

# Tradicionalna upotreba, bioaktivni spojevi, farmakologija i toksikologija odabranih predstavnika roda *Capsicum*

---

Pihir, Karel

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of Chemistry / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:182:475406>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-18**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Department of Chemistry, Osijek](#)



Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za kemiju

Sveučilišni preddiplomski studij kemije

Karel Pihir

**Tradicionalna upotreba, bioaktivni spojevi, farmakologija i toksikologija odabranih  
predstavnika roda Capsicum**

Završni rad

Mentor: doc.dr.sc. Ana Amić



Osijek, 2023.

## Sadržaj

1. Uvod.....	1
2. Sistematska klasifikacija paprike .....	2
3. Morfološka svojstva biljke i ploda paprike.....	5
3.1. Sorte paprike .....	6
3.1.1. Blage sorte paprike .....	6
3.1.2. Ljute sorte paprike .....	7
4. Tradicionalna upotreba paprike .....	9
5. Aktivne tvari u paprici .....	11
5.1. Kapsaicinoidi.....	12
5.2. Antioksidansi.....	15
5.2.1. Flavonoidi.....	16
5.2.2. Vitamin C .....	21
5.2.3. Karotenoidi .....	24
6. Farmakološki učinci paprike.....	26
6.1. Učinak kapsaicina .....	26
6.1.1. Receptori kapsaicina.....	28
6.1.2. Učinak na kožu .....	30
6.2. Metabolizam kapsaicina.....	31
7. Toksikologija kapsaicinoida i flavonoida paprike .....	34
7.1. Toksičnost kapsaicinoida .....	34
7.2. Toksičnost flavonoida .....	36
8. Zaključak.....	38
9. Literaturna vrela.....	40

## Sažetak

Rod *Capsicum* obuhvaća četrdeset i dvije vrste paprike od kojih je pet udomaćeno i primjenjivano za razne svrhe. Koriste se za spremanje jela, zimnica, začina, dodataka prehrani te lijekova. Jedan od najpoznatijih proizvoda od paprike su ljuti umaci cijelog raspona ljutine. Ostaci paprika stari više od 9 tisuća godina su nađeni u Južnoj Americi gdje su ih domoroci uzgajali te koristili na slične načine kao što se koriste danas. Najistraživija i najrasprostranjenija vrsta roda je *Capsicum annuum* L. koja se uzgaja diljem Sredozemlja, Afrike, Azije, SAD-a te Srednje i Južne Amerike. U većini klima je jednogodišnja biljka te joj otuda i latinski naziv, iako je biljka višegodišnja. Sve paprike sadrže vitamin C, A i B6 te flavonoide i karotenoide. Ljute sorte također sadrže kapsaicinoide odgovorne za ljutost po kojoj su poznate. Vitamin C i A, flavonoidi i karotenoidi su antioksidansi te imaju brojne pozitivne učinke na zdravlje. Osim toga, flavonoidi imaju i protuupalna, protukancerogena i protumutagena svojstva, kao i kapsaicinoidi. U rijetkim slučajevima su se pokazali kao promotori raka jer pojačavaju djelovanje kancerogena. Kapsaicin pak predstavlja opasnost nakon izlaganja spreju za samoobranu, sa štetnim učincima na sluznicu oka, nosa i usta, kao i na dišne puteve.

Ključne riječi: paprika, *Capsicum*, tradicionalna upotreba, bioaktivni spojevi, kapsaicin, karotenoidi, flavonoidi



## Abstract

Genus *Capsicum* refers to forty-two species of peppers, five of which are domesticated and used in various ways. They are used for making dishes, preserves, spices, supplements and medicine. One of the most famous products are pepper hot sauces made with a varying degree of spiciness. Over 9 thousand years old leftover of peppers have been found in South America, where they were cultivated by the natives and used in the same way as today. The most researched and widespread specie is *Capsicum annuum* L., which is grown all throughout Mediterranean, Africa, Asia, USA, Middle and South America. In most climates it's an annual plant, hence its Latin name, although the plant is perennial. All peppers contain vitamin C, A, B6, flavonoids and carotenoids. Hot peppers also contain capsaicinoids, responsible for their spiciness. Vitamin C and A, flavonoids and carotenoids are antioxidants and have numerous positive effects on health. Flavonoids also show anti-inflammatory, anti-carcinogenic and anti-mutagenic properties, similar as capsaicinoids. In rare cases they have been shown as cancer promoters due to enhancing cancerogenic compound effects. Capsaicin becomes harmful after exposure to self-defence pepper sprays, with harmful effects on the eye, nose and mouth mucosa as well as on the airways.

Keywords: pepper, *Capsicum*, traditional use, bioactive compounds, capsaicin, carotenoids, flavonoids



## 1. Uvod

Rod *Capsicum* je dio porodice pomoćnica Solanaceae, što ih čini srodnicima krumpira, rajčice, duhana i patlidžana [1] te obuhvaća sve vrste paprika od kojih je 5 udomaćenih. To su *Capsicum annuum* L., *C. baccatum* L., *C. chinense* Jacq., *C. frutescens* L. te *C. pubescens* Ruiz & Pav. Sve vrste imaju plodove čija veličina, boja i oblik variraju od sorte do sorte. Osim što su jestive, sorte paprike se koriste kao začini, dodaci jelima ili se jela prave od cijelih paprika, a u vrtlarstvu se koriste ukrasne sorte paprike koje daju vrlo žive boje okolišu. Zahtijevaju puno sunca te su otporne na vrućinu i sušu [2].

Razlike u karakteristikama tla, klimi kao i prirodno križanje i selekcija su utjecali na osobine kultivara paprike. Paprike raznih regija se zato bitno razlikuju veličinom, oblikom, bojom, ljutinom i aromom. Mađarske sorte paprike su manje, konusne sa šiljastim vrhom. Španjolske sorte paprike su veće, oblike te jarkih boja. Sorte tropskih područja, Indije, Jugoistočne Azije te Kine su uglavnom duge, srednje ljute te raznih nijansi crvene boje. Afričke sorte paprike su slične azijskim ali su manje i veće [3].

Cilj rada je ukratko opisati biljku i sorte paprike te prikazati učinak spojeva prisutnih u plodovima i drugim dijelovima biljke. Stoga je u idućem poglavlju navedena sistematska klasifikacija paprike u prošlosti, njezin razvoj kao i današnja klasifikacija i poznate vrste. Nakon toga, opisana je morfologija biljke i plodova paprike te podjela sorti i naziv najbitnijih. U idućem poglavlju dan je kratki prikaz načina upotrebe paprike u prehranbene i ljekovite svrhe. Ovakav način korištenja paprike rezultat je brojnih bioaktivnih tvari koje sadrži. Slijedi poglavlje u kojem su navedeni i objašnjeni aktivni spojevi koje sve vrste paprika sadrže, nakon čega su pobliže prikazana farmakološka svojstva navedenih spojeva. Na samom kraju rada opisuje se toksikološki učinak paprike i njezinih aktivnih spojeva na glodavce i ljude.

## 2. Sistematska klasifikacija paprike

Biljni rod *Capsicum* obuhvaća sve paprike, od blagih babura do najljućih čilija. Sve vrste potječu sa zapadne hemisfere. Pretpostavlja se da je naziv roda *Capsicum* potekao od latinskog *capsa*, što znači „kutija“, vjerojatno zbog oblika ploda [1]. Vrsta *C. annum* L., udomaćena na jugu Sjeverne Amerike, Karibima i sjeveru Južne Amerike, je najčešća i najviše kultivirana od pet pripitomljenih vrsta. Sistematska klasifikacija vrste dana je u Tablici 1. Pod vrstu *C. annum* L. se svrstavaju paprike raznih oblika i veličina, od blagih i slabo ljutih do jako ljutih [4].

Tablica 1. Sistematska klasifikacija *C. annum* L. [5].

<b>Domena</b>	Eukarya
<b>Carstvo</b>	Plantae
<b>Koljeno</b>	Tracheobionta
<b>Potkoljeno</b>	Spermatophyta
<b>Razred</b>	Magnoliopsida
<b>Red</b>	Solanales
<b>Porodica</b>	Solanaceae
<b>Rod</b>	<i>Capsicum</i>
<b>Vrsta</b>	<i>Capsicum annum</i> L.

Christopher Columbus smatra prvim Europljaninom koji je otkrio čili na prvom od svojih putovanja u Ameriku 1492.-1493. godine. Smatra se da je tražio drugi izvor crnog papra koji je u to vrijeme bio najdraži začin Europe. Ni čili ni rod *Capsicum* nisu povezani s rodом Piper, koji sadrži *Piper nigrum* L. (crni i bijeli papar), ali su zbog slične ljutine isto nazvani „pepper“. Različite kulture imaju različite nazive za papriku, tako u engleskom govornom području *paprika* označava začin, mljevenu papriku, a *pepper* je naziv za plod paprike. U većini europskih država i govornih područja, riječ *paprika* označava začin, plod i samu biljku. Često se pravi razlika između čilija i paprika, pa se čilijem imenuju sve ljute paprike, a pojmom paprika se govori o blagim sortama i mljevenom začinu [2].

Do kraja 16. i početka 17. stoljeća uzgoj paprike se proširio diljem Mediterana i Srednje Europe. Španjolci i Portugalci su bili najzaslužniji za prijenos paprike u Aziju i Afriku. U relativno kratkom vremenu paprika se raširila diljem svijeta [3].

Prva taksonomska klasifikacija paprike je pronađena u botaničkim knjigama iz 17. stoljeća. Tijekom povijesti se vodila duga rasprava o broju vrsta roda *Capsicum*. Robert Morrison 1699. godine u dijelu *Plantarum Historiae Universalis Oxoniensis* navodi 33 vrste paprike. Iduće godine Joseph Pitton de Tournefort daje rodu ime *Capsicum* te navodi 27 vrsta. U svom djelu *Species Plantarum* Carl Linnaeus 1753. godine smanjuje rod na samo dvije vrste, *C. annuum* L. te *C. frutescens* L., ali 1767. godine dodaje *C. baccatum* L. i *C. grossum* L. [2].

Daljnji pokušaji objašnjavanja taksonomije su rezultirali Felix Dunalovim opisivanjem 50 vrsta 1852. godine. Do kraja 19.-tog stoljeća navedeno je više od 90 vrsta ovog roda, ali do 1923. godine najšire prihvaćene su bile dvije vrste koje je Linnaeus prvotno opisao. 1953. godine Heiser i Smith opisuju rod s četiri vrste (*C. annuum* L., *C. frutescens* L., *C. pubescens* Ruiz & Pav., *C. baccatum* L.) te četiri godine kasnije dodaju *C. chinense* Jacq. i daju trenutni popis pet pripitomljenih vrsta [2]. Ukupno su identificirane 42 vrste (Tablica 2.) [6].

Tablica 2. Vrste roda *Capsicum* [6].

<b>Capsicum</b>	<b>prirodno stanište</b>
<i>annuum</i> L.	jug SAD-a do sjevera Kolumbije
<i>baccatum</i> L.	Argentina, Bolivija, Brazil, Paragvaj, Peru
<i>buforum</i> Hunz.	Brazil
<i>caatingae</i> Barboza & Agra	sjevni Brazil
<i>caballeroi</i> M.Nee	Bolivija
<i>campylopodium</i> Sendtn.	južni Brazil
<i>carassense</i> Barboza & Bianch.	Brazil
<i>cardenasii</i> Heiser & Smith	Bolivija
<i>ceratocalyx</i> M.Nee	Bolivija
<i>chacoense</i> Hunz.	Argentina, Bolivija, Paragvaj
<i>chinense</i> Jacq.	Latinska i Južna Amerika
<i>coccineum</i> (Rusby) Hunz.	Bolivija, Peru
<i>cornutum</i> (Hiern) Hunz.	južni Brazil
<i>cumanense</i> Fingerh.	Venezuela



<i>dimorphum</i> (Miers) Kuntze	Kolumbija
<i>dusenii</i> Bitter	jugoistočni Brazil
<i>eshbaughii</i> Barboza	Bolivija
<i>eximium</i> Hunz.	Argentina, Bolivija
<i>flexuosum</i> Sendtn.	sjevni Brazil, sjeverna Argentina
<i>friburgense</i> Bianch. & Barboza	Brazil
<i>frutescens</i> L.	Argentina, Bolivija, Brazil, Paragvaj, Peru
<i>galapagoense</i> Hunz.	Galápagos
<i>geminifolium</i> (Dammer) Hunz.	Kolumbija do Perua
<i>havanense</i> Kunth	Karibi, Venezuela
<i>hookerianum</i> (Miers) Kuntze	Ekvador do Perua
<i>huzikerianum</i> Barboza & Bianch.	Brazil
<i>lanceolatum</i> (Greenm) C.V.Morton & Standl.	Meksiko do Hondurasa
<i>leptopodium</i> (Dunal) Kuntze	Ekvador do Perua
<i>longidentatum</i> Agra & Barboza	Brazil
<i>minutiflorum</i> (Rusby) Hunz.	Argentina, Bolivija, Paragvaj
<i>mirabile</i> Sendtn.	južni Brazil
<i>mositicum</i> Toledo ex Handro	Brazil
<i>pereirae</i> Barboza & Bianch.	Brazil
<i>pubescens</i> Ruiz & Pav.	Latinska i Južna Amerika
<i>ramosissimum</i> Witasek	Brazil
<i>recurvatum</i> Witasek	južni Brazil
<i>regale</i> Barboza & Bohs	južna Kolumbija do sjevernog Perua
<i>rhomboideum</i> (Humb. & Bonpl. ex Dunal) Kuntze	Meksiko do sjevernog Perua
<i>schottianum</i> Sendtn.	Argentina, južni Brazil, južni Paragvaj
<i>scolnikianum</i> Hunz.	Peru
<i>tovarii</i> Eshbaugh, P.G.Sm. & Nickrent	Peru
<i>villosum</i> Sendtn.	južni Brazil

### 3. Morfološka svojstva biljke i ploda paprike

Iako ime vrste *annuum* (lat. *annus*, godina) sugerira da se radi o jednogodišnjoj biljci to nije slučaj, nego su pripadnice ove vrste jako osjetljive na hladnoću i mraz te lako ugibaju. Ukoliko su temperature veće od 12 °C biljka može preživjeti nekoliko sezona te izrasti u velik grm. Na gusto razgranatoj stabljici dugoj 50-200 cm rastu pojedinačni cvjetovi koji su bjelkaste i ponekad ljubičaste boje. Plodovi (Slika 1.) paprike su botanički kategorizirani kao bobice koje dozrijevaju u razne oblike, veličine i boje ali su najčešće zelene, žute, narančaste i crvene [3]. Dužina korijena ovisi o vrsti ali uglavnom seže 50-70 cm u dubinu te je većina razgranata i blizu površine zemlje ali slabe moći iskorištenja tvari i vode iz tla. Korijen čini oko 10 % mase biljke [7]. Listovi su zeleni, glatki, eliptični te 3-5 cm dugački i 1,5-3 cm široki [8].



Slika 1. Stabljika paprike s listovima i plodovima [9].

Cvjetovi, prašnici i cvjetne stapke vrsta paprike variraju. Kod vrste *C. annum* L. cvjetovi su bijeli ili sivkasti, zvjezdoliki i dvospolni, široki su oko 1 cm te se pojavljuju najčešće pojedinačno. Sastoje se od zvonaste čaške svijetlozelene boje koju čini najčešće 5 lapova dugačkih 1-2 cm. Svaki cvijet sadrži 3-5 prašnika koji okružuju tučak u sredini [8].

Sorte vrste *C. frutescens* L. imaju cvjetove žute do bijele boje s plavim ili ljubičastim prašnicima te uskim i dugačkim cvjetnim stapkama. Vrsta *C. chinense* Jacq. Ima slične cvjetove ali bez žutih nijansi te s kraćim i debljim cvjetnim stapkama. Na svakom nodu biljka ima 2 ili više cvjetova. Cvjetovi vrste *C. baccatum* L. su bijeli sa žutim ili svijetlo smeđim oznakama na bazi i sa žutim prašnicima. Na svakom nodu biljka ima samo jedan cvijet. Vrsta

*C. pubescens* Ruiz & Pav. ima bijele do zelenkaste ili ljubičaste cvjetove koji pobijele pri bazi te imaju ljubičaste prašnike [3].

Plod je višesjemena boba dugačka 1-33 cm te podijeljena s nekoliko pregrada u čijoj se sredini nalazi sjemena loza s do 500 sjemenki. Sjeme je bubrežastog oblika, glatke površine i blijedožute boje. Sjemenke su dugačke 3-4 mm, široke 2-3 mm, debljine do 1 mm i mase 0,005-0,0067 g. Sastoje se od sjemene ljuske koja obavija sjemenku, endosperma u kojem se nalazi rezervna hranjiva tvar potrebna za početni razvoj biljke, pupka kojim je sjeme pričvršćeno za sjemenu lozu te klice koju čine supke i klicin korjenčić [8].

### 3.1. Sorte paprike

Sorte paprike se razlikuju po svojstvima plodova odnosno po ljutini, boji, obliku, veličini, okusu, a time i po upotrebi. Sorte se najviše dijele po ljutini, na blage i ljute. Blage sorte se ponekad zovu slatke paprike jer nemaju kapsaicin koji paprikama daje ljutinu. Ljute sorte se uzgajaju u Indiji, Kini, Indoneziji, Južnoj Koreji, Pakistanu, Turskoj i Šri Lanci. Blage i srednje ljute sorte se najviše uzgajaju u Mađarskoj, Španjolskoj, Rumunjskoj te Bugarskoj [10].

*C. annuum* L. može biti teško razlikovati od kultiviranih *C. chinense* Jacq. (najljuće paprike) i *C. frutescens* L. (Tabasco paprika), jer im se morfološke karakteristike mogu poklapati. Ove tri vrste dijele iste pretke pa se katkad nazivaju “*annuum-chinense-frutescens* kompleksom”. Sorte i kultivari *C. annuum* L. se razvrstavaju na osnovu oblika ploda. Postoji više tisuća sorti no ne može se odrediti točno koliko zbog stalnog pojavljivanja novih sorti nastalih križanjem postojećih. Nove sorte nastaju brzo jer lako dolazi do međusobnog oprašivanja [2].

#### 3.1.1. Blage sorte paprike

Blage sorte paprike uključuju babure i pimiento (španjolska i portugalska paprika). Babure su kockastog oblika ploda (Slika 2.), duge i široke oko 10 cm te ravne baze. Najčešći su kultivar, dolaze u crvenim, narančastim, žutim, zelenim, ljubičastim i smeđim bojama te se često jedu svježe u salati. Pimiento su srcolikog oblika, zelene kad su nezrele te crvene kad

sazriju. Slađe su od babura te se za razliku od njih češće jedu u obrađenoj hrani, poput pimiento sira i punjenih maslina, ali mogu se jesti i svježe [11].



Slika 2. Vanjski i unutarnji izgled ploda babure [12].

### 3.1.2. Ljute sorte paprike

Sorte koje imaju blage i ljute kultivare su cherry, New Mexican i jalapeño. Cherry paprike su male, okrugle ili oble, zelene nezrele a sazrijevanjem pocrvene [2]. New Mexican sorta (Slika 3.) su dugačke i zelene te sazrijevanjem pocrvene. Razvio ih je profesor hortikulture Fabian Garcia na New Mexican State University 1921. godine. Prije obrade se gule te jedu svježe ili pripremaju za kiseljenje. Također se beru zrele i crvene kako bi se usitnile u prah [13].



Slika 3. Zdjela plodova New Mexican paprika [14].

Ljute sorte su pequin/chiltepin, ancho, cayenne, chihuacle, Cuban, pepperoncini, Costeno, jalapeño i santaka. Pequin/chiltepin paprike se još nazivaju ptičje paprike te su divlja

sorta. Plodovi su manji od ostalih paprika, dugački 2 cm i široki 1 cm. Postoje okrugle (tepin) i oble (pequin). Zeleni plodovi se kisele a crveni suše i koriste kao začin [2].

Ancho paprike su slabo ljute, srcolikog oblika, šiljate te tamno zelene boje nezrele ali sazrijevanjem pocrvene. Gotovo isključivo rastu u Meksiku te se od njih prave punjene paprike (šp. *Chile rellenos*). Plodovi narastu 8-15 cm dugački te su konusni, cilindrični ili ravni ali šiljatog vrha [2].

Cayenne paprike su nazvane po istoimenom gradu i rijeci u Francuskoj Gvajani, zrele su crvene i smežurane, narastu 13-25 cm dugačke te 1,2-2,5 cm široke. Jako su ljute te se uzgajaju u Africi, Indiji, Meksiku, Japanu i SAD-u. Najčešće se koriste za izradu ljutih umaka tako da se fermentirane miješaju sa soli i octom, ili se sušene melju u prah komercijalnog naziva kajenski papar [2].

Chihuacle su rijetke paprike koje rastu samo na jugu Meksika te su raznih oblika, 5-7,5 cm duljine i 4-6 cm širine. Oblik im varira od malih zvijezda (sličnih baburi) do šiljatih paprika. Nezrele su zelene a sazrijevanjem mijenjaju boju u žutu, crvenu ili crnu pa im otud dolazi ime: chihuacle amarillo (žute), chihuacle rojo (crvene) te chihuacle negro (crne) [2].

Kubanski tip su velike, nepravilnog oblika i tankih stijenki te imaju dva česta kultivara: Cubanelle i Aconcagua. Pepperoncini imaju dvije sorte: tamno zelene talijanske i svijetlo zelene grčke. Kubanske paprike i pepperoncini su slabo ljute sorte [2].

Costeno paprike se uzgajaju u sjevernom Meksiku te biljke mogu narasti do 1,5 m visine s puno grana. Paprike su dugačke i konusne ili ovalne te rastu 2-15 cm u duljinu i 1-3 cm u širinu. Nezrele su svijetlo zelene, gotovo žute ali sazrijevanjem dobiju svijetlo crvenu boju i jako su ljute [2].

Jalapeño paprike su imale bilješko meksičkom gradu Jalapa. Konusnog su oblika, tamno zelene nezrele te pocrvene kako sazrijevaju i jako su ljute. U SAD-u su kultivirane jalapeño paprike i drugih boja. Koriste se kao začin te se većina kiselu a mali dio suši. Zrele crvene jalapeños se suše dimljenjem i takav proizvod se naziva chipotle [2].

Santaka paprike su japanska sorta, dugačke su oko 7 cm te široke oko 0,7 cm, jako su ljute ali ljutina brzo prolazi. Suše se kad su zrele i crvene te koriste kao začin [2].

#### 4. Tradicionalna upotreba paprike

Od svih začina paprika se najdulje koristi. MacNeish (1964) je pronašao dokaze da su američki Indijanci s područja Meksika koristili čili prije više od 9 tisuća godina. Otprilike iz istog razdoblja su nađeni ostaci paprika u Ocampo i Tehuacan špiljama. Pretpostavlja se da su čiliji pronađeni tijekom skupljanja divljeg bilja. Heiser (1976) navodi nalaze iz razdoblja od 6. do 4. tisućljeća pr. n. e. koji pokazuju da su Indijanci uzgajali paprike, što ih čini jednim od najstarijih kultivara Amerike [2].

Paprika je jedna od biljaka često korištenih u tradicionalnoj medicini u više zemalja i civilizacija. Maje su paprike koristile u raznim jelima kao i za tretiranje astme, kašlja, upaljenog grla i drugih bolesti, dok su ih Azteci uz to koristili i za zubobolju. Uz to se koriste za liječenje grčeva mišića, artritisa, astme, dijareje te otekline. U Južnoj Africi paprika je sastavni dio kulture hrane te se svakodnevno konzumira u raznim oblicima jela [2].

Na prostoru Republike Hrvatske i okolnih država paprika se koristi za pripremu jela i umaka. Prvo i možda najpoznatije je ajvar koji se pravi jesen kad je dostupna najveća količina paprike. Za pripremu ajvara plodovi paprike se peku, ogulje i izvade se sjemenke. Paprikama se dodaje patlidžan (koji se često i ne dodaje), češnjak, malo suncokretovog ili maslinovog ulja, vinskog octa i soli. Sve zajedno izmeljeno se lagano kuha 30 minuta uz povremeno miješanje te je nakon hlađenja spremno za jelo [15].

Pindžur je jelo slično ajvaru ali uz papriku i patlidžan sadrži i rajčicu, najčešće u omjeru 2 : 1 : 1. Priprema je gotovo identično pripremi ajvara [16]. Ljutenica je namaz od paprike s rajčicom koje se najviše priprema u Bugarskoj i Makedoniji. Najveća razlika u odnosu na ajvar i pindžur je velik udio ljute paprike. Rajčica se melje i prži 20 minuta a paprike se melju i dodaju u smjesu koja se zatim dodatno kuha 20 minuta. Nakon hlađenja spremna je za jelo [17].

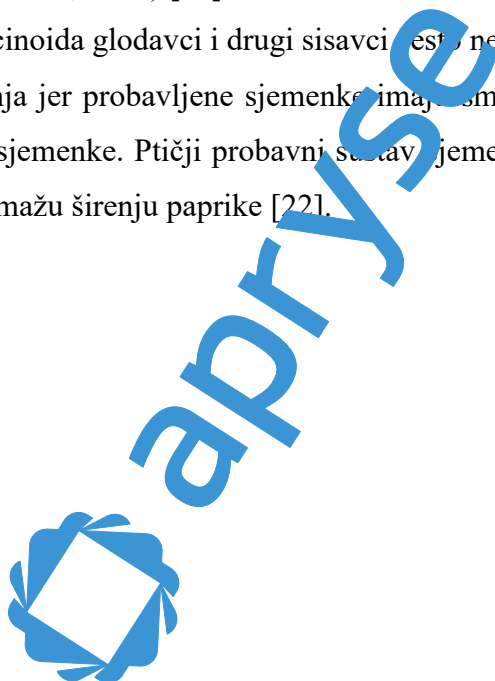
Lovačka salata je još jedna vrsta zimnice uz ajvar, pindžur i ljutenicu koja se radi od paprike. Mogu se naći razni recepti za pripremu ovog jela. Prema jednom od njih, mrkva narezana na kolute se kuha pasiranoj rajčici 40 minuta, a zatim se dodaju sol, peršin, ocat, ulje, ljute paprike po želji te nekoliko kilograma paprike narezane na trake. Takva smjesa se kuha uz povremeno miješanje daljnjih 20 minuta te je nakon hlađenja spremna za jelo i čuvanje. Naziv lovačka salata se pretpostavlja da potiče od pretpostavke da lovci vole ljutu hranu, pa je tako i lovačka salata često ljuta [18].

Muhammara je sirijski namaz od paprike sličan ajvaru i pindžuru, radi se od oraha, paprika babura i melase od grejpa. Jede se kao namaz na kruhu ili kao umak za umakanje

pečenog mesa i ribe. Sastojci se samelju i pomiješaju te se. Tako pripremljena muhammara se čuva u hladnjaku [19].

Još jedna upotreba paprike je u sprejevima za samoobranu. Postali su popularni za policijsku upotrebu i osobnu zaštitu [2]. Većina sprejeva za civilnu samoobranu sadrži uljnu smolu ljute paprike (engl. *oleoresin capsicum*, OC) [20]. OC sprej je razvijen u SAD-u 1960. godine, a 1989. godine odobrena je njegova upotreba [21]. Priprema OC-a započinje ekstrakcijom kapsaicina iz mljevene ljute paprike pomoću organskog otapala, najčešće etanola. Otapalo se zatim upari, a smola slična vosku se emulzira propilen glikolom kako bi se suspendirala u vodi. OC se tada tlači za upotrebu u spreju. Sprejevi sadrže kapsaicin u većim koncentracijama nego u paprikama, najčešće 5-10 % te sadrže 0,5-2 milijuna Scoville jedinica ljutine (engl. *Scoville Heat Units*, SHU) [20].

Zbog ljutine kapsaicinoida glodavci i drugi sisavci često ne jedu papriku. Za papriku je ovo bitan mehanizam širenja jer probavljene sjemenke imaju smanjenu klijavost. Ptice jedu papriku ali ne probavljaju sjemenke. Ptičji probavni sustav sjemenke napuštaju netaknute pa mogu klijati, čime ptice pomažu širenju paprike [22].



## 5. Aktivne tvari u paprici

Svježi plodovi svih sorti uz vodu (koja čini 90 % mase) sadrže značajne količine vlakna, proteina, glukoze, škroba i fruktoze. Ostali spojevi su vitamini B, C, E, provitamin A, odnosno karoten, te drugi pigmenti uz ljute spojeve kapsaicinoide, minerale i ulja (Tablica 3.). Osim prirodno prisutnih tvari, u paprici su uslijed ljudskih aktivnosti nađeni i razni organski i anorganski zagađivači, poput polikloriranih bifenila, pesticida i teških metala [2].

Tablica 3. Kemijski sastav svježeg ploda paprike (g/100 g ploda) [2].

<b>Spojevi</b>	<b>Maseni udio ± s.d.</b>
<b>Voda</b>	90 ± 0,6
<b>Glukoza</b>	0,85 ± 0,1
<b>Fruktoza</b>	0,75 ± 0,1
<b>Škrob</b>	0,81 ± 0,2
<b>Vlakna</b>	2,2 ± 0,3
<b>Pektin</b>	0,73 ± 0,1
<b>Limunska kiselina</b>	28 ± 12 x10 <sup>-3</sup>
<b>Fumarna kiselina</b>	1,1 ± 0,4 x10 <sup>-3</sup>
<b>Jabučna kiselina</b>	208 ± 18 x10 <sup>-3</sup>
<b>Oksalna kiselina</b>	140 ± 24 x10 <sup>-3</sup>
<b>Vitamin C</b>	24 ± 12 x10 <sup>-3</sup>
<b>Klorofil a</b>	7,9 ± 2 x10 <sup>-3</sup>
<b>Klorofil b</b>	3,4 ± 0,6 x10 <sup>-3</sup>
<b>Trans-lutein</b>	1,4 ± 0,3 x10 <sup>-3</sup>
<b>Trans-β-karoten</b>	0,92 ± 0,4 x10 <sup>-3</sup>
s.d. – standardna devijacija	

Nehlapljiva ulja u paprici su građena većinom od triglicerida, od kojih su linolna i druge nezasićene masne kiseline dominantne. Nehlapljivo ulje paprike se nalazi isključivo u sjemenkama. Sadržaj masti i sastav mljevene paprike te podložnost oksidaciji mljevene paprike ovisi o tome jesu li sjemenke bile uklonjene prije mljevenja [2].



Buttery i sur. (1969) su određivali sastav ulja svježih kalifornijskih zelenih babura (*C. annuum* var. *Grossum* Sendt). Paprike su razrezane, sjemenke su odstranjene, a paprike su macerirane. Nastala kaša je tretirana u aparaturi za vakuumsku parnu destilaciju i kontinuiranu ekstrakciju pri tlaku 80-100 mm Hg i temperaturi 45-50 °C. Heksan je korišten kao otapalo za ekstrakciju a ekstrakcija je provođena 3 sata. Ekstrakt je sušen preko natrijevog sulfata, zatim filtriran te je uklonjeno otapalo kako bi se dobilo ulje. Masa ulja je iznosila 10,5 mg, odnosno 1-2 ppm (engl. *parts per million*, dijelova na milijun) mase cijele paprike. Provedena je i izolacija ulja destilacijom vodenom parom pri atmosferskom tlaku. Za ekstrakciju se koristio pentan a vrijeme ekstrakcije 1-5 sati dalo je prinos ulja u rasponu 10-20 ppm cijele paprike. Utvrđeno je da hlapljivo ulje čini 0,1-2,6 % mase paprike [23].

Kod sorti *C. annuum* L. sazrijevanje ploda rezultira promjenom količine karotenoida, flavonoida, klorofila, askorbinske kiseline te drugih spojeva. Kako plod sazrijeva umjesto klorofila se stvaraju crveni karotenoidi te s njima i ksantofili, kriptoksantin, zeaksantin, luteoksantin i kapsantin. Kloroplasti bogati klorofilima se mijenjaju u kromoplaste koji sadrže karotenoide. Čuvanjem i mljevena paprika gubi boju. Gubitak boje počinje raspadom vitamina C i E, a nastavlja se raspadom žutih i crvenih karotenoida što je posljedica oksidacije [2].

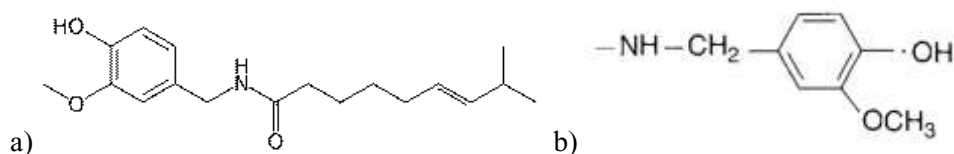
### 5.1. Kapsaicinoidi

Kosuge i sur. (1965) su pokazali da su spojevi zaslužni za ljutinu paprike (osim babure) nezasićeni i zasićeni amidni plodovi kapsaicin (8-metil-*N*-vanilil-6-nonenamid) i dihidrokapsaicin (8-metil-*N*-vanililnonenamid). Ova dva spoja se nalaze u sjemenkama ploda, njihova smjesa je nazvana kapsaicinoid te je bezbojna [24]. Kulka (1967) je otkrio da su za ljutinu ovih i sličnih spojeva odgovorni aromatski prsten s fenolnom hidroksilnom skupinom i eterskom skupinom (poput metoksi) u *orto* položaju, kao i bočni lanac čija su duljina i sastav također bitni. Ljutinu dodatno pojačava kisela amidna skupina, u slučaju kapsaicinoida vanililamid [25].

Kapsaicin ima nepolarnu fenolnu strukturu te je netopljiv u vodi. Topljiv je, međutim, u nepolarnim otapalima poput etera, benzena, dimetil sulfoksida te acetona, koja se koriste za ekstrakciju i očuvanje svojstava kapsaicina. Zbog strukture kapsaicin se dobro apsorbira, uzet preko kože ili oralno, te je uspješnost apsorpcije i do 94 % [26].

Prilikom sinteze kapsaicinoida prvo se odvija pretvorba kavene kiseline u feruličnu kiselinu putem metilacije hidroksilne skupine na C-3 atomu benzenskog prstena. Ferulična

kiselina se potom pretvara u vanilin koji se dalje pretvara u vanililamin kojeg se kondenzira s lancem masne kiseline da stvori kapsaicinoid [2].



Slika 4.a) Kapsaicin [27] i b) R- skupina kapsaicinoida [2].

U kapsaicinoide se ubrajaju kapsaicin (Slika 4.a)), dihidroksikapsaicin, nordihidroksikapsaicin, homodihidroksikapsaicin, homokapsaicin te *N*-vanilin nonanamid, koji su sličnih strukturnih formula (Tablica 4.), s R- skupinom zajedničkom (Slika 4.b)). Oko 90 % ljutine čili paprike čine kapsaicin i dihidrokapsaicin, dok ostatak čine ostali derivati kapsaicina. Ljutina, odnosno količina kapsaicina u papriki varira znatno među sortama, sezonama rasta, mjestima uzgoja i dr. [2].

Tablica 4. Strukturna formula i naziv kapsaicinoida [2].

Strukturna formula	Naziv kapsaicinoida
$(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_4\text{CO-R}$	kapsaicin
$(\text{CH}_3)_2\text{CH}(\text{CH}_2)_6\text{CO-R}$	dihidroksikapsaicin
$(\text{CH}_3)_2\text{CH}(\text{CH}_2)_9\text{CO-R}$	nordihidroksikapsaicin
$(\text{CH}_3)_2\text{CH}(\text{CH}_2)_9\text{CO-R}$	homodihidroksikapsaicin
$(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_5\text{CO-R}$	homokapsaicin
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CO-R}$	<i>N</i> -vanilin nonanamid

Pronađene su znatne razlike u sastavu i omjeru kapsaicinoida različitih vrsta paprike. Identifikacija vrste paprike po kemijskom sastavu se podudara s ranijim klasifikacijama na osnovi morfologije cvjeta te se stoga može upotrebljavati kao dodatna metoda identifikacije [2].

Jurenitsch i sur. (1979) su proveli analizu koja je obuhvaćala 4 vrste iz 23 različita izvora, s ukupno 71 uzorkom, a koja je pokazala da su omjeri zasebnih kapsaicinoida karakteristični za svaku vrstu. Tako su uzorci vrste *C. annuum* L. pokazali velik raspon

vrijednosti, 0,098-1,477 % mase čine kapsaicinoidi. Najveće vrijednosti su jednake ili veće od vrijednosti za *C. frutescens* L., koja često slovi za najljuću vrstu paprike. Velik broj uzoraka *C. annuum* L. sadrži > 0,5 % kapsaicinoida te je moguće da su uzorci bile sitnije papričice jer su manji plodovi paprike često ljući. Omjer kapsaicina i dihidrokapsaicina varira ali je najčešće oko 1 : 1. Nordihidro-kapsaicin čini oko 12-13 % ukupnih kapsaicinoida [28].

Za uzorke *C. frutescens* L. Jurenitsch i sur. (1979) su utvrdili vrijednosti 0,258-1,218 % te je čak polovica uzoraka dala vrijednosti < 0,5 %. Varijacije omjera kapsaicina (63,2-77,2 %) i dihidroksikapsaicina (21-32 %) nije velika te je omjer uglavnom oko 2 : 1. Nordihidroksikapsaicin je pokazao veće variranje, s najmanjom vrijednosti 0,8 % te najvećom vrijednosti 8,6 % [28].

Za uzorke vrste *C. baccatum* L. var. *pendulum*, rezultati istog istraživanja su pokazali nizak raspon vrijednosti 0,116-0,251 %. Individualni kapsaicinoidi variraju manje te im je omjer 2 : 1. S druge strane, uzorci vrste *C. pubescens* Ruiz & Pav. imaju raspon vrijednosti 0,121-0,358 %. To je jedina od ispitanih vrsta s manje kapsaicina nego dihidrokapsaicina, s vrijednostima za kapsaicin 25,5-36,3 % te za dihidroksikapsaicin 48,8-54,2 %. Vrijednosti pokazuju omjer 1 : 1,7. Vrijednost norhidrokapsaicina iznosi 5,1-15,4 % [28].

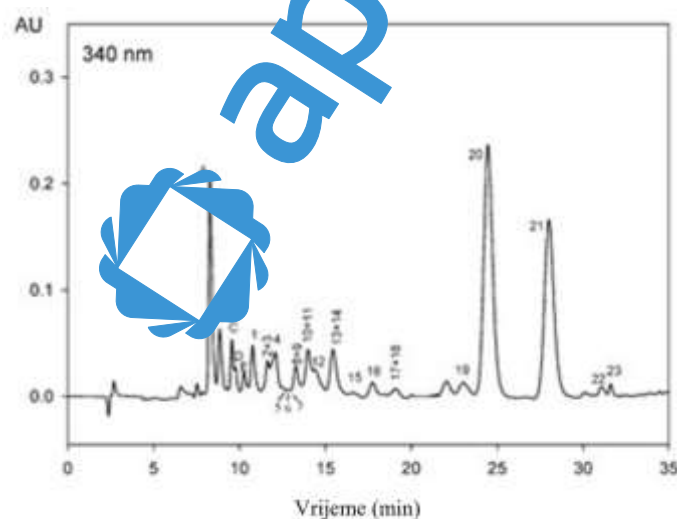
Razina ljutine paprika se određuje osjetilnom, fotometrijskom i plinsko-tekućinskom kromatografskom metodom kao i spektrofotometrijskom polarografskom titracijom, papirnom kromatografijom te tankoslojnom kromatografijom. Od njih su se kao najbolje pokazale kromatografske metode, dok se spektrofotometrijske metode preporučuju za mjerenje sadržaja kapsaicinoida [2].

Ljutina paprika se mjeri Scoville jedinicama ljutine (engl. *Scoville Heat Units*, SHU) te 1 ppm kapsaicinoida predstavlja 15 SHU [2]. Raspon ljutine paprika je širok, babure (*C. annuum* L.) ne sadrže kapsaicinoide pa imaju 0 SHU, New Mexican paprike (*C. annuum* L.) imaju 5 tisuća SHU, jalapeño paprike (*C. annuum* L.) sadrže 10 tisuća SHU, tabasco (*C. frutescens* L.) i kajenske paprike (*C. annuum* L.) imaju 50 tisuća SHU. Nadalje, habanero paprike (*C. chinense* Jacq.) mjere 350 tisuća SHU, trenutno najljuća paprika Trinidad Moruga Scorpion (*C. chinense* Jacq.) ima 2 milijuna SHU, a čisti kapsaicin mjeri 16 milijuna SHU [29]. Raspodjela ljutih spojeva u plodu je nejednaka ali su najprisutniji u sjemenkama. Začin paprika često sadrži manje od 0,1 % kapsaicinoida a čili sadrži oko 0,1-1,4 % [2].

## 5.2. Antioksidansi

Antioksidacijska svojstva paprike se pripisuju velikom sadržaju vitamina (A, C, E i folati) i neesencijalnih fitokemikalija. Od fitokemikalija, najbitnijima su se pokazali polifenoli zbog sposobnosti hvatanja slobodnih radikala te *in vivo* bioloških aktivnosti [30].

Marín i sur. (2004) su ispitali polifenolni sastav paprike babure (*C. annuum* L.) u raznim stadijima zrenja (nezrela zelena, zelena, nezrela crvena te crvena). Identificirali su fenole (hidroksicimetna kiselina i flavonoide), vitamin C (askorbinska i dehidroaskorbinska kiselina) te karotenoide. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti s detekcijom nizom dioda (engl. *high-performance liquid chromatography with diode-array detection*, HPLC-DAD) je korištena za analizu metanolskog ekstrakta iz perikarpa te je pokazala da plod ima bogat polifenolni sastav. Time su proširili rezultate prijašnjih istraživanja Lee i sur. (1995) i Howard i sur. (2000) koji su utvrdili samo kvercetin i luteolin. Polifenolni uzorak ekstrakta (Slika 5.) se sastojao od kombinacije pikova sa specifičnim UV spektrom hidroksicimetne kiseline te drugih pikova s tipičnim UV spektrom flavonola i flavona uz spektar koji označava prisutnost C-glikosilflavona [30].



Slika 5. HPLC-DAD kromatogram ekstrakta paprike [30].

Spojevi prikazani HPLC-DAD kromatogramom su većinom glikozidi flavonoida, B označava *trans-p*-kumaroil- $\beta$ -D-glukopiranozid, D označava *trans*-feruloil- $\beta$ -D-glukopiranozid, a E označava *trans*-sinapoil- $\beta$ -D-glukopiranozid. Glikozidi apigenina su označeni brojevima 2 (apigenin 6,8-di-C-heksozid), 8 (apigenin 6-C-pentozid-8-C-heksozid) i

16 (apigenin 6-*C*-heksozid-8-*C*-pentozid). Glikozidi krizoeriola su označeni brojevima 7 (krizoeriol 6,8-di-*C*-heksozid), 12 (krizoeriol 6-*C*-heksozid-8-*C*-pentozid) i 22 (krizoeriol 7-*O*-(2-apiosil-6-acetil)glukozid). Glikozidi kvercetina su označeni brojevima 3 (kvercetin 3-*O*-ramnozid-7-*O*-glukozid) i 20 (kvercetin 3-*O*-ramnozid). Glikozidi luteolina su označeni brojevima 1 (luteolin 6,8-di-*C*-heksozid), 4 (luteolin 6-*C*-heksozid-8-*C*-pentozid), 5 (luteolin 6-*C*-heksozid-8-*C*-pentozid), 6 (luteolin 6-*C*-pentozid-8-*C*-heksozid), 9 (luteolin 6-*C*-(6-malonil)heksozid-8-*C*-heksozid), 10 (luteolin 6-*C*-pentozid-8-*C*-heksozid), 11 (luteolin 8-*C*-heksozid), 13 (luteolin 6-*C*-heksozid-8-*C*-ramnozid), 14 (luteolin 6-*C*-heksozid), 15 (luteolin 6-*C*-(6-malonil)-heksozid-8-*C*-pentozid), 17 (luteolin 6-*C*-ramnozid-8-*C*-heksozid), 18 (luteolin 7-*O*-(2-apiosil)glukozid), 19 (luteolin 7-*O*-(2-apiosil-6-acetil)glukozid), 21 (luteolin 7-*O*-(2-apiosil-6-malonil)glukozid) te 23 (luteolin 7-*O*-(2-apiosil-diacetil)glukozid). Slova A i C označavaju derivat kavene kiseline [30].

Prema Marín i sur. (2004), u plodu paprike se saznajvanjem znatno mijenja razina prisutnih pigmenata, polifenola, vitamina i drugih spojeva. Nezreli plodovi su zelene boje najviše zbog prisutnosti klorofila. Narančastu i žutu boju plodu daju karotenoidi ili ksantofili, violaksantini, neoksantini i luteina, kao i beta-karoteni. Od karotenoidnih pigmenata bitni su kapsantin, kapsorubin te kapsantin 5,6-epoksid koji su gotovo isključivi rodu *Capsicum* te su zaslužni za konačnu crvenu boju ploda. Crvene paprike sadrže najveće količine provitamina A (beta-karoten i beta-kriptoksantin) [30].

### 5.2.1. Flavonoidi

Flavonoidi su raznolika skupina fitonutrijenata prisutnih u gotovo svom voću i povrću. Također se mogu naći u proizvodima poput vina, čaja, čokolade i dr. Skupine flavonoida često prisutne u hrani su antocijanidini, flavanoli, flavoni, flavonoli, flavononi te izoflavoni. Zajedno s karotenoidima zaslužni su za žarke boje voća i povrća. Flavonoidi su najveća skupina fitonutrijenata te sadrže više od šest tisuća spojeva [31].

Dobri su antioksidansi, s protuupalnim svojstvima te pomažu tijelu u borbi s raznim toksinima [31]. Ispitivanje o nacionalnom zdravlju i prehrani (engl. *National Health and Nutrition Examination Survey*, NHANES) je studija o unosu flavonoida za osobe starije od devetnaest godina (1999.-2002.) kojom je utvrđen prosječni dnevni unos od  $189,7 \pm 11,2$  mg flavonoida. Flavan-3-oli su bili najznačajnija skupina flavonoida s 82,5 % ukupnog dnevnog unosa, dok su flavanoni predstavljali 7,6 %, flavonoli 6,8 %, antocijanidini 1,6 %, flavoni 0,8

% te izoflavoni 0,6 % dnevnog unosa. Ista studija kao glavne izvore flavonoida navodi čaj, vino, citrusne i voćne sokove [32].

Bondonno i sur. (2023) su pregledali dva velika seta podataka za studiju o povezanosti unosa flavonoida i mortaliteta. Prvi set podataka je dobiven iz *Nurses' Health Study* koji je započeo 1976. godine te obuhvaća 121701 medicinsku sestru dobi 30-55 godina. Drugi set podataka je iz *Health Professionals Follow-Up Study* koji je započeo 1986. godine te obuhvaća 51529 muških zdravstvenih radnika dobi 40-75 godina. Početna godina je 1994. a završna 2018. Iz studije su isključeni sudionici s krvožilnim i neurološkim bolestima, dijabetesom i rakom. Završna analiza je uključivala 55786 žena i 29800 muškaraca. Tjelesna masa se s vremenom svima povećala ali je onima s većim unosom hrane bogate flavonoidima zabilježen manji porast mase i veći porast trošenja energije i fizičke aktivnosti. Srednji unos većine hrane bogate flavonoidima je ostao stabilan tijekom vremena, osim groznica, čaja i crnog vina, čiji se unos povećao, te citrusa (naranče i grejp) i njihovih sokova kojima se unos smanjio. Utvrdili su da povećan unos hrane i pića bogatih flavonoidima dovodi do smanjenja mortaliteta do 11 %. Dodatno su otkrili da unos tri porcije dnevno bilo koje hrane bogate flavonoidima dovodi do smanjenja rizika mortaliteta od 8 % te smanjenja rizika neurološke smrti od 13 % [33].

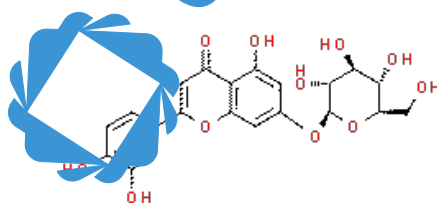
Knekt i sur. (2002) su istraživali vezu unosa flavonoida i rizika dobivanja kroničnih krvožilnih i dišnih bolesti te raka i dijabetesa. Srednji ukupni unos flavonoida u studiji je iznosio  $24,2 \pm 26,7$  mg dnevno. Većinu unosa predstavlja hesperetin s  $15,1 \pm 18,8$  mg, slijede ga naringenin s  $5,1 \pm 8,8$  mg, kvercetin s  $3,7 \pm 2,4$  mg, kaempferol s  $0,6 \pm 0,7$  mg te miricetin s  $0,1 \pm 0,2$  mg. Mortalitet u slučaju ishemijske bolesti srca je manji pri većem unosu kvercetina i kaempferola. Pojava raka je znatno manja pri velikom unosu kvercetina, najviše zbog smanjenog rizika raka prostate u muškaraca. Rizik raka prostate je manji pri većem unosu miricetina, dok je rizik raka dojke manji pri većem unosu kvercetina. Nije nađena veza između unosa flavonoida i pojave raka probavnog i urinarnog sustava. Smanjen rizik dijabetesa tipa 2 je nađen pri većem unosu kvercetina. Pojava astme je manja pri većem unosu flavonoida, poglavito kvercetina, hesperetina i naringenina. Osobe s većim ukupnim unosom flavonoida pretežno imaju manji opći mortalitet. Za ovu vezu su poglavito naveli kvercetin [34].

Maleki i sur. (2019) su istražili različite mehanizme protuupalnog djelovanja flavonoida, poput inhibicije regulacijskih enzima i transkripcijskih faktora koji imaju važne uloge u kontroli medijatora uključenih u upalnim procesima. Enzimi koje inhibiraju su protein kinaze (fosfoinositol kinaza, protein kinaza C, fosfatidilinositol kinaza i tirozin kinaza) te fosfodiesteraze. cAMP fosfodiesteraza je glasnička molekula koja je ključna za regulaciju različitih staničnih funkcija tijekom upale. Visoke razine cAMP-a su povezane s protuupalnim

funkcijama. Enzimi fosfodiesteraze hidroliziraju cAMP kako bi održali normalne razine. Inhibicijski učinak flavonoida na fosfodiesteraze imaju potencijal da blokiraju raspadanje cAMP-a i produže signaliziranje cAMP-a [35].

Flavonoidi također pokazuju antioksidacijska svojstva zbog inhibicijskog učinka na proizvodnju slobodnih radikala i zbog hvatanja reaktivnih kisikovih vrsta (engl. *reactive oxygen species*, ROS), reaktivnih dušikovih vrsta (engl. *reactive nitrogen species*, RNS) i drugih reaktivnih spojeva. Antioksidacijska svojstva flavonoida proizlaze iz njihove strukture i fenolnih vodika koji im omogućuju da se ponašaju kao donori vodika [35].

Kim i sur. (2013) su proveli analizu listova tri kultivara crvene paprike. Kultivari su Blackcuban (BC), Hongjinju (H) te Yeokgang-hongjanggung (YH). Svježi listovi su odmah nakon ubiranja spremljeni na -20 °C do analize. Listovi mase 1 kg su ekstrahirani tri puta s etanolom koji je sadržavao 0,1 % HCl u tamnom okruženju tijekom 24 sata pri sobnoj temperaturi. Kiselo etanolско otapalo je isparavano pri nižem tlaku te se dobilo 76,10 g BC ekstrakta, 49,99 g H ekstrakta i 45,27 g YH ekstrakta. Ukupni sadržaj flavonoida u listovima je sličan za ove tri sorte, izražen je kao ekvivalent kvercetina po svježoj masi te iznosi  $2,4 \pm 0,1$  mg/g za H listove,  $2,5 \pm 0,1$  mg/g za BC listove te  $2,7 \pm 0,2$  mg/g za YH listove. Četiri flavonoidna spoja izolirana iz listova su identificirani HPLC metodom, to su luteolin 7-*O*-apiofuranozil-(12)-glukopiranozid, luteolin 7-*O*-glukopiranozid (Slika 6), apigenin 7-*O*-apiofuranozil-(12)-glukopiranozid te apigenin 7-*O*-glukopiranozid [36].



Slika 6. Struktura luteolin 7-*O*-glukopiranozida [37].

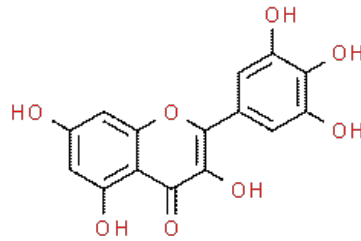
Flavonima pripadaju primjerice apigenin, akacetin, luteolin, diosmetin i krizoeriol, njihovi izvori su paprika, zeleni i crni čaj, celer, peršin i razno začinsko bilje. Povezuju se s općim antioksidanskim djelovanjem i interferiraju s metabolizmom nekih lijekova. U biljkama su najčešće konjugirani kao 7-*O*-glikozidi te mogu imati acetilne i malonilne skupine. Hostetler i sur. (2017) su utvrdili da svježi plodovi paprike babure (*C. annuum* L.) sadrže 0,1-12,9 mg flavona / 100 g te uz glavočike (Asteraceae) i šitarke (Apiaceae) imaju najveći sadržaj flavona. Glavni flavoni utvrđeni u paprici su luteolin i luteolin glikozidi [38].

Miean i sur. (2001) su proveli analizu jestivog tropskog bilja u kojem su među ostalim testirali paprike babure (*C. annuum* L.), ptičje oko ili Tajlandski čili (*C. frutescens* L.), zeleni čili (*C. annuum* L.) i crveni čili (*C. annuum* L.). Sadržaj flavona apigenina i luteolina je određivan iz suhih uzoraka biljaka nakon ekstrakcije i hidrolize flavonoidskih glikozida. Biljke su očišćene, sušene u peći, samljevene te im je dodana zakiseljena (HCl) otopina metanola i *tert*-butilhidrokinona.. Smjesa je grijana na 90 °C tijekom 2 sata. Ekstrakt je ohlađen, filtriran, dopunjen metanolom te filtriran, a flavonoid aglikoni u ekstraktu su određeni HPLC-om. Razine luteolina u Tajlandskom čiliju su iznosile 1035 mg/kg, u zelenom čiliju 33 mg/kg dok u crvenom čiliju i baburi nije utvrđen. Tajlandski čili je imao najveću razinu luteolina od svih biljaka korištenih u analizi. Sadržaj apigenina u baburi je 272 mg/kg dok u ostalim paprikama nije utvrđen [39].

Flavonoli su široko rasprostranjena podgrupa flavonoida koja uključuje kvercetin, miricetin i kaempferol. Nađeni su u paprici, luku, poriluku, pakulicama, kelju, brokuli, čaju, bobičastom voću, grahu i jabukama. Kvercetin je antioksidans povezan s ublažavanjem peludne groznice i osipa [31]. Miricetin (Slika 7) je sličan kvercetinu te se ponekad i naziva hidroksikvercetinom. Lin i sur. (2012) ga zajedno s kvercetinom, kaempferolom i drugim flavonolima povezuju s protuupalnim i antioksidativnim djelovanjem te prevencijom raka, kroničnih bolesti i stanja poput reumatoidnog artritisa, povišenog kolesterola, povišenog krvnog tlaka te Parkinsonove i Alzheimerove bolesti [40].

Miean i sur. (2001) su analizirali sadržaj flavonola kaempferola, kvercetina i miricetina u paprici. Sadržaj kaempferola u zelenom čiliju iznosi 39 mg/kg dok u ostalim ispitanim uzorcima paprike nije utvrđen. Sadržaj kvercetina je najveći u crvenom čiliju te iznosi 799,5 mg/kg, u baburi iznosi 448,5 mg/kg, u tajlandskom čiliju iznosi 392 mg/kg a u zelenom čiliju nije utvrđen. Sadržaj miricetina je najveći u tajlandskom čiliju te iznosi 236 mg/kg, u baburi iznosi 171,5 mg/kg, u crvenom čiliju iznosi 29,5 mg/kg dok u zelenom čiliju iznosi 11,5 mg/kg. Ukupna razina flavonoida je najveća u tajlandskom čiliju te iznosi 1663 mg/kg. Ostale analizirane paprike imaju manji sadržaj ukupnih flavonoida te za baburu iznosi 892 mg/kg, crveni čili 829 mg/kg a zeleni čili ima daleko najmanji sadržaj ukupnih flavonoida u iznosu 83,5 mg/kg [39].





Slika 7. Struktura miricetina [41].

Howard i sur. (2000) su proučavali učinak zrenja ploda paprike na sadržaj antioksidansa. Ispitali su žutu baburu (*C. annuum* L.), kajensku papriku sorte Mesilla (*C. annuum* L.), kaskabela papriku (*C. annuum* L.), dugu žutu papriku sorte Inferno (*C. annuum* L.), tabasco (*C. frutescens* L.), habanero sortu Francisca (*C. chinense* Jacq.) i habanero sortu Crvena Savina (*C. chinense* Jacq.). Ekstrakt paprike je pripremljen miješanjem 10 g ploda s 50 mL 50 %-tnog metanola. Flavonoidi su izolirani kiselom hidrolizom a aglikoni su odvojeni HPLC-om. Pokazalo se da koncentracija flavonoida znatno varira među ispitanim sortama paprike. Sazrijevanjem žuta babura (*C. annuum* L.) i kaskabel paprika (*C. annuum* L.) gube do 50 % sadržaja flavonoida, dok se sadržaj u kajenskoj paprici sorte Mesilla (*C. annuum* L.) povećao za 2,5 puta. Ostale paprike nisu pokazale znatne varijacije koncentracije flavonoida. Inferno paprika (*C. annuum* L.) je imala najveći sadržaj kvercetina (68,27 mg/kg) i drugi najveći sadržaj luteolina (17,22 mg/kg). Tabasco paprika ima najveći sadržaj luteolina (43,65 mg/kg). Zrele *C. annuum* L. paprike sve imaju znatno veći sadržaj ukupnih flavonoida (babura 23,15 mg/kg, kaskabela 29,92 mg/kg, inferno 81,30 mg/kg te kajenska 42,10 mg/kg) od zrelih *C. chinense* Jacq. (habanero Francisca 1,50 mg/kg te habanero Crvena Savina 1,75 mg/kg). Ukupni sadržaj flavonoida paprike tabasco iznosi 36,55 mg/kg. Ista analiza je pokazala kako se ukupna antioksidacijska aktivnost povećala sazrijevanjem za sve ispitane paprike osim žute babure (*C. annuum* L.). Povećanje antioksidacijske aktivnosti ispitivanih paprika se pripisuje povećanju koncentracije askorbinske kiseline, flavonoida, kapsaicinoida te fenolnih kiselina u plodovima paprike [42].

Cho i sur. (2020) su istraživali sastav listova i plodova nezrelih zelenih ljutih paprika iz sjeveroistočne regije Koreje. Nakon čišćenja i sušenja uzorci su smrvljeni te je 30 g svakog praha ekstrahirano etanolom dvaput pri 25 °C tijekom 19 sati. Ekstrakti su filtrirani te upareni, a dobiveni prah od plodova (1 g) i od listova (0,1 g) su ekstrahirani s otopinom metanol : voda : mravlja kiselina 10 minuta pri sobnoj temperaturi te zatim centrifugirani. Supernatant je profiltriran a filtrat je analiziran koristeći tekućinsku kromatografiju ultra visoke učinkovitosti

s detektorom s nizom dioda kombiniran s hibridnim masenim spektrometrom s četverostrukim senzorem vremena leta (engl. *ultrahigh-performance liquid chromatography diode array detector combined with quadrupole-time-of-flight hybrid mass spectrometer*, UHPLC-DAD-QToF-MS) [43].

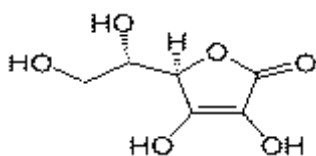
Analiza je pokazala da je ukupni sadržaj flavonoida u listovima 2680,8 mg/100 g suhe mase a sadržaj luteolin glikozida, koji su predstavljali glavne flavone u listovima, je 2608,9 mg/100 g. Ukupni sadržaj flavonoida u plodovima je 1487,6 mg/100 g a sadržaj luteolin glikozida je 1371,1 mg/100 g. Luteolin 7-*O*-(2"-*O*-apiosil) glukozid je prisutan u puno većoj količini u listovima nego u plodovima. U listovima je sadržaj 1472,6 mg/100 g a u plodovima je sadržaj 98,2 mg/100 g. Sadržaj luteolin 7-*O*-apiosilmalonil glukozida je sličan u listovima i plodovima, u listovima ima 1136,3 mg/100 g a u plodovima ga ima 1166,7 mg/100 g. Sadržaj apigenina je u listovima 5,9 mg/100 g te je nađen samo apigenin 7-*O*-glukozid. U plodovima je sadržaj apigenina puno veći i iznosi 81,2 mg/100 g. Otkriveni su apigenin 6,8-di-*C*-glukozid s razinom 38,7 mg/100 g, apigenin 6-*C*-arabinozid-8-*C*-glukozid s razinom 24,1 mg/100 g te apigenin 6-*C*-glukozid-8-*C*-arabinozid s razinom 18,4 mg/100 g. U listovima je od kvercetina nađen samo kvercetin 3-*O*-ramnozid s razinom 66,0 mg/100 g. U plodovima su nađeni kvercetin 3-*O*-glukozid s razinom 24,3 mg/100 g i kvercetin 3-*O*-ramnozid s razinom 10,9 mg/100 g tako da je ukupni sadržaj kvercetina u plodovima 35,3 mg/100 g. Utvrđeno je da je sadržaj flavonoida u listovima paprike 10,8 puta veći nego u plodovima te su svi flavonoidi osim apigenin glikozida prisutni u većim količinama u listovima nego u plodovima pa bi za antioksidacijske učinke luteolina i kvercetina moglo biti korisno konzumirati listove paprike [43].

Marín i sur. (2004) su utvrdili da je količina flavonoida u nezrelim zelenim paprikama baburama (*C. annuum* L.) uglavnom bila 4 do 5 puta veća nego u kasnijim stadijima zrenja. Najveće smanjenje razine flavonoida se opazilo tijekom zrenja zelene paprike. Dalje se postupno smanjivala od zelenog do crvenog stadija. Količina *O*-glikozilflavanona je veća od svih ostalih flavonoida u svim stadijima zrenja. Od nezrele zelene do zelene paprike njegov sadržaj se smanjio za 85 % [30].

### 5.2.2. Vitamin C

Vitamin C je vitamin topljiv u vodi. Otkriven je 1912. godine, izoliran 1928. godine te je 1933. godine postao prvim umjetno sintetizirani vitamin. Vitaminom C se označavaju askorbinska kiselina (Slika 8.) i dehidroaskorbinska kiselina jer obje pokazuju antiskorbutno

djelovanje. Askorbinska kiselina u enolnom obliku ( $\alpha$ -ketolakton) je funkcionalni i primarni *in vivo* oblik vitamina te mu dva enolna vodikova atoma daju kiseli karakter i osiguravaju elektrone za njegovu ulogu reducensa i antioksidansa. Vitamin C je kofaktor enzimima uključenih u biosintezu kolagena, karnitina, neurotransmitera te pomaže u eliminaciji ROS-a i RNS-a. [44].



Slika 8. Askorbinska kiselina [45].

Sve sorte paprike imaju relativno visoku koncentraciju vitamina C. Također ga nalazimo u citrusima, kiviju, brokuli, krumpiru, jagodama i prokulicama. Mljevena paprika sadrži 4,45-16,24 mg/g vitamina C u vodenim ekstraktima te 8,73-16,17 mg/g u etanolskim ekstraktima [46].

Albert Szent-Györgi je 1937. godine dobio Nobelovu nagradu za izolaciju askorbinske kiseline iz mljevene paprike. Plodovi paprike su smrvljeni te je na 50 kg dodano 1,75 kg barijevog acetata u obliku vruće zasićene otopine. Nakon stajanja od jednog sata pulpa je komprimirana u preši te je dobiveno 40 L soka. U dekantiranoj tekućini je otopljen olovni acetat, otopina je blago zalužena amonijakom, talog je odvojen centrifugom, otopljen u malo vode te je dodana sumporna kiselina do promjene boje indikatora timol plavo u svijetlo crvenu. Olovni sulfat je uklonjen centrifugom te je otopljen barijev acetat. Ostatak taloga je uklonjen centrifugiranjem. Potom je dodan olovni acetat do stvaranja taloga pri pH=8,5. Amonijak je dodavan do promjene boje timol plavog te se zatim destilira u vakuumu pri 20-30 °C do viskoznosti sirupa. Dvostruki volumen metanola je dodan uz stalno miješanje te je talog odvojen na Büchnerovom lijevku. Dodan je jednak volumen acetona te je tekućina dekantirana od nastalog gustog taloga. Talog je ekstrahiran s malo metanola u koji je dodan aceton. Kombinirani ekstrakti su koncentrirani do viskoznosti sirupa. Ponovo je dodan metanol i aceton, tekućina je dekantirana a taloga ponovno ekstrahiran s malo metanola. Drugi ekstrakt je dobiven s acetonom te su otopine spojene. Na smjesu je dodan bezvodni etilni eter. Nakon dekantiranja je sirup ekstrahiran s metanolom te su na ekstrakt dodani aceton i eter. Spojene tekućine su koncentrirane do sirupa koji je prebačen u posudu za kristalizaciju te stavljen preko sumporne kiseline u vakuumu do slijedećeg dana. U isti eksikator je stavljen natrijev hidroksid

u granulama. Prilikom sušenja se formiraju veliki kristali askorbinske kiseline koji se od matičnice odvajaju ispiranjem malim količinama metanola. Kristali su filtrirani, oprani acetonom te ponovno sušeni u vakuumu. Proces traje otprilike 3 dana. Nakon prekrystalizacije smjesom metanola i dioksana u omjeru 3 : 2 te ispiranja acetonom i sušenja dobiven je konačni produkt, čista askorbinska kiselina. Kristali su bijeli, tališta 192 °C te molarne mase 176,124 g mol<sup>-1</sup>. Prinos iznosi oko 6 g iz 10 L soka [47].

Martínez i sur. (2005) su istraživali utjecaj zrenja i skladištenja na sadržaj vitamina C u slatkim paprikama sorte Fresno de la Vega (*C. annuum* L.). Paprike su brane na tri različite plantaže tijekom 1998. i 1999. godine. Pri svakom branju je uzeto 27 uzoraka u tri stanja zrenja, zelene, srednje i crvene. Uzorcima je isti dan ispitan sadržaj vitamina C. Paprike su oprane i narezane, pomiješane s 50 mL 2 %-tne fosforne kiseline te smrvljene. Homogenat je centrifugiran pri 2500 g 15 minuta te je supernatant filtriran. Filtrat je dvaput ispran s 20 mL 2 %-tne fosforne kiseline te ponovno centrifugiran. Tri supernatanta su ispitana nakon 1 sata [48].

Sadržaj vlage u zelenim paprikama iznosio je  $91,17 \pm 0,65$  %, u srednje zrelim  $91,74 \pm 0,92$  % a u crvenim  $90,72 \pm 0,87$  %. Sadržaj vitamina C u zelenim paprikama iznosi  $107,3 \pm 1,84$  mg/100 g, u srednje zrelim  $129,6 \pm 3,11$  mg/100 g dok u crvenim paprikama iznosi  $154,3 \pm 7,56$  mg/100 g. Sadržaj vitamina C se povećava zrenjem plodova paprike. Crvene odnosno zrele paprike imaju 50 % više vitamina C od manje zrelih zelenih i srednjih paprika. Čuvanjem zelenih i srednje zrelih paprika na sobnoj temperaturi tijekom 10 dana povećao se sadržaj vitamina C do razine slične onoj zrelim u crvenim paprikama, dok je sadržaj u crvenim paprikama pao za 21 %. Čuvanjem u hladnjaku pri 4 °C tijekom 10 dana opažen je malen pad sadržaja vitamina C. Čuvanje paprika na sobnoj temperaturi nakon 20 dana opažen je pad razine vitamina C kod svih plodova dok je čuvanjem u hladnjaku opažen pad od najviše 13 %. Razine vitamina C rastu zrenjem plodova na biljci kao i na sobnoj temperaturi nakon branja [48].

Crvene paprike ubrane 1999. godine su korištene za analizu učinka načina čuvanja na sadržaj vitamina C. Napravljena su dva seta od 8 plodova, jedan je narezan na komade i pržen u maslinovom ulju a drugi je ispečen i oguljen. Zatim je dodano 5 mL svježeg limunovog soka te su smjese prebačene u staklenke koje su zatvorene i grijane pri 103 °C 40 minuta. Treći set od 15 paprika je podijeljen na skupine te je svaka skupina podvrgnuta različitim metodama očuvanja: blanširanje u kipućoj vodi 5 minuta, smrzavanje u kućnom zamrzivaču s i bez prethodnog blanširanja te spremanja pri -18 °C 30 dana, sušenje u pećnici pri 50 °C 7 dana te liofilizacija. Nakon blanširanja paprika detektiran je 12 % manji sadržaj vitamina C. Razina

vitamina C nakon smrzavanja pri  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  u periodu 30 dana blanširanih paprika iznosi 13 % manje od početnih, dok je razina neblanširanih paprika manja za 40 %. Liofilizirane paprike su izgubile 3 % sadržaja vitamina C a sušene paprike su izgubile 88 % sadržaja vitamina C. Pržene paprike u staklenkama su izgubile 25 % vitamina C dok su pečene u staklenkama izgubile 20 % [48].

### 5.2.3. Karotenoidi

Karotenoidi (Slika 9.), drugog naziva tetraterpenoidi, su skupina crvenih, narančastih i žutih pigmenata koji su vrlo dobro rasprostranjeni u prirodi. Nalaze se u tamnozelenom lisnatom povrću, u crvenom i žuto-narančastom voću i povrću te algama, nekim bakterijama i gljivicama. Daju karakteristične boje paprici, bundevi, mrkvi, cikli, kukuruzu, rajčici, ali i nekim životinjama kao npr. plamencima, lososima, jastožima i škampima. Otkriveno ih je preko 1100 te ih se može podijeliti na ksantofile (koji sadrže kisik) i karotene (koji su čisti ugljikovodici) [2].



Slika 9. Opća struktura karotenoida [49].

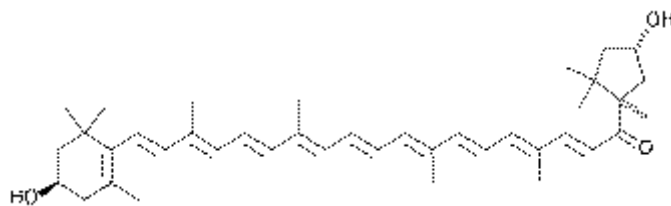
Brojni karotenoidi su nađeni i izolirani iz začina paprike. Na početku zrenja plodovi su zeleni i puni kloroplasta koji sadrže 68 % klorofila dok su karotenoidi na najnižoj razini od 32 %. U tom stadiju boja karotenoida je maskirana bojom klorofila. Kako plod zrije odvija se sinteza karotenoida putem transformacije postojećih karotenoida i sinteze *de novo*. Tijekom perioda zrenja kloroplasti se mijenjaju u kromoplaste koji sadrže miješane karotenoide. Ti karotenoidi zajedno doprinose različitim bojama ploda od zelene do smeđe, žute, narančaste, crvene i tamno crvene u zadnjem stadiju zrenja, ovisno o kultivaru. Crvena paprika (*C. annuum* L.) je jedinstvena po visokom sadržaju ksantofila. Ima najraznolikiji karotenoidni profil koji se sastoji od većinom žutih karotenoida ( $\beta$ -karotena, violaksantina, anteraksantina, zeaksantina) te karakterističnih žarko crvenih ketokarotenoida (kapsantina, kapsorubina i kapsantin-5,6-epoksida). Glavni karotenoidi zrele žute i narančaste paprike (*C. annuum* L.) su lutein,  $\beta$ -karoten, violaksantin, anteraksantin, zeaksantin i  $\beta$ -kriptoksantin [50].

$\beta$ -karoten je sveprisutan ugljikovodični karotenoid u biljnom tkivu uključujući papriku te je prirodno prisutan kao stabilan trans izomer. Njegov sadržaj je uglavnom veći u svježim ljutim paprikama nego u slatkim. Koncentracija  $\beta$ -karotena je direktno povezana s ukupnim sadržajem karotenoida jer je prekursor glavnih narančastih i crvenih karotenoida paprike.  $\beta$ -karoten kao i  $\beta$ -kriptoksantin ima narančastu boju zbog maksimalne apsorpcije svjetla pri valnoj duljini od 450 nm.  $\beta$ -karoten je s kapsantinom prisutan u omjeru 1 : 10 u zrelim crvenim plodovima većine kultivara *C. annuum* L. [50].

Vitamin A je istovremeno naziv za formiran vitamin A (*trans*-retinol i njegovi acetati, palmitati, esteri i *trans*-retinal koji pokazuju aktivnost vitamina A) i provitamin A ( $\beta$ -karoten i drugi karotenoidi koji se mogu metabolizirati u *trans*-retinal). Esteri vitamina A se nalaze u ribljim jetrima i ulju, goveđoj jetri i bubrežima, mliječnim proizvodima i jajima. Provitamin A se nalazi u crvenom povrću (paprica i rajčica), zelenom povrću (zeleni salata, špinat, brokula), žutom i narančastom povrću (paprika, mrkva, krumpir, bundeva), i mangu [51].

Acunha i sur. (2017) su analizirali sadržaj karotenoida plodova četiri vrste paprike: *C. annuum* L., *C. baccatum* L., *C. chinense* Jacq. i *C. frutescens* L. Od 72 genotipa za 51 je analiziran ukupni sadržaj karotenoida a za 40 sadržaj kapsaicinoida. U tu svrhu korištena je ekstrakcija (heksanol : etanol : aceton : toluen), a koncentracija je određena spektrofotometrijski. Prosječni ukupni sadržaj karotenoida za *C. annuum* L. iznosi  $28,47 \pm 19,34$  mg/100 g. Za *C. baccatum* L. sadržaj je  $34,97 \pm 31,04$  mg/100 g. Za *C. chinense* Jacq. sadržaj je  $23,21 \pm 23,55$  mg/100 g. Za *C. frutescens* L. sadržaj iznosi  $25,17 \pm 32,98$  mg/100 g. Ukupni sadržaj karotenoida nađen u ovim sortama paprike je veći od onih koje su Reif i sur. (2013) našli u povrću poput rajčica i mrkve koje se često navode kao bogat izvor karotenoida [52].

Glavni crveni pigment karotenoid paprike je kapsantin ((3*R*,3'*S*,5'*R*)-3,3'-dihidroksi- $\beta$ , $\kappa$ -karoten-6'-on) koji je prvi put izoliran u kristalnom obliku već 1927. godine. Barber i sur. (1960) su odredili njegovu strukturu (Slika 10.) [53] dok su Faigle i Karrer (1961) odredili asimetriju 5-C ugljikova atoma u ciklopentanskom prstenu [54]. Cooper i sur. (1962) su utvrdili da je hidroksilna skupina u *trans* položaju u odnosu na polienski lanac koji sadrži 9 do 11 dvostrukih veza [55]. Takva struktura dovodi do visokog redukcijskog potencijala i sposobnosti transfera elektrona diljem molekule [2]. Kapsantin pripada ksantofilima te se nalazi i u nekim vrstama ljiljana. Smatra se da ima najjači oksidacijski potencijal od karotenoida jer ima 11 konjugiranih dvostrukih veza, konjugiranu keto-skupinu te ciklopentanski prsten [2].



Slika 10. Struktura kapsantina [56].

## 6. Farmakološki učinci paprike

Farmakologija je grana medicine koja proučava interakcije lijekova i kemikalija sa sustavima i procesima u životinja. Najviše se bavi mehanizmima djelovanja lijekova te terapijskim i drugim načinima upotrebe lijekova i kemikalija. Od 20.-tog stoljeća se pojačava proučavanje spojeva koje bi se mogle upotrijebiti za poboljšanje zdravlja te općenito koristile za dobre svrhe ljudima. Studije također redovito opisuju kako su promjene učinka lijeka rezultat malih promjena kemijske strukture spoja [57].

Ekstrakti kapsaicina se koriste za proučavanje učinaka paprike. To je zapravo mješavina kapsaicina, norhidrokapsaicina, dihidrokapsaicina, homokapsaicina te homodihidrokapsaicina. Udio kapsaicina i drugih kapsaicinoida ovisi o vrsti i sorti paprike te ekstrakcijskoj metodi što rezultira udjelom od 65 % (prirodni kapsaicin farmaceutske kvalitete) do  $\geq 99$  % (sintetički čisti kapsaicin). Uz to, ekstrakti mogu sadržavati spojeve koji nisu vaniloidi. Posljedica ovih prirodnih nečistoća je da se rezultati metaboličkih studija s čistim kapsaicinom mogu razlikovati od rezultata dobivenih korištenjem ekstrakta [58].

### 6.1. Učinak kapsaicina

Čili unesen u obliku hrane ili začina stimulira okusne pupoljke te potiče protok sline. Stimulirajući učinci na receptore u sluznici usta, nosa i grla, na probavni sustav, kao i vaskularne receptore nakon adsorpcije i cirkulacije u krvi, mogu izazvati uzbuđenje i posljedičnu reakciju organizma poput slinjenja, curenja nosa, žarenje usana, jezika i grla, poboljšanje probave te povećanje protoka krvi. [2].

Pripravci od paprike su korišteni kao protu-iritansi u liječenju lumbaga, neuralgije i reumatoidnog artritisa. Ukoliko se uzmu oralno, ovi preparati imaju umirujući i karminativni

učinak, što je osobito korisno u slučaju loše probave. Može se primijeniti u obliku praha, krema (Slika 11.) i tinktura [2].



Slika 11. Kapsaicin krema [59].

Kapsaicin primijenjen lokalno na licu (kao npr. u obliku spreja za samoobranu) uzrokuje jaku upalnu reakciju sluznice nosa i usta, kao i nefarospazam (nekontrolirano stiskanje očnih kapaka). Dodatni simptomi su osjećaj pečenja, suženje, oticanje očiju i okolnog područja te hiperemija. Udisanjem žari sluznicu dišnih puteva te disanje postaje kratko i plitko. Slijedi nekontrolirano kašljanje i gušenje. U nosnoj sluznici uzrokuje goreću bol, kihanje te curenje nosa. Kontakt s kožom rezultira osjećajem pečenja te crvenilom [2]. Boravkom od 30 minuta na svježem zraku te daleko od spreja učinak prestaje [21].

Fattori i sur. (2016) su pokazali da kapsaicin ima nekoliko pozitivnih učinaka na metaboličke poremećaje, krvožilne bolesti, kontrolu težine i pretilosti, dijabetes, nekoliko vrsta raka, kožnih stanja te problema s mjehurom uzrokovane živčanim bolestima. Kapsaicin pomaže kod pretilosti jer može ograničiti unos hrane a sam sadrži zanemarljivu količinu energije. Dodatak kapsaicina u hranu ljudima pojačava osjećaj sitosti i smanjuje osjećaj gladi. To se odvija jer kapsaicin pojačava lučenje kateholamina u nadbubrežnoj žlijezdi aktivacijom središnjeg živčanog sustava [22]. Kateholamin je naziv za sve prirodne amine koji funkcioniraju kao neurotransmiteri i hormoni unutar tijela. Kateholamine karakterizira kateholna skupina (benzenov prsten s dvije hidroksilne skupine) koja je spojena s aaminskom skupinom. Neki od kateholamina su dopamin, epinefrin (adrenalin) i norepinefrin (noradrenalin) [60].

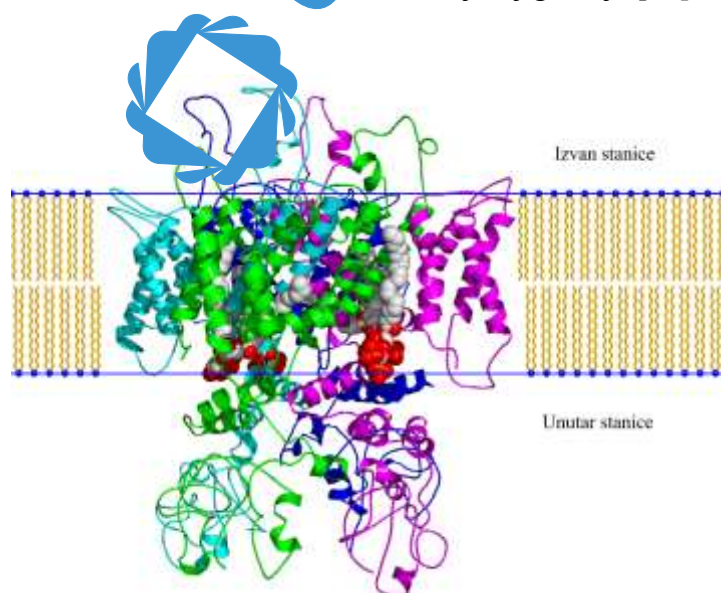
Chaiyasit i sur. (2009) su pokazali da oralno uzimanje kapsaicina smanjuje razinu glukoze i povećava razinu inzulina u krvi ubrzo nakon uzimanja. Ista studija je pokazala da se kapsaicin detektira u krvi 10 minuta nakon gutanja te ostaje u sličnoj koncentraciji u krvi 90 minuta nakon uzimanja [61].



### 6.1.1. Receptori kapsaicina

Vaniloidni receptori uključuju pripadnike skupine kanala prolaznog receptorskog potencijala (engl. *transient receptor potential*, prolazni receptorski potencijal, TRP). Ovi receptori su grupa ionskih kanala koji se uglavnom nalaze na plazma membrani brojnih tipova životinjskih stanica. TRP kanali reguliraju  $H^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$  i  $Mg^{2+}$  intrastanične koncentracije. Brojni kanali su posrednici osjeta boli, temperature, okusa, tlaka i vida. Pretpostavlja se da se neki kanali ponašaju kao mikroskopski termometri te se koriste za osjet topline ili hladnoće. Svi TRP receptori imaju ili  $K^+$  selektivne kanale s naponski usmjerenim  $Ca^{2+}$  kanalima, naponski regulirane  $Na^+$  kanale, kanale gradijenta cikličkih nukleotida ili dvoporne kanale [26].

Vaniloidni receptor 1 (engl. *Vanilloid Receptor 1*, vaniloidni receptor 1, VR1), koji je kasnije preimenovan u član 1 podporodice V prolaznog receptorskog potencijala kationskog kanala (engl. *Transient Receptor Potential Cation Channel subfamily V Member 1*, TRPV1) (Slika 12.), je prisutan u neuronima i astrocitima, adipocitima, glatkim mišićnim stanicama, hepatocitima, fibroblastima te T stanicama. TRPV1 receptor je homotetramer te je uglavnom neselektivan kationski kanal koji ima veći afinitet za  $Ca^{2+}$  nego za  $Na^+$  ione. U koži su TRPV1 receptori prisutni u velikom broju u svim stanicama. Kad su TRPV1 receptori aktivirani prenose poruku putem dovoda  $Ca^{2+}$  iona u epidermalne keratinocyte. Ovaj dovod kalcijevih iona smanjuje upalni odgovor jedne stanice te time umanjuje štetan kožni podražaj. Vežanje i indukcija kapsaicina desenzibilira živčani sustav na osjećaj gorenja [26].



Slika 12. TRPV1 receptor [62].

Iida i sur. (2003) su istraživali utjecaj kapsiata na kapsaicin receptore TRPV1. Kapsiat, neljuti analog kapsaicina, ima estersku vezu umjesto amidne između vanililnog dijela i lanca masne kiseline. Prvotno su pokazali da kapsiat u glodavaca (kao ni u ljudi) ne pokazuje ljutinu koja se veže uz kapsaicin. Miševima su dali oralnu dozu kapsiata i kapsaicina te vidjeli suprotno ponašanje koje su izazvala ova dva spoja. Miševima su kapali otopinu kapsaicina i otopinu kapsiata u oči te uvidjeli da kapsiat ne izaziva iritaciju. Stoga su postavili hipotezu da kapsiat ne aktivira TRPV1 receptore i testirali su promjenu napona membrane receptora pri -60 mV. Dobili su slične vrijednosti za kapsiat i kapsaicin te tako pokazali da kapsiat aktivira receptor sličnom snagom kao kapsaicin. Međutim krivulje odgovora su drukčije te se promjena napona membrane receptora aktivirane kapsiatom u odsustvu vanstaničnog kalcija smanjuje vremenom tijekom produljene primjene kapsiata. Pri sličnim uvjetima promjena napona membrane izazvana produljenom primjenom kapsaicina je neprimjetna. Ovo smanjenje promjene napona membrane receptora izazvano kapsiatom vjerojatno nije zbog smanjenja osjetljivosti TRPV1 receptora već zbog nestabilnosti molekule. Vraćanje napona membrane receptora na normalnu je bilo sporije nakon primjene kapsiata (40 s) nego nakon primjene kapsaicina (10 s). Ovo sporo vraćanje se može pripisati lipofilnosti kapsiata zbog koje se duže zadrži u plazmatskoj membrani i pokazuje dulji učinak. Injekcijom kapsiata u šapu miševa proizveo je sličan učinak kapsaicinu te je doveo autore studije da zaključe kako kapsiatu treba direktan put do osjetljivih neurona. Injekcijom kapsiata u šapu miševa vjerojatnije je da molekula neće doći do receptora u dovoljnoj količini da izazove njihov odgovor [63].

Randhawa i Jaggi (2017) pokazali su da tretman kapsaicinom (u trajanju od 5 minuta) prije ishemije znatno smanjuje ozljede uzrokovane ishemijom srca miša. U dijabetesnim miševima nije smanjio ozljede ali je ubrzo omogućio oporavak nakon ishemije. Time su pokazali zaštitne učinke aktivacije TRPV1 kanala [64].

Kapsaicin ima visok afinitet, osjetljivost i selektivnost za TRPV1 receptor. Receptor je osjetljiv na nanomolarne koncentracije ( $EC_{50} = 99 \text{ nmol/L}$ ) koje se postižu jako dobrom apsorpcijom uslijed oralnog uzimanja. Aktivacija receptora kapsaicinom ne utječe na ostale TRP kanale ni ostale kationske kanale. Čak i male količine kapsaicina u usnoj šupljini će potaknuti trenutačan odgovor organizma što je prvotno osjećaj žarenja koji se veže uz ljutu papriku [26].

Kapsaicin reagira s TRPV1 receptorom po principu „rep gore, glava dolje konfiguracija“. Receptor privlači rep kapsaicina putem van der Waalsovih sila. Glava molekule vodikovim vezama reagira s vanilil dijelom i amidnim vratom na Glu571 te s Tyr551 ostacima

na TRPV1 kanalu. Procjep u vaniloid džepu kao i Tyr511, Glu570 te Ile569 ostaci imaju ulogu steričkih olakšavanja kako bi se kapsaicin smjestio u procjep TRPV1 receptora [26].

### 6.1.2. Učinak na kožu

Derry i sur. (2013) su objavili da je kapsaicin visoke koncentracije od 8 % u obliku flastera primijenjen topikalno učinkovit u suzbijanju neuropatske boli. Flasteri kapsaicina su dostupni u dva oblika: niska i visoka koncentracija. Flasteri niske koncentracije sadrže 0,025-0,075 % kapsaicina dok flasteri visoke koncentracije sadrže 8 % kapsaicina. Pacijentima je na kožu nanesen lokalni anestetik prije flastera s kapsaicinom. Anestetik je nužan zbog nuspojava kapsaicina na koži koje uključuju osjećaj žarenja, iritaciju i crvenilo. Flaster je ostavljen na koži 60 minuta te je nakon toga uklonjen a koža očišćena posebnom kremom kako ne bi ostalo kapsaicina. Svi ispitanici su zabilježili barem 30 % smanjenje boli nakon upotrebe kapsaicina [65].

Chanda i sur. (2008) su analizirali metabolizam kapsaicina u ljudskoj koži. Sve inkubacije su provedene pri  $37 \pm 1$  °C, u mješavini 95 % zrak/5 % CO<sub>2</sub>. Medij korišten za analizu je Hanksova uravnotežena otopina soli s 1 %-tnim goveđim serumom albuminom. Svježa koža trbušnog područja žene je izolirana na debljinu 250-350 μm, pripremljena su 24 diska promjera 14-18 mm te prebačeni u posude za kulturu s 1 mL otopine kapsaicina koncentracija 0, 1, 3 i 10 μM. Diskovi su inkubirani 20 sati. U svaki uzorak je dodan jednak volumen acetonitrila te su kontrolni inkubacijski uzorci analizirani HPLC metodom. U kontrolnim uzorcima nakon 20 sati s 1, 3 i 10 μM [<sup>14</sup>C]kapsaicina 99-100 % radioaktivnosti je činio nepromijenjen kapsaicin. To je pokazalo izuzetnu stabilnost kapsaicina u kontrolnom mediju. Tijekom inkubacije [<sup>14</sup>C]kapsaicin je metaboliziran sporo tijekom 20 sati što je u suprotnosti brzom metabolizmu kapsaicina jetrenim enzimima te nastaju dva metabolita. Hidroliza amidne veze kapsaicina stvara vanililamin kao primarni metabolit. Daljnjom oksidacijom vanililamina nastaje vanilinska kiselina kao sekundarni metabolit. U kontrolnim uzorcima kapsaicin ostaje nepromijenjen što ukazuje da je stvaranje vanililamina i vanilinske kiseline rezultat kožnog metabolizma. U inkubacijskom mediju kapsaicin predstavlja 91,0-95,6 % radioaktivnosti dok vanililamin predstavlja 4,37-8,77 % a vanilinska kiselina < 0,15 %. U uzorcima kože kapsaicin predstavlja 74,0-78,7 % radioaktivnosti, vanililamin 12,9-19,8 % a vanilinska kiselina 5,25-7,97 %. Postojanost i spor metabolizam kapsaicina na koži pokazuje na dobar učinak topikalne upotrebe proizvoda s kapsaicinom kao aktivnim sastojkom. Dugo se

zadržava na koži i time dugo i djeluje. Također nedostatak oksidativnog metabolizma na koži pokazuje da nema potencijala stvaranja kovalentno vezanih otrovnih metabolita [58].

## 6.2. Metabolizam kapsaicina

Lee i Kumar (1980) su pokazali da jetreni mikrosomi štakora inducirani fenobarbitalom pretvaraju kapsaicin i dihidrokapsaicin u odgovarajuće kateholne metabolite, *N*-(4,5-dihidroksil-3-metoksibenzil)-acilamide, putem hidroksilacije vanilil prstena [66]. Mehanizam su dalje potvrdili Gannett i sur. (1990) koji su pokazali da se dihidrokapsaicin kovalentno veže na jetrene mikrosomske proteine štakora nakon *in vitro* inkubacije ili konzumacije [67]. Jetreni sustav oksidaza aktivira kapsaicin u elektrofilni intermedijer sposoban kovalentno reagirati s nukleofilnim mjestima na jetrenim proteinima. Smatra se da je bočni alkilni lanac kapsaicina podložan enzimskoj oksidaciji. Stoga se kapsaicin nakon inkubacije s NADPH u jetrenim frakcijama hidroksilira na terminalnom ugljiku bočnog lanca. Hidroliza amidnih veza kapsaicinoida vodi do stvaranja vanililamina kao čestog metabolita bez obzira na tip bočnog lanca i njegovu funkciju. Oksidativna deaminacija naslog vanililamina stvara aromatski aldehid vanilin koji se dalje oksidira do vanilinske kiseline ili reducira do vanilil alkohola za izlučivanje u slobodnom obliku ili kao konjugat glukuronske kiseline [68].

Lawson i Gannett (1989) su istraživali mutagenost kapsaicina i dihidrokapsaicina na jetrene stanice sirijskih hrčaka. Učestalost mutacija je bila  $< 1$  mutanta/ $10^6$  preživjelih (ouabain otpornost) i  $< 3$  mutanta/ $10^6$  preživjelih (6-tiogvanin otpornost). Kod ouabain otpornosti je otkrivena učestalost mutacija za *N*-nitrozo-dimetilamin u iznosu 27 mutanata/ $10^6$  preživjelih dok je učestalost mutacija za *N*-etil-*N*-nitrozoureu iznosila 138 mutanata/ $10^6$  preživjelih. Kod 6-tiogvanin otpornosti je otkrivena učestalost mutacija za *N*-nitrozo-dimetilamin u iznosu 102 mutanta/ $10^6$  preživjelih dok je učestalost mutacija za *N*-etil-*N*-nitrozoureu iznosila 2710 mutanata/ $10^6$  preživjelih [69].

Reakcija kapsaicina s kalijevim fericijanidom rezultira nastankom dimera 5,5'-bis-kapsaicina a reakcija dihidrokapsaicina s istim spojem daje dimer 5,5'-dihidrokapsaicin. Dimerizacija se odvija na 5-C atomu aromatskog prstena koji je u *orto* položaju u odnosu na 4-hidroksilnu skupinu. Inkubacija kapsaicina s mikrosomima rezultira nastankom 5,5'-bis-kapsaicina. Kapsaicinoidi su se pokazali slabo mutagenim i s nižim utjecajem od očekivanog. Doza od 50  $\mu\text{g/mL}$  koja odgovara 32  $\mu\text{g}$  kapsaicina/mL i 16  $\mu\text{g}$  dihidrokapsaicina/mL je proizvela 1,4 mutanta/ $10^6$  preživjelih, dok je očekivan rezultat bio 6 mutanata/ $10^6$  preživjelih.

Omjer kapsaicina i dihidrokapsaicina utječe na biološki učinak smjese kapsaicinoida. Kapsaicinoidi su mutageni a na mutagenost utječe struktura prstena [69].

Gannett i sur. (1990) su utvrdili da dihidrokapsaicin inhibira pretvorbu *p*-nitrofenola u *p*-nitrokatehol, odnosno da inhibira *p*-nitrofenol hidroksilazu. Dihidro-kapsaicin je inkubiran s mikrosomima jetre štakora na 10 minuta pri 37 °C s i bez NADPH. Samo inkubacije koje su uključivale NADPH su rezultirale vezanjem dihidrokapsaicina za citokrom P450 2E1, pa se vezanje dihidrokapsaicina za citokrom P450 2E1 vjerojatno događa nakon aktivacije dihidrokapsaicina [67].

Inkubacijom dihidrokapsaicina sa smjesom *p*-nitrofenola i mikrosoma jetre štakora opaža se znatno smanjenje brzine stvaranja *p*-nitrokatehola. Citokrom P450 2E1 oksidativno metabolizira *p*-nitrofenol u odgovarajući katehol. Pri niskim koncentracijama dodanog dihidrokapsaicina elektroforeza je pokazala jednu traku na gelu s molekulskom masom 50 kDa, što odgovara citokromu P450 2E1. Pri višim koncentracijama pak pojavila još jedna traka s molekulskom masom 42 kDa što je manja molekulska masa od izozima citokroma P450. Za mehanizam inhibicije dihidrokapsaicina autori predlažu nastanak tri intermedijera koji nastaju oksidacijom dihidrokapsaicina u obliku fenol si radikala te koji dalje dimeriziraju ili se kovalentno vežu na citokrom P450 2E1 te time inhibiraju enzim [67].

Donnerer i sur. (1990) su otkrili da se kapsaicinoidi nakon oralnog unosa u štakora brzo apsorbiraju te metaboliziraju u jetri prije nego što uđu u krvožilni sustav. Stoga se smatra da bi kapsaicinoidi apsorbirani probavnim putem došli do centralnog živčanog sustava i drugih organa isključivo kao metaboliti kapsaicinoida, 16-hidroksikapsaicin, 17-hidroksikapsacin, vanilin i vanililamin [70].

Chanda i sur. (2008) su analizirali i jetreni metabolizam kapsaicina u štakora, psa i čovjeka. Suspenzije mikrosomnih i S9 frakcija su predinkubirane s otopinom NADPH pri 37 °C 5 minuta u fosfatnom puferu pri 7,4 pH. Inkubacije su započete dodavanjem 10 µL koncentrirane otopine kapsaicina u dimetil sulfoksidu kako bi se dobile konačne koncentracije 1 µM i 10 µM kapsaicina. Kontrolne inkubacije su provedene s 1 µM i 10 µM kapsaicina na 0 i 30 minuta bez NADPH i medija. Istaložene mikrosomne i S9 frakcije su uklonjene, a supernatanti su potom analizirani HPLC metodom [58].

Dva glavna metabolita (16-hidroksikapsaicin i 17-hidroksikapsacin) nastaju hidroksilacijom bočnih lanaca. Daljnja oksidacija ili gubitak vode ta dva metabolita stvara 16,17-dehidrokapsaicin. Hidrolizom amidne veze kapsaicina nastaje vanililamin te se pretpostavlja da tu hidrolizu ubrzavaju amidaze u topljivim frakcijama jetre. Daljnjom oksidacijom vanililamina stvara sekundarni metabolit vanilin [58].

U štakorskim mikrosomima kapsaicin je brzo metaboliziran. U kontrolnim inkubacijama oko 95 % radioaktivnosti se pripisivalo [<sup>14</sup>C]kapsaicinu. Nakon 5 minuta inkubacije pri 1 μM i 10 μM samo 2,24% i 51,0 % radioaktivnosti je pripisivano [<sup>14</sup>C]kapsaicinu. [<sup>14</sup>C]kapsaicin je potpuno potrošen u 1 μM inkubacijama nakon 10 minuta i u 10 μM nakon 20 minuta [58].

Deset metabolita je otkriveno u inkubacijama na obje koncentracije ali zbog nedostatka radioaktivnosti nisu opisani. Glavni metaboliti su vanilin, vanililamin, 16-hidroksikapsaicin te 16,17-dehidrokapsaicin. 16-hidroksikapsaicin je bio najčešći metabolit s 47,0-52,5 % radioaktivnosti u 1 μM i 21,3-49,4 % radioaktivnosti u 10 μM inkubacijama. 16,17-dehidrokapsaicin je predstavljao 18,8 % radioaktivnosti u uzorcima nakon 5 minuta i pri 1 μM, dok je pri 10 μM uzorcima 5-20 minuta predstavljao 4,65-18,9 % radioaktivnosti. Različite vrijednosti sugeriraju da se dalje metabolizira tijekom inkubacije [58].

U štakorskim S9 frakcijama metabolizam je bio sporiji nego u mikrosomima. Nepromijenjeni [<sup>14</sup>C]kapsaicin detektiran u inkubacijama nakon 10 minuta u uzorcima s 1 μM koncentracijama predstavlja 13,4 % radioaktivnosti a nakon 20 minuta nije detektiran. Pri 10 μM koncentracijama nepromijenjen [<sup>14</sup>C]kapsaicin je u uzorcima nakon 30 minuta predstavljao 16,9 % radioaktivnosti. Vanililamin, 16-hidroksikapsaicin i 16,17-dehidrokapsaicin su bili glavni metaboliti u obje koncentracije. 16-hidroksikapsaicin predstavlja 28,6-52,4 % radioaktivnosti u uzorcima koncentracije 1 μM te 7,23-34,7 % u uzorcima koncentracije 10 μM nakon 5-30 minuta. 16,17-dehidrokapsaicin predstavlja 5,91-20,7 % radioaktivnosti u uzorcima koncentracije 1 μM te 7,17-15,5 % u uzorcima koncentracije 10 μM nakon 5-30 minuta [58].

Metabolizam u psećim mikrosomima i S9 frakcijama je bio slabiji nego u štakora. Četiri metabolita su nađena uz nepromijenjeni [<sup>14</sup>C]kapsaicin. Nakon 30 minuta kapsaicin je predstavljao 23,8 % radioaktivnosti u koncentracijama 1 μM i 37,7 % u koncentracijama 10 μM. 16-hidroksikapsaicin je bio glavni metabolit u mikrosomnim inkubacijama te je predstavljao 5,68-43,7 % radioaktivnosti u koncentracijama 1 μM te 3,10-28,3 % u koncentracijama 10 μM [58].

U ljudskim mikrosomima i S9 frakcijama kapsaicin je brzo metaboliziran. Pet metabolita je otkriveno. Pri obje koncentracije 16-hidroksikapsaicin i 17-hidroksikapsaicin su glavni metaboliti a vanilin i 16,17-dehidrokapsaicin su sporedni metaboliti. Metabolizam kapsaicina je brži u mikrosomima i pri koncentraciji 1 μM nakon 20 minuta nije detektiran a u S9 frakcijama i nakon 30 minuta predstavlja 5,1 % radioaktivnosti. Pri koncentraciji 10 μM u mikrosomima kapsaicin nije nađen nakon 30 minuta a u S9 frakcijama predstavlja 28,1 %

radioaktivnosti nakon 30 minuta. 16-hidroksikapsaicin predstavlja 16,8-24,8 % radioaktivnosti u koncentraciji 1  $\mu\text{M}$  i 14,2-27 % u 10  $\mu\text{M}$ . 17-hidroksikapsaicin predstavlja 42,8-63,5 % radioaktivnosti u koncentraciji 1  $\mu\text{M}$  i 27,4-55,6 % u koncentraciji 10  $\mu\text{M}$ . Vanilin u mikrosomima predstavlja 2,27 % radioaktivnosti nakon 30 minuta u koncentraciji 1  $\mu\text{M}$  te 1,36-10,3 % pri koncentraciji 10  $\mu\text{M}$ . 16,17-dehidrokapsaicin predstavlja 4,84-6,72 % radioaktivnosti u koncentraciji 1  $\mu\text{M}$  te 7,95-8,81 % u koncentraciji 10  $\mu\text{M}$  [58].

## 7. Toksikologija kapsaicinoida i flavonoida paprike

Iako su se paprika i bioaktivne tvari prisutne u paprici pokazale uglavnom sigurne za konzumaciju, neke studije su ukazale na vezu kapsaicina s rizikom pojave raka [71]. Flavonoidi i isoflavoni također mogu pokazati potencijalno štetne učinke za zdravlje ukoliko se velike doze konzumiraju svakodnevno.

### 7.1. Toksičnost kapsaicinoida

Saito i Yamamoto (1996) su otkrili da je srednja smrtonosna doza (engl. *lethal dose* 50 %, LD50) za kapsaicin 97,4 mg/kg za ženske miševe te 118,8 mg/kg za muške miševe. LD50 za ženske i muške štakore je 148,1 mg/kg i 161,2 mg/kg. Studija je obuhvaćala 120 miševa i 120 štakora, svi stari šest tjedana. Životinje su uginule 4-26 minuta nakon unosa ili nisu pokazivali daljnje simptome 24 sata nakon unosa. Prilikom autopsije je nađeno krvarenje želuca u dijelu životinja. U želucu su nađene erozije i čirevi. Mehanizam želučane ozljede se pretpostavlja da je reakcija kapsaicina sa želučanom stijenkom jer nije opaženo oštećenje stijenke nakon unosa drugim putem. Uzrok smrti je paraliza dišnog sustava i oštećenje želučane stijenke [72].

Galati i sur. (2000) su pokazali da je kapsaicin citotoksičan. Prvi znak citotoksičnosti je pad potencijala mitohondrijske membrane. Jedan od toksičnih staničnih mehanizama za pad potencijala membrane je inhibicija mitohondrijskog disanja ili oksidativne fosforilacije. Pad potencijala mitohondrijske membrane hepatocita induciran kapsaicinom se objašnjava inhibicijom NADH-ubikinon reduktaze opažen nakon što je izoliran mitohondrij inkubiran kapsaicinom [73].

Tsuchiya i sur. (2011) su istraživali mutagenost i mutagene crvenih čili paprika kao faktore rizika za nastanak raka žučnog mjehura u žena. Paprike su samljevene u prah koristeći centrifugalni mlin. Za ekstrakciju je korišten 95 %-tni etanol. Ta smjesa je miješana 60 minuta

te je zatim filtrirana. Filtrat je koncentriran pri sniženom tlaku i temperaturi 40 °C. Ostatak je ekstrahiran s vodom i heksanom u omjeru 1 : 6. Vodeni sloj je dodatno ekstrahiran s kloroformom, koji je potom uparen. Ostatak je otopljen u dimetil sulfoksidu. Mutagenost je ispitana pri nekoliko koncentracija koristeći *Salmonella typhimurium*/mikrosomni test. Otkrivena mutagenost paprika je bila niska ali je razina postojala pri svim koncentracijama. Ispitan je i čisti kapsaicin ali on nije pokazao mutagena svojstva. Testirali su smjesu paprike na aflatoksine B1 i G1 kao i B2 i G2, ali otkrili su samo B1 i G1 aflatoksine u niskim koncentracijama. Aflatoksin B1 je najjači od mikotoksina te su autori očekivali više rezultate mutagenosti za paprike, stoga su zaključili da paprika sadrži još neke spojeve s protumutagenim svojstvima [74].

Asai i sur. (2012) su također istraživali aflatoksine u crvenim čili paprikama jer se česta konzumacija crvenih čili paprika povezuje s povećanim brojem slučajeva raka žučnog mjehura. Paprike korištene u analizi su bile 3 iz Bolivije, 4 iz Perua, 2 kontrolne iz Kine te 1 kontrolna iz Japana. Aflatoksin B1 je nađen u četiri uzorka, 1 iz Bolivije, 2 iz Perua te 1 iz Kine. Bolivijski uzorak je kontaminiran s 11,3 µg/kg, uzorci iz Perua s 0,9 µg/kg i 0,7 µg/kg a uzorak iz Kine je kontaminiran s 2,3 µg/kg. Aflatoksin B2 je nađen samo u jednom uzorku iz Bolivije s koncentracijom 0,6 µg/kg dok je u ostalim uzorcima koncentracija bila ispod granice otkrivanja. Aflatoksini G1 i G2 nisu nađeni u uzorcima. Autori smatraju da otkriveni aflatoksini imaju utjecaj na razvoj raka žučnog mjehura [75].

Kearney i sur. (2014) su analizirali 7671 slučaj izloženosti sprejevima za samoobranu koji kao aktivni sastojak sadrže capsaicin prijavljen od 2004. godine do 2014. godine Poison Control Center savezne države Kalifornije. 93,2%, odnosno 3422 slučaja su bili slabi simptomi koji su uključivali oticanje i crvenilo kože, svrbež, crvenilo i suženje očiju, kašljanje, gušenje i iritaciju grla te mučninu i povraćanje. Slučajevi su proglašeni težim ako su simptomi sugerirali na znatnije ozljede tkiva te su predstavljali 6,8 % ukupnih slučajeva, odnosno brojno 249. Teški kožni simptomi su jak osip i/ili plikovi koji ukazuju na atopijski dermatitis i/ili opekline drugog stupnja. Očni teški simptomi su dugotrajna bol (traje dulje od jednog sata), zamagljen vid, osjećaj prisutnosti stranog tijela u oku, iscjedak i oticanje okolnog područja te ukazuju na abraziju rožnice, iritis ili očnu infekciju. Simptomi dišnog sustava uključuju otežano disanje, stezanje u prsima te hroptanje što ukazuje na iritaciju ili ozljedu bronhija i/ili donjeg dišnog sustava [76].



## 7.2. Toksičnost flavonoida

Galati i sur. (2004) su istražili kako flavonoidi reagiraju u prisutnosti redoks-aktivnih metala. Uz prisustvu kisika prijelazni metali poput bakra i željeza kataliziraju redoks cikliranje fenola te dovode do nastanka ROS-a i fenoksilnih radikala koji mogu oštetiti DNA, lipide i druge biološki važne makromolekule. Izloženost DNA dihidrokavenoj kiselini u prisutnosti bakra rezultira nastankom više prekida jednog i oba lanca DNA nego samo s kavenom kiselinom. Klorogena kiselina je napravila malu štetu iako ovi fenoli imaju slične strukture i redoks potencijal [77].

Chan i sur. (1999) su ispitivali aktivaciju kisika u ROS tijekom metabolizma flavona i flavanona kataliziranog peroksidazama. ROS mogu ubrzati oksidaciju lipoproteina niske gustoće (engl. *low density lipoprotein*, LDL) te uzrokovati prekidanje DNA lanaca. NADH oksidacija i potrošnja kisika je mjerena pomoću reakcijske smjese koja se sastoji od pufera pH = 7,4, flavonoida fenola, vodikova peroksida i NADH. Reakcije su praćene spektrofotometrijski. Samo flavoni i flavanoni s fenolnim prstenom oksidirani peroksidazom su kooksidirali NADH što je rezultiralo aktivacijom kisika. Prooksidirajuća aktivnost flavona i flavanona u katalizi oksidacije NADH je djelomično povezana s redoks potencijalom njihovih fenoksil radikala. Peroksidaza vjerojatno katalizira jedno-elektronsku oksidaciju fenola u fenoksil radikale koji kooksidiraju NADH u NAD<sup>•</sup> koji zatim brzo reducira O<sub>2</sub> u O<sub>2</sub><sup>-•</sup> [78].

Stvaranje superoksid radikal aniona je proučavano praćenjem redukcije citokroma c osjetljive na superoksid dismutazu u reakcijskoj smjesi koja se sastojala od pufera pH = 7,4, flavonoida ili fenola, vodikova peroksida, NADH, peroksidaze i citokroma c. Apsorbancija reduciranog citokroma c je praćena spektrofotometrijski. Redukcija citokroma c se događa nakon što smjesa peroksidaza/vodikov peroksid/NADH aktivira flavonoid a sprječava ju superoksid dismutaza. Ovaj rezultat sugerira da se superoksid radikal anioni stvaraju i da su odgovorni za redukciju citokroma c [78].

Walle i sur. (2003) su istražili kovalentno vezanje kvercetina na DNA i proteine u ljudskim stanicama jetre i crijeva. 50 μM kvercetina je inkubirano s 0,1-2 μM peroksidaze i/ili 5-200 μM vodikovog peroksida u fosfatnom puferu pH = 7,0 do 30 minuta. U nekim eksperimentima je dodano i 5 mM glutation u smjesu. Reakcije su završene dodatkom octene kiseline i hladnog metanola. Nakon miješanja i centrifuge pri 16000 g na 2 minute supernatant je analiziran HPLC metodom. U uzorcima prikupljenim 2-8 sati nakon inkubacije ireverzibilno vezanje kvercetina na proteine je dalo 31 ± 16 % ukupne radioaktivnosti. U uzorcima prikupljenim 72 sata nakon inkubacije radioaktivnost proteina je bila viša, čak 61 ± 14 %. Ovi

rezultati pokazuju da se ireverzibilno vezan kvercetin eliminira sporije od nevezanog. Inkubacijom kvercetina s peroksidazom uz vodikov peroksid dolazi do smanjenja koncentracije kvercetina ovisno o koncentraciji vodikova peroksida. Pri 50  $\mu$ M vodikova peroksida je opaženo više od 60 %-tno smanjenje koncentracije kvercetina. Dodatak glutaciona nije utjecao na brzinu raspada kvercetina ali je doveo do nastanka dva glutationska produkta, 6-glutationilkvercetina i 8-glutationilkvercetina [79].

Ljudski jetreni mikrosomi koncentracije 0,5 mg/mL su korišteni kao proteini primatelji za oksidirani kvercetin. Inkubacije s mikrosomima su dovele do visokih razina ireverzibilnog vezanja što pokazuje da su u mikrosomima prisutne oksidacijske vrste. Uz prisutnost NADPH mikrosomne inkubacije su pokazale smanjene razine ireverzibilnog vezanja kvercetina na proteine. U inkubacijama kvercetina s 1  $\mu$ M peroksidaze i 1 mM vodikovog peroksida opaženo je povećanje ireverzibilnog vezanja te je 40 % radioaktivnosti predstavljao kvercetin vezan za mikrosomne proteine [79].



## 8. Zaključak

Paprika je od davnina poznata biljka u regijama Južne i Centralne Amerike. Među prvima su ju koristili Maje, Azteci i američki Indijanci. Danas su paprike dostupne cijele godine u većini svijeta. Koristi se u prehranbene, ljekovite ali i ukrasne svrhe, zbog ljutine, okusa, šarenila plodova te ljekovitih svojstava. Razni proizvodi se prave od paprika, ali se jedu i sirove, pečene, ukiseljene te u raznolikim jelima.

Sve sorte sadrže mnoge korisne spojeve za ljude, od kapsaicinoida, do flavonoida i karotenoida. Uz njih paprike sadrže vitamine i druge korisne spojeve. Mnogi od ovih spojeva se mogu i izolirati iz paprika te koristiti kao dodaci prehrani ili u kremama i mastima. Kapsaicinoidi im daju ljutinu te su pokazali protuupalna, antigenotoksična, antimutagena te antikarcinogena svojstva. Ima spor metabolizam u koži ali se u jetrenim stanicama glodavaca i ljudi brzo metabolizira. Flavonoidi uz protuupalna i antioksidacijska svojstva također imaju pozitivan učinak na prevenciju raka i kroničnih bolesti poput reumatoidnog artritisa, povišenog kolesterola te povišenog krvnog tlaka. U paprici su nađeni žuti karotenoidi  $\beta$ -karoten, violaksantin, anteraksantina, zeaksantin te karakteristični žarko crveni ketokarotenoidi kapsantin, kapsorubin i kapsantin-5,6-epoksid koji imaju važnu ulogu u sprječavanju kardiovaskularnih i očnih bolesti te stvaraju raku kao i antioksidacijsku aktivnost.

Flavonoidi i kapsaicinoidi su pokazali malen broj negativnih učinaka. Tijekom metabolizma flavona i flavanona kataliziraju peroksidazama aktivira se kisik u ROS te time šteti organizmu. Kapsaicin ima negativnih učinaka i oralnom primjenom i nakon izloženosti u obliku spreja na samoobranu. Uzrokuje upalnu reakciju sluznice nosa i usta, disanje postaje kratko i plitko nakon čega slijedi nekontrolirano kašljanje i gušenje. U nosnoj sluznici uzrokuje goreću bol, kihanje te curenje nosa. Simptomi kontakta s očima su osjećaj pečenja, suženje te oticanje očiju i okolnog područja. Kontakt s kožom pak rezultira osjećajem pečenja te crvenilom.

Pozitivni učinci spojeva iz paprike daleko nadmašuju negativne koji se pojavljuju u rijetkim slučajevima ili pri jako visokom unosu spojeva, a ne paprike. Proizvodi od paprika i same paprike predstavljaju dobar način unosa bioaktivnih spojeva koje sadrže. Konzumiranjem ploda paprike bilo koje sorte i vrste se postiže dovoljan dnevni unos vitamina C koji osim što sprječava skorbut ima i ulogu reducensa i antioksidansa u organizmu. Karotenoidi kapsantin, kapsorubin i  $\beta$ -karoten se antioksidansi koji se također unose konzumiranjem paprike s tim da je ukupni sadržaj karotenoida u paprici veći nego u rajčicama i mrkvi koje se često navode kao dobar izvor karotenoida. Konzumiranjem ploda i listova paprike unosimo flavonoide kvercetin,

miricetin, luteolin, apigenin kao i njihove glikozide koji pokazuju dobra antioksidacijska i protuupalna svojstva. U nekoliko studija se pokazalo da listovi paprike sadrže više flavonoida od plodova te da im se sadržaj smanjuje zrenjem plodova. Kapsaicinoidi koji se u organizam unose jedenjem ljutih paprika daju karakterističnu ljutinu jelima te pomažu probavi i metabolizmu. S konzumiranjem ljutih paprika se ne bi trebalo pretjerati zbog otežanog disanja koje nastaje nakon uzimanja jako ljutih paprika. Kreme sa kapsaicinom zato dobro pomažu namazane na upaljene zglobove. Manje ljute i slatke paprike nisu dosad pokazale štetne učinke te nije problem pojesti nekoliko plodova dnevno, već je poželjno bar jednu.



## 9. Literaturna vrela

- [1] P.W. Bosland, E. J. Votava, Peppers: Vegetable and Spice Capsicums, 2nd Edition, CAB International, Wallingford, 2012.
- [2] A. Krishna De, Capsicum: The genus Capsicum, Taylor & Francis Group, New York, 2003.
- [3] V. S. Govindarajan, U. J. Salzer, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **22** (1985), 109-176.
- [4] [https://gernot-katzers-spice-pages.com/engl/Caps\\_ann.html](https://gernot-katzers-spice-pages.com/engl/Caps_ann.html) (5. 9. 2022.).
- [5] <https://web.archive.org/web/20081013064247/http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=CAAN4> (5.9. 2022.).
- [6] <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:30006872-2#children> (25. 3. 2023.).
- [7] <https://www.agroklub.com/sortna-lista/povrce/paprika-14> (5. 9. 2022.).
- [8] <https://www.nparks.gov.sg/florafaunaweb/flora/6/5/522> (6. 9. 2022.).
- [9] [https://florafinder.org/Species/Capsicum\\_annuum\\_Chilly\\_Chili.php](https://florafinder.org/Species/Capsicum_annuum_Chilly_Chili.php) (13. 9. 2022.)
- [10] D. Jatav, Effect of biofertilizers on growth and yield of chilli (*Capsicum annuum* L.) cv. Pusa Jwala at different levels of nitrogen and phosphorus, Diplomski rad, Department of Horticulture at College of Agriculture, Rewa (M.P.), 2017.
- [11] <https://hr.hiloved.com/devet-vrststakomunihmatki-paprika/> (7. 9. 2022.).
- [12] [https://en.wikipedia.org/wiki/Capsicum#/media/File:Red\\_capsicum\\_and\\_cross\\_section.jpg](https://en.wikipedia.org/wiki/Capsicum#/media/File:Red_capsicum_and_cross_section.jpg) (13. 9. 2022.).
- [13] K. Urig, New Mexico Chiles: History, Legend and Lore, American Palate, Charleston, 2015.
- [14] <https://www.thespruceeats.com/new-mexico-chiles-2215960> (15. 7. 2023.).
- [15] <https://www.seriousseats.com/ajvar-serbian-roasted-red-pepper-sauce-recipe> (23. 7. 2023.).
- [16] <https://www.mojazimnica.hr/pindur/> (23. 7. 2023.).
- [17] <https://www.mojazimnica.hr/ljutenica/> (23. 7. 2023.).
- [18] <https://recipeci.com/lovacka-salata-jako-fina-zimnica/18506/> (23. 7. 2023.).
- [19] C. A. Wright, *Little Foods of the Mediterranean: 500 Fabulous Recipes for antipasti, tapas, hors d'oeuvre, meze, and more*, Harvard Common Press, Boston, 2003.
- [20] <https://www.uspharmacist.com/article/capsaicin-risks-and-benefits> (9. 3. 2023.).
- [21] <https://www.suzavac-argus.com/sprejevi-za-samoobranu/> (9. 3. 2023.).

- [22] V. Fattori, M. S. N. Hohmann, A. C. Rossaneis, F. A. Pinho-Ribeiro, W. A. Verri, Jr., *Molecules* **21** (2016), 844-877.
- [23] R. G. Buttery, R. M. Seifert, D. G. Guadagni, L. C. Ling, *J. Agric. Food Chem.* **17** (1969), 1322-1327.
- [24] S. Kosuge, Y. Inagaki, K. Uehara, *J. Agric. Food Chem. Soc. Japan*, **32** (1957), 578-581.
- [25] K. Kulka, *J. Agri. Food Chem.* **15** (1967), 48-57.
- [26] S. Basharat, S. A. Gilani, F. Iftikhar, M. A. Murtaza, A. Basharat, A. Sattar, M. M. Qamar, M. Ali, *Skin Pharmacol. Physiol.* **33** (2020), 331-341.
- [27] <https://en.wikipedia.org/wiki/Capsaicin#/media/File:Kapsaicyna.svg> (13. 9. 2022.).
- [28] J. Jurenitsch, W. Kubelka, K. Jentzsch, *Planta Med.* **35** (1979), 174-183.
- [29] <https://pepperheadsforlife.com/the-scoville-scale/> (9. 3. 2023.).
- [30] A. Marín, F. Ferreres, F. A. Tomas-Barberan, M. I. Gil, *J. Agric. Food Chem.* **52** (2004), 3861-3869.
- [31] <https://www.livescience.com/52524-flavonoids.html> (2. 2. 2023.).
- [32] O. K. Chun, S. J. Chung, W. O. Song, *J. Nutr.* **13** (2007), 1244-1252.
- [33] N. P. Bondonno, Y. L. Liu, Y. Zheng, K. Ivy, W. C. Willett, M. J. Stampfer, E. B. Rimm, A. Cassidy, *BMC Med.* **21** (2023), 1-13.
- [34] P. Knekt, J. Kumpulainen, R. Järvinen, H. Rissanen, M. Heliövaara, A. Reunanen, T. Hakulinen, A. Aromaa, *Am. J. Clin. Nutr.* **76** (2002), 560-568.
- [35] S. J. Maleki, J. F. Crespo, B. Cabanilla, *J. Agric. Food Chem.* **299** (2019), 1-54.
- [36] W. R. Kim, E. O. Kim, K. K. Kim, S. Oidovsambuu, S. H. Jung, B. S. Kim, C. W. Nho, B. H. Um, *J. Agric. Food Chem.* **62** (2014), 850-859.
- [37] <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.4444102.html?rid=8ade510c-bc11-4adb-a794-a28657d74ef3> (1. 6. 2023.).
- [38] G. L. Hostetler, R. A. Ralston, S. J. Schwartz, *Adv. Nutr.* **8** (2017), 423-435.
- [39] K. H. Miean, S. Mohamed, *J. Agric. Food Chem.* **49** (2001), 3106-3112.
- [40] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3468084/> (1. 6. 2023.).
- [41] <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.4444991.html?rid=3a0795c2-e3ef-4be9-ae8a-b3830df60684> (1. 6. 2023.).
- [42] L. R. Howard, S. T. Talcott, C. H. Brenes, B. Villalon, *J. Agric. Food. Chem.* **48** (2000), 1713-1720.
- [43] S. Y. Cho, H. W. Kim, M. K. Lee, H. J. Kim, J. B. Kim, J. S. Choe, Y. M. Lee, H. H. Jang, *Antioxidants* **9** (2020), 986-996.
- [44] <https://www.hsph.harvard.edu/nutritionsource/vitamin-c/> (10. 9. 2022.).

- [45] [https://en.wikipedia.org/wiki/Vitamin\\_C#/media/File:L-Ascorbic\\_acid.svg](https://en.wikipedia.org/wiki/Vitamin_C#/media/File:L-Ascorbic_acid.svg) (13. 9. 2022.).
- [46] S. Škrovánková, J. Mlček, J. Orsavová, T. Juríková, P. Dřimalová, *Slovak. J. Food Sci.* **11** (2017), 52–57.
- [47] A. Szent-Györgyi, J. L. Svribely, *Biochem. J.* **27** (1933), 279-285.
- [48] S. Martínez, M. López, M. González-Raurich, A. B. Alvarez, *Int. J. Food Sci. Nutr.* **56** (2005), 45-51.
- [49] <https://en.wikipedia.org/wiki/Carotenoid#/media/File:Isorenieratene-2D-skeletal.png> (13. 9. 2022.).
- [50] N. M. Hassan, N. A. Yusof, A. F. Yahaya, N. N. M. Rozali, R. Othman, *Antioxidants* **8** (2019), 469-494.
- [51] M. I. Dawson, *Curr. Pharm. Des.* **6** (2000), 311-325.
- [52] T. S. Acunha, R. L. Crizel, I. B. Tavares, R. L. Barbieri, C. M. Pereira de Pereira, C. V. Rombaldi, F. C. Chaves, *Crop Sci.* **57** (2017), 1-13.
- [53] M. S. Barber, L. M. Jackman, C. K. Warren, B. C. I. Weedon, *Proc. Chem. Soc.* **1** (1960), 19-20.
- [54] H. Faigle, P. Karrer, *Helv. Chim. Acta* **44** (1961), 1267-1261.
- [55] R. D. G. Cooper, L. M. Jackman, B. C. I. Weedon, *Proc. Chem Soc.* **6** (1962), 215
- [56] <https://en.wikipedia.org/wiki/Capsanthin#/media/File:Capsanthin.svg> (13. 9. 2022.).
- [57] <https://www.britannica.com/science/Pharmacology> (8. 3. 2023.).
- [58] S. Chanda, M. Bashir, S. Babbar, A. Koganti, K. Bley, *Drug Metab. Dispos.* **36** (2008), 670-675.
- [59] <https://www.mojaapoteka-webshop.net/Proizvodi/5235/KAPSIN-MAST.shtml> (13. 3. 2023.).
- [60] <https://www.britannica.com/science/catecholamine> (24. 7. 2023.).
- [61] K. Chaiyasit, W. Khovidhunkit, S. Wittayalertpanya, *J. Med. Assoc. Thail.* **92** (2009), 108–113.
- [62] [https://bs.wikipedia.org/wiki/TRPV1#/media/Datoteka:Trpv1\\_pip2\\_bilayer.png](https://bs.wikipedia.org/wiki/TRPV1#/media/Datoteka:Trpv1_pip2_bilayer.png) (15. 3. 2023.).
- [63] T. Iida, T. Moriyama, K. Kobata, A. Morita, N. Murayama, S. Hashizume, T. Fushiki, S. Yazawa, T. Watanabe, M. Tominaga, *Neuropharmacology* **44** (2003), 958-967.
- [64] P. K. Randhawa, A. S. Jaggi, *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.* **23** (2017), 38-45.
- [65] S. Derry, A. S. C. Rice, P. Cole, T. Tan, R. A. Moore, *Cochrane Database of Systematic Reviews* **2** (2013), 1-50.

- [66] S. S. Lee, S. Kumar, *Microsomes, Drug Oxidations and Chemical Carcinogenesis 2*, Academic Press, New York, 1980.
- [67] P. Gannett, P. Iversen, T. Lawson, *Biorg. Chem.* **18** (1990), 185-198.
- [68] Y. J. Surh, S. S. Lee, *Life Sci.* **56** (1995), 1845-1855.
- [69] P. Gannett, T. Lawson, *Cancer Letters* **48** (1989), 109-113.
- [70] J. Donnerer, R. Amann, F. Lembeck, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* **341** (1990), 108-113.
- [71] G.E. Batiha, A. Alqahtani, O. A. Ojo, H. M. Shaheen, L. Wasef, M. Elzeiny, M. Ismail, M. Shalaby, T. Murata, A. Zaragoza-Bastida, N. Rivero-Perez, A. M. Beshbishy, K. I. Kasozi, P. Jeandet, H. F. Hetta, *Int. J. Mol. Sci.* **21** (2020), 5179.
- [72] A. Saito, M. Yamamoto, *J. Toxicol. Sci.* **21** (1996), 195-200.
- [73] G. Galati, S. Teng, M. Y. Moridani, T. S. Chan, P. J. O'Brien, *Drug Metabol Drug Interact.* **17** (2000), 311-349.
- [74] Y. Tsuchiya, M. Terao, K. Okano, K. Nakamura, T. Oyama, K. Ikegami, M. Yamamoto, *Asian Pacific J. Cancer Prev.* **12** (2011), 471-476.
- [75] T. Asai, Y. Tsuchiya, K. Okano, A. Piscoya, C. Y. Nishi, T. Ikoma, T. Oyama, K. Ikegami, M. Yamamoto, *Asian Pacific J. Cancer Prev.* **13** (2012), 5167-5170.
- [76] T. Kearney, P. Hiatt, E. Birdsall, C. Scollin, *Prehosp. Emerg. Care* **18** (2014), 381-386.
- [77] G. Galati, P. J. O'Brien, *Free Radic Biol Med.* **37** (2004), 287-303.
- [78] T. Chan, G. Galati, P. J. O'Brien, *Chem Biol. Interact* **122** (1999), 15-25.
- [79] T. Walle, T. S. Vincent, H. K. Walle, *Biochem. Pharmacol* **65** (2003), 1603-1610.

