

Біоактивні речовини в стеблах кактуса (*Opuntia ficus-indica*) мають потужний антиоксидантний і проапоптозний ефект завдяки інгібуванню 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*

АНОТАЦІЯ:

Передумови: Біоактивні речовини, витягнуті з стебел кактуса (*Opuntia ficus-indica*), були досліджені щодо їх хіміопротективної активності з використанням ракових клітин людини *in vitro*.

Біоактивні речовини, присутні у сирих екстрактах, були виявлені та кількісно визначені з використанням високоефективної рідинної хроматографії.

РЕЗУЛЬТАТИ: Серед усіх екстрактів, таких як гексан, етилацетат (EtOAc), ацетон, метанол (MeOH) та MeOH: вода (80:20), екстракт MeOH мав найбільшу кількість поліфенольних сполук, а екстракт ацетону показав найбільш сильну дію при поглинанні 2,2'-дифеніл-1-пікрилгідразила (DPPH) і 2,2'-азино-ди-(3-етилбензотіазолін)-6-сульфонової кислоти (ABTS +) радикальний. Крім того, більшість екстрактів, за винятком гексану, виявляли значну цитотоксичність до ракових клітин товстої кишки людини SW480 та ракових клітин молочної залози MCF7. Загалом ракові клітини SW480 були більш чутливими, ніж клітини MCF7, до цитотоксичного ефекту екстрактів *O. ficus-indica* (OFE). Загибель клітин у результаті обробки OFE викликала значне інгібування циклооксигенази-2 та збільшила відношення Вах/Bcl2 у клітинних лініях SW480 та MCF7. Однак деградація полі (АДФ-рибозу) полімерази була значно нижчою, збільшується під дією OFE тільки в клітинах MCF7, тим самим викликаючи апоптоз.

ВИСНОВОК: Ці результати демонструють корисну для здоров'я роль, включаючи антиоксидантну та антипроліферативну активність, а також проапоптотичні ефекти біоактивних сполук в OFE, що вказує на хіміопротективну роль у ракових клітинах людини.

© 2014 Суспільство хімічної промисловості

Ключові слова: екстракти стебел кактусів; біоактивні речовини; активність щодо нейтралізації радикалів; цитотоксичність; хіміопротективна.

ВСТУП

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, у 2012 році рак легень грудей посідає друге місце серед причин смерті, і колотеральний рак вважається найбільш поширеним.

Рекомендації, спрямовані на профілактику раку, передбачає фруктову та овочеву дієту, які можуть забезпечити вживання різноманітності біоактивних сполук.

Було показано, що ці природні біоактивні речовини можуть надавати сприятливу дію протягом серцево-судинних захворювань, нейродегенеративні захворювання та профілактику різних типів раку.

З цієї ж причини докладається багато зусиль у дослідженнях біоактивних сполук що краще зрозуміти як ці сполуки, пов'язані з регуляцією клітинної відповіді на захворювання людини.

Opuntia ficus-indica (L.) Mill., або кактус опунції, прийшов до нас із центральної Мексики і став надбанням у всьому світі за своїм складом хімічно-активних речовин. На даний момент *O. ficus-indica* вирощують у всьому світі не тільки через його різноманітне використання в харчуванні, а й у медицині. Перша документація лікувальних властивостей *O. ficus-indica* написана в 1552 р., а пізніше з'явилися накопичені експериментальні дані, що свідчать про те, що OFE знижує холестерин за рахунок зниження ЛПНЩ, надає сприятливу дію протягом діабету і знижує явище гепатотоксичності *in vivo*.

Додаткові дослідження підтвердили його протилейкозну, протипухлинну, антиоксидантну та протизапальну дію. Підтверджено ейропротекторний ефект *in vitro* та *in vivo*.

Незважаючи на ці численні дослідження, механізм цитотоксичності біоактивних речовин *O. ficus-indica* в клітинних лініях раку товстої кишки та молочної залози залишаються неясними.

У цьому дослідженні ми оцінили фітохімічний профіль флавоноїдів та загальний вміст фенольних сполук, а також антиоксидантний ефект при використанні екстрактів *O. ficus-indica* (OFE). До того ж, біоактивні речовини, присутні в різних OFE, були перевірені на них цитотоксичність проти клітин раку товстої кишки та молочної залози. Дослідження цитотоксичного ефекту OFE проходило *in vitro*. Дослідження проведено завдяки співпраці:

* Санг-Йонг Нам, Департамент садівництва, Сахмек Університет, Сеул, 139–742, Республіка Корея, та Янг-Хі Чой, факультет патології, лікарня Dongtan SacredHeart, університет Халлім, Кенгідо, Республіка Корея. Електронна пошта: (hidden) та (hidden)

* Кафедра садівництва, Університет Сахмек, Сеул 139 - 742, Республіка Корея.

* Департамент екологічного садівництва, Університет Сахмек, Сеул 139-742, Республіка Корея.

* Науково-дослідний інститут додаткової та альтернативної медицини, Коледж Медицини, Університет Халлім та кафедра патології, Dongtan Sacred Лікарня серця, Університет Халлім, Кенгідо, Республіка Корея.

* J Sci Food Agric (2014) www.soci.org © 2014 Товариство хімічної промисловості.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Хімічні реагенти:

Всі розчинники / реагенти були аналітичними та високоефективними для жидкостної хроматографії (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, галова кислота і 3-(4,5-диметилтіазол-2-іл)-2,5-бромід дифенілтетразолію (МТТ) був придбаний у Sigma (Сент-Луїс, Міссурі, США). Всі реагенти для клітинних культур, включаючи реагенти Дульбекко модифіковане середовище Голка (DMEM), фетальна сироватка бича, трипсин-ЕДТА і антибіотики були отримані від Nuclone (Логан, Юта, США).

Екстрагування:

Стебла *O. ficus-indica* були надані Дослідницьким центром Організація корейських кактусів (Кенгі-до, Республіка Корея).

Висушені та подрібнені стебла *O. ficus-indica* (400 г) змішували з 1 л гексану та заважали при 150 об/хв протягом ночі. Суміш була пропущена через фільтрувальний папір Whatman № 3. Потім залишок був послідовно екстрагований розчинниками з подальшим зростанням полярності. Наступна екстракція була виконана з використанням залишку залишку з 400 мл етилацетат (EtOAc), ацетон, метанол (MeOH) і MeOH: вода (80:20) відповідно. Усі екстракти конденсували за допомогою роторного випарника і потім сушили виморожуванням.

Кількісне визначення загальних фенолів та флавоноїдів:

Всі зразки (екстракти) містили ацетон або MeOH і були профільтровані через 0,45 мкм фільтри (Millipore, Bedford, MA, USA) для подальшого визначення вмісту фенолу, або ін'єкція ВЕРХ. Загальний фенольний склад екстрактів визначали кількісно за допомогою Folin – Ciocalteu реагенту.

Флавоноїди у різних екстрактах із стебел *O. ficus-indica* аналізували з використанням системи ВЕРХ Ultimate 3000 (Dionex, Ідштайн, Німеччина), що складається з обернено-фазового перетворювача Agilent SB-C18 колонка (4,6 × 150 нм, розмір частинок 5 мкм) та витрата 0,8 мл/хв. Хроматографічний поділ проводився при градієнт рухомої фази (1) 0,3% трифтороцтової кислоти; і (2) ацетонітрилу за таких умов: 20-60% протягом 0-25 хв, 100% протягом 26-30 хвилин та 20% протягом 31-35 хвилин. Три незалежні експерименти проводили у трьох повтореннях.

Визначення антиоксидантної активності:

Для вимірювання активності видалення радикалів екстрактами стебел *O. ficus-indica* використовували два популярні колориметричні тести, ABTS і DPPH. Коротко всі екстракти розчиняли або в ацетоні, або в MeOH (5 мг/л). Гексан, EtOAc та ацетон екстракти розчиняються в ацетоні; а MeOH та MeOH: вода (80:20) екстракти розчиняли в MeOH після нагрівання протягом 5 хв при 95 °С. Розчини екстрактів 20 мкл (еквівалент 417 мкг/л) та галову кислоту як позитивний контроль додавали в 96-луночку

пластину. 200 мкл або згенерованого ABTS або DPPH розчину було додано до зразків. Кінетика розпаду радикалів ABTS і DPPH контролювали кожні 3 хвилини протягом 33 хвилин на рідері FLUOstar Optimamicroplate (поглинання 517 нм і 734 нм відповідно).

Лінії клітин людини та умови культивування:

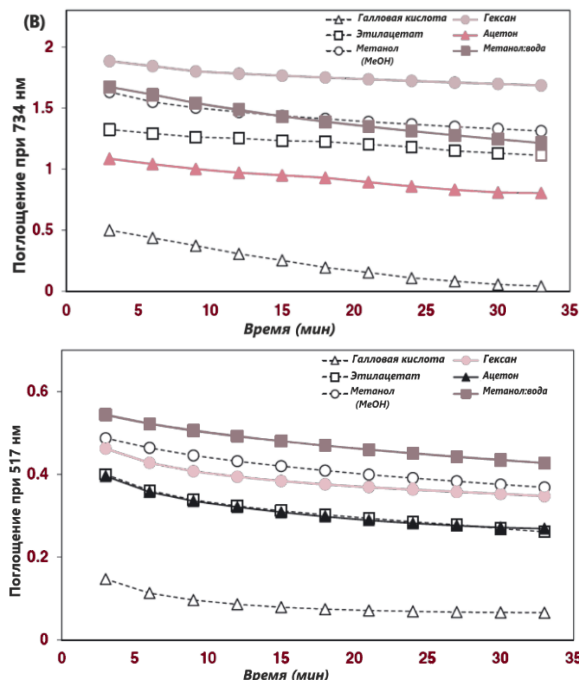
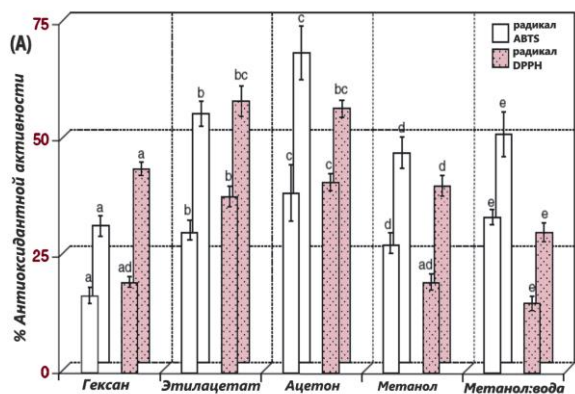
Клітинна лінія SW480 (також звана CCL-228), отримана при біопсії людини з аденокарцинома товстої кишки і лінія клітин MCF7 (також звана НТВ-22) отримані при біопсії людини з аденокарциномою грудей людини, були раніше придбані в Корейському банку Південна Корея). Обидві клітинні лінії підтримувалися в середовищі DMEM з додаванням 10% сироватки ембріона великої рогатої худоби, 100 Од/мл пеніциліну та 100 мкг/мл стрептоміцину. Клітини зберігалися при температурі 37°C у вологому середовищі, що містить

5% CO₂ що дозволили досягти взаємодії. Сушені екстракти для експерименту розчиняли у диметилсульфоксиді (ДМСО); таким чином, контрольні клітини (як засоби контролю) були піддані відповідній концентрації ДМСО (<0,2%).

Аналіз проліферації МТТ:

Цитотоксичність екстрактів вимірювали за допомогою МТТ тесту, як описано.

Коротко, клітини (1 × 10⁴ клітини на лунку) висівали в 96-лунковий планшет і залишали на ніч. Кошти були видалені та інкубували зі свіжим середовищем, включаючи ДМСО або різні концентрації екстрактів, за 24 та 48 год.



Малюнок 1. Екстракти стебел *Opuntia ficus-indica* для видалення радикалів.

(A) Активність радикального гасіння ABTS+ та DPPH та її порівняння з використанням екстрактів різних розчинників при 208 мкгмл⁻¹ (передні смуги) та 417 мкгмл⁻¹ (задні смуги). За кінетичними змінами радикалів (B) ABTS+ та (C) DPPH проводився моніторинг кожні 3 хв. Похибок на кінетичних кривих не було видно.

Дані виражені як середнього ± SEM. Різні літери позначають важливі відмінності за $P < 0,05$ ($n = 9$).

Після відповідного інкубаційного періоду клітини обробляли МТТ (5 м/л у фосфатно-сольовому буфері) протягом 2 годин в інкубаторі при 37С. Двісті мікролітрів ДМСО додавали для розчинення пурпурного формазану та вимірювали за допомогою ридера для мікропланшетів ELISA (BioTek Instruments, Winooski, VT, USA) на довжині хвилі 570 нм. IC₅₀ розраховували з використанням GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software Inc., Сан-Дієго, Каліфорнія, США).

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

Экстракт	Флавоноиды				Общие фенольные соединения (мг GAE г-1 экстракта)
	Таксифолин	Рутин	Кверцетин	Общий (мг / л)	
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.

Імуноблот:

Клітини лізували в буфері для аналізу радіоімунопреципітації, що містять коктейль інгібіторів протеази, і лізати були схильні до імуноблотінгу. Наступними були використані антитіла: мишачі анти-Вах, мишачі анти-Вс12, мишачі-антицикло-оксигеназа-2 (ЦОГ-2) та миша-анти-β-актин від Santa Cruz Biotechnology (Санта-Крус, Каліфорнія, США); і кролячі-анти-полі (АДФ-рибоза) полімераза (PARP) від Cell Signaling (Бeverly, Массачусетс, США). Візуалізація білкових смуг та денситометричний аналіз були проведені Bio-Rad ChemiDoc, система візуалізації XRS (Bio-Rad, Геркулес, Каліфорнія, США).

Аналіз даних:

Дані були виражені як середнє ± стандартна помилка середнього (SEM) мінімум трьох незалежних експериментів. Статистичний аналіз завершився одностороннім дисперсійним аналізом t-тест з використанням програми SPSS 16.0 (Чикаго, Іллінойс, США). P < 0,05 вважається статистично значущим.

РЕЗУЛЬТАТИ І ОБГОВОРЕННЯ

Дедалі більше наукових звітів показує, що фітохімічні речовини, присутні у *Opuntia spp.* впливають на профілактику різних онкологічних захворювань, однак ідентифікація точних біологічно активних речовин *Opuntia spp.* та їх механізм дії як профілактика раку залишається досі невивченими.

Щоб перевірити кількість окремих флавоноїдів, п'ять різних автентичних флавоноїдів, а саме кемпферол, міріцетин, кверцетин, рутин і таксифолін використовували як стандарти для кількісного визначення. Найбільший загальний вміст флавоноїдів було виявлено в екстрактах MeOH (72,7 мг/л), потім MeOH: вода (80:20) (32,7 мг/л), ацетон (20,3 мг/л) та етилацетат (3,3 мг/л), але не був виявлений у гексанових екстрактах (таблиця 1).

Загальний фенольний вміст OFE варіювався від 2,47 мг GAE г⁻¹ до 2,87 мг GAE г⁻¹. Загальні

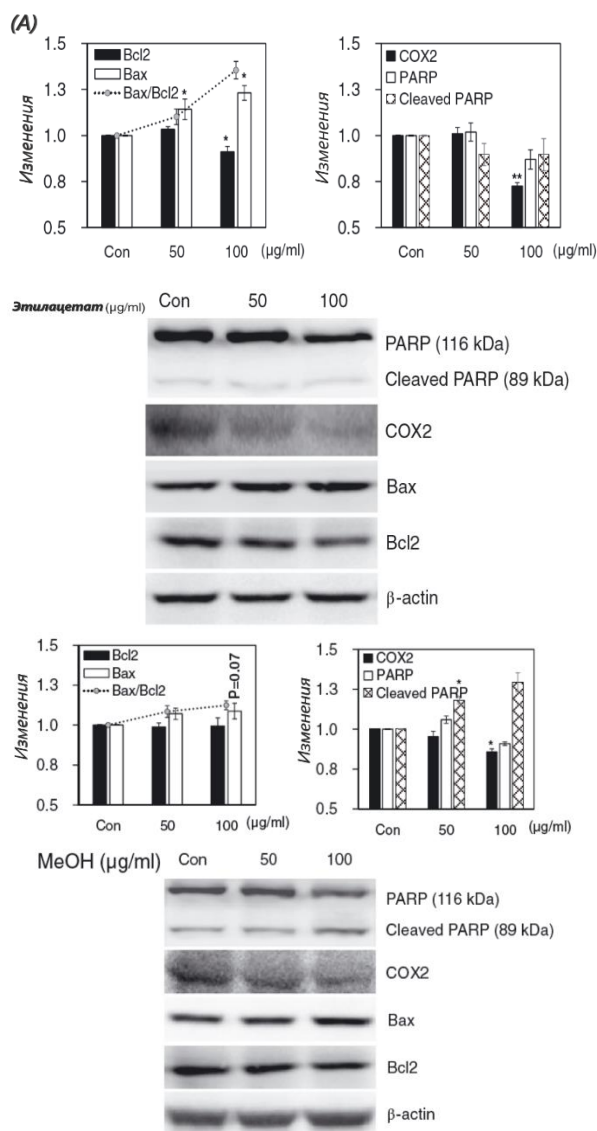
результати показали, що результати флавоноїдів, порівняно з полярними екстрактами містять більш високі кількості загальних фенольних сполук, ніж менш полярні екстракти, і аналогічні результати були отримані іншими вченими, що використовують перець і куці креозоту. Серед трьох флавоноїдів (кверцетин, рутин та таксифолін), рутин (59,8%) був основним флавоноїдом, за яким слідували таксифолін (45,8%) та кверцетин (6%). Кемпферол або міріцетин не можуть бути виявлені у OFE (таблиця 1). У дослідженні Tesoriere та ін, були виявлені дуже невеликі кількості кемферолу, але рутин та кверцетин не були визначені кількісно у плодах *O. ficus-indica*.

Результати показують, що розподіл окремих флавоноїдів варіюється і багато в чому залежить від частини рослини.

OFE дозозалежно вловлює радикали як ABTS⁺, так і DPPH. Як показано на рис. 1, ацетонний екстракт показав найвищий (66,3%) ефект уловлювання радикалів (антиоксидантний ефект) ABTS⁺, потім етилацетат (53,3%), MeOH: вода (80:20) (49,1%), MeOH (44,9%) та гексан (29,2%). Навпаки, в активності уловлювання радикалів DPPH, екстракти ацетону та етилацетату мали загальну максимальну активність (54,7% та 56,1% відповідно), тоді як MeOH: вода (80:20) виявив мінімальну активність 28,0% при 417 мкг/мл-1. Хоча результат вищої антиоксидантної активності у етилацетату, мабуть, суперечить кількісному складу поліфенолів (Таблиця 1 і Рис. 1), наявність і внесок неполярних фітохімічних речовин, таких як каротиноїди в сирих рослинах екстракти як сильні поглиначі радикалів повинні бути реалізовані. Попередні дослідження показали, що положення функціональної групи та картина гідроксилування фенольних сполук визначають антиоксидантну активність; тому прояв різної активності з уловлювання радикалів у цих аналізах сполуками не буде несподіваним.

Таблиця 2. Цитотоксичність екстрактів *Opuntia ficus-indica* для ракових кліток товстої кишки (SW480) і молочної залози (MCF7)

Линія кліток	Время інкубації (ч)	IC ₅₀ (µg mL ⁻¹)				
		Гексан	Етилацетат	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



Малюнок 2. Ефект екстрактів стовбура *Opuntia ficus-indica* на молекули, що регулюють апоптоз, у ракових клітинах товстої кишки (SW480) та молочної залози (MCF7) людини. Клітини інкубували з екстрактами (А) етилацетату та (В) метанолу (MeOH) при зазначеній концентрації протягом 48 годин. Рівні протеїну були детектовані імуноблот з зазначеними антитілами. β-Актин використовувався як внутрішній контроль. Дані являють собою середнє значення ±

SEM трьох незалежних експериментів (*P<0,05, **P<0,01 за ANOVA).

Справді, у наших результатах лише екстракт етилацетату проявляв аналогічну активність з уловлювання радикалів ABTS+ та DPPH.

Знижена кінетична крива на рис. 1 являє собою прямо пропорційну дозу залежну активність пригнічення радикалів. (B) Для оцінки цитотоксичності різних OFE застосовують колориметричний аналіз із сіллю тетразолію, МТТ використовувався як для SW480, так і для клітинних ліній MCF7 (таблиця 2). Обробка OFE протягом 48 годин на SW480 клітини виявили найвищу цитотоксичність (IC₅₀ = 52,6 мкг/мл) у Екстракт з етилацетатом; однак той же екстракт показав найнижче IC₅₀ значення інгібування 138,0 мкг/мл у клітинах MCF7. Екстракт MeOH був найбільш ефективний у клітинах MCF7 з IC₅₀ 77,6 мкг/мл. Загалом, клітини SW480 були більш чутливі, ніж клітини MCF7, до лікування OFE. Найвища цитотоксичність екстракту MeOH у SW480 можна пояснити кількістю флавоноїдів та загальних фенолів (Таблиця 1). З іншого боку, найнижчий цитотоксичний ефект етилацетату в MCF7 може підтримуватись за рахунок активності з уловлювання радикалів OFE (рис. 1). Як передбачалося раніше, не тільки флавоноїди, але також різні типи фітохімічних речовин, такі як каротиноїди, містяться в сирих екстрактах кактусів і можуть бути біологічно активними. Було показано, що чутливість протиракових агентів залежить від динамічності експресії генів та передачі сигналів по нервових волокнах; таким чином, дослідження щодо визначення конкретного механізму дії певних біологічно активних речовин не було проведено.

Вивчено механізм цитотоксичності за допомогою OFE. Імуноблот проводили з різними антитілами, такими як Bax, Bcl2, ЦОГ-2 і PARP, які відомі як регулятори апоптозу. На підставі результатів цитотоксичності дослідження механізму було виконано для перевірки активності етилацетату щодо SW480 та MeOH по відношенню до клітин MCF7 (таблиця 2). Що стосується осередків SW480, обробка клітин OFE (100 мкг/мл) індукувала значне підвищене співвідношення Bax/Bcl2 (36%, P<0,05) та інгібування ЦОГ-2 (28%, P<0,01), але не розкладання PARP. Навпаки,



за певних умов MCF7 показав значну деградацію PARP (29%, $P < 0,05$) у його розщепленій формі, а також інгібування ЦОГ-2 (14%, $P < 0,05$) і рівень Вах, що трохи збільшується (10%, $P = 0,07$).

Апоптоз, або запрограмована загибель клітин, є найвідомішим маркером цитотоксичності клітин, і переважно прискорюється

за рахунок збільшення активності Bcl2 білків, включаючи антиапоптозні Bcl2 та Bcl-xl та проапоптозні Вах, Bak та Bad. Результати даного дослідження ясно продемонстрували збільшення активності Вах та пригнічення Bcl2 в обробленому етиленоксидом екстракті клітин SW480 (Рис. 2а). Незважаючи на те, що оброблені екстрактом MeOH клітини MCF7 виявляли лише підвищення активності Вах (рис. 2b), це відкриття також вважається маркером індукованого апоптозу, що передає сигнал каскад, оскільки підвищене співвідношення Вах/Bcl2 впливає на апоптоз.

Враховуючи збільшення відношення Вах/Bcl2 за рахунок OFE в обох SW480 та клітини MCF7, ми додатково оцінили результати розщеплення PARP. Як показано на рис. 2, обробка OFE значно прискорює деградацію PARP у клітинах MCF7, тоді як клітини SW480 не постраждали. Результати цього експерименту доводять факт, який описували в попередніх дослідженнях, які показали, що PARP є неминучим при апоптозі.

Було висловлено припущення, що надмірна експресія ЦОГ-2 відіграє роль у перебігу декількох видів злоякісних новоутворень, включаючи рак товстої кишки та грудей. Ця залежність була досліджена шляхом вилучення біологічно активних речовин зі стовбурових клітин та обробки клітин SW480 та MCF7 протягом 48 годин (рис. 2). Дійсно, експресія ЦОГ-2 у клітинах SW480 та MCF7 була значно вищою, і знижувалася при обробці екстрактів з етилацетатом (28%, $P < 0,01$) та MeOH

(14%, $P < 0,05$) екстрактів відповідно (рис. 2). Біоактивні речовини, присутні в *O. ficus-indica*, можуть діяти на запальний процес, включаючи апоптоз, за допомогою інгібування експресії ЦОГ-2.

ВИСНОВКИ

Серед п'яти різних екстрактів OFE екстракт MeOH показав найбільшу кількість флавоноїдів та загальний вміст фенолів. Надалі екстракт виявляв сильну цитотоксичність щодо MCF7 клітин. Хоча екстракт етилацетату має низьку кількість флавоноїдів, а цитотоксичний ефект, що проявляється щодо клітин SW480, був значно вищим серед усіх інших екстрактів. Ці дані підтверджують профілактичний ефект екстрактів стебел *O. ficus-indica* для профілактики раку. Екстракти стебел *O. ficus-indica* мають

антиоксидантну та антипроліферативну активність і виявляють проапоптозні ефекти.

ПОДЯКА:

Робота була частково підтримана грантом Університету Сахмек та Корейським фондом Санхак (2012).

ПОСИЛАННЯ ТА ЛІТЕРАТУРА:

- 1 ВООЗ, остання світова статистика раку. Всесвітня організація охорони здоров'я, Женева (2013).
- 2 Ключ Т, Фрукти та овочі та ризик раку. *Br J Cancer* 104:6–11 (2011).
- 3 Gullett NP, Ruhul AA, Bayraktar S, Pezzuto JM, Shin DM, Khuri FR, et al., Профілактика раку природними сполуками. *Semin Oncol* 3:258–281 (2010).
- 4 Boeing H, Bechthold A, Bub A, Ellinger S, Haller D, Kroke A та ін., Критичний огляд: Овочі та фрукти в профілактиці хронічних захворювань. *Eur J Nutr* 51:637–663 (2012).
- 5 Гріффіт М.П., Походження важливої культури кактусів, *Opuntia ficus-indica* (Cactaceae): нові молекулярні докази. *Am J Bot* 91:1915–1921 (2004).
- 6 Ennouri M, Fetoui H, Bourret E, Zeghal N і Attia H, Оцінка деяких біологічних параметрів *Opuntia ficus indica*. Вплив дієти, доповненої насінням, на щурів. *Bioresour Technol* 97:1382–1386 (2006).
- 7 Butterweck V, Semlin L, Feistel B, Pischel I, Bauer K і Verspohl EJ, Порівняльна оцінка двох різних екстрактів *Opuntia ficus-indica* для зниження рівня цукру в крові у щурів. *Phytother Res* 25:370–375 (2011).
- 8 Galati E, Mondello M, Lauriano E, Taviano M, Galluzzo M і Miceli N, *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. фруктовий сік захищає печінку від ушкодження, спричиненого чотирехлористим вуглецем. *Phytother Res* 19:796–800 (2005).
- 9 Serra AT, Poejo J, Matias AA, Bronze MR і Duarte SM, Оцінка *Opuntia* spp. похідні продукти як антипроліферативні агенти в лінії клітин раку товстої кишки людини (HT29). *Food Res Int* 54:892–901 (2013).
- 10 Бутера Д., Тесорієре Л., Ді Гаудіо Ф., Бонджорно А., Аллегра М., Пінтауді А.М. та ін., Антиоксидантна активність екстрактів плодів сицилійської опунції (*Opuntia ficus indica*) і відновлюючі властивості її беталаїнів: бетаніну та індиаксантину. *J Agric Food Chem* 50:6895–6901 (2002).
- 11 Lee JC, Kim HR, Kim J and Jang YS, Антиоксидантні властивості етанольного екстракту стебла *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 і Reddanna P, Бетанін, пігмент бетацианін, очищений із плодів *Opuntia ficus-indica*, індукує апоптоз у клітинній

- лінії хронічного мієлоїдного лейкозу людини K562. *Фітомедицина* 14:739–746 (2007).
- 13 Kim J, Jho KH, Choi YH і Nam SY, Хіміопрофілактичний ефект екстрактів кактуса (*Opuntia humifusa*): активність поглинання радикалів, проапоптоз і протизапальний ефект у клітинах товстої кишки людини (SW480) і раку молочної залози (MCF7). *Харчова функція* 4:681–688 (2013).
- 14 Kim J, Jayaprakasha GK, Uckoo RM і Patil BS, Оцінка хіміопрофілактичного та цитотоксичного ефекту екстрактів насіння лимона на клітини раку молочної залози людини (MCF-7). *Food Chem Toxicol* 50:423–430 (2012).
- 15 Стінтзінг Ф. К. і Карл Р. Стебла кактусів (*Opuntia spp.*): Огляд їх хімії, технології та використання. *Mol Nutr Food Res* 49:175–194 (2005).
- 16 Шетті А.А., Рана М. і Прітхем С. Кактус: лікарська їжа. *J Food Sci Technol* 49:530–536 (2012).
- 17 Ває Н, Jayaprakasha G, Crosby K, Jifon JL і Patil BS, Вплив екстракційних розчинників на антиоксидантну активність і вміст *J Sci Food Agric* (2014) © 2014 Товариство хімічної промисловості wileyonlinelibrary.com/jsfa www.soci.org J Kim та ін біоактивні сполуки в негострому перці. *Рослинна їжа Hum Nutr* 67:120–128 (2012).
- 18 Martins S, Aguilar CN, Teixeira JA і Mussatto SI, Біоактивні сполуки (фітоестрогени) відновлення з листя *Larrea tridentate* шляхом екстракції розчинником. *Sep Purif Technol* 88:163–167 (2012).
- 19 Tesoriere L, Fazzari M, Allegra M і Livrea M, Біотиоли, таурин і жиророзчинні антиоксиданти в їстівній м'якоті плодів груші сицилійського кактуса (*Opuntia ficus-indica*) і зміни біоактивних компонентів соку при промисловій обробці. *J Agric Food Chem* 53:7851–7855 (2005).
- 20 Stahl W і Sies H, Антиоксидантна активність каротиноїдів. *Mol Aspects Med* 24:345–351 (2003).
- 21 Wang M, Li J, Rangarajan M, Shao Y, LaVoie EJ, Huang TC та ін., Антиоксидантні фенольні сполуки шавлії (*Salvia officinalis*). *J Agric Food Chem* 46:4869–4873 (1998).
- 22 Сейном А, Асрес К і Ель-Фікі Ф.К. Взаємозв'язок флавоноїдів між структурою та активністю поглинання радикалів. *Фітохімія* 67:2058–2070 (2006).
- 23 Jaramillo-Flores M, González-Cruz L, Cornejo-Mazyn M, Dorantes-Alvarez L, Gutierrez-Lopez G і Hernández-Sánchez H, Вплив термічної обробки на антиоксидантну активність і вміст каротиноїдів і фенольних сполук кактусових грушевих кладодіїв (*Opuntia ficus-indica*). *Food Sci Technol Int* 9:271–278 (2003).
- 24 Piga A, кактусова груша: плід, що має нутрицевтичну та функціональну цінність. *J Prof Assoc Cactus* 6:9–22 (2004).
- 25 Davis RJ, Передача сигналу групою JNK MAP-кіназ, у *Inflammatory Process*, ed. Леттс Л і Морган Д. Бірхдзер, Базель, стор. 13–21 (2000).
- 26 Штрассер А, О'Коннор Л і Діксіт В.М. Передача сигналів апоптозу. *Annu Rev Biochem* 69:217–245 (2000).
- 27 Brambilla E, Negoescu A, Gazzeri S, Lantuejoul S, Moro D, Brambilla C та ін., Пов'язані з апоптозом фактори p53, Bcl2 і Вах у нейроендокринних пухлинах легень. *Am J Pathol* 149:1941 (1996).
- 28 Коен Г. Каспази: кати апоптозу. *Biochem J* 326:1–16 (1997).
- 29 Wang ZQ, Stingl L, Morrison C, Jantsch M, Los M, Schulze-Osthoff K та ін., PARP важливий для геномної стабільності, але незамінний при апоптозі. *Genes Dev* 11:2347–2358 (1997).
- 30 Harris R, Блокада циклооксигенази-2 (cox-2) у хіміопрофілактиці раку товстої кишки, молочної залози, простати та легень. *Інфламмофармакологія* 17:55–67 (2009).