

# Bioaktivnost, farmakologija i toksikologija odabranih spojeva u kavi

---

Ćićerić, Ana

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

*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:182:789245>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-02-23**

*Repository / Repozitorij:*

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



Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku – Odjel za kemiju  
Sveučilišni prijediplomski studij Kemija

Ana Čičerić

**BIOAKTIVNOST, FARMAKOLOGIJA I  
TOKSIKOLOGIJA ODABRANIH SPOJEVA  
U KAVI**

Završni rad

Mentor: doc. dr. sc. Ana Amić

Osijek 2024.

*Prije svega, zahvalila bih se mentorici doc. dr. sc. Ani Amić na velikoj potpori, susretljivosti, podijeljenim znanjima i vještinama te kvalitetnim kritikama kojima sam uvelike poboljšala ovaj rad.*

Naziv sveučilišta: **Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku – Odjel za kemiju**

Naziv studija: **Sveučilišni prijediplomski studij Kemija**

**Znanstveno područje:** Prirodne znanosti

**Znanstveno polje:** Kemija

**Znanstvena grana:** Biokemija

**BIOAKTIVNOST, FARMAKOLOGIJA I TOKSIKOLOGIJA ODABRANIH  
SPOJEVA U KAVI  
ANA ĆIĆERIĆ**

**Rad je izrađen na:** Sveučilištu u Osijeku – Odjel za kemiju

**Mentor:** doc. dr. sc. Ana Amić

**Sažetak:** Kava je jedno od najpopularnijih pića u svijetu. Sastoji se od oko 700 spojeva koji joj daju karakterističan okus i miris. Biljka kava član je obitelji Rubiaceae. Najvažnije vrste kave su *Coffea arabica* L. i *C. canephora* Pierre ex Froehner, koje čine 40 – 60 % svjetske proizvodnje. Sastojci kave, uključujući kofein, klorogenu kiselinu, trigonelin, diterpene (kafestol i kahweol), melanoidine i druge spojeve doprinose njenom jedinstvenom okusu i mirisu. Brojna istraživanja utvrdila su da kava sadrži bioaktivne spojeve s potencijalnim zdravstvenim koristima. U ovom završnom radu detaljno su istraženi bioaktivnost, farmakologija i toksikologija odabranih spojeva u kavi, s posebnim naglaskom na kofein, klorogenu kiselinu, trigonelin, melanoidine i diterpene. Kofein je poznat po svojim stimulativnim učincima na središnji živčani sustav, dok klorogena kiselina posjeduje antioksidacijska svojstva koja mogu pomoći u prevenciji kroničnih bolesti poput kardiovaskularnih bolesti i dijabetesa. Melanoidini, nastali tijekom prženja, također pokazuju antioksidacijske i antiglikacijske aktivnosti. Međutim, istraživanja također ukazuju na potencijalne toksične učinke, osobito u visokim dozama, uključujući rizik od razvoja gastrointestinalnih smetnji i poremećaja spavanja.

**Ključne riječi:** *kofein, klorogena kiselina, trigonelin, antioksidacijsko djelovanje, protuupalno djelovanje.*

**Jezik izvornika:** hrvatski jezik

**Diplomski rad obuhvaća:** 51 stranicu, 11 slika, 2 tablice, 97 literaturnih navoda i 1 prilog

**Rad prihvaćen:** 16. 9. 2024.

**Stručno povjerenstvo za ocjenu rada:**

1. doc. dr. sc. Anamarija Stanković, predsjednica
2. doc. dr. sc. Ana Amić, mentorica i članica
3. doc. dr. sc. Olivera Galović, članica
4. doc. dr. sc. Aleksandar Sečenji, zamjena člana

**Rad je pohranjen:** Knjižnica Odjela za kemiju, Kuhačeva 20, 31000 Osijek

Repozitorij Odjela za kemiju, Osijek

University Name: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek – Department of Chemistry**

Name of study programme: **University Undergraduate study programme in Chemistry**

**Scientific area:** Natural sciences

**Scientific field:** Chemistry

**Scientific branch:** Biochemistry

**BIOACTIVITY, PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY OF SELECTED  
COMPOUNDS IN COFFEE  
ANA ČIČERIĆ**

**The paper was created on:** Department of Chemistry

**Supervisor:** Assist. Prof., Ana Amić, PhD

**Abstract:** Coffee is one of the most popular beverages in the world. It consists of about 700 compounds that give it its characteristic flavor and aroma. The coffee plant belongs to the Rubiaceae family. The most important coffee species are *Coffea arabica* L. and *C. canephora* Pierre ex Froehner, which make up 40 – 60 % of global production. The components of coffee, including caffeine, chlorogenic acid, trigonelline, diterpenes (cafestol and kahweol), melanoidins, and other compounds, contribute to its unique flavor and aroma. Numerous studies have found that coffee contains bioactive compounds with potential health benefits. This final thesis thoroughly investigates the bioactivity, pharmacology, and toxicology of selected compounds in coffee, with special emphasis on caffeine, chlorogenic acid, trigonelline, melanoidins, and diterpenes. Caffeine is known for its stimulating effects on the central nervous system, while chlorogenic acid possesses antioxidant properties that may help prevent chronic diseases such as cardiovascular disease and diabetes. Melanoidins, formed during roasting, also exhibit antioxidant and anti-glycation activities. However, research also points to potential toxic effects, especially in high doses, including the risk of developing gastrointestinal issues and sleep disorders.

**Keywords:** *caffeine, chlorogenic acid, trigonelline, antioxidant activity, anti-inflammatory activity.*

**Original language:** Croatian language

**Thesis includes:** 51 pages, 11 figures, 2 tables, 97 references and 1 attachment

**Thesis accepted:** 16. 9. 2024.

**Reviewers:**

1. Assist. Prof., Anamarija Stanković, PhD, chair
2. Assist. Prof., Ana Amić, PhD, supervisor and member
3. Assist. Prof., Olivera Galović, PhD, member
4. Assist. Prof., Aleksandar Sečenji, PhD, substitute member

**Thesis deposited in:** Library of the Department of Chemistry, Ulica Franje Kuhača 20, Osijek  
Repository of the Department of Chemistry, Osijek

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. LITERATURNI PREGLED</b> .....	3
2.1. Kratki pregled glavnih vrsta i kemijskog sastava kave .....	3
2.1.1. Utjecaj prženja zrna kave na kemijski sastav zrna.....	6
2.1.2. Kofein .....	9
2.1.3. Klorogena kiselina .....	10
2.1.4. Trigonelin.....	10
2.1.5. Melanoidini .....	11
2.1.6. Diterpeni .....	12
2.2. Kratki pregled biološke aktivnosti odabranih spojeva u kavi.....	13
2.2.1. Kofein .....	14
2.2.2. Klorogena kiselina .....	18
2.2.3. Trigonelin.....	23
2.2.4. Melanoidini .....	25
2.2.5. Diterpeni .....	27
2.3. Farmakologija odabranih spojeva u kavi.....	30
2.3.1. Kofein .....	30
2.3.2. Klorogena kiselina .....	32
2.3.3. Trigonelin.....	32
2.3.4. Melanoidini .....	33
2.3.5. Diterpeni .....	34
2.4. Toksikologija spojeva u kavi.....	35
2.4.1. Kofein .....	35
2.4.2. Klorogena kiselina .....	37
2.4.3. Trigonelin.....	38
2.4.4. Melanoidin .....	38
2.4.5. Diterpeni .....	39
<b>3. ZAKLJUČAK</b> .....	40
<b>4. POPIS LITERATURE</b> .....	41
<b>5. PRILOG</b> .....	49
5.1. Popis kratica .....	49

# 1. UVOD

Kava je jedno od najpopularnijih pića na svijetu, s procijenjenom godišnjom potrošnjom od 400 milijardi šalica koju konzumira 40 % svjetske populacije [1]. Sastoji se od oko 700 različitih spojeva koji joj daju prepoznatljiv okus i miris. Biljka kave pripada obitelji Rubiaceae, bročine ili broćevi [2]. Raste u vlažnim područjima s temperaturama između 18 – 24 °C. Najvažnije vrste su *Coffea arabica* L. i *C. canephora* Pierre ex Froehner, koje čine 40 – 60 % svjetske proizvodnje. *C. arabica* L. poznata je po složenijem okusu i većoj kiselosti, dok je *C. canephora* Pierre ex Froehner intenzivnijeg i gorčeg okusa, što je čini pogodnom za espresso i određene mješavine [3].

Kava sadrži mnoge tvari koje utječu na ljudsko tijelo, kao što su kofein, kavena kiselina, CA (engl. *caffeic acid*), trigonelin, TRG (engl. *trigonelline*), klorogena kiselina, CGA (engl. *chlorogenic acid*), i diterpeni, poput kafestola i kahweola, koji doprinose njenom jedinstvenom mirisu i okusu. Konzumacija kave može imati pozitivne, ali i negativne učinke na zdravlje [4]. Neki od pozitivnih učinaka su smanjenje rizika od pojave Alzheimerove i Parkinsonove bolesti, kao i određenih karcinoma i dijabetesa tipa 2 [5].

Prženje zrna kave uzrokuje značajne promjene u kemijskom sastavu zrna, što utječe na njihov okus, aromu i nutritivne karakteristike. Tijekom ovog procesa, složeni ugljikohidrati razgrađuju se u jednostavne šećere, proteini denaturiraju, a lipidi se raspadaju, stvarajući različite aromatske spojeve. Maillardova reakcija, koja se događa tijekom prženja, ključna je za razvoj karakteristične boje i složenih aroma pržene kave [6,7].

Bioaktivni spojevi u kavi, poput kofeina, klorogene kiseline i trigonelina, odgovorni su za potencijalne zdravstvene koristi konzumacije kave. Kofein je poznat po stimulirajućem učinku na središnji živčani sustav, dok klorogena kiselina ima antioksidacijski učinak koji stanice štiti od oksidacijskog stresa i upalnih procesa. Trigonelin također doprinosi bioaktivnom učinku kave, a iako je manje istražen utvrđeno je da i on ima pozitivan učinak na zdravlje [6-8].

Ovaj rad fokusira se na glavne komponente kave (kofein, klorogenu kiselinu, trigonelin, melanoidine, diterpene), njihovu bioaktivnost, farmakologiju (interakcije s biološkim sustavima, mehanizmi djelovanja s potencijalnom primjenom u prevenciji i/ili liječenju bolesti, farmakodinamika, farmakokinetika) te toksikologiju. Rezultati brojnih studija ukazuju na potencijalnu primjenu bioaktivnih spojeva iz kave u prevenciji i/ili liječenju bolesti, ali i na moguće štetno djelovanje na ljudski organizam. Pregledom literature, između ostalog, utvrđeno je da kofein blokira adenozijske receptore, što dovodi do povećane budnosti i poboljšane

mentalne performanse [6], klorogena kiselina može modulirati enzime uključene u metabolizam glukoze i lipida, čime može utjecati na metaboličke poremećaje [9], a diterpeni mogu djelovati na različite signalne putove u stanicama, uključujući one povezane s upalom [10]. Iako su mnogi spojevi u kavi korisni u umjerenim količinama, njihova prekomjerna konzumacija može uzrokovati negativne nuspojave (nesanicu, nervozu i kardiovaskularne probleme) [11].

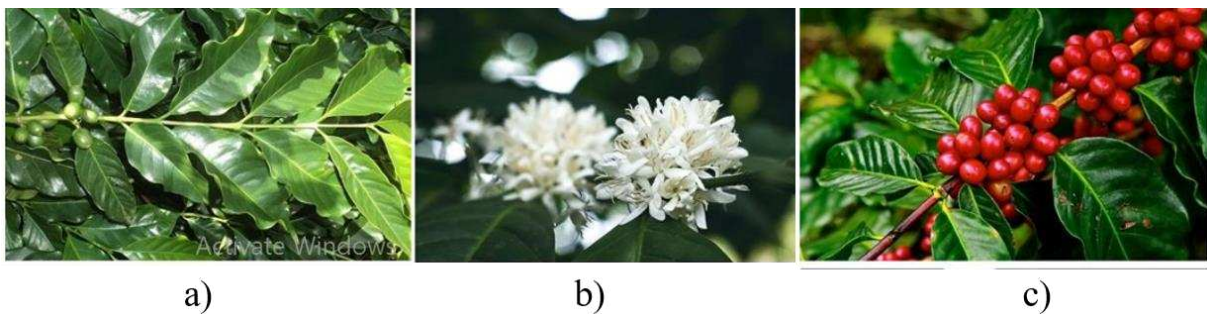


## 2. LITERATURNI PREGLED

### 2.1. Kratki pregled glavnih vrsta i kemijskog sastava kave

Rod biljke kave, *Coffea*, obuhvaća više od 100 vrsta, ali za široku potrošnju dvije vrste imaju istaknuto mjesto: *C. arabica* L., opće poznata kao kava Arabica, i *C. canephora* Pierre ex Froehner, drugog naziva kava Robusta (Slika 1.). Te se dvije vrste razlikuju po određenim karakteristikama, poput visine biljke, mirisa cvijeta, sadržaja kofeina te veličine i boje sjemenki. *C. arabica* L., poznata je po svojim nijansiranim okusima i smatra se kavom vrhunske kvalitete. *C. canephora* Pierre ex Froehner je zahvaljujući intenzivnijem okusu popularna i često se koristi za pripremu espressa [6].

Arabica formira veliki grm s tamnozelenim ovalnim listovima. Genetski se razlikuje od drugih vrsta kave jer ima četiri seta kromosoma umjesto dva. Plodovi su ovalnog oblika i sazrijevaju u razdoblju od srpnja do rujna. Obično sadrže dvije plosnate sjemenke, a kada se razvije samo jedno zrno, naziva se „peaberry“ [12]. U usporedbi s Robustom, stabla Arabice su općenito manje vitalna, s višim troškovima proizvodnje te proizvode zrna koja sadrže otprilike polovicu količine kofeina [13].

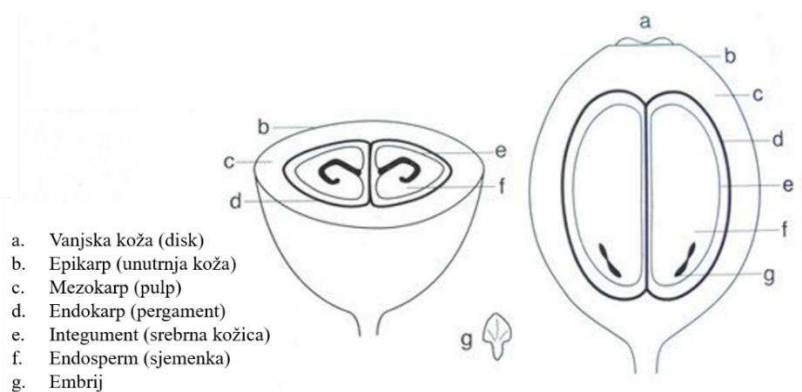


*Slika 1. Prikaz a) listova, b) cvata i c) ploda kave [14]*

Robusta ima veće i šire listove u usporedbi s Arabicom, sa sjajnim zelenim izgledom. Cvjetovi su bijeli i mirisni, obično cvjetaju nakon obilne kiše. Razdoblje cvatnje je kraće nego kod Arabice. Plodovi, poznati kao trešnje, okrugliji su i manji u usporedbi s plodovima Arabice. Dozrijevaju unutar 10 – 11 mjeseci nakon cvatnje. Zrna Robuste karakterizira veći sadržaj kofeina, gotovo dvostruko veći od onog u Arabici, što pridonosi njihovom gorkom okusu i snažnijem profilu. Naime, Arabica sadrži 10 – 12 mg kofeina/ g, a Robusta 19 – 21 mg kofeina/

g. Također, Robusta ima višu koncentraciju klorogene kiseline, što dodatno doprinosi njenom specifičnom okusu [15].

Zrno kave građeno je od: egzokarpa, koji je bogat kofeinom, klorogenom kiselinom i taninima; mezokarpa, koji je izvor ugljikohidrata, poput glukoze i pektina; pergamentnog sloja, koji je sastavljen od celuloze, kofeina i minerala; integumenta, koja je sastavljena od polisaharida, kao što su celuloza i hemiceluloza, te proteina i fenolnih spojeva i konačno endokarpa, koji sadrži značajne koncentracije kofeina, polifenola, flavonoida i triacilglicerola te drugih bioaktivnih spojeva (Slika 2.) [16].



**Slika 2.** Poprečni i uzdužni presjek zrna kave

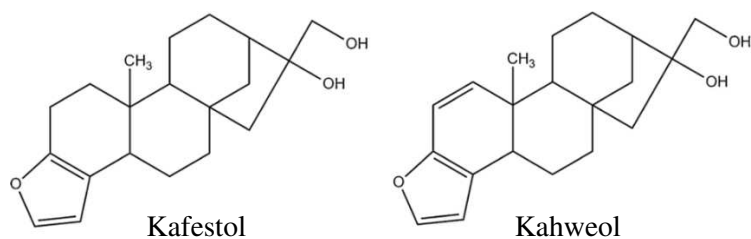
(preuzeto i prilagođeno iz: [16])

Zelena zrna kave (tzv. zelena kava) su zapravo ne pržena zrna kave, dobivaju se berbom i obradom ploda, pri čemu se odvoje pulpa i zrno. Pulpa, koja je nusprodukt prerade ploda, obično se odlaže u otpad ili koristi kao kompost [17]. Samo prženje zrna će rezultirati karakterističnim okusom i aromom kave [10]. Zelena zrna kave uglavnom se sastoje od ugljikohidrata (59 – 61 %), lipida (11 – 17 %), proteina (10 – 16 %), fenola (6 – 10 %), minerala (4 %), masnih kiselina (2 %), kofeina (1 – 2 %), trigonelina (1 %) i slobodnih aminokiselina (< 1 %). Uz to su bogata mineralima poput kalija, magnezija, kalcija, natrija, željeza, mangana, cinka, bakra itd [6,7].

U osušenim zrnima kave proteini čine 8 – 12 %, s tim da se tijekom sazrijevanja zrna većina proteina hidrolizira u aminokiseline, a samu hidrolizu ubrzava klorogena kiselina i njeni derivati. Alanin, arginin, asparagin, cistein, glutaminska kiselina, histidin, glicin, izoleucin, leucin, lizin, metionin, fenilalanin, prolin, serin, tirozin, treonin i valin su aminokiseline koje se

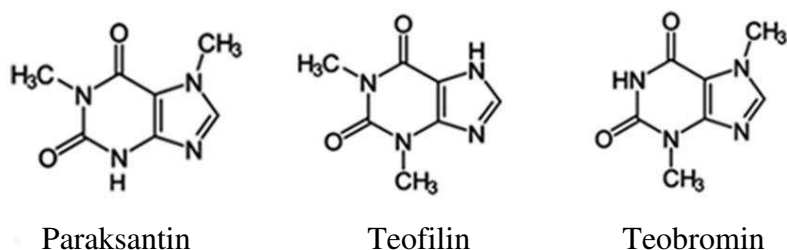
nalaze u zrnu kave u najvećim količinama. Prosječna koncentracija aminokiselina u kavi iznosi od 4 mg/g u *C. canephora* Pierre ex Froehner i 4,5 mg/g u *C. arabica* L. [18].

0 koji čine 75,2 % i 18,5 % ukupnog sadržaja lipida, odnosno sadrži malu količinu estera steroida (3,2 %), diterpenskih alkohola (~ 0,4 %), sterola (2,2 %), tokoferola (~ 0,05 %), fosfatida (~ 0,4 %) i derivata triptamina (~ 0,8 %). Najznačajniji terpeni su kafestol i kahweol (Slika 3.), koji se prirodno pojavljuju kao diterpeni te čine 20 % lipidnog dijela sastava zrna kave [6].



**Slika 3.** *Kemijske strukture najznačajnijih terpena kave [19]*

Dva alkaloida prisutna u zrnu kave u najvećim koncentracijama su kofein i trigonelin. Metilksantini, poput kofeina i teobromina klasificirani su kao purinski alkaloidi. Nalaze se u čaju, kavi i brojnim drugim bezalkoholnim pićima. Kofein je izoliran iz čaja i kave ranih 1820–ih godina, ali glavni biosintetski i katabolički putevi kofeina nisu u potpunosti utvrđeni sve do 2000. godine. Javljaju se i drugi metilksantini, uključujući paraksantin i teofilin (Slika 4.) [20].



**Slika 4.** *Kemijske strukture metilksantina prisutnih u zrnu kave (preuzeto i prilagođeno iz: [21])*

Kao što je prethodno spomenuto, ugljikohidrati su glavni sastojci zrna kave (do 61 %), a utvrđeno je da imaju različite funkcije poput vezanja arome, stabilizacije pjene, formiranja sedimentacije i povećanja viskoznosti ekstrakta. Za ekstrakciju ugljikohidrata iz pržene kave

koriste se brojne metode koje uključuju sekvencijalnu ekstrakciju, kiselinsku hidrolizu, ekstrakciju vrućom vodom, enzimsku ekstrakciju itd. Za kvantitativnu analizu ugljikohidrata kave često se koriste tekućinska kromatografija, kromatografija s ionskom izmjenom, kromatografija isključenjem po veličini i tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti [22].

Glavni ugljikohidrat male molekulske mase u zrnu kave je saharoza, dok zeleno zrno Robuste sadrži 48 % polisaharida i to uglavnom arabinogalaktan, manan i celulozu. Sadržaj polisaharida smanjuje se tijekom prženja zbog razgradnje na ugljikohidrate manje molekulske mase (npr. mono- i oligosaharide) i postaje lakše ekstraktivan. Ugljikohidrati čine oko polovice suhe mase zelenih zrna kave, od čega arabinogalaktan čini do 17 %. On se sastoji od  $\beta$ -1-3-povezanih galaktanskih glavnih lanaca s arabinozom i galaktozom kao bočnim lancima. U zrelim zrnima kave, bočni lanci polisaharida sadrže manje ostataka galaktoze i arabinoze, što čini zelena zrna kave otpornijima na propadanje i manje topljivima u vodi [18].

#### 2.1.1. Utjecaj prženja zrna kave na kemijski sastav zrna

Tijekom procesa prženja, mijenjaju se i fizičke karakteristike zrna (Slika 5.). Prženje uzrokuje gubitak mase zrna zbog isparavanja vode, eteričnih ulja i drugih hlapljivih tvari, što rezultira smanjenjem mase za oko 15 do 20 %. Istovremeno, volumen zrna se povećava za 30 do 50 % jer se zrak unutar zrna širi, a CO<sub>2</sub> se oslobađa. Boja zrna prolazi kroz različite faze, od zelene preko žute do tamnosmeđe, što je rezultat Maillardove reakcije i karamelizacije šećera. Pojava pukotina na zrnu signalizira da su unutarnje promjene napredovale, dok smanjenje gustoće zrna, uzrokovano gubitkom mase i povećanjem volumena, može utjecati na način mljevenja kave. Ove promjene su odgovorne za postizanje specifičnog profila okusa i arome pržene kave [23].



*Slika 5. Izgled zrna kave prije i nakon procesa prženja [24]*

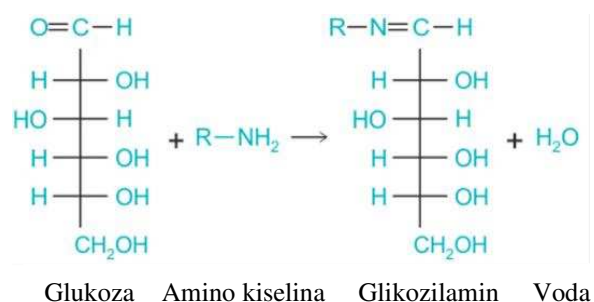
Osim promjena fizičkih karakteristika, kemijski sastav zrna kave prolazi kroz značajne promjene koje utječu na njihov okus, aromu i nutritivne karakteristike. Kao što je prethodno

spomenuto, tijekom prženja složeni ugljikohidrati se razgrađuju u jednostavnije šećere, što doprinosi karamelizaciji i razvoju složenih okusa i aroma. Proteini se denaturiraju i raspadaju na manje peptidne fragmente i aminokiseline. Ove komponente sudjeluju u Maillardovoj reakciji, koja je ključna za razvoj boje i kompleksne arome pržene kave. Lipidi se raspadaju i stvaraju različite aromatske spojeve. Prilikom prženja, količina kiselina u zrnu kave opada, što može utjecati na kiselost konačnog napitka. Količina kofeina ostaje relativno stabilna tijekom prženja, iako može doći do malih promjena u koncentraciji prilikom različitih procesa termičke obrade [25].

Nekoliko čimbenika utječe na proces prženja kave, poput vrste kave, temperature, vremena, protoka zraka i metode prženja. Proces prženja sastoji se od dvije faze: faze sušenja i faze prženja. Ove se faze mogu razlikovati prema temperaturi, gdje se faza sušenja odvija pri temperaturama ispod 160 °C, dok faza prženja koristi temperature između 160 – 260 °C [26].

U zelenoj kavi, ugljikohidrati, spojevi dušika (proteini, trigonelin i kofein), lipidi, organske kiseline i voda predstavljaju prekursore arome i okusa koji se tijekom prženja transformiraju. Glavni put nastanka arome kave je Maillardova reakcija (neenzimsko posmeđivanje) i Streckerova degradacija. Maillardova reakcija je reakcija koja se događa između reducirajućih šećera i aminokiselina pod utjecajem topline pri čemu se sintetiziraju melanoidini i drugi kompleksni spojevi koji su odgovorni za promjenu boje zrna iz zelene u različite nijasne smeđe boje [27].

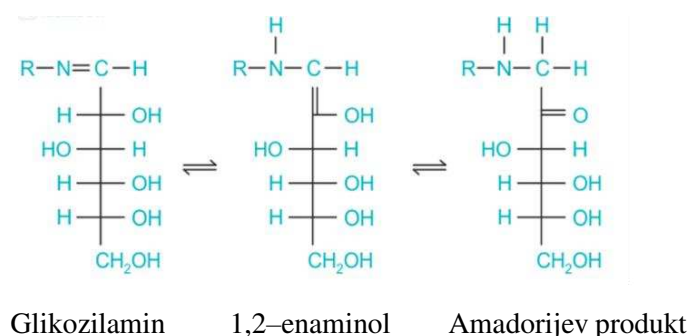
Mehanizam Maillardove reakcije može se podijeliti u tri koraka. U prvom koraku karbonilna skupina šećera reagira s amino skupinom aminokiseline dajući *N*-supstituirani glikozilamin uz oslobađanje vode (Slika 6.) [28].



**Slika 6.** Strukturni prikaz prvog koraka Maillardove reakcije

(preuzeto i prilagođeno iz: [28])

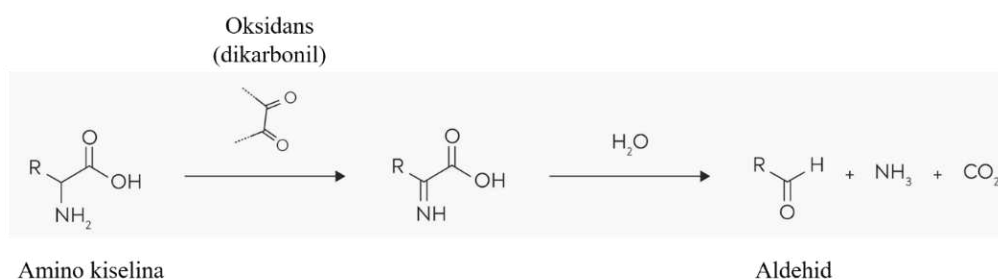
U drugom koraku, nestabilni glikozilamin podvrgava se Amadorijevoj pregradnji i mijenja strukturu kako bi se formirao stabilan ketozamin (Slika 7.) [28].



**Slika 7.** Strukturni prikaz drugog koraka Maillardove reakcije  
(preuzeto i prilagođeno iz: [28])

U posljednjem koraku, ketozamin reagira na jedan od tri načina: ili gubi dodatne molekule vode uz dobivanje reduktona ili se razgrađuje na kratkolančane molekule (primjerice diacetil) ili ponovno reagira s dodatnim aminokiselinama [28]. Sva tri produkta iz ovih reakcija mogu ponovno reagirati s aminokiselinama kako bi se formirao smeđi pigment poznat kao melanoidin [29].

Streckerova degradacija je reakcija koja pretvara aminokiseline u hlapljive aromatske spojeve, odnosno aldehide. Aldehidi obično imaju specifičan miris, koji se može osjetiti u vrlo niskim koncentracijama, čineći ih važnim dijelom složene arome kave. Streckerova degradacija često se smatra podskupinom Maillardovih reakcija, no kod prženja kave ima specifičnu i važnu ulogu. Ona doprinosi velikom dijelu karakteristične arome svježeg kave i stvara gotovo sav CO<sub>2</sub> zarobljen u zrnu [30].

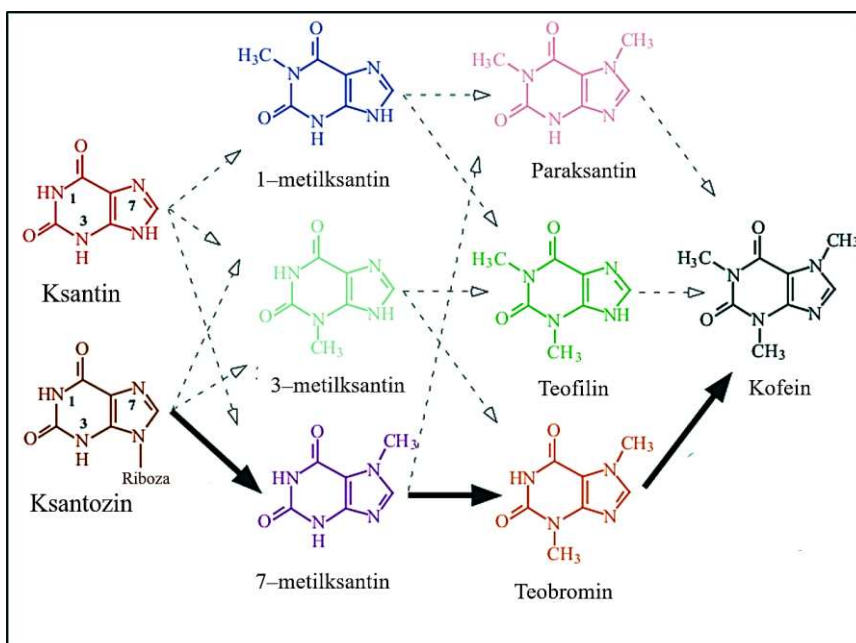


**Slika 8.** Shema: Streckerova degradacija  
(preuzeto i prilagođeno iz: [31])

Streckerova degradacija je reakcija koja se odvija u dva koraka: aminokiselina, kao početni spoj, oksidira se uz pomoć dikarbonila (dobivenog dehidriranjem i deaminiranjem Amadorijevog produkta otvorenog lanca), a rezultirajuća molekula se razgrađuje u aldehyd, pri čemu se oslobađaju amonijak i CO<sub>2</sub> (Slika 8.). Dobiveni aldehyd može dalje sudjelovati u sintezi drugih spojeva, uključujući melanoidine i druge spojeve koji doprinose aromi kave [31].

### 2.1.2. Kofein

Kofein, 1,3,7-trimetilpurin-2,6-dion, alkaloid je ksantina čiji skelet je izveden iz purinskih nukleozida. Nukleozid purina se prevodi u nukleozid ksantina, koji je prvi ključni intermedijer u biosintetskom putu kofeina. Glavni put sinteze kofeina sastoji se od četiri koraka (Slika 9., pune crne strelice). Prvi korak uključuje metilaciju ksantozina uz dobivanje 7-metilksantozina, a enzim koji katalizira tu reakciju je 7-metilksantozin sintaza. 7-metilksantozin se razgrađuje do 7-metilksantina uz pomoć enzima *N*-metilnukleozidaze. U trećem koraku, 7-metilksantin prolazi kroz drugu metilaciju pod utjecajem teobromin sintaze, stvarajući teobromin. U završnom koraku, teobromin se metilira pomoću kofein sintaze, što rezultira stvaranjem kofeina. Manji putevi (Slika 9., isprekidane strelice) mogu se pojaviti zbog široke specifičnosti supstrata kofeina, no konkretni enzimi koji sudjeluju u ovim reakcijama još nisu utvrđeni [8].



**Slika 9.** Dvanaest mogućih sintetskih puteva sinteze kofeina (preuzeto i prilagođeno iz: [32])

Količina kofeina u zelenim zrnima kave ne mijenja se tijekom sazrijevanja biljke. U slučaju napitka od kave, kofein se nalazi u rasponu između 50 i 380 mg u 100 mL napitka. Termostabilan je te se prženjem ne može uništiti niti reducirati [18].

### 2.1.3. Klorogena kiselina

Klorogena kiselina (CGA), ester je kavene i kininske kiseline. Narita i Inouye (2015) detektirali su sadržaj klorogene kiseline u *C. Arabica* L. u rasponu od 3,40 – 7,24 % i *C. canephora* Pierre ex Froehner u rasponu od 5,17 – 14,4 % u suhoj tvari zrna kave. Sadržaj se može smanjiti prženjem zelenih zrna kave, a stupanj smanjenja ovisi o stupnju prženja. Sadržaj CGA u komercijalnoj instant kavi kreće se u rasponu od 3,61 – 10,73 % u suhoj tvari zrna kave [33].

Biosintetski put CGA iz *D*-glukoze uključuje niz enzima i kemijskih reakcija. Proces započinje razgradnjom *D*-glukoze kroz glikolizu, što dovodi do stvaranja fosfoenolpiruvata, PEP (engl. *phosphoenolpyruvate*). PEP ulazi u šikimatni put, gdje se kondenzira s eritroza-4-fosfatom da bi se formirao 3-dehidrokinat, koji se potom pretvara u šikimat kroz nekoliko koraka. Šikimat se dalje transformira u korizmat, koji je prekursor za biosintezu aromatskih aminokiselina, uključujući fenilalanin. Fenilalanin se pretvara u cimetnu kiselinu uz pomoć enzima fenilalanin amonijak-liaza, PAL (engl. *phenylalanine ammonia-lyase*). Cimetna kiselina se zatim hidroksilira u *p*-kumarinsku kiselinu. *p*-Kumarinska kiselina prolazi kroz niz reakcija koje uključuju dodatne hidroksilacije i metilacije da bi se formirala kavena kiselina. Kavena kiselina se zatim kondenzira s kininskom kiselinom, stvarajući klorogenu kiselinu [6].

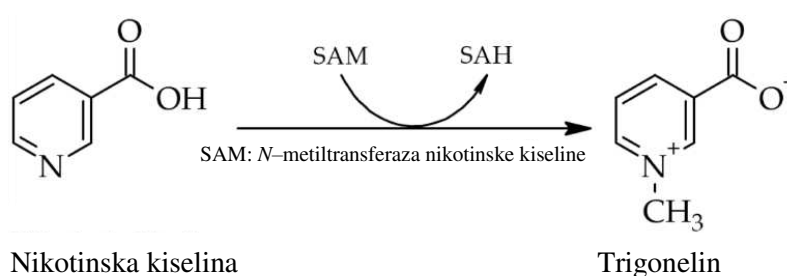
### 2.1.4. Trigonelin

Trigonelin, 1-metilpiridin-1-ium-3-karboksilat ( $C_7H_7NO_2$ ), je bioaktivni piridinski alkaloid koji se prirodno pojavljuje u visokim koncentracijama u kavi kao sekundarni metabolit (do 7,2 g/kg) i nusproizvodima kave (do 62,6 g/kg) kao što su listovi kave, cvjetovi, ljuske ili pulpa trešnje, pergament itd. Osobito visoki sadržaji do 34,2 g/kg pronađeni su u zelenim zrnima kave. Osim u biljkama, trigonelin je detektiran i u nekoliko životinja, a prisutan je i u ljudskoj plazmi, serumu i urinu [34].

Smatra se da se trigonelin sintetizira u biljkama putem metilacije dušikovog atoma nikotinske kiseline, pri čemu *S*-adenozil-*L*-metionin, SAM (engl. *S-adenosyl-L-methionine*) služi kao metil donor te se prenosi na nikotinsku kiselinu pri čemu SAM prelazi u *S*-adenozil-



*L*-homocistein, SAH (engl. *S*-adenosyl-*L*-homocysteine). Enzim *N*-metiltransferaza nikotinske kiseline, poznat kao i trigonelin sintaza, katalizira tu reakciju. (Slika 10.). Geni koji kodiraju ovaj enzim uspješno su izolirani iz zrna *C. arabica* L. Naime, Mizuno i sur. (2014) su prvo identificirali i klonirali gene iz *C. arabica* L. koji su homologni enzimima iz obitelji B' metiltransferaza. Ovi geni su potom izrađeni u koloniji *Escherichia coli* BL21 (DE3), gdje su rekombinantni enzimi izolirani i testirani. Aktivnost enzima analizirana je pomoću testa s označenim *S*-adenozil-[metil-<sup>14</sup>C]metioninom, što je pokazalo da su enzimi uspješno katalizirali pretvorbu nikotinske kiseline u trigonelin te se pretpostavlja da je sličan biosintetski put trigonelina prisutan i u drugim vrstama biljke kave [34,35].



**Slika 10.** Biosinteza trigonelina iz nikotinske kiseline (preuzeto i prilagođeno iz: [34])

### 2.1.5. Melanoidini

Melanoidini su složena mješavina različitih polimera (proteina, aminokiselina i CGA), koji ne samo što čine većinu prisutnih molekula u prženoj kavi, nego doprinose njenoj aromi i boji. Analiza melanoidina niske molekularne mase u skuhanj kavi je zahtjevnija zbog prisutnosti mnogih nemelanoidinskih komponenti koje kompliciraju analizu [36]. Osim toga, melanoidini niske molekularne mase najčešće su intermedijeri u Maillardovoj reakciji, čime je sama detekcija otežana [37]. Melanoidini visoke molekularne mase, HMWM (engl. *high molecular weight melanoidins*) formiraju se tijekom procesa prženja kave. To su složeni polimeri nastali reakcijama između šećera i aminokiselina, poznatim kao prethodno spomenute Maillardove reakcije. Imaju važnu ulogu u davanju karakteristične boje, okusa i arome pržene kave, a također posjeduju značajna bioaktivna svojstva [38,39].

Melanoidini su spojevi koji sadrže dušik i nastaju u posljednjem stadiju neenzimske Maillardove reakcije. Iako se kava smatra glavnim izvorom ovih spojeva u ljudskoj prehrani, melanoidini se također mogu pronaći i u drugim namirnicama kao što su kruh, meso, slad, med,

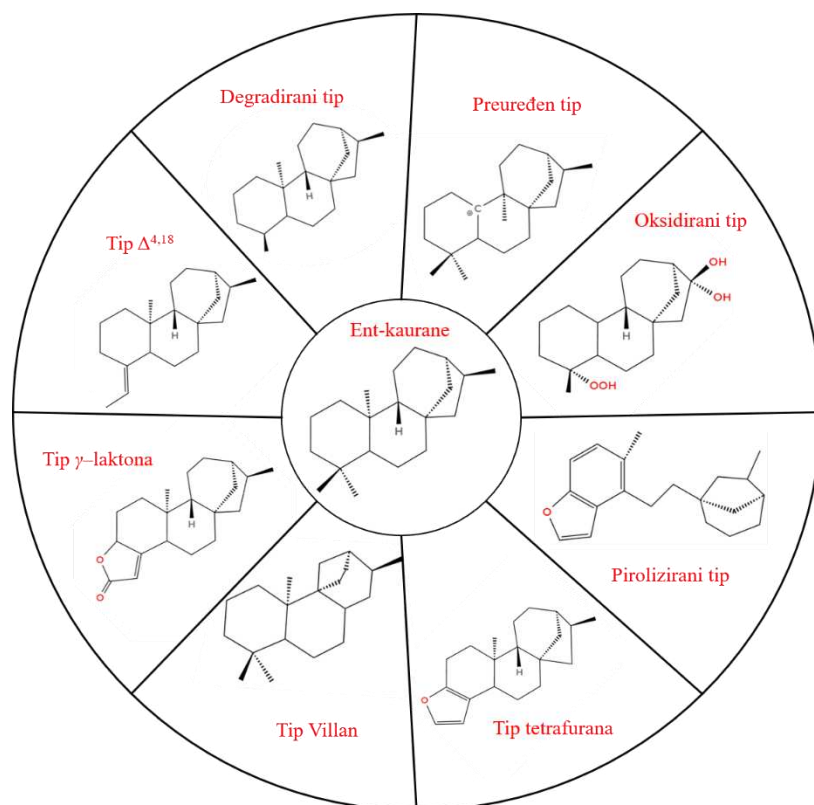
kakao itd. Njihova je molekularna struktura složena i nepredvidiva do te mjere da se većina molekularne mase ( $\leq 90\%$ ) sastoji od do danas nepoznatog materijala [38].

Melanoidini imaju različita fizikalno–kemijska svojstva koja ne dijele svi, kao što je njihova hidrofobnost ili sposobnost keliranja metalnih iona (npr.  $\text{Fe}^{+3}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ). Prosječni dnevni unos melanoidina je 1 do 2 g, ali pri konzumaciji  $\geq 6$  šalica kave unos može doseći 5 g, zbog čega se procjenjuje da melanoidini kave mogu doprinijeti ispunjavanju dnevnih potreba za dijetalnim vlakanima. Međutim, samo topljivu frakciju treba uzeti u obzir jer se netopljivi dio melanoidina zadržava u papirnatim filterima koji se koriste u mnogim aparatima za kavu [38].

#### 2.1.6. Diterpeni

Još 1930–ih su kafestol i kahweol izolirani iz kave i identificirani kao steroidi, što se kasnije pokazalo netočnim. 1989. godine, 16–*O*–metilkafestol, 16–OMC (engl. *16–O–methylcafestol*), derivat kafestola, pronađen je u ulju zrna kave Robusta. 16–OMC dugo je smatran idealnim biomarkerom za razlikovanje Robuste od Arabice jer se smatralo da je prisutan samo u kavi Robusti. Međutim, nedavno je pronađen i u kavi Arabici. Kafestol, kahweol i 16–OMC su uglavnom esterificirani s raznim masnim kiselinama te rijetko postoje u slobodnom obliku [6].

Do danas su detektirani različiti oblici diterpena u kavi, no uglavnom se radi o derivatima kafestola, kahweola i 16–OMC-a. Identificirano je gotovo 100 diterpena u kavi, koji se mogu podijeliti na oksidirane diterpene, preuređene diterpene, diterpene tetrahidrofuranskog tipa, pirolizirane diterpene, diterpene tipa  $\gamma$ –laktona, diterpene tipa  $\Delta^{4,18}$ , degradirani tip diterpena i diterpene tipa Villan (Slika 11.) [6].



**Slika 11.** Strukture osam vrsta diterpena iz kave  
(preuzeto i prilagođeno iz: [6])

Do sada, većina diterpena pronađeni u kavi nastali su iz kauranskog (tetraciklički prstenasti sustav, Slika 10., sredina) kostura putem oksidacije, kondenzacije, preuređivanja i drugih katalitičkih reakcija, s tim da se neki diterpeni mogu sintetizirati i tijekom procesa prženja. Zbog visokog udjela ovih spojeva u kavi, bioaktivnost kafestola i kahweola opsežno je proučavana [6].

## 2.2. Kratki pregled biološke aktivnosti odabranih spojeva u kavi

Biološka aktivnost kave uglavnom se pripisuje diterpenima (kafestol i kahweol), alkaloidima (kofein i trigonelin) i fenolnim spojevima (klorogena kiselina) te se smatra da bioaktivni spojevi u kavi igraju ključnu ulogu u zdravstvenim koristima kave (Tablica 1.) [38-40]. Kofein je najpoznatiji od ovih spojeva, prvenstveno zbog stimulirajućih učinaka na središnji živčani sustav koji su jako dobro proučeni. Međutim, predmet brojnih studija je i klorogena kiselina, za koju je utvrđeno da posjeduje antioksidacijska svojstva koja mogu zaštititi stanice od oksidacijskog stresa i upalnih procesa. Uz to važan je i trigonelin koji, iako

manje proučavan, također doprinosi bioaktivnosti kave, djelujući kao prekursor u sintezi drugih važnih spojeva i kao potencijalno koristan spoj u tretmanu nekih bolesti [41].

**Tablica 1.** Bioaktivni spojevi kave i njihov učinak na zdravlje (preuzeto i prilagođeno iz: [18]).

<i>Spoj</i>	<b>Biološka aktivnost</b>
<b><i>Kofein</i></b>	Ergogeni učinci [42], povećanje koncentracije [43], protuupalno [44], antidijabetičko djelovanje [45]
<b><i>Klorogena kiselina</i></b>	Protuupalno [46], hepatoprotektivno[47], kardioprotektivno[47], kemopreventivno [47], antidijabetičko [48], antikancerogeno [49], neuroprotektivno djelovanje [50], pomoć pri mršavljenju [48]
<b><i>Trigonelin</i></b>	Protuupalno [51], antioksidacijsko [51], pomoć pri mršavljenju [52], kardioprotektivno djelovanje [53]
<b><i>Kafestol i kahweol</i></b>	Protuupalno [54], antiangiogeno[54], antioksidacijsko djelovanje [55]

### 2.2.1. Kofein

Potencijalne zdravstvene prednosti konzumiranja kave predmet su brojnih istraživanja, pa su podaci o akutnim stimulativnim učincima kofeina dobro poznati. Kofein se prirodno nalazi u oko 60 različitih vrsta biljaka, uključujući listove čaja, zrna kakaovca, guarana i kola orah. Također se dodaje mnogim bezalkoholnim pićima, primjerice u energetska pića te u analgetike [30].

Hogervorst i sur. (2008) su ispitivali učinak konzumacije energetske pločice koja sadrži kofein prije i tijekom biciklističkog vježbanja na fizičku i kognitivnu izvedbu. Ispitanici (24 dobro utrenirana biciklista (muškaraci, 18 – 35 godina starosti)) su podijeljeni u 3 skupine u okviru dvostruko slijepog, placebo kontroliranog, randomiziranog, križnog, jednosredišnjeg kliničkog ispitivanja. Svaka skupina je konzumirala jedan od proizvoda (energetsku pločicu s 45 g ugljikohidrata i 100 mg kofeina ili izokaloričnu energetska pločicu bez kofeina ili 300 mL placebo napitka). Konzumirali su odmah prije izvođenja vježbe od 2,5 sata pri 60 % maksimalnog iskorištenja kisika, VO<sub>2</sub>max (engl. *maximal oxygen consumption*), nakon čega je slijedilo testiranje do iscrpljenosti, T<sub>2</sub>EX (engl. *time to exhaustion*) pri 75 % VO<sub>2</sub>max. Navedeni proizvodi su ponovno uzimani nakon 55 i 115 minuta vježbanja. Mjere kognitivne

funkcije (računalni Stroop test i test brzog vizualnog procesuiranja informacija) ispitane su prije vježbanja i tijekom vožnje bicikla nakon 70 i 140 minuta vježbanja, i ponovno 5 minuta nakon završetka T2EX vožnje. Sudionici su bili značajno brži nakon konzumacije pločice s kofeinom u usporedbi s pločicom bez kofeina, posebno nakon 140 minuta i nakon T2EX vožnje. U slučaju placeba, izvedba je bila značajno sporija nego nakon oba druga tretmana. Performanse sudionika su se poboljšale po pitanju brzine bez negativnog utjecaja na preciznost i točnost. T2EX je bio duži nakon konzumacije pločice s kofeinom u usporedbi s konzumacijom pločice bez kofeina i s placebom. Nisu utvrđene razlike u ocjenama percipiranog napora, prosječnog broja otkucaja srca i relativnog intenziteta vježbanja. Utvrđeno je da kofein može značajno poboljšati izdržljivost i složene kognitivne sposobnosti tijekom i nakon vježbanja, što bi moglo biti važno za sportove u kojima koncentracija igra ključnu ulogu [43].

Abreu i sur. (2011) ispitivali su učinak kronične konzumacije kave i kofeina na kognitivno ponašanje i antioksidacijski sustav u mozgu mužjaka Wistar štakora. Pet grupa (n = 16) hranjeno je oko 80 dana (od 21. dana života do 100-tog dana života) različitim dijetama: 1.) kontrola, 2.) dijeta s 3 % kuhane kave, 3.) dijeta sa 6 % kuhane kave, 4.) dijeta s 0,04 % kofeina i 5.) dijeta s 0,08 % kofeina. Nakon 90 dana života, štakori su podvrgnuti bihevioralnim testovima. Rezultati su pokazali da unos kave, slično kao i kofeina, poboljšava dugoročno pamćenje. Međutim, nije uočeno povećanje istraživačkih aktivnosti. Osim toga, kronična konzumacija kave i kofeina smanjila je lipidnu peroksidaciju moždanih membrana i povećala koncentraciju glutathion reductaze, GR (engl. *glutathione reductase*). Aktivnosti GR-a i superoksid dismutaze, SOD (engl. *superoxide dismutase*) bile su slično povećane, ali nije uočena promjena u aktivnosti glutathion peroksidaze, GPx (engl. *glutathione peroxidase*). Dakle, osim što poboljšava kognitivnu funkciju, kronična konzumacija kave modulira endogeni antioksidacijski sustav. Stoga bi kronična konzumacija kave mogla igrati važnu ulogu u sprječavanju pada kognitivne funkcije povezanog sa starenjem [56].

Arendash i sur. (2006) imali su za cilj utvrditi dugoročne zaštitne učinke kofeina na transgenične miševе oboljele od Alzheimerove bolesti. Ispitivanje je provedeno na 57 miševa (različit genetski sastav: 56,25 % soj C57, 12,5 % soj B6, 18,75 % soj SJL i 12,5 % Swiss–Webster). Četrnaest nasumično odabranih transgeničnih miševa, starih četiri mjeseca, konzumiralo je vodu s 1,5 mg kofeina (ekvivalent unosu 500 mg kofeina u ljudi). Preostali miševi bili su kontrola (27 transgeničnih i 16 ne-transgeničnih miševa). Nakon 4 mjeseca tretmana uslijedilo je bihevioralno testiranje, koje je trajalo 6 tjedana (razni kognitivni zadaci, prostorno učenje/referentno pamćenje, radno pamćenje i prepoznavanje/identifikacija). Rezultati su pokazali da su transgenični miševi tretirani kofeinom postigli značajno bolje

rezultate od kontrolnih miševa. Primjena kofeina rezultirala je nižim razinama  $\beta$ -amiloida u hipokampusu. Naime, ekspresija presenilina 1 i  $\beta$ -sekretaze, proteina koji su uključeni u patogenezu Alzheimerove bolesti, bila je smanjena kod transgeničnih miševa tretiranih kofeinom, što ukazuje na smanjenu proizvodnju  $\beta$ -amiloida kao vjerojatan mehanizam zaštite koju pruža kofein. Sposobnost kofeina da smanji proizvodnju  $\beta$ -amiloida potvrđena je u kulturama neurona SweAPP N2a, stanice koje su genetski modificirane da izražavaju švedsku mutaciju u genu za amiloidni prekursori protein (APP<sup>sw</sup>, a imaju ju transgenični miševi ispitivani u ovom istraživanju) te se koriste za proučavanje mehanizama proizvodnje  $\beta$ -amiloida i za testiranje potencijalnih tretmana za Alzheimerovu bolest. Iako na gustoću adenozijskih receptora A<sub>1</sub> ili A<sub>2A</sub> u hipokampusu tretman kofeinom nije utjecao, razine adenozina u mozgu transgeničnih miševa vraćene su na normalne vrijednosti. Stoga autori smatraju da umjereni dnevni unos kofeina može odgoditi ili smanjiti rizik od Alzheimerove bolesti [57].

Yang i sur. (2005) istražili su značaj kofeina u supresiji metastaza u transgeničnih miševa. Transgenične ženke miša nasumično su raspoređene u tri grupe, u svakoj grupi bilo je 17 ženki. U prvoj grupi izloženost kofeinu počela je nakon odvajanja od majke (21. dan starosti), u drugoj grupi izloženost kofeinu počela je u 60. danu života, dok je treća grupa bila kontrolna. Kofein je dodan u vodu za piće u koncentraciji od 0,44 mg/mL. Ispitivanje je trajalo 40 dana nakon pozitivne dijagnoze primarnog tumora (kako bi se omogućio razvoj metastaza). Rezultati su pokazali da su miševi koji su bili izloženi kofeinu pokazali smanjenje metastatskog indeksa u odnosu na kontrolnu grupu. Metastatski indeks kontrolne grupe iznosio je 21,9, a metastatski indeks prve grupe (21. dan starosti) grupe bio je smanjen za 55 %, a druge (60. dana starosti) bio je smanjen za 35 %. Utvrđeno je i znatno smanjenje metastatskih lezija u odnosu na kontrolnu grupu što sugerira da kofein može imati pozitivan učinak u suzbijanju metastaza [58].

Ibrahim i sur. (2006) ispitali su učinkovitost kofeina u inhibiciji rasta i/ili eliminaciji bakterije *Escherichia coli* O157:H7, koja je uzročnik ozbiljnih gastrointestinalnih infekcija. U istraživanju su korišteni uzorci pet sojeva *E. coli* O157 (E0019, F4546, H1730, 944 i Cider). Inokulirali su svaki soj bakterije u medij koji sadrži različite količine kofeina (prikazano u Tablici 2.), nakon čega su uzorci inkubirani na 37 °C tijekom 24 sata. Rezultati su pokazali da je dodavanje kofeina inhibiralo rast *E. coli* O157:H7, s time da je značajna inhibicija rasta zapažena pri koncentracijama od 0,50 % i višim (Tablica 2.). Stoga autori smatraju da kofein ima potencijal kao antimikrobni agens za liječenje infekcija uzrokovanih *E. coli* O157:H7 [59].

**Tablica 2.** Učinak odabranih koncentracija kofeina na preživljavanje i rast 5 sojeva *E. coli* O157:H7 (CFU/mL) (preuzeto i prilagođeno iz: [59]).

Soj	Koncentracija kofeina (% w/vol)								
	0,00	0,25	0,50	0,75	1,00	1,25	1,50	1,75	2,00
<b>944</b>	9,05	8,45	7,55	7,05	6,55	6,00	5,50	5,00	4,50
<b>Cider</b>	9,06	8,80	8,25	7,95	6,70	6,60	6,15	5,85	4,85
<b>E0019</b>	8,75	8,70	7,95	7,55	7,35	7,00	5,95	5,70	5,00
<b>F4546</b>	9,22	8,65	8,32	7,99	7,62	6,70	6,05	5,77	4,90
<b>H7113</b>	9,20	8,69	8,12	7,66	6,92	6,49	5,83	5,48	4,69

*Napomena: početna populacija ~ < 10<sup>2</sup> CFU/mL.*

Ascherio i sur. (2001) istražili su utjecaj konzumacije kofeina na rizik od razvoja Parkinsonove bolesti kod žena i muškaraca. U ispitivanju je sudjelovalo 47.351 muškarca i 88.565 žena koji su na početku studije bili bez Parkinsonove bolesti, moždanog udara ili raka. Sudionici su na početku ispunili sveobuhvatan upitnik o načinu života i prehranbenim navikama, koji je ažuriran svake dvije do četiri godine. Tijekom praćenja (10 godina za muškarce, 16 godina za žene), zabilježeno je ukupno 288 novih slučajeva Parkinsonove bolesti. Kod muškaraca, nakon prilagodbe za dob i pušenje, relativni rizik od Parkinsonove bolesti bio je 0,42 za one koji su konzumirali najviše kofeina (6+ šalice kave/dan) u usporedbi s onima koji su konzumirali manju dozu kofeina (1 – 3 šalice kave/dan). Kod žena, odnos između unosa kofeina i rizika od Parkinsonove bolesti bio je u obliku slova U, s najnižim rizikom kod umjerenog unosa (1 – 3 šalice kave/dan), a najveći kod konzumacije jedne ili nijedne šalice kave po danu i kod onih koje su konzumirale tri ili više šalice kave po danu. Dobiveni rezultati ukazuju na mogući zaštitni učinak umjerenih doza kofeina od nastanka Parkinsonove bolesti [60].

Gliontoni i sur. (2009) proučavali su učinak umjerene doze kofeina na bol u kvadricepsu tijekom visoko-intenzivnog biciklističkog treninga kod muškaraca s niskom i visokom konzumacijom kofeina. Muškarci, čija je prosječna dob 25 godina, koji su konzumirali kofein ili u niskim dozama ≤ 100 mg/dan (n = 12) ili u visokim dozama ≥ 400 mg/dan (n = 12), konzumirali su kofein (5 mg/kg tjelesne mase) ili placebo, a zatim su nakon 1 sata obavili 30 minuta biciklističkog treninga na intenzitetu od 75 – 77 % VO<sub>2</sub>max. Praćena je percepcije boli u kvadricepsu, potrošnja kisika, broj otkucaja srca i radni intenzitet. Konzumacija kofeina

rezultirala je statistički značajnim i umjerenim smanjenjem intenziteta boli u usporedbi s placebo, pa bi konzumacija kofeina mogla pomoći u smanjenju osjetljivosti na bol tijekom visoko-intenzivnog biciklizma [61].

Modi i sur. (2009) ispitali su povezanost kofeina i fibroze jetre. Ispitanici (n = 177, 99 muškaraca i 78 žena, 121 ispitanik s kroničnom infekcijom hepatitsom C) koji su bili podvrgnuti biopsiji jetre ispunili su detaljan upitnik o unosu kofeina tri puta u razdoblju od šest mjeseci. Ispitanici su podijeljeni u dvije skupine na temelju rezultata biopsije: oni s blagom fibrozom jetre i oni s uznapredovalom fibrozom. Dobiveni rezultati su statistički obrađeni. Dnevni unos kofeina iznad 75. percentila (308 mg = otprilike 2,25 šalice kave) bio je povezan sa smanjenom fibrozom jetre. Pacijenti koji su konzumirali više kofeina su imali manju vjerojatnost za razvoj ozbiljne fibroze jetre [62].

Gelber i sur. (2011) ispitali su povezanost unosa kave i kofeina u muškaraca srednje životne dobi s rizikom od demencije i kognitivnog oštećenja. U istraživanju je sudjelovalo 3494 muškaraca (prosječna dob 52 godine na početku istraživanja, 1965. – 1968.), koji su bili pregledani zbog demencije u razdoblju 1991. – 1993., uključujući 418 preminulih (1992. – 2004.) kod kojih je obavljena obdukcija mozga. Unos kofeina određen je prema samoprijavljenoj konzumaciji kave, čaja i kole na početku istraživanja. Demencija je dijagnosticirana kod 226 muškaraca (uključujući 118 s Alzheimerovom bolesti, 80 s vaskularnom demencijom), a kognitivno oštećenje kod 347 muškaraca. Nije pronađena značajna povezanost između unosa kave ili kofeina i rizika od kognitivnog oštećenja, ukupne demencije, Alzheimerove bolesti, vaskularne demencije. Međutim, muškarci u najvišem kvartilu unosa kofeina ( $\geq 411,0$  mg/dan) imali su manju vjerojatnost da će imati bilo koju vrstu lezija u usporedbi s muškarcima u najnižem kvartilu ( $\leq 137,0$  mg/dan). Unos kave i kofeina u srednjoj životnoj dobi nije bio povezan s kognitivnim oštećenjem, demencijom ili pojedinačnim neuropatološkim lezijama, iako je veći unos kofeina bio povezan s manjom vjerojatnošću pojave bilo koje vrste lezija na obdukciji [63].

### 2.2.2. Klorogena kiselina

Smanjenje tjelesne težine i antidijabetička svojstva CGA povezana su s metabolizmom glukoze. Van Dijk i sur. (2009) ispitali su utjecaj klorogene kiseline i trigonelina na toleranciju na glukozu. U istraživanju je sudjelovalo petnaest odraslih, pretilih muškaraca, nepušača. Ispitivani su učinci 12 g bezkofeinske kave, 1 g CGA, 500 mg trigonelina i placebo (1 g manitola) na koncentracije glukoze i inzulina tijekom 2-satnog oralnog testa tolerancije na



glukozu, OGTT (engl. *oral glucose tolerance test*). Tjedan prije ispitivanja, sudionici su trebali smanjiti konzumaciju kave na 1 šalicu dnevno, a na dan laboratorijskog ispitivanja konzumacija kave bila je zabranjena. Istraživanje se sastojalo od četiri posjete laboratoriju, s razmakom od najmanje 6 dana između svake posjete. Tijekom posjeta, sudionici su uzeli jedan od dodataka (bezkofeinska kava, CGA, TRG i placebo, pripremljeni otapanjem u 270 mL vode) 30 minuta prije OGTT-a. Pri svakom posjetu, uzeto je 7 uzoraka krvi: prvi uzorak 30 minuta prije početka OGTT-a, drugi uzorak odmah na početku OGTT-a, a ostali uzorci u vremenskom intervalu od 15, 30, 60, 90 i 120 minuta nakon početka OGTT-a. Koncentracija glukoze smanjila se 15 minuta nakon početka OGTT-a u sudionika koji su uzimali CGA, s razlikom od 0,69 mmol/L u odnosu na placebo, a u istih ispitanika koncentracija inzulina bila je 73,3 pmol/L niža, u odnosu na placebo. I trigonelin je značano smanjio i konc. glukoze i inzulina. U usporedbi s placebo, u ispitanika koji su uzimali trigonelin koncentracija glukoze 15 minuta nakon početka OGTT-a bila je niža za 0,51 mmol/L, a koncentracija inzulina manja za 117,0 pmol/L [48].

Kozuma i sur. (2005) ispitali su antihipertenzivni učinak ekstrakta zelenih zrna kave. U ispitivanju je sudjelovalo 117 muškaraca s blagom hipertenzijom koji su podijeljeni u četiri skupine: placebo skupina i tri skupine koje su dobivale 46 mg, 93 mg ili 185 mg ekstrakta zelenog zrna kave jednom dnevno. Nakon 28 dana, sistolički krvni tlak smanjio se za  $1,3 \pm 3,0$  mm Hg u placebo skupini,  $3,2 \pm 4,6$  mm Hg u skupini koja je primala 46 mg,  $4,7 \pm 4,5$  mm Hg u skupini koja je primala 93 mg te  $5,6 \pm 4,2$  mm Hg u skupini koja je primala 185 mg, u odnosu na početno stanje. Dijastolički krvni tlak smanjio se za  $0,8 \pm 3,1$  mm Hg u placebo skupini,  $2,9 \pm 2,9$  mm Hg u skupini koja je primala 46 mg,  $3,2 \pm 3,2$  mm Hg u skupini koja je primala 93 mg te  $3,9 \pm 2,8$  mm Hg u skupini koja je primala 185 mg, u odnosu na početno stanje. Nisu zabilježeni štetni učinci. Rezultati sugeriraju da konzumacija ekstrakta zelenog zrna kave može sniziti krvni tlak u pacijenata s blagom hipertenzijom [64].

Utvrđeno je da klorogena kiselina inhibira glukoza-6-fosfatazu. Naime, Bassoli i sur. (2008) istražili su učinak klorogene kiseline na količinu glukoze proizvedene u jetri, razinu glukoze u krvi i toleranciju na glukozu u mužjaka albino Wistar štakora. Ispitali su kako različite koncentracije klorogene kiseline (0,33; 0,5 i 1 mM) utječu na aktivnost glukoza-6-fosfataze i katabolizam L-alanina u mikrosomalnoj frakciji stanica jetre. Rezultati su pokazali da je CGA inhibirala aktivnost glukoza-6-fosfataze za 40 % tijekom OGTT-a, no nije značajno utjecala na oslobađanje glukoze iz jetre i katabolizam L-alanina. Također, CGA je potaknula smanjenje razine glukoze u plazmi nakon 10 i 15 minuta tijekom provođenja OGTT-a. Stoga bi CGA mogla potencijalno smanjiti rizik od razvoja dijabetesa tipa 2 [65].

Protuupalni mehanizam djelovanja CGA i CA uključuje inhibiciju aktivacije signalnog puta PKD–NF $\kappa$ B–IL–8 (signalni put interleukina–8, IL–8 (engl. *interleukin–8*), i protein kinaza D–I $\kappa$ B kinaza–nuklearnog faktora kappa B, PKD–IKK–NF $\kappa$ B (engl. *protein kinase D–I $\kappa$ B kinase–nuclear factor  $\kappa$ B*)), što se događa zbog uhvata slobodnih radikala. Shin i sur. (2017) objašnjavaju kako CGA i CA smanjuju upalu na molekularnoj razini na primjeru epitelnih stanica tankog crijeva. Kateholske skupine, prisutne u strukturi CGA i CA, omogućuju učinkovito hvatanje reaktivnih kisikovih vrsta, ROS (engl. *reactive oxygen species*), što pomaže u smanjenju oksidacijskog stresa i smanjenju upale. Posebno značajan je mehanizam kojim CGA i CA inhibiraju aktivaciju signalnog puta PKD–NF $\kappa$ B–IL–8. Protein PKD je ključan za regulaciju upalnih odgovora jer pokreće signalne puteve koji uključuju NF $\kappa$ B. NF $\kappa$ B, nakon aktivacije, ulazi u stanicu i potiče ekspresiju gena povezanih s upalom, uključujući IL–8, proupalni citokin koji pridonosi upalnim reakcijama. U prisustvu CGA i CA, ROS se neutraliziraju, što sprječava aktivaciju IKK ili I $\kappa$ B kinaza (engl. *I $\kappa$ B kinase*) Smanjenjem aktivacije IKK i NF $\kappa$ B, CGA i CA smanjuju ekspresiju IL–8, čime se smanjuje intenzitet upalnih odgovora. Prema rezultatima, CGA i CA imaju potencijal za smanjenje upalnih procesa i oksidacijskog stresa, što ih čini korisnima u prevenciji i liječenju upalnih bolesti. Osim toga, njihova sposobnost da inhibiraju ključne signalne puteve povezane s upalom dodatno naglašava njihov značaj u održavanju zdravlja crijeva i smanjenju upalnih stanja probavnog sustava [46].

Han i sur. (2010.) su nastojali utvrditi ima li klorogena kiselina neuroprotektivni učinak protiv prekomjerne ekspresije amiloid– $\beta$  proteina, A $\beta$  (engl. *amyloid– $\beta$* ), koji je povezan s patogenezom Alzheimerove bolesti. Stanice linije SH–SY5Y ljudskog neuroblastoma su izložili A $\beta$  proteinu, nakon čega su ih tretirali s 3,5–di–O–kafeoil–kiničnom kiselinom i koristili (3–4,5–dimetilthiazol–2–il)–2,5–difeniltetrazolijev bromid test, MTT (engl. (3–4,5–*Dimethylthiazol–2–yl–2,5–diphenyltetrazolium bromide*) *assay*) test, kako bi procijenili vitalnost (preživljavanje) stanica. Stanice SH–SY5Y inkubirane s 10  $\mu$ M A $\beta$  zajedno s 20  $\mu$ M CGA bile su značajno vitalnije u usporedbi s SH–SY5Y stanicama inkubiranim isključivo s 10  $\mu$ M A $\beta$ . Inkubacija s CGA također je preokrenula smrt stanica uzrokovanu A $\beta$ . Rezultati sugeriraju da CGA ima neuroprotektivni učinak na SH–SY5Y stanice tretirane A $\beta$ –om te CGA ima zaštitni potencijal u borbi protiv Alzheimerove bolesti [50].

CGA bi mogla poslužiti i kao antihipertenziv. Wan i sur. (2013) ispitali su hipokolesterolemijski i hepatoprotektivni učinak prehranbenog unosa klorogene kiseline praćenjem lipidnog profila u plazmi kod četrdeset mužjaka Sprague–Dawley štakora (~250 g, 2 mjeseca stari) koji su bili podijeljeni u četiri grupe (n = 10): 1.) normalna prehrana, 2.) prehrana s visokim udjelom kolesterola, 3.) prehrana s visokim udjelom kolesterola dopunjena

niskom dozom CGA (1 mg/kg/dan oralno) i 4.) prehrana s visokim udjelom kolesterola dopunjena visokom dozom CGA (10 mg/kg/dan oralno), tijekom 28 dana. CGA značajno je povećala ukupni kolesterol u plazmi i lipoproteine niske gustoće, LDL (engl. *low-density lipoproteins*), ali je smanjila lipoproteine visoke gustoće, HDL (engl. *high-density lipoproteins*), ovisno o dozi. Naslage lipida u jetri bile su značajno smanjene kod hiperkolesterolemijskih životinja koje su dobivale CGA. Pretpostavlja se da je hipokolesterolemijski učinak primarna korist koju pruža CGA, što dovodi do drugih sekundarnih korisnih učinaka kao što su ateroskleroprotektivni, kardioprotektivni i hepatoprotektivni učinak [9].

Aluminij može uzrokovati oštećenje makrofaga i povezan je s razvojem imunoloških bolesti. CGA predstavlja prirodni antioksidans i kelirajući agens s kapacitetom za zaštitu od biotoksičnosti uzrokovane Al(III). Cheng i sur. (2019) ispitali su može li CGA smanjiti oštećenja mišijih RAW264.7 makrofaga inducirana AlCl<sub>3</sub>. Nakon tretmana s AlCl<sub>3</sub> (200 µg/mL AlCl<sub>3</sub> tijekom 24 h), preživljavanje stanica i njihova fagocitna aktivnost znatno su smanjene te je stopa inhibicije i fagocitna aktivnost stanica iznosila 44,6 % i 27,6 %, u usporedbi s kontrolom. Primjena CGA značajno je poboljšala integritet i fagocitnu aktivnost te smanjila nakupljanje Al(III) u stanicama i oksidacijski stres. Nadalje, CGA je značajno inhibirala aluminijem uzrokovano povećanje kinaze p-JNK (engl. *phospho-Jun-N-terminal kinase*, pro-apoptotskog proteina iz Bcl-2 obitelji), citokroma c i smanjenje ekspresije ekstracelularno reguliranih protein kinaza 1 i 2 (ERK 1/2, engl. *extracellular regulated protein kinases 1 and 2*) i protein kinaze B (Akt). CGA ima zaštitni učinak protiv citotoksičnosti izazvane Al(III) putem kaspaznog signalnog puta mitogen-aktivirane protein kinaze, (MAPK)/Akt (engl. *mitogen-activated protein kinase*), u RAW264.7 stanicama [66].

Hepatotoksičnost uzrokovana predoziranjem acetaminofenom, APAP (engl. *acetaminophen*), vodeći je uzrok akutnog zatajenja jetre izazvanog lijekovima u kliničkoj praksi. Wei i sur. (2018) istražili su zaštitu koju CGA pruža protiv hepatotoksičnosti izazvane APAP-om, s posebnim naglaskom na nuklearni eritroidni faktor 2, Nrf2 (engl. *nuclear factor erythroid-2-related factor 2*) i ERK1/2. Šezdeset mužjaka ICR miševa nasumično je podijeljeno u 6 skupina: 1.) kontrola, 2.) APAP (300 mg/kg), 3.) APAP + CGA (10 mg/kg), 4.) APAP + CGA (20 mg/kg), 5.) APAP + CGA (40 mg/kg) i 6.) CGA (40 mg/kg). Kao predtretman, miševi su 6 dana dobivali CGA, a na posljednji dan dobili su APAP 1 sat nakon što su dobili CGA. Miševi su eutanazirani 4 sata nakon intoksikacije APAP-om te su uzeti uzorci plazme i jetrenog tkiva. Sličan tretman imala su 32 ICR miša, samo što je ova skupina podijeljena u 4 grupe (kontrola, 300 mg/kg APAP, APAP + 20 mg/kg CGA i APAP + 40 mg/kg

CGA) i eutanazirana 8 sati nakon APAP ingestije. Nadalje, Nrf2<sup>+/+</sup> i Nrf2<sup>-/-</sup> C57BL/6 miševi nasumično su podijeljeni u 3 skupine: 1.) kontrola, 2.) APAP (300 mg/kg) i 3.) APAP + CGA (40 mg/kg). Svaka skupina sadržavala je 6 miševa (n = 3 m/ 3 ž). Predtretman je proveden na isti način, a eutanazija 6 sati nakon ingestije. Zadnja skupina sastojala se samo od mužjaka Nrf2<sup>+/+</sup> i Nrf2<sup>-/-</sup> C57BL/6 miševa, koji su bili izloženi istom tretmanu kao miješana skupina Nrf2<sup>+/+</sup> i Nrf2<sup>-/-</sup> C57BL/6 miševa. Rezultati su pokazali da je CGA spriječila oksidacijsko oštećenje jetre izazvano APAP-om i pojačala aktivaciju Nrf2 u miševa i hepatocitima *in vitro*. CGA je pojačala ekspresiju hem-oksigenaze-1, HO-1 (engl. *heme oxygenase 1*), enzima koji igra ključnu ulogu u zaštiti stanica od oksidacijskog stresa, i NAD(P)H kinon oksidoreduktaze-1, za čije je inhibitore u istraživanju utvrđeno da smanjuju zaštitnu ulogu CGA protiv APAP-om inducirane citotoksičnosti u hepatocitima. Ovi rezultati sugeriraju da CGA štiti od hepatotoksičnosti izazvane APAP-om aktiviranjem Nrf2 antioksidacijskog signalnog puta i ERK1/2. CGA je obećavajući terapijski agens za detoksikaciju hepatotoksičnosti izazvane APAP-om [67].

Ishemijsko/reperfuzijska oštećenja, I/R (engl. *ischemia/reperfusion*), čest su uzrok oštećenja bubrega. Toprak i sur. (2020) ispitali su zaštitna svojstva CGA na bubrežna I/R oštećenja. Dvadeset i četiri mužjaka Sprague-Dawley štakora (osam tjedana starosti) su nasumično raspoređeni u tri skupine (n = 8): kontrola, I/R + CGA i I/R skupina. CGA je primijenjena intraperitonealno u dozi od 20 mg/kg, 10 minuta prije reperfuzije. I/R oštećenje postignuto je stezanjem lijeve bubrežne arterije na 45 minuta, nakon čega je uslijedila reperfuzija tijekom 4 sata. Lijevi bubrezi štakora su ispitani na oštećenja tkiva histopatološkim i biokemijskim ispitivanjima. Za histološku evaluaciju korišten je sustav za ocjenjivanje koji se koristi za procjenu histopatoloških promjena u bubrežima, EGTI (engl. *enhanced glomerular tubular injury*). Za biokemijsku analizu korišteni su ukupni antioksidacijski status, TAS (engl. *total antioxidant status*), ukupni oksidacijski status, TOS (engl. *total oxidant status*), i indeks oksidacijskog stresa, OSI (engl. *oxidative stress index*). Histopatološka ispitivanja pokazala su da su svi bubrezi u kontroli normalni. I/R skupina je imala značajno više vrijednosti histopatoloških rezultata u usporedbi s drugim skupinama, što ukazuje na određena oštećenja. Histopatološka poboljšanja uočena su nakon liječenja CGA. TAS, TOS i OSI vrijednosti u I/R skupini bile su značajno više u odnosu na kontrolnu skupinu (redom: 0,88 naspram 0,76, 13,8 naspram 7,04 i 0,15 naspram 0,09). U skupini tretiranoj CGA, razine TAS, TOS i OSI bile su 0,84, 6,47 i 0,07, redom. Liječenje CGA rezultiralo je značajnim poboljšanjem TOS i OSI parametara, histologije bubrega i smanjilo oksidacijski stres. Stoga, CGA može imati zaštitni učinak na bubrežno tkivo protiv I/R oštećenja. [68].

Kato i sur. (2018) istraživali su učinak CGA na kognitivne funkcije u starijih osoba. U studiji su sudjelovala dva muškaraca i šest žena koji su se žalili na subjektivni gubitak pamćenja. Ispitanici su tijekom 6 mjeseci konzumirali 330 mg CGA/ 100 mL vode neposredno prije spavanja, vodili su dnevnik konzumacije CGA i dnevnik aktivnosti, a neurokognitivni testovi provedeni su na početku (prije početka konzumacije) istraživanja i nakon 6 mjeseci. Nakon šestomjesečnog razdoblja unosa CGA, zabilježeno je značajno poboljšanje rezultata neurokognitivnih testova, kao i u kompozitnom pamćenju, verbalnom pamćenju, složenoj pažnji, kognitivnoj fleksibilnosti, izvršnim funkcijama i motorici. Istraživanje je time ukazalo na potencijalan pozitivan učinak CGA na kognitivne sposobnosti [69].

### 2.2.3. Trigonelin

Hamadi (2012) je ispitao učinak trigonelina i etanolnog ekstrakta sjemenki piskavice, *Trigonella foenum-graecum* L., na oksidacijski stres 30 mužjaka albino zečeva s dijabetesom izazvanim aloksanom (n = 10). Prva grupa je kontrola, druga je tretirana s izoliranim trigonelinom (10 mg/12 h), a treća s etanolnim ekstraktom sjemenki piskavice (7,7 mL/12 h) tijekom četiri tjedna. Mjereni su plazma malondialdehid, MDA (engl. *malondialdehyde*), i glutation, GSH (engl. *glutathione*), kao pokazatelji oksidacijskog stresa na početku istraživanja i zatim jednom tjedno tijekom četiri tjedna istraživanja. Etanolni ekstrakt sjemenki značajno je smanjio koncentraciju MDA s  $2,51 \pm 0,34 \mu\text{mol/L}$  u dijabetičkim kontrolnim zečevima na  $1,57 \pm 0,12 \mu\text{mol/L}$  nakon četiri tjedna, dok se koncentracija GSH značajno povećala s  $0,11 \pm 0,02 \mu\text{mol/L}$  na  $0,26 \pm 0,02 \mu\text{mol/L}$  nakon četiri tjedna. Pad u razini MDA bio je 37,45 % kod grupe tretirane s etanolnim ekstraktom i 23 % kod grupe tretirane s izoliranim trigonelinom, dok je porast GSH bio 136 % kod grupe tretirane s etanolnim ekstraktom i 18 % kod grupe tretirane s izoliranim trigonelinom nakon četiri tjedna liječenja. Prema rezultatima, izolirani trigonelin manje je učinkovit u smanjenju koncentracije MDA i povećanju koncentracije GSH u usporedbi s etanolnim ekstraktom. Ipak, i etanolni ekstrakt piskavice i trigonelin obećavajući su prirodni antioksidansi koji bi se mogli koristiti u liječenju raznih bolesti, primjerice dijabetes melitusa [51].

Panda i sur. (2013) proučavali su zaštitne učinke trigonelina, izoliranog iz sjemenki *T. foenum-graecum* L., na srčane disfunkcije izazvane izoproterenolom, ISO (engl. *isoproterenol*), kod odraslih albino Wistar štakora. U predstudiji, proučavani su učinci trigonelina u dozama od 20, 40 i 80 mg/kg (oralno, otopljeno u destiliranoj vodi) tijekom 20 dana, nakon čega je dan ISO (100 mg/kg, subkutano) kako bi se izazvala nekroza miokarda. Kako je koncentracija od

40 mg/kg pokazala najveću učinkovitost, u nastavku istraživanja primijenjena je samo ova koncentracija. 21 štakor podijeljen je u 3 grupe (kontrola, ISO kontrola (primali su samo destiliranu vodu) i grupa koja je primala TRG 20 dana), a nakon 20 dana druga i treća grupa primile su 100 mg/kg ISO. Ispitivani su razni parametri, uključujući enzime srčanih markera, peroksidaciju lipida, antioksidanse, srčanu histologiju i elektrokardiogram. Također su provedene proteomske analize u srčanim miocitima. Utvrđeno je da je primjena ISO-a povećala razine srčanih markera u serumu (kreatin kinaza, glutamat piruvat transaminaza i laktat dehidrogenaza) te je pokazala pozitivnu reakciju na TROP-T testu (test koji mjeri razinu proteina troponina T u krvi). ISO je također povećao peroksidaciju lipida u srcu i smanjio stanične antioksidanse. Proteomski podaci otkrili su devet proteinskih točaka, od kojih je sedam bilo smanjeno, a dvije povećane. Sve ove promjene vraćene su gotovo na normalne vrijednosti kod životinja tretiranih s 40 mg/kg TRG-a, što sugerira njegove kardioprotektivne učinke [53].

TRG je pokazao sposobnost reguliranja enzima lipidnog metabolizma u nepretilim Goto-Kakizaki štakorima s dijabetesom tipa 2. Yoshinari i sur. (2009) ispitali su učinak koncentrata paste od bundeve i njegovih komponenti na OGTT i koncentraciju lipida u serumu prethodno spomenutih štakora. Utvrđeno je da su spojevi koji su se pokazali učinkovitima u poboljšanju OGTT-a, a koji su prisutni u metanolskom ekstraktu bundeve u relativno velikim količinama, trigonelin i nikotinska kiselina. Uključivanje TRG-a i nikotinske kiseline u prehranu poboljšalo je i imalo tendenciju poboljšanja OGTT-a. Naime, razina inzulina povećala se nakon 15 minuta u Goto-Kakizaki štakorima hranjenim TRG-om, a zatim je postupno opadala tijekom sljedećih 120 minuta. Nasuprot tome, u kontrolnim štakorima zapažen je postupni porast razine inzulina tijekom 120 minuta, što sugerira da TRG može poboljšati inzulinsku rezistenciju. Razine triglicerida u serumu i jetri kod štakora hranjenih TRG-om i nikotinskom kiselinom bile su niže u usporedbi s kontrolnim štakorima. Uočena je niža aktivnost jetrene sintaze masnih kiselina i viša aktivnost jetrene karnitinske palmitoil transferaze i glukokinaze u štakorima hranjenim TRG-om i nikotinskom kiselinom nego u kontrolnim štakorima. Rezultati sugeriraju da je regulacija aktivnosti ovih enzima od strane TRG-a i nikotinske kiseline usko povezana s napredovanjem dijabetesa. TRG je povećao aktivnost enzima sintaze masnih kiselina, karntin palmitoil transferaze i glukokinaze u jetri, dok je smanjio razine triglicerida u serumu i jetri, što sugerira da bi mogao potisnuti nakupljanje triglicerida i napredovanje dijabetesa kroz regulaciju aktivnosti ovih enzima [70].

Hong i sur. (2008) proučavali su učinak trigonelina na slušni sustav kod miševa s dijabetesom. Miševi su podijeljeni u šest grupa (n = 10) i tretirani oralno jednom dnevno s 0,5 mL destilirane vode, kavom u dozi od 35 mg/kg, 100 mg/kg i 300 mg/kg, trigonelinom u dozi

od 10 mg/kg i kofeinom u dozi od 10 mg/kg, u periodu od 1. do 9. tjedna nakon indukcije dijabetesa streptozotocinom (osim kontrole kojoj nije induciran dijabetes). Kava, trigonelin i kofein su svaki posebno otopljeni u 0,5 mL destilirane vode. Slušna funkcija procjenjivana je kod miševa u 4. i 8. tjednu tretmana pomoću testa slušnih odgovora moždanog debla, tzv. ABR (engl. *auditory brainstem response*) testa. Miševi tretirani kavom (posebno 100 mg/kg i 300 mg/kg) pokazali su značajno poboljšanje slušne funkcije u usporedbi s kontrolom. Kofein je imao određeni zaštitni učinak, ali je bio manje učinkovit u usporedbi s kavom ili trigonelinom. Prema dobivenim rezultatima proizlazi da sastojci kave, poput trigonelina, imaju važniju ulogu zaštite slušnog sustava od oštećenja izazvanih dijabetesom [71].

Tohda i sur. (1999) ispitivali su učinak trigonelina na rast neurita u stanicama humanog neuroblastona SK–N–SH. Stanice su bile tretirane trigonelinom različitih koncentracija (0,1 mM, 0,5 mM, 1 mM i 5 mM). Rezultati su pokazali rast neurita pri svim koncentracijama, međutim rast je bio najsnažniji pri većim koncentracijama. TRG ima potencijal kao neurotrofni agens te bi se mogao primijeniti u terapiji neurodegenerativnih bolesti [72].

#### 2.2.4. Melanoidini

Melanoidini, zahvaljujući strukturi bogatoj fenolnim skupinama, snažni su antioksidansi koji mogu i kelirati metale i donirati vodik. Ovo svojstvo čini kavu potencijalno zaštitnim pićem protiv oksidacijskog stresa, osobito kod redovitih konzumatora [37]. Delgado–Andrade i sur. (2005) su procijenili antioksidacijsku aktivnost melanoidina iz kave koristeći različite metode za mjerenje antioksidacijske aktivnosti. Pripremljeni su uzorci instant kave čija su zrna pržena u tri različita stupnja prženja i skuhanje otapanjem 1 grama u 100 mL vruće vode, nakon čega su izolirali melanoidine (postupkom ultrafiltracije i liofilizacije) i identificirali ih kao M110, M85 i M60 (brojevi pokazuju molekularnu masu). Primjenom različitih testova antioksidacijske aktivnosti (2,2–difetil–1–pikrilhidrazil, DPPH (engl. *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*), 2,2'–azino–bis(3–etilbenzotiazolin–6–sulfonska kiselina), ABTS (engl. *2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)*), antioksidacijska moć reduciranja željeza, FRAP (engl. *ferric reducing antioxidant power*), i sposobnost apsorpcije kisikovih radikala, ORAC (engl. *oxygen radical absorbance capacity*) ispitana je sposobnost melanoidina da neutraliziraju slobodne radikale i spriječe oksidacijska oštećenja. Rezultati su pokazali da melanoidini iz kave imaju značajnu antioksidacijsku aktivnost, što sugerira da kava može doprinijeti zaštiti stanica od oksidacijskog stresa [73]. Razlike u postupcima ispitivanja (ABTS, DPPH, FRAP i ORAC) mogu doprinijeti različitim rezultatima. Kod DPPH testa melanoidini su pokazali postotak

inhibicije DPPH radikala od 45 % do 70 % ovisno o vrsti melanoidina (M110, M85 i M60). U ABTS testu, melanoidini su imali postotak neutralizacije radikala od 50 % do 80 %. Rezultati FRAP testa pokazali su da melanoidini imaju sposobnost redukcije  $\text{Fe}^{3+}$  u  $\text{Fe}^{2+}$  u rasponu od 40 % do 65 %, što ukazuje na njihovu sposobnost u smanjenju oksidacijskog stresa. U ORAC testu, melanoidini su pokazali postotak zaštite od slobodnih radikala u rasponu od 55 % do 75 % [73]. Bolje poznavanje strukture melanoidina moglo bi pridonijeti boljem razumijevanju njihovih antioksidacijskih svojstava [31].

Borrelli i sur. (2002) proveli su kemijsku karakterizaciju melanoidina dobivenih iz lagano, srednje i tamno prženih zrna kave. Melanoidini su odvojeni kromatografijom na gelu i proučavani MALDI-TOF (engl. *Matrix-assisted laser desorption/ionization*) masenom spektrometrijom. Rezultati su pokazali da se količina melanoidina u napicima povećava s intenzitetom toplinske obrade, dok se njihova molekularna masa smanjuje. Antioksidacijska aktivnost proučavana je korištenjem različitih metoda (ABTS i *N,N*-dimetil-*p*-fenilendiamin dihidroklorid, DMPD (engl. *N,N-Dimethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride*) testovima) te se smanjivala s povećanjem intenziteta prženja, ali sposobnost sprječavanja peroksidacije linolne kiseline bila je veća u tamno prženim uzorcima. Rezultati sugeriraju da melanoidine također treba uzeti u obzir prilikom proučavanja važnosti unosa kave za zdravlje [74].

Vitaglione i sur. (2010) su proveli istraživanje utjecaja melanoidina iz kave na učestalost kroničnih bolesti jetre. Trideset mužjaka Wistar štakora se, tijekom 8 tjedana, u vodu dodavalo 1,5 mL/dan bezkofeinske kave ili njenih polifenola ili melanoidina. Trideset štakora je bilo podjeljeno u pet grupa, četiri grupe su prethodna 4 tjedna hranjene visokomasnom, visokokaloričnom prehranom, HFD (engl. *high-fat diet*), da bi razvili nealkoholni steatohepatitis, a peta skupina je hranjena normalnom prehranom. U 12. tjednu, štakori na HFD-u i vodi pokazali su kliničku sliku tipičnu za napredni nealkoholni steatohepatitis u usporedbi s kontrolnom. Usporedno s tim, štakori na HFD-u i kavi pokazali su smanjenje masnoće u jetri i kolagena, kao i smanjenje serumskih alanin aminotransferaza i triglicerida, dvostruko smanjenje omjera oksidiranog/reduciranog GSH u serumu i jetri, smanjenje serumskog MDA i povećanje sposobnosti redukcije željeza (redukcijska aktivnost), smanjenje ekspresije faktora nekroze tumora  $\alpha$ , TNF- $\alpha$  (engl. *tumor necrosis factor alpha*), tkivne transglutaminaze i transformirajućeg faktora rasta  $\beta$ , smanjenje koncentracija proupalnih TNF- $\alpha$  i interferona- $\gamma$ , IFN- $\gamma$  (engl. *interferon- $\gamma$* ), te povećanje konc. protuupalnih IL-4 i IL-10 u jetri. Rezultati pokazuju da konzumacija kave štiti jetru od oštećenja uzrokovanih visokomasnom prehranom. Taj učinak posredovan je smanjenjem nakupljanja masti u jetri (putem povećane  $\beta$ -oksidacije masnih kiselina), sistemskog i jetrenog oksidacijskog stresa



(putem GSH sustava), upale u jetri (putem modulacije gena) te ekspresije i koncentracije proteina i citokina povezanih s upalom. Međutim, mehanizmi koji stoje iza tih učinaka i komponente kave odgovorne za ove učinke još uvijek nisu u potpunosti razjašnjeni [75].

Stauder i sur. (2010) izolirali su visokomolekularne spojeve, melanoidine i polisaharide, iz kave te ispitali njihovu sposobnost da spriječe adheziju *Streptococcus mutans* na zubne površine. Bakterijske kulture su bile izložene različitim koncentracijama izoliranih komponenti kave, a zatim su bile inkubirane sa zubnim površinama (odabrane kulture su bile kontrolna grupa). Utvrđeno je da visokomolekularni spojevi kave značajno smanjuju adheziju *S. mutans* na zubne površine, što sugerira da kava može smanjiti rizik od karijesa inhibirajući početni korak u formiranju plaka. Također, visokomolekularne komponente kave smanjile su formiranje biofilma *S. mutans*. Budući da je biofilm ključan za zaštitu bakterija u usnoj šupljini, omogućava njihov opstanak i nastanak karijesa, stoga je inhibicija biofilma značajan nalaz. Zaključeno je da visokomolekularne komponente kave, poput polisaharida i melanoidina, mogu imati zaštitnu ulogu u oralnoj higijeni. Ovi rezultati ukazuju na moguću primjenu ekstrakta kave ili njegovih komponenti u proizvodima za oralnu higijenu, kao što su paste za zube ili sredstva za ispiranje usta, kako bi se smanjio rizik od karijesa [76].

Pastoriza i sur. (2012) ispitali su kako melanoidin reagiraju s akrilamidom u kontroliranim uvjetima. Akrilamid je kemijski spoj koji se stvara tijekom visokotemperaturne obrade hrane i koji je poznat po svojoj potencijalnoj kancerogenosti. Modeli sustava inkubirani su na 180 °C u različitim vremenima (0, 2, 4, 6 i 12 minuta) kako bi se istražila kinetika reakcije između melanoidina i akrilamida. Ispitivanja su provedena pri različitim pH uvjetima (pH = 3,5; 5,5; 6,8 ili 7,0) kako bi se ispitaio utjecaj pH na reaktivnost akrilamida s melanoidinima. U kontrolnim uzorcima akrilamid se smanjio za 18,5 % nakon 6 minuta grijanja, a prisutnost melanoidina značajno je ubrzala smanjivanje akrilamida za čak 49 %. Rezultati su pokazali da melanoidini iz kave mogu reagirati s akrilamidom, što dovodi do smanjenja koncentracije slobodnog akrilamida u modelnim sustavima. Rezultati sugeriraju da melanoidin mogu vezati akrilamid ili ga transformirati u manje toksične spojeve [77].

### 2.2.5. Diterpeni

Dobra bioaktivnost kafestola i kahweola te njihova bogata koncentracija u kavi znači da imaju potencijal biti početni materijal za proizvodnju novih lijekova [4]. Terpstra i sur. (2000) su proučavali učinak kafestola iz ulja zrna kave na devedeset ženki gerbila starih četiri tjedna i šezdeset ženki Wistar štakora starih tri tjedna, kako bi utvrdili jesu li putevi koji dovode do

hiperkolesterolemije izazvane kafestolom kod ljudi prisutni i kod drugih vrsta. Devedeset gerbila je bilo podjeljeno u šest grupa (n = 15), a šezdeset štakora je bilo podjeljeno u šest grupa (n = 10). Gerbilima je davana polupročišćena prehrana koja sadrži 0,5 % ili 5 % ulja kave uz dodatak ili bez dodatka 0,05 % kolesterola tijekom razdoblja od 10 tjedana. U usporedbi s gerbilima koji nisu hranjeni uljem kave, dodatak 0,5 % ulja kave prehrani nije utjecao na kolesterol u plazmi. Kolesterol u plazmi bio je značajno viši samo u životinja tretiranih s 5 % ulja kave, gdje se za 33 % (bez dodanog kolesterola) odnosno 70 % (s dodatkom kolesterola) povećala razina kolesterola. Težina jetre također je bila značajno veća u životinja tretiranih s 5 % ulja kave. Štakori su hranjeni dijetama koje su sadržavale 0,5 % ili 5 % ulja kave, s ili bez 0,05 % kolesterola tijekom 8 tjedana. Hranjenje s 0,5 % ulja kave u usporedbi s hranom bez ulja kave rezultiralo je značajno višim razinama kolesterola u plazmi tijekom cijele studije, bez dodanog kolesterola razina kolesterola se povisila za 27 %, a s dodatnim kolesterolom se razina kolesterola povisila za 15%. Dijete koje su sadržavale 5 % ulja kave pokazale su se toksičnima zbog velikog postotka povećanja razine kolesterola kod gerbila. Dakle, diterpeni ulja kave mogu dovesti do povećanja kolesterola u plazmi kod gerbila i štakora. Neuspjeh uočavanja tih učinaka u prethodnim studijama mogao bi biti rezultat primjene niskih doza u prethodnim istraživanjima [40].

De Roos i sur. (2000) su istraživali dugoročne učinke konzumacije kave na razinu aktivnosti kolesterilester transfer proteina, CETP (engl. *cholesteryl ester transfer protein*), fosfolipidnog transfer proteina, PLTP (engl. *phospholipid transfer protein*), i lecitin kolesterol aciltransferaze, LCAT (engl. *lecithin cholesterol acyltransferase*), te su ispitali ulogu razine aktivnosti CETP-a u porastu LDL kolesterola u serumu. Četrdeset i šest zdravih ispitanika, prosječne dobi od 30 godina, s normalnom razinom lipida u krvi i indeksa tjelesne mase  $23 \pm 1$ , konzumiralo je 0,9 L kave pripremljene u French pressu (n = 11 m/ 11 ž) ili filtrirane kave (n = 12 m/ 12 ž) tijekom 24 tjedna. Uzorci krvi uzimani su nakon 0, 2, 12 i 24 tjedna. Rezultati su pokazali da je kava pripremljena u French pressu značajno povećala prosječnu aktivnost CETP-a za 12 % nakon 2 tjedna, za 18 % nakon 12 tjedana i za 9 % nakon 24 tjedna. Aktivnost PLTP-a značajno je povećana za 10 % nakon 12 i 24 tjedna. Aktivnost LCAT-a značajno je smanjena za 6 % nakon 12 tjedana i za 7 % nakon 24 tjedna. Povećanje aktivnosti CETP-a je prethodilo povećanju LDL kolesterola, ali ne i povećanju ukupnih triglicerida. Međutim, konzumacija kave pripremljene u French pressu uzrokovala je postojano povećanje aktivnosti CETP-a, dok je porast triglicerida u serumu bio privremen. Konzumacija kafestola i kahweola uzrokuje dugoročno povećanje aktivnosti CETP-a, kao i PLTP-a, a povećanje aktivnosti CETP-a može pridonijeti porastu LDL kolesterola [78].

Cárdenas i sur. (2011) proveli su istraživanje koje je uključivalo *in vivo* testove angiogeneze (testovi s kokošjim (*Gallus gallus domesticus* L.) i prepeličjim (*Coturnix coturnix* L.) horioalantoičnim membranama te test angiogeneze s *Danio rerio* Hamilton), *ex vivo* test aortnog prstena miša i *in vitro* analizu učinaka tretmana ljudskih endotelnih stanica s kahweolom u pogledu rasta, vitalnosti i migracije stanica te zimografskih testova, kao i test formiranja struktura sličnih krvnih žila na Matrigelu. Pokazalo se da je kahweol antiangiogeni spoj s inhibitornim učincima u dva *in vivo* i jednom *ex vivo* modelu angiogeneze, s učincima na specifične korake angiogeneze: proliferaciju endotelnih stanica, migraciju, invaziju i formiranje struktura sličnih krvnih žila na Matrigelu. Također se pokazao inhibicijski učinak kahweola na potencijal endotelnih stanica za remodeliranje izvanstaničnog matriksa ciljajući dvije ključne molekule uključene u taj proces: enzim matriks metaloproteinaza-2, MMP-2 (engl. *matrix metalloproteinase-2*), i urokinazni tip aktivatora plazminogena, uPA (engl. *urokinase-type plasminogen activator*). Na kraju, protuupalni potencijal ovog spoja demonstriran je njegovom inhibicijom ekspresije ciklooksigenaze-2, COX-2 (engl. *cyclooxygenase-2*), i monocitnog kemotaktičnog proteina 1, MCP-1 (engl. *monocyte chemotactic protein-1*), u endotelnim stanicama [54].

Kafestol i kahweol pokazuju značajna antioksidacijska svojstva koja doprinose njihovom potencijalu u zaštiti stanica od oksidacijskog stresa. Hwang i Jeong (2008) istražili su učinkovitost kahweola u zaštiti neuronskih stanica od oksidacijskog stresa uzrokovanog neurotoksinom povezanim s Parkinsonovom bolesti, 6-hidroksidopaminom, induciranjem Nrf2. U istraživanju su korištene SH-SY5Y stanice, kako bi simulirali učinke koje bi 6-hidroksidopaminom imao na dopaminergične neurone u ljudskom mozgu. Zatim je mjerena razina ROS-a, kao pokazatelja oksidacijskog stresa. Također je analizirana aktivacija kaspaze-3, enzima koji je ključan u procesu apoptoze. Ove mjere su korištene kako bi se procijenilo kolika je šteta uzrokovana 6-hidroksidopaminom i koliko je kahweol mogao spriječiti tu štetu. Proučavana je i aktivacija fosfatidilinozitol 3-kinaze, PI3K (engl. *phosphatidylinositol 3-kinase*), i p38 mitogen-aktivirane proteinske kinaze (engl. *p38 mitogen-activated protein kinase*), signalni putevi koji su uključeni u indukciju Nrf2. Nrf2 regulira ekspresiju HO-1. Rezultati su pokazali da je kahweol uzrokovao povećanje razine HO-1, aktivirao je i PI3K i p38/Nrf2 signalne puteve i povećao preživljavanje stanica nakon izlaganja 6-hidroksidopaminu. Na taj način, kahweol je pomagao u smanjivanju oksidacijskog stresa i stanične smrti. Ovaj zaštitni učinak bio je posredovan aktivacijom PI3K i p38/Nrf2 signalnih puteva, što je dovelo do povećane ekspresije HO-1 [55].

Wattenberg i Lam (1984) su proveli tri eksperimenta o učinku zelene kave na formiranje tumora dojke štakora. Ženke Sprague–Dawley štakora (n = 16-32, dob 34 dana) dobile su s hranom zrnca kave (10 ili 20 %) tijekom 14 dana, a 1 dan prije toga dobile su 12 mg 7,12–dimetilbenz[a]antracena. Eksperimenti su završeni 18 tjedana nakon primjene 7,12–dimetilbenz[a]antracena. Konzumacija prehrane s kavom rezultirala je manjim brojem štakora s tumorima dojke i s manje tumora po štakoru. U prvom eksperimentu, incidencija tumora dojke za skupinu koja je dobila 10 % zelene kave u usporedbi s kontrolnom skupinom bila je 8/16 (50 %) naspram 13/16 (81 %). U drugom eksperimentu, incidencija tumora dojke za skupinu koja je dobila 20 % zelene kave u usporedbi s kontrolnom skupinom iznosila je 9/16 (56 %) naspram 16/16 (100 %). U trećem eksperimentu, incidencije tumora dojke iznosile su 30/32, 13/16 i 9/16 za štakore koji su bili na prehrani s 0 %, 10 % i 20 % zelene kave, redom [79].

### 2.3. Farmakologija odabranih spojeva u kavi

Farmakologija (farmakodinamika i farmakokinetika) sastojaka kave igra ključnu ulogu u njihovoj ukupnoj biološkoj aktivnosti. Iako je sudbina kofeina u ljudskom tijelu dobro istražena, postoji malo konačnih istraživanja o većini drugih bioaktivnih spojeva, osobito u pogledu distribucije u tkivima i organima čovjeka [61]. Farmakologija odabranih i relevantnih sastojaka, kao što su kofein, klorogena kiselina, kahweol i kafestol, pojašnjeni su u nastavku.

#### 2.3.1. Kofein

Kao najvažniji alkaloid pronađen u kavi, gotovo sav konzumirani kofein može se distribuirati po tijelu kroz apsorpciju u želucu i crijevima. Nakon konzumiranja, kofein se apsorbira u krvotok unutar 30 – 45 minuta, iako se približno 90 % kofeina eliminira iz želuca unutar 20 minuta. Najviše koncentracije kofeina u plazmi postižu se unutar 1 do 1,5 sat od unosa [62]. Nakon što se apsorbira, kofein će imati višestruke učinke na organizam, posebice u mozgu inhibicijom adenzinskih receptora koji omogućuju regulaciju višestrukih fizioloških aktivnosti preko endogenog adenzina. Adenzinski receptori uključuju podtipove: adenzin A1 receptor, A1 (engl. *adenosine A1 receptor*), adenzin A2<sub>A</sub> receptor, A2<sub>A</sub> (engl. *adenosine A2<sub>A</sub> receptor*), adenzin A2<sub>B</sub> receptor, A2<sub>B</sub> (engl. *adenosine A2<sub>B</sub> receptor*) i adenzin A3 receptor, A3 (engl. *adenosine A3 receptor*). Kofeinski A1 podtipovi su distribuirani u središnjem i perifernom živčanom sustavu, posebice u hipokampusu, malom mozgu, hipotalamusu i korteksu, a također su raspoređeni u bubrezima, plućima, mjehuru i srcu.

Inhibicija podtipa A1 može ublažiti hipertenziju, poboljšava kognitivne funkcije, ublažava Alzheimerovu bolest, ublažava tjeskobu, a također može liječiti kongestivno zatajenje srca i zatajenje bubrega. A<sub>2A</sub> receptor je uglavnom raspoređen u području moždanog tkiva bogatog dopaminom, dok je receptor A<sub>2B</sub> uglavnom raspoređen u probavnom sustavu, a A<sub>3</sub> receptor je široko rasprostranjen u slezeni, plućima, srcu, bubrezima i drugim organima te na površini upalnih stanica. Kofein primijenjen u različitim dozama i u različitim fazama može promijeniti ekspresiju različite podvrste adenozijskih receptora, pojačavajući ili umanjujući njihove biološke učinke, posebice u slučaju A1 i A<sub>2A</sub> [63].

Popat i sur. (2011) analizirali su povezanost kofeina, adenozijskih receptora (posebno A<sub>2A</sub>) i enzima citokroma P450 1A2, CYP1A2 (engl. *cytochrome P450 1A2*), te njihovu ulogu u Parkinsonovoj bolesti. Istraživanje je obuhvatilo 1325 osoba s Parkinsonovom bolesti i 1735 kontrolnih osoba koje su bile usklađene prema dobi i spolu s osobama s Parkinsonovom bolesti. Istraživanje je uključivalo gensku analizu i evaluaciju podataka o konzumaciji kofeina kod sudionika kako bi se procijenio njihov rizik od razvoja Parkinsonove bolesti. Posebna pažnja posvećena je varijantama gena A<sub>2A</sub>, koji kodira A<sub>2A</sub> receptore, ključne za motoričku kontrolu, te varijantama gena CYP1A2, koji utječe na metabolizam kofeina. Rezultati su pokazali da osobe s određenim varijantama gena A<sub>2A</sub>, koje su osjetljivije na kofein, imaju manji rizik od Parkinsonove bolesti, vjerojatno zbog pojačane inhibicije A<sub>2A</sub> receptora u bazalnim ganglijima. Ovi rezultati sugeriraju da genetske varijacije mogu modulirati zaštitne učinke kofeina, smanjujući rizik od Parkinsonove bolesti kroz inhibiciju A<sub>2A</sub> receptora u mozgu [80].

Oko 3% kofeina izlučuje se nepromijenjeno putem mokraćne, dok se ostatak eliminira u obliku razgrađenih metabolita. Brzina izlučivanja kofeina može varirati, s poluvremenom eliminacije od 3 do 5 sati kod prosječne odrasle osobe, no to se može povećati kod trudnica ili osoba s oštećenjem funkcije jetre. Metabolizam kofeina primarno se odvija u jetri putem *N*-metilacije, acetilacije i oksidacije koje kataliziraju enzimski sustavi jetrenih mikrosoma. Glavni enzim odgovoran za *N*-metilaciju kofeina, koja dovodi do stvaranja paraksantina, je CYP1A2. Kofein se podvrgava demetilaciji, odnosno procesu uklanjanja metilnih skupina iz njegove strukture te nastaje jedan od tri glavna metabolita: teobromin, paraksantin i teofilin. Dalje se podvrgavaju demetilaciji i oksidaciji u cilju pretvorbe u jednostavnije spojeve koji se lakše izlučuju putem mokraćne. Paraksantin se razgrađuje do metilurata koji se izlučuje iz tijela, a teobromin i teofilin se razgrađuju do mokraćne kiseline i izlučuju putem bubrega [81]. Moffat i sur. (2011) proveli su detaljnu analizu kofeina i njegovih metabolita iz uzorka mokraćne. Rezultati analize mokraćne pokazali su da se kofein izlučuje unutar 48 sati, s time da je samo 1

% prisutan u nepromijenjenom obliku. Utvrđeno je da konzumaciju kofeina više puta u nekom periodu ne mijenja njegovu apsorpciju niti metabolizam. [82].

### 2.3.2. Klorogena kiselina

Brzina apsorpcije klorogene kiseline iz gastrointestinalnog trakta ovisi o njoj strukturi, osobito o prisutnosti esterske skupine koja smanjuje apsorpciju. Naime, u ljudskom tijelu složeni metabolički putevi transformiraju estere klorogene kiseline u fenolne kiseline (kavena, ferulična i izoferulična kiselina) i druge katabolite (dihidro-kavena i dihidroferulična kiselina). 30 % unesene CGA apsorbira se u tankom crijevu i dovodi do postizanja maksimalne koncentracije u plazmi unutar jednog sata. Glavni cirkulirajući metaboliti apsorbirani u tankom crijevu su kavena kiselina-3'-O-sulfat i ferulična kiselina-4'-O-sulfat. Potonja pokazuje drugu maksimalnu koncentraciju nakon četiri sata od ingestije, ovisno o dodatnoj apsorpciji u kolonu. Preostalih 70 % dopijeva u debelo crijevo, gdje može proći mikrobiološku transformaciju u produkte hidrolize kavene i kininske kiseline [83].

Stalmach i sur. (2009) proveli su istraživanje u kojoj je jedanaest zdravih ljudi (8 m /3 ž, sa zdravim kolonom) konzumiralo 200 mL instant kave, koja je sadržavala 412 mg (146 mg) acil-kininskih kiselina, pri čemu je CGA činila 65 % ukupnog sadržaja. Nakon konzumacije, uzeti su uzorci urina tijekom razdoblja: 0 do 2 sata, 2 do 5 sati, 5 do 8 sat i 8 do 24 sata te uzorci krvi prije (0 sati) i nakon konzumacije u razdobljima: 0,5; 1; 1,5; 2; 3; 4; 6; 8 i 24 h. U plazmi je identificirano i kvantificirano ukupno 12 derivata hidroksicimetne kiseline, od kojih su četiri bile nepromijenjene acil-kininske kiseline, a osam su bili metaboliti, od kojih su dva bila nekonjugirana. Rezultati su pokazali da su neki spojevi iz kave postigli visoke koncentracije u plazmi već unutar jednog sata nakon konzumacije, što ukazuje na to da se brzo apsorbiraju u tankom crijevu. S druge strane, neki spojevi, poput dihidroferulične kiseline, postigli su visoke koncentracije tek nakon više od četiri sata, što sugerira da se apsorbiraju u debelom crijevu uz moguću pomoć bakterija. Dodatno, određeni spojevi, kao što su dihidro-kavena kiselina-3-O-sulfat i feruloil-glicin, prisutni u urinu, mogu služiti kao biomarkeri za praćenje konzumacije kave, čak i u malim količinama [84].

### 2.3.3. Trigonelin

Farmakokinetika trigonelina u čovjeka dijelom je istražena te je utvrđena jaka korelacija između apsorpcije i ingestije, kao i između ekskrecije i ingestije. U plazmi je trigonelin prisutan

već 15 minuta nakon unosa, pa se smatra da apsorpcija kreće u želudcu. Najveća koncentracija u plazmi postignuta je 3-8:48 h nakon unosa, što sugerira da se glavna trigonelina apsorbira u tankom crijevu. Uočene razlike u koncentraciji u plazmi u ovisnosti o spolu. Maksimalna koncentracija za žene je za 16,3 % viša nego za muškarce, a dosegnuta je 3:17 h nakon unosa (u muškaraca je ranije, 2:29 h). Ove su razlike moguća posljedica razlika u masi tijela i volumena krvi ispitanika, što je dovelo do razrjeđivanja trigonelina u krvi [34].

O metabolizmu trigonelina u ljudi se jako malo zna. U krvi i urinu su pronađena 4 potencijalna metabolita (*N*-metilpiridin, *N*-metilnikotinamid, *N*<sup>1</sup>-metil-4-piridon-5-karboksamid i *N*<sup>1</sup>-metil-2-piridon-5-karbonsilna kiselina) [34]. Yuyama i Suzuki (1991) proučavali su eliminaciju *N*<sup>1</sup>-metil-2-piridon-5-karbonsilne kiseline, *N*<sup>1</sup>-MPCA, nakon ingestije nikotinske kiseline, trigonelina i *N*<sup>1</sup>-MPCA. Devet ispitanica (dob 20-21 godina) podijeljeno je u tri skupine (*n* = 3). Bile su na uobičajenoj prehrani 7 dana prije i 3 dana tijekom ispitivanja. Nakon 24 sata prikupljen je uzorak urina, nakon toga jedna skupina je primila 50 mg nikotinske kiseline, druga 50 mg trigonelina i treća 50 mg *N*<sup>1</sup>-MPCA. Zabilježene su značajne količine *N*<sup>1</sup>-MPCA u uzorcima urina, što potvrđuje da se trigonelin metabolizira u *N*<sup>1</sup>-MPCA i izlučuje putem urina. Kod ispitanica koje su primile nikotinsku kiselinu, također je zabilježeno izlučivanje *N*<sup>1</sup>-MPCA, iako u manjoj mjeri nego kod trigonelina. Nikotinska kiselina može biti uključena u stvaranje *N*<sup>1</sup>-MPCA, ali kroz druge metaboličke puteve. U ispitanica koje su primile *N*<sup>1</sup>-MPCA, taj spoj se gotovo u potpunosti izlučio nepromijenjen putem urina (90 %) [85].

Daljnja razgradnja *N*<sup>1</sup>-MPCA (i ostalih metabolita) putem cijepanja prstena također je moguća. Oko 64,3 % unesenog trigonelina eliminira se unutar 8 h od unosa u nepromijenjenom obliku, a oko 10 % prelazu u oblik *N*<sup>1</sup>-MPCA, tako da se za oko 30 % unesenog trigonelina još ne zna što se događa. Moguće je i da se taj postotak eliminira nepromijenjen urinom, samo kasnije (nakon 8 h od ingestije). Nakon ponovljenog unosa, trigonelin je prisutan u plazmi u dužem periodu (vrijeme poluživota od oko 5,5 sati). Ukoliko se konzumira kava nekoliko puta na dan, moguće je da se trigonelin cijeli dan zadrži u plazmi. Međutim, kada se prestane s unosom kave, trigonelin se eliminira iz plazme [34].

#### 2.3.4. Melanoidini

Podaci o metabolizmu melanoidina u ljudskom tijelu nisu u potpunosti razriješeni zbog njihove nepotpuno poznate strukture. Utvrđeno je da melanoidini imaju ograničenu apsorpciju

u gastrointestinalnom traktu zbog velike molekularne mase i složene strukture. Kada se konzumiraju putem kave ili proizvoda na bazi kaka, većina melanoidina prolazi kroz probavni sustav bez značajne apsorpcije u krvotok. Iako melanoidini nisu u velikoj mjeri apsorbirani, mogu djelovati kao prebiotici u crijevima. Oni stimuliraju rast korisnih bakterija, što može pomoći u održavanju zdravlja crijevne mikrobiote. Tijekom ovog procesa, crijevna mikrobiota može djelomično razgraditi melanoidine u manje komponente koje se mogu apsorbirati, ali većina melanoidina ostaje netaknuta i takva nastavlja kroz probavni sustav. Zbog ograničene apsorpcije u gastrointestinalnom traktu, melanoidini se ne nalaze u značajnim količinama u urinu. Većina melanoidina se izlučuje kroz fekalije u netaknutom obliku. Manji metaboliti melanoidina, koji nastaju tijekom crijevne razgradnje, mogu se pronaći u krvi i naknadno izlučiti putem urina, ali u znatno manjoj količini u usporedbi s drugim spojevima [86].

### 2.3.5. Diterpeni

Oko 70 % kafestola i kahweola koji dopijaju u tanko crijevo apsorbira se tamo. Većina preostalih 30 % se razgrađuje želučanim sokom, samo mali dio (8 %) dopijeva u debelo crijevo. Količina dostupna za antikancerogene učinke diterpena iz kave na razini cijelog organizma je stoga vrlo mala. Štoviše, samo vrlo mali dio kafestola i kahweola koji ulaze u cirkulaciju se kasnije izlučuje kao konjugat glukuronske kiseline ili sulfata u urinu. Stoga se većina unesenih kafestola i kahweola metaboliziraju na drugačiji način, a ne samo glukuronidacijom ili sulfatacijom molekula kafestola i kahweola [81].

De Roos i sur. (1998) ispitali su apsorpciju i izlučivanje kafestola i kahweola u urinu ljudi. Devet zdravih osoba (4 m/5 ž) s ileostomom konzumiralo je dozu od jedne, dvije ili tri šalice kave pripremljene u French press aparatu, zajedno sa standardiziranim doručkom, u tri odvojena dana nasumičnim redoslijedom. Nakon toga, ileostomski izljev prikupljan je 14 sati, a urin 24 sata. Stabilnost kafestola i kahweola također je procijenjena u simuliranim uvjetima gastrointestinalnog trakta. Prosječna apsorpcija izražena kao postotak konzumirane količine i količine koja ulazi u dvanaesnik iznosila je 67 % i 88 % za kafestol te 72 % i 93 % za kahweol. Pronađeni su gubici diterpena tijekom *in vitro* inkubacije sa želučanim sokom (kafestol: 24 %, kahweol: 32 %), tijekom skladištenja s ileostomskim izljevom (kafestol: 18 %, kahweol: 12 %) i tijekom liofilizacije (kafestol: 26 %, kahweol: 32 %). Oko 70 % unesenog kafestola i kahweola apsorbira se kod ispitanika. Moguće je da su u ileostomskom izljevu prisutni nedetektirani



metaboliti, što rezultira nižim postotcima apsorpcije. Samo mali dio diterpena izlučuje se kao konjugat glukuronske kiseline ili sulfata u urinu [87].

Baek i sur. (2017) primijetili su da kahweol reducira nakupljanje lipida i ekspresiju gena važnih za odvijanje adipogeneze i akumulacije lipida u 3T3-L1 stanicama (subklonska stanična linija izvedena iz originalne Swiss albino 3T3 stanične linije (fibroblasti dobiveni iz tkiva embrija Swiss albino miša). Uočeno je i da kahweol smanjuje diferencijaciju adipocita i veličinu masnih (lipidnih) kapljica. Razine fosforiliranog Akt i fosforiliranog JAK2 (koji izazivaju akumulaciju lipida) bile su smanjene u stanicama tretiranim kahweolom, čime je kahweol doprinijeno inhibiciji akumulacije lipida. Osim toga, kahweol je povećao iskorištavanje glukoze putem aktivacije AMPK puta. Naime, tretman kahweolom značajno je povećao aktivnost AMP-aktivirane protein kinaze, AMPK (engl. *adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase*), a potrošnja AMPK značajno je ublažila redukciju akumulacije lipida. Stoga autori smatraju da lipidna akumulacija djelovanjem kahweola ovisi o aktivaciji AMPK. U miševa koji su primali kahweol uočeno je i brzo smanjenje konc. glukoze u krvi, u odnosu na kontrolu. Prema dobivenim rezultatima proizlazi da bi kahweol mogao poslužiti u terapijske svrhe u liječenju gojaznosti [88].

Općenito, različita učinkovitost i mehanizam djelovanja kafesola i kahweola još uvijek nisu potpuno razjašnjeni. Stoga su potrebna daljnja istraživanja i klinička ispitivanja kako bi se potvrdilo mogu li se ova dva diterpena iz kave koristiti za prevenciju ili liječenje određenih bolesti [10].

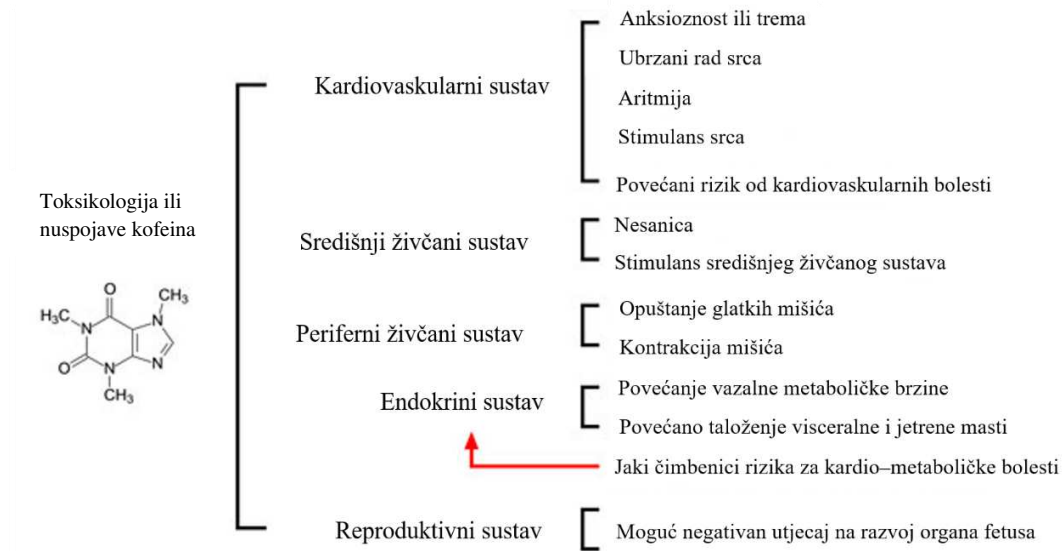
## 2.4. Toksikologija spojeva u kavi

Toksikologija spojeva u kavi istražuje potencijalne štetne učinke na ljudsko zdravlje, uključujući njihovu sposobnost izazivanja genotoksičnosti, kardiotoksičnosti i drugih oblika toksičnosti. Razumijevanje tih učinaka ključno je za procjenu sigurnosti konzumiranja kave kao dijela svakodnevne prehrane i za informiranje javnosti o potencijalnim rizicima povezanim s konzumacijom kave.

### 2.4.1. Kofein

Budući da je kofein psihoaktivna tvar, naglo smanjenje unosa može uzrokovati različite simptome odvikavanja, uključujući umor/pospanost, poteškoće s koncentracijom, promjene raspoloženja, nisku društvenost/motivaciju za rad, mučninu, osjećaj sličan gripu i glavobolju.

Slično kao i aktivnost spoja, njegovi toksični učinci ovise o dozi koja se unosi, tjelesnoj masi i stupnju tolerancije (Slika 11.) [89].



**Slika 11.** Shematski prikaz toksioloških učinaka kofeina  
(preuzeto i prilagođeno iz: [48])

Općenito, kod ljudi, razina bez vidljivog učinka i najniža razina zabilježenih štetnih učinaka za razvoj tolerancije, LOAEL (engl. *Lowest-observed-adverse effect level*), postavljene su na 0,3 mg/kg i 1,0 – 1,3 mg/kg. Međutim, veliko konzumiranje metilksantina može biti komplicirano tzv. „caffeinismusom“, koji karakteriziraju anksioznost, palpitacije srca, hiperestezija, nesanica, razdražljivost, nervoza, nemir, pospanost i tremor. Razina bez vidljivog učinka i najniža razina zabilježenih štetnih učinaka za takvo stanje procijenjena je na 2,5 mg/kg, ali puni sindrom obično se javlja pri višim dozama (otprilike 250 mg/dan). U većim dozama može se razviti akutna intoksikacija kofeinom. U takvim slučajevima, prethodno navedenie simptome prati uzbuđenje, trzanje mišića, neprekidni tok misli, pričljivost, nepravilan srčani ritam i psihomotorna agitacija. Kod doze bliže smrtnoj (1500 – 2000 mg/kg), mogu se također primijetiti depresija, dezorijentacija, dezinhibicija, halucinacije. U terminalnoj fazi dolazi do rabdomiolize i ventrikularne fibrilacije [89].

Juliano i sur. (2011) imali su cilj razviti upitnik za simptome ustezanja od kofeina i identificirati različite skupine simptoma koji se javljaju tijekom ustezanja. Istraživači su željeli utvrditi kako se simptomi ustezanja grupiraju u određene faktore, s ciljem boljeg razumijevanja i mjerenja tih simptoma kod osoba koje prestanu konzumirati kofein. U istraživanju je

sudjelovalo 213 odraslih ljudi (65 % žena i 81 % bijelaca) s prosječnom dobi od 24 godine. Da bi bili pogodni sudionici, morali su konzumirati kavu s kofeinom najmanje 5 dana tjedno u posljednjih godinu dana. Prosječni unos kofeina je bio 550 mg/dnevno. Ispitanici su nakon 16 sati apstinencije od kofeina ispunili upitnik za simptome ustezanja od kofeina. Obrada dobivenih podataka ukazala je na glavnih 7 faktora: umor/pospanost, niska budnost/teškoće s koncentracijom, poremećaji raspoloženja, niska društvenost/motivacija za rad, mučnina/uzrujan želudac, simptomi slični gripi i glavobolja. Osim mučnine/uzrujanog želuca, ukupni rezultat upitnika za simptome ustezanja od kofeina bili su značajno veći tijekom apstinencije. U usporedbi s ispitanicima koji je ne piju kavu svaki dan, ispitanici koji piju kavu svaki dan imali su izraženije simptome ustezanja, umora/pospanosti, niske budnosti/teškoća s koncentracijom, poremećaja raspoloženja i glavobolje [90].

#### 2.4.2. Klorogena kiselina

Schafer i sur. (1983) su ispitivali potencijalnu toksičnost 998 tvari na 68 vrsta ptica. Otkrili su da je središnja letalna doza, LD<sub>50</sub> (engl. *median lethal dose*), CGA kod crvenokrilih kosova (*Agelaius phoeniceus* L.) koji su težili 65 g bila veća od 100 mg/kg tjelesne težine, što je ekvivalentno 0,28 mmol/kg [91].

Venkatakrisna i Shyamprasad (2021) ispitivali su na pet ženki Wistar štakora (starosti 10 – 12 tjedna) oralnu akutnu i subakutnu toksičnost ekstrakta zrna nepržene kave koja sadrži 50 % CGA. Oralno je primijenjena pojedinačna doza od 2000 mg/kg CGA te su praćeni klinički znakovi toksičnosti i smrtnost. Svi testirani štakori pokazali su normalan porast tjelesne težine na kraju eksperimenta, zaključeno je da je oralna srednja letalna doza CGA veća od 2000 mg/kg kod štakora. U istom istraživanju, provedeno je 90–dnevno subkronično ispitivanje toksičnosti na 100 zdravih Wistar štakora (n = 50 m/ 50 ž) podijeljenih u 5 grupa (n = 10 m/ 10 ž). Životinje su oralno dobivale 250, 500 i 1000 mg/kg CQA ekstrakta. Unos nije uzrokovao nikakve toksične simptome ili abnormalnosti, ali su zabilježene značajne promjene u parametrima kao što su unos hrane, relativna težina mozga i slezene, te neki biokemijski parametri u usporedbi s kontrolnom grupom. Ovi rezultati sugeriraju da CGA ima nisku akutnu i subakutnu toksičnost, relativno je sigurna kada se konzumira u malim količinama, ali potrebna su daljnja istraživanja kako bi se potvrdili i bolje razumjeli mehanizmi djelovanja CGA u čovjeku [92].

### 2.4.3. Trigonelin

Podataka o toksikološkom učinku trigonelina u ljudi nema. Utvrđen je LD<sub>50</sub> za trigonelin za štakore i miševe – 5000 mg/kg. Nema podataka o akutnoj i kroničnoj izloženosti, reproduktivnim i teratološkim učincima. Nema podataka o kancerogenosti, ali je utvrđeno da u miševa trigonelin pokazuje određeni antikancerogeni učinak. Nema podataka o mutagenosti u ljudi, a ispitana je mutagenost na sojeve *Salmonella typhimurium* [93].

Fung i sur. (1988) ispitali su potencijal sastojaka kave, uključujući trigonelin, da izazovu mutacije, što može imati važne posljedice za genetsku stabilnost i zdravlje. Korišteni su standardni testovi za procjenu mutagenosti, kao što je Amesov test, kako bi se utvrdilo može li trigonelin uzrokovati mutacije u sojevima *S. typhimurium*. Različite koncentracije trigonelina (0,01; 0,1 i 1,0 %) primijenjene su kako bi se procijenila doza i njen utjecaj na mutagenost. Rezultati su pokazali da trigonelin nije imao značajnu mutagenu aktivnost u Amesovom testu, što ukazuje na to da trigonelin ne uzrokuje značajne promjene koje bi sugerirale mutagenost. Istraživanje je usporedilo trigonelin s drugim sastojcima kave kako bi se razumio njegov relativni utjecaj na gensku stabilnost. Zaključeno je da trigonelin ne predstavlja značajan rizik za gensku stabilnost u prehranbenim koncentracijama [94].

Wu i sur. (1997) ispitali su vezu između trigonelina i mutagene aktivnosti pržene kave. Trigonelin, koji se nalazi u neprženim zrnima, razgrađuje se tijekom procesa prženja kave, stvarajući derivate s potencijalno mutagenim svojstvima. Kava je pržena u laboratoriju, nakon čega su analizirani nastali spojevi i ispitana njihova mutagenost (Ames test). Rezultati su pokazali da iako trigonelin u svom izvornom obliku nije mutagen, spojevi koji nastaju njegovom razgradnjom tijekom prženja mogu pridonijeti mutagenoj aktivnosti pržene kave. Stoga trigonelin može imati posrednu ulogu u povećanoj mutagenosti kave nakon termičke obrade [95].

### 2.4.4. Melanoidin

Proizvodnja melanoidina tijekom obrade i kuhanja hrane povezana je s promjenama u njihovim nutritivnim svojstvima, a otkriće mutagenih tvari u piroliziranim proteinima i aminokiselinama izazvalo je zabrinutost u vezi sa sigurnošću tih namirnica. Taylor i sur. (2004) ispitali su frakcije melanoidina u tri različita *in vitro* testa (Ames test, Vitotox test i test mikronukleusa). Korištene frakcije melanoidina proizvedene su kondenzacijom glukoze s glicinom, a njihova je separacija provedena dijalizom. Sirova reakcijska smjesa (prije dijalize)

i obje frakcije niske i visoke molekularne mase dobivene dijalizom nisu pokazale genotoksičnost u ovim testovima, unatoč tome što su ispitivane u koncentracijama znatno većim od onih koje se prirodno nalaze u prehrambenim proizvodima. Međutim, frakcija niske molekularne mase pokazala je toksičnost pri ovim visokim koncentracijama. Isparljiva frakcija proizvedena u ovoj reakciji pokazala je genotoksičnost samo u Vitotox testu, i to pri visokim koncentracijama [96].

#### 2.4.5. Diterpeni

Nisu pronađena istraživanja o akutnoj i kroničnoj toksičnosti kafestola i kahweola. Nema podataka o reproduktivnim i teratološkim učincima, kao ni o kancerogenosti (antikancerogeni učinci su uočeni u štakora i hrčaka). Podataka o genotoksičnosti nema, a na *S. typhimurium* su nemutageni. Nema podataka o imunotoksičnosti [97].

### 3. ZAKLJUČAK

Kava je jedno od najkonzumiranijih pića diljem svijeta, a njezina popularnost ne proizlazi samo iz jedinstvenog okusa i mirisa, već i iz brojnih zdravstvenih učinaka. Glavni bioaktivni spojevi u kavi, poput kofeina, klorogene kiseline, trigonelina, melanoidina i diterpena, pokazali su raznovrsne zdravstvene učinke.

Kofein je najpoznatiji zbog svog stimulativnog učinka na središnji živčani sustav. Osim toga, kofein može poboljšati kognitivne funkcije, povećati budnost i smanjiti osjećaj umora. Klorogena kiselina posjeduje antioksidacijska i protuupalna svojstva te može utjecati na regulaciju glukoze u krvi i potencijalno liječenje dijabetesa tipa 2. Trigonelin se povezuje s neuroprotektivnim učincima i modulacijom lipidnog metabolizma, dok melanoidini, koji nastaju tijekom prženja kave, pokazuju potencijalnu genotoksičnost pri visokim koncentracijama. Diterpeni, kafestol i kahweol, pokazali su snažne biološke aktivnosti, uključujući protuupalnu i hepatoprotektivnu aktivnost. Međutim, oni također mogu povećati razinu LDL kolesterola u krvi, što potencijalno povećava rizik od kardiovaskularnih bolesti. Iako imaju zaštitne učinke na stanice i mogu smanjiti rizik od određenih oblika raka, njihov utjecaj na kolesterol zahtijeva oprez, posebno kod osoba s rizikom od srčanih bolesti.

Farmakološki, ovi spojevi pokazuju različite mehanizme djelovanja koji uključuju modulaciju oksidacijskog stresa, upalnih procesa, neuroprotektivne učinke te utjecaj na metabolizam glukoze i lipida. Istovremeno, toksikologija ukazuje na potrebu za oprezom, posebno pri konzumaciji visokih koncentracija određenih spojeva, zbog potencijalno štetnih učinaka na zdravlje.

#### 4. POPIS LITERATURE

1. R. Zawirska–Wojtasiak, P. Piechowska, E. Wojtowicz, K. Przygoński, S. Mildner–Szkudlarz, Bioactivity of selected materials for coffee substitute. *PLoS ONE*. **2018**, *13*, 1-2.
2. Flora Croatica Database, Vascular Plants Taxonomy and Bibliography of Croatian Flora, *Asperula aristata* L. f. URL: <https://hirc.botanic.hr/fcd/DetaljiFrame.aspx?IdVrste=1403&taxon=Asperula+aristata+L.+f> (14. 8. 2024.)
3. D. W. Lachenmeier, Identification of Coffee Species, Varieties, Origins, and Processing and Preparation Methods–A Status Report. *Proceedings*. **2023**, *89*, 9.
4. E. Gonzalez de Mejia, M. V. Ramirez-Mares, Impact of caffeine and coffee on our health. *Trends. Endocrinol. Metab.* **2014**, *25*, 489-492.
5. R. M. van Dam, F. B. Hu, W. C. Willett, Coffee, Caffeine, and Health. *N. Engl. J. Med.* **2020**, *383*, 369-378.
6. G. L. Hu, X. Wang, L. Zhanga, M.H. Qiu, The sources and mechanisms of bioactive ingredients in coffee. *Food Funct.* **2019**, *10*, 3113-3126.
7. N. Stefanello, R. M. Spanevello, S. Passamonti, L. Porciúncula, C. D. Bonan, A. A. Olabiyi, J. Batista Teixeira da Rocha, C. E. Assmann, V. M. Morsch, M. R. Chitolina Schetinger, Coffee, caffeine, chlorogenic acid, and the purinergic system. *Food Chem. Toxicol.* **2019**, *123*, 298-313.
8. R. J. Bułdak, T. Hejmo, M. Osowski, Ł. Bułdak, M. Kukla, R. Polaniak, E. Birkner, The Impact of Coffee and Its Selected Bioactive Compounds on the Development and Progression of Colorectal Cancer In Vivo and In Vitro. *Molecules*. **2018**, *23*, 1-26.
9. C. W. Wan, C. N. Y. Wong, W. K. Pin, M. H. Y. Wong, C. Y. Kwok, R. Y. K. Chan, P. H. F. Yu, S. W. Chan, Chlorogenic acid exhibits cholesterol lowering and fatty liver attenuating properties by up-regulating the gene expression of PPAR- $\alpha$  in hypercholesterolemic rats induced with a high-cholesterol diet. *Phytother. Res.* **2013**, *27*, 545-551.
10. Y. Ren, C. Wang, J. Xu, S. Wang, Cafestol and Kahweol: A Review on Their Bioactivities and Pharmacological Properties. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, *20*, 4238.
11. E. Gonzales de Mejia, M. V. Ramirez–Mares, Impact of caffeine and coffee on our health. *Trends Endocrin. Met.* **2014**, *25*, 489-492.
12. L. R. Batista, S. M. Chalfoun de Souza, C. F. Silva e Batista, R. F. Schwan. Encyclopedia of Food and Health: *Coffee: Types and production*. Vol 5. Cambridge, Massachusetts: Academic Press, **2016**. Str. 244-251.

13. S. Vionita, E. H. Kardhinata, R. I. Damanik. Morphology identification and description of coffee plants (*Coffea* sp) in Karo District. // IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. Bristol, UK: IOP Publishing, **2021**, 042051. Str. 1-5.
14. The North Creek Wetland. Coffee, *Coffea arabica* – Arabica coffee. URL: <https://www.uwb.edu/wetland/plants/coffee-arabica> (28. 8. 2024.)
15. A. P. Davis, J. Tosh, N. Ruch, M. F. Fay, Growing coffee: *Psilanthus* (Rubiaceae) subsumed on the basis of molecular and morphological data; implications for the size, morphology, distribution and evolutionary history of *Coffea*. *Bot. J. Linn. Soc.* **2011**, *167*, 357-377.
16. J. N. Wintgens. *Coffee: growing, processing, sustainable production: a guidebook for growers, processors, traders and researchers*. Weinheim: VCH, **2004**. Str. 4-6.
17. S. P. Kusumocahyo, S. Wijaya, A. A. C. Dewi, D. Rahmawati, D. I. Widiputri. Optimization of the extraction process of coffee pulp as a source of antioxidant. // IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. Bristol, UK: IOP Publishing, **2020**, 012052. Str. 1-7.
18. A. Vats, Pharmacological properties of Green coffee: A review. *The Pharma Innovation Journal.* **2022**, *11*, 2970-2976.
19. J. A. Silva, N. Borges, A. Santos, A. Alves, Method Validation for Cafestol and Kahweol Quantification in Coffee Brews by HPLC–DAD. *Food Anal. Methods.* **2012**, *5*, 1404-1410.
20. H. Ashihara, H. Sano, A. Crozier, Caffeine and related purine alkaloids: Biosynthesis, catabolism, function and genetic engineering. *Phytochemistry.* **2008**, *69*, 841-856.
21. F. Grases, A. Rodriguez, A. Costa–Bauza, Theobromine Inhibits Uric Acid Crystallization. A Potential Application in the Treatment of Uric Acid Nephrolithiasis. *PLoS ONE.* **2014**, *9*, str. 2.
22. M. Arya, L. J. M. Rao, An Impression of Coffee Carbohydrates. *Crit. Rev. Food Sci.* **2007**, *47*, 51-67.
23. M. R. Jokanović, N. R. Džinić, B. R. Cvetković, B. Odžaković, S. Grujic, Changes of physical properties of coffee beans during roasting. *Acta Period. Technol.* **2012**, *43*, 21-31.
24. Arabica, Robusta and everything in-between. URL: <https://gegrond.co.za/arabica-robusta-and-everything-in-between/> (14. 8. 2024.)
25. F. Wei, M. Tanokura, *Chapter 10. Chemical Changes in the Components of Coffee Beans during Roasting* // *Coffee in Health and Disease Prevention* / London: Academic Press, Elsevier, **2015**, 83-91.
26. E. Tarigan, E. Wardiana, Y. S. Hilmi, N. A. Komarudin, The changes in chemical properties of coffee during roasting: A review // IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. Bristol, UK: IOP Publishing, **2022**, 012115. Str. 1-8.



27. W. Soares Cardoso, S. Rodrigues Dias, V. Serafim Coelho, L. Louzada Pereira, D. Bassini Fioresi, F. de Abreu Pinheiro, Maillard reaction precursors and arabica coffee (*Coffea arabica* L.) beverage quality. *Food and Humanity*. **2023**, *1*, 1-7.
28. Maillard Reaction: Definition, Mechanism, & Products. URL: <https://testbook.com/chemistry/maillard-reaction> (14. 8. 2024.)
29. What Is the Maillard Reaction and Why Is It Important? URL: <https://www.baristahustle.com/what-is-the-maillard-reaction-and-why-is-it-important/> (14. 8. 2024.)
30. Maillard Reaction Temperature, Mechanism, Examples. URL: <https://www.adda247.com/school/maillard-reaction/> (14. 8. 2024.)
31. Strecker Degradation in Coffee Roasting. URL: <https://www.baristahustle.com/strecker-degradation-in-coffee-roasting/> (14. 8. 2024.)
32. R. Huang, A. J. O'Donnell, J. J. Barbolino, T. J. Barkman, Convergent evolution of caffeine in plants by co-option of exapted ancestral enzymes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **2016**, *113*, 10613-10618.
33. Y. Narita, K. Inouye. Coffee in Health and Disease Prevention: *Chlorogenic Acids from Coffee*. Vol. 2. (eds. V. R. Preedy, Vinood Patel), London: Department of Nutrition and Dietetics, King's College London, **2015**, 189-199.
34. N. Konstantinidis, H. Franke, S. Schwarz, D.W. Lachenmeier, Risk Assessment of Trigonelline in Coffee and Coffee By-Products. *Molecules*. **2023**, *28*, 3460.
35. K. Mizuno, M. Matsuzaki, S. Kanazawa, T. Tokiwano, Y. Yoshizawa, M. Kato, Conversion of Nicotinic acid to Trigonelline is Catalyzed by N-methyltransferase Belonged to Motif B' Methyltransferase Family in *Coffea arabica*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2014**, *452*, 1060-1066.
36. E. K. Bekedam, E. Roos, H. A. Schols, M. A. J. S. Van Boekel, G. Smit, Low Molecular Weight Melanoidins in Coffee Brew. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 4060-4067.
37. M. Yang, L. Ding, P. Wang, Y. Wu, C. Areprasert, M. Wang, X. Chen, F. Wang, G. Yu, Formation of melanoidins and development of characterization techniques during thermal pretreatment of organic solid waste: A critical review. *ScienceDirect* **2023**, *334*, 126790.
38. O. R. Portillo, A. C. Arévalo, Coffee's Melanoidins. A critical review of contemporary scientific literature. *Bionatura*. **2022**, *7*, 4.
39. A. S. P. Moreira, F. M. Nunes, M. Rosário Dominguesa, M. A. Coimbra, Coffee melanoidins: structures, mechanisms of formation and potential health impacts. *Food & Funct.* **2012**, *9*, 903-915.

40. A. H. Terpstra, M. Katan, M. P. Weusten–van der Wouw, B. de Roos, A. C. Beynen, The hypercholesterolemic effect of cafestol in coffee oil in gerbils and rats. *J. Nutr. Biochem.* **2000**, *11*, 311-317.
41. L. Gobbi, L. Maddaloni, S. A. Prencipe, G. Vinci, Bioactive Compounds in Different Coffee Beverages for Quality and Sustainability Assessment. *Beverages.* **2023**, *9*, Str. 3.
42. D. L. Costill, G. P. Dalsky, W. J. Fink, Effects of caffeine ingestion on metabolism and exercise performance. *Med. Sci. Sports.* **1978**, *10*, 155-158.
43. E. Hogervorst, S. Bandelow, J. Schmitt, R. Jentjens, M. Oliveira, J. Allgrove, T. Carter, M. Gleeson, Caffeine Improves Physical and Cognitive Performance during Exhaustive Exercise. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2008**, *40*, 1841-1851.
44. L. A. Horrigan, J. P. Kelly, T. J. Connor, Immunomodulatory effects of caffeine: Friend or foe? *Pharmacol. Ther.* **2006**, *111*, 877-892.
45. K. Nieber, The Impact of Coffee on Health. *Planta Medica.* **2017**, *83*, 1256-1263.
46. H. Shin, H. Satsu, M.–J. Bae, M. Totsuka, M. Shimizu, Catechol Groups Enable Reactive Oxygen Species Scavenging–Mediated Suppression of PKD–NFkappaB–IL–8 Signaling Pathway by Chlorogenic and Caffeic Acids in Human Intestinal Cells. *Nutrients.* **2017**, *9*, 165.
47. B. B. Gokcen i N. Sanlier, Coffee Consumption and Disease Correlations. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2017**, 1-13.
48. A. E. Van Dijk, M. R. Olthof, J. C. Meeuse, E. Seebus, R. J. Heine, R. M. Van Dam. Acute Effects of Decaffeinated Coffee and the Major Coffee Components Chlorogenic Acid and Trigonelline on Glucose Tolerance. *Diabetes Care.* **2009**, *32*, 1023-1025.
49. T. Y. Kang, H. R. Yang, J. Zhang, D. Li, J. Lin, L. Wang, X. Xu, The studies of chlorogenic acid antitumor mechanism by gene chip detection: the immune pathway gene expression. *J. Anal. Methods Chem.* **2013**, 1-7.
50. J. Han, Y. Miyamae, H. Shigemori, H. Isoda, Neuroprotective Effect Of 3,5–Di–O–Caffeoylquinic Acid On SH–SY5Y Cells And Senescence–Accelerated–Prone Mice 8 Through The Up–Regulation Of Phosphoglycerate Kinase–1. *Neuroscience*, **2010**, *169*, 1039-1045.
51. S. A. Hamadi, Effect of trigonelline and ethanol extract of Iraqi Fenugreek seeds on oxidative stress in alloxan diabetic rabbits. *J. Assoc. Arab Univ. Basic Appl. Sci.* **2012**, *12*, 23-26.
52. R. Farias–Pereira, C.–S. Park, Y. Park, Mechanisms of action of coffee bioactive components on lipid metabolism. *Food Sci. Biotechnol.* **2019**, 1-10.

53. S. Panda, S. Biswas, A. Kar, Trigonelline isolated from fenugreek seed protects against isoproterenol-induced myocardial injury through down-regulation of Hsp27 and  $\alpha$ B-crystallin. *Nutrition*. **2013**, *29*, 1395-1403.
54. C. Cárdenas, A. R. Quesada, M. A. Medina, Anti-Angiogenic and Anti-Inflammatory Properties of Kahweol, a Coffee Diterpene. *PLoS ONE*. **2011**, *6*, 1-9.
55. Y. P. Hwang, H. G. Jeong, The coffee diterpene oxygenase-1 via the PI3K and p38/Nrf2 pathway to protect human dopaminergic neurons from 6-hydroxydopamine-derived oxidative stress. *FEBS Lett*. **2008**, *582*, 2655-2662.
56. R. V. Abreu, E. M. Silva-Oliveira, M. F. D. Moraes, G. S. Pereira, T. Moraes-Santos, Chronic coffee and caffeine ingestion effects on the cognitive function and antioxidant system of rat brains. *Pharm. Biochem. Behav*. **2011**, *99*, 659-664.
57. G. W. Arendash, W. Schleif, K. Rezai-Zadeh, E. K. Jackson, L. C. Zacharia, J. R. Cracchiolo, D. Shippey, J. Tan, Caffeine Protects Alzheimer's Mice Against Cognitive Impairment And Reduces Brain  $\beta$ -Amyloid Production. *Neuroscience*. **2006**, *142*, 941-952.
58. H. Yang, J. Rouse, L. Lukes, M. Lancaster, T. Veenstra, M. Zhou, Y. Shi, Y.-G. Park, K. Hunter, Caffeine suppresses metastasis in a transgenic mouse model: a prototype molecule for prophylaxis of metastasis. *Clin. Exp. Metastasis*. **2004**, *21*, 719-735.
59. S. A. Ibrahim, M. M. Salameh, S. Phetsomphou, H. Yang, C. W. Seo, Application of caffeine, 1,3,7-trimethylxanthine, to control *Escherichia coli* O157:H7. *Food Chem*. **2006**, *99*, 645-650.
60. A. Ascherio, S. M. Zhang, M. A. Hernán, I. Kawachi, G. A. Colditz, F. E. Speizer, W. C. Willett, Prospective Study of Caffeine Consumption and Risk of Parkinson's Disease in Men and Women. *Ann. Neurol*. **2001**, *50*, 56-63.
61. R. C. Gliottoni, J. R. Meyers, S. Á. Arngrímsson, S. P. Broglio, R. W. Motl, Effect of Caffeine on Quadriceps Muscle Pain During Acute Cycling Exercise in Low Versus High Caffeine Consumers. *Int. J. Sport. Nutr. Exerc. Metab*. **2009**, *19*, 150-161.
62. A. A. Modi, J. J. Field, Y. Park, D. E. Kleiner, J. E. Everhart, T. J. Liang, J. H. Hoofnagle, Increased Caffeine Consumption Is Associated with Reduced Hepatic Fibrosis. *Hepatology*. **2010**, *51*, 201-209.
63. R. P. Gelber, H. Petrovitch, K. H. Masaki, G. Webster Ross, L. R. White, Coffee Intake in Midlife and Risk of Dementia and its Neuropathologic Correlates. *J. Alzheimers Dis*. **2011**, *23*, 607-615.
64. K. Kozuma, S. Tsuchiya, J. Kohori, T. Hase, I. Tokimitsu, Antihypertensive Effect of Green Coffee Bean Extract on Mildly Hypertensive Subjects. *Hypertens. Res*. **2005**, *28*, 711-718.

65. B. K. Bassoli, P. Cassolla, G. R. Borba–Murad, J. Constantin, C. L. Salgueiro–Pagadigorria, R. B. Bazotte, R. S. Ferreira da Silva, H. M. de Souza, Chlorogenic acid reduces the plasma glucose peak in the oral glucose tolerance test: effects on hepatic glucose release and glycaemia. *Cell Biochem. Funct.* **2008**, *26*, 320-328.
66. D. Cheng, X. Zhang, J. Tang, Y. Kong, X. Wang, S. Wang, Chlorogenic acid protects against aluminum toxicity via MAPK/Akt signaling pathway in murine RAW264.7 macrophages. *J. Inorg. Chem.* **2019**, *190*, 113-120.
67. M. Wei, Z. Zheng, L. Shi, Y. Jin, L. Ji, Natural Polyphenol Chlorogenic Acid Protects Against Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity by Activating ERK/Nrf2 Antioxidative Pathway. *Toxicol. Sci.* **2018**, *162*, 99-112.
68. T. Toprak, C. A. Sekerci, H. R. Aydın, M. A. Ramazanoglu, F. D. Arslan, B. I. Basok, H. Kucuk, H. Kocakgol, H. Z. Aksoy, S. S. Asci, Y. Tanıdır, Protective effect of chlorogenic acid on renal ischemia/reperfusion injury in rats. *Arch. Ital. Urol. Androl.* **2020**, *92*, 153-157.
69. M. Kato, R. Ochiai, K. Kozuma, H. Sato, Y. Katsuragi, Effect of Chlorogenic Acid Intake on Cognitive Function in the Elderly: A Pilot Study. *Evid. Based Complement Alternat. Med.* **2018**, *2018*, 8608497.
70. O. Yoshinari, H. Sato, K. Igarashi, Anti–Diabetic Effects of Pumpkin and Its Components, Trigonelline and Nicotinic Acid, on Goto–Kakizaki Rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2009**, *73*, 1033-1041.
71. B. N. Hong, T. H. Yi, R. Park, S. Y. Kim, T. H. Kang, Coffee improves auditory neuropathy in diabetic mice. *Neurosci. Lett.* **2008**, *441*, 302-306.
72. C. Tohda, N. Nakamura, K. Komatsu, M. Hattori, Trigonelline-Induced Neurite Outgrowth in Human Neuroblastoma SK-N-SH Cells. *Biol. Pharm. Bull.* **1999**, *22*, 679-682.
73. C. Delgado–Andrade, J. A. Rufián–Henares, F. J. Morales, Assessing the antioxidant activity of melanoidins from coffee brews by different antioxidant methods. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 7835-7836.
74. R. C. Borrelli, A. Visconti, C. Mennella, M. Anese, V. Fogliano, Chemical Characterization and Antioxidant Properties of Coffee Melanoidins. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 6527-6533.
75. P. Vitaglione, F. Morisco, G. Mazzone, D. C. Amoruso, M. T. Ribocco, A. Romano, V. Fogliano, N. Caporaso, G. D'Argenio, Coffee reduces liver damage in a rat model of steatohepatitis: The underlying mechanisms and the role of polyphenols and melanoidins. *Hepatology.* **2010**, *52*, 1652-1661.

76. M. Stauder, A. Papetti, D. Mascherpa, A. M. Schito, G. Gazzani, C. Pruzzo, M. Daglia, Antiadhesion and Antibiofilm Activities of High Molecular Weight Coffee Components against *Streptococcus mutans*. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 11662-11666.
77. S. Pastoriza, J. A. Rufián–Henares, F. J. Morales, Reactivity of acrylamide with coffee melanoidins in model systems. *LWT* **2012**, *45*, 198-203.
78. B. De Roos, A. Van Tol, R. Urgert, L. M. Scheek, T. Van Gent, R. Buytenhek, H. M. G. Princen, M. B. Katan, Consumption of French–press coffee raises cholesteryl ester transfer protein activity levels before LDL cholesterol in normolipidaemic subjects. *J. Intern. Med.* **2000**, *248*, 211-216.
79. NIH, National Library of medicine. Drinking Coffee, Mate and Very Hot Beverages. 3. Cancer in Experimental Animals. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK543950/> (20. 8. 2024.)
80. R. A. Popat, S. K. Van Den Eeden, C. M. Tanner, F. Kamel, D. M. Umbach, K. Marder, R. Mayeux, B. Ritz, G. W. Ross, H. Petrovitch, B. Topol, V. McGuire, S. Costello, A. D. Manthripragada, A. Southwick, R. M. Myers, L. M. Nelson, Coffee, ADORA2A, and CYP1A2: the caffeine connection in Parkinson's disease. *Eur. J. Neurol.* **2011**, *18*, 756-765.
81. M. A. Heckman, J. Weil, E. Gonzalez De Mejia, Caffeine (1, 3, 7–trimethylxanthine) in Foods: A Comprehensive Review on Consumption, Functionality, Safety, and Regulatory Matters. *J. Food Sci.* **2010**, *75*, 77-87.
82. A. C. Moffat, M. D. Osselton, B. Widdop, L. Y. Galichet, Clarke's analysis of drugs and poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material. 3. izdanje. London: Pharmaceutical Press, **2004**. Str. 736-738.
83. A. Stalmach, G. Williamson, A. Crozier, Impact of dose on the bioavailability of coffee chlorogenic acids in humans. *Food Funct.* **2014**, *5*, 1727-1737.
84. A. Stalmach, W. Mullen, D. Barron, K. Uchida, T. Yokota, C. Cavin, H. Steiling, G. Williamson, A. Crozier, Metabolite Profiling of Hydroxycinnamate Derivatives in Plasma and Urine after the Ingestion of Coffee by Humans: Identification of Biomarkers of Coffee Consumption. *Drug. Metab. Dispos.* **2009**, *37*, 1749-1758.
85. S. Yuyama, T. Suzuki, The excretion of N1-methyl-2-pyridone-5-carboxylic acid and related compounds in human subjects after oral administration of nicotinic acid, trigonelline and N1-methyl-2-pyridone-5-carboxylic acid. *Adv. Exp. Med. Biol.* **1991**, *294*, 475-479.
86. V. Faist, H. F. Erbersdobler, Metabolic transit and in vivo effects of melanoidins and precursor compounds deriving from the Maillard reaction. *Ann. Nutr. Metab.* **2001**, *45*, 1-12.

87. B. De Roos, S. Meyboom, T. G. Kosmeijer–Schuil, M. B. Katan, Absorption and urinary excretion of the coffee diterpenes cafestol and kahweol in healthy ileostomy volunteers. *J. Intern. Med.* **1998**, *244*, 451-460.
88. J. H. Baek, N. J. Kim, J. K. Song, K. H. Chun, Kahweol inhibits lipid accumulation and induces Glucose–uptake through activation of AMP–activated protein kinase (AMPK). *BMB Rep.* **2017**, *50*, 566-571.
89. F. Burdan, Pharmacology of Caffeine. // Coffee in Health and Disease Prevention / Academic Press, Elsevier, **2015**, Str. 823-829.
90. L. M. Juliano, E. D. Huntley, P. T. Harrell, A. T. Westerman, Development of the Caffeine Withdrawal Symptom Questionnaire: Caffeine withdrawal symptoms cluster into 7 factors. *Drug Alcohol Depend.* **2012**, *124*, 229-234.
91. E. W. Schafer Jr., W. A. Bowles Jr. J. Hurlbut, The acute oral toxicity, repellency, and hazard potential of 998 chemicals to one or more species of wild and domestic birds. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **1983**, *12*, 355-382.
92. K. Venkatakrishna, H. V. Sudeep, K. Shyamprasad, Acute and sub–chronic toxicity evaluation of a standardized green coffee bean extract (CGA–7™) in Wistar albino rats. *SAGE Open Med.* **2021**, *9*, 1-12.
93. Trigonelline [535-83-1] Review of Toxicological Literature. URL: [https://ntp.niehs.nih.gov/sites/default/files/ntp/htdocs/chem\\_background/exsumpdf/trigonelline\\_508.pdf](https://ntp.niehs.nih.gov/sites/default/files/ntp/htdocs/chem_background/exsumpdf/trigonelline_508.pdf) (30. 8. 2024.)
94. V. A. Fung, T. P. Cameron, T. J. Hughes, P. E. Kirby, V. C. Dunkel, Mutagenic activity of some coffee flavor ingredients. *Mutat. Res.* **1988**, *204*, 219-228.
95. X. Wu, K. Skog, M. Jägerstad, Trigonelline, a naturally occurring constituent of green coffee beans behind the mutagenic activity of roasted coffee? *Mutat. Res.* **1997**, *391*, 171-177.
96. J. L. S. Taylor, J. C. R. Demyttenaere, K. Abbaspour Tehrani, C. Arribas Olave, L. Regniers, L. Verschaeve, A. Maes, E. E. Elgorashi, J. van Staden, N. de Kimpe, Genotoxicity of Melanoidin Fractions Derived from a Standard Glucose/Glycine Mode. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 318-323.
97. Cafestol [CASRN 469-83-0] And Kahweol [CASRN 6894-43-5] Review of Toxicological Literature. URL: [https://ntp.niehs.nih.gov/sites/default/files/ntp/htdocs/chem\\_background/exsumpdf/cafestol\\_508.pdf](https://ntp.niehs.nih.gov/sites/default/files/ntp/htdocs/chem_background/exsumpdf/cafestol_508.pdf) (30. 8. 2024.)

## 5. PRILOG

### 5.1. Popis kratica

16-OMC	16- <i>O</i> -metilkafestol (engl. <i>16-O-methylcafestol</i> )
ABR	slušni odgovori moždanog debla (engl. <i>auditory brainstem response</i> )
ABTS	2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina) (engl. <i>2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)</i> )
Akt	protein kinaza B (engl. <i>protein kinase B</i> )
AMPK	adenozin 5'-monofosfat-aktivirana proteinska kinaza (engl. <i>adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase</i> )
APAP	acetaminofen (engl. <i>acetaminophen</i> )
A $\beta$	amiloid- $\beta$ protein
CA	kavena kiselina (engl. <i>caffeic acid</i> )
CETP	transfer protein kolesterilester (engl. <i>cholesteryl ester transfer protein</i> )
CFU/mL	populacije jedinica koje formiraju kolonije u mililitru (engl. <i>colony-forming units/milliliters</i> )
CGA	klorogena kiselina (engl. <i>chlorogenic acid</i> )
COX-2	ciklooksigenaza-2 (engl. <i>cyclooxygenase-2</i> )
CYP1A2	citokrom P450 1A2 (engl. <i>cytochrome P450 1A2</i> )
DMPD	<i>N,N</i> -dimetil- <i>p</i> -fenilendiamin dihidroklorid (engl. <i>N,N-Dimethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride</i> )
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (engl. <i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i> )
EGTI	histopatološka promjena u bubrežima (engl. <i>enhanced glomerular tubular injury</i> )
ERK1/2	ekstracelularno regulirane protein kinaze 1/2 (engl. <i>extracellular regulated protein kinases 1/2</i> )
FRAP	antioksidacijska moć reduciranja željeza (engl. <i>ferric reducing antioxidant power</i> )
GPx	glutation peroksidaza (engl. <i>glutathione peroxidase</i> )
GR	glutation reduktaza (engl. <i>glutathione reductase</i> )
GSH	glutation (engl. <i>glutathione</i> )
HDL	lipoproteini visoke gustoće (engl. <i>high-density lipoproteins</i> )

HFD	visokomasna, visokokalorična prehrana (engl. <i>high-fat diet</i> )
HMWM	melanoidini visoke molekularne mase (engl. <i>high molecular weight melanoidin</i> )
HO-1	hem-oksigenaza 1 (engl. <i>heme-oxygenase 1</i> )
I/R	ishemija/reperfuzija (engl. <i>ischemia/reperfusion</i> )
IFN- $\gamma$	interferon- $\gamma$ (engl. <i>interferon-<math>\gamma</math></i> )
IKK	I $\kappa$ B kinaza (engl. <i>IkappaB kinase</i> )
ISO	izoproterenol (engl. <i>isoproterenol</i> )
JAK2	Janus kinaza 2 (engl. <i>Janus kinase 2</i> )
LCAT	lecitin kolesterol aciltransferaza (engl. <i>lecithin cholesterol acyltransferase</i> )
LD <sub>50</sub>	središnja letalna doza (engl. <i>median lethal dose</i> )
LDL	lipoproteini male gustoće (engl. <i>low-density lipoproteins</i> )
MALDI-TOF	engl. <i>Matrix-assisted laser desorption/ionization</i>
MCP-1	monocitni kemotaktični protein 1 (engl. <i>monocyte chemotactic protein-1</i> )
MDA	malondialdehid
MMP-2	metaloproteinaza matriksa 2 (engl. <i>matrix metalloproteinase 2</i> )
MTT	(3-4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolijev bromid test (engl. (3-4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay)
N <sup>1</sup> -MPCA	N <sup>1</sup> -metil-2-piridon-5-karboksilne kiseline (engl. <i>N<sup>1</sup>-methyl-2-pyridone-5-carboxylic acid</i> )
NF- $\kappa$ B	nuklearni faktor kappa B (engl. <i>nuclear factor <math>\kappa</math> B</i> )
Nrf2	nuklearni eritriodni faktor 2 (engl. <i>nuclear factor erythroid 2-related factor 2</i> )
OGTT	oralni test tolerancije na glukozu (engl. <i>oral glucose tolerance test</i> )
ORAC	spособnost apsorpcije kisikovih radikala (engl. <i>oxygen radical absorbance capacity</i> )
OSI	indeks oksidacijskog stresa (engl. <i>oxidative stress index</i> )
p38	p38 mitogen-aktivirana proteinska kinaza (engl. <i>p38 mitogen-activated protein kinase</i> )
PAL	fenilalanin amonijak-liaza (engl. <i>phenylalanine ammonia-lyase</i> )
PEP	fosfoenolpiruvat (engl. <i>phosphoenolpyruvate</i> )
PI3K	fosfatidilinozitol 3-kinaza (engl. <i>phosphatidylinositol 3-kinase</i> )



PKD	protein kinaza D (engl. <i>protein kinase D</i> )
PLTP	fosfolipidni transfer protein (engl. <i>phospholipid transfer protein</i> )
ROS	reaktivne kisikove vrste (engl. <i>reactive oxygen species</i> )
SAH	S-adenozil-L-homocistein (engl. <i>S-adenosyl-L-homocysteine</i> )
SAM	S-adenozil-L-metionin (engl. <i>S-adenosyl-L-methionine</i> )
SOD	superoksid dismutaza (engl. <i>superoxide dismutase</i> )
T2EX	testiranje do iscrpljenosti (engl. <i>time to exhaustion</i> )
TAS	ukupni antioksidacijski status (engl. <i>total antioxidant status</i> )
TNF- $\alpha$	faktor nekroze tumora alfa (engl. <i>tumor necrosis factor <math>\alpha</math></i> )
TOS	ukupni oksidacijski status (engl. <i>total oxidant status</i> )
TRG	trigonelin (engl. <i>trigonelline</i> )
uPA	urokinazni tip aktivatora plazminogena (engl. <i>urokinase-type plasminogen activator</i> )
VO <sub>2</sub> max	maksimalno iskorištenje kisika (engl. <i>maximal oxygen consumption</i> )