



Opuntia ficus-indica (L.) Mill. Bitkisinden Hazırlanan Farklı Ekstrelerin Antidiyabetik, Antitirozinaz, Antioksidan ve Sitotoksik Etkisinin Araştırılması

Leyla PAŞAYEVA^{1*}, Sena KICALI², Ayşe Kübra KARABOĞA ARSLAN³

^{1,2}Erciyes Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı, 38039, Kayseri, ³Erciyes Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, 38039, Kayseri

¹<https://orcid.org/0000-0003-3860-7222>, ²<https://orcid.org/0009-0008-6179-6387>, ³<https://orcid.org/0000-0002-4689-0657>

✉: leylapasayeva@erciyes.edu.tr

ÖZET

Türkiye farklı iklim ve ekolojik koşullara sahip olması nedeniyle floranın çok sayıda bitki türü ve çeşidi içermesi bakımından doğadan toplanan ve kültürü yapılan tıbbi bitkiler açısından büyük bir ekonomik potansiyele sahiptir. Çalışmada *Opuntia ficus-indica* bitkisinin meyve kısmından farklı ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen ekstraktların antidiyabetik, antitirozinaz, antioksidan ve hücre canlılığı üzerine etkileri incelenmiştir. Bu amaçla meyve kısmı kurutulduktan sonra %70'lik metanol ile maserasyon ve ses dalgaları-destekli sıvı ekstraksiyonu yöntemleriyle hazırlanan ekstraktların α -amilaz, α -glikozidaz, tirozinaz inhibitör etkileri yanında antioksidan kapasiteleri DPPH ve ABTS yöntemleri ve hücre canlılığı üzerine etkileri ise RL95-2 ve A549 kanser hücrelerinde tayin edilmiştir. Sonuç olarak ekstraktlardan ses dalgaları-destekli sıvı ekstraksiyonu yöntemiyle hazırlanan ekstraktın α -amilaz ($IC_{50}=395.123\pm 3.477 \mu g ml^{-1}$) ve tirozinaz enzimi üzerinde inhibisyon etkisinin ($IC_{50}=551.633\pm 1.159 \mu g ml^{-1}$), ABTS radikal süpürücü aktivitesinin ($0.522\pm 0.041 \mu M Trolox/g_{ekstre}$) diğer ekstraktlardan daha yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca aynı ekstraktın toplam fenolik madde ve flavonoid miktarının da daha yüksek olduğu belirlenmiştir (($181.189\pm 4.576 mgGAE/g_{ekstre}$ ve $125.635\pm 1.946 mgCA /g_{ekstre}$). Ekstraktların α -glikozidaz, antitirozinaz ve hücre canlılığı üzerine etkileri orta düzeyde bulunmuştur. Bu çalışmanın sonuçları ile özellikle ses dalgaları-destekli sıvı ekstraksiyonu yöntemiyle hazırlanan ekstraktın α -amilaz inhibitör etki ve antioksidan etkisinin hangi bileşiklerden kaynaklandığını ve etki mekanizmalarını belirlemek için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Biyokimya

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 02.04.2024

Kabul Tarihi : 15.08.2024

Anahtar Kelimeler

Dikenli incir,

Hipoglisemik etki

Hücre canlılığı

Investigation of the Antidiabetic, Antitirozinaz, Antioxidant, and Cytotoxic Effects of Different Extracts Prepared from *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. plant

ABSTRACT

The Flora of Türkiye contains many plant species and varieties due to its different climate and ecological conditions. It has great economic potential in terms of cultivated and natural medicinal plants. In this study, the effects of extracts obtained from the fruit part of the *O. ficus-indica* plant by different extraction methods were examined on antidiabetic, antityrosinase, antioxidant, and cell viability. For this purpose, after drying the fruits, the extracts were prepared with %70 methanol by maceration and ultrasound-assisted extraction methods. Then the α -amylase, α -glucosidase, and tyrosinase inhibitory effects as well as antioxidant capacities with DPPH and ABTS methods and cell viability of extracts were determined on RL95-2 and A549 cancer cells. As a result, it was shown that, the inhibitory effect of the extract prepared by ultrasound-assisted extraction method on α -amylase ($IC_{50}=395.123\pm 3.477 \mu g ml^{-1}$) and tyrosinase enzyme ($IC_{50}=551.633\pm 1.159 \mu g ml^{-1}$ and ABTS radical scavenging activity ($0.522\pm 0.041 \mu M Trolox/g_{extract}$) was found to be higher than the other extract. It was also determined that the total phenolic and flavonoid

Biochemistry

Research Article

Article History

Received: 02.04.2024

Accepted: 15.08.2024

Keywords

Dikenli incir

Hypoglycemic effect

Cell viability

content of the same extract was higher ((181.189±4,576 mgGAE/extract and 125.635±1.946 mgCA/extract). The effects of the extracts on α -glucosidase and tyrosinase enzymes and cell viability were found to be moderate. In conclusion, further studies are needed to understand which compounds were related to α -amylase inhibitory effect and antioxidant activity and mechanisms of action.

- Atıf İçin :** Paşayeva, L., Kıcalı, S & Karaboğa Arslan, A. K. (2024). *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Bitkisinden Hazırlanan Farklı Ekstrelerin Antidiyabetik, Anti-tirozinaz, Antioksidan ve Sitotoksik Etkisinin Araştırılması. *KSÜ Tarım ve Doğa Derg 27* (Ek Sayı 1), 185-193. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.1463666.
- To Cite:** Paşayeva, L., Kıcalı, S & Karaboğa Arslan, A. K. (2024). Investigation of the Antidiabetic, Antitrosinase, Antioxidant and Cytotoxic Effects of Different Extracts Prepared from *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. plant *KSU J. Agric Nat 27* (Suppl 1), 185-193. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.1463666.

GİRİŞ

Diyabet dünya genelindeki başlıca sağlık sorunlarından biri olup insülin salgısındaki bozukluklardan, insülin etkisinden veya her ikisinden kaynaklanan hiperglisemi ile karakterize metabolik hastalıklardan biridir (Association, 2010; Petersmann ve ark., 2018). Diyabet tedavisinde temel yaklaşım yaşam tarzı değişikliği, artan fiziksel aktivite ve besin alınımına dikkat edilmesidir. Mevcut olan tedavi yaklaşımlarında oral antidiyabetik ajanlar, insülinler ve insülin analogları, sülfonilüreler, glinidler, biguanidler, glitazonlar (tiazolidindionlar) ve glikozidaz inhibitörleri bulunmaktadır (Skyler, 2004). Diyabet hastalarındaki temel amaç erken postprandial hiperglisemiyi azaltmak, geç postprandial hiperglisemiyi kontrol altına almaktır. Bu kontrolü sadece diyetle kontrol altına alamayan kişilerde karbonhidrat absorpsiyonunu yavaşlatacak ajanların etkili olması mümkündür. Bu nedenle gastrointestinal sistemdeki enzimlerin aktivitesini geçici olarak inhibe edebilen ilaçların postprandial glikoz yükselmeleri üzerinde etkili olması beklenir. Bu duruma bağlı olarak α -glikozidaz ve α -amilaz enzim inhibitörleri diyabetik hipergliseminin düzenlenmesinde etkili bir ilaç grubu olarak geliştirilmişlerdir. Bu grup ilaçlar, insülin sekresyonu ve insülin etkisi üzerinde doğrudan etkileri olmayıp, daha çok lokal etkileri ile glikozun absorpsiyonunu yavaşlatarak dolaylı yoldan hipergliseminin önlenmesine yardımcı olurlar (Skelin ve ark., 2010).

Tirozinaz melanin sentezinde yer alan bir enzimdir. Melanin sentezi yoluyla hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri gibi yüksek ara reaktif molekülleri üretilir. Bundan dolayı, tirozinaz inhibitörlerinin, antioksidan özellikleri ve anti-tirozinaz aktivitelerine dayanarak cilt beyazlatma ve cilt kanserinde kozmetik ve klinik olarak faydalı olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca son zamanlarda yüksek tirozinaz inhibitörü aktivitesinin Parkinson hastalığının tedavisinde uygulanması da dikkat çekmektedir (Kaewnarin ve ark., 2016; Nanok & Sansenya, 2020).

İnsanlığın çeşitli rahatsızlıklarının tedavisinde tıbbi bitkileri kullanımının tarihi eskiye dayanmaktadır. Günümüzde bu tedavi yaklaşımlarının bilimsel temele

oturtulması amaçlı yapılan çalışmalar hız kazanmaktadır. Özellikle halk arasında kullanımı olan bitkiler bu açıdan önem taşımaktadır (Arıtuluk, 2012; Güven & Gülçin, 2020).

Dikenli incir (*O. ficus-indica* (L.) Mill.) Akdeniz ve Ege bölgelerinin özellikle kıyı şeridinde doğal olarak yetişebilme yeteneğine sahip olup Cactaceae familyasına ait bir bitkidir. Yetiştirildiği bölgeye göre "hint inciri, papaz yemişi, frenk inciri, dikenli incir ve babutsa" gibi farklı yerel isimlerle anılmaktadır. Dikenli incirin vatanı Meksika olmakla birlikte genel olarak Akdeniz Bölgelerinde yaygın olan ve günümüzde pek çok ülkede kendiliğinden ya da kültüre alınarak yetiştirilmektedir. Kurak iklimlerin yanında daha çok subtropik iklim özelliklerine sahip olan bölgelerde yaygın olarak görülmektedir. Dikenli incire yol kenarlarında, tarım arazilerinin ya da konutların etraflarında rastlama olasılığı oldukça yüksektir (Dumanoglu ve ark., 2020). *O. ficus-indica* bitkisinin doğal olarak yetiştiği iller arasında Mersin, Adana, Osmaniye yer almaktadır. Bitkinin halk arasında farklı kısımlarının spazm çözücü, yumuşatıcı, idrar söktürücü olarak kullanıldığı bilinmektedir. Çiçeklerinde gözlenen astrenjan özelliğinden dolayı kanamaları azaltmak için kullanımı mevcuttur. Dikenli incirin meyve ve gövdesinin geleneksel olarak diyabet tedavisinde, çiçeklerinin ise prostat tedavisinde halk tarafından kullanıldığı bildirilmiştir (Saenz, 2000).

Bu çalışma kapsamında *O. ficus-indica* bitkisinin meyve kısımlarından ekstre verimi ve fenolik bileşikleri daha yüksek oranda elde etmek amaçlı maserasyon ve ses dalgaları-destekli sıvı ekstraksiyonu metotları kullanılarak %70'lik metanol ekstresi hazırlanmış ve bu ekstrelerin α -amilaz, α -glikozidaz, tirozinaz enzimlerini inhibisyon etkisi, antioksidan kapasite ve sitotoksik etkisi incelenmiştir.

MATERYAL ve METOD

Bitkisel materyal ve ekstraksiyon

Çalışmada kullanılan *O. ficus-indica* bitkisinin meyve kısmı (OF) Mersin'in Silifke ilçesi civarından (Karahacılı köyü 165m) 2022 yılında toplanmıştır. Toplanan bitkisel materyal gölgeli ve havalı ortamda 1

hafta süreyle kurutulmuş değirmen yardımıyla toz edildikten sonra %70'lik metanol ile oda sıcaklığında maserasyon (Atiya ve ark., 2023) ve ultrasonik banyoda %50 sonikasyon amplitudu ve 30 dk süreyle ses dalgaları-destekli sıvı ekstraksiyonu yöntemiyle (Gouws ve ark., 2019) ekstre edilmiştir. Ekstreler daha sonra süzgeç kâğıdı yardımıyla süzülerek çözücüsü Rotary evaporatörde 38 °C'de düşük basınç altında uçurulmuştur. Sonuç olarak maserasyon yöntemiyle OFM ekstresi, ve ses dalgaları-destekli sıvı ekstraksiyonu yöntemi ile OFU ekstresi elde edilmiştir. Kuruluğa kadar uçurulan ekstreler Labconco 7750020 cihazı kullanılarak -51°C sıcaklık ve 0,018 mBar basınç altında liyofilize edilerek çalışmalara bu ekstreler üzerinden devam edilmiştir. Çalışma anına kadar ekstreler -20°C'de saklanmıştır.

Enzim inhibitör aktivite testleri

Ekstrelerin α -amilaz ve α -glukozidaz inhibe edici etkisi Paşayeva ve ark. 2021 metoduna göre yapılmıştır (Paşayeva ve ark., 2021). Her iki deneyde akarboz referans madde olarak kullanılmış ve ekstreler olmaksızın kontrol hazırlanarak her deney üçlü tekrar halinde yapılmıştır. Çalışma kapsamında ekstrelerin tirozinaz enzimi inhibisyon etkisinin incelenmesi amacıyla hem OFM hem de OFU ekstrelerinin farklı konsantrasyonları hazırlanarak mikroplate 20 μ l olarak tatbik edilmiştir (Paşayeva ve ark., 2021). Daha sonra 20 μ l enzim çözeltisi (250 U/ml) ve 100 μ l fosfat tamponu çözeltisi (100 μ M, pH 6.8) eklenerek 25°C'de 10 dk inkübe edilmiştir. Devamında 20 μ l substrat çözeltisi (L-tirozin 3mM) ilave edilerek 30 dk daha inkübasyon yapılmıştır. Sonuçlar 492 nm'de mikroplak okuyucuda okunmuştur. Deneyde pozitif kontrol olarak kojik asit kullanılmıştır. Ekstreler olmaksızın kontrol hazırlanarak her deney üçlü tekrar halinde yapılmıştır.

Ekstrelerin kimyasal bileşimi

Toplam fenolik madde (TPC) ve toplam flavonoid miktarı (TFC)

Ekstrelerin içerdikleri toplam fenolik madde ve toplam flavonoid miktarı Fatullayev ve ark. (2023)'nın çalışmalarında kullandıkları metot kullanılarak yapılmıştır (Fatullayev ve ark., 2023). Ekstrelerin TPC miktarını belirlemek için 1 ml distile su içeren 25 mL'lik kap içerisine 1 ml örnek çözelti ve 1 ml Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edilmiştir. 5 dakika karanlıkta bekletildikten sonra 10 mL %7'lik Na₂CO₃ 25 mL'ye su ile tamamlanmıştır. Kontrol olarak ekstre içermeyen reaktif karışımı kullanılmıştır. 25 °C'de 90 dk inkübe edildikten sonra 750 nm'de absorbansı ölçülmüş ve gallik asit kalibrasyon eğrisi ile karşılaştırılmıştır. Toplam fenolik madde miktarı gallik asite eşdeğer olarak hesaplanmıştır.

Çalışma kapsamında ekstrelerin TFC değerlerini belirlemek için, 1 mL ekstre t=0. dakikada 4 mL su ve

0.3 mL %5'lik NaNO₂ çözeltisi ile karıştırılmış ve 5 dakika bekletilmiştir. t=5. dakika'da 0.3 mL % 10'luk AlCl₃.6H₂O çözeltisi ilavesinden sonra, t=6. dakika'da 2 mL 1 M NaOH çözeltisi eklenmiş ve toplam hacim 10 mL'ye su ilave edilerek tamamlanmıştır. 510 nm'de köre karşı absorbans ölçülmüştür. Ekstrelerin içerdikleri toplam flavonoid miktarları katesine eşdeğer olarak mg CE/g_{ekstre} olarak hesaplanmıştır.

Antioksidan kapasite tayini

Bu çalışmada ekstrelerin antioksidan etkileri DPPH ve ABTS yöntemleri ile gerçekleştirilmiştir (Paşayeva ve ark., 2022).

Ekstrelerin DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) radikalini süpürücü etki tayini için 50 μ L numune çözeltisi, 950 μ L Tris-HCl tamponu (50 nM, pH 7,4) ve 1mL 0,1 mM metanolde hazırlanmış DPPH çözeltisi ile karıştırılmıştır. Kontrol olarak ekstre içermeyen reaktif karışımı ve pozitif kontrol olarak BHA kullanılmıştır. Oda sıcaklığında ve karanlıkta 30 dakika inkübe edildikten sonra absorbanslar 517 nm'de okunmuştur.

Çalışma kapsamında ekstrelerin ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit) radikalini süpürücü kapasitesini belirlemek amacıyla ABTS radikali (7 mM), ABTS' in sulu çözeltisi ile K₂S₂O₈ (2.6 mM, son konsantrasyon)' un karanlıkta 12 saat bekletilmesiyle hazırlanmış ve absorbansı oda sıcaklığında 734 nm'de 1.1 ± 0.02 olacak şekilde ayarlanmıştır. Bu şekilde hazırlanan radikal çözeltisi (2850 μ L) ile numune çözeltisi (150 μ L) karıştırılarak oda ısısında 30 dk. inkübe edilmiştir. Adsorbanslar 734 nm'de ölçülerek inhibisyon yüzdeleri Troloks'a eşdeğer olarak (TEAC) hesaplanmıştır.

Hücre kültürü

Çalışma kapsamında RL95-2 (ATCC, CRL-1671™) hücreleri %5 CO₂ ve 37 °C sıcaklıktaki inkübatörde inkübe edilerek, %10 (h/h) fetal sığır serumu (FBS), 200 mM L-glutamin, %1 (h/v) penisilin-streptomisin ve 0.005 mg/ml insülin içeren DMEM:F12 besiyeri ile A549 (ATCC, CCL-185™) ise %10 (h/h) FBS ve %1 (h/v) penisilin-streptomisin içeren F-12K hücre medyumunda çoğaltılmıştır. Çoğalmakta olan hücre pasajları, %70-80 doygunluğa ulaşıncaya yeniden pasajlanmıştır. Pasaj alınırken %0.25 tripsin-EDTA solüsyonu uygulanmış ve 3-4 dk. süreyle inkübatörde bırakılmıştır. Hücre sayım cihazı kullanılarak tripan mavisi ile hücre sayımı yapılmıştır (Karaboğa Arslan ve ark., 2018).

MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)2,5-difenil tetrazolyum bromür) testi

Tetrazolyum bazlı kolorimetrik analiz olan MTT yöntemi, *in vitro* hücre canlılığının belirlenmesinde kullanılan bir sitotoksikite testidir (Ferrari ve ark.,

1990). Bu çalışmada OFM ve OFU ekstralarının RL95-2 (insan endometriyum kanser hücre hattı) ve A549 (insan akciğer kanseri hücre hattı) kanser hücrelerinin canlılığını azaltıcı etkisi MTT yöntemi ile belirlenmiştir. Bunun için öncelikle OFM ve OFU ekstraları DMSO içerisinde çözülerek stok çözelti oluşturulmuştur. Hücreler 10.000 hücre/kuyu olacak şekilde ekilmiş ve 24 saat sonra hücrelere OFM ve OFU ekstralarının farklı konsantrasyonları (0, 3, 10, 30, 45, 60, 90, 140, 180, 240, 300 ve 400 µg/ml) uygulanmıştır. Hücreler, 96'lı plakının her bir kuyusuna 0.5 g/ml MTT eklenerek 37°C'de 2 saat inkübe edilmiştir. Kuyucuklarda oluşan formazan tuzu kristallerini çözmek için 100 µL dimetilsülfoksit (DMSO) uygulanarak mikropilaya okuyucuda 570 nm'de absorbanlar ölçülmüştür. OFM ve OFU'nun uygulandığı kuyuların absorbanları kontrol absorbanına bölünerek % canlılık üzerinden hesaplama yapılmıştır.

İstatistiksel analiz

Hücre kültürü çalışma gruplarından elde edilen sonuçlar, GraphPad Prism 8.3.0 (San Diego-California, ABD) yazılımı kullanılarak analiz edilmiştir. Sonuçların analizinde, deney ve kontrol grupları arasındaki anlamlılığı saptamada farklılıklara uygun olarak tek yönlü varyans analizi ile istatistiksel farklılığa sahip parametreleri saptamada post-hoc test olarak Dunnet testi kullanılmıştır. Veriler, 3 ayrı deneyden hesaplanan ortalama ± ortalamanın standart hatası olarak verilmiştir.

Enzim inhibisyon ve antioksidan etki testlerinde ölçümler üçer kez yapılarak sonuçlar ortalama ± standart sapma cinsinden ifade edilmiştir (Paşayeva ve ark., 2022).

BULGULAR ve TARTIŞMA

Enzim inhibitör aktivite test sonuçları

Ekstrelerin α-amilaz, α-glikozidaz ve tirozinaz enzimi inhibitör aktivitesi sonuçları Çizelge 1. ve Şekil 1'de verilmiştir. Tüm bulgular değerlendirildiğinde ekstralar arasında OFU ekstrasının α-amilaz (IC₅₀=395.123±3.477 µg ml⁻¹) ve tirozinaz enzimi üzerinde inhibisyon etkisinin (IC₅₀=551.633±1.159 µg ml⁻¹) diğer ekstreye göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Çalışılan ekstralar birbiri arasında ve referans maddeler (akarboz ve kojik asit) ile istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş (sırasıyla, P=0.049 ve P=0.041) ve ekstralardan hiçbirinin α-glikozidaz enzimi üzerinde inhibisyon etkisinin olmadığı görülmüştür.

TPC ve TFC sonuçları

Çalışma kapsamında iki farklı yöntemle hazırlanan ekstralardan ses dalgaları-destekli sıvı ekstraksiyonu ile hazırlanan OFU ekstrasının daha yüksek ekstre verimine sahip olduğu bulunmuştur (%35) (Çizelge 2.).

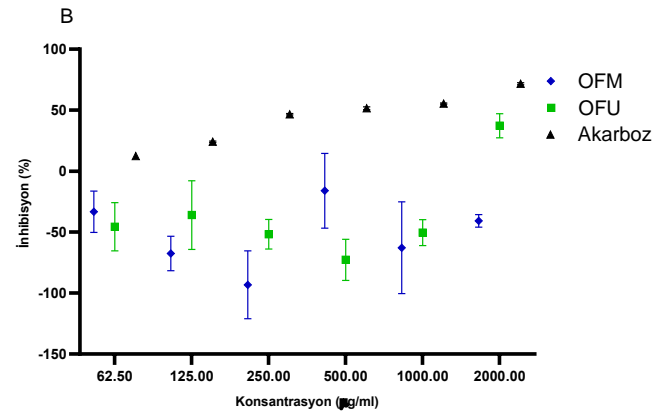
Bunun dışında ekstralardan OFU ekstrasında toplam fenolik madde ve flavonoid miktarının da sırasıyla 181.189±4.576 mg_{GAE}/g_{ekstre} ve 125.635±1.946 mg_{CA}/g_{ekstre} olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 1. Ekstrelerin enzim inhibitör etkisine ait IC₅₀ değerleri

Table 1. IC₅₀ values of the enzyme inhibitory effect of extracts

Ekstreler	α-amilaz (IC ₅₀ µg/ml)	Tirozinaz (IC ₅₀ µg/ml)
OFU	395.123±3.477 ^a	551.633±1.159 ^a
OFM	802.101±2.128 ^b	741.267±2.285 ^b
Akarboz	228.367±2.318 ^c	-
Kojik asit	-	34.997±1.963 ^c

Değerler mean±SD (n=3) şeklinde ifade edilmiştir. Her sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.



Şekil 1. OF ekstralarının α-glikozidaz inhibitör etkisinin tayini. Ortalama ± SS olarak verilen değerler ±%95 güven aralığında belirtilmiştir.

Figure 1. Determination of the α-glycosidase inhibitory effect of OF extracts. Values are expressed as the mean ± SS and stated within ±95% confidence

Antioksidan etki sonuçları

Bu çalışmada ekstraların antioksidan etkisi ABTS ve DPPH yöntemleri ile ölçülmüş ve sonuçlara göre OFU ve OFM ekstralarının yalnızca ABTS deneyinde birbirine yakın değerlerle (sırasıyla, 0.522±0.041 ve 0.555±0.028 µM_{Trolox}/g_{ekstre}) radikal süpürücü etki gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 2.). Ekstrelerin standart madde olarak kullanılan BHA ile istatistik olarak anlamlı olduğu görülmüştür (sırasıyla, P=0.026 ve P=0,032). Çalışma kapsamında ekstralardan hiçbirinin DPPH radikal süpürücü etki deneyinde etkili olmadığı belirlenmiştir (Şekil 2.).

MTT sonuçları

Çalışmada RL95-2 ve A549 hücrelerinde 48 saat sonra artan konsantrasyonlarda (0, 3, 10, 30, 45, 60, 90, 140, 180, 240, 300 ve 400 µg/ml) OFM ve OFU'nun canlılığa

etkisi değerlendirilmiştir. Sonuç olarak OFM ve OFU ekstraktlarının RL95-2 hücre canlılığını en yüksek konsantrasyon olan 400 µg/ml'de sırasıyla %73.33'e ve %74.98'e düşürdüğü görülmüştür (Şekil 3a.). Bunun

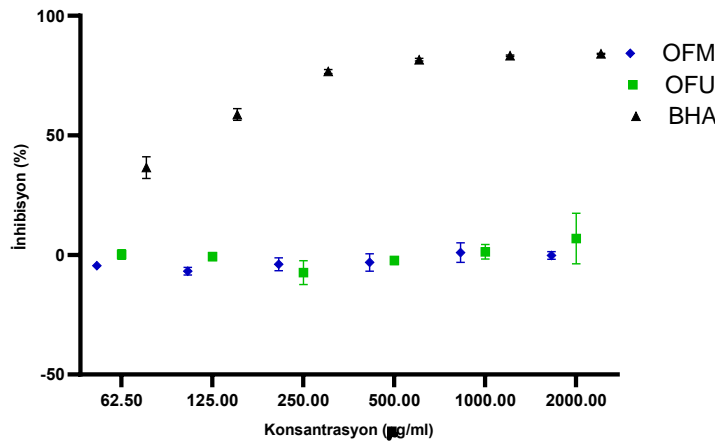
dışında ekstraktlardan OFM ekstraktının A549 hücre canlılığını en yüksek konsantrasyon olan 400 µg/ml'de %83.49'e, OFU ekstraktının ise %89.63'e düşürdüğü bulunmuştur (Şekil 3b).

Çizelge 2. Ekstrelerin antioksidan etki sonuçları

Table 1. Antioxidant effect results of extracts

Ekstreler	TPC (mg _{GAE} /g _{ekstre})	TFC (mg _{CA} /g _{ekstre})	ABTS (µM Trolox/g _{ekstre})	Ekstre verimi (%)
OFU	181.189±4.576	125.635±1.946	0.522±0.041 ^c	%35
OFM	156.471±0.908	111.734±0.554	0.555±0.028 ^{b,c}	%20
BHA	-	-	9.871±0.019 ^a	

Değerler mean±SD (n=3) şeklinde ifade edilmiştir. Her sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.



Şekil 2. OF ekstraktlarının DPPH inhibitör etkisinin tayini.

Figure 2. Determination of the DPPH inhibitory effect of OF extracts.



Şekil 3. OFM ve OFU'nun 3-400 µg/mL arasındaki konsantrasyonlarının 48 saatlik inkübasyon süresinde (a) RL95-2 ve (b) A549 hücre canlılığına etkisi. Gruplar kontrole göre kat değişimi olarak verildi (n=3). Sonuçlar, ortalama ± ortalamanın standart hatası olarak sunuldu.

Figure 3. Effect of OFM and OFU concentrations between 3-400 µg/mL on (a) RL95-2 and (b) A549 cell viability during 48 hours of incubation period. Groups are presented as fold change compared to the control (n=3). Results are presented as mean ± standard error of the mean.

Literatürde *O. ficus-indica* bitkisinin farklı kısımları ile yapılan antidiyabetik etki çalışmaları bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada bitkinin tohumlarından elde edilen yağın alloksanla indüklenmiş diyabetik farelerde koruyucu etkisi incelenmiş ve yağın 2 mL/kg dozuyla tedavi edilen farelerde alloksan kaynaklı ölüm ve hiperglisemi önemli ölçüde azalttığı bulunmuştur (Berraaouan ve

ark., 2015). Bir başka çalışmada bitkinin meyve ve etli gövdesinden hazırlanan su ekstresi streptozotisin ile indüklenen yüksek yağlı diyetle beslenen diyabetik sıçanlara oral yolla verilmiş ve sonuç olarak ekstrenin kan glukoz düzeylerini önemli ölçüde azalttığı ve α-glikozidaz enzimini 67.33 µg/ml IC₅₀ değeri ile inhibe ettiği görülmüştür (Hwang ve ark., 2017). Diğer bir çalışmada *O. ficus-indica* bitkisinin kladodlarından

hazırlanan su ekstresi ve tescilli gövde/meyve kabuğu karışımının (75/25 oranında) kan glukoz düzeyleri ve plazma insulin seviyelerine etkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak 6–176 mg/kg dozda oral yolla verilen su ekstresinin kan glukoz düzeylerini ve plazma insulinini azalttığı görülmüştür (Butterweck ve ark., 2011). Ydjedd ve ark. (2021) yaptığı bir çalışmada *O. ficus-indica* bitkisinin kırmızı ve sarı varyetelerinden elde edilen betalain ekstresinin α -amilaz inhibitör etkisi araştırılmış ve sarı varyetenin su ekstresi ve kırmızı varyetenin metanol ekstresinin güçlü inhibitör etkiye sahip olduğu bulunmuştur (sırasıyla, %57.28 ve %43.52). Bunun yanında yapılan farklı klinik çalışmalarda bitkinin gövdesinden hazırlanan preparatların tip 2 diyabetli hastalarda kan glukoz seviyelerini önemli ölçüde azalttığı kaydedilmiştir (Fрати ve ark., 1990; López-Romero ve ark., 2014). Diğer bir çalışmada bitkinin meyve kabuklarından farklı çözücüler ve ekstraksiyon yöntemleri kullanarak hazırlanan ekstrelerin anti-tirozinaz etkisi değerlendirilmiştir. Sonuç olarak Soxhlet yöntemi ve metanol ile elde edilen ekstrenin antitirozinaz etkisi %72 inhibisyon değeri ile diğerlerine göre daha yüksek bulunmuştur (Atiya ve ark., 2023). Tunus menşeli *O. ficus-indica* bitkisinin çiçeklerinden farklı çözücülerle elde edilen ekstrelerin tirozinaz enzimi üzerine inhibisyon etkisinin incelendiği bir çalışmada ise aseton ekstresinin diğer ekstrelerden daha etkili olduğu bulunmuştur ($IC_{50}=0.285 \pm 0.03$ mg/ml) (Masmoudi ve ark., 2024). Bu verilerden yola çıkarak OFU ekstresinin hipoglisemik etkisinin literatür verileri ile örtüştüğü halde anti-tirozinaz etkisinin literatür verilerinden daha düşük bulunmasının sebebinin ekstraksiyon yöntemi, bitkinin yetiştiği koşullar ve bitki türü ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

O. ficus-indica bitkisinin sitotoksik etkisinin incelendiği çalışmalar değerlendirildiğinde çeşitli kanser hücre hatlarında bitkinin farklı ekstrelerinin incelendiği ancak OFU ekstresinde de olduğu gibi sitotoksik etki bulunamadığı görülmüştür. Bir çalışmada Meksika *O. ficus-indica* bitkisinden elde edilen meyve suyunun MCF-7, PC-3 ve HepG2 kanser hücre hatlarında hücre canlılığını sırasıyla %7.6, %5.1 ve %12.6 oranda indirdiği görülmüştür (Chavez-Santoscoy ve ark., 2009). Serra ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada Portekiz orijinli bitkinin meyve suyunun HT29 hücre hattında denenen bütün konsantrasyonlarda anti-proliferatif etki gösterdiği bildirilmiştir (%2-20) (Serra ve ark., 2013). Ayrıca *O. ficus-indica* sarı meyve kısımlarından elde edilen su ekstresinin insan kolon kanseri hücrelerinde canlılığı %50 oranında (Naselli ve ark., 2014), Mısır menşeli bitkinin meyve kabuğu ve etli kısmından hazırlanan etanol ekstresinin HepG2, Caco-2 ve MCF-7 kanser hücre hatlarında canlılığı artan konsantrasyonlarda indirdiği görülmüştür (El-Beltagi ve ark., 2019). Yapılan bir doktora tezi kapsamında *O. ficus-indica*

bitkisinden elde edilen meyve suyu, posası ve kladotları kimyasal içerik ve aktivite yönünden incelenmiştir. Çalışma kapsamında bitkiden elde edilen ana ekstre ve izole edilmiş bileşiklerin (flavonol aglikonu, izoramnetin glikoziti) antioksidan aktiviteleri, sitotoksik, antidiyabetik ve antiobezite etkileri çalışılmıştır. Sonuçlar olarak DPPH radikaline karşı hem ekstrenin hem de bileşiklerden izoramnetin glikozitinin antioksidan aktivite gösterdikleri, sitotoksik açıdan kullanımlarının doza bağlı olarak güvenli olduğu, antidiyabetik ve antiobezite etkilerinin ise istatistiksel olarak anlamlı çıktığı bulunmuştur (Keleş, 2023).

Literatürde dikenli incirin meyve kabuğu ve etli kısmıyla ilgili çok sayıda antioksidan çalışması bulunmaktadır. Genel olarak, dikenli incir meyvelerinin, süperoksit radikalleri, hidrojen peroksit, hidroksil radikalleri ve tekli oksijen dahil olmak üzere serbest radikal türlerine karşı yüksek bir antioksidan kapasite sergilediği bilinmektedir (Giraldo-Silva ve ark., 2023). Bununla ilgili yapılmış bir çalışmada bitkinin farklı lokasyonlardan toplanan meyvelerinden hazırlanan metanol ekstrelerinin DPPH radikal süpürücü etki değeri %52-59 arasında bulunmuşken (Belviranlı ve ark., 2019) bir başka çalışmada meyve kısmından elde edilen metanol ekstresinin DPPH radikal süpürücü etki değeri 6.70 μ M Troloks/g m.a., ABTS radikal süpürücü etki değeri ise 5.22 μ M Troloks/g m.a. olarak belirlenmiştir (Fernández-López ve ark., 2010). Ayrıca diğer bir çalışmada bitkinin meyve kısmından elde edilen metnaollü sulu ekstresinin 2.32-2.88 mg/ml oranında, bir başka çalışmada ise 0.5 mg/ml konsantrasyonda DPPH radikal süpürücü etkisi %71.6 olarak bulunmuştur (Ishtiaque ve ark., 2014; Siriwardhana ve ark., 2006). Bunun dışında El Mannoubi'nin (2021) yaptığı çalışmada sarı meyveden elde edilen aseton fraksiyonunun radikal süpürücü etkisi DPPH deneyi için 784 μ g/ml EC_{50} değeri olarak bulunduğu halde ABTS antioksidan etki deneyi için ise 40 μ g/ml olarak bulunmuştur. Bulunan bu sonuçların OFU ekstresinin antioksidan etkisini destekler nitelikte olduğu görülmektedir.

Antioksidan etkinin genellikle farklı ekstrelerde bulunan askorbik asit, tokoferol, glutatyon, karotenoidler ve fenolik bileşiklerle ilişkili olduğu bilinmektedir (Krishnaiah ve ark., 2011). Yapılan güncel literatür taraması sonucunda farklı ekstraksiyon yöntemlerinin kullanılmasının dikenli incir meyvelerinin TPC verimi üzerinde doğrudan etkisi olduğu kanısına varılmıştır (Cano ve ark., 2019; Zeghad ve ark., 2019). Şöyle ki yapılan bir çalışmada fırında kurutulmuş meyve kabuğunun TPC değerlerinin varyeteye bağlı olarak 1.7 ile 2.4 gGA/100g_{ekstre} arasında değiştiği görülmüştür (Bourhia ve ark., 2020). Bir başka çalışmada yüksek hidrostatik basınca (HHP) maruz bırakılan Meksika meyvesinin kabuk ve etli kısmının TPC değerinin 11

ila 4 gGA/g_{ekstre} (Gómez-Maqueo ve ark., 2020), Meksika yeşil ve kırmızı meyve kabuklarının ise 648 ila 734 mg GA/100 g_{ekstre} arasında değişen TPC değerlerine karşılık geldiği görülmüştür (Manzur-Valdespino ve ark., 2020). Dört farklı kurutma tekniğinin (dondurarak kurutma, mikrodalgada kurutma, 35 ve 55°C'de fırında kurutma) kullanıldığı bir çalışmada ise Avustralya dikenli incirinin meyve kısımları kullanılmış ve sonuç olarak dondurarak kurutma tekniğinin sonucunda en yüksek TPC değeri elde edildiği gösterilmiştir (Gouws ve ark., 2019). Yapılmış olan bu çalışmada *O. ficus-indica* türünün ses dalgaları destekli-ekstraksiyon yöntemi ile hazırlanan ekstresinin hem fenolik madde hem de flavonoid içeriğinin zengin olduğu, dolayısıyla da bu bitkinin meyvelerinden fenolik ve flavonoid bileşiklerini elde etmek için en uygun ekstraksiyon yönteminin ses-dalgaları destekli ekstraksiyon olduğu düşüncesine varılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre OFU ve OFM ekstresinin ABTS antioksidan testinde daha iyi etki gösterirken DPPH testinde bu etkinin görülebilmesi ekstrelerin sadece hidrofobik antioksidan sistemlerinde değil, aynı zamanda hidrofobik antioksidan sistemlerinde de değerlendirilebileceğini göstermekle birlikte bu etkinin sadece flavonoidlerden değil flavonoid yapısında olmayan fenolik bileşiklerden kaynaklandığını da ortaya koymaktadır (Floegel ve ark., 2011). Tüm bu verilerden yola çıkarak özellikle halk arasında yaygın olarak kullanımı olan dikenli incirden hazırlanan ekstreler için daha ileri çalışmaların yapılması ve standartize ekstresinin elde edilmesi gerektiği düşünülmektedir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Yapılan çalışma kapsamında *O. ficus-indica* bitkisinin meyve kısmından 2 farklı ekstraksiyon yöntemiyle hazırlanan metanol ekstrelerinin hipoglisemik, antioksidan ve hücre canlılığı üzerine etkileri yanında fenolik madde ve flavonoid içeriği incelenmiştir. Ekstrelerden ses dalgaları-destekli sıvı ekstraksiyonu yöntemiyle hazırlanan ekstrenin daha yüksek miktarda fenolik bileşik taşıdığı (181.189±4.576 mg_{GAE}/g_{ekstre}) görülmüş, aynı ekstrenin α-amilaz (IC₅₀=395.123±3.477 µg ml⁻¹) ve tirozinaz enzimini inhibe edici etkisinin (IC₅₀=551.633±1.159 µg ml⁻¹) ve özellikle ABTS yönteminde antioksidan kapasitesinin 0.555±0.028 µM_{Trolox}/g_{ekstre} değeri ile daha yüksek olduğu bulunmuştur. Böylelikle ses dalgaları-destekli sıvı ekstraksiyonu yöntemiyle hazırlanan ekstrenin daha yüksek miktarda fenolik bileşik taşıması ve hipoglisemik ve antioksidan etkinin de fenolik bileşiklerden kaynaklandığı düşünülmekle birlikte bu bileşiklerin belirlenip standartizasyon çalışmalarının yapılmasına ve etki mekanizmalarının aydınlatılmasına önayak olacağı düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinasyon Birimi tarafından TLO-2023-12968 kodlu proje ile desteklenmiştir.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Arituluk, Z. (2012). Halk arasında diyabete karşı kullanılan bitkiler Türkiye-II. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 32(2), 179-208.
- Association, A. D. (2010). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*, 33(Supplement_1), S62-S69. <https://doi.org/10.2337/dc10-S062>
- Atiya, A., Majrashi, T. A., Begum, M. Y., Abdul Qadir, S. F., Alqahtani, A. S., Ali Alosman, A. S., Alahmari, A. A., Mesfer Al Aldabsh, A. N., Alshahrani, A. T., & Alshahrani, R. R. M. (2023). Influence of solvent selection and extraction methods on the determination of polyphenols, antioxidant, lipoxygenase and tyrosinase inhibition activities of *Opuntia ficus-indica* fruits peel and pulp collected from the Kingdom of Saudi Arabia (KSA). *Nat Prod Res*, 37(3), 514-521. <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.1983571>
- Belviranlı, B., Al-Juhaimi, F., Özcan, M. M., Ghafoor, K., Babiker, E. E., & Alsawmahi, O. N. (2019). Effect of location on some physico-chemical properties of prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L.) fruit and seeds. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(3), e13896.
- Berraaouan, A., Abderrahim, Z., Hassane, M., Abdelkhaleq, L., Mohammed, A., & Mohamed, B. (2015). Evaluation of protective effect of cactus pear seed oil (*Opuntia ficus-indica* L. Mill.) against alloxan-induced diabetes in mice. *Asian Pac J Trop Med*, 8(7), 532-537. <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2015.06.013>
- Bourhia, M., Elmandaoui, H., Ullah, R., Ibenmoussa, S., & Shahat, A. A. (2020). Physicochemical evaluation of the fruit pulp of spp growing in the Mediterranean area under hard climate conditions. *Open Chemistry*, 18(1), 565-575. <https://doi.org/10.1515/chem-2020-0097>
- Butterweck, V., Semlin, L., Feistel, B., Pischel, I., Bauer, K., & Verspohl, E. J. (2011). Comparative evaluation of two different *Opuntia ficus-indica* extracts for blood sugar lowering effects in rats.

- Phytother Res*, 25(3), 370-375. <https://doi.org/10.1002/ptr.3271>
- Cano, M. P., Gomez-Maqueo, A., Fernandez-Lopez, R., Welti-Chanes, J., & Garcia-Cayuela, T. (2019). Impact of high hydrostatic pressure and thermal treatment on the stability and bioaccessibility of carotenoid and carotenoid esters in astringent persimmon (*Diospyros kaki* Thunb, var. Rojo Brillante). *Food Res Int*, 123, 538-549. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.05.017>
- Chavez-Santoscoy, R. A., Gutierrez-Urbe, J. A., & Serna-Saldivar, S. O. (2009). Phenolic composition, antioxidant capacity and *in vitro* cancer cell cytotoxicity of nine prickly pear (*Opuntia* spp.) juices. *Plant Foods Hum Nutr*, 64(2), 146-152. <https://doi.org/10.1007/s11130-009-0117-0>
- Dumanoglu, Z., Güzel, Ü., & Çakır, A. (2020). Doğu Akdeniz bölgesinde yetişen dikenli incir (*Opuntia ficus-indica* L.) tohumlarının bazı fiziksel özelliklerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, (Özel Sayı), 28-33.
- El-Beltagi, H. S., Mohamed, H. I., Elmelegy, A. A., Eldesoky, S. E., & Safwat, G. (2019). Phytochemical screening, antimicrobial, antioxidant, anticancer activities and nutritional values of cactus (*Opuntia ficus indica*) pulp and peel. *Fresenius Environmental Bulletin*, 28(2a), 1545-1562. [ISI>://WOS:000461270800063](https://doi.org/10.1007/s11130-009-0117-0)
- El Mannoubi, I. (2021). Effect of extraction solvent on phenolic composition, antioxidant and antibacterial activities of skin and pulp of Tunisian red and yellow–orange *Opuntia ficus indica* fruits. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(1), 643-651.
- Fatullayev, H., Pasayeva, L., Celik, I., Ince, U., & Tugay, O. (2023). Phytochemical composition, *in vitro* antimicrobial, antioxidant, enzyme inhibition activities, *in silico* molecular docking dynamics simulations of *Centaurea lycaonica*: a computational and experimental approach. *ACS omega*, 8(25), 22854-22865. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c01819>
- Ferrari, M., Fornasiero, M. C., & Isetta, A. M. (1990). MTT colorimetric assay for testing macrophage cytotoxic activity *in vitro*. *J Immunol Methods*, 131(2), 165-172. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(90\)90187-z](https://doi.org/10.1016/0022-1759(90)90187-z)
- Floegel, A., Kim, D. O., Chung, S. J., Koo, S. I., & Chun, O. K. (2011). Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of food composition and analysis*, 24(7), 1043-1048. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.01.008>
- Frati, A. C., Jimenez, E., & Ariza, C. R. (1990). Hypoglycemic effect of *Opuntia-ficus-indica* in non-insulin-dependent Diabetes-Mellitus patients. *Phytotherapy Research*, 4(5), 195-197. <https://doi.org/DOI 10.1002/ptr.2650040507>
- Giraldo-Silva, L., Ferreira, B., Rosa, E., & Dias, A. C. P. (2023). *Opuntia ficus-indica* fruit: a systematic review of its phytochemicals and pharmacological activities. *Plants (Basel)*, 12(3), 543. <https://doi.org/10.3390/plants12030543>
- Gómez-Maqueo, A., Ortega-Hernández, É., Serrano-Sandoval, S. N., Jacobo-Velázquez, D. A., García-Cayuela, T., Cano, M. P., & Welti-Chanes, J. (2020). Addressing key features involved in bioactive extractability of vigor prickly pears submitted to high hydrostatic pressurization. *Journal of food process engineering*, 43(1), e13202. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13202>
- Gouws, C. A., D'Cunha, N. M., Georgousopoulou, E. N., Mellor, D. D., & Naumovski, N. (2019). The effect of different drying techniques on phytochemical content and *in vitro* antioxidant properties of Australian-grown prickly pears (*Opuntia ficus indica*). *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(3), e13900. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13900>
- Güven, L., & Gülçin, İ. (2024). Determination of metabolic profiling by LC-MS/MS, evaluation of antioxidant activities, and enzyme inhibition effects of *Helichrysum plicatum* subsp. *pseudoplicatum*. *KSÜ J. Agric Nat*, 27(3), 501-514.
- Hwang, S. H., Kang, I. J., & Lim, S. S. (2017). Antidiabetic effect of fresh nopal (*Opuntia ficus-indica*) in low-dose streptozotocin-induced diabetic rats fed a high-fat diet. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2017, 4380721. <https://doi.org/10.1155/2017/4380721>
- Ishtiaque, S., Naz, S., Siddiqi, R., Umer Abdullah, S., Khan, K., Ahmed, J., & Badaruddin, M. (2014). Antioxidant activities and total phenolics contents from extracts of *Terminalia catappa*, *Carrisa carandas*, and *Opuntia ficus indica* fruits. *Recent Innovations in Chemical Engineering (Formerly Recent Patents on Chemical Engineering)*, 7(2), 106-112. <https://doi.org/10.2174/2211334707666150306230804>
- Kaewnarin, K., Suwannarach, N., Kumla, J., & Lumyong, S. (2016). Phenolic profile of various wild edible mushroom extracts from Thailand and their antioxidant properties, anti-tyrosinase and hyperglycaemic inhibitory activities. *Journal of Functional Foods*, 27, 352-364. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.09.008>
- Karaboğa-Arslan, A. K., & Yerer, M. B. (2018). α -Chaconine and α -Solanine inhibit RL95-2 endometrium cancer cell proliferation by reducing expression of Akt (Ser473) and ER α (Ser167). *Nutrients*, 10(6), 672. <https://doi.org/10.3390/nu10060672>
- Keleş, H. (2023). *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller Meyveleri Üzerinde Farmakognozik Çalışmalar. (Tez no: 780266). [Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü,

- Farmakognozi Anabilim Dalı]. Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi.
- Krishnaiah, D., Sarbatly, R., & Nithyanandam, R. (2011). A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and bioprocesses processing*, 89(C3), 217-233. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2010.04.008>
- Manzur-Valdespino, S., Ramírez-Moreno, E., Arias-Rico, J., Jaramillo-Morales, O. A., Calderón-Ramos, Z. G., Delgado-Olivares, L., Córdoba-Díaz, M., Córdoba-Díaz, D., & Cruz-Cansino, N. D. (2020). *Opuntia ficus-indica* L. Mill residues—properties and application possibilities in food supplements. *Applied Sciences*, 10(9), 3260. <https://doi.org/10.3390/app10093260>
- Masmoudi, R., Mersni, R., Achour, O., Smaali, I., & Maugard, T. (2024). Phenolic composition and anti-tyrosinase activities of extracts from Tunisian *Opuntia ficus-indica* flowers obtained by different extraction solvents. *Chemistry Africa*, 1-11. <https://doi.org/10.1007/s42250-024-00892-8>
- Nanok, K., & Sansenya, S. (2020). Alpha-glucosidase, alpha-amylase, and tyrosinase inhibitory potential of capsaicin and dihydrocapsaicin. *J Food Biochem*, 44(1), e13099. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13099>
- Naselli, F., Tesoriere, L., Caradonna, F., Bellavia, D., Attanzio, A., Gentile, C., & Livrea, M. A. (2014). Anti-proliferative and pro-apoptotic activity of whole extract and isolated indicaxanthin from *Opuntia ficus-indica* associated with re-activation of the onco-suppressor p16(INK4a) gene in human colorectal carcinoma (Caco-2) cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 450(1), 652-658. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.06.029>
- Paşayeva, L., Fatullayev, H., Celik, I., Unal, G., Bozkurt, N. M., Tugay, O., & Abdellattif, M. H. (2022). Evaluation of the chemical composition, antioxidant and antidiabetic activity of *Rhaponticoides iconiensis* flowers: effects on key enzymes linked to type 2 diabetes in vitro, in silico and on alloxan-induced diabetic rats *in vivo*. *Antioxidants (Basel)*, 11(11), 2284. <https://doi.org/10.3390/antiox11112284>
- Paşayeva, L., Eruygur, N., Ayaz, F., Tugay, O., & Fatullayev, H. (2021). Assessment of the antioxidant and enzyme inhibition activities of *Cousinia iconica* with focus on phytochemical investigation by LC-MS/MS. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 155(6), 1178-1188. <https://doi.org/10.1080/11263504.2020.1829736>
- Petersmann, A., Nauck, M., Muller-Wieland, D., Kerner, W., Muller, U. A., Landgraf, R., Freckmann, G., & Heinemann, L. (2018). Definition, classification and diagnosis of Diabetes Mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 126(7), 406-410. <https://doi.org/10.1055/a-0584-6223>
- Saenz, C. (2000). Processing technologies: an alternative for cactus pear (*Opuntia* spp.) fruits and cladodes. *Journal of Arid Environments*, 46(3), 209-225. <https://doi.org/10.1006/jare.2000.0676>
- Serra, A. T., Poejo, J., Matias, A. A., Bronze, M. R., & Duarte, C. M. M. (2013). Evaluation of *Opuntia* spp. derived products as antiproliferative agents in human colon cancer cell line (HT29). *Food Research International*, 54(1), 892-901. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.08.043>
- Siriwardhana, N., Shahidi, F., & Jeon, Y. J. (2006). Potential antioxidative effects of cactus pear fruit extract on radical scavenging and DNA damage reduction in human peripheral lymphocytes. *Journal of food lipids*, 13(4), 445-458. <https://doi.org/DOI 10.1111/j.1745-4522.2006.00065.x>
- Skelin, M., Rupnik, M., & Cencic, A. (2010). Pancreatic beta cell lines and their applications in Diabetes Mellitus Research. *ALTEX-Alternatives to animal experimentation*, 27(2), 105-113. <https://doi.org/10.14573/altex.2010.2.105>
- Skyler, J. S. (2004). Diabetes mellitus: pathogenesis and treatment strategies. *J Med Chem*, 47(17), 4113-4117. <https://doi.org/10.1021/jm0306273>
- Ydjedd, S., Chaalal, M., Bahri, S., Mokadem, S., & Radji, H. (2021). Antioxidant and α -amylase inhibition activities of prickly pears (*Opuntia ficus indica* L.) betalains extracts and application in yoghurt as natural colorants. *J. Agroaliment. Processes Technol*, 27(2), 140-150.
- Zeghad, N., Ahmed, E., Belkhiri, A., Heyden, Y. V., & Demeyer, K. (2019). Antioxidant activity of *Vitis vinifera*, *Punica granatum*, *Citrus aurantium* and *Opuntia ficus indica* fruits cultivated in Algeria. *Heliyon*, 5(4), 1-19 e01575. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01575>