

• 药理与临床 •

应用 SOS/umu 测试筛选抗丝裂霉素 C 遗传毒性的植物源细胞保护剂

古绍彬¹, 杨彬¹, 贺嘉怡¹, 吴影¹, 杨剑波², 李浩²

1. 河南科技大学食品与生物工程学院, 河南 洛阳 471023

2. 安徽省农业科学院, 安徽 合肥 230031

摘要:目的 建立一种快速筛选抗丝裂霉素 C 遗传毒性的植物提取物的体系和方法。方法 采用鼠伤寒沙门氏菌 *Salmonella typhimurium* TA1535/pSK1002 以及小鼠急性毒性实验, 通过 SOS/umu 测试评价菊花、大蒜、生姜、银杏叶、人参、葡萄籽、绿茶、灵芝、刺五加、大豆 10 种植物提取物及部分提取物组合对丝裂霉素 C 遗传毒性的影响。结果 大蒜、葡萄籽、绿茶、刺五加、大豆提取物有较强的抗突变能力, 刺五加提取物 1.5 g/L 对丝裂霉素 C 遗传毒性的抑制率达 67.12%; 这 5 种植物提取物两两组合的抗细胞畸变能力明显优于单个提取物, 尤以刺五加-绿茶和刺五加-葡萄籽两种组合的作用最强, 其中刺五加-绿茶组合对丝裂霉素 C 遗传毒性的抑制率最高达 83.2%。小鼠体内实验显示, 刺五加-绿茶显著降低经丝裂霉素 C 作用的小鼠微核率和精子畸变率, 明显提高小鼠胸腺指数。结论 SOS/umu 测试不仅是一种快速评价植物提取物的抗突变能力的有效方法, 还可作为一种细胞保护剂快速筛选模型对候选植物提取物或化合物进行高通量筛选。

关键词: 植物提取物; 丝裂霉素 C; 遗传毒性; 细胞保护剂; SOS/umu 测试

中图分类号: R282.710.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2013)06-0709-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.06.015

Application of SOS/umu in screening cytoprotectors of plants against mitomycin C-induced genotoxic damage

GU Shao-bin¹, YANG Bin¹, HE Jia-yi¹, WU Ying¹, YANG Jian-bo², LI Hao²

1. College of Food and Bioengineering, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471023, China

2. Anhui Academy of Agricultural Science, Hefei 230031, China

Abstract: Objective To establish a system and method for screening plant extract against mitomycin C-induced genotoxic damage. **Methods** *Salmonella typhimurium* TA1535/pSK1002 and acute toxicity experiment of mice were used, and the effects of the extracts from ten plants, *Chrysanthemis Flos*, *Allii Bulbus*, *Zingiberis Rhizoma Recens*, *Ginkgo Folium*, *Ginseng Radix et Rhizoma*, *Vitis Viniferae Semen*, *Gemmae Camelliae Sinensis Folium*, *Ganoderma*, *Acanthopanax Senticosi Radix et Rhizoma seu Caulis*, and *Sojae Semen*, and the extract combinations on mitomycin C-induced genotoxic damage were observed by SOS/umu test. **Results** Significantly protective effects of five extracts, including the extracts from *Allii Bulbus*, *Vitis Viniferae Semen*, *Gemmae Camelliae Sinensis Folium*, *Acanthopanax Senticosi Radix et Rhizoma seu Caulis*, and *Sojae Semen* against mitomycin C-induced genotoxicity were observed. *Acanthopanax Senticosi Radix et Rhizoma seu Caulis* extract (1.5 g/L) could inhibit the mitomycin C-induced genotoxicity (67.12%). Combinations of any two extracts showed higher antimutagenic capacity than any single one. Among all the combinations, *Acanthopanax Senticosi Radix et Rhizoma seu Caulis*-*Gemmae Camelliae Sinensis Folium* and *Acanthopanax Senticosi Radix et Rhizoma seu Caulis*-*Vitis Viniferae Semen* showed the highest activity, and the inhibition rate of the former against the mitomycin C-induced genotoxicity was 83.2%. *In vivo* tests showed that *Acanthopanax Senticosi Radix et Rhizoma seu Caulis*-*Gemmae Camelliae Sinensis Folium* could significantly decrease the micronucleus rate and sperm abnormality rate of mice induced by mitomycin C and also increase the thymus indexes. **Conclusion** Based on the results, it is clearly proved that the SOS/umu is not

收稿日期: 2012-05-26

基金项目: 安徽省农业科学院委托开发项目 (1848)

作者简介: 古绍彬 (1975—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为环境毒理学。E-mail: shaobingu@haust.edu.cn

only a useful and convenient way to evaluate the antimutagenic ability of plant extracts, but also could be used as a kind of rapid screening model for cytoprotector with high throughput screening of candidate extracts or compounds.

Key words: plant extract; mitomycin C; genotoxicity; cytoprotector; SOS/umu test

丝裂霉素 C (mitomycin C) 是临床上广泛使用的抗生素类抗肿瘤药物。然而丝裂霉素 C 在抑制癌细胞增殖的同时, 对机体细胞 DNA 也有很大损伤, 且其还是一种强的诱变剂, 长期用药有诱发第 2 肿瘤的风险^[1]。因此开发一种合适的细胞保护剂与丝裂霉素 C 合用, 对降低丝裂霉素 C 的不良反应具有重要意义。近年来, 天然植物提取物因含有多种生物活性成分, 对细胞能产生抗氧化、免疫调节、抗突变等多种药理作用, 毒副作用小等特点而成为被关注的焦点之一^[2]。

依靠动物实验从天然物质中筛选抗突变药物, 耗时费力, 经费投入大, 且由于药物筛选要求实验方案标准化和定量化, 因此传统的动物实验在药物筛选中较少应用。细胞水平的药物筛选虽然是更接近生理条件的一种药物筛选模型, 准确率更高, 但需要建立细胞模型, 操作更复杂, 成本更高, 且干扰较多, 不易排除, 数据间的平行较差^[3]。鼠伤寒沙门氏菌 *Salmonella typhimurium* TA1535/pSK1002 为产生 β -半乳糖苷酶的 lacZ 报告基因与操纵子 umuC 基因相融合, 通过 pSK1002 质粒整合于鼠伤寒沙门氏菌 TA1535 菌株的 DNA 中, umuC 基因在正常情况下被阻遏蛋白所封闭, 一旦其 DNA 受到损伤, 细菌即产生 SOS 反应, 生成具有活性的蛋白水解酶 recA, 该酶介导 lexA 蛋白的裂解, 使受封闭的 umuC 操纵子启动, 并带动 lacZ 基因转录、翻译, 生成 β -半乳糖苷酶, 根据 β -半乳糖苷酶的生成量, 即可判断 DNA 受损的程度。本实验参考文献方法^[4], 尝试利用单细胞微生物鼠伤寒沙门氏菌和 SOS/umu 测试, 建立抗丝裂霉素 C 遗传毒性的植物提取物体外筛选方法, 并结合中药复方配伍理论^[5-6], 将筛选到的具显著抗细胞畸变活性的植物提取物配对组合, 进行小鼠体内实验, 以进一步评价和验证筛选结果, 从而建立抗细胞畸变药物或植物提取物的快速、高通量的筛选体系。

1 材料

1.1 植物提取物与试剂

菊花、大蒜、生姜根、银杏叶、人参根、葡萄籽、灵芝、绿茶、刺五加、大豆提取物, 安徽宣城百草植物工贸有限公司, 有效成分及质量分数见表 1。

表 1 植物提取物有效成分及其质量分数
Table 1 Active components and their contents in plant extracts

植物提取物	有效成分	质量分数 / %
菊花提取物	绿原酸	0.25
大蒜提取物	大蒜素	1.00
生姜提取物	姜酚	5.92
银杏叶提取物	银杏黄酮糖苷	26.75
人参根提取物	人参皂苷	13.12
葡萄籽提取物	原花色素	95.72
绿茶提取物	茶多酚	91.55
灵芝提取物	灵芝多糖	32.13
刺五加提取物	刺五加总苷	11.20
大豆提取物	异黄酮	41.22

丝裂霉素 C (批号 527AHA01), Sigma 公司; 氨苄青霉素 (批号 05111059)、二甲基亚砜 (DMSO)、 β -巯基乙醇、十二烷基硫酸钠 (SDS)、2-硝基苯基- β -D-半乳糖苷 (ONPG), Fluka 公司。

1.2 主要仪器

SW—CJ—1F 型单人双面净化工作台, 苏州净化设备有限公司; MODEI680 酶标仪, 美国伯乐公司。

1.3 菌株与动物

鼠伤寒沙门氏菌 TA1535/pSK1002, 由安徽省农业科学院提供; 昆明种雄性小鼠, 二级清洁, 体重 (20 $\pm$ 2) g, 河南省实验动物中心提供, 许可证号: SCXK (豫) 2005-0001。

2 方法

2.1 丝裂霉素 C 质量浓度的筛选

取培养过夜的鼠伤寒沙门氏菌悬液 1 mL, 分别涂布于含 0.1、1、5、10、50、100、500、1 000 mg/L 丝裂霉素 C 的 LB 平板培养基上 (每个培养皿含 50 μ g/mL 氨苄青霉素), 37 $^{\circ}$ C 培养 24~48 h, 观察丝裂霉素 C 对鼠伤寒沙门氏菌生长的影响。

2.2 SOS/umu 测试筛选细胞保护剂

2.2.1 筛选实验 参照 Oda 等^[7]的 SOS/umu 遗传毒性测试方法, 通过分析鼠伤寒沙门氏菌 TA1535/pSK1002 β -乳糖苷酶活性及抑制率, 研究菊花、大蒜、生姜根、银杏叶、人参根、葡萄籽、绿茶、灵芝、刺五加、大豆 10 种植物提取物对丝裂霉素 C

遗传毒性的影响,提取物使用剂量参照《中国药典》2010年版相关使用剂量^[8]。筛选出的具有显著活性的提取物,两两组合,使单一提取物有效成分质量浓度为1 g/L,将其加至含0.1 mg/L 丝裂霉素 C 的 LB 液体培养基中,同法考察各组合对丝裂霉素 C 的抗畸变作用,筛选出具有最佳细胞保护作用的植物提取物组合。同时以无菌生理盐水代替植物提取物作为对照组。

2.2.2 评价指标

(1) 通过菌液在 550、420、600 nm 处的吸光度 (A) 值,计算 β -半乳糖苷酶活性^[8]。

$$\text{酶活性} = 1\,000 \times (A_{420} - 1.75 \times A_{550}) / (t \times v \times A_{600})$$

A_{600} 为 600 nm 波长下的 A 值; A_{420} 为菌液在 420 nm 波长下的 A 值 (显色剂 ONPG 的显色强度); A_{550} 为菌液在 570 nm 波长下的 A 值 (细胞破壁后的碎片浊度); t 为加入 ONPG 后的反应时间 (25 min), v 为反应菌液在显色过程中的稀释倍率 (0.1)

(2) 通过 β -半乳糖苷酶活性计算样品对其的诱导比 (R), $R > 2$ 时,样品的致突变性为阳性。

$$R = \text{给药组 } \beta\text{-半乳糖苷酶活性} / \text{对照组 } \beta\text{-半乳糖苷酶活性}$$

(3) 计算提取物对丝裂霉素 C 遗传毒性的抑制率。

$$\text{抑制率} = (R_{\text{对照}} - R_{\text{样品}}) / R_{\text{对照}}$$

2.3 体内实验

将 30 只小鼠随机分成 3 组 (每组 10 只), 其中 2 组分别给予具有较强细胞保护作用的前 2 种植物提取物组合, 每日均 ig 给予药液 2 mg/kg (0.10 g/L, 0.2 mL/10 g) 1 次, 连续给药 2 周后, 每天 ip 丝裂霉素 C 1 mg/kg, 连续给药 1 周, 期间继续给予提取物组合; 另一组小鼠 ig 生理盐水。给药结束后小鼠颈椎脱臼处死, 打开腹腔, 取股骨骨髓细胞、胸腺和副睪, 分别检查微核指数、胸腺指数和精子畸变率, 以判断提取物组合的抗畸变和细胞保护作用。

3 结果

3.1 丝裂霉素 C 质量浓度的确定

丝裂霉素 C 为 1 mg/L 时, 鼠伤寒沙门氏菌停止生长。丝裂霉素 C 为 0.1~1 000 mg/L 时, 对鼠伤寒沙门氏菌生长的抑制毒性见表 2。为确保实验的可靠性, 故选取 0.1 mg/L 作为实验最高质量浓度。

3.2 SOS/umu 测试筛选细胞保护剂

从 R 值可见, 随着丝裂霉素 C 质量浓度的增加, 其对鼠伤寒沙门氏菌 TA1535/pSK1002 的遗传毒性急剧增强; 丝裂霉素 C 在 0.02 mg/L 时, 其遗传毒

表 2 丝裂霉素 C 对鼠伤寒沙门氏菌 TA1535/pSK1002 生长的影响

Table 2 Effect of mitomycin C on growth of *S. typhimurium* TA1535/pSK1002

丝裂霉素 C / (mg·L ⁻¹)	生长抑制率 / %	丝裂霉素 C / (mg·L ⁻¹)	生长抑制率 / %
0.1	0.03	50	100.00
1	35.10	100	100.00
5	94.20	500	100.00
10	98.70	1 000	100.00

性增强开始放缓; 0.05 mg/L 时, 呈现明显的平台效应区, 见图 1。为确保在后续具细胞保护作用提取物筛选过程中丝裂霉素 C 遗传毒性的稳定性, 并参考临床人用药剂量和对哺乳动物细胞模型的丝裂霉素 C 的用量^[9], 将后续实验中丝裂霉素 C 质量浓度确定为 0.1 mg/L 进行。

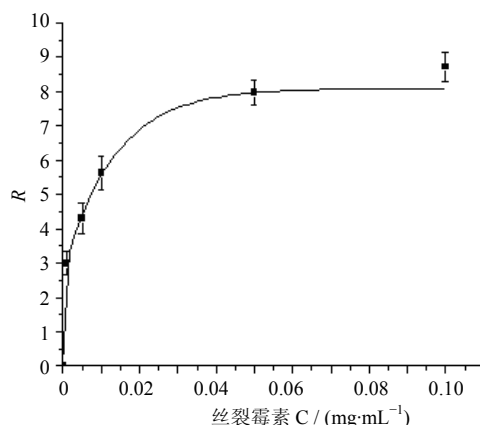


图 1 丝裂霉素 C 对鼠伤寒沙门氏菌 TA1535/pSK1002 umu 基因表达影响

Fig. 1 Effect of mitomycin C on gene expression of *S. typhimurium* TA1535/pSK1002 umu

刺五加、大蒜、绿茶、葡萄籽、大豆提取物中有效成分质量浓度较高时, 对丝裂霉素 C 处理后的 *S. typhimurium* TA1535/pSK1002 均表现出细胞保护作用, 与文献报道相符^[10-16]。灵芝提取物和银杏叶提取物的作用则弱于上述 5 种植物提取物, 其余 3 种植物提取物无明显作用。结果见表 3。

大蒜、刺五加、大豆、绿茶及葡萄籽提取物两两组合, 均比单一提取物的细胞保护作用更强, 其中绿茶和刺五加提取物组合对丝裂霉素 C 遗传毒性的抑制率达 83.2%。结果见图 2。化疗药物可激发胞内内源性活性氧 (ROS) 的产生, 而 ROS 进一步攻击细胞膜及生物大分子物质, 从而造成脂质

表 3 植物提取物对丝裂霉素 C 致 *S. typhimurium* TA1535/pSK1002 遗传毒性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 3 Effects of plant extracts on mitomycin C-induced genotoxicity in *S. typhimurium* TA1535/pSK1002 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

植物提取物	有效成分 / (g·L ⁻¹)	R	抑制率 / %	植物提取物	有效成分 / (g·L ⁻¹)	R	抑制率 / %
葡萄籽提取物	0.001	9.33±0.48	2.00	菊花提取物	0.000 1	9.11±0.58	4.31
	0.01	8.73±0.69	8.30		0.001	9.02±0.65	5.25
	0.1	7.57±0.52**	20.48		0.01	8.90±0.49	6.51
	1	6.50±0.53**	31.72		0.05	9.33±0.51	2.00
	5	5.76±0.61**	39.50		0.25	8.67±0.57	8.93
绿茶提取物	0.01	9.16±0.50	3.78	大蒜提取物	0.001	7.33±0.54**	23.00
	0.1	8.02±0.55**	15.76		0.01	6.23±0.62**	34.56
	1	6.78±0.46**	28.78		0.05	5.85±0.66**	38.55
	10	5.52±0.52**	42.02		0.25	5.36±0.54**	43.70
	50	4.23±0.66**	55.57		1.25	4.84±0.71**	49.16
灵芝提取物	0.001	10.21±0.62	—	生姜提取物	0.001	9.27±0.52	2.63
	0.01	9.35±0.56	1.79		0.01	9.81±0.66	—
	0.1	8.79±0.48	7.67		0.1	8.98±0.54	5.67
	1	8.32±0.49*	12.61		1	9.04±0.59	5.04
	5	7.06±0.57**	25.84		5	8.86±0.58	6.93
刺五加提取物	0.001	8.29±0.76*	12.92	银杏叶提取物	0.01	8.95±0.53	5.99
	0.01	7.43±0.71**	21.95		0.1	9.43±0.43	0.95
	0.1	4.86±0.60**	48.95		1	9.21±0.49	3.26
	0.5	3.93±0.77**	58.72		5	8.58±0.58	9.87
	1.5	3.13±0.87**	67.12		25	7.54±0.60**	20.80
大豆提取物	0.001	8.91±0.72	6.41	人参根提取物	0.01	9.76±0.48	—
	0.01	8.19±0.70*	13.97		0.1	9.82±0.57	—
	0.1	7.43±0.57**	21.95		0.5	8.59±0.55	9.77
	1	6.85±0.55**	28.05		2.5	8.76±0.49	7.98
	5	6.28±0.77**	34.03		12.5	8.97±0.56	5.78

同一植物提取物不同质量浓度比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs the same plant exact at different concentration

过氧化、蛋白质氧化及 DNA 氧化损伤等。因此推测绿茶中的黄酮类及刺五加中的皂苷类化合物影响丝裂霉素 C 活化过程中半醌自由基的产生,降低半醌自由基在胞内引发的自由基链反应,减轻 DNA 损伤,从而降低丝裂霉素 C 对鼠伤寒沙门氏菌的遗传毒性。此外,这两种植物提取物中的其他组分是否通过与丝裂霉素 C 形成复合物,或者通过某种形式激活 DNA 修复机制,减少 DNA 损伤还有待进一步的研究。

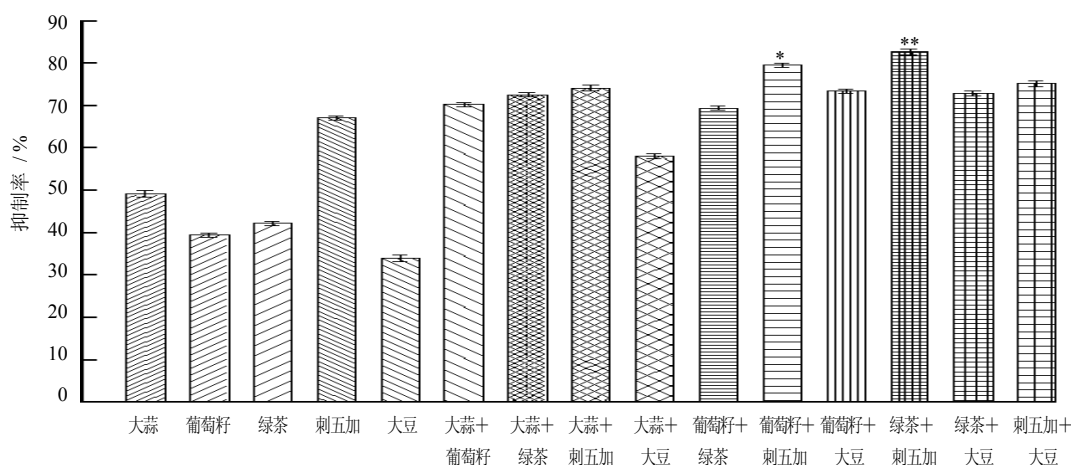
3.3 体内实验

与丝裂霉素 C 组相比,绿茶-刺五加提取物组合组的微核率仅为 0.437%,精子畸变率为 18.42%,胸腺指数为 2.42;葡萄籽-刺五加组合物的微核率

仅为 0.524%,精子畸变率为 25.08%,胸腺指数为 2.18,与丝裂霉素 C 组相比,绿茶-刺五加组合组、葡萄籽-刺五加组合组的微核率、胸腺指数和精子畸变率差异显著 ($P < 0.05$ 、 0.01),但 2 组间微核率、胸腺指数和精子畸变率差异不显著 ($P > 0.05$)。实验结果初步证实绿茶-刺五加和葡萄籽-刺五加提取物组合具有较好抗细胞畸变能力。结果见图 3。

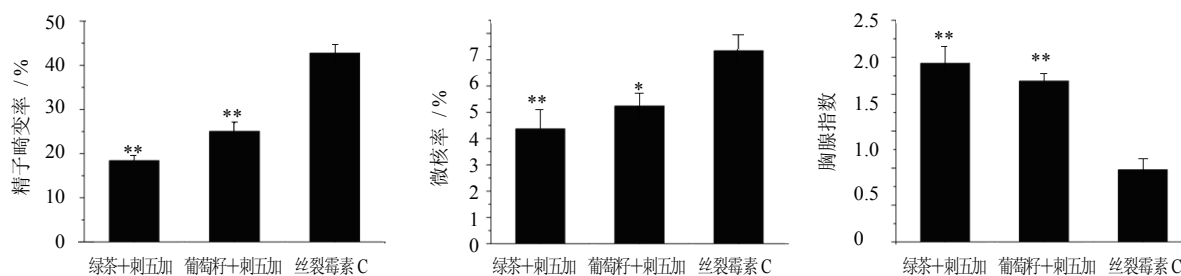
4 讨论

近年来发现了一些对丝裂霉素 C 遗传毒性具有抑制作用的药用植物及其有效成分^[17-22],且用于筛选抗遗传毒性的药物方法很多^[23-28]。如何用一种简单经济的方法,在同一水平上快速筛选和评价化疗药物遗传毒性作用的药物,尤其是中药或天然植



与组合中单一植物提取物比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$
 * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs individual extract in plant combination

图 2 植物提取物及其组合对丝裂霉素 C 致 *S. typhimurium* TA1535/pSK1002 遗传毒性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
 Fig. 2 Effects of plant extracts and their various combinations on mitomycin C-induced genotoxicity in *S. typhimurium* TA1535/pSK1002 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)



与丝裂霉素 C 比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$
 * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs mitomycin C

图 3 植物提取物组合对丝裂霉素 C 诱导的小鼠遗传毒性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
 Fig. 3 Effects of various plant extract combinations on mitomycin C-induced genotoxicity of mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

物提取物是研究者关注的课题。Bartolome 等^[29]曾尝试用大肠杆菌 RS4U (携带红色荧光蛋白基因) 来快速评价几种植物提取物的抗遗传毒性。在基于对微生物的遗传毒性测试体系中, SOS/umu 是目前国际标准化组织 (ISO) 和国际经济合作与发展组织 (OECD) 唯一推荐使用的^[30]。本研究以鼠伤寒沙门氏菌 TA1535/pSK1002 为材料, 应用 SOS/umu 测试, 并结合中药复方配伍及其作用机制研究成果^[5-6], 将筛选到的具有显著抗丝裂霉素 C 遗传毒性的植物提取物两两组合, 再经 SOS/umu 测试复筛以获得效果最佳的候选药物, 并用小鼠体内实验对这些组合进一步进行评价和验证, 从而建立了一种快速、高通量筛选抗遗传毒性药物或植物提取物的体系。SOS/umu

试验不仅在遗传毒理学、酶代动力学、环境监测与质量评估以及药效学评价等方面得到应用, 也将在抗遗传毒性药物的快速筛选方面发挥优势。

参考文献

- [1] Young A J, Lowe G M. Antioxidant and prooxidant properties of carotenoids [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2001, 358(1): 20-27.
- [2] Abelson P H. Medicine from plants [J]. *Science*, 1990, 247: 513.
- [3] 李其翔, 张 红. 新药发现开发技术平台 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2007.
- [4] Patwardhan B, Vaidya A D B, Chorghade M, et al. Reverse pharmacology and systems approaches for drug discovery

- and development [J]. *Curr Bioact Compd*, 2008, 4(4): 1-12.
- [5] Wang L, Zhou G B, Liu P, *et al*. Dissection of mechanisms of Chinese medicinal formula *Realgar-Indigo naturalis* as an effective treatment for promyelocytic leukemia [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(12): 4826-4831.
- [6] 罗国安, 梁琼麟, 刘清飞, 等. 复方药物研发创新体系展望 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2009, 11(1): 3-10.
- [7] Oda Y, Nakamuro S, Oki I, *et al*. Evaluation of the new system (umu-test) for the detection of environmental mutagens and carcinogens [J]. *Mutat Res*, 1985, 147(5): 219-229.
- [8] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [9] 薛开先, 沈宗丽, 马国建. 培养人淋巴细胞分裂阻滞与常规微核测试法的比较研究 II. 丝裂霉素 C 的遗传毒性效应 [J]. 遗传学报, 1991, 18(5): 401-406.
- [10] 郝述霞, 佟 鹏, 王春燕, 等. 5 种天然植物提取物清除自由基和茶多酚抗辐射作用研究 [J]. 中国职业医学, 2011, 38(1): 30-32.
- [11] 谢克勤, 于丽华, 朱振平, 等. 大蒜油抗辐射引起的白细胞减少和 DNA 损伤作用 [J]. 山东大学学报: 医学版, 2005, 43(1): 38-40.
- [12] Bagchi D, Bagchi M, Stohs S, *et al*. Cellular protection with proanthocyanidins derived from grape seeds [J]. *Ann NY Acad Sci*, 2002, 957(14): 260-270.
- [13] Dajas F, Rivera F, Blasina F, *et al*. Cell culture protection and *in vivo* neuroprotective capacity of flavonoids [J]. *Neurotox Res*, 2003, 5(6): 425-432.
- [14] Park H R, Park E, Rim A R, *et al*. Antioxidant activity of extracts from *Acanthopanax senticosus* [J]. *Afr J Biotechnol*, 2006, 5(23): 2388-2396.
- [15] 陈 月, 王宝贵, 张桂英, 等. 刺五加皂苷的抗辐射损伤作用 [J]. 吉林大学学报: 医学版, 2005, 31(3): 423-425.
- [16] 金 宏, 刘 丽, 王先远, 等. 大豆异黄酮抗辐射作用的实验研究 [J]. 氨基酸和生物资源, 2004, 26(3): 23-26.
- [17] 武广恒, 孙 健, 朱 珠, 等. 黄芩对硫酸镉及丝裂霉素 C 诱发小鼠遗传损伤的抑制作用 [J]. 中国药物警戒, 2010, 7(9): 517-519.
- [18] Vilar J B, Leite K R, Chen L C. Antimutagenicity protection of *Ginkgo biloba* extract (Egb 761) against mitomycin C and cyclophosphamide in mouse bone marrow [J]. *Genet Mol Res*, 2009, 8(1): 328-333.
- [19] El-Dahtory F A. The protective effect of *Nigelia sativa* seeds against mitomycin C-induced chromosomal breakage in down syndrome lymphocyte cultures [J]. *J Med Biomed Sci*, 2010, 1(1): 57-59.
- [20] Linjawi S A. Protective effect of spirulina against mitomycin C-induced genotoxic damage in male rats [J]. *J Am Sci*, 2011, 7(1): 922-931.
- [21] Aydsn S, Basaran A A, Basaran N. The protective effects of some phenylethanoid glycosides on the mitomycin C induced DNA strand breakage [J]. *J Faculty Pharm*, 2004, 24(1): 1-11.
- [22] Pawar A A, Tripathi D N, Ramarao P, *et al*. Protective effects of American ginseng (*Panax quinquefolium*) against mitomycin C induced micronuclei in mice [J]. *Phytother Res*, 2007, 21(12): 1221-1127.
- [23] Sylianco C Y L, Concha J A, Jocano A P, *et al*. Antimutagenic effects of expressions from twelve medicinal plants [J]. *Philipp J Sci*, 1986, 115(1): 23-30.
- [24] Sohn S J, Huh I H, Au W W, *et al*. Antigenotoxicity of galangin against *N*-methyl-*N*-nitrosourea [J]. *Mutat Res*, 1998, 402(1/2): 231-236.
- [25] Graf U, Abraham S K, Guzman-Rincon J, *et al*. Antigenotoxicity studies in *Drosophila melanogaster* [J]. *Mutat Res*, 1998, 402(1/2): 203-209.
- [26] Madrigal-Bujaidar E, Velazquez-Guadarrama N, Diaz-Barriga S. Inhibitory effect of chlorophyllin on the frequency of sister chromatid exchanges produced by benzo [a] pyrene *in vivo* [J]. *Mutat Res*, 1997, 388(1): 79-83.
- [27] Dauer A, Hensel A, Lhoste E, *et al*. Genotoxic and antigenotoxic effects of catechin and tannins from the bark of *Hamamelis virginiana* L. in metabolically competent, human hepatoma cells (HepG2) using single cell gel electrophoresis [J]. *Phytochemistry*, 2003, 63(2): 199-207.
- [28] Kada T, Morita K, Inoue T. Antimutagenic action of vegetable factor(s) on the mutagenic principle of tryptophan pyrolysate [J]. *Mutat Res*, 1978, 53(3): 351-353.
- [29] Bartolomea A, Mandapa K, Davidb K J, *et al*. SOS-red fluorescent protein (RFP) bioassay system for monitoring of antigenotoxic activity in plant extracts [J]. *Biosens Bioelectron*, 2006, 21(11): 2114-2120.
- [30] Biran A, Pedahzur R, Buchinger S, *et al*. Genetically engineered bacteria for genotoxicity assessment [A]// Barcelo D, Hansen P D: *Biosensors for the Environmental Monitoring of Aquatic Systems* [M]. Berlin/Heidelberg: Springer, 2009.