

- 867.
- [36] Eklund, L., 1991, *J. exp. Bot.* **42**: 785 - 789.
- [37] Penner, R., Neher, E., 1988, *J. exp. Bot.* **139**: 329 - 345.
- [38] 尤程等, 1997, *植物生理学报*, **23**: 199 - 203.
- [39] Wilson, L. G., Fry, J. C., 1986, *Plant Cell Environ.* **9**: 239 - 260.
- [40] Jian, L. C. et al., 2000, *Tree Physiol.* **20**: 623 - 628.
- [41] Jian, L. C. et al., 2000, *Cell Research*, **10**: 103 - 114.
- [42] 简令成、孙龙华, 1992, *植物学集刊*, **6**: 157 - 162.
- [43] Lucas, W. J. et al., 1993, *New Phytologist*. **125**: 435 - 476.
- [44] Tucker, E. B., 1988, *Planta*, **174**: 358 - 363.
- [45] Tucker, E. B., 1990, *Planta*, **182**: 34 - 38.
- [46] Shepherd, V. A., Goodwin, P. B., 1992, *Plant Cell Environ.* **15**: 137 - 150.
- [47] 简令成等, 2000, *植物学报*, **42**: 803 - 810.
- [48] Holdaway-Clarke, T. L. et al., 2000, *Planta*, **210**: 329 - 335.
- [49] Cleland, R. E. et al., 1994, *Protoplasma*, **178**: 81 - 85.
- [50] Rinne, P. L. H., Van der Schoot, C., 1998, *Development*, **125**: 1477 - 1485.
- [51] Bandyopandhyay, S. K., Bancroft, C., 1989, *J. Biol. Chem.* **264**: 14216 - 14224.
- [52] Nygard, O. N. A., 1991, *J. Biol. Chem.* **266**: 16425 - 16437.
- [53] Lam, E. et al., 1989, *Mol. Cell Biol.* **9**: 4819 - 4831.
- [54] Kurkela, S., Borg-Franck, M. 1992, *Plant Mol. Biol.* **19**: 689 - 92.
- [55] Tahtiharju, S., et al., 1997, *Planta*, **203**: 442 - 447.
- [56] Roberts, D. M., Harmon, A. C., 1992, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **43**: 375 - 414.
- [57] Monroy, A. F. et al., 1998, *Plant J.* **13**: 653 - 660.
- [58] Jonak, C. et al., 1996, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**: 11274 - 11279.
- [59] Mizoguchi, T. et al., 1996, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**: 765 - 769.

## 异硫代氰酸盐的抗癌机理及其相关研究

汪 俏 梅  
(浙江大学园艺系 杭州 310029)

Steffen Abel  
(University of California, Davis, 95616)

癌症可以通过很多天然和合成的化合物来预防,这些化合物一般称为化学预防剂<sup>[1]</sup>。很多化学预防剂来源于植物,通常为人类膳食中的非营养成分,因而被称为植物化学物质。通过植物化学物质进行癌症的化学预防是最有潜力的癌症预防手段<sup>[2]</sup>。蔬菜和水果包含一大类具有抗癌作用的植物化学物质,如丙烯基硫化物,酚酸,多酚,异黄酮和异硫代氰酸盐(isothiocyanates,简称ITCs)等,其中异硫代氰酸盐是一类重要的植物化学物质,近年来的研究发现异硫代氰酸盐以阻遏和抑制因子发挥抗癌作用,这些研究不仅深化了人们对抗癌作用机理和癌症的化学预防的认识,在癌症的预防、治疗以及功能食品的设计上显示了广阔的应用前景,同时推动了旨在提高蔬菜作物中的抗癌成分及其生物利用率的一系列相关研究,并为作物育种提出了新的目标和策略。

### 一、异硫代氰酸盐与化学致癌作用的抑制

#### 1. 植物中的芥子油苷-葡萄糖硫苷酶系统与异

#### 硫代氰酸盐的产生

天然的异硫代氰酸盐由芥子油苷(glucosinolates)在葡萄糖硫苷酶(myrosinase)的作用下降解产生。在完整植物中,芥子油苷定位于细胞的液泡中,相对较为稳定,而葡萄糖硫苷酶则定位于特定的蛋白体中,在正常情况下,两者是分离的,但当组织和细胞受到损伤时,葡萄糖硫苷酶就会从它贮藏的组织中被释放出来,并很快把芥子油苷水解,脱去葡萄糖和硫酸,并在不同条件下通过非酶化重组反应,形成几种不同的降解产物,一般在pH2-5,且亚铁离子存在的条件下形成乙腈;在pH>8的情况下形成硫代氰酸盐;而在pH5-8的范围内,即中性环境下则易形成异硫代氰酸盐。其中异硫代氰酸盐是芥子油苷降解的最主要产物<sup>[3,4]</sup>,异硫代氰酸盐的功能基团为-N=C=S,包含一个具高度亲电性的中央碳原子,这一碳原子在温和的条件下能很快与以O-,S-或N-为中央的亲核基团反应<sup>[5]</sup>。异硫代氰酸盐侧链上的R基团来源于不同种类的氨基酸(如甲硫氨酸,苯丙氨酸和色氨酸等),据此可将其分为脂肪类,芳香类和吡啶类<sup>[6]</sup>。

#### 2. 异硫代氰酸盐与化学致癌作用的抑制

早在30多年前,人们就发现异硫代氰酸盐有抗癌活性,迄今为止,已发现有20多种天然的和人工合成的异硫代氰酸盐是致癌作用的有效抑制剂<sup>[7,8]</sup>,异硫代氰酸盐在大鼠和小鼠模式试验系统中对许多化学致癌剂引起的致癌效应具有化学保护作用,这种保护作用在肝,肺,前胃,乳腺,食管,膀胱,小肠和结肠等许多靶器官中都观察到。因此异硫代氰酸盐是化学致癌作用的有效抑制剂。

## 二、异硫代氰酸盐的抗癌作用机理

在癌症的化学预防中发挥作用的抗癌物质一般根据它们发生作用的时期不同而分为阻遏因子和抑制因子<sup>[9]</sup>,其中阻遏因子通过与致癌代谢中的一些关键性靶位点发生反应来预防癌症的发生,而抑制因子则发生在阻遏因子之后,通过抑制细胞分裂,诱导细胞程序化死亡等来延迟和逆转癌症的发生。最近的关于细胞程序化死亡调节的研究表明,异硫代氰酸盐除了对致癌剂具有阻遏作用外,还具有抑制性的,并且可能是治疗性的化学保护特性,即异硫代氰酸盐能在DNA水平作用,对导致生长停滞和细胞死亡的信号转导途径发生作用。

### 1. 异硫代氰酸盐作为阻遏因子

(1) 致癌因子的代谢 大部分饮食或环境致癌因子需要代谢活化以产生它们的致癌效应,即通过阶段1代谢,产生氧化的高度活化的中间产物,之后与DNA反应导致致癌因子-DNA加和物的形成,如果不及时修补,就会导致肿瘤的发生,阶段1酶包括细胞色素P450系统,并且非常复杂<sup>[10]</sup>;阶段2酶则能使阶段1酶产生的活化中间产物解毒,它们能促进亲电性的致癌剂与亲水基团的结合,产生高度极性的易于分泌的分子,如谷胱甘肽转移酶,UDP-葡萄糖醛酸基转移酶等;或者通过氧化还原反应破坏致癌剂的高度活化的中央结构,如醌还原酶和环氧化物酶等。阶段1酶的抑制和阶段2酶的活化或诱导是减少高度活化的致癌中间产物的有效浓度的两种机制<sup>[1,5]</sup>。

(2) 异硫代氰酸盐对阶段1酶的抑制 许多研究表明,异硫代氰酸盐通过抑制阶段1酶而阻遏化学致癌过程<sup>[5,10,11]</sup>。4-甲基亚硝铵-1-(3-吡啶)-1-丁酮(NNK)是吸烟引起的一种致癌性最强的亚硝铵类化合物。Chung等研究了不同蔬菜组分对抑制NNK和其他亚硝铵类致癌代谢活性的抑制作用,结果表明,异硫代氰酸盐是亚硝铵致癌活性的最有效的抑制者,芳香烷异硫代氰酸盐,如酚乙基异硫代氰

酸盐(PEITC)和苯甲基异硫代氰酸盐(BITC)可抑制NNK诱导的肺部肿瘤的形成,并且这种抑制效应与它们阻遏肺部致癌剂-DNA加和物形成的能力之间有很强的相关性<sup>[11]</sup>。研究表明,芳香烷异硫代氰酸盐主要通过抑制NNK-DNA加和物形成过程中的关键步骤-NNK的羟化而发挥作用<sup>[12]</sup>。

Hecht(1999)的研究表明,异硫代氰酸盐能抑制参与NNK致癌代谢的细胞色素P450同工酶-CYP2E1和CYP1A2,从而抑制NNK的代谢活化。体外试验表明,一些异硫代氰酸盐是某些特异的细胞色素P450同工酶的竞争性不可逆抑制剂。此外,甲基亚磺酰烷异硫代氰酸盐(Sulforaphane)也能抑制亚硝铵形成肿瘤的能力,并且对参与致癌剂活化的P450同工酶-CYP2E1和CYP3A4有抑制作用<sup>[13-15]</sup>。

(3) 异硫代氰酸盐对阶段2解毒酶的诱导作用 在鼠肝癌Hepa1c1c细胞中醌还原酶(Quinone reductase,简称QR)活性的测定,为测量植物组织及其提取物通过哺乳动物细胞中的抗氧化反应元件,诱导阶段2酶而产生的抗癌活性提供了一种快速、可靠的方法<sup>[15,16]</sup>。Prochask等(1992)即用这一方法分析了蔬菜提取物的抗癌活性,分析表明,十字花科蔬菜,特别是芸薹属具有较高的阶段2酶诱导活性,但芸薹属的不同种之间在诱导活性上有较大差异,其中青花菜具有特别高的阶段2酶诱导活性,其诱导活性主要由Sulforaphane引起。Sulforaphane是青花菜中含量最丰富的异硫代氰酸盐,也是迄今为止鉴定出的最有效的阶段2解毒酶的天然诱导物,它在培养的啮齿类和人类细胞中,以及老鼠组织中都能诱导几种阶段2酶,如谷胱甘肽转移酶,醌还原酶和血红素加氧酶等<sup>[17]</sup>,并能阻遏大鼠中二甲基苯并蒽(DMBA)引发的乳房肿瘤的形成<sup>[5]</sup>,以及在培养的鼠乳腺中抑制肿瘤的形成<sup>[18]</sup>。此外,一些天然的芳香烷异硫代氰酸盐,如BITC和PEITC也是鼠肿瘤细胞和大鼠组织的很有效的阶段2酶诱导剂<sup>[19-21]</sup>。Sulforaphane和芳香烷异硫代氰酸盐在它们对阶段2酶产生效应的浓度范围(0.05-20 $\mu\text{mol/L}$ )内,均不表现出毒性<sup>[11,14]</sup>。

总之,许多研究表明,异硫代氰酸盐,特别是甲基亚磺酰烷异硫代氰酸盐和芳香烷异硫代氰酸盐是一种有效的阻遏因子,它们通过双重机制来特异性地调节致癌代谢,即选择性地使阶段1酶失活,并特异性地在转录水平上诱导阶段2酶基因(图1)。由于调节阶段1酶和阶段2酶之间的平衡是调节肿瘤

形成的主要机制<sup>[1]</sup>,对特异地活化阶段2酶基因的单功能诱导剂的分离鉴定,并将其运用于功能性食品中,以有效地调节人的致癌代谢,是减少癌症发生的主要策略。

## 2. 异硫代氰酸盐作为抑制因子

最近的一些研究发现,异硫代氰酸盐在一些人类细胞系中可以诱导细胞程序化死亡,如 Yu 等的研究表明,BITC,PEITC 和一些结构类似的人工合成的芳香烷异硫代氰酸盐在 5-10 $\mu\text{mol/L}$  的浓度范围内,以时间和剂量依赖性方式诱导 HeLa 细胞的程序化死亡<sup>[21]</sup>;类似的结果在人类白血病 Jurkat T-细胞和人类胚性肾细胞 293 细胞中也观察到<sup>[22]</sup>;而 Sulforaphane 在 10-30 $\mu\text{mol/L}$  浓度的范围内,也以剂量依赖性方式诱导人体结肠癌细胞系 HT29 细胞周期的停滞和之后的细胞程序化死亡<sup>[23]</sup>。但异硫代氰酸盐在不同的细胞系中诱导细胞程序化死亡的信号转导机制有所不同。如 Yu 等的结果显示异硫代氰酸盐可能通过与 caspase3 相关的机制来诱导细胞程序化死亡<sup>[21]</sup>;而 Chen 等则发现 BITC 和 PEITC 通过诱导 c-Jun N 末端激酶(简称 JNK,又称逆境活化蛋白激酶)活化的方式,在各类细胞中诱导细胞程序化死亡<sup>[22]</sup>。

致癌基因一般是基因毒性的,未能修补基因组损伤的细胞通常通过细胞程序化死亡除去,而有基因组损伤,但未经细胞程序化死亡除去的细胞则易于变成肿瘤性质。癌症细胞通常有更高的代谢速率,产生比正常细胞更多的氧化产物,因此,对细胞程序化死亡更敏感,许多抗癌药物就是通过靶细胞中诱导细胞程序化死亡而达到抗肿瘤的功能的。异硫代氰酸盐单独能诱导细胞程序化死亡的能力预示了其作为化学治疗剂的潜力,但这方面的研究还刚刚起步,关于异硫代氰酸盐诱导的细胞程序化死亡的信号转导的进一步研究,将极大地拓宽我们对于异硫代氰酸盐的抗癌机理的理解。

## 3. 在人类试验系统的研究

异硫代氰酸盐的抗癌活性及其机理在动物模式系统中已被广泛研究,在人类试验系统中这方面的研究相对较少,但近年来也有一些报道,这些研究主要集中在以下两个方面。

(1) 食用芸薹属蔬菜对致癌代谢的影响 许多临床学研究表明,食用芸薹属蔬菜能有效地调节致癌代谢,减少癌症的发生。水芹含有丰富的 PEITC,吸烟者的水芹摄入量与其体内非氧化态亚硝氮的水平呈正相关,表明在人体中 PEITC 可通过

抑制亚硝氮的活化,减少肺癌的发生<sup>[6]</sup>。水芹中的 PEITC 是阶段 1 酶的有效抑制者;而 7-甲基亚磺酰庚基异硫代氰酸盐和 8-甲基亚磺酰辛基异硫代氰酸盐,以及 PEITC 都是阶段 2 酶的有效诱导者,尤其是前两种化合物诱导阶段 2 酶的效果更为显著<sup>[24]</sup>。此外,食用大剂量的青花菜或球芽甘蓝(Brussel sprout)可减少 DNA 的损伤,提高阶段 2 酶的活性<sup>[25,26]</sup>。

## (2) 异硫代氰酸盐对人类细胞系的影响

Sulforaphane 在 0.1-10 $\mu\text{mol/L}$  的浓度范围内,在表达人类细胞色素 P450 CYP2E1 或 CYP1A2 的 T5-肿瘤性人类肝细胞中,强烈抑制致癌剂诱导的 DNA 断裂<sup>[12]</sup>。Maheo 等试验了 Sulforaphane 对经过初次和二次肿瘤切除的 4 个成熟供体中的人类肝细胞的效应,首次发现 Sulforaphane 在人类中抑制阶段 1 酶和诱导阶段 2 酶<sup>[14]</sup>。异硫代氰酸盐调节细胞程序化死亡也在一些人体细胞系中进行了研究,如 HeLa 细胞, Jurkat T-细胞,胚胎肾 293 细胞和来自纤维肉瘤的 HT1080 细胞等<sup>[21-23]</sup>。

总的来说,在人类试验系统中异硫代氰酸盐的抗癌机理的研究还较少,但这方面的研究具有重大意义,并且已有了良好的开端,今后需发现更多的可用于异硫代氰酸盐抗癌机理研究的人类试验系统,并在这些系统中进行关于异硫代氰酸盐对人类的阶段 1/阶段 2 酶代谢的影响,以及异硫代氰酸盐诱导的细胞程序化死亡的信号转导的研究。

## 三、其他相关研究

如前所述,食用芸薹属蔬菜可以减少癌症的发生,除了研究异硫代氰酸盐的抗癌作用机理之外,研究如何减少在芸薹属蔬菜的加工贮藏等采后过程中,异硫代氰酸盐活性的降低,提高芥子油苷和异硫代氰酸盐的生物利用率及其代谢的效率,是使消费者通过合理地食用芸薹属蔬菜真正达到预防癌症的另外一些重要环节,在通过饮食实施化学保护的癌症预防策略中具有重要意义。此外,由于芸薹属植物含特别丰富的芥子油苷,其中由甲硫氨酸(Met)衍生的脂肪类芥子油苷,及其分解产生的异硫代氰酸盐对抗癌活性非常重要。而在模式植物拟南芥中,由甲硫氨酸衍生的芥子油苷的含量也较高,这使得关于芥子油苷生物合成及其调节的研究在拟南芥中异常活跃,已分离到多个编码芥子油苷生物合成的关键酶的基因,为进一步进行作物改良和品质育种奠定了基础。

### 1. 各种采后因素对活性异硫代氰酸盐产生的影响

芸薹属蔬菜在收获后的加工,贮藏和烹饪等过程中,不可避免地经历一系列逆境,其中机械损伤、感染和紫外线辐射会使芥子油苷的水平上升;而切割、烹饪等过程破坏植物细胞,使葡萄糖硫苷酶与芥子油苷接触,从而促进芥子油苷的降解和活性异硫代氰酸盐的产生。在这些过程中,活性异硫代氰酸盐的产生与芥子油苷的水平及水解程度有关。

芸薹属蔬菜的主要商业化加工产品形式为切割、发酵和冷冻形式。在切割过程中,这些蔬菜往往在切片之后被清洗,这为葡萄糖硫苷酶的活性创造最佳条件,有利于异硫代氰酸盐的产生;在白甘蓝被发酵的过程中,芥子油苷在两周内完全降解,但在降解产物中检测不到异硫代氰酸盐<sup>[27]</sup>。至于漂白过程的影响,在冷冻前进行漂白会诱导化学酶学和物理化学变化,随着处理时间的增加和温度的上升,葡萄糖硫苷酶的活性降低,影响活性异硫代氰酸盐的产生<sup>[36]</sup>。冷藏或冷冻等低温贮藏能改变芥子油苷的代谢,冷冻前若不先使葡萄糖硫苷酶失活,往往导致在冻融之后芥子油苷完全被降解<sup>[28]</sup>,但并不影响食用后活性异硫代氰酸盐的生成。对于在包装条件下,芥子油苷水平和活性异硫代氰酸盐的变化还缺少系统研究,但这方面的研究应该是很有意义的,今后需进一步研究包装内的不同条件(温度,湿度,氧气和二氧化碳浓度等)对芥子油苷代谢和活性异硫代氰酸盐产生的影响。

关于烹饪对活性异硫代氰酸盐的影响,总的来说,烹饪使芥子油苷的含量下降,并且会使葡萄糖硫苷酶失活,因而使活性异硫代氰酸盐的含量下降。研究不同烹饪方法(如传统法,微波法和高压法)以及烹饪强度(如温度,时间)对活性异硫代氰酸盐成分的影响,对指导消费者如何减少在烹饪过程中活性异硫代氰酸盐和抗癌活性的降低将是很有意义的。目前,关于各种采后因子对芸薹属作物芥子油苷含量和活性异硫代氰酸盐组分的影响的系统研究还很少,我们正在与采后专家合作,研究各种采后因子对青花菜芥子油苷组分及抗癌活性的影响。

### 2. 异硫代氰酸盐的代谢

了解芸薹属蔬菜作为食品食用后,活性异硫代氰酸盐在体内的代谢,有利于理解其在人类中的化学保护作用机制。药物动力学研究以口服异硫代氰酸盐的方法,证实了异硫代氰酸盐从上消化道大量吸收。以 25 - 250  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  剂量的  $\text{C}^{14}$  标记的 PEITC

和烯丙基异硫代氰酸盐饲喂老鼠后, $\text{C}^{14}$  以很快的速度在血液中发现,峰值浓度在服用后 3 小时达到<sup>[30,31]</sup>。在人体内异硫代氰酸盐代谢的主要线路是通过转变为 N-乙酰半胱氨酸衍生物(如巯基尿酸等)。这一过程主要包括 3 个步骤,首先是在谷胱甘肽-S-转移酶的作用下,异硫代氰酸盐与谷胱甘肽结合,之后结合物水解为半胱氨酸衍生物,最后发生乙酰化作用。在人类供试者食用芸薹属蔬菜的试验中,褐芥和辣根中的烯丙基异硫代氰酸盐,水芹中的 PEITC 以及青花菜中的 Sulphoraphane 均以巯基尿酸的形式经肾脏分泌,并且分泌量很大,在 24 小时内达到吸收数量的 30% - 67%<sup>[32-34]</sup>;与此相反的是,当人体食用煮过后葡萄糖硫苷酶失活的蔬菜时,巯基尿酸的数量大大下降,并且分泌速率也减慢<sup>[34,35]</sup>。

关于异硫代氰酸盐与它们的靶组织之间的相互作用的机制的研究是理解异硫代氰酸盐的体内代谢的关键,今后这方面的研究应偏向于在人类自愿者中进行一些体内研究。这些研究应以包含已知的异硫代氰酸盐成分的芸薹属蔬菜为材料,利用一些生物标记物来系统研究不同供试者对饮食中提供的天然异硫代氰酸盐的生理反应情况,比如,异硫代氰酸盐代谢的主要酶谷胱甘肽-S-转移酶对异硫代氰酸盐有很强的特异性,编码这些酶的基因在人类中具多态现象,在某一个体中,异硫代氰酸盐的总体代谢将最终取决于他们的基因型,随着分析基因表达变化的技术的发展,这方面的研究可望深入进行。

### 3. 芥子油苷生物合成的研究及其应用

目前,提高作物中对人类健康有益的保健成分(如维生素 A、E,铁等)的含量已成为育种的一个新目标,近年来,随着天然的异硫代氰酸盐的抗癌作用的发现,提高蔬菜作物中的芥子油苷的含量,改善其组分也成了蔬菜育种的一个新目标,这极大地激发了人们对芥子油苷生物合成机理研究的兴趣,因为在此基础上,就可以通过传统的育种方法和遗传工程手段来提高作物中有抗癌功效的芥子油苷的含量。

拟南芥是植物发育和遗传学研究的模式植物,由于它包含了 30 多种不同的芥子油苷,因而是十字花科植物芥子油苷生物合成机理研究的理想材料。脂肪类芥子油苷的分布在拟南芥不同生态型之间差异很大,根据拟南芥不同生态型之间脂肪类芥子油苷侧链的差异,通过对不同的亲本和重组体近交系进行遗传学分析,已发现一个定位于第 3 染色体的

单一位点 GSL-ELONG 调节脂肪类芥子油苷的侧链长度,另3个位点 GSL-OXID, GSL-ALK 和 GSL-OH 则与脂肪类芥子油苷结构的多样性有关<sup>[36]</sup>。用化学诱变或插入诱变等方法,可进一步筛选得到芥子油苷组分和含量发生变化的突变体。如 Haughn 等用 EMS 诱变的方法从生态型 columbia 的 1200 个 M2 代植株中筛选出 6 个芥子油苷表达发生改变的突变体。其中 4 个品系 (TU1, TU3, TU5 和 TU7) 的脂肪类芥子油苷水平发生了改变<sup>[37]</sup>。通过筛选拟南芥的 T-DNA 活化系,也可以得到芥子油苷表达发生变化的突变体,这一方法的优点是一旦得到突变体,就很容易用质粒拯救 (plamid rescue) 的方法克隆到相应的基因,并进一步分析基因的功能。目前我们正和美国 UC DAVIS 的 ABEL 实验室合作进行这方面的研究<sup>[38]</sup>,我们的最终目标是在鉴定参与芥子油苷生物合成的结构基因和调节基因的基础上,人为操纵芥子油苷的生物合成,以提高作物中抗癌的芥子油苷的含量。

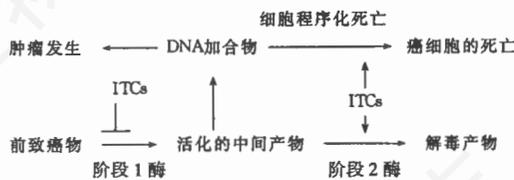


图1 异硫代氰酸盐在致癌代谢中的作用

## 摘要

本文概述了异硫代氰酸盐抗癌作用机理的研究进展以及一些相关研究,包括各种采后因子对芸薹属蔬菜活性 ITCs 产生的影响,ITCs 在体内的代谢,以及芥子油苷生物合成的研究及其应用等。

## 参考文献

- [1] Wattenberg LW et al., 1992, *Cancer Res*, **52**: 2085-2091.
- [2] Wolf CR et al., 2001, *PNAS*, **98**(6): 2941-2943.
- [3] Poulton JE, Moller BL, 1993, *Meth Plant Biochem*, **9**: 209-237.
- [4] Jongen WMF et al., 1996, *Proc Nutr Soc*, **55**: 433-446.
- [5] Zhang Y, Talalay P, 1994, *Cancer Res*, **54**: 1976-1981.
- [6] Halkier EH, Du L, 1997, *Trends Plant Sci*, **2**: 425-437.
- [7] Talalay P, Zhang Y, 1996, *Biochem Soc Trans*, **24**: 806-810.

- [8] Hecht S, 1999, *J Nutr*, **129**: 768-774.
- [9] Hong WK, Sporn MB, 1997, *Science*, **278**: 1073-1077.
- [10] Yang CS, et al., 1994, *Cancer Res*, **54**: 1982-1986.
- [11] Chung FL et al., 1984, *Cancer Res*, **44**: 2924-2928.
- [12] Barcelo et al., 1998, *Mutation Res*, **402**: 111-120.
- [13] Barcelo S et al., 1996, *Carcinogenesis*, **17**: 277-282.
- [14] Maheo K et al., 1997, *Cancer Res*, **57**: 3649-3652.
- [15] Prochaska HJ et al., 1992, *PNAS*, **89**: 2394-2398.
- [16] Gerhauser C et al., 1997, *Cancer Res*, **57**: 272-278.
- [17] Fahey JW, Talalay P, 1999, *Food and Chemical Toxicology*, **37**: 973-979.
- [18] Guo Z et al., 1992, *Carcinogenesis*, **13**: 2205-2210.
- [19] Prestera T et al., 1993, *PNAS*, **90**: 2965-2969.
- [20] Zhang Y, Talalay P, 1998, *Cancer Res*, **58**: 4632-4639.
- [21] Yu R et al., 1998, *Cancer Res*, **56**: 402-408.
- [22] Chen YR et al., 1998, *J Biol Chem*, **273**: 1769-1775.
- [23] Gamet-Payraastre L et al., 2000, *Cancer Res*, **60**: 1426-1433.
- [24] Rose P, 2000, *Carcinogenesis*, **21**(11): 1983-1988.
- [25] Sreerama L et al., 1995, *Clinical Cancer Res*, **1**: 1153-1163.
- [26] Fahey JW et al., 1997, *PNAS*, **94**: 10367-10372.
- [27] Daxenbichler ME et al., 1980, *J Agric Food Chem*, **28**: 809-811.
- [28] Goodrich RM et al., 1989, *Food Proc Preserv*, **13**: 275-280.
- [29] Quinsac A et al., 1989, *J Sci Food Agri*, **65**: 201-207.
- [30] Bolland M et al., 1997, *Food Chem Toxicol*, **35**: 933-943.
- [31] Conaway cc et al., 1999, *Drug Metab Disposit*, **27**: 13-20.
- [32] Chung FL et al., 1992, *Cancer Epidemiol Biomark Prev*, **1**: 383-388.
- [33] Jiao D, et al., 1994, *Cancer Epidemiol Biomark Prev*, **3**: 487-492.
- [34] Shapiro TA et al., 1998, *Cancer Epidemiol Biomark Prev*, **7**: 1091-1100.
- [35] Getahun SM, 1999, *Cancer Epidemiol Biomark Prev*, **8**: 447-451.
- [36] Mithen R et al., 1996, *Entetol Exp Appl*, **80**: 202-205.
- [37] Haughn GW et al., 1991, *Plant Physiol*, **97**: 217-226.
- [38] Wang QM et al., 2002, *Phytochemical analysis*, **13**: 1-6.