

Madde

Humik Bazlı Polielektrolitlerin Nanodağılımları Maddeler: İzolasyon, Fiziko-Kimyasal Karakterizasyon ve Biyolojik Aktivitenin Değerlendirilmesi

Elena V. Uspenskaya ^{1*}, Anton V. Syroeshkin ¹, Tatyana V. Pleteneva ¹, İlâha V. Kazımova ¹,
Tatiana V. Grebennikova ², Irina T. Fedyakina ², Varvara V. Lebedeva ², Oleg E. Latyshev ², Olesia V. Eliseeva ²,
Viktor F. Larichev ², Timur M. Garaev ¹, Tatiana V. Maximova ¹, Mariya A. Morozova ¹ ve Pham My Hanh ¹

¹ Farmasötik ve Toksikolojik Kimya Bölümü, Tıp Enstitüsü, RUDN Üniversitesi, 6 Miklukho-Maklaya Caddesi, 117198 Moskova, Rusya; syroeshkin_av@pfur.ru (AVS); pleteneva_tv@pfur.ru (TVP); kazimova.ilaha96@gmail.com (İVK); maximtat@mail.ru (TVM); morozova-ma@rudn.ru (MAM); gaubu27@gmail.com (PMH)

² Fahri Akademisyen NF'nin Adını Alan Ulusal Epidemiyoloji ve Mikrobiyoloji Araştırma Merkezi Gamaleya, 18 Gamaleya St., 123098 Moskova, Rusya; t_grebennikova@mail.ru (TVG); irfed2@mail.ru (ITF); Lebedevavv@ya.ru (VVL); oleglat80@mail.ru (OEL); olesenka80@mail.ru (OVE); vlaritchev@mail.ru (VFL); tmgaraev@gmail.com (TMG)

* Yazışma: uspenskaya75@mail.ru; Tel.: +7-916-655-79-86



Alıntı: Uspenskaya, EV; Syroeshkin, AV; Pleteneva, TV; Kazımova, IV; Grebennikova, TV; Fedyakina, BT; Lebedeva, VV; Latyshev, OE; Eliseeva, OV; Larichev, VF; et al. Humik Bazlı Polielektrolitlerin Nanodağılımları

Maddeler: İzolasyon, Fiziko-Kimyasal Karakterizasyon ve Biyolojik Aktivitenin Değerlendirilmesi. Eczacılık 2021, 13, 1954. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13111954>

Akademik Editör: Maria Nowakowska

Geliş tarihi: 28 Ekim 2021

Kabul tarihi: 16 Kasım 2021

Yayın tarihi: 18 Kasım 2021

Yayıncının Notu: MDPI, yayınlanan haritalardaki ve kurumsal bağlantılardaki yetki iddiaları konusunda tarafsız kalır ilişkiler.



Telif hakkı: © 2021 yazarlara aittir.

Lisans Sahibi MDPI, Basel, İsviçre.

Bu makale açık erişimli bir makaledir

şartlar altında dağıtılır ve

Creative Commons koşulları

Atıf (CC BY) lisansı (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Özet: Kolloidal parçacıklar içeren kompleksler dahil olmak üzere doğal polielektrolitler, tıbbi maddelerin kontrollü bağlanma olasılığı ve bunların hedef organa hedeflenen teslimi nedeniyle eczanede giderek daha fazla kullanılmaktadır. Bununla birlikte, polielektrolit nanodispersiyonların (ND) oluşumu, stabilitesi ve moleküler kütle özellikleri, menşee ortamının doğasına ve bileşimine bağlı olarak değişir. Bunun nedeni, çoğu doğal ND için kalite kontrolüne ve düzenleyici belgelere yönelik standartlaştırılmış yaklaşımların olmamasıdır. Bu yazıda, önce izolasyonu tanıttık, ardından fiziko-kimyasal özellikleri ve biyoaktiviteleri üzerine araştırmalar yaptık. Kurutulmuş damlacık yöntemini kullanarak "kahve halkası etkisini" tespit edebildik. SEM kullanılarak EHA ve FA ile kurutulmuş numunelerin yüzey yapısının fraktografik çalışmaları, bunun heterojenliğini ve polielektrolitin iç moleküler boşluklarında kapsüllenmiş mikron altı parçacıkların varlığını gösterdi. FTIR spektroskopisi, nanopartiküller ve dallanmış bir çerçeve parçasından oluşan benzo- α -piron ve benzo- γ -pironun ND kimyasal yapısını ortaya çıkardı. Hümkik madde ekstraktı ve fulvik asitte X-ışını floresansı ile tespit edilen ana elementler arasında Si, P, S, K, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn bulunurken, Fe yüksek konsantrasyonlardadır. UV spektrumları ve flüoresan radyasyon, fulvat kromon yapısının optik özellikleri üzerindeki etkisini inceleme olasılığını gösterdi. Polielektrolitlerin başlangıç çözeltilerinin 1:10 oranında seyreltilmesinin, daha küçük nanoparçacıkların saptanmasına ve ND stabilitesinin bir faktörü olarak negatif ζ -potansiyelinin mutlak değerinde bir artışa katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Vero E6 hücreesindeki SARS-CoV-2 virüsü enfeksiyöz titresi üzerindeki EHS etkisine ilişkin bir çalışma, hem virüsidal şemada (SI 11,90–22,43) hem de tedavi/önleme şemasında (SI 34,85–) virüse karşı etkili olduğunu gösterdi. 57.33). Polielektrolit ND'nin, koronavirüs başak glikoproteininin reseptöre bağlanmasını önlediğini varsayıyoruz. Elde edilen sonuçları göz önünde bulundurarak, geliştirilen yaklaşımın, antiviral aktiviteye sahip bir ilaç olarak eczane ve tıpta kullanım için büyük umutları olan ND doğal polielektrolit kompleksinin standardizasyonu için birleştirilebileceğini umuyoruz.

Anahtar Kelimeler: polielektrolitler; nano dağılım; hümkik ve fulvik asitler; kurutulmuş damla yöntemi; parçacık boyutu ölçümü; zeta potansiyeli; polidispersite antiviral aktivite; VERO-E6

1. Giriş

Nanodağılımlar (ND), 0.1–150 nm boyutunda parçacıklar ve ag glomeratlar içeren nanoparçacık-sıvı sistemlerdir [1]. Doğal polielektrolitler, doğal ortamda yenilenme yeteneklerinden dolayı farmasötik ürünlerin geliştirilmesi için eşsiz bir hammadedir.

koşullar ve çevre güvenliği [2]. Biyomedikal alanlarda kullanılan en önemli doğal polielektrolitler arasında polisakkaritler (alg polisakkaritler, pektinler), proteinler (kollajen, jelatin, beyaz kan ürünleri, lektinler) ve doğal polyesterler bulunur [3-9]. Sentetik organik ve inorganik biyobozunur polielektrolitlerin örnekleri—bir deneysel adjuvan sınıfı—Azoksimer bromür (Polioksidonyum), Polifosfazener (PPHO'lar) [10-16]. Biyomedikal amaçlar için polimer bileşimlerin kullanılma oranındaki artış, yalnızca yeni polimer im fabrikalarına, kontrollü ilaç verme yöntemlerine (kontrollü salım sistemleri) yönelik artan ihtiyaçla değil, aynı zamanda pahalı matrislerin ekonomik olarak daha uygun olanlarla değiştirilmesiyle de kolaylaştırılmaktadır. olanlar [17]. Polimer ürünleri ve tıbbi preparasyonlar , diğer biyomalzeme gruplarının özelliği olmayan tatmin edici mekanik özelliklere, gelişmiş çözünme özelliklerine, şişme kabiliyetine ve sorpsiyon özelliklerine sahiptir [18-21]. Tıbbi ve biyolojik amaçlar için çoğu polielektrolit materyalin geliştirilmesi, araştırılması ve üretimi GMP standardı [22] tarafından düzenlenir . Polielektrolitlerin ve bunlara dayanan komplekslerin dezavantajı , geniş arayüz yüzeyi ve Gibbs yüzey enerjisinin aşırı değeri nedeniyle tatmin edici olmayan nispi agrega stabilitesidir (AS) . Polielektrolitlerin sulu dispersiyonunun ortalama partikül boyutunun kontrolü , sistemlerin nispi agrega stabilitesinde bir artışa katkıda bulunur [26,27]. Boyutları (yaklaşık 100 nm), hücrelerin boyutu (10-100 µm), virüsler (20-450 nm), proteinler (5-50 nm), nanoparçacıklar (koloidal parçacıklar) ile karşılaştırılabilir boyutlarından dolayı, boyutları biyolojik nesne, onunla etkileşime girebilir ve bağlanabilir [28,29]. Bu bağlamda, tıbbi maddelerin taşıyıcılarını elde ederken , örneğin, elektrostatik olarak tamamlayıcı yüzey aktif maddelerle kendi kendini organize eden polielektrolit nanopartikülleri oluştururken, araştırmacıların dikkati şuraya yönlendirilir : taşıyıcı parçacıkların boyutsal özellikleri ve bunların stabilizasyonu için gereksinimler [30-32]. ND'yi stabilize etmek için , parçacıkların birbirine yapışmasını önleyen yapısal-mekanik bir bariyer oluşumu ile nanoparçacıkların yüzeyinde adsorbe edilen doğal veya sentetik polimer

Yazarlar [34,35] , hümkik maddelere dayalı olarak tıbbi ve biyolojik amaçlar için ND elde etme olasılığını öne sürmüşlerdir . Hümkik maddeler, bitki ve mikrobiyal kalıntıların bozunması ve dönüştürülmesi (humifikasyon) sırasında biyokimyasal reaksiyonlar sonucunda topraklarda, tortullarda ve doğal sularda oluşan karmaşık, heterojen, çok dağılımlı karışımlardır [36]. [37]'ye göre , çok işlevli bileşikler olarak hümkik maddelerin yapısı, nemlendirme işlemlerinin stokastik doğası ile açıklanan sabit bir kimyasal bileşime sahip değildir [38]. Farklı moleküler ağırlıklardaki hümkik maddelerin molekülleri, bir supramoleküler hümkik yapıyı bağlayabilir ve oluşturabilir; agregasyon derecesi çözeltinin pH'ına, iyonik gücüne ve mineral bileşimine bağlıdır [39]. Hümkik maddeler yapılarında karboksil, hidroksil (alkol, fenolik) gibi negatif yüklü taneciklerin oluşumu ile ayrışabilen polar fonksiyonel gruplar içerdiklerinden anyonik polielektrolitler sınıfına girerler . Hümkik maddelerin metalleri tıkama kabiliyeti , bitki metabolizmasının yanı sıra biyolojik olarak kullanılabilir formlardaki çözeltilerindeki mikro besinlerin içeriğini belirler . Son yıllarda, insan immün yetmezlik virüsü HIV-1 [40], influenza virüsü [41], herpes simpleks virüsü-1 (HSV-1) [42]'ye karşı HS ve FA'nın farmakolojik aktivitesine ilişkin çalışmalar hakkında çok sayıda yayın çıkmıştır. kene kaynaklı ensefalit virüsü (TBEV) [43], bakteri *Enterococcus faecalis* ve *Klebsiella pneumoniae* [44] ve fitopatogenik mantarlar [45]. Yazarlar hümkik asitlerin fulvik asitlere göre çok daha yüksek aktivite gösterdiğini gösterdiler: HA > HMA > FA ve hümkik asit salınımının kaynağına bağımlılık: kömür > peloid > turba. Aktif bileşenlerin - alifatik fragmanların (HA için) ve COOH, OH fragmanlarının (FA için) , HA'ların ve FA'ların fitopatogenik mantarlara karşı inhibisyon oranları ile pozitif bir korelasyon belirleyen önemli rolü tartışılmıştır [46]. Gözden geçirme yayınları , SARS CoV-2 virüsünün virüs zarf proteini üzerinde sorpsiyon yoluyla replikasyonunu önlemede HS ve FA etkisinin olası mekanizmalarını açıklamaktadır , böylece viral partiküllerin hücre yüzeyinde emilimini bloke etmektedir [47]. Burada şu anda net ve net ola

SARS CoV-2'nin tedavisinde sürekli faydalar sağlanıyor, ancak farklı ülkelerde devam eden çok sayıda çalışma, HS'nin semptomları azaltabileceğini düşündürüyor.

Tüm bu veriler, ilaç endüstrisi için doğal polielektrolitlere dayalı yeni biyolojik olarak aktif maddelerin oluşturulması için ön koşullar oluşturmaktadır. Bu çalışmada, doğal polielektrolitlerin fiziko-kimyasal özelliklerinin izolasyonu ve incelenmesine yönelik yaklaşımlar geliştirmeye çalıştık. Bu yazıda, önce izolasyonu tanıttık, ardından fizikokimyasal özellikleri ve biyoaktiviteleri incelendi. Diğerlerinin yanı sıra hümik maddeler nanodağılımlarının virüsidal aktivitesinin incelenmesi de dahil olmak üzere geliştirilen protokolün, gelecek vaat eden bir ilaç geliştirmek için uygun fiyatlı ve düşük toksik doğal bir polimere dayalı bir farmasötik ürünün etkinliğini, güvenliğini ve genel kalitesini artırmasını bekliyoruz.

2. Gereç ve Yöntemler 2.1.

Reaktifler 2.1.1. EHS ve FA

Örnekleri VimaVita Company

(Sistema-Biotechnologies, Moskova, Rusya Federasyonu) teknolojisi kullanılarak alçak turba, sapropel ve bazı linyit kömürü (leonardit) çeşitlerinden izole edilen doğal bir hümik-fulvik asit kompleksi. Hümik asitler (HA), himatomelanik asitler (HMC), fulvik asitler (FA) ve hümik maddelerin yapısal analoglarını içeren hümik asit konsantresi, lignin içeren ham maddelerin oksidatif-hidrolik imha yöntemiyle (katı faz fermentasyonu) elde edildi. saflaştırma [48]. Yüksek yoğunluklu akustik temizlemenin bir sonucu olarak, araştırma için koyu kahverengi renkli hümik maddelerden oluşan konsantre bir viskoz koloidal dağılım sistemi elde edildi (pH = 7.98 ± 0.1).

Fulvik asit ekstraktı (Terra Aquatica, Paris, Fransa), sıvı, şeffaf kahverengi bir çözelti formunda, özel bir tür linyit kömürü-leonarditten (pH = 5.77 ± 0,1) ekstraksiyonla elde edilir. H₂S ve FA'nın fiziko-kimyasal özelliklerini incelemek için başlangıç konsantrasyonunun sulu çözeltileri hazırlandı. Hümik madde fraksiyonlarının tüm çözeltileri +4 °C'de saklandı. Vero ile in vitro çalışma için test numuneleri besiyerinde (DMEM + glutamin (292 µg mL⁻¹) (Capricorn Scientific GmbH, Ebsdorfergrund, Almanya) + penisilin/streptomisin (50 birim/mL/50 µg mL⁻¹) + inaktive fetal sıgır serumu, %2 (FBS) (Biosera, Kansas City, MO, ABD) 1/800'lük bir nihai dilüsyon elde etmek için EHS maddesinin tamamen buharlaşmasından sonra kuru toplam kalıntı 7,34 10⁻² g mL⁻¹, 1 buna karşılık olarak elde edilen ilk konsantrasyon 0,091 mg/mL idi. Daha sonra, maddenin viral süspansiyonla karıştırıldığında test plakasının kuyularındaki art arda iki kat seyreltilmesiyle 0,091–0,003 mg mL⁻¹lik bir konsantrasyon elde edildi.

2.1.2. Vero-E6 Hücre Kültürü

Çalışma, Afrika yeşil maymunu (*Chlorocebus aethiops*) Vero-E6'nın sınırlı bir böbrek hücre dizisi üzerinde gerçekleştirildi. Sırasıyla %10 ve %2 FBS içeren glutamin ve gentamisin (50 µg mL⁻¹) içeren MEM ortamı, büyüyen hücreler için büyüme ortamı (GM) ve reaksiyon oluşturmak için destekleyici ortam (SM) olarak kullanıldı. Vero-E6 hücreleri, %5 CO₂ içeren bir atmosferde 37 °C'de 24 saat boyunca 100 µL GM hacminde 96 oyuklu plakalarda kültürlendi. Aşılama dozu, 18.000 hücre/kuyu idi.

2.1.3. Virüs

Çalışma, 107,5 TCID₅₀/mL bulaşıcılığa sahip SARS-CoV-2 insan koronavirüsü, pasaj 3'ü kullandı. Suş açıklaması: hCoV-19/Russia/Moscow-PMVL-12/2020 (EPI_ISL_572398) GİSAD: PMVL-12. Ayırma referansı EPL_ISL_572398.

2.1.4. Hidroksiklorokin Sülfat (HDR)

HDR (2-[[4-[(7-Kloro-4-kinolinil)amino]pentil]etilamino]jetanol sülfat) bir antienflamatuar, antimalarial ve antiromatizmal ajan, Toll benzeri reseptör 9'u inhibe eder—piyasada mevcut madde (safılık > 99) % Promochem, Oulu, Finlandiya). Referans ilaç olarak kullanıldı. HDR, 0,013 ve 0,04 mg mL⁻¹ test konsantrasyonlarına göre aynı ortamda çözüldü.

2.2. Kolloidal Nanodağılımların Buharlaştırılması-Kurutulmuş Damlacık Yöntemi (DDM)

Polimer-kolloidal polielektrolitleri incelemek için, kolloidlerin buharlaştırılması ve ısı işleminden sonra tortul yapılar elde edildi. DDM, analitik kimyada yaygın olarak kullanılan bir numune ön işlemidir ve substrat üzerine bir damla solüsyon damlatmayı ve analitik test için kurutmayı içerir. Belirleme gereksinimlere göre yapılmıştır [49]. Bu amaçla, önceden kurutulmuş ve sabit ağırlığa getirilen test edilen sıvı maddenin doğru bir şekilde ölçülen ağırlığı bir buharlaştırma kabına (porselen) yerleştirildi. Kurutma, 105 ± 5 °C'de 6 saat boyunca, tüm kullanılabilir oda hacminin tekdüze ısı işlemi sağlayan bir kurutma fırını BINDER FD'de (Hielkema Testequipment BV, Tuttlingen, Almanya) gerçekleştirildi [50]. Numune kabı fırından çıkarılarak ve oda sıcaklığında desikatörde 30 dakika soğumaya bırakılarak saatte bir numune kabının ağırlığı belirlenmiş ve kaydedilmiştir. Kurutma kaybı (%) aşağıdaki denkleme göre hesaplanmıştır:

$$= \text{inde} \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \%100, \quad (1)$$

burada m_1 , sabit bir ağırlığa (g) getirilen ölçüm kabının ağırlığıdır; m_2 , test edilen numuneyi içeren ölçüm kabının kurutmadan önceki ağırlığıdır (g); m_3 , kuruduktan sonra test edilen numuneyi içeren ölçüm kabının ağırlığıdır (g).

2.3. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

Polielektrolit parçacıklarının morfolojisi, maksimum 1 nm çözünürlüğe ve maksimum 1.000.000 artışa sahip bir Schottky katotlu dördüncü nesil taramalı elektron mikroskobu Mira 3 (Tescan, Brno, Çek Cumhuriyeti) kullanılarak karakterize edildi. Sabit bir kütleye kurutulan EHS ve FA numuneleri boşaltıldı ve çift taraflı iletken bir karbon bant üzerinde SEM odasındaki masalara sabitlendi. "Yükleme" etkisi, toz numunelerin yüzeyine ince bir iletken malzeme olan karbon püskürtülerek gerçekleştirildi [51].

2.4. Fourier Dönüşümü Kızılötesi (FT-IR)

Spektroskopisi 4000 ila 750 cm^{-1} spektral aralıkta EHS ve FA numunelerinin titreşim spektrumlarını elde etmek ve analiz etmek için Cary 630 FTIR Fourier Transform IR (FT-IR) spektrometresi kullanılmıştır [52]. Spektrum kaydı için numune hazırlama (kurutmadan sonra katı kalıntı) gereksinimler [53] izlenerek gerçekleştirildi . Bunun için, yaklaşık 1 mg kuru tortu, 400 mg dikkatlice öğütülmüş ve kurutulmuş potasyum bromür ile homojen hale gelene kadar toz haline getirildi ve uygun yoğunlukta bir spektruma sahip olmak üzere yaklaşık 13 mm'lik bir disk çapı elde etmek için 3-5 dakika sıkıştırıldı.

2.5. X-ışını Floresan (XRF)

PCEDX-Navi yazılım paketi (Shimadzu Europa GmbH, Duisburg, Almanya) ile donatılmış termoelektrik soğutmalı bir silikon sürüklenme detektörüne dayalı bir enerji dağılımlı X-ışını floresans spektrometresi (EDX-7000P, Shimadzu Europa GmbH, Duisburg, Almanya) kullanıldı. toz ve sıvı EHS ve FA numunelerinin tahribatsız temel bileşimini gerçekleştirir . X-ışını floresan yöntemiyle ölçülen element aralığı 11Na ila 92U'dur; X-ışını üretici Rh-anothlu bir tüptür, akım 1–1000 μA 'dır; kolimatör tarafından kontrol edilen ışınlanmış alan 10 mm idi [54]. EHS ve FA'nın peletlenmiş toz veya sıvı numunesi, hava atmosferinde bir mylar (lavsan) film ile kaplı kapalı bir küvete yerleştirildi ve tam olarak alet penceresinin ortasına yerleştirildi. İkincil flüoresan radyasyonun yoğunluğu , numunenin temel bileşimini belirlemek için ölçüldü . Çalışma süresi her element (grup) için 50 s idi.

2.6. Floresans ve UV-Spektroskopi EHS ve FA

numunelerinin bir dizi seyreltmesinin floresan spektrumlarını elde etmek için bir AGILENT Cary Eclipse spektrofotometre (Agilent, Santa Clara, CA, ABD) kullandık.

numunenin temel bileşimini sonlandırın. Çalışma süresi her element (grup) için 50 s idi.

2.6. Floresan ve UV-Spektroskopi

5/20

EHS ve FA örneğinin bir dizi seyreltmesinin floresan spektrumlarını elde etmek için bir AGILENT Cary Eclipse spektrofotometre (Agilent, Santa Clara, CA, ABD, iki ultra hızlı tarama monokromatörü ile) kullandık. Uyarma dalga boyu 280 nm idi. T₁, iki ultra hızlı tarama ile monokromatörler Uyarma dalga boyu 280 nm idi Floresan spektrumları 300 ile 800 nm aralığında, maksimum emisyon dalga boylarının maksimumları 300 ile 800 nm aralığında, mor ve yeşil floresanlar.

FA seyreltik sulu absorpsiyon spektrumu, 20 ila 20 aralığında elde edildi. FA seyreltik sulu absorpsiyon spektrumu 200 nm aralığında elde edilmiştir. AGILENT Cary 60 ekipmanı (Agilent, Santa Clara, CA, ABD) kullanılarak nm ila 350 nm. AGILENT Cary 60 ekipmanı (Agilent, Santa Clara, CA, ABD) kullanılarak 350 nm'ye kadar.

2.7. Dinamik Işık Saçılımı (DLS)

EHS ve FA numunelerindeki nanoparçacıkların boyutunu ölçmek için dinamik ışık saçılımına dayalı bir DLS cihazı (DLS) kullanıldı. DLS cihazı (DLS) kullanılarak ölçümler yapıldı. Bu amaçla, H2S ve FA için sırasıyla 3.10⁻⁴ ve 7.10⁻⁵ g ml⁻¹'e kadar olan koloidal polielektrolit içeren DLS hücreleri kullanıldı. Bu amaçla, H2S ve FA için sırasıyla 3.10⁻⁴ ve 7.10⁻⁵ g ml⁻¹'e kadar olan koloidal polielektrolit içeren DLS hücreleri kullanıldı. DLS cihazı (DLS) kullanılarak ölçümler yapıldı.

Lazer Doppler Mikro-elektroforez, elektroforez nedeniyle hareket ederken nanopartiküllerin hızlarına dayalı olarak zeta potansiyelini ölçmek için kullanıldı. nanopartiküllerin elektroforez nedeniyle hareket ederken hızlarının belirlenmesi üzerine.

2.8. İstatistiksel

bağımsız deneyler elde edildi ve sonuçlar ANOVA ile değerlendirildi. Tüm istatistiksel analizler Excel 5.0 ve Graph Pad Prism 5.0 kullanılarak yapıldı. Mikrosoft Excel 5.0 ve Graph Pad Prism 5.0 kullanılarak istatistiksel analizler yapıldı. Student's t testi istatistiksel düzeyiyle gruplar arasında p < 0.05 anlamlılık düzeyi ile, çalışma boyunca

3. Sonuçlar ve Tartışma

3.1. Koloidal Nanodağılımların Buharlaştırılması-Kurutulmuş Damlacık Yöntemi (DDM)

Çalışılan koloidal nanodağılımların sınırlı hacimlerinin buharlaşması, çalışılan koloidal ve homojen olmayan çözünen dağılımına neden olur ("kahve halkası damlacık kenarında birleşir ve 1). etkisiz, orta ve büyük çözünen dağılımına neden olur ("kahve durulama etkisi", CRE) [56-58] (Şekil



Şekil 1. Araştırılan koloidal dispersiyonların kuru damlaları ("kahve halkası etkisi"): (a) hümkik madde özütü; (B) asit özü . hümkik madde, (b) fulvik asit.

Ortaya çıkan halka desenleri çanak gözlemlerle gözlemlenebilir. İndüklenebilir Marangoni akışı, periferik nanoparçacıkların merkez bölgesine doğru taşınması olarak tanımlanır. Mikrobonucukların uzamsal desenleri karakterize edildi. Mikrobonucukların damlacık kenarında yoğun paketlenmesi ve çevredekilerle halka desenlerinin oluşması gösterildi. Buharlaşma işlemlerinin son aşamasında çok çeşitli morfolojik yapılar ortaya çıkar.

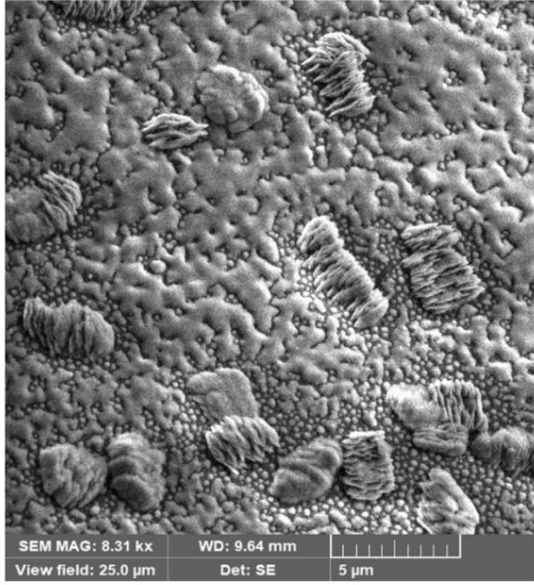
3.1.1. Polielektrolitin Parçacıklarının Yapısı Yüzeğe Yakın

katmanın karmaşık sıralı morfolojisinin görselleştirilmesi, ek gelişmiş mikroskopi yöntemleri gerektirir. Kurutulmuş EHS, FA numunelerindeki yüzeğe yakın katmanın SEM görüntüleri Şekil 2'de sunulmaktadır.

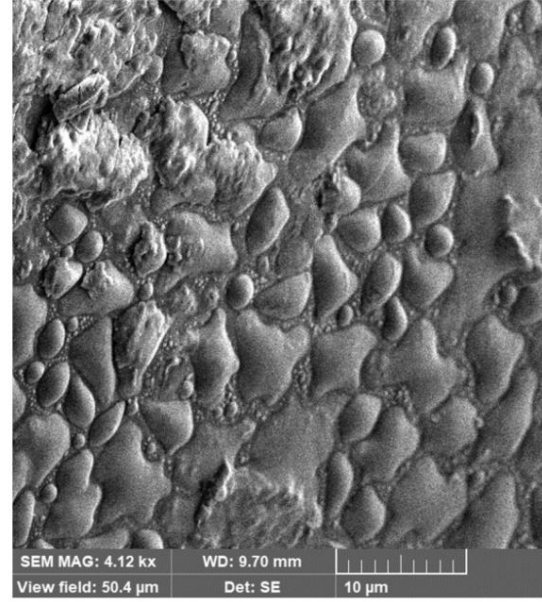
3.1.1. Polielektrolitin Parçacıklarının Yapısı Yüzeze yakın

Eczacılık 2021, 13, 1954

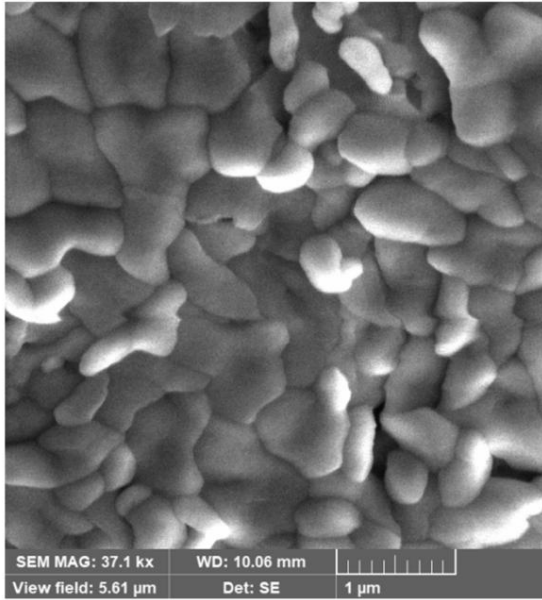
katmanın karmaşık sıralı morfolojisinin görselleştirilmesi, ek gelişmiş mikroskopi yöntemleri gerektirir. Kurutulmuş EHS, FA numunelerindeki yüzeze yakın katmanın SEM görüntüleri Şekil 2'de sunulmaktadır.



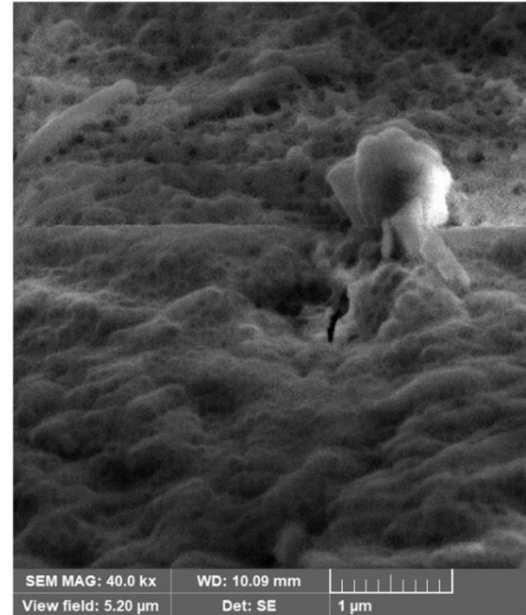
(A)



(B)



(C)



(D)

Şekil 2. Yüksek mag. ile SEM görüntüsü ile tortul yapıların morfolojisi: (a,b) hümkik madde özü; (c,d) fulvik asit. fulvik

Kurutulmuş EHS ve FA numunelerinin yüksek uzamsal çözünürlüğe sahip SEM görüntüleri (a,b) ile (c,d) ile (a,b) hümkik madde özü ve (c,d) fulvik asit. Fulvik asit, FA yüzey yapısının morfolojisinin fraktal yapıya sahip olduğunu göstermektedir. Fulvik asit, FA yüzey yapısının morfolojisinin partiküller arasındaki yapışma belirtileri ile daha homojen hale gelir.

3.1.2. Kuru Kalıntının Tablo 1 Verileri ile

Belirlenmesi İncelenen H2S ve FA numunelerinde kurutma sonrası kütle kaybı ve kalıntı belirlenmiştir .

Tablo 1. Hüyük madde ve fulvik asit ekstrakt numunelerinin kurutulmasında ağırlık kaybının belirlenmesi .

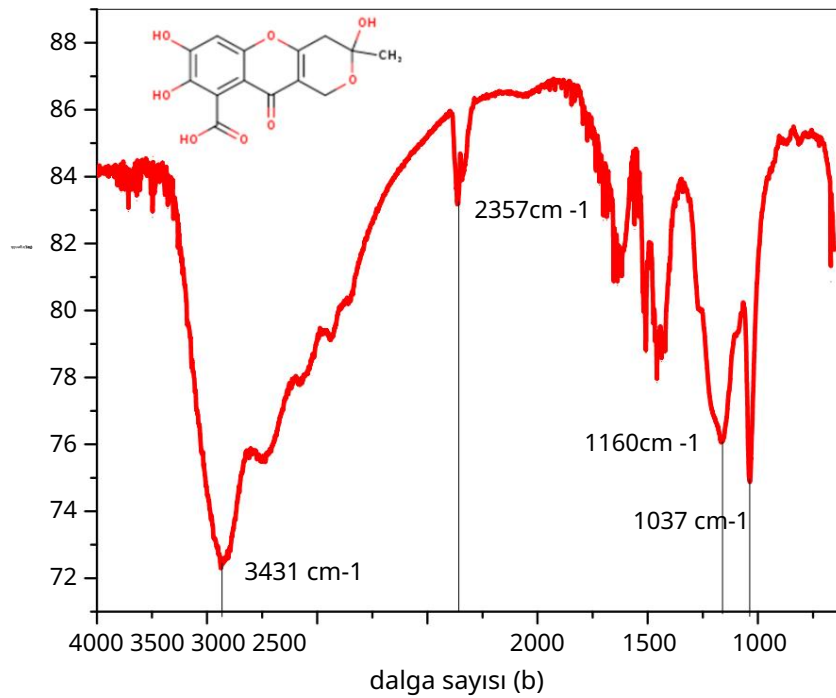
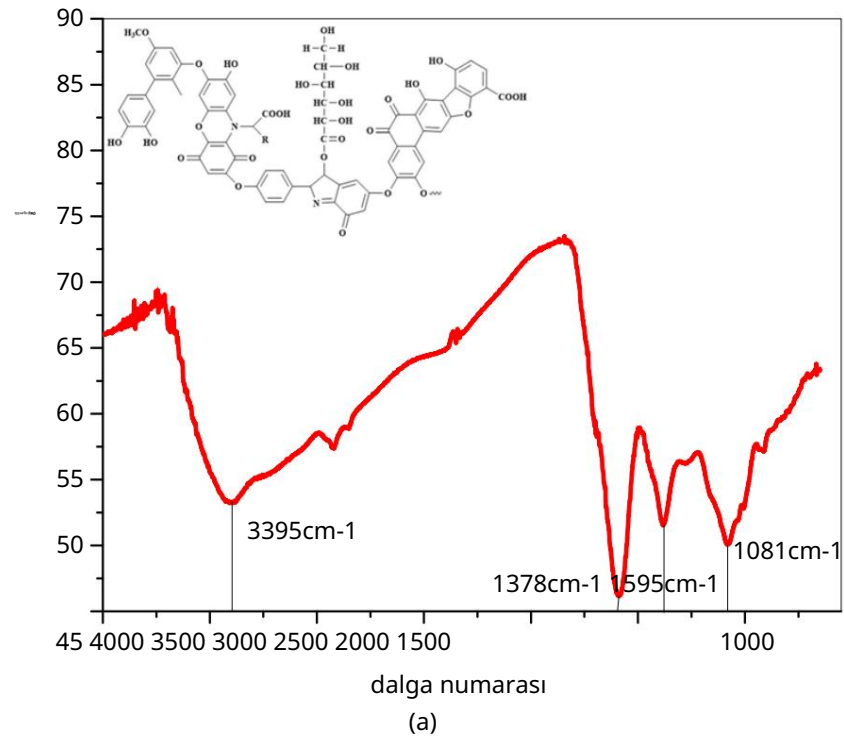
Humik Maddeleri Çıkarın (EHS)				
t, h	m1, g	m2, g	m (test edilmiş sıvı madde) g	Kurutma kaybı (LOD), %
		127.2238	8,6234	
0 1		119.2702	0,6698	
2		119.2473	0,6469	
3		119.2411	0,6407	
		m3, gr		
4		119.2362	0,6358	
5		119.2362	0,6358	
6	118.6004	119.2362	0,6358	
				92.63
Fülvik Asit (FA)				
t, h	m1, g	m2, g	m (test edilmiş sıvı madde) g	Kurutma kaybı (LOD), %
		120.1194	4,7984	
0 1		115.3398	0,0188	
2		115.3391	0,0181	
3		115.3387	0,0177	
		m3, gr		
4		115.3371	0,0161	
5		115.3371	0,0161	
6	115.3210	115.3371	0,0161	
				99.66

Kuru tortu tayini, EHS ve FA için sırasıyla $7,34 \times 10^{-2}$ g mL⁻¹ ve $3,36 \times 10^{-3}$ g mL⁻¹'dir . Ayrıca su ve uçucu maddelere bağırlık kaybı %92,63 ve %99,66'dır. Elde edilen veriler , üzerinde çalışılan ND polielektrolit seyreltmelerinin konsantrasyonunu belirlememizi sağlar.

3.2. HS ve FA Çalışması için Spektroskopik Yöntemler Kalitatif ve Kantitatif Kompozisyon FT-IR Spektroskopi Tanımlama

Organik aromatik hidroksikarboksilik asitlere ait olduklarını belirlemek için çalışılan yüksek moleküler numunelerin tanımlanması, benzersiz "moleküler spektral baskı" ile fonksiyonel gruplardaki bağırlı dalgalanmalarının karakteristik frekansları karşılaştırılarak gerçekleştirildi [63]. Potasyum bromür ile disk tekniğı ile elde edilen EHS ve FA numunelerinin titreşim-dönme spektrumları Şekil 3'te gösterilmiştir.

EHS spektrumu 3395, 1595, 1378 ve 1081 cm⁻¹'de çeşitli karakteristik bantlarla temsil edilir . Araştırılan bileşiklerin transmisyon spektrumlarının karşılaştırmalı bir analizinde , EHS örneğinin, daha yüksek sönüm katsayıları değerleri ile karakterize edildiğı ve bunun sonucunda ışık iletiminin yüzdesinin , muhtemelen neden olduğı, gözle görülür şekilde azaldığı bulundu. stokiyometrik olmayan bileşim ve çok sayıda fonksiyonel grup içeren düzensiz heterojen yapı. Serbest ve bağırlı hidroksil gruplarının (OH) gerilme titreşimleri genellikle 3200–3670 cm⁻¹ [64] frekans aralığında bir geniş bant bölgesi oluşturur . Bununla birlikte, EHS bileşiminde bulunan demir atomlarının koordine edici etkisi ve Me-O bağırları içeren karmaşık nanoyapıların oluşumu nedeniyle , OH bağırlının titreşimleri düşük frekans bölgesine (3400 cm⁻¹) kaydırılabilir. Ek olarak, birincil veya ilişkili amino gruplarının ve muhtemelen iminlerin gerilme titreşimleri de 3400 cm⁻¹'deki absorpsiyon bandına bağlanabilir. Bir karbon iskeletinin varlığı , 2900 ve 2850 cm⁻¹ [65] (Tablo 2) 'de C-H bağırlının bir germe titreşimleri bandı olarak kendini gösterir .



Şekil 3. (a) hümitik maddeleri çıkarmak; (b) fulvik asit örneği.

EHS spektrumu, 3395, 1595, 1378 ve 1081 cm^{-1} 'de birkaç karakteristik bantla temsil edilir. Araştırılmakta olan bileşiklerin iletim spektrumlarının karşılaştırmalı bir analizinde, EHS numunesinin daha yüksek sönme katsayıları değerleri ile karakterize edildiği ve bunun sonucunda ışık iletimi yüzdesinin gözle görülür bir şekilde azaltılmadığı, bunun da muhtemelen neden olduğu bulunmuştur. stokiyometrik olmayan bileşim ve çok sayıda işlevsel grup içeren düzenli heterojen yapı. Serbest ve bağlı hidroksil gruplarının (OH) gerilme titreşimleri genellikle 3200–3670 cm^{-1} [64] frekans aralığında bir geniş bant bölgesi oluşturur. Bununla birlikte, koordinasyon etkisi nedeniyle

Tablo 2. EHS ve FA'nın FT-IR spektrumundaki ana iletim bantları.

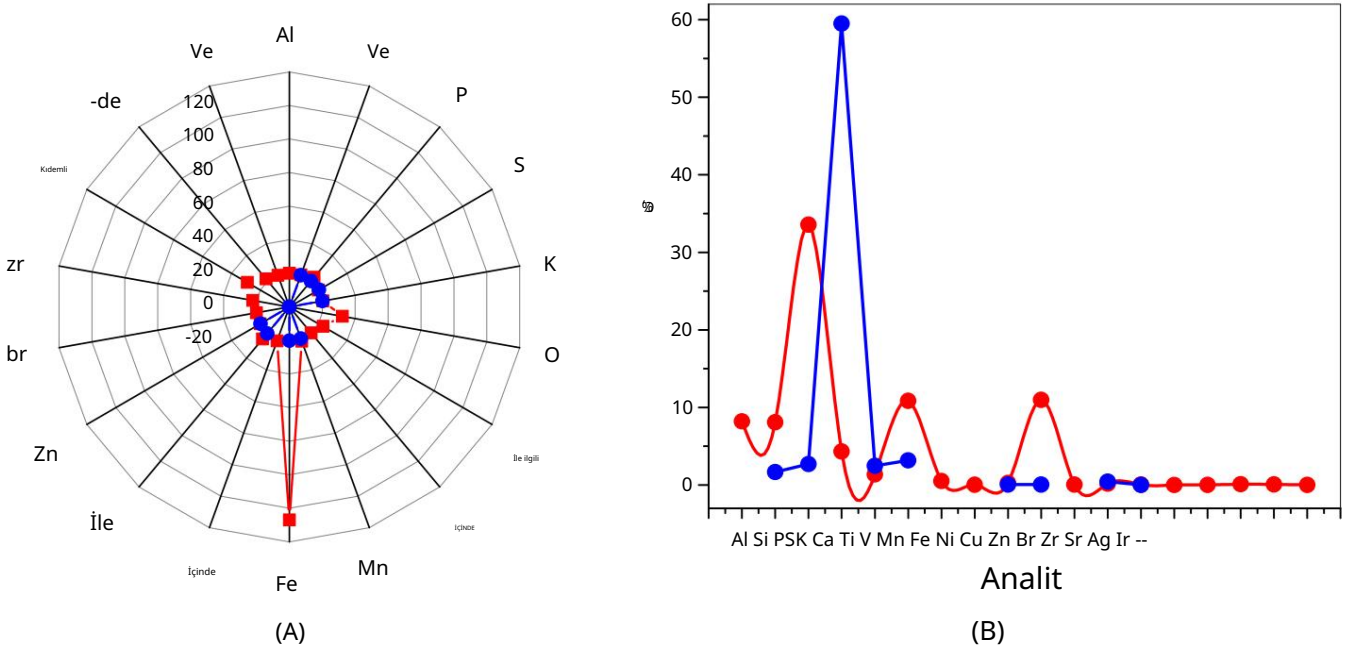
Frekans Aralığı, cm ⁻¹	Grup	Bileşik Sınıf	Dış görünüş/ Yorumlar
Humik Maddeler			
3550-3200	OH esneme	alkol	güçlü, geniş/
2920-2850	CH germe	alkan	Fe nanosferlerinden dolayı ortam/ bantlar [65]
1650-1580	NH bükme	amin	orta
1690-1640	C=O germe	konjuge keton fenol	güçlü
1390-1310	OH bükme	birincil alkol	orta
1085-1050	CO germe		güçlü
Fulvik asit			
3550-3200	OH esneme	alkol	güçlü, geniş moleküller arası bağlı
3100-3000	CH germe	alken	orta
2920-2850	CH germe	alkan	Fe nedeniyle orta/bantlar güçlü, geniş
2275-2250	NC=O germe	amid	nanoküreler
1650-1566	C=C germe	siklik alken	orta
1440-1395	OH bükme	karboksilik asit	orta
1450	CH bükme	alkan	metil grubu
1275-1200	CO germe	alkil aril eter	güçlü
1085-1050	CO germe	birincil alkol	güçlü

EHS ve FA'nın elde edilen titreşim-dönme spektrumları, benzer titreşim frekansları ve benzo-piron türevleri ve benzo- α -piron (kumarin) ve benzo- γ -piron (kromon) olarak adlandırılan ikincil metabolitleri için geçiş bantlarının şekli ile karakterize edilir.) bitkilerde benzen ile piron türevlerinin yoğunlaşması nedeniyle [66-68].

3.3. Element Analizi

Hümk asitlerin element içerikleri ve fitokimyasal bileşenleri, tıbbi amaçları için çok önemlidir. Bu nedenle, EHS ve FA'nın element bileşimindeki varyasyonlar, tahribatsız bir elemental analiz tekniği kullanılarak incelenmiştir (Şekil 4).

Şekil 4'te görüldüğü gibi hem EHS hem de FA numunelerinde Si, P, S, K, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn elementlerinin atomları bulundu. EHS numunesindeki Fe atomları için X-ışını floresans sinyalinin yüksek yoğunluğu dikkate değerdir. Demir ile şelat oluşumuna katılan hümk maddelerin bitki beslenmesine katkı sağladığı bilinmektedir [69]. Hümk maddelerin çözünürlüğüne ve moleküler boyutuna bağlı olarak, toprak çökeltilerindeki organik maddenin nemlendirilmiş fraksiyonları, bitkiler için uygun bir Fe rezervuarı oluşturulmasına katkıda bulunur [70]. Diğer doğal veya sentetik şelatlarla kıyasla suda çözünür Fe-HS kompleksleri ile beslenirlerse, bitkiler içindeki Fe'nin dağılımı ve salımının kontrol edilebileceği gösterilmiştir [71,72]. Fe söz konusu olduğunda, oldukça kararlı H₂S kompleksleri temel olarak O içeren grupları (karboksil ve fenolik) içerir [73]. Polielektrolit makromoleküllerin, "makromolekül-nanoparçacık" tipi nanodağılımlar-polielektrolit komplekslerinde parçacıkların etrafında bir kabuk oluşturduğu, metal parçacıkların daha fazla büyümesini ve agregasyonu önlediği düşünülmektedir [74]. Fulvik asitler, metallerle çözünmeyen komplekslerin oluşumuna daha az eğilimlidir.

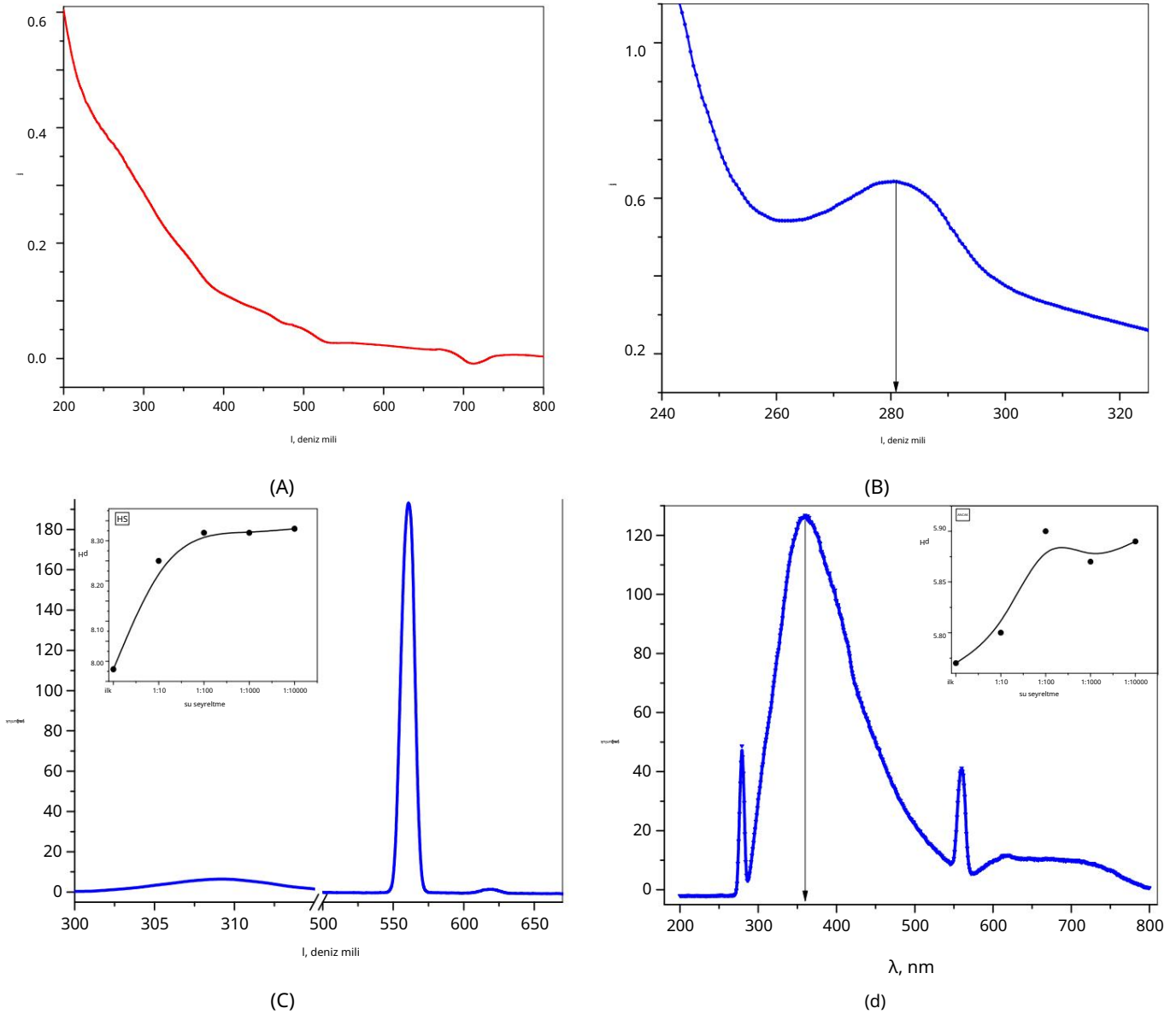


Şekil 4. EHS (kırmızı) ve FA (mavi) örneklerinin kurulumundaki elementlerin X-Ray floresan analizi (a) ve yoğunluk bağımlılığı; (b) element fraksiyonuna bağımlılık. bağımlılık; (b) element fraksiyonuna bağımlılık.

Şekil 4'te görülebileceği gibi, Si, P, S, K, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn elementlerinin atomları, hem EHS hem de FA numunelerinde bulunan Floresans ve Ultraviyole Spektrumları Çalışması idi. X-ışını florlarının yüksek yoğunluğu dikkat çekicidir. EHS oluşumunda Rapor edilmiş olduğu gibi, EHS veya FA kromofor oldukları, bitki beslenmesine katkıda buldukları bilinmektedir [69]. Yüksek foto-stabiliteye, büyük

Fulvat kromon yapısı optik özelliklerinde, uyarılma dalgalarında kaydedilmiştir [71-72] bitkiler içindeki Fe dağılımı ve salımı uzunsu kontrol edilebilir. Sulu ortamda nano dağılımlar polielektrolit komplekslerinde parçacıkların etrafında bir kabuk oluşturduğu, metal parçacıkların daha fazla büyümesini önlediği ve Lex1 ve EHS'nin agregasyonda maksimum humik floresansa sahip olduğu düşünülmektedir [75]. Furik asitler, Lem1 ile çözünmeyen komplekslerin oluşumuna daha az eğilimlidir. Çözünmüş organik doğal karbonları (DONC) oluşturan humik maddelerdir. Gerçek FA floresans spektrumu, bir metalde 300 ile 400 nm aralığında kaydedilmiştir. En önemli özelliklerinden biri floresans özelliğidir. DONC'nin en önemli özelliği Yapıda bir kromon heterosiklik çekirdeğin varlığı ile ilişkili olan 280 ± 3 nm'lik uyarılma dalgı boyu. Floresan aktif formda birkaç Floresan ve Ultraviyole Spektrum Çalışması; bir organik florofor olarak fulvat molekulu karakterize edilmiştir. E-PL ile işaretlenmiş piranın (kumarinler, kromonlar) bu emisyon tepe noktaları yüksek spektrumları ve yoğun floresans dalgı boyu ve yüksek yoğunluklu floresan bir boyu istenir. EHSPT de kaynaklanabilir. yüksek kuantum verimi, molekül içi hidrojen bağları olan fragmanların karakteristiğidir [80].

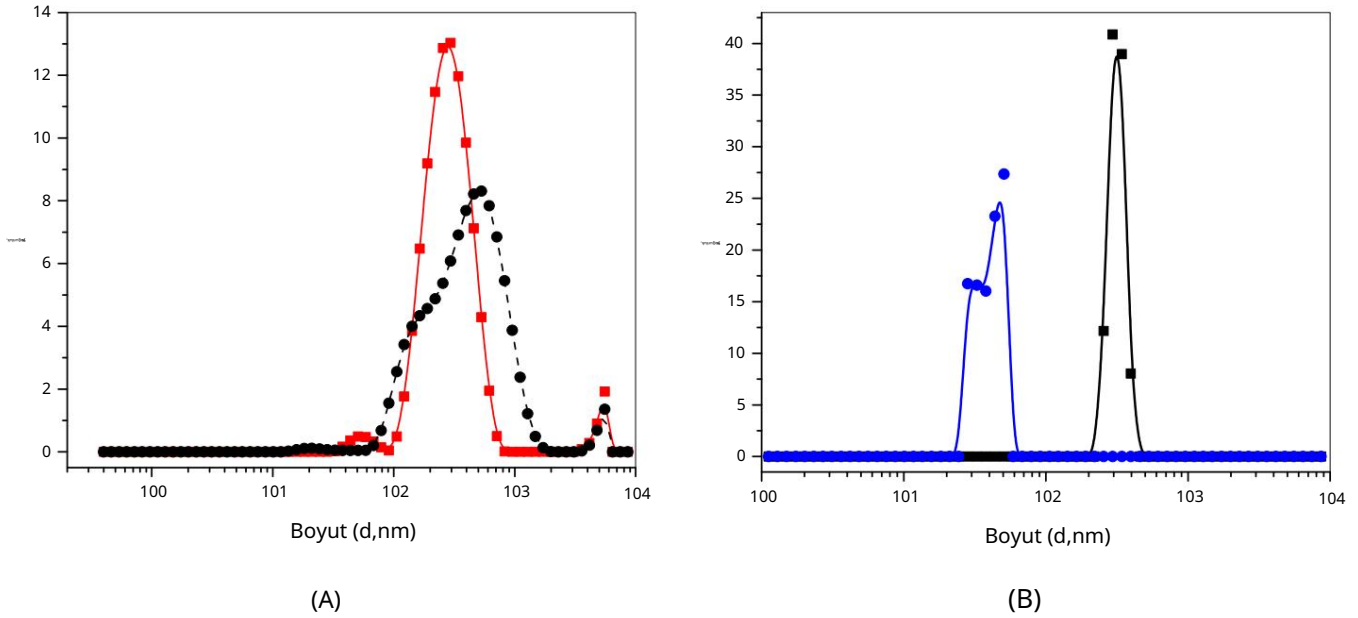
[76-77] Fulvatın etkisini araştırmak için bir araç olan floresans spektrumları, çünkü kromon yapıları florofor olarak, uyarılma dalgı boyu ve emisyon dalgı boyu ile EHS'nin floresan spektrumları ile karakterize etmek için FA'nın sulu seyreltmesinin elektronik absorpsiyonu ve floresans emisyon spektrumları uygundur. EHS sım örneklerinin fotofiziksel özellikleri Şekil 5'te gösterilmektedir. Çok sayıda kapalı döngü, ikame varyasyonları ve defektli zeolit bağları içeren H2S bazı değişikliklere uğramıştır. EHS'nin floresan yoğunluğu 620 nm'de ortaya çıktı ve 560 nm bölgesinde önemli ölçüde arttı.



Sekil 5. 280 nm uyarma dalga boyunda ultraviyole-görünür ve floresans spektrumu: (a, c) humik asit ekstresi duruşar örnek su çözeltisi (% $7,3 \times 10^{-3}$), (b, d) fulvik asit numune su çözeltisi (% $7,3 \times 10^{-3}$). Seyreltilmiş numune su çözeltisinin pH bağımlılığı (% $7,3 \times 10^{-3}$), (b, d) fulvik asit numune su çözeltisinin pH bağımlılığı eklede gösterilmiştir. eklede

Çözünmüş haldeki maddeleri oluşturan humik maddelerin en önemli özelliklerinden biri 3.4. Polielektrolitlerin Nanodağılımlarında Parçacık Boyutu Ölçümü ve Zeta Potansiyeli Kontrolü organik doğal karbonlar (DONC) floresandır. Humik benzeri flüoresan, DONC'nin DLS 280 özellikleri olarak, doğal poli 280'in incelenen dispersiyonlarındaki parçacıkların metrolojik karakterizasyonu 360 - 690 oranında kendini gösterir [78]. FA ve EHS numunelerinin özelliklerini açıklamak için (Sekil 5) parçacık boyutu dağılımının işlevi (L, % d, nm) ve genişliği (PD) ile ilişkili olarak, parçacık boyutu dağılımı, 300 nm'lik bir uyarım dalga boyunun ölçüsü (Sekil 6 ve Table 6) olarak değerlendirildi. Bu sonuçlar, humik maddelerin, özellikle fulvik asit, 300 nm'lik bir uyarım dalga boyunun ölçüsü (Sekil 6 ve Table 6) olarak değerlendirildi. Bu sonuçlar, humik maddelerin, özellikle fulvik asit, 300 nm'lik bir uyarım dalga boyunun ölçüsü (Sekil 6 ve Table 6) olarak değerlendirildi.

EHS çözümü, saptanabilir analitik dalga boylarının yokluğunda ultraviyole yakın şeffaflık ve artan uzak morötesi absorpsiyon gösterdiğinden,



Sekil 6. Polielektrolitlerin nanoparçacıklarında parçacık boyutu dağılımı: (a) EHS: kırmızı, FA: siyah; (b) FA: 3,4 × 10⁻⁵ g mL⁻¹; siyah: 3,4 × 10⁻⁴ g mL⁻¹; (b) FA: 3,4 × 10⁻⁵ g mL⁻¹; siyah: 3,4 × 10⁻⁴ g mL⁻¹.

Tablo 3. Polielektrolit dispersiyonlarında nanoparçacıkların karakterizasyonu.

Örnek	Boyut ± SD, nm	PDI ± SD	$\bar{\xi}$ ± SD, mV	C, g mL ⁻¹
HS	348 ± 230	0,39 ± 0,01	-36 ± 8	3,7 × 10 ⁻⁴
	304 ± 117	0,38 ± 0,07	-31 ± 12	7,3 × 10 ⁻⁵
	280 ± 19	0,94 ± 0,07	-34 ± 11	3,4 × 10 ⁻⁴
ANCAK	50 ± 3	1,00 ± 0	-41 ± 8	3,4 × 10 ⁻⁵

Analize dayalı olarak, polielektrolit çözeltilerinin 1:10 oranında su ile seyreltilmesi, I, % -d, nm eğrisi üzerindeki maksimum dağılımın sola doğru kaymasını gösterir, bu özellikle fulvik asit örneğinde belirgindir [82]. Her iki polielektrolitin çözeltilerindeki mikron altı bölgedeki boyut dağılımları, tek modlu geniştir ve sonuç olarak, PDI değerine bağlı olarak çoklu dağılımlıdır: polidispersite indeksinin değerleri 0,38 ila 1,00 arasındadır ve hem polielektrolitin doğasına hem de Konsantrasyon. FA çözeltilisini seyreltirken, sadece parçacıkların çapında bir azalma değil, aynı zamanda negatif ζ -potansiyelinin mutlak değerinde bir artış da gözlenir. Bunun nedeni, difüzyon tabakasındaki karşı iyon konsantrasyonundaki azalmanın bir sonucu olarak çift elektrik tabakasının kalınlığındaki bir artış olabilir. Deryagin-Landau-Verwey-Overbeck (DLVO) teorisine göre, dağınık çift elektrik tabakasının kalınlığı ve parçacıkların yüzey potansiyeli kolloidlerin kararlılığı için en önemli faktörlerdir [83]. Formülasyondaki parçacıkların zeta potansiyeline ilişkin bilgi, stabiliteyi sağlamak ve raf ömrünü artırmak için en uygun malzemeleri seçmek amacıyla formülasyonun kimyasal bileşimini mantıksal olarak seçmek için kullanılabilir.

3.5. Vero-E6 Hücre Kültürü Kullanılarak Biyolojik Aktivite Çalışmaları

EHS'nin nakledilen hücrelerin morfolojisi ve yaşayabilirliği üzerindeki potansiyel etkisinin değerlendirilmesi, SARS-CoV-2 dahil virüslere karşı yüksek duyarlılık gösteren Vero-E6 hücre dizisi kullanılarak in vitro olarak gerçekleştirildi.

Vero-E6 hücreleri, 24 saat boyunca 100 uL GM hacminde 96 oyuklu plakalarda kültürlendi ve nemlendirilmiş %5 CO₂ içinde 37 °C'de inkübe edildi. Aşılama dozu, 18.000 hücre/kuyu idi. 24 saatlik inkübasyondan sonra, çalışma nesnelere çift dilüsyonları 100.0 ul'de kuyucuklara aktarıldı. 96 saat sonra kültür ortamı çıkarıldı ve 100 µl GM ve 20 µl vital

boya (MTS) (CellTiter 96® AQueous One Solution Cell Proliferation Assay, Promega, G3582, Waltham, MA, ABD) her kuyucuğa eklendi. 37 ± 0.5 °C'de 3 saat inkübasyonun ardından sonuçlar 490 nm dalga boyunda bir BIO-RAD okuyucuya kaydedildi, referans dalga 630 nm idi. Kontrol hücrelerine göre optik yoğunluk değerini %50 oranında azaltan test maddesinin konsantrasyonu %50 sitotoksik doz (CC50) olarak alınmıştır. (Tablo 4).

Tablo 4. EHS'nin Vero-E6 hücre hattına karşı sitotoksik konsantrasyonu.

EHS Test Örneği *	CC50, mg/mL ± SD
Seri 1_2006996	0,516 ± 0,021
Seri 2_2006997	0,488 ± 0,018
Seri 3_2006998 *	0,486 ± 0,014

EHS doğal olarak homojen olmayan biyodönüşüm ürünleri olduğundan , aynı üretici tarafından üretilen farklı partilerden bir maddenin biyolojik etkisinin homojenliğini değerlendirmek önemlidir .

Bu nedenle tablo sonuçları, EHS serisinin Vero E6 hücre kültürü üzerindeki düşük toksisitesini gösterir.

EHS'nin SARS-CoV-2'ye karşı doğrudan virüs öldürücü, terapötik ve önleyici etkisinin araştırılması , Vero E6 hücreleri için toksik olmayan bir konsantrasyon aralığında gerçekleştirildi. Çalışmada SARS-CoV-2 insan koronavirüsü kullanıldı. Virüsidal etki incelenirken, ilaçların seçilen dilüsyonları (CC50'ye göre) 100 µL'lik eşit hacimlerde virüs dilüsyonlarıyla (10^{-1} 'den 10^{-7} 'ye) karıştırıldı ve 37 ± 0.5 °C'de 1 saat inkübe edildi. %5 CO2 ile atmosferde C ve tek tabakalı yıkanmış hücreler içeren bir plakaya aktarıldı . Terapötik önleme modeli şemasına göre antiviral aktiviteyi incelemek için , çalışma nesnelere çalışma seyrettileri virüsle enfeksiyondan 1 saat önce hücrelere eklendi . Kontrol olarak, çalışma nesnelere ekmeden SARS-CoV-2 virüs dilüsyonu Her numune konsantrasyonu, dört paralel sıra plaka kuyularında test edildi.

Antiviral aktivite, virüsün hücreler üzerindeki sitopatik etkisinin (CPA) inhibisyonu yoluyla enfeksiyondan 96 saat sonra bir mikroskop altında görsel olarak değerlendirildi. Sonuç, ondalık logaritmalarda ifade edilen kontrol ile karşılaştırıldığında deneydeki enfeksiyöz viral doz değerindeki maksimum düşüş olan I_{gmax} ile değerlendirildi. Her EHS serisi , altı konsantrasyonda test edildi (Tablo 5).

Deneyler, bir polielektrolit kompleksi ile bir viral partikül arasındaki çok değerlikli etkileşimlerin sonucu olabilecek EHS'nin antiviral etkinliğinin konsantrasyona bağlı olduğunu göstermiştir [84]. Yüksek moleküler ağırlığa sahip süper dallı polielektrolitin bir "yem" görevi görebileceğini varsayıyoruz . Bu, 3B alanda ek etkileşim noktaları ve SARS-CoV-2 S-proteinine çok noktali bağlanma olasılığı sağlayabilir [85–88].

Elde edilen sonuçlar IC50 değerinin belirlenmesine olanak sağlamıştır. EHS'nin Vero E6 hücrelerindeki SARS-CoV-2 virüsüne karşı sitotoksik ve antiviral aktivitelerinin sonuçları Tablo 6'da gösterilmektedir.

Vero E6 hücrelerindeki SARS-CoV-2 virüsü enfeksiyöz titresi üzerindeki EHS etkisine ilişkin bir çalışma, tüm EHS serilerinin hem virüsidal şema tedavisinde hem de önleme şemasında virüslere karşı etkili olduğunu göstermiştir . Virüsidal rejimde etkili doz 0,023–0,041 mg/mL aralığındadır ve enfeksiyöz titrenin baskılanması 2,82–3,63 lg aralığındadır . Bu durumda seçicilik indeksi (SI) 11,90–22,43'tür.

Tedavi ve önleme modeli şeması ile, EHS serisi için etkili doz önemli ölçüde daha düşüktür. Bu nedenle, SI önemli ölçüde daha yüksektir ve 34,85–57,33'e eşittir.

EHS nanopartiküllerinin antiviral aktivite çalışmasının sonuçları, Vero E6 hücreleri için toksik olmayan dozlardaki örneklerin , SARS-CoV-2 virüsünün çoğalmasını istatistiksel olarak önemli ölçüde baskıladığını gösterdi. İlaçlar düşük toksisite gösterir ve SI oldukça yüksektir.

Tablo 5. EHS'nin Vero E6 hücrelerinde SARS-CoV-2 replikasyonu üzerindeki etkisi.

EHS Test Örneği	C, mg/mL	Igmaks ± SD
Seri 1_2006996	Virüsidal uygulama rejimi 3,19 ± 0,43	
	0,091	2,19 ± 0,43
	0,046	0,50 ± 0,71
	0,023	0 0 0
	0,011	
	0,006	
	0,003	
	Uygulamanın terapötik ve önleme şeması (enfeksiyondan 1 saat önce)	
	0,089	3,19 ± 0,45
	0,044	3,12 ± 0,88
	0,022	1,86 ± 0,18
	0,011	0,5 ± 0 0 0
	0,006	
	0,003	
	Seri 2_2006997	Virüsidal uygulama rejimi
0,091		2,82 ± 0,97
0,046		1,38 ± 0,53
0,023		0 0 0 0
0,011		
0,006		
0,003		
Tedavi ve önleme şeması (enfeksiyondan 1 saat önce)		
0,091		3,06 ± 0,27
0,046		2,63 ± 0,18
0,023		1,31 ± 0,63
0,011		0,13 ± 0,18
0,006		0,0006
0,003		0,0006
Seri 3_2006998		Virüsidal uygulama rejimi 3,63 ± 0,18
	0,091	1,75 ± 0 0 0 0
	0,046	0
	0,023	
	0,011	
	0,006	
	0,003	
	Tedavi ve p önleme şeması (enfeksiyondan 1 saat önce)	
	0,091	3,06 ± 0,26
	0,046	2,75 ± 0
	0,023	0,011
	0,006	0,003
hidroksiklorokin sülfat	0,013	5,46 ± 0,29
	0,004	1,21 ± 0,06

Tablo 6. EHS'nin sitotoksik ve antiviral aktivitesine ilişkin birleştirilmiş veriler.

Örnek test	CC50, mg/mL	SARS-CoV-2 Virüsüne Karşı Antiviral Faaliyetler		
		Igmax	IC50, mg/mL	VE
Virüsidal uygulama rejimi				
Seri 1_2006996	0,516	3,19	0,023	0,488
Seri 2_2006997	0,516	3,19	0,023	0,488
Seri 3_2006998	0,516	3,19	0,023	0,488
Tedavi ve önleme modeli şeması				
Seri 1_2006996	0,516	3,19	0,023	0,488
Seri 2_2006997	0,516	3,19	0,023	0,488
Seri 3_2006998	0,516	3,19	0,023	0,488

Muhtemelen, etki mekanizması, reseptörlerin koronavirüs başak gliko proteinine (S-protein) bağlanmasını ve ardından plazma zarı yoluyla veya endositoz yoluyla hücrelere penetrasyonunu önleyerek, hücresel düzeyde doğal fukoidanlarla analogi yoluyla gerçekleştirilir [89-93].

4. Sonuçlar

Kaynağı humus olan doğal polielektrolitleri inceledik. Bu gerçek , doğal polielektrolitlerin yapısı ve özellikleri üzerinde önemli bir etkiye ve sonuç olarak standardizasyonun karmaşıklığına, analitik sonuçların yorumlanmasına ve prelinik ve klinik çalışmaların yokluğuna neden olur. Bununla birlikte, bitki adaptasyonunun biyokimyasal bir formu olarak oluşan hümik maddelerin biyolojik aktivitesi hakkında çok sayıda rapor, bunların kompozisyonunu, özelliklerini ve kalite kontrolüne yönelik analitik yaklaşımları incelemek için ön koşullar oluşturmaktadır. Araştırmamızın sonuçları, doğal humus polielektrolitlerinin kimyasal yapısının, makro moleküllerin liyofobik solumetallerin nanopartikülleri ile makromolekül-nanopartikül tipi komplekslerin oluşumu ile stabilize edici etkileşiminden kaynaklandığını göstermektedir. Bu, X-ışını Floresan, FT-IR Spektroskopisi ve DLS yöntemleriyle elde edilen sonuçlarla kanıtlanmaktadır . Doğal polielektrolitlerin farmasötik analizinde uygulamalı termohidrodinamik çalışmaların başlangıcı olabilecek FA numunesinin koloidal damlacıklarının buharlaşması sırasında ilk kez net bir kahve halkası etkisi tespit edebildik . Kurutulmuş katı numunelerin morfolojik yapısının SEM yöntemiyle analizi, bunların nispi heterojenliğini, mikron altı parçacıkların şeklini ve boyutunu değerlendirmemizi sağlar. Floresans sinyalinin yoğunluğu, stokiyometrik olmayan bileşimin organik yapısına ve çok sayıda fonksiyonel gruba sahip düzensiz heterojen yapıya ek olarak, hümik asitlerin bileşenlerinde tıkalı metal nanopartiküllerin bulunduğunu göstermiştir. Bu şekilde modifiye edilmiş polielektrolitler, tıbbi maddeler için benzersiz bir taşıma nesnesidir. Ek olarak, çalışmalarımız, hümik maddelerin doğal olarak dallanmış polielektrolit komplekslerinin SARS-CoV-2 S-proteini ile in vitro olarak bağımsız bağlanma olasılığını göstermiştir. Önerilen yaklaşımın, standart kalite kontrol protokollerinin geliştirilmesi için laboratuvar ve klinik ortamlarda ve ayrıca koronavirüs enfeksiyonunun önlenmesi için virüs öldürücü tedavilerle gelecek vaat eden standartlaştırılmış bir ilacın oluşturulması için yararlı olacağını düşünüyoruz.

Yazar Katkıları: Kavramsallaştırma, AVS, TVG ve TVP; metodoloji, EVU, AVS; soruşturma, IVK, VVL, ITF, OVE; doğrulama, VFL, TMG; veri iyileştirme, AVS, TVG, OEL, TVM, MAM ve EVU; biçimsel analiz, IVK, PMH; yazma—orijinal taslak hazırlama, EVU; yazma—inceleme ve düzenleme, AVS, TVG ve TVP Tüm yazarlar makalenin yayınlanan sürümünün okumuş ve kabul etmiştir.

Finansman: Bu araştırma herhangi bir dış finansman almamıştır.

Kurumsal İnceleme Kurulu Beyanı: Uygulanamaz.

Hasta Onamı Beyanı: Uygulanamaz.

Teşekkür: Bu makale RUDN Üniversitesi Stratejik Akademik Liderlik Programı tarafından desteklenmiştir .

Çıkar Çatışmaları: Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması beyan etmemektedir.

Kısaltmalar

COVID-19 Corona Virüs Hastalığı 2019

CRE	kahve halkası etkisi
CC50	yarı maksimal sitotoksik konsantrasyon
EBM	sitopatik etki
<small>Yasama kararname</small>	Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeck teorisi
DONC	çözünmüş organik doğal karbonlar
DLS	dinamik ışık saçılımı kurutulmuş
DDM	damlacık yöntemi hümik
ÇSG	maddeleri özütlemeye uyarılmış
Kıbrıs'ta	durum molekül içi proton transferi enerji dağıtıcı X-
EDXRF	ışını floresansı fluvik asitler

ANCAK

FBS	fetal sıgır serumu
FRO	ferrik şelat redüktaz
GM	büyüme ortamı iyi üretim
GPM	uygulaması hümkik asitler hümkik
HA	maddeler hyamatomelanik asit
HS	hidroksiklorokin sülfat yarı
ERKEN	maksimum inhibitör
HDR	konsantrasyon çözünmez hümkik
IC50	maddeler insan immün yetmezlik virüsü
IHS	simpleks virüs-1 polidispersite indeksi
HIV-1	demir taşıyıcı kızılötesi minimum temel
HSV-1	ortam (alfa 1X) vital boya (1 -çözelti metil
PDI	tiyazolil tetrazolyum) nanodağılımları
IRT	
VE	
MEM	
MTS	
ND	
SE	destekleyici ortam
SEM	taramalı elektron mikroskobu
SI	seçicilik indeksi
SARS-CoV-2	şiddetli akut solunum sendromu ile ilişkili koronavirüs 2
SLS	statik ışık saçılımını destekleyen
SM	ortam
Spirotox testi	Spirostomum Ambiguum Akut Toksikite Testi kene
TBEV	kaynaklı ensefalit virüsü
TCID50	%50 doku kültürü enfeksiyöz doz
VAY	Afrika yeşil maymununun epitelyal
Vero-E6	tomurcuklarından elde edilen ve bir viral gen ile transfekte edilmiş suda ekstrakte edilebilir hümkik maddeler hücre kültürü

Referanslar

- Suttiponparnit, K.; Jiang, J.; Sahu, M.; Suvachitanont, S.; Charinpanitkul, T.; Biswas, P. Yüzey Alanının, Birincil Parçacık Boyutunun ve Kristal Fazın Titanyum Dioksit Nanoparçacık Dispersiyon Özellikleri Üzerindeki Rolü. *Nano Ölçekli Çöz. Letonya* 2011, 6, 27. [\[CrossRef\]](#)
- Lalevee, G.; David L.; Montembault, A.; Blanchard, K.; Meadows, J.; Malaise, S.; Krep, A.; Grillo, I.; Morfin, İ.; Delir, T.; et al. Doğal polielektrolitlerin karmaşık koaservasyonundan elde edilen oldukça gerilebilir hidrojeller. *Yumuşak Madde* 2017, 13, 6594–6605. [\[ÇaprazRef\]](#)
- Kış, A.; Etsabide, A.; Uranga, J.; Savaşçı, P.; de la Caba, K. Biyoaktif bir polimer olarak Chitosan: İşleme, özellikler ve uygulamalar. *Int. J. Biol. Makromol.* 2017, 105, 1358–1368. [\[ÇaprazRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Wu, LX; Qiao, ZR; Cai, WD; Qiu, WY; Yan, JK Biyouyumlu olarak kuaternize lor/pektin polielektrolit kompleksleri kurkumin için nano araçlar. *Gıda Kimyası* 2019, 291, 180–186. [\[ÇaprazRef\]](#)
- Vijitha, R.; Kırmızı, NS; Nagaraja, K.; Vani, TJ; Hanefiah, MM; Venkateswarlu, K.; Lakkaboyana, SK; Rao, KS; Rao, KM PVA'lı Pektin Aşırı Kopolimerlerinin Polielektrolit Membranlarının ve Bunların İlaç Verme, Toksik Metal İyon Giderimi ve Yakıt Pili Uygulamaları için Fosfomolibdik Asitli Kompozitlerinin İmalatı. *Zarlar* 2021, 11, 792. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Potasyum, J.; Szymanska, E.; Wroblewska, M.; Kurowska, I.; Maciejczyk, M.; Başa, A.; Wolska, E.; Wilczewska, AZ; Winnicka, K. Klotrimazolün Bukkal İdaresi İçin Yeni Platformlar Olarak Kitosan/Pektin Polielektrolit Komplekslerine Dayalı Çok Katmanlı Filmler. *Eczacılık* 2021, 13, 1588. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Avcı-Ay, R.; Noter-Perez, F.; Martin-Ilana, A.; Ruiz-Caro, R.; Tamayo, A.; Rubio, J.; Veiga, MD, Anti-HIV İlacı Tenofovir'in Kontrollü Salımına Yönelik Kitosan Bazlı Mukoadhezif Vajinal Tabletler. *Eczacılık* 2019, 11, 20. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Zhou, Z.; Zhang, L.; Li, J.; Şi, Y.; Wu, Z.; Zheng, H.; Wang, Z.; Zhao, W.; Pan, H.; Wang, S.; et al. Bir öncü olarak polielektrolit-kalsiyum kompleksleri, kollajenin biyomimetik mineralizasyonunu indüktler. *Nano Ölçek* 2021, 13, 953–967. [\[ÇaprazRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Su, W.; Ma, L.; Ran, Y.; Anne, X.; Yi, Z.; Chen, G.; Chen, X.; Li, X. Kollajen Sulandırması ve Kalsiyum Fosfat Oluşumu ile Kollajenin Aljinat Yardımlı Mineralizasyonu. *ACS Biyomater. bilim Müh.* 2020, 6, 3275–3286. [\[ÇaprazRef\]](#)
- Milletvekili Kostinov; Latysheva, EA; Kostinova, AM; Akhmatova, NK; Latysheva, TV; Vlasenko, AE; Dağıl, YA; Khromova, EA; Polichshuk, VB Seropozitif ve Seronegatif Sağlıklı İnsanlarda ve Yaygın Değişken İmmün Yetmezliği Olan Hastalarda Dörtlül Adjuvan Alt Birim Grip Aşısının İmmünojenitesi ve Güvenliği. *Aşılarda* 2020, 8, 640. [\[CrossRef\]](#)

11. Efimov, SV; Matsiyuskaya, NV; Boytsova, OV; Akhieva, LY; Kvasova, EL; Harrison, F.; Karpova, YS; Tikhonov, A.; Khomyakova, NF; Hardman, T.; et al. Azoksimer bromürün (Polyoxidonium®) koronavirüs hastalığı (COVID-19) nedeniyle hastaneye yatırılan hastalardaki etkisi: Açık etiketli, çok merkezli, girişimsel bir klinik çalışma. Uyuşturucu Bağlamı 2021, 10, 2020-11-1. [[ÇaprazRef](#)]
12. Harry, RA; Chen, CJ Polifosfazenler: İnorganik-Organik Polimerlerde Fosfor. Org. kimya 2020, 85, 14286-14297.
13. Rachele, Kuzey Carolina; Kristy, VH; Stephen, RW; Daniel, AF; Alan, JL; Andrew, RM Lewis asidi katalizörlerinin varlığında siklik tiyonilfosfazenlerin halka stabilitesi ve halka açma polimerizasyon davranışının yapısal, DFT ve deneysel araştırması. Polimer 2021, 233, 124196.
14. Chand, DJ; Magiri, RB; Wilson, HL; Mutwiri, Hayvan Aşılı ve Diğer Tıbbi Ürünler İçin Adjuvanlar Olarak GK Polifosfazenler Uygulamalar. Ön. Biyomüh. Biyoteknoloji 2021, 9, 625482. [[CrossRef](#)]
15. Matyjaszewski, K.; Montague, RA Zincir Kapatma Ajanları ile Polifosfazenlerin Kontrollü Sentezi. Moleküller 2021, 26, 322.
16. Pruzinec, P.; Chirun, N.; Sveikata, A. Günlük uygulamada Polyoxidonium'un güvenlik profili: Ruhsat sonrası güvenlikten elde edilen sonuçlar Slovakya'da eğitim. İmmünoterapi 2018, 10, 131-137. [[ÇaprazRef](#)]
17. Csarnovics, I.; Burunkova, J.; Sviazhina, D.; Oskolkov, E.; Alhalil, G.; Orişak, E.; Nilova, L.; Szabo, I.; Rutka, P.; Ben, K.; et al. Biyouyumlu Poliüretan Esaslı Polimer-Metalik Nanokompozitlerin Geliştirilmesi ve İncelenmesi. Nanoteknoloji bilim Uygulama 2020, 31, 11-22. [[ÇaprazRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Bağhel, S.; Cathcart, H.; O'Reilly, NJ Polimerik Amorf Katı Dispersiyonlar: Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi Sınıf II İlaçların Amorfizasyonu, Kristalizasyonu, Stabilizasyonu, Katı Hal Karakterizasyonu ve Suda Çözünmesine İlişkin Bir İnceleme. J. Ecz. bilim 2016, 105, 2527-2544. [[ÇaprazRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Yin, XL; Zhang, B.; Liu, YJ; Zhang, N. Antikanser ilaçların verilmesinde polimer-ilaç konjuge misellerdeki gelişmeler. yao Xue Xue Bao 2016, 51, 710-716. [[PubMed](#)]
20. Saidi, T.; Alotaibi, HF; Prokopovich, P. Artrit tedavisi için ilaç dağıtım sistemleri olarak polimer kolloidler. Av. kolloid Arayüz Bilimi 2020, 285, 102273. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
21. Croy, SR; İlaç dağıtımı için Kwon, GS Polimerik miseller. Curr. eczane Des. 2006, 12, 4669-4684. [[ÇaprazRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Bianchera, A.; Bettini, R. Oral kontrollü ilaç dağıtımı için polisakkarit nanopartiküller: İlaç-polimer ve interpolün rolü Mer etkileşimleri. Uzman Görüşü Uyuşturucu Dağıtımı 2020, 17, 1345-1359. [[ÇaprazRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Simo, G.; Fernandez-Fernandez, E.; Vila-Crespo, J.; Ruiperez, V.; Rodriguez-Nogales, JM Kaplama tekniklerinde araştırma ilerlemesi hücre kapsülleme için aljinat jel polimeri. Karbonhidrat. Polim. 2017, 170, 1-14. [[ÇaprazRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Harding, SE Biyoproseslemenin biyopolimer stabilitesi üzerindeki etkilerine ilişkin bazı gözlemler. J. Drug Target 2010, 18, 732-740. [[ÇaprazRef](#)]
25. Gallardo, V.; Morales, ME; Ruiz MA; Delgado, AV Etilselüloz lateksin stabilitesinin deneysel bir araştırması: Zeta potansiyeli ve sedimentasyon arasındaki korelasyon. Avro. J. Ecz. bilim 2005, 26, 170-175. [[ÇaprazRef](#)]
26. Vainio, U.; Lauten, RA; Serimaa, R. Sulu lignosülfonatın küçük açılı X-ışını saçılımı ve reolojik karakterizasyonu çözümler. Langmuir 2008, 24, 7735-7743. [[ÇaprazRef](#)]
27. Zheng, Y.; Wu, Y.; Yang, W.; Wang, C.; Fu, S.; Shen, X. Kitosanın in vitro hazırlanması, karakterizasyonu ve ilaç salınımı glisretik asit nanoparçacıkları. J. Ecz. bilim 2006, 95, 181-191. [[ÇaprazRef](#)]
28. Kesavan, K.; Kant, S.; Singh, PN; Pandit, JK Oküler için deksametazonun mukoadhezif kitosan kaplı katyonik mikroemülsiyonu teslimat: In vitro ve in vivo değerlendirme. Curr. Göz Çöz. 2013, 38, 342-352. [[ÇaprazRef](#)]
29. Yamasaki, K.; Sakurama, K.; Nishi, K.; Watanabe, H.; Maruyama, T.; Seo, H.; Otagiri, M.; Taguchi, K. Daptomisin İnsan Serum Albümini Üzerindeki Site II ile Etkileşiminin Karakterizasyonu. J. Ecz. bilim 2020, 109, 2919-2924. [[ÇaprazRef](#)]
30. Cao, W.; O, L.; Cao, W.; Huang, X.; Jia, K.; Dai, J. Potansiyel bir aşı taşıyıcısı ve yardımcı madde olarak grafen oksidini son gelişimi. Açta Biyomater. 2020, 112, 14-28. [[ÇaprazRef](#)]
31. Famil'tseva, A.; Jeremic, N.; Tyagi, SC Exosomes: Hücre tarafından oluşturulan ilaç dağıtım sistemleri. Mol. Hücre Biyokimyası 2019, 459, 1-6. [[ÇaprazRef](#)]
32. Sarecka-Hujar, B.; Banys, A.; Ostrozka-Cieslik, A.; Balwierz, R.; Dolinska, B. Seçilmiş kronik hastalıklarda aktif maddeler içeren nanoparçacıkların potansiyelinin değerlendirilmesi. Av. klinik Tecrübe. Med. 2020, 29, 385-397. [[ÇaprazRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Anarjan, N.; Nehdi, İA; Sbihi, HM; Al-Resayes, SI; Malmiri, HJ; Tan, CP Nanodağılımlar kullanılarak astaksantin hazırlanması jelatin bazlı stabilizatör sistemleri. Moleküller 2014, 19, 14257-14265. [[ÇaprazRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Winkler, J.; Ghosh, S. Fulvik Asit Kronik Enflamatuvar Hastalıklar ve Diyabette Terapötik Potansiyeli. J. Diyabet Res. 2018, 10, 5391014. [[CrossRef](#)]
35. Zamoshchina, TA; Zikova, MV; Gostyukhina, AA; Logvinova, Los Angeles; Zaitsev, KV; Lasukova, televizyon; Svetlik, MV; Kurtseviç, EA; Abdulkina, NG; Belousov, MV; et al. Ova Turbasından Alınan Hümik Asitlerin Serum Laktat ve Kortikosteron İle İlişkili Olarak Zorunlu Yüzme Testinde Sıçanların Dayanıklılığı Üzerine Etkisi. Boğa. Tecrübe. Biol. 2020, 169, 734-737. [[ÇaprazRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Hou, D.; O, J.; Lü, C.; Wang, W.; Zhang, F. Hümik Maddelerin Mekansal Dağılımları ve Sediment Organik İndeksinin Değerlendirilmesi Dalinouer Gölü, Çin. J. Geochem. 2014, 3, 1-13. [[ÇaprazRef](#)]
37. Zhernov, YV; Konstantinov, AI; Zhrebek, A.; Nikolaev, E.; Orlov, A.; Savinykh, M.I.; Kornilaeva, GV; Karamov, EV; Perminova, IV Doğal hümik maddelerin ve shilajit maddelerinin HIV-1'e karşı antiviral etkinliği: Yapıyla ilişkisi. çevre. Res. 2021, 193, 110312. [[CrossRef](#)]

38. Lomovskiy, I.; Bychkov, A.; Lomovsky, O.; Skripkina, T. Biyofinasyon için Mekanokimyasal ve Boyut Küçültme Makineleri. *moleküller* 2020, 16, 5345. [[CrossRef](#)]
39. Esfahani, MR; Stretz, HA; Wells, MJ Abiyotik dinamik ışık saçılımı ve zeta potansiyeli araştırması ile düşük elektrolitik iletkenlik solüsyonlarında fulvik ve hümik asit agregatlarının tersine çevrilebilir kendi kendine montajı . *bilim Toplam Çevre*. 2015, 15, 81–92. [[ÇaprazRef](#)]
40. Nosik, DN; Nosik, NN; Teplyakova, TV; Kiseleva, IA; Kondrashina, NG; Boçkova, MS; Ananko, GG İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü (Retroviridae: Orthoretrovirinae: Lentivirus: İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü 1) ve Herpes Simplex Virüsü (Herpesviridae: Simplexvirus: Human alphaherpesvirus 1)'e karşı basidiomycetes ve hümik bileşik maddelerinin ekstraktlarının antiviral aktivitesi . *Vopr Virusol*. 2020, 65, 276–283.
41. Lu, FJ; Tseng, SN; Li, ML; Shih, SR Protokatekuik asitten türetilen sentetik hümik analoglarının in vitro anti-grip virüsü aktivitesi. *Ark. Virol*. 2002, 147, 273–284. [[ÇaprazRef](#)]
42. Klocking, R.; Helbig, B.; Schotz, G.; Şake, M.; Wutzler, P. Türetilmiş sentetik hümik asit benzeri polimerlerin Anti-HSV-1 aktivitesi p-difenolik başlangıç bileşiklerinden. *Antivir. kimya kimyager*. 2002, 13, 241–249. [[ÇaprazRef](#)]
43. Orlov, AA; Zhrebker, A.; Eletskaia, AA; Çernikov, VS; Kozlovskaya, LI; Zhernov, YV; Kostyukovich, Y.; Palulin, VA; Nikolaev, TR; Osolodkin, DI; et al. ChEMBL veri tabanında FTICR MS veri madenciliği ile hümik maddelerin biyoaktif bileşenlerinin moleküler alanının ve uygulanabilir yapılarının incelenmesi . *bilim Rep*. 2019, 9, 12066. [[CrossRef](#)]
44. Nosburg, CE; Dekker, AS Oksifülvik asidin antimikrobiyal aktivitesinin in vitro araştırılması. *J. Antimikrob. kimyager*. 2000, 46, 853–854. [[ÇaprazRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Wu, M.; Şarkı, M.; Liu, M.; Jiang, C.; Li, Z. Yetiştirme kronosansı ile sera sebze tarlalarında kimyasal yapılarıyla ilgili olarak toprak humik/fulvik asitlerinin fungisidal aktiviteleri . *bilim Rep*. 2016, 6, 32858. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Zhernov, YV; Kremb, S.; Helfer, M.; Schindler, M.; Harir, M.; Müller, C.; Hertkorn, N.; Avvakumova, NP; Konstantinov, AI; Brack-Werner, R.; et al. Polimodal anti-HIV aktivitelerine sahip güçlü mikrop öldürücüler olarak hümik polianyonların supramoleküler kombinasyonları. *Yeni J. Chem*. 2017, 41, 212–224. [[ÇaprazRef](#)]
47. Hafız, M.; Popov, AI; Zelenkov, VN; Teplyakova, TV; Rashad, M. Çevre dostu bir organik madde olarak hümik maddeler atıklar potansiyel olarak COVID-19'u inhibe etmek için doğal bir anti-virüs olarak yardımcı olur. *bilim Ark*. 2020, 1, 53–60. [[ÇaprazRef](#)]
48. Szabo, OE; Csiszar, E.; Toth, K.; Szakacs, G.; Koczka, B. Katı hal fermantasyonu ile üretilen hidrolitik ve oksidatif enzimlerin ultrason destekli ekstraksiyonu ve karakterizasyonu . *ultrason. Sonochem*. 2015, 22, 249–256. [[ÇaprazRef](#)]
49. İleleji, KE; Garcia, AA; Kingsly, ARP; Clementsson, CL Mısır Damıtıcılarında Kurutulmuş Tanelerin Çözünebilir Maddelerle Nem İçeriğinin Belirlenmesi İçin Kurutmada Standart Nem Kaybı Yöntemlerinin Karşılaştırılması . *J. AOAC Uluslararası* 2010, 93, 825–832. [[ÇaprazRef](#)]
50. Xu, K.; Martinez, MM; Yang, B.; Guo, M. Bamyadan elde edilen LM-pektinlerin ince yapısı, fizikokimyasal ve antioksidan özellikleri bakla farklı teknikler altında kurutuldu. *Karbonhidrat. Polim*. 2020, 241, 116272. [[CrossRef](#)]
51. Granat, M.; Cieloszyk, J.; Kowalska, U.; Buczkowska-Radłńska, J.; Łagocka, R. İki Aşamalı Parlatma Prosedüründen Sonra Dört Geleneksel Nanohibrit Reçine Esaslı Kompozitin ve Dört Normal Viskoziteli Toplu Dolgu Reçine Esaslı Kompozitin Yüzey Geometrisi. *Biyomed. Res. Int*. 2020, 12, 6203053. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Syroeshkin, AV; Uspenskaya, EV; Pleteneva, TV; Morozova, MA; Zlatskiy, IA; Koldina, AM; Nikiforova, MV Farmasötik Maddelerde Fiziksel, Kimyasal ve Biyolojik Değişikliklere Yol Açan Bileşiklerin Mekanik Dönüşümü. *bilim Dünya J*. 2018, 8, 8905471. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Kamanina, NV; Likhomanova, SV; Kuzhakov, Spektrometre için KBr Malzemelerinin Yüzey Yapısının PV Avantajları ve Sensörler. *sensörler*. 2018, 18, 3013. [[CrossRef](#)]
54. Morozova, MA; Koldina, AM; Maksimova, TV; Marukhlenko, AV; Zlatsky, IA; Syroeshkin, AV Yavaş yarı kinetik değişiklikler depolama sırasında su-laktoz komplekslerinde. *Int. J.Uygulama eczane* 2021, 13, 227–232. [[ÇaprazRef](#)]
55. Zhdanov, VP Kısmi kayma sınır koşulu, DLS ve NTA verilerinin yorumlanmasını nasıl etkileyebilir? *J. Biol. fizik* 2020, 46, 169–176. [[ÇaprazRef](#)]
56. Liu, Y.; Pan, J.; Hu, Z.; Chu, Y.; Han, MS; Tang, K.; Guo, L.; Lau, C. Elektrokimyasal anotlanmış nano gözenekli kalay dioksit substratı kullanılarak kahve halkası etkisinin bastırılmasıyla kurutulmuş damlacık ön işleme için stabilize iyileştirmesi . *Mikrochim. Acta* 2020, 187, 664. [[ÇaprazRef](#)] [[PubMed](#)]
57. Dmitriev, AS; Makarov, PG Bağlı Olarak Fe2O3 Nanokolloid Damlacıklarının Kurutma Dinamiklerini İncelemek İçin Optik Yöntemler Yüzey Sıcaklığının Değişimi. *Uygulama makine Anne*. 2015, 789–790, 33–37. [[ÇaprazRef](#)]
58. Picknett, R.; Bexon, R. Durgun havada sapsız veya asılı damlaların buharlaşması. *J. Kolloid Arayüz Sci*. 1977, 61, 336–350. [[ÇaprazRef](#)]
59. Ren, J.; Crivoi, A.; Duan, F. Geliştirilmiş Marangoni Etkisi ve Parçacık Yüzey Adsorpsiyonu ile Sabit Bir Nanoakışkan Damlacık Kurutmasında Disk Halkası Birikimi . *Langmuir* 2020, 36, 15064–15074. [[ÇaprazRef](#)] [[PubMed](#)]
60. Gupta, S.; Chokshi, Küresel Olarak Sınırlanmış İki Bloklü Kopolimerler İçinde Polimer Aşılı Nanopartiküllerin P. Kendiliğinden Montajı. *J. Phys. kimya B* 2020, 124, 11738–11749. [[ÇaprazRef](#)]
61. Jung, S.; Lee, J.; Lim, J.; Suh, J.; Kim, T.; Ahn, J.; Kim, WJ; Kim, Y. Çip Üzerinde Kendinden Montajla Kontrol Edilen Polimerik Nanopartiküller Kanser Tedavisinin Etkinliğini Artırır. *Av. Sağlık Anne*. 2020, 9, 2001633. [[CrossRef](#)]
62. Crupi, V.; Epasto, G.; Guglielmino, E.; Marinò, A. Kaynak Gözeneklilik Kusurlarının Gemi Yapılarında Kullanılan AH36 Alın Bağlantılarının Yorulma Mukavemeti Üzerindeki Etkisi. *Metaller* 2021, 11, 444–462. [[ÇaprazRef](#)]
63. Kumar, S.; Koh, J. Biyomedikal Uygulamalar için Kitosan-Kromon Türevinin Fizikokimyasal, Optik ve Biyolojik Aktivitesi. *Int. J. Mol. bilim* 2012, 13, 6102–6116. [[ÇaprazRef](#)]

64. Lim, SF; Zheng, YM; Zou, SW; Chen, JP Kombine bir FT-IR, XPS ve matematiksel modelleme çalışmasıyla aljinat kapsüllü manyetik sorbent üzerine bakır adsorpsiyonunun karakterizasyonu . çevre. bilim Teknoloji 2008, 42, 2551-2556. [[ÇaprazRef](#)]
65. Zeng, S.; Cao, Y.; Sang, W.; Aydınlatılmış.; Gan, N.; Zheng, L. Poli Dimetil Dialil Amonyum Klorür ile Fe₃O₄ Aşılı Çok Duvarlı Karbon Nanotüpler Kullanılarak Sulu Çözeltilerden Poliklorlanmış Bifenillerin Zenginleştirilmesi . Int. J. Mol. bilim 2012, 13, 6382-6398. [[ÇaprazRef](#)] [[PubMed](#)]
66. Akkol, EK; Genç, Y.; Karpuz, B.; Sobarzo-Sánchez, E.; Capasso, R. Kanser Farmakoterapisinde Kumarinler ve Kumarinle İlgili Bileşikler . Yengeçler 2020, 12, 1959. [[CrossRef](#)]
67. Şi, H.; Nagai, J.; Sakatsume, T.; Bandow, K.; Okudaira, N.; Uesava, Y.; Sakagami, H.; Tomomura, M.; Tomomura, A.; Takao, K.; et al. 3-(N-Siklikamino)kromon Türevlerinin Kantitatif Yapısı-Sitotoksiste İlişkisi. Antikanser Res. 2018, 38, 4459-4467. [[ÇaprazRef](#)] [[PubMed](#)]
68. Lewandowski, W.; Lewandowska, H.; Golonko, A.; Swiderski, G.; Swislocka, R.; Kalinowska, M. Moleküler yapı ile diyet kromon türevlerinin "mantıksal serisindeki" biyolojik aktivite arasındaki ilişkiler. PLoS BİR 2020, 15, 0229477. [[CrossRef](#)]
69. Zanin, L.; Tomasi, N.; Cesco, S.; Varanini, Z.; Pinton, R. Humik Maddeler, Şelatör Olarak Hareket Eden Bitkisel Demir Utrasyonuna Katkıda Bulunur ve Biyostimulanlar. Ön. Bitki Bilimi 2019, 10, 675. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
70. Fuentes, M.; Olaetxea, M.; Baigorri, R.; Zamarreno, AM; Etienne, P.; Laine, P.; Ourry, A.; Yvin, JC; Garcia-Mina, JM Hüyük bazı yapılarında Fe(III) ve Cu(II) kompleksleşmesinde yer alan ana bağlanma bölgeleri. J. Geochem. Tecrübe. 2013, 129, 14-17. [[ÇaprazRef](#)]
71. Gerke, J. Fe(III)'ün hüyük-Fe komplekslerinden, hüyük/Fe-oksit karışımlarından ve kötü düzenlenmiş Fe-oksitten organik asitler tarafından çözündürülmesi-P adsorpsiyonunun sonuçları. Z. Pflanz. Bodenkd. 1993, 156, 253-257. [[ÇaprazRef](#)]
72. Lucena, JJ Fe, strateji I bitkilerinde klorozun iyileştirilmesi için şelatlar. J. Bitki Besleyici. 2003, 26, 1969-1984. [[ÇaprazRef](#)]
73. Thomas, N.; Mimmo, T.; Terzano, R.; Alfeld, M.; Janssens, K.; Zanin, L.; Pinton, R.; Varanini, Z.; Cesco, S. Doğal Fe-kompleksleri ile işlenmiş Fe eksikliği olan hiyar bitkilerinin yapraklarındaki besin maddelerinin besin birikimi. Biol. Fert. Topraklar 2014, 50, 973-982. [[ÇaprazRef](#)]
74. Sabadasch, V.; Wiehemeier, L.; Kotke, T.; Hellweg, T. Katalitik paladyum nanoparçacıkları için ısıya duyarlı taşıyıcılar olarak çekirdek kabuğu mikrojelleri . Yumuşak Madde 2020, 16, 5422-5430. [[ÇaprazRef](#)]
75. Schneider, J.; Jallouk, AP; Vasquez, D.; Thomann, R.; Unut, A.; Pino, CJ; Shastri, VP Polimer nanoparçacık boyutunu ve yapısını etkilemek için bir araç olarak yüzey işlevselliği . Langmuir 2013, 29, 4092-4095. [[ÇaprazRef](#)] [[PubMed](#)]
76. Tang, Y.; Huang, Y.; Chen, Y.; Lu, L.; Wang, C.; Güneş, T.; Wang, M.; Zhu, G.; Yang, Y.; Zhang, L. Canlı hücrelerde Cd²⁺ 'ye doğru "açma" floresan probu olarak bir kumarin türevi . Spektrokim. Açta A Mol. Biyomol. Spectrosc. 2019, 218, 359-365. [[ÇaprazRef](#)] [[PubMed](#)]
77. Wani, MA; Singh, PK; Pandey, R.; Pandey, MD Coumarin-pyrene konjugatı: Sentez, yapı ve Cu-seçici floresan memeli böbrek hücrelerinde algılama. J. Lumin. 2016, 171, 159-165. [[ÇaprazRef](#)]
78. Yanar, Ü.; Babür, B.; Pekyılmaz, D.; Yahaya, I.; Aydın, B.; Dede, Y.; Seferoğlu, Z. Anyonlar için oranmetrik bir kemosensör olarak bir flüoresan kumarin-tiyofen hibriti : Sentez, fotofizik, anyon algılama ve yörünge etkileşimleri. J. Mol. Yapı. 2016, 1108, 269-277. [[ÇaprazRef](#)]
79. Rodriguez-Delgado, MA; Malovana, S.; Perez, JP; Borges, T.; Garcia Montelongo, FJ Absorbans ve florimetrik algılama ile yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile fenolik bileşiklerin ayrılması. J. Kromatr. 2001 , 912, 249-257. [[ÇaprazRef](#)]
80. Huang, J.; Yan, Z.; Qiu, P.; Mo, Y.; Cao, S.; Li, Q.; Huo, L.; Zhao, L. Fe³⁺ için Floresans Sondası Olarak Yeni Bir Kumarin-Akridon Bileşik ve Canlı Hücreler ve Zebra Balığındaki Uygulaması. Moleküller 2021, 26, 2115. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
81. Suhaimi, SH; Hasham, R.; Rosli, NA Formülasyon parametrelerinin ortosifonun partikül boyutu ve polidispersite indeksi üzerindeki etkileri stamineus yüklü nanoyapılı lipid taşıyıcı. JARAS 2015, 1, 36-39.
82. Melekaslan, D.; Okay, O. Polimer solüsyonlarında güçlü polielektrolit hidrojellerin şişmesi: İyon çifti oluşumunun polimer çökmesine etkisi. Polimer 2000, 41, 5737-5747. [[ÇaprazRef](#)]
83. Jurado, Los Angeles; Espinosa-Marzal, RM Grafen Üzerindeki Bir İyonik Sıvının Elektriksel Çift Katmanına Bakış. bilim 2017 , 26, 4225. [[ÇaprazRef](#)]
84. Ogando, NS; Dalebout, TJ; Zevenhoven-Dobbe, JC; Limpens, RW; van der Meer, Y.; Caly, L.; Druce, J.; de Vries, JJ; Dürbün, M.; Barcena, M.; et al. SARS-coronavirus-2'nin Vero E6 hücrelerinde replikasyonu: Replikasyon kinetiği, hızlı adaptasyon ve sitopatoloji. J. General Virol. 2020, 101, 925-940. [[ÇaprazRef](#)]
85. Lan, J.; Ge, J.; Yu, J.; Shan, S.; Zhou, H.; Fan, S.; Zhang, Q.; .; ve diğ. SARS-CoV-2'nin Yapısı başak ACE2 reseptörüne bağlı reseptör bağlama alanı. Doğa 2020, 581, 215-220. [[ÇaprazRef](#)]
86. Hoffmann, M.; Kleine-Weber, H.; Schroeder, S.; Krüger, N.; Herrler, T.; Erichsen, S.; Schiergens, TS; Herrler, G.; Wu, NH; Nitsche, A.; et al. SARS-CoV-2 Hücre Girişi, ACE2 ve TMPRSS2'ye Bağlıdır ve Klinik Olarak Kanıtlanmış Bir Proteaz İnhibitörü Tarafından Bloke Edilir. Hücre 2020, 16, 271-280. [[ÇaprazRef](#)] [[PubMed](#)]
87. Shang, J.; Van, Y.; Luo, C.; Ye, G.; Geng, S.; Auerbach, A.; Li, F. SARS-CoV-2'nin hücre girişi mekanizmaları. Proc. Natl. Acad. bilim Amerika Birleşik Devletleri 2020, 26, 11727-11734. [[ÇaprazRef](#)]
88. Ginsburg, I.; Fibach, E. SARS-CoV-2 enfeksiyonunda polikasyonlar ve polianyonlar. Med. Hipotezler 2021, 146, 110470. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
89. Kwon, PS; Aah.; Kwon, SJ Sülfatlanmış polisakkaritler , in vitro olarak SARS-CoV-2'yi etkili bir şekilde inhibe eder. Hücre Keşfi 2020, 6, 50. [[CrossRef](#)]

90. Fitton, JH; Park, AY; Karpinić, SS; Stringer, DN Fucoïdan ve Akcięer Fonksiyonu: Viral Enfeksiyonda Deęer. Mart Uyuřturucu 2021, 19, 4. [[ÇaprazRef](#)] [[PubMed](#)]
91. Van Weelden, G.; Bobinski, M.; Okla, K.; Van Welden, WJ; Romano, A.; Pijnenborg, JM Fucoïdan'ın Yapısı ve Aktivitesi Anti-Kanser Mekanizmalarıyla İlişkisi. Mart Uyuşturucu 2019, 17, 32. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
92. Aguilar-Briseño, JA; Cruz-Suarez, LE; Sasi, JF; Rique-Marie, D.; Zapata-Benavides, P.; Mendoza-Gamboa, E.; Rodriguez Padilla, C.; Trejo-Avila, LM *Ulva clathrata* ve *Cladosiphon okamuranus* deniz yosunlarından elde edilen sülfatlanmış polisakkaritler, NDV enfeksiyonunda hem viral bağlanmayı/girişi hem de hücre-hücre füzyonunu inhibe eder. Mart Uyuřturucular 2015, 13, 697–712. [[ÇaprazRef](#)] [[PubMed](#)]
93. Luthuli, S.; Wu, S.; Cheng, Y.; Zheng, X.; Wu, M.; Tong, H. Fucoïdan'ın Terapötik Etkileri: Son Çalışmalar Üzerine Bir İnceleme. Mart Uyuřturucular 2019, 21, 487. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]