

几种硫醚类香料诱导 HL-60 细胞毒性的研究

朱俊雅, 张公亮, 贾琼, 崔玉娜, 孙黎明, 侯红漫

(大连工业大学食品学院, 辽宁大连 116034)

摘要: 本研究以 19 种可食用硫醚类香料为原料, 在体外考察其对人白血病细胞 HL-60 的细胞毒性作用, 比较分析其构效关系, 并初步探究其肿瘤细胞毒性机理。用 19 种硫醚类香料处理 HL-60 细胞, 通过 DNA 片段化来考察其对 HL-60 细胞的诱导凋亡作用, 并对其筛选。结果显示, 二糠基二硫醚(DFDS)、双-(2-甲基-3-呋喃基)二硫醚(BMFDS)及甲基 2-甲基-3-呋喃基二硫醚(MMFDS)具有很强的细胞毒性。利用 CCK-8 试剂盒检测, 添加 10 μM 上述三种硫醚类香料使 HL-60 细胞的生存率分别下降 $41.77\pm 1.18\%$ 、 $53.49\pm 2.88\%$ 和 $23.63\pm 0.90\%$ 。通过分析 19 种硫醚类香料的构效关系, 明确硫原子数和呋喃基对硫醚类香料的 HL-60 细胞毒性起重要作用。为了探讨三种硫醚类香料的细胞毒性机理, 采用抗氧化剂谷胱甘肽、N-乙酰半胱氨酸预处理细胞, 进一步检测硫醚类香料对细胞生存率和 DNA 片段化的影响。结果表明, 抗氧化剂对 BMFDS 及 DFDS 诱导的 HL-60 细胞毒性具有显著的保护作用, 说明这两种硫醚类香料可能通过诱导活性氧产生而发挥细胞毒性作用。

关键词: 硫醚类香料; HL-60 细胞; 细胞毒性; DNA 片段化; 细胞生存率

文章编号: 1673-9078(2014)2-42-47

Cytotoxicity Induced by Several Sulfide Flavors in HL-60 Cells

ZHU Jun-ya, ZHANG Gong-liang, JIA Qiong, CUI Yu-na, SUN Li-ming, HOU Hong-man

(School of Food Science and Technology, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China)

Abstract: Cytotoxicity induced by 19 kinds of edible sulfide flavors was investigated in human leukemia HL-60 cells *in vitro*. The structure-activity relationship was analyzed according to the comparative studies, and the mechanism of tumor cytotoxicity was initially studied. The apoptosis induced by sulfide flavors was determined by DNA fragmentation, and sulfide flavors with strong cytotoxicity were selected. The results showed that difurfuryl disulfide (DFDS), bis (2-methyl-3-furyl) disulfide (BMFDS) and methyl 2 - methyl 1 -3- furyl disulfide (MMFDS) induced stronger cytotoxicity in HL-60 cells than the other flavors. In addition of 10 μM DFDS, BMFDS and MMFDS respectively, cell viabilities decreased by $41.77\pm 1.18\%$, $53.49\pm 2.88\%$ and $23.63\pm 0.90\%$, respectively, through using cell counting kit-8 (CCK-8). The number of sulfur atoms and furyl played important roles in cytotoxicity of HL-60 cells. Pretreatment of HL-60 cells with antioxidants of GSH and NAC showed that the antioxidants had significant protective effect on cytotoxicity induced by BMFDS and DFDS in HL-60 cells, which further suggested that BMFDS and DFDS might induce cytotoxicity by ROS production in HL-60 cells.

Key words: sulfide flavor; HL-60 cells; cytotoxicity; DNA fragmentation; cell viability

癌症是威胁人类生命的重大疾患, 是细胞失去控制出现无限制生长的生理现象。随着人类对癌症认识的不断深化, 逐渐意识到肿瘤的化学预防是目前降低癌症发病率最理想的方法之一。世界癌症研究基金会 2011 年 2 月 4 日发布的最新癌症预防数据报告称, 通过健康的生活方式, 每年在中国有 62 万例癌症可以预防。因此, 从健康食品角度出发, 实施肿瘤的化学预防, 对降低癌症发病率和提高治愈效果具有重要意义。

收稿日期: 2013-08-28

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31201419); 辽宁省教育厅科学研究一般项目 (L2012199); 辽宁省高校重大科技平台 (教发[2011]191)

作者简介: 朱俊雅 (1988-), 女, 硕士研究生

通讯作者: 张公亮 (1978-), 男, 博士, 副教授, 研究方向为食品色香味化学

肿瘤的化学预防主要利用天然或合成的化学物质, 延迟正常细胞向肿瘤细胞的发展, 或者抑制恶性细胞的数量并抑制其生长。研究发现, 细胞凋亡是各种抗癌药物引发细胞死亡的主要方式^[1]。细胞凋亡是机体在生长、发育和受外界刺激时, 清除多余、衰老和受损伤的细胞以保持机体内平衡的一种自我调节机制。它不仅在维持细胞群体数量的稳定、胚胎发育等方面具有重要地位, 而且在肿瘤发生、发展、抗肿瘤药物的治疗等方面也具有十分重要的作用。

硫醚类香料 (sulfide flavor) 是可食用含硫香料中品种最多的一类^[2], 我国 GB2760-2011 规定允许使用的硫醚类香料有 40 多种, 其中常见的硫醚类香料近 18 种, 在改善食品风味方面具有重要作用。目前, 关于硫化物抗肿瘤活性研究主要集中在大蒜的活性成

分,以大蒜素的裂解产物烯丙基硫化物为主^[3-5]。以商品化的硫醚类香料为原料,研究探讨其抗肿瘤活性的报到还很少见。本研究的前期结果显示,二甲基三硫醚对人白血病 Jurkat 和 HL-60 细胞所产生的细胞毒性随着硫原子数的增多而增强,并可通过提高 Jurkat 和 HL-60 细胞内活性氧水平,诱导细胞凋亡^[6],这一结果与大蒜提取物二烯丙基三硫作用类似^[7]。因此,作为前期工作的延续,本研究以 19 种可食用的硫醚类香料为原料,在体外考察其对人白血病细胞 HL-60 的细胞毒性作用,比较分析其构效关系,并初步探究硫醚类香料肿瘤细胞毒性机理,为丰富硫醚类香料的功能特性奠定研究基础。

1 材料与方方法

1.1 实验细胞株

人早幼粒白血病 HL-60 来源于大连工业大学细胞

实验室。

1.2 主要试剂

二甲基硫醚、二糠基二硫醚、双-(2-甲基-3-呋喃基)二硫醚、甲基 2-甲基-3-呋喃基二硫醚及二甲基三硫醚等 19 种硫醚类香料购买于美国 Sigma 公司,分子结构见表 1。RPMI 1640 培养基、胎牛血清为美国 Gibco 公司产品,CCK-8 试剂盒(Cell Counting Kit-8)购自日本同仁化工, RNA 酶、蛋白酶 K 购自宝生物工程(大连)有限公司,其他试剂均为生化试剂或分析纯。

1.3 主要仪器

多功能酶标仪(TECAN), CO₂ 培养箱(SANYO), 倒置显微镜、显微镜(日本 OLYMPUS 公司), 凝胶成像仪(DNR Bio-imaging), 超净工作台(哈东联)。

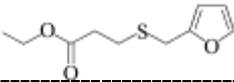
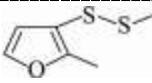
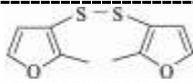
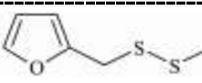
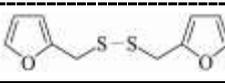
表 1 十九种硫醚类香料的名称及结构

Table 1 Name and structure of 19 kinds of sulfide flavors

试验编号	FEMA 编号	名称	结构	香味特征
1	2746	二甲基硫醚		浆果、洋葱、蔬菜、奶油香气
2	3860	甲基乙基硫醚		蒜、肉、蔬菜、咖啡等香气
3	2042	二烯丙基硫醚		洋葱、大蒜、辣根、小萝卜等香气
4	2215	二丁基硫醚		紫罗兰叶青香、洋葱、辣根、蔬菜等香气
5	2747	3-(甲硫基)丙醛		大蒜、土豆、肉汤等香气及脂肪、牛肉汤味道
6	3201	甲基丙基二硫醚		葱蒜、小萝卜、芥菜、西红柿、土豆等香气
7	3228	二丙基二硫		洋葱、大蒜、青葱等香气和味道
8	2028	烯丙基二硫醚		强烈的洋葱、大蒜、芥末等香气
9	3275	二甲基三硫		洋葱、蔬菜、葱蒜等香气;薄荷和热带水果味
10	2720	3-甲硫基丙酸甲酯		西红柿、洋葱、肉等香气及小萝卜、菠萝味道
11	3343	3-(甲硫基)丙酸乙酯		水果、西红柿等香气;洋葱、大蒜、菠萝味道
12	3949	2-甲基-3-甲硫基呋喃		肉香
13	3161	糠基异丙基硫醚		葱、蒜、咖啡等香气
14	3238	二糠基硫醚		咖啡、肉、蘑菇等香气

转下页

接上页

15	3674	3-糠硫基丙酸乙酯		洋葱、咖啡、蔬菜、坚果等香气
16	3573	甲基 2-甲基-3-呋喃基二硫醚		肉、蔬菜、洋葱等香气
17	3259	双(2-甲基-3-呋喃基)二硫醚		肉香
18	3362	甲基糠基二硫醚		焦香、肉香气
19	3146	二糠基二硫醚		烤香、坚果、咖啡香气

1.4 细胞培养及处理

将人早幼粒白血病 HL-60 常规接种于含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中, 加入青霉素 100 U/mL, 链霉素 100 μg/mL, 置于 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中培养, 取对数生长期的细胞进行试验。

所有硫醚类香料用无水乙醇配置, 密封、避光, 置于 -20 °C 保存备用。试验组用终浓度为 5、10、20、50 μM 的硫醚类香料处理细胞, 对照组用等体积的无水乙醇处理, 乙醇终浓度低于 0.1%。

考察抗氧化剂对硫醚类香料诱导的 HL-60 细胞毒性的影响时, 采用 2~5 mM *N*-乙酰半胱氨酸 (NAC) 和谷胱甘肽 (GSH) 预处理细胞 30 min, 进行 DNA 片段化的检测。对于细胞生存率的测定, 将 GSH 和 NAC 与硫醚类香料共同处理细胞。

1.5 硫醚类香料对 HL-60 细胞 DNA 片段化的诱导作用

参照文献^[8-9]的方法测定。取对数生长期的 HL-60 细胞, 调细胞浓度至 5×10⁵ 个/mL, 接种于 60 mm 培养皿中。添加硫醚类香料后, 将细胞置于 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中培养 24 h。收集细胞, 用 PBS(-) 缓冲液清洗, 离心 (1000 r/min) 去上清, 加入 200 μL 裂解液 (10 mM Tris-HCl, (pH 7.4), 10 mM EDTA, 0.5% Triton X-100), 冰浴 10~15 min, 离心 (12000 r/min) 去沉淀。加入 4 μL RNA 酶 (10 mg/mL) 37 °C 孵育 1 h, 再加入 2 μL 蛋白酶 K (20 mg/mL) 孵育 1 h, 加入 5 M NaCl 40 μL 和异丙醇 240 μL, 强力震荡混合后, -20 °C 放置 2 晚, 离心 (12000 r/min) 得到 DNA 沉淀, 用 70% 乙醇洗涤沉淀, 离心去上清, 加入 10 μL TE 缓冲液溶解沉淀。通过 2% 琼脂糖凝胶电泳, 观察 DNA 片段化情况。

1.6 硫醚类香料对 HL-60 细胞生存率的影响

采用 CCK-8 试剂盒法测细胞生存率, 参照文献^[10-11]的方法。取对数生长期的 HL-60 细胞, 调细胞浓度至 2.5×10⁵ 个/mL, 接种于 96 孔板, 每孔 200 μL, 每组设 6 个平行孔。试验组和对照组按 1.4 中所述方法处理, 置于 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中培养 24 h。每孔加入 10 μL CCK-8 试剂, 震荡均匀, 继续培养 1~2 h。用酶标仪在波长 450 nm 处测其 OD 值, 记录结果, 各组 OD 值取平均值后, 按以下公式计算细胞生存率:

$$\text{细胞生存率}/\% = [(As - Ab)/(Ac - Ab)] \times 100\%$$

注: As 为试验组平均 OD 值; Ac 为对照组平均 OD 值; Ab 为空白组平均 OD 值。

每种硫醚类香料对细胞生存率的影响, 进行 3 次独立试验, 试验结果取其平均值, 并进行标准差的计算。

1.7 统计分析

试验数据以平均值 ± 标准差表示。采用 http://www.physics.csbsju.edu/stats/t-test_bulk_form.html 在线软件进行 student's t 检验, P < 0.05 具有显著性差异。

2 结果与讨论

2.1 硫醚类香料对 HL-60 细胞 DNA 片段化的诱导作用

本研究选用的硫化物涵盖了常见的 18 种硫醚类香料, 它们在结构差异上, 有这样几个特点: 特点一: 硫原子数相同, 侧链结构不同, 例如单硫醚化合物 (1-5), 双硫醚化合物 (6-8); 特点二: 侧链结构相同, 硫原子数不同, 如二甲基硫醚 (1) 和二甲基三硫醚 (9), 2-甲基-3-甲硫基呋喃 (12) 和甲基 2-甲基-3-呋喃基二硫醚 (16), 还有如二糠基硫醚 (14)

和二糠基二硫醚 (19)；特点三：同分异构体，如甲基 2-甲基-3-呋喃基二硫醚 (16) 和甲基糠基二硫醚 (18)，双(2-甲基-3-呋喃基)二硫醚 (17) 和二糠基二硫醚 (19)。

表 2 十九种硫醚类香料对 HL-60 细胞的 DNA 片段化的诱导作用

Table 2 DNA fragmentation induced by 19 kinds of sulfide flavors in HL-60 cells

编号	硫醚类香料	5 μM	10 μM	20 μM	50 μM
1	二甲基硫醚	-	-	-	-
2	甲基乙基硫醚	-	-	-	-
3	二烯丙基硫醚	-	-	-	-
4	二丁基硫醚	-	-	-	-
5	3-(甲硫基)丙醛	-	-	-	-
6	甲基丙基二硫醚	-	-	-	-
7	二丙基二硫醚	-	-	-	-
8	烯丙基二硫醚	-	-	-	-
9	二甲基三硫醚	-	-	+	+
10	3-甲硫基丙酸甲酯	-	-	-	-
11	3-(甲硫基)丙酸乙酯	-	-	-	-
12	2-甲基-3-甲硫基呋喃	-	-	-	-
13	糠基异丙基硫醚	-	-	-	-
14	二糠基硫醚	-	-	-	-
15	3-糠硫基丙酸乙酯	-	-	-	-
16	甲基 2-甲基-3-呋喃基二硫醚	+	+	+	+
17	双(2-甲基-3-呋喃基)二硫醚	+	+	+	+
18	甲基糠基二硫醚	-	-	-	+
19	二糠基二硫醚	+	+	+	+

细胞毒性作用。不同结构的硫醚类香料，对 HL-60 细胞具有不同程度的细胞毒性。

典型的 DNA 片段化结果见图 1~图 3。如图 1 所示，比较二甲基硫醚和二甲基三硫醚：对于 HL-60 细胞 DNA 片段化的诱导作用，可以发现二甲基硫醚未引起 DNA 片段化的形成，而二甲基三硫醚在 20 μM 即可引起 DNA 片段化，这一结果与前期的研究结果一致^[6]。如表 1 所示，其他硫醚类香料也有相同的情况，例如甲基 2-甲基-3-呋喃基二硫醚和 2-甲基-3-甲硫基呋喃，二糠基二硫醚和二糠基硫醚。这些结果说明在侧链结构相同的情况下，硫原子数对硫醚类香料的对 HL-60 细胞毒性的诱导有一定影响。这与 Wu 等人得出的硫原子个数对烯丙基硫化物诱导肺癌细胞凋亡作用的贡献结论相似^[12]。

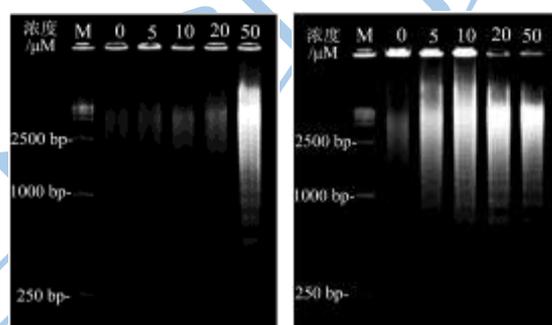


图 2 甲基糠基二硫醚 (左) 甲基 2-甲基-3-呋喃基二硫醚 (右) 对 HL-60 细胞 DNA 片段化的诱导作用

Fig.2 DNA fragmentation induced by methyl furfuryl disulfide (left) and methyl 2-methyl-3-furyl disulfide (right) in HL-60 cells

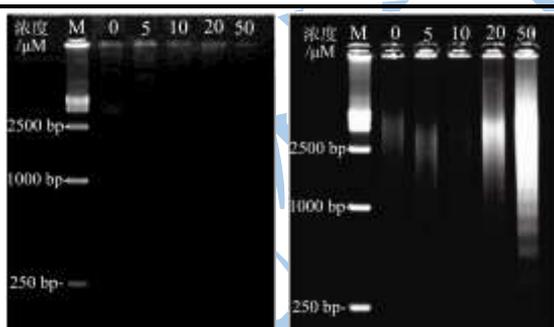


图 1 二甲基硫醚 (左) 二甲基三硫醚 (右) 对 HL-60 细胞 DNA 片段化的诱导作用

Fig.1 DNA fragmentation induced by dimethyl sulfide (left) and dimethyl trisulfide (right) in HL-60 cells

从 DNA 片段化结果 (如表 2) 可以看出，19 种硫醚类香料中，9、16、17、18、19 号 (二甲基三硫醚、甲基 2-甲基-3-呋喃基二硫醚、双 (2-甲基-3-呋喃基) 二硫醚、甲基糠基二硫醚、二糠基二硫醚) 硫醚类香料能引起 HL-60 细胞 DNA 损伤，其中 16、17、19 号这三种硫醚类香料在低浓度下就具有较强的细

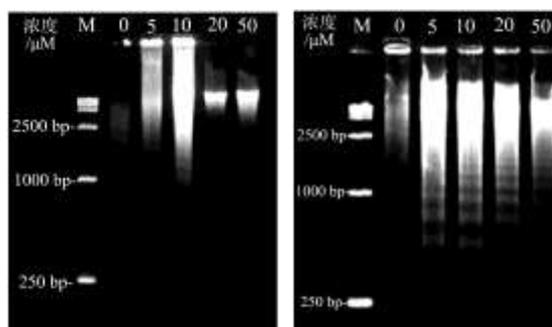


图 3 双 (2-甲基-3-呋喃基) 二硫醚 (左) 和二糠基二硫醚 (右) 对 HL-60 细胞 DNA 片段化的诱导作用

Fig.3 DNA fragmentation induced by bis (2-Methyl-3-furyl) disulfide (left) and difurfuryl disulfide (right) in HL-60 cells

甲基糠基二硫醚和甲基 2-甲基-3-呋喃基二硫醚分子式均为 C₆H₈OS₂，前者-S-S-结构左右两侧连接的都是糠基，而后者-S-S-结构左右两侧连接的均是呋喃基。两种硫醚类香料对 HL-60 细胞都有毒性作用，但是前者在 50 μM 时才能诱导细胞 DNA 片段化，而后者在更低的浓度时即可诱导细胞 DNA 损伤 (见图 2)，

具有更强的细胞毒性作用。双(2-甲基-3-呋喃基)二硫醚和二糠基二硫醚分子式都为 $C_{10}H_{10}O_2S_2$ ，前者-S-S-结构左右两侧连接的都是呋喃基，后者连接的都是糠基。前者对 HL-60 在 $10\mu M$ 时可显著诱导细胞 DNA 损伤，在 $20\mu M$ 时出现细胞坏死现象。后者在 $5\sim 50\mu M$ 都只是引起细胞 DNA 损伤（见图 3）。这些结果说明，在具有相同硫原子的情况下，硫醚类香料侧链取代基团及位置不同，对硫醚类香料引起的 HL-60 细胞 DNA 片段化有重要影响。硫醚类香料结构中呋喃基对 HL-60 细胞毒性作用强于糠基。同样可以证明取代基团及其位置的不同，对硫醚类香料的肿瘤细胞毒性有重要影响。

2.2 硫醚类香料对 HL-60 细胞生存率的影响

选用诱导 HL-60 细胞 DNA 片段化明显的三种硫醚类香料：甲基 2-甲基-3-呋喃基二硫醚（Methyl 2-methyl-3-furyl disulfide, MMFDS），双(2-甲基-3-呋喃基)二硫醚 [Bis (2-Methyl-3-furyl) disulfide, BMFDS] 和二糠基二硫醚（Difurfuryl disulfide, DFDS），考虑到这三种硫醚香料在 $10\mu M$ 时均出现明显的 DNA 片段化，选用 $10\mu M$ 、 $20\mu M$ 这两个浓度进行 HL-60 细胞生存率的考察。

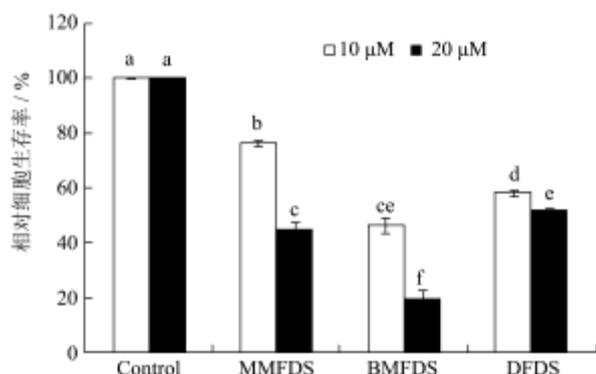


图 4 三种硫醚类香料对 HL-60 细胞生存率的影响

Fig.4 Effect of three kinds of sulfide flavors on cell viability in HL-60 cells

注：N=3(独立实验)，不同字母代表具有显著差异 ($P<0.05$)。

结果如图 4 所示，与对照组相比，三种硫醚类香料均可显著抑制 HL-60 细胞的生长。在浓度为 $10\mu M$ 时，对 HL-60 细胞生长的抑制率为 $BMFDS>DFDS>MMFDS$ ，细胞的生存率分别下降 $53.49\pm 2.88\%$ 、 $41.77\pm 1.18\%$ 和 $23.63\pm 0.90\%$ ；在浓度为 $20\mu M$ 时，对 HL-60 细胞生长的抑制率为 $BMFDS>MMFDS>DFDS$ 。三种硫醚类香料对 HL-60 细胞生存率的抑制均呈现量效关系，在这两个浓度下，BMFDS 都显示出了较强的抑制作用。进一步说明，硫醚类香料的结

构对细胞毒性有较大影响。

对于硫醚类香料侧链基团对其活性的贡献，目前相关报道还很少见。研究人员对不同类型有机硫化物的抗肿瘤活性进行了构效关系研究。Click报道了具有抗肿瘤活性的有毒含硫化合物，如巯基乙醇、巯乙胺、硫代脯氨酸等，提出含硫化合物的结构、处理周期及剂量对这类化合物的活性有一定影响^[13]。Wong等对具有Dyoxysulfone结构的有机硫化物进行了衍生化，并发现新的抗肿瘤硫化物^[14]。针对葱属来源的硫醚类风味物质的构效关系，主要研究与抗肿瘤相关的抗氧化调节活性。如Tsai等发现二硫醚的侧链基团与谷胱甘肽-S-转移酶的表达有密切关系，二烯丙基>二丙基>甲基丙基^[15]。

2.3 硫醚类香料肿瘤细胞毒性机理

前期的研究表明，二甲基三硫醚对 HL-60 细胞毒性是通过活性氧的生成而产生的^[6]。为进一步探究硫醚类香料肿瘤细胞毒性机理，明确活性氧对 MMFDS、BMFDS、DFDS 诱导 HL-60 细胞毒性的贡献。采用 GSH 和 NAC 共同处理 HL-60 细胞，考察这两种抗氧化剂对硫醚类香料诱导 HL-60 生存率下降及细胞 DNA 片段化的影响。GSH 和 NAC 是重要的抗氧化剂，其可以直接与活性氧反应或者间接保护蛋白的半胱氨酸残基被氧化。

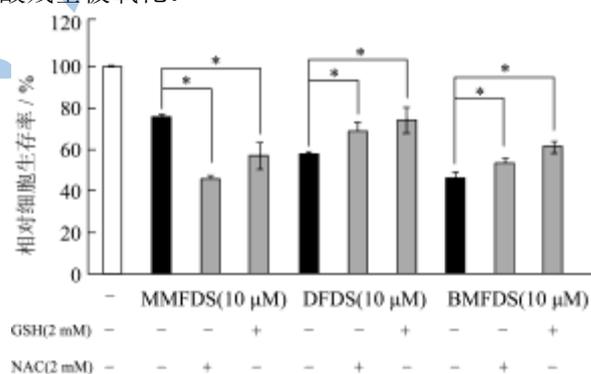


图 5 抗氧化剂对三种硫醚类香料诱导 HL-60 细胞生存率下降的影响

Fig.5 Effect of antioxidant on decrease of cell viability induced by three kinds of sulfide flavors in HL-60 cells

注：N=3(独立实验)，各标注组别之间具有显著差异 ($*P<0.05$)

如图 5 所示，加入 2 mM 抗氧化剂预处理后，结果发现：对于 MMFDS，抗氧化剂加入后细胞生存率反而降低，并未起到保护作用，具体的毒性机理有待进一步研究；而对于 DFDS 和 BMFDS，GSH 和 NAC 均可显著提高细胞生存率，由此推断，DFDS 和 BMFDS 的细胞毒性可能是通过活性氧的产生而发挥

作用的。

如图6所示, DNA片段化的结果进一步证实了上述推测。加5 mM抗氧化剂预处理后, MMFDS的DNA片段化无明显变化。而DFDS和BMFDS两组DNA片段化的程度被抑制, 即抗氧化剂对DFDS和BMFDS引起的肿瘤细胞DNA损伤具有修复作用。说明DFDS和BMFDS的细胞毒性可能是通过活性氧的产生而发挥作用的, 该结果与烯丙基硫醚类化合物通过产生活性氧, 诱导肺癌细胞^[6]和乳腺癌细胞^[7]凋亡的结果一致。

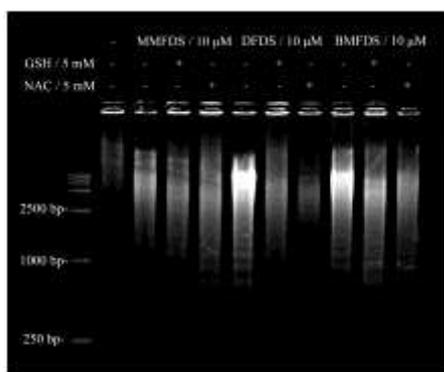


图6 抗氧化剂对三种硫醚类香料诱导HL-60细胞DNA片段化的影响

Fig.6 Effect of antioxidant on DNA fragmentation induced by three kinds of sulfide flavors in HL-60 cells

3 结论

3.1 在19种硫醚类香料中, 甲基-2-甲基-3-咪喃基二硫醚(MMFDS)、双(2-甲基-3-咪喃基)二硫醚(BMFDS)及二糠基二硫醚(DFDS)对白血病HL-60细胞具有较强的细胞毒性作用, 且对HL-60细胞生存率的影响呈现量效关系。

3.2 硫原子数和侧链取代基团对硫醚类香料的肿瘤细胞毒性有重要影响。

3.3 双(2-甲基-3-咪喃基)二硫醚(BMFDS)及二糠基二硫醚(DFDS)可能通过诱导活性氧的产生而发挥肿瘤细胞毒性作用。

参考文献

- [1] 方成,陈钧辉.细胞凋亡与癌症治疗[J].中国生化药物杂志, 2000,21(6):313-315
FANG Cheng, CHEN Jun-Hui. Apoptosis and cancer therapy [J]. Chinese Journal of Biochemical Pharmaceutics, 2000, 21(6): 313-31
- [2] 刘玉平,孙宝国.含硫食用香料的合成及应用中国食品添加剂[J].2003,6:82-84
LIU Yu-Ping, SUN Bao-Guo. The Synthesis and

Application of Sulfur-Containing Flavor [J]. China Food Additives 2003, 6: 82-84

- [3] POWOLNY Anna A, SINGH Shivendra V. Multitargeted prevention and therapy of cancer by diallyl trisulfide and related allium vegetable-derived organosulfur compounds [J]. Cancer Letter, 2008, 269 (2): 305-314
- [4] WANG Hsiao-Chi, PAO Jung, LIN Shuw-Yuan, et al. Molecular mechanisms of garlic-derived allyl sulfides in the inhibition of skin cancer progression [J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2012, 1271: 44-52
- [5] 李清春,张景强,余焕玲.大蒜的抗癌作用[J].中国调味品, 2011,36(2):4-6
Li Qing-Chun, Zhang Jing-Qiang, Yu Huan-Ling. Anticancer effect of garlic [J]. China Condiment, 2011, 36(2): 4-6
- [6] ZHANG Gongliang, WU Haitao, ZHU Beiwei, et al. Effect of dimethyl sulfides on the induction of apoptosis in human leukemia Jurkat cells and HL-60 cells [J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2008, 72: 2966-2972
- [7] 伍尤华,曹校校,张蒙夏,等.二烯丙基三硫诱导人髓样白血病 HL-60 细胞活性氧产生及其细胞毒性作用[J].中国病理生理杂志,2008,24(7):1317-1322
WU You-Hua, CAO Jiao-Jiao, ZHANG Meng-Xia, et al. Production and cytotoxicity of the reactive oxygen species induced by diallyl trisulfide in human myeloid leukemia HL-60 cells [J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2008, 24(7): 1317-1322
- [8] 张铁男,杨巍,刘宁.牛乳铁蛋白素对 Jurkat 细胞和 HFL-1 细胞生物学特性的影响[J].营养学报,2009,31(5):465-467
ZHANG Tie-Nan, YANG Wei, LIU Ning. Impact of bovine lactoferricin on biological features in Jurkat T leukemia cells and HFL-1 cells [J]. Acta Nutrimenta Sinica, 2009, 31(5): 465-467
- [9] SMIN T P, STRAYO De, DEVASAGAYAM T P A, et al. Ganoderma lucidum total triterpenes prevent radiation-induced DNA damage and apoptosis in splenic lymphocytes in vitro [J]. Mutation Research, 2011, 726: 188-194
- [10] 吉晓霞,谭晖,易岚,等.Mcl-1 在二烯丙基二硫诱导人白血病 HL-60 细胞 G2M 阻滞中的作用[J].中国病理生理杂志,2010,26(8): 1457-1463
JI Xiao-Xia, TAN Hui, YI Lan, et al. Mcl-1 involves in G2M arrest of HL-60 cells induced by diallyl disulfide [J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2010, 26(8): 1457-1463
- [11] LOU Jianlin, CHU Guohai, ZHOU Guojun, et al. Comparison between two kinds of cigarette smoke condensates (CSCs) of the cytogenotoxicity and protein

- expression in a human B-cell lymphoblastoid cell line using CCK-8 assay, comet assay and protein microarray [J]. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 2012, 697: 55-59
- [12] WU C C, CHUNG J G, TSAI S J, et al. Differential effects of allyl sulfides from garlic essential oil on cell cycle regulation in human liver tumor cells [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2004, 42(12): 1937-1947
- [13] CLICK Robert E. Anticancer activity and chemoprevention of xenobiotic organosulfurs in preclinical model systems. *Oncology Discovery*. 2013, <http://dx.doi.org/10.7243/2052-6199-1-4>
- [14] WONG W Wei-lynn, BOUTROS Paul C, WASYLISHEN Amanda R, et al. Characterization of the apoptotic response of human leukemia cells to organosulfur compounds [J]. *BMC Cancer*. 2010; 10: 351
- [15] TSAI Chia-Wen, LIU Kai-Li, LIN Chia-Yuan, et al. Structure and function relationship study of allium organosulfur compounds on upregulating the pi class of glutathione S-transferase expression [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(7): 3398-3405
- [16] WU Xin-Jiang, FEKADU Kassie, VOLKER Mersch-Sundermann. The role of reactive oxygen species (ROS) production on diallyl disulfide (DADS) induced apoptosis and cell cycle arrest in human A549 lung carcinoma cells [J]. *Mutation Research*, 2005, 579: 115-124
- [17] NA Hye-Kyung, KIM Eun-Hee, CHOI Min-Ah, et al. Diallyl trisulfide induces apoptosis in human breast cancer cells through ROS-mediated activation of JNK and AP-1 [J]. *Biochemical Pharmacology*, 2012, 84(10): 1241-1250