

Hümik Asitle Sentezlenmiş Gümüş Nano Plakaların Sitotoksik Potansiyeli Dalton Lenfoma Asitlerine Karşı

Prashob Peter K J1*, Kala KJ 1,2, Nair S M1

¹ Kimyasal Oşinografi Bölümü, Cochin Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Cochin 682016, Hindistan.

² Üniversiteler Arası Deniz Biyoteknolojisi Geliştirme Merkezi, Cochin Bilim ve Teknoloji Üniversitesi
Cochin 682016, Hindistan.

Çevrimiçi Erişim Tarihi: 25 Aralık 2016

ÖZET Bu,

hümik asitle sentezlenmiş gümüş nanoplakaların (HAgNpl) Dalton lenfoma asidine (DLA) karşı sitotoksik aktivitesine ilişkin ilk rapordur. Bir supramolekül olan hümik asidin çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada gümüş nanoplakaların sentezi için kullanılan hümik asit, mangrov tortularından izole edilmiştir. Hümik asidin kimyasal bileşimi, katı hal C-13 NMR spektroskopisi kullanılarak analiz edildi. Nanoplakaların morfolojisi SEM kullanılarak incelenmiştir. HAgNpl'nin sitotoksik potansiyelini değerlendirmek için Dalton Lenfoma Asitleri (DLA hücre dizileri) üzerinde tripan mavisi canlılık testi yapıldı. Hümik asitle sentezlenen gümüş nanoplakaların bu habis hücrelere karşı etkili olduğu kanıtlanmıştır. HAgNpl, DLA hücrelerine karşı doza bağlı bir aktivite gösterdi. Bu sonuç, HAgNpl'nin malign lenfomaya karşı güvenli ilaçlar geliştirmedeki potansiyel rolünü vurgulamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Hümik Asit, Gümüş Nanoplakalar, Dalton Lenfoma Asitleri.

GİRİŞ Nanobilimin

hızla gelişmekte olan bir alanı olan nanobiyoteknoloji, kanser tedavisi ve teşhisi için tedavi yöntemi geliştirmek için umut verici bir araştırma alanıdır¹. Nano malzemeler, benzersiz biyolojik özelliklerinden dolayı geleneksel aşıma yöntemleri için potansiyel bir alternatiftir².

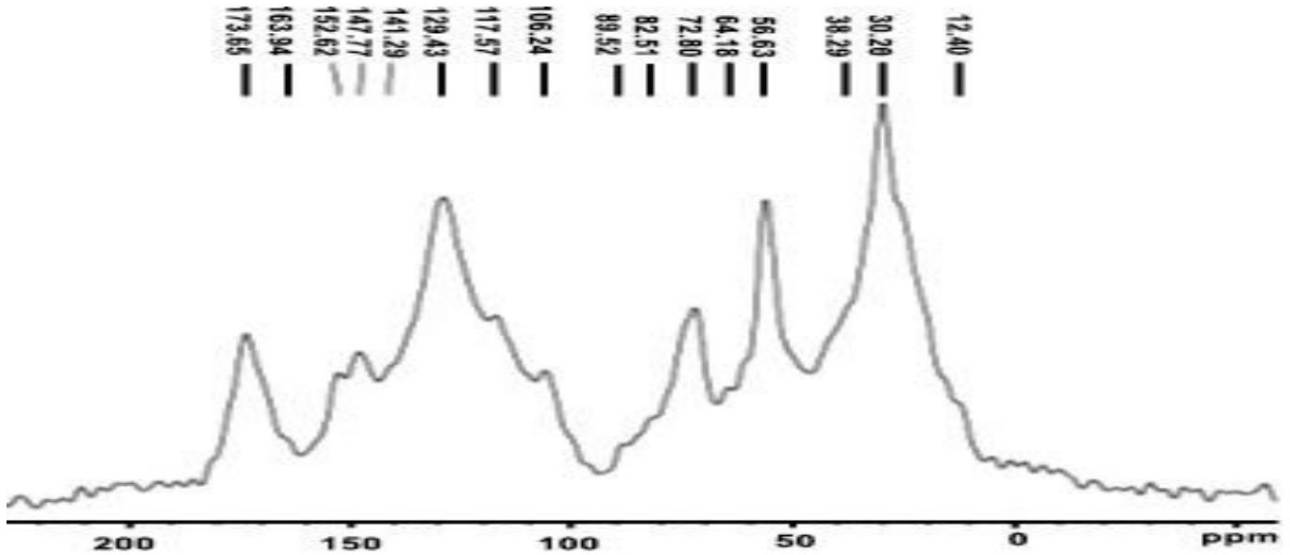
Bu bağlamda, gümüş nanopartiküller kullanılarak geliştirilen ilaçlar, tipik morfolojileri ve özellikleri^{3,4} nedeniyle olağanüstüdür. Gümüş nanopartiküllerin sahip olduğu geniş nanoteknoloji tabanlı klinik uygulamalar göz önüne alındığında, ilaç şirketleri özellikle ayırt edici özelliklere ve morfolojilere sahip gümüş nanopartiküllerin sentezlenmesine odaklanmaktadır. Bu bağlamda hümik asit, benzersiz moleküller üstü yapıları ve indirgeme potansiyelleri^{5,6} nedeniyle, benzersiz morfolojileri ve biyolojik özellikleri olan gümüş nanopartiküllerin sentezlenmesi için uygun bir seçimdir. Hümik asitler, teratojenik, mutajenik, embriyotoksik ve kanserojen özelliklere sahip olmadıkları ve vücuttan kolayca atılabilmeleri⁷ nedeniyle farmakoloji alanında giderek artan bir ilgi kazanmıştır. Hümik asit, uyarıcı etkileri, membran aktivitesi, mitokondrinin elektron taşıma zincirinde elektronların taşınması, oksidatif fosforilasyonun aktivasyonu, iyon değişimi, kompleks oluşturma ve sorpsiyon kapasitesi⁷ ile biyokimyasal aktiviteleri doğrudan etkiler. Veterinerlikte çeşitli hümik asit ürünleri kullanılır. ve insan ilaçları. Bitkisel ilaçlarda hümik asit, kırık kemiklerin, çıkıkların, deri hastalıklarının ve periferik sinir bozukluklarının tedavisinde kullanılır⁸⁻¹⁰. Hızlandırılmış kalsiyum birikimi ve kalsiyum fosfat, osteokalsin, çekirdek bağlama faktörü ve

insan kemik iliği mezenkimal kök hücrelerinde ve hümik asit⁸ ile tedavi edilen insan fetal osteoblastlarında baskılanmış osteoclastogenesis gözlemlendi. Hümik asit kullanılarak kırık kemiğin kireç oluşumu ve fosfor alımı %20-25 oranında hızlandırılır^{11,12}. Hümik asidin gastrointestinal sistem mukozasında film oluşturabilme özelliği enfeksiyonlara ve toksinlere karşı savunma mekanizmasını güçlendirir. Hümik asit, iyi bir kan pıhtılaştırıcı ajandır¹³. Hümik asidin mast hücrelerini koruma potansiyeli onları etkili bir antialerjik yapmıştır^{14,15}. Hümik asidin nanopartikül sentezleme potansiyeli ile birlikte biyolojik potansiyeli, çalışmayı hümik asit sentezlenmiş gümüş nanopartiküllerin asit tümörü üzerindeki etkisini anlamaya sevk etmiştir. Bu çalışmanın amacı, mangrov ekosisteminden izole edilen hümik asit kullanılarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerin karakterize edilmesi ve Dalton Lenfoma Asiti üzerindeki etkilerinin belirlenmesidir.

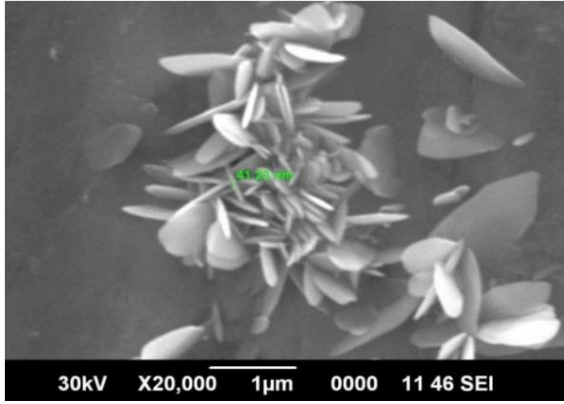
MATERYAL VE METOT Hümik asitin

İzolasyonu ve Karakterizasyonu Gümüş nanoplakaların sentezi için kullanılan hümik asit, IHSS16 tarafından belirlenen protokol izlenerek Hindistan'ın güneybatı kıyısındaki Cochin'deki mangrov ekosisteminden örneklenen çöktelilerden izole edildi ve saflaştırıldı. Saflaştırılmış hümik asitler, C-13 katı hal NMR analizi kullanılarak karakterize edildi. Dondurularak kurutulmuş hümik asit örneğinin 13C-NMR spektrumu, CP-MAS prosedürü kullanılarak 75.475 MHz çalışma frekansıyla bir Bruker AVANCE 300'e kaydedildi. Numune (100-150 mg), Kel-F başlıklı 4 mm zirkonya rotora dolduruldu ve 10 kHz'de döndürüldü. Geçmek

* Yazışma Yazarı: prashobpeter@cusat.ac.in



Şekil 1: Hindistan'ın güneybatı kıyısındaki Cochin'deki mangrov tortularından çıkarılan hümik asit molekülünün C-13 CPMAS katı hal NMR spektrumları.



Şekil 2: Hümik asitler kullanılarak 0,01 mol l-1 gümüş nitrat konsantrasyonunda sentezlenen gümüş nanoplakaları temsil eden SEM görüntüleri .

polarizasyon, 1 ms'lik bir temas süresinde, 36 ms'lik bir edinim süresinde ve 2.50 s'lik bir geri dönüşüm gecikmesinde yapıldı. Kantitatif işleme, Bruker Topspin 1.3 yazılımı kullanılarak fazın ve taban çizgisinin ön otomatik düzeltilmesi ile fonksiyonel gruplara ve moleküler parçalara karşılık gelen bölgelerde sayısal entegrasyonla gerçekleştirildi. Karbon türlerinin grupları, kimyasal kayma aralıklarıyla tanımlanmıştır (Tablo 1).

HAgNpl'nin Sentezi ve Karakterizasyonu

Hümik-gümüş nanopartiküller, 10 mL 0.01M AgNO₃ sulu çözeltisinin, 0.001 M NaOH ile ayarlanmış 10 pH'ta 1 mL 10 ppm hümik asit çözeltisi ile indirgenmesiyle hazırlandı. Gümüş indirgeme işlemi, homojen solüsyonların etüvde 75 °C'de bir saat ısıtılmasıyla 17 geliştirildi.

Elde edilen gümüş nanopartiküller daha sonra SEM (JEOL Model JSM - 6390LV) ile karakterize edildi.

HAgNpl'nin sitotoksik aktivitesi

HAgNpl'nin kan kanserine karşı sitotoksik aktivitesini araştırmak için Dalton Lenfoma Asit (DLA) hücreleri kullanıldı. Bu habis hücre hatları, Amala Kanser Araştırma Merkezi'nde tutuldu.

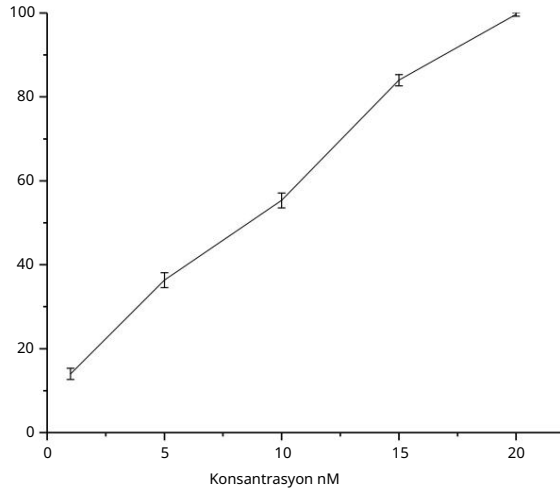
Nagar ve Thrissur, Hindistan. HAgNpl'nin sitotoksitesini hesaplamak için tripan mavisi dışlama yöntemi kullanıldı. Bu analiz bozulmamış canlı hücre zarlarını bir ışık mikroskobu kullanarak ölü hücrelerden ayırır. İkincisi, boyanmış sitoplazmada tutulması nedeniyle mavi renkli olarak görülür. Test için kullanılan tüm kimyasallar HIMEDIA'dan satın alınmıştır. Canlılık tahlilinden önce, tümörlü farelerin periton içi boşluğundan aspire edilen DLA hücreleri, PBS kullanılarak üç kez yıkandı. Sulu çözelti içinde düzgün bir şekilde dağılmış farklı konsantrasyonlarda hümik asit gümüş nanoplakalar (1 nM, 5 nM, 10 nM, 15 nM ve 20 nM) 0.8 ml PBS ile iyice karıştırıldı ve 1 x 10⁶ hücre içeren 0.1 mL hücre süspansiyonuna eklendi ve 37 °C'de 3 saat inkübe edildi . İnkübasyondan hemen sonra, canlı olmayan (boyalı) ve canlı (boyanmamış) hücreleri mikroskopik olarak saymak için, 0.1 mL tripan mavisi boya ile işlenmiş bir damla hücre karışımı bir hemositometreye aktarıldı. Toplam canlı ve cansız hücrelerin sayımı ayrı ayrı yapıldı.

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Mangrov tortularından izole edilen hümik asidin katı hal C-13 NMR karakterizasyonunun sonuçları, Şekil 1 ve Tablo 1'de gösterilmektedir. karboksilik, hidroksil, metoksi ve kinoidler^{5,6} olarak . Hümik asidin redoks özelliklerinin genel olarak esas olarak hidrokino ve fenol grupları¹⁸ ile bağlantılı olduğu doğrulanmıştır. Hümik asit molekülünde polar ve indirgeyici grupların varlığı ve benzersiz amfifilik bileşim, gümüş nanoplakaların sentezine ve bunun stabilizasyonuna yardımcı olur⁵ . Hümik asitle sentezlenen gümüş nanoplakaların sonuçları Şekil 2'de gösterilmektedir. Bu çalışmanın sonuçları, gümüş nanoyapıların sentezi için indirgeme ve kapatma maddesi olarak kullanılan hümik asit çözeltisinin özelliklerini göstermektedir. Bu nanoplakalar nispeten yüksek yüzey alanına ve yaklaşık 41 nm kalınlığa sahipti. Yaklaşık 45803874.649 gümüş atomu

Tablo 1: Mangrov tortularından türetilen hümkik asitler için ¹³C CPMAS NMR bantlarının atamaları ve bantların görelî alanlarına dayalı C dağılımı (%).

Kimyasal Kayma Aralığı δ değerleri (ppm)	Çıkarım: Karbon türleri	Bağıl C %
0-45	Karbon türleri 0-45	30,13
45-65	Karbon ve oksijen atomuna bağlı ve anomerik C	15,41
65-90	Alkil karbon ve oksijen atomuna bağlı ve anomerik C	9,9
95-145	Alkil karbon ve oksijen atomuna bağlı ve anomerik C	31,53
145-160	Alkil karbon ve oksijen atomuna bağlı ve anomerik C	6,01
160-190	Alkil karbon ve oksijen atomuna bağlı ve anomerik C	7,02



Şekil 3: Gümüş nanoplakaların, Trypan mavi dışlama testi kullanılarak hücre canlılığı üzerindeki doza bağlı etkisi. Veriler, üçlü deneylerin ortalamasının ortalama \pm standart hatasını temsil eder.

HAgNp19 başına mevcuttu . HAgNp'nin DLA'nın yaşayabilirliği üzerindeki etkisi, Tripan mavisi dışlaması kullanılarak değerlendirildi. HAgNp'nin, Şekil 3'te gösterildiği gibi, DLA hücrelerinin canlılığını doza bağlı bir şekilde azalttığı gösterilmiştir. İnkübasyondan sonra, gümüş nanoplakaların bu habis hücrelere karşı 1 nM ve daha yüksek dozlarda sitotoksik olduğu bulundu. 10 nM'deki gümüş nanoplakalar, DLA hücrelerinin yaşayabilirliğini başlangıç değerinin yaklaşık %42'sine düşürdü ve IC50 olarak seçildi. Klinik araştırmalar hümkik asidin plütinyumun %95'ini uzaklaştırabildiğini ve canlı hücrelere verilen radyasyon dozunu 20 azaltarak iyonlaştırıcı radyasyonun neden olduğu lenfoma riskini azalttığını göstermiştir²¹ . Kortikal timus tabakasındaki lenfositlerin proliferasyonunu ve bunların lenf düğümü ve dalağın timus bağımlı bölgelerine göçünü etkili bir şekilde düzenlerler²². Kan, kemik iliği ve dalaktaki lenfosit sayısının hızla yenilenmesine yönelik bu yardım, γ - radyasyona maruz kalmanın neden olduğu maligniteleri azaltabilir²³ . Mutajenik bileşiklerin özellikle klorlu içme suları yoluyla tüketilmesi de lenfomaların diğer bir nedenidir ve yaş, cinsiyet ve sosyal sınıftan bağımsız olarak riski 1-1,3 oranında artırır²⁴ . Mutajenik kontamine sudan kaynaklanan bu risk hümkik asitlerle etkili bir şekilde azaltılabilir. Hümkik asitlerin mutajenleri adsorbe ederek mutajeniteyi azaltma potansiyeli, Sato ve çalışma arkadaşları tarafından deneysel olarak kanıtlanmıştır. Benzo[a]piren, 2 aminoantrasen, 2-nitro gibi mutajenleri etkili bir şekilde uzaklaştırdılar.

hümkik asit²⁵ ile floren ve 1-nitropiren . Hümkik asidin potasyum tuzunun, Nazal eozinofil sayısını modüle etme potansiyeline sahip olduğu gösterilmiştir²⁶. Bu gözlem, hümkik asitlerin, lenfoblastik lösemi²⁷ gibi eozinofili ile ilişkili lenfoid malignitelerin tedavisinde de uygulama bulabileceğini düşündürmektedir . Malign lenfomanın ilerlemesini etkileyen diğer bir kritik bileşen, neoplastik süreci düzenleyebilen, proliferasyonu besleyen, varlığını sürdüren ve yerini değiştiren enfeksiyonlardan ve kronik enflamasyondan kaynaklanan enflamasyondur²⁸ . Örneğin, dalakta mukoza ile ilişkili lenfoid doku lenfoması ve foliküler lenfoma oluşumunun, sırasıyla kronik Helicobacter enfeksiyonu²⁹⁻³² ve parazit enfeksiyonu³³ olan kişilerde arttığı görülmektedir . Toksikite çalışmaları, hümkik asidin kutanöz enflamasyonu azaltma potansiyelini kanıtlamıştır ve bunların anti-inflamatuar potansiyeli, %1 dikofen sodyum ve %0.1 betametazon³⁴ ile karşılaştırılabilir olup, enflamasyonun neden olduğu lenfomayı baskılama potansiyellerini vurgulamaktadır. Hümkik asitlerin varlığında, hayvanlarda ve insanlarda virüs³⁵ ekspresyonu ve patojenlerin aktivitesi³⁶ baskılanır. Bu, hümkik asitlerin bu mikropların protein ve enzim aktiviteleri ile kovalent olmayan etkileşimlerinin doğrudan bir sonucudur.

Ayrıca bunlar tarafından salınan toksinlerin aktiviteleri, hümkik asit tarafından iyonik bağ oluşumu ile nötralize edilir. Hümkik asit molekülünde polifenolik grupların varlığı, spesifik olmayan direnci ve bağışıklığı uyandırır^{37,38} . DLA proliferasyonunu baskılama potansiyeli ile birlikte hümkik asitlerin bu özellikleri, HAgNp1 kullanılarak Epstein-Barr virüsünün³⁹ neden olduğu B hücreli Hodgkin olmayan lenfoma ve HIV40'ın neden olduğu Hodgkin olmayan lenfoma içeren tedavilerin geliştirilmesi olasılığını vurgulamaktadır . Bu gözlemler, hümkik asit ve ürünlerinin alg ve mangrov ekosistemlerinden izole edilen sterollere benzer güvenli terapötik potansiyelini kümülatif olarak vurgulamaktadır⁴¹⁻⁴³ . Bu araştırmada gözlemlenen, DLA hücrelerini bastırmak için HAgNp'nin güçlü potansiyeli ile birleştirilmiş biyoaktif hümkik asit prospektifi, lenfoma kanserinden muzdarip hastaları herhangi bir yan etki olmaksızın başarılı bir şekilde tedavi etmek için gelişen tedavi yöntemlerindeki rollerinin önemini vurgulamaktadır. Bununla birlikte, hümkik asitle sentezlenen gümüş nanoplakaların bu habis hücreleri baskılama mekanizmasını tanımak için daha ileri moleküler düzeyde araştırmalara ihtiyaç vardır. Bu bilgiler, tedavi yöntemlerinde işbirliği yapmadan önce test örneğinin gen ifadeleri ve ürünleri üzerindeki toplu sonucunu tahmin etmek için gerekli olduğundan.

ÇÖZÜM

Şimdiye kadar, hümitik asidin lenfoma kanserine karşı sitotoksik potansiyeline ilişkin bir veri bulunmamaktadır. Özetlemek gerekirse, mevcut araştırma, Dalton lenfoma asidine karşı hümitik asitle sentezlenmiş gümüş nanoplakaların ilk sentezini, karakterizasyonunu ve sitotoksitesini belgelemiştir. Mevcut araştırmada kullanılan hümitik asidin bileşimi, katı hal C-13 NMR kullanılarak elde edildi.

Toplu olarak, sonucumuz hümitik asitle sentezlenmiş gümüş nanoplakaların üstün sitotoksik potansiyele sahip olduğunu ve kanseri tedavi etmek için hümitik asitle sentezlenmiş gümüş nanoplakaların uygulanması için gelecekte kapsamlı inceleme için geniş bir olasılık olduğunu göstermektedir.

TEŞEKKÜR Yazarlar sitotoksitesite

çalışması yaptıkları için Amala Kanser Araştırma merkezi Thrissur'a, C-13 CPMAS Katı Hal NMR araştırması için Merkezi NMR tesisi Ulusal Kimya Laboratuvarı, Pune'a ve SEM analizi için Sofistike Test ve Enstrümantasyon Merkezi, Cochin'e müteşekkirdir.

REFERANS 1.

Yezhelyev MV, Gao X, Xing Y, Hajj AA, Nie S, Regan RMO. Meme kanseri tanı ve tedavisinde nanopartiküllerin kullanımı artıyor. *Lancet Onkoloji* 2006; 7: 657-667.

- Wagner V, Dullaart A, Bock AK, Zweck A. Gelişmekte olan nanotıp ortamı. *Doğa Biyoteknoloji* 2006; 24:1211-1217.
- Klasen HJ. Yanıkların tedavisinde gümüş kullanımının tarihsel olarak gözden geçirilmesi. I. Erken kullanımlar. *Yanıklar* 2000; 26:117-130.
- Silver S, Phung LT, Silver G. Yanık ve yara pansumanlarında biyositler olarak gümüş ve gümüş bileşiklerine karşı bakteriyel direnç. *Dergi Endüstriyel Mikrobiyoloji ve Biyoteknoloji* 2006; 33:627-634.
- Peter KP, Manu N, Chacko J, Nair SM. Deniz hümitik asidinden gümüş nanoparçacıkların ve kendi kendine birleşen supramoleküllerin sentezi. *Deneysel Nanobilim Dergisi* 2014; 9(7):719-727.
- Prashob PK, Nair SM. Yüksek verimli bir kıyı bölgesinin tortullarından hümitik asitlerin yapısal özelliklerinin oluşumu. *Jeokimyasal Dergi* 2014; 48(3): .247-258.
- Schepetkin I, Khlebnikov A, Kwon BS. Humus maddesinden tıbbi ilaçlar: mummyya odaklanın. *İlaç Geliştirme Araştırması* 2002; 57(3): 140-159.
- Jung CR, Schepetkin IA, Woo SB, Khlebnikov AI, Kwon BS. Mezenkimal kök hücrelerin Mumie özü ile osteoblastik farklılaşması. *İlaç Geliştirme Araştırması* 2002; 57(3): 122-133.
- Gau RJ, Yang HL, Chow SN, Suen JL, Lu FJ. Hümitik asit, NF κB aktivasyonunun inhibisyonu yoluyla hücre yüzeyi adezyon proteinlerinin LPS kaynaklı ifadesini baskılar. *Toksikoloji ve uygulamalı farmakoloji* 2000; 166(1): 59-67.

- Carrasco-Gallardo C, Guzmán L, Maccioni RB. Shilajit: potansiyel prokognitif aktiviteye sahip doğal bir fitokompleks. *Uluslararası Alzheimer Hastalığı Dergisi* 2012.
- Ismailova M. Erken çocukluk döneminde enfeksiyöz hepatitin seyrine özgü özellikler. *Sorular Okhrany Annelik I Çocukluk* 1965; 10(10): 8-10.
- Şakirov A.Ş. Mumya tedavisi ile kemik kırığı odağında radyoaktif fosfor 32P alımı . *Özbekistan Tıp Dergisi* 1965; 10: 30-33.
- Anisimov VE, Shakiryanova RM. Mumyanın terapötik uygulamada uygulanması. *Kazanskii Meditsinskii Zhurnal* 1982; 63: 65-68.
- Ghosal S, Singh SK, Kumar Y, Srivastava R, Goel RK, Dey R, Bhattacharya SK. Shilajit'ten izole edilen fulvik asitlerin ve 4'-metoksi-6-karbometoksibifenilin anti-ülserojenik aktivitesi. *Fitoterapi Araştırması* 1988; 2(4): 187-191.
- Bhaumik S, Chattopadhyay S, Ghosal S. Shilajit'in peritoneal makrofajlar üzerindeki etkisi. *Fitoterapi Araştırması* 1993; 7(6): 425-427.
- Malcolm RL, Aiken GR, Bowles EC, Malcolm JD. Suwannee Nehri'nden fulvik ve hümitik asitlerin izolasyonu. İçinde: Suwannee Nehri'ndeki Humik Maddeler, Georgia: Etkileşimler, Özellikler ve Önerilen Yapılar. Açık Dosya Raporu 1989. 17. dos Santos DS Jr., Alvarez-Puebla RA, Oliveira ON Jr., Aroca RF. Fulvik asit koloidal çözeltilerinde altın nanopartiküllerin boyutunun ve şeklinin kontrol edilmesi ve bunların SERS kullanılarak optik karakterizasyonu. *Malzeme Kimyası Dergisi* 2005; 15 (29): 3045-3049.
- Bauer M, Heitmann T, Macalady DL, Blodau C. Turbada Çözünmüş Organik Maddenin Elektron Transfer Kapasiteleri ve Reaksiyon Kinetiği. *Çevre Bilimi ve Teknolojisi* 2007; 41(1): 139-145. [PubMed]
- Marquis BJ, Love SA, Braun KL, Haynes CL. Nanoparçacık toksitesini değerlendirmek için analitik yöntemler. *Analist* 2009; 134(3): 425-439.
- Pukhova GG, Druzhina NA, Stepchenko LM, Chebotarev EE. Ölümcül dozlarla ışınlanmış hayvanlarda sodyum humatin etkisi. *Radyobioloji* 1987; 27(5): 650-653.
- Hartge P, Smith MT. Çevresel ve davranışsal faktörler ve non-Hodgkin lenfoma riski. *Kanser Salgını Biyobelirteçleri ve Önleme* 2007; 16(3):367-368.
- Agzamov RA, AS, Vakhidova GA. Tüberküloz tedavisinde patogenetik bir ajan olarak Mumie. *Sorunlu Tüberküloz* 1988; 7:49-52.
- Rogozkin VD, Tukhtaev T. Akut radyasyon hastalığında müstahzar muminin lenfopoez üzerindeki etkisi. *Deneysel Biyoloji ve Tıp Bülteni* 1968; 65(1): 101-102.
- Koivusalo M, Vartiainen T, Hakulinen T, Pukkala E, Jaakkola JJ. İçme suyu mutajenitesi ve lösemi, lenfomalar ve karaciğer, pankreas ve yumuşak doku kanserleri. *Çevre Sağlığı Arşivleri: Uluslararası Bir Dergi* 1995; 50(4): 269-276.

25. Sato T, Ose Y, Nagase H, Hayase K. Hüyük asidin desmutajenik etkisinin mekanizması. Mutasyon Araştırması/Mutagenезin Temel ve Moleküler Mekanizmaları 1987; 176(2): 199-204.
26. Gandy JJ, Meeding JP, Snyman JR, van Rensburg CEJ. Alerjik rinit tedavisinde potasyum humatın klinik etkinliği: çift kör plasebo kontrollü çalışma. İlaç Geliştirme Araştırması 2010; 71(6): 358-363.
27. Spitzer G, Garson OM. Belirgin eozinofili ile lenfoblastik lösemi: iki vaka raporu. Kan 1973; 42(3): 377-384.
28. Coussens LM, Werb Z. Enflamasyon ve kanser. Doğa 2002; 420(6917): 860-867.
- [PubMed] 29. Wotherspoon AC, Ortiz-Hidalgo C, Falzon MR, Isaacson PG. Helicobacter pylori ile ilişkili gastrit ve birincil B hücreli gastrik lenfoma. Lancet 1991; 338(8776): 1175-1176.
30. Bayerdörffer E, Rudolph B, Neubauer A, Thiede C, Lehn N, Eidt S, Stolte M. Malt Lyphoma Study Group. Helicobacter pylori enfeksiyonunun iyileřtirilmesinden sonra mukoza ile ilişkili lenfoid doku tipindeki primer gastrik lenfomanın gerilemesi. Lancet 1995; 345(8965): 1591-1594.
31. Parsonnet J, Hansen S, Rodriguez L, Gelb AB, Warnke RA, Jellum E, Orentreich N, Vogelman JH, Friedman GD. Helicobacter pylori enfeksiyonu ve gastrik lenfoma. New England Tıp Dergisi 1994; 330(18): 1267-1271.
32. Shacter E, Weitzman SA. Kronik inflamasyon ve kanser. Onkoloji 2002; 16(2): 217-226.
33. Andrade ZA, Abreu WN. Hepatosplenik Schistosomiasismanson hastalarında enfeksiyonlu lenfoma. J Clin Oncol 2011; 29(11): 1507-1511.
34. Jooné GK, van Rensburg CEJ. Potasyum humatın anti-inflamatuar özelliklerinin in vitro araştırılması. Enflamasyon 2004; 28(3): 169-174.
35. Van Rensburg, CEJ, Dekker J, Weis R, Smith TL, Janse van Rensburg E. Schneider J. Oksihumatın anti-HIV özelliklerinin araştırılması. Kemoterapi 2002; 48(3): 138-143.
36. Dekker J, Medlen CE, Enerkom (Tescilli) Limited. Fulvik asit ve çeşitli durumların tedavisinde kullanımı. ABD Patenti 6,569,900. 2003.
37. Kaul A, Khanduja L. Polifenoller, tümör oluşumunun tanıtım fazını inhibe eder: süperoksit radikallerinin alaka düzeyi. Beslenme ve Kanser 1998; 32:81-85.
38. Jooné GK, Dekker J. Jansen van Rensburg CE. Oksihumatın immün sistemi uyarıcı özelliklerinin araştırılması. C 2003 Dergisi; 58(3-4): 263-267. doğal araştırma
39. Shibata D, Weiss LM, Hernandez AM, Nathwani BN, Bernstein L, Levine AM. İnsan immün yetmezlik virüsü ile enfekte hastalarda Epstein-Barr virüsü ile ilişkili Hodgkin dışı lenfoma. Kan 1993; 81(8): 2102-2109.
- [PubMed] 40. Kaplan LD, Abrams DI, Feigal E, McGrath M, Kahn J, Neville P, Ziegler J. Volberding PA. San Francisco'da AIDS ile ilişkili non-Hodgkin lenfoma. İnsanlar 1989; 261(5): 719-724.
41. Kala KJ, Prashob PKJ, Chandramohanakumar N. Turbinaria conoides'den izole edilen fukosterolün Dalton Lenfoma Asitlerine karşı sitotoksik potansiyeli. Uluslararası Farmakognozi ve Fitokimyasal Araştırmalar Dergisi 2015; 7(6): 1217-1221.
42. Anitta T, Prashob PKJ, Chandramohanakumar N. Mangrov eğreltiotu Acrostihum aureum'daki sterollerin anti-tümör potansiyelinin bir profili. Uluslararası Farmakognozi ve Fitokimyasal Araştırmalar Dergisi 2016; 8(11): 1828-1832.
43. Kala KJ, Prashob PKJ, Chandramohanakumar N. Turbinaria conoides'den izole edilen fucoidan tarafından sentezlenen gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal potansiyelinin analizi . Uluslararası Farmakognozi ve Fitokimyasal Araştırmalar Dergisi 2016; (Basında).