

# scientific reports



AÇIK

## Bir linyit ve yeşil bir komposttan elde edilen karakterize edilmiş hümitik asitlerin antifamatuvar aktivitesi ve potansiyel dermatolojik uygulamaları

Mariavittoria Verrillo<sup>1,3\*</sup>, Melania Parisi<sup>2,3</sup>, Davide Savy<sup>1</sup>, Giuseppina Caiazza<sup>2</sup>, Roberta DiCaprio<sup>2</sup>, Maria Antonietta Luciano<sup>2</sup>, Sara Cacciapuoti<sup>2</sup>, Gabriella Fabbrocini<sup>2,3</sup> & Alessandro Piccolo<sup>1,3\*</sup>

Hava kirliliği, uzun süreli maruz kalma cilt ile ilgili bazı inflamatuvar süreçlerin gelişimi ile ilişkilendirilmiştir. Modern tıbbin amacı, çevresel ve ekonomik sürdürülebilirliği iyileştirmek için doğal kaynaklardan elde edilen anti-inflamatuvar etkiye sahip yeni ürünlerin geliştirilmesidir. Bu çalışmada, linyit (HA-LIG) ve kompost haline getirilmiş enginar atıkları (HA-CYN) iki farklı hümitik asit (HA) izole edilmiş ve kızılötesi spektrometri, NMR spektroskopisi, termokemoliz-GC/MS ve yüksek performanslı boyut ile karakterize edilmiştir. HPLC kromatografisi (HPSEC), antifamatuvar aktiviteleri HaCaT hücreleri üzerinde değerlendirilirken. HA-LIG'de apolar alifatik ve aromatik bileşenlerin baskınlığı gösteren spektroskopik sonuçlar, HA-CYN'de ise polisakkaritlerin ve polifenolik lignin kalıntıları varlığını gösteren spektroskopik sonuçlar, HA-CYN'de ise polisakkaritlerin ve polifenolik lignin kalıntıları varlığını ortaya çıkardı. Urban Dust ile ön işleme tabi tutulmuş insan keratinosit üzerindeki HA uygulaması, aromatik, fenolik ve lignin bileşenlerinin içeriğinden dolayı hümitik maddenin koruyucu bir etkisi olduğunu düşündüren genel bir canlılık artışı ortaya çıkardı.

Tersine, IL-6 ve IL-1 $\beta$  sitokinlerinin gen ekspresyonu, HA-LIG uygulamasından sonra önemli bir düşüş gösterdi, dolayısıyla HA-CYN'den daha büyük bir antifamatuvar güç sergiledi. HA koruyucu hidrofobik bileşenlerin, uygulanabilir konformasyonel düzenlemelerin ve biyoaktif moleküllerin içeriğinin özel kombinasyonu, hümitik maddenin dermatolojide çevresel tahriş edici maddelerden cilt koruyucuları ve antifamatuvar maddeler olarak yenilikçi bir şekilde uygulanabilirliğini ortaya koymaktadır.

Son on yıllarda, küresel hava kalitesi, biyokütle yakma, endüstriyel operasyonlar ve araç emisyonları gibi insan faaliyetlerinin doğrudan bir etkisi olarak giderek artan bir düşüş gösterilmiştir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), günlük 10'undan fazlasını temsil eden 3,7 milyon ölüme hava kirliliğinin karıştığı tahmin etti ve böylece hava kirliliğini dünyanın en büyük çevresel sağlık riski haline getirdi.

Son zamanlarda, büyük epidemiyolojik çalışmalar, hava kaynaklı kirliliğe maruz kalmanın solunum ve kardiyovasküler morbiditeyi artırdığını belirledi<sup>1,5</sup>. Ayrıca, uzun süreli hava kirliliğine maruz kalma, belirli kanserlerin gelişimi ile ilişkilendirilmiştir ve yaşlanma da dahil olmak üzere ciltle ilgili bazı süreçleri etkileyebilir ve sefif hastalığı, akne ve atopik dermatitin klinik belirtilerini artırabilir<sup>6,7</sup>. Hava kirliliği, özellikle partikül (PM) olarak sınıflandırılan zararlı bileşiklere maruz kalması (7 PM, en yaygın olarak PM<sub>2.5</sub> ve PM<sub>10</sub>), gaz halindeki kirlenici karışımlar, (karbon monoksit, nitrik oksitler, kükürt oksit, ozon, ağır metaller) ve katı yakıt tüketimi olarak iç mekan kirlenici<sup>8</sup>. Hava kirliliğini cilt hastalıklarıyla ilişkilendiren moleküler mekanizmalar henüz tam olarak anlaşılmalıdır.

<sup>1</sup>Çevre, Tarım ve Orman Bakanlığı ve Yeni Malzemeler için Nükleer Manyetik Rezonans için Bölümler Arası Araştırma Merkezi (CERMANU), Napoli Federico II Üniversitesi, Via Università 100, 80055 Portici, İtalya. <sup>2</sup>Klinik Tıp ve Cerrahi Bölümü Napoli Federico II Üniversitesi, Napoli, İtalya. <sup>3</sup>Bu yazarlar eşit katkıda bulunmuştur: Mariavittoria Verrillo, Melania Parisi, Gabriella Fabbrocini ve Alessandro Piccolo. \*e-posta: mariavittoria.verrillo@unina.it; alessandro.piccolo@unina.it

%	Toplam C Toplam N Toplam	HC/N oranı	H/C oranı	%	
HA-LIG	56±2	2±0.04	4±1	32.67	0,86
HA-PRE	29,1±2,2	2,52±0,03	79±0,213,44		1.53

Tablo 1. HA-LIG ve HA-CYN'nin element bileşimi (%). Atom oranı

Anlaşıldığı üzere, birkaç in vivo çalışması, bu durumları ortak bir faktör olarak enflamatuvar durumun ortaya çıkışını ve önemini vurgulamıştır. Özellikle, inflamasyonun adı verilen bir multi-protein kompleksinin aktivasyonu, protein fazlaları sitokinlerin olgunlaşmasını teşvik ederek inflamatuvar yanıtı tetiklediği varsayılmıştır<sup>10</sup>. Bu nedenle, derideki enflamatuvar belirteçlerin olası inhibisyonu, hava kirliliğinin toksik etkilerine karşı mükemmel bir savunmayı temsil edebilir<sup>11</sup>. Günümüzde modern tıbbin amaçlarından biri, geleneksel tedavileri tamamlayıcı hale gelen yenilikçi etkili tedavilerin çevresel ve ekonomik sürdürülebilirliğini iyileştirmek için doğal kaynaklardan elde edilen anti-inflamatuvar aktivitelere sahip yeni ürünlerin geliştirilmesidir<sup>12</sup>.

Favonoidler ve polifenol türevleri gibi birçok doğal madde, enflamasyonun neden olduğu hasar üzerinde iyileştirici bir rol oynarken<sup>13-15</sup>, steroidal olmayan antifamatuvar ajanların kullanımı, yan kontrolsüz bir reaksiyonu teşvik edebilir ve kardiyovasküler hastalığa kadar gastrointestinal toksite riskini de artırabilir<sup>16</sup>. Bu nedenle, inflamasyon süreçlerinin sonuçlarını azaltmak ve hafifletmek için yenilikçi ürünlerin araştırılması artan bir önem verilmektedir. Bu bağlamda, hümkik asitler (HA) gibi doğal organik türevler, kabul edilen antiviral, antimikrobiyal, profibrinolitik, antifamatuvar ve östrojenik aktiviteler<sup>17,18</sup> nedeniyle tıp ve veterinerlik bilimi gibi farklı farmasötik alanlarda çeşitli uygulamalar bulmuştur. Ayrıca, bu biyoaktif moleküller, tarımsal atıklardan elde edilen yeşil kompost gibi geri dönüştürülmüş biyokütlelerden kolayca izole edilebilir, böylece döngüsel ekonomi çerçevesinde geri dönüştürülmüş biyokütlelerin değeri artar<sup>18,19</sup>. Hümkik asitler gibi bazı hümkik maddeler, dermatit ve sedif hastalığı, romatoid artrit ve **egzamanın topikal tedavisinde kullanılmıştır**<sup>20,21</sup>. Bazı bilimsel kanıtlar, hümkik maddelerin uygulanması ile bir süperoksit dismutaz mekanizmasıyla aktivasyonu yoluyla sitokinlerin salınması veya hasarlı bölgelerdeki hücrelerin göçüne yapışması arasında bir ilişki göstermiş olsa da, doğal yapı-aktivite ilişkisi net bir şekilde açıklanamamıştır<sup>22</sup>.

Bu çalışmanın amacı, HaCaT hücrelerinin atmosferik partikül maddeye maruz kalmasını takiben, linyit ve kompost haline getirilmiş enginar atıklarından ekstrakte edilen iki farklı hümkik asidin antifamatuvar etkilerini değerlendirilmesidir. Hümkik malzemelerin moleküler özellikleri, biyoaktif bileşenler hakkında fikir edinmek ve potansiyel dermatolojik uygulamaları için moleküler temellerini kapsamlı bir şekilde anlamak için ayrıntılı olarak analiz edildi.

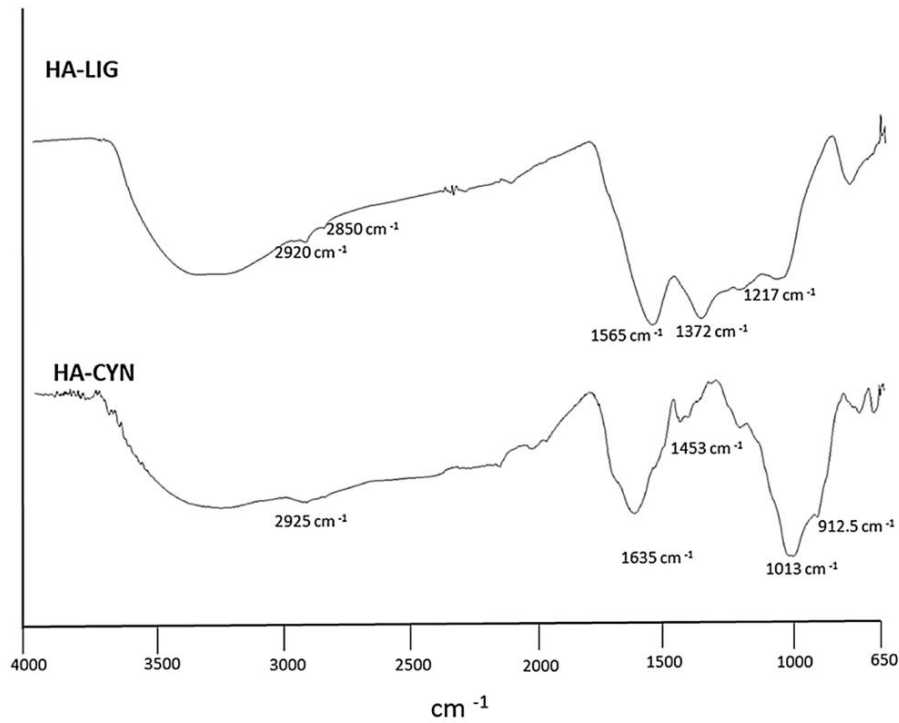
#### Sonuçlar ve tartışma HA-LIG

ve HA-CYN'deki element içeriği. Hümkik asitlerin temel bileşimi, jeokimyasal olarak üretilmiş HA-LIG'de önemli ölçüde daha büyük bir C içeriği (%56) ortaya koyarken, C/N oranı, nitrojen içeren bileşiklerin (örn: peptidler) HA-CYN'ye tercihli dahil edilmesini vurguladı (Tablo 1). Te H/C değerleri, sırasıyla HA-LIG ve HA-CYN'de tercihen aromatik ve alifatik olan apolar bileşenlerin her iki HA'da da yaygın olarak bulunduğu unu gösterdi (Tablo 1).

Kırsal linyit spektroskopisi. HA-LIG ve HA-CYN'nin ATR spektrumları, O-H ve N-H gerilme titreşimlerine atanan 3200-3400 cm<sup>-1</sup> aralığında yetersiz tanımlanmış geniş bantlar gösterdi (Şekil 1). Her iki HA numunesi, uzun zincirli alkil bileşiklerinde<sup>23</sup> CH<sub>2</sub> ve CH<sub>3</sub> gruplarını simetrik ve asimetrik gerilme titreşimiyle ilişkili 2850 ve 2920 cm<sup>-1</sup>'deki omuzlarla karakterize edildi. İki HA arasında kırsal linyit farkları, daha küçük dalga sayıları gösterildi (Şekil 1). HA-LIG spektrumunda 1565 cm<sup>-1</sup>'deki belirgin pik, aromatik yapılarındaki halka titreşimleriyle ilişkililikten, 1372 ve 1217 cm<sup>-1</sup>'lik daha az yoğun sinyal şu anda eterlerin ve fenolik bileşiklerin C-O bükümüne atanmıştır<sup>24</sup>. HA-CYN spektrumunda, yaklaşık 1635 cm<sup>-1</sup>'deki keskin geniş bant, hem alkanolik asitlerin karboksilat gruplarını C=O gerilme titreşimlerini hem de konjuge ve konjuge olmayan çift C=C bağlarını **titreşimlerini içerebilir**<sup>23,25</sup>. 1450 ve 1220 cm<sup>-1</sup>'deki küçük sinyaller, sırasıyla alkil zincirleri ve fenolik bileşenlerdeki C-H ve C-O gruplarını bükümünden kaynaklanır. Son olarak, yeşil komposttan elde edilen HA-CYN'ye karbonhidrat türevlerinin geniş bir şekilde dahil edilmesi, piranosid halkalarındaki alkol fonksiyonlarındaki C-O gerilmeleri nedeniyle 1013 cm<sup>-1</sup> civarındaki yoğun bant ile belirtilmiştir<sup>25</sup>.

Sırasıyla Pyr-TMAH-GC-MS. HA-LIG pirogramı, neredeyse yalnızca alkil ve aromatik apolar bileşenlerle karakterize edilen, jeokimyasal kökenli tipik bir hümkik asit profili ortaya çıkardı (Şekil S1)<sup>26</sup>. Spektrumun ilk bölümünde tanımlanan ana aromatik moleküller, benzen, toluen, m- ve p-ksilen, stiren, naftalin ve alkil-naftalin, fenolik yapılar, lignin bileşikleri ve benzoik asitlerle ilişkilidir. Daha uzun tutma sürelerindeki tepe noktaları, alkanolik asitlerin uzun alkil zincirlerine ve alkan/alken çiftlerine atanmıştır (Tablo S1). HA-LIG verileri, şu anda seçici olarak korunan apolar fraksiyonların termal bozunma ürünlerine atfedilen uzun alkil zincirleri ve aromatik kırsal maddelerle ana hidrofobik özelliklerini ortaya çıkardı. Bu bileşenler, jeo-organik çökeltilerin birikme süreçleri sırasında doğal bileşiklerin gelişmiş yapısal modifikasyonundan kaynaklanmaktadır<sup>27</sup>.

HA-CYN'nin pirogramı esas olarak lignin parçalarını ester ve eter türevlerinden ve doğrusal ve dallı zincirli yağ asitlerinden, ardından biyopolyesterler, karbonhidrat türevleri ve N-içeren bileşiklerden oluşuyordu (Tablo S2). En bol bulunan lignin monomerleri, hem di- hem de tri-metoksinin oksitlenmiş ürünleriydi.



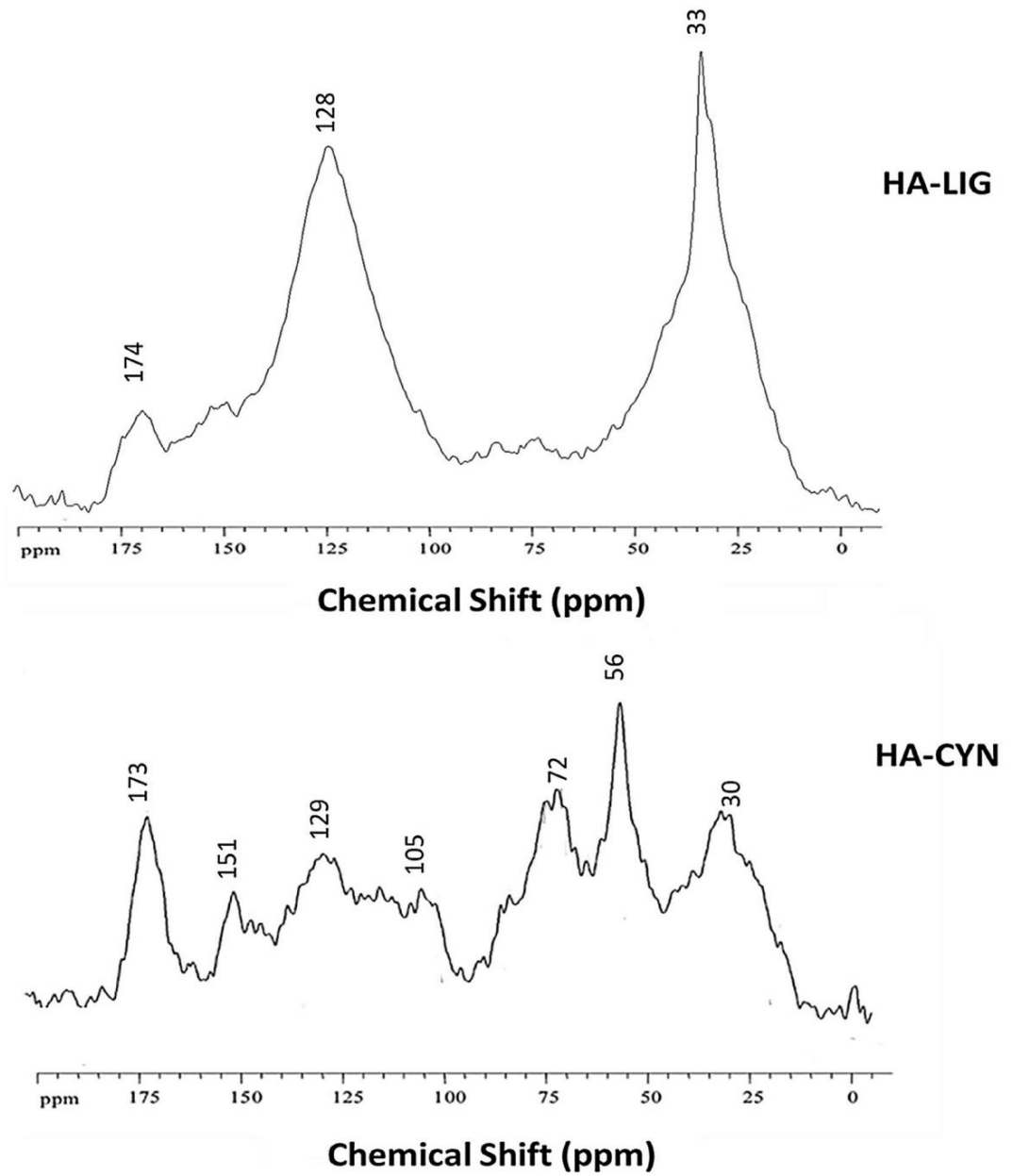
Şekil 1. Linyitten (HA-LIG) ve enginar kalıntılarında (HA-CYN) yapılan yeşil komposttan Hümitik asitlerin FTIR-ATR spektrumları.

ana bileşenler olarak aldehidik-, ketonik-, benzoik-asit ve benzen-propenoik asitlerle fenilpropan molekülleri (Şekil S1; Tablo S2). Bu bulgu, daha az değ işirilmiş lignin birimlerinin daha düşük verimleriyle birleştiğinde kompostlanmış bitki artı kalıntılarından elde edilen biyo-elverişli lignin parçalarını HA-CYN'ye yaygın olarak dahil edildiğini gösterdi<sup>18,19,25</sup>. Uzun zincirli alkanolik asitlerin geniş yelpazesinde (Tablo S1), en büyük bolluk, her yerde bulunan heksadekanoik ve oktadekanoik homologlarıydı, oysa çift karbonlu doğrusal zincirlerin yaygın olduğu bir bitki kökenini gösteren HA-CYN pirogramında bulunan dallı zincirli yağ asitlerinin varlığı, HA-CYN'nin ekstrakte edildiği olgun kompostta oluşan doğal mikrobiyal bileşenlerle ilişkilidir<sup>25</sup>. HA-LIG ile ilgili olarak, HA-CYN'deki polar bileşiklerin bolluğu, mono- ve oligosakarit bileşenlerinin metillenmiş formlarını ve peptit, indol ve pirol türevleri gibi nitrojenlenmiş bileşiklerini içerir (Tablo S2).

<sup>13</sup>C-CPMAS NMR spektrumları. HA-LIG'in <sup>13</sup>C-CPMAS NMR spektrumu (Şekil 2), toplam karbon içeriğinin sırasıyla %28.7 ve %42.2'sini temsil eden apolar alifatik ve aromatik bileşenlerin baskın olduğu doğal (Tablo 2). 33 ve 128 ppm'deki iki ana rezonans, sırasıyla uzun alkil zincirlerinde ve C-ikameli aromatik bileşiklerde CH<sub>2</sub> birimlerini belirtirken, 152 ppm'deki omuz fenolik karbonlara atfedilir (Şekil 2). HA-CYN'nin katı hal NMR spektrumunda farklı fonksiyonel gruplar arasında çeşitlendirilmiş bir C dağılımı bulundu (Tablo 2). 0-45 ppm aralığında 30 ppm'de geniş rezonans etrafındaki farklı sinyaller, çeşitli lineer lipid bileşiklerinin alkil zincirlerindeki metil ve metilen gruplarından kaynaklanırken, 40-45 ppm'deki daha az yoğun tepeler şunlardan kaynaklanabilir: sterol, favonoidler ve lignanların toplanmış halkarındaki üçüncü (CH) ve dördüncü (C-R) karbonlar<sup>25</sup>. 57 ppm'deki belirgin rezonans, peptidik parçaların C-N bağlarını ek bir katkı olarak, esas olarak aromatik lignin monomerlerindeki metoksi süstitüentlerine atılır. 60-110 ppm kimyasal kaymadaki Te sinyalleri, bitki dokularından gelen karbonhidratlar ve polisakaritlerdeki çeşitli C-O gruplarına aittir. 110 ila 145 ppm aralığındaki rezonans, aromatik karbonlarla ilişkilidir, bunu fenolik ve lignin türevlerindeki aril C-O gruplarından biri (145-160 ppm) takip eder ve bunlar genellikle 145-60 ppm aralığındaki rezonanslara karşı gelir<sup>24</sup>. 174 ppm'deki Te sinyali, yağ asitleri, esterler ve peptitler gibi farklı bileşiklerdeki karboksil karbonlarından kaynaklanmaktadır. HA numunelerinin moleküler özellikleri, temel olarak aromatiklik (ARM) ve hidrofobiklik (HB/HI) indeksleri ve alkil (A/OA) ve lignin (LigR) oranları (Tablo 2) gibi boyutsuz yapısal parametrelerle anlaşılabilir. spektral aralıkları entegrasyonu üzerine<sup>18,19,25</sup>.

HA-LIG örneğinin gösterdiği büyük HB/HI ve ARM indeksleri ve A/OA oranı değerleri, alkil ve aromatik yapıları birleşik katkılarıyla bu malzemeye sağlanan büyük hidrofobik karakteri daha da vurgulamaktadır. Tersine, artan miktarda C-O ve C-N içeren bileşiklerle birlikte daha az aromatik ve alkil karbon içeriği, HA-CYN için daha küçük HB/HI ve A/OA değerleri belirledi (Tablo 2). İki HA arasında aril C'nin farklı bir moleküler bileşimi, HA-CYN için daha yüksek sonuç veren LigR oranı (Tablo 2) tarafından önerilmiştir, bu nedenle, metoksil gruplarını sinyalleri arasındaki korelasyonla da teyit edilen, lignin kalıntılarının önemli bir mevcudiyetine işaret eder. (45-60 ppm) ve aril C-O moleküllerinin (140-160 ppm), lignin türevlerinin termokemoliz analizleri<sup>18,19,25</sup> tarafından ortaya çıkarılan HA-CYN'ye seçici olarak dahil edilmesini kabul eder.

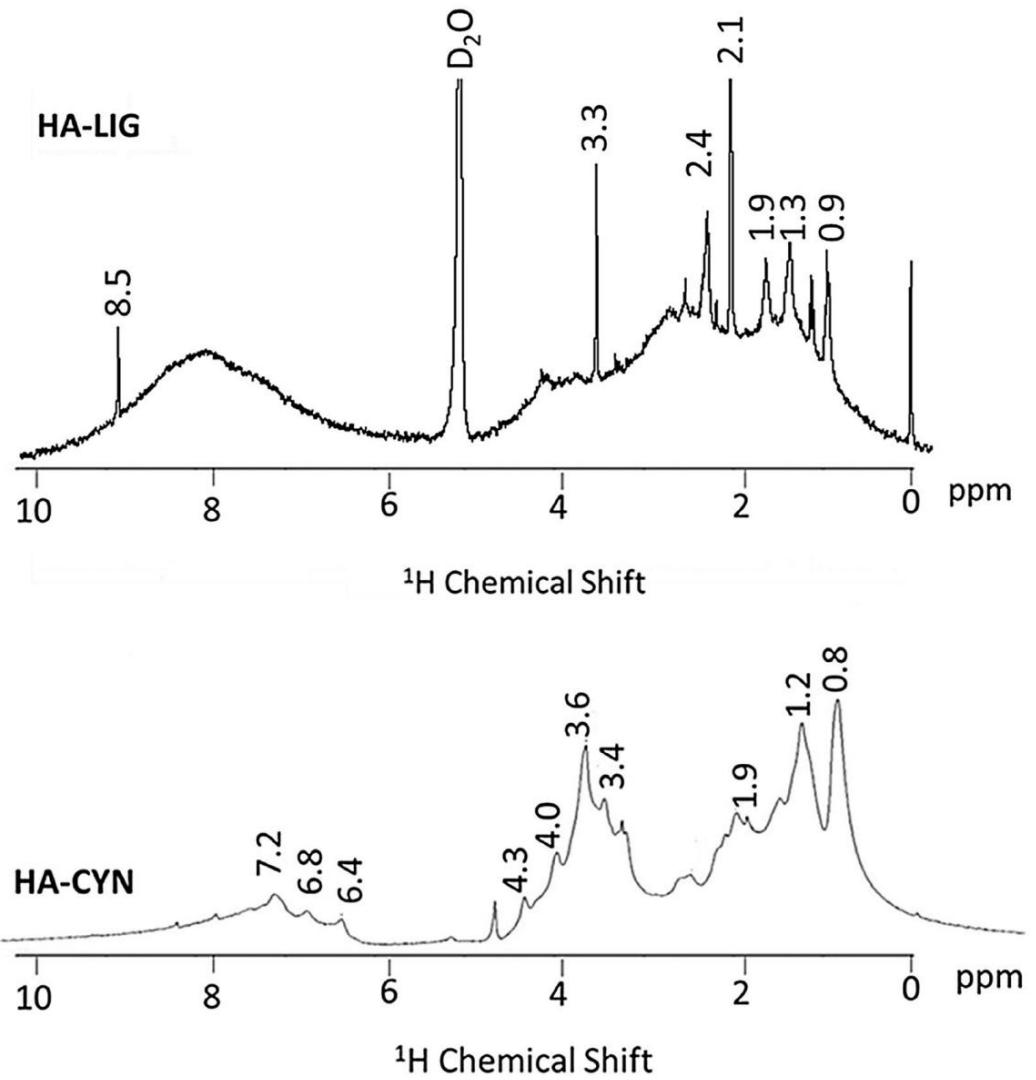
Tersine, HA-LIG'deki LigR değeri azalma, ligninin metoksil gruplarını daha küçük bir içeriğini gösterdi.



Şekil 2. Linyit (HA-LIG) ve kompostlanmış enginar biyokütellerinden (HA-CYN) hümik asitlerin  $^{13}\text{C}$  CPMAS NMR spektrumları .

	Karboksil-C	Fenol-C	Aريل-C	O-Alkil-C	Metoksil-C	Alkil-C	Yapı sal indeksler				
	190-160	160-145	145-110	110-60	60-45	45-0	HB/HIa	A/OAb	ARMc	LigRd	
HA-LIG	6.1	9.6	33.0	12.8	9.8	28.7	2.49	2.27	1.02	1.06	
HA-ÖN 10.9		5.7	20.0	27.5	13.8	22.2	0.92	0,81	0,52	2.43	

Tablo 2. HA-LIG ve HA-CYN'nin  $^{13}\text{C}$  CPMAS-NMR spektrumları nı n kimyasal kayma bölgeleri (ppm) üzerinden ana C yapı ları nı n spektral verilerinden hesaplanan göreceli katkı (%) ve yapı sal indeksler . a HB/ HI=hidrofobiklik indeksi= $[\sum (0-45)+\sum (110-160)] / \sum (45-60)+\sum (60-110)+\sum (160-190)$ . bA/OA=alkil/O alkil oranı  $(0-45)/(60-10)$ . c ARM=aromatiklik indeksi  $[(110-160)/\sum (0-45)+\sum (60-110)]$ . dLigR=Lignin oranı  $(45-60)/(140-160)$ .

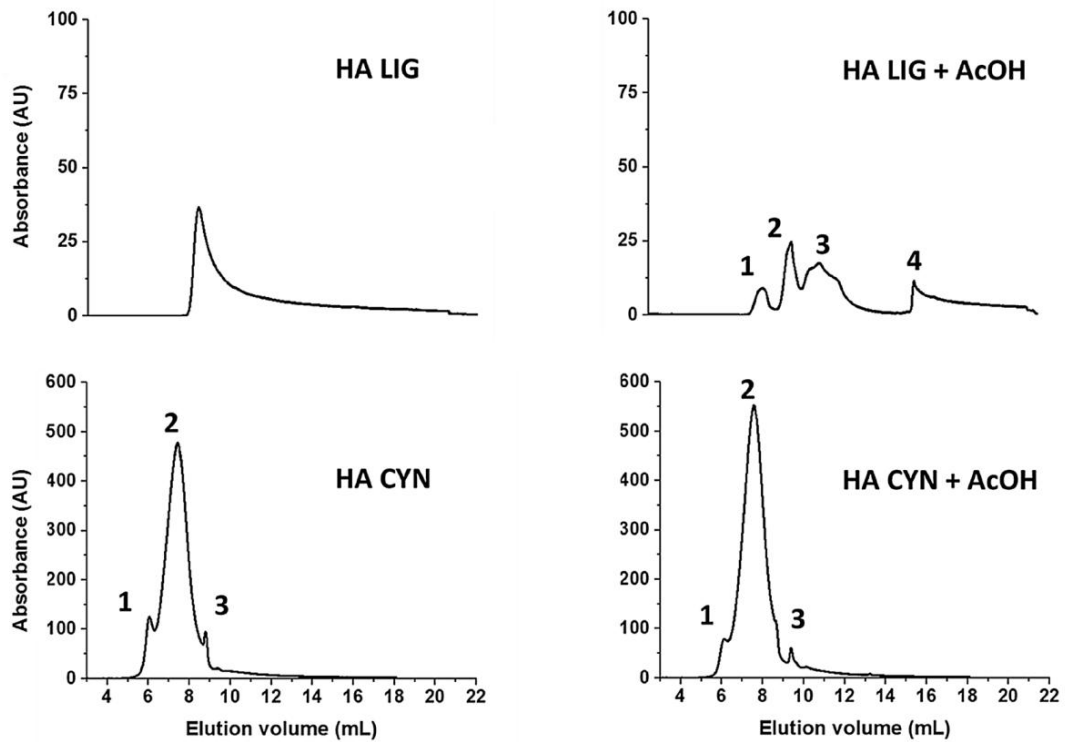


Şekil 3. Te sı vı haldeki <sup>1</sup>Linyitten izole edilen HA'nı n (HA-LIG) ve yeşil kompostun H-NMR spektrumları enginar kalı ntı ları (HA-CYN).

moleküler ve HA-LIG'in çı karı ldı ğ ı linyiti oluşturan jeokimyasal işlemlerle türetilen fenol ve polifenolik bileşenlerin yaygı nlı ğ ı .

<sup>1</sup>H NMR spektrumları . <sup>1</sup>HA-LIG ve HA-CYN'nin H NMR spektrumları (Şekil 3) üç ana bölgeye ayrı labilir: 0–3 ppm, alifalik bölge (çoğ unlukla alifatik bileşenler); 3–5,5 ppm, O-Alkil bölgesi (yaygı n olarak oligo ve polisakkaritler); 6,5–8,5 ppm, aromatik bölge (esas olarak lignin bileşenleri)28,29. HA- LIG'in 1H NMR spektrumu, 0,9a2,4 ppm ndaki büyük rezonanstan çı kan birkaç keskin sinyal, O-Alkil bölgesinde 3,3 ppm'de tek bir baskı n sinyal ve aromatik ve heterosiklik bölgede göze çarpan geniş bir rezonans gösterir. 7–8,5 ppm aralı ğ ı nı n üzerindeki bölge. Bu spektrumun görünümü katı hal spektrumunun göstergeleriyle uyumludur ve yaygı n olarak alkil ve aromatik bileşikler içeren bu humik jeokimyasal kökenli maddenin yüksek hidrofobikliğ ini doğ rular. Tersine, HA-CYN spektrumu, hem alkil hem de aromatik bölgede daha az yoğ un bir rezonans, ancak O-alkil bölgelerinde daha büyük bir sinyal yoğ unluğ u ortaya çı karı r. Yine, HA-CYN spektrumunun özellikleri, CPMAS spektrumu için zaten belirtildiğ i gibi, bu malzemenin önemli ölçüde daha küçük hidrofobikliğ ini ve yeşile dönüşen enginar kalı ntı ları ndan türetilen sakkaridik ve peptidik parçalar gibi polar alifatik bileşiklerdeki zenginliğ ini doğ rular. HA-CYN'nin izole edildiğ i kompost.

HA'nı n yüksek performanslı boyut dı şlama kromatografisi (HPSEC). Hümik asitlerin pH'ı nı 7'den 3.5'e düşürmek için hümik çözeltilerin asetik asitle işlenmesinden önceki ve sonraki HPSEC elüsyon profilleri, hümik asitlerin gevşek bağ lı supramoleküler birlikteliklerinin konformasyonel yapı sı nı değ erlendirmek için kullanı lmı ştı r30,31 . Hem HA-LIG hem de HA-CYN'nin asetik asit ilavesinden önceki ve sonraki kromatogramları Şekil 4'te gösterilmektedir. İ ki HA, farklı bir HPSEC davranı şı na sahipti. Aslı nda, HA-LIG tek bir tepe noktası gösterirker



Şekil 4. Numune pH'ını 7'den 3,5'e ayarlamak için asetik asit (AcOH) eklenmesinden önce ve sonra HA-LIG ve HA-CYN'nin HPSEC kromatogramları .

Örnek	Pik aralığı (mL)	Mw	Mn	P
KENDİ Nİ TUT	7,5-18,0	11.957	1774	6,7
HA LIG+AcOH-zirve 1	7,5-9,2	21.792	21.314	1,0
HA LIG+AcOH-zirve 2	9,2-10,5	10.374	10.172	1,0
HA LIG+AcOH-zirve 3	10,5-14,9	4238	3396	1,2
HA LIG+AcOH-zirve 4	15,2-22,3	180	87	2,1
HA PRE-zirve 1	4,7-6,3	86.258	85.187	1,0
HA PRE-zirve 2	6,3-8,7	41.437	38.391	1,1
HA PRE-zirve 3	8,7-9,3	18.489	18.412	1,0
HA CYN+AcOH-zirve 1	4,7-6,3	84.536	83.560	1,0
HA CYN+AcOH-zirve 2	6,3-8,7	37.934	34.658	1,1
HA CYN+AcOH-zirve 3	9,2-9,6	13.783	13.724	1,0

Tablo 3. Asetik asidin (AcOH) eklenmesinden önce ve sonra HA-LIG ve HA-CYN için UV tespitli HPSEC kromatogramları ndan hesaplanan ağırlıklı ortalaması (Mw) ve sayı ortalaması (Mn) moleküler ağırlıkları ve polidispersite (P) . Standart sapma < %5 idi.

pH 7'de enjekte edilen elüsyon profili, enjeksiyondan önce AcOH ile pH'ı 3,5'e ayarlandıktan sonra dört farklı zirvede bozuldu. Tersine, HA-CYN'nin elüsyon profili, AcOH eklenmesi nedeniyle daha büyük elüsyon hacimlerine kayması na rağmen, aynı üç piki ortaya çıkaran iki tedavi arasında değişmedi.

İki HA'nın farklı HPSEC davranışları, kromatogramlardan hesaplanan parametrelerle yansıtıldı (Tablo 3). Örneğin, HA-LIG'in ağırlıklı Ortalama moleküler ağırlığı (Mw), pH 7'de enjekte edilen malzemenin kromatogramını yaygın zirvesi için yaklaşık 11.960 Da iken, pH'ını 3,5'e ayarlanması ndan sonraki dört tepe Mw'nin yaklaşık 21.800, 10.370 olduğunu gösterdi. , sırasıyla 4240 ve 180, daha büyük moleküler boyutlu malzemeye karşı gelen daha küçük elüsyon hacimlerinde olandan daha büyük elüsyon hacimlerinde daha küçük moleküler boyutlu olana geçer. Tersine, HA-CYN durumunda, üç tepe noktasını MW'si, AcOH ilavesinden önce ve sonra benzer değerleri korudu, ancak sonraki işlem için gözlemlenen değerler öncekinden daha düşüktü bu nedenle daha büyük elüsyona kayan not edilen zirvelerle aynı fikirdeydi. hacimler (Şek. 4). Bu sonuçlar, HA'nın konformasyonel yapısını, daha büyük moleküler arası hidrojen bağlarını oluşumu nedeniyle AcOH ilavesi ile bozulabilen nispeten küçük heterojen moleküler arası dağılıma yayılma etkileşimleri ile stabilize edildiğini açıklayan topraktan humusun supramoleküler anlayışıyla yorumlanabilir. den



önceki dağıtıcı kuvvetler<sup>26,30,31</sup>. Bu, dört pikteki malzeme dağılımı daha küçük moleküllerin supramoleküler birliğini düşündüren HA-LIG için doğrulanırken, aynı şey HA-CYN için söylenemez. Aslında, ikinci konformasyonel düzenleme, çoğunlukla mikrobiyal kompostlama sürecinden sağ kurtulan ve AcOH işleminin bozulma kapasitesine dirençli olan kovalent bağli biyopolimerler tarafından stabilize edilmiş gibi görünmektedir. Tesevül, FTIR, NMR ve termokemoliz sonuçları ile gösterilen polisakkaridik, peptidik ve polifenolik lignin fragmanları olabilir. Toplamda bu bulgular, HA-LIG'in HA-CYN'den nispeten daha küçük bileşiklerden oluştuğunu, dolayısıyla önceki malzemeye ikincisinden daha büyük bir konformasyonel esneklik kazandırdığını göstermektedir.

HA'nın antifamatuvar aktivitesi: HaCaT hücreleri üzerinde in vitro analizler. Hücre canlılığı, hücre canlılığı, artan farklı HA-LIG ve HA-CYN konsantrasyonları ile Tripkan mavisi yöntemiyle değerlendirildi. İnsan keratinosit hücrelerinin her iki hümkik ekstrakt ile muamelesi, uygulanan maksimum konsantrasyona rağmen hücrelerin canlılığını etkilememiştir (Şekil S2). Daha önceki çalışmalarına göre, bu sonuçlar bu HA'ları insan hücre kültürleri üzerindeki olası sitotoksik aktivitesini hariç tutar. Ek olarak, her iki HA ile aynı konsantrasyonda (50 µg mL<sup>-1</sup>) ön işleme tabi tutulan HaCaT hücreleri, sadece Urban Dust ile tedavi edilen hücrelere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir canlılık artışı gösterdi (Şekil S2). Aslında, HA-CYN ve HA-LIG uygulamasından sonraki hücre canlılığı, tedavi edilmemiş kontrolün sırasıyla %87'si ve %82'siydi, oysa Urban Dust tarafından enflamatuvar stimülasyon, HaCaT hücrelerinin canlılığını %62 azalttı ve aynı zamanda önceki çalışmaların sonuçları ile gösterilmiştir. Bu sonuçlar hümkik maddenin insan hücrelerinin hayatta kalmasına yönelik koruyucu bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Benzer bir davranış, görünüşe göre RAW 264.7 insan hücre kültürlerinin 36 aktivitesini koruyan fulvik asitler tarafından rapor edilmiştir.

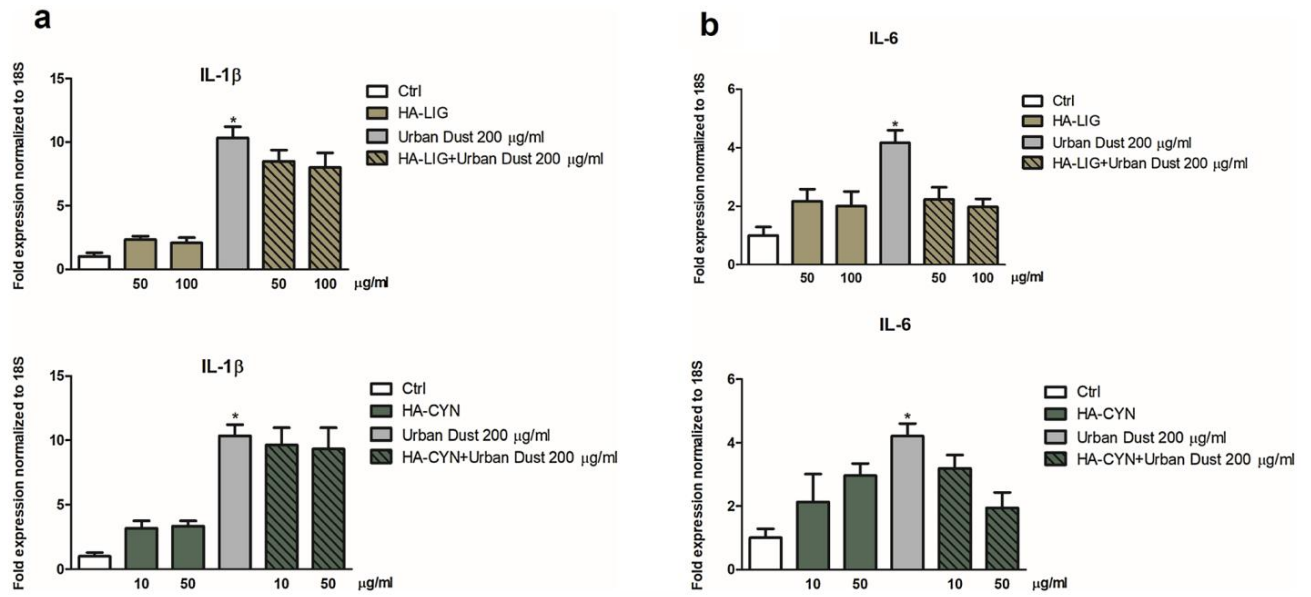
Doğal organik maddenin insan hücrelerinin aktivitesini koruma kapasitesi, yeni ve sürdürülebilir antioksidan sistemlerin geliştirilmesi için önemli bir ön koşuldur<sup>37</sup>. Aslında, bir oksidatif hücre stresi tipik olarak ROS ile antioksidan sistem arasındaki dengenin bozulduğunu gösterir<sup>38</sup>, böylece DNA modifikasyonu ve lipid oksidasyonu veya peroksidasyonu<sup>39</sup> gibi oksidatif hasarlara neden olan hücrelerdeki serbest radikal içeriğinde bir artış teşvik eder. Hümkik maddelerin antioksidan ve koruyucu rolünün, reaktif oksijen türlerini hümkik yapıya geri dönüşümlüve tekrarlanabilir bir süreçle bağlayarak inaktive edebilen redoks özellikleri<sup>40</sup> ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür<sup>41</sup>. Bu davranış, Urban Dust tedavisinde 42 rağmen hümkik madde ilavesinin HaCaT hücrelerinin normal çoğalmamasını indüklediğini gösteren sonuçlarımla iyi açıklanabilir. Bununla birlikte, insan hastalıklarına karşı HA biyoaktivitesinin moleküler temellerini açıklamak için henüz tek anlamlı bir yapı-aktivite ilişkisi üretilmemiştir. Bu çalışmada, HA-CYN'nin koruma özellikleri, fenolik ve lignin bileşenlerinin büyük içeriği ile ilgilidir ve mono ve oligo-hidroksillenmiş aromatik birimlerin koruyucu faaliyetler gösterdiği gösterilen fenolik malzemelerle ilgili önceki çalışmalara göre<sup>18,19,43</sup>. Benzer şekilde, HA-LIG'in koruma aktivitesi, hem NMR hem de termokemoliz sonuçlarında bildirildiği gibi hidrofobik bileşimi ile ilişkilidir (Tablolar 2, S1, S2; Şekiller 1, 3). Önceki çalışmalar, bitki patojenlerine karşı hümkik ve hümkik benzeri maddelerin (HULIS) teşvik ettiği antimikrobiyal aktivitelerin, spesifik moleküler bileşimlerine<sup>18,19,44,45</sup> bağli olduğunu işaret ederken, kompost haline getirilmiş tarımsal biyokütlelerden izole edilen HA'nın ilk kez etkili olduğunu gösteriyoruz. İnsan hücreleri üzerindeki koruma özellikleri ve bu, test edilen hümkik asidin moleküler bileşimine bağli olduğunu göstermektedir.

Urban Dust maruziyetinden sonra HA-LIG ve HA-CYN'nin IL-1β ve IL-6 gen ekspresyonu üzerindeki etkileri. Te keratinosit modeli, bu hücrelerin derinin dış katmanlarında bulunmaları ve yabancı tahriş edici maddelerle karşılaşılanlardaki öncül rolleri nedeniyle dermatolojide tahriş edici maddelerin etkilerini değerlendirmede yaygın olarak kullanılmaktadır<sup>46</sup>. Ayrıca keratin hücreleri, deri hücrelerinin iç katmanlarımla koruyan stratum corneum bariyerini korumak için çok önemli bir rol oynar<sup>47</sup>. Ek olarak, keratinositler, kemokinler de dahil olmak üzere ikincil aracılarımla yukarı regülasyonu ve salgılanmasını indükleyen ve lökositlerin derinin hasarlı bölgesine doğru toplanmasını sonuçlanan çok çeşitli enflamatuvar aracılar üretebilir<sup>48</sup>.

İnce tozun (FD) keratinositlerde enflamatuvar yanıtlara yol açtığı ve enflamatuvar yanıtları muhtemelen proenflamatuvar sitokin Interleukin-1β (IL-1β)<sup>49</sup> aracılığıyla etkili makrofajlara aktardığı bildirilmiştir. IL-1β, monositler ve makrofajlar gibi doğrudan gelen bağli sistemli hücreleri tarafından üretilen ve salgılanan enfeksiyon ve yaralanmaya karşı konakçı savunma tepkileri için çok önemli olan güçlü bir pro-enflamatuvar sitokindir. Bir sinyal sekansı olmadan üretilir ve geleneksel protein salgılama yolunu izlemez, bunun yerine bir veya daha fazla geleneksel olmayan salgılama yolu kullanır<sup>51</sup>. Tersine, interleukin-6 (IL-6), akut fazımla enfeksiyona yanıt olarak geçici olarak üretilir. IL-6'nın sürekli düzensiz sentezi, normal ekspresyonu transkripsiyonel ve transkripsiyon sonrası mekanizmalarımla<sup>52</sup> tarafından sıkı bir şekilde kontrol edilmesine rağmen, kronik enflamasyon ve otoimmünite gibi patolojik bir etkiyi indükledi. Ayrıca, IL-6, çevresel girdilere<sup>35</sup> bir epitel tepkisi indüklemeye çok önemli bir rol oynar.

Bu çalışmada, IL-1β ve IL-6'nın gen ekspresyonu, ön canlılık deneylerinde önerildiği gibi, HA-CYN ve HA-LIG'in Urban Dust ile tedavi edilen HaCaT hücreleri üzerindeki etkili antifamatuvar etkinliğini doğrulamak için değerlendirildi (Şekil 5).). Sonuçlarımla, Urban Dust tarafından uyarıldıktan sonra IL-1β ve IL-6 gen ekspresyonunda önemli bir artış olduğunu ortaya koydu (Şekil 5a,b). Tersine, HA-LIG veya HA-CYN ile muameleden sonra HaCaT hücrelerine Urban Dust uygulaması, sitokin ekspresyonunda bir azalmaya neden oldu (Şekil 5a,b). HA-LIG, daha az IL-1β ekspresyonu indükleyerek HA-CYN'den daha etkiliydi, halbuki HA-CYN tedavisi, IL-6 durumunda biraz daha büyük bir anti-famatuvar aktivite sergiledi. Ayrıca, HaCaT hücrelerinde enflamasyon sürecinin belirteç seviyelerinin analizi, Urban Dust'ün neden olduğu enflamasyonu azaltmak için her iki hümkik ekstraktın yararlı etkilerini ortaya koydu (Şekil 5a,b).

Bu sonuçlar, in vitro<sup>22,53</sup> ile ilişkili sitokin salınımı üzerinde hümkik türevlerin inhibitör etkisini bildiren önceki çalışmalarla uyumludur. HA'nın antifamatuvar etkilerinin biyokimyasal açıklaması, doğal olarak oluşan HA ve sentetik HA benzeri polimerler tarafından araşidonik asit (AA) zincirinin 5-lipoksijenaz yolunun inhibisyonu ile ilgilidir<sup>53</sup>. Ayrıca, sırasıyla kaynaklı sırasıyla %65-90 oranında bastırılması



**Şekil 5.** Hüresel IL-1 $\beta$  (a) ve IL-6 (b) seviyeleri, 2 saat boyunca HA-LIG veya HA-CYN ile ön işleme tabi tutulmuş ve ardından 200  $\mu\text{g mL}^{-1}$  eklenmiş HaCaT hücrelerinden peletlerde ölçüldü Urban Dust, işlenmemiş hücrelerin ilk kontrolüne (Ctrl) ve yalnızca 200  $\mu\text{g mL}^{-1}$  Urban Dust ile işlenmiş hücrelerin ikinci kontrolüne karşı. Urban Dust ile işlenmiş hücrelerin istatistiksel önemi, işlenmemiş kontrol hücrelerinde %100 IL-1 $\beta$  ve IL-6 oranına göre belirlendi (\*). Veriler, her biri üç kopya halinde gerçekleştirilen üç bağımsız deneyin ortalama  $\pm$  SD'si olarak ifade edildi. Anlamlı farkları hesaplamak için Student t-testi kullanıldı (\* $P < 0.05$ ).

Kafeik asit oksidasyonu (KOP) ile elde edilen doğal sodyum humatlar veya hümk benzeri ürünler tarafından AA salınımı, HA'nın antifammatory malzemeler olarak karakterizasyonunu destekledi<sup>22</sup>. Öte yandan, hümk maddelerin in vitro olarak, ancak yalnızca eksojen lipopolisakkaritlerin varlığında inflamasyona yol açan TNF- $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımını uyardığı bulunmuştur; normal koşullarda<sup>54</sup>. Ek olarak, potasyum humatları lenfosit hücrelerinin çoğalması üzerinde olumlu bir etkiye neden olduğu bildirilmiştir<sup>20</sup>. Bu durumda, hücre proliferasyonu, sitokinlerin sentezi ve bu aracılar için T hücreleri yüzey reseptörlerinin ekspresyonu ile karakterize edilen otokrin büyüme yoluna bir yanıt olarak ve ayrıca IL-2 gibi birincil otokrin büyüme faktörünün üretimi ile artmıştır. IL-2 reseptörünün (CD25)55 geliştirilmiş ifadesi.

Bulgularımız, HaCaT hücreleri üzerindeki etkiyi moleküler bileşimle ilişkilendirmek için yenilikçi bir yaklaşımı temsil ediyor. hümk madde.

Birkaç çalışmada, hümk maddenin, ayrıca kompostlanmış biyo kütlelerden de, bitkiler veya mikroorganizmalar üzerinde moleküler, fizyolojik ve transkripsiyonel seviyelerde faydalı etkilerinin ortaya çıktığına işaret etmiştir<sup>56</sup>. Hümk maddenin biyoaktif etkilerine ilişkin çalışılan bir hipotez, farklı tipteki hücrelerle etkileşim üzerindeki konformasyonel yapı ve moleküler bileşimin birlikte oluşturduğu kombinasyona dayanır<sup>57</sup>. Aslında, tedavi edilen HaCaT hücreleri üzerindeki antifammatuar aktivitelere HA-CYN ve HA-LIG arasındaki fark, NMR, termokemoliz ve HPSEC sonuçları ile gösterildiği gibi, kullanılabilen HA'nın farklı moleküler ve konformasyonel özellikleri ile açıklanabilir. Urban Dust'tan önce 50  $\mu\text{g mL}^{-1}$ 'de eklendiğinde HA-LIG tarafından IL-6 ve IL-1 $\beta$  inflamatuvar sitokin salınımını inhibisyonu, baskın hidrofobik özellikleri (büyük HB/HI indeksi) ile ilişkili olabilirken, daha hafif inhibisyon HA-LIG'in aynı konsantrasyonunda HA-CYN tarafından IL-1 $\beta$  sitokin yüksek oranda artması, polifenolik lignin bileşenlerinin geniş içeriğine bağlı olabilir.

AcOH ilavesinden sonra HPSEC elüsyon profillerindeki değişikliklerle ortaya çıkan HA'nın farklı konformasyonel stabilitesi, HA'nın antifammatory davranışına katkıda bulunan ek bir faktörde temsil edebilir (Tablo 3, Şekil 4). Bununla birlikte, hücre canlılığı durumunda (Şekil S2), hem HA-LIG hem de HA-CYN, öncekinden daha küçük moleküler ilişkilerden oluştuğu bulunmasına rağmen, aynı pozitif koruyucu etkiyi gösterdi. Bu, hücre canlılığının korunmasını etkinliğinden konformasyonel stabiliteden ziyade HA moleküler bileşiminin sorumlu olduğunu gösterir. Özellikle, HB/HI, ARM ve A/OA indekslerinin büyük değerleri ile gösterildiği gibi HA-LIG'deki hidrofobik bileşenlerin içeriği ve HA-CYN'deki lignin türevli polifenollerin miktarı, Her iki malzemeyi de hücre korumasında etkili kılmak için büyük LigR oranı (Tablo 2). Bu bulgu, fenolik bileşenlerin insan kronik hastalıklarını baskıladığı gösteren önceki çalışmalarla ve moleküler boyuttan ziyade hidrofobiklik ve fenolik içeriğin bitki kök hücrelerinin aktivitesini uyardığı bildirilen diğer çalışmalarla uyumludur. Tersine, HA-LIG'in hem IL-1 $\beta$  hem de IL-6 sitokinlerinin ekspresyonunun bastırılmasındaki daha büyük etkisi (Şekil 5a,b), bu malzemenin HA-CYN'den daha düşük konformasyonel stabilitesi ile açıklanabilir. daha sert bir konformasyonel yapı. Aslında, HA-LIG yapısı, HaCaT hücreleriyle etkileşime girerek daha küçük hümk üst yapılarına bölünebilir ve aynı zamanda iltihaplanmayı önemli ölçüde azaltan küçük biyoaktif fenolik molekülleri serbest bırakır.

Tersine, HA-CYN durumunda, gözlenen konformasyonel kararlılığı benzer bir bozulmayı önler.



HA-LIG kadar kolay bir şekilde daha küçük agregatlar ve biyoaktif moleküllerin salınması, böylece Urban Dust ile tedavi edilen HaCaT hücrelerinde daha az sitokin baskılaması gösterir.

Çalışmanın sonuçları, bu çalışmanın amacı, iki doğal kaynaktan ekstrakte edilen iki karakterize edilmiş hümkik asidin (HA) anti-inflamatuar özelliklerini araştırmaktır. HA arasındaki moleküler farklılıklar kapsamlı bir şekilde açıklanmıştır. Bu nedenle, bu çalışmanın amacı, bir sitokin salınımını kompost humusunun yalnızca hümkik asit fraksiyonunu kullanması olduğu ve tek başına fulvik asitlerin veya ikisinin bir karışımının (HA ve FA) farklı sonuçlar ortaya çıkarabileceğini varsayıyoruz. anti-inflamatuar süreçler. Bununla birlikte, tam da bu nedenle, HA'nın moleküler yapısıyla ilgili biyolojik aktivitesi arasında gözlemlenen ilişki, HA fraksiyonunun spesifik bir anti-inflamatuar aktivitesini tanımladığı için çalışmalarıımızda daha da büyük bir rol üstlenmektedir.

Çalışmamızın tek bir eksikliği, anti-inflamatuar aktiviteyi tek bir hücre hattında değerlendirilmiş ve sitokin salınımını da önemli inflammatuar sitokinleri ölçmüş olabilir. IL-6 ve IL-1β'yi iki enflamasyon belirteci olarak seçtimiz, sitokin yolunun inflammatuar stimülasyona karşı oldukça hassas molekülleri olarak rollerini gösteren önceki çalışmalara dayanmaktadır [58,59], böylece hümkik maddenin ön biyobelirteçleri olarak seçimlerini haklı çıkarılmaktadır. biyoaktivite.

Bu düşünceler, tıbbi uygulamalardaki hümkik malzemelerin yararlı özelliklerini daha ayrıntılı olarak araştırmak ve bunların anti-inflamatuar özelliklerini sabitlemek için moleküler ve hücre mekanizmaları belirlemek için daha fazla araştırma yapılması gerektiğini ima eder. Bununla birlikte, benzeri gözlemlerimiz sonuçlarımızı, insan keratinositleri üzerinde iyi karakterize edilmiş hümkik maddenin anti-inflamatuar aktivitesine ilişkin daha fazla araştırma için teşvik edebileceğinden, çalışmamızın öncü geçeriğini inanıyoruz.

#### Sonuçlar Hümkik

maddelerin tıbbi uygulamaları, bu maddelerin anti-viral, antifamatuvar, antioksidan, anti-tümör ve anti-toksin özellikleri ile ilgilidir. Bulgularımız, z, ya linyit gibi yenilenemeyen bir jeokimyasal yataktan ya da yeşil kompost gibi yenilenebilir ve sürdürülebilir bir kaynaktan izole edilen iki farklı HA'nın anti-inflamatuar aktivitelerini gösterdi. Moleküler bileşimlerdeki farklılıkları, FTIR spektrometrisi, NMR spektroskopisi, GC-MS ile ilişkili hatları termodinamiklerle değerlendirilken, konformasyonel yapıları HPSEC ile değerlendirildi. Spesifik deneylerden elde ettiğimiz sonuçlar, HaCaT hücreleri üzerindeki HA anti-inflamatuar aktivitelerinin, kısmen aromatik bileşikler ve polifenolik lignin fragmanları tarafından sağlanan hidrofobik özellikleriyle ve kısmen de supramoleküler birliklerinin konformasyonel stabilitesiyle ilişkili olduğunu göstermektedir.

Bu çalışma, HA moleküler özellikleri ile gözlenen biyoaktiviteleri arasında bir ilişki kurmaya çalışarak, Urban Dust tarafından uyarılan keratinosit modelinde ve bunun sonucunda IL-1β ve IL-6 sitokinlerinin HaCaT hücrelerinde üretimi üzerinde HA biyoaktivitesini yenilikçi bir şekilde değerlendirildi. HA biyoaktif özelliklerinin, yalnızca hedef hücrelerin yüzeyine yapışmalarıyla desteklenen ve genel hücre canlılığına artıran hidrofobiklik derecelerinden değil, aynı zamanda moleküler karmaşıklıklarıyla konformasyonel düzenlenmesinden de kaynaklandığı ileri sürülmektedir. Daha az kararlı konformasyonla ilişkili HA'nın, hücrelerle etkileşim halindeyken biyoaktif bileşenlerin salınımını kolaylaştırabileceğini ve inflammatuar sitokinlerin hücrel ekspresyonunu azaltabileceğini bulduk. İyi karakterize edilmiş HA ile bunların biyoaktivitesi arasında bir yapı-aktivite ilişkisi çözmek için gerekli unsurun bu ön tanımlamasını, dermatolojik alanda doğal sürdürülebilir malzemelerin potansiyel kullanımını desteklemede önemli bir adım oluşturduğuna inanıyoruz.

#### Malzemeler ve yöntemler Hümkik

asitlerin (HA) ekstraksiyonu. Hümkik asitler, hem bir Kuzey Dakota linyitinden (HA LIG) hem de enginar artıkları (HA-CYN) 18,19 yapıları ile yeşil bir komposttan ekstrakte edildi. Yeşil kompost, Castel-Volturno'daki (CE) Napoli Üniversitesi Federico II Deneysel Çiftlik'inin kompostlaştırma tesisinde üretildi ve enginar üretiminin kalıntıları (n=70/30 w/w oranında kavak budamasından elde edilen talaşlarla karıştırılarak) elde edildi. Çiftlikte kompostlaştırma işlemleri, delikli lastik borular ve döner bir pompadan oluşan bir hava emme sistemi üzerine yaygın statik yapıları üzerinde gerçekleştirilmiştir. Kompostlaştırma işlemleri, yıl boyunca sürekli olarak yaklaşık 70 °C'ye ulaştırılarak ilk 45 günlük aktif faz ile 100 gün sürmüştür. Kompostlaştırma işleminin sonunda, her bir kompost için 1 kg'lık nihai bir miktar elde etmek üzere yığımlardan rastgele numuneler alınmıştır. Organik malzemeler havayla kurutuldu, 2 mm'de elendi ve sonraki analizlere kadar 4 °C'de saklandı.

HA, 100 g hümkik maddenin (sırasıyla enginar kompostu ve Kuzey Dakota linyiti) 1000 mL 1 M KOH çözeltisi içinde süspansiyon edilmesi ve karışımın 24 saat mekanik olarak çalkalanmasıyla elde edildi. Süspansiyon daha sonra 7000 rpm'de 20 dakika santrifüjlendi ve süpernatant cam yünden süzülür. Ekstraksiyon iki kez tekrarlandı. Birleştirilen özlere, 6 M HCl ile pH 1'e asitleştirildi ve 24 saat oturmaya bırakıldı. Onun, numuneler 4000 rpm'de 20 dakika santrifüjlendi ve HA tortuları, Cl içermeyene kadar deiyonize suya karşı diyalize edildi (1kD cutoff Spectrapore membranları). Te HA daha sonra daha fazla analitik karakterizasyon için dondurularak kurutuldu.

HA'nın element analizleri ve FTIR-ATR spektroskopisi. HA-LIG ve HA-CYN'nin element bileşimi, bir Fison EA 1108 Elemental Analyzer ile belirlendi. Kızılötesi (IR) spektrumlar, bir elmas/ZnSe kristali ile donatılmış yayınlaştırılmış bir toplam refleksiyon (ATR) cihazı kullanılarak bir Perkin-Elmer Frontier Fourier dönüşümü kızılötesi spektrometre üzerinde kaydedilmiştir. Kristal cihaza yaklaşık 2 mg ince öğütülmüş toz yerleştirildi ve numuneye yaklaşık 150 N'lik bir kuvvet uygulanarak temas sağlandı. Her spektrum, 4000–400 cm<sup>-1</sup>'de 4 cm<sup>-1</sup> çözünürlükle 32 taramaya tabi tutuldu. 1 bölge.

Ofin pirolizi TMAH-GC-MS of HA. HA numuneleri (500 mg) bir kuvars tekneye yerleştirildi ve 1 mL TMAH (metanol içinde %25) çözeltisi ile nemlendirildi. Karışım hafif bir nitrojen akışı altında kuruttuktan sonra, kuvars teknesi bir Pyrex boru biçimli reaktöre (50 cm x 3.5 cm iç çap) yerleştirildi ve 400 °C'de 30 dakika süreyle ısıtıldı.

bir fırın (Barnstead Termolyne 21,100). Termokemolizle salınan ürünler, bir helyum akışıyla (20 mL dk-1) çevrimiçi olarak buz/tuz banyolarında tutulan bir dizi iki kloroform (50 mL) tuzağına nakatıldı. Ekstraktlar, rotabuharlaştırma ile konsantre edildi. Tortu, 1 mL kloroform içinde yeniden süspansiyon edildi ve GC-MS analizi için bir cam şişeye aktarıldı. Te GC-MS analizleri, bir sıvı tımalı transfer hattı (250°C) aracılığıyla birleştirilmiş bir RTX-5MS WCOT kapiler kolon (Restek, 30 m×0,25 mm; film kalınlığı, 0,25 µm) kullanılarak bir Perkin-Elmer Autosystem XL ile gerçekleştirilmiştir. °C), bir PE Turbomass-Gold dört kutuplu kütle spektrometresine. Kroma tografik ayarları şu programla gerçekleştirilmiştir: 60 °C (1 dk izotermal), hız 7 °C dk-1 ile 320 °C (10 dk izotermal). Taşıyıcı gaz olarak helyum 1,60 mL dk-1'de uygulandı, enjektör sıcaklığı 250 °C'de, bölünmüş enjeksiyon modunda 30 mL dk-1 bölünmüş akış vardı. Kütle spektrumları, EI modunda (70 eV), 45–650 m/z aralığında, 1 s döngüsüyle taranarak elde edildi. Bileşik tanımlaması, kütle spektrumlarını NIST kitaplık veri tabanı, daha önce yayımlanmış spektrumlar ve standart ile karşılaştırılmasına dayanıyordu.

HA'nın NMR spektroskopisi. Katı hal HA spektrumlarını elde etmek için 4 mm geniş delikli MAS probu ile donatılmış 300 MHz Bruker Avance spektrometresi kullanıldı. Her bir ince toz numune (5 mg), bir Kel-F kapak ile donatılmış 4 mm'lik bir zirkonyum rotora paketlenmiş ve 13,000±1 Hz hızında döndürüldü 13C NMR spektrumları, 2 s geri dönüş gecikmesi, 1 ms temas süresi, 30 ms edinme süresi ve 4000 tarama kullanılarak Çapraz Polarizasyon Sihirli Açık Döndürme (CPMAS) tekniği ile elde edildi. HA'nın sıvı hal NMR spektrumları, 5 mm Bruker BBI (Geniş Bant Ters) probu ile donatılmış 400 MHz Bruker Avance spektrometre üzerinde gerçekleştirildi. Her numune (5,0 mg mL-1) döteryumlu su ile çözöldü ve 5,0 mm'lik kuvars tüpe yerleştirildi. 1H NMR spektrumları, 2 s termal denge gecikmesi, 8,5 ve 9,5 µs aralığında deşişen 90° atım uzunluğu u, 32.768 zaman alanı noktası ve 64 geçici olay ile elde edildi.

Yüksek performanslı boyut dışlama kromatografisi. HPSEC sistemi, bir Rheodyne döner enjektör ve 100 µL numune halkası ve 280 nm'ye ayarlanmış bir UV/VIS detektörü (Perkin e Elmer LC295) ile donatılmış bir Shimadzu LC 10-AD pompası ndan oluşuyordu. Bir PolySep™ GFC-P3000 300 × 7,80 mm (Phenomenex, ABD) kullanılmış ve öncesinde bir PolySep GFC-P 35 × 7,80 güvenlik koruması (Phenomenex, ABD) ve 2 mm'lik bir giriş filtresi kullanılmıştı. Elüzyon akışı hızı 0,6 mL dk-1'e ayarlandı, elüzyon sıvısı ise 4,6 mmol L-1 Na<sub>3</sub> eklenmiş 0,1 mol L-1 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> çözeltisinden (pH 7,0'da tamponlanmış) yapıldı. Kromatografik analizler öncesinde hem mobil faz hem de HA çözeltileri 0,45 µm Millipore filtreden geçirildi. Kolon kalibrasyonu, bilinen moleküler kütlelere sahip sodyum polistiren sülfonatlar kullanılarak gerçekleştirildi: 123.000, 16.900 ve 6780 Da. Ayrıca düşük molekül ağırlıklı standartlar olarak ferulik asit (194 Da) ve katekol (110 Da) kullanılmıştır. Hümk asitler elüzyon solüsyonunda 0,6 g L-1 konsantrasyonda çözöndürüldü ve HPSEC ile elute edildi. Aynı hümk çözeltiler daha sonra buzlu asetik asit (AcOH) ile pH'larını 3,5'e düşürmek için ilave edildi ve tekrar HPSEC sistemine enjekte edildi. Molar kütle (MM) ve elüzyon hacmi (EV) aralığında elde edilen ilişkiler şöyleydi: log MM=0,1407 + EV+6,4077 (R<sup>2</sup>=0,996). Ağırlıklı Ortalaması (M<sub>w</sub>) ve Sayı Ortalaması (M<sub>n</sub>) molekül ağırlıkları ve polidispersite (P) hesaplandı. M<sub>w</sub> ve P hesaplamaları Origin yazılımı (v. 9.1, Originlab) tarafından yapıldı. rken, kromatogramları kaydetmek ve detaylandırmak için bir Unipoint Gilson Yazılımı kullanıldı.

Anti-flamatuar aktivite. Hücre kültürü Ölümsüzleştirilmiş insan keratinositleri, HaCaT hücreleri, %10 fetal serum (FBS, GIBCO, Grand Island, NY), 2 mM 1-glutamin (GIBCO, Grand) içeren Dulbecco'nun deşiştilmiş Eagle ortamı nda (DMEM, GIBCO, Grand Island, NY) büyütüldü. Island, NY) ve antibiyotikler (100 IU mL-1 penisilin G, 100 µg mL-1 streptomisin, GIBCO, Grand Island, NY, ABD). Hücreler, %5 CO<sub>2</sub> ile 37 °C'de nemlendirilmiş bir inkübatörde kültürlendi.

Kimyasallar. NIST (Gaithersburg, MD, ABD) tarafından sağlanan Urban Dust (SRM 1649b), fosfat tamponlu salin 1X (PBS, GIBCO, Grand Island, NY, ABD) içinde çözöldü topaklanmayı önlemek için 30 dakika ultrasonik banyoya tabi tutuldu ve içinde seyreltilti. 200 µg mL-1 tedavi konsantrasyonunu elde etmek için DMEM. HA-LIG için 50 ve 100 µg mL-1 ve HA-CIN için 10 ve 50 µg mL-1 tedavi konsantrasyonunu elde etmek için HA-LIG ve HA-CIN ekstraktları PBS içinde çözöldü ve DMEM içinde seyreltilti.

Tedavi. HaCaT hücreleri, yaklaşık %70'lik bir birleşme noktasına ulaşana kadar 3 mL taze kültür ortamı nda 60 mm'lik kültür plakaları na kaplandı. Hücreler DMEM ile kaplandı ve Urban Dust 1649b ile bir 4 saat boyunca 200 µg mL-1 konsantrasyonu.

Hücre canlılığı analizi. Tedaviden altı saat sonra, Tripkan mavisi yöntemiyle hücre canlılığı belirlendi. Hücreler iki kez PBS ile yıkandı, tripsin/EDTA ile 5 dakika inkübe edildi ve 10 dakika 1000x'ge santrifüjlendi. Hücre peleti, uygun bir PBS hacmi içinde yeniden süspansiyon edildi ve 10 µL hücre süspansiyonu, 10 µL Tripkan mavisi çözeltisi ile birleştirildi. Karışım 15 dakika oda sıcaklığı nda inkübe edildi ve mikroskop altı nda hemasiyometrede boyanmamış hücrelerin (hayati hücreler) sayısı ve toplam hücre sayısı (hayati ve deşil) belirlendi (ölü hücreler Tripkan mavisi boyasını alacaktır). Canlı hücrelerin yüzdesi, boyanmamış hücrelerin sayısı nın toplam hücre sayısına bölünmesiyle belirlendi.

RNA ekstraksiyonu ve gerçek zamanlı. Tedavi edilen HaCaT hücreleri, Sitokin seviyeleri açısından deşerlendirildi. Üreticinin talimatlarına göre RNeasy Mini Kit (Qiagen, Doncaster, Avustralya) kullanılarak toplam mRNA izole edildi. cDNA, Transcriptor High fidelity cDNA Synthesis Kit (Roche, Indianapolis, IN, ABD) kullanılarak hazırlandı. Kantitatif ters transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PCR; LightCycler, Roche, Indianapolis, IN,

ABD) IL-6 ve IL-1 $\beta$  gen ekspresyonunu değerlendirmek için yapıldı. PCR primerleri, yapılandırılan dizilere dayalı olarak tasarlandı ve özlükleri, BLAST hizalama araştırması ile doğrulandı. Her numunede belirli bir gen için mRNA miktarı, aynı numunedeki 18S referans geninin mRNA miktarına göre normalize edildi.

İstatistik. Tüm istatistiksel analizler GraphPad Prism 4.0 (GraphPad Software Inc, La Jolla, CA, ABD) kullanılarak yapıldı. Normallik testinden geçen veriler iki uçlu t testi ile analiz edilmiştir. P<0.05 değeri anlamlı kabul edildi.

Veri mevcudiyeti Bu

çalışması sırasında oluşturulan veya analiz edilen tüm veriler, bu yapılandırılan makaleye veya beraberindeki Ek Bilgi dosyalarına dahil edilmiştir.

Geliş tarihi: 28 Haziran 2021; Kabul tarihi: 24 Ocak 2022

Published online: 09 February 2022

Referanslar 1.

- Adame, JA, Notario, A., Villanueva, F. & Albaladejo, J. Orta-Güney İspanya'daki bir sanayi bölgesinde DOAS sistemi ile ölçülen yüzey ozon, NO<sub>2</sub> ve SO<sub>2</sub> günlük kalıplarına küme analizi uygulaması. *Bilim Toplam Çevre*. 429, 281–291. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.04.032> (2012).
- Kı, M. Y. İda 7 milyon ölüm hava kirliliğine bağlı. *Cent. EUR. J. Halk Sağlığı* 22, 53–59 (2014).
- Manisalidis, I., Stavropoulou, E., Stavropoulos, A. & Bezirtzoglou, E. Hava kirliliğinin çevresel ve sağlıke etkileri: Bir gözden geçirme. *Ön. Halk Sağlığı* 8, 14. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.00014> (2020).
- Babadjouni, RM ve ark. Hava kirliliğinin merkezi sinir sistemi üzerindeki klinik etkileri; bir inceleme. *J. Clin. Nörobilim*. 43, 16–24. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2017.04.028> (2017).
- Guo, H., Chang, Z., Wu, J. & Li, W. Çin'de hava kirliliği ve akciğer kanseri insidansı: Kim daha büyük bir etkiyle karşı karşıya? çevre. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 13, 105077. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105077> (2019).
- Baek, JO, Cho, J. & Roh, JY Atopik dermatit için ortam hava kirliliği ile tıbbi bakım ziyaretleri arasındaki ilişki. çevre. *Res. J. Environ. Health* 2020.110153 (2021).
- Farage, MA, Katsarou, A. & Maibach, HI Hassas ciltte duyuşsal, klinik ve fizyolojik faktörler: Bir gözden geçirme. *İletişim Dermatit* 55(1), 1–14. <https://doi.org/10.1111/j.0105-1873.2006.00886.x> (2006).
- Abolhasani, R. et al. Hava kirliliğinin cilt ve ilgili bozukluklar üzerindeki etkisi: Kapsamlı bir derleme. *Dermatol. Ter.* <https://doi.org/10.1111/dth.14840> (2021).
- Wang, J. ve ark. Hava kirliliğine maruz kalma, önceden KOAH'ı olan farelerde enflamasyonu şiddetlendirir. *medyat. Infamm.* 8, 4262004. <https://doi.org/10.1155/2020/4260204> (2020).
- Ferrara, F., Prioux, R., Woodby, B. & Valacchi, G. Kirliliğe bağlı cilt koşullarında rezil aktivasyon. plastik. Yeniden yapılandırılma cerrahi 1, 147. <https://doi.org/10.1097/PRS.00000000000007617> (2021).
- Rembieska, J., Ruzgas, T., Engblom, J. & Holefors, A. Kirliliğin cilt üzerindeki etkisi ve kirlilik önleme için uygun etkinlik testi iddialar. *Kozmetik* 5, 4. <https://doi.org/10.3390/cosmetics5010004> (2018).
- Cordell, GA Sürdürülebilir ilaçlar ve küresel sağlıkhizmetleri. *Quim. Nova* <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000500047> (2009).
- Fabbrocini, G. ve ark. Akne vulgaris tedavisi için resveratrol içeren jel: Tek kör, araç kontrollü pilot çalışması. *Am. J. Clin. Dermatol.* 12(2), 133–141. <https://doi.org/10.2165/11530630-000000000-00000> (2011).
- Lembo, S. et al. Ellagik asit ve rosmarinik asidin ultraviyole-B kaynaklı sitokin/kemokin geni üzerindeki modülatör etkisi cilt keratinosit (HaCaT) hücrelerinde ifade. *BioMed. Res. Int.* <https://doi.org/10.1155/2014/346793> (2014).
- Di Caprio, R. ve diğ. erleri. Süt devedikeni ve zeytin özü Güneşin neden olduğu cilt hasarına karşı yeni bir görevi olan eski maddeler. *Giornale italyan Dermatol. Venereol.* 155(3), 286–293. <https://doi.org/10.23736/S0392-0488.17.05726-1> (2020).
- Varga, Z., Rafay, S., Sabzwari, A. & Vargova, V. Nonsteroid antifammatory ilaçların kardiyovasküler riski: Yeterince tanımayan bir halk sağlığı sorunu. *Cureus* 9(4), e1144. <https://doi.org/10.7759/cureus.1144> (2017).
- Klöcking, R. & Helbig, B. Humik maddeler, tıbbi yönler ve uygulamalar. *Biyopolim. Çevrimiçi* <https://doi.org/10.1002/3527600035.bpol1013> (2001).
- Verrillo, M., Salzano, M., Cozzolino, V., Spaccini, R. & Piccolo, A. Farklı yeşil kompostlardan kimyasal olarak karakterize edilmiş kompost çayları n biyoaktivite ve antimikrobiyal özellikleri. *Atıkh Yönetimi*. 120, 98–107. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2020.11.013> (2021).
- Verrillo, M., Cozzolino, V., Spaccini, R. & Piccolo, A. Yeşil komposttan elde edilen humik maddeler fesleğen yapraklarındaki uçucu yağların biyoaktivitesini ve antibakteriyel özelliklerini arttırır. *kimya Biol. Teknoloji Agric.* 8, 28. <https://doi.org/10.1186/s40538-021-00226-7> (2021).
- Jooné, GK, Dekker, J. & van Rensburg, CE Oksihumattımmün sistemi uyarıcı özelliklerinin araştırılması. *J. Biosci.* 58(3–4), 263–267. <https://doi.org/10.1515/znc-2003-3-421> (2003).
- Van Rensburg, CEJ Hünik maddelerin antiinflatuvar özellikleri: Küçük bir gözden geçirme. *fitoter. Res.* 29, 791–795. <https://doi.org/10.1002/ptr.5319> (2015).
- Jansen Van Rensburg, CE & Naude, PJ Potasyum humat, kompleman aktivasyonunu ve enflamatuvar üretimini engeller. *in vitro sitokinler. Enflamasyon* 32(4), 270–276. <https://doi.org/10.1007/s10753-009-9130-6> (2009).
- Nuzzo, A., Buurman, P., Cozzolino, V., Spaccini, R. & Piccolo, A. Bir birincil bitki örtüsüdizisi altında toprak organik maddesinin kıvıltötesi spektrumları. *kimya Biol. Teknoloji Agric.* 7, 6. <https://doi.org/10.1186/s40538-019-0172-1> (2020).
- Savy, D., Cozzolino, V., Vinci, G., Nebbioso, A. & Piccolo, A. Farklı biyoenerji mahsullerinden elde edilen suda çözünür ligninler, mısırsı (Zea mays L.) erken gelişimini uyarır. *Moleküller* 20(11), 19958–19970. <https://doi.org/10.3390/molecules201119671> (2015).
- Monda, H., Cozzolino, V., Vinci, G., Spaccini, R. & Piccolo, A. Farklı kompostlanmış biyokütlerden suda ekstrakte edilebilen organik maddenin moleküler özellikleri ve bunların mısırsı tohum çimlenmesi ve erken büyümesi üzerindeki etkileri. *Bilim Toplam Çevre*. 590–591, 40–49. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.026> (2017).
- Piccolo, A., Conte, P., Trivellone, E., Van Lagen, B. & Buurman, P. Bir organik asitle etkileşimi takiben hızlı rlayıcı HPSEC ile bir linyit hünik asitinin heterojenliğinin azaltılması. Boyut ayrımlarının Pir-GC-MS ve 1H-NMR spektroskopisi ile karakterizasyonu. *çevre. bilim Teknoloji* 36(1), 76–84. <https://doi.org/10.1021/es010981v> (2002).
- Deport, C., Lemée, L. & Ambles, A. TMAH ve TEAAc ther kullanılarak topraktan ve turbalardan elde edilen hünik maddelerin karşılaştırılması. *Org. Jeokimya*. 37(6), 649–664. <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2006.01.014> (2006).
- Simpson, AJ, McNally, DJ & Simpson, MJ Çevresel araştırmalarda NMR spektroskopisi: Moleküler etkileşimlerden küresel süreçler. *Prog. Çekirdek Magn. yankı. Spectrosc.* 58, 97–175 (2011).
- Sun, J. et al. Seyreltik asidik çözeltide salınan biyokömür karbonunun moleküler özellikleri ve mısırtohumu çimlenmesi üzerindeki etkileri. *Bilim Toplam Çevre*. 576, 858–867. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.095> (2017).

30. Piccolo, A., Conte, P. & Cozzolino, A. Mineral ve monokarboksilik asitlerin çözünmüş hümk asitin moleküler birlikteliği i üzerindeki etkileri maddeler. EUR. J. Toprak Bilimi 50, 687–694. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2389.1999.00276.x> (1999).
31. Piccolo, A. Hümk maddelerin supramoleküler yapı s : Humus kimyası na dair yeni bir anlayı ş ve toprak Bilimi. Av. Agron. 75, 57e134 (2002).
32. Piccolo, A., Conte, P. & Cozzolino, A. Çözünmüş hümk maddelerin kromatografik ve spektrofotometrik özellikleri com makromoleküler polimerlerle karşı laştı rı ldi . Toprak Bilimi 166, 174–185 (2001).
33. Yang, HL, Lu, FJ, Wung, SL & Chiu, HC Hümk asit, kütürlenmiş endotel hücreleri tarafı ndan doku faktörünün ekspresyonunu indükler: Sitozolik kalsiyum ve protein kinaz C ile düzenleme. Tromb. Haemost. 71(3), 325–330. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1642438> (1994).
34. Hseu, YC ve ark. Kuyruklu yı ldi z ve kardeş kromatid kullanı larak insan periferik kan lenfositlerinde hümk asit kaynaklı genotoksiste değ işim tahlili. J. Hazard. Anne. 153(1–2), 784–791. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.09.024> (2008).
35. Liu, CW ve ark. PM2.5 ile indüklenen oksidatif stres, IL-6/AKT/STAT3/NF-κB'ye bağ lı yol yoluyla akciğ er epitel hücrelerinde hücreler arası adezyon moleküü ekspresyonunu arttı rı r. Fiber Toksikol. 15(1), 4. <https://doi.org/10.1186/s12989-018-0240-x> (2018).
36. Jayasooriya, RGPT ve ark. Fulvik asit, kanser hüresine neden olan RAW 264.7 hücrelerinden hücre dışı anti-kanser aracı ları nı teşvik eder in vitro ölüm. Int. İ mmünofarmakol. 36, 241–248. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2016.04.029> (2016).
37. Efmoova, IV, Khilko, SL & Smirnova, OV Hümk asitlerin radikal zincir oksidasyon süreçlerinde antioksidan aktivitesi. Rus. J. Uygulama kimya 85(9), 1351–1354. <https://doi.org/10.1134/S1070427212090091> (2012).
38. Poljsak, B., Šuput, D. & Milisav, I. ROS ve antioksidanlar arası ndaki dengenin saę lanması : Sentetik antioksidanlar ne zaman kullanı lı r? Oksit. İ le. Hücre. Longev. 2013, 11. <https://doi.org/10.1155/2013/956792> (2013).
39. Barrera, G. Kanser ilerlemesi ve tedavisinde oksidatif stres ve lipid peroksidasyon ürünleri. ISRN Oncol. <https://doi.org/10.5402/2012/137289> (2012).
40. Luciani, G. et al. Hibrit SiO2 nanoyapı ları nda hümk asitlerin kimyasal olarak sı kı ştı rı lması , antioksidan özelliklerini ayarlar. kimyasfer 287, 1. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131985> (2022).
41. Zykova, MV ve ark. Çeşitli orijinli turbalardan izole edilen hümk asitlerin fizikokimyasal karakterizasyonu ve antioksidan aktivitesi. Moleküler 23, 4. <https://doi.org/10.3390/molecules23040753> (2018).
42. Sztot, K. ve ark. Hümk suyun hiperlipemik koşullar altı nda endotel hücreleri üzerindeki etkileri: Enflamasyonla ilişkili parametreler. çevre. Jeokimya. Sağ lı k 41(3), 1577–1582. <https://doi.org/10.1007/s10653-018-0238-1> (2019).
43. Vuolo, MM, Lima, VS & Maróstica Junior, MR Fenolik bileşikler: Yapı , sı nı flandı rma ve antioksidan güç. Biyoakt. kompd. Sağ lı ğ a Fayda Potansiyeli Uyg. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814774-0.00002-5> (2018).
44. Pane, C., Spaccini, R., Piccolo, A., Celano, G. & Zaccardelli, M. Farklı çiftlik içi kompostlaştı rma yöntemleriyle şekillendirilen kimyasal ve biyo-bazlı özelliklerle ilgili olarak tarı msal yeşil atı k kompostları nı n hastalı k baskı layı cı lı ğ ı . Biol. Kontrol 137, 104026. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.104026> (2019).
45. Verrillo, M. et al. Enerji bitkilerinden ve tarı msal-endüstriyel yan ürünlerden elde edilen ligninlerin antioksidan ve antimikrobiyal olarak değ erlendirilmesi malzemeler. J. Sci. Gi da Tari m. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11629> (2021).
46. Nguyen, AV & Athena, MS Te, derinin bağ ı şı k sistemini dinamikleri. Int. J. Mol. bilim 20(8), 2019. <https://doi.org/10.3390/ijms20081811> (2019).
47. Hirabayashi, T. ve ark. PNPLA1, açılseramid biosentezini yönlendirerek cilt bariyeri işlevinde çok önemli bir role sahiptir. Nat. komün. 8(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/ncomms14609> (2017).
48. Williams, IR & Kupper, TS Yüzye de Bağ ı şı k lı k: Cilt bağ ı şı k lı k sisteminin homeostatik mekanizmaları . Hayat Bilimi 58, 1485–1507. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(96\)00042-2](https://doi.org/10.1016/0024-3205(96)00042-2) (1996).
49. Fernando, IP ve ark. Keratinositlerde ve makrofajlarda kentsel ince toz partikülleri tarafı ndan ortaya çı kan iltihaplanma tepkilerinin, kahverengi bir alg ishige okamurae'den izole edilen difloretohidroksi-karmalol tarafı ndan inhibisyonu. Algler 32(3), 261–273. <https://doi.org/10.4490/algae.2017.32.8.14> (2017).
50. Mariathasan, S. & Monack, DM Infammasome adaptörleri ve sensörleri: Enfeksiyon ve iltihaplanmanı n hücre içi düzenleyicileri. Nat. Bağ ı şı k lı k. 7, 31–40. <https://doi.org/10.1038/nri1997> (2007).
51. Lopez-Castejon, G. & Brough, D. IL-1β salgı lama mekanizması nı anlamak. Sitokin Büyüme Faktörü Rev. 22, 189–195. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2011.10.001> (2011).
52. Enflamasyon, bağ ı şı k lı k ve hastalı kta Tanaka, T., Narazaki, M. & Kishimoto, T. IL-6. Soę uk Kaynak Harb. Perspektif. Biol. 6(10), a016295. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a016295> (2014).
53. Junek, R. et al. Hümk asitlerin, farklı laşımı ş U937 hücrelerinden LPS ile indüklenen TNF-α salı nı mı üzerindeki bimodal etkisi. Bitki ilacı 16(5), 470–476. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2008.10.003> (2009).
54. Chen, D.-H. et al. Hümk asidin nötrofillerin yapı şkanlı ğ ı üzerindeki etkisi. Tromb. Res. 108(1), 67–76. [https://doi.org/10.1016/S0049-3848\(02\)00384-5](https://doi.org/10.1016/S0049-3848(02)00384-5) (2002).
55. Efektör yanı tları , tolerans ve immünoterapinin kavşaa ğ ı nda Liao, W., Lin, JX & Leonard, WJ Interleukin-2. dokunulmazlı k 38, 13–25. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.01.004> (2013).
56. Cozzolino, V. et al. Fosfat çözütübakteriler, hümk asitler ve arbusküler mikorhizal mantarlar arası ndaki işbirliğ i, toprak mikrobiyom kaymaları na neden olur ve bitki besin alı mı nı artı rı r. kimya Biol. Teknoloji Agric. 8, 31. <https://doi.org/10.1186/s40538-021-00230-x> (2021).
57. Canellas, LP & Olivares, FL Herbaspirillum seropedicae tarafı ndan sı nı r hücrelerinin üretimi ve mı sı r kökücüları nda kolonizasyon hümk asit ile modde edilir. Bitki Topraę ı <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3267-0> (2017).
58. Lembo, S. et al. Azeloglisin ve nikotinamid, inflamasyon yanlı sı aracı ları in vitro olarak aşığ ı regüle eder. G İ talya. Dermatol. Venereol. 152(1), 90–92. <https://doi.org/10.23736/S0392-0488.16.05229-9> (2017).
59. Tanaka, Y., Uchi, H., Hashimoto-Hachiya, A. & Furue, M. Triptofan fotoürünüFICZ, keratinositlerde oksidatif stres yoluyla IL1A, IL1B ve IL6 ekspresyonunu düzenler. Oksit. Med. Hücre Longev. <https://doi.org/10.1155/2018/9298052> (2018).
60. Vitiello, G., Venezia, V., Verrillo, M., Nuzzo, A., Houston, J., Cimino, S., D'Errico, G., Aronne, A., Paduano, L., Piccolo, A., Luciani, G. Atı k sudaki gram(-) patojenlere ve antibiyotik kontaminantlara karşı oldukça etkili antimikrobiyal ajanlar olarak hibrit hümk asit/titanyum dioksit nanomateryalleri. Çevre Res. 193, 110562. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110562> (2021).

Yazar katkı ları MV, MP:

soruşturma; kavramsallaştı rma; veri iyileştirme, resmi analiz, metodoloji, yazma—orijinal taslak.DS, GC: metodoloji, veri iyileştirme, resmi analiz. RDP, MAL, SC: veri iyileştirme, resmi analiz.GF, AP: kavramsallaştı rma, finansman sağ lama, proje yönetimi, denetleme, yazma—inceleme ve düzenleme.

Çakı şan çı karlar

Yazarlar çatı şan çı karlar beyan etmemektedir.

Ek bilgiler Ek Bilgiler Çevrimiçi

sürüm, <https://doi.org/10.1038/s41598-022-06251-2> adresinde bulunan ek materyalleri içerir .

Yazı şmalar ve malzeme talepleri MV veya AP'ye gönderilmelidir.

Yeniden basımlar ve izin bilgileri [www.nature.com/reprints](http://www.nature.com/reprints) adresinde mevcuttur .

Yayıncı'nın notu Springer Nature, yayımlanmış haritalardaki ve kurumsal ilişkilerdeki yetki iddiaları konusunda tarafsız kalır .



Açık Erişim Bu makale, orijinal yazar(lar)a ve kaynağa uygun şekilde atıfta bulunduğu unuz süreçte, herhangi bir ortam veya formatta kullanılması, paylaşılması, uyarlamaya, dağıtılması ve çoğaltmaya izin veren Creative Commons Atıf 4.0 Uluslararası Lisansı altında lisanslanmıştır. Creative Commons lisansı na bir bağlantı sağlamanı ve değişiklik yapıları yapılmadığı belirtilir. Bu makaledeki görseller veya diğer üçüncü şahısların materyalleri, materyalin kredi limitinde aksi belirtilmedikçe, makalenin Creative Commons lisansı na dahildir. Materyal, makalenin Creative Commons lisansı na dahil değilse ve kullanılması amacını z yasal düzenleme tarafından izin verilmiyorsa veya izin verilen kullanımı aşarsa, doğrudan telif hakkı sahibinden izin alınması gerekir. Bu lisansın bir kopyasını görüntülemek için <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/> adresini ziyaret edin.

© Te Yazar(lar) 2022