

AKTIVITAS SULFUR DAN SELENIUM NANOPARTIKEL TERHADAP CACING *Steinernema feltiae* DAN PERBANDINGAN TOKSISITASNYA TERHADAP SEL NEUROBLASTOMA (*NEURO 2A CELL LINES*)

Activities of Sulphur and Selenium Nanoparticles against Steinernema feltiae and Their Toxicities against Neuroblastoma Cells (Neuro 2a Cell Lines)

Khairan Khairan¹, Rinaldi Idroes¹, Muhammad Bahi², Karl Herbert Schaefer³, Thomas Schneider⁴, dan Claus Jacob⁴

¹Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

³University of Applied Sciences, FH-Kaiserslautern, Standort-Zweibruecken, Germany

⁴School of Pharmacy, Universitaet des Saarlandes, Saarbruecken, Saarland, Germany

E-mail: khannazia_yusuf@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui aktivitas sulfur dan selenium nanopartikel terhadap cacing *Steinernema feltiae* (*S. feltiae*) dan perbandingan toksisitasnya terhadap sel neuroblastoma (*neuro 2A*). Sulfur dan selenium nanopartikel "aqueous nanoparticles" dikarakterisasi menggunakan Nano Zetasizer pada pH 7 dan suhu 25° C. Dalam penelitian ini uji nematoda dilakukan terhadap *S. feltiae*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sulfur nanopartikel mempunyai aktivitas yang sangat tinggi terhadap *S. feltiae* dengan *lethal dose* 50 (LD₅₀) berkisar pada 6,99 µg/ml setelah 24 jam inkubasi. Sementara itu, *live and dead assay* dilakukan terhadap neuroblastoma sel (*Neuro 2A cell lines*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa 'aqueous' sulfur nanopartikel (NPS) menunjukkan aktivitas yang lebih baik dibandingkan dengan 'aqueous' selenium nanopartikel (NPSe) terhadap sel neuroblastoma (*neuro 2A cell lines*) dengan IC₅₀ < 1 µg/ml.

Kata kunci: sulfur nanopartikel, selenium nanopartikel, *Steinernema feltiae*, *neuro 2A cell lines*

ABSTRACT

This study was aimed to investigate the activities of sulphur and selenium nanoparticles against *Steinernema feltiae* (*S. feltiae*) and their related toxicities against neuroblastoma cells (*neuro 2A*). Aqueous nanoparticles of sulphur and selenium nanoparticles were characterized with a Zetasizer nano at pH 7 and 25° C. The nematode assay was conducted using *S. feltiae*. The results showed that aqueous sulphur nanoparticles (SNPs) revealed better activities than aqueous selenium nanoparticles (SeNPs) against *S. feltiae* with *lethal dose* 50 (LD₅₀) around 6,99 µg/mL after incubation for 24 hrs. Meanwhile, *live and dead assay* of cells were conducted by using *Neuro 2A cell lines*. *Live and dead assay* showed that aqueous sulphur nanoparticles (SNPs) revealed better activities than aqueous nanoparticles of selenium (SeNPs) against neuroblastoma cells with IC₅₀ was < 1 µg/mL.

Key words: sulphur nanoparticles, selenium nanoparticles, *Steinernema feltiae*, and *neuro 2A cell lines*

PENDAHULUAN

Hampir semua tanaman, bakteri, dan jamur mengandung senyawa sulfur organik (SSO), yang telah diketahui mempunyai aktivitas biologis. *Allicin* dan beberapa senyawa polisulfan (senyawa yang mengandung beberapa atom sulfur pada rantai atomnya) yang dihasilkan dari ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) telah banyak menjadi pusat perhatian beberapa peneliti karena aktivitasnya terhadap bakteri, jamur, dan beberapa sel kanker. Senyawa polisulfan dalam konteks pengembangan obat telah mampu menunjukkan aktivitas antimikroba, antikanker, dan obat pestisida alami yang ramah lingkungan (*green and eco-friendly pesticides*) (Jacob *et al.*, 2003).

Aktivitas SSO seperti senyawa polisulfan diketahui selalu berkaitan dengan *reactive sulphur species* (RSS) karena sifat antioksidannya. Semua sifat aktivitas senyawa polisulfan juga ditemukan pada cincin S₈ dari atom sulfur. Secara struktur kimia, kedua senyawa polisulfan dan element S₈ mampu bereaksi dengan sistein dalam biomolekul, seperti protein dan enzim (Shafer *et al.*, 2001; dan Jacob *et al.*, 2003). Bentuk

tereduksi dari senyawa polisulfan dan element S₈ seperti RS_xH (R= H, x ≥ 2) untuk polisulfan dan H₂S_x (x ≥ 2) diketahui mampu membentuk radikal superoksida (O₂⁻). Dalam biomolekul, senyawa polisulfan akan berikatan dengan ion-ion logam (seperti Fe, Cu, dan Zn) dan selanjutnya akan berinteraksi dengan membran sel dan protein (Jacob, 2006). Dibandingkan dengan senyawa polisulfan (seperti senyawa diallyltri-, tetra-, penta-, atau heksasulfida), senyawa S₈ bersifat lebih stabil, lebih mudah tersedia (sintesisnya mudah), dan tidak berbau (*odorless*). Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa sulfur nanopartikel mempunyai aktivitas antibakteri seperti *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* (Winyard *et al.*, 2005; Jacob, 2011; Jacob *et al.*, 2012).

Dalam sistem periodik atom sulfur (S) dan selenium (Se) adalah atom-atom golongan oksigen sehingga disebut sebagai *chalcogen-based atom*. Saat ini, penelitian tentang nanopartikel dan aplikasinya terhadap beberapa organisme masih sangat terbatas karena sifat kelarutannya dalam sistem biologis (Giles *et al.*, 2003). Namun pada penelitian ini, diperkenalkan

sintesis “aqueous sulfur nanoparticles” dari Na_2SO_3 dan $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$. Sintesis nanopartikel ini sangat sederhana dan mampu menghasilkan partikel yang stabil dan dapat digunakan untuk skala produksi yang besar (*large-scale production*) (Schneider *et al.*, 2012).

MATERI DAN METODE

Semua bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah berasal dari Sigma Aldrich (Darmstadt, Jerman). Semua larutan yang digunakan menggunakan air *deionized MilliQ* ($R= 18.2 \text{ M}\Omega$). *Steinernema feltiae* (*S. feltiae*) yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari Sautter & Stepper, Ammerbuch, Jerman. Sementara kultur sel neuroblastoma (*neuro 2A cell lines*) diperoleh atas kebaikan Prof. Dr. Karl Herbert Schaefer dari University of Applied Sciences Kaiserslautern, Zweibruecken, Jerman.

Sintesis Nanopartikel

Sulfur nanopartikel disintesis dan dimurnikan berdasarkan prosedur yang telah dikembangkan oleh Bomhard dan Lange (Schneider *et al.*, 2012) dengan sedikit modifikasi. Setelah tahapan sintesis, nanopartikel dicuci secara ekstensif menggunakan air *deionized MilliQ* ($R= 18.2 \text{ M}\Omega$) dan selanjutnya disentrifugasi beberapa kali untuk menghilangkan zat-zat pengotor dan zat-zat yang tidak bereaksi lainnya. Larutan sulfur nanopartikel selanjutnya disaring menggunakan *syringe filter* yang mengandung membran selulosa asetat ($w/0.2 \mu\text{m}$). Selenium nanopartikel disintesis dan dimurnikan berdasarkan prosedur Chen *et al.* (2010) dengan sedikit modifikasi (Schneider *et al.*, 2012).

Karakterisasi Nanopartikel

Karakterisasi nanopartikel menggunakan Nano Zetasizer (Malvern Instruments Ltd, Germany), semua karakterisasi nanopartikel diukur pada pH 7 dan suhu 25°C , dengan pengulangan tiga kali. Karakterisasi nanopartikel dilakukan di Universitas des Saarlandes, Saarbruecken, Germany.

Nematode Assay

Nematoda *Steinernema feltiae* yang digunakan dalam penelitian ini dalam bentuk *soft cake* yang dibeli dari Sautter & Stepper. Segera setelah diterima dari pemesanan, *soft cake* cacing ini disimpan pada suhu $4-8^\circ \text{C}$ dan dikeluarkan saat digunakan. Untuk pengujian nematoda, dilarutkan 200 mg soft cake *Steinernema feltiae* dalam 50 ml akuades sehingga membentuk larutan suspensi. Sebelum digunakan, larutan suspensi ini kemudian didiamkan selama 10-15 menit pada suhu ruang untuk menghidupkan atau membangunkan kembali cacing *Steinernema feltiae*. Untuk uji aktivitas, larutan suspensi dilarutkan dalam sampel berdasarkan variasi konsentrasi. Konsentrasi akhir untuk uji aktivitas sampel adalah 1, 5, 10, 25, 50, 75, 100, 250, dan 500 mg/ml. Untuk negatif kontrol, 100 μl larutan suspensi cacing dimasukkan ke dalam satu *well-plate*

steril (96 *well plate flat bottom tissue cell culture*). Untuk setiap konsentrasi dibuat tiga kali pengulangan. Untuk setiap kali pengulangan, dibuat tiga sampel, dan setiap sampel berisi 100 μl larutan sampel yang telah berisi suspensi *S. feltiae*. Nematoda yang hidup dan yang mati dihitung segera setelah inkubasi terhadap sampel dengan menggunakan mikroskop (*four-fold magnification*). Kemudian dianalisis persen viabilitas nematoda terhadap sampel uji. Selanjutnya *plate* uji ditutup dan diinkubasi pada suhu ruang dalam ruang tertutup. Selanjutnya dilakukan penghitungan kembali setelah 24 jam pemaparan (Sarakbi, 2009).

Uji Sel Hidup dan Sel Mati

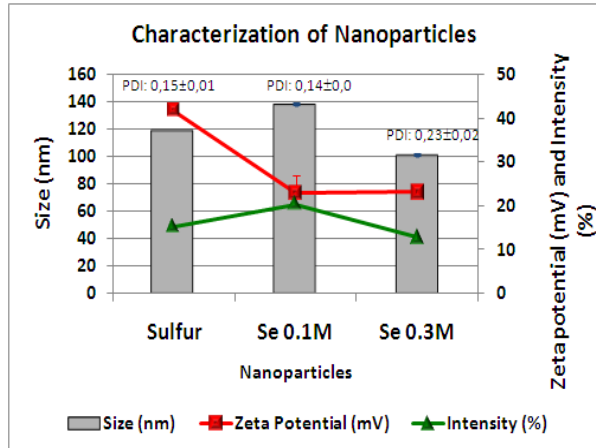
Sel *neuro 2A* adalah suatu neuroblastoma sel pada tikus. Sel *neuro 2A* ditumbuhkan dalam media *Dulbecco's modified eagle's medium* (DMEM) yang mengandung 10% *fetal bovine serum* (FBS), 1% penisilin/streptomisin, dan 1% asam amino non-esensial (NEAA). Sel kemudian dikulturkan pada suhu 37°C dengan CO_2 atmosfer 5%. Sel selanjutnya ditumbuhkan dalam 96 *well plate flat bottom tissue cell culture* dengan densitas sel setiap *well* nya adalah 10.000 sel. Sel selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dengan CO_2 atmosfer 5%. Setelah 24 jam, kultur media selanjutnya diganti dengan 0,2 ml medium yang mengandung senyawa dengan konsentrasi 1, 10, 50, dan 100 μM dan diinkubasi untuk 24 jam selanjutnya pada suhu 37°C dengan CO_2 atmosfer 5%. Setelah diinkubasi, medium selanjutnya dicuci dengan 0,2 ml *phosphate buffer saline* (PBS). Larutan PBS selanjutnya dipindahkan dan diganti dengan *staining solution* dan kemudian diinkubasi selama 15 menit dengan CO_2 atmosfer 5%. Saat melakukan *staining* hindari kontak langsung dengan cahaya. Kuantifikasi sel dilakukan dengan menggunakan *fluorescence microscopy* dengan *image J software*. Dengan alat ini, sel yang hidup akan berpendar menghasilkan warna hijau, sementara sel yang mati akan berpendar menghasilkan warna merah. Selanjutnya dihitung jumlah sel yang hidup dan yang mati, kemudian viabilitas sel diekspresikan dengan membandingkan sel yang hidup dengan total jumlah sel yang ada dalam sampel (Doering *et al.*, 2012; Khairan, 2013).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sintesis Nanopartikel

Karakterisasi sulfur nanopartikel (NPS) menggunakan Nano Zetasizer menunjukkan bahwa NPS memiliki diameter partikel rata-rata sebesar 117,0 nm dengan *zeta* potensialnya sekitar $-41,6 \text{ mV}$ dan nilai PDI sebesar $0,15\% \pm 0,015$ seperti yang disajikan pada Gambar 1. Nilai *zeta* potensial menggambarkan perbedaan potensial di antara dua fase, yaitu fase padat dan fase cair dan dinyatakan dengan millivolt (mV). Sementara nilai PDI, menggambarkan rasio berat rata-rata dari massa molekul terhadap jumlah rata-rata massa molekul. Berdasarkan hasil analisis *X-ray*

diffraction (XRD, JEOL 2010 instrument from JEOL GmbH), NPS tidak mengandung adanya pengotor. Data ini didukung oleh hasil analisis yang menunjukkan tidak ada unsur atau zat pengotor lainnya seperti kristal garam.



Gambar 1. Karakterisasi sulfur dan selenium nanopartikel (distribusi ukuran partikel menggunakan analisis Nano Zetasizer pada suhu 25° C, pH 7). Polydispersity index (PDI) menggambarkan rasio berat rata-rata molekul terhadap jumlah rata-rata massa molekul.

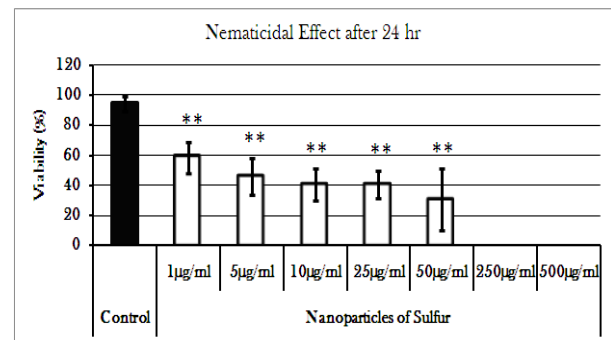
Sama halnya dengan NPS, selenium nanopartikel (NPSe) juga menunjukkan hasil dengan kemurnian yang tinggi, yaitu dengan bentuk partikel yang seragam, tetapi memiliki ukuran yang lebih kecil dari NPS dengan diameter partikel rata-rata NPSe 0,1 M dan 0,3 M berturut-turut sebesar 103,0 dan 99,0 nm. Perbedaan parameter kedua *chalcogen-particles* NPS dan NPSe disajikan pada Tabel 1.

Aktivitas Nanopartikel terhadap *Steinernema feltiae*

Sulfur nanopartikel adalah partikel yang memiliki rantai panjang atom sulfur-sulfur (S₈) atau disebut juga senyawa polisulfida karena mengandung rantai sulfur-sulfur. Sulfur nanopartikel akan bereaksi dengan thiol dari sistem seluler untuk membentuk disulfida dan spesies sulfida anorganik tereduksi (redoks). Bentuk redoks ini akan melarutkan partikel dan menghasilkan partikel reaktif dengan melepaskan beberapa spesies reaktif, atau secara biologi spesies aktif seperti H₂S dan polisulfida lainnya (Jacob *et al.*, 2003).

Proses mekanisme dijelaskan oleh beberapa ahli masih bersifat spekulatif, tetapi banyak para ahli telah membuktikan dengan mengetahui interaksi biokimia

seperti aksi spesies sulfur reaktif dengan beberapa komponen sel, termasuk protein yang sensitif terhadap reaksi redoks, *metalloprotein*, dan reaksi terhadap hidrofobik dan membran sel. Uji aktivitas sulfur dan selenium nanopartikel terhadap *S. feltiae* menunjukkan aktivitas yang sangat signifikan. Pemilihan cacing *S. feltiae* sebagai organisme uji dikarenakan organisme ini merupakan *higher organism*. Uji nematoda dilakukan terhadap beberapa konsentrasi untuk melihat reaktivitas dan toksisitas serta potensial aplikasinya dalam bidang pertanian. Konsentrasi yang digunakan untuk uji aktivitas sulfur dan selenium nanopartikel berkisar antara 1-500 µg/ml (Gambar 2).



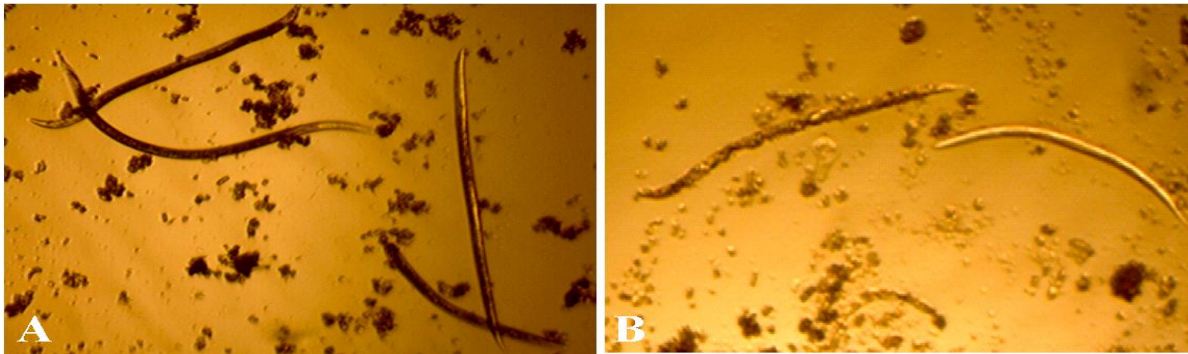
Gambar 2. Uji nematisidal sulfur nanopartikel setelah 24 jam perlakuan (dalam uji ini air digunakan sebagai kontrol dan diatur pada viabilitas 100%. Uji signifikansi diekspresikan terhadap kontrol. Data dinyatakan dalam persen viabilitas %±SD. Signifikansinya adalah: ns= P≥0,05; * = P<0,05; **= P<0,01, dan ***= P<0,001)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sulfur nanopartikel mempunyai aktivitas yang sangat tinggi dengan *lethal dose 50* (LD₅₀) berkisar pada 6,99 µg/ml setelah 24 jam perlakuan. Dari Gambar 2 terlihat bahwa sulfur nanopartikel pada pada konsentrasi 250 µg/ml dapat membunuh *S. feltiae* sampai 100%, artinya pada konsentrasi ini menunjukkan aktivitas yang sangat toksik yaitu semua organisme uji mengalami kematian yang sangat tinggi dengan persen viabilitasnya adalah 0%. Secara mikroskopik, hasil ini disajikan pada Gambar 3.

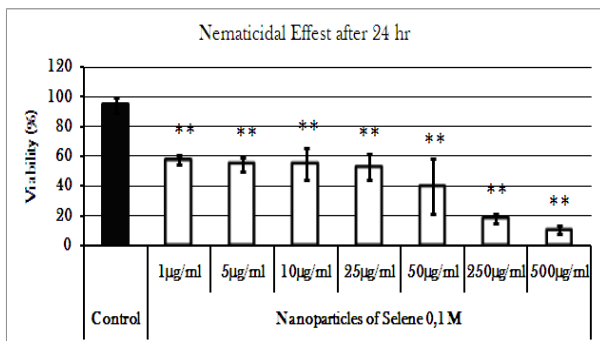
Uji aktivitas terhadap selenium nanopartikel menunjukkan aktivitas yang hampir sama terhadap *S. feltiae*, nilai LD₅₀ berkisar pada 43,50 µg/ml (Gambar 4 dan Gambar 5). Secara keseluruhan, hasil ini menunjukkan bahwa aktivitas sulfur nanopartikel memiliki aktivitas yang lebih baik dibandingkan dengan selenium nanopartikel.

Tabel 1. Sifat kimia dan sifat fisika sulfur dan selenium nanopartikel

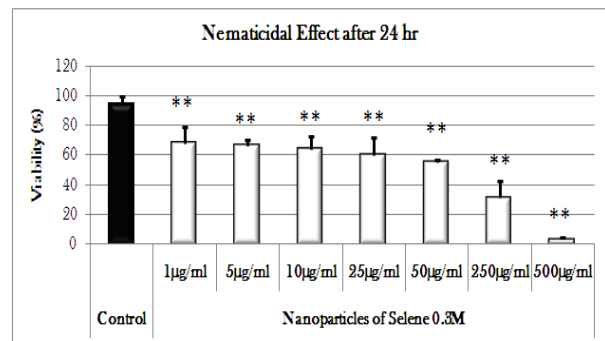
Nanopartikel	Starting material	Diameter/length (nm)	Zetapotential (mV)	PDI (%)
Sulfur (NPS)	Na ₂ SO ₃ Na ₂ S.9H ₂ O H ₂ SO ₄ concentrate	117,0 nm	-41,6 mV	0,15±0,015%
Selenium (NPSe)				
0,1 M	H ₂ SeO ₃ L-sistein	103,0 nm	+23,03 mV	0,141±0,035%
0,3 M	H ₂ SeO ₃ L-sistein	99,0 nm	+23,26 mV	0,23±0,02%



Gambar 3. Efek sulfur nanopartikel (NPS) terhadap *Steinerma feltiae* (A, kontrol, cacing *S. feltiae* sangat aktif; B, setelah inkubasi 24 jam. Viabilitas cacing *S. feltiae* diukur dibawah mikroskop pada 4 x pembesaran)



Gambar 4. Uji nematisidal selenium nanopartikel (NPSe 0,1M) setelah 24 jam perlakuan (dalam uji ini air digunakan sebagai kontrol dan diset pada viabilitas 100%. Uji signifikansi diekspresikan terhadap kontrol. Data dinyatakan dalam persen viabilitas \pm SD. Signifikansinya adalah: ns= $P \geq 0,05$; * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; dan *** = $P < 0,001$)



Gambar 5. Uji nematisidal selenium nanopartikel (NPSe 0,3M) setelah 24 jam perlakuan (dalam uji ini air digunakan sebagai kontrol dan diset pada viabilitas 100%. Uji signifikansi diekspresikan terhadap kontrol. Data dinyatakan dalam persen viabilitas \pm SD. Signifikansinya adalah: ns= $P \geq 0,05$; * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; dan *** = $P < 0,001$)

Uji Sel Hidup dan Sel Mati

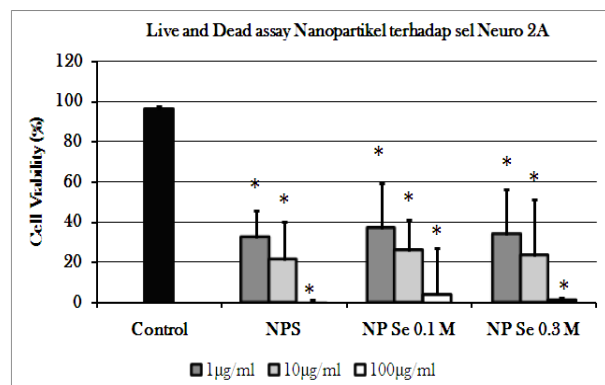
Aktivitas neuroblastoma sel (*neuro 2A cell lines*) ditentukan berdasarkan jumlah sel yang hidup dan yang mati, yaitu dengan melihat viabilitas sel dengan menggunakan *two-color fluorescense dyes (green and red)* seperti *calcein acetoxymethyl ester (calcein-AM)* dan *propidium iodide (PI)*. Sel selanjutnya dihitung secara bersamaan dengan menggunakan *fluorescense reader*.

Dibandingkan PI, *calcein-AM* adalah senyawa yang sangat lopofilik, karena itu, saat bila *calcein-AM* ini masuk ke dalam sel, tertahan didalam sitoplasma karena terjadi reaksi hidrolisis oleh enzim esterase yang terdapat di dalam sel. Reaksi ini mengakibatkan terjadi fluoresensi yang berwarna hijau pada sel. Sebaliknya, PI tidak tertahan di dalam sel. Senyawa ini langsung menuju nukleus melalui sel membran yang telah mati dan berinteraksi dengan *dexyribonucleic acid (DNA) double strand*, yang kemudian akan memancarkan fluoresensi yang berwarna merah *Calcein-AM* dan PI dapat digunakan secara terpisah atau secara bersamaan untuk identifikasi sel yang hidup atau sel yang mati.

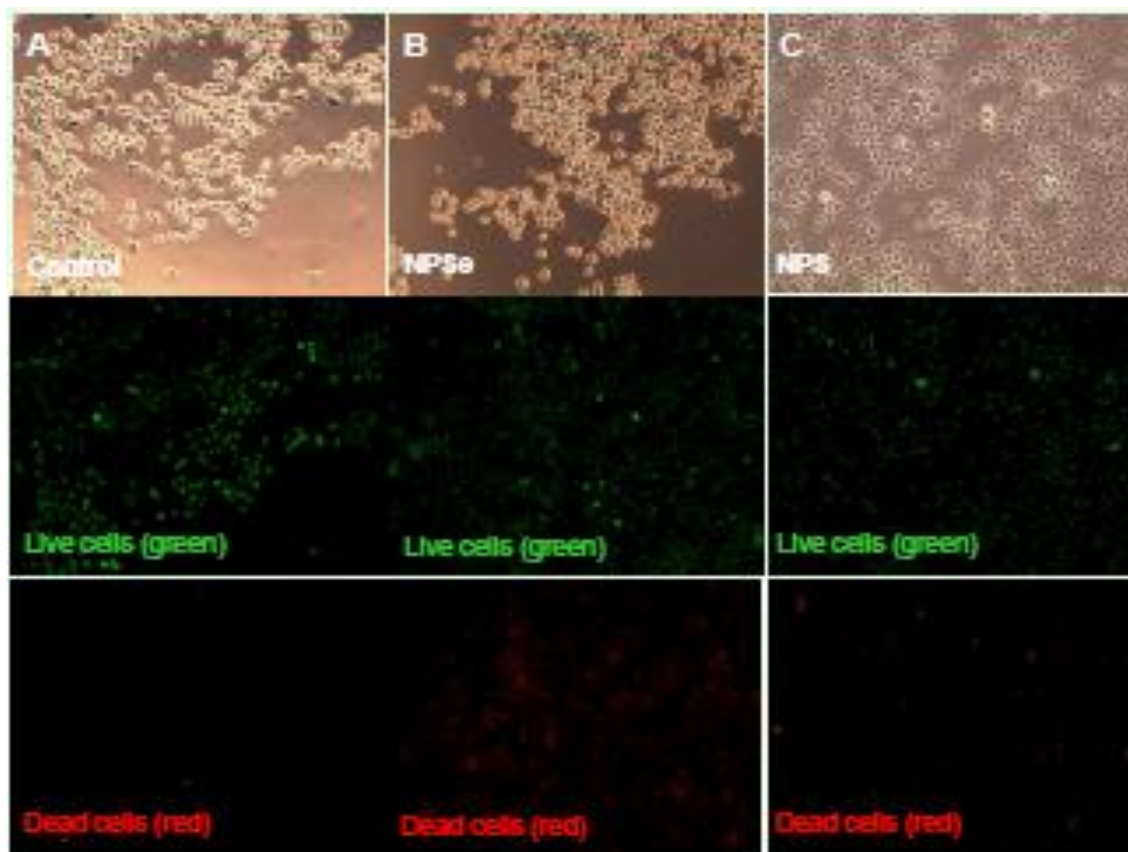
Dalam uji ini, *calcein-AM* dan PI digunakan sebagai *staining* sel untuk melihat viabilitas sel *neuro 2A cell lines*, yaitu suatu *murine neuroblastoma cell line*. Penggunaan *neuro 2A cell lines* sebagai bahan uji dikarenakan sel ini sering digunakan oleh peneliti sebagai model untuk fungsi sistem neuron karena sangat menyerupai dengan sistem neuron yang sebenarnya.

Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa, baik sulfur nanopartikel (NPS) maupun selenium

nanopartikel (NPSe) menunjukkan aktivitas yang sangat baik terhadap cacing *S. feltiae*. Sama halnya dengan hasil sebelumnya, ketiga nanopartikel tersebut juga menunjukkan toksisitas yang sangat tinggi terhadap sel neuroblastoma dengan nilai IC_{50} di bawah 1 µg/ml. Uji sel hidup dan sel mati sulfur nanopartikel (NPS) dan selenium nanopartikel (NPSe) terhadap *neuro 2A cell lines* disajikan pada Gambar 6 dan Gambar 7.



Gambar 6. *Live and dead assay neuro 2A cell lines* terhadap sulfur dan selenium nanopartikel (uji aktivitas dilakukan dalam 96-well plate, dengan densitas sel per well adalah 10.000 sel. Setelah perlakuan sel selanjutnya dicuci dengan menggunakan PBS dan viabilitas sel diuji dengan menggunakan larutan *staining (calcein-AM dan PI)*. Dalam uji ini, air digunakan sebagai kontrol dan diatur pada viabilitas 100%. Uji signifikansi diekspresikan terhadap kontrol. Data dinyatakan dalam persen viabilitas \pm SD. Signifikansinya adalah: ns= $P \geq 0,05$; * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; dan *** = $P < 0,001$)



Gambar 7. Uji aktivitas *neuro 2A cell lines* terhadap nanopartikel (*Neuro 2A cell lines* dengan densitas sebanyak 10.000 sel per *well* ditempatkan ke dalam 96-*well plate*. Viabilitas sel hidup dan mati diamati setelah 24 jam pemaparan, dengan cara menggantikan 0,2 ml media dengan larutan *staining* (*calcein-AM* dan PI). Sel selanjutnya diamati di bawah mikroskop 40x; A, kontrol, sel tanpa perlakuan; B, sel dipperlakukan dengan 50 µg/ml sulfur nanopartikel, NPS; dan C, sel dipperlakukan dengan 50 µg/ml selenium nanopartikel, NPSe).

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sulfur dan selenium nanopartikel mempunyai toksisitas yang tinggi terhadap *S. felitiae* dan *neuro 2A cell lines*. Dibandingkan dengan selenium, sulfur nanopartikel menunjukkan aktivitas yang sangat tinggi terhadap kedua organisme uji tersebut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh University of Saarland, Saarbruecken dan University of Applied Sciences-Zweibruecken, Germany. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Pengembangan Sumber Daya Manusia Pemerintah Aceh atas beasiswa yang diberikan selama melanjutkan pendidikan doctoral di kedua universitas tersebut di atas.

DAFTAR PUSTAKA

- Chen, W.X., R. Bardhan, M. Bartels, C. Perez-Torres, R.G. Pautler, N.J. Halas, A. Joshi. 2010. A molecularly targeted theranostic probe for ovarian cancer. **Molecular Cancer Therapeutics**. 9:1028-1038
- Doering, M., B. Diesel, M.C.H. Gruhlke, U.M. Viswanathan, D. Manikova, M. Chovanec, T. Burkholz, A.J. Slusarenko, A.K. Kierner, and C. Jacob. 2012. Selenium- and tellurium-containing redox modulators with distinct activity against macrophages: possible implications for the treatment of inflammatory diseases. **Tetrahedron**. 68:10577-10585.
- Giles, G.I., F.H. Fry, K.M. Tasker, A.L. Holme, C. Peers, K.N. Green, L.O. Klotz, H. Sies, and C. Jacob. 2003. Evaluation of sulfur, selenium and tellurium catalysts with antioxidant potential. **Org. Biomol. Chem.** 1:4317-4322.
- Jacob, C. 2006. A scent of therapy: pharmacological implications of natural products containing redox-active sulfur atoms. **Natural Product Reports**. 23:851-863.
- Jacob, C. 2011. Open season for hunting and trapping post-translational cysteine modifications in proteins and enzymes. **Chembiochem**. 12:841-844.
- Jacob, C., E. Battaglia, T. Burkholz, D. Peng, D. Bagrel, and M. Montenarh. 2012. Control of oxidative posttranslational cysteine modifications: from intricate chemistry to widespread biological and medical applications. **Chem. Res. Toxicol.** 25:588-604.
- Jacob, C., G.L. Giles, N.M. Giles, and H. Sies. 2003. Sulfur and selenium: The role of oxidation state in protein structure and function. **Angew. Chem. Int. Edit.** 42:4742-4758.
- Khairan, K. 2013. Synthesis of Natural Products, Their Synthetic Analogues and Evaluation of Various Associated Biological Activities, Bioorganism Chemistry. **Dissertation**. School of Pharmacy, Universitaet des Saarlandes, Saarbruecken, Saarland, Germany.
- Sarakbi, M.B. 2009. **Natural Products and Related Compounds as Promising Antioxidants and Antimicrobial Agents**. Bioorganic Chemistry, Diplom.
- Schafer, F.Q. and G.R. Buettner. 2001. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple, **Free Radical. Bio. Med.** 30:1191-1212.
- Schneider, T., Y. Muthukumar, B. Hinkelmann, R. Franke, M. Doring, C. Jacob, and F. Sasse. 2012. Deciphering intracellular targets of organochalcogen based redox catalysts. **Med. Chem. Comm.** 3:784-787.
- Winyard, P.G., C.J. Moody, and C. Jacob. 2005. Oxidative activation of antioxidant defence. **Trends in Biochemical Sci.** 30:453-461.