

- 83-87.
- [19] Zhao J, Zhu W H, Hu Q. Selection of fungal elicitors to increase indole alkaloid accumulation in *Catharanthus roseus* suspension cell culture [J]. *Enzyme Microbiol Technol*, 2001, 28: 666-672.
- [20] Namdeo A, Patil S, Fulzele D P. Influence of fungal elicitors on production of ajmalicine by cell cultures of *Catharanthus roseus* [J]. *Biotechnol Prog*, 2002, 18(1): 159-162.
- [21] Luo H L, Guo Y, Cui T B, et al. Effects of fungal elicitor on inophyllums production in suspension cultured cells of *Calophyllum inophyllum* L. [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2004, 39(4): 305-308.
- [22] Zhang X F, Zhang R T, Wang N N, et al. Effects of fungal elicitors on accumulation of indole alkaloids in *Catharanthus roseus* calli [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35(2): 201-205.
- [23] Balazova A, Bilka F, Blarikova V, et al. Effect of a fungal elicitor on levels of sanguinarine and polyphenoloxidase activity in a suspension culture of *Papaver somniferum* L. [J]. *Ceska Slov Farm*, 2002, 51(4): 182-185.
- [24] Yu R M, Wang Y, Ma L, et al. Production of active alkaloids by elicited *Papaver nudicaule* cell suspension culture [J]. *Pharm Biotechnol*, 2003, 10(4): 218-222.
- [25] Dai J G, Zhu W H, Wu Y Q, et al. Effects of precursors and fungal elicitors on GKB production in suspension cultured cells of *Ginkgo biloba* L. [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2000, 35(2): 151-155.
- [26] Wang H, Ye H C, Li G F, et al. Effects of fungal elicitors on cell growth and artemisinin accumulation in hairy root cultures of *Artemisia annua* [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 2000, 42(9): 905-909.
- [27] Chen Y Q, Zhu W H, Wu Y Q, et al. Effects of fungus elicitors on taxol productions insuspension cells of *Taxus yunnanensis* [J]. *Chin J Biotechnol* (生物工程学报), 1999, 15(4): 522-524.
- [28] Lan W Z, Yu L J, Li M Y, et al. Cell death unlikely contributes to taxol production in fungal elicitor-induced cell suspension cultures of *Taxus chinensis* [J]. *Biotechnol Lett*, 2003, 25(1): 47-49.
- [29] Yu L J, Li W, Liu X F, et al. An initial study on elicitation of basidiomycetes and its lignocellulose biodegradation broth on *Taxus* cells culture [J]. *Acta Bot Boreal Occident Sin* (西北植物学报), 2000, 20(6): 992-996.
- [30] Fang Q M, Zheng G Z, Zhou L G. The metabolic control of ginsenoside's biosynthesis in *Panax quinquefolium* L. cells suspension [J]. *Chin J Biotechnol* (生物工程学报), 1992, 8(3): 261-264.
- [31] Liu J, Ding J Y, Zhou Q Y, et al. Studies on influence of fungal elicitor on hairy root of *Panax ginseng* biosynthesis ginseng saponin and biomass [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2004, 29(4): 302-305.
- [32] Huang B Q, Liu M X. Effects of fungal elicitors on peroxidase activities in hairy root cultures and transformed cells of *Salvia miltiorrhiza* [J]. *J Hubei Agric Coll* (湖北农学院学报), 2001, 21(3): 235-237.
- [33] Ning W, Cao R Q. Fractionation and biological activity of *Aspergillus oryzae* elicitor promoting biosynthesis of shikonin derivatives [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1996, 38(5): 367-374.
- [34] Li G J, Wang S C, Xia K, et al. Effect of yeast elicitor and salicylic acid on the fluctuation of phytohormone contents in Ti-transformed *Salvia miltiorrhiza* cell cultures [J]. *Plant Growth Regul*, 2003, 39: 27-32.
- [35] Siatka T, Kasparova M. The effect of biotic elicitors on the production of flavonoids in suspension cultures of *Bells perennis* L [J]. *Ceska Slov Farm*, 1999, 48(6): 268-271.
- [36] Song J Y, Qi J J, Lei H T, et al. Effects of *Armillaria mellea* elicitor on accumulation of transhinones in crown gall cultures of *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 2000, 42(3): 316-320.

大蒜活性成分阿藿烯的抗肿瘤作用研究进展

魏少荫, 李 敏*

(北京大学医学部 天然药物及仿生药物国家重点实验室, 北京 100083)

摘 要:近年来, 鉴于抗肿瘤药物的较大不良反应, 中药中活性成分的抗肿瘤作用日益成为研究热点。阿藿烯为大蒜中一种丙烯基硫化物, 无辛辣味和蒜臭味, 且具化学稳定性, 对多种肿瘤细胞尤其是对白血病细胞的生长抑制作用显著, 无明显不良反应, 极具开发潜力。对其抗肿瘤活性及作用机制进行综述。

关键词:大蒜; 阿藿烯; 抗肿瘤; 白血病; 凋亡

中图分类号: R286.91

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2006)09-1430-04

Advances in studies on antitumor activity of ajoene derived from garlic

WEI Shao-yin, LI Min

(National Research Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs, Health Science Center,

Peking University, Beijing 100083, China)

Key words: garlic; ajoene; antitumor; leukemia; apoptosis

大蒜 *Allium sativum* L. 为百合科植物, 药用其鲜茎。大蒜性温, 味辛辣, 具下气、消谷、除风、止痢、散痈、消毒气等功

效。有抗菌、消炎、杀虫等作用。流行病学调查结果表明, 大蒜可能与某些地区的肿瘤低发有关, 人们又发现大蒜有调血

收稿日期: 2006-02-06

基金来源: 国家高技术研究发展(863)计划——新药筛选及关键技术研究(2002AA2Z343C)

作者简介: 魏少荫(1981—), 男, 河南省濮阳市人, 在读硕士, 研究方向为肿瘤分子细胞药理学。

Tel: (010)82801161 E-mail: wsy1921@tom.com

* 通讯作者 李 敏 Tel: (010)82801161 Fax: (010)82802724 E-mail: limin63@yahoo.com.cn

脂、降血压、抗风湿、抗肿瘤、调节机体免疫力等药理作用。大蒜中含硫化物的量较大,占 2.3%^[1]。越来越多的研究表明大蒜的生物学和药理学性质得益于其所含的硫化物,尤其是丙烯基硫化物。阿藿烯便是其中一种。

阿藿烯(ajoene),又名大蒜烯,化学名为 4,5,9-三硫代-9-氧-1,6,11-三烯十二烷(4,5,9-trithiadodeca-1,6,11-triene-9-oxide),相对分子质量 234,存在顺、反异构体(图 1)。阿藿烯因无大蒜素的辛辣味和蒜臭味且较之更加稳定而日益受到关注。研究发现其具有抗血小板凝集、增强记忆、免疫调节和抗肿瘤作用,尤其是对白血病细胞有显著抑制作用。现将综述阿藿烯抗肿瘤作用及其分子机制的研究进展。

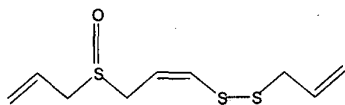


图 1 顺式阿藿烯的化学结构式

Fig. 1 Chemical structure of Z-ajoene

1 抑制肿瘤发生

近年来,阿藿烯对化学致癌物的抑制作用受到了关注。阿藿烯可剂量依赖性地抑制小鼠皮肤癌的发生,250 μg 阿藿烯作用 18 周后,与对照组比较,阿藿烯组的肿瘤发生率仅为 4.9%^[2]。黄曲霉毒素 B1 与 DNA 的结合也可被阿藿烯抑制^[3]。Ishikawa 等^[4]发现阿藿烯可显著抑制苯并芘和 4-硝基-1,2-亚苯基胍诱导的突变,而且其对转换突变的抑制作用较对框架突变者更强。有报道称巯基化合物可调节致癌物的代谢和清除,故 Lee 等^[5]认为阿藿烯的作用机制与抑制肝微粒体中的代谢酶或干扰致突变物与 DNA 的结合有关。Galwitz 等^[6]发现 10 $\mu\text{mol/L}$ 阿藿烯对 7,12-二甲苯基诱导的乳腺损伤的抑制率为 35%,推测为巯基化合物影响致癌物代谢的结果。

2 抑制肿瘤生长

2.1 体外抗肿瘤活性:阿藿烯对不同肿瘤细胞及多种正常细胞的增殖抑制作用进行了研究,发现不同肿瘤细胞对阿藿烯的敏感性有所不同,且阿藿烯对肿瘤细胞的增殖抑制作用多呈浓度依赖性(表 1)。正常细胞对阿藿烯的敏感性与肿瘤细胞相比有显著差异,而且分裂较慢或不分裂细胞对阿藿烯不敏感。Dirsh 等^[7]报道称 50 $\mu\text{mol/L}$ 阿藿烯对植物凝集素(PHA, 2 $\mu\text{g/mL}$)和佛波醇豆蔻酸酯乙酸盐(PMA, 5 ng/mL)刺激生长的外周血单核细胞的增殖抑制率分别为 49% 和 94%,而对未受刺激的外周血单核细胞的增殖抑制作用不明显。Knowles 等^[8]发现包括阿藿烯在内的大蒜脂溶性丙烯基硫化物的抗增殖作用较水溶性丙烯基硫化物强,这也为大蒜的活性成分是其所含有机硫化物提供了依据。

2.2 体内抗肿瘤活性:顺式阿藿烯(8 mg/kg)对小鼠体内移植的 S₁₈₀肉瘤的生长抑制率为 38%,而 4 mg/kg 阿藿烯对小鼠体内移植的肝癌 H₂₂的生长抑制率达 42%^[15]。Taylor 等^[12]先对小鼠进行 sc 鼠黑色素瘤细胞再 ip 给药,发现 25 $\mu\text{g/g}$ 阿藿烯对鼠黑色素瘤的抑制率在 70%~90%,且延迟肿瘤的发生。Tilli 等^[17]对 21 位结节性或浅基底细胞瘤患

表 1 阿藿烯对肿瘤细胞及正常细胞的生长抑制作用

Table 1 Growth inhibiting activity of ajoene on tumor cells and normal celles

细胞株	IC ₅₀ / ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	作用时间/h	参考文献
*小鼠成纤维细胞 NIH3T3	65	48	9
*人原代成纤维细胞 FS4	36	48	10
*仓鼠乳腺肾细胞 BHK21	30	48	10
*人外周血单核细胞	>100	5 min	11
*鼠脾细胞	>100	24	12
*大鼠肝细胞	>4 000	2	13
人早幼粒细胞白血病细胞 HL-60	4	48	9
人乳腺癌细胞 MDA-MB231	7	24	12
人白血病细胞 U937	10	48	14
伯基特淋巴瘤细胞 BJA-B	12	48	10
鼻咽癌细胞 KB	15.8	48	15
宫颈癌细胞 Hela	17.9	48	15
鼠黑色素瘤细胞 B16/BL6	18	24	12
肝癌细胞 Bel-7402	18.4	48	15
人结肠癌细胞 HT-29	19	24	12
人乳腺癌细胞 SKBP-3	19	24	12
结肠癌细胞 HCT	19.6	48	15
胃癌细胞 BGC-823	24.7	48	15
乳腺癌细胞 MCF-7	26.1	48	15
人胃癌细胞 MGC-803	36	48	9
人胰腺癌细胞 PANC-1	38	24	12
人肺癌细胞 A549	41	24	12
鼠黑色素瘤细胞 B16F10	62	24	16

* 正常细胞

* normal cells

者局部运用 0.4%阿藿烯软膏,每天 2 次,持续 6 个月,发现有 17 位患者的肿瘤显著变小。

2.3 作用机制

2.3.1 干扰细胞代谢:阿藿烯通过影响细胞多种代谢途径可直接或间接地抑制细胞增殖,如蛋白酶体活性、抗氧化巯基化合物的代谢、花生四烯酸的转化及胆固醇的生物合成等。

蛋白酶体通过对细胞内的蛋白质进行选择性地降解来控制细胞周期、凋亡、抗原递呈和炎症反应等多种生理活动。徐波等^[18]发现顺式阿藿烯可浓度和时间依赖性地抑制蛋白酶体胰蛋白酶样活性;20S 蛋白酶体降解 OVA₅₁₋₅₇肽的能力也可被显著抑制,阿藿烯还可影响 HL-60 细胞的胰蛋白酶样和糜蛋白酶样活性,且使其细胞质的蛋白酶体的总量增加。可见,在体外及活细胞中,阿藿烯均可影响蛋白酶体的功能及活性。另外,顺式阿藿烯可作为黄素酶的底物起单电子还原媒介的作用,并促进超氧化物阴离子的形成,阿藿烯的这种性质类似于氧化性应激,Dirsh 等^[19]报道阿藿烯通过氧化性应激而诱导 HL-60 细胞凋亡。环氧合酶(COX)在花生四烯酸到前列腺素的转化过程中起催化作用,COX-2 的差异表达或过表达被认为是多种疾病包括癌症的一种发病机制。阿藿烯可浓度依赖性地抑制巨噬细胞 RAW264.7 中脂多糖(1 $\mu\text{g/mL}$)诱导的前列腺素 E₂ 的释放,IC₅₀ 为 2.4 $\mu\text{mol/L}$,这是由阿藿烯抑制 COX-2 活性所致^[19]。此结果与 Srivastava 证明阿藿烯影响完整血小板中花生四烯酸的代谢一致^[20]。尽管这些结果并

非来自于肿瘤细胞系,但可间接地反映阿藿烯通过影响花生四烯酸的代谢而引起抗肿瘤作用。Gebhardt 等^[13]发现阿藿烯浓度依赖性地抑制大鼠原代肝细胞和人肝癌 HepG₂ 细胞代谢过程中胆固醇的合成。在 HepG₂ 细胞中,阿藿烯还可显著抑制固醇的生物合成,IC₅₀ 为 9 μmol/L。除此之外,其他酶如蛋白酪氨酸磷酸酶、胃脂酶和大豆脂氧化酶也可被阿藿烯所破坏^[21]。因此,通过抑制某些关键酶而干扰细胞代谢是阿藿烯抗细胞增殖作用的机制之一。

2.3.2 抑制细胞有丝分裂:正常细胞周期的进程受检查点的严格控制,肿瘤细胞因检查点缺陷等原因而得以持续进行周期循环,无限制增殖。细胞在有丝分裂期一分为二,完成细胞的增殖,故阻断肿瘤细胞于有丝分裂期便成为了抗肿瘤药物的一种重要抗肿瘤作用机制。

Knowles 等^[8]发现大蒜脂溶性化合物的抗增殖作用伴随着 G₂/M 期细胞的增多。阿藿烯可时间依赖性地阻断 HL-60 细胞于 G₂/M 期,以 20 μmol/L 的浓度作用于袋鼠肾上皮 Ptk₂ 细胞 6 h 即可使其有丝分裂纺锤体的组织者——微管全解聚,体外抑制纯化微管蛋白聚合的 IC₅₀ 值为 25 μmol/L^[15]。对两种人白血病细胞 HL-60 和 U937 同时进行实验研究,发现给药初期和药物浓度较低时 G₂/M 期细胞显著增多,并早于细胞凋亡。此外,阿藿烯对 β 微管蛋白的表达有抑制作用,而对 α 微管蛋白的表达无显著影响^[14]。叶颖等^[22]的实验结果与之基本一致,10 μmol/L 阿藿烯作用于 HL-60 细胞 10 h, G₂/M 期细胞比例达到顶峰,并且出现周期蛋白 cyclinB1 的聚集及 P34^{cdc2} 激酶表达的降低,但 cyclinA 的表达水平无显著变化。

巯基化合物可调节细胞分裂,而谷胱甘肽浓度的降低与细胞损伤及周期进程抑制有关。Scharfenberg 等^[10]采用 HPLC 分析还原型及氧化型谷胱甘肽量,证实了在伯基特淋巴瘤细胞 BJA-B 细胞中,阿藿烯的快速摄取伴随着氧化型谷胱甘肽的增多和 80% 还原型谷胱甘肽的减少。

由此可见,阿藿烯对肿瘤细胞的有丝分裂有显著抑制作用,其作用通路涉及微管蛋白、周期蛋白、P34^{cdc2} 激酶及谷胱甘肽浓度。

2.3.3 诱导细胞凋亡:细胞凋亡是发生在正常细胞分化及多细胞生物生长过程中由基因控制的生理性死亡,以体积变小、膜泡形成、核固缩、染色质凝聚、DNA 片段化及后期凋亡小体形成特征。多种疾病包括肿瘤的发生均与细胞凋亡途径缺陷有关。诱导肿瘤细胞凋亡是抗肿瘤药物研究的一种有效策略。

郑德先等^[9]发现顺式阿藿烯对 HL-60 细胞、人胃癌 MGc-803 细胞和 T 淋巴瘤 Molt-4 细胞的增殖抑制作用与凋亡细胞诱导有关,且伴随 bc1-2 的低表达。Ahmed 等^[23]发现阿藿烯对多种人白血病 CD34⁺ 细胞如 HL-60、U937、HEL 和 OCIM-1 均有凋亡诱导作用,尤其是对从慢性粒细胞白血病患者身上得来的成粒细胞的凋亡诱导率可达 30%。急性粒细胞白血病是一种异源恶性病,其 CD34⁺ 细胞水平对复发及化疗耐药性有很大影响,对阿藿烯与急性粒细胞白血病

两种常用药 fludarabine 和 cytarabine 分别进行联合用药实验研究,发现阿藿烯可显著增强二者对急性原始粒细胞白血病 KG1 细胞原癌基因 bc1-2 表达的抑制作用,尤其是在阿藿烯与 fludarabine 联合用药组中,检测不到 bc1-2 的表达,这为阿藿烯与 fludarabine 联合应用治疗顽固性急性粒细胞白血病提供了理论依据。方志俊等^[24]采用 cDNA 微阵列技术对经阿藿烯处理的 HL-60 细胞的基因表达谱进行研究,发现大多数差异表达基因与细胞凋亡有关,如分泌颗粒 (PRG1)、β₂ 微球蛋白 (β₂M)、16S 核糖体 RNA 基因和核糖体蛋白 S12。20 μmol/L 阿藿烯可时间依赖性地激活 caspase-3 样活性和 procaspase-3、procaspase-8 蛋白水解程序,但死亡受体 CD95 的表达不受影响。Caspase 的激活对阿藿烯诱导细胞凋亡是必须的,因使用 caspase 抑制剂 zVAD-fmk 可完全阻断阿藿烯介导的 DNA 片段化,而阿藿烯诱导的细胞色素 C 的释放不被 zVAD-fmk 抑制,表明 caspase 的激活是细胞色素 C 所引起^[25]。Antlsperger 等^[26]研究发现阿藿烯介导的 c-Jun N 端蛋白激酶 (JNK) 和 p38 的激活对其诱导的 HL-60 细胞凋亡无显著影响,阻断 ERK1/2 而非生存激酶 Akt 途径可增强细胞对阿藿烯的敏感性。李敏等^[14]也发现顺式阿藿烯对两种白血病细胞 HL-60 和 U937 的凋亡诱导均呈浓度和时间依赖性,且伴随 caspase-3 的活化和抗凋亡蛋白 Bcl-2 的裂解,并发现此作用可被 caspase 抑制剂所抑制。另有研究表明阿藿烯既是谷胱甘肽还原酶的底物,又是其共价抑制剂,而谷胱甘肽还原酶是细胞防御氧化的关键酶,阿藿烯共价结合于其活性部位半胱氨酸残基上,会使此酶具有氧化酶活性^[6]。由此可见,阿藿烯所诱导的细胞凋亡是基于线粒体依赖性 caspase 的级联反应。

2.3.4 抑制端粒酶活性:端粒是染色体末端独特的蛋白质-DNA 结构,在保护染色体的完整性和维持细胞的复制能力方面起着重要作用。端粒酶则是能够延长端粒的一种特殊反转录酶,靠其活性大小来调节端粒长度,进而控制细胞的衰老、永生化和癌变。在绝大多数正常体细胞中,端粒酶处于失活状态,而在肿瘤细胞中,均可检测到其活性。

叶颖等^[22]采用 TPAP 银染法测定端粒酶活性,发现不同浓度顺式阿藿烯作用于 HL-60 细胞 12 h 后,其端粒酶活性无显著变化,而当 10 μmol/L 阿藿烯作用 24 h 后,其端粒酶活性显著降低,RT-PCR 法检测到端粒酶 hTERT (人端粒酶催化亚单位) 和 TP1 (人端粒酶相关蛋白) 的 mRNA 表达水平随之降低。因此,抑制端粒酶活性也是阿藿烯抗细胞增殖活性的机制之一。

2.3.5 诱导细胞分化:恶性肿瘤发生中既存在细胞增殖的失控,又存在细胞分化的障碍,去分化的肿瘤细胞可被诱导而重新向正常细胞方向分化,称为肿瘤的诱导分化治疗。

阿藿烯作用后 HL-60 细胞基因表达谱的研究表明,多个差异表达基因与细胞分化有关,包括与 H3 组蛋白和核糖体 L31 蛋白相似的基因,其差异表达通过 Northern blot 分析得到了确证及定量。推测阿藿烯在肿瘤细胞的重分化中起促进作用^[24]。

3 抑制肿瘤转移

Taylor 等^[12]先对小鼠进行 ip 给药再 iv 鼠黑色素瘤细胞,发现阿藿烯以 5、15、25 $\mu\text{g/g}$ 的剂量对鼠黑色素瘤细胞在肺部浸润的抑制率均在 90% 左右;TNF- α 的阻断可抑制肿瘤的转移,而 100 μg 阿藿烯对脂多糖诱导的小鼠 TNF- α 表达的抑制率可达 83%。

细胞黏附性的降低有助于抑制肿瘤转移。50 nmol/L 阿藿烯可干扰急性淋巴细胞性白血病 Jurkat 细胞的正常聚集^[27],30 $\mu\text{mol/L}$ 阿藿烯可显著抑制 B16/BL6 细胞与鼠肝窦状腺内皮 LEC1 细胞单层的黏附^[12],25 $\mu\text{mol/L}$ 阿藿烯可影响 $\alpha_4\beta_1$ 整合素的表达,诱导 B16F10 细胞与单层内皮细胞之间的黏附力显著下降^[16]。Honn 等^[28]证实阿藿烯对与糖蛋白 I β III $_b$ 的结合有高度的选择性,而糖蛋白 I β III $_b$ 作为一种整合素被多种肿瘤表达,故推测阿藿烯通过抑制该受体的表达而发挥抗肿瘤作用。另外,阿藿烯可通过抑制细胞膜上的其他受体如淋巴细胞功能相关抗原-1(LFA-1)、外周血淋巴细胞整合素 VLA-4 和 VLA-5 等来干扰细胞的黏附。

4 结语与展望

阿藿烯作用于肿瘤的发生、生长和转移等多个层面,并且通过多种途径抑制肿瘤细胞的生长而发挥抗肿瘤作用,是一个多靶点的抗肿瘤化合物。阿藿烯作为大蒜的主要抗肿瘤活性成分有许多优点:对白血病细胞抑制作用明显而不良反应不明显;与其他化疗药有协同作用;具有化学稳定性;无令人难以接受的辛辣味和蒜臭味;分子结构简单,易于全合成和半合成等。但阿藿烯成为抗肿瘤新药还有待进一步研究。如目前的研究多采用顺反异构体混合体,两种单体的活性是否有显著差异;长期用药后是否会产生耐药性等。随着人们对阿藿烯的深入研究,其开发潜力与药用价值将逐渐为人们所认识。我国的大蒜总产量居世界第一位,大蒜含硫化合物阿藿烯有望在我国被开发为抗肿瘤新药或/和化疗辅助剂。

References:

- [1] Knowles L M, Milner J A. Allyl sulfides modify cell growth [J]. *Drug Metab Drug Int*, 2000, 17(1-4): 81-107.
- [2] Nishikawa T, Yamada N, Hattori A, et al. Inhibition by ajoene of skin-tumor promotion in mice [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2002, 66(10): 2221-2223.
- [3] Tadi P P, Lau B H, Teel R W, et al. Binding of aflatoxin B1 to DNA inhibited by ajoene and diallyl sulfide [J]. *Anticancer Res*, 1991, 11(6): 2037-2041.
- [4] Ishikawa K, Naganawa R, Yoshida H, et al. Antimutagenic effects of ajoene, an organosulfur compound derived from garlic [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 1996, 60(12): 2086-2088.
- [5] Lee K S, Grenfell T Z, Yarm F R, et al. Mutation of the polo-box disrupts localization and mitotic functions of the mammalian polo kinase Plk [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(16): 9301-9306.
- [6] Gallwitz H, Bonse S, Martinez-Cruz A, et al. Ajoene is an inhibitor and subversive substrate of human glutathione reductase and *Trypanosoma cruzi* trypanothione reductase: crystallographic, kinetic, and spectroscopic studies [J]. *J Med Chem*, 1999, 42(3): 364-372.
- [7] Dirsh V M, Gerbes A L, Vollmar A M. Ajoene, a compound of garlic, induces apoptosis in human promyelocytic cells, accompanied by generation of reactive oxygen species and activation of nuclear factor kappaB [J]. *Mol Pharmacol*, 1998, 53(3): 402-407.
- [8] Knowles L M, Milner J A. Possible mechanism by which allyl sulfides suppress neoplastic cell proliferation [J]. *J Nutr*, 2001, 131(3S): 1061S-1066S.
- [9] Zheng D X, Zhang X Q, Zhao S, et al. Z-Ajoene induces tumor cells to die by apoptosis [J]. *Chin Sci Bull (科学通报)*, 1998, 43(13): 1135-1140.
- [10] Sharfenberg K, Wagner R, Wagner K G. The cytotoxic effect of ajoene, a natural product from garlic, investigated with different cell lines [J]. *Cancer Lett*, 1990, 53(2-3): 103-108.
- [11] Romano E L, Montano R F, Brito B, et al. Effects of ajoene on lymphocyte and macrophage membrane-dependent functions [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 1997, 19(1): 15-36.
- [12] Taylor P, Noriega R, Farch C, et al. Ajoene inhibits both primary tumor growth and metastasis of B16/BL6 melanoma cells in C57BL/6 mice [J]. *Cancer Lett*, 2005, 9: 1-7.
- [13] Gebhardt R, Beck H, Wagner K G. Inhibition of cholesterol biosynthesis by allicin and ajoene in rat hepatocytes and HepG2 cells [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1994, 1213(1): 57-62.
- [14] Li M, Shi X H, Wang L, et al. Mechanism of growth inhibition of Z-ajoene on U937 cells [J]. *Chin Pharm Bull (中国药理学通报)*, 2004, 20(6): 688-693.
- [15] Li M, Cui J R, Ye Y, et al. Antitumor activity of Z-ajoene, a natural compound purified from garlic; antimetabolic and microtubule-interaction properties [J]. *Carcinogenesis*, 2002, 23(4): 573-579.
- [16] Ledezma E, Castro R A, Cardier J. Apoptotic and anti-adhesion effect of ajoene, a garlic derivatives compound, on the murine melanoma B16F10 cells: possible role of caspase-3 and the $\alpha_4\beta_1$ integrin [J]. *Cancer Lett*, 2004, 206(1): 35-41.
- [17] Tilli C M, Vuerstaek J D, Thissem M R, et al. The garlic-derived organosulfur component ajoene decreases basal cell carcinoma tumor size by inducing apoptosis [J]. *Arch Dermatol Res*, 2003, 295(3): 117-123.
- [18] Xu B, Monsarrat B, Gairin J E, et al. Effect of ajoene, a natural antitumor small molecule, on human 20S proteasome activity *in vitro* and in human leukemic HL-60 cells [J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2004, 18(2): 171-180.
- [19] Dirsh V M, Vollmar A M. Ajoene, a natural product with non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID)-like properties? [J]. *Biochem Pharmacol*, 2001, 61(5): 587-593.
- [20] Srivastava K C, Tyagi O D. Effects of a garlic-derived principle (ajoene) on aggregation and arachidonic acid metabolism in human blood platelets [J]. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 1993, 49(2): 587-595.
- [21] Villar R, Alvarino M T, Flores R. Inhibition by ajoene of protein tyrosine phosphatase activity in human platelets [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1997, 1337(2): 233-240.
- [22] Ye Y, Yang H Y, Wu J, et al. Z-Ajoene causes cell arrest at G₂/M and decrease of telomerase activity in HL-60 cells [J]. *Chin J Oncol (中华肿瘤杂志)*, 2005, 27(9): 516-520.
- [23] Ahmed N, Laverick L, Sammons J, et al. Ajoene, a garlic-derived natural compound, enhances chemotherapy-induced apoptosis in human myeloid leukaemia CD34-positive resistant cells [J]. *Anticancer Res*, 2001, 21(5): 3519-3523.
- [24] Fang Z J, Huang W X, Huang M H, et al. Gene expression profiling of human promyelocytic leukemia HL-60 cell treated by ajoene [J]. *Chin J Cancer Res*, 2002, 14(1): 11-17.
- [25] Dirsh V M, Antlsperger D S, Hentze H, et al. Ajoene, an experimental anti-leukemic drug; mechanism of cell death [J]. *Leukemia*, 2002, 16(1): 74-83.
- [26] Antlsperger D S, Dirsh V M, Ferreira D, et al. Ajoene-induced cell death in human promyelocytic leukemia cells does not require JNK but is amplified by the inhibition of ERK [J]. *Oncogene*, 2003, 22(4): 582-589.
- [27] Tatarintsev A V, Vrzhesch P V, Schegolev A A, et al. Ajoene antagonizes integrin-dependent processes in HIV-infected T-lymphoblasts [J]. *Aids*, 1992, 6(10): 1215-1217.
- [28] Honn K V, Tang D G. Adhesion molecules and tumor cell interaction with endothelium and subendothelial matrix [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 1992, 11(3-4): 353-375.