

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) біотехнології та екологічного контролю
Кафедра біотехнології і мікробіології

«До захисту в ЕК»

Декан факультету

Наталія ГРЕГІРЧАК

(підпис)

(ім'я та прізвище)

« 02 » грудня 2024 р.

«До захисту допущено»

Завідувач кафедри

Віктор СТАБНІКОВ

(підпис)

(ім'я та прізвище)

« 02 » грудня 2024 р.

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ МАГІСТРА

зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»

(код та назва спеціальності)

освітньо-професійної програми «Промислова та фармацевтична

біотехнологія»

на тему: « Використання ціанобактерій для біосинтезу наночастинок золота і срібла з антимікробною та протипухлинною дією»

Виконав: здобувач(-ка) II курсу, групи I

ІВАНЕЦЬ Ольга Андріївна

(прізвище, ім'я, по батькові повністю)

(підпис)

Керівник СКРОЦЬКА Оксана Ігорівна

(прізвище, ім'я та по батькові повністю)

(підпис)

Консультанти

(ім'я та прізвище)

(підпис)

(ім'я та прізвище)

(підпис)

Рецензент Олександра СИДОРЕНКО

(ім'я та прізвище)

(підпис)

Я, як здобувач(-ка) Національного університету харчових технологій, розумію і підтримую політику університету з академічної доброчесності. Я не надавав(-ла) і не одержував(-ла) незарядженої допомоги під час підготовки цієї роботи. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

Здобувачка

(підпис)

Київ – 2024 р.

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) Біотехнології та екологічного контролю
Кафедра біотехнології і мікробіології
Освітній ступінь магістр
Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»
(код і назва)
Освітньо-професійна програма «Промислова та фармацевтична біотехнологія»
(назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біотехнології і
мікробіології

Віктор СТАБНИКОВ

“08” жовтня 2024 року

З А В Д А Н Н Я

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

Іванець Ольги Андріївни

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи «Використання ціанобактерій для біосинтезу наночастинок золота і срібла з антимікробною та протипухлинною дією»
керівник роботи Скроцька Оксана Ігорівна к. б. н.,
(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)
затверджені наказом закладу вищої освіти від 7 жовтня 2024 року № 875-кв
2. Строк подання здобувачем роботи 1.12.2024
3. Вихідні дані до роботи Arthrospira platensis; цільовий продукт: біонаноккомпозит Doh-AuNPs
4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) Загальні аспекти біосинтезу наночастинок; наночастинок срібла, механізми дії, антибактеріальні та протипухлинні властивості; наночастинок золота, механізми дії, антибактеріальні та протипухлинні властивості; техніко-економічне обґрунтування; обґрунтування вибору післяферментаційних процесів отримання субстанції; опис технологічної схеми виділення і очищення лікарського засобу; технологічні особливості отримання готового продукту; контроль виробництва; проєкт заявки на корисну модель
5. Перелік графічного матеріалу
Технологічна схема виділення і очищення субстанції - засобу – 1 аркуш формату А3
Технологічна схема одержання готового лікарського засобу – 1 аркуш формату А3
Апаратурна схема виділення і очищення субстанції - засобу – 1 аркуш формату А1
Апаратурна схема одержання готового лікарського засобу – 1 аркуш формату А3

6. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв

7. Дата видачі завдання 8 жовтня 2024 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
	<i>Загальні аспекти біосинтезу наночастинок</i>	8.10.2024-12.10.2024	
	<i>Наночастинки срібла, механізми дії, антибактеріальні та протипухлинні властивості</i>	13.10.2024-15.10.2024	
	<i>Наночастинки золота, механізми дії, антибактеріальні та протипухлинні властивості</i>	15.10.2024-17.10.2024	
	<i>Техніко-економічне обґрунтування</i>	18.10.2024-19.20.2024	
	<i>Обґрунтування вибору післяферментаційних процесів отримання субстанції</i>	20.10.2024-25.10.2024	
	<i>Опис технологічної схеми виділення і очищення лікарського засобу</i>	26.10.2024	
	<i>Технологічні особливості отримання готового продукту</i>	27.10.2024-30.10.2024	
	<i>Контроль виробництва</i>	31.10.2024-2.11.2024	
	<i>Проект заявки на корисну модель</i>	3.11.2024-5.11.2024	
	<i>Оформлення кваліфікаційної роботи</i>	6.11.2024-10.11.2024	
	<i>Оформлення графічної частини</i>	11.11.2024-17.11.2024	

Здобувач _____
(підпис)

Ольга ІВАНЕЦЬ _____
(ім'я та прізвище)

Керівник роботи _____
(підпис)

Оксана СКРОЦЬКА _____
(ім'я та прізвище)

ABSTRACT

The qualification research investigates the utilization of cyanobacteria in the biosynthesis of gold and silver nanoparticles with notable antimicrobial and anticancer activities. The study incorporates an analysis of scientific literature regarding the principles and methodologies underlying nanoparticle biosynthesis. Emphasis was placed on evaluating the antimicrobial and anticancer properties of nanoparticles. Gold nanoparticles were identified as a focus for further research due to their potential in targeted drug delivery systems, particularly for chemotherapeutic applications.

Arthrospira platensis was selected as the biological agent owing to its economical cultivation and pronounced anticancer effects. The study also includes calculations of production capacity and material requirements for a series production of the bio-nanocomposite Dox-AuNPs. Key stages of isolation and purification for both the intermediate substance and the final pharmaceutical product were identified and justified. Furthermore, advanced methods for quality control of the substance and the final product were described.

РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота присвячена визначенню ролі ціанобактерій у біосинтезі наночастинок золота та срібла з антимікробними та протипухлинними властивостями. В даній роботі було здійснено аналіз літератури стосовно основних засад в біосинтезі наночастинок. Основна увага була зосереджена на антимікробних та протипухлинних властивостях. В хлді аналізу було обрано для подальшого розгляду наночастинок золота, оскільки вони є досить перспективними в доставці ліків, а саме хіміотерапевтичних препаратів. В якості біологічного агента було обрано *Arthospira platensis*, оскільки культивування даного мікроорганізму є дешевим, а протипухлинні властивості досить потужні. Було розраховано потужність виробництва та проведено матеріальні розрахунки на серію виробництва біонаноккомпозиту Dox-AuNPs. Також було вибрано та обґрунтовано стадії виділення та очищення як субстанції, так і готового ЛЗ. Окрім цього було описано методи контролю субстанції та готового продукту.

Дипломний проєкт викладений на 145 сторінках, містить 12 таблиць, 6 рисунків, складається зі вступу, 9 розділів, списку використаної літератури (117 найменувань), 2 технологічних (формат А3, 1 аркуш) та 2 апаратурних (формат А3, А11 аркуш) схем.

Ключові слова: *Arthospira platensis* ціанобактерії, екзополісахариди, біосинтез, біонаноккомпозит, наночастинки, наночастинки золота, хіміотерапевтичні препарати, доксорубіцин, технології виділення, очищення.

ЗМІСТ

ABSTRACT	4
РЕФЕРАТ	5
ВСТУП	10
ЛІТОГЛЯД	13
РОЗДІЛ 1. ЗАГАЛЬНІ АСПЕКТИ БІОСИНТЕЗУ НАНОЧАСТИНОК ...	13
1.1. Механізм біосинтезу наночастинок ціанобактеріями.....	15
1.1.1. Внутрішньоклітинний і позаклітинний синтез наночастинок...	15
1.2. Роль біомолекул і факторів зовнішнього середовища у біосинтезі наночастинок	19
1.2.1. Роль ферментів у біосинтезі наночастинок.....	22
1.2.2. Роль пігментів у біосинтезі наночастинок	27
1.2.3. Роль білків у стабілізації та відновленні наночастинок	29
1.2.4. Роль екзополісахаридів у біосинтезі наночастинок	32
1.2.5 Роль фізико-хімічних факторів у біосинтезі наночастинок	34
РОЗДІЛ 2. НАНОЧАСТИНКИ СРІБЛА, МЕХАНІЗМИ ДІЇ, АНТИБАКТЕРІАЛЬНІ ТА ПРОТИПУХЛИННІ ВЛАСТИВОСТІ.....	40
2.1. Антибактеріальна активність наночастинок срібла: механізми та ефекти.....	40
2.2. Протипухлинна активність наночастинок срібла: механізми та ефекти.....	41
2.3. Біосинтез наночастинок срібла за допомогою різних штамів ціанобактерій	43
2.3.1. Культивування та біосинтез наночастинок.....	43
2.3.2. Характеризація наночастинок срібла	45
2.3.3. Антибактеріальна активність наночастинок срібла.....	47
Закінчення таблиці 2.3.3.1.....	51
2.3.4. Протипухлинна активність наночастинок срібла (AgNPs)	51

РОЗДІЛ 3. НАНОЧАСТИНКИ ЗОЛОТА, МЕХАНІЗМИ ДІЇ, АНТИБАКТЕРІАЛЬНІ ТА ПРОТИПУХЛИННІ ВЛАСТИВОСТІ.....	53
3.1 Антибактеріальна активність наночастинок золота: механізми та ефекти.....	53
3.2. Протипухлинна активність наночастинок золота: механізми та ефекти.....	55
3.3. Біосинтез наночастинок золота за допомогою різних штамів ціанобактерій.....	56
3.3.1. Культивування та біосинтез наночастинок.....	56
3.3.2. Характеризація наночастинок золота	58
3.3.3. Антибактеріальна активність наночастинок золота	60
3.3.4. Протипухлинна активність наночастинок золота (AuNPs).....	62
ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА	64
РОЗДІЛ 4. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ.....	64
4.1. Огляд ринку цільової (аналогічної) продукції.....	66
4.1.1. Основні хіміотерапевтичні препарати для лікування раку молочної залози в Україні.....	66
4.1.2. Переваги кон'югованих наночастинок золота з доксорубіцином	68
4.2. Розрахунок потреби в ЛПІ	69
4.3. Розрахунок потужності	72
4.3.1. Розрахунок кількості стадій отримання посівного матеріалу для вирощування культури у ферментері 300 л	73
4.3.2.Розрахунок кількості стадій отримання посівного матеріалу для вирощування культури у ферментері 30 л	74
4.3.3. Розрахунок кількості посівного матеріалу для вирощування культури в колбах на качалці.....	74
РОЗДІЛ 5. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ ОТРИМАННЯ СУБСТАНЦІЇ	76
5.1. Обґрунтування стадій виділення і очищення екзополісахаридів	76
5.1.1. Етапи виділення та очищення екзополісахариду	77
5.1.2. Обґрунтування способу відділення біомаси	77
5.1.3. Обґрунтування методів видалення осаду білків з супернатанту	81

5.1.4. Обґрунтування методів виділення екзополісахариду:.....	82
5.1.5. Обґрунтування способу відділення осаду екзополісахариду.....	83
5.1.6. Обґрунтування способу сушіння виділеного екзополісахариду	83
5.2. Обґрунтування стадій виділення і очищення біосинтезованих наночастинок золота	85
5.3 Обґрунтування стадій очищення біонанокомпозита	85
5.3.1. Сушіння біонанокомпозиту	86
5.4. Обґрунтування способу та матеріалу пакування.....	87
5.4.1. Вибір типу упаковки.....	87
5.5. Специфікація обладнання	89
РОЗДІЛ 6. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИДІЛЕННЯ І ОЧИЩЕННЯ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ	93
РОЗДІЛ 7. ТЕХНОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ОТРИМАННЯ ГОТОВОГО ПРОДУКТУ.....	100
7.1. Обґрунтування кінцевої форми лікарського препарату на основі нанокомпозиту DOX-AuNPs	100
7.2. Обґрунтування первинної упаковки лікарського препарату на основі нанокомпозиту DOX-AuNPs	101
7.3. Матеріальний розрахунок на серію виробництва лікарського засобу	103
Таблиця 7.3.1.	103
Матеріальний розрахунок на серію виробництва лікарського засобу .	103
Закінчення таблиці 7.4.1.....	108
7.5. Опис технологічної схеми отримання одержання лікарського засобу	109
РОЗДІЛ 8. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА	113
8.1. Підбір сучасних методів контролю виробництва субстанції.....	113
8.1.2. Характеристика цільового продукту	113
8.1.2. Характеристика кон'югата.....	115
8.2. Методи контролю лікарського засобу (іншого цільового продукту)	116
РОЗДІЛ 9. ПРОЄКТ ЗАЯВКИ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ.....	121

9.1. Галузь і застосування корисної моделі.....	121
9.2. Відомі аналоги та їх основні недоліки.....	122
9.3. Постановка задачі корисної моделі та її вирішення.....	124
9.4. Опис запропонованого способу.....	125
9.5. Формула корисної моделі	126
9.6. Реферат.....	127
ВИСНОВКИ.....	129
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ.....	131

ВСТУП

Нанотехнології стрімко розвиваються, охоплюючи дедалі більше сфер науки та техніки, і вже сьогодні вони стали важливим інструментом у вирішенні багатьох сучасних викликів. Завдяки своїм унікальним властивостям наноматеріали використовуються в різних галузях, але особливу увагу вони привертають у медицині. Їхні малі розміри, велика площа поверхні та здатність до модифікації відкривають можливості для створення ефективних систем доставки лікарських засобів. Це дозволяє не лише підвищити терапевтичну ефективність препаратів, а й знизити ризик побічних ефектів, що є особливо важливим при лікуванні складних захворювань. Однією з головних переваг нанотехнологій є їхній потенціал у боротьбі з раковими захворюваннями, які залишаються однією з основних причин високої смертності серед населення.

Онкологічні захворювання є серйозною проблемою для медицини, оскільки традиційні методи лікування не завжди дозволяють досягти бажаних результатів. Хіміотерапія, як один із основних способів боротьби з пухлинами, хоч і демонструє високу ефективність, але супроводжується серйозними недоліками. Основна проблема полягає у системному впливі хіміотерапевтичних препаратів, які вражають не лише пухлинні клітини, але й здорові тканини організму. Це призводить до значного навантаження на організм пацієнта, викликаючи численні побічні ефекти. У зв'язку з цим виникає необхідність у розробці нових підходів, які дозволять забезпечити

НУХТ БТЕК 02.01.7 КР ПЗ

ВСТУП

Лім. Арк. Акрушів
10 145

Кафедра БТМ

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Іванець О. А.					
Перевір.		Скороцька О. І.					
Реценз.							
Н. Контр.							
Затверд.		Стабніков В. П.					

вибіркову дію препаратів і зменшити шкоду для здорових тканин. Саме в цьому аспекті нанотехнології пропонують унікальні можливості.

Наночастинки є одними з найперспективніших об'єктів для застосування в онкології завдяки їхнім особливим фізико-хімічним властивостям. Вони здатні проникати через клітинні мембрани, накопичуватися у пухлинних тканинах і доставляти лікарські засоби.

Наночастинки є одними з найперспективніших об'єктів для застосування в онкології завдяки їхнім особливим фізико-хімічним властивостям. Вони здатні проникати через клітинні мембрани, накопичуватися у пухлинних тканинах і доставляти лікарські засоби безпосередньо до уражених ділянок. Це дозволяє зменшити кількість активної речовини, необхідної для досягнення терапевтичного ефекту, та мінімізувати токсичність для організму. Золото є одним із найбільш вивчених наноматеріалів у цій сфері. Наночастинки золота мають високу біосумісність, стабільність і легко піддаються функціоналізації, що дозволяє прикріплювати до них різноманітні хіміотерапевтичні препарати або ліганди для цільової доставки. Крім того, вони можуть бути використані для фототермічної терапії, яка забезпечує точкове руйнування пухлинних клітин під дією лазерного опромінення.

Моя робота спрямована на створення нанокомпозитів, які поєднують у собі наночастинки золота і хіміотерапевтичний препарат доксорубіцин. Доксорубіцин є потужним препаратом, що застосовується для лікування багатьох видів раку, але його використання обмежується серйозними побічними ефектами, такими як токсичність для серцевого м'яза. Поєднання доксорубіцину з наночастинками золота дозволяє створити систему доставки, яка забезпечує накопичення препарату в пухлинній тканині, знижуючи його концентрацію в здорових органах. Це значно підвищує ефективність лікування, зменшуючи токсичні наслідки. Нанокомпозит, створений у межах цього

підходу, не лише зберігає всі властивості доксорубіцину, але й розширює його можливості завдяки контрольованій і спрямованій дії.

ЛІТОГЛЯД

РОЗДІЛ 1. ЗАГАЛЬНІ АСПЕКТИ БІОСИНТЕЗУ НАНОЧАСТИНОК

Біосинтез наночастинок (НЧ) – це сучасний і екологічно безпечний спосіб створення наноматеріалів із цікавими фізичними, хімічними та біологічними властивостями. В останні роки цей метод стає все популярнішим через проблеми, пов'язані з традиційними фізичними й хімічними методами, наприклад, утворення токсичних відходів, високу енерговитратність та великі витрати ресурсів (Hamida та ін., 2020) [1]. Біологічний синтез дає змогу отримувати наноматеріали, які можна використовувати у багатьох сферах, таких як медицина, сільське господарство, енергетика та охорона природи (Koul та ін., 2021) [2].

Для біосинтезу наночастинок використовують різноманітні мікроорганізми, такі як гриби (Kitching та ін., Guilger-Casagrande, 2014; Lima, 2019) [3-4], дріжджі (Skalickova та ін., 2017) [5], актинобактерії (Manivasagan та ін., 2014) [6], водорості (Shankar та ін., 2016) [7], рослини (Castillo-Henríquez та ін., 2020) [8], ціанобактерії (Khan та ін., 2018; Bhardwaj & Naraian, 2021) [9-10] і віруси (Gahlawat та Choudhury, 2019) [11]. Серед цих організмів ціанобактерії вважаються перспективними завдяки здатності фіксувати атмосферний азот, швидко розвиватися і адаптуватися до складних умов (Liu та ін., 2021) [12], що робить їх ефективними для біосинтезу наночастинок. Ціанобактерії належать до різноманітної групи фотоавтотрофних прокариотів, які здатні фіксувати атмосферний азот (N₂),

НУХТ БТЕК 02.01.7 КР ПЗ

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Іванець О. А.			ЛІТОГЛЯД РОЗДІЛ 1. ЗАГАЛЬНІ АСПЕКТИ БІОСИНТЕЗУ НАНОЧАСТИНОК	Лім.	Арк.	Акрушіє
Перевір.		Скороцька О. І.					13	145
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В. П.						

перетворюючи його на аміак, а також видаляти іони важких металів із навколишнього середовища. Серед їхніх переваг — висока швидкість росту, що сприяє накопиченню біомаси, та здатність виживати в несприятливих і забруднених умовах. Окрім цього, ціанобактерії продукують широкий спектр біомолекул, таких як вторинні метаболіти, білки, ферменти та пігменти. Завдяки цьому наночастинки, синтезовані за їхньої участі, проявляють протимікробні та протипухлинні властивості (Tuagi та ін., 2014; Vivek та ін., 2014) [13-14].

Однією з головних переваг застосування ціанобактерій у біосинтезі наночастинок є здатність здешевити процес культивування завдяки їхній фотосинтезувальній активності. Використання вуглекислого газу як джерела вуглецю робить цей підхід не лише економічно вигідним, а й екологічно безпечним (Hamida та ін., 2020) [1].

Сучасні дослідження демонструють, що наночастинки, синтезовані за допомогою ціанобактерій, можуть застосовуватися в різних галузях, таких як медицина, сільське господарство та екологічне очищення. Наприклад, наночастинки золота (AuNPs), синтезовані ціанобактеріями *Anabaena* sp., проявляють антимікробні та антиоксидантні властивості, що відкриває можливості для їх використання в біомедичних технологіях (Liu та ін., 2021) [12]. Подібні властивості були виявлені у наночастинок золота, отриманих з використанням *Arthrospira platensis* (El-Deeb та ін., 2022) [15].

Щодо наночастинок срібла (AgNPs), їх антимікробні та протипухлинні властивості досліджені значно глибше. Найперспективнішими продуцентами таких наночастинок вважаються *Desertifilum* sp. (Hamida та ін., 2020) [1] та *Nostoc commune* (Morsy та ін., 2014) [16], які показали високу ефективність у створенні функціональних наноматеріалів.

1.1. Механізм біосинтезу наночастинок ціанобактеріями

Ціанобактерії демонструють цікаву здатність до синтезу наночастинок під дією токсичних іонів металів, таких як срібло, золото, мідь, кадмій та інші важкі метали. Цей процес часто пояснюється як реакція на стресові умови, зокрема на токсичну дію зазначених іонів, що змушує клітини виділяти позаклітинні речовини. Ці речовини можуть бути білками, полісахаридами або іншими органічними сполуками, які захоплюють іони металів та сприяють їх перетворенню в наночастинок.

Загальна схема синтезу наночастинок включає кілька етапів. Спершу іони металів поглинаються клітинами ціанобактерій або осаджуються на їх поверхні, де вони взаємодіють з ферментами або іншими біологічними молекулами. Наприклад, ферменти, такі як нітратредуктази чи супероксиддисмутази, можуть відновлювати металічні іони, перетворюючи їх у стабільні наночастинок.

1.1.1. Внутрішньоклітинний і позаклітинний синтез наночастинок

Ціанобактерії здатні синтезувати наночастинок металів завдяки природним біохімічним процесам, які можуть відбуватися як всередині клітин (внутрішньоклітинний синтез), так і поза ними (позаклітинний синтез). У процесі внутрішньоклітинного синтезу металічні іони відновлюються за допомогою ферментів та фотосинтетичних механізмів. Позаклітинний синтез, натомість, базується на використанні біомолекул, що виділяються клітиною, для перетворення і стабілізації наночастинок. Завдяки екологічності цього методу він має значний потенціал для застосування в біомедицині та промисловості.

1.1.1.1. Внутрішньоклітинний синтез наночастинок

Внутрішньоклітинний синтез наночастинок здійснюється всередині клітин завдяки участі природних ферментів і клітинних механізмів, зокрема тих, що залучають фотосинтетичну активність. Наприклад, було встановлено,

що *Synechocystis* sp. PCC 6803 здатна синтезувати наночастинки золота при взаємодії з іонами золота. Згідно з дослідженнями Focsan та ін. (2011) [17], ці наночастинки накопичуються на тилакоїдних мембранах, що свідчить про важливу роль фотосинтетичного транспорту електронів у процесі відновлення золота. Цей метаболічний шлях є характерним для внутрішньоклітинного синтезу, оскільки він залежить від електронів, утворених під час фотосинтезу, і пов'язаний із підвищеною метаболічною активністю клітин.

Інше дослідження Liu та Choi (2021) [12] підтвердило цю залежність від фотосинтетичних механізмів, показавши, що наночастинки золота можуть не лише підвищувати світлозбірні властивості клітин, але й покращувати ефективність біофотовольтаїчних систем, підвищуючи електронний транспорт у клітинній мембрані. Водночас життєздатність клітин залишається незмінною навіть при тривалому впливі наночастинок, що свідчить про їхню сумісність із клітинною структурою та можливість їхнього використання в біотехнології.

Дослідження Lengke та ін. (2007) [18] показало, що ціанобактерія *Plectonema boryanum* UTEX 485 здатна синтезувати наночастинки срібла при взаємодії з нітратом срібла. Утворені наночастинки мають різні форми, зокрема сферичну, октаедричну та анедричну. Відновлення іонів срібла відбувається за участю внутрішньоклітинних донорів електронів або спеціалізованих мембранних систем, які забезпечують перенесення іонів через мембрану. Це свідчить про здатність ціанобактерій адаптувати свої внутрішньоклітинні механізми для синтезу наночастинок різних металів.

Jeffreyes та ін. (2015) [19] показали, що освітлення відіграє важливу роль у внутрішньоклітинному синтезі наночастинок у ціанобактеріях. Під дією світла активується фотосинтетичний транспорт електронів, що значно полегшує відновлення іонів металів, таких як золото та срібло. У цьому процесі ключову функцію виконують ферменти NADH-редуктази, які забезпечують ефективне перенесення електронів до металічних іонів, сприяючи їх перетворенню на

наночастинки. Ці результати свідчать, що світло не лише впливає на фотосинтез, а й підсилює біохімічні процеси, пов'язані зі створенням наночастинок.

1.1.1.2. Позаклітинний синтез наночастинок

Позаклітинний синтез наночастинок, на відміну від внутрішньоклітинного, відбувається за межами клітин завдяки біомолекулам, що виділяються ціанобактеріями в навколишнє середовище. До таких біомолекул належать білки, полісахариди та пігменти. Дослідження Husain та ін. (2015) [22] показало, що екстракти понад 30 видів ціанобактерій здатні позаклітинно синтезувати наночастинки срібла. При додаванні нітрату срібла до екстракту відбувається зміна кольору розчину, що свідчить про утворення наночастинок срібла..

Дослідження Namida та ін. (2020) [1] продемонструвало, що ціанобактерія *Desertifilum* sp. здатна ефективно синтезувати наночастинки срібла позаклітинно. У цьому процесі полісахариди та білки, що містяться в екстракті, виконують роль стабілізаторів, запобігаючи агрегації наночастинок і забезпечуючи їх рівномірний розподіл у розчині. Завдяки цим властивостям наночастинки, отримані з використанням *Desertifilum* sp., є перспективними для застосувань у біомедицині та промисловості, оскільки вони демонструють високу стабільність і надійність у розчинах

Позаклітинний синтез наночастинок може бути залежним від умов освітлення. Згідно з дослідженням Patel та ін. (2015) [20], пігмент С-фікоціанін, який міститься у *Spirulina platensis*, здатний ефективно відновлювати іони срібла до наночастинок лише за наявності світла. Це вказує на фотозалежний характер позаклітинного синтезу, де фотосинтетичні пігменти діють як природні каталізатори, посилюючи процес відновлення металів.

Подібні результати були отримані в дослідженні Younis та ін. (2022) [21], яке показало, що у *Synechocystis* sp. позаклітинний синтез стає більш ефективним під впливом білого світла. Освітлення активує фотосинтетичні пігменти, що посилюють процес відновлення і сприяють формуванню наночастинок розміром від 10 до 35 нм. Отримані наночастинки демонструють високу стабільність у розчині, що робить цей метод перспективним для біотехнологічних і промислових застосувань

1.1.1.3. Висновок

Обидва методи синтезу наночастинок за участю ціанобактерій — внутрішньоклітинний та позаклітинний — мають свої переваги залежно від умов і цілей. Внутрішньоклітинний синтез базується на природних біохімічних процесах клітини, таких як фотосинтетична активація, що дозволяє ефективно відновлювати іони металів.. Позаклітинний синтез, у свою чергу, забезпечує простоту контролю над процесом, дозволяючи налаштовувати форму, розмір і стабільність наночастинок. Крім того, цей метод дає змогу уникати складних процесів вилучення наночастинок із клітин, що підвищує його практичність.

Таблиця 1.1.1.1.1.

Синтез наночастинок золота та срібла ціанобактеріями

Наночастинки золота				
Ціанобактерія	Тип синтезу	Умови синтезу	Форма та розмір наночастинок	Джерело
<i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803	Внутрішньоклітинний	У присутності іонів золота, накопичення на тилакоїдних мембранах	Накопичення на тилакоїдах	Focsan та ін., (2011) [17]
<i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803	Внутрішньоклітинний	Освітлення, фотосинтетична активація транспорту електронів	Покращує світлозбірні властивості клітин	Liu та Choi, (2021) [12]

Продовження таблиці 1.1.1.1.1

<i>Plectonema boryanum</i> UTEX 485	Внутрішньо клітинний	У присутності хлориду золота (III)	Сферичні, октаедричні форми	Lengke та ін., (2007) [18]
Наночастинки срібла				
Ціанобактерія	Тип синтезу	Умови синтезу	Форма та розмір наночастинок	Джерело
<i>Plectonema boryanum</i> UTEX 485	Внутрішньо клітинний	Взаємодія з нітратом срібла	Сферичні, октаедричні, анедричні	Lengke та ін., (2007)[18]
<i>Desertifilum</i> sp.	Позаклітинний	Екстракт з полісахаридами і білками	Стабілізовані, розмір 10-35 нм	Hamida та ін., (2020) [1]
<i>Synechocystis</i> sp.	Позаклітинний	Освітлення, активація фотосинтетичних пігментів	Стабільні, розмір 10-35 нм	Younis, (2022) [21]
<i>Pseudanabaena/L imnothrix</i> sp.	Позаклітинний	Екстракт з полісахаридами і білками	Розмір 38-88 нм, сферичні форми	Husain та ін., (2015) [22]
<i>Spirulina platensis</i>	Позаклітинний	С-фікоціанін, освітлення	Залежить від умов освітлення	Patel та ін., (2015) [20]

1.2. Роль біомолекул і факторів зовнішнього середовища у біосинтезі наночастинок

Ціанобактерії здатні внутрішньоклітинно відновлювати металеві іони, використовуючи електрони, що утворюються під час фотосинтезу та дихання. У цьому процесі важливу роль відіграють NADH-залежні редуктази, які каталізують окисно-відновні реакції в цитоплазмі, на тилакоїдних мембранах і клітинних мембранах. Ці ферменти сприяють ефективному відновленню металевих іонів та їхньому перетворенню в стабільні наночастинки. При цьому кофактори, які окислюються під час реакцій, проходять рециклінг і знову залучаються в енергетичні процеси клітини, що забезпечує сталість і

ефективність процесу. Цей механізм внутрішньоклітинного біосинтезу наночастинок був підтверджений у дослідженнях Dahoumane та ін. (2012), Focsan та ін. (2011), Jeffryes та ін. (2015) і Mahdiah та ін. (2012) [17, 19, 23, 24].

Біосинтез наночастинок у ціанобактеріях супроводжується змінами кислотно-лужного балансу, зокрема локальним підкисленням клітинного середовища. Хоча це може негативно впливати на життєздатність мікроорганізмів, підкислення водночас сприяє вивільненню органічних сульфідних сполук, які відіграють важливу роль в осадженні іонів металів і формуванні наночастинок.

Для ізоляції наночастинок, синтезованих у клітинах, часто використовується метод ультразвукової обробки з додаванням розчину цитрату натрію. Зокрема, Parial та ін. (2012) [25] дослідили ефективність цього підходу, застосовуючи 7,5 мМ розчин цитрату натрію та ультразвуковий процесор Hielscher UP100H із налаштуваннями 60% амплітуди протягом 30 хвилин. Цей метод дозволив успішно вилучити наночастинки золота з біомаси. Однак, надмірна тривалість ультразвукової обробки може спричинити пошкодження наночастинок, що вимагає ретельного регулювання параметрів процедури.

Дослідження Liu та Choi (2021) [12] виявило, що наночастинки золота, синтезовані безпосередньо всередині клітин ціанобактерій, мають додаткові функціональні властивості. Зокрема, вони можуть взаємодіяти з клітинними мембранами, сприяючи утворенню електронів під дією світла та полегшуючи їхній екстрацелюлярний транспорт до електродів. Це відкриває перспективи використання таких наночастинок у біофотовольтаїчних системах. За результатами роботи, пристрій із внутрішньоклітинними наночастинками золота забезпечив максимальну щільність потужності 18,8 мкВт/см², що перевищило відповідні показники пристроїв без наночастинок у 33,6 рази.

Дослідники також акцентують увагу на ключовій ролі макромолекул у процесах відновлення та стабілізації наночастинок. Dahoumane та ін. (2014) [26]

припустили, що полісахариди й інші органічні сполуки здатні виступати як відновлювачі іонів металів, одночасно забезпечуючи стабільність утворених наночастинок. Підтримку цієї гіпотези надають роботи Sudha та ін. (2013) [27] і El-Naggar та ін. (2017) [28], у яких зазначено, що пігменти ціанобактерій, такі як хлорофіл і фікобіліпротеїни, можуть виконувати функцію біовідновлюючих молекул. Взаємодіючи з металевими іонами, ці пігменти сприяють ефективному формуванню наночастинок.

Крім пігментів, значну роль відіграють білки, ферменти, гормони та антиоксиданти. Вони не тільки підтримують процес відновлення, але й забезпечують рівномірний розподіл наночастинок у розчині, запобігаючи їх агрегації. Така взаємодія між різними типами біомолекул і металевими іонами забезпечує стабільність і функціональність отриманих наноматеріалів, що є важливим для їхнього подальшого застосування в біомедицині та промисловості.

Фактори зовнішнього середовища, такі як освітлення, температура та рН, суттєво впливають на процес біосинтезу наночастинок у ціанобактеріях. Дослідження Keskin та ін. (2016) [29] продемонструвало, що освітлення значно сприяє синтезу срібних наночастинок (Ag-NPs) у середовищі *Synechococcus* sp. Світло активує фотосинтетичні процеси, що забезпечують генерацію електронів для відновлення іонів срібла, підтверджуючи ефективність фотосинтетичних організмів у екологічно безпечному виробництві наноматеріалів.

Крім освітлення, температура та рН середовища також впливають на характеристики наночастинок, зокрема їх розмір і морфологію. Наприклад, Mahdieh та ін. (2012) [24] виявили, що при температурі 25°C синтезовані наночастинки срібла мали середній розмір близько 12 нм. Зміна температурного режиму або рівня рН може суттєво впливати на стабільність процесу, а також на форму та функціональні властивості отриманих

наноматеріалів, відкриваючи можливості для оптимізації біосинтезу під конкретні завдання.

1.2.1. Роль ферментів у біосинтезі наночастинок

Ферменти ціанобактерій відіграють важливу роль у біосинтезі наночастинок металів, зокрема золота (AuNPs) та срібла (AgNPs). Ці ферменти функціонують як ефективні відновлюючі агенти, що дозволяє перетворювати іони металів на наночастинки шляхом окисно-відновних реакцій. Нижче наведено детальний огляд основних ферментів, задіяних у цьому процесі, та їх молекулярний механізм дії.

NADH-редуктази

NADH-редуктази є ферментами, які відіграють важливу роль у клітинних окисно-відновних процесах, використовуючи NADH як джерело електронів для перенесення. У контексті біосинтезу наночастинок у ціанобактеріях ці ферменти забезпечують ефективний потік електронів до іонів металів, таких як золото (Au^{3+}) і срібло (Ag^+), що дозволяє перетворювати їх на наночастинки елементарного металу (Au або Ag).

Під час цього процесу NADH-редуктази каталізують передачу електронів від NADH до металевих іонів, запускаючи їх відновлення та подальше утворення наночастинок. Завдяки цьому механізму синтез наночастинок здійснюється без застосування додаткових хімічних агентів, що робить його більш екологічно безпечним і біосумісним.

Як показано в дослідженні Focsan та ін. (2011) [17], у *Synechocystis* sp. NADH-редуктази беруть участь у процесах відновлення іонів золота, сприяючи їх акумуляції у вигляді наночастинок на внутрішніх мембранах клітини. Цей процес не лише забезпечує ефективне відновлення металів, але й дозволяє утворювати наночастинок з контрольованими розмірами та формою, що є важливим для їх подальшого використання в технологіях, зокрема біомедицині та наноматеріалознавстві.

NADH-редуктази відіграють центральну роль у формуванні наночастинок металів, впливаючи як на сам процес відновлення іонів, так і на характеристики отриманих наноматеріалів. Дослідження Jeffryes та ін. (2015) [19] довело, що ці ферменти регулюють швидкість перетворення іонів металів, таких як золото (Au^{3+}) та срібло (Ag^+), у наночастинок. Завдяки цьому забезпечується однорідність їхньої форми та розміру, що є ключовим для досягнення бажаних фізико-хімічних властивостей. Регуляція швидкості синтезу дозволяє адаптувати процес для конкретних потреб і застосувань.

Крім того, світло може суттєво посилювати активність NADH-редуктаз, що особливо актуально для фотосинтезуючих організмів. Як показали Namida та ін. (2020) [1], освітлення активує транспорт електронів у клітинах, що збільшує ефективність синтезу наночастинок, таких як срібло, у позаклітинному середовищі. Це дозволяє оптимізувати процес отримання наноматеріалів, зберігаючи їх стабільність і контрольовані характеристики.

Отже, NADH-редуктази не тільки виступають каталізаторами у відновленні металевих іонів, але й діють як ключові регулятори процесу синтезу наночастинок. Вони забезпечують точний контроль над їх розміром, формою і швидкістю утворення, що є важливим для створення високоякісних

наноматеріалів із заданими параметрами для подальшого використання в біотехнологіях, медицині та інших галузях.

Нітратредуктази

Нітратредуктази є багатофункціональними ферментами, які поряд зі своєю основною функцією у відновленні нітратів здатні каталізувати перетворення металевих іонів у наночастинки. Kalishwaralal та ін. (2010) [30] встановили, що ці ферменти в *Bacillus licheniformis* можуть ефективно відновлювати іони срібла (Ag^+), що призводить до формування стабільних наночастинок срібла. Цей процес базується на передачі електронів від нітратредуктаз до металевих іонів, які переходять у металевий стан.

У ціанобактеріях нітратредуктази відіграють важливу роль у біосинтезі наночастинок золота (Au) і срібла (Ag). Штами, такі як *Pseudanabaena sp.* і *Limnothrix sp.*, показують здатність використовувати ці ферменти для відновлення іонів металів у позаклітинному середовищі. У процесі цього синтезу нітратредуктази також сприяють стабілізації наночастинок, запобігаючи їх агрегації та забезпечуючи рівномірний розподіл у розчині.

Цей подвійний механізм дії — відновлення та стабілізація — робить нітратредуктази універсальними каталізаторами у створенні наночастинок. Їхня здатність регулювати процеси синтезу та підтримувати стабільність частинок відкриває перспективи для їх застосування в розробці екологічно чистих наноматеріалів.

Важливим аспектом функціонування нітратредуктаз є їх здатність контролювати розмір і морфологію наночастинок. Як продемонстровано в дослідженні Liu та ін. (2021) [12], у ціанобактеріях освітлення активує фотосинтетичні компоненти, що сприяє підвищенню активності нітратредуктаз. Це, своєю чергою, забезпечує ефективне відновлення металевих іонів і стабільне утворення наночастинок із чітко контрольованими розмірами.

Таким чином, нітратредуктази в ціанобактеріях виконують роль ключових каталізаторів у синтезі металевих наночастинок. Їх окисно-відновні властивості дозволяють ефективно відновлювати металеві іони, сприяючи їх перетворенню в наночастинок. Крім того, ці ферменти забезпечують стабільність отриманих наночастинок у колоїдному розчині, запобігаючи їх агрегації. Такий механізм синтезу відкриває широкі можливості для створення наноматеріалів із заданими характеристиками, які можуть бути використані в біотехнології, медицині та інших галузях.

Нітрогенази

Нітрогенази — це ферменти, які відомі своєю роллю у процесах фіксації атмосферного азоту, зокрема в азотфіксуючих бактеріях та ціанобактеріях. Однак нещодавні дослідження демонструють їхню здатність до участі у біосинтезі наночастинок через відновлення іонів металів, таких як іони золота (Au^{3+}). Ці ферменти забезпечують передачу електронів, необхідних для відновлення металевих іонів до їхнього елементарного стану, що сприяє утворенню наночастинок золота.

Дослідження Oza та ін. (2012) [31] підтвердило, що нітрогенази є ефективними каталізаторами у процесі формування наночастинок золота за участю фотосинтезуючих мікроорганізмів, таких як ціанобактерії. Механізм їх дії базується на передачі електронів від ферментів до іонів золота (Au^{3+}), що забезпечує їх відновлення до металевого стану. Особливістю цього процесу є те, що за умов освітлення фотосинтетичні реакції підсилюють активність нітрогеназ, постачаючи додаткову енергію й електрони. Це значно підвищує ефективність синтезу, дозволяючи отримувати наночастинок з рівномірними розмірами та високою стабільністю.

Таким чином, нітрогенази виконують багатofункціональну роль у клітинах, поєднуючи свої основні функції з можливістю впливати на біосинтез наноматеріалів. Їх здатність регулювати процес відновлення іонів металів

робить їх перспективними для використання в екологічно безпечних методах отримання наночастинок, які можуть знайти застосування у біомедицині, нанотехнологіях та інших галузях.

Використання нітрогеназ у біосинтезі наночастинок має низку суттєвих переваг. По-перше, завдяки високій окисно-відновній активності ці ферменти значно прискорюють процес відновлення металевих іонів, зменшуючи потребу в додаткових енергетичних витратах. По-друге, нітрогенази забезпечують високу стабільність отриманих наночастинок, дозволяючи точно контролювати їх розміри та форму. Це забезпечує створення наноматеріалів із чітко заданими фізико-хімічними характеристиками.

У фотосинтезуючих мікроорганізмах, таких як ціанобактерії, нітрогенази діють у поєднанні з фотосинтетичними процесами, які забезпечують додаткову енергію для відновлення металевих іонів. Це поєднання ферментативного й фотосинтетичного механізмів створює ефективну систему для екологічного синтезу наночастинок золота з контрольованими властивостями. Такі підходи дозволяють знизити негативний вплив на довкілля та зберегти енергоефективність процесу.

Висновок

Ферменти NADH-редуктази, нітратредуктази та нітрогенази відіграють важливу роль у біосинтезі металевих наночастинок завдяки їх здатності до передачі електронів, необхідних для відновлення іонів металів.

Таблиця 1.2.1.1.

Роль ферментів у біосинтезі наночастинок золота і срібла

Фермент	Роль у біосинтезі	Приклади застосування	Джерело
NADH-редуктази	Відновлює іони золота (Au^{3+}) та срібла (Ag^+),	Синтез наночастинок золота і срібла з контрольованими	Khalifa та ін. (2016) [32]

Продовження таблиці 1.2.1.1.

	передаючи електрони від NADH для синтезу наночастинок	розмірами та стабільністю	
Нітратредуктази	Відновлює іони срібла (Ag^+) через перенесення електронів, що індукує утворення срібних наночастинок	Синтез срібних наночастинок у <i>Bacillus licheniformis</i>	Kalishwaralal та ін., (2010) [30]
Нітрогенази	Відновлює іони золота (Au^{3+}) через пряме перенесення електронів для швидкого синтезу наночастинок	Синтез наночастинок золота у ціанобактеріях	Oza та ін., (2012) [31]

1.2.2. Роль пігментів у біосинтезі наночастинок

Пігменти, такі як С-фікоціанін і R-фікоеритрин, що є компонентами клітин ціанобактерій, відіграють значну роль у біосинтезі наночастинок металів, зокрема наночастинок срібла (AgNPs). Завдяки своїм фотосинтетичним властивостям, ці пігменти здатні генерувати електрони, які використовуються для відновлення іонів металів.

Окрім того, антиоксидантні властивості цих пігментів сприяють стабілізації отриманих наночастинок, запобігаючи їх агрегації та забезпечуючи рівномірний розмір і форму. Це особливо важливо для створення наноматеріалів із передбачуваними характеристиками, придатних для біомедичних і технологічних застосувань.

Завдяки подвійній функції — відновленню і стабілізації — С-фікоціанін і R-фікоеритрин виступають важливими біологічними агентами у процесі екологічно безпечного біосинтезу наночастинок металів.

C-фікоціанін

C-фікоціанін — це білковий пігмент синього кольору, який функціонує як антенний білок, збираючи світло під час фотосинтезу, і демонструє антиоксидантні та протизапальні властивості (Wei та ін., 2018) [33]. У контексті біосинтезу наночастинок він виконує роль відновника, що дозволяє отримувати наночастинки срібла (AgNPs) з різними формами та розмірами. Ці параметри залежать від чистоти препарату C-фікоціаніну та його молекулярної маси (Gelagutashvili, 2013) [34].

Суттєвою особливістю C-фікоціаніну є його світлозалежність. Як показали Patel та ін. (2015) [20], у темряві відновлення нітрату срібла до AgNPs за участю цього пігменту не відбувається. Освітлення активує його відновлювальні властивості, що є критичним для синтезу наночастинок.

Дослідження Wei та ін. (2018) [33] встановило, що C-фікоціанін, виділений зі спіруліни (*Spirulina platensis*), діє не лише як відновник, але і як природний стабілізатор, запобігаючи агрегації наночастинок під час відновлення нітрату срібла. Хоча точний механізм його дії ще повністю не з'ясований, Patel та ін. (2015) [20] припускають, що він подібний до механізму дії R-фікоеритрину, який здатний синтезувати AgNPs без потреби у додаткових відновниках.

R-фікоеритрин

R-фікоеритрин — це червоний фікобіліпротеїн, який бере участь у зборі світла для фотосинтезу і поширений у червоних водоростях та деяких ціанобактеріях (El-Naggar та ін., 2018) [35]. Цей пігмент демонструє здатність до відновлення металевих іонів та синтезу наночастинок срібла (AgNPs). Дослідження El-Naggar та ін. (2017) [28] встановило, що фікоеритрин, виділений із *Nostoc linckia*, може відновлювати нітрат срібла до AgNPs під впливом прямого освітлення (2400–2600 люкс) протягом 24 годин за кімнатної температури. Подібні результати були отримані для фікоеритрину, виділеного з

Nostoc carneum, який також ефективно виконує функцію відновника (El-Naggar та ін., 2018) [35]

Висновок

Пігменти ціанобактерій, такі як С-фікоціанін і R-фікоеритрин, виконують не лише роль у підтримці фотосинтетичних процесів, але й демонструють значний потенціал у біосинтезі металевих наночастинок. Завдяки своїм антиоксидантним і світлозалежним властивостям, ці пігменти здатні ефективно відновлювати іони металів до наночастинок, забезпечуючи їх стабільність і контрольовану морфологію.

Таблиця 1.2.2.1.

Пігменти ціанобактерій

Пігмент	Роль у біосинтезі	Джерело пігменту	Джерело
С-фікоціанін	Сприяє відновленню нітрату срібла (Ag^+) до срібних наночастинок під впливом світла; має антиоксидантні та протизапальні властивості, що стабілізують наночастинок	Різні види ціанобактерій, зокрема <i>Spirulina platensis</i>	Wei та ін., (2018); Gelagutashvili, (2013); Patel та ін., (2015) [20, 33, 34]
R-фікоеритрин	Сприяє відновленню нітрату срібла (Ag^+) до срібних наночастинок за освітлення; бере участь у зборі світла для фотосинтезу	<i>Nostoc linckia</i> , <i>Nostoc carneum</i>	El-Naggar та ін., 2017 [28]; El-Naggar та ін., (2018) [35]

1.2.3. Роль білків у стабілізації та відновленні наночастинок

Білки та амінокислоти відіграють ключову роль у біосинтезі й стабілізації металевих наночастинок (НЧ), виконуючи функції відновлюючих і

стабілізує агентів. Завдяки своїм хімічним групам (аміно-, карбоксильним і сульфатним) вони здатні взаємодіяти з іонами металів, сприяючи їх відновленню до наночастинок і забезпечуючи їх довготривалу стабільність.

Амінокислоти та білки взаємодіють із металевими іонами, утворюючи захисні білкові оболонки навколо наночастинок. Це запобігає агрегації частинок і забезпечує їх рівномірний розподіл у середовищі. Дослідження Khalifa та ін. (2016) [32] підкреслює, що амінокислоти й білки є ключовими агентами, які відповідають за відновлення металевих іонів і стабілізацію отриманих наночастинок. Їхня дія базується на взаємодії функціональних груп із іонами металів, які знижуються до наночастинок за рахунок електростатичної стабілізації.

Також Ali та ін. (2011) [36] продемонстрували, що аміно-, карбоксильні та сульфатні групи білків взаємодіють із іонами металів, сприяючи не лише їх відновленню, але й забезпечуючи стабільність отриманих наночастинок через формування міцних захисних білкових оболонок.

Наночастинки, отримані в процесі синтезу, мають тенденцію до агрегації, що може знижувати їх функціональність і довготривалу стабільність. Білки, такі як металофліоніни та глутатіон, утворюють стабільний захисний шар на поверхні наночастинок, запобігаючи їх злипанню. Це дозволяє зберігати стабільність наночастинок у колоїдних розчинах, що є важливим для їхнього використання у біомедичних і промислових процесах. Наприклад, у дослідженні Namouda та ін. (2019) [37] встановлено, що захисний білковий шар, сформований за участю *Oscillatoria limnetica*, значно знижує ймовірність агрегації наночастинок і сприяє збереженню однорідності розчину.

Крім того, оксидо-редуктивні білки відіграють критичну роль у визначенні розмірів і форми наночастинок. Їхня присутність у середовищі синтезу дозволяє підтримувати рівномірність розмірів частинок і стабільність процесу формування. Дослідження Kalishwaralal та ін. (2010) [30] показало, що

відсутність білків, які беруть участь у синтезі, суттєво уповільнює процес утворення наночастинок та змінює їх морфологію, що свідчить про їхню важливість у регулюванні цих процесів.

Отже, білки виконують багатофункціональну роль у стабілізації та контролі синтезу наночастинок. Вони не лише запобігають агрегації, але й впливають на характеристики частинок, такі як розмір, форма та стабільність. Це робить їх незамінними інструментами для створення наноматеріалів із заданими властивостями, які можуть застосовуватися у різних галузях, зокрема в медицині, екології та промисловості.

Наночастинки золота (AuNPs) також активно синтезуються за участі білків, які сприяють процесу відновлення іонів золота. Наприклад, Rosken та інші виявили, що білки у полісахаридному шарі гетероцист *Anabaena cylindrica* можуть передавати електрони іонам золота, сприяючи їх відновленню до НЧ (Rosken та ін., 2016) [38].

Крім процесу відновлення, білки виконують важливу функцію у стабілізації наночастинок, формуючи захисні оболонки на їх поверхні. Ці оболонки запобігають агрегації наночастинок і забезпечують тривалу стабільність колоїдних розчинів. Це є критичним для їх подальшого використання, наприклад, в антибактеріальних або протипухлинних терапіях, де стабільність колоїдів безпосередньо впливає на ефективність препаратів.

Білки, такі як глутатіон і металофїонїни, взаємодїють із поверхнею наночастинок, створюючи мїцний захисний шар. Цей шар не лише запобїгає осїданню наночастинок у розчинї, але й забезпечує їх довготривалу стабільність, що особливо важливо для біомедичних застосувань (Younis та ін., 2022) [21].

Отже, білки відіграють ключову роль у процесї біосинтезу та стабілізації металевих наночастинок, виконуючи функції відновлення іонів металів та

стабілізації одержаних наночастинок. Наявність функціональних груп (аміно-, карбоксильних, сульфатних) сприяє електростатичній стабілізації та утворенню захисних білкових оболонок. Такі ферменти, як глутатіон і металофійоніни, запобігають агрегації наночастинок і підтримують стабільність колоїдних розчинів, що робить їх цінними компонентами у процесі створення функціональних наноматеріалів для біомедичних та промислових застосувань.

Таблиця. 1.2.3.1.

Роль білків у стабілізації та відновленні металевих наночастинок

Аспект	Опис та джерела
Біовідновлення металів	Амінокислоти та білки з аміно-, карбоксильними і сульфатними групами взаємодіють з іонами металів, знижуючи їх до НЧ та забезпечуючи стабільність (Khalifa та ін., 2016; Ali та ін., 2011) [32, 36]
Стабілізація наночастинок	Металофійоніни та глутатіон формують стабільний шар на НЧ, запобігаючи агрегації та забезпечуючи довготривалу стабільність (Hamouda та ін., 2019) [37].
Контроль морфології НЧ	Оксидо-редуктивні білки впливають на швидкість синтезу та морфологію наночастинок (Kalishwaralal та ін., 2010) [30].
Синтез золотих НЧ	Білки, присутні в <i>Anabaena cylindrica</i> , сприяють передачі електронів іонам золота для відновлення до НЧ (Rosken та ін., 2016;) [38]
Формування колоїдних розчинів	Білки, як-от глутатіон та металофійоніни, утворюють стабільний шар, що підтримує однорідність розчинів (Younis та ін., 2022) [21].

1.2.4. Роль екзополісахаридів у біосинтезі наночастинок

Екзополісахариди (EPS), синтезовані ціанобактеріями, відіграють важливу роль у формуванні та стабілізації металевих наночастинок (НЧ). Завдяки своїй структурі, багатій на функціональні групи, такі як гідроксильні, карбоксильні й амініні, вони забезпечують ефективне зв'язування іонів металів, сприяють їх відновленню до наночастинок і запобігають агрегації. Це

забезпечує довготривалу стабільність наноматеріалів і зберігає їхні функціональні властивості.

Зокрема, дослідження Morsy та ін. (2014) [16] показало, що екзополісахариди, виділені з ціанобактерії *Nostoc*, демонструють здатність ефективно відновлювати іони срібла (Ag^+) до срібних наночастинок (Ag-NPs). EPS виконують роль не лише відновлюючих агентів, але й стабілізаторів, створюючи захисний бар'єр, що запобігає окисленню наночастинок і агрегації. Це сприяє збереженню фізико-хімічних властивостей наночастинок у розчинах протягом тривалого часу.

Багатофункціональність екзополісахаридів у процесах біосинтезу наночастинок забезпечує їм унікальну роль у створенні стабільних і довговічних наноматеріалів. Завдяки своїм антиоксидантним і захисним властивостям, EPS відкривають перспективи для розробки екологічно чистих технологій синтезу наночастинок, що мають широкий спектр застосувань у медицині, екології та промисловості.

Екзополісахариди (EPS), що продукуються різними видами ціанобактерій, демонструють високу ефективність у стабілізації наночастинок і запобіганні їх агрегації, роблячи ці наноматеріали придатними для біомедичних застосувань. Наприклад, дослідження Roynchoudhury та ін. (2016) [39] показало, що EPS, отримані з ціанобактерії *Desertifilum sp.*, забезпечують синтез срібних наночастинок із тривалою стабільністю. Ці наночастинок, крім стійкості до агрегації, продемонстрували високу антибактеріальну активність, що підкреслює значення EPS у створенні функціональних наноматеріалів. Завдяки своїм хімічним властивостям, таким як наявність функціональних груп для зв'язування з іонами металів, EPS сприяють утворенню наночастинок із високою ефективністю.

Hanna та інші (2021) [40] виявили, що EPS з ціанобактерій здатні зберігати структурну цілісність НЧ і запобігати їх агрегації, що підвищує

колоїдну стабільність. В експериментах з золотими наночастинками екзополісахариди діяли як природні захисні агенти, дозволяючи отримати НЧ з високою однорідністю розмірів і стабільністю у біологічних середовищах.

Іншим важливим аспектом є здатність екзополісахаридів ціанобактерій формувати контрольовану морфологію наночастинок.

Отже, екзополісахариди, синтезовані ціанобактеріями, відіграють значну роль у процесі біосинтезу та стабілізації металевих наночастинок. Вони забезпечують тривалу стабільність, ефективність і контрольовану морфологію НЧ, що робить їх цінними стабілізуючими агентами для застосувань у медицині, екології та промисловості.

Таблиця 1.2.4.1.

Роль екзополісахаридів ціанобактерій у біосинтезі наночастинок

Аспект	Опис та джерела
Відновлення і стабілізація Ag-NP	EPS з <i>Nostoc</i> виступають як відновлювачі та блокуючі агенти, запобігаючи окисненню та підвищуючи стабільність срібних НЧ (Morsy та ін., 2014) [16].
Стабілізація та антибактеріальна активність	EPS з <i>Desertifilum</i> sp. сприяють стабільності срібних НЧ з антибактеріальними властивостями (Roychoudhury та ін., 2016) [39].
Збереження колоїдної стабільності	EPS забезпечують збереження структурної цілісності та запобігають агрегації, підвищуючи стабільність НЧ у біомедичних застосуваннях (Nanna та ін., 2021) [40].

1.2.5 Роль фізико-хімічних факторів у біосинтезі наночастинок

Фізико-хімічні параметри, такі як освітлення, тривалість реакції, рівень рН середовища та концентрація реагентів, мають вирішальне значення у процесі біологічного синтезу наночастинок (НЧ). Регулювання цих факторів дозволяє створювати наночастинки із заданими розмірами, формою та

стабільністю, що відкриває широкі можливості для їх використання в біотехнологіях, медицині та промисловості..

1.2.5.1. Вплив освітлення та можливість біосинтезу наночастинок у темряві

Освітлення є важливим стимулюючим фактором, який активує фотохімічні процеси, зокрема відновлення іонів металів до наночастинок. Фотосинтетичні мікроорганізми, такі як ціанобактерії, використовують енергію світла для генерування електронів, необхідних для перетворення металевих іонів у наночастинок. Це робить освітлення одним із ключових параметрів для біосинтезу НЧ у фотосинтезуючих системах.

Однак деякі штами ціанобактерій демонструють унікальну здатність до синтезу наночастинок навіть у темряві. У таких умовах процес відновлення металевих іонів відбувається за рахунок інших метаболічних шляхів, що не залежать від фотохімічних реакцій. Це відкриває можливість для використання біосинтезу наночастинок у середовищах із низьким рівнем освітлення або за його відсутності, що розширює спектр потенційних застосувань цієї технології.

Синтез при освітленні

Для багатьох ціанобактерій, таких як *Anabaena sp.*, *Synechocystis sp.* PCC 6803, *Desertifilum tharense* та *Phormidium ambiguum*, світло значно підвищує ефективність процесу синтезу наночастинок. Дослідження показують, що освітлення активує поглинання електронів через фотосинтетичний електронний транспорт, що сприяє швидкому відновленню металевих іонів до наночастинок. Наприклад, синтез золотих наночастинок у *Synechocystis sp.* PCC 6803 під впливом світла показав суттєве збільшення швидкості та однорідності частинок (Liu та Choi, 2021) [12].

Синтез у темряві

Незважаючи на переваги освітлення, деякі штами ціанобактерій можуть синтезувати наночастинки і в темряві. Наприклад, *Desertifilum sp.* та *Microchaete NCCU-342* здатні до синтезу срібних наночастинок без освітлення. Виявлено, що екстракти цих ціанобактерій містять активні біомолекули (полісахариди, білки та інші компоненти), які можуть ініціювати відновлення металевих іонів навіть у відсутності світла, що забезпечує гнучкість у регулюванні умов синтезу (Hamida та ін., 2020) [1].

Змінені режими освітлення

Використання змінених режимів освітлення, таких як ультрафіолетове випромінювання або короткі імпульси видимого світла, може значно вплинути на ефективність біосинтезу наночастинок. У дослідженні Husain та ін. (2021) [41] було продемонстровано, що ультрафіолетове опромінення ціанобактерії *Microchaete sp. NCCU-342* суттєво прискорює процес формування наночастинок. Короткотривале UV-освітлення не лише збільшувало швидкість відновлення іонів металів до наночастинок, але й покращувало стабільність отриманих частинок.

1.2.5.2. Тривалість реакції у біосинтезі наночастинок ціанобактеріями

Час, необхідний для синтезу наночастинок (НЧ) за допомогою ціанобактерій, є важливим фактором, який впливає на характеристики отриманих наноматеріалів, зокрема їх розмір, морфологію та стабільність. Швидкість процесу може значно варіюватися залежно від виду ціанобактерій та умов проведення реакції, що робить тривалість одним із критичних параметрів для оптимізації біосинтезу.

Деякі штами ціанобактерій демонструють тривалий процес формування НЧ. Наприклад, *Plectoneta boryanum UTEX 485* потребує до 28 днів для утворення срібних наночастинок (Ag-NPs), що може бути пов'язано з

особливостями метаболічної активності та взаємодії між біомолекулами ціанобактерій і металевими іонами (Lengke та ін., 2006) [42].

У той же час інші види, такі як *Leptolyngbya sp.*, здатні синтезувати Ag-NPs позаклітинно лише за 20 хвилин (Zada та ін., 2018; Singh та ін., 2014) [43-44]. Така надзвичайно висока швидкість може бути зумовлена активною участю екзополісахаридів і білків, які швидко відновлюють іони срібла та стабілізують отримані наночастинки.

Ця різниця у тривалості процесу підкреслює значення індивідуальних біохімічних особливостей кожного штаму. Вибір відповідного виду ціанобактерій та налаштування умов реакції дозволяє не лише скоротити час синтезу, але й отримати наночастинки із заданими характеристиками.

Стабільність наночастинок також залежить від тривалості реакції. Дослідження показали, що частинки срібла, синтезовані з *Oscillatoria limnetica*, залишаються стабільними протягом 48 годин, проте після 9 місяців їх оптична інтенсивність знижується, що вказує на агрегацію частинок (Morsy та ін., 2014) [16]. У дослідженні з *Microchaete sp.* NCCU-342 виявлено, що оптимальний час реакції становить 60 хвилин при впливі ультрафіолетового світла, забезпечуючи синтез стабільних наночастинок розміром 60-80 нм (Husain та ін., 2021) [41].

Для штаму *Desertifilum tharense* темно-коричневий колір, що свідчить про утворення НЧ, з'являється вже через годину і стає насиченим через 48 годин, що свідчить про залежність розміру частинок від часу реакції (Hamida та ін., 2020) [1].

1.2.5.3. Вплив рН на біосинтез наночастинок

рН середовища впливає на розмір, форму та стабільність наночастинок (НЧ) під час біосинтезу. Це пов'язано з тим, що зміна рН змінює електричні

заряди біомолекул і кепуючих агентів, що в свою чергу впливає на їхню здатність зв'язувати та відновлювати іони металів (El-Naggar та ін., 2018) [35].

Реакція у різних значеннях рН

Рівень рН впливає на швидкість і характер формування наночастинок. Дослідження El-Naggar та ін. (2018) [35] показало, що в кислому середовищі синтез срібних наночастинок значно уповільнюється, що може бути пов'язано зі зниженням активності біомолекул, які відповідають за відновлення іонів металів. У лужному середовищі реакція відбувається значно активніше, дозволяючи отримувати наночастинок з чіткою формою та структурою. Husain та ін. (2021) [41] встановили, що рН 5,5 є оптимальним для синтезу срібних наночастинок розміром 60–80 нм із ціанобактерією *Microchaete sp. NCCU-342*.

Стабільність частинок при різних значеннях рН

Стабільність наночастинок безпосередньо залежить від рН середовища. Нейтральне або слабколужне середовище, як правило, сприяє тривалій дисперсності наночастинок. Patel та ін. (2015) [20] відзначили, що наночастинок, синтезовані при рН 7, залишаються стабільними та дисперсними протягом 30 днів без утворення агломератів. Аналогічно, Morsy та ін. (2014) [16] виявили, що при рН 6,7 синтезовані наночастинок мають покращену дисперсність завдяки оптимальному балансу функціональних груп, які сприяють утворенню невеликих та стабільних частинок.

1.2.5.4. Концентрація реагентів

Початкова концентрація іонів металу в середовищі суттєво впливає на розмір, форму та стабільність наночастинок (НЧ), синтезованих ціанобактеріями. Дослідження показують, що при низьких концентраціях іонів металу утворюються дрібні та однорідні НЧ, тоді як підвищення концентрації призводить до формування більших та морфологічно різноманітних частинок.

Lenartowicz та ін. (2017) [45] досліджували вплив концентрації іонів золота на синтез НЧ ціанобактерією *Synechocystis sp.*. Вони виявили, що при концентрації золота 0,1 мМ утворювалися сферичні наночастинки розміром 3–5 нм, які характеризувалися високою однорідністю. Натомість, збільшення концентрації до 0,5 мМ і 1,0 мМ сприяло утворенню більш складних морфологій, таких як трикутні та шестикутні частинки. Це свідчить про те, що підвищення концентрації металевих іонів може сприяти появі наночастинок зі складною структурою, хоча це також може впливати на їхню стабільність.

Дослідження Bakir та ін. (2018) [46] із *Lyngbya majuscula* продемонструвало, що синтез золотих наночастинок значно покращується при високих концентраціях іонів золота. Зокрема, при використанні 1500 мг/мл HAuCl_4 за 24 години вихід продукції становив 13,3%. Це підтверджує, що підвищення концентрації реагентів може збільшувати ефективність синтезу НЧ, хоча це також впливає на їхній розмір і морфологію.

РОЗДІЛ 2. НАНОЧАСТИНКИ СРІБЛА, МЕХАНІЗМИ ДІЇ, АНТИБАКТЕРІАЛЬНІ ТА ПРОТИПУХЛИННІ ВЛАСТИВОСТІ

Наночастинки срібла (AgNPs), отримані за допомогою ціанобактерій, відзначаються високою антибактеріальною та протипухлинною активністю. Біосинтез AgNPs із застосуванням ціанобактерій є екологічним методом, який не потребує використання токсичних хімічних реагентів, що є перевагою перед традиційними методами.

2.1. Антибактеріальна активність наночастинок срібла: механізми та ефекти

Наночастинки срібла (AgNPs), синтезовані за допомогою ціанобактерій, демонструють виражений антибактеріальний ефект завдяки комплексному впливу на клітинні структури бактерій. Їхній механізм дії базується на здатності проникати через клітинну стінку, пошкоджувати мембрану та ініціювати внутрішньоклітинний стрес. Завдяки своєму малому розміру AgNPs проникають у клітину, порушуючи її структурну цілісність, що веде до втрати клітинної функціональності та зрештою до загибелі мікроорганізму.

Одним із ключових аспектів їхньої дії є утворення реактивних форм кисню (ROS), які викликають оксидативний стрес усередині бактеріальних клітин. Дослідження Ahmed та ін. (2018) [47] показало, що ROS руйнують мембрану бактерій, знижуючи синтез позаклітинних полімерних речовин (EPS).

НУХТ БТЕК 02.01.7 КР ПЗ

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Іванець О. А.			РОЗДІЛ 2. НАНОЧАСТИНКИ СРІБЛА, МЕХАНІЗМ ДІЇ, АНТИБАКТЕРІАЛЬНІ ТА ПРОТИПУХЛИННІ ВЛАСТИВОСТІ	Лім.	Арк.	Акрушів
Перевір.		Скороцька О. І.					40	145
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В. П.						

Це значно послаблює здатність бактерій до формування біоплівки — основного захисного бар'єра проти зовнішніх впливів. Втрата біоплівки також зменшує стійкість бактерій до антибіотиків, підвищуючи ефективність антибактеріального лікування.

Наночастинки срібла (AgNPs) не лише порушують цілісність клітинної мембрани бактерій, але й впливають на її проникність, що суттєво підсилює їхній антибактеріальний ефект. Як показали Vazquez-Muñoz та ін. (2019) [48], AgNPs підвищують проникність мембрани, полегшуючи доступ до внутрішньоклітинних структур. Це створює сприятливі умови для дії антибіотиків, посилюючи їх ефективність навіть проти стійких до ліків штамів.

Ще одним важливим механізмом дії AgNPs є їхній вплив на цитоскелет бактерій. Дослідження Sanyasi та ін. (2016) [49] показало, що наночастинки срібла здатні порушувати структуру цитоскелету, що впливає на функціональність білків, відповідальних за клітинний ріст і поділ. Такі порушення призводять до дестабілізації біоплівки — захисного бар'єра бактерій, який забезпечує стійкість до зовнішніх факторів. Як наслідок, відбувається деградація ключових клітинних структур, що суттєво знижує життєздатність бактерій.

2.2. Протипухлинна активність наночастинок срібла: механізми та ефекти

Одним із основних механізмів протипухлинної дії срібних наночастинок (AgNPs) є їх здатність руйнувати мембрани ракових клітин, викликаючи порушення клітинного гомеостазу, що врешті-решт призводить до загибелі клітини. Завдяки своєму малому розміру та унікальним хімічним властивостям AgNPs легко проникають через клітинну мембрану і накопичуються всередині клітини, де запускають серію токсичних ефектів.

AgNPs активно взаємодіють із ліпідним бішаром мембрани, підвищуючи її проникність. Це провокує витік життєво важливих іонів, таких як калій та

кальцій, які відіграють ключову роль у підтриманні електрохімічної рівноваги клітини. Втрата цих іонів спричиняє порушення клітинних процесів і створює умови для подальшої дестабілізації мембранних структур.

Одним із ключових внутрішньоклітинних мішеней AgNPs є мітохондрії — головний енергетичний центр клітини. Як продемонстрували Nayak та ін. (2016) [50], AgNPs спричиняють деполяризацію мітохондріальної мембрани, що призводить до втрати мембранного потенціалу. Це суттєво порушує функціонування мітохондрій, знижує їхню здатність генерувати енергію у формі АТФ і сприяє індукції клітинного апоптозу.

Порушення мітохондріального мембранного потенціалу, спричинене срібними наночастинками (AgNPs), є одним із ключових механізмів їхньої протипухлинної дії. Втрата мембранного потенціалу запускає вивільнення проапоптотичних білків, таких як цитохром с, які ініціюють каскад апоптотичних сигналів, що призводить до запрограмованої загибелі клітини. Одночасно, у клітині спостерігається посилене утворення реактивних форм кисню (ROS), які викликають окислювальне пошкодження мембранних ліпідів, білків та ДНК, сприяючи прогресуючому руйнуванню клітинних структур.

Реактивні форми кисню, які генеруються внаслідок дестабілізації мітохондрій, є додатковим фактором, що підсилює токсичну дію AgNPs. ROS порушують структурну цілісність клітини, пошкоджують життєво важливі біомолекули і посилюють сигнали, що ведуть до апоптозу. Дослідження показують, що підвищена проникність мембран і втрата функціональності мітохондрій є одними з ранніх маркерів дії AgNPs на ракові клітини.

Срібні наночастинки (AgNPs) демонструють здатність стимулювати апоптоз у ракових клітинах, зокрема через підвищене утворення реактивних форм кисню (ROS). ROS є нестабільними молекулами, які провокують руйнування ключових клітинних компонентів, таких як білки, ліпіди та ДНК, викликаючи сильний окислювальний стрес. Коли AgNPs проникають у клітину,

вони стимулюють надмірну генерацію ROS, що ініціює ланцюг апоптотичних реакцій.

Дослідження Xiao та ін. (2019) [51] підтвердило, що AgNPs значно підвищують рівень ROS у ракових клітинах, що спричиняє пошкодження мітохондрій. Це, у свою чергу, активує проапоптотичні сигнальні шляхи, які запускають програмовану загибель клітини. Високий рівень ROS викликає оксидативне пошкодження, яке руйнує мембранні ліпіди, життєво важливі білки та ДНК, підриваючи функціональність ракових клітин.

Один із ключових етапів цього процесу — пошкодження мітохондріальної мембрани, яке порушує її цілісність і сприяє вивільненню проапоптотичних білків, таких як цитохром с. Це посилює апоптотичний сигнал і забезпечує повну деструкцію клітини. Таким чином, підвищений рівень ROS, індукований AgNPs, не лише створює несприятливе середовище для виживання ракових клітин, але й служить ключовим фактором у запуску апоптозу, забезпечуючи ефективну боротьбу з онкологічними захворюваннями.

ROS також сприяють активації білків, які регулюють апоптоз, таких як каспази — ферменти, що відіграють ключову роль у розщепленні білків та ініціації процесів апоптозу. ROS стимулюють вивільнення проапоптотичних білків з мітохондрій, таких як цитохром с, що викликає активацію каспазного каскаду. Це, в свою чергу, веде до деградації клітинних компонентів і поступового руйнування клітини.

2.3. Біосинтез наночастинок срібла за допомогою різних штамів ціанобактерій

2.3.1. Культивування та біосинтез наночастинок

Біосинтез наночастинок срібла (AgNPs) за допомогою ціанобактерій базується на здатності цих організмів синтезувати наночастинки завдяки своїм природним біомолекулам, що виконують роль відновлюючих і стабілізуючих

агентів. Культивування ціанобактерій перед синтезом є критичним етапом, який визначає ефективність біосинтезу, розмір, стабільність і морфологію отриманих наночастинок.

Для різних штамів ціанобактерій, таких як *Phormidium ambiguum*, *Desertilum tharense*, *Gloeocapsa sp.*, *Nostoc sp.*, *Synechocystis sp.* та інших, оптимальне культивування проводили в спеціальних умовах. Наприклад, екстракти *Phormidium ambiguum* та *Desertilum tharense* взаємодіяли з розчином нітрату срібла (AgNO_3) при кімнатній температурі під освітленням, що забезпечувало активацію фотосинтетичних систем для відновлення іонів срібла. Присутність світла в цьому випадку була ключовою умовою, оскільки фотосинтетична активність стимулює процес відновлення металів у наноформу (Hamida та ін., 2020) [1].

У випадку з *Gloeocapsa sp.*, біосинтез AgNPs відбувався завдяки додаванню розчину AgNO_3 безпосередньо до культури ціанобактерій, що дозволяло іонам срібла взаємодіяти з клітинними метаболітами та ферментами, які здійснюють відновлення (Al-Katib та ін., 2015) [52]. Таким чином, методика безпосередньої взаємодії культури з розчином AgNO_3 створювала умови для зменшення розміру частинок, підвищуючи їх стабільність завдяки покриттю природними білками і полісахаридами.

Схожий підхід застосовували для *Nostoc sp.*, де додавання розчину AgNO_3 до клітинного екстракту ініціювало процес відновлення, підтверджений зміною кольору розчину з прозорого на коричневий (Sankeskin та ін., 2016) [29]. Світлові умови сприяли активації відновлюючих ферментів, що було важливим для формування наночастинок з рівномірною сферичною формою.

Для штаму *Synechocystis sp.* використання світла в процесі культивування з розчином AgNO_3 також виявилось необхідним. Дослідження показали, що світло впливало на рівень ферментативної активності, яка забезпечувала синтез

наночастинок стабільної форми (Younis та ін., 2022) [21]. Аналогічно, штам *Phormidium formosum* був інкубований з AgNO_3 при кімнатній температурі в умовах освітлення, що сприяло утворенню AgNPs розміром від 1,83 до 26,15 нм, з стабілізацією за рахунок природних білкових сполук (Elkomu, 2020) [53].

Умови культивування та концентрація AgNO_3 мали значний вплив на розмір і морфологію наночастинок. У дослідженнях з *Chroococcus turgidus* та *Characium typicum* застосування різних концентрацій AgNO_3 показало, що збільшення концентрації збільшує розмір частинок, тоді як зменшення концентрації призводить до отримання наночастинок меншого розміру, але зі зниженою стабільністю (Kuraganti та ін., 2020) [54].

Отже, різні штами ціанобактерій культивувалися за специфічних умов для оптимального біосинтезу AgNPs, причому освітлення та концентрація AgNO_3 були критичними параметрами. Кожен штам демонстрував особливі властивості при взаємодії з іонами срібла, що дозволяло контролювати розмір, форму та стабільність наночастинок для подальшого застосування в медичних і промислових галузях.

2.3.2. Характеризація наночастинок срібла

Процес біосинтезу AgNPs за допомогою різних штамів ціанобактерій потребує ретельної характеристики отриманих наночастинок для визначення їх розміру, форми, морфології та стабільності. Для цього застосовувалися різні методи аналізу, включаючи ультрафіолетово-видиму спектроскопію (УФ-Vis), трансмісійну електронну мікроскопію (ТЕМ), скануючу електронну мікроскопію (SEM), інфрачервону спектроскопію з перетворенням Фур'є (FTIR) та рентгенівську дифракцію (XRD).

Ультрафіолетово-видима спектроскопія (УФ-Vis)

Зміна кольору розчину після додавання AgNO_3 до культури ціанобактерій свідчила про успішний процес синтезу AgNPs. Наприклад, у дослідженні з *Phormidium ambiguum* і *Desertilum tharense* спостерігалася зміна кольору розчину на жовтий і коричневий, що підтверджувалося характерним піком плазмонного поглинання на 420–450 нм в УФ-Vis спектрі, який є типовим для AgNPs (Hamida та ін., 2020) [1]. Подібні піки були зафіксовані для *Gloeocapsa sp.* та *Nostoc sp.*, що підтвердило утворення стабільних наночастинок (Al-Katib та ін., 2015; Sankeskin та ін., 2016) [29, 52]. В іншому дослідженні з *Oscillatoria limnetica* піковий сигнал виявлено на 426 нм, що також є характерним для AgNPs (Hamouda та ін., 2019) [37].

Трансмійна електронна мікроскопія (ТЕМ)

ТЕМ дозволила визначити морфологію і розмір AgNPs з високою точністю. У випадку з *Phormidium ambiguum* та *Desertilum tharense*, AgNPs мали сферичну форму і розмір 6,24–12,2 нм (Hamida та ін., 2020) [1]. Дослідження з використанням *Gloeocapsa sp.* показало наночастинок розміром від 10 до 20 нм (Al-Katib та ін., 2015) [52]. Для *Synechocystis sp.* і *Phormidium formosum* ТЕМ-аналіз показав, що частинки мають сферичну форму з розмірами від 1,83 до 26,15 нм (Elkomu та ін., 2020) [53]. Для наночастинок з *Chroococcus turgidus* і *Characium typicum* розмір становив від 9,87 до 34 нм (Hamouda та ін., 2019) [37]. Таким чином, ТЕМ підтвердив сферичну форму наночастинок у більшості штамів.

Скануюча електронна мікроскопія (SEM)

SEM використовували для додаткового аналізу морфології та поверхневої структури AgNPs. У випадку з *Oscillatoria limnetica*, наночастинок мали квазісферичну форму з розміром від 3,3 до 17,97 нм (Hamouda та ін., 2019) [37]. SEM аналіз наночастинок з *Nostoc sp.* показав, що вони мали сферичну форму з розміром від 51 до 100 нм (Sankeskin та ін., 2016) [29]. Дослідження з *Plectonema boryanum* підтвердило утворення сферичних та октаедричних

наночастинок розміром до 200 нм (Lengke, 2007) [18]. Отже, SEM дозволив підтвердити морфологію і структуру AgNPs для широкого спектра штамів.

Інфрачервона спектроскопія з перетворенням Фур'є (FTIR)

FTIR аналіз дозволив ідентифікувати функціональні групи, які забезпечували стабілізацію наночастинок. Наприклад, у випадку *Synechocystis sp.*, *Phormidium ambiguum* і *Desertilum tharense* FTIR показав присутність білків, полісахаридів та амінокислот, які запобігали агломерації AgNPs (Hamida та ін., 2020; Younis та ін., 2022) [1, 21]. Для *Nostoc sp.* FTIR виявив амінні та карбоксильні групи, що додатково стабілізували наночастинок (Sankeskin та ін., 2016) [29]. У дослідженні з *Spirulina platensis* та *Nostoc linckia* виявлено функціональні групи, що також сприяли стабільності частинок (Ismail та ін., 2021) [55].

Рентгенівська дифракція (XRD)

Для підтвердження кристалічної структури AgNPs використовували XRD. Дослідження з *Nostoc sp.* і *Desertilum sp.* показали наявність піків на площинах (111), (200), (220) та (311), що характерні для кристалічної структури срібла (Sankeskin та ін., 2016; Ismail та ін., 2021) [29, 55]. AgNPs, синтезовані з *Synechocystis sp.*, також продемонстрували кристалічну природу з подібними характеристиками (Younis та ін., 2022) [21].

2.3.3. Антибактеріальна активність наночастинок срібла

Наночастинок срібла (AgNPs), синтезовані за допомогою різних штамів ціанобактерій, продемонстрували потужну антибактеріальну активність проти широкого спектра патогенів. Ефективність AgNPs обумовлена їхньою здатністю руйнувати клітинні мембрани, викликати витік внутрішньоклітинних компонентів, а також індукувати окислювальний стрес.

AgNPs, синтезовані за допомогою *Phormidium ambiguum* і *Desertilum thareense*, показали високу активність проти *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), *Bacillus cereus* і *Escherichia coli*. Зона затримки росту становила 18–25 мм при концентрації 20–50 мкг/мл, що підкреслює можливість використання цих наночастинок як антимікробних агентів у боротьбі з резистентними бактеріями (Hamida та ін., 2020) [1].

Наночастинки, отримані за допомогою *Gloeocapsa sp.*, демонстрували антибактеріальну дію проти *Escherichia coli* та *Staphylococcus aureus*. Максимальна зона інгібування становила 22 мм при концентрації 25–60 мкг/мл. Ефективність цих наночастинок пов'язана з їхньою стабільною формою та рівномірним розміром (Al-Katib та ін., 2015) [52].

AgNPs, синтезовані за участю *Nostoc sp.*, показали активність проти *Staphylococcus aureus* та *Escherichia coli* із зоною інгібування 12–20 мм. Мінімальна інгібуюча концентрація (MIC) для цих патогенів становила 30–50 мкг/мл. Ефективність була зумовлена утворенням активних форм кисню (ROS) та пошкодженням клітинних мембран бактерій (Sankeskin та ін., 2016) [29]. Для *Synechocystis sp.* наночастинки продемонстрували антимікробну дію проти MRSA із зоною інгібування до 25 мм при концентрації 15–30 мкг/мл. Механізм дії включав руйнування клітинних стінок бактерій та інгібування внутрішньоклітинних процесів (Younis та ін., 2022) [21]. У дослідженні з *Phormidium formosum* AgNPs проявили антибактеріальну активність проти *Staphylococcus aureus*, *Vibrio spp.*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Escherichia coli*. Зона інгібування коливалася від 10 до 18 мм залежно від патогену. Мінімальна інгібуюча концентрація була на рівні 25–70 мкг/мл, що свідчить про їх широкий спектр дії (Elkomu, 2020) [53].

AgNPs, синтезовані з *Oscillatoria limnetica*, показали активність проти *Escherichia coli* і *Bacillus cereus*. Зона інгібування сягала 20 мм при концентрації 10–25 мкг/мл. Дія наночастинок була пов'язана з окислювальним

стресом, який призводив до руйнування ДНК та білків бактерій (Hamouda та ін., 2019) [37].

Наночастинки, отримані з *Desertifilum sp.*, проявили ефективність проти *Bacillus cereus* та *Pseudomonas aeruginosa* із зоною інгібування 12–18 мм. МІС для цих бактерій становила 30–60 мкг/мл. Антибактеріальна дія пояснюється високою реакційною здатністю наночастинок та їх взаємодією з клітинними мембранами (Hamida та ін., 2020) [1].

Таким чином, наночастинки срібла, синтезовані за допомогою ціанобактерій, демонструють потужну антибактеріальну активність проти резистентних та умовно-патогенних мікроорганізмів.

Таблиця 2.3.3.1.

Антибактеріальна активність наночастинок срібла, синтезованих за допомогою ціанобактерій

Ціанобактерії	Тест-культура	Зона затримки росту (мм)	Мінімальна інгібуюча концентрація (мкг/мл)	Джерело
<i>Nostoc sp.</i>	<i>E. coli</i>	15	10	Lengke та ін., (2007) [18]
	<i>B. subtilis</i>	13	12	
	<i>S. aureus</i>	14	8	
	<i>P. aeruginosa</i>	16	9	
<i>Synechococcus sp.</i>	<i>S. aureus</i>	18	8	Sankeskin та ін., (2016) [29]
	<i>K. pneumoniae</i>	14	6	
	<i>E. coli</i>	17	10	
	<i>C. albicans</i>	16	12	
<i>Spirulina platensis</i>	<i>E. coli</i>	19	10	Ismail та ін., (2021) [55]

Продовження таблиці 2.3.3.1.

	<i>S. aureus</i>	18	9	
	<i>K. pneumoniae</i>	12	5	
	<i>C. albicans</i>	17	8	
<i>Nostoc linckia</i>	<i>E. coli</i>	19	10	
	<i>S. aureus</i>	18	9	
	<i>K. pneumoniae</i>	12	5	
	<i>C. albicans</i>	17	8	
<i>Desertifilum</i> sp.	<i>P. aeruginosa</i>	20	7	Hamida та ін., (2020) [1]
	<i>S. aureus</i>	18	6	
	<i>E. coli</i>	21	5	
	<i>B. subtilis</i>	19	8	
<i>Gloeocapsa</i> sp.	<i>S. paratyphi</i>	10	9	Al-Katib та ін., (2015) [52]
	<i>E. coli</i>	12	10	
	<i>S. aureus</i>	11	8	
	<i>P. aeruginosa</i>	13	7	
<i>Oscillatoria</i> <i>limnetica</i>	<i>E. coli</i>	22	6	Hamouda та ін., (2019) [37]
	<i>B. cereus</i>	20	5	
	<i>S. aureus</i>	18	7	
	<i>K. pneumoniae</i>	15	9	
<i>Phormidium</i> sp.	MRSA	22	5	Younis та ін., (2021) [21]
	<i>P. aeruginosa</i>	19	6	
	<i>B. subtilis</i>	18	7	
	<i>C. albicans</i>	20	8	
<i>Nostoc</i> spp.	<i>S. aureus</i>	18	8	Bahareh та ін., (2023) [56]
	<i>E. coli</i>	16	10	

	<i>P. aeruginosa</i>	20	9	
	<i>C. albicans</i>	17	12	

2.3.4. Протипухлинна активність наночастинок срібла (AgNPs)

Наночастинки срібла (AgNPs), синтезовані за допомогою ціанобактерій, продемонстрували значний протипухлинний потенціал проти різних типів ракових клітин. Їхня ефективність базується на здатності викликати апоптоз, руйнувати клітинні мембрани, індукувати окислювальний стрес та порушувати метаболічні процеси.

AgNPs, синтезовані з *Anabaena cylindrica*, проявили значну цитотоксичність проти клітин раку молочної залози (MCF-7), де IC₅₀ становила 12 мкг/мл. Основний механізм дії включав індукцію апоптозу через активацію каспазного шляху, що супроводжувалося генерацією активних форм кисню (ROS). Це викликало пошкодження мітохондрій та порушення енергетичного балансу клітин (Lengke та ін., 2006) [42].

Дослідження наночастинок, синтезованих із *Oscillatoria limnetica*, показало високу ефективність проти клітин гепатоцелюлярної карциноми (HepG2). IC₅₀ для цих клітин становила 20 мкг/мл. Наночастинки викликали руйнування мембранної цілісності клітин та інгібували синтез білків, що важливі для проліферації клітин. Аналіз вказав на ключову роль ROS у механізмах дії (Hamouda та ін., 2019) [37].

У дослідженні з *Synechocystis sp.* AgNPs проявили активність проти клітин раку легенів (A549) із IC₅₀ на рівні 15 мкг/мл. Дія наночастинок включала інгібування факторів виживання клітин, пошкодження ДНК та індукцію апоптозу. Було встановлено, що AgNPs порушують функції мітохондрій, сприяючи клітинній загибелі (Younis та ін., 2022) [21].

Таким чином, наночастинки срібла, синтезовані за допомогою ціанобактерій, демонструють високу протипухлинну активність проти клітин раку молочної залози, легенів, печінки та меланоми. Їхні механізми дії включають індукцію апоптозу, порушення енергетичних процесів клітин та руйнування клітинних мембран, що робить ці наноматеріали перспективними для використання у терапії онкологічних захворювань.

Таблиця 2.3.4.1.

Протипухлинна дія наночастинок срібла, синтезованих за допомогою ціанобактерій

Ціанобактерії	Модель пухлини	Показник протипухлинної активності (IC50, мкг/мл)	Джерело
<i>Spirulina platensis</i>	MCF-7 (грудна залоза)	48.334	Ismail та ін., (2021) [55]
<i>Nostoc linckia</i>	MCF-7 (грудна залоза)	64.976	
<i>Oscillatoria limnetica</i>	MCF-7 (грудна залоза)	6.147	Hamouda та ін., (2019) [37]
	HCT-116 (товстий кишечник)	5.369	
<i>Cyanobacterium typicum</i>	MCF-7 (грудна залоза)	43.375	Lengke, M. F., та ін. (2007) [18]
	HepG2 (печінка)	20.8	
	MCF-7 (грудна залоза)	40.917	
	HepG2 (печінка)	55.7	

РОЗДІЛ 3. НАНОЧАСТИНКИ ЗОЛОТА, МЕХАНІЗМИ ДІЇ, АНТИБАКТЕРІАЛЬНІ ТА ПРОТИПУХЛИННІ ВЛАСТИВОСТІ

Хоча на даний момент досить обмежена кількість літератури була присвячена біосинтезу наночастинок золота такими біологічними агентами як ціанобактерії, все ж варто відзначити, що утворені наночастинки мають значний потенціал та можуть бути ефективними у терапії саме ракових захворювань. Окрім цього, відзначається, що такі наночастинки, можуть володіти також і антибактеріальними властивостями.

3.1 Антибактеріальна активність наночастинок золота: механізми та ефекти

Наночастинки золота (AuNPs) вважаються перспективними матеріалами для медицини завдяки своїй стабільності, модифікованості поверхні та здатності до біосумісності. У біомедичних дослідженнях особливу увагу приділяють їхній взаємодії з клітинними мембранами, яка відіграє вирішальну роль у таких застосуваннях, як доставка лікарських препаратів, фототерапія та інші терапевтичні методи. Мембрани клітин, що виконують роль захисного бар'єра, не лише впливають на ефективність дії AuNPs, але й визначають рівень їхньої потенційної токсичності.

Одним із механізмів впливу AuNPs на мембрани є створення порушень у ліпідному бішарі мембрани. Катіонні наночастинки золота демонструють високу активність у взаємодії з негативно зарядженими компонентами мембран, такими як фосфоліпиди. Це спричиняє утворення мікроскопічних пор, через які молекули води та іони проникають у клітину, порушуючи її

НУХТ БТЕК 02.01.7 КР ПЗ

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Іванець О. А.			РОЗДІЛ 3. НАНОЧАСТИНКИ ЗОЛОТА, МЕХАНІЗМ ДІЇ, АНТИБАКТЕРІАЛЬНІ ТА ПРОТИПУХЛИННІ ВЛАСТИВОСТІ	Лім.	Арк.	Акрушів
Перевір.		Скороцька О. І.					53	145
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В. П.						

іонний баланс. Втрата цілісності мембрани може викликати осмотичний стрес і призводить до дисфункції клітинних процесів, зрештою сприяючи загибелі клітини.

Такі ефекти, продемонстровані у дослідженнях Lin та ін. (2010) і Moghadam та ін. (2012) [57-58], підкреслюють, що здатність AuNPs впливати на клітинні мембрани залежить від їхніх фізичних та хімічних характеристик. Це відкриває нові можливості для використання AuNPs у боротьбі з патологічними клітинами, зокрема раковими, але водночас вимагає ретельного аналізу їхнього впливу на здорові тканини

Наночастинки золота (AuNPs) здатні змінювати мембранний потенціал клітин, викликаючи деполяризацію, що пов'язано з їхньою взаємодією з мембранними білками та фосфоліпідами. Позитивно заряджені наночастинки активно впливають на транспорт іонів через мембрану, зокрема на потоки калію, натрію та кальцію. Це порушує внутрішньоклітинний баланс і може ініціювати апоптоз. Дослідження Arvizo та ін. (2010) і Chen & Bothun (2014) [59-60] свідчать, що ступінь деполяризації залежить від концентрації катіонних AuNPs: зі збільшенням їх кількості ефект посилюється, а клітинна загибель стає більш імовірною. У той же час аніонні або нейтральні наночастинки мають значно менший вплив, що підкреслює важливість електричних властивостей частинок у їхньому біологічному впливі.

Фізичні параметри AuNPs, такі як розмір і форма, відіграють ключову роль у їхній взаємодії з клітинними мембранами. Наночастинки діаметром менше 5 нм здатні легше проникати через мембрани завдяки їхній здатності долати енергетичні бар'єри, властиві ліпідному бішару. Більші частинки можуть викликати руйнування мембрани через механічний тиск, що може пошкоджувати клітинні структури. Поверхнева функціоналізація також має велике значення: наночастинки із зарядженими або гідрофобними групами можуть залишатися на поверхні мембрани, сприяючи локальним

пошкодженням, або проникати всередину клітини (Окоатрап та ін., 2020; Lin та ін., 2010) [57, 61].

Фізико-хімічні характеристики наночастинок золота (AuNPs), такі як заряд, розмір і функціоналізація поверхні, визначають їхню взаємодію з клітинними мембранами та біоплівками. Ці властивості є критичними для їхньої ефективності в таких медичних застосуваннях, як доставка лікарських засобів, таргетна терапія або боротьба з бактеріальними інфекціями. Проте вплив AuNPs на мембранний потенціал і структурну стабільність клітин потребує подальшого вивчення для зниження ризиків і підвищення безпеки їх використання.

Особливо перспективною є здатність AuNPs руйнувати структуру біоплівок — багатокомпонентних утворень, що захищають бактерії від зовнішніх впливів. Наночастинки золота впливають на основні складові біоплівки, такі як полісахариди, білки та нуклеїнові кислоти, за рахунок електростатичних і гідрофобних взаємодій. Це порушує міжмолекулярні зв'язки, що ослаблює біоплівку та робить бактерії більш вразливими до дії антибіотиків або імунної відповіді (Joshi та ін., 2020) [62].

3.2. Протипухлинна активність наночастинок золота: механізми та ефекти

Наночастинки золота (AuNPs) впливають на клітини багатofакторно, запускаючи програмовану загибель через активацію апоптотичних механізмів. Їхня дія охоплює стимуляцію каспаз 3 і 9, які беруть участь у розщепленні клітинних компонентів, а також регуляцію білків Вах і Bcl-2, що контролюють апоптоз. AuNPs порушують мембранний потенціал мітохондрій, спричиняючи вивільнення цитохрому С, який активує каспазний каскад, і викликають пошкодження ДНК, що додатково стимулює апоптоз (Ali та ін., 2017; Kodihа та ін., 2015) [64].

Вплив на мембрани клітин проявляється через взаємодію з негативно зарядженими фосфоліпідами, що призводить до утворення пор у мембрані та втрати мембранного потенціалу. У випадку ракових клітин, таких як клітини молочної залози (MCF-7), AuNPs змінюють поверхневу структуру мембран, зокрема збільшують їхню шорсткість, що полегшує проникнення наночастинок і посилює чутливість клітин до токсичних впливів (Wang та ін., 2013; Lara-Cruz та ін., 2016) [65-66].

Наночастинки золота (AuNPs) впливають на ключові аспекти функціонування ракових клітин і мікрооточення пухлини. Їхня дія на цитоскелет знижує міграційну здатність клітин завдяки порушенню структур F-актину, що ускладнює переміщення та інвазію пухлинних клітин (Ali та ін., 2017) [63]. У моделях раку яєчників AuNPs збільшують жорсткість ядерної мембрани шляхом підвищення експресії ламінів A/C, що додатково обмежує міграцію клітин (Kodiha та ін., 2015) [64].

Окрім прямого впливу на клітини, AuNPs діють на мікрооточення пухлини, зокрема її судинну систему. Вони спричиняють пошкодження пухлинної васкуляризації, що призводить до зменшення постачання кисню та поживних речовин, необхідних для росту пухлини (Harris та ін., 2019) [67]. Завдяки функціоналізації поверхні AuNPs можуть бути використані для таргетної доставки протипухлинних препаратів, зменшуючи негативний вплив на здорові тканини та підвищуючи ефективність терапії.

3.3. Біосинтез наночастинок золота за допомогою різних штамів ціанобактерій

3.3.1. Культивування та біосинтез наночастинок

Культивування є важливим етапом у біосинтезі наночастинок золота (AuNPs), оскільки умови цього процесу визначають ефективність формування, розмір, форму та стабільність отриманих наночастинок. У різних дослідженнях застосовували специфічні штами ціанобактерій та умови культивування, що

забезпечували оптимальний синтез AuNPs. Основними параметрами, які враховувалися, були тип середовища, концентрація HAuCl_4 , температура, освітлення та час інкубації.

У дослідженні з використанням *Nostoc sp.* культивування проводили в середовищі BG-11, яке забезпечувало необхідні поживні речовини для росту ціанобактерій. Для біосинтезу додавали водний розчин HAuCl_4 (золотої кислоти), а процес інкубували при кімнатній температурі під освітленням. Зміна кольору розчину на фіолетовий або рубіново-червоний підтверджувала утворення AuNPs. Освітлення було критично важливим, оскільки стимулювало ферментативні реакції, які сприяли відновленню іонів золота (Focsan та ін., 2011) [17].

При використанні *Chroococcus turgidus* процес культивування був схожим, але додатково враховували рН середовища, яке оптимізували для максимального синтезу наночастинок. Після додавання HAuCl_4 розчин інкубували при кімнатній температурі протягом кількох годин. Ціанобактерії виконували роль біореакторів, де природні метаболіти виконували функцію відновлюючих агентів (Lengke та ін., 2006) [42].

Для морської ціанобактерії *Lyngbya majuscula* культивування здійснювалося в морській воді, багатій на органічні речовини, що сприяли синтезу стабільних наночастинок. Додавання HAuCl_4 до культури активувало ферментативні реакції, які відновлювали іони золота до наноформи. Світло відіграло важливу роль у цьому процесі, сприяючи фотосинтетичній активності клітин (Bakir та ін., 2018) [46]

У дослідженні з використанням *Anabaena flos-aquae* біомасу культивували в рідкому середовищі, багатому на нітрати та фосфати, що підтримували активний ріст ціанобактерій. Після досягнення необхідної концентрації клітин додавався розчин HAuCl_4 , а інкубація проводилася за

стабільних умов освітлення. Процес синтезу контролювався температурою та тривалістю, що дозволяло отримувати наночастинки із заданими розмірами (Zada та ін., 2018) [43].

Для *Anabaena cylindrica* культивування здійснювали у модифікованому середовищі Больда (BBM) з низьким вмістом нітратів. Після додавання золотовмісного розчину AuNPs формувалися з високою селективністю, що підтверджувалося методом рентгенівської дифракції (XRD). Температура інкубації становила 22 °C з циклом освітлення 12 годин.

Для *Arthrospira platensis* використовували модифіковане середовище Zarrouk із додаванням HAuCl_4 . Умови культивування включали освітлення 2500 люкс та температуру 25 °C. Наночастинки демонстрували антибактеріальну активність, що підтверджує успішність біосинтезу.

3.3.2. Характеризація наночастинок золота

Після біосинтезу наночастинок золота (AuNPs) проводили їхню детальну характеристику для визначення розміру, форми, морфології та кристалічної структури. Основними методами аналізу були ультрафіолетово-видима спектроскопія (УФ-Vis), трансмісійна електронна мікроскопія (ТЕМ), скануюча електронна мікроскопія (SEM), інфрачервона спектроскопія з перетворенням Фур'є (FTIR) та рентгенівська дифракція (XRD).

Ультрафіолетово-видима спектроскопія (УФ-Vis)

Спектроскопія УФ-Vis була основним методом для підтвердження утворення AuNPs. У випадку *Nostoc sp.* пік поглинання в спектрі спостерігався в діапазоні 530–550 нм, що характерно для наночастинок золота (Focsan та ін., 2011) [17]. Для *Chroococcus turgidus* подібний пік фіксувався на 540 нм, що підтверджувало їх сферичну форму (Lengke та ін., 2006) [42]. Дослідження з

Lyngbya majuscula демонструвало плазмонний пік на 528 нм, свідченням якого було утворення наночастинок розміром менше 20 нм (Bakir та ін., 2018) [46].

Трансмійна електронна мікроскопія (TEM)

TEM дозволяв вивчити морфологію та розмір AuNPs із високою точністю. У випадку *Nostoc sp.* наночастинок мали сферичну форму з розміром 10–15 нм (Focsan та ін., 2011) [17]. Для *Anabaena flos-aquae* частинки були сферичними і мали діапазон розмірів 5–12 нм (Zada та ін., 2018) [43].

Скануюча електронна мікроскопія (SEM)

SEM забезпечував додаткову інформацію про поверхневу структуру наночастинок. У дослідженні з *Chroococcus turgidus* наночастинок мали сферичну морфологію з чітко вираженою кристалічною структурою (Lengke та ін., 2006) [42].

Інфрачервона спектроскопія з перетворенням Фур'є (FTIR)

FTIR аналіз допоміг виявити функціональні групи, відповідальні за стабілізацію наночастинок. Для *Lyngbya majuscula* FTIR спектри показали наявність білків і полісахаридів, які утворювали стабільний покрив на поверхні AuNPs (Marine Drugs, 2018). Подібні результати спостерігали для *Anabaena cylindrica*, де амінокислотні та карбоксильні групи забезпечували стабілізацію та запобігали агрегації частинок (Lengke та ін., 2006) [42].

Рентгенівська дифракція (XRD)

XRD підтверджував кристалічну природу наночастинок золота. Для *Anabaena cylindrica* спостерігалися характерні піки на площинах (111), (200) та (220), що свідчили про утворення наночастинок з високим рівнем кристалічності (Lengke та ін., 2006) [42]. Для *Leptolyngbya JSC-1* XRD аналіз також підтвердив кристалічну природу наночастинок із розмірами 20–25 нм.

Таким чином, використання комплексних методів характеристики дозволило підтвердити утворення AuNPs, їхню сферичну форму, нанорозмір та стабільність. Кожен із методів забезпечив детальний аналіз, що є ключовим для подальших досліджень та біомедичних застосувань цих наночастинок.

3.3.3. Антибактеріальна активність наночастинок золота

Наночастинки золота (AuNPs), синтезовані за допомогою ціанобактерій, демонструють значну антибактеріальну активність проти широкого спектра патогенних бактерій. Ця активність залежить від розміру, форми та концентрації наночастинок, а також від механізму їхньої взаємодії з бактеріальними клітинами.

Наночастинки, синтезовані за допомогою *Arthrospira platensis*, виявили активність проти *Escherichia coli* та *Salmonella typhimurium*. У тестах зона інгібування для *Escherichia coli* становила 22 мм при 200 мкг/мл. Антимікробна дія пояснюється утворенням активних форм кисню (ROS), які викликають окислювальний стрес у клітинах бактерій, що зрештою призводить до їхньої загибелі (El-Deeb та ін., 2022) [69].

Дослідження з *Leptolyngbya JSC-1* показало ефективність AuNPs проти *Staphylococcus aureus* (зона інгібування 14 мм) та *Escherichia coli* (18 мм). Антимікробна дія цих наночастинок також пов'язана з пошкодженням клітинних мембран та інгібуванням синтезу білків і ДНК (Bakir та ін., 2018) [46].

AuNPs, синтезовані з *Lyngbya majuscula*, демонстрували антибактеріальну активність проти *Vibrio cholerae* та *Staphylococcus epidermidis*. Мінімальна інгібуюча концентрація (MIC) для цих бактерій була на рівні 15–30 мкг/мл, що перевищує ефективність деяких комерційних антибіотиків (Bakir та ін., 2018) [46].

Для *Anabaena flos-aquae* були зареєстровані зони інгібування проти *Klebsiella pneumoniae* та *Escherichia coli*. MIC становила 20–40 мкг/мл, при цьому механізм дії включав порушення метаболізму бактерій і руйнування мембран клітин (Zada та ін., 2018) [43].

Таким чином, наночастинки золота, синтезовані за допомогою ціанобактерій, демонструють високу антибактеріальну активність проти патогенів.

Таблиця 3.3.3.1.

Антибактеріальна активність наночастинок золота, синтезованих за допомогою ціанобактерій

	Ціанобактерія	Тест-культура	Зона затримки росту (мм)	Мінімальна інгібуюча концентрація (мкг/мл)	Джерело
	<i>Nostoc</i> sp.	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i>	15–20	20–50	Focsan та ін., (2011) [17]
	<i>Chroococcus turgidus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Salmonella typhimurium</i>	12–18	25–40	Lengke та ін., (2006) [42]
	<i>Lyngbya majuscula</i>	<i>Vibrio cholerae</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i>	15–22	15–30	Bakir та ін., (2018) [46].
	<i>Anabaena flos-aquae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Escherichia coli</i>	18–25	20–40	Zada та ін., (2018) [43]
	<i>Leptolyngbya JSC-1</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i>	14–18	30–60	Bakir та ін., (2018) [46].
	<i>Arthrospira platensis</i>	<i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella typhimurium</i>	20–22	10–20	El-Deeb та ін., (2022) [69]

3.3.4. Протипухлинна активність наночастинок золота (AuNPs)

Наночастинки золота (AuNPs), синтезовані за допомогою ціанобактерій, демонструють значний протипухлинний потенціал, зокрема проти різних видів ракових клітин. Цитотоксична дія наночастинок золота зумовлена їхньою здатністю проникати в клітини, викликати окислювальний стрес, а також індукувати апоптоз.

AuNPs, синтезовані з *Anabaena flos-aquae*, продемонстрували ефективність проти клітин раку молочної залози (MCF-7). Мінімальна концентрація наночастинок, при якій спостерігалось 50% зниження життєздатності клітин (IC50), становила 12 мкг/мл. Цитотоксична дія включала активацію каспазного шляху, що призводило до програмованої загибелі клітин (Zada та ін., 2018) [43].

Наночастинки, синтезовані за допомогою *Arthrospira platensis*, були активними проти клітин раку легенів (A549) з IC50 на рівні 10 мкг/мл. Механізм дії полягав у інгібуванні факторів виживання клітин, таких як Bcl-2, та індукуванні окислювального стресу, що викликало пошкодження ДНК (El-Deeb та ін., 2022) [69].

AuNPs, отримані з *Lyngbya majuscula*, продемонстрували протипухлинну дію на клітини гепатоцелюлярної карциноми (HepG2). IC50 для цих клітин становила 15 мкг/мл. У результаті дії наночастинок відбувалося пригнічення проліферації клітин та індукція апоптозу за рахунок активації каспази-3 (Bakir та ін., 2018) [46].

У дослідженні з *Anabaena cylindrica* наночастинки проявили значну цитотоксичність проти клітин раку молочної залози (MCF-7). IC50 становила 15 мкг/мл, а механізм дії включав утворення активних форм кисню (ROS), що викликали пошкодження клітинних мембран і органел (Lengke та ін., 2006) [42].

Таким чином, наночастинки золота, синтезовані за допомогою ціанобактерій, демонструють високу протипухлинну активність проти клітин різного типу, зокрема раку молочної залози, легенів та печінки. Висока селективність і здатність індукувати апоптоз роблять їх перспективними для розробки нових засобів протипухлинної терапії.

Таблиця 3.3.4.1.

Протипухлинна дія наночастинок золота, синтезованих за допомогою ціанобактерій

Ціанобактерія	Тест-культура	IC50 (мкг/мл)	Механізм дії	Джерело
<i>Anabaena flos-aquae</i>	MCF-7 (рак молочної залози)	12	Активація апоптозу через каспазний шлях, утворення ROS	Zada та ін., (2018) [43]
<i>Oscillatoria limnetica</i>	HepG2 (гепатоцелюлярна карцинома)	20	Індукція апоптозу, пошкодження мембран та мітохондрій, утворення ROS	Hamouda та ін., (2019)
<i>Synechocystis</i> sp.	A549 (рак легень)	15	Порушення енергетичного балансу, пошкодження ДНК, активація апоптозу	Ismail та ін., (2021) [53]
<i>Nostoc</i> sp.	B16F10 (меланома)	10–25	Активування каспазного шляху, підвищення рівня ROS, пошкодження мембран і ДНК	Sankeskin та ін., (2016) [29]
<i>Leptolyngbya</i> JSC-1	B16F10 (меланома)	20	Пошкодження мітохондрій, порушення функцій клітин, активація апоптозу	Bakir та ін., (2018)
<i>Arthrospira platensis</i>	A549 (рак легень)	10	Пошкодження мітохондрій, порушення метаболічних процесів, активація апоптозу	El-Deeb та ін., (2022) [69].

ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

РОЗДІЛ 4. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ

Рак залишається однією з провідних причин смертності у світі. За даними ВООЗ, у 2022 році було виявлено близько 20 мільйонів нових випадків онкологічних захворювань і зафіксовано 9,7 мільйона смертей [70]. Незважаючи на тенденцію до зниження ризику смерті від раку у високорозвинених країнах за останні три десятиліття, захворюваність на багато видів раку, включаючи 6 із 10 найбільш поширених, продовжує зростати [71].

Особливо тривожним є те, що кожна п'ята людина протягом життя стикається з діагнозом "рак", і приблизно кожен дев'ятий чоловік та кожна дванадцята жінка помирають від цієї хвороби [70]. У країнах, що розвиваються, включаючи Україну, ситуація залишається складною. У нашій державі новоутворення з 2019 року стали другою за частотою причиною смертей [72]. Крім того, за даними 2020 року, Україна займає друге місце в Європі за кількістю хворих на рак [73].

Багатообіцяючим є використання наноматеріалів у терапії ракових захворювань. У порівнянні з традиційними протираковими препаратами, наночастинки забезпечують цілеспрямований підхід, який запобігає небажаним ефектам. Особлива увага приділяється біосинтезованим наночастинкам, оскільки не потрібно використовувати дорогі та енергозатратні методи, які потребують шкідливих хімічних речовини в якості

НУХТ БТЕК 02.01.7 КР ПЗ

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Іванець О. А.			ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА РОЗДІЛ 4. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ	Лім.	Арк.	Акрушів
Перевір.		Скроцька О. І.					64	145
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В. П.						

відновників, поверхнево-активних речовини та стабілізаторів. Це робить біосинтез безпечнішим і дешевшим, здебільшого одностадійним методом синтезу, який використовує біомолекули – білки, полімери, вуглеводи (цукри) тощо з екстракту цілого організму – ціанобактерій, грибів, бактерій, водоростей, рослин як відновників для солей металів. Ще однією перевагою є чистота отриманих НЧ, на відміну від хімічно синтезованих. Можна контролювати процес синтезу, форму, розмір і властивості наночастинок, змінюючи рН, температуру, час реакції, тиск і біологічний відновник, аби отримати необхідну структуру НЧ. Так, менші за розмірами наночастинок мають більш виражені протипухлинні властивості.

Досить стрімко досліджується біосинтез НЧ ціанобактеріями. Серед наявних досліджень, одним з найбільш перспективних організмів є біосинтез наночастинок золота (AuNP) з використанням полісахаридів ціанобактерії *Arthospira platensis*. Синтезовані нею наночастинок золота володіють обширними антибактеріальними та протипухлинними властивостями, а саме: протипухлинна активність щодо клітин A549 (аденокарцинома легень), CaCo-2 (колоректальна аденокарцинома) та MCF-7 (аденокарцинома молочної залози).

Проаналізувавши наявні дані в базі даних Google Scholar було визначено, що досить успішним та популярним напрямком є створення наночастинок золота, кон'югованих різними хіміотерапевтичними препаратами. Насамперед такі кон'югати можуть вирішити проблему обмеженого застосування доксорубіцину. Цей препарат призначають для терапії раку молочної залози, проте його використання обмежують серйозні побічні реакції (дозозалежна кардіотоксичність, мієлосупресія, нефротоксичність тощо) та відсутність пухлинної специфічності (Zhu та Lin, 2021; Wang та ін., 2016) [74-75]. В цей же час комплекс цього препарату з наночастинками золота не лише не має характерних побічних реакцій, але й демонструє більш виражену цитотоксичну дію. Так, у дослідженні Faïd зі співавт. визначили, що наноконструкт 20 мкМ DOX-AuNPs мав таку ж цитотоксичність, як і 80 мкМ DOX (Faïd та ін., 2022)

[76]. Проте через вплив гідрофобних молекул ліків на поверхню кон'югату стабільність *in vivo*, опсонізація та подальша неефективна терапія стають основними проблемами таких систем. Тому Teng Cui зі своїми колегами розробили новий кон'югат золота (GNP-NHN=Dox-mPEG) з доксорубіцином (Dox), захищений пегілюванням на поверхні ЗНП. Новий комплекс мав кращу розчинність, стабільність та дисперсність, а також забезпечував двоетапне вивільнення ліків у відповідь на подразник у відповідь на кисле середовище в лізосомах, а потім естеразу в цитоплазмі. Такий спосіб вивільнення дозволяє цитоплазмі діяти як резервуар для тривалої доставки ліків у ядро для підвищення протипухлинної ефективності *in vivo*. Внутрішньопухлинна концентрація препарату в кон'югаті під час дослідження досягла $14,4 \pm 1,4$ мкг/г через 8 годин, що є подвійним збільшенням концентрації препарату порівняно з групою доксорубіцину гідрохлориду (Cui та ін., 2017) [77].

4.1. Огляд ринку цільової (аналогічної) продукції

На сучасному етапі розвитку медицини хіміотерапія залишається одним з основних методів лікування раку молочної залози. Інноваційні препарати, такі як кон'юговані наночастинки золота з доксорубіцином, пропонують нові можливості в підвищенні ефективності терапії. Проведення моніторингу українського ринку хіміотерапевтичних препаратів для лікування раку молочної залози є важливим етапом у визначенні конкурентного середовища та аналізі доступних альтернативних засобів.

4.1.1. Основні хіміотерапевтичні препарати для лікування раку молочної залози в Україні

На українському ринку представлені різні хіміотерапевтичні препарати, що використовуються для лікування раку молочної залози. Серед них найпоширенішими є антрацикліни, таксани та інші хіміотерапевтичні засоби.

Доксорубіцин (Adriamycin): Використовується в комбінації з іншими препаратами, такими як циклофосфамід (АС схема), для лікування раннього та локально розповсюдженого раку молочної залози. Плюси: висока ефективність у знищенні ракових клітин, перевірена часом схема лікування. Мінуси: значні побічні ефекти, такі як кардіотоксичність,

Епірубіцин (Ellence): Часто застосовується разом з циклофосфамідом або іншими хіміотерапевтичними засобами. Плюси: ефективний при лікуванні різних типів раку молочної залози, менш токсичний, ніж доксорубіцин. Мінуси: побічні ефекти, включаючи нудоту, блювоту та зниження кількості кров'яних клітин [77].

Паклітаксел (Taxol): Використовується як окремо, так і в комбінаціях, наприклад з доксорубіцином і циклофосфамідом (АС—>Р схема), для лікування метастатичного раку молочної залози. Плюси: висока ефективність при метастатичному раку, може бути використаний у комбінації з іншими препаратами. Мінуси: значні побічні ефекти, такі як нейропатія, алергічні реакції [78].

Доцетаксел (Taxotere): Часто застосовується в комбінаціях, таких як ТАС (доцетаксел, доксорубіцин і циклофосфамід). Плюси: висока ефективність, використовується в різних схемах лікування. Мінуси: значні побічні ефекти, включаючи нейтропенію, нейропатію та рідше — алергічні реакції [79].

Капецитабін (Xeloda): Приймається у формі таблеток та використовується для лікування метастатичного раку молочної залози. Плюси: зручна форма прийому, може бути використаний як монотерапія або в комбінації з іншими препаратами. Мінуси: побічні ефекти, такі як діарея, синдром руки-стопи [80].

Циклофосфамід (Cytoxan): Використовується як в комбінаціях, так і окремо. Плюси: ефективний у комбінації з іншими препаратами, широко

використовуваний. Мінуси: побічні ефекти, включаючи нудоту, блювоту, випадіння волосся [81].

Карбоплатин (Carboplatin): Застосовується в комбінаціях з паклітакселом або доцетакселом. Плюси: ефективний при різних видах раку, включаючи рак молочної залози. Мінуси: побічні ефекти, такі як нудота, блювота, нейтропенія [82].

Трастузумаб (Herceptin): Застосовується для HER2-позитивного раку молочної залози в комбінації з хіміотерапевтичними препаратами. Плюси: специфічна цільова дія на HER2-позитивні ракові клітини, підвищує ефективність хіміотерапії. Мінуси: можливі серйозні побічні ефекти, такі як кардіотоксичність [83].

Адо-трастузумаб емтансин (Kadcyla): Поєднує трастузумаб з хіміотерапевтичним препаратом DM1 для цільової доставки до HER2-позитивних ракових клітин. Плюси: цільова дія, підвищена ефективність за рахунок комбінації антитіла та хіміотерапії. Мінуси: високі витрати, можливі побічні ефекти [84].

4.1.2. Переваги кон'югованих наночастинок золота з доксорубіцином

Кон'юговані наночастинок золота з доксорубіцином мають ряд переваг, які роблять їх перспективними для використання у лікуванні ракових захворювань. Перш за все, наночастинок золота забезпечують точну доставку доксорубіцину безпосередньо до ракових клітин. Це дозволяє зменшити токсичність препарату для здорових тканин і знизити побічні ефекти. Завдяки своїм нанорозмірам і специфічним властивостям, такі наночастинок можуть більш ефективно проникати в пухлинні клітини, забезпечуючи високу концентрацію доксорубіцину в місці дії.

Цільова доставка також сприяє зниженню побічних ефектів, таких як нудота, випадіння волосся та кардіотоксичність, що є важливим фактором для покращення якості життя пацієнтів. Крім того, наночастинки золота можуть бути функціоналізовані іншими молекулами, що дозволяє створювати багатофункціональні системи для комплексного лікування. Це відкриває можливості для одночасного введення кількох препаратів або для комбінування терапії з діагностичними інструментами, що підвищує ефективність лікування.

4.2. Розрахунок потреби в ЛП

Згідно з даними Національного канцер-реєстру України, за 2021 рік було зареєстровано 14 150 нових випадків виявлення онкологічних захворювань даного типу, тоді як у 2020 цей показник становив 12 824. Враховуючи світові тенденції, можемо припустити, що показник збільшуватиметься.

На українському ринку представлений досить широкий спектр хіміотерапевтичних засобів, припустимо, що хоча б 5% хворих зацікавиться нашою пропозицією та розрахуємо необхідну кількість субстанції, щоб задовольнити попит.

Встановлено, що безпечною концентрацією DOX-AuNP є 20 мкл/мл. Для створення такого нанокompозиту потрібно 20 мкл/мл AuNP та 1 мл доксирубіцину. (Faid та ін., 2022) [76]. Тепер розглянемо, яке дозування звичайного доксорубіцину є прийнятним, оскільки потрібно буде зробити перерахунок на новий кон'югат.

Найчастіше дозу доксорубіцину розраховують на основі площі поверхня тіла в $\text{мг}/\text{мг}^2$. При цьому є відмінність при монотерапії і комбінованому лікуванні. Так, при монотерапії стандартною дозою є 60-75 $\text{мг}/\text{мг}^2$ площі поверхні тіла у вигляді одноразової внутрішньовенної дози кожні 3 тижні або ж у вигляді окремих доз, які вводяться протягом 2-3 календарних днів з інтервалами у 21 день. У випадку комбінованого лікування, доза може зменшуватися до 30-60 $\text{мг}/\text{мг}^2$ кожні 3-4 тижня [85]. Загалом рекомендується

здійснити 4 таких цикли. [13]. Наведені вище дози стосуються звичайного доксорубіцину, тоді як у дослідженні Faïd (Faïd та ін., 2022) [76] зазначається, що цитотоксичність наноконструкції в дозі 20 мкл/мл відповідає цитотоксичності звичайного доксорубіцину, але в дозі 80 мкл/мл. Тобто, за умови використання комплексу DOX-AuNP, ми маємо використовувати дозу в 4 рази меншу, ніж зазвичай. Тоді для монотерапії доза становитиме 15 – 19 мг/м², комбінована терапія потребуватиме 7,5 – 15 мг/м² DOX-AuNP.

Встановивши дози для комплексу, перейдемо до розрахунку кількості зацікавлених. Використаємо найновіші дані – 2021 року і розрахуємо кількість хворих, які б використали даний кон'югат : $14150 \div 100 \times 5 = 708$ осіб

Припустимо, що всі зацікавлені будуть проходити монотерапію DOX-AuNP і розрахуємо скільки субстанції необхідно виробити. Розрахунок проведемо за площею поверхні тіла:

$$\text{Доза (мг/м}^2\text{)} = \text{Доза (мг/кг)} \times \text{ППТ (м}^2\text{)}$$

ППТ можна розрахувати за допомогою формули:

$$\text{ППТ (м}^2\text{)} = \sqrt{(\text{Вага (кг)} \times \text{Зріст (м)}) / 0,024}$$

Пропонується проводити усереднений розрахунок, де вага людини становить 70 кг, зріст 1,7 м.

$$\text{ППТ (м}^2\text{)} = \sqrt{(70 \times 1,7) / 0,024} = 1,84 \text{ м}^2$$

$$\text{Доза (мг/м}^2\text{)} = 19 \times 1,84 = 34,96 \text{ мг на один курс лікування.}$$

Для 4 курсів лікування необхідно $34,96 \times 4 = 139,84$ мг доксорубіцину

Тоді для 708 людей потрібно: $139,84 \times 708 = 99\,006,72$ мг DOX, а отже = 99 г чистого доксорубіцину.

Наступним етапом є розрахунок для біонаноконструкції.

У статті Faid (2022) [76] зазначається, що для синтезу необхідно використати 1 мл доксорбіцину, де його концентрація становитиме $10^{-5}M$. Розрахуємо масу Dox в такому розчині: $543,5193 \cdot 10^{-5} = 0,005$ г (5 мг) , де 543,5193 - молярна маса доксорубіцину.

Також розрахуємо масу золота. У вищезгаданому дослідженні дослідженні науковці використовували хімічний синтез наночастинок, в нашому ж випадку використовується біогенний метод, тому виконаємо наступний розрахунок: $339.7865 \text{ г/моль (MHAuCl}_4\text{)} : 1000 \cdot 0,3 = 0,1$ г (100 мг)

Золото 196,9 г в 1 M розчині, 0,196 г в 1 mM розчині, біовідновлення іде на рівні 30%, тоді $0,196 \cdot 0,3 = 0,0588$ г наночастинок золота.

0,0588 г наночастинок золота в 1 mM розчині, тобто 1 літр цього розчину міститиме 58 мкг наночастинок золота.

Для синтезу біонанокompозиту потрібно внести 20 мкл наночастинок, що міститиме:

58 мг – в 1 літрі (1000 мл, 1 000 000 мкл)

X мг – 20 мкл

$X = 0,00116$ мг наночастинок золота

Далі визначимо загальну масу наночастинок, які мають міститися в композиті, аби задовольнити потреби 708 людей:

На 5мг доксорубіцину іде 0,00116 мг наночастинок

99 г (99 000 мг) – x

$X = 22,968$ мг

Наступною задачею є розрахунок кількості наночастинок, які ми отримуємо під час біосинтезу.

Концентрація ЕПС у культуральній рідині *A. platensis* становить 52,82 мг/л (Li та ін., 2022) [86]. Для біосинтезу треба:

- 100 мл 0,5 % ЕПС
- 5 мл аскорбінки 0,35%
- 100 мл 1 мМ HAuCl_4

Відповідно, отримаємо 58 мкг AuNPs. У перерахунку, для отримання 22,968 мг маємо взяти 39600 мл 0,5 % ЕПС, 1980 мл аскорбінової кислоти 0,35% та 39600 мл 1 мМ HAuCl_4 . Звідси вираховуємо, що необхідно отримати 198 г ЕПС:

0,5 грам +100 мл = 0,5 % розчин

X грам + 39,6 л

X = 198 г ЕПС

Враховуючи те, що концентрація ЕПС в культуральній рідині становить 52,82 мг/л ЕПС, а нам потрібно 198 000 мг, отримуємо 3748 літрів культуральної рідини. Також розраховуємо кількість культуральної рідини, з урахуванням 20 % втрат на виробництві: $3748 + 3748/0,2 = 4497,6$ л.

4.3. Розрахунок потужності

Кількість культуральної рідини за цикл ферментації. Прийmemo кількість робочих днів $T_{рд} = 60$, тоді розрахуємо кількість продукту на добу:

$$V_{\partial} = \frac{V_{\text{ГП}}}{T_{\text{рд}}} = \frac{4497,6}{60} = 74,96 \text{ л}$$

Кількість продукту за один цикл ($V_{\text{кр}}$) становитиме:

$$V_{\text{кр}} = \frac{K_1 \times V_{\text{д}} \times T_{\text{цф}}}{24} = \frac{1,1 \times 74,96 \times 42}{24} = 144,3 \text{ л/цикл,}$$

де K_1 – коефіцієнт запасу, що враховує можливість нестерильних операцій ($K_1 = 1,1$); $T_{\text{цф}}$ – цикл роботи ферментера, який включає в себе

тривалість виробничого біосинтезу (34 год) та час підготовки ферментера до роботи (8 год). Кількість циклів ферментації складатиме:

$$N_{\text{цк}} = \frac{V_{\text{ГП}}}{V_{\text{кр}}} = \frac{4497,6}{144,3} = 31,16 \text{ циклів} = 32 \text{ цикли}$$

4.3.1. Розрахунок кількості стадій отримання посівного матеріалу для вирощування культури у ферментері 300 л

За виробничий цикл отримують $V_{\text{кр}} = 144,3$ л культуральної рідини. Кількість поживного середовища та посівного матеріалу перед виробничим біосинтезом (з урахуванням втрат в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря (10%)) становитиме:

$$V_{\text{роб.1}} = \frac{V_{\text{кр}}}{1 - E_{\text{ф}}} = \frac{144,3}{1 - 0,1} = 160,3 \text{ л}$$

$E_{\text{ф}}$ – втрати культуральної рідини під час біосинтезу

Виробничий біосинтез здійснюють у ферментері з робочим об'ємом $V_{\text{роб.1}} = 160,3$ л.

При вибраному коефіцієнті заповнення $K_{\text{зап}} = 0,5$ можливий геометричний об'єм ферментера $V_{\text{ф.1}} = 160,3/0,6 = 266,6$ л. Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний ферментер $V_{\text{сф}} = 300$ л та уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{\text{зап.1}} = \frac{V_{\text{роб1}}}{V_{\text{сф}}} = \frac{160,3}{300} = 0,53$$

Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у вибраних межах. Кількість посівного матеріалу для ферментера становить 10% від об'єму поживного середовища. Тоді кількість поживного середовища у ферментері становитиме:

$$V_{\text{пс.1}} = \frac{V_{\text{роб1}}}{1 + X_{\text{ф}}} = \frac{160,3}{1 + 0,1} = 145,7 \text{ л}$$

де X_f – доза посівного матеріалу для ферментера. Кількість посівного матеріалу для ферментера становить: $V_{пм1} = V_{роб.1} - V_{пс1} = 160,3 - 145,7 = 14,6$ л

4.3.2. Розрахунок кількості стадій отримання посівного матеріалу для вирощування культури у ферментері 30 л

Для одержання 14,6 л посівного матеріалу кількість поживного середовища та посівного матеріалу перед культивуванням в інокуляторі (з урахуванням втрат в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря) становитиме:

$$V_{роб.2} = \frac{V_{пм1}}{1 - E_{ін}} = \frac{14,6}{1 - 0,1} = 16,2 \text{ л}$$

Можливий геометричний об'єм інокулятора $V_{ін.} = 16,2/0,6 = 27$ л. Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний інокулятор $V_{сін} = 30$ л та уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{зап.2} = \frac{V_{роб.2}}{V_{сін}} = \frac{16,2}{30} = 0,54 \text{ л}$$

Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у вибраних межах. Кількість поживного середовища в інокуляторі становитиме:

$$V_{пс.2} = \frac{V_{роб.2}}{1 + X_{ін}} = \frac{16,2}{1 + 0,1} = 14,7 \text{ л}$$

де X_f – доза посівного матеріалу для ферментера. Кількість посівного матеріалу для ферментера становить: Тоді кількість посівного матеріалу для інокулятора становить: $V_{пм2} = V_{роб.2} - V_{пс2} = 16,2 - 14,7 = 1,5$ л

4.3.3. Розрахунок кількості посівного матеріалу для вирощування культури в колбах на качалці

Для одержання 1,5 л посівного матеріалу використовують качалочні колби об'ємом 750 мл, коефіцієнт їх заповнення становить $K_{зк} = 0,2$. Кількість колб становитиме:

$$N_{\text{колб}} = \frac{V_{\text{зм.2}}}{V_{\text{колб}} \times K_{\text{зк}}} = \frac{1500}{750 \times 0,2} = 10 \text{ колб}$$

Отже, для одержання посівного матеріалу в колбах на качалці кількість колб має становити 10 шт.

РОЗДІЛ 5. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ ОТРИМАННЯ СУБСТАНЦІЇ

Dox-AuNPs — це біонаноккомпозит, що поєднує наночастинки золота з доксорубіцином, створений для покращення доставки ліків до ракових клітин. Ця система допомагає більш точно націлювати препарат на уражені клітини, мінімізуючи його шкідливий вплив на здорові тканини, зокрема на серце. Це особливо важливо, оскільки доксорубіцин може викликати серйозні побічні ефекти, такі як кардіотоксичність, якщо накопичується в організмі. Завдяки наночастинкам золота, які сприяють точнішій дії ліків, біонаноккомпозит стає більш ефективним і безпечним методом лікування. Він дозволяє пацієнтам отримувати необхідну терапію з меншими ризиками для здоров'я та кращими результатами (Faïd та ін., 2022) [76].

Оскільки цей препарат буде випускатися у формі ін'єкційного засобу, надзвичайно важливо забезпечити високий ступінь виділення та очищення не тільки екзополісахаридів *Arthospira platensis*, але й синтезованих наночастинок і біонаноккомпозиту. Чистота препарату є ключовим фактором, від якого безпосередньо залежатиме ефективність лікування онкохворих пацієнтів.

5.1. Обґрунтування стадій виділення і очищення екзополісахаридів

Шлях до отримання готового лікарського продукту передбачає три основні етапи. Насамперед потрібно відділити та очистити екзополісахариди, що будуть використовуватись у біосинтезі. Наступним етапом є біосинтез наночастинок, їх виділення та очищення. Заключним етапом є синтез

НУХТ БТЕК 02.01.7 КР ПЗ

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Іванець О. А.			РОЗДІЛ 5. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ ОТРИМАННЯ СУБСТАНЦІЇ	Лім.	Арк.	Акрушів
Перевір.		Скороцька О. І.					76	145
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В. П.						

синтез біонанокомпозита, його сушіння та пакування в первинну упаковку.

5.1.1. Етапи виділення та очищення екзополісахариду

Для виділення та очищення синтезованого біологічним агентом екзополісахариду (ЕПС) необхідно здійснити наступні процеси:

1. Відділення біомаси: Центрифугування культуральної рідини.
2. Видалення білків з супернатанту:
 - 2.1. Очищення від залишків білків кип'ятінням.
 - 2.2. Відділення осаду білків фільтруванням
3. Виділення екзополісахариду:
 - 3.1. Осадження ЕПС етанолом;
 - 3.2. Відділення осаду ЕПС центрифугуванням;
 - 3.3. Зневоднення осаду ЕПС промивкою чистим етанолом;
 - 3.4. Вакуумне сушіння
4. Розчинення ЕПС

5.1.2. Обґрунтування способу відділення біомаси

Існує два основних методи відділення біомаси:

- Фільтрування
- Центрифугування

В основній статті, дослідники використовували саме фільтрування, тому розпочнемо аналіз саме з цього методу.

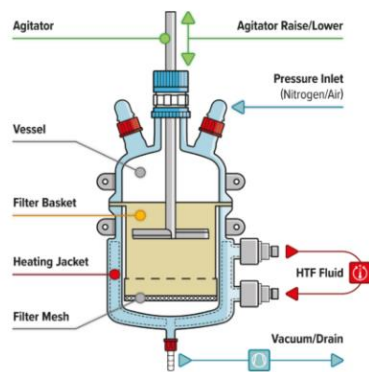
Фільтрація є процесом, під час якого рідина або газ проходять через спеціальну пористу перегородку, здатну затримувати тверді частинки. Такий метод дозволяє ефективно очищати суспензії, усувати пил чи туман за допомогою дії сил тиску або відцентрових сил [87].

Принцип роботи полягає у тому, що рідина чи газ фільтруються крізь пористий матеріал, який утримує тверді домішки. На початковій стадії

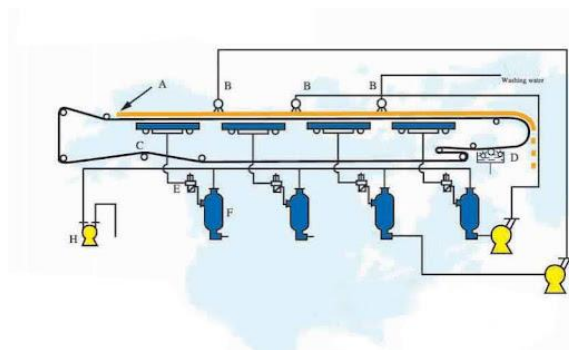
найдрібніші частинки можуть проникати через пори разом із рідиною або газом. Згодом на поверхні фільтра накопичується осад, що створює додатковий бар'єр. Цей осад діє як другий фільтрувальний шар, покращуючи процес розділення. У результаті крізь фільтр проходить очищена рідина (фільтрат), що демонструє вищий рівень прозорості та чистоти завдяки властивостям утвореного осаду [87].

Для фільтрування можуть бути застосовані:

- нутч-фільтри;
- стрічкові вакуум-фільтри



а



б

Рис. 5.1.2.1. Схематичне зображення нут-фільтра (а) та стрічкового фільтра (б)

Переваги використання цього обладнання:

- Відкритий нутч-фільтр відрізняється простою конструкцією, яка забезпечує легкість очищення від корозійних забруднень і дозволяє ретельно промивати утворений осад.
- Закритий нутч-фільтр забезпечує високу швидкість фільтрації, підходить для роботи з важкофільтрованими осадами та безпечний при обробці

суспензій, що виділяють небезпечні пари, завдяки своїй герметичній конструкції.

- Стрічкові вакуум-фільтри ефективно розділяють фільтрат і промивні води, забезпечуючи якісне промивання та зневоднення осаду. Ці фільтри ідеально підходять для роботи зі складними для фільтрації матеріалами, завдяки можливості регенерації фільтрувальної тканини.

Недоліки обладнання:

- Відкритий нутч-фільтр має низьку швидкість фільтрації, потребує багато простору і вимагає ручної вигрузки осаду, що знижує ефективність процесу.
- Закритий нутч-фільтр, попри свої переваги, має обмежену продуктивність через складність виготовлення великих фільтрувальних поверхонь і також вимагає ручної вигрузки осаду.
- Стрічкові вакуум-фільтри мають малу поверхню фільтрації, що знижує ефективність використання фільтрувальної тканини, потребують значної виробничої площі та схильні до зносу стрічки під час експлуатації.

Основними недоліками фільтраційного обладнання є його громіздкість та низька продуктивність. Великі габарити ускладнюють встановлення та експлуатацію на виробничих площах, вимагаючи більше простору і ресурсів. Крім того, продуктивність таких установок часто обмежується через труднощі створення великих фільтрувальних площ або тривалий час процесу фільтрації, що знижує загальну ефективність.

Центрифугування є методом, що використовує відцентрові сили для розділення компонентів суспензій або емульсій. У процесі обертання рідини або суспензії в центрифугі тверді частинки чи більш щільні компоненти відкидаються до стінок барабана, утворюючи осад. Така технологія дозволяє не лише ущільнювати осад, але й частково його сушити, що робить цей метод ефективним для складних суспензій у біологічних, хімічних і промислових

процесах. Центрифугування також широко застосовується для очищення води та розділення макромолекул у біохімічних дослідженнях [88].

Існують два основні процеси розділення суспензій у центрифзії:

Відцентрове фільтрування: здійснюється в центрифугах із перфорованими барабанами, внутрішня поверхня яких вкрита фільтрувальною тканиною. Під дією відцентрових сил тверда фаза затримується на тканині, а рідина проходить через осад і виходить через отвори барабана. Цей метод дозволяє досягти високого рівня зневоднення осаду, що є важливим для промислових і лабораторних процесів.

Відцентрове відстоювання: відбувається в центрифугах із суцільними стінками барабана. Суспензія розділяється на тверду фазу, яка відкладається біля стінок, і рідину, що витісняється через верхній край барабана. Цей процес підходить для відокремлення рідких і твердих фаз у суспензіях та видалення зайвої рідини.

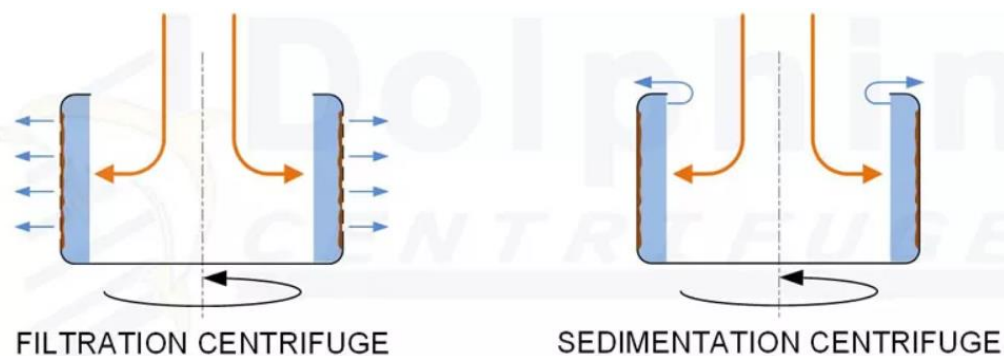


Рис.5.1.2.1. Схематичне зображення фільтраційної та седиментаційної центрифуг

Як бачимо, головними перевагами центрифуг є їх висока продуктивність і компактність обладнання, тому для відділення біомаси доречно було б використати центрифугування.

5.1.3. Обґрунтування методів видалення осаду білків з супернатанту

Наступним етапом є відділення осаду білків від осаду. Білки є великими молекулами, які мають різні функціональні групи: одні з них заряджені позитивно, інші — негативно, а також містять як гідрофільні, так і гідрофобні ділянки. Ці молекули, перебуваючи в розчині, можуть взаємодіяти одна з одною завдяки притяганням протилежно заряджених частин або через гідрофобні взаємодії, що призводить до їх агрегації та осадження. Проте водні молекули, що оточують білкові молекули, через свої полярні властивості формують навколо них стабілізуючий шар, перешкоджаючи їх злипанню і підтримуючи їх у розчині. Для того щоб подолати цю природну стабілізацію і досягти осадження білків, використовуються різні методи, такі як додавання солей, зміна рН або використання органічних розчинників. Ці методи дозволяють знизити розчинність білків, викликаючи їх агрегацію і подальше видалення з розчину (March та ін., 2021) [89].

В нашому ж випадку немає нагальної необхідності у повному видаленні білків, тому після центрифугування очищуємо від залишків білків кип'ятінням. Для цього ми використаємо реактор, в якому поступово будемо піднімати температуру, слідкуючи паралельно за показником температури та тиском. Далі ми будемо фільтрувати супернатант, аби остаточно позбавитись залишків білків. Для цього ми використаємо відкритий нутч-фільтр, оскільки основними його перевагами є простота та можливість ретельно промивати осад.

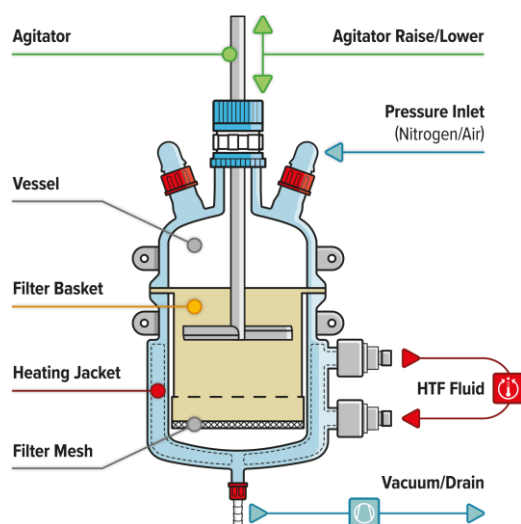


Рис. 5.1.3.1. Схематичне зображення нутч-фільтра

5.1.4. Обґрунтування методів виділення екзополісахариду:

Процес осадження екзополісахаридів відіграє важливу роль у виробництві, оскільки від правильного вибору розчинника залежить чистота отриманих речовин та якість синтезованих наночастинок. Для осадження найчастіше використовуються органічні розчинники, такі як ацетон, етанол та ізопропанол.

Ацетон (CH_3COCH_3) є полярним апротонним розчинником, що частково змішується з водою. Через його нижчу молекулярну масу та помірну полярність ефективність осадження екзополісахаридів є нижчою порівняно з іншими розчинниками. Для досягнення результатів, які можна отримати за допомогою етанолу чи ізопропанолу, потрібні або вищі концентрації ацетону, або додаткові етапи очищення. Через ці недоліки ацетон не є доцільним вибором.

Ізопропанол ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$) — полярний розчинник, що має хорошу сумісність із водою. Він демонструє високу ефективність у процесах осадження за певних умов, таких як підвищена концентрація розчинника, оптимальна температура та тривалість процесу. Ізопропанол часто застосовується як альтернатива етанолу, оскільки здатний осаджувати екзополісахариди з аналогічною ефективністю, при цьому знижуючи ризик утворення небажаних сольових осадів.

Етанол ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) є ефективним розчинником для осадження екзополісахаридів завдяки своїй високій полярності та здатності утворювати водневі зв'язки із молекулами води. Він сприяє агрегації полісахаридів, дозволяючи отримувати чисті та концентровані фракції. Порівняно з ацетоном і ізопропанолом, етанол забезпечує кращі результати осадження, що робить його оптимальним вибором для проєкту.

Враховуючи всі особливості, етанол обрано як найбільш доцільний розчинник для осадження екзополісахаридів у досліджуваному виробничому процесі..

Однією з основних переваг осадження етанолом є здатність зберігати структуру та властивості екзополісахаридів. Завдяки здатності етанолу утворювати водневі зв'язки, цей метод запобігає денатурації молекул, яка може змінити їх характеристики.

Метод також є досить гнучким, оскільки співвідношення етанолу до розчину екзополісахаридів, а також умови, такі як час та температура осадження, можуть бути легко адаптовані

5.1.5. Обґрунтування способу відділення осаду екзополісахариду

Для відділення осаду екзополісахариду використовується аналогічний метод, який було обрано в підрозділі 5.1.3.1, а саме центрифугування

5.1.6. Обґрунтування способу сушіння виділеного екзополісахариду

У технологічному процесі виробництва екзополісахаридів сушіння є важливим етапом, який забезпечує стабільність продукту для подальшого транспортування та зберігання. Серед доступних методів сушіння найбільш широко застосовуються розпилювальне сушіння, ліофілізація та вакуумне сушіння.

Розпилювальне сушіння є швидким і економічно вигідним методом, який дозволяє перетворити рідину на порошок із заданими характеристиками. Цей процес включає кілька етапів: створення дрібнодисперсного розпилу рідини, взаємодію з гарячим газом, випаровування рідини та виділення сухої твердої фази. Основні переваги розпилювального сушіння включають його швидкість, доступність і здатність забезпечувати рівномірну структуру порошку. Недоліком є контакт матеріалу з високими температурами, що може змінити його властивості.

Ліофілізація, або заморожувально-вакуумне сушіння, дозволяє максимально зберегти біологічну активність і структуру матеріалів. Процес складається з трьох основних стадій: заморожування продукту, сублімаційного видалення води (первинна сушка) і подальшої десорбції залишкової вологи (вторинна сушка). Ліофілізація забезпечує тривалий термін зберігання продукту, однак вимагає значних енергетичних витрат і ретельної підготовки. Цей метод є незамінним для чутливих матеріалів, таких як вакцини та інші біопрепарати.

Вакуумна сушка здійснюється шляхом видалення вологи при низькому тиску, що дозволяє уникнути використання високих температур. Це робить її придатною для сушіння чутливих речовин. До основних переваг методу належать простота реалізації та економічність у порівнянні з ліофілізацією. Вакуумна сушка забезпечує оптимальні умови для збереження властивостей матеріалу та зниження енерговитрат.

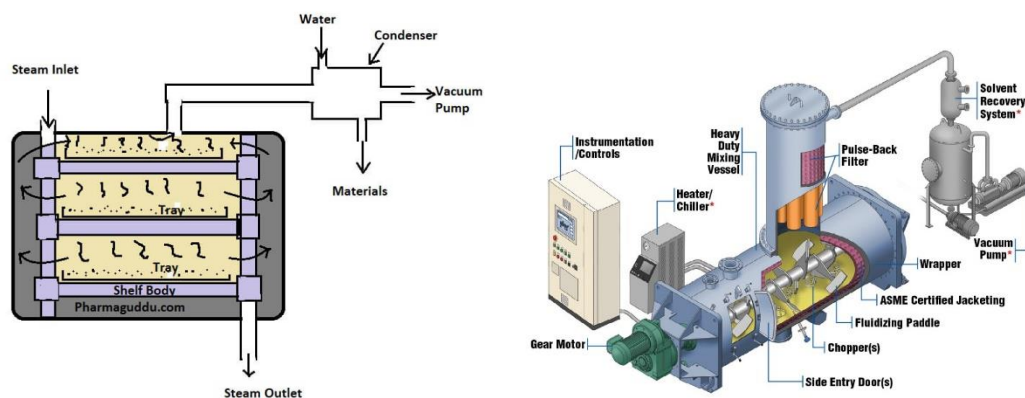


Рис. 5.1.6.1. Схематичне зображення вакуумної сушарки

Після аналізу всіх методів, **вакуумна сушка** виглядає найбільш оптимальним вибором. Вона не тільки запобігає впливу високих температур, але й є менш енергоємною та не вимагає розчинення осаду екзополісахариду перед сушінням, що заощаджує ресурси та час. Таким чином, даний підхід може бути найефективнішим для обробки екзополісахаридів.

5.2. Обґрунтування стадій виділення і очищення біосинтезованих наночастинок золота

Після біосинтезу наночастинок також потрібно провести декілька етапів виділення та очищення. Після біосинтезу, наночастинок можуть містити залишки реактивів, продуктів метаболізму або небажаних домішок, які можуть впливати на їх фізико-хімічні властивості і функціональність. Наявність домішок може негативно позначитися на електронних, оптичних та каталізаторних характеристиках наночастинок, тому досягнення високої чистоти продукту є необхідною умовою для їхнього подальшого використання, зокрема в медичних або промислових застосуваннях.

Очищення також важливо для забезпечення стабільності наночастинок. Залишкові реактиви можуть призводити до агрегації, що негативно вплине на характеристики матеріалу та його функціональність. Стабільні наночастинок демонструють кращі результати в експериментальних умовах, а також мають триваліший термін зберігання. Окрім того, очищені наночастинок легше піддаються модифікації або функціоналізації, що розширює їхній спектр застосувань.

Загалом, методи виділення складаються з 3 циклів центрифугування та промивання депротейнізованою водою. Центрифугування здійснюватиметься аналогічно до методу, паведеному в підрозділі 5.1.3.1.

5.3 Обґрунтування стадій очищення біонаноккомпозита

Наноккомпозити, що поєднують наночастинок золота і доксорубіцин, мають великий потенціал для використання в онкотерапії завдяки їх здатності до таргетованої доставки та накопичення в пухлинних клітинах. Однак для забезпечення ефективності таких наноккомпозитів необхідно враховувати специфічні вимоги до їх зберігання, стабільності та безпеки.

У рідкому стані наноккомпозити можуть бути менш стабільними через присутність води, яка сприяє різним хімічним реакціям, зокрема гідролізу.

Доксорубіцин, як активний компонент, може піддаватися хімічній деградації внаслідок впливу вологи, що призводить до зниження його терапевтичної ефективності. Крім того, наночастинки золота в рідкому розчині можуть об'єднуватися (агломерувати), що може призводити до змін їх фізико-хімічних властивостей, таких як розмір і форма, а це безпосередньо впливає на їх біологічну активність.

Ще однією важливою проблемою є мікробна контамінація рідких форм лікарських препаратів. Розчини є більш сприйнятливими до зараження мікроорганізмами, що може вплинути на безпеку препарату, особливо при його використанні в медичних процедурах. У випадку ін'єкційних препаратів зберігання в рідкому вигляді вимагає суворого дотримання стерильних умов, що не завжди можливо при тривалому зберіганні або транспортуванні.

З огляду на ці ризики, доцільно перетворити розчин нанокompозиту на суху форму. Висушення нанокompозиту дозволяє уникнути гідролізу та хімічної деградації доксорубіцину, зберігаючи його активність протягом тривалого часу. У сухому стані також знижується ризик агломерації наночастинок золота, що забезпечує стабільність їх розміру та форми. Крім того, висушений нанокompозит значно легше захищати від мікробної контамінації, що є критичним для збереження стерильності, особливо для ін'єкційних форм.

Сухі форми препаратів також забезпечують простоту транспортування та зберігання. Відсутність рідини зменшує об'єм і вагу продукту, що полегшує логістичні операції. Важливо також зазначити, що сухі форми лікарських засобів легко піддаються стандартизації та точному дозуванню, що є важливою умовою для ефективного клінічного застосування.

5.3.1. Сушіння біонанокompозиту

Для сушіння біонанокompозиту використовується аналогічний метод, який було обрано в підрозділі 3.1.6, а саме вакуумне сушіння.

5.4. Обґрунтування способу та матеріалу пакування

Упаковка – це сукупність засобів або комплекс заходів, призначених для захисту продукту (субстанції) від пошкоджень, втрат, зовнішніх негативних факторів та забруднень. Вона виконує низку важливих функцій, таких як забезпечення фізичної цілісності продукту, збереження його хімічних та фізичних властивостей, а також запобігання взаємодії з навколишнім середовищем, що може призвести до погіршення якості продукту. Упаковка відіграє ключову роль у збереженні стабільності та терміну придатності продукції, особливо коли йдеться про фармацевтичні субстанції або наноматеріали.

Основними компонентами упаковки є тара та пакувальні матеріали. Тара виконує роль зовнішнього захисного шару, що може бути виготовлений із різних матеріалів, таких як скло, пластик, метал чи папір. Пакувальні матеріали можуть включати внутрішні оболонки, що забезпечують додатковий захист продукту від зовнішніх впливів, таких як волога чи кисень. Крім захисної функції, упаковка також полегшує процес транспортування, перевантаження та зберігання продукції, дозволяючи раціонально використовувати простір і знижувати ризик пошкодження під час переміщення.

5.4.1. Вибір типу упаковки

Тип упаковки визначається кількома основними факторами, головним з яких є характер внутрішнього продукту (субстанції). Упаковка повинна відповідати фізико-хімічним властивостям продукту, захищаючи його від можливих зовнішніх впливів, таких як волога, температурні коливання, механічні пошкодження та хімічні реакції. Наприклад, для продуктів, чутливих до світла, використовуються непрозорі або світлозахисні матеріали, тоді як субстанції, що піддаються окисленню, зберігаються у герметичних контейнерах, що забезпечують захист від проникнення кисню.

Крім того, упаковка повинна забезпечувати захист продукту від зовнішніх впливів, яким він може піддаватися під час транспортування і

зберігання. Це включає в себе вплив механічних факторів, таких як вібрації, удари або стискання, а також хімічних факторів, які можуть спричинити деградацію субстанції. Особливо важливою є стійкість упаковки до впливу навколишнього середовища, такого як зміни температури і вологості, що можуть суттєво вплинути на стабільність продукту.

Ще одним важливим критерієм вибору типу упаковки є тривалість часу, протягом якого продукт повинен залишатися стабільним у межах своєї упаковки. Це визначається умовами зберігання та транспортним маршрутом. Наприклад, довготривалі перевезення, особливо за допомогою морського або наземного транспорту, можуть потребувати використання більш міцної упаковки, яка забезпечує додатковий захист від пошкоджень під час завантаження та розвантаження. Для субстанцій, що мають високі вимоги до стерильності, необхідно використовувати спеціальні багат шарові пакувальні матеріали, які забезпечують максимальний захист від забруднень

Зважаючи на кінцеву форму цільового продукту – порошок для ін'єкційного введення, оптимальним вибором є використання скляних флаконів відповідної грамівки. Скло є одним із найбільш підходящих матеріалів для упаковки ін'єкційних препаратів, оскільки воно хімічно інертне, не вступає у взаємодію з вмістом і забезпечує надійний захист від зовнішніх факторів. Особливо це стосується продуктів, що містять наночастинки, оскільки будь-яка реакція між упаковкою і субстанцією може негативно вплинути на ефективність препарату.

Важливим аспектом є вплив світла на стабільність наночастинок. Наночастинки золота, що входять до складу продукту, чутливі до світла, яке може спричинити їх агломерацію або хімічну деградацію. Тому скляні флакони забезпечують додатковий захист від прямого сонячного випромінювання та ультрафіолетового світла, що є критично важливим для збереження стабільності наноконструкції. Для ще більшого захисту рекомендується

використовувати флакони з темного скла, яке блокує проникнення світла та забезпечує стабільність субстанції під час зберігання і транспортування.

1 курс лікування потребує ~35 мг біонаноккомпозиту, в залежності від дозування (розрахунки здійснювались по максимально можливій дозі), тому ми будемо використовувати флакони на 5 мл, враховуючи об'єм рідини, яка буде введена для розчинення порошку.

Для забезпечення ефективного та стерильного процесу фасування порошків для ін'єкцій, доцільно використовувати роботизовану систему LVI Masofar, яка відповідає найвищим стандартам у фармацевтичній промисловості. Однією з ключових переваг цього апарату є його здатність гарантувати стерильність процесу. Завдяки автоматизованій системі, що виключає прямий контакт оператора з продуктом, значно знижується ризик мікробної контамінації, що є критично важливим для збереження якості ін'єкційних препаратів. Роботизована система працює в умовах контрольованого середовища, що забезпечує відповідність стерильним умовам виробництва.



Рис.5.4.1.1. Роботизована система LVI Masofar

5.5. Специфікація обладнання

Специфікація обладнання

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика
З-1	Збірник для культуральної рідини	1	Збірник на 150 л. Розміри 66 см x 55 см x 50. Наявний манометр [90]
Н-2, Н-4 Н-6, Н-9, Н-11, Н-16, Н-18	Перистальтичний насос	7	Перистальтичний насос з продуктивністю 150 мл/хв. Робоча напруга: DC 12В, робочий струм: 250-300 мА [91]
Ц-3, Ц-12, Ц-20	Центрифуга	3	Центрифуга Sorvall MX 120 Plus. Потужність до 120 000 об/хв [92]
Р-5	Реактор для кип'ятіння	1	Реактор об'ємом 100 л виготовлений із нержавіючої сталі AISI 316L (контактуючі деталі) та AISI 304 (неконтактуючі), оснащений еліптичною кришкою, конічним днищем, якірною мішалкою потужністю 3 кВт, нагрівальним елементом 18 кВт, циркуляційним насосом 0,55 кВт та забезпечує нагрів до 200 °С із теплоносієм на основі силіконового масла. [93]
Ф-7	Фільтр-прес	1	Фільтр-прес автоматичний загальною площею фільтрування 12 м ² , пересувна ємність об'ємом 150 л [94]
З-8	Збірник для зберігання спирту	1	Резервуар об'ємом 500 літрів виготовлений з нержавіючої сталі, має вертикальну конструкцію, підтримує різні типи мішалок, потужність двигуна від 0,75 до 75 кВт та робочий тиск до 0,6 МПа. [95]
Р-10	Реактор для осадження екзополісахаридів	1	Реактор із нержавіючої сталі об'ємом 900 літрів, оснащений напівспіральною сорочкою для ефективного нагрівання та охолодження [96]

Продовження таблиці 5.5.1

C-13	Вакуумна сушарка	1	Вакуумна підлогова машина Youngsun YS-DQ-420Q оснащена камерою з довжиною зварювальної рейки 420 мм, виготовлена з нержавіючої сталі, має електронний датчик тиску, цифровий пульт керування та можливість друку дати на пакеті. [97]
P-14	Реактор на 40 л	1	Реактор об'ємом 40 літрів виготовлений з нержавіючої сталі марок AISI 304 або AISI 316, оснащений теплоізолююваною сорочкою нагріву, приводом обертання, вузлом ущільнення та щитом управління; забезпечує роботу при вакуумі або тиску до 4 атмосфер, з можливістю нагріву продукту до 160°C. [98]
П-15	Переносна ємність	1	Бідон об'ємом 60 літрів виготовлений із харчового пластику, оснащений герметичною кришкою та зручними ручками для транспортування. [99]
P-17	Реактор для NaAuCl ₄	1	Резервуар об'ємом 50 літрів виготовлений з нержавіючої сталі, має вертикальну конструкцію, підтримує різні типи мішалок, потужність двигуна від 0,75 до 75 кВт та робочий тиск до 0,6 МПа. [100]
P-21	Реактор для біосинтезу	1	Реактор об'ємом 100 л виготовлений із нержавіючої сталі AISI 316L (контактуючі деталі) та AISI 304 (неконтактуючі), оснащений еліптичною кришкою, конічним днищем, якірною мішалкою потужністю 3 кВт, нагрівальним елементом 18 кВт, циркуляційним насосом 0,55 кВт та забезпечує нагрів до 200 °C із теплоносієм на основі силіконового масла. [101]

Закінчення таблиці 5.5.1

P-22	Реактор для синтезу біонанокомпозиту	1	Реактор скляний лабораторний, об'єм 25 літрів, боросилікатне скло, сорочка для теплоносія, герметичний, з портами для мішалок і датчиків, робоча температура до 200°C, стійка рама з регулюванням висоти. [102]
C-23	Ліофільна сушарка	1	Температурний діапазон: -55°C до +60°C, площа полиць: 0,12 м ² , об'єм конденсатора: 3 кг/24 години, потужність вакуумного насоса: 2 м ³ /год, кількість полиць: 3, сенсорний дисплей, автоматичне управління процесом.[103]

РОЗДІЛ 6. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИДІЛЕННЯ І ОЧИЩЕННЯ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

ДР 1. Приготування робочого розчину NaAuCl_4

Для біосинтезу наночастинок необхідно підготувати прокип'ячений розчин NaAuCl_4 . Для кип'ятіння 39,6 літрів розчину тетрахлораурату натрію (NaAuCl_4) використовується реактор Р-17 на 50 літрів, оснащений мішалкою для забезпечення рівномірного перемішування. Розчин нагрівають до 100°C , підтримуючи температуру кипіння протягом 30 хвилин. Після завершення кип'ятіння розчин охолоджують до кімнатної температури і подається самоплином до реактора Р-19

ДР 2. Приготування 0,35% розчину L-аскорбінової кислоти

Для приготування розчину використовують 2 л колбу. Для приготування 1,98 літра 0,35% розчину аскорбінової кислоти необхідно відважити 6,93 г аскорбінової кислоти. Відважену кількість аскорбінової кислоти розчиняють у невеликій кількості дистильованої води, ретельно перемішуючи до повного розчинення. Потім додають дистильовану воду до загального об'єму 1,98 л. Отриманий розчин ще раз перемішують для забезпечення однорідності, після чого він готовий до використання.

ДР 3. Приготування розчину доксорубіцину

НУХТ БТЕК 02.01.7 КР ПЗ

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Іванець О. А.			РОЗДІЛ 6. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИДІЛЕННЯ І ОЧИЩЕННЯ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ	Лім.	Арк.	Акрушів
Перевір.		Скороцька О. І.					93	145
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В. П.						

Процес приготування 99 мл розчину доксорубіцину відміряється 4,31 г доксорубіцину за допомогою аналітичних терезів. У колбу на 200 мл поступово додається доксорубіцин і невелика кількість дистильованої води з ретельним перемішуванням до повного розчинення речовини. Після повного розчинення доксорубіцину об'єм розчину доводиться до 99 мл шляхом додавання дистильованої води, при цьому постійно забезпечується рівномірне перемішування розчину для досягнення однорідної концентрації.

ДР 4. Підготовка сировини і матеріалів

ДР 4.1 Розтарування флаконів

Флакони зі складу доставляються на дільницю розтарування флаконів, де вони обробляються розчином перекису водню (3%) за температури 30-35°C протягом 30-35 хвилин. Після завершення обробки флакони залишаються в первинній упаковці і направляються на наступний етап миття флаконів (ДР 4.4).

ДР 4.2 Підготовка стерильних резинових пробок та алюмінієвих ковпачків

На дільниці розтарування здійснюється підготовка резинових пробок і алюмінієвих ковпачків. Пробки та ковпачки доставляються зі складу і обробляються розчином перекису водню (3%). Після обробки перекисом протягом 30-35 хвилин, вони піддаються стерилізації за температури $121 \pm 1^\circ\text{C}$ і тиску 1,1-1,2 бар протягом 20 хвилин. Після завершення стерилізації пробки та ковпачки можуть зберігатися не більше 24 годин, при цьому забезпечується відсутність мікробіологічного забруднення.

Стерильні пробки і ковпачки потім направляються на наступний етап для використання у фасуванні (ТП 7)

ДР 4.3. Дезобробка упаковки з субстанцією.

На дільниці розтарування проводиться дезінфекція упаковки з субстанцією. Субстанція, доставлена зі складу, проходить обробку розчином перекису водню (3%) протягом 30-35 хвилин. Після цього здійснюється обробка розчином етанолу (76%) протягом 5 хвилин для забезпечення додаткової стерильності. Після етапу стерилізації субстанція піддається екстації протягом 15 хвилин для видалення залишкових розчинів і газів. Стерильна субстанція залишається у первинній упаковці і направляється на етап фасування (ТП 7)

ДР 4.4. Підготовка стерильних флаконів

Флакони, що надійшли з ДР 4.1, проходять підготовку на дільниці підготовки стерильних флаконів. Після розтарування флакони направляються на етап миття (ДР 4.4.1).

ДР 4.4.1. Миття флаконів

На етапі миття флакони очищуються водою для ін'єкцій та очищеним повітрям. Спочатку флакони промиваються очищеною водою під тиском 2-3 бар при температурі 60-65°C протягом 15 хвилин. Після цього здійснюється ополіскування водою для ін'єкцій при температурі 85±5°C і тиску 2-3 бар. На кожному циклі обробляється 20 флаконів. Після завершення миття флакони направляються на етап первинної упаковки.

Флакони, які пройшли етап миття, направляються на дільницю стерилізації (ДР 4.4.2). Стерилізація здійснюється при температурі 320±2°C протягом 20 хвилин. Після завершення стерилізації флакони охолоджуються до температури 21-23°C. Забезпечується повна відсутність мікробіологічного забруднення флаконів.

Стерильні флакони потім направляються на наступний етап фасування (ТП 7).

ТП 1. Зберігання культуральної рідини

Культуральна рідина об'ємом 144,3 л зберігається у збірнику З-1 на 150 л. За допомогою води охолодженої, що подається через сорочку, у збірнику підтримується температура в 4 °С.

ТП 2. Екстракція водорозчинних полісахаридів

ТП 2.1. Центрифугування культуральної рідини.

Щоб відокремити біомасу від супернатанту, скористаємось центрифугою Ц-3, до якої культуральна рідина буде подаватися за допомогою перистальтичного насоса Н-2. Центрифугування здійснюватиметься 10 хв з 9000 об/хв.

ТП 2.2. Очищення від залишків білків кип'ятінням

Наступним етапом є кип'ятіння отриманого супернатанту. Цей процес буде здійснено в реакторі на 150 л Р-5, подача здійснюватиметься перистальтичним насосом Н-4. Процес кип'ятіння буде проводитись 30 хв при температурі в 100 °С.

ТП 2.3. Відділення осаду білків фільтруванням

Після кип'ятіння перистальтичним насосом Н-6 супернатант перекачується до фільтр-пресу Ф-7. Відфільтрований матеріал буде знаходитись в пересувній ємності, якою обладнана обрана модель.

ТП 2.4. Осадження полісахаридів 95% етиловим спиртом

Для осадження ЕПС будемо використовувати 95% спирт, що зберігатиметься в збірнику З-8. З цього збірника перистальтичним насосом Н-9 спирт подаватиметься до реактора-змішувача Р-10, в якому і відбудуватиметься осадження.

ТП 2.5. Відділення осаду ЕПС центрифугуванням

Даним етап бду здійснюватись у центрифугі Ц-12, до якої спиртовий розчин перекачуватиметься перестальтисним насосом Н-11. Центрифугування здійснюватиметься 10 хв з 9000 об/хв. Водно-спиртова суміш, яку отримаємо внаслідок центрифугування, відправимо на регенерацію спирту, а вологий осад ЕПС насосом направимо на промивку спиртом.

ТП 2.6. Зневоднення осаду ЕПС промивкою чистим етанолом

Для зневоднення отриманий вологий осад промивається чистим етанолом. Здійснювати це будемо в колбі на 500 мл.

ТП 2.7. Вакуумне сушіння

Вакуумна сушка буде проведена в сушарці С-13 за температури $35 \pm 2^\circ\text{C}$, під глибоким вакуумом (<10 мм рт. ст.) протягом 15 годин.

ТП 2.8. Розчинення ЕПС

Для отримання 39,6 літрів 0,5% розчину ЕПС будемо використовувати реактор Р-14, в яки1 необхідно подати 39,4 літри води, які зберігатимуться в переносній ємності П-15

ТП 3. Біосинтез наночастинок

Процес біосинтезу здійснюватиметься в реакторі Р-19, в який насосом Н-16 буде подаватись прокип'ячений розчин солі золота від реактора Р-17 та насосом Н-18 подаватиметься розчин ЕПС від реактора Р-14. Також в реактор необхідно внести 1,98 л 0,35% розчину аскорбінової кислоти.

ТП 4. Виділення наночастинок

ТП 4.1 Центрифугування розчину з наночастинками

Після біосинтезу необхідно виділити з отриманого розчину наночастинки. Для цього проводиться центрифугування у центрифугі (Ц-20).

Центрифугування здійснюватиметься 10 хв з 9000 об/хв. Вологий осад направляється на промивку, решта – на утилізацію.

ТП 4.2 Промивання осаду з наночастинками

Відцентрифугований осад в колбі на 100 мл промивають деіонізованою водою і направляють на повторне центрифугування

ТП 4.3 Повторне центрифугування осаду з наночастинками

Промитий осад повторно центрифугують у центрифугі (Ц-20) направляють на повторне промивання.

ТП 4.4 Повторне промивання осаду з наночастинками

Відцентрифугований осад в колбі на 100 мл промивають деіонізованою водою і направляють на повторне центрифугування

ТП 4.5. Повторне центрифугування осаду з наночастинками

Промитий осад повторно центрифугують у центрифугі (Ц-20) і направляють на повторне промивання.

ТП 4.6 Повторне промивання осаду з наночастинками

Відцентрифугований осад в колбі на 100 мл промивають деіонізованою водою і направляють на синтез біонанокompозиту, що буде здійснюватись у реакторі Р-21

ТП 5. Синтез біонанокompозиту

Для синтезу біонанокompозиту потрібно додати 99 мл розчину доксорубіцину від ДР 3 та 22,968 мг промитих наночастинок від ТП 4.6 до 5 літрового реактору Р-22.

ТП 6. Ліофільна сушарка

Від реактору Р-22 на ліофільну сушку подається біонанокомпозит. Першим етапом є заморожування, яке проводять при температурі -50°C до -80°C , що дозволяє уникнути агрегації наночастинок та забезпечити рівномірне заморожування зразка. Тривалість заморожування складає 2-4 години, залежно від маси зразка. Основна сушка (сублімація) проводиться за початкової температури на полицях -40°C до -20°C , з поступовим підвищенням до 0°C . Тиск підтримується в межах 50-200 мТорр, що дозволяє ефективно видаляти лід без руйнування структури біонанокомпозиту. Тривалість основної сушки становить 24-48 годин, залежно від початкового вмісту вологи. Другорядна сушка, необхідна для видалення залишкової вологи, виконується при температурі $10-25^{\circ}\text{C}$ та тиску ≤ 50 мТорр. Тривалість цього етапу складає 6-12 годин, що дозволяє досягти залишкової вологості менше 2-3%.

РОЗДІЛ 7. ТЕХНОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ОТРИМАННЯ ГОТОВОГО ПРОДУКТУ

7.1. Обґрунтування кінцевої форми лікарського препарату на основі нанокompозиту DOX-AuNPs

Після синтезу нанокompозиту постає питання стосовно форми зберігання цільового продукту, оскільки вибір між рідкою та порошковою формою суттєво впливає на стабільність, ефективність і термін придатності матеріалу. У рідкій формі наночастинки часто стикаються з проблемами агрегації та осадження через взаємодії між частинками, що може знижувати їх функціональність і цільову ефективність. Це стосується не лише самих наночастинок, але й активних компонентів, таких як доксорубіцин, який у розчині може деградувати внаслідок гідролізу або окислення, що призводить до втрати його терапевтичної активності (Loza, Epple, Maskos, 2019) [104].

Розчини наночастинок також вимагають ретельного контролю умов зберігання, включаючи температуру, рівень рН та концентрацію іонів у розчині. Будь-які зміни цих параметрів можуть впливати на електростатичні взаємодії між частинками та їх стабільність у середовищі, що особливо важливо для кон'югатів наночастинок з лікарськими молекулами, такими як доксорубіцин (Mui, Ngo, Kim, 2016) [105].

У цьому контексті переведення нанокompозиту в порошкову форму є ефективним рішенням для уникнення проблеми агрегації та забезпечення довготривалої стабільності. Порошкові нанокompозити менш схильні до взаємодії з навколишнім середовищем, оскільки відсутні сили взаємодії з розчинником, які можуть спричинити злипання частинок або зміну їхніх

НУХТ БТЕК 02.01.7 КР ПЗ

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Іванець О. А.			РОЗДІЛ 7. ТЕХНОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ОТРИМАННЯ ГОТОВОГО ПРОДУКТУ	Лім.	Арк.	Акрушів
Перевір.		Скороцька О. І.					100	145
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В. П.						

властивостей. У сухому стані наночастинки зберігають свою первинну нанорозмірність, що особливо важливо для забезпечення ефективної доставки ліків (Razi та ін., 2021) [106].

Переведення нанокompозиту в порошкову форму також дозволяє зберегти стабільність активних компонентів, таких як доксорубіцин, і мінімізувати ризики його хімічної деградації. Така форма зберігання зручна для транспортування та довготривалого зберігання, а перед застосуванням порошок можна легко розчинити у відповідному розчиннику, забезпечивши необхідну концентрацію та властивості препарату (Loza та ін., 2019) [104].

Таким чином, вибір форми зберігання нанокompозиту значною мірою визначає його ефективність та тривалість зберігання. Переведення у порошкову форму є доцільним рішенням для забезпечення стабільності, уникнення агрегації та збереження активності лікарських компонентів.

7.2. Обґрунтування первинної упаковки лікарського препарату на основі нанокompозиту DOX-AuNPs

Наступним етапом після синтезу нанокompозиту DOX-AuNPs є вибір оптимальної форми пакування для забезпечення стабільності та ефективності препарату. Відповідно до розрахунків, виконаних у курсовому проєкті, для одного курсу лікування необхідно 27,14 г нанокompозиту. Для практичної реалізації найзручнішою формою первинної упаковки будуть флакони на 30 г, що дозволить врахувати можливі втрати або похибки під час дозування.

Оскільки продукт є світлочутливим, важливо, щоб флакони були виготовлені зі скла, оскільки скляна тара краще захищає препарат від впливу світла та допомагає підтримувати його хімічну стабільність. Скло також має низку інших переваг, таких як хімічна інертність і висока бар'єрна здатність, що дозволяє зберігати препарат тривалий час без ризику взаємодії з упаковкою. Важливо також, щоб препарат зберігався при температурі 2°C – 8°C і був

захищений від прямого світла. Це допомагає підтримувати стабільність ліофілізованого порошку до моменту відновлення препарату.

Перед застосуванням ліофілізований порошок DOX-AuNPs можна відновити стерильним фізіологічним розчином або 5% розчином глюкози до необхідної концентрації. Після відновлення розчин залишається стабільним протягом 7 днів при кімнатній температурі або до 15 днів при зберіганні в холодильнику [107]

Для захисту від механічних пошкоджень і забезпечення додаткового бар'єра від світла та вологи буде використовуватись вторинна упаковка у вигляді картонної коробки. Окрім цього, на обидвох упаковках має бути зазначені вся необхідна інформація, що включатиме:

Назва лікарського препарату – торговельна та міжнародна непатентована назва (генерична назва).

Склад – інформація про активні інгредієнти (діючі речовини) та допоміжні речовини з їх кількістю на дозу.

Форма випуску – тип препарату (таблетки, ін'єкції, порошок, капсули тощо).

Дозування – рекомендоване дозування для різних вікових груп або конкретних станів пацієнта.

Умови зберігання – інструкції щодо правильного зберігання препарату, включаючи допустимі температури, захист від світла та вологи.

Термін придатності – кінцева дата, після якої препарат не слід використовувати.

Спосіб застосування – інструкції щодо способу прийому препарату (перорально, внутрішньом'язово, ін'єкційно тощо).

Показання до застосування – захворювання або стани, для лікування яких призначений препарат.

Протипоказання – стани або ситуації, коли препарат не слід застосовувати.

Інформація про виробника – назва, адреса та контактні дані виробника або уповноваженого представника.

Номер партії – для ідентифікації конкретної партії виробництва.

7.3. Матеріальний розрахунок на серію виробництва лікарського засобу

Таблиця 7.3.1.

Матеріальний розрахунок на серію виробництва лікарського засобу

п/п	Назва стадії (операції)	Матеріальні потоки на стадії	Кількість по стадіях			Необхідне обладнання
			Надійшло	Втрати	Вийшло	
	2	3	4	5	6	7
ТП 1. Зберігання культуральної рідини						
	ТП 1. Зберігання культуральної рідини	КР	144,3 л	-	144,3 л	Збірник на 150 л. Розміри 66 см х 55 см х 50. Найвний манометр.
ТП 2. Екстракція водорозчинних полісахаридів						
		Супернатант	136,45 л	-	136,45 л	Передається одразу на фільтрування
	ТП 2.2. Очищення від залишків білків кип'ятінням	Супернатант	136,45	3 %	132,3 л	
	ТП 2.3 Відділення осаду білків фільтруванням	Супернатант	132,3 л	3 %	128,3 л	Фільтр-прес автоматичний загальною площею фільтрування 12 м ² , пересувна ємність об'ємом 150 л

Продовження таблиці 7.3.1.

ТП 2.4 Осадження полісахаридів 95% етиловим спиртом	Супернатант	128,3 л	5%	-	Реактор-змішувач на 900 л для кип'ятіння супернатанта та осадження екзополісахаридів Спирт після осадження на регенерацію
	Спирт етиловий 95 %	513,2 л	3%	497,8 л	
	Суспензія осаду ЕПС	-	-	121,8 л	
ТП 2.5. Відділення осаду ЕПС центрифугуванням	Вологий осад ЕПС	300 г	3%	291 г	(передається одразу на промивку)
	Водно-спиртова суміш (супернатант)	-	-	121,8 л	На регенерацію спирту
ТП 2.6. Зневоднення осаду ЕПС промивкою чистим етанолом	Відділений осад ЕПС	291 г	-	-	
	Етанол	291 г	-	-	
	Промитий етанолом вологий осад ЕПС	210 г	3%	203,7 г	(передається одразу на сушіння)
ТП 2.7. Вакуумне сушіння	Промитий етанолом вологий осад ЕПС	203,7 г	3%	-	Шафа сушильна вакуумна
	Висушений ЕПС (вологість 10%)	-	-	198 г	(передається одразу на розчинення)
ТП 2.8. Розчинення екзополісахаридів	Сухий ЕПС (вологість 10%)	198 г	-	-	
	Деіонізована вода	39,402 кг	-	-	Пересувна ємність об'ємом 40 л
	0,5 % розчин ЕПС	39,6 кг	-	39,6 л	(передається одразу на біосинтез)
ТП 3. Біосинтез наночастинок					
ТП 3. Біосинтез наночастинок	0,5 % розчин ЕПС	39,6 л	-	8 1,18 л	Реактор на 100 л для біосинтезу наночастинок

Продовження таблиці 7.3.1.

		0,35% розчин L-аскорбінової кислоти	1,98 л	-		
		NaAuCl ₄	39,6 л	-		
ТП 4. Виділення наночастинок						
ТП 4.1 Центрифугування розчину з наночастинками	Розчин AuNPs	81,18 л	1%	-	Центрифуга Sorvall MX 120 Plus. Потужність до 120 000 об/хв.	
	Супернатант	-	-	80,3 л		
	Осад з AuNPs	-	-	24,15 мг		
ТП 4.2 Промивання розчину деіонізованою водою	Розчин AuNPs	24,15	1 %	-	Ємність на 100 мл	
		-	-	23,91мг		
ТП 4.3 Центрифугування розчину з наночастинками	Розчин AuNPs		1 %	-	Центрифуга Sorvall MX 120 Plus. Потужність до 120 000 об/хв.	
		-	-	23,67		
ТП 4.4 Промивання розчину деіонізованою водою	Розчин AuNPs	23,67	1 %	-	Ємність на 100 мл	
		-	-	23,43 мг		
ТП 4.5 Центрифугування розчину з наночастинками	Розчин AuNPs	23,43	1%	23,2 мг	Центрифуга Sorvall MX 120 Plus. Потужність до 120 000 об/хв.	
ТП 4.6 Промивання розчину деіонізованою водою	Розчин AuNPs	23,2	1 %	-	Ємність на 100 мл	
	Промитий осад AuNPs	-	-	22,968 мг	(передається одразу на синтез)	
ТП 5 Синтез кон'югатів						
ТП 5. Синтез кон'югата	AuNPs	22,968 мг	-	99,022 г	(передається одразу на сушку)	
	DOX	99 г				

Закінчення таблиці 7.3.1.

ТП 6. Вакуумна сушка					
ТП 6. Вакуумна сушка	Кон'югат	99,022 г	1%	98,03 г	(передається одразу на пакування)
ТП 7. Пакування, маркування, відвантаження					
ТП 7. Пакування, маркування, відвантаження цільового продукту	DOX-AuNPs	98,03 г	2%	96,06 г	
	Пакування в 5 мл флакони по 35 мг порошку	96,06 г	-	2744 флакони	Роботизований наповнювач LVI Macofar

7.4. Специфікація обладнання

Таблиця 7.4.1.

Специфікація обладнання

Позиція	Найменування	Кількість	Технічні характеристики (виробник)
1	2	3	4
Ф-1, ГФ-3	Візок	2	Візок двоярусний фармацевтичний: матеріал – нержавіюча сталь AISI, два рівні, оснащений бортиками «Енергофарм» [108]
ОП-2, ОП-5	Контейнери-збірники для сміття	2	Контейнер для збору та утилізації лабораторних і медичних відходів, об'ємом 60 літрів, виготовлений з поліпропілену, має кришку та бічні ручки. Ударостійкий, автоклавується, стійкий до проколів та протикань, із можливістю штабелювання. Розміри: висота – 33 см, ширина – 55 см, довжина «Starlab» [109]
Ф-4, ГФ-12, ГФ-13, ГФ-15	Стіл	4	Виробничий стіл «ПРОФИ СП АРТЕ-Н» має ширину 700 мм, виконаний із нержавіючої сталі, стійкий до корозії та впливу вологи, оснащений регульованими параметрами. «Cicada» [110]

Продовження таблиці 7.4.1.

ГФ-6	Паровий стерилізатор	1	<p>Паровий стерилізатор SUPERIOR B6: автоклав класу В для стерилізації інструментів складної форми, оснащений функцією вакуумного сушіння, самодіагностикою та понад 10 програмами стерилізації. Стерилізаційна камера виготовлена з високоякісної сталі AISI 304, передбачена контроль якості води</p> <p>«Medlike» [111]</p>
ГФ-7	Хімічний стерилізатор	1	<p>Стерилізатор Memmert SN55 SingleDISPLAY має об'єм 53 літри, використовує природну конвекцію для стерилізації гарячим повітрям з температурою від +20°C до +250°C. Оснащений точним регулюванням температури, таймером до 99 днів та можливістю встановлення до 4 полів. Камера виготовлена з високоякісної сталі, загальна вага – 57 кг. Підходить для медичних, лабораторних та промислових потреб. «Венталаб» [112]</p>
ГФ-8	Автомат для миття флаконів	1	<p>Автоматична машина для миття, наповнення, закупорювання та закривання флаконів, як модель AVLFS-120 від Prism Pharma Machinery , використовує волюметричний принцип дозування з сервоприводами для точного наповнення рідини. Підтримуємо флакони об'ємом від 2 мл до 100 мл, забезпечуючи точність наповнення $\pm 1\%$. Продуктивність машини — до 100 флаконів за хвилину, залежно від в'язкості продукту. Машина оснащена системою вакуумної закупорки, яка гарантує стерильність процесу. Управління створення через сенсорну панель НМІ для зручності експлуатації. «Prism Pharma Machinery» [113]</p>

Закінчення таблиці 7.4.1.

ГФ-9	Стерилізаційний тунель	1	Стерилізаційний тунель серії RM призначений для стерилізації та депірогенізації скляних флаконів, ампул і контейнерів, використовуючи гаряче повітря для безперервного процесу стерилізації. Оснащений системами контролю температури та швидкості повітря, що забезпечує точність процесу. Підходить для асептичних виробництв [114]
ГФ-10	Фасовально-закупорювальний автомат	1	Об'єм: 5-30 л, продуктивність: до 50 контейнерів/хв, точність дозування: $\pm 1\%$, матеріал: нержавіюча сталь AISI 316L, розмір контейнерів: 20 мл до 5000 мл, контроль за допомогою сенсорного дисплея, опції для інтеграції в лінії виробництва, система швидкого очищення, система контролю запилення, автоматична зупинка при відсутності контейнерів, відповідність стандартам GMP, можливість зміни дозувальних насадок для різних продуктів, електроживлення: 230 В/50-60 [115]
ГФ-11	Етикетувальний автомат	1	Етикетувальний автомат LS-107R2 використовується для нанесення самоклеючих етикеток на тару циліндричної форми. Швидкість подачі етикетки до 30 м/хв, підтримує етикетки висотою від 10 до 190 мм і довжиною до 400 мм. Машина виготовлена з нержавіючої сталі, має потужність до 1 кВт та безперервний режим роботи. [116]
ГФ-14	Автомат для пакування у термозбіжну плівку	1	Запаювач LOOM-137187 призначений для одночасного запаювання двох ємностей, що використовується для збереження свіжості та герметичності продукту. Він оснащений функцією регулювання температури та швидкості розпаювання.«PackMeal» [117]

7.5. Опис технологічної схеми отримання одержання лікарського засобу

ДР 1. Підготовка сировини і матеріалів

ДР 1.1 Розтарування флаконів

Флакони зі складу доставляються на дільницю розтарування флаконів, де вони обробляються розчином перекису водню (3%) за температури 30-35°C протягом 30-35 хвилин. Після завершення обробки флакони залишаються в первинній упаковці і направляються на наступний етап миття флаконів (ДР 1.4).

ДР 1.2 Підготовка стерильних резинових пробок та алюмінієвих ковпачків

На дільниці розтарування здійснюється підготовка резинових пробок і алюмінієвих ковпачків. Пробки та ковпачки доставляються зі складу і обробляються розчином перекису водню (3%). Після обробки перекисом протягом 30-35 хвилин, вони піддаються стерилізації за температури $121 \pm 1^\circ\text{C}$ і тиску 1,1-1,2 бар протягом 20 хвилин. Після завершення стерилізації пробки та ковпачки можуть зберігатися не більше 24 годин, при цьому забезпечується відсутність мікробіологічного забруднення.

Стерильні пробки і ковпачки потім направляються на наступний етап для використання у фасуванні (ТП 2)

ДР 1.3. Дезобробка упаковки з субстанцією.

На дільниці розтарування проводиться дезінфекція упаковки з субстанцією. Субстанція, доставлена зі складу, проходить обробку розчином перекису водню (3%) протягом 30-35 хвилин. Після цього здійснюється обробка розчином етанолу (76%) протягом 5 хвилин для забезпечення додаткової стерильності. Після етапу стерилізації субстанція піддається екстації протягом 15 хвилин для видалення залишкових розчинів і газів.

Стерильна субстанція залишається у первинній упаковці і направляється на етап фасування (ТП 2)

ДР 1.4. Підготовка стерильних флаконів

Флакони, що надійшли з ДР 1.1, проходять підготовку на дільниці підготовки стерильних флаконів. Після розтарування флакони направляються на етап миття (ДР 1.4.1).

ДР 1.4.1. Миття флаконів

На етапі миття флакони очищуються водою для ін'єкцій та очищеним повітрям. Спочатку флакони промиваються очищеною водою під тиском 2-3 бар при температурі 60-65°C протягом 15 хвилин. Після цього здійснюється ополіскування водою для ін'єкцій при температурі 85±5°C і тиску 2-3 бар. На кожному циклі обробляється 20 флаконів. Після завершення миття флакони направляються на етап первинної упаковки.

Флакони, які пройшли етап миття, направляються на дільницю стерилізації (ДР 1.4.2). Стерилізація здійснюється при температурі 320±2°C протягом 20 хвилин. Після завершення стерилізації флакони охолоджуються до температури 21-23°C. Забезпечується повна відсутність мікробіологічного забруднення флаконів.

Стерильні флакони потім направляються на наступний етап фасування (ТП 2).

ТП 3. Фасування стерильного порошку у флакони

На етапі фасування (ТП 2) використовуються стерильні пробки і ковпачки, доставлені з ДР 1.2, стерильна субстанція з ДР 1.3, та стерильні флакони з ДР 1.4.2. Для фасування стерильного порошку у флакони застосовується стиснене повітря під тиском 1,5-2 бар. Флакони заповнюються порошком з масою 0,6028-0,6966 г або 1,2047-1,3921 г. На етапі фасування допустимий рівень браку не повинен перевищувати 1500 одиниць.

Після фасування, флакони з напівпродуктом направляються на наступний етап (ПМВ 3) для маркування і пакування. Використані бідони та інша первинна упаковка підлягають утилізації.

ПМВ 3. Пакування і маркування

На етапі пакування і маркування (ПМВ 3) флакони з напівпродуктом, що надійшли з ТП 2, маркуються та пакуються. До цього етапу також надходять етикетки та касети для пакування флаконів.

ПМВ 3.1. Маркування флаконів

Флакони проходять етап маркування (ПМВ 3.1), де на них наносяться етикетки. Після маркування флакони пакуються у касети, кожна з яких вміщує до 20 000 флаконів.

ПМВ 3.2. Пакування касет у пенали

На цьому етапі (ПМВ 3.2) касети з маркованими флаконами, що надійшли з ПМВ 3.1, пакуються у пенали. Для цього використовуються пенали і контейнери, які надходять до цієї дільниці. Кожен пенал вміщує до 20 000 флаконів. Після пакування касети з флаконами переходять до подальшого етапу зберігання або відправлення.

ПМВ 3.3. Відстоювання готової продукції на карантині

Після пакування готова продукція відправляється на карантинний відстій (ПМВ 3.3) для перевірки мікробіологічної чистоти. Продукція перебуває на карантині протягом 7 діб, протягом яких забезпечується контроль відсутності мікробіоти.

ПМВ 3.4. Пакування у термозбіжну плівку та гофрокоробку

На етапі ПМВ 3.4 здійснюється фінальне пакування готового лікарського засобу. Для цього використовуються інструкції по медичному призначенню, групові етикетки, термозбіжна плівка, вкладень "Пакувальник", коробки та

стрічка склеювальна. Флакони з готовою продукцією упаковуються у термозбіжну плівку та гофрокоробки. Після цього готовий лікарський засіб відправляється на склад для подальшого зберігання.

РОЗДІЛ 8. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА

8.1. Підбір сучасних методів контролю виробництва субстанції

В процесі культивування *Arthospira platensis* кожні 4 години потрібно відбирати проби культуральної рідини для мікробіологічного контролю, а також для визначення біомаси, амісту вуглецю й азоту. Після виробничого біосинтезу треба відібрати проби реакційної суміші для здійснення контролю біоредукції золота та формування наночастинок.

8.1.2. Характеристика цільового продукту

Для характеристики утворених наночастинок відбирають n-ну кількість мл колоїдного розчину. Характеристику наночастинок проводять шляхом вимірювання спектрів (спектрофотометрія), вимірюванням розмірів і форм наночастинок

8.1.2.1. Вимірювання спектрів.

Вимірювання буде здійснюватися за допомогою спектрофотометра (PG instruments, T60 UV-Vis Spectrophotometer United Kingdom) при довжинах хвиль у діапазоні 400,0 - 1100,0 нм з використанням кварцової кювети з довжиною шляху 10,0 мм.

8.1.2.2. Рентгенівський аналіз порошкової дифракції (XRD).

AuNPs висушують при 50,0 °C протягом 16,0 годин, та сканують за допомогою кутів дифракції (2°), які коливалися від 5,0° до 80,0°. Рентгенограми отриманих наночастинок вимірюють за допомогою дифрактометра (LabX-6100, SHIMADZU) з напругою 40 кВ і електричним

НУХТ БТЕК 02.01.7 КР ПЗ

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Іванець О. А.			РОЗДІЛ 8. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА	Літ.	Арк.	Акрушіє
Перевір.		Скороцька О. І.					113	145
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В. П.						

струмом 30,0 мА з використанням випромінювання Cu K α ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$). Далі за рівнянням Дебая Шеррера визначають розмір наночастинок:

$$D = \frac{K\lambda}{\beta \cos \theta}$$

де D = розмір кристаліту в напрямку, перпендикулярному до площини решітки, K = постійна Шеррера «коефіцієнт форми кристала», λ = довжина хвилі світла, що використовується для дифракції, β = повна ширина на половині максимуму (FWHM), і θ = Брегг кут. Константа Шеррера (K) зазвичай приймається рівною 0,9

8.1.2.3. Трансмійсна електронна мікроскопія (ТЕМ)

AuNP центрифугують при 9000,0 об/хв протягом 30,0 хв. Гранули диспергують у бідистильованій воді та оброблюють ультразвуком для видалення будь-яких грудок. Структурну характеристику проводять за допомогою трансмісійного електронного мікроскопа JEM-2100F (JEOL, Японія) на E-JUST із потужністю збільшення 200,0 кВ. Зразки для ТЕМ готують, поміщаючи 5,0 мкл колоїдного розчину на 3-мм мідну сітку з вуглецевим покриттям до утворення тонкої плівки зразка на сітці, а потім сітку залишали для висихання при кімнатній температурі.

Результати показали, що сферична форма була переважаючою формою у всіх препаратах AuNPs. Розмір частинок AuNPs1 коливався від 9,0 до 30,0 нм, AuNPs2 8,0 - 35,0 нм, а AuNPs3 6,0 - 40,0 нм.

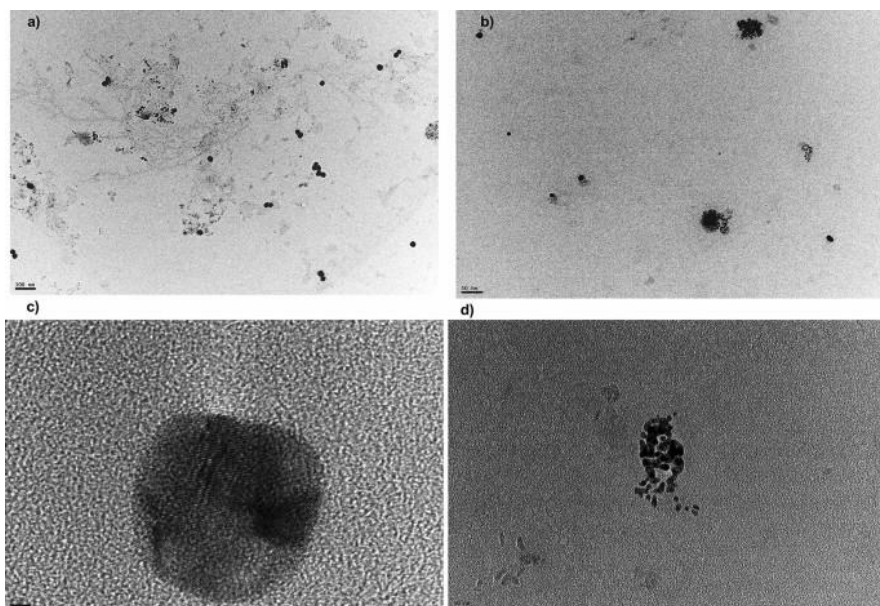


Рис.8.1.2.3.1.1. Електронні мікрофотографії отриманих наночастинок, де (a) AuNPs1, (b) AuNPs2, (d) AuNPs 3. (c) нанокристал для AuNPs1.

8.1.2. Характеристика кон'югата

Характеристика кон'югованих наночастинок золота з доксорубіцином передбачає вимірювання спектрів та TEM.

8.1.2.1. Вимірювання спектрів.

Спектри поглинання в УФ-видимому діапазоні вимірюють за допомогою двопробного спектрофотометра (*PG instrument, T80⁺, UK*). Для цього 200 мкл (AuNPs, $10-5^M$ вільного DOX та нанокон'югату DOX-AuNPs) розбавляють до 2 мл дистильованою водою, потім поміщають в 1 см УФ-кварцу та реєструють поглинання у відповідному діапазоні сканування (від 200 до 800 нм).

8.1.2.2. Трансмійна електронна мікроскопія (TEM)

Краплю дуже розбавлених розчинів наносять на мідну сітку з аморфним вуглецевим покриттям і залишають для випаровування при кімнатній температурі, утворюючи моношар, який потім виявляють за допомогою TEM. Для TEM використовують Tescan G20, Super twin, подвійний нахил,

прикладена напруга: 200 кВ, діапазон збільшення: до 1 000 000 X, тип пістолета: LaB6 Gun.

8.1.2.3. Спектроскопічний аналіз фотолюмінесценції

Спектри фотолюмінесценції 200 мкл (вільного DOX і DOX-AuNP), розведеного до 2 мл дистильованою водою, записують за допомогою УФ-кварцових кювет $1 \times 1 \text{ см}^2$ за допомогою спектрофлуорометра *Perkin Elmer LS55*, оснащеного ксеноною короткодуговою лампою як джерелом збудження. Спектри вимірюють при збудженні під прямим кутом. Довжина хвилі збудження становить 470 нм, ширина щілини становила 10 нм, а швидкість сканування - 500 нм

8.2. Методи контролю лікарського засобу (іншого цільового продукту)

Назва препарату: Біонаноконкомпозит доксорубіцину з наночастинками золота.

Форма випуску: Порошок для приготування розчину для ін'єкцій.

Склад: Доксорубіцин гідрохлорид, Наночастинки золота

Фармакологічна дія:

Антинеопластична дія з можливістю локалізованого вивільнення препарату.

Наночастинки золота забезпечують поліпшення проникнення в пухлинні клітини.

Показання до застосування:

Лікування онкологічних захворювань (рак грудей, лейкемія та інші злоякісні новоутворення).

Спосіб застосування:

Після розчинення порошку у стерильній воді, препарат вводять внутрішньовенно.

Умови зберігання і термін придатності: Зберігати порошок при кімнатній температурі (15-25°C) у сухому, темному місці, захищеному від світла і вологи. Термін придатності — 2 роки за умови дотримання рекомендованих умов зберігання.

Методи контролю якості:

- **Стерильність:** Проводиться тест на відсутність бактерій і грибків.
- **Пірогенність:** Тест ЛАЛ (лізати амебоцитів *Limulus*) або на кроликах.
- **Розмір і розподіл частинок:** Трансмісійна електронна мікроскопія (ТЕМ).
- **Морфологія:** ТЕМ, аналіз за допомогою мікроскопії.
- **Стабільність:** Вимірювання через 72 години за допомогою спектроскопії SPR.

Вказівки для розведення і введення: Порошок розчиняється у 5-10 мл стерильного фізіологічного розчину або води для ін'єкцій. Доза залежить від маси тіла та стадії захворювання пацієнта, стандартна доза становить 50-75 мг/м² площі поверхні тіла. Введення внутрішньовенно протягом 30-60 хвилин.

Фармакокінетика і фармакодинаміка: Після внутрішньовенного введення DOX-AuNPs швидко проникає в ракові клітини через ефект підвищеної проникності і затримки (EPR). Наночастинки золота забезпечують контрольоване вивільнення доксорубіцину, знижуючи загальну токсичність. Період напіввиведення препарату — близько 30 годин. Метаболізується в печінці, екскреція здійснюється нирками.

Упаковка: Стерильний флакон із порошком для ін'єкції

Розмір частинок: Наночастинки золота в DOX-AuNPs зазвичай мають розмір близько 10-12 нм. Важливою характеристикою є рівномірний розподіл розміру частинок, що було підтверджено за допомогою трансмісійної електронної мікроскопії (TEM). Це дозволяє забезпечити однорідність нанокompозиту та оптимальну біодоступність для доставки доксорубіцину до ракових клітин.

Морфологія: Наночастинки мають сферичну форму з гладкою поверхнею. Це важливо для мінімізації несприятливих взаємодій з біомолекулами та забезпечення стабільної взаємодії з лікарськими препаратами.

Оптичні властивості: УФ-видима спектроскопія показує, що наночастинки золота мають поверхневий плазмонний резонанс (SPR) при 520 нм. Доксорубіцин додає смугу поглинання при 495 нм, що характерно для антрациклінів. Кон'югація доксорубіцину з AuNPs призводить до виникнення додаткових піків при 630 нм, що свідчить про агрегування частинок через електростатичні взаємодії між DOX і AuNPs

Оцінка стабільності: Для оцінки стабільності нанокompозиту DOX-AuNPs дослідження проводили в умовах середовища для клітинних культур DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium), яке є стандартним середовищем для моделювання фізіологічних умов *in vitro*. Нанокompозит інкубували при температурі 37°C протягом 72 годин для перевірки стабільності в умовах, наближених до тих, що присутні в організмі. Після цього стабільність нанокompозиту оцінювали за допомогою УФ-видимої спектроскопії, аналізуючи зміни в спектрах поверхневого плазмонного резонансу (SPR) золота та абсорбції доксорубіцину. Спектри знімали в діапазоні від 200 до 700 нм, що дозволило відстежити зміни інтенсивності поглинання. Результати показали, що нанокompозит залишається стабільним протягом 72 годин без значної агрегації частинок чи зниження інтенсивності спектрів, що свідчить про високий рівень стабільності системи. Крім того, температурна стабільність

нанокомпозиту була перевірена при кімнатній температурі, що також підтвердило збереження його фізико-хімічних властивостей. Агрегація частинок DOX-AuNPs виявилася мінімальною, що було підтверджено стабільністю плазмонного резонансу та відсутністю значних змін у розмірах частинок.

Тестування на біосумісність та безпеку: Тестування на біосумісність та безпеку DOX-AuNPs проводилось на різних клітинних лініях, зокрема на клітинах раку молочної залози MDA-MB-468, а також на здорових клітинах, таких як людські фібробласти (HFb). Це дозволило оцінити як терапевтичну ефективність нанокомпозиту, так і його безпеку для нормальних клітин. Порівняння проводилося з вільним доксорубіцином для оцінки можливих переваг нанокомпозиту в таргетованій доставці лікарських засобів.

МТТ-аналіз (метод визначення цитотоксичності): Основний метод, який використовувався для тестування цитотоксичності DOX-AuNPs, був МТТ-аналіз. У цьому тесті клітини інкубували з різними концентраціями DOX-AuNPs та вільного доксорубіцину протягом 24-48 годин. Додавали МТТ-реагент, який перетворюється в активних клітинах у фіолетовий формазан, а його кількість вимірювали спектрофотометрично при 570 нм. Результати показали, що DOX-AuNPs викликають більшу цитотоксичність на ракових клітинах порівняно з вільним доксорубіцином при нижчих дозах. Це свідчить про те, що нанокомпозит ефективніше доставляє препарат до ракових клітин, знижуючи необхідність у великих дозах лікарського засобу, що зменшує загальну токсичність для організму пацієнта

Цитотоксичність: DOX-AuNPs показали підвищену здатність до знищення ракових клітин. При цьому мінімальна концентрація нанокомпозиту виявилася достатньою для досягнення високого рівня цитотоксичності. Це свідчить про покращену цільову доставку препарату без значного збільшення загальної дози, що є важливою перевагою у хіміотерапії, оскільки це дозволяє мінімізувати побічні ефекти

Біосумісність: Для перевірки біосумісності DOX-AuNPs тестували на здорових клітинах людських фібробластів (HFb). Результати показали мінімальний вплив DOX-AuNPs на життєздатність цих клітин, що свідчить про високу біосумісність нанокompозиту. Це означає, що DOX-AuNPs є безпечними для нормальних клітин при клінічних дозах і можуть бути використані для цільової доставки ліків без значного негативного впливу на здорові тканини.

РОЗДІЛ 9. ПРОЄКТ ЗАЯВКИ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

Спосіб синтезу біогенних золотих наночастинок для терапії раку

9.1. Галузь і застосування корисної моделі

Ця корисна модель належить до галузі нанотехнологій та біотехнологій. Синтезовані наночастинок золота мають широкий спектр застосувань завдяки їхнім фізико-хімічним властивостям, що включають високу стабільність, біосумісність антимікробні та протипухлинні властивості. Основними сферами застосування є:

1. Медицина:

Терапія раку: Наночастинок золота можуть бути використані для цільової доставки лікарських засобів до ракових клітин, підвищуючи ефективність лікування та знижуючи побічні ефекти хіміотерапії.

Діагностика: Використання наночастинок у якості контрастних агентів у методах візуалізації, таких як МРТ та КТ, для покращення точності діагностичних процедур

Протипухлинні засоби: Значні протипухлинні властивості наночастинок дозволяють їх використовувати у складі комплексних протиракових терапій.

Антибактеріальні засоби: Наночастинок золота можуть бути використані у складі антисептиків та мазей для обробки ран, завдяки їх антимікробним властивостям.

					НУХТ БТЕК 02.01.7 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Іванець О. А.			РОЗДІЛ 8. ПРОЄКТ ЗАЯВКА НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ	Лім.	Арк.	Акрушів
Перевір.		Скороцька О. І.					121	145
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В. П.						

Протизапальні препарати: Наночастинки можуть знижувати запальні процеси та бути використаними у складі препаратів для лікування різних запальних захворювань.

2. Косметична промисловість:

Антивікові засоби: Використання наночастинок золота у кремах та лосьйонах для покращення еластичності шкіри та зменшення зморшок.

Засоби для догляду за шкірою: Наночастинки можуть сприяти глибокому очищенню шкіри та покращенню її текстури завдяки їх здатності розщеплювати жири на поверхні шкіри.

3. Екологія:

Очищення води: Наночастинки золота можуть використовуватись у системах фільтрації для видалення важких металів та інших токсичних речовин з води.

Деградація забруднювачів: Використання наночастинок для розкладу органічних забруднювачів у навколишньому середовищі, завдяки їх каталітичним властивостям.

9.2. Відомі аналоги та їх основні недоліки

У роботі Вакіг (2021) описується метод синтезу наночастинок золота за допомогою екстрактів рослин. Культивування проводили за температури 28-30°C, рН = 7, використовуючи екстракти різних рослин як відновлювальні агенти для утворення наночастинок золота з водних розчинів іонів золота. Однак, цей метод має ряд недоліків. Використання рослинних екстрактів може призвести до варіабельності розмірів та форм наночастинок через нерівномірність складу екстрактів. Крім того, важко стандартизувати процес для промислового виробництва наночастинок через варіації в хімічному складі

екстрактів, що може вплинути на відтворюваність і стабільність наночастинок. Антимікробні властивості наночастинок не були детально досліджені, але деякі дані свідчать про їх помірну активність проти грампозитивних та грамнегативних бактерій. Протипухлинні властивості не були підтверджені на достатньому рівні, що обмежує їх використання у медичній практиці (Bakir, 2021).

У роботі Focsan (2011) [17] описується біосинтез наночастинок золота за допомогою ціанобактерій *Anabaena cylindrica*. Культивування проводили при температурі 30-35°C, рН = 7,5, використовуючи світлову аерацію та живильне середовище BG-11. Основні недоліки цього методу включають складність контролю над розмірами та формами наночастинок, оскільки процес відбувається всередині клітин і залежить від багатьох біологічних факторів. Крім того, існує висока ймовірність агрегації наночастинок, що може вплинути на їхні фізико-хімічні властивості та ефективність. Антимікробні властивості наночастинок показали високу ефективність проти деяких бактеріальних штампів, однак протипухлинні властивості були досліджені лише на обмеженій кількості клітинних ліній, що не дозволяє зробити однозначних висновків про їх ефективність у клінічних умовах (Focsan, 2011) [17].

У дослідженні Rosken (2016) [38] використовувався метод хімічного відновлення для синтезу наночастинок золота за допомогою хімічних відновлювачів, таких як натрій боргідрид. Культивування проводили при температурі 25°C, рН = 8,5, з використанням аерації та різних концентрацій водного розчину HAuCl_4 . Недоліками цього методу є висока токсичність використовуваних хімічних речовин та утворення значної кількості токсичних відходів. Крім того, необхідність у жорсткому контролі параметрів реакції для отримання наночастинок з певними розмірами та формами робить цей метод складним та дорогим у виконанні. Антимікробні властивості наночастинок були досліджені на кількох бактеріальних штаммах, де вони показали помірну

ефективність. Протипухлинні властивості не були підтверджені на достатньому рівні, що обмежує їх потенційне медичне застосування (Rosken, 2016) [38].

У порівнянні з іншими методами синтезу наночастинок, запропонований мною метод синтезу біогенних наночастинок золота за допомогою екстрактів водоростей *Arthrospira platensis* має низку значних переваг. Використання цих ціанобактерій дозволяє отримувати наночастинки з контрольованими розмірами та формами завдяки однорідності біомаси та природним відновлювальним властивостям ціанобактерій. Крім того, цей метод не потребує використання токсичних хімічних речовин, що знижує ризик утворення шкідливих відходів і забезпечує більшу безпеку для навколишнього середовища. Екологічна чистота методу також підвищує його привабливість для промислового застосування, оскільки зменшується вплив на екосистему.

9.3. Постановка задачі корисної моделі та її вирішення

Існує необхідність у розробці ефективного та економічно вигідного способу отримання наночастинок золота з високою активністю та стабільністю для використання у різних галузях промисловості, включаючи медицину, фармацевтику, екологію та сільське господарство. Традиційні методи синтезу наночастинок золота, такі як хімічне відновлення, мають ряд обмежень, включаючи використання токсичних хімічних речовин, складність очищення та можливі екологічні проблеми.

Основними проблемами, які необхідно вирішити, є:

- Висока продуктивність: Необхідно збільшити вихід наночастинок золота для задоволення промислових потреб.
- Чистота та стабільність: Отримані наночастинки повинні мати високу чистоту і стабільність для забезпечення їх ефективності у різних застосуваннях.

- Економічність: Процес виробництва повинен бути економічно вигідним, з мінімальними витратами на матеріали і енергію.

- Екологічна безпека: Процес повинен бути екологічно чистим, з мінімальним впливом на навколишнє середовище.

Для вирішення вищезазначених проблем було розроблено новий спосіб отримання наночастинок золота з використанням екстрактів ціанобактерій *Arthrospira platensis*. Цей спосіб включає вирощування водоростей у поживному середовищі, що містить необхідні для їх росту компоненти, при оптимальних умовах температури, рН та аерації. Екстракти ціанобактерій використовуються як природні відновлювальні агенти для синтезу наночастинок золота з водних розчинів іонів золота. Антимікробні та протипухлинні властивості синтезованих наночастинок золота демонструють високу ефективність проти широкого спектру бактеріальних інфекцій, включаючи *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Salmonella enterica* та *Streptococcus mutans*. Протипухлинні властивості підтверджені на кількох клітинних лініях раку, таких як клітини аденокарциноми молочної залози (MCF-7), колоректальна аденокарцинома людини (CaCo-2) та аденокарцинома легенів людини (A549), що робить цей метод перспективним для медичних застосувань.

9.4. Опис запропонованого способу

У новому винаході використовуються *Arthrospira platensis* для синтезу біогенних наночастинок золота. Культивування проводять у 250 мл модифікованого середовища Zarrouk, освітлюваного білим флуоресцентним світлом (2500 люкс) протягом 16 днів при температурі $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Колбу струшують двічі на день для підтримки гомогенності культури. Наприкінці інкубаційного періоду культуральний фільтрат збирають центрифугуванням при 4000 об/хв протягом 30 хв при 4°C . Одержаний фільтрат додатково

очищають за допомогою фільтрувального паперу Whatman для видалення залишків біомаси.

Для біосинтезу наночастинок золота використовують екстракти водорозчинних полісахаридів, отриманих з *Arthrospira platensis*. Полісахариди осаджують додаванням чотирикратного об'єму 95% етилового спирту (об./об.). Після осадження полісахариди збирають фільтрацією, промивають абсолютним етанолом і залишають висувуватись у сушильній шафі при 50°C до повного висушування.

Для біосинтезу наночастинок золота методом відновлення за допомогою 1-аскорбінової кислоти до 500 мл стакана додають 100 мл 0.5% розчину екзополісахаридів (EPS) (w/v) (pH = 10.2 при 20°C) і інтенсивно перемішують при кімнатній температурі. Потім до розчину додають 100 мл попередньо кип'яченого розчину NaAuCl₄. Після цього додають 5 мл 0.35% розчину 1-аскорбінової кислоти (Sigma-Aldrich) (w/v) крапля за краплею при постійному перемішуванні до моменту утворення темно-фіолетового кольору. Колоїдний розчин з темно-фіолетовим кольором позначають як AuNPs3.

Отримані наночастинок золота мають сферичну форму та стабільність, що підтверджено спектральним аналізом і електронною мікроскопією.

9.5. Формула корисної моделі

1. Спосіб синтезу біогенних наночастинок золота, який включає використання екстрактів *Arthrospira platensis* для відновлення іонів золота з водного розчину NaAuCl₄ та відрізняється тим, методом відновлення за допомогою 1-аскорбінової кислоти. 100 мл 0.5% розчину екзополісахаридів (EPS) (w/v) (pH = 10.2 при 20°C) додають до 500 мл стакану і інтенсивно перемішують при кімнатній температурі. Потім до розчину додають 100 мл попередньо кип'яченого розчину NaAuCl₄. Після цього додають 5 мл 0.35%

розчину l-аскорбінової кислоти (Sigma-Aldrich) (w/v) крапля за краплею при постійному перемішуванні до моменту утворення темно-фіолетового кольору.

2. Спосіб з п. 1, який відрізняється тим, що культивування *Arthrospira platensis* проводять при температурі $25 \pm 2^\circ\text{C}$, рН 10.2, при інтенсивному освітленні протягом 16 днів.

3. Спосіб з п. 1, який відрізняється тим, що синтез наночастинок золота здійснюється шляхом додавання екстракту водорозчинних полісахаридів до водного розчину NaAuCl_4 з подальшим додаванням 0.35% розчину l-аскорбінової кислоти крапля за краплею при постійному перемішуванні.

4. Спосіб з п. 1, який відрізняється тим, що отримані наночастинок золота характеризуються високою стабільністю, контрольованими розмірами та формами, підтвердженими за допомогою спектрального аналізу і електронної мікроскопії.

9.6. Реферат

Спосіб синтезу біогенних золотих наночастинок для терапії раку

Спосіб синтезу наночастинок золота біотехнологічним шляхом передбачає використання ціанобактерій *Arthrospira platensis*. Для культивування водоростей використовується 250 мл модифікованого середовища Zarrouk, яке освітлюють білим флуоресцентним світлом (2500 люкс) протягом 16 днів при температурі $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Колбу струшують двічі на день для підтримки гомогенності культури. Наприкінці інкубаційного періоду культуральний фільтрат збирають центрифугуванням при 4000 об/хв протягом 30 хв при 4°C .

Для біосинтезу наночастинок золота методом відновлення за допомогою l-аскорбінової кислоти, 100 мл 0.5% розчину екзополісахаридів (EPS) (w/v) (рН = 10.2 при 20°C) додають до 500 мл стакана і інтенсивно перемішують при кімнатній температурі. Потім до розчину додають 100 мл попередньо

кип'яченого розчину NaAuCl_4 . Після цього додають 5 мл 0.35% розчину 1-аскорбінової кислоти (Sigma-Aldrich) (w/v) крапля за краплею при постійному перемішуванні до моменту утворення темно-фіолетового кольору. Колоїдний розчин з темно-фіолетовим кольором позначають як AuNPs3.

Такий спосіб дозволяє отримати стабільні наночастинки золота з високою ефективністю синтезу та контрольованими розмірами і формами.

ВИСНОВКИ

Процес біосинтезу наночастинок за допомогою ціанобактерій є перспективним напрямом у розробці нових матеріалів, що поєднують низькі витрати, екологічність та ефективність. Ціанобактерії, як фотосинтетичні організми, здатні використовувати енергію світла для синтезу металевих наночастинок, що робить цей процес більш енергоефективним і доступним порівняно з традиційними методами. В результаті біосинтезу можна отримати наночастинок, які володіють унікальними властивостями, зокрема високою стабільністю, біосумісністю та антимікробною активністю. Існує кілька основних факторів, які впливають на ефективність синтезу, зокрема тип використовуваних металів, умови освітлення, рН середовища, температура та концентрація реагентів. Пігменти та біомолекули, що містяться в ціанобактеріях, як природні відновлювальні агенти, відіграють важливу роль у перетворенні металевих іонів у стабільні наночастинок. Це відкриває можливості для застосування таких наночастинок у медичних цілях, таких як доставка лікарських засобів, а також у екологічних технологіях для очищення води та повітря.

Біосинтез наночастинок за допомогою ціанобактерій є важливим кроком у розвитку стійких, економічно ефективних і безпечних технологій для виробництва наноматеріалів. Ціанобактерії здатні синтезувати наночастинок без використання токсичних хімічних реагентів, що робить цей процес екологічно безпечним і знижує витрати на виробництво. Крім того, наночастинок, синтезовані ціанобактеріями, мають численні переваги, серед яких високі антимікробні, антиоксидантні та протипухлинні властивості. Це робить їх перспективними для використання в медицині, зокрема для боротьби з інфекціями та лікування онкологічних захворювань, а також для очищення навколишнього середовища, зокрема для видалення токсичних важких металів з води.

Подальші дослідження повинні бути спрямовані на вивчення механізмів біосинтезу наночастинок у різних умовах, що дозволить краще контролювати їхні характеристики та покращити їх використання в різних сферах. Крім того, необхідно приділяти увагу розвитку методів культивування ціанобактерій, щоб оптимізувати виробничі процеси та знизити витрати на синтез наночастинок

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Hamida, R. S., Ali, M. A., Redhwan, A., & Bin-Meferij, M. M. (2020). Cyanobacteria – A Promising Platform in Green Nanotechnology: A Review on Nanoparticles Fabrication and Their Prospective Applications. *International Journal of Nanomedicine*, 15, 6033–6066. <https://doi.org/10.2147/IJN.S256134>
2. Koul, B., Poonia, A. K., Yadav, D., & Jin, J.-O. (2021). Microbe-Mediated Biosynthesis of Nanoparticles: Applications and Future Prospects. *Biomolecules*, 11(6), 886. doi:10.3390/biom11060886
3. Kitching, M., Ramani, M., & Marsili, E. (2014). Fungal biosynthesis of gold nanoparticles: mechanism and scale up. *Microb. Biotechnol.*, 8(6), 904–917. doi:10.1111/1751-7915.12151
4. Guilger-Casagrande, M., & Lima, R. de. (2019). Synthesis of Silver Nanoparticles Mediated by Fungi: A Review. *Front. bioeng. biotechnol*, 7. doi:10.3389/fbioe.2019.00287
5. Skalickova, S., Baron, M., & Sochor, J. (2017). Nanoparticles Biosynthesized by Yeast: A Review of their application. *Kvasny prumysl*, 63(6), 290–292. <https://doi.org/10.18832/kp201727>
6. Manivasagan, P., Venkatesan, J., Sivakumar, K., & Kim, S.-K. (2014). Actinobacteria mediated synthesis of nanoparticles and their biological properties: A review. *Crit. Rev. Microbiol.*, 1–13. doi:10.3109/1040841x.2014.917069
7. Shankar, P. D., Shobana, S., Karuppusamy, I., Pugazhendhi, A., Ramkumar, V. S., Arvindnarayan, S., & Kumar, G. (2016). A review on the biosynthesis of metallic nanoparticles (gold and silver) using bio-components of microalgae: Formation mechanism and applications. *Enzyme Microb*, 95, 28–44.
8. Castillo-Henríquez, L., Alfaro-Aguilar, K., Ugalde-Álvarez, J., Vega-Fernández, L., Montes de Oca-Vásquez, G., & Vega-Baudrit, J. R. (2020). Green Synthesis of Gold and Silver Nanoparticles from Plant Extracts and

- Their Possible Applications as Antimicrobial Agents in the Agricultural Area. *Nanomaterials*, 10(9), 1763. doi:10.3390/nano10091763
9. Khan, A. U., Khan, M., Malik, N., Cho, M. H., & Khan, M. M. (2018). Recent progress of algae and blue–green algae-assisted synthesis of gold nanoparticles for various applications. *Bioprocess Biosyst Eng*. doi:10.1007/s00449-018-2012-2
 10. Bhardwaj, A. K., & Naraiian, R. (2021). Cyanobacteria as biochemical energy source for the synthesis of inorganic nanoparticles, mechanism and potential applications: a review. *3 Biotech*, 11(10), 445. <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02992-5>
 11. Gahlawat, G., & Choudhury, A. R. (2019). A review on the biosynthesis of metal and metal salt nanoparticles by microbes. *RSC Advances*, 9(23), 12944–12967. doi:10.1039/c8ra10483b
 12. Liu, L., & Choi, S. (2021). Enhanced biophotovoltaicity generation in cyanobacterial biophotovoltaics with intracellularly biosynthesized gold nanoparticles. *J. Power Sources*, 230251. doi:10.1016/j.jpowsour.2021.23025
 13. Tyagi, Rashmi & Kaushik, B. & Kumar, Jitendra. (2014). Antimicrobial Activity of Some Cyanobacteria. 10.1007/978-81-322-1801-2_41.
 14. Vivek, R., Thangam, R., NipunBabu, V., Rejeeth, C., Sivasubramanian, S., Gunasekaran, P., Muthuchelian, K., & Kannan, S. (2014). Multifunctional HER2-antibody conjugated polymeric nanocarrier-based drug delivery system for multi-drug-resistant breast cancer therapy. *ACS applied materials & interfaces*, 6(9), 6469–6480.
 15. El-Deeb, N. M., Khattab, S. M., Abu-Youssef, M. A., Badr, A. M. (2022). Green synthesis of novel stable biogenic gold nanoparticles for breast cancer therapeutics via the induction of extrinsic and intrinsic pathways. *Sc. Rep.*, 12(1), 11518. doi: 10.1038/s41598-022-15648-y.
 16. Morsy, F. M., Nafady, N. A., Abd-Alla, M. H., & Elhady, D. A. (2014). Green synthesis of silver nanoparticles by water soluble fraction of the extracellular polysaccharides/matrix of the cyanobacterium *Nostoc commune* and its

- application as a potent fungal surface sterilizing agent of seed crops. *Univ J Microbiol Res*, 2(2), 36-43.
17. Focsan, M., Ardelean, I. I., Craciun, C., & Astilean, S. (2011). Interplay between gold nanoparticle biosynthesis and metabolic activity of cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Nanotechnology*, 22(48), 485101. doi:10.1088/0957-4484/22/48/485101
 18. Lengke, M. F., Fleet, M. E., & Southam, G. (2007). Biosynthesis of silver nanoparticles by filamentous cyanobacteria from a silver(I) nitrate complex. *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids*, 23(5), 2694–2699. <https://doi.org/10.1021/la0613124>
 19. Jeffryes, C., Agathos, S. N., & Rorrer, G. (2015). Biogenic nanomaterials from photosynthetic microorganisms. *COBIOT*, 33, 23–31. doi:10.1016/j.copbio.2014.10.005
 20. Patel, V., Berthold, D., Puranik, P., & Gantar, M. (2015). Screening of cyanobacteria and microalgae for their ability to synthesize silver nanoparticles with antibacterial activity. *Biotechnol. Rep*, 5, 112-119.
 21. Younis, N. S., Mohamed, M. E., & El Semary, N. A. (2022). Green Synthesis of Silver Nanoparticles by the Cyanobacteria *Synechocystis* sp.: Characterization, Antimicrobial and Diabetic Wound-Healing Actions. *Marine drugs*, 20(1), 56. <https://doi.org/10.3390/md20010056>
 22. Husain, S., Sardar, M., & Fatma, T. (2015). *Screening of cyanobacterial extracts for synthesis of silver nanoparticles*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31(8), 1279–1283. doi:10.1007/s11274-015-1869-3
 23. Dahoumane, S. A., Djediat, C., Yéprémian, C., Couté, A., Fiévet, F., Coradin, T., & Brayner, R. (2012). Species selection for the design of gold nanobioreactor by photosynthetic organisms. *J Nanopart Res*, 14(6).
 24. Mahdieh, M., Zolanvari, A., Azimee, A. S., & Mahdieh, M. (2012). Green biosynthesis of silver nanoparticles by *Spirulina platensis*. *Scientia Iranica*, 19(3), 926–929. doi:10.1016/j.scient.2012.01.010

25. Parial, D., Patra, H. K., Dasgupta, A. K., & Pal, R. (2012). Screening of different algae for green synthesis of gold nanoparticles. *Eur. J. Phycol*, 47(1), 22–29. doi:10.1080/09670262.2011.653406
26. Dahoumane, S. A., Yéprémian, C., Djédiat, C., Couté, A., Fiévet, F., Coradin, T., & Brayner, R. (2014). A global approach of the mechanism involved in the biosynthesis of gold colloids using micro-algae. *J Nanopart Res*, 16(10).
27. Sudha SS, Rajamanickam K, Rengaramanujam J. (2013) Microalgae mediated synthesis of silver nanoparticles and their antibacterial activity against pathogenic bacteria. *Indian J Exp Biol*. May;51(5):393-9. PMID: 23821828.
28. El-Naggar, N. E.-A., Hussein, M. H., & El-Sawah, A. A. (2017). Bio-fabrication of silver nanoparticles by phycocyanin, characterization, in vitro anticancer activity against breast cancer cell line and in vivo cytotoxicity. *Sc. Rep*, 7(1). doi:10.1038/s41598-017-11121-3
29. San Keskin, N. O., Kılıç, N. K., Dönmez, G., & Tekinay, T. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles using cyanobacteria and evaluation of their photocatalytic and antimicrobial activity. *Nano Res.*, 40, 120-127 *Scientia Iranica*, 19(3), 926–929. doi:10.1016/j.scient.2012.01.010
- 10.1016/j.scient.2012.01.010
30. Kalishwaralal, K., Deepak, V., Ram Kumar Pandian, S., Kottaisamy, M., BarathmaniKanth, S., Kartikeyan, B., & Gurunathan, S. (2010). Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using *Brevibacterium casei*. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 77(2), 257–262.
31. Oza, G., Pandey, S., Mewada, A., Kalita, G., Sharon, M., Phata, J., ..., Sharon, M. (2012). Facile biosynthesis of gold nanoparticles exploiting optimum pH and temperature of fresh water algae *Chlorella pyrenoidusa*. *Adv Appl Sci Res*, 3(3), 1405-1412
32. Khalifa, K. S., Hamouda, R. A., Hanafy, D., & Hamza, A. (2016). In vitro antitumor activity of silver nanoparticles biosynthesized by marine algae. *Dig. J. Nanomater. Biostructures*, 11(1), 213-221.

33. Wei, N., Hou, Y., Lu, Z., Yu, H., & Wang, Q. (2018). Synthesis of silver nanoparticles stabilized with C-phycoerythrin and for fluorimetric detection of copper ions. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 108, 022030. doi:10.1088/1755-1315/108/2/022030
34. Gelagutashvili, E. (2013). Binding of heavy metals with C-phycoerythrin: a comparison between equilibrium dialysis, fluorescence and absorption titration. *Am J Biomed Life Sci*, 1, 12-16.
35. El-Naggar, N. E.-A., Hussein, M. H., & El-Sawah, A. A. (2018). Phycobiliprotein-mediated synthesis of biogenic silver nanoparticles, characterization, in vitro and in vivo assessment of anticancer activities. *Sc. Rep*, 8(1). doi:10.1038/s41598-018-27276-6
36. Ali, D. M., Sasikala, M., Gunasekaran, M., & Thajuddin, N. (2011). Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using marine cyanobacterium, *Oscillatoria willei* NTDM01. *Dig J Nanomater Biostruct*, 6(2), 385-390.
37. Hamouda, R. A., Hussein, M. H., Abo-Elmagd, R. A., & Bawazir, S. S. (2019). Synthesis and biological characterization of silver nanoparticles derived from the cyanobacterium *Oscillatoria limnetica*. *Scientific reports*, 9(1), 13071.
38. Rosken, L. M., Cappel, F., Korsten, S., Fischer, C. B., Schonleber, A., van Smaalen, S., ... & Wehner, S. (2016). Time-dependent growth of crystalline Au (0)-nanoparticles in cyanobacteria as self-reproducing bioreactors: 2. *Anabaena cylindrica*. *Beilstein J Nanotechnol*, 7, 312-327.
39. Roychoudhury, P., Gopal, P. K., Paul, S., & Pal, R. (2016). Cyanobacteria assisted biosynthesis of silver nanoparticles—a potential antileukemic agent *J Appl Psychol y*, 28(6), 3387–3394. doi:10.1007/s10811-016-0852-1
40. Hanna, A. L., Hamouda, H., Goda H., Elsayed T., Sadik M. (2021). Biosynthesis and Characterization of Silver Nanoparticles produced by *Phormidium ambiguum* and *Desertifilum tharense*, <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-622253/v1>

41. Husain, S., Verma, S. K., Hemlata, Azam, M., Sardar, M., Haq, Q. M. R., & Fatma, T. (2021). Antibacterial efficacy of facile cyanobacterial silver nanoparticles inferred by antioxidant mechanism. *Mater. Sci. Eng.: C*, 122, 111888. doi:10.1016/j.msec.2021.111888
42. Lengke MF, Ravel B, Fleet ME, Wanger G, Gordon RA, Southam G. (2006). Mechanisms of gold bioaccumulation by filamentous cyanobacteria from gold(III)-chloride complex. *Environ Sci Technol*. Oct 15;40(20):6304-9. doi: 10.1021/es061040r. PMID: 17120557.
43. Zada, S., Ahmad, A., Khan, S., Iqbal, A., Ahmad, S., Ali, H., & Fu, P. (2018). Biofabrication of gold nanoparticles by *Lyptolyngbya JSC-1* extract as super reducing and stabilizing agents: Synthesis, characterization and antibacterial activity. *Microbial Pathogenesis*, 114, 116–123. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.11.038>;
44. Singh, G., Babele, P. K., Kumar, A., Srivastava, A., Sinha, R. P., & Tyagi, M. B. (2014). Synthesis of ZnO nanoparticles using the cell extract of the cyanobacterium, *Anabaena* strain L31 and its conjugation with UV-B absorbing compound shinorine. *J. Photochem. Photobiol. B, Biology*, 138, 55–62.
45. Lenartowicz, M., Marek, P. H., Madura, I. D., & Lipok, J. (2017). Formation of Variously Shaped Gold Nanoparticles by *Anabaena laxa*. *J. Clust. Sci*, 28(5), 3035–3055. doi:10.1007/s10876-017-1275-0
46. Bakir, E. M., Younis, N. S., Mohamed, M. E., & El Semaary, N. A. (2018). Cyanobacteria as nanogold factories: Chemical and anti-myocardial infarction properties of gold nanoparticles synthesized by *Lyngbya majuscula*. *Marine Drugs*, 16(6), 217. <https://doi.org/10.3390/md16060217>;

47. Ahmed, S., Ahmad, M., Swami, B. L., & Ikram, S. (2018). Green synthesis of silver nanoparticles using *Azadirachta indica* aqueous leaf extract. *Journal of Advanced Research*, 7(1), 17-28. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2015.02.007>
48. Vazquez-Muñoz, R., Meza-Villezcás, A., Fournier, P. G. J., & Soria-Castro, E. (2019). Enhancement of the antibacterial effect of silver nanoparticles by hydrophobicity adjustment. *Scientific Reports*, 9, 13694. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50294-1>
49. Sanyasi, S., Prasad, T. N. V. K. V., & Prasad, R. (2016). Nanostructured silver: Synthesis, characterization, and applications in bacterial and fungal pathogen control. *Journal of Bacteriology Research*, 8(4), 42-48.
50. Nayak, D., Ashe, S., Rauta, P. R., Kumari, M., & Nayak, B. (2016). Bark extract mediated green synthesis of silver nanoparticles: Evaluation of antimicrobial activity and antiproliferative response against osteosarcoma. *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications*, 58, 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.08.022>
51. Xiao, Y., Yao, Z., & Others. (2019). Engineering nanoparticles for targeted delivery of nucleic acid therapeutics in tumors. *Molecular Therapy – Methods & Clinical Development*, 12, 1–18. [https://doi.org/10.1016/S2329-0501\(18\)30093-7](https://doi.org/10.1016/S2329-0501(18)30093-7)
52. Al-Katib, M., Al-Shahri, Y., & Al-Niemi, A. (2015). Biosynthesis of silver nanoparticles by cyanobacterium *Gloeocapsa sp.* *International Journal of Enhanced Research in Science, Technology & Engineering*, 4(9), ISSN: 2319-7463.
53. Elkomy, R. G. (2020). Antimicrobial screening of silver nanoparticles synthesized by marine cyanobacterium *Phormidium formosum*. *Iranian Journal of Microbiology*, 12(3), 242–248.
54. Kuraganti, S., та ін. (2020). Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using *Chroococcus turgidus* and *Characium typicum*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 10(9), 88–98.

55. Ismail, G. A., El-Sheekh, M. M., Samy, R. M., & Gheda, S. F. (2021). Antimicrobial, Antioxidant, and Antiviral Activities of Biosynthesized Silver Nanoparticles by Phycobiliprotein Crude Extract of the Cyanobacteria *Spirulina platensis* and *Nostoc linckia*. *BioNanoSci.* 11, 355–370 <https://doi.org/10.1007/s12668-021-00828-3>
56. Bahareh Nowruzi, Fatemeh Zandi, Sarvenaz Falsafi. (2023). Green biosynthesis of silver nanoparticles by freshwater cyanobacteria *Nostoc spp.* and evaluation of its antimicrobial activity. *New Cell and Molecular Biotechnology*, 13(50)
57. Lin, J., Zhang, H., Chen, Z., & Zheng, Y. (2010). Penetration of lipid membranes by gold nanoparticles: Insights into cellular uptake, cytotoxicity, and their relationship. *ACS Nano*, 4(9), 5421–5429.
58. Moghadam, B. Y., Hou, W., Corredor, C., Westerhoff, P., & Posner, J. D. (2012). Role of nanoparticle surface functionality in the disruption of model cell membranes. *Langmuir*, 28(45), 16318–16326.
59. Arvizo, R. R., Miranda, O. R., Thompson, M. A., та ін. (2010). Effect of nanoparticle surface charge at the plasma membrane and beyond. *Nano Letters*, 10(7), 2543–2548.
60. Chen, K. L., & Bothun, G. D. (2014). Nanoparticles meet cell membranes: Probing nonspecific interactions using model membranes. *Environmental Science & Technology*, 48(6), 873–882.
61. Okoampah, E., Mao, Y., Yang, S., Sun, S., & Zhou, C. (2020). Gold nanoparticles–biomembrane interactions: From fundamental to simulation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 196, 111312.
62. Joshi, A. S., Singh, P., & Mijakovic, I. (2020). Interactions of gold and silver nanoparticles with bacterial biofilms: Molecular interactions behind inhibition and resistance. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(20), 7658.
63. Ali, M. R. K., Wu, Y., Ghosh, D., Do, B. H., Chen, K., Dawson, M. R., Fang, N., Sulchek, T. A., & El-Sayed, M. A. (2017). Nuclear membrane-targeted gold nanoparticles inhibit cancer cell migration and invasion. *ACS Nano*.

64. Kodiha, M., Wang, Y. M., Hutter, E., Maysinger, D., & Stochaj, U. (2015). Off to the organelles—killing cancer cells with targeted gold nanoparticles. *Theranostics*, *5*(4), 357–370.
65. Wang, L., Jiang, X., Ji, Y., Bai, R., Zhao, Y., Wu, X., & Chen, C. (2013). Surface chemistry of gold nanorods: origin of cell membrane damage and cytotoxicity. *Nanoscale*, *5*(18), 8384–8391.
66. Lara-Cruz, C., Jiménez-Salazar, J. E., Ramón-Gallegos, E., Damian-Matsumura, P., & Batina, N. (2016). Increasing roughness of the human breast cancer cell membrane through incorporation of gold nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine*, *11*, 5149–5161.
67. Harris, J. C., Scully, M. A., & Day, E. S. (2019). Cancer cell membrane-coated nanoparticles for cancer management. *Cancers*, *11*(12), 1836.
68. Roychoudhury, P., Bhattacharya, A., Dasgupta, A., & Pal, R. (2016). Biogenic synthesis of gold nanoparticle using fractioned cellular components from eukaryotic algae and cyanobacteria. *Phycological Research*, *64*(3), 179–186. [https://doi.org/10.1111/pre.12127​;contentReference\[oaicite:3\]{index=3}](https://doi.org/10.1111/pre.12127​;contentReference[oaicite:3]{index=3})
69. El-Deeb, N. M., Khattab, S. M., Abu-Youssef, M. A., & та ін. (2022). Green synthesis of novel stable biogenic gold nanoparticles for breast cancer therapeutics via the induction of extrinsic and intrinsic pathways. *Scientific Reports*, *12*, 11518. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-15648-y>
70. World Health Organization. (2024, February 1). Global cancer burden growing amidst mounting need for services. WHO. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.who.int/news/item/01-02-2024-global-cancer-burden-growing--amidst-mounting-need-for-services>
71. American Cancer Society. (2024). *Facts & Figures 2024*. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.cancer.org/research/acs-research-news/facts-and-figures-2024.htm>
72. Public Health Center of Ukraine. (2019). У 2019 році новоутворення стали другою найчастішою причиною смерті українців. [Електронний ресурс]

Режим доступу: <https://phc.org.ua/news/u-2019-roci-novoutvorennya-stali-drugoyu-naychastishoyu-prichinoyu-smerti-ukrainciv-visnovki-z>

73. Public Health Center of Ukraine. (2023). Щороку збільшується кількість людей, які повертаються до нормального життя після лікування раку. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://phc.org.ua/news/schoroku-zbilshuetsya-kilkist-lyudey-yaki-povertayutsya-do-normalnogo-zhittya-pislya>
74. Zhu, L., & Lin, M. (2021). The synthesis of nano-doxorubicin and its anticancer effect. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 21(18). <https://doi.org/10.2174/1871520621666201229115612>
75. Wang, Y., Cai, R., Chen, C., Li, R., Li, Z., & Lin, L. (2016). Multifunctional gold nanorods with ultrahigh stability and tunable targeting for selective cancer cell imaging and photothermal therapy. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 8(52), 36603-36612. <https://doi.org/10.1021/acsami.6b16669>
76. Faid, A. H., Shouman, S. A., Badr, Y. A., & Sharaky, M. (2022). Enhanced cytotoxic effect of doxorubicin conjugated gold nanoparticles on breast cancer model. *BMC chemistry*, 16(1), 90. <https://doi.org/10.1186/s13065-022-00889-9>
77. Adjuvant Chemotherapy for Early Breast Cancer: Optimal Use of Epirubicin | The Oncologist | Oxford Academic. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://academic.oup.com/jnci/article/100/15/1058/902472>
78. Effect of Epirubicin Plus Paclitaxel vs Epirubicin and Cyclophosphamide | JAMA Network Open. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://jamanetwork.com/journals/jamaoncology/fullarticle/2775401>
79. Differential immunomodulatory effects of epirubicin/cyclophosphamide and docetaxel in breast cancer patients | Journal of Experimental & Clinical Cancer Research. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://jccr.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13046-019-1161-8>
80. Cancer Research UK. *Capecitabine (Xeloda) | Cancer Information*. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/treatment/drugs/capecitabine>

81. National Cancer Institute. *Cyclophosphamide (Cytoxan)*. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/drugs/cyclophosphamide>
82. Compendium. Еналаприл ЕГІС – Інструкція, застосування, протипоказання. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://compendium.com.ua/dec/554181/>
83. Compendium. *Трастузумабум* – Інструкція, застосування, протипоказання. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://compendium.com.ua/uk/akt/84/66912/trastuzumabum/>
84. American Cancer Society. *Kadcyla (Ado-Trastuzumab Emtansine)*. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.cancer.org/treatment/treatment-types/immunotherapy/cancer-immunotherapy/kadcyla.html>
85. Chemoteka. *Доксорубіцин – Інструкція, застосування, протипоказання*. Retrieved [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://chemoteka.com.ua/instructions/substance/99>
86. Li, Z., Liu, Y., Zhou, T., Cao, L., Cai, Y., Wang, Y., Cui, X., Yan, H., Ruan, R., & Zhang, Q. (2022). Effects of culture conditions on the performance of *Arthrospira platensis* and its production of exopolysaccharides. *Foods*, 11(14), 2020. <https://doi.org/10.3390/foods11142020>
87. Studfile.net. *Основи фармакології: Навчальний матеріал*. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://studfile.net/preview/1862724/>
88. Studfile.net. *Фармакологія: Лекції для студентів медичних спеціальностей*. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://studfile.net/preview/5199035/>
89. March, D., Bianco, V., & Franzese, G. (2021). Protein unfolding and aggregation near a hydrophobic interface. *Polymers*, 13(1), 156. <https://doi.org/10.3390/polym13010156>
90. Watsons. *150L Stainless Steel Tank*. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.watsons.ca/product/150l-stainless-steel-tank/>

- 91.Co-Di. *Перистальтичний насос 12V*. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://co-di.com.ua/ua/p1270629932-peristalticheskij-nasos-12v.html>
- 92.ALТ. *Ультрацентрифуги – Огляд та характеристики*. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://alt.ua/products/ultratsentrifugi>
- 93.Promvit Реактор 100 л для приготування фармацевтичних розчинів і суспензій. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://promvit.com.ua/reaktor-100-l-dlya-prigotovleniya-farmaceuticheskix-rastvorov-i-suspenzij/>
- 94.Garden-UA. *Pulcino 10* – Обладнання для фільтрації та розливу вина. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://garden-ua.com/shop/the-equipment-for-winemaking/equipment-for-filtration-and-bottling-wine/pulcino10/>
- 95.Europlast. Пластикова бочка 500 літрів. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://europlast.ua/ua/bochki-plastikovye/500-litrov/>
- 96.Comquima. Used 900 litres stainless steel reactor with half coil (C13006). [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://comquima.com/en/products/reactors/0-999-1/used-900-litres-stainless-steel-reactor-with-half-coil-c13006>
- 97.Kozak Plus. Вакуумний пакувальник YS-DQ-420Q. [Електронний ресурс] Режим доступу: https://kozakplus.ua/products/vacuum-packing/vacuum-machines/ys-dq-420q?pk_campaign=GoogleMerchant&gad_source=1&gclid=Cj0KCQiAouG5BhDBARIsAOc08RRxkMPLHrYT3hBy6PH-dY4Cdv6GTrkvUMSN9rAsbgHklgO_xWeZQS8aAIHwEALw_wcB
- 98.Khimmix. Реактор-гомогенізатор 40 л. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://khimmix.ua/ua/himicheskie-reaktory/reaktor-gomogenizator-40l>

99. Starlab. Контейнер 60 л для збору та утилізації лабораторних відходів та медичного сміття (квадратний, з кришкою). R [Електронний ресурс]
Режим доступу: <https://starlab.ua/product/kontejner-60-l-dlya-zboru-ta-utylyzatsiyi-laboratornyh-vidhodiv-ta-medychnogo-smittya-kvadratnyj-z-kryshkoyu/>
100. Alibaba. Food grade 50/100/200/250 liter stainless steel mixing tank with agitator. [Електронний ресурс] Режим доступу: https://www.alibaba.com/product-detail/Food-grade-50-100-200-250_1601043577273.html?spm=a2700.7724857.0.0.198df359m8l8Nw
101. Alibaba. Food grade 50/100/200/250 liter stainless steel mixing tank with agitator. [Електронний ресурс] Режим доступу: https://www.alibaba.com/product-detail/Food-grade-50-100-200-250_1601043577273.html?spm=a2700.7724857.0.0.198df359m8l8Nw
102. Proflab. Реактор скляний лабораторний 5 л. [Електронний ресурс]
Режим доступу: <http://proflab.com.ua/produkt/product-details/963-reaktor-steklyannyj-laboratornyj-5l.html>
103. PSMed. Лабораторна сублимаційна сушарка. [Електронний ресурс]
Режим доступу: <https://www.psmmed.com.ua/products/laboratorna-sublimatsijnij-susharka>
104. PackMeal. Запайщик Loom 137187 для 2-х контейнерів. [Електронний ресурс] Режим доступу: https://packmeal.com.ua/zapaishchyk-loom-137187-dlia-2-kh-konteineriv/?gad_source=1&gclid=Cj0KCQjw6oi4BhD1ARIsAL6pox2vHc7bW6CdLDtVpkphJdFCf9fMjZJRICHc0caB6NYi2IH4Rchz3k0aAmNMEALw_wcB
105. PackMeal. Запайщик Loom 137187 для 2-х контейнерів. [Електронний ресурс] Режим доступу: https://packmeal.com.ua/zapaishchyk-loom-137187-dlia-2-kh-konteineriv/?gad_source=1&gclid=Cj0KCQjw6oi4BhD1ARIsAL6pox2vHc7bW6CdLDtVpkphJdFCf9fMjZJRICHc0caB6NYi2IH4Rchz3k0aAmNMEALw_wcB

[W6CdLDtVpkphJdFCf9fMjZJRICHc0caB6NYi2IH4Rchz3k0aAmNMEALw_wcB](https://packmeal.com.ua/zapaishchyk-loom-137187-dlia-2-kh-konteineriv/?gad_source=1&gclid=Cj0KCQjw6oi4BhD1ARIsAL6pox2vHc7bW6CdLDtVpkphJdFCf9fMjZJRICHc0caB6NYi2IH4Rchz3k0aAmNMEALw_wcB)

106. PackMeal. Запайщик Loom 137187 для 2-х контейнерів. [Електронний ресурс] Режим доступу: https://packmeal.com.ua/zapaishchyk-loom-137187-dlia-2-kh-konteineriv/?gad_source=1&gclid=Cj0KCQjw6oi4BhD1ARIsAL6pox2vHc7bW6CdLDtVpkphJdFCf9fMjZJRICHc0caB6NYi2IH4Rchz3k0aAmNMEALw_wcB
107. Loza, K., Epple, M., & Maskos, M. (2019). *Stability of Nanoparticle Dispersions and Particle Agglomeration*. *NanoScience and Technology*, 85–100. doi:10.1007/978-3-030-12461-8_4
108. Energopharm. Візок 2-рівневий фармацевтичний. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://energopharm.net/catalog/vizki/vizok-2-rivnevij-farmaceutichnij>
109. Cicada. Стол производственный, ширина 700 мм, Profi SP Arte-N. [Електронний ресурс] Режим доступу: https://cicada.in.ua/ru/stol-proyvodstvennyj,-shyryna-700-mm,-profy-sp-arte-n?gad_source=1&gclid=Cj0KCQjw6oi4BhD1ARIsAL6pox3-evU_oNKmZDaBsmTEJiVCHddl6_pVZIFPJBmJNoUxbZ9FkLnNpесаAuO MEALw_wcB
110. Author/Organization. (n.d.). Title of the page or product. [Електронний ресурс] Режим доступу: <http://surl.li/tynzhn>
111. Ventalab. (n.d.). Стерилизатор Memmert SN55 SingleDISPLAY, 53 л. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://ventalab.ua/sterilizator-memmert-sn55-singledisplay-53-l/>
112. Prism Pharma Machinery. Pharmaceutical Machinery Manufacturer & Supplier. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.prismpharmamachinery.com/>
113. Pack-Tech. Фасовочный горизонтальный автомат. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://pack-tech.com.ua/p1006229099-fasovochnyj->

[gorizontalnyj-](#)

[avtomat.html?source=merchant_center&gad_source=1&gclid=Cj0KCQjw6oi4BhD1ARIsAL6pox0zs9vOgDEsRa40NOMSn9WKK0TBauuISqm_cZ-aZ7HthnPDypTxUjAaAoijEALw_wcB](#)

114. Pack-Tech Фасовочный горизонтальный автомат. [Электронный ресурс] Режим доступа: [https://pack-tech.com.ua/p1006229099-fasovochnyj-gorizontalnyj-](https://pack-tech.com.ua/p1006229099-fasovochnyj-gorizontalnyj-avtomat.html?source=merchant_center&gad_source=1&gclid=Cj0KCQjw6oi4BhD1ARIsAL6pox0zs9vOgDEsRa40NOMS)

[avtomat.html?source=merchant_center&gad_source=1&gclid=Cj0KCQjw6oi4BhD1ARIsAL6pox0zs9vOgDEsRa40NOMS](#)

115. Romaco. LVI Series – High-Performance Liquid Filling Machines. [Электронный ресурс] Режим доступа:

<https://www.romaco.com/products/product-details/lvi-series>

116. Semashkopp. Этикетувальний автомат LS-107R2. [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://semashkopp.com.ua/p/695745617-etiketirovochnyy-avtomat-ls-107r2/>

117. PackMeal Запайщик Loom 137187 для 2-х контейнерів. [Электронный ресурс] Режим доступа:

https://packmeal.com.ua/zapaishchik-loom-137187-dlia-2-kh-konteineriv/?gad_source=1&gclid=Cj0KCQjw6oi4BhD1ARIsAL6pox2vHc7bW6CdLDtVpkphJdFCf9fMjZJRICHc0caB6NYi2IH4Rchz3k0aAmNMEALw_wcB