جمهورية العـــراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسيـــة – كلية التربية

قســـم علوم الحياة

بحث بعنوان

تثبيط الفعالية التطفيريه للميثوتركسات باستخدام مستخلص جذور عرق السوس

بحث مقدم الى مجلس كلية التربية قسم علوم الحياة

وهو جزء من متطلبات نيل درجة البكالوريوس في علوم الحياة

من قبل الطالبات

نسرين علاوي عبد الامير

زينب مهدي لهمود

إشراف

م.د. اسيل رحيم مردان

١٤٤٥هـ ٢٠١٩م

الآية

بسم اللّه الرحمن الرحيم

(١٠) يَا أَيُّهَا الَّذِينَ آمَنُوا اذْكُرُوا نِعْمَتَ اللَّهِ عَلَيْكُمْ إِذْ هَمَّ قَوْمٌ أَن يَبْسُطُوا إِلَيْكُمْ أَيْدِيَهُمْ فَكَفَّ أَيْدِيَهُمْ عَنكُمْ ۖ وَاتَّقُوا اللَّهَ ۚ وَعَلَى اللَّهِ فَلْيَتَوَكَّلِ الْمُؤْمِنُونَ (١١)

صدق الله العلي العظيم

المائدة ١١ .

الاهداء

الى الباري عزوجل الى من بلغ الرسالة وادى الامانة الى نبي الرحمة سيدنا محمد

صلى الله عليه واله وسلم

الى من كلله الله بالهيبة والوقار الى من علمني العطاء بدون انتظار الى من

احمل اسمه بكل افتخار ارجو من الله ان يمد في عمرك لترى ثمارا قد ان

قطافها بعد طول انتظار الى والدي العزيز .....

الى تلك المرأة العظيمة التي ربت وعلمت والتي لطالما نظرت لعينيها لاستمد

منها قوتي لاكمال مسيرتي العلمية الى من كان دعائها سر نجاحي وحنانها

بلسم جراحي الى اغلى الحبايب امي الحبيبة.....

الى زوجي الى جميع من رافقني في دربي اخوتي واخواتي الى كل من كان قريبا

الى قلبي .....

شكر وتقدير

الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على اشرف الانبياء والمرسلين سيدنا

محمد وعلى اله وصحبه اجمعين

اما بعد :

لابد لنا ونحن نخطو خطواتنا الاخيرة في الحياة الجامعية من وقفة الى اعوام

قضيناها في رحاب الجامعة مع اساتذتنا الكرام الذين قدموا لنا جهودا

كبيرة في بناء جيل الغد وبالاخص الدكتورة (اسيل رحيم مردان)وقبل ان

نمضي نقدم اسمى آيات الشكر والامتنان والتقدير والمحبة الى الذين حملوا

اقدس رسالة في الحياة الى الذين مهدوا لنا طريق العلم والمعرفة الى جميع

اساتذتنا الافاضل ....

اقرار المشرف

اشهد ان مشروع البحث المعنون **(تثبيط الفعالية التطفيرية للميثوتركسات بأستخدام مستخلص جذور عرق السوس)** واجري تحت اشرافي في قسم علوم الحياة كلية التربية جامعة القادسية وهو جزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس في علوم الحياة

التوقيع

الاسم

اللقب العلمي

التاريخ

الخلاصة Abstract

تم اجراء البحث على ١٢ فاراً باستخدام عقار الميثوتركسات ومستخلص جذور عرق السوس لملاحظة التغيرات والتشوهات التي تحصل في النطف وتم تقسيم الفئران الى ثلاثة مجاميع ٤ فئران في كل مجموعة وتم تجريع المجموعة الاولى بعقار الميثوتركسات بتركيز 10 ملغم /كغم والمجموعة الثانية تم تجريعها بعقار الميثوتركسات بتركيز 10 ملغم /كغم ومستخلص جذور عرق السوس بتركيز١٠٠ ملغم /كغم واما المجموعة الثالثة (مجموعة السيطرة) تم تجريعها بالمحلول الفسيولوجي فقط .وكان التجريع بالعقار مرة واحدة يوميا ولمدة ثلاثون يوما لقد ظهرت على الفئران علامات مثل التهاب الذيل والخمول واحمرار العينين والاسهال حيث اظهرت نتائج البحث ان استخدام علاج الميثوتركسات لمدة طويلة يؤدي الى تأثيرات جانبية في النطف وقد اظهرت النتائج ايضا قلة التأثيرات في النطف عند استخدام مستخلص جذور عرق السوس مع العقار مقارنة مع استخدام العقار لوحده .

المقدمة

الميثوتركسات Methotrexate هو احد العقاقير الطبية المستخدمة في علاج السرطان كما انه احد مثبطات جهاز المناعة (١) تشمل انواع السرطانات التي تعالج بعقار الميثوتركسات ساركوما العظام واللوكيميا وسرطان الرئة وسرطان الثدي كما يستخدم ايضا لعلاج امراض المناعة الذاتية مثل التهاب المفاصل والصدفية (1) ويعطى عقار الميثوتركسات اما عن طريق الفم او على شكل حقن .

لهذا العقار تأثير في اجهزة الجسم المختلفة كالجهاز الهظمي مسبب اظطرابات هظمية (2)(3) كما له تأثير سمي خلوي Cytotoxic في السلالة المنوية للخصية (4) (5) تسبب هذه السمية طفرات وراثية في الخلايا المنشئة germ Cells حيث يتداخل العقار في عمل حمض الفوليك Folic acid ويعود السبب الى التشابه الكبير بين حمض الفوليك ومادة الميثوتركسات من ناحية البناء الجزيئي (6) .

ان الاثار الناتجة عن الميثوتركسات في تكوين النطف يشبه الى حد ما الاثار الناتجة عن استعمال مواد هرمونية وعوامل اشعاعية وادوية كميائية فله تأثير سمي خلوي وانخفاض في عدد النطف الناتج عن ايقاف الانقسام الخلوي حتى يصل الى تكون اذينات في البنية النسيجية للخصية ترافقعملية الاستموات الخلوي Apoptosis(7) .

هناك منعكسات سيئة على انتاج النطف ووظيفة الخصية ناتجة عن معالجة السرطان حيث له تأثير مباشر في الخلايا المنشئة germ cells في الانابيب المنوية كما يودي الى حدوث قلة في عدد النطف وحركتها وذلك بعد حدوث خلل في الهرمونات الجنسية LHوFSH يبدأ تأثيره في عمل خلايا سيرتولي وينتهي بتأثيره على تغذية النطف وتشكلها (8) .

عرق السوس *Glycrrihiza glabra*

هو احد النباتات المعمرة ينتشر في مناطق عديدة من بلدان العالم مثل سوريا ومصر واسيا الصغرى واواسط اسيا ووارربا ويمكن استعمال جذور هذا النبات لصنع العلاجات والحلويات والتوابل والبهارات وله نكهة تشبه نكهة اليانسون (٩) (١٠) .

يسمى هذا النبات ايضا باسم الجذر الحلو ويحتوي جذر هذا النبات على مركب يكون حلو اكثر بخمسين مرة من حلاوة السكر .نبات عرق السوس ينمو الى ما يصل (٩,١ - ٢,١٣) تكون جذور هذا النبات من النوع المتفرع ونموها يكون بشكل افقي تحت الارض ويكون الجذر ذا لون بني من الخارج ومن الداخل اصفر (١١) .

فوائد جذور عرق السوس:

لجذر عرق السوس العديد من الفوائد للجسم منها استخدامه لعلاج مشاكل الجهاز الهظمي مثل حرقة المعدة وحالات التسمم الغذائي كما يستخدم مستخلص جذور عرق السوس في اصلاح بطانة المعدة لأنه يحتوي على مواد مضادة للالتهابات تعمل على تعزيز المناعة مثل حامض غليسيرريزيك (Glycyrrhizic) الذي يعمل على منع البكتريا من النمو داخل القناة الهظمية كذلك يمكن تطبيق مستخلص

جذور عرق السوس على الاسنان لحماية الاسنان من التسوس حيث يعمل على قتل البكتريا المسببة للتلوث كما ان المواد الهلامية الموضعية التي تحتوي على عرق السوس تستخدم لعلاج الاكزيما لانه يحتوي على مواد مضادة للبكتريا .كذلك يمكن لمكملات عرق السوس ان تحافظ على صحة الغدة الكظرية مما يحسن المستوى االصحي للكوريتزول في الجسم وبالتالي يعمل على تقليل الاجهاد (١٢) .

منتجات عرق السوس

هناك اشكال عديدة لمنتجات عرق السوس واكثرها شيوعا هو مستخلص عرق السوس ويستخدم في المشروبات والحلوى تباع في متاجر الاغذية الصحية . كذلك يمكن استخدام الاوراق المجففة لنبات عرق السوس في صنع الشاي الذي يمكن ان يوجد في متاجر الاغذية الصحية والمحلات التجارية كذلك يتواجد عرق السوس على شكل كبسولات او اقراص مضغة تستعمل لمعالجة مشاكل الجهاز الهضمي (١٢) .

الاثار الجانبية لعرق السوس :

تناول عرق السوس لعدة اسابيع يوميا او اكثر يسبب اثار جانبية شديدة مثل انخفاض مستويات البوتاسيوم والشلل والتعب واصابة الدماغ بالنسبة للاشخاص الاصحاء وارتفاع ضغط الدم .ايضا يسبب الصداع واحتباس الصوديوم والمياه وغياب فترة الحيض لدى النساء فالاشخاص الذين يعانون من امراض القلب او امراض الكلى وكذلك الاشخاص الذين يتناولون الكثير من الملح وكذلك المصابين بارتفاع ضغط الدم فان تناول ٥ جرامات في اليوم يسبب هذه المشاكل (١٤) .

المواد وطرق العمل

تشوهات رؤوس النطف :قسمت حيوانات هذه التجربة الى ثلاث مجاميع وكالاتي :

١. المجموعة الاولى :حيوانات معاملة بعقار الميثوتركسات وعددها ٤ فأر.
٢. المجموعة الثانية :حيوانات معاملة بعقار الميثوتركسات +مستخلص جذور عرق السوس وعددها ٤ فأر .
٣. المجوعة الثالثة: حيوانات جرعت فقط بالمحلول الفسيولوجي Buhfer Saline وعددها ٤ فأر .

جرعت هذه الحيوانات عن طريق الفم بمعدل جرعة واحدة في اليوم ولمدة ٣٥ يوما وشرحت في اليوم ٣٥ لغرض فحص تشوهات رؤوس النطف واعتمدت طريقه (١٤) حيث تم تشريح الحيوانات وتم استخراج البربخ Epidydimis وتم وضعه في طبق يحتوي على ٥ مل من محلول دارئ الفوسفات الفسيولوجي وتم تقطيعه الى اجزاء صغيرة وفرشت قطرة من المحلول على شريحة زجاجية وتركت لتجف ثم صبغت بصبغة الايوسين لمدة ٣ دقائق وغسلت بالماء المقطر ثم تم فحص الشرائح وحسبت النسبة المئوية حسب المعادلة.

معامل تشوهات رؤوس النطف (%)=(عدد النطف المشوهة /العدد الكلي)×١٠٠

جدول رقم (١) تأثير مستخلص عرق السوس على النسبة المئوية لتشوهات النطف في الفئران المعاملة بعقار الميثوتركسات

المعاملات	عدد الفئران	النسبة المئوية لتشوهات رؤوس النطف
Control	٤	٢,١١ ±١,٢٥
Methotrexate ١٠ ملغم /كغم	٤	١٣,١٢± ١,١٩
Methotrexate+ عرق السوس١٠٠ ملغم /كغم	٤	٥,٢٣ ±2.13

Control:- جرعت فقط بمحلول دارئ الفوسفات الفسيولوجي

Methotrexate :- جرعت بعقار الميثوتركسات بتركيز 10 ملغم /كغم

Methotrexate +عرق السوس :جرعت بعقار الميثوتركسات ١٠ ملغم /كغم + عرق السوس بتركيز 100ملغم /كغم النتائج.

تشوهات رؤوس النطف:

يتبين من خلال النتائج الموضحة في الجدول رقم (١)ارتفاع النسبة المئوية لتشوهات رؤوس النطف نتيجة المعالجة بعقار الميثوتركسات حيث كانت نسبة التشوهات (13.12±1.19) عند مقارنتها بمجموعة السطرة والتي كانت نسبة التشوهات بها (1.25± 2.11) وكانت الفروق معنوية بينهما بينما اتضح ان هناك انخفاض واضح في النسبة المئوية لتشوهات رؤوس النطف عند اعطاء المستخلص المائي لجذور عرق السوس مع عقار الميثوتركسات وكانت النسبة (5.23±2.13).

مما يدل على ان مستخلص جذور عرق السوس عمل على تقليل النسبة المئوية للتشوهات الحاصلة في رؤوس النطف .

التحليل الاحصائي :

باستخدام (ANOVA Table)تم تحليل الناتج احصائيا لتحيل التباين وباستخدام اختبار (Duncan Multiple) واختبار اقل فرق معنوي Less sighificant differantalتم اختبار الفروقات المعنوية بين المعدلات وذلك باستخدام البرنامج الاحصائي الجاهز SPSS (١٥).

المناقشة

اكدت الدراسات والبحوث العلمية انه هناك العديد من النباتات التي لها فاعلية دوائية في خفض نسبة الطفرات الوراثية الناتجة عن المطفرات Mutagensوالمواد المسرطنة Carcinogens وتعمل على زيادة فاعلية الجهاز المناعي حيث تمكن المستخلص المائي لجذور عرق السوس من خفض الطفرات الوراثية الحاصلة بسبب استخدام الميثوتركسات حيث عمل على رفع معدل خلايا الدم البيض وزيادة مؤشر الانقسام ويعتقد ان السبب يعود ربما الى مواد محفزة للانقسام الخلوي Mitogen (16) (17) .

اوربما يكون السبب هو تأثير المستخلصات المائية التي تؤدي الى زيادة كمية البروتينات النووية وتحفيز الانزيم المسوؤل عن تضاعف الحامض النووي الرايبوزي DNAوالذي يؤثر في انقسام الخلية وهو انزيم بلمرة الحامض النووي الرايبوزي منقوص الاوكسجين DNA_Polymerase (18) اوقد يكون السبب هو احتواءه على مركبات لها القابلية على زيادة مستوى الانزيمات المضادة للاكسدة (19) .

كما تبين ان تجريع الفئران بعقار الميثوتركسات ادى الى زيادة تكون الطفرات وتشوهات الحيوانات المنوية (الامساخ النطفي) اوما يسمى بالتيراتوسبيرما وهي تشوهات تحدث في النطف تحدث تغيير في السائل المنوي مما ينتج عنه قله في عدد الحيوانات المنوية فيه وبالتالي حدوث العقم عند الرجال ولكي يشخص المصاب بتشوهات الحيوانات المنوية او الامساخ النطفي حسب منظمة الصحة العالمية يجب ان تكون نسبة النطف المشوهة اكثر من ٩٦%(٢٠) (٢١) كما انه هناك اسباب اخرى لحدوث تشوهات النطف منها اما ان تكون خلل في الهرمونات او العلاج الكيمائي او الاشعاعي لذلك يفضل حفظ عينة من الحيوانات المنوية المجمدة من الاشخاص المعرضون للاشعاع ان كانو يريدون الانجاب مستقبلا كذلك يمكن ان يكون السبب وراثي ويصعب علاجه كذلك الالتهابات التي تحصل في السائل المنوي ودوالي الخصيتين وتعاطي المخدرات والكحول ودرجات الحرارة المرتفعة كذلك مرض السكري والسحايا (٢٢) ويمكن ان يعزى تأثير العقار الى تداخله مع المادة الوراثية كما انه يؤدي الى حصول نقص في انزيم Dihydro folatereductaseكذلك يسبب نفاذ النيوكليوتيدات Nucleotidesالتي تعتبر وحدات بناء ال DNA يؤدي الى فشل عملية اصلاح التلف الحاصل في ال DNAكما ان هذا العقا يعمل على تثبيط الانزيمات التي تتحكم في ايض البيورينات Puriensوبالتالي يؤدي الى تراكم الادينوسين Adenosinوتلف جزيئة ال DNA (٢٣) .

يمكن تحسين نوعية الحيوانات المنوية من خلال النظام الغذائي المتوازن وتناول الفواكه والخضروات حيث يمكن ان يكون سبب التشوهات هو نقص في الفيتامينات والمعادن الضرورية التي تحتوي على مضادات الاكسدة التي لها دور مهم في تكوين الحيوانات المنوية مثل فيتامين Eوالسيلبتيوم والزنك (٢٤) .

اما فيما يتعلق بتأثير مستخلص جذور عرق السوس في تثبيط الفعالية التطفيرية والسمية لعقار الميثوتركسات فقد اثبتت الدراسات احتواء المملكة النباتية الكثير من المركبات الطبيعية التي لها خصائص علاجية او تطفيرية او مضادة للتطفير وقد ازدادت الدراسات التي تعمل على ابراز اهمية المركبات الطبيعية التي تمتلك الصفة المضادة للتطفير (Anti-mutagenesis) ان المستخلص المائي لجذور عرق السوس له فعالية تثبيطية عالية تجاه عقار الميثوتركسات حيث ان هذا المستخلص قلل من التأثيرات التطفيرية والسمية للعقار وخفض نسبة التشوهات الكروموسومية عند معاملة الفئران بهذا العقار (٢٥) فقد

ظهرت فروقات معنوية بين التجريع بعقار الميثوتركسات لوحده وبين التجريع بمستخلص جذور عرق السوس قبل اوبعد اعطاء العقار حيث لوحظ اثر هذا المستخلص المائي في خفض التغييرات الكروموسومية وتشوهات رؤوس النطف فقد يظهر ان لهذا المستخلص دور في تثبيط الفعل التطفيري والسمي للعقار ويمكن ان يعزى هذا التأثير الى احتواءه على مواد مثل الفلافونات والكومارين والتاتينات والصابونيات والتي تعتبر مواد مضادة للطفرات (٢٦) حيث ان هذه المواد هي مواد مضادة للطفرات السرطانية حيث تقوم التاتينات بحث انظمة الاصلاح في الخلايا (٢٧)او قد يكون السبب هو احتواءه على على الفلافونيد Flavonoids الذي يعمل على تقليل الكسور التي تحصل في اشرطة ال DNAكما ويمتلك خاصية تثبيطية لبعض المطفرات الكيمائية كما انه له تأثير في زيادة فعالية الانزيم GST القادر على تثبيط الفعل السمي والمسرطن لبعض المواد (٢٨) او يمكن ان يعزى السبب الى احتواء المستخلص المائي على العديد من المعادن والفيتامينات والمركبات السكرية والبروتينية التي لها دورا فعالا في تثبيط الطفرة الوراثية وقد اشار (٢٩) الى انه امتلاك فيتامين Cقدره على تثبيط عدد كبير من المطفرات الكيمائية والفيزيائية حيث يعتبر مثبطا عاما للطفرات اذ يقوم بالالتصاق بالمواقع الفعالة ومنع الالتصاق بها (٣٠) .

المصادر

١. معرف المصطلحات المرجعية بملف المخدرات الوطني :
http://bioportal. bioontology.org/ontologies/ N DFRT? P:=Classes &Conceptid =N0000147916. تاريخ الاطلاع:١٣ ديسمبر ٢٠١٦

2. French,A. E., and Koren,(2003).Effect of Methotrexate on Male Fertility .Canadain Family Physican , Vol. 49 ,issue 5,577-57

3. (3)Balk,R . A.(2011).Methotrexate.induced lung injury. Vptodate Marketing Profesionel.19.1(ecapp.o6Vtd .com. 84/137 200 .FFCi D9C76_19.

4. Padmanabhan,STripathi , D. N.,ViKram,A., Ramarao, P. andJena ,G. B.(2008).Cytotoxic and egfects of Methotrexate in germ Cells of mice . Copyright ○Elseveir B.V. All right reserved.Vol.655. issue 1_2.

5. Molloly.A. M. (2003) .Folate bio availability and health . In l .J. Vitam . Nutr Res .72(1) i 46_52

6. Filzakerley , J.(2011) ..Antineoplastitc .A.Folic acid an alognesi Methotrexate ,Pemertexed . Prevent DNA /Antimetabolites Folic acid analognes/Mechanism. Univ . Of Minuesota Medical School .. Duluth/Las modified 3_ mar 114:28 Pm

7. Hales , B . F. and Robaire, B . (2010) .The male germ Cell as q Target for Toxicants Comprehensive Chapter . 11.06 ,115_129

8. Magelssen,H.,Brydoy,M.,and Fossa, S.D.(2006).The effect of Cancer and Cancar Treatments on male Reproductive Function Physiology of male Fertility . Nat.Clin Pract .Urology,3(6): 212_322.

٩. أ ب معرف مكتبة تراث التنوع البيلوجي

10. Licorice , www.britannica .com , 29,12" 2017 Retrieved 13-1.2.2018 Edited

11. Licorice " www.vmm.edu,retrived 13-1- "2018, edited

12. Kathryn Watson , Health Benefits of Licorice Root " www.healthline.com .Retrieved 13-1-2018 edited

13. Licorice , www.webmd.com , Retrieved 19,7" 2018 Edited

14. Gupta, M. وMazumber,U. K., Kumar, T.S., Gomathi, P. and Kumar, R. S (2004). Antioxidant and Hepatoprotective Effects of Bauhinia racemosa againts Paracetamol, and Carbon Tetra-chloride Induced Liver Damage in Rats. Iranian Journal of Pharmacology and Theraputics. 1735-2657/04/31-12-20

١٥. العقيلي ،صالح رشيد والشايب ،محمد سامر .(١٩٩٨).استخدام البرنامج الاحصائي SSPS مطبوعات الجامعة. دار الشرق للطباعة.

16. Ad'hia,A.H.,AL-Halbosiy,M. M.,and AL-Jumaily, R. M. Kh. (2002). Modulating the haemotological and cytogentic effects of Mitomycin-C by Aqueos extract of Nut Grass(Cyperusrotundus L.) .j. of Biotechnology Research Center/AL-Nahrain University .No.1:185-1140.

17. Aurasorn , S .; Kornkanok , I . and Pattana , S . (2007) . Immunomodulating activityof thai rejuvenation plant . Naresuan Uni . J. 15 : 149-157 .

18. Chunyan , H .; Huaqing , L .; Juan , D .; Baoqing , M .; Hong , Q .; Xinru , W .; Shen , Y . and Zhong , L . (2009) . Estrogenic activities of extracts of Chinese licorice (Glycyrrhiza uralensis) root in MCF – 7 breast cancer cell. J. of steroid biochemistry and mole. Bio. 113:209-216.

19. Bafana , P.A. and Balaraman , R . (2005) . Antiulcer and anti oxidant activity of pepticare , a herbomineral formulation. Phytomedicine. 12 : 264-270 .

٢٠. "Treatment for teratozoospermia".Teratozoospermia تمت أرشفته منالأصل في ٢٤ يونيو ٢٠١٨. اطلع عليه بتاريخ ٢٦ أبريل ٢٠١٨.

٢١. Natural Herbal Treatment for Azoospermia or Nil Sperm Count | Ayurveda Health Care For Men". www.ayurveda-increaselibido.com(باللغة الإنجليزية). اطلع عليه بتاريخ ٢٦ أبريل ٢٠١٨.

٢٢. "Abnormal Sperm Morphology, Toxicity And Natural Treatments".اطلع عليه بتاريخ ٢٦ أبريل ٢٠١٨.

23. Kasahara , Y.; Wakata , A.; Nakai , Y.; Yagi , K.; Hirabayashi , K. and Makita , T. (1992) . Mechanism of induction of of micronuclei and chromosome aberrations in mouse bone marrow by multiple treatment of methotrexate . Mutant . Res . 280:117-128

٢٤. Manzoor ،Sarfraz (2012-11-02). "Come inside: the world's biggest sperm bank". the Guardian(باللغة الإنجليزية). اطلع عليه بتاريخ ٢٦ أبريل ٢٠١٨.

٢٥. حسن ، مفيد قائد احمد.(٢٠٠٢). استخدام بعض المستخلصات النباتية لتثبيط الاثر السمي الوراثي لبعض العقاقير المضادة رسالة دكتوراه كلية العلوم / جامعة بابل.

٢٦. الطريحي ، منى نجاح حسن (٢٠١٠ . (تثبيط الفعالية التطفيرية للسايكلوفوسفومايد باستخدام مستخلص جذور عرق السوس . رسالة ماجستير ، جامعة بابل .

27. Ishaq , M .; Shah , Y . and Tanki . A. (2003) . Cancer chemoprevention through natural antimutagenic agents. J. Practitioner . 10 : 101-106

28. Miski, M. ; Ulubele, A. and Mabry, T. (1983) G-Hydroxy flavones from Thymbra spicata. Phytochemistry. 22: 2093-2094.

29. Deflora, S. and Ramel, G. (1988). Mechanism of inhibitor of mutagenesis and carcinogenesis. Classification and overview. Mutat. Res. 202: 285-306.

30. Mita, S.; Yamazo, Y.; Kamataki, T. and Kato, R. (1982) Effect of ascorbic acid and the nonenzymatic binding to DNA and the mutagenicity of N-hydroxylated metabolite to tryptophan phrolysis product. Biochem. Biophys. Res.Commun. 105: 1396-1401.