daha geniştir ve aromatik kalıntıların bir kısmı Leu286, Val288 gibi daha küçük, alifatik amino asitlerle yer değiştirmiştir (Bajda vd., 2013). Bu durum, piperin'in BChE ile benzer düzeyde etkileşime girmesini engelleyerek inhibitör etkisini ortadan kaldırabilir. Bu yapısal farklılıklar, piperin'in AChE'ye karşı gösterdiği seçici inhibitör etkisini açıklamakta ve bu bileşiği AChE'ye özgü inhibitör tasarımları açısından önemli bir öncü molekül hâline getirmektedir.

4.2.2. Antidiyabetik aktivite

Diyabet, kandaki glukoz seviyelerinin sürekli yüksek olmasıyla tanımlanan kronik bir metabolik hastalıktır ve küresel ölçekte ciddi bir sağlık problemi olmayı sürdürmektedir. Kan şekeri düzeylerini dengelemeye yönelik geliştirilen antidiyabetik ajanlar hem sentetik ilaçlar hem de doğal kaynaklı bileşikler olmak üzere çeşitli yollarla kullanılmaktadır (American Diabetes Association, 2020).

Son dönemlerde, doğal bileşiklerin diyabet tedavisindeki potansiyel etkilerine yönelik ilgi belirgin şekilde artmıştır. Bu kapsamda piperin, glukoz metabolizmasını düzenleme, insülin direncini azaltma ve pankreas *β*-hücrelerini koruma özellikleriyle dikkat çekmektedir. Ayrıca piperin, *α*-glukosidaz ve *α*-amilaz enzimlerini inhibe ederek karbonhidratların sindirimini ve dolayısıyla emilimini azaltma kapasitesine sahiptir (Vijayakumar vd., 2004; Srinivasan, 2007).

Enzim inhibisyon analizlerinde ölçülen absorbans değerleri, % aktiviteye çevrilmiş ve bu doğrultuda % aktiviteye karşılık gelen konsantrasyon grafiksel olarak sunulmuştur. Grafikler EK- (28-37)' de verilmiştir. Elde edilen grafik denklemleri temel alınarak IC_{50} ve R^2 değerleri nicel olarak belirlenmiştir. Sonuçlar Tablo 2' de verilmiştir.

Tablo 2. Piperin ve türev bileşiklerinin α-glikozidaz enzimi için IC_{50} değerleri (μM)

	IC_{50} (μM±SD)	
İnhibitör	**α-glikozidaz**	**R^2**
1	86,17±0,68	0,9844
2	67,41±0,10	0,988
3a	64,89±0,47	0,9547
3b	63,64±0,73	0,9735
3c	72,63±0,15	0,97
3d	76,03±0,11	0,9657
3e	>100	0,7517
4	>100	0,4839
5	>100	0,7627
Akarboz	62,43±0,35	0,9815

Yapılan çalışmada sentezlenen bileşiklerin α-glikozidaz enzimine karşı inhibitör potansiyelleri IC_{50} değerleri üzerinden değerlendirilmiş ve elde edilen sonuçlar referans inhibitör olan akarboz ile karşılaştırılmıştır. Akarbozun IC_{50} değeri $62,43 \pm 0,35$ μM olarak belirlenmiştir. Bileşikler arasında özellikle 3b ($63,64 \pm 0,73$ μM), 3a ($64,89 \pm 0,47$ μM) ve 2 ($67,41 \pm 0,10$ μM) numaralı örnekler, IC_{50} değerleri bakımından akarboza oldukça yakın sonuçlar vermiştir. Bu durum, söz konusu bileşiklerin enzim inhibisyonu açısından akarboz ile benzer etkinlikte olabileceğini düşündürmektedir.

Diğer taraftan, 3c ($72,63 \pm 0,15$ μM), 3d ($76,03 \pm 0,11$ μM) ve 1 ($86,17 \pm 0,68$ μM) numaralı bileşiklerin inhibitör etkileri akarboza kıyasla daha düşük düzeydedir. 3e, 4 ve 5 numaralı bileşiklerin ise IC_{50} değerleri >100 μM olarak belirlenmiş olup, bu bileşiklerin enzim üzerinde anlamlı bir inhibisyon etkisi göstermediği anlaşılmaktadır.

4.2.3. Antioksidan aktivite

Antioksidanlar, hücreleri serbest radikallerin neden olduğu oksidatif stresten koruyan bileşiklerdir (Pham-Huy vd., 2008). Bu bileşikler hem endojen (vücut tarafından üretilen, örn. süperoksit dismutaz, glutatyon) hem de eksojen (besin kaynaklı, örn. C vitamini, flavonoidler, E vitamini, alkaloidler) olabilirler. Doğal ürünler ve doğal ürünlerden elde edilen türev

bileşiklerinin ise güçlü antioksidan aktivite göstermeleri nedeniyle yoğun olarak çalışılmaktadır (Lobo vd., 2010). Çalışma kapsamında antioksidan kapasitenin ölçülmesinde DPPH· giderme aktivitesi ve Fe^{+3} indirgeme gücü yöntemleri kullanıldı.

Tablo 3. Piperin ve türev bileşiklerinin DPPH· giderme IC_{50} değerleri (µg/mL)

Örnek	**DPPH IC_{50} (µg/mL)**
1	142,70
2	113,69
3a	180,03
3b	312,89
3c	386,83
3d	416,18
3e	438,85
4	329,51
5	522,37
α -Tokoferol	183,28
BHT	46,98
Trolox	77,60

Yapılan çalışmada test edilen bileşiklerin antioksidan etkinlikleri DPPH serbest radikal süpürme yöntemiyle belirlenmiş ve sonuçlar referans bileşikler olan α-tokoferol, BHT ve Trolox ile kıyaslanmıştır. Referans bileşiklerden BHT, 46,98 µg/mL ile en düşük IC_{50} değerine sahip olup en yüksek antioksidan kapasiteye sahiptir. BHT'yi sırasıyla trolox (77,60 µg/mL) ve α-tokoferol (183,28 µg/mL) takip etmektedir.

Sentezlenen bileşiklerden 1 (142,70 µg/mL) ve 2 (113,69 µg/mL) numaralı örnekler, bu referanslara kıyasla daha yüksek IC_{50} değerleri sergilemiş olup, özellikle BHT'ye göre belirgin şekilde daha düşük bir antioksidan etki göstermiştir. Ancak buna rağmen, 1 ve 2 numaralı bileşiklerin α-tokoferole yakın düzeyde bir radikal süpürme kapasitesine sahip olduğu dikkate değerdir.

Diğer taraftan 3a numaralı bileşik, 180,03 µg/mL'lik IC_{50} değeriyle oldukça sınırlı bir antioksidan aktivite göstermiştir. 3b, 3c, 3d, 3e, 4 ve 5 numaralı bileşiklerin ise IC_{50} değerleri >300 µg/mL olarak belirlenmiş olup, bu bileşiklerin DPPH radikalini etkili bir şekilde süpüremediği gözlemlenmiştir.

Tablo 4. Piperin ve türev bileşiklerinin Fe^{+3} indirgeme Trolox, BHT, *α*-Tokoferol eşdeğerleri (µM)

Piperin ve Türevleri	**Fe^{+3} İndirgeme µM TE**	**Fe^{+3} İndirgeme µM BHTE**	**Fe^{+3} İndirgeme µM *α*-TokoferolE**
1	23,96 ±0,23	48,11±0,46	26,27±0,25
2	22,29± 0,04	44,76±0,08	24,44±0,05
3a	27,46±0,13	55,13±0,26	30,10±0,14
3b	25,22±0,10	50,64±0,21	27,65±0,11
3c	27,54±0,19	55,29±0,38	30,19±0,20
3d	25,26±0,04	50,72±0,07	27,69±0,04
3e	27,78±0,18	55,78±0,36	30,46±0,19
4	26,52±0,05	53,25±0,10	29,08±0,05
5	26,44±0,03	53,09±0,06	28,99±0,03

Yapılan çalışmada yer alan piperin türevlerinin ferrik iyonlarını indirgeme kapasiteleri, Trolox, BHT ve *α*-tokoferol referans alınarak µM cinsinden eşdeğer değerlerle belirlenmiştir.

Trolox eşdeğeri (TE) açısından değerlendirildiğinde, en yüksek indirgeme kapasitesi 3e numaralı bileşiğe ait olup $27,78 \pm 0,18$ µM değerine sahiptir. Bu bileşiği sırasıyla 3c ($27,54 \pm 0,19$ µM), 3a ($27,46 \pm 0,13$ µM) ve 4 ($26,52 \pm 0,05$ µM) numaralı örnekler takip etmektedir.

BHT eşdeğeri (BHTE) yönünden değerlendirildiğinde de benzer bir sıralama göze çarpmaktadır. 3e bileşiği $55,78 \pm 0,36$ µM ile en yüksek BHTE değerine ulaşırken, 3c ($55,29 \pm 0,38$ µM) ve 3a ($55,13 \pm 0,26$ µM) bileşikleri de yüksek indirgeme kabiliyeti sergilemiştir.

α-Tokoferol eşdeğeri (α-TokoferolE) açısından da en yüksek etkinlik yine 3e ($30{,}46 \pm 0{,}19$ μM), 3c ($30{,}19 \pm 0{,}20$ μM) ve 3a ($30{,}10 \pm 0{,}14$ μM) bileşiklerinde gözlemlenmiştir. Bu bağlamda, ilgili bileşiklerin α-tokoferol kadar güçlü ya da ona yakın bir ferrik iyonlarını indirgeme kapasitesi sergilediği söylenebilir.

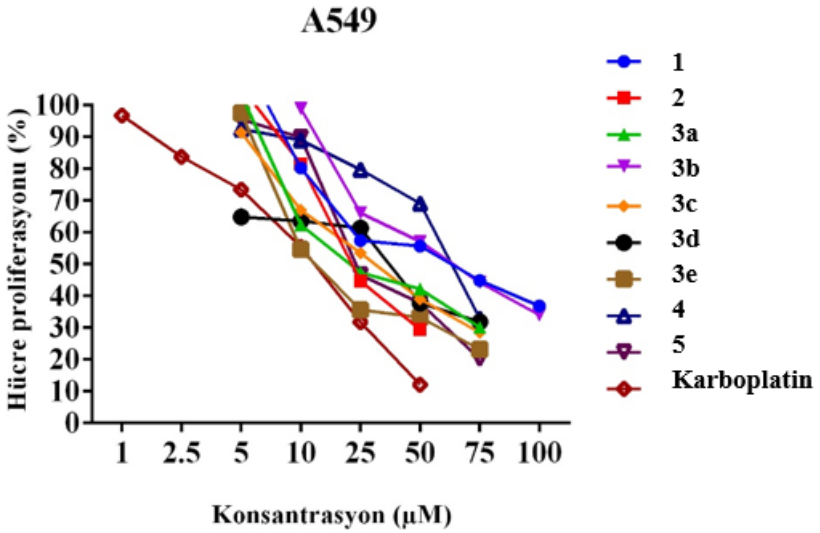
Tüm referanslara göre değerlendirildiğinde, özellikle 3e, 3c ve 3a numaralı bileşiklerin üç farklı sistemde de benzer şekilde yüksek indirgeme kapasiteleri sergilemesi dikkat çekicidir. Bu bulgular, bu bileşiklerin güçlü antioksidan özellikler gösterebileceğini ortaya koymaktadır.

4.2.4. Antiproliferatif aktivite

Antiproliferatif maddeler, hücrelerin aşırı ve kontrolsüz şekilde çoğalmasını durdurmaya yönelik etki gösteren bileşiklerdir. Bu etkilerini genellikle hücre döngüsünü durdurarak veya apoptozu indükleyerek göstermektedirler. Kanser araştırmalarında, tümör hücrelerinin çoğalmasını engelleme potansiyeline sahip antiproliferatif bileşikler üzerinde yoğun olarak çalışmalar yürütülmektedir (Wong vd., 2010; Fulda, 2015).

Yapılan çalışmada, A549 için 5-100 μM konsantrasyon olarak hazırlanmış olan piperin ve türevlerinin MTT testi yapılarak moleküllerin kanser hücre proliferasyonuna olan etkileri belirlenerek IC_{50} değerleri Tablo 5'de rapor edilmiştir.

Piperin ve türev bileşiklerinin akciğer kanser hücre hattı olan A549 üzerindeki doz bağımlı inhibisyon etkisi Şekil 43'de verilmiştir.



Şekil 43. Piperin ve türev bileşiklerinin akciğer kanser hücre hattı (A549) üzerindeki inhibisyon etkisi

Tablo 5. Piperin ve türev bileşiklerinin akciğer kanser hücre hattı (A549) üzerindeki IC_{50} değerleri

Piperin ve Türevleri	**IC_{50} (µM)**
1	62,42
2	29,65
3a	30,76
3b	65,85
3c	39,50
3d	36,44
3e	32,10
4	59,79
5	39,61
Karboplatin	20,50

Tablo 5'de sonuçlara bakıldığında, piperin ve bazı türevlerinin belirli düzeyde antiproliferatif etki gösterdiği belirlenmiştir. IC_{50} değerleri dikkate alındığında, bileşik 2 (IC_{50} = 29,65 µM), 3a (30,76 µM), 3e (32,10 µM) ve 3d (36,44 µM) gibi türevlerin, piperine (IC_{50} = 62,42 µM) kıyasla daha yüksek antikanser potansiyele sahip olduğu görülmektedir. Bununla birlikte, karboplatin gibi klinikte yaygın kullanılan bir kemoterapi ajanıyla (IC_{50} = 20,50 µM) karşılaştırıldığında, bu türevlerin sitotoksik etkinliği daha düşük düzeydedir. Yine de özellikle bileşik 2'nin karboplatin'e yakın IC_{50} değerleri sergilemesi, bu türevin yapısal optimizasyon yoluyla daha etkili bir antikanser ajan haline gelebileceğini düşündürmektedir. Bu bulgular, piperin türevlerinin antikanser ilaç geliştirme süreçlerinde potansiyel öncül moleküller olarak değerlendirilebileceğine işaret etmektedir.

4.2.5. Antifungal aktivite

Bu çalışmada, piperin ve türevlerinin çeşitli dozlarda (50, 200, 600, 900 ve 1200 µL) *Botrytis cinerea*'nın miselyal gelişimi üzerindeki antifungal etkileri değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar Tablo 6'da verilmiştir. Genel olarak, tüm uygulamalarda doz arttıkça *B. cinerea* miselyum gelişiminin baskılandığı gözlemlenmiştir. Özellikle 1200 µL dozunda tüm uygulamalarda %100 inhibisyon sağlanmış, bu da bileşenlerin yüksek konsantrasyonda tamamen etkili olduğunu göstermiştir. Özellikle bileşik 4, 50 µL konsantrasyonda %24,81 ile en yüksek engelleme oranını göstermiş olup, bu düzeyde bile diğer uygulamalara kıyasla daha etkili olduğu görülmüştür. Aynı örnek, 200 µL (%39,84), 600 µL (%45,56) ve 900 µL (%49,32) konsantrasyonlarında da istikrarlı bir etki sergilemiştir. Bu sonuçlar, bileşik 4'ün düşük konsantrasyonlarda dahi belirgin antifungal etki potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Diğer yandan, bileşik 3e, özellikle düşük konsantrasyonlarda daha sınırlı etki göstermiştir. Bu örnekte 50 µL ve 200 µL uygulamalarında sırasıyla %45,11 ve %47,81 engelleme oranları kaydedilmiş; ancak 600 µL (%62,10) ve 900 µL (%66,91) konsantrasyonlarında daha yüksek engelleme oranları gözlenmiştir. Bu durum, bileşik 3e'nin daha çok yüksek konsantrasyonlarda etkili olduğunu göstermektedir. 1 ve 3d bileşikleri, 50 µL konsantrasyonda sırasıyla %41,80 oranında benzer düzeyde etki göstermiştir. Ancak bileşik 3d, daha düşük konsantrasyonlarda (200 ve 600 µL) nispeten daha az etkili olmasına rağmen, 900 µL konsantrasyonunda %63,15'lik engelleme ile güçlü bir antifungal potansiyele sahip olduğunu ortaya koymuştur. Bileşik 2, 3a, 3b ve 3c ise genel olarak orta düzeyde etki göstermiş; 600 µL konsantrasyonunda engelleme oranları %52,33 ile %55,33 arasında değişmiştir. Bu grup örneklerin antifungal etkileri birbirine benzerlik göstermektedir. Bileşik 5 ise genel olarak dengeli bir etki sergilemiş ve tüm konsantrasyonlarda orta seviyede antifungal aktivite göstermiştir. Bu örnekte 600 µL konsantrasyonda %54,88, 900 µL'de ise %61,65 oranında engelleme gözlenmiştir. Tüm uygulamalarda antifungal etkilerinde de uygulama konsantrasyonuna bağlı olarak anlamlı farklılıklar olduğu görülmektedir. Bu durum bileşenlerin konsantrasyonuna bağlı olarak *B. cinerea* miselyum gelişimini baskıladığını açıkça göstermektedir.

Çalışmada, farklı özüt uygulamalarının *B. cinerea* sporlarının çimlenme oranı ve çim tüpü uzunluğu üzerindeki etkileri Tablo 7'de verilmiştir. Kontrol grubunda spor çimlenme oranı %90, çim tüpü uzunluğu ise 128 µm olarak ölçülmüştür. Bu değerler, herhangi bir özüt uygulanmadan sporların yüksek oranda çimlenme gösterdiğini ve çim tüpü gelişiminin

sağlıklı şekilde gerçekleştiğini ortaya koymaktadır. Uygulama yapılan örneklerde ise bu iki parametrede de özüt konsantrasyonuna bağlı olarak anlamlı azalmalar tespit edilmiştir. Genel olarak, uygulama konsantrasyonu arttıkça spor çimlenme oranında ve çim tüpü uzunluğunda düşüş gözlenmiştir. Tüm örneklerde 1200 µL konsantrasyon seviyesinde spor çimlenmesi tamamen inhibe edilmiş ve çim tüpü oluşumu gerçekleşmemiştir. Bu durum, yüksek doz özütlerin *B. cinerea* sporlarının gelişimini baskılayıcı güçlü bir antifungal etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Düşük konsantrasyon düzeylerinde (50 ve 200 µL), uygulamalar arasında belirgin farklar ortaya çıkmıştır. Özellikle bileşik 3e, 50 µL'de %83 çimlenme oranı ve 118 µm çim tüpü uzunluğu ile kontrol grubuna en yakın değerlere sahip olmuş ve düşük konsantrasyonda spor gelişimini en az baskılayan uygulama olarak öne çıkmıştır. Aynı uygulamanın 200 µL konsantrasyonunda da %72 çimlenme oranı ve 99 µm tüp uzunluğu ile göreli olarak yüksek değerler verdiği görülmüştür. Buna karşın, bileşik 4, 50 µL'de %62 çimlenme oranı ve 89 µm çim tüpü uzunluğu ile en düşük değerlere sahip olmuş ve düşük dozda dahi spor gelişimini en fazla baskılayan uygulama olmuştur. Aynı şekilde bileşik 1' de 50 µL'de %79 çimlenme ve 117 µm çim tüpü uzunluğu ile oldukça etkili bir antifungal etki göstermiştir. Bileşik 3a, 3b, 3c, 3d ve 5 ise orta düzeyde etkili olmuş; bu uygulamalarda çimlenme oranları %70–77 aralığında, çim tüpü uzunlukları ise 98–109 µm arasında ölçülmüştür. Bu değerler, söz konusu uygulamaların spor gelişimini kısmen baskıladığını, ancak yüksek dozlar kadar güçlü bir inhibisyon oluşturmadığını göstermektedir. 600 ve 900 µL konsantrasyon düzeylerinde tüm uygulamalarda çimlenme oranı %50'nin altına, çim tüpü uzunluğu ise 65 µm'nin altına düşmüştür. Bu konsantrasyon aralığı, spor gelişiminin önemli ölçüde baskılandığı kritik bir aralık olarak değerlendirilebilir.

Tablo 7. Piperin ve türev bileşiklerinin *Botrytis cinerea*'nın miselyal gelişimi (MEO) (%) üzerine etkisi

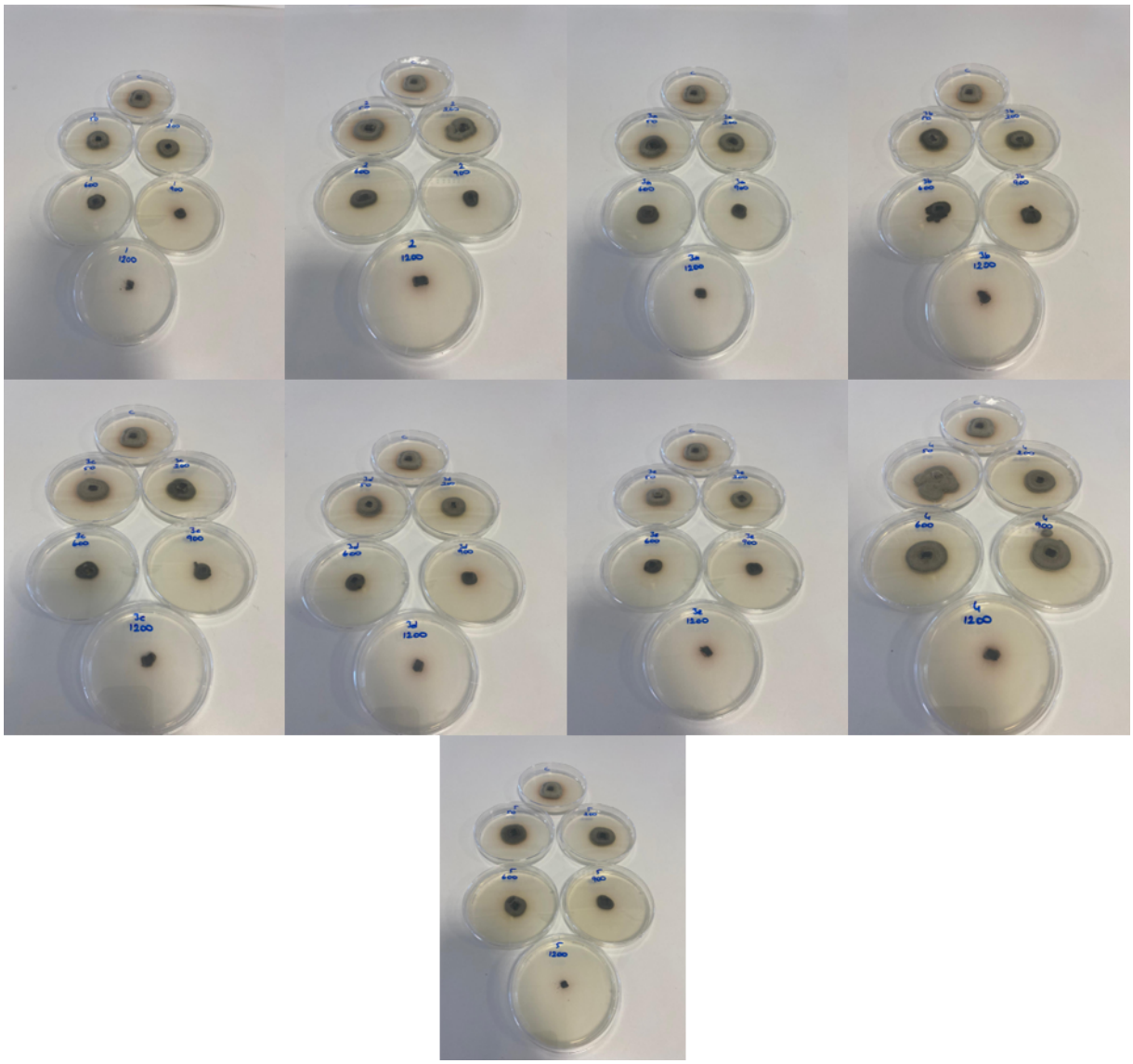
Uygulama No	**50 µL**	**200 µL**	**600 µL**	**900 µL**	**1200 µL**
1	41,80	38,04	53,08	69,92	100,00
2	32,78	35,03	52,33	59,09	100,00
3a	36,09	37,29	53,38	61,65	100,00
3b	35,33	39,54	53,38	58,34	100,00
3c	36,54	40,60	55,33	57,89	100,00
3d	41,80	42,85	54,09	63,15	100,00
3e	45,11	47,81	62,10	66,91	100,00
4	24,81	39,84	45,56	49,32	100,00
5	34,28	39,09	54,88	61,65	100,00

Tablo 8. Piperin ve türev bileşiklerinin *Botrytis cinerea* sporlarının çim tüpü uzunluğu (µm) ve spor çimlenme oranı (%) üzerine etkisi

Uygulama No	Konsantrasyon (µL)	Çim Tüpü Uzunluğu (µm)	Spor Çimlenme Oranı (%)
Kontrol		128	90
1	50	117	79
	200	97	69
	600	65	47
	900	39	25
	1200	0	0
2	50	99	73
	200	89	67
	600	67	48
	900	54	37
	1200	0	0
3a	50	106	76
	200	95	68
	600	64	46
	900	50	33
	1200	0	0
3b	50	104	74
	200	90	65
	600	63	44
	900	47	29
	1200	0	0
3c	50	104	74
	200	86	62
	600	60	43
	900	45	28
	1200	0	0
3d	50	109	77
	200	88	63
	600	59	40
	900	42	27
	1200	0	0
3e	50	118	83
	200	99	72
	600	53	37
	900	40	25
	1200	0	0
4	50	89	62
	200	86	60
	600	57	38
	900	49	33
	1200	0	0

Tablo 9. (Devamı) Piperin ve türev bileşiklerinin *Botrytis cinerea* sporlarının çim tüpü uzunluğu (µm) ve spor çimlenme oranı (%) üzerine etkisi

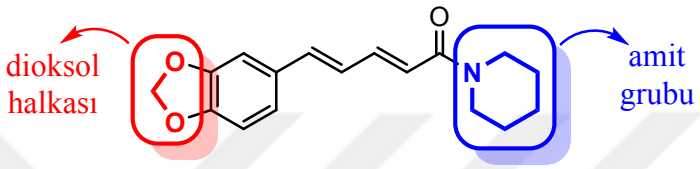
Uygulama No	**Konsantrasyon (µL)**	**Çim Tüpü Uzunluğu (µm)**	**Spor Çimlenme Oranı (%)**
Kontrol		128	90
5	50	98	70
	200	87	64
	600	59	39
	900	47	28
	1200	0	0



Şekil 44**.** Piperin ve türev bileşiklerinin misel büyümesi üzerinde etkisi

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Doğal ürünler, binlerce yıllık etnobotanik bilgi birikiminin modern kimya ve biyoteknolojiyle sentezlenmesi sonucunda farmasötik ve tarımsal alanlarda önemli fırsatlar sunmaktadır. Piperin, bu bağlamda yalnızca antikanser, antioksidan veya antimikrobiyal ajanlar geliştirmede değil, aynı zamanda böcek öldürücü ve biyoaktivite artırıcı ajanlar (bioenhancer) olarak da potansiyel taşımaktadır. Bu fonksiyonel çeşitlilik, piperini, doğal ürün kimyasında hem temel bilim hem uygulamalı sentezler açısından cazip bir başlangıç bileşiği haline getirmektedir (Takao vd., 2015; Wang vd., 2020; Kharbanda vd., 2016).

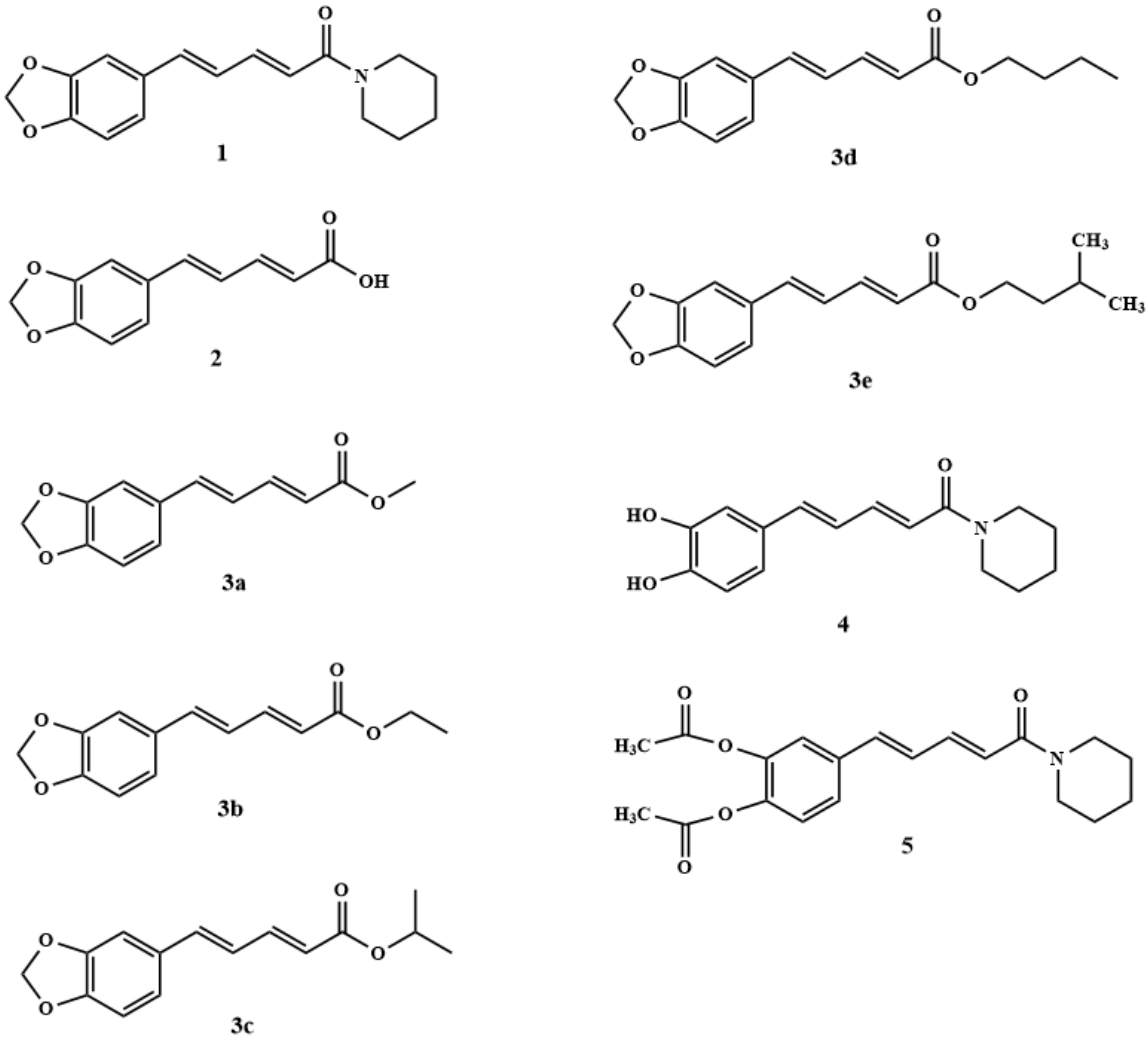


Karabiberden (*Piper nigrum* L.) diklormetan çözücüsü kullanılarak piperin içeren ekstrakt elde edilmiş ve ardından piperin [(2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-on **(1)**] silika jel dolgulu kolonlar yardımıyla izole edilmiştir. İzole edilen piperin etil asetat-hekzan çözücü karışımında kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Türevlendirme çalışmaları piperindeki dioksol halkası ve amit grubu üzerinden türev bileşikler elde edilmesi olarak 2 farklı konumdan gerçekleştirilmiştir.

Amit grubunun bazik ortamda hidroliziyle piperik asit [(2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoik asit **(2)**] elde edilmiştir. Piperik asitten ise Fischer esterleşme reaksiyonu ile ester yapısına sahip metil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat **(3a)**, etil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat **(3b)**, izopropil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat **(3c)**, bütil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat **(3d)**, izopentil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat **(3e)**, piperin **(1)** türevleri elde edilmiştir.

Dioksol halkasının BBr_3 ile hidrolizinden (2E,4E)-5-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-on **(4)** elde edilmiştir. **4**'ün piridin asetik anhidrit ortamında asetatlanması sonucunda ise 4-((1E,3E)-5-okso-5-(piperidin-1-il)penta-1,3-dien-1-il)-1,2-fenilen diasetat **(5)** elde edilmiştir. Şekil 45'de yapıları mevcuttur.

Elde edilen edilen türev moleküllerin yapısı ^{1}H- ve ^{13}C-NMR spektroskopisi yardımıyla aydınlatılmıştır.



Şekil 45. İzole edilen ve sentezlenen bileşiklerin kimyasal yapıları

Elde edilen bu bileşiklerin antikolinesteraz enzim inhibisyonu yöntemiyle anti-alzheimer aktiviteleri, *α*-glikozidaz enzim inhibisyonu ile anti-diyabetik aktiviteleri, DPPH, demir indirgeme yöntemleriyle antioksidan, A549 (akciğer kanseri) hücre hattı üzerinde antiproliferatif ve *Botrytis cinerea* mantar türü üzerine etkisi için antifungal aktiviteleri belirlenmiştir.

Bu çalışmada sentezlenen piperin türevlerinin asetilkolinesteraz (AChE) enzimine karşı inhibitör potansiyelleri incelenmiş ve IC_{50} değerleri referans inhibitör takrin ile kıyaslanmıştır. Elde edilen veriler, bazı türevlerin takrinden daha güçlü inhibitör aktivite gösterdiğini ortaya koymuştur. Sentezlenen piperin türevlerinin bütirilkolinesteraz (BChE) enzimine karşı

inhibitör potansiyelleri incelendiğinde ise herhangi bir aktivite gözlenmediği rapor edilmiştir. Özellikle bileşik 1 (IC_{50}: 43.45 μM) ve 3d (IC_{50}: 46.98 μM), takrinin IC_{50} değeri olan 54.65 μM'ye göre daha düşük değerler sergileyerek daha yüksek inhibitör potansiyel göstermiştir. Bu bulgu, literatürde bildirilen bazı yüksek etkili piperin türevleriyle kıyaslandığında oldukça dikkat çekicidir. Örneğin Rampa vd. (2013), piperin türevlerinde benzer düzeyde ($IC_{50} \approx 40$ μM) AChE inhibisyonu raporlamıştır. Bileşik 1 ve 3d'nin bu düzeyde aktivite göstermesi, moleküllerin uygun konformasyon ve bağlanma profiline sahip olduğunu düşündürmektedir. Takrin ile benzer düzeyde inhibitör etki gösteren bileşikler arasında 2 (IC_{50}: 52.03 μM), 3a (53.35 μM) ve 3b (54.52 μM) yer almaktadır. Bu bileşiklerin etkinliği, Mukherjee vd., 2007 ve Singh vd., 2021 tarafından bildirilen piperin türevleriyle uyumludur. Aktivitenin tüm türevlerde yakın olması, aktivitenin piperin iskeletindeki fenil ve buna konjuge dien-on molekülünden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bileşik 3c (48.53 μM) de takrinden daha güçlü bir aktivite göstermiştir. Bu sonuç, Tandon vd. (2018) tarafından bildirilen piperik amid türevlerinin IC_{50} değerleriyle örtüşmektedir. Diğer taraftan, bileşik 3e (76.60 μM), 4 (61.76 μM) ve özellikle 5 (80.73 μM), düşük inhibitör aktivite göstermiştir. Bu durum, muhtemelen yapısal olarak enzimle etkileşime giren farmakofor alanlarının bozulması ya da bağlanma bölgesine uygun olmayan konformasyonların ortaya çıkmasından kaynaklanmaktadır. Literatürde benzer şekilde, konjugasyon kaybı veya düzlemsel yapıdan uzaklaşma gibi faktörlerin inhibitör etkinliği ciddi ölçüde azaltabileceği belirtilmektedir. Sonuç olarak, bileşik 1 ve 3d'nin AChE enzimi üzerinde güçlü inhibitör potansiyele sahip olması, bu türevlerin Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıkların farmakoterapisinde araştırmaya değer adaylar olabileceğini göstermektedir. Literatürde bildirilen benzer bileşiklerle gösterilen kıyaslamalar da bu sonucu desteklemektedir.

Literatürde, piperinin *α*-glikozidaz enzimine karşı inhibitör etkisi gösterdiği ve bu özelliği ile potansiyel antidiyabetik ajan olarak değerlendirildiği belirtilmiştir. Bazı çalışmalarda piperinin IC_{50} değerinin 2.5–10 μM arasında olduğu bildirilmiştir, bu da onun oldukça güçlü bir inhibitör olduğunu göstermektedir (Gong vd., 2021). Bu çalışmada sentezlenen piperin türevleri ise *α*-glikozidaz enzimi üzerinde farklı düzeylerde inhibitör etki göstermiştir. Özellikle 3b (63.64 μM), 3a (64.89 μM) ve 2 (67.41 μM) numaralı bileşikler, referans inhibitör olan akarboz (62.43 μM) ile benzer düzeyde IC_{50} değerleri göstermiştir. Bu sonuç, 3b, 3a, 2 türev bileşiklerinin piyasada kullanılan standart inhibitörler kadar etkili olabileceğini ortaya koymaktadır. Literatürde piperin yapısında yapılan modifikasyonların aktiviteyi önemli ölçüde etkilediği görülmektedir. Örneğin, Singh vd. (2021) tarafından sentezlenen piperik asit

türevleri 60–120 μM arasında IC_{50} değerleri göstermiştir ve çalışmamızda da benzer şekilde 3e, 4 ve 5 numaralı bileşikler hariç diğer bileşikler literatürle uyumlu sonuçlar vermiştir. Buna karşılık, çalışmadaki 3e, 4 ve 5 numaralı türevlerin IC_{50} değerleri 100 μM'nin üzerinde bulunmuş ve bu bileşikler belirgin bir inhibitör etki göstermemiştir. Bu tür zayıf etkinliğin, moleküllerdeki konjugasyon kaybı, düzlemsel yapıdan uzaklaşma ya da polar grupların yetersizliği gibi faktörlerden kaynaklanabileceği literatürde de belirtilmiştir (Singh vd., 2021).

Bu çalışmada sentezlenen piperin ve türevlerinin antioksidan potansiyelleri, DPPH serbest radikal süpürme yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. IC_{50} değerleri temel alınarak yapılan analizler, tüm türevlerin antioksidan aktivitesinin, karşılaştırmalı referans bileşikler olan Trolox (77,60 μg/mL) ve BHT (46,98 μg/mL) ile kıyaslandığında daha zayıf düzeyde kaldığını göstermiştir. En düşük IC_{50} değerine sahip olan bileşik 2 (113,69 μg/mL) olup, onu bileşik 1 (142,70 μg/mL) ve bileşik 3a (180,03 μg/mL) takip etmiştir. Bileşik 3b, 3c, 3d, 3e, 4 ve 5'in IC_{50} değerleri 300–550 μg/mL aralığında bulunmuş, bu da antioksidan etkinliğin oldukça sınırlı olduğunu göstermiştir. Özellikle 3e (438,85 μg/mL) ve 5 numaralı (522,37 μg/mL) bileşikler en zayıf etkiyi göstermiştir. Literatürde, piperinin DPPH testiyle IC_{50} değerinin genellikle 100–450 μM arasında değiştiği bildirilmektedir (Takao vd., 2015; Kusumorini vd., 2022) ve sonuçların literatür ile uyumlu olduğu görülmektedir.

Piperin ve sekiz farklı türevinin antioksidan potansiyelleri, Fe^{3+} indirgeme testi aracılığıyla da değerlendirilmiştir. Bu yöntem, bileşiklerin toplam elektron bağışlama kapasitelerini ölçerek, indirgeme gücü üzerinden antioksidan aktivitenin belirlenmesini sağlamaktadır. Değerler, Trolox, BHT ve *α*-tokoferol eşdeğeri (TE) olarak ifade edilmiştir. Elde edilen verilere göre, izopentil ester türevi olan (3e), 27.78 μM TE ile en yüksek indirgeme kapasitesine sahip bileşik olmuştur. Bu bileşiği sırasıyla izopropil ester (3c: 27.54 μM), metil ester (3a: 27.46 μM), diasetat türev (5: 26.44 μM) ve dihidroksifenil türev (4: 26.52 μM) izlemiştir. Diğer türevlerin indirgeme kapasiteleri de oldukça yakın değerler göstermiştir (genel aralık: 22.29–27.78 μM TE). Yapı-aktivite ilişkisi açısından incelendiğinde, ester zinciri uzunluğunun Fe^{3+} indirgeme kapasitesine belirgin bir negatif etkisi olmadığı görülmektedir. Aksine, zincir uzadıkça (örneğin izopentil, izopropil) bileşiklerin indirgeme kapasitesinde hafif bir artış gözlenmiştir. Bu durum, ester grubunun elektron donörlüğünü doğrudan etkilemediğini; indirgeme testinde molekülün genel konjugasyon yapısının ve aromatik halkaların daha belirleyici olduğunu düşündürmektedir. Piperik asit (2) ve piperin (1) ise sırasıyla 22.29 μM ve 23.96 μM TE değerleriyle en düşük indirgeme kapasitesine sahip bileşikler olarak

belirlenmiştir. Bu sonuç, serbest karboksil grubunun ya da konjuge olmayan sistemlerin elektron aktarımı açısından sınırlayıcı olabileceğini düşündürmektedir. Literatürde, benzer piperin türevlerinin Fe^{3+} indirgeme aktiviteleri genellikle 20–50 μM aralığında bildirilmiştir. Örneğin, Gul vd. (2013), *Piper longum* özütlerinde 25–35 μM aralığında indirgeme gücü elde edildiğini raporlamıştır. Bu çalışmada elde edilen değerler de literatürle büyük ölçüde uyumludur.

Bu çalışmada piperin ve türevlerinin sitotoksik aktiviteleri, A549 (akciğer kanseri) hücre hattı üzerinde MTT testi aracılığıyla değerlendirilmiş ve insan kanser hücreleri üzerindeki IC_{50} değerleri belirlenmiştir. Referans kemoterapötik ajan olarak kullanılan karboplatinin IC_{50} değeri 20.50 μM olarak ölçülmüş olup, bu değer çalışmada kullanılan hücre hattına karşı yüksek düzeyde sitotoksik etki gösterdiğini ortaya koymuştur. Elde edilen sonuçlar, piperin iskeleti üzerinde yapılan modifikasyonların antikanser potansiyele olan etkilerini anlamak açısından önemlidir. Türevler arasında en yüksek sitotoksik etki, (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoik asit (2) bileşiğinde gözlenmiştir (IC_{50} = 29.65 μM). Bu bileşiği 3a (30.76 μM) ve 3e (32.10 μM) izlemiştir. Bu değerler, karboplatine yakın düzeyde hücre öldürücü potansiyele işaret etmektedir. Piperik asit (2) türevi, serbest karboksilik asit grubunun varlığıyla, hücre zarında iyonik etkileşimleri kolaylaştırabilir ve hücreye penetrasyonunu artırabilir. Benzer şekilde, metil ester (3a) ve izopentil ester (3e) türevleri, yapılarında konjuge sistemin korunmuş olması ve moleküler esnekliklerinin etkisiyle, hücre içi etki mekanizmalarını daha iyi tetiklemiş olabilir. Öte yandan, (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-on (1), IC_{50} = 62.42 μM ile en zayıf antikanser etki gösteren bileşik olmuştur. 3b (65.85 μM) ve 4 (59.79 μM) numaralı bileşikler de düşük etkililik sergilemiştir. En etkili türevler (2, 3a, 3e) için değerlendirme yapıldığında konjuge sistem ve orta düzeyde lipofiliklik ile yüksek sitotoksisiteyi desteklemiştir. Literatürde piperinin çeşitli kanser hücrelerinde IC_{50} değerinin 40–80 μM aralığında değiştiği bildirilmiştir (Jafri vd., 2017; Srinivasan, 2007). Bu çalışma kapsamında türevlendirme ile bazı bileşiklerin IC_{50} değerleri yarı yarıya azalmış (örneğin bileşik 2: 29.65 μM), bu da yapı modifikasyonunun antikanser potansiyeli artırabildiğini göstermektedir.

Botrytis cinerea, meyve ve sebzelerde hasat öncesi ve sonrası dönemde ciddi kalite kayıplarına neden olan önemli bir fungal patojendir (Kaya vd., 2024). Günümüzde yaygın olarak kullanılan kimyasal fungisitler, patojen kontrolünde etkili olmakla birlikte, çevresel toksisite, kalıntı sorunları ve insan sağlığı üzerindeki potansiyel riskleri nedeniyle

eleştirilmektedir. Bu nedenle daha güvenli, çevre dostu ve doğal kaynaklı antifungal ajanlara olan ilgi artmıştır (Contreras vd., 2022; Karakus vd., 2023). Bu çalışmada, karabiber *(Piper nigrum* L.*)* bitkisinden izole edilen 1, 2, 3a, 3b, 3c, 3d, 3e, 4 ve 5 bileşiklerinin *B. cinerea* üzerindeki antifungal etkisi *in vitro* koşullarda değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular 1, 2, 3a, 3b, 3c, 3d, 3e, 4 ve 5 bileşiklerinin konsantrasyona bağlı olarak *B. cinerea* miselyum gelişimini belirgin şekilde engellediğini göstermiştir. Özellikle 1200 µL dozda %100'e varan inhibisyon sağlanması, bu bileşiklerin güçlü bir antifungal potansiyele sahip olduğunu ortaya koymuştur (Tablo 6). Literatürde çalıştığımız spesifik saf bileşenlerin antifungal etkinliği üzerine doğrudan bir çalışmaya rastlanmamıştır. *Piper longum* L. meyvesinden elde edilen doğal bileşiklerin çeşitli fungal patojenlere karşı etkilerini inceleyen bir çalışmada, özellikle pipernonalin adlı piperidin alkaloidinin *Puccinia recondita* üzerinde 0.25 ve 0.5 mg/mL konsantrasyonlarında sırasıyla %80 ve %91 oranında kontrol sağladığı bildirilmiştir. Bu çalışmada *B. cinerea*'ya karşı *P. longum* hekzan ekstraktı %15 kontrol oranı ile sınırlı bir etki gösterirken, bazı sentetik fungisitler (örneğin diklofluanid) bu patojene karşı yüksek düzeyde etkililik sergilemiştir (Lee vd., 2001). Bu bulgular, bitki kökenli doğal bileşenlerin tür ve konsantrasyona göre farklılık gösterebildiğini, ancak uygun formülasyon ve dozlarla etkili alternatifler olabileceğini ortaya koymaktadır. Ek olarak, piperin adlı alkaloid de antifungal potansiyele sahip bir bileşen olarak literatürde yer almıştır. Örneğin, *Candida albicans* planktonik ve biyofilm oluşumu üzerinde etkili olduğu; 15 µg/mL'de planktonik büyümeyi inhibe ettiği, 5 µg/mL'de ise filamentasyonun önüne geçtiği bildirilmiştir (Thakre vd., 2021). Aynı zamanda piperin-thymol kombinasyonunda biyofilm ve hyphal gelişimi önemli ölçüde baskılanmıştır (Priya vd., 2022). Bunun ötesinde, piperin nanoemülsiyon formunda *Candida* türlerine karşı 0,8–2 mg/mL aralığında MIC90 değerlerine sahip bulunmuştur (Adisuri vd., 2024). Dolayısıyla, piperinin hem planktonik hem biyofilm formundaki mantarlarla mücadelede etkili olduğuna dair güçlü kanıtlar bulunmaktadır. Ayrıca piperin yapısına dayalı fenolik türevlerde, fitopatogenik mantar türlerine karşı *in vitro* antimikotik aktivite göstermiştir. Örneğin, bazı bileşikler 100 µg/mL konsantrasyonda *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora capsici* gibi patojenlere karşı %40–100 arasında değişen inhibisyon oranları sergilemiştir (Wang vd., 2020). Bu, piperin türevlerinin antifungal ajan geliştirme alanında umut vaat ettiğini göstermektedir. Bulgularımız, 1200 µL özüt konsantrasyonu, tüm uygulamalarda çimlenmeyi tamamen engellemiş ve çim tüpü oluşumunu sıfıra indirdiğini göstermektedir. Bu sonuçlar, literatürde tanımlanan benzer güçlü antifungal ajanların etkileriyle uyum göstermektedir. Örneğin, çitosan uygulamaları 0,125 g L^{-1}'de *B. cinerea* spor çimlenmesini tamamen durdurabilmiştir (Fincheira vd., 2023). 600–900 µL arası

konsantrasyon düzeylerinde spor çimlenme oranı %50'nin altına düşmüş, çim tüpü uzunluğu ise 65 µm altına inmiştir. Bu aralık, spor gelişiminin kritik şekilde baskılandığı doz aralığıdır (Tablo 7). Uygulama bileşikleri arasında gözlenen farklılıklar dikkat çekicidir. Özellikle bileşik 3e, düşük dozlarda (50 µL'de %83 çimlenme, 118 µm çim tüpü) en az baskılayıcı etkiyi göstermiştir. Buna karşılık bileşik 4, 50 µL'de %60 çimlenme ve 89 µm çim tüpü ile spor gelişimini en etkin şekilde baskılayan uygulama olmuştur. Bu sonuçlar, literatürde antivirulans etki gösteren bitkisel özütlerle ilgili çalışmalarla örtüşmektedir. Örneğin, Monarda türlerinin esansiyel yağları hem spore germinasyonu hem de çim tüpü uzamasında önemli derecede inhibisyon sağlamıştır (Adebayo vd., 2013). Uygulanan özütlerin spor çimlenmesi üzerine etkilerinin arkasında, muhtemelen hücre zarında zararlı membran geçirgenliği yaratan fenolik bileşenler veya uçucu yağların varlığına dayanan antimikrobiyal etki yatmaktadır. Düşük doz ortamlarında bileşik 4'ün gösterdiği yüksek antifungal potansiyel, daha az konsantrasyonla da etkin inhibisyon sağlanabileceğini göstermektedir. Ayrıca, özütlerin farklı kimyasal kompozisyonlarının antifungal etkinliğe etkisi, *B. cinerea* ile mücadelede özütlerin formülasyon yoluyla güçlendirilmesi için önemli ipuçları sağlamaktadır. Bu bağlamda, bu çalışmada test edilen 1, 2, 3a, 3b, 3c, 3d, 3e, 4 ve 5 bileşiklerinin *B. cinerea* üzerindeki yüksek antifungal etkinliği, doğadan elde edilen bazı saf bileşenlerin geleneksel fungisitlere alternatif olabilecek düzeyde etkili olabileceğini göstermektedir. Ancak bu bileşiklerin tarımsal uygulamalarda etkin, güvenli ve kalıcı çözümler sunabilmesi için toksikolojik değerlendirmeler, saha çalışmaları ve formülasyon geliştirme gibi ileri araştırmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKÇA

Adebayo, O., Bélanger, A., & Khanizadeh, S. (2013). Variable inhibitory activities of essential oils of three Monarda species on the growth of Botrytis cinerea. Canadian Journal of Plant Science, 93(6), 987-995.

Adisuri, D. S., Madhavan, P., Chong, P. P., & Nathan, S. (2024). Antifungal Activity of Piperine-based Nanoemulsion Against Candida spp. via In Vitro Broth Microdilution Assay. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, *113*(9), 2843-2850.

Afroz, M., Bhuia, M. S., Rahman, M. A., Hasan, R., Islam, T., Islam, M. R., ... & Islam, M. T. (2024). Anti-diarrheal effect of piperine possibly through the interaction with inflammation inducing enzymes: In vivo and in silico studies. *European journal of pharmacology*, *965*, 176289.

Al-Baghdadi, O. B., Prater, N. I., Van der Schyf, C. J., & Geldenhuys, W. J. (2012). Inhibition of monoamine oxidase by derivatives of piperine, an alkaloid from the pepper plant Piper nigrum, for possible use in Parkinson's disease. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, *22*(23), 7183-7188.

Alexander, A., Qureshi, A., Kumari, L., Vaishnav, P., Sharma, M., Saraf, S., & Saraf, S. (2014). Role of herbal bioactives as a potential bioavailability enhancer for active pharmaceutical ingredients. *Fitoterapia*, *97*, 1-14.

Alsareii, S. A., Ahmad, J., Umar, A., Ahmad, M. Z., & Shaikh, I. A. (2023). Enhanced in vivo wound healing efficacy of a novel piperine-containing bioactive hydrogel in excision wound rat model. *Molecules*, *28*(2), 545.

Alshehri, S., Bukhari, S. I., Imam, S. S., Hussain, A., Alghaith, A. F., Altamimi, M. A., ... & Almurshedi, A. (2023). Formulation of piperine-loaded nanoemulsion: in vitro characterization, ex vivo evaluation, and cell viability assessment. *ACS omega*, *8*(25), 22406-22413.

Altan, F. ve Duru, M. (2017). Catharantus roseus L.'den Elde Edilen Kallus ve Çoklu Sürgünlerdeki Alkaloidlerin Araştırılması. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, 27(3), 337-346. https://doi.org/10.29133/yyutbd.290146

Altundağ, Ö. Ö., & Samav, U. (2024). Türk Mutfağında Kullanılan Baharatların Fonksiyonel Yönü. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, *12*(s2), 2355-2367.

Alves, F. S., Cruz, J. N., de Farias Ramos, I. N., do Nascimento Brandão, D. L., Queiroz, R. N., da Silva, G. V., ... & do Socorro Barros Brasil, D. (2022). Evaluation of

antimicrobial activity and cytotoxicity effects of extracts of *Piper nigrum L.* and piperine. *Separations*, *10*(1), 21.

American Diabetes Association Professional Practice Committee, & American Diabetes Association Professional Practice Committee: (2022). 2. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes—2022. Diabetes care, 45(Supplement_1), S17-S38.

Anonim. 2013. Türk gıda kodeksi baharat tebliği (Tebliğ No: 2013/12). http://mevzuat. basbakanlik.gov.tr/Metin.Aspx?MevzuatKod=9.5.17268&sourceXmlSearch=baharat& MevzuatIliski=0 Erişim Tarihi: 14.03.2017.

Anwanwan, D., Singh, S. K., Singh, S., Saikam, V., & Singh, R. (2020). Challenges in liver cancer and possible treatment approaches. *Biochimica et biophysica acta (BBA)-Reviews on cancer*, *1873*(1), 188314.

Aral, O. (2024). Üniversite öğrencilerinin/tüketicilerin organik hayvansal ürünler hakkındaki bilgi, tutum ve davranışlarının incelenmesi.

Asra, R., Povinelli, A. P., Zazeri, G., & Jones, A. M. (2024). Computational Predictive and Electrochemical Detection of Metabolites (CP-EDM) of Piperine. *Molecules*, *29*(10), 2406.

Atasever, M., & Atasever, M. (2007). Işınlamanın Gıda Teknolojisindeki Kullanımı, Atatürk Üniversitesi Vet.

Auti, P., Gabhe, S., & Mahadik, K. (2018). Pharmacokinetic studies of secnidazole in the presence of piperine and its synthetic derivative. *International Journal of Pharmaceutical Science and Research*, *62*, 1455-61.

Bajda, M., Więckowska, A., Hebda, M., Guzior, N., Sotriffer, C. A., & Malawska, B. (2013). Structure-based search for new inhibitors of cholinesterases. International journal of molecular sciences, 14(3), 5608-5632.

Bharate, S. B., & Lindsley, C. W. (2024). Natural Products Driven Medicinal Chemistry. Journal of Medicinal Chemistry, 67(23), 20723-20730.

Blois, M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature, 181, 1199-1200.

Bolat, Z. B., Islek, Z., Demir, B. N., Yilmaz, E. N., Sahin, F., & Ucisik, M. H. (2020). Curcumin-and piperine-loaded emulsomes as combinational treatment approach enhance the anticancer activity of curcumin on HCT116 colorectal cancer model. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, *8*, 50.

Bonam, S. R., Sekar, M., Guntuku, G. S., Nerella, S. G., Pawar A, K. M., Challa, S. R., ... & Mettu, S. (2021). Role of pharmaceutical sciences in future drug discovery. *Future Drug Discovery*, *3*(3), FDD64.

Butt, M. S., Pasha, I., Sultan, M. T., Randhawa, M. A., Saeed, F., & Ahmed, W. (2013). Black pepper and health claims: a comprehensive treatise. *Critical reviews in food science and nutrition*, *53*(9), 875-886.

Cao, X., Ye, X., Lu, Y., Yu, Y., & Mo, W. (2009). Ionic liquid-based ultrasonic-assisted extraction of piperine from white pepper. *Analytica chimica acta*, *640*(1-2), 47-51.

Cardoso, L. P., de Sousa, S. O., Gusson-Zanetoni, J. P., de Melo Moreira Silva, L. L., Frigieri, B. M., Henrique, T., ... & Rodrigues-Lisoni, F. C. (2023). Piperine reduces neoplastic progression in cervical cancer cells by downregulating the cyclooxygenase 2 pathway. *Pharmaceuticals*, *16*(1), 103.

Ceylan, A. (1987). Tıbbi Bitkiler-II (Uçucu Yağ Bitkileri) Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No. 481, 306 s Bornova.

Ceylan, B., Tiris, G. (2023). Sarımsak (Allium sativum L.) Ekstraktlarında Allisin ve S-allil Sistein Tayini için Yeni Bir HPLC Yönteminin Geliştirilmesi. Bezmialem Science, 11(2), 195-199. doi:10.14235/bas.galenos.2022.20591.

Chayka, A., Česnek, M., Kužmová, E., Kozák, J., Tloušť ová, E., Dvořáková, A., ... & Janeba, Z. (2024). Structure-Based Drug Design of ADRA2A Antagonists Derived from Yohimbine. *Journal of Medicinal Chemistry*, *67*(12), 10135-10151.

Christian, A. K., Mtui, H. D., & Majubwa, R. O. (2023). Effect of harvesting stage on postharvest quality of black pepper *Piper nigrum L.* cultivars grown in Morogoro, Tanzania. *East African Journal of Science, Technology and Innovation*, *4*.

Contreras, R. A., Pizarro, M., Peña-Heyboer, N., Mendoza, L., Sandoval, C., Muñoz-González, R., & Zúñiga G. E., (2022). Antifungal activity of extracts from the Antarctic plant *Colobanthus quitensis* Kunth. (Bartl) cultured in vitro against *Botrytis cinerea* Pers. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 55(5), 615-635.

Çilak, G. Ö. (2018). *Tane Karabibere Uygulanan Farklı Dekontaminasyon Yöntemlerinin Mikrobiyel Yük ve Aroma Üzerine Etkisi* (Doctoral dissertation, Ankara Universitesi (Turkey)).

Çoban, Ö.E. ve Patır, B. 2010. Antioksidan etkili bazı bitki ve baharatların gıdalarda kullanımı. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 5 (2); 7-19.

Daneshmand, S., Shahraki, O., Hosseynipour, H., Roshan, F., & Miri, M. A. (2024). Piperine-loaded zein electrospun nanofibers: Development, characterization and antibacterial application. *BioNanoScience*, *14*(1), 11-26.

Deans S G, Svoboda K P (1990) The antimicrobial properties of marjoram (*Origanum majorana* L.) volatile oil Flavour Fragr J 5(3),187–190. DOI:https://doi.org/10.1002/ffj.2730050311

Dhiman, P., Malik, N., & Khatkar, A. (2020). Natural based piperine derivatives as potent monoamine oxidase inhibitors: An in silico ADMET analysis and molecular docking studies. *BMC chemistry*, *14*, 1-16.

Doğan, O. (2023). Diyadin ve Doğubayazıt Yöresi Halk Hekimliğinde Kullanılan Yabani Bitkiler. *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Dergisi*, *13*(1), 86-97.

Dorman, H. D., & Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of applied microbiology*, *88*(2), 308-316.

Dönmez, İ. E., & Salman, H. (2021). Söğüt (Salix alba L.) odun ve kabuğunun kimyasal yapısı. Turkish Journal of Forestry, 22(1), 38-42. https://doi.org/10.18182/tjf.854824

Dönmez, S., Lapinskaite, R., Atalay, H. N., Tokay, E., Kockar, F., Rycek, L., ... & Tumer, T. B. (2024). Selagibenzophenone b and its derivatives: Selb-1, a dual topoisomerase I/II inhibitor identified through in vitro and in silico analyses. *ACS Bio & Med Chem Au*, *4*(4), 178-189.

Efferth, T., Fu, Y. J., Zu, Y. G., Schwarz, G., Konkimalla, V. S. B., & Wink, M. (2007). Molecular target-guided tumor therapy with natural products derived from traditional Chinese medicine. *Current medicinal chemistry*, *14*(19), 2024-2032.

Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*, *7*(2), 88-95.

El-Zahaby, S. A., Abdelhady, S. A., Ali, M. A., Younis, S. E., & Elnaggar, Y. S. (2024). Limosomes versus hyalurolimosomes loaded with piperine for management of skin cancer. *International Journal of Pharmaceutics*, *650*, 123730.

Faydaoğlu, E. ve Sürücüoğlu, M.S., 2011, Geçmişten günümüze tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve ekonomik önemi, Kastamonu Üni., *Orman Fakültesi Dergisi,* 11 (1): 52 – 67

Feher, M., & Schmidt, J. M. (2003). Property distributions: differences between drugs, natural products, and molecules from combinatorial chemistry. *Journal of chemical information and computer sciences*, *43*(1), 218-227.

Ferreira, C., Soares, D. C., Barreto-Junior, C. B., Nascimento, M. T., Freire-de-Lima, L., Delorenzi, J. C., ... & Pinto-da-Silva, L. H. (2011). Leishmanicidal effects of piperine, its derivatives, and analogues on Leishmania amazonensis. *Phytochemistry*, *72*(17), 2155-2164.

Fincheira, P., Jofré, I., Espinoza, J., Levío-Raimán, M., Tortella, G., Oliveira, H. C., ... & Rubilar, O. (2023). The efficient activity of plant essential oils for inhibiting Botrytis cinerea and Penicillium expansum: Mechanistic insights into antifungal activity. Microbiological Research, 277, 127486.

Fulda, S. (2015, April). Targeting apoptosis for anticancer therapy. In Seminars in cancer biology (Vol. 31, pp. 84-88). Academic Press.

Garg, A. P. (2023). Biomedical Applications of Black Pepper, the King of Spices-A Review. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, *53*(1), 44364-44371.

Ghosh, S., Kumar, A., Sachan, N., & Chandra, P. (2020). Re-exploring an Epicentre Spice with Immense Therapeutic Potentials: Black Pepper (Piper nigrum). *Current Nutrition & Food Science*, *16*(9), 1326-1337.

Gigliarelli, G., Pagiotti, R., Persia, D., & Marcotullio, M. C. (2017). Optimisation of a Naviglio-assisted extraction followed by determination of piperine content in Piper longum extracts. *Natural Product Research*, *31*(2), 214-217.

Gong, G., Qin, Y., Huang, W., Zhou, S., & Zhang, Y. (2021). Alpha-glucosidase inhibitory activity of piperine and its derivatives from Piper nigrum. Natural Product Research, 35(15), 2512–2516. https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1739723

Grigalunas, M., Brakmann, S., & Waldmann, H. (2022). Chemical evolution of natural product structure. *Journal of the American Chemical Society*, *144*(8), 3314-3329.

Gul, M. Z., Ahmad, F., Kondapi, A. K., Qureshi, I. A., & Ghazi, I. A. (2013). *Antioxidant and anti-inflammatory activities of Piper longum and piperine*. Free Radical Biology and Medicine, 65, 216–228. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.06.005

Gülçin, İ., 2009. Antioxidant activity of L-Adrenaline: An activity-structure insight. Chemico-Biological Interaction, 179, 71-80.

Gülçin, İ., Scozzafava, A., Supuran, C. T., Akıncıoğlu, H., Koksal, Z., Turkan, F., & Alwasel, S. (2016). The effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on metabolic enzymes including acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, glutathione S-transferase,

lactoperoxidase, and carbonic anhydrase isoenzymes I, II, IX, and XII. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, *31*(6), 1095-1101.

Gürsoy, O.V. ve Gürsoy, U.K. (2004). Anadolu'da diş ve dişeti ile ilgili hastalıkların tedavisinde halk arasında yaygın olarak kullanılan bitkiler, kullanım şekilleri ve bitkisel özellikleri. Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 7(1); 64-67.

Hakeem, A. N., El-Kersh, D. M., Hammam, O., Elhosseiny, A., Zaki, A., Kamel, K., ... & Attia, Y. M. (2024). Piperine enhances doxorubicin sensitivity in triple-negative breast cancer by targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway and cancer stem cells. *Scientific Reports*, *14*(1), 18181.

Hamrapurkar, P. D., Jadhav, K., & Zine, S. (2011). Quantitative estimation of piperine in Piper nigrum and Piper longum using high performance thin layer chromatography. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, (Issue), 117-120.

Han, D., & Row, K. H. (2010). Recent applications of ionic liquids in separation technology. *Molecules*, *15*(4), 2405-2426.

Han, H. K. (2011). The effects of black pepper on the intestinal absorption and hepatic metabolism of drugs. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*, *7*(6), 721-729.

Haq, I. U., Imran, M., Nadeem, M., Tufail, T., Gondal, T. A., & Mubarak, M. S. (2021). Piperine: A review of its biological effects. *Phytotherapy research*, *35*(2), 680-700.

Hennessy, M. R., Creed, S. M., Gutridge, A. M., Rusali, L. E., Luo, D., Sepehri, B., ... & Riley, A. P. (2024). Discovery of Potent Kappa Opioid Receptor Agonists Derived from Akuammicine. *Journal of Medicinal Chemistry*, *67*(23), 20842-20857.

Hussain, S., Jali, A. M., Alshahrani, S., Khairat, K. H., Siddiqui, R., Alam, M. I., ... & Ashafaq, M. (2023). Hepatoprotective and antioxidant effects of nanopiperine against Cypermethrin via mitigation of oxidative stress, inflammations and gene expression using qRT-PCR. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(20), 15361.

Inoue, M., & Craker, L. E. (2014). Medicinal and aromatic plants—Uses and functions. *Horticulture: Plants for People and Places, Volume 2: Environmental Horticulture*, 645-669.

Işkın, A. E., Şimşek, A., & Budak, F. (2024). Otoimmün Hastalıkların Tedavisi İçin Yeni Bir Umut: Piperin. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, *50*(2), 357-366.

İŞBİLİR, G., Gökmen, A. Ş. C. I., İsmail, A. L., & ÖZDEMİR, E. (2023). Bitkisel Yağların Tıbbi ve Aromatik Kullanımı. *International Journal of Sustainability*, *1*(1).

Jafri, L., Khan, M. M., Khan, R. A., & Saeed, S. A. (2017). *Antioxidant activity of piperine in in vitro and in vivo models*. Journal of Pharmacological Sciences, 135(3), 157–163. https://doi.org/10.1016/j.jphs.2017.09.005

Jaipea, S., Saehlim, N., Sutcharitruk, W., Athipornchai, A., Ingkaninan, K., & Saeeng, R. (2023). Synthesis of piperine analogues as AChE and BChE inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. *Phytochemistry Letters*, *53*, 216-221.

Kanaki, N., Dave, M., Padh, H., & Rajani, M. (2008). A rapid method for isolation of piperine from the fruits of Piper nigrum Linn. *Journal of Natural Medicines*, *62*, 281-283.

Karakus, S., Atıcı, O., Turan, M., Azizi, S., Hajizadeh, H. S., & Kaya, O. (2023). Volatile organic compounds produced by some synthetic essential oils as biological fumigants against Botrytis cinerea on apples. Chemical and Biological Technologies in Agriculture, 10(1), 136.

Karakuş, S., 2016. Üzüm Bağlarında Hastalık Etmeni Kurşuni küfün (Botrytis cinerea) Biyolojik Mücadelesinde Nepeta meyeri (benth.) Bitki Ekstraktlarının Kullanılması. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Erzurum.

Karakuş, S., Atıcı, Ö., Köse, C., Tiryaki, D. (2021) Antifungal effect of essential oil and different extracts obtained from *Nepeta meyeri* on *Botrytis cinerea.* Acta Scientiarum Polonorum-Hortorum Cultus, 20(1), 111–122. DOI: https://doi.org/10.24326/asphc.2021.1.11

Karakuş, S., Suyurdu, T. N., Köksal, E., & Alp, C. (2023). Antifungal Activity of Extracts From the Ferulago Pauciradiata in Vitro Against Botrytis Cinerea Pers. *Journal of the Institute of Science and Technology*, *13*(4), 2467-2475.

Karankı, E., 2013, Ülkemizde yaygın olarak kullanılan bazı baharatların antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Niğde Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 73s.

Kaya, O., Karakus, S., Bozkurt, A., Yilmaz, T., Hajizadeh, H. S., & Turan, M. (2024). Understanding the impact of essential oils on grape metabolism and pathogen resistance: a study with a focus on Botrytis cinerea. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, *11*(1), 48.

Kharbanda, C., Alam, M. S., Hamid, H., Javed, K., Bano, S., Ali, Y., ... & Pasha, M. Q. (2016). Novel Piperine Derivatives with Antidiabetic Effect as PPAR-c Agonists.

Khaw, K. Y., Parat, M. O., Shaw, P. N., & Falconer, J. R. (2017). Solvent supercritical fluid technologies to extract bioactive compounds from natural sources: A review. *Molecules*, *22*(7), 1186.

Kolhe, S. R., Borole, P., & Patel, U. (2011). Extraction and evaluation of piperine from Piper nigrum Linn. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, *2*(2), 144-149.

Kurtan, M., Kurtoğlu, S., & Melikoğlu, G. (2014). Kamptotesin. *Marmara Pharmaceutical Journal*, *18*(2), 85-100.

Kusumorini N., Nugroho A.K., Pramono S., Martien R. (2022). Determination of The Potential Antioxidant Activity of Isolated Piperine from White Pepper Using DPPH, ABTS, and FRAP Methods. *Majalah Farmaseutik*, Vol. 18, No. 4.

Lee, F. K., Chan, N. J. Y., Krishnan, P., Datu Abdul Salam, D. S., Chee, X. W., Muhamad, A., ... & Lim, K. H. (2024). Preparation and Preliminary Structure–Activity Relationship Studies of Schwarzinicine A Analogs as Vasorelaxant Agents. *Journal of Natural Products*, *87*(4), 675-691.

Lee, S. E., Park, B. S., Kim, M. K., Choi, W. S., Kim, H. T., Cho, K. Y., ... & Lee, H. S. (2001). Fungicidal activity of pipernonaline, a piperidine alkaloid derived from long pepper, Piper longum L., against phytopathogenic fungi. *Crop Protection*, *20*(6), 523-528.

Li S, Wang C., Wang M., Li M, Matsumoto K. (2007) "Antidepressant like effects of piperine in chronic mild stress treated mice and its possible mechanisms," Life Sciences, vol. 80, no. 15, pp. 1373–1381.

Li, T., Lv, M., Wen, H., Wang, Y., Thapa, S., Zhang, S. ve Xu, H. (2022). Çeşitli aromatik halkalara sahip piperin bazlı ester türevlerinin sentezi ve Tetranychus cinnabarinus Boisduval, Aphis citricola Van der Goot ve Eriosoma lanigerum Hausmann'a karşı tarımsal biyoaktiviteleri. *Böcekler*, *14* (1), 40.

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. Pharmacognosy reviews, 4(8), 118.

Lu, H., Gong, H., Du, J., Gao, W., Xu, J., Cai, X., ... & Xiao, H. (2023). Piperine ameliorates psoriatic skin inflammation by inhibiting the phosphorylation of STAT3. International Immunopharmacology, 119, 110221.

Lv, M., Li, S., Wen, H., Wang, Y., Du, J., & Xu, H. (2023). Expedient discovery of novel oxime ester derivatives of piperine/piperine analogs as potent pesticide candidates and their mode of action against Tetranychus cinnabarinus Boisduval. *Pest Management Science*, *79*(10), 3459-3470.

Lv, Y., Zhu, J., Huang, S., Xing, X., Zhou, S., Yao, H., ... & Luo, J. (2024). Metabolome profiling and transcriptome analysis filling the early crucial missing steps of piperine biosynthesis in *Piper nigrum L. The Plant Journal*, *117*(1), 107-120.

Mengal, P., & Mompon, B. (2006). *U.S. Patent No. 7,001,629*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

Moghadamnia, A. A., Zangoori, V., Zargar-Nattaj, S. S., Tayebi, P., Moghadamnia, Y., & Jorsaraei, S. G. A. (2010). Effect of breastfeeding piperine on the learning of offspring mice: interaction with caffeine and diazepam. Journal of Experimental Pharmacology, 111-120.

Mukherjee, P. K., Kumar, V., Mal, M., & Houghton, P. J. (2007). Acetylcholinesterase inhibitors from plants: a review. *Phytomedicine*, 14(4), 289–300.

Mukhopadhyay, M. (2000). *Natural extracts using supercritical carbon dioxide*. CRC press.

Naviglio, D. (2003). Naviglio's principle and presentation of an innovative solid–liquid extraction technology: extractor Naviglio®. *Analytical letters*, *36*(8), 1647-1659.

Olalere, O. A., Abdurahman, N. H., Alara, O. R., & Habeeb, O. A. (2017). Parametric optimization of microwave reflux extraction of spice oleoresin from white pepper (Piper nigrum). *Journal of Analytical Science and Technology*, *8*, 1-8.

Orçan, İ., Bülbül, A. S., & Kara, Y. (2023). Alyssum filiforme Bitkisinin Antimikrobiyal, Antibiyofilm, Antioksidan Aktivitesinin ve Fenolik Profilinin Belirlenmesi. Journal of Advanced Research in Natural and Applied Sciences, 9(1), 48-55. https://doi.org/10.28979/jarnas.1085431

Orhan, I., Şener, B., Choudhary, M. I., & Khalid, A. (2004). Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory activity of some Turkish medicinal plants. Journal of ethnopharmacology, 91(1), 57-60.

Oyaizu, M., 1986. Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics, 44(6), 307-315.

Özdemir, N. (2013). *Karabiber (Piper nigrum L.) oleorezininin dondurarak kurutma tekniği ile mikroenkapsülasyonu* (Master's thesis, Ankara Universitesi (Turkey)).

Paarakh, P. M., Sreeram, D. C., & Ganapathy, S. P. (2015). In vitro cytotoxic and in silico activity of piperine isolated from Piper nigrum fruits Linn. *In Silico Pharmacology*, *3*, 1-7.

Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. International journal of biomedical science: IJBS, 4(2), 89.

Polat, D. Ç., & Coşkun, M. (2021). Sarımsak (Allium Sativum L.). *Turkiye Klinikleri Pharmacy Sciences-Special Topics*, *1*(1), 77-82.

Poole, C. F., & Poole, S. K. (2010). Extraction of organic compounds with room temperature ionic liquids. *Journal of Chromatography A*, *1217*(16), 2268-2286.

Prakash, V., & Timasheff, S. N. (1991). Mechanism of interaction of vinca alkaloids with tubulin: catharanthine and vindoline. *Biochemistry*, *30*(3), 873-880.

Priya, A., Nivetha, S., & Pandian, S. K. (2022). Synergistic interaction of piperine and thymol on attenuation of the biofilm formation, hyphal morphogenesis and phenotypic switching in Candida albicans. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 11, 780545.

Qin, B., Yang, K., & Cao, R. (2020). Synthesis and antioxidative activity of piperine derivatives containing phenolic hydroxyl. Journal of Chemistry, 2020(1), 2786359.

Quijia, C. R., & Chorilli, M. (2020). Characteristics, biological properties and analytical methods of piperine: A review. *Critical reviews in analytical chemistry*, *50*(1), 62-77.

Raman, G., & Gaikar, V. G. (2002). Microwave-assisted extraction of piperine from Piper nigrum. *Industrial & engineering chemistry research*, *41*(10), 2521-2528.

Rampa, A., Gobbi, S., Belluti, F., & Bisi, A. (2013). Hybrid molecules with dual cholinesterase and amyloid-β aggregation inhibitory activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, 56(17), 6772–6783.

Rathod, S. S., & Rathod, V. K. (2014). Extraction of piperine from Piper longum using ultrasound. *Industrial Crops and Products*, *58*, 259-264.

Sakagami, H., Uesawa, Y., Masuda, Y., Tomomura, M., Yokose, S., Miyashiro, T., ... & Sugita, Y. (2017). Quantitative structure–cytotoxicity relationship of newly synthesized piperic acid esters. *Anticancer research*, *37*(11), 6161-6168.

Sattarinezhad, E., Bordbar, A. K., & Fani, N. (2015). Piperine derivatives as potential inhibitors of Survivin: An in silico molecular docking. *Computers in biology and medicine*, *63*, 219-227.

Shingate, P. N., Dongre, P. P., & Kannur, D. M. (Kanaki. New method development for extraction and isolation of piperine from black pepper. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, *4*(8), 3165.

Singh, A., & Duggal, S. (2009). Piperine-review of advances in pharmacology. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology (IJPSN)*, *2*(3), 615-620.

Singh, V., Tiwari, M., Kumar, A., & Mishra, N. (2021). Synthesis and evaluation of piperine derivatives as alpha-glucosidase inhibitors: structure–activity relationship and in silico study. Pharmaceuticals, 14(9), 834. https://doi.org/10.3390/ph14090834

Sreevidya, N., & Mehrotra, S. (2003). Spectrophotometric method for estimation of alkaloids precipitable with Dragendorff's reagent in plant materials. *Journal of AOAC international*, *86*(6), 1124-1127.

Srinivasan, K. (2007). Black pepper and its pungent principle-piperine: a review of diverse physiological effects. *Critical reviews in food science and nutrition*, *47*(8), 735-748.

Subramanian, R., Subbramaniyan, P., Ameen, J. N., & Raj, V. (2016). Double bypasses soxhlet apparatus for extraction of piperine from Piper nigrum. *Arabian journal of chemistry*, *9*, S537-S540.

Sun, X., Jin, Z., Yang, L., Hao, J., Zu, Y., Wang, W., & Liu, W. (2013). Ultrasonic-assisted extraction of procyanidins using ionic liquid solution from Larix gmelinii bark. *Journal of Chemistry*, *2013*(1), 541037.

Tajodini, M., Saeedi, H. R., & Moghbeli, P. (2015). Use of black pepper, cinnamon and turmeric as feed additives in the poultry industry. *World's Poultry Science Journal*, *71*(1), 175-183.

Takao K., Miyashiro T., Sugita Y. (2015). Synthesis and Biological Evaluation of Piperic Acid Amides as Free Radical Scavengers and α-Glucosidase Inhibitors. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, Volume 63, Issue 5, Pages 326-333.

Takao, K., Miyashiro, T., & Sugita, Y. (2015). Synthesis and biological evaluation of piperic acid amides as free radical scavengers and α-glucosidase inhibitors. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, *63*(5), 326-333.

Talesa, V. N. (2001). Acetylcholinesterase in Alzheimer's disease. Mechanisms of ageing and development, 122(16), 1961-1969.

Tandon, S., et al. (2018). Piperic acid derivatives as AChE inhibitors: synthesis, docking and biological evaluation. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 144, 378–389.

Tao, Y., Zhang, Y., Cheng, Y., Wang, Y., 2013. Rapid screening and identification of α glucosidase inhibitors from mulberry leaves using enzyme-immobilized magnetic beads coupled with HPLC/MS and NMR. Biomedical Chromatography, 27(2), 148 155.

Tepe, B., 2008, Antioxidant potentials and rosmarinic acid levels of the methanolic extracts of *Salvia virgata* (Jacq.), *Salvia staminea* (Montbret & Aucher ex Bentham) and *Salvia verbenaca* (L.) from Turkey. *Bioresour. Technol.,* 99, 1584–1588.

Thakre, A., Jadhav, V., Kazi, R., Shelar, A., Patil, R., Kharat, K., ... & Karuppayil, S. M. (2021). Oxidative stress induced by piperine leads to apoptosis in Candida albicans. Medical Mycology, 59(4), 366-378.

Turrini E, Sestili P, Fimognari C, 2020, Overview of The Anticancer Potential of The "King Of Spices" Piper Nigrum and Its Main Constituent Piperine. Toxins, 12, 747.

Vazgeçer, B., Ulu, H., & Öztan, A. (2005). Et ve et ürünlerinde baharatın antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesi. *Gıda*, *30*(2).

Vijayakumar, R., Surya, D., & Nalini, N. (2004). Antioxidant efficacy of black pepper (*Piper nigrum L.*) and piperine in rats with high fat diet induced oxidative stress. *Redox Report*, *9*(2), 105-110.

Wang, J., Wang, W., Xiong, H., Song, D., & Cao, X. (2020). Natural phenolic derivatives based on piperine scaffold as potential antifungal agents. *BMC chemistry*, *14*, 1-12.

Wang, X. H., Huang, M., Zhao, C. K., Li, C., & Xu, L. (2019). Design, synthesis, and biological activity evaluation of campthothecin-HAA-Norcantharidin conjugates as antitumor agents in vitro. *Chemical Biology & Drug Design*, *93*(6), 986-992.

Wang, X. J., Qiao, Y., Wang, X. S., Zhang, S. Y., Li, H. X., Hao, H. H., ... & Liu, B. (2024). Design, synthesis and biological evaluation of piperine derivatives as potent antitumor agents. *Fitoterapia*, *177*, 106118.

Wang, Y., Yao, Y., Liu, J., Wu, L., Liu, T., Cui, J., & Lee, D. Y. W. (2020). Synthesis and biological activity of piperine derivatives as potential PPARγ agonists. *Drug design, development and Therapy*, 2069-2078.

Wani, N. A., Singh, S., Farooq, S., Shankar, S., Koul, S., Khan, I. A., & Rai, R. (2016). Amino acid amides of piperic acid (PA) and 4-ethylpiperic acid (EPA) as NorA efflux pump inhibitors of Staphylococcus aureus. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, *26*(17), 4174-4178.

Wattanathorn, J., Chonpathompikunlert, P., Muchimapura, S., Priprem, A., & Tankamnerdthai, O. (2008). Piperine, the potential functional food for mood and cognitive disorders. *Food and Chemical Toxicology*, *46*(9), 3106-3110.

Williamson, B., Tudzynski, B., Tudzynski, P., & Van Kan, J. A. (2007). Botrytis cinerea: the cause of grey mould disease. Molecular plant pathology, 8(5), 561-580.

Wong, R. S. (2011). Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment. Journal of experimental & clinical cancer research, 30, 1-14.

Yang, L., Sun, X., Yang, F., Zhao, C., Zhang, L., & Zu, Y. (2012). Application of ionic liquids in the microwave-assisted extraction of proanthocyanidins from Larix gmelini bark. *International Journal of Molecular Sciences*, *13*(4), 5163-5178.

Yelboğa, B., & Karakuş, S. (2023). A study on antifungal activity of thymol, eugenol, and 1, 8-cineole against Botrytis cinerea Persoon isolated from grapevine (Vitis vinifera Linné). Journal of Central European Agriculture, 24(4), 888-898.

Young, R. J., Flitsch, S. L., Grigalunas, M., Leeson, P. D., Quinn, R. J., Turner, N. J., & Waldmann, H. (2022). The time and place for nature in drug discovery. *Jacs Au*, *2*(11), 2400-2416.

Zeng, T., Jin, Z., Zheng, S., Yu, T., & Wu, R. (2024). Developing bionavi for hybrid retrosynthesis planning. *JACS Au*, *4*(7), 2492-2502.

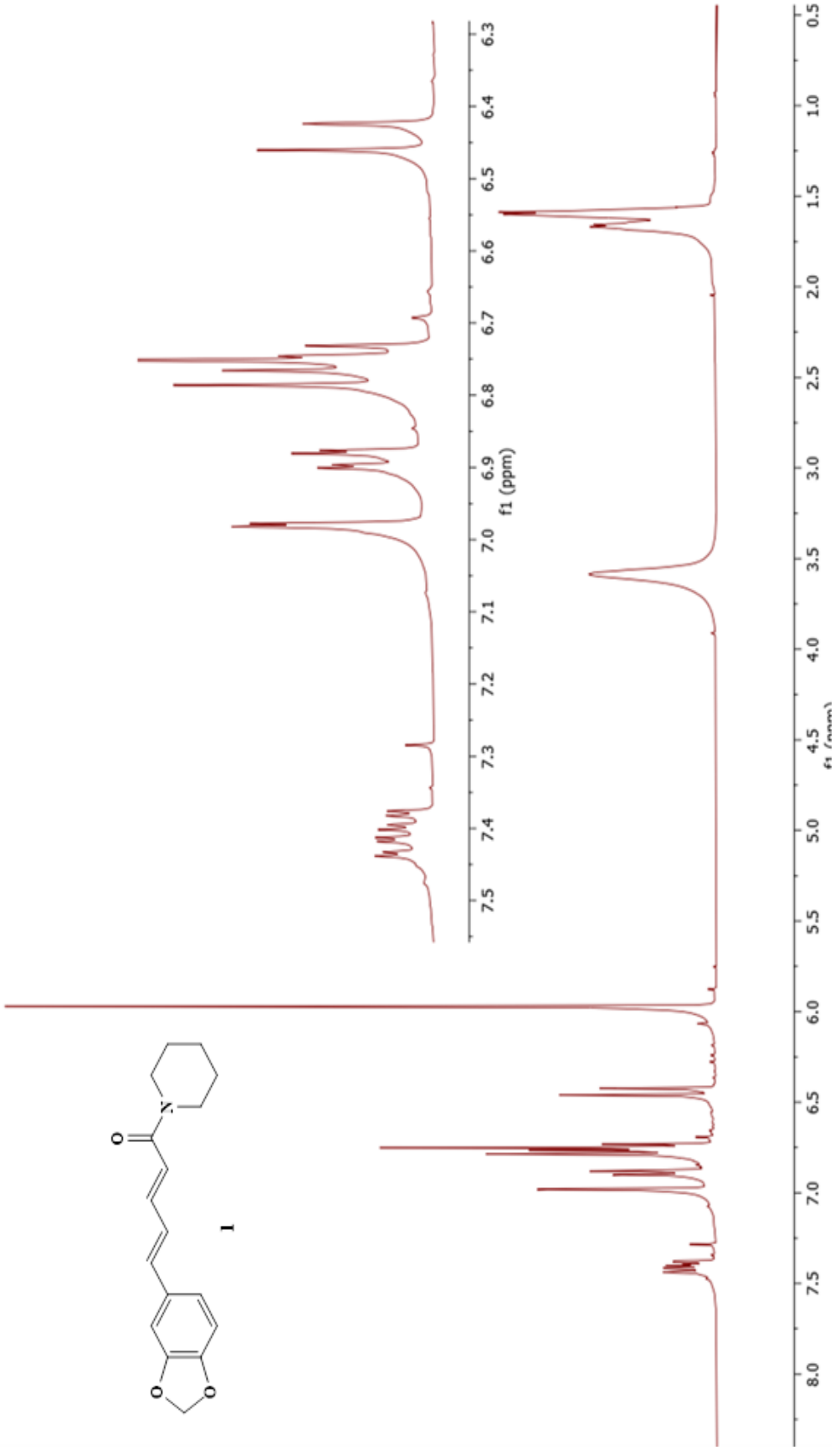
Zhang, C., Tian, Q., & Li, Y. (2022). Design, synthesis, and insecticidal activity evaluation of piperine derivatives. *Frontiers in Chemistry*, *10*, 973630.

Zhang, J. F., Hong, L. H., Fan, S. Y., Zhu, L., Yu, Z. P., Chen, C., ... & Luo, J. G. (2024). Discovery of piperine derivatives as inhibitors of human dihydroorotate dehydrogenase to induce ferroptosis in cancer cells. *Bioorganic Chemistry*, *150*, 107594.

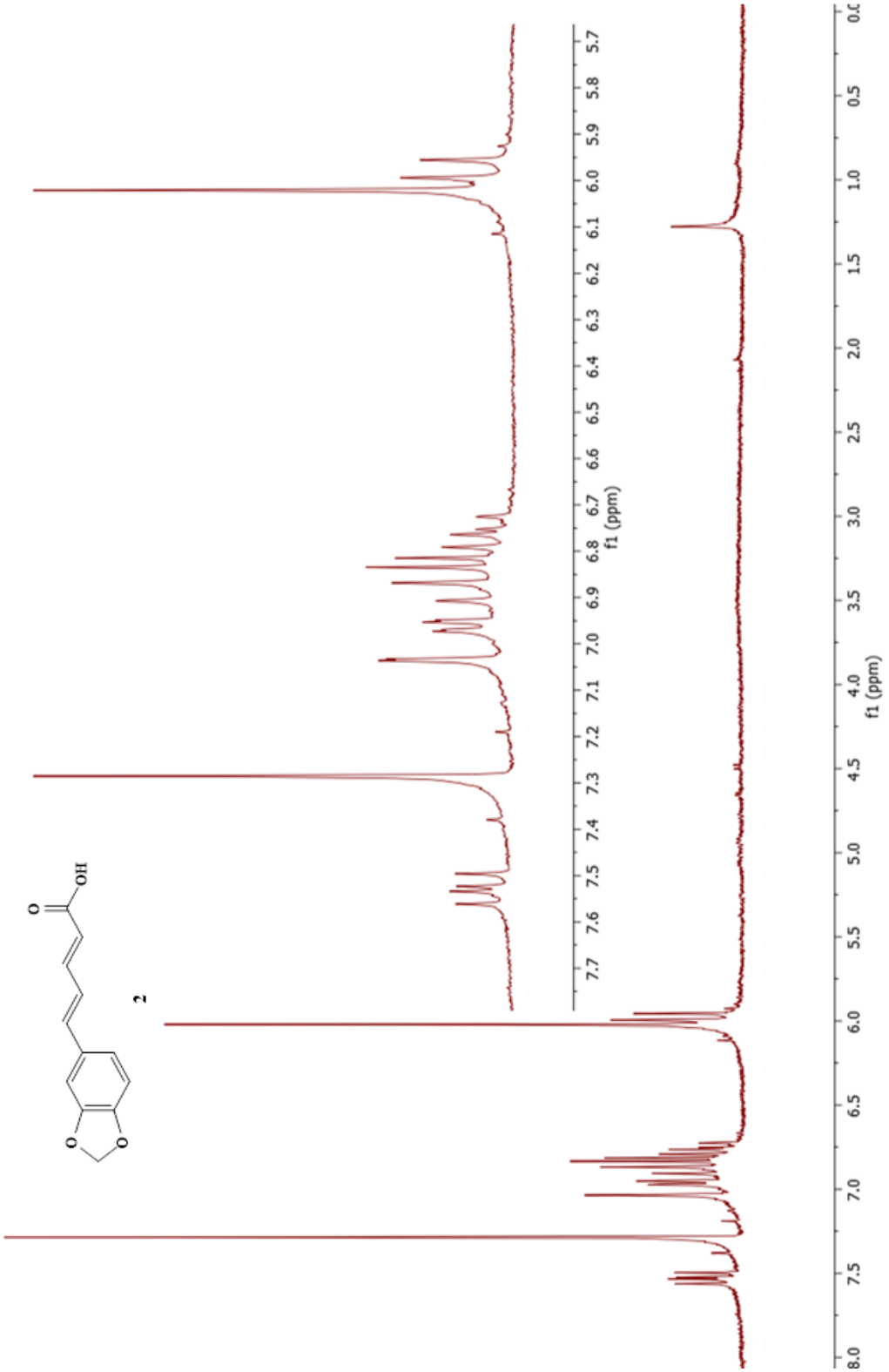
Zhu, J., Wang, M., Wen, W., & Yu, R. (2015). Biosynthesis and regulation of terpenoid indole alkaloids in Catharanthus roseus. *Pharmacognosy reviews*, *9*(17), 24.

EKLER

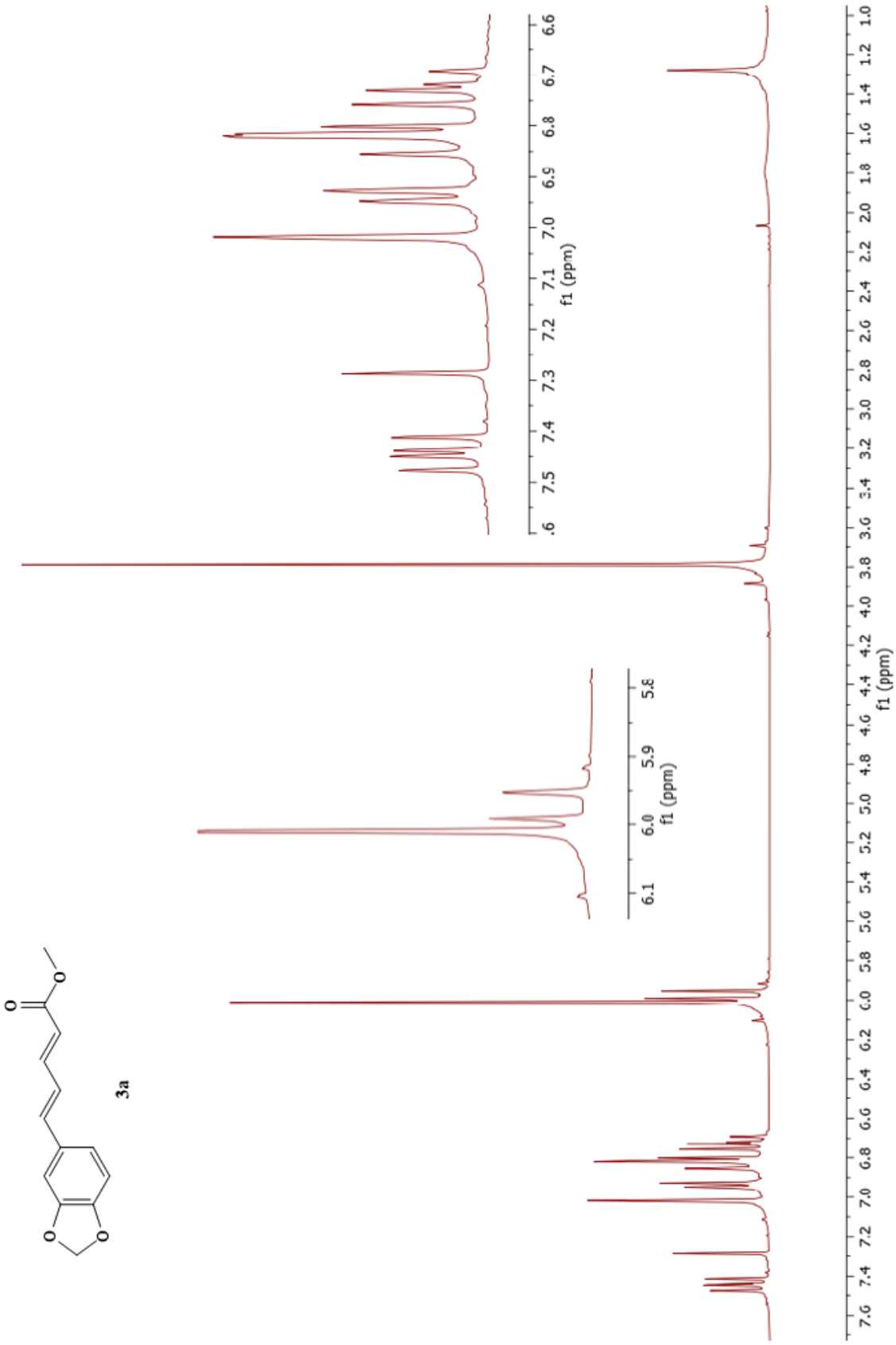
Ek-1. (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-on (1) molekülünün ^{1}H-NMR spektrumu



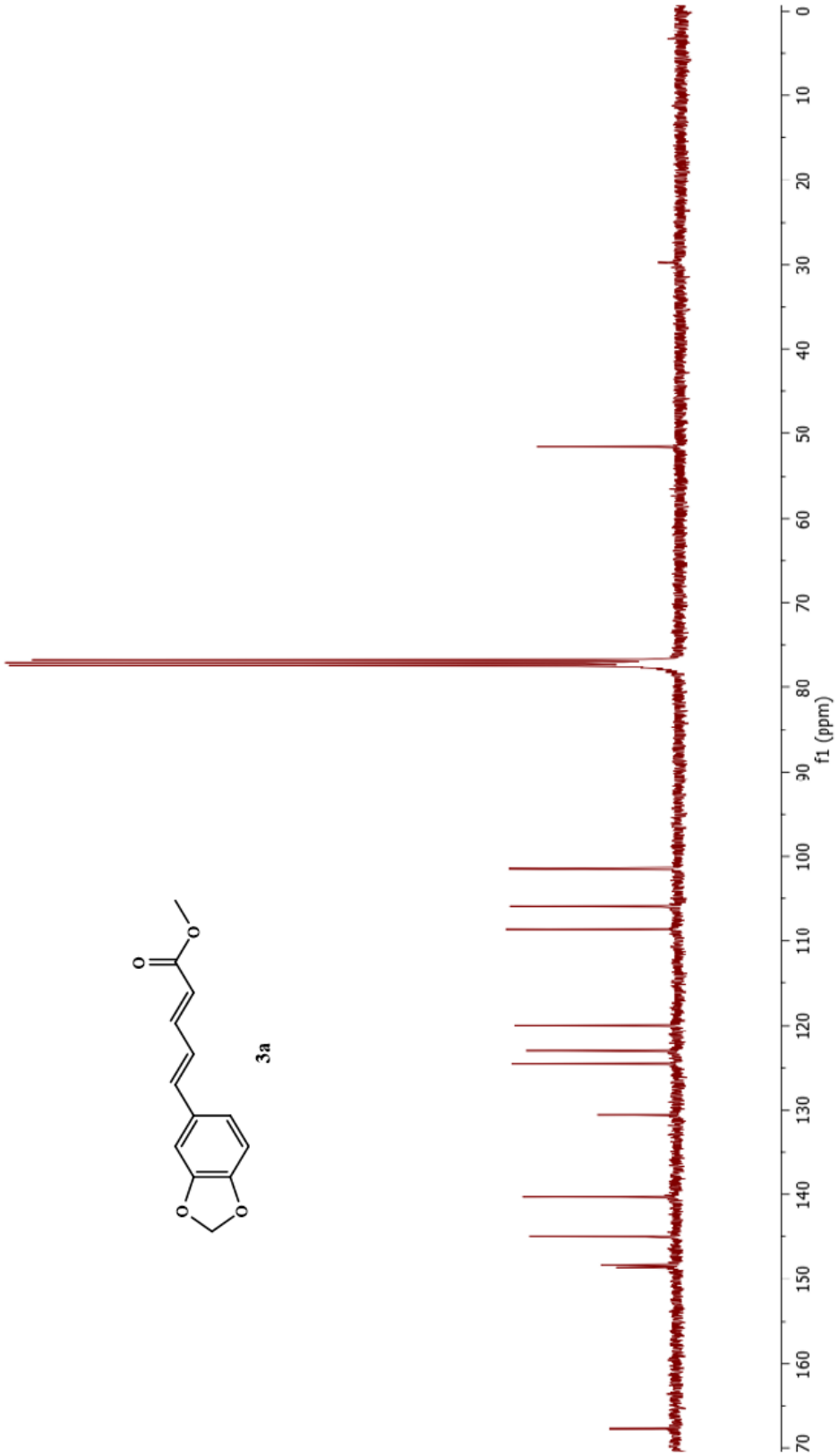
Ek-2. (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoik asit (2) molekülünün ^{1}H-NMR spektrumu



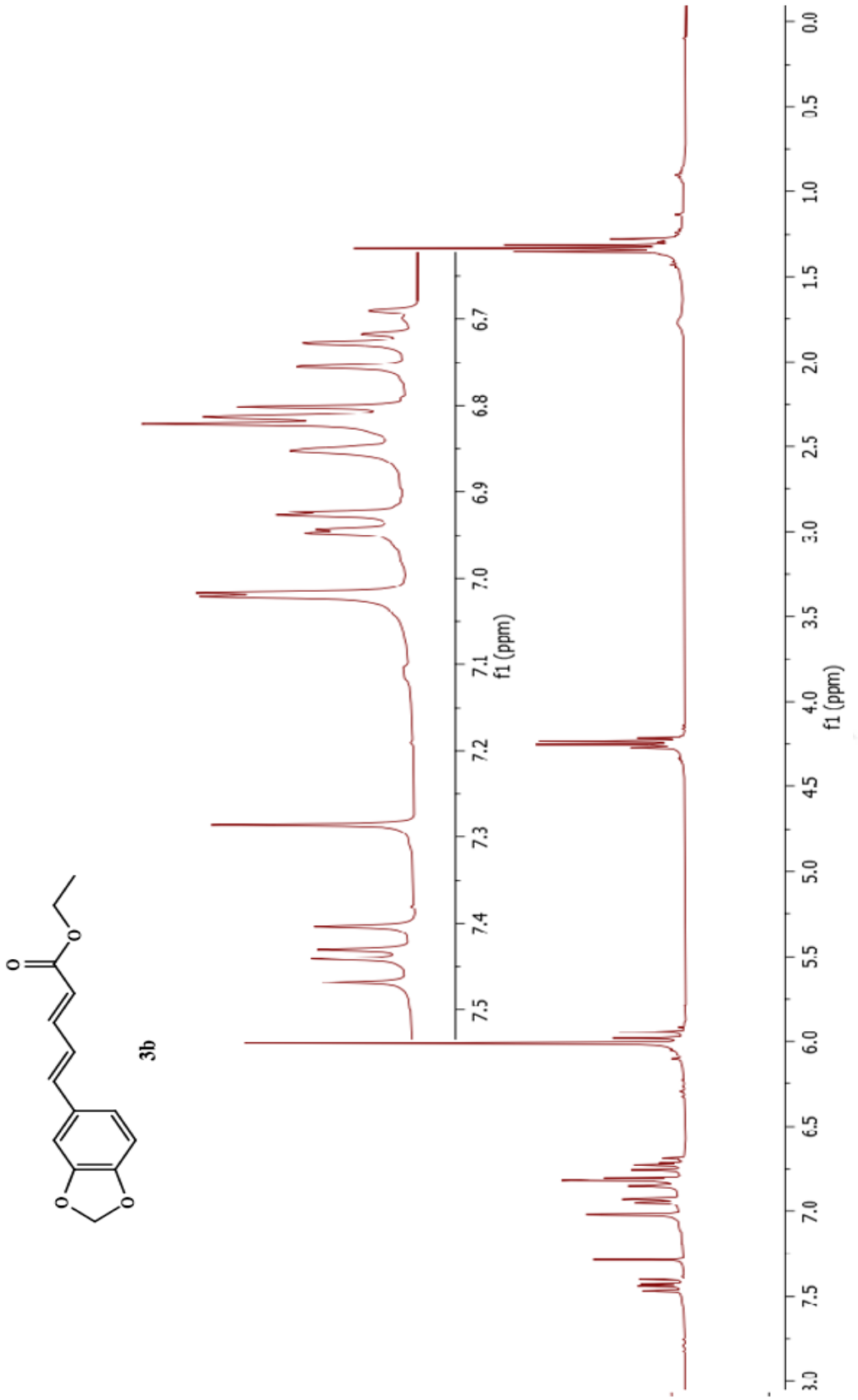
Ek-3. Metil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat (3a) molekülünün ^{1}H-NMR spektrumu



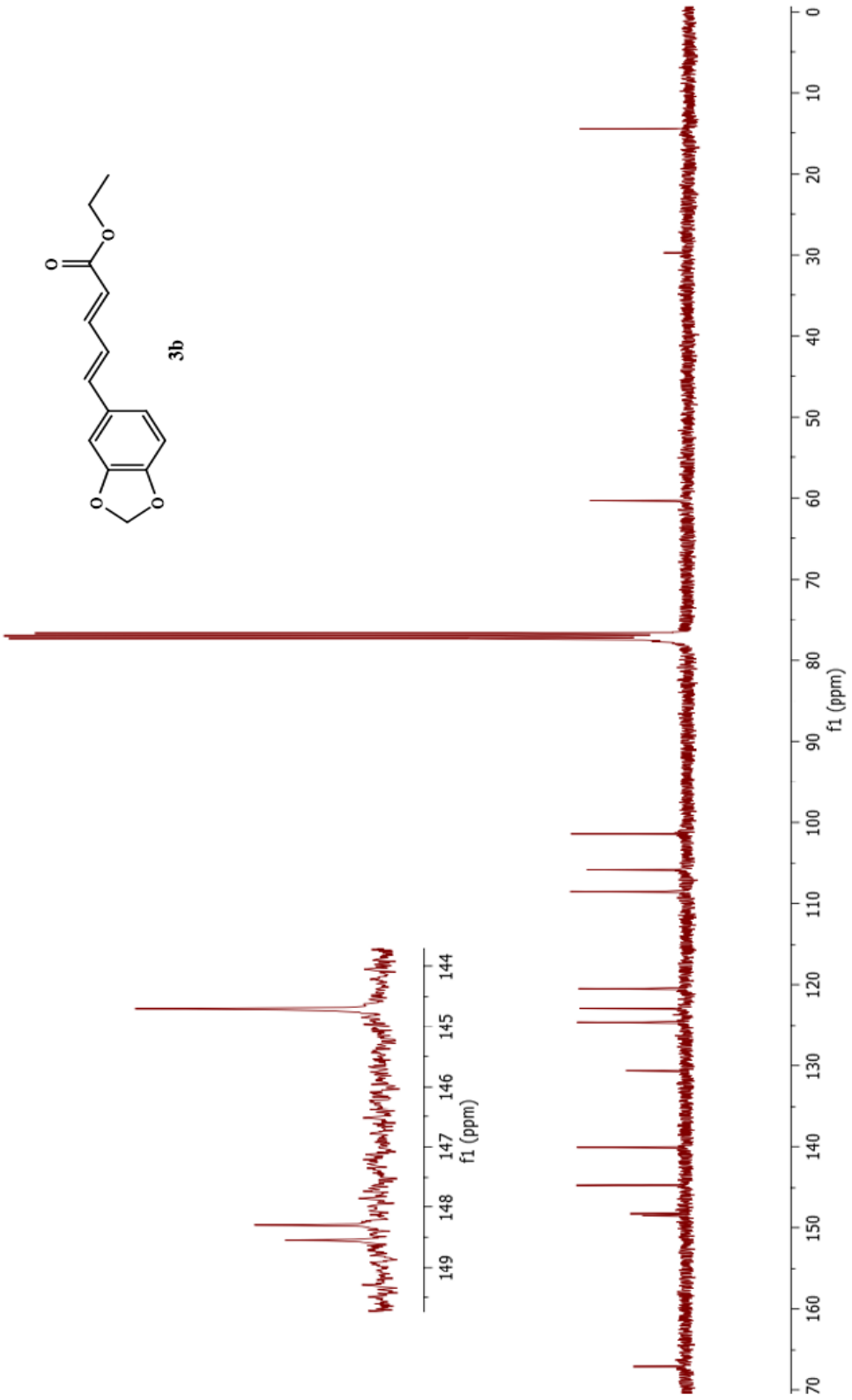
Ek-4. Metil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat (3a) molekülünün ^{13}C - NMR spektrumu



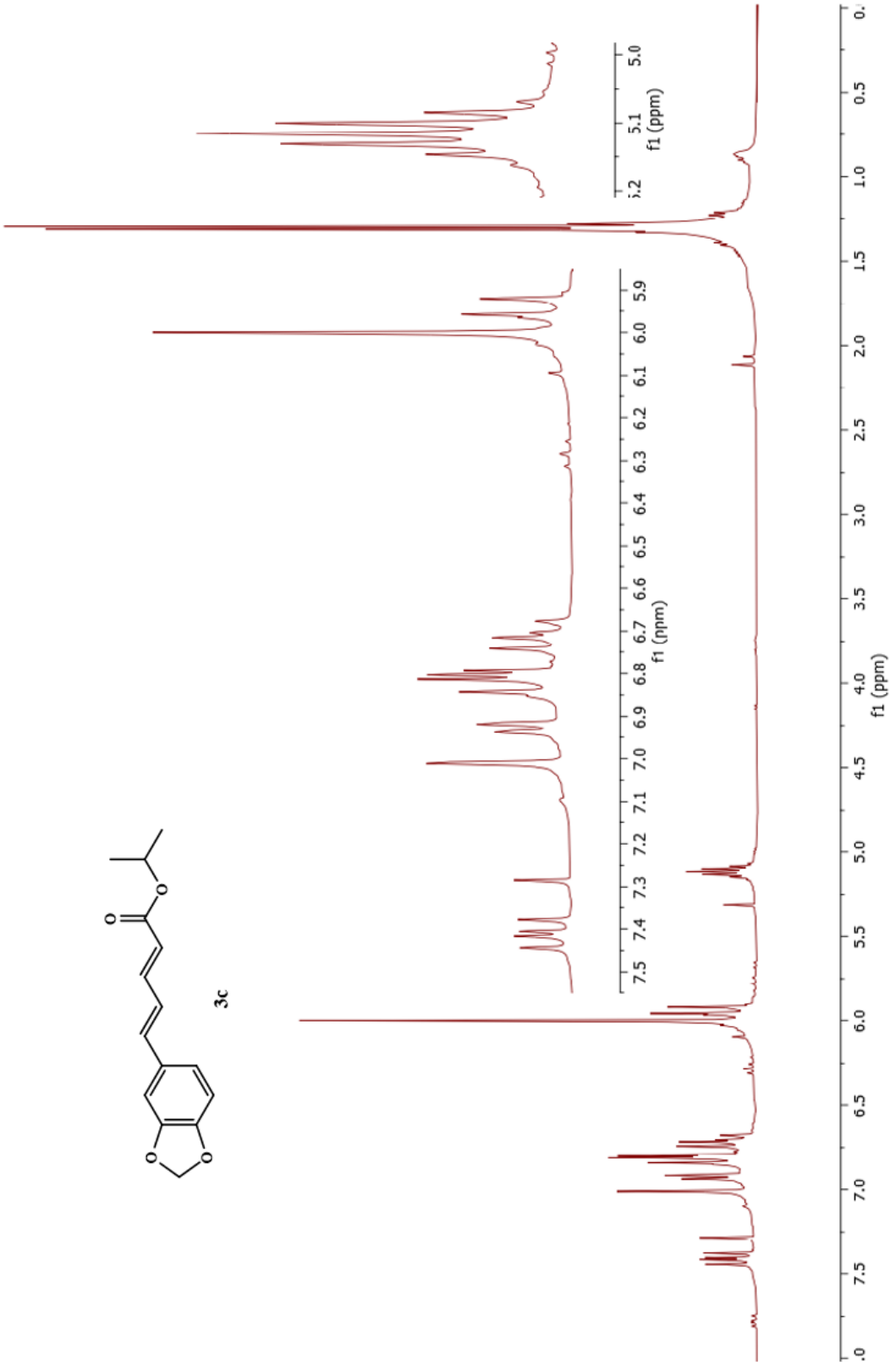
Ek-5. Etil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat (3b)molekülünün ^{1}H-NMR spektrumu



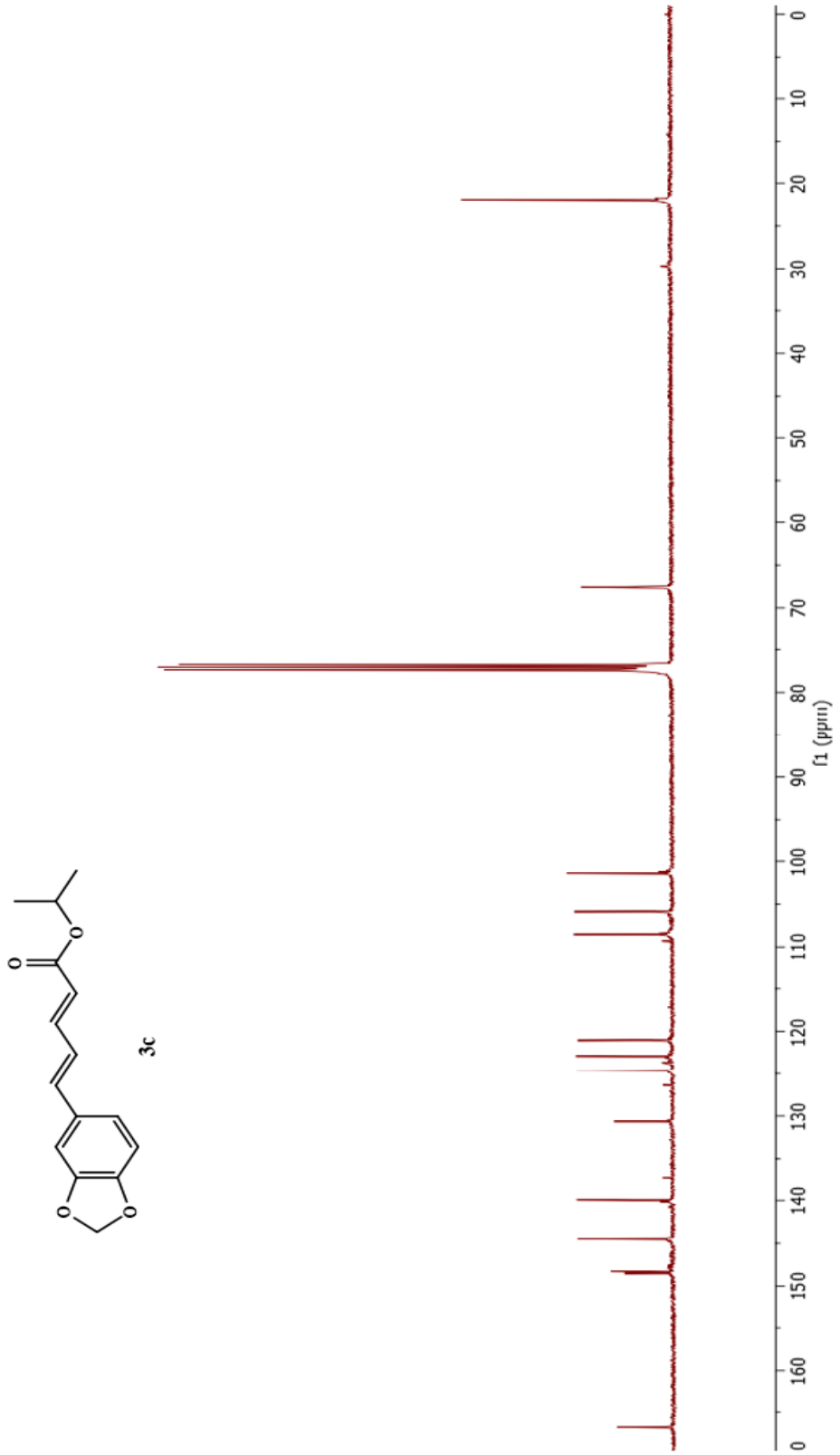
Ek-6. Etil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat (3b) molekülünün ^{13}C - NMR spektrumu



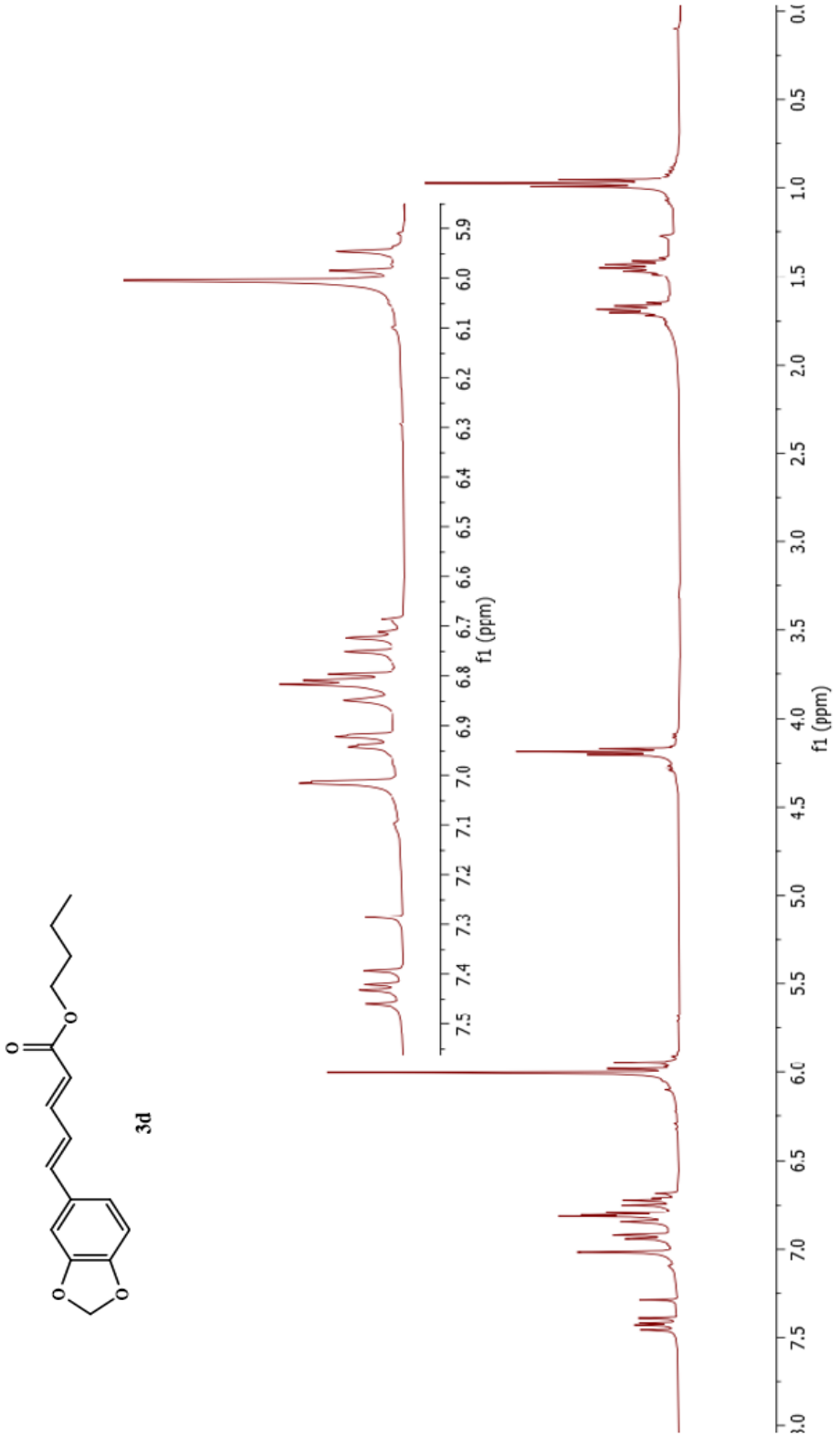
Ek-7. İzopropil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat (3c) molekülünün ^{1}H-NMR spektrumu



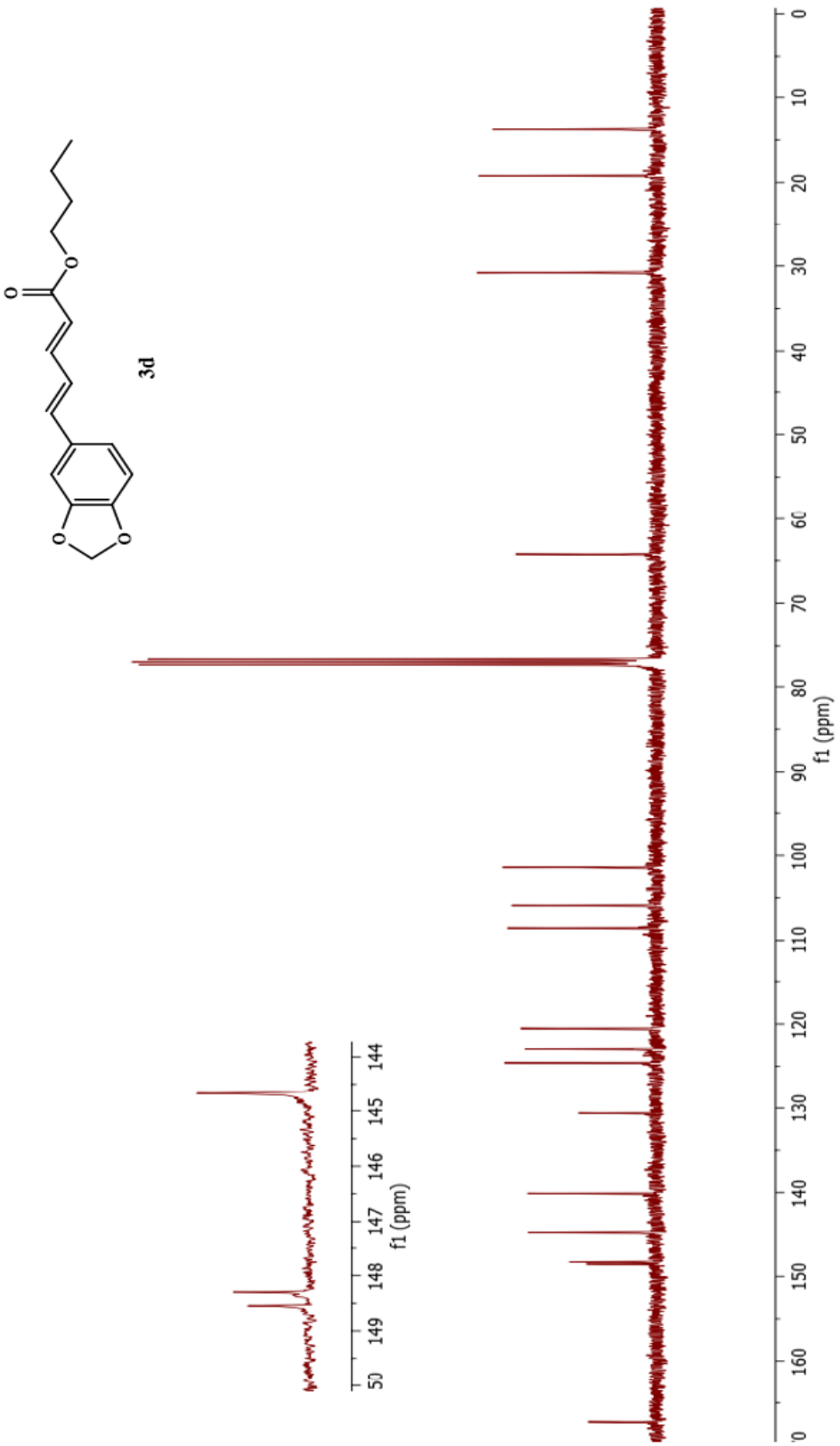
Ek-8. İzopropil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat (3c) molekülünün ^{13}C-NMR spektrumu



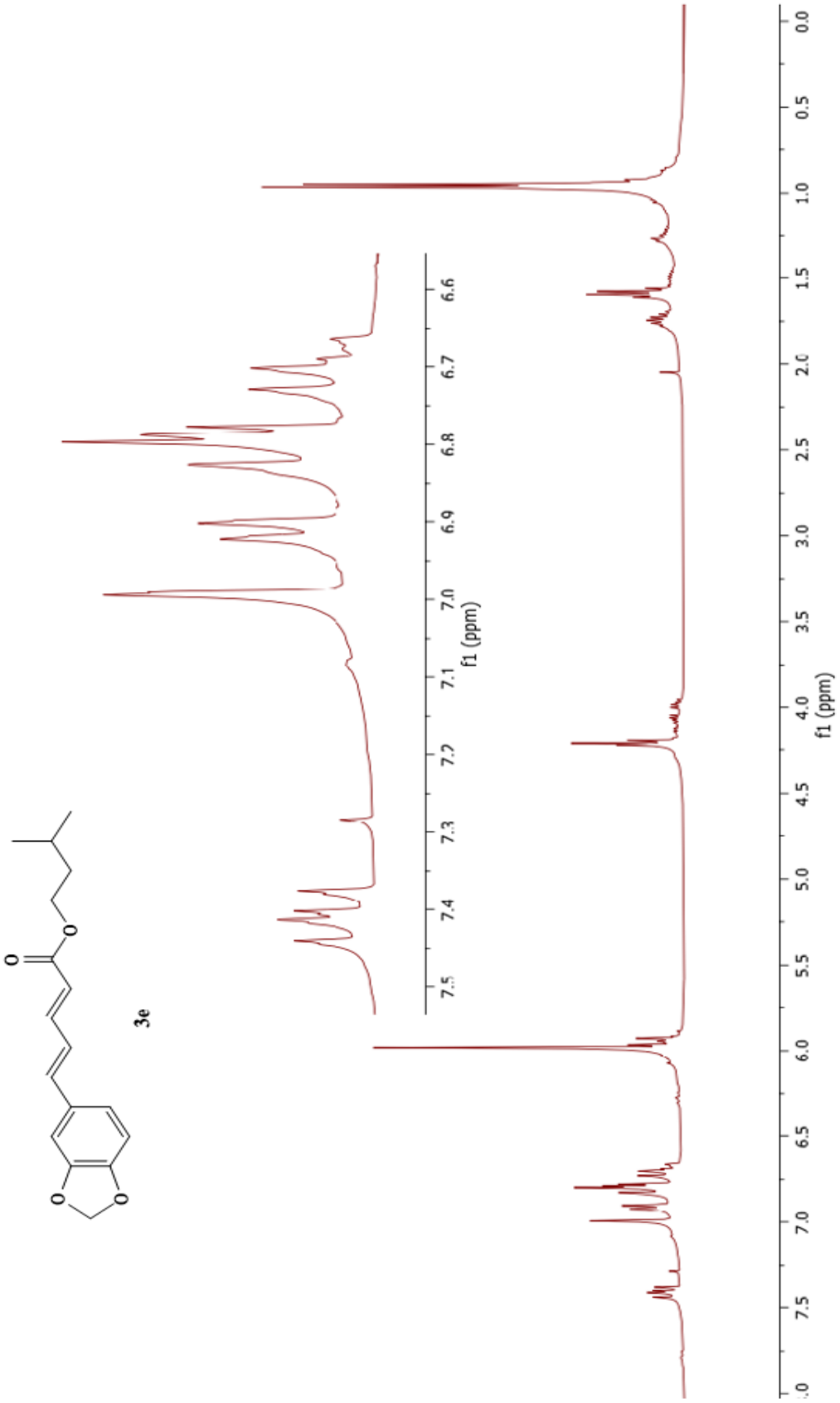
Ek-9. Bütil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat (3d) molekülünün ^{1}H-NMR spektrumu



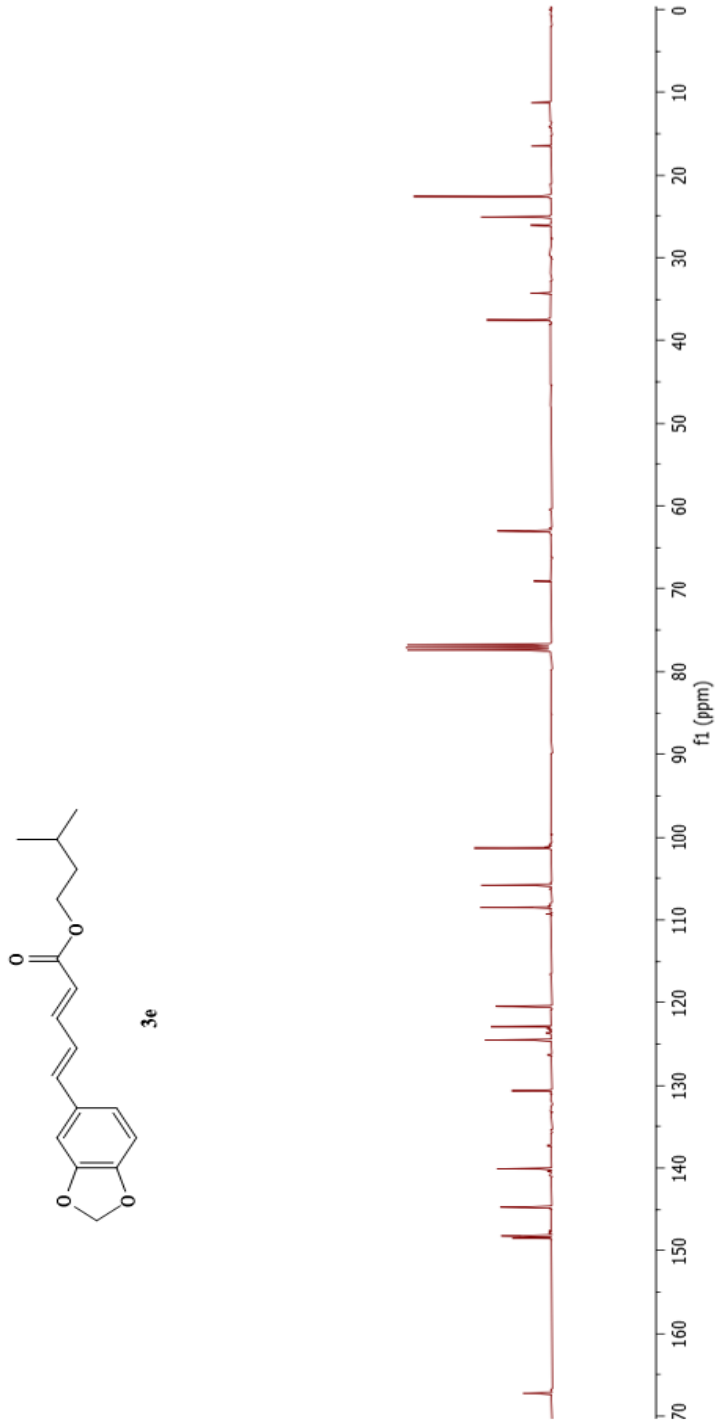
Ek-10. Bütil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat (3d) molekülünün ^{13}C-NMR spektrumu



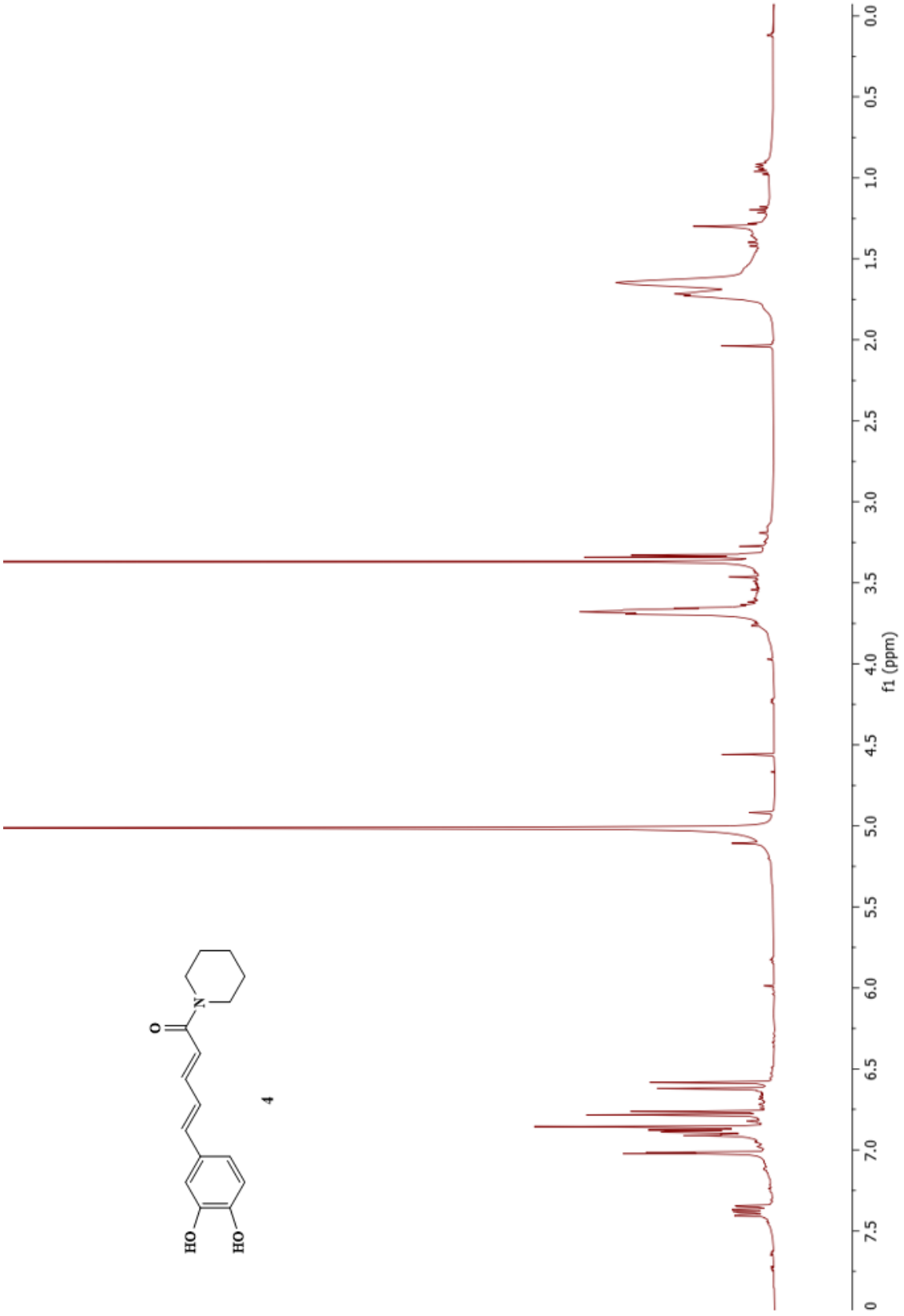
Ek-11. İzopentil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat (3e) molekülünün ^{1}H-NMR spektrumu



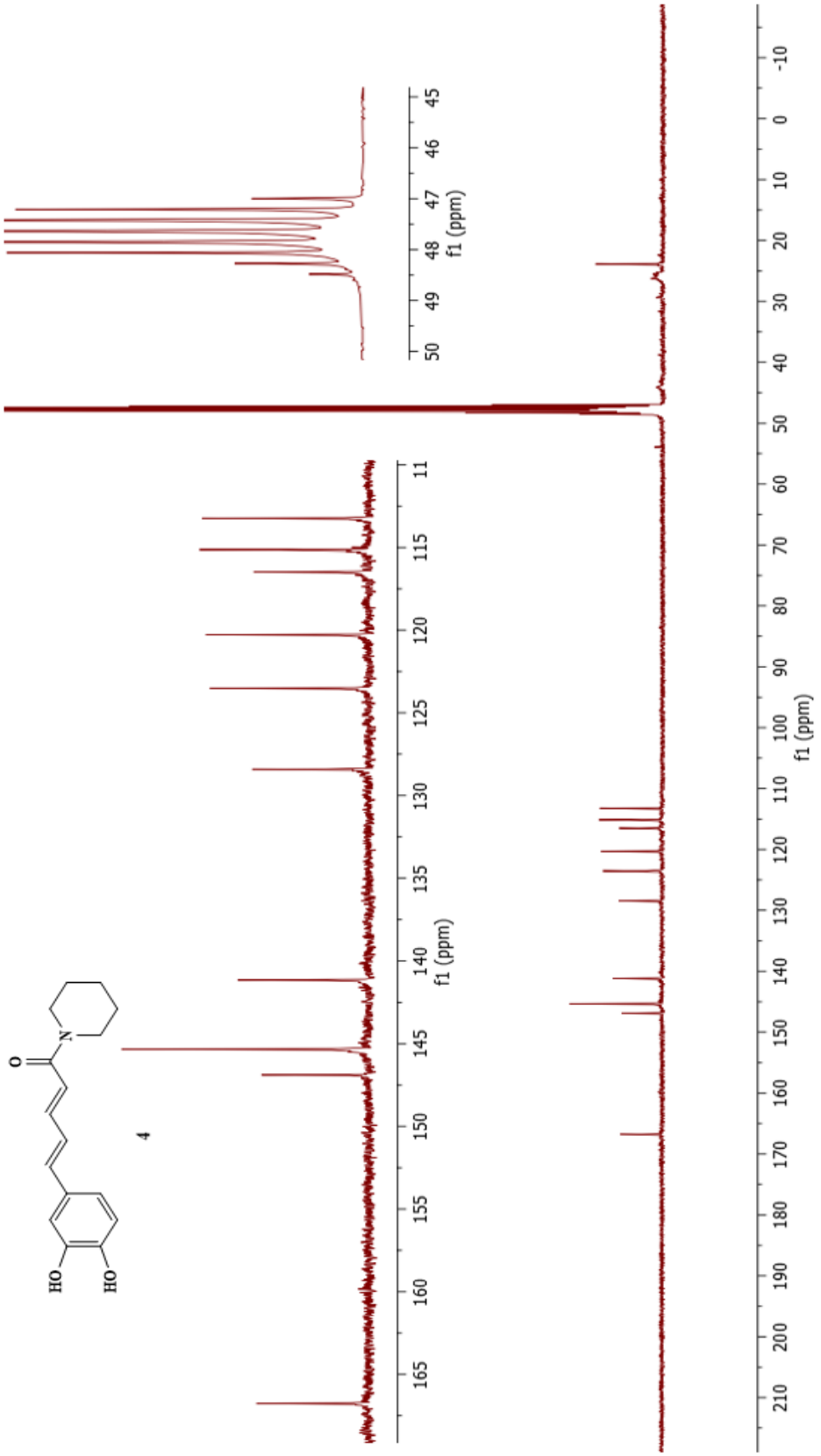
Ek-12. İzopentil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat (3e) molekülünün ^{13}C-NMR spektrumu



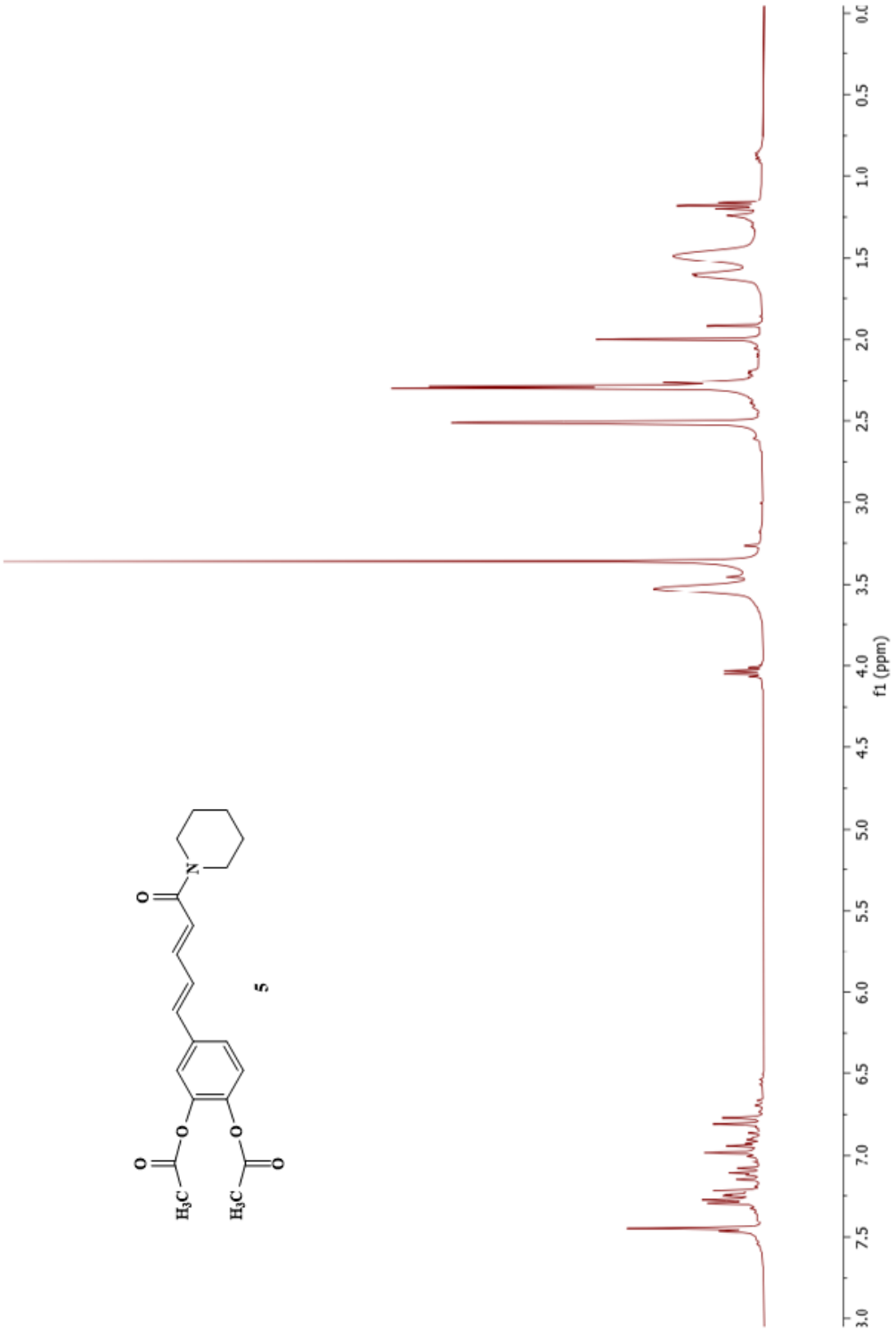
Ek-13. (2E,4E)-5-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-on (4) molekülünün ^{1}H-NMR spektrumu



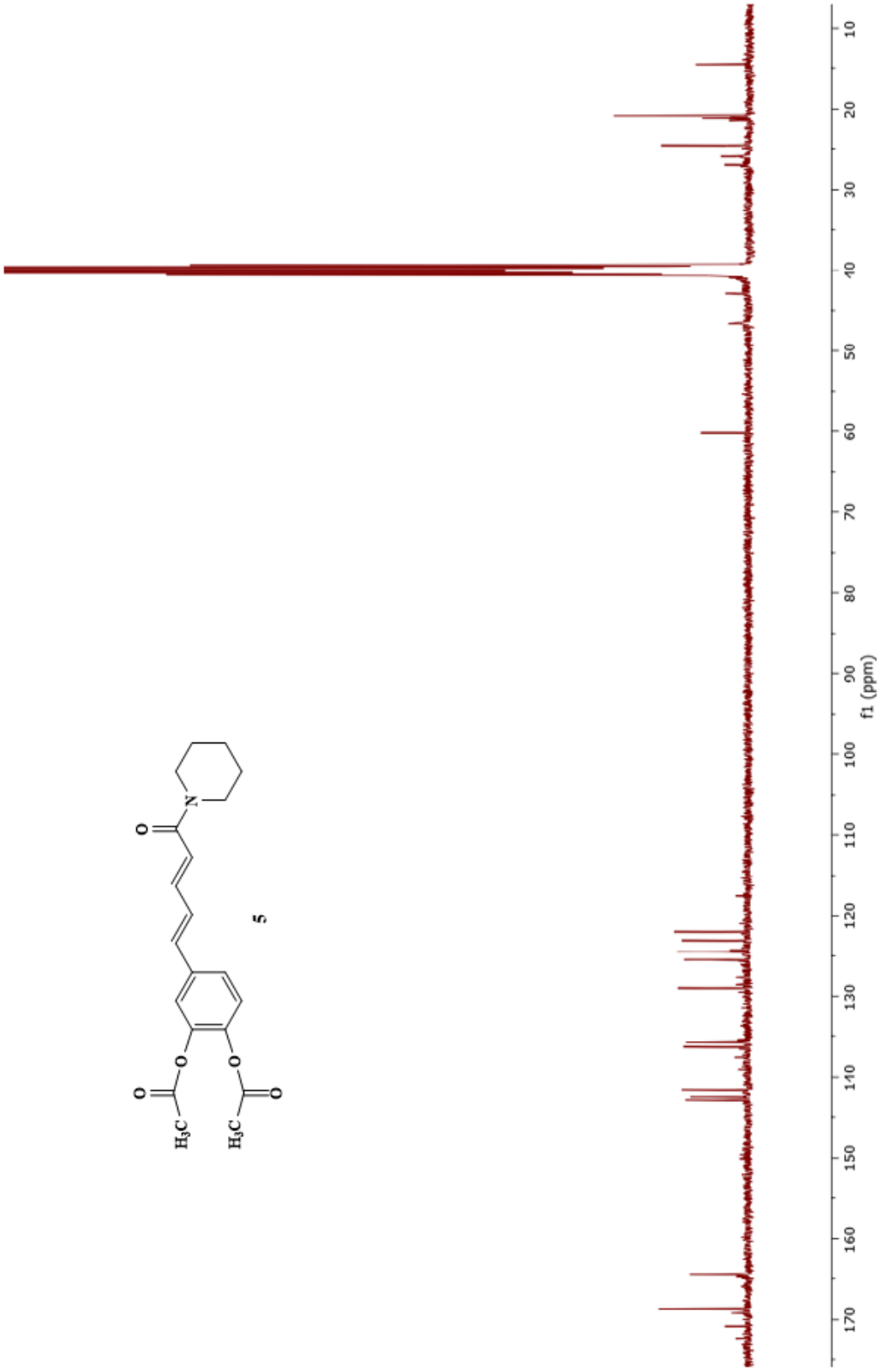
Ek-14. (2E,4E)-5-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-on (4) molekülünün ^{13}C-NMR spektrumu



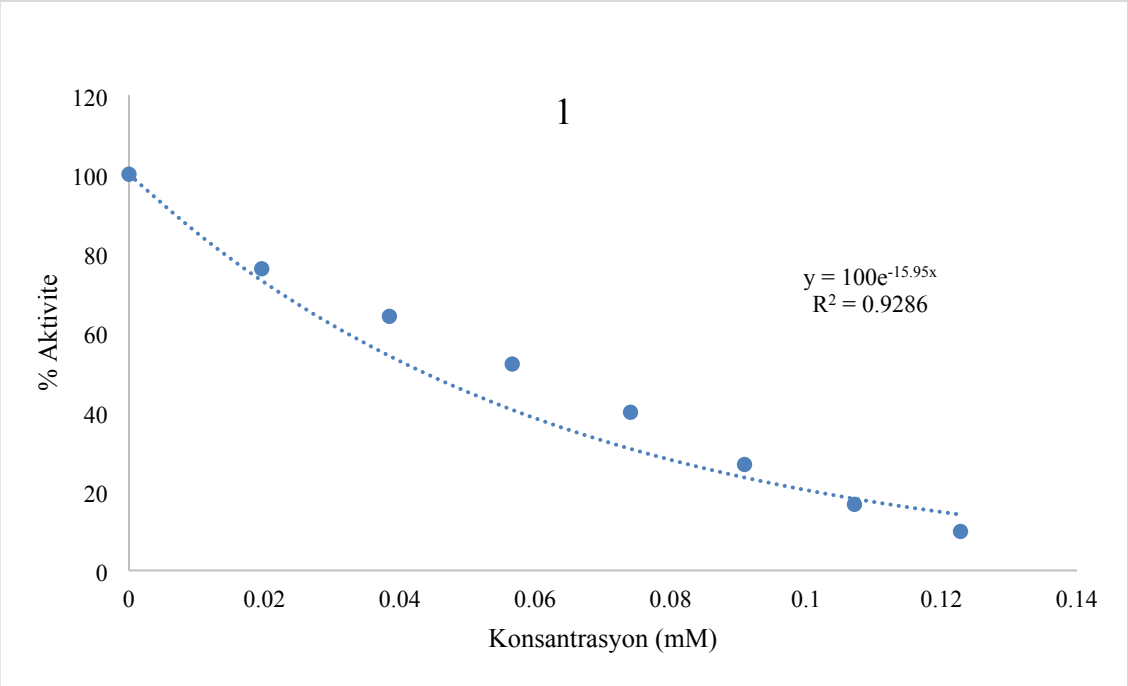
Ek-15. 4-((1E,3E)-5-okso-5-(piperidin-1-il)penta-1,3-dien-1-il)-1,2-fenilen diasetat (5) molekülünün ^{1}H-NMR spektrumu



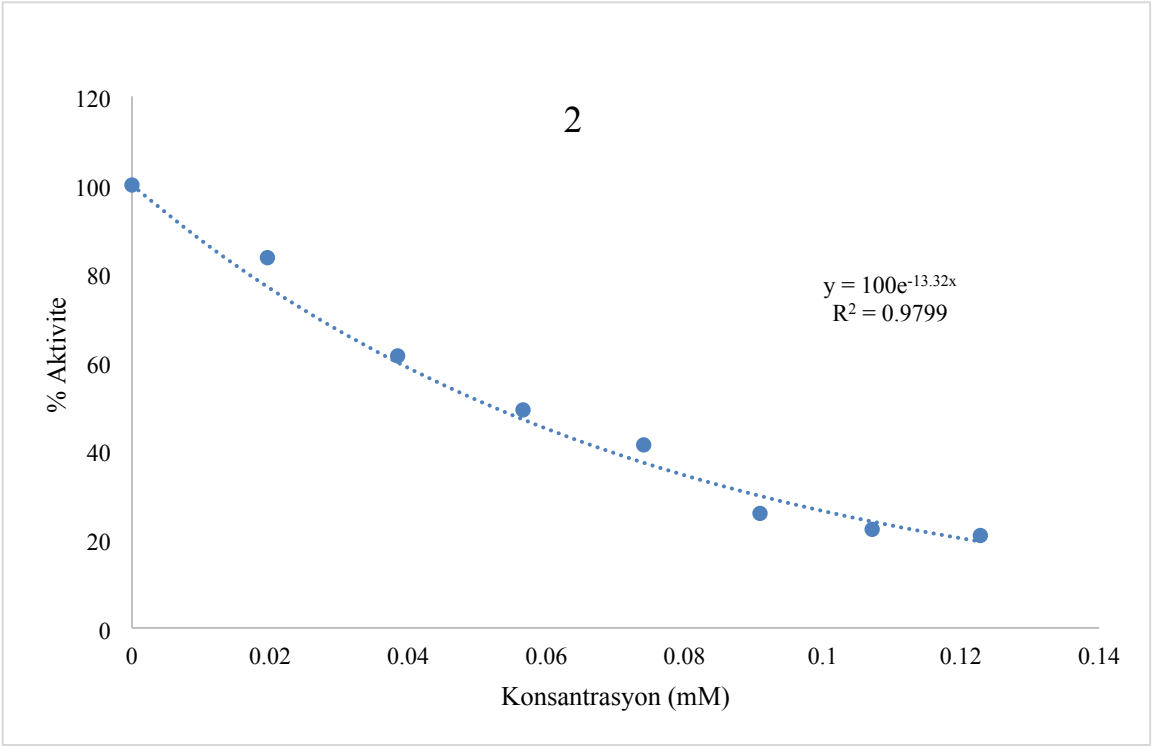
Ek-16. 4-((1E,3E)-5-okso-5-(piperidin-1-il)penta-1,3-dien-1-il)-1,2-fenilen diasetat (5) molekülünün ^{13}C-NMR spektrumu



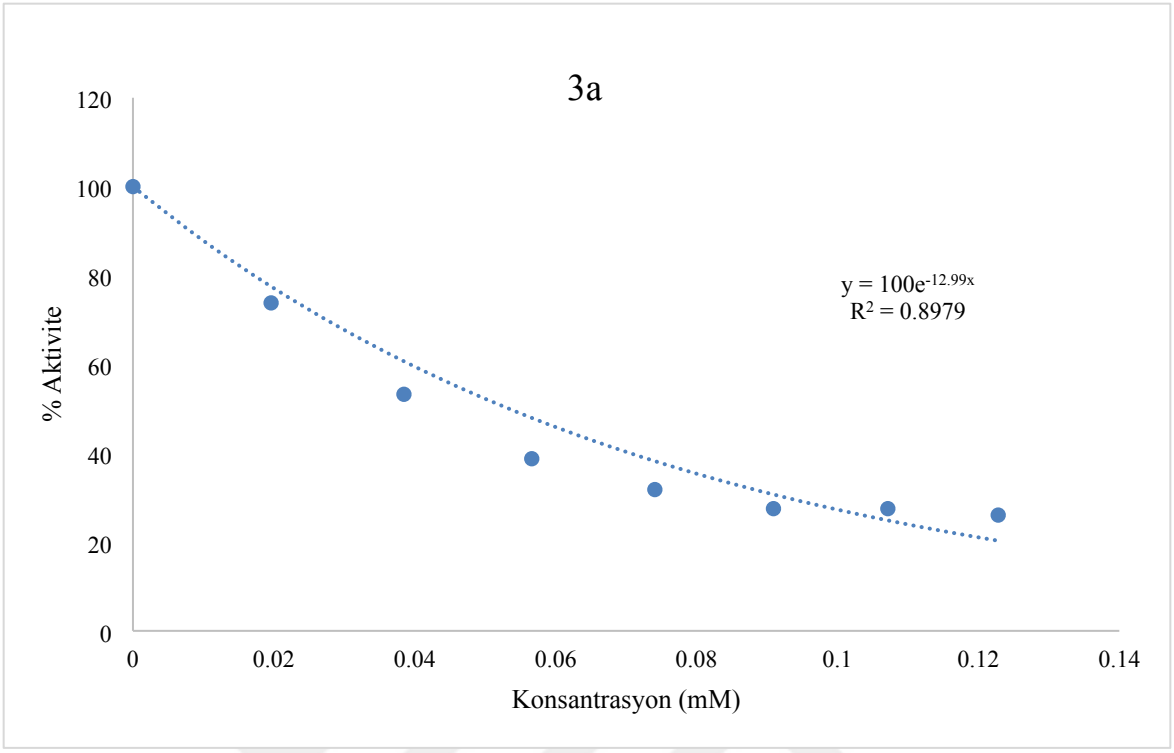
Ek-17. (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-on molekülüne ait AChE %aktivite-konsantrasyon grafiği



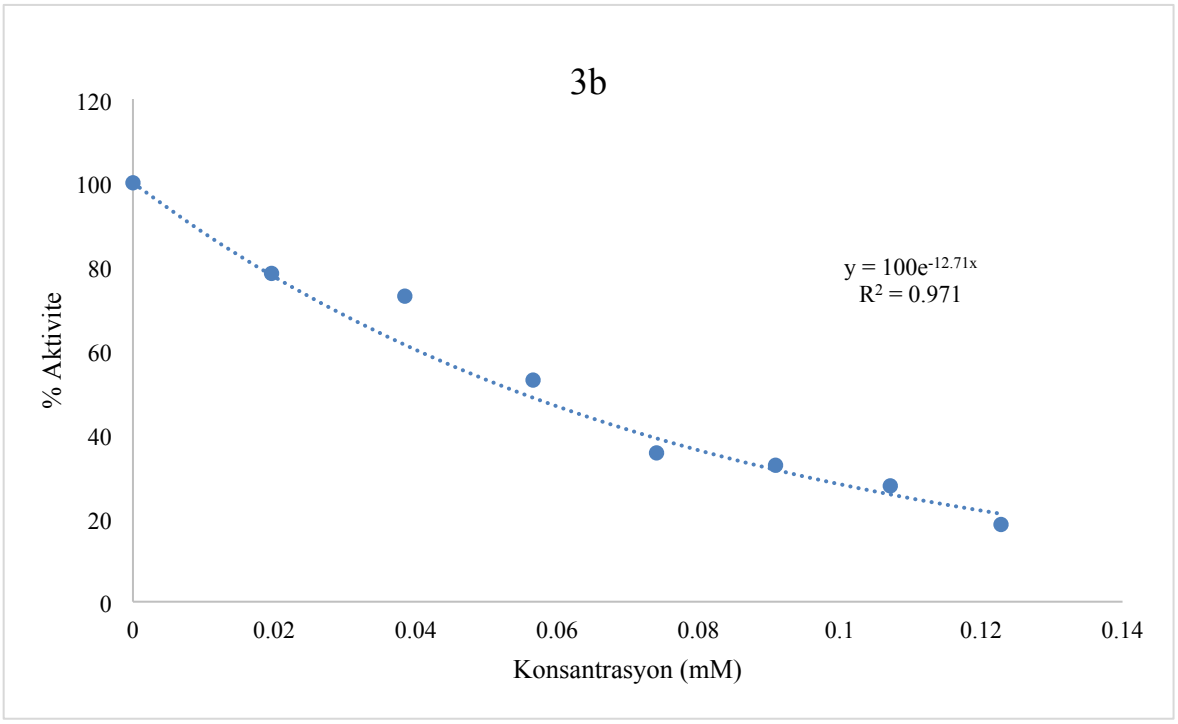
Ek-18. (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoik asit molekülüne ait AChE %aktivite-konsantrasyon grafiği



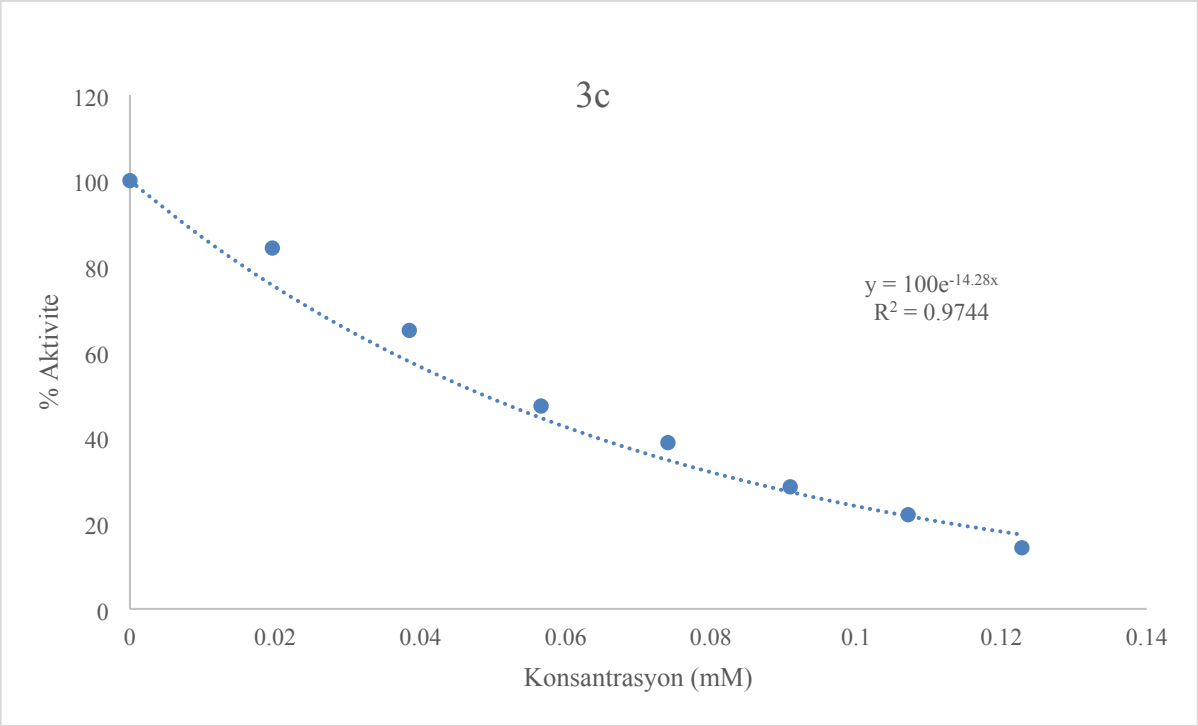
Ek-19. Metil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat molekülüne ait AChE %aktivite-konsantrasyon grafiği



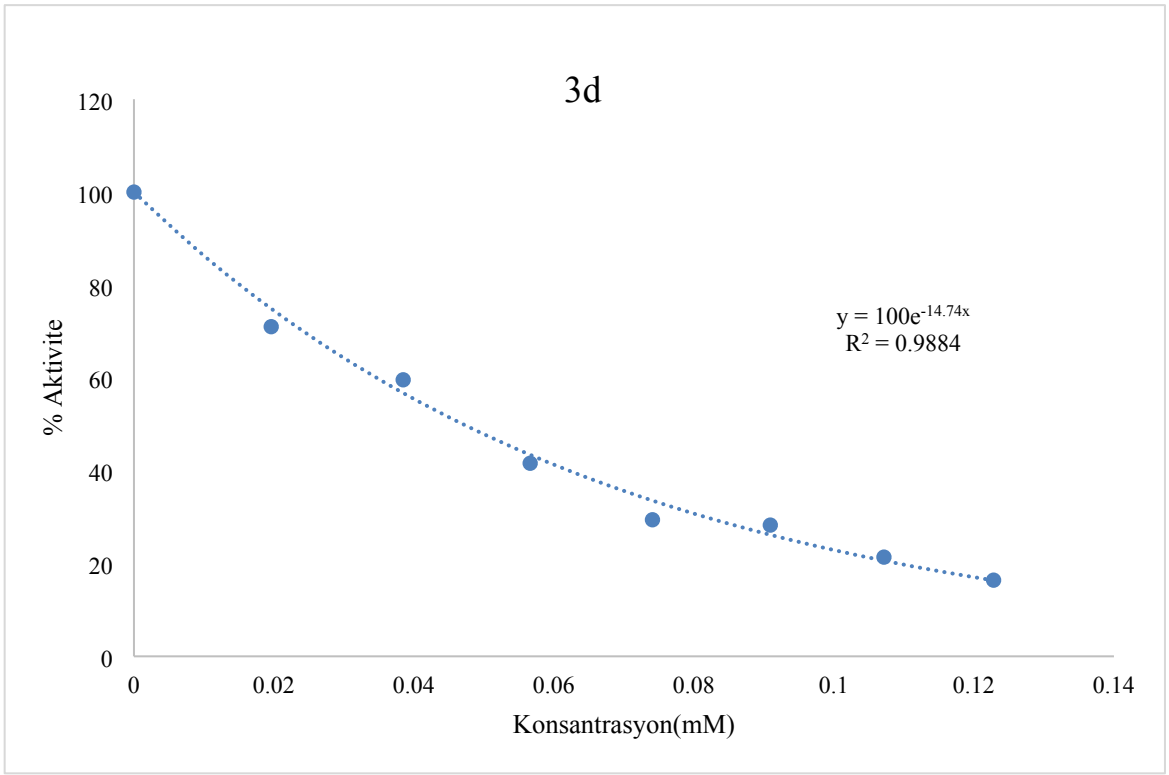
Ek-20. Etil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat molekülüne ait AChE %aktivite-konsantrasyon grafiği



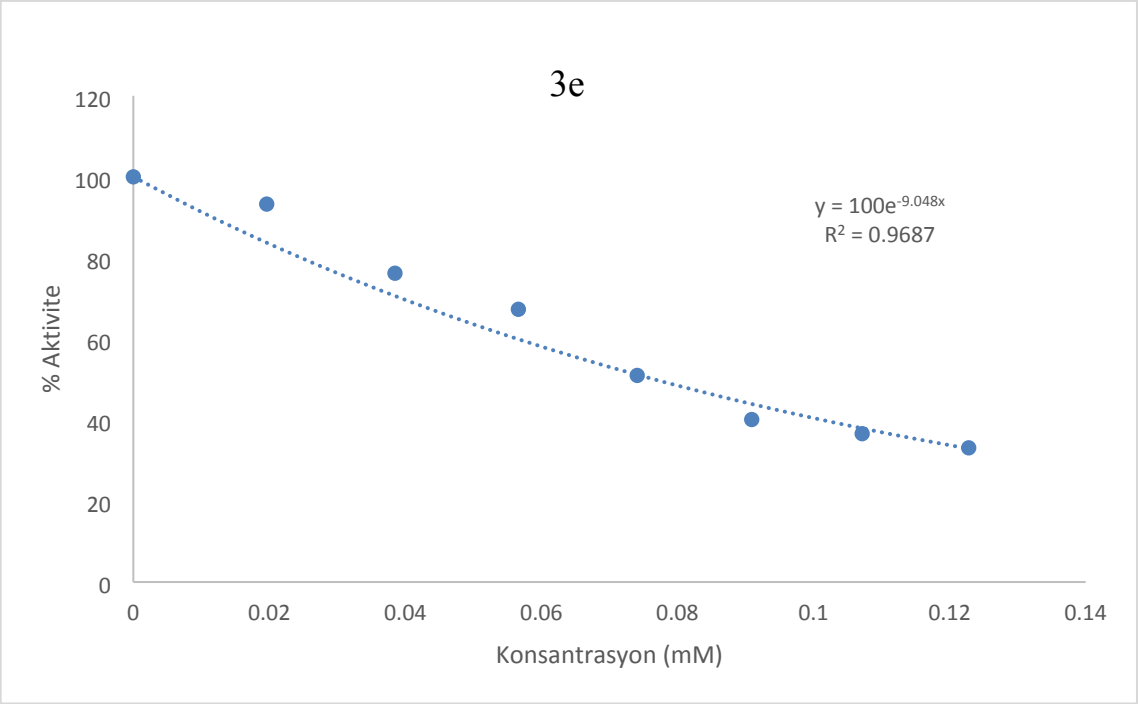
Ek-21. İzopropil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat molekülüne ait AChE %aktivite-konsantrasyon grafiği



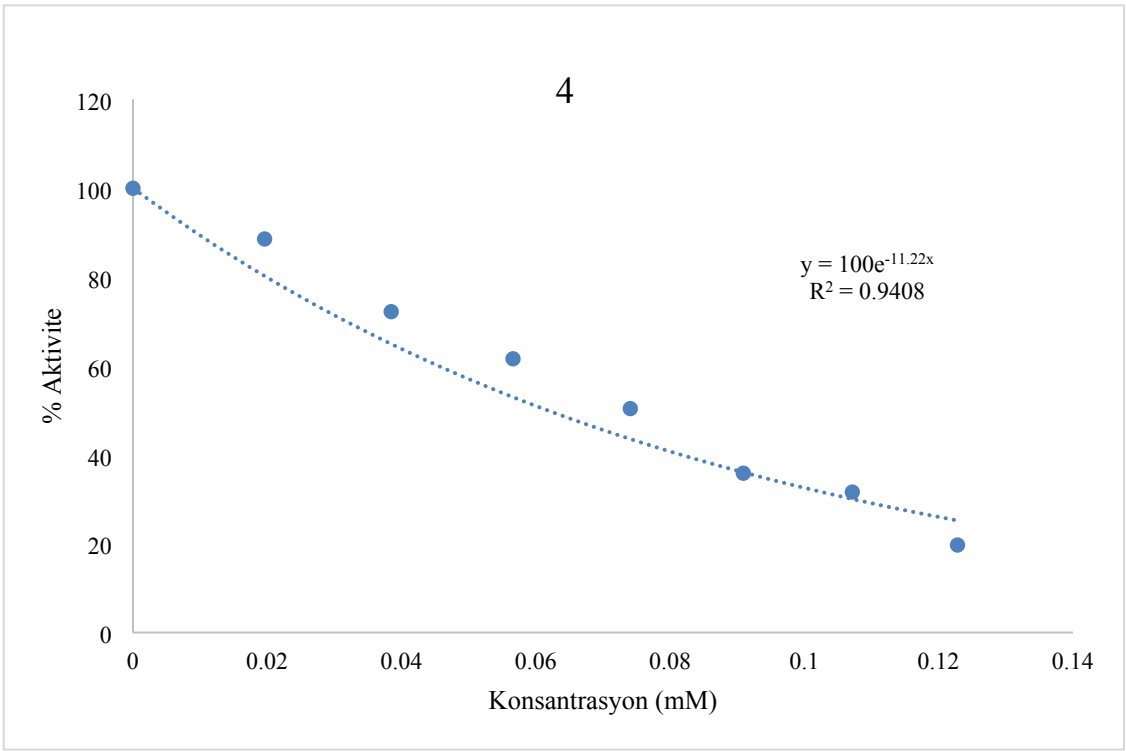
Ek-22. Bütil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat molekülüne ait AChE %aktivite-konsantrasyon grafiği



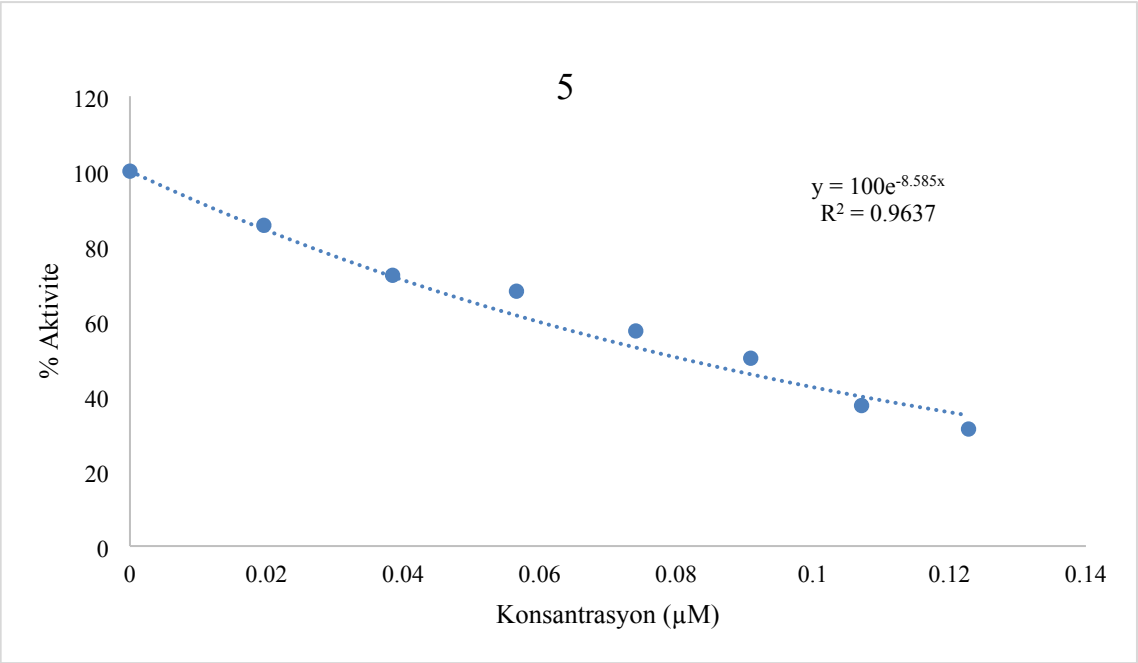
Ek-23. İzopentil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat molekülüne ait AChE %aktivite-konsantrasyon grafiği



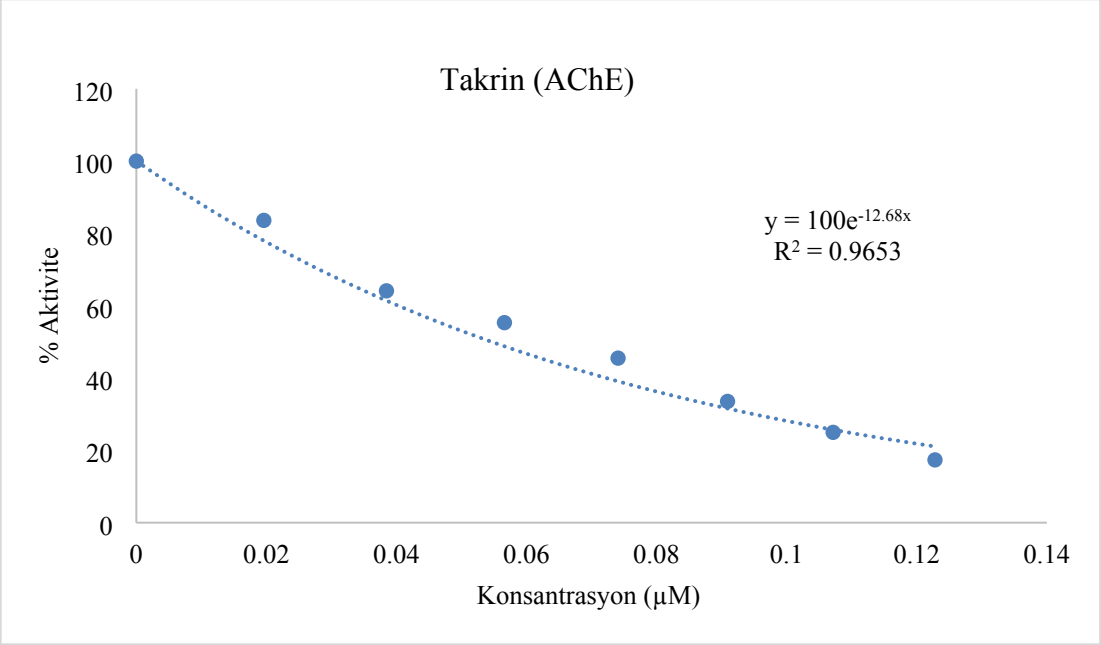
Ek-24. (2E,4E)-5-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-on molekülüne ait AChE %aktivite-konsantrasyon grafiği



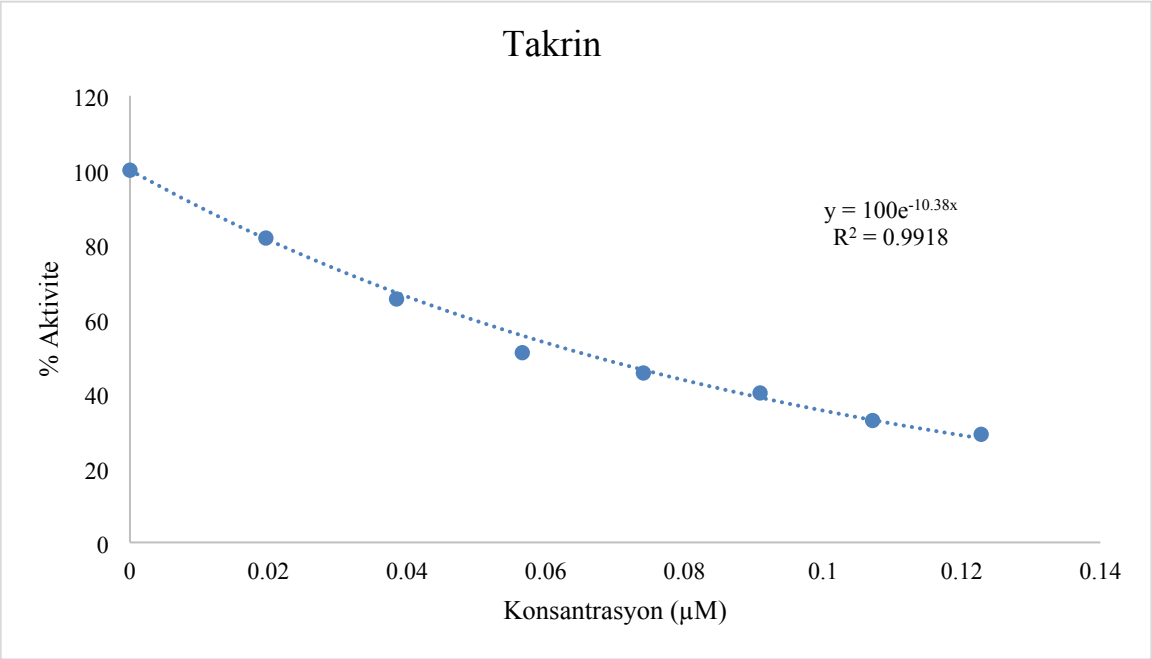
Ek-25. 4-((1E,3E)-5-okso-5-(piperidin-1-il)penta-1,3-dien-1-il)-1,2-fenilen diasetat molekülüne ait AChE %aktivite-konsantrasyon grafiği



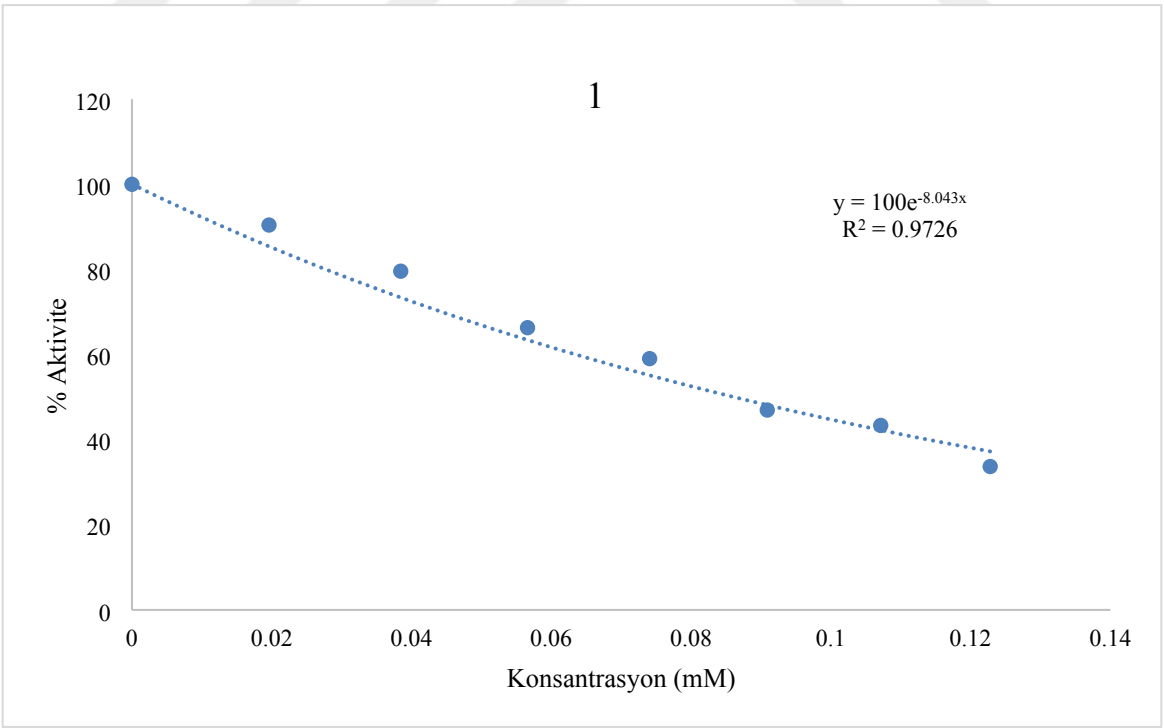
Ek-26. Takrin molekülüne ait AChE %aktivite-konsantrasyon grafiği



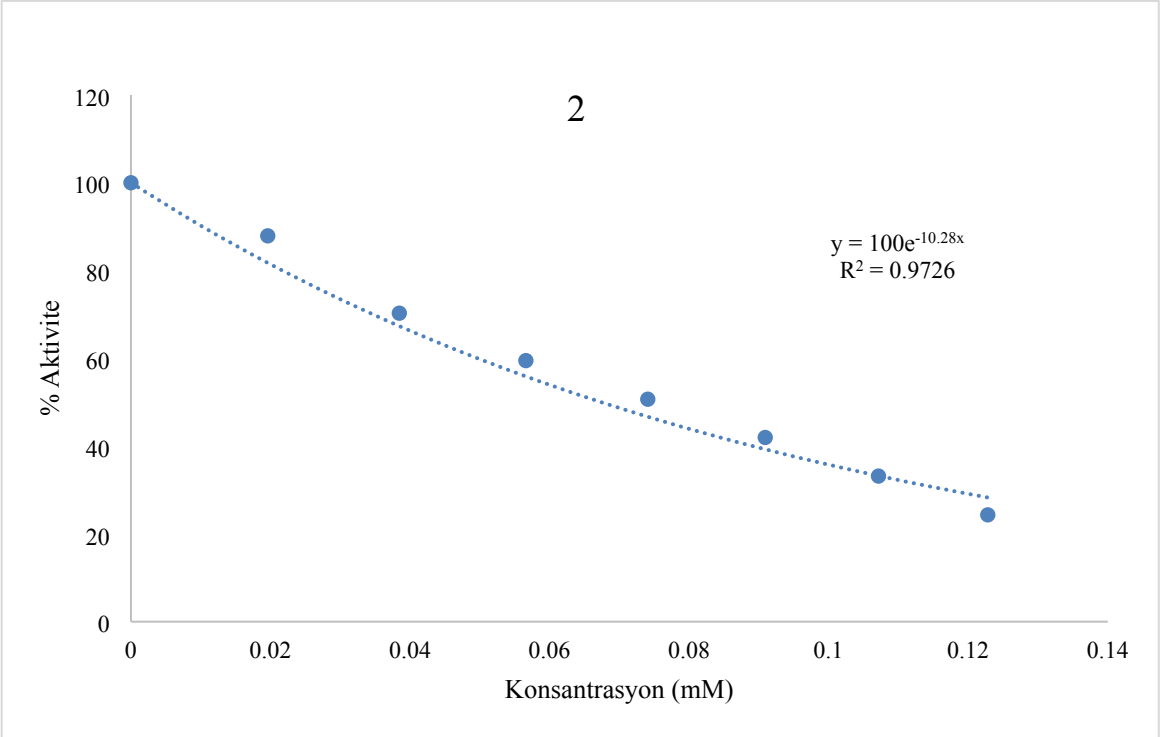
Ek-27. Takrin molekülüne ait BChE %aktivite-konsantrasyon grafiği



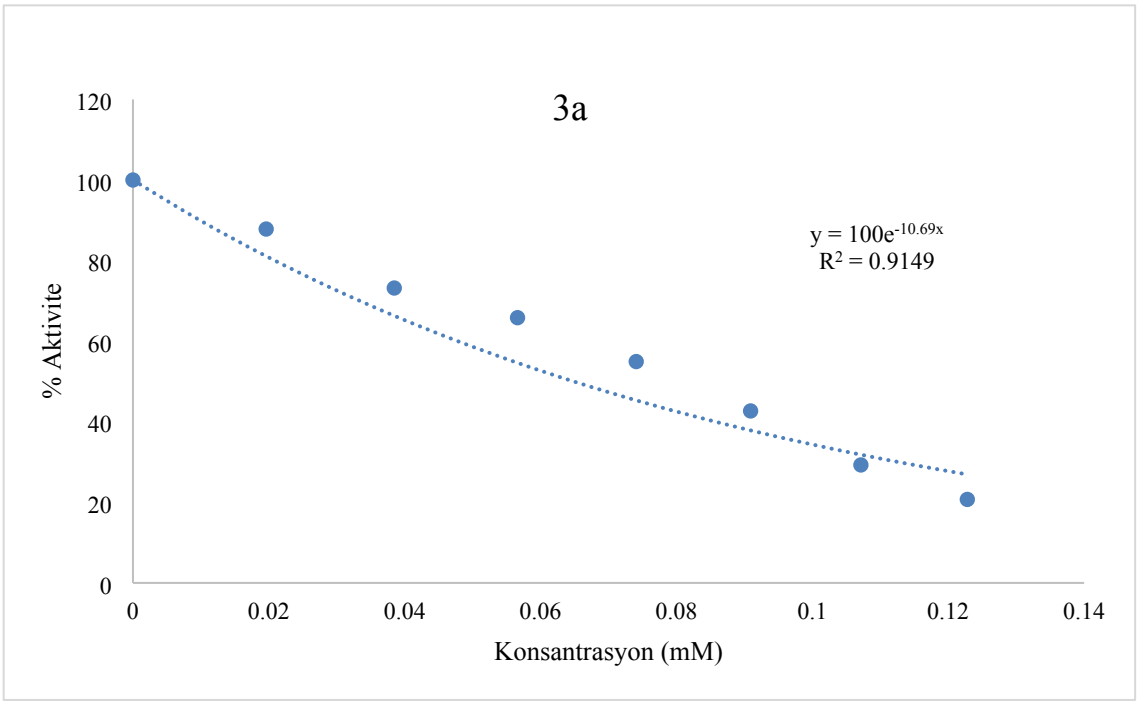
Ek-28. (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-on molekülüne ait α-glikozidaz enzimi için %aktivite-konsantrasyon grafiği



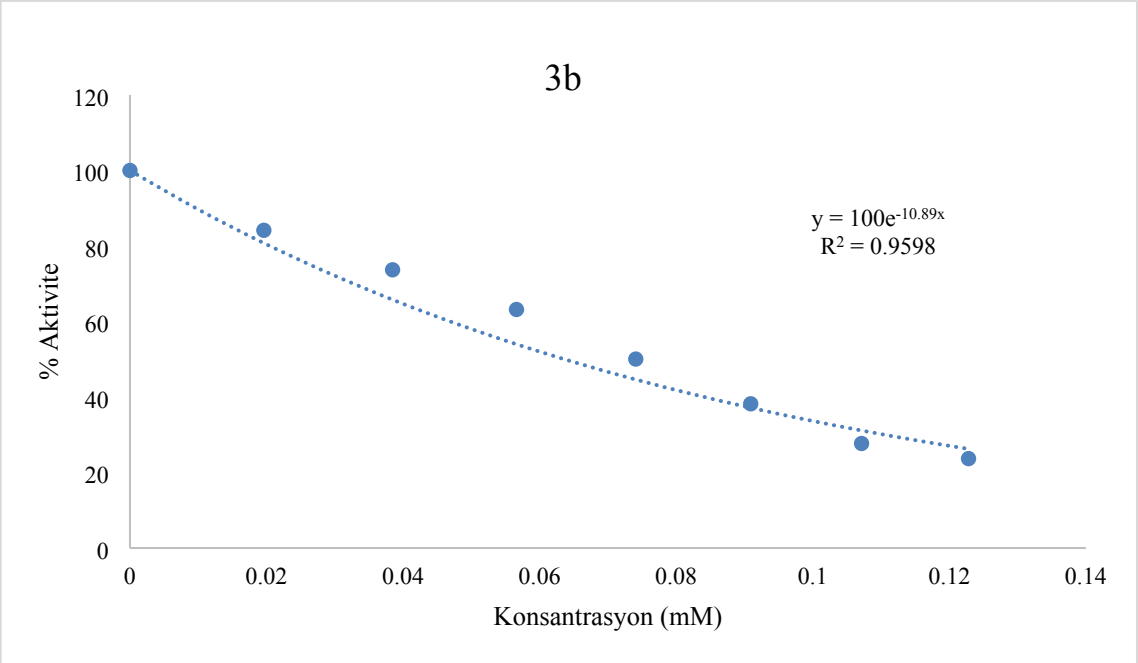
Ek-29. (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoik asit molekülüne ait α-glikozidaz enzimi için %aktivite-konsantrasyon grafiği



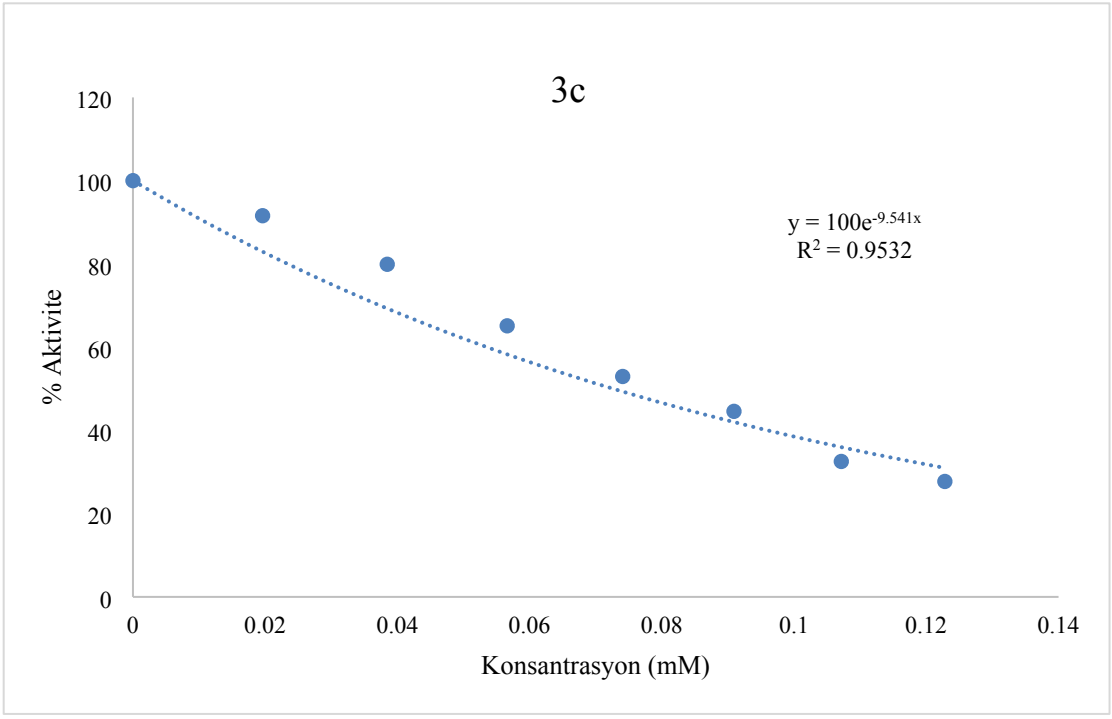
Ek-30. Metil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat molekülüne ait α-glikozidaz enzimi için %aktivite-konsantrasyon grafiği



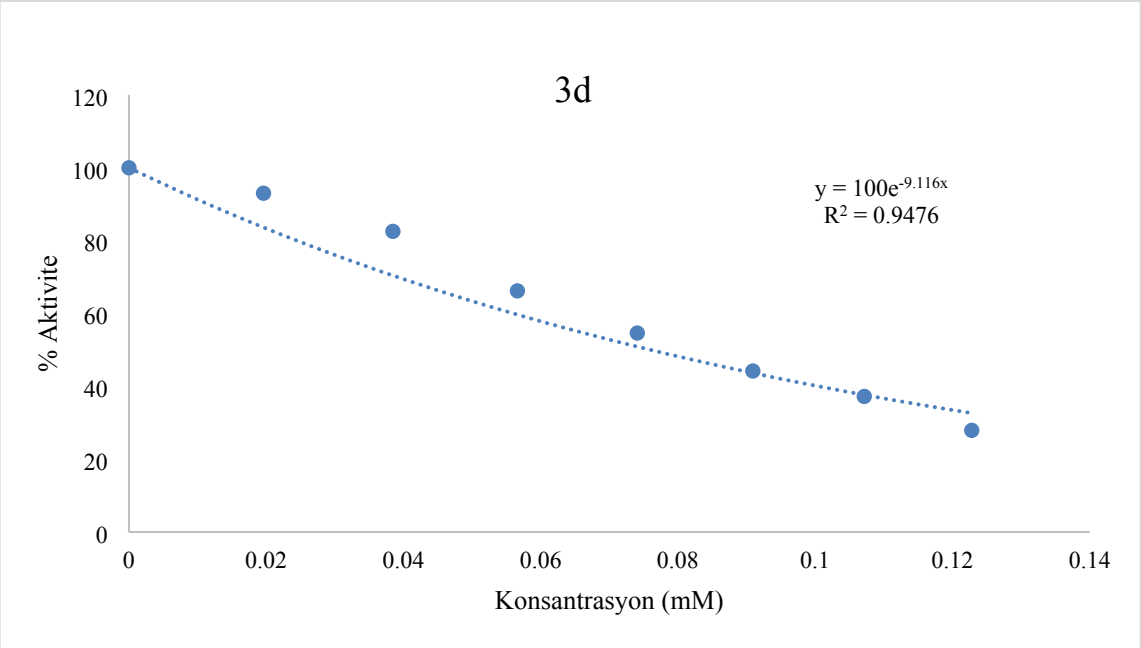
Ek-31. Etil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat molekülüne ait α-glikozidaz enzimi için %aktivite-konsantrasyon grafiği



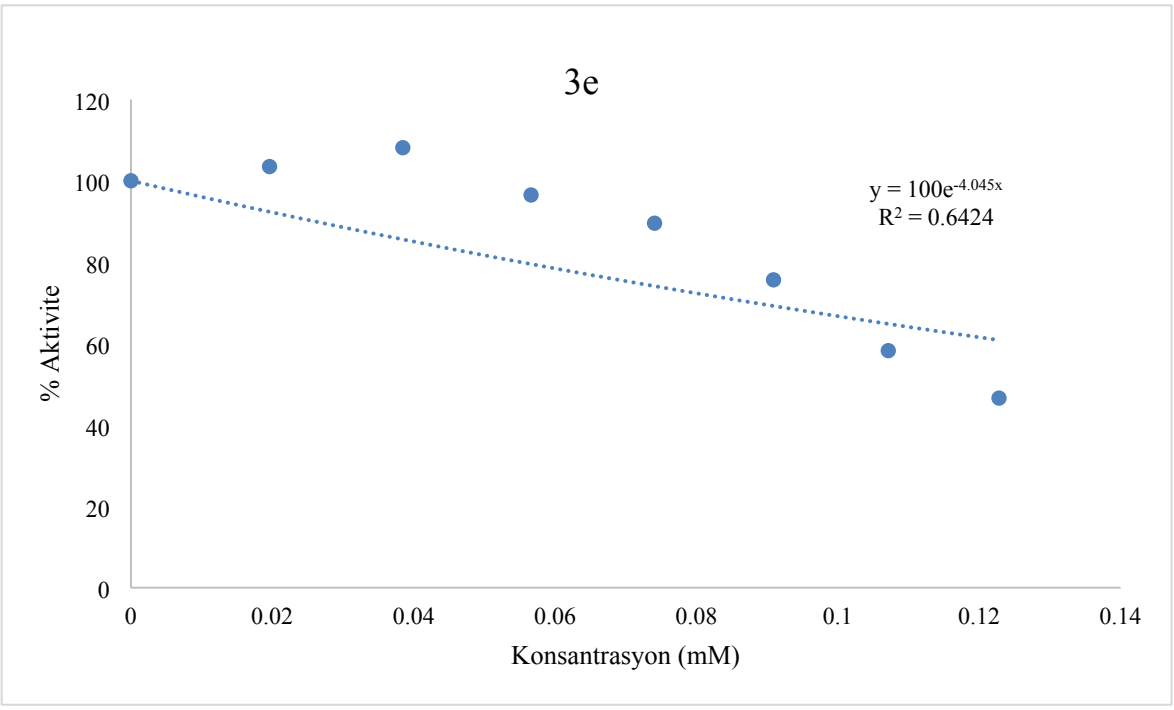
Ek-32. İzopropil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat molekülüne ait α-glikozidaz enzimi için %aktivite-konsantrasyon grafiği



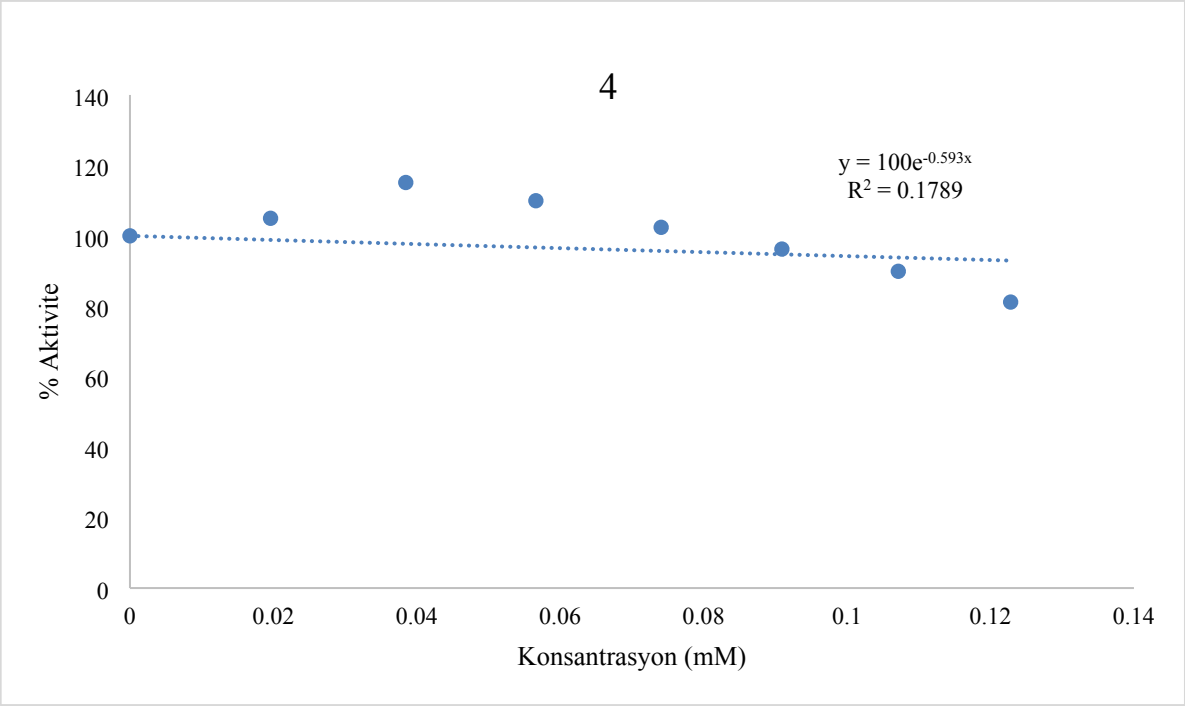
Ek-33. Bütil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat molekülüne ait α-glikozidaz enzimi için %aktivite-konsantrasyon grafiği



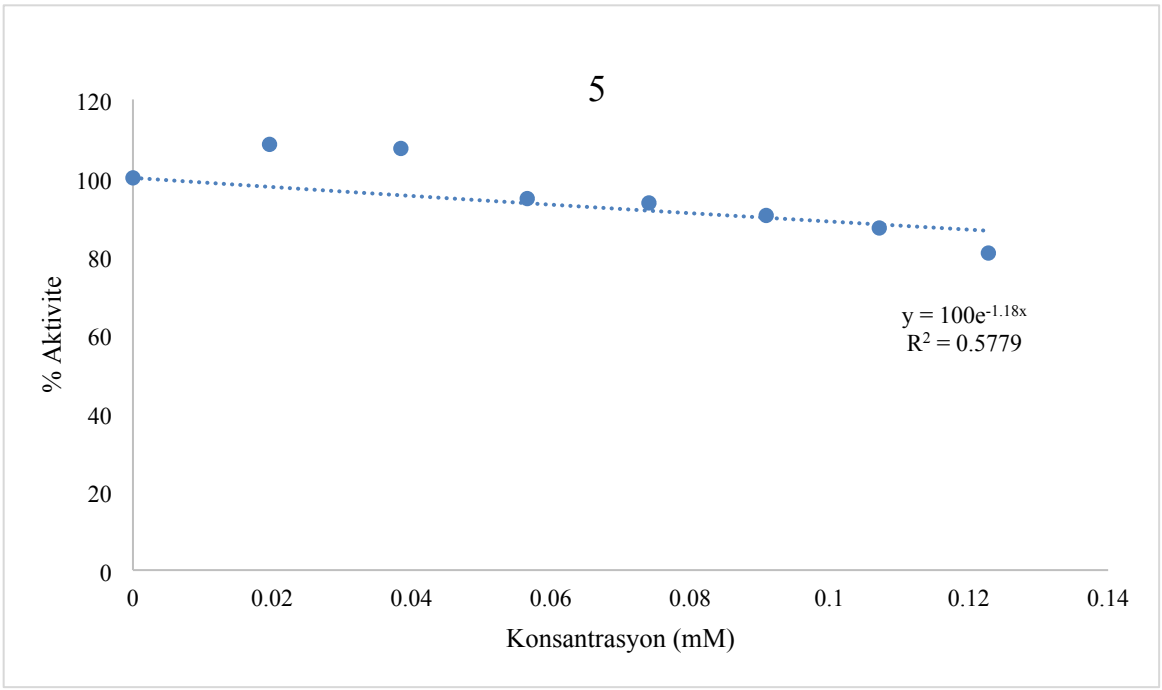
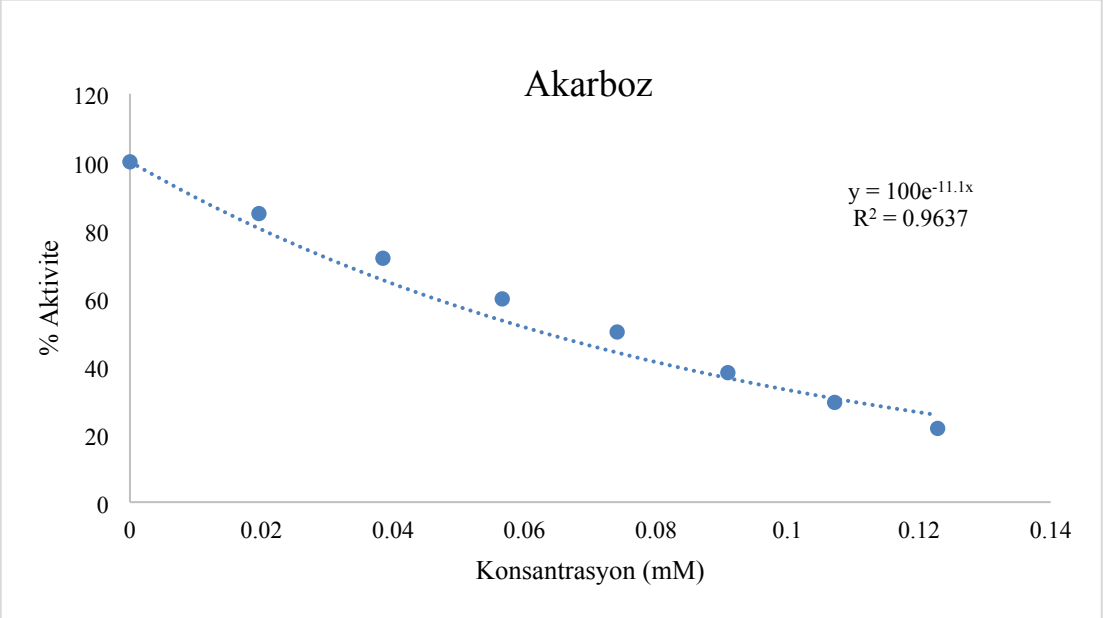
Ek-34. İzopentil (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)penta-2,4-dienoat molekülüne ait α-glikozidaz enzimi için %aktivite-konsantrasyon grafiği



Ek-35. (2E,4E)-5-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-on molekülüne ait α-glikozidaz enzimi için %aktivite-konsantrasyon grafiği



Ek-36. 4-((1E,3E)-5-okso-5-(piperidin-1-il)penta-1,3-dien-1-il)-1,2-fenilen diasetat molekülüne ait α-glikozidaz enzimi için %aktivite-konsantrasyon grafiği



Ek-37. Akarboz molekülüne ait α-glikozidaz enzimi için %aktivite-konsantrasyon grafiği