

Биоактивные вещества в стеблях кактуса (*Opuntia ficus-indica*) обладают мощным антиоксидантным и проапоптозным эффектом благодаря ингибированию ЦОГ-2

Jinhee Kim,^a Soon Yil Soh,^b Juha Shin,^b Chi-Woung Cho,^{a,b} Young Hee Choic* and Sang-Yong Nama,b*

АНОТАЦИЯ:

Предпосылки: Биоактивные вещества, извлеченные из стеблей кактуса (*Opuntia ficus-indica*), были исследованы на предмет их химиопрофилактикой активности с использованием раковых клеток человека *in vitro*.

Биоактивные вещества, присутствующие в сырых экстрактах, были обнаружены и количественно определены с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии.

РЕЗУЛЬТАТЫ: Среди всех экстрактов, таких как гексан, этилацетат (EtOAc), ацетон, метанол (MeOH) и MeOH: вода (80:20), экстракт MeOH имел наибольшее количество полифенольных соединений, а экстракт ацетона показал наиболее сильное действие при поглощении 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразила (DPPH) и 2,2'-азино-ди-(3-этилбензотиазолин) -6-сульфоной кислоты (ABTS • +) радикальный. Кроме того, большинство экстрактов, за исключением гексана, проявляли значительную цитотоксичность к раковым клеткам толстой кишки человека SW480 и раковым клеткам молочной железы MCF7. В целом раковые клетки SW480 были более чувствительны, чем клетки MCF7, к цитотоксическому эффекту экстрактов *O. ficus-indica* (OFE). Гибель клеток в результате обработки OFE вызвала значительное ингибирование циклооксигеназы-2 и увеличила отношение Bax / Bcl2 в клеточных линиях SW480 и MCF7. Однако деградация поли (АДФ-рибоза) полимеразы была значительно ниже, увеличивается под действием OFE только в клетках MCF7, тем самым вызывая апоптоз.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Эти результаты демонстрируют полезную для здоровья роль, включая антиоксидантную и антипролиферативную активность, а также проапоптотические эффекты биоактивных соединений в OFE, что указывает на химиопрофилактическую роль в раковых клетках человека.

© 2014 Общество химической промышленности

Ключевые слова: экстракты стеблей кактусов; биоактивные вещества; активность по нейтрализации радикалов; цитотоксичность; химиопрофилактика.

ВВЕДЕНИЕ

По данным Всемирной организации здравоохранения, в 2012 году рак легких, груди занимает второе место среди причин смерти, и коллоатеральный рак считается наиболее распространенными.

Рекомендации, направленные на профилактику рака предполагают фруктовую и овощную диета, которые могут обеспечить употребление разнообразия биоактивных соединений. Было показано, что эти природные биоактивные вещества могут оказывать благоприятное действие на течение сердечно-сосудистых заболеваний,

нейродегенеративные заболевания и профилактику различных типов рака.

По этой же причине прилагается много усилий в исследованиях биоактивных соединений что бы лучше понять как эти соединения, связаны с регуляцией клеточного ответа на заболевания человека.

Opuntia ficus-indica (L.) Mill., или кактус опунции, пришел к нам из центральной Мексики и стал достоянием во всем мире по своему составу химически-активных веществ. На данный момент *O. ficus-indica* выращивают во всем мире не только из-за его разнообразного использования в питании, но и также в медицине. Первая документация лечебных свойствах *O. ficus-indica* написана в 1552 г., а позже появились накопленные экспериментальные данные, свидетельствующие о том, что OFE снижает холестерин за счет снижения ЛПНП, оказывает благоприятное действие на течение диабета, и снижает явление гепато-токсичности *in vivo*.

Дополнительные исследования подтвердили его противовоспалительное, противоопухолевое, антиоксидантное и противовоспалительное действие. Подтвержден ейропротекторный эффект *in vitro* и *in vivo*.

Несмотря на эти многочисленные исследования, механизм цитотоксичности биоактивные вещества *O. ficus-indica* в клеточных линиях рака толстой кишки и молочной железы остаются неясными.

В настоящем исследовании мы оценили фитохимический профиль флавоноидов и общее содержание фенольных соединений, а также антиоксидантный эффект при использовании экстрактов *O. ficus-indica* (OFE). К тому же, биоактивные вещества, присутствующие в различных OFE, были проверены на их цитотоксичность против клеток рака толстой кишки и молочной железы. Исследование цитотоксического эффекта OFE проходило *in vitro*. Исследования проведены благодаря сотрудничеству:

* Санг-Йонг Нам, Департамент садоводства, Сахмёк Университет, Сеул, 139–742, Республика Корея, и ЯнгХи Чой, факультет патологии, больница Dongtan SacredHeart, университет Халлим, Кёнгидо, Республика Корея. Электронная почта: pamsy@syu.ac.kr и yhchoi@hallym.or.kr.

* Кафедра садоводства, Университет Сахмёк, Сеул 139 - 742, Республика Корея.

* Департамент экологического садоводства, Университет Сахмёк, Сеул 139-742, Республика Корея.

* Научно-исследовательский институт дополнительной и альтернативной медицины, Колледж Медицины, Университет Халлим и кафедра патологии, Dongtan Sacred Больница сердца, Университет Халлим, Кёнгидо, Республика Корея.

* *J Sci Food Agric* (2014) www.soci.org © 2014 Общество химической промышленности.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Химические реагенты:

Все растворители / реагенты были аналитическими и высокоэффективными для жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) (Duksan Co., Сеул, Корея).

Химические вещества, такие как 1,1-дифенил-2-пикрилгидразил (DPPH), 2,2'-азино-ди-(3-этилбензо-тиазолин) -6-сульфоновая кислота (ABTS • +), Folin-реагент Чокальтеу, галловая кислота и 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил) -2,5-бромид дифенилтетразолия (МТТ) был приобретен у Sigma (Сент-Луис, Миссури, США). Все реагенты для клеточных культур, включая реагенты Дульбекко модифицированная среда Игла (DMEM), фетальная бычья сыворотка, трипсин-ЭДТА и антибиотики были получены от Nucleon (Логан, Юта, США).

Экстрагирование:

Стебли *O. ficus-indica* были предоставлены Исследовательским центром Организация корейских кактусов (Кенги-до, Республика Корея).

Высушенные и измельченные стебли *O. ficus-indica* (400 г) смешивали с 1 л гексана и мешали при 150 об / мин в течение ночи. Смесь была пропущена через фильтровальную бумагу Whatman № 3. Затем остаток был последовательно экстрагирован растворителями с последующими возрастанием полярности. Последующая экстракция была выполнена с использованием оставшегося остатка с 400 мл этилацетат (EtOAc), ацетон, метанол (MeOH) и MeOH: вода (80:20) соответственно. Все экстракты конденсировали с помощью роторного испарителя и затем сушили вымораживанием.

Количественное определение общих фенолов и флавоноидов:

Все образцы (экстракты) содержали ацетон или MeOH и были профильтрованы через фильтры 0,45 мкм (Millipore, Bedford, MA, USA) для последующего определения содержания фенола, либо инъекция ВЭЖХ. Общий фенольный состав экстрактов определяли количественно с помощью Folin – Ciocalteu реагента.

Флавоноиды в различных экстрактах из стеблей *O. ficus-indica* анализировали с использованием системы ВЭЖХ Ultimate 3000 (Dionex, Идштайн, Германия), состоящий из обращенно-фазового преобразователя Agilent SB-C18 колонка (4,6 × 150 нм, размер частиц 5 мкм) и расход 0,8 мл / мин. Хроматографическое разделение проводилось при градиент подвижной фазе (1) 0,3% трифторуксусной кислоты; и (2) ацетонитрила при следующих условиях: 20–60% в течение 0–25 мин,

100% в течение 26–30 минут и 20% в течение 31–35 минут. Три независимых эксперимента проводили в трех повторениях.

Определение антиоксидантной активности:

Для измерения активности удаления радикалов экстрактами стеблей *O. ficus-indica* использовали два популярных колориметрических теста, ABTS и DPPH. Вкратце, все экстракты растворяли либо в ацетоне, либо в MeOH (5 мг/л). Гексан, EtOAc и ацетон экстракты растворимы в ацетоне; а MeOH и MeOH: вода (80:20) экстракты растворяли в MeOH после нагревания в течение 5 мин при 95 °C. Растворы экстрактов 20 мкл (эквивалент 417 мкг / л) и галловую кислоту в качестве положительного контроля добавляли в 96-луночную пластину. 200 мкл либо сгенерированного ABTS, либо DPPH раствора было добавлено к образцам. Кинетика распада радикалов ABTS и DPPH контролировались каждые 3 минуты в течение 33 минут на ридере FLUOstar Optimamicroplate (поглощение 517 нм и 734 нм соответственно).ог

Линии клеток человека и условия культивирования:

Клеточная линия SW480 (также называемая CCL-228), полученная при биопсии человека с аденокарциномой толстой кишки и линия клеток MCF7 (также называемая H7B-22) полученные при биопсии человека с аденокарциномой груди человека, были ранее приобретены в Корейском банке клеточных линий (Сеул, Южная Корея). Обе клеточные линии поддерживались в среде DMEM с добавлением 10% сыворотки эмбриона крупного рогатого скота, 100 Ед / мл пенициллина и 100 мкг / мл стрептомицина. Клетки хранились при температуре 37°C во влажной среде, содержащей 5% CO₂ что позволили достичь взаимодействия. Сушеные экстракты для эксперимента растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО); таким образом, контрольные клетки (в качестве средств контроля) были подвергнуты подходящей концентрации ДМСО (<0,2%).

Анализ пролиферации МТТ:

Цитотоксичность экстрактов измеряли с помощью теста МТТ, как описано.

Вкратце, клетки (1 × 10⁴ клеток на лунку) высевали в 96-луночный планшет и оставляли на ночь. Средства были удалены и инкубировали со свежей средой, включая ДМСО или различные концентрации экстрактов, за 24 и 48 ч.

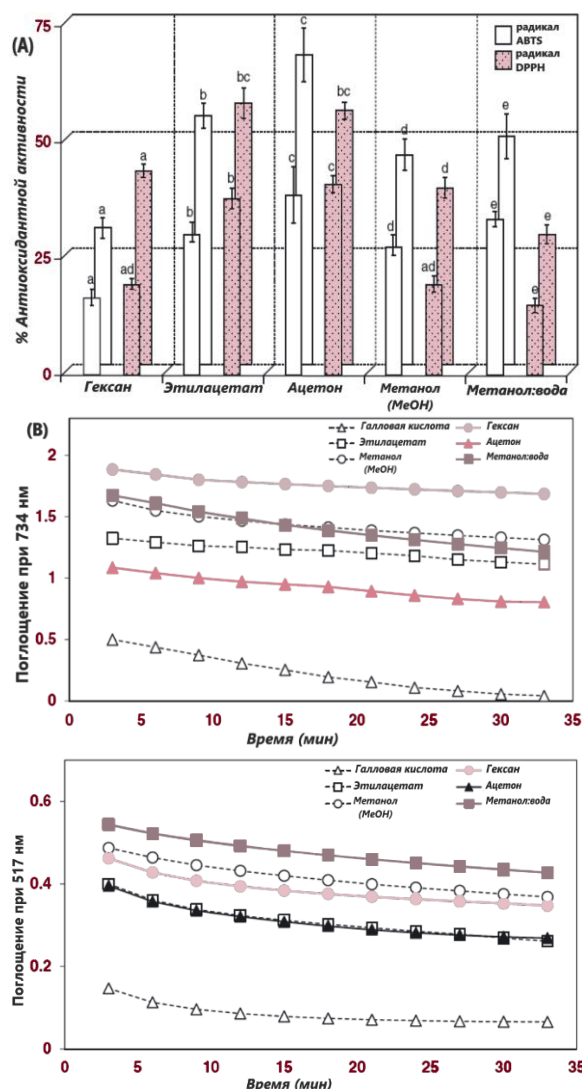


Рисунок 1. Экстракты стеблей *Opuntia ficus-indica* по удалению радикалов.

(A) Активность радикального тушения ABTS•+ и DPPH и ее сравнение с использованием экстрактов различных растворителей при 208 мкгмл⁻¹ (передние полосы) и 417 мкгмл⁻¹ (задние полосы). По кинетическим изменениям радикалов (B) ABTS•+ и (C) DPPH проводился мониторинг каждые 3 мин. Погрешностей на кинетических кривых не было видно.

Данные выражены в виде среднего ± SEM. Различные буквы обозначают важные различия при P < 0,05 (n = 9).

После соответствующей инкубационного периода, клетки обрабатывали МТТ (5 м/л в фосфатно-солевом буфере) в течение 2 ч в инкубаторе при 37°C. Двести микролитров ДМСО добавляли для растворения пурпурного формазана и измеряли с помощью ридера для микропланшетов ELISA (BioTek Instruments, Winooski, VT, USA) на длине волны 570 нм. IC₅₀

рассчитывали с использованием GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software Inc., Сан-Диего, Калифорния, США).

Таблица 1. Общий фенольный и флавоноидный состав экстрактов *Opuntia ficus-indica*

Экстракт	Флавоноиды			Общий (мг / л)	Общие фенольные соединения (мг GAE g-1 экстракта)
	Таксифолин	Рутин	Кверцетин		
Гексан	–	–	–	–	2.47 ± 0.1 ^a
Этилацетат	2.2 ± 0.1	–	1.1 ± 0.1	3.3 ± 0.1	2.58 ± 0.0 ^b
Ацетон	15.4 ± 0.4	–	4.9 ± 0.1	20.3 ± 0.3	2.83 ± 0.1 ^c
Метанол	19.0 ± 0.3	53.7 ± 0.9	–	72.7 ± 0.8	2.87 ± 0.1 ^c
Метанол:вода	9.2 ± 0.2	23.5 ± 0.4	–	32.7 ± 0.6	2.82 ± 0.1 ^c

Различные строчные буквы верхнего индекса в столбце указывают на значимые различия при P < 0,05 (среднее ± стандартное отклонение). GAE, эквиваленты галловой кислоты.

Иммуноблоттинг:

Клетки лизировали в буфере для анализа радиоиммунопреципитации, содержащие коктейль ингибиторов протеазы, и лизаты были подвержены иммуноблоттингу. Следующими были использованы антитела: мышинные анти-Вах, мышинные анти-Bcl2, мышинные-антицикло-оксигеназа-2 (ЦОГ-2) и мышь-анти-β-актин от Santa Cruz Biotechnology (Санта-Крус, Калифорния, США); и кроличья-анти-поли (АДФ-рибоза) полимеразы (PARP) от Cell Signaling (Бeverly, Массачусетс, США). Визуализация белковых полос и денситометрический анализ были проведены Bio-Rad ChemiDoc, система визуализации XRS (Bio-Rad, Геркулес, Калифорния, США).

Анализ данных:

Данные были выражены как среднее значение ± стандартная ошибка среднего (SEM) минимум трех независимых экспериментов. Статистический анализ завершился односторонним дисперсионным анализом t-тест с использованием программы SPSS 16.0 (Чикаго, Иллинойс, США). P < 0,05 было считается статистически значимым.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Все большее количество научных отчетов показывает, что фитохимические вещества, присутствующие в *Opuntia* spp. оказывают влияние на профилактику различных онкологических заболеваний, однако идентификация точных биологически активных вещества *Opuntia* spp. и их механизм действия в качестве профилактики рака остается в до сих пор неизученными.

Чтобы проверить количество отдельных флавоноидов, пять разных аутентичные флавоноиды, а именно кемпферол, мирицетин, кверцетин, рутин и таксифолин использовали в качестве стандартов для количественного определения.

Наибольшее общее содержание флавоноидов было обнаружено в экстрактах MeOH (72,7 мг / л), затем MeOH: вода (80:20) (32,7 мг / л), ацетон (20,3

мг / л) и этилацетат (3,3 мг / л), но не был обнаружен в гексановых экстрактах (таблица 1).

Общее фенольное содержание OFE варьировалось от 2,47 мг GAE г⁻¹ до 2,87 мг GAE г⁻¹. Общие результаты по показали, что результаты по флавоноидам, по сравнению с полярными экстрактами содержат более высокие количества общих фенольных соединений, чем менее полярные экстракты, и аналогичные результаты были получены другими учеными, использующими перец и кусты креозота. Среди трех флавоноидов (кверцетин, рутин и таксифолин), рутин (59,8%) был основным флавоноидом, за которым следовали таксифолин (45,8%) и кверцетин (6%). Кемпферол или мирицетин не могут быть обнаружены в OFE (таблица 1). В исследовании Tesoriere и др., были обнаружены очень небольшие количества кемпферола, но рутин и кверцетин не были определены количественно в плодах *O. ficus-indica*.

Результаты показывают, что распределение отдельных флавоноидов варьируется и во многом зависит от части растения.

OFE дозависимо улавливает радикалы как ABTS^{•+}, так и DPPH. Как показано на рис. 1, ацетоновый экстракт показал самый высокий (66,3%) эффект улавливания радикалов (антиоксидантный эффект) ABTS^{•+}, затем этилацетат (53,3%), MeOH: вода (80:20) (49,1%), MeOH (44,9%) и гексан (29,2%). Напротив, в активности улавливания радикалов DPPH, экстракты ацетона и этилацетата имели общую максимальную активность (54,7% и 56,1% соответственно), тогда как MeOH: вода (80:20) проявил минимальную активность 28,0% при 417 мкг/мл-1. Хотя результат высшей антиоксидантной активности у этилацетата, по-видимому, противоречит количественному составу полифенолов (Таблица 1 и Рис. 1), наличие и вклад неполярных фитохимических веществ, таких как каротиноиды в сырых растениях экстракты как сильные поглотители радикалов должны быть реализованы. Предыдущие исследования

показали, что положение функциональной группы и картина гидроксирования фенольных соединений определяют антиоксидантную активность; поэтому проявление разной

активности по улавливанию радикалов в этих анализах соединениями не будет неожиданной.

Таблица 2. Цитотоксичность экстрактов *Opuntia ficus-indica* для раковых клеток толстой кишки (SW480) и молочной железы (MCF7)

Линия клеток	Время инкубации (ч)	IC ₅₀ (µg mL ⁻¹)				
		Гексан	Этилацетат	Ацетон	Метанол	Метанол:вода
SW480	24	>200	185.0 ± 7.1	>200	188.0 ± 7.6	>200
	48	>200	52.6 ± 1.2	>200	70.8 ± 1.4	179.8 ± 9.6
MCF7	24	>200	>200	>200	>200	>200
	48	>200	138.0 ± 8.3	96.6 ± 8.7	77.6 ± 7.4	78.1 ± 7.7

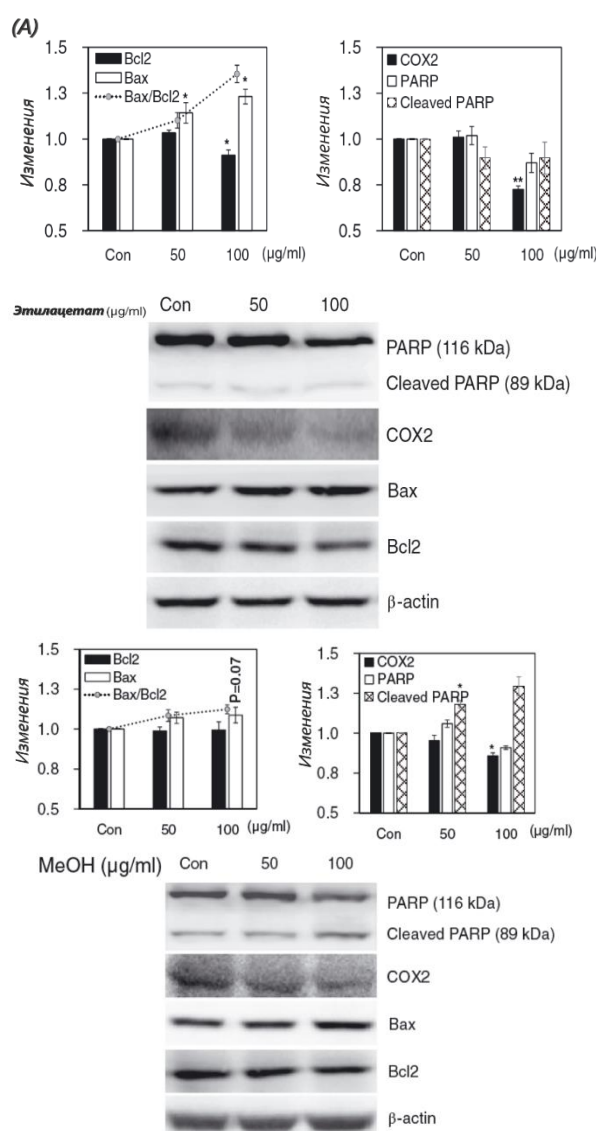


Рисунок 2. Эффект экстрактов ствола *Opuntia ficus-indica* на молекулы, регулирующие апоптоз, в раковых клетках толстой кишки (SW480) и молочной железы (MCF7) человека. В клетки инкубировали с экстрактами (A) этилацетата и (B) метанола (MeOH) при указанной концентрации в течение 48 часов. Уровни протеина были

детектируется иммуноблоттингом с указанными антителами. β-Актин использовался в качестве внутреннего контроля. Данные представляют собой среднее значение ± SEM трех независимых экспериментов (* P < 0,05, ** P < 0,01 по ANOVA).

Действительно, в наших результатах только экстракт этилацетата проявлял аналогичную активность по улавливанию радикалов ABTS•+ и DPPH.

Пониженная кинетическая кривая на рис. 1 представляет собой прямо пропорциональную дозу зависимую активность ингибирования радикалов. (B) Для оценки цитотоксичности различных OFE применяют колориметрический анализ с солью тетразолия, MTT использовался как для SW480, так и для клеточные линии MCF7 (таблица 2). Обработка OFE в течение 48 часов на SW480 клетки проявили самую высокую цитотоксичность (IC₅₀ = 52,6 мкг / мл) в Экстракте с этилацетатом; однако тот же экстракт показал самое низкое IC₅₀ значение ингибирования 138,0 мкг / мл в клетках MCF7. Экстракт MeOH был наиболее эффективен в клетках MCF7 с IC₅₀ 77,6 мкг / мл. В общем и целом, клетки SW480 были более чувствительны, чем клетки MCF7, к лечению OFE. Самая высокая цитотоксичность экстракта MeOH в SW480 можно объяснить количеством флавоноидов и общих фенолов (Таблица 1). С другой стороны, самый низкий цитотоксический эффект этилацетата в MCF7 может поддерживаться за счет активности по улавливанию радикалов OFE (рис. 1). Как предполагалось ранее, не только флавоноиды, но также и различные типы фитохимических веществ, такие как каротиноиды, содержатся в сырых экстрактах кактусов и могут быть биологически активными.

Было показано, что чувствительность противораковых агентов зависит от динамичности экспрессии генов и передачи сигналов по нервным волокнам; таким образом, исследования на определение конкретного механизма действия определенных биологически активных веществ не было проведено.

Изучен механизм цитотоксичности с помощью OFE. Иммуноблоттинг проводили с разными антителами, такими как Bax, Bcl2, ЦОГ-2 и PARP, которые известны как регуляторы апоптоза. На основании результатов цитотоксичности исследование механизма был выполнен для проверки активности этилацетата в отношении SW480 и MeOH по отношению к клеткам MCF7 (таблица 2). Что касается ячеек SW480, обработка клеток OFE (100 мкг / мл) индуцировала значительное повышенное соотношение Bax / Bcl2 (36%, $P < 0,05$) и ингибирование ЦОГ-2 (28%, $P < 0,01$), но не разложение PARP. Напротив, при определенных условиях MCF7 показал значительную деградацию PARP (29%, $P < 0,05$) в его расщепленной форме, а также ингибирование ЦОГ-2 (14%, $P < 0,05$) и немного увеличивающийся уровень Bax (10%, $P = 0,07$).

Апоптоз, или запрограммированная гибель клеток, является наиболее известным маркером цитотоксичности клеток, и в основном ускоряется за счет увеличения активности Bcl2 белков, включая антиапоптотические Bcl2 и Bcl-x1 и проапоптотические Bax, Bak и Bad. Результаты данного исследования ясно продемонстрировали увеличение активности Bax и подавление Bcl2 в обработанном этиленоксидом экстракте клеток SW480 (Рис. 2а). Несмотря на то, что обработанные экстрактом MeOH клетки MCF7 проявляли только повышение активности Bax (рис. 2б), это открытие также считается маркером индуцированного апоптоза, передающего сигнал каскад, поскольку повышенное соотношение Bax / Bcl2 влияет на апоптоз.

Учитывая увеличение отношения Bax / Bcl2 за счет OFE в обоих SW480 и клетки MCF7, мы дополнительно оценили результаты расщепление PARP. Как показано на рис. 2, обработка OFE значительно ускоряет деградацию PARP в клетках MCF7, тогда как клетки SW480 не пострадали. Результаты данного эксперимента доказывают факт, который описывали в более ранних исследованиях, которые показали, что PARP является неизбежным при апоптозе.

Было высказано предположение, что чрезмерная экспрессия ЦОГ-2 играет роль в протекании нескольких видов злокачественных новообразований, включая рак толстой кишки и груди. Эта зависимость была исследована путем извлечения биологически активных веществ из стволовых клеток и обработки клеток SW480 и MCF7 в течение 48 часов (рис. 2). Действительно, экспрессия ЦОГ-2 в клетках SW480 и MCF7 была значительно выше, и снижалась при обработке экстрактов с этилацетатом (28%, $P < 0,01$) и MeOH (14%, $P < 0,05$) экстрактов соответственно (рис. 2). Биоактивные вещества, присутствующие в *O. ficus-indica* могут действовать на воспалительный

процесс, включая апоптоз, посредством ингибирования экспрессии ЦОГ-2.

ВЫВОДЫ

Среди пяти различных экстрактов OFE экстракт MeOH показал наибольшее количество флавоноидов и общее содержание фенолов. В последствии, экстракт проявлял сильную цитотоксичность в отношении MCF7 клеток. Хотя экстракт этилацетата имеет низкое количество флавоноидов, а цитотоксический эффект, проявляемый в отношении клеток SW480, был значительно выше среди всех других экстрактов. Эти данные подтверждают профилактический эффект экстрактов стеблей *O. ficus-indica* для профилактики рака. Экстракты стеблей *O. ficus-indica* обладают антиоксидантной и антипролиферативной активностью и проявляют проапоптотические эффекты.

БЛАГОДАРНОСТИ:

Работа была частично поддержана грантом Университета Сахмёк и Корейским фондом Санхак (2012).

ССЫЛКИ И ЛИТЕРАТУРА:

- 1 WHO, Latest World Cancer Statistics. World Health Organization, Geneva (2013).
- 2 Key T, Fruit and vegetables and cancer risk. *Br J Cancer* 104:6–11 (2011).
- 3 Gullett NP, Ruhul AA, Bayraktar S, Pezzuto JM, Shin DM, Khuri FR, *et al.*, Cancer prevention with natural compounds. *Semin Oncol* 3:258–281 (2010).
- 4 Boeing H, Bechthold A, Bub A, Ellinger S, Haller D, Kroke A, *et al.*, Critical review: Vegetables and fruit in the prevention of chronic diseases. *Eur J Nutr* 51:637–663 (2012).
- 5 Griffith MP, The origins of an important cactus crop, *Opuntia ficus-indica* (Cactaceae): New molecular evidence. *Am J Bot* 91:1915–1921 (2004).
- 6 Ennouri M, Fetoui H, Bourret E, Zeghal N and Attia H, Evaluation of some biological parameters of *Opuntia ficus indica*. Influence of a seed oil supplemented diet on rats. *Bioresour Technol* 97:1382–1386 (2006).
- 7 Butterweck V, Semlin L, Feistel B, Pischel I, Bauer K and Verspohl EJ, Comparative evaluation of two different *Opuntia ficus-indica* extracts for blood sugar lowering effects in rats. *Phytother Res* 25:370–375 (2011).
- 8 Galati E, Mondello M, Lauriano E, Taviano M, Galluzzo M and Miceli N, *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. fruit juice protects liver from carbon tetrachloride-induced injury. *Phytother Res* 19:796–800 (2005).
- 9 Serra AT, Poejo J, Matias AA, Bronze MR and Duarte CM, Evaluation of *Opuntia* spp. derived products as antiproliferative agents in human colon cancer cell line (HT29). *Food Res Int* 54:892–901 (2013).

- 10** Butera D, Tesoriere L, Di Gaudio F, Bongiorno A, Allegra M, Pintaudi AM, *et al.*, Antioxidant activities of Sicilian prickly pear (*Opuntia ficus indica*) fruit extracts and reducing properties of its betalains: betanin and indicaxanthin. *J Agric Food Chem* 50:6895–6901 (2002).
- 11** Lee JC, Kim HR, Kim J and Jang YS, Antioxidant property of an ethanol extract of the stem of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten*. *J Agric Food Chem* 50:6490–6496 (2002).
- 12** Sreekanth D, Arunasree M, Roy KR, Chandramohan Reddy T, Reddy GV and Reddanna P, Betanin a betacyanin pigment purified from fruits of *Opuntia ficus-indica* induces apoptosis in human chronic myeloid leukemia cell line K562. *Phytomedicine* 14:739–746 (2007).
- 13** Kim J, Jho KH, Choi YH and Nam SY, Chemopreventive effect of cactus (*Opuntia humifusa*) extracts: radical scavenging activity, pro-apoptosis, and anti-inflammatory effect in human colon (SW480) and breast cancer (MCF7) cells. *Food Funct* 4:681–688 (2013).
- 14** Kim J, Jayaprakasha GK, Uckoo RM and Patil BS, Evaluation of chemopreventive and cytotoxic effect of lemon seed extracts on human breast cancer (MCF-7) cells. *Food Chem Toxicol* 50:423–430 (2012).
- 15** Stintzing FC and Carle R, Cactus stems (*Opuntia* spp.): A review on their chemistry, technology, and uses. *Mol Nutr Food Res* 49:175–194 (2005).
- 16** Shetty AA, Rana M and Preetham S, Cactus: A medicinal food. *J Food Sci Technol* 49:530–536 (2012).
- 17** Bae H, Jayaprakasha G, Crosby K, Jifon JL and Patil BS, Influence of extraction solvents on antioxidant activity and the content of *J Sci Food Agric* (2014) © 2014 Society of Chemical Industry wileyonlinelibrary.com/jsfa www.soci.org J Kim *et al* bioactive compounds in non-pungent peppers. *Plant Foods Hum Nutr* 67:120–128 (2012).
- 18** Martins S, Aguilar CN, Teixeira JA and Mussatto SI, Bioactive compounds (phytoestrogens) recovery from *Larrea tridentate* leaves by solvent extraction. *Sep Purif Technol* 88:163–167 (2012).
- 19** Tesoriere L, Fazzari M, Allegra M and Livrea M, Biothiols, taurine, and lipid-soluble antioxidants in the edible pulp of Sicilian cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruits and changes of bioactive juice components upon industrial processing. *J Agric Food Chem* 53:7851–7855 (2005).
- 20** Stahl W and Sies H, Antioxidant activity of carotenoids. *Mol Aspects Med* 24:345–351 (2003).
- 21** Wang M, Li J, Rangarajan M, Shao Y, LaVoie EJ, Huang TC, *et al.*, Antioxidative phenolic compounds from sage (*Salvia officinalis*). *J Agric Food Chem* 46:4869–4873 (1998).
- 22** Seyoum A, Asres K and El-Fiky FK, Structure–radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry* 67:2058–2070 (2006).
- 23** Jaramillo-Flores M, González-Cruz L, Cornejo-Mazyn M, Dorantes-Alvarez L, Gutiérrez-López G and Hernández-Sánchez H, Effect of thermal treatment on the antioxidant activity and content of carotenoids and phenolic compounds of cactus pear cladodes (*Opuntia ficus-indica*). *Food Sci Technol Int* 9:271–278 (2003).
- 24** Piga A, Cactus pear: A fruit of nutraceutical and functional importance. *J Prof Assoc Cactus* 6:9–22 (2004).
- 25** Davis RJ, Signal transduction by the JNK group of MAP kinases, in *Inflammatory Process*, ed. by Letts L and Morgan D. Birkhäuser, Basel, pp. 13–21 (2000).
- 26** Strasser A, O’Connor L and Dixit VM, Apoptosis signaling. *Annu Rev Biochem* 69:217–245 (2000).
- 27** Brambilla E, Negoescu A, Gazzeri S, Lantuejoul S, Moro D, Brambilla C, *et al.*, Apoptosis-related factors p53, Bcl2, and Bax in neuroendocrine lung tumors. *Am J Pathol* 149:1941 (1996).
- 28** Cohen G, Caspases: The executioners of apoptosis. *Biochem J* 326:1–16 (1997).
- 29** Wang ZQ, Stingl L, Morrison C, Jantsch M, Los M, Schulze-Osthoff K, *et al.*, PARP is important for genomic stability but dispensable in apoptosis. *Genes Dev* 11:2347–2358 (1997).
- 30** Harris R, Cyclooxygenase-2 (cox-2) blockade in the chemoprevention of cancers of the colon, breast, prostate, and lung. *Inflammopharmacology* 17:55–67 (2009).

Research Article

Received: 9 July 2014 Revised: 14 October 2014 Accepted article published: 24 October 2014 Published online in Wiley Online Library:
(wileyonlinelibrary.com) DOI 10.1002/jsfa.6968



wileyonlinelibrary.com/jsfa

© 2014 Общество химической промышленности

J Sci Food Agric (2014)