

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS ÉSTERES DEL ÁCIDO PIPÉRICO SINTETIZADOS A PARTIR DEL *PIPER NIGRUM*

Cesar Tarazona Ramirez^a, Candy Ruiz Martel^{*a}, Billy Cabanillas^b

RESUMEN

El presente estudio tiene por objeto el desarrollo de nuevos candidatos a antioxidantes preparados mediante hemisíntesis a partir de la piperina aislada de los frutos de *Piper nigrum*. El primer derivado sintetizado fue el ácido pipérico, con un rendimiento del 2,55%. A partir de este último se obtuvieron: el piperato de metilo, piperato de etilo y piperato de isopropilo con rendimientos del 76,75 %; 88,93 % y 95,3 %, respectivamente. Las moléculas aisladas y sintetizadas fueron caracterizadas mediante infrarrojo y espectrometría de masas. El análisis de la actividad antioxidante mediante DPPH arrojó valores de IC₅₀ de 8,77; 2,75; 8,35; 0,30 y 0,12 mg/ml para la piperina, ácido pipérico, piperato de metilo, piperato de etilo y piperato de isopropilo, respectivamente. Estos resultados indican una mejora significativa de la actividad antioxidante con respecto al producto de partida, la piperina.

Palabras clave: Piperina, hemisíntesis, actividad antioxidante.

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS ÉSTERES DEL ÁCIDO PIPÉRICO SINTETIZADOS A PARTIR DEL *PIPER NIGRUM*

ABSTRACT

The present study aims to develop new antioxidant candidates prepared by hemisynthesis from piperine isolated from *Piper nigrum* fruits. The first derivative synthesized was piperic acid, with a yield of 2,55%, and from the latter were obtained: methyl piperate, ethyl piperate and isopropyl piperate with yields of 76,75 %, 88,93 % and 95,3 %, respectively. The isolated and synthesized molecules were characterized by infrared and mass spectrometry. Analysis of antioxidant activity by DPPH yielded IC₅₀ values of 8,77; 2,75; 8,35; 0,30 and 0,12 mg/ml for piperine, piperic acid, methyl piperate, ethyl piperate and isopropyl piperate, respectively. These results indicate a significant improvement in antioxidant activity over the starting product, piperine.

Key words: Piperine, hemisynthesis, antioxidant activity.

^a Escuela de Química, Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Universidad Nacional Federico Villarreal, Jr. Río Chepén 290, Lima 10, Perú, cruiz@unfv.edu.pe.

^b Laboratorio de Productos Naturales, Laboratorios de Investigación y Desarrollo, Facultad de Ciencias e Ingeniería, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Av. Honorio Delgado 430, Lima 31, Perú

INTRODUCCIÓN

El estrés oxidativo es consecuencia del desequilibrio entre el sistema de defensa de antioxidantes y la producción de radicales libres¹, cuando hay un exceso de radicales libres, las biomoléculas como las membranas celulares, proteínas y ácidos nucleicos se ven afectadas provocando efectos adversos como envejecimiento celular, enfermedades degenerativas, trastornos metabólicos como la diabetes y el cáncer^{1,2}. Una de las causas principales de este desequilibrio es la deficiencia de antioxidantes nutricionales¹. Los antioxidantes son sustancias que reaccionan con los radicales libres neutralizando su efecto dañino en el cuerpo², es por esta razón la exploración y búsqueda de nuevos compuestos orgánicos capaces de prevenir el daño oxidativo, que pueden tener un origen natural o ser producto de una hemisíntesis. En muchos casos la combinación de extracción natural con reacciones sintéticas proporciona procesos sostenibles y eficientes en la producción de compuestos activos³. La piperina es un compuesto natural bioactivo presente en el *Piper nigrum* y sus derivados son moléculas con gran potencial farmacológico, en especial como antioxidantes⁴. Estudios acerca de la piperina han reportado su uso para prevenir el envejecimiento de la piel, la estereosclerosis, diabetes, tumores, obesidad, hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, alopecia, celulitis, osteoporosis, enfermedades cerebrales, pérdida de la memoria, estrés, síndromes menopáusicos e hipertrofia benigna^{4,5}, todas estas enfermedades están relacionadas con el estrés oxidativo. También, se ha reportado actividad antioxidante de la piperina contra DPPH donde su IC₅₀ fue igual 2,133 mg/ml⁶. En otra investigación no determinaron el IC₅₀ de la piperina, sin embargo, reportaron que a una concentración de 0,05 mg/ml de piperina y de ácido pipérico el porcentaje de actividad antioxidante contra DPPH fue de 10,28 % y 29,5% respectivamente⁷. De igual manera, las amidas sintéticas del ácido pipérico mostraron una alta actividad contra DPPH con un EC₅₀ de 20 µM a 140 µM y actividad inhibidora de α-glucosidasa que alcanzó un IC₅₀ entre 12 µM a 21 µM⁸. En otras investigaciones, se diseñaron dos análogos de piperina que, al ser probados junto con vincristina, colchicina y paclitaxel revertían la resistencia de las células cancerosas (KB y SW480)⁹. También se evaluaron la actividad anticancerígena del derivado obtenido de la síntesis del ácido pipérico con diversas anilinas donde encontraron que uno de estos derivados tenía gran potencial anticancerígena contra línea celular de cáncer de mama (MCF-7) y cáncer de hígado (HEPG2)¹⁰. Once ésteres del ácido pipérico formaron parte de un estudio de predicción de citotoxicidad y toxicidad selectiva de células tumorales¹¹. Además, se ha desarrollado un protector solar a base de la piperina y sus derivados, donde reportaron que el piperato de isopropilo tiene gran potencial para ser agente de protección UV¹². Basados en los prometedores efectos terapéuticos y farmacológicos de la piperina como de sus derivados, en este estudio estamos interesados en sintetizar ésteres del ácido pipérico, comprobar su actividad antioxidante contra DPPH (1,1 difenil-2-picrilhidrazilo) y hacer una comparación con el compuesto original piperina.

PARTE EXPERIMENTAL

Todos los reactivos para la síntesis química se adquirieron en Sigma-Aldrich. En los análisis por TLC se utilizaron placas de gel de sílice de 60 mm F254 (MERCK). Todos los solventes químicos empleados fueron grado HPLC y MS. El Espectrómetro de masas fue un equipo de Thermo Scientific™ Q Exactive Plus™. La detección de masa fue

llevada a cabo utilizando una fuente de electrospray ESI en modo de ionización negativa a 70000 de poder de resolución utilizando el modo scan Full MS. Para la ionización MS2 se utilizó el modo dd-MS2/dd-SIM FT con resolución 17500. El rango de masa fue de 130 - 1600 m/z, la temperatura del capilar fue 290°C con voltaje de ionización spray 2,5 KV (modo negativo), el gas carrier fue N₂ y la energía de colisión utilizada fue 20,40,60. El tipo de data de espectro fue profile. El rango de masa fue de 140-2000 Da y la temperatura del capilar fue 300 °C con voltaje de ionización spray a 4.0 kV (modo positivo) y 4,2 kV (modo negativo) y los espectros IR se realizaron en un espectrómetro Thermo Scientific, modelo Nicolet iS10.

Aislamiento de la piperina

Se siguió el procedimiento según Choochana et al.¹² En resumen, se pesó 100 g del fruto seco de *Piper nigrum* y se extrajo mediante reflujo con etanol 95 % (400 ml). La mezcla se filtró y el solvente se eliminó a presión reducida con un evaporador obteniéndose un extracto crudo de color pardo oscuro. Para eliminar las impurezas (oleorresina), el extracto crudo se mezcló con 30 ml de hidróxido de potasio 16% en etanol y se filtró. La piperina se precipitó adicionando agua helada. El sólido obtenido se recrystalizó con isopropanol, obteniéndose 2,55g de cristales de color amarillo.

Síntesis del ácido pipérico

Se utilizó el método descrito por Ali et al.¹³ Brevemente, se disolvió 36 g de hidróxido de potasio en 180 ml de etanol, y se agregó 3 g de piperina. La mezcla se calentó a reflujo durante 8 h y luego se eliminó el solvente en un rotavapor. El sólido obtenido se mezcló con 300 ml agua y se filtró para eliminar la piperidina. El ácido pipérico se precipitó acidificando con HCl al 10 %, hasta pH 3. La solución se filtró y el sólido obtenido se recrystalizó en etanol obteniéndose 1,40 g de cristales amarillo.

Síntesis del piperato de metilo

Este compuesto se preparó según la metodología descrita por Choochana et al.¹² En un balón se colocó 0,31 g de ácido pipérico, se añadió 7 ml de metanol y ácido sulfúrico 0,5 ml. La mezcla se conectó a un aparato Dean-Stark y se calentó a reflujo durante 3 horas. Se evaporó el solvente y el residuo se disolvió en 10 ml de acetato de etilo. La solución se llevó a una pera de decantación y se adicionó 10 ml de agua destilada. Se lavó con bicarbonato de sodio al 5 %. La fase orgánica se separó, se secó con sulfato de sodio anhidro y se filtró. El solvente se eliminó en un rotavapor y el sólido obtenido se recrystalizó en acetona. Como resultado se obtuvo 0,25g de cristales amarillo pálido.

Síntesis del piperato de etilo

Se empleó el método desarrollado por Choochana et al.¹² En un balón se mezclaron 0,31g de ácido pipérico, 7 ml de etanol y 0,5 ml de ácido sulfúrico. La mezcla se llevó a reflujo en un aparato Dean-Stark. El solvente se eliminó y el residuo se disolvió con 10 ml acetato de etilo y se lavó con bicarbonato de sodio al 5 %. La fase orgánica, se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y eliminó el solvente a presión reducida. El sólido se recrystalizó en acetona dando como resultado 0,39 g de cristales amarillo pálido.

Síntesis del piperato de isopropilo

Según lo descrito por Choochana et al.¹² En un matraz de fondo redondo de 50 ml se mezclaron 0,30 g de ácido pipérico, 7 ml de isopropanol y 0,5 ml de ácido sulfúrico. El matraz se conectó con el aparato Dean-Stark y se calentó a reflujo durante 3 horas a una temperatura de 70 °C. La mezcla de la reacción se concentró usando evaporador rotatorio. El residuo se le adicióno acetato de etilo y se llevó a una pera de decantación, se adicióno 10 ml de agua destilada. Se lavó con bicarbonato de sodio al 5 % y se recolectó la fase orgánica. Se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se eliminó el solvente. Como resultado se obtuvo un 0,29 g de líquido amarillo pálido.

Análisis de la actividad Antioxidante

La actividad antioxidante de los extractos se determinó utilizando el método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) utilizado por Zarai et al.⁷, con algunas modificaciones. En resumen, se preparó una solución de DPPH 0,2 mM en etanol al 80 %. Las muestras fueron disueltas en un solvente adecuado hasta la completa disolución. Para la lectura se mezcló 100 µL de DPPH (0,2 mM) con 1000 µL de muestra, se dejó reposar por 30 minutos y se midió la absorbancia a 517 nm. Para la obtención del IC₅₀ se realizó cinco puntos a diferentes concentraciones para cada muestra. El ácido ascórbico se utilizó como control positivo. La actividad de inhibición fue calculada de la siguiente forma:

$$I\% = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100$$

Donde I% es el porcentaje de inhibición, A₀ es la absorbancia del blanco, A₁ es la absorbancia de la muestra. Los ensayos se realizaron por triplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir de los frutos de *Piper nigrum* se logró aislar la piperina con un rendimiento 2,55 %, este resultado es menor al reportado por Ramesh et al. (2018)¹⁰ que fue de 3 %, la diferencia en el porcentaje puede deberse a la procedencia de la muestra, que influye significativamente en el contenido de los compuestos. Para el caso del ácido pipérico se obtuvo un rendimiento de 61,13% cercano al reportado por Li et al. (2025)¹⁴ de 72 %. Con respecto a los ésteres de piperato de metilo, piperato de etilo, piperato de isopropilo se obtuvo rendimientos de 76,75 %, 88,93% y 95,3 % respectivamente, los valores son similares a lo reportado por Choochana et al. (2015)¹² de 84,94 %, 92,79% y 84,60 %, en ambos casos los rendimientos de la síntesis son altos.

En la tabla 1 se observa los porcentajes de rendimiento de la piperina, del ácido pipérico y de los 3 ésteres sintetizados.

Tabla 1. Porcentaje de rendimiento de la piperina y sus derivados

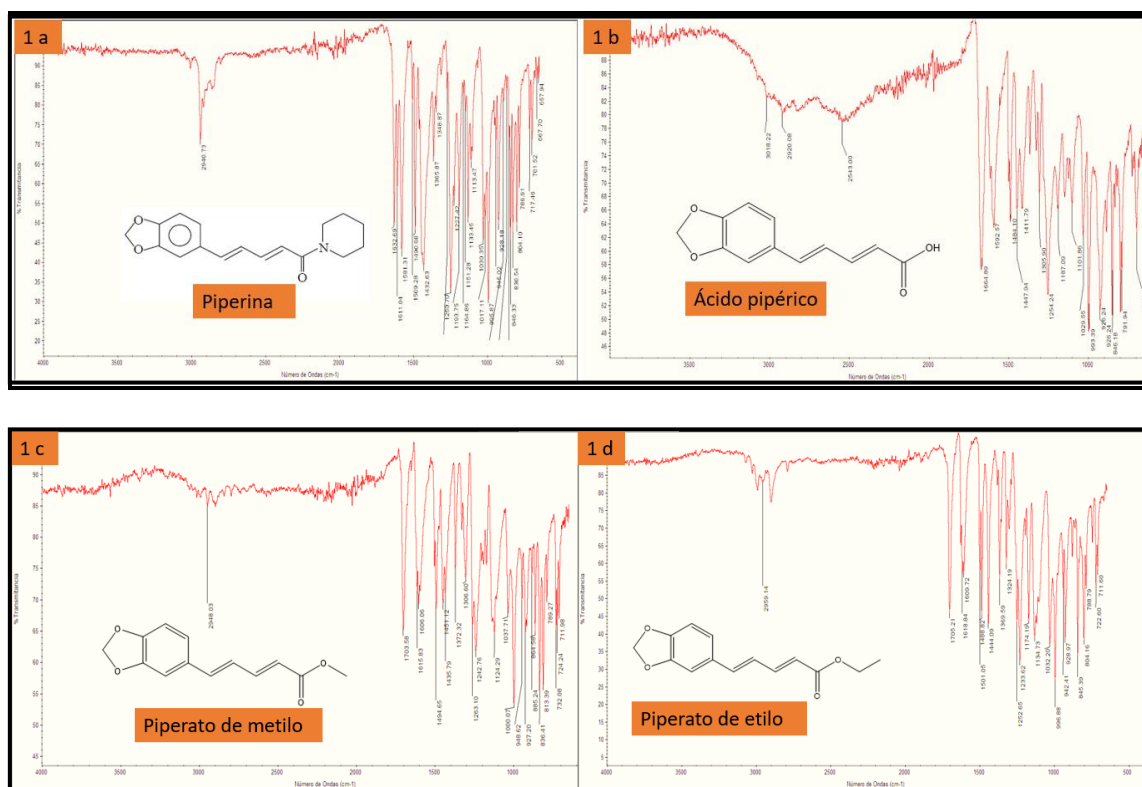
MOLECULA	PESO (g)	PORCENTAJE DE RENDIMIENTO
<i>Piperina</i>	2,55 g	2,55 %
<i>Ácido pipérico</i>	1,40 g	61,13 %
<i>Piperato de metilo</i>	0,25 g	76,75 %
<i>Piperato de etilo</i>	0,39 g	88,93 %
<i>Piperato de isopropilo</i>	0,29 g	95,3 %

Los compuestos obtenidos se caracterizaron mediante espectroscopia infrarroja y espectrometría de masas de alta resolución. Las bandas del espectro infrarrojo de piperina coinciden con lo reportado por Reyes et al. (2017): 2940.73 (C-H, tensión), 1611.04-1581.31-1490.68 (-C=C-Ar, tensión), 1632.69 (-CO-N, tensión). Grupo metilendióxido: 1432.63 (-CH₂ flexión), 1250.70-1193.75(=C-O-C *as*, tensión), 1030.35 (=C-O-C *sim*, tensión), 925.87 (C-O, tensión), 1133.45 (C-H, flexión), 995.87 (-CH=CH- *trans*, flexión), 846.33-830.54-804.1 (C-H 1-2-4-trisust, flexión) (Figura 1a). El espectro infrarrojo de ácido pipérico (Figura 1b) 3300-2800 (-COOH), 1664.89 (C=O, tensión), 1592.57-1484.10 (-C=C-Ar, tensión). Grupo metilendióxido: 1447.94 (-CH₂ flexión), 1254.24-1187.09 (=C-O-C *as*, tensión), 1101.86 (=C-O-C *sim*, tensión), 993.39 (C-O, tensión), 926.24-846.18-791.94 (C-H 1-2-4-trisust, flexión) similar a lo reportado por Bahri et al. (2019)¹⁵. El espectro infrarrojo piperato de metilo (Figura 1c) 2948.03 (-CH, tensión), 1703.58 (C=O, tensión), 1606.06-1494.65 (-C=C-Ar). Grupo metilendióxido: 1451.12 (-CH₂, flexión), 1242.76-1124.29 (=C-O-C *as*, tensión), 1037.71 (=C-O-C *sim*, tensión), 1000.07 (C-O, tensión), 836.41-813.39-789.27 (C-H 1-2-4-trisust, flexión) similar a lo reportado por Choochana et al. (2015). El espectro infrarrojo del piperato de etilo (Figura 1d): 2959.14 (-CH, tensión), 1705.21 (C=O, tensión), 1609.72-1488.82 (-C=C-Ar, tensión). Grupo metilendióxido: 1444.09 (-CH₂ flexión), 1252.65-1174.19 (=C-O-C *as*, tensión), 1032.20 (=C-O-C *sim*, tensión), 996.88 (C-O, tensión), 928.97,845.39,804.16(C-H 1-2-4 trisust, flexión) similar a lo reportado por Choochana et al.(2015) y finalmente el espectro infrarrojo piperato de isopropilo (Figura 1e) 2978.57 (-CH, tensión), 1700.09 (-C=O), 1608.69-1488.35(-C=C-Ar, tensión). Grupo metilendióxido: 1445.51 (-CH₂, flexión), 1250.41-1173.72 (=C-O-C *as*,tensión), 1137.71 (=C-O-C *sim*, tensión), 1104.27 (C-O, tensión), 1036.51-995.07-929.07 (C-H, 2-4 trisust, flexión) similar a Choochana et al.(2015).

Los espectros de masas de los compuestos se registraron en modo ESI positivo de alta resolución. El espectro de masas full MS para la piperina mostró un ion molecular de un valor m/z 286,1436; el ácido pipérico a un valor de m/z 219,0653, el éster de metilo a un valor de m/z 233,0808, el piperato de etilo a un valor de m/z 247.0964 y el piperato de isopropilo a un valor de m/z igual 261,1122. Las fórmulas de los compuestos se calcularon con un error inferior a 5 ppm encontrándose coincidencia con las fórmulas de cada compuesto. Estos datos coinciden con lo reportado por Choochana et al. (2015). El espectro MS/MS de la piperina coincide con lo reportado por Reyes et al. (2017).

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

En la tabla 2 se muestran los valores de actividad antioxidante contra DPPH de la piperina y sus derivados. Estudios anteriores reportan que el porcentaje de actividad captadora de radicales de DPPH de la piperina y el ácido pipérico a una concentración de 50 $\mu\text{g/ml}$ fue del 10,28 % y 29,5 %, respectivamente (Zarai et al., 2013), mientras que en este trabajo de investigación se pudo determinar el IC_{50} de la piperina y ácido pipérico que fue de 8,85 mg/ml y 2,65 mg/ml respectivamente, secundando lo expuesto por Zarai donde expresa que el ácido pipérico tiene mayor actividad antioxidante que la piperina. El IC_{50} del piperato de metilo es 8,35 mg/ml, mientras que el IC_{50} del piperato de etilo y el piperato de isopropilo presentan un alto porcentaje de inhibición igual a 0,286 mg/ml y 0,115 mg/ml respectivamente. Con este estudio se demuestra que, al hacer modificaciones en la estructura, podemos mejorar su actividad, como es el caso del éster de piperato de etilo y del piperato de isopropilo que aumentan 31 y 77 veces respectivamente, su actividad respecto a la piperina. Para el caso del piperato de isopropilo esto puede deberse a que la molécula tiene mayor deslocalización electrónica (Choochana et al., 2015). Finalmente, este estudio da un aporte acerca de la actividad antioxidante de la piperina como de sus derivados contribuyendo al aumento del conocimiento científico y a la vez propone seguir estudiando dichos compuestos por ser consideradas moléculas muy interesantes para ser probada en otras actividades.



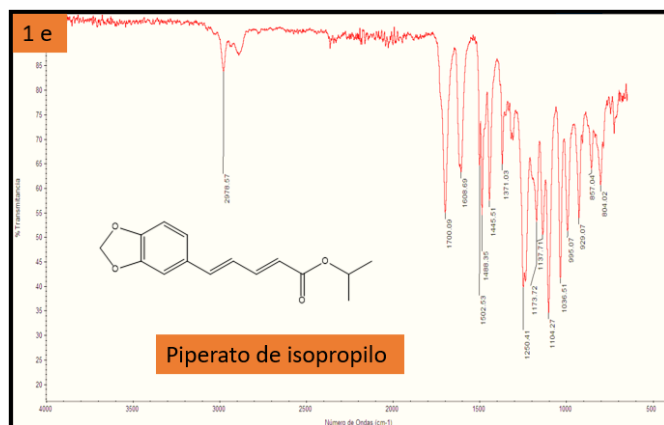
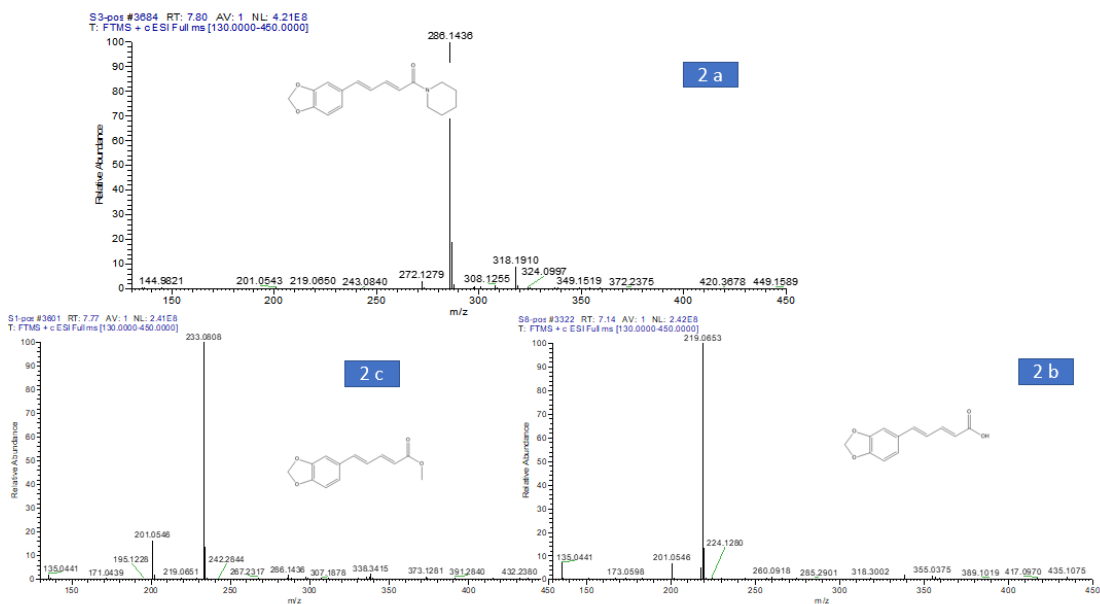


Figura 1. Espectros IR de 1a (piperina), 1b (ácido pipérico) 1c (piperato de metilo) 1d (piperato de etilo) y 1e (piperato de isopropilo).

Tabla 2. Actividad antioxidante frente al DPPH de la piperina y sus derivados

<i>MOLECULA</i>	<i>IC₅₀ (mg/ml)</i>
<i>Piperina</i>	8,77 ± 0,57
<i>Ácido pipérico</i>	2,75 ± 0,27
<i>Piperato de metilo</i>	8,35 ± 0,02
<i>Piperato de etilo</i>	0,30 ± 0,02
<i>Piperato de isopropilo</i>	0,12 ± 0,01
<i>Ácido ascórbico</i>	0,002 ± 0,00



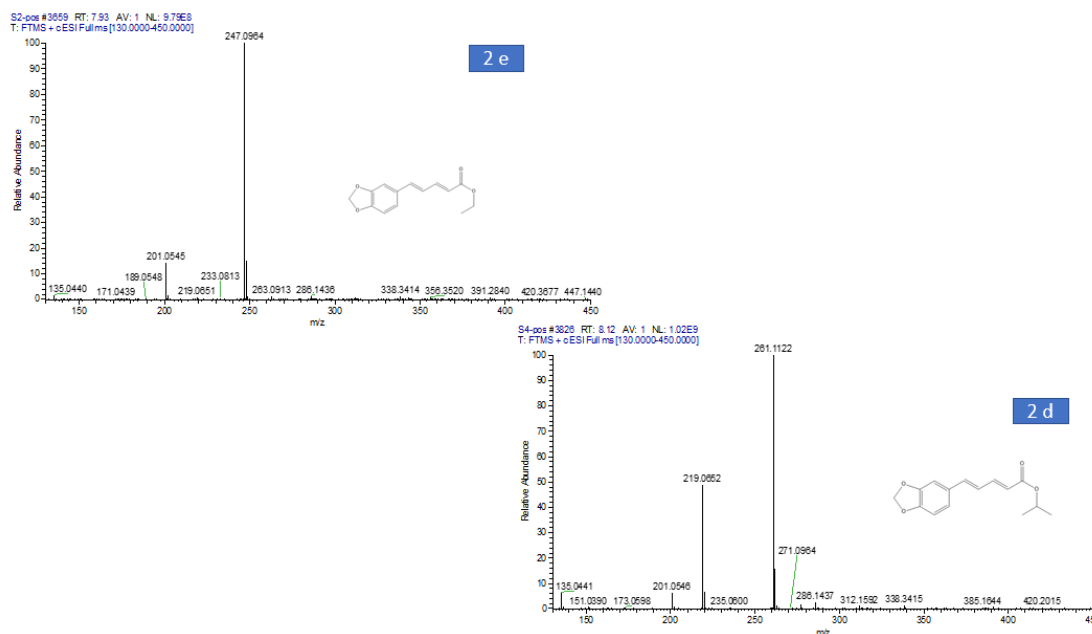


Figura 2 Espectros de masas Full MS (HRESI) en modo positivo de 2a (piperina), 2b (ácido pipérico), 2c (piperato de metilo), 2d (piperato de etilo) y 2e (piperato de isopropilo).

CONCLUSIONES

En este estudio se aisló la piperina a partir del *Piper nigrum* con un rendimiento de 2,5%. Además, se sintetizó el ácido pipérico a partir de la piperina con rendimiento de 61.13 %. Mediante la reacción de Fisher se obtuvieron tres ésteres de piperato con rendimientos altos: piperato de metilo (76,75 %), piperato de etilo (88,93%) y piperato de isopropilo 95.3 %. Tanto la piperina, el ácido pipérico y sus ésteres respectivos fueron caracterizados por IR y MS, comprobando los grupos funcionales de las moléculas sintetizadas y obteniendo su M/z para la piperina (M/Z 285,1438), ácido pipérico (M/Z 218,0652), piperato de metilo (M/Z 232,0808), piperato de etilo (M/Z 246,0964) y piperato de Isopropilo (M/Z 260,1122).

El éster de mayor actividad antioxidante fue el piperato de isopropilo con un IC₅₀ igual a 0,115 mg/ml, seguido de piperato de etilo con un IC₅₀ a 0,286 mg/ml y el piperato de metilo dio un IC₅₀ igual a 8.354 mg/ml. El ácido pipérico y la piperina dieron un IC₅₀ de 2.753 mg/ml y 8.767 mg/ml respectivamente.

AGRADECIMIENTO

Agradecer al Concurso de Proyectos de Investigación Formativa - 2022 de la Universidad Nacional Federico Villarreal por el financiamiento de este trabajo de investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bouzammit R, Lakkab I, El fadili M, Kanzouai Y, Chalkha M, et al., Synthesis, crystal structure, antioxidant activity and molecular docking studies of 2-(1-(3-methyl-1-oxo-1,2,3,4-tetrahydronaphthalen-2-yl) ethyl) malononitrile. *J. Mol. Struc.* 2024; 1312:138582. doi:10.1016/j.molstruc.2024.138582.
2. Hu Y, Zheng Z, Zhai D, Liang P, Wang Z, Jiang C, et al., A mini-review: Exploring the application prospects of the three major rules in the field of antioxidants. *J.Mol. Struc.* 2024; 1304:137746. doi:10.1016/j.molstruc.2024.137746.
3. Groussin A, Antoniotti S. Valuable chemicals by the enzymatic modification of molecules of natural origin: Terpenoids, steroids, phenolics and related compounds. *J. Biortech.* 2012;115:237-243. doi:10.1016/j.biortech.2011.10.050.
4. Iahtisham U, Muhammad I, Muhammad N, Tabussam T, Tanweer A, Mohammad S. Piperine: A review of its biological effect. *Phytother. Res.* 2020;1-21. doi:10.1002/ptr.6855
5. Chopra B, Dhingra AK, Kapoor RP, Prasad DN. Piperine and Its Various Physicochemical and Biological Aspects: A Review. *J Open Chem Journal.* 2016; 3:75-96. doi:10.2174/1874842201603010075
6. Reyes LM, Sánchez RA, Restrepo J. Encapsulation of the Piperine Present in *Piper tuberculatum* Species Using Multilamellar Vesicles and Determination of its Antioxidant Power. *Rev. Cienc.* 2017;21:11-28.
7. Zarai Z, Boujelbene E, Salem N, Gargouri Y, Sayari A. Antioxidant and antimicrobial activities of various solvent extracts, piperine and piperic acid from *Piper nigrum*. *LWT - FS&T.* 2013;50:634-641. doi:10.1016/j.lwt.2012.07.036
8. Takao K, Miyashiro T, Sugita Y. Synthesis and biological evaluation of piperic acid amides as free radical scavengers and α glucosidase inhibitors. *Chem. Pharm Bull.* 2015; 63:326-333. doi:10.1248/cpb.c14-00874
9. Syed SB, Arya H, Fu I H, Yeh TK, Periyasamy L, Hsieh HP, et al. Targeting P-glycoprotein: Investigation of piperine analogs for overcoming drug resistance in cancer. *Sci. Rep.* 2017; 1:1-18. doi:10.1038/s41598-017-08062-2
10. Ramesh A, Sundarraj P, Balamani DrJ. Synthesis and Biological Evaluation Of 5-(3,4- Methyleneedioxyphenyl)-2,4-Pentadienoic Acid Derivatives As Potent Antimicrobial And Cytotoxicity Agents. *IOSR-JbAC.* 2018;11:51-57. doi.10.9790/5736-1105015157
11. Nagai J, Imamura M, Sakagami H, Uesawa Y. QSAR Prediction Model to Search for Compounds with Selective Cytotoxicity Against Oral Cell Cancer. *Med.* 2019; 6:45. doi:10.3390/medicines6020045
12. Choochana P, Mounjaroen J, Jongkon N, Gritsanapan W, Tangyuenyongwatana P. Development of piperic acid derivatives from *Piper nigrum* as UV protection agents. *Pharm. Biol.* 2015; 53: 477-482.
13. Li, Y, Alam MS, Hamid H, Husain A, Bano S, Dhulap A, et al. Design, synthesis and biological evaluation of piperic acid triazolyl derivatives as potent anti-inflammatory agents. *Eur. J. Med. Chem.* 2015; 92, 12-13. doi:10.1016/j.ejmech.2015.01.00
14. Li H, Wu X, Li X, Cao X, Li Y, Cao H, Men Y. Multistage Extraction of Star Anise and Black Pepper Derivatives for Antibacterial, Antioxidant, and Anticancer Activity. *Front. Chem.* 2021; 9:660138. doi: 10.3389/fchem.2021.660138
15. Bahri S, Ambarwati Y, Iqbal M, Baihaqy AA. Synthesis 4-Piperoilmorpholine from Piperine. *J. Phys Conf Ser.* 2019;1338,2-3. doi:10.1088/1742-6596/1338/1/012010